

## رنگ زدایی رنگ آزوی قرمز کنگو توسط باکتری های جداسازی شده از پساب کارخانجات نساجی

معصومه انوری\*<sup>۱</sup>، حسین پورکاظم<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۹/۱۳

تاریخ تصویب: ۹۵/۰۳/۰۹

### چکیده

رنگ های آزو بدون هیچگونه پیش تصفیه ای به فاضلاب وارد می شود و محیط زیست را آلوده می سازد. برای جلوگیری از آلودگی منابع آسب پذیر، حذف آلاینده های رنگی مهم است. روش های سنتی تصفیه پرهزینه می باشد و مشکلات عملیاتی شدن دارد. روش زیستی یک روش ارزان برای احیای رنگ ها به حساب می آید. برای این منظور نمونه های پساب از نقاط آلوده به رنگ برای جداسازی باکتری تجزیه کننده، جمع آوری شد. در مراحل بعد با سیل هوازی گرم مثبت جداسازی شد که توانایی چشمگیری در حذف رنگ را داشت. پارامترهای متغیر مختلفی مانند منبع کربن و نیتروژن، درصد تلقیح، دما و اسیدیته برای بهینه سازی رنگ زدایی قرمز کنگو با استفاده از باکتریها، استفاده شد. نتایج نشان داد پارامترهای اسیدیته، منبع نیتروژن و درصد تلقیح در رنگ زدایی قرمز تاثیرگذارتر بودند. رنگ زدایی زمانیکه زایلوز به عنوان منبع کربن و عصاره مخمر به عنوان منبع نیتروژن بود، افزایش یافت. درصد تلقیح بهینه برای رنگ زدایی پنج درصد بود. اسیدیته بهینه جهت حذف رنگ توسط باکتری

\* ۱- دانشیار، گروه زیست شناسی واحد رشت دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

( نویسنده مسئول : anvari@iaurasht.ac.ir )

۲- کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، پردیس علوم و تحقیقات گیلان، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

در شرایط اسیدی ( $pH=5$ ) و دمای بهینه رنگ زدایی برابر با ۲۵ درجه سانتیگراد بود. تحت شرایط بهینه رنگ زدایی در حدود ۱۰۰٪ صورت پذیرفت. میزان رنگ زدایی بالا و شرایط آسان استفاده نشان داد که باکتری جداسازی شده پتانسیل بالایی در تصفیه زیستی فاضلاب رنگرزی دارد و برای این امر می تواند استفاده شود. نتایج گزارش شده، نیاز به تحقیقات بیشتری برای اثبات سودمندی جدایه جداسازی شده جهت تجزیه کاربردی رنگ ها مانند استفاده در تصفیه پساب، دارد

واژه های کلیدی: تجزیه زیستی، پساب نساجی، رنگ زدایی (Decolonization)، قرمز کنگو (*Bacillus subtilis*، Red Congo)

#### مقدمه

رنگ های آزو هستند که دارای یک یا

چند پیوند آزو می باشند

(McMullan et al., 2001, Lewis et al., 1999).

تخلیه پساب های رنگی به محیط زیست و اکوسیستم های آبی علاوه بر آسیب رساندن به مناظر زیبای طبیعی، از نفوذ نور به داخل اعماق آب جلوگیری می کند (Campos et al., 2001) و باعث مختل شدن فرآیند فتوسنتز و از بین رفتن گیاهان آبزی می شود (Wang et al., 2008) و از طرفی سبب رشد سریع بعضی از انواع جلبک ها شده که در نتیجه اکسیژن محلول در آب کاهش می یابد و حیات بعضی از آبزیان همانند ماهی باخطر مواجه می شود (Namasivayam et al., 2001).

بسیاری از رنگ های آزو محلول در آب می باشد و به راحتی از طریق تماس پوستی و استنشاق جذب می شود که منجر به خطراتی به سرطان و واکنش آلرژی می شود و برای

تجزیه رنگ های موجود در پساب های کارخانجات نساجی یکی از مهمترین و بحث برانگیزترین مشکلات محیط زیستی به شمار می آید. امروزه حدود ۱۰۰۰ رنگ مختلف در صنایع استفاده می شود و مصرف جهانی رنگ ها به بیش از ۷۰۰۰۰۰ تن در سال می رسد (Yuzhu et al., 2001, Robinson et al., 2001).

از نظر ساختار شیمیایی رنگ های مختلفی وجود دارند که در انواع گوناگونی مانند رنگ های اسیدی، راکتیو، بازی، پراکنده، آزو، دی آزو آنتراکوئینون، فلزی، گوگردی، تری فنیل متان و فتالوسیانین طبقه بندی می شوند. فاضلاب های نساجی عمدتاً شامل این رنگ ها است که سبب آسیب رسانی به محیط زیست می شوند. حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد کل رنگ های تولیدی،

توسط باکتری ها، سریع تر انجام می شود (Chang et al., 2001).

هدف از این مطالعه، بررسی توانایی سویه های جداسازی شده از پساب کارخانه نساجی در تجزیه رنگ آزوی قرمز کنگو بوده است.

### مواد و روش ها

رنگ مورد استفاده در این تحقیق قرمز کنگو بود که محصول شرکت مرک آلمان می باشد. این رنگ در صنایع نساجی مصرف زیادی دارد و در این تحقیق به عنوان رنگ مدل برای آزمایش های بهینه سازی مورد استفاده قرار گرفت

برای جداسازی باکتری از محیط کشت A شامل ترکیبات گلوکز (۲/۰ درصد)، پپتون (۵/۰ درصد)، عصاره مخمر (۵/۰ درصد)،  $KH_2PO_4$  (یک درصد) و  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (۲/۰ درصد) و ۱۰۰ میلی گرم رنگ قرمز کنگو استفاده گردید (Horikoshi et al., 1982). نمونه گیری از پساب کارخانه نساجی واقع در شهرک صنعتی البرز کرج در بطری استریل صورت گرفت و نمونه ها بر روی یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شد.

### سنجش فعالیت رنگ زدایی

اساسی ترین روش جهت اندازه گیری رنگ ها روش اسپکتروفتومتری است. از آنجائیکه رنگدانه ها در محلول های مختلف ایجاد رنگ های واضح و آشکاری می کنند که در ناحیه مرئی - فرابنفش دارای جذب می باشند و به راحتی قابل آشکارسازی

چشم محرک می باشد و در صورت استنشاق یا مصرف به شدت سمی می باشد

(Nikulina et al., 1994, MacPhee et al., 1975).

سیستم های تصفیه کننده مختلفی برای تجزیه رنگ های موجود در پساب های نساجی وجود دارد اما از نظر اقتصادی پرهزینه هستند

(Coughlin et al., 1997, Moosavi et al., 2005).

تجزیه زیستی رنگ روشی سازگار با محیط، کم هزینه و بی خطر است. در این روش تجزیه رنگ های آزو بر اساس شکسته شدن پیوندهای شیمیایی بین دو اتم نیتروژن در عامل آزو توسط باکتری ها انجام می شود

(Chen et al., 2003 & Pearce et al., 2003).

مطالعات گسترده ای بر روی تجزیه کردن رنگ های مختلف آزو توسط سیستم باکتریایی در جهان انجام شده است. سویه های باکتریایی مختلفی مانند *Bacillus sp*, *Arthrobacter sp*, *Sphaerotilus natans*, (Bhatt et al., 2005) *Alcaligenes faecalis*, *Commomonas acidovorans*, *streptococcus faecalis*, (Khalid et al., 2008) *Pseudomonas aeruginosa*, *Shewanella sp*, *Rhodopseudomonas palustris* (Guang et al., 2006). توانایی تجزیه رنگ های آزو مختلفی را دارند.

سیکل رشد طولانی و میزان رنگ زدایی توسط قارچ ها و جلبک ها باعث شده کاربرد سیستم های رنگ زدایی توسط آن محدود شود، در مقابل رنگ زدایی

هستند، این تکنیک متداول ترین روش در شناسایی و اندازه گیری آنها می باشد (Andrew, Eaton, Ann, Franson - 2005).

**فرمول رنگ زدایی و نحوه محاسبه حذف رنگ**

$$D = \frac{(ODz - ODS) \times 100}{ODz}$$

توسط فرمول درصد رنگ زدایی محاسبه شد که در آن D برابر با درصد رنگ زدایی، ODZ جذب اولیه و ODS جذب نمونه می باشد (Sahasrabudhe et al., 2014).

#### شناسایی باکتری

بعد از رنگ آمیزی گرم برای شناسایی این باکتری از کیت شناسایی Microgen® Bacillus ID ساخت کشور انگلستان استفاده شد که شامل دو نوار شناسایی است که در مجموع شامل ۲۴ سوبسترای اختصاصی جهت واکنش و شناسایی باکتری است.

#### روش طراحی آزمایش و بهینه سازی

در این پژوهش، برای طراحی آزمایش و تعیین شرایط بهینه رنگ بری سویه مورد مطالعه از روش تاگوچی استفاده شد (Yang, Yamg, 1998) روش تاگوچی یک روش طراحی آزمایش از نوع کسری از فاکتوریل کامل است که در این روش تعدادی از ترکیب هیا ممکن بین متغییر ها انتخاب می شود. انتخاب این تعداد بر

اساس طرح آزمایش به کار رفته، طوری انجام می شود که واریانس خطا، با حالتی که تمام ترکیب های ممکن اجرا شود، یکسان باشد. پس از انجام آزمایش ها و با ارزیابی پاسخ های بدست آمده، بهترین پاسخ انتخاب می شود. در این روش با کاهش تعداد آزمایش ها، زمان کل انجام آزمایش ها نیز تا حد زیادی کاهش می یابد (Taran et al., 2010).

در روش تاگوچی اولین گام تعیین عوامل موثر و سطوح آن ها است. در میان عوامل موثر در رشد و رنگ زدایی این سویه، منبع کربن، منبع نیتروژن، اسیدیته، درصد تلقیح و دما اهمیت زیادی دارند. به طور کلی این پنج عامل با چهار سطح در نظر گرفته شد. در جدول ۱ عامل ها و سطوح نشان داده شده است (Praveen et al., 2012).

جدول ۱: عوامل و سطوح مورد بررسی در طراحی آزمایش

عامل	سطح ۱	سطح ۲	سطح ۳	سطح ۴
منبع کربن	فاقد منبع کربن	گلوکز	زایلوز	گالاکتوز
منبع نیتروژن	فاقد منبع نیتروژن	پپتون	عصاره مخمر	$(NH_4)_2SO_4$
درصد تلقیح	۵	۱۰	۱۵	۲۰
دما	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰
اسیدیته	۵	۶	۷	۸

با توجه به جدول آرایه های متعامد شامل پنج عامل و چهار سطح، ۱۶ آزمایش طراحی شد. در جدول ۲، آزمایش ها نشان داده شده است. برای انجام هر آزمایش ۵۰ میلی متر از محیط کشت یاد شده را در ارلن ۱۰۰ ریخته، پس از تنظیم اسیدیته با توجه به شرایط تعیین شده

توسط نرم افزار، به هر ارلن طبق شرایط تلقیح کرده و ارلن ها را درون انکوباتور شیکردار با دور ۲۰۰ دور در دقیقه در دمای مشخص شده به مدت سه روز انکوبه و مقدار حذف رنگ با استفاده از دستگاه اسپکترومتر بررسی شد.

جدول ۲: محیط کشت های طراحی شده توسط روش تاگوچی

شماره	منبع کربن ۵ درصد w/v	منبع نیتروژن ۵ درصد w/v	درصد تلقیح v/v	دما °C	pH
۱	-	-	۵	۲۵	۵
۲	-	پپتون	۱۰	۳۰	۶
۳	-	عصاره مخمر	۱۵	۳۵	۷
۴	-	$(NH_4)_2SO_4$	۲۰	۴۰	۸
۵	گلوکز	-	۱۰	۳۵	۸
۶	گلوکز	پپتون	۵	۴۰	۷
۷	گلوکز	عصاره مخمر	۲۰	۲۵	۶
۸	گلوکز	$(NH_4)_2SO_4$	۱۵	۳۰	۵
۹	زایلوز	-	۱۵	۴۰	۶
۱۰	زایلوز	پپتون	۲۰	۳۵	۵
۱۱	زایلوز	عصاره مخمر	۵	۳۰	۸
۱۲	زایلوز	$(NH_4)_2SO_4$	۱۰	۲۵	۷
۱۳	گالاکتوز	-	۲۰	۳۰	۷
۱۴	گالاکتوز	پپتون	۱۵	۲۵	۸
۱۵	گالاکتوز	عصاره مخمر	۱۰	۴۰	۵
۱۶	گالاکتوز	$(NH_4)_2SO_4$	۵	۳۵	۶

رنگ زدایی (یک درصد)  $KH_2PO_4$  و  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (۰/۰۲ درصد) به همه محیط ها اضافه شد.

تمام آزمایش های این تحقیق، در دو تکرار انجام شد. با توجه به جذب های مثبت شده و فرمول رنگ زدایی، درصد حذف رنگ هر محیط در زمان های ۲۴ ساعت، ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت محاسبه شد. مطالعات آماری این تحقیق با استفاده از نرم افزار Minitab ۱۶ انجام پذیرفت.

### نتایج

#### نتایج شناسایی

در رنگ آمیزی گرم مشخص شد که باکتری مورد مطالعه یک باکتری باسیل

باشد.

#### نتایج رنگ زدایی

پس از احراز شرایط لازم برای هر ۱۶ آزمایش مشخص شده به وسیله نرم افزار تاگوچی و انجام آزمایش ها و بررسی میزان رنگ بری در محیط، نتایج به کمک برنامه کامپیوتری Minitab تجزیه و تحلیل و اثرات مربوط به هر سطح محاسبه شد.

نتایج رنگ زدایی بعد از ۲۴ ساعت

نتایج رنگ زدایی بعد از ۲۴ ساعت در جدول ۳ آمده است.

جدول ۳: نتایج نهایی درصد رنگ زدایی بعد از ۲۴ ساعت توسط باکتری جداسازی شده

شماره	منبع کربن	منبع نیتروژن	درصد تلقیح v/v	دما °C	pH	درصد رنگ زدایی بعد از ۲۴ ساعت
۱	-	-	۵	۲۵	۵	۶۹/۲۳
۲	-	پپتون	۱۰	۳۰	۶	۷۵/۳۲
۳	-	عصاره مخمر	۱۵	۳۵	۷	۲۴/۹۹
۴	-	$(NH_4)_2SO_4$	۲۰	۴۰	۸	۲/۸۰
۵	گلوکز	-	۱۰	۳۵	۸	۰/۴۴
۶	گلوکز	پپتون	۵	۴۰	۷	۸۵/۶۳
۷	گلوکز	عصاره مخمر	۲۰	۲۵	۶	۹۶/۳۴
۸	گلوکز	$(NH_4)_2SO_4$	۱۵	۳۰	۵	۸۷/۱۸
۹	زایلوز	-	۱۵	۴۰	۶	۱۹/۴۳
۱۰	زایلوز	پپتون	۲۰ درصد	۳۵	۵	۹۷/۸۹
۱۱	زایلوز	عصاره مخمر	۵ درصد	۳۰	۸	۸۱/۳۱
۱۲	زایلوز	$(NH_4)_2SO_4$	۱۰ درصد	۲۵	۷	۷۹/۷۰
۱۳	گالاکتوز	-	۲۰ درصد	۳۰	۷	۳/۰۶
۱۴	گالاکتوز	پپتون	۱۵ درصد	۲۵	۸	۲۳/۳۹
۱۵	گالاکتوز	عصاره مخمر	۱۰ درصد	۴۰	۵	۹۵/۹۷
۱۶	گالاکتوز	$(NH_4)_2SO_4$	۵ درصد	۳۵	۶	۹۵/۳۴

در جدول ۴ تاثیر هر سطح از عوامل بر روی رنگ زدایی بعد از ۲۴ ساعت این سویه نشان داده شده است که عامل منبع کربن در سطح سوم یعنی گلوکز، منبع نیتروژن در سطح سوم یعنی عصاره مخمر، درصد تلقیح در سطح اول یعنی

پنج درصد، اسیدیته در سطح اول یعنی ۵ و دما در سطح اول یعنی ۲۵ درجه سانتیگراد بیشترین تاثیر را در رنگ زدایی بعد از ۲۴ ساعت رنگ قرمز کنگو توسط باکتری ا را دارند.

جدول ۴: اثر سطوح مختلف عامل ها بر میزان رنگ بری باکتری جداسازی شده بعد از ۲۴ ساعت

عامل	سطح ۱	سطح ۲	سطح ۳	سطح ۴
منبع کربن	۴۳/۰۸	۶۷/۴۰	۶۹/۵۸	۵۴/۴۴
منبع نیتروژن	۲۳/۰۴	۷۰/۵۶	۷۴/۶۵	۶۶/۲۵
درصد تلقیح	۸۲/۸۸	۶۲/۸۶	۳۸/۷۵	۵۰/۰۲
دما	۶۷/۱۶	۶۱/۷۲	۵۴/۶۶	۵۰/۹۶
اسیدیته	۸۷/۵۷	۷۱/۶۱	۴۸/۳۴	۲۶/۹۸

تعیین شاخص تاثیرگذار در رنگ بری رنگ قرمز کنگو بعد از ۲۴ ساعت به کمک تحلیل واریانس در جدول ۵ نشان داده شده است. ستون آخر اثرات هر یک از عامل ها را در رنگ بری تعیین می کند. عامل اسیدیته موثرترین عامل برای رنگ بری رنگ قرمز کنگو توسط باکتری جداسازی شده است. پس از آن به ترتیب عامل منبع نیتروژن، درصد تلقیح، دما و منبع کربن بیشترین تاثیر را دارد.

جدول ۵: تحلیل واریانس برای رنگ زدایی قرمز کنگو توسط باکتری ایزوله شده بعد از ۲۴ ساعت

عامل	درجه آزادی	Seq SS	Adj SS	Adj MS	P-Value
منبع کربن	۳	۱۸۲۴/۱	۱۸۲۴/۰۸	۶۰۸/۰۳	۰/۸۴۸
منبع نیتروژن	۳	۶۸۹۴/۸	۶۸۹۴/۸۳	۲۲۹۸/۲۸	۰/۰۴۰
درصد تلقیح	۳	۴۳۰۱/۳	۴۳۰۱/۲۹	۱۴۳۳/۷۶	۰/۰۴۷
دما	۳	۶۲۷/۸	۶۲۷/۸۳	۲۰۹/۲۸	۰/۹۶۰
اسیدیته	۳	۸۴۵۲/۳	۸۴۵۲/۲۹	۲۸۱۷/۴۳	۰/۰۳۰

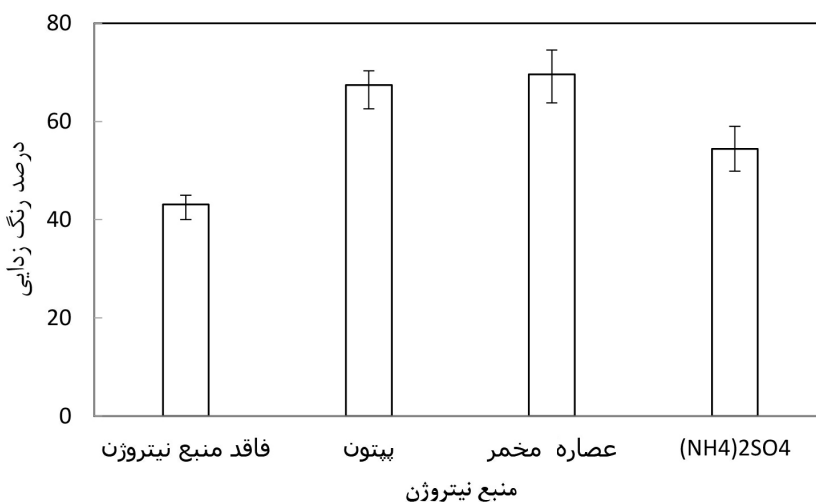
تاثیر منبع کربن بر رنگ زدایی بعد از ۲۴ ساعت نتایج نشان داد اگر منبع کربن زایلوز باشد، فعالیت رنگ زدایی حداکثر است. در نمودار ۱ نشان داده شده است که پس از زایلوز، گلوکز بیشترین تاثیر را در رنگ زدایی قرمز کنگو توسط سویه باسیلوس سابتیلیس بعد از ۲۴ ساعت را دارد. گالاکتوز

کمترین تاثیر را در رنگ زدایی دارد. زمانی که رنگ قرمز کنگو تنها منبع کربن مورد نیاز باکتری بود، ۴۳ درصد حذف رنگ طی ۲۴ ساعت صورت گرفت.



نمودار ۱: نمودار تاثیر منبع کربن بر رنگ زدایی قرمز کنگو بعد از ۲۴ ساعت

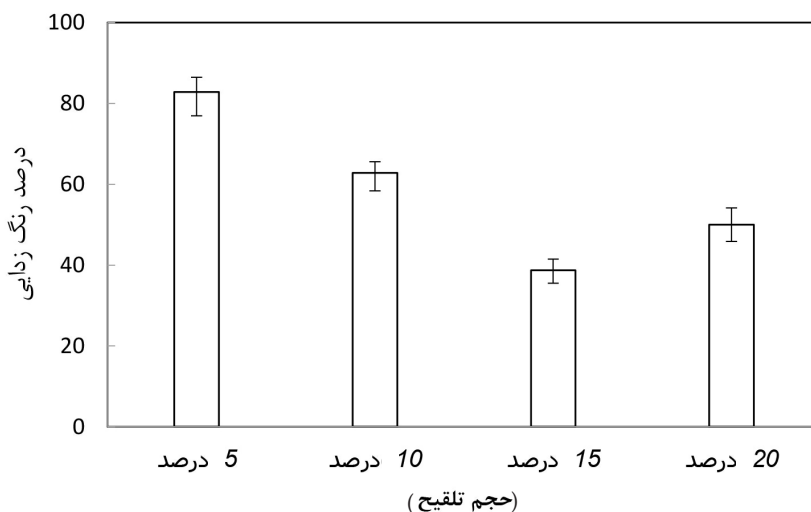
**تاثیر منبع نیتروژن بر رنگ زدایی بعد از ۲۴ ساعت**  
 نتایج نشان داد زمانی که منبع نیتروژن عصاره مخمر باشد، فعالیت رنگ زدایی حداکثر است. نمودار ۲ نشان میدهد که پس از عصاره مخمر، پپتون و  $(NH_4)_2SO_4$  بیشترین تاثیر را در در رنگ زدایی قرمز کنگو توسط سوسپانسیون باکتری با سیلیوس سابتیلیس بعد از ۲۴ ساعت را دارند. زمانیکه محیط کشت فاقد منبع نیتروژن باشد کمترین رنگ زدایی مشاهده شد. بنابراین حضور منبع نیتروژن عامل مهمی در رنگ زدایی است و عصاره مخمر بهترین منبع نیتروژن است.



نمودار ۲: نمودار تاثیر منبع نیتروژن بر رنگ زدایی قرمز کنگو بعد از ۲۴ ساعت

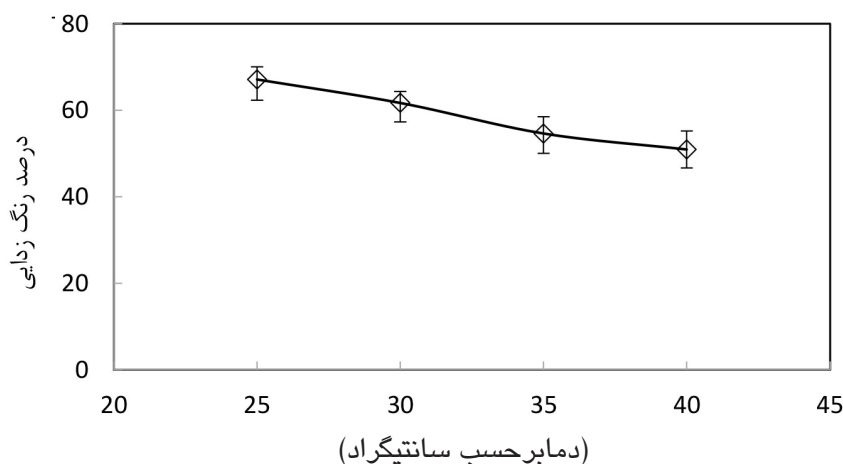


**تاثیر درصد تلقیح بر رنگ زدایی بعد از ۲۴ ساعت**  
 نتایج نشان داد بیشترین رنگ زدایی در درصد تلقیح پنج درصد انجام شد. همانطور که در نمودار ۳ نشان داده شده است، ترتیب تلقیح ۱۰، ۲۰ و ۱۵ درصد از محیط کشت، بیشترین تاثیر را در رنگ زدایی قرمز کنگو توسط سویه *Bacillus subtilis* بعد از ۲۴ ساعت را داشته اند.



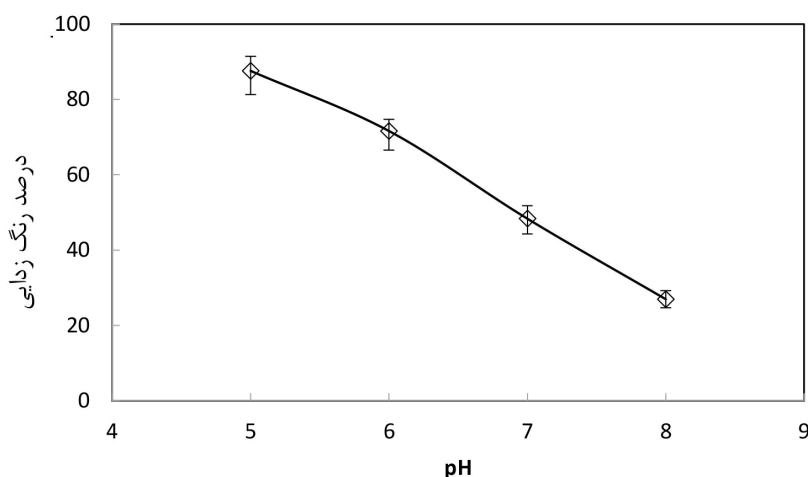
نمودار ۳: نمودار تاثیر درصد تلقیح بر رنگ زدایی قرمز کنگو بعد از ۲۴ ساعت

**تاثیر دما بر رنگ زدایی بعد از ۲۴ ساعت**  
 رنگ زدایی طی ۲۴ ساعت در ۲۵ درجه سانتیگراد انجام شد و افزایش دما باعث نمودار ۴ نشان داده شد که حداکثر فعالیت کاهش رنگ بری می شود.



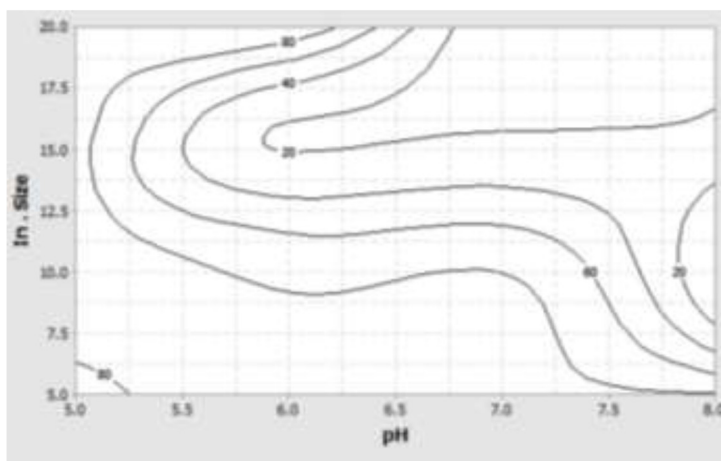
نمودار ۴: نمودار تاثیر دما بر رنگ زدایی قرمز کنگو بعد از ۲۴ ساعت

**تاثیر اسیدیته بر رنگ زدایی بعد از ۲۴ ساعت**  
 نمودار ۵ نشان میدهد که حداکثر فعالیت رنگ زدایی در اسیدیته ۵ انجام شد و افزایش pH باعث کاهش فعالیت رشد این سویه باکتری شده و در نتیجه رنگ بری نیز کاهش یافته است.



نمودار ۵: نمودار تاثیر pH بر رنگ زدایی قرمز کنگو بعد از ۲۴ ساعت

**تاثیر متقابل بین فاکتور pH و درصد تلقیح بر میزان رنگ بری بعد از ۲۴ ساعت**  
 طبق نمودار شماره ۶ در یک pH ثابت، با افزایش میزان تلقیح، میزان رنگ بری با افزایش میزان تلقیح می یابد. همچنین در یک درصد تلقیح ثابت، با افزایش میزان pH، میزان رنگ بری کاهش می یابد. بیشترین رنگ بری زمانی انجام می شود که درصد تلقیح پنج درصد و pH برابر با پنج باشد.



نمودار ۶: تاثیر متقابل بین فاکتور pH و درصد تلقیح بر میزان رنگ بری قرمز کنگو

## بحث

بر اساس P-Value بدست آمده در جدول ۵، مشخص گردید که سه عامل منبع نیتروژن، دما و درصد تلقیح اثر معنا دار در تجزیه رنگ دارند. همچنین دو عامل اسیدیته و درصد تلقیح اثر متقابل دارند با این مفهوم که در یک pH ثابت، با افزایش میزان تلقیح، میزان رنگ بری کاهش می یابد. همچنین در یک درصد تلقیح ثابت، با افزایش میزان pH، میزان رنگ بری کاهش می یابد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که حداکثر فعالیت رنگ زدایی در اسیدیته ۵ انجام شد و افزایش pH باعث کاهش فعالیت رشد باکتری شده و در نتیجه رنگ بری نیز کاهش یافت. Suganya و Sahasrabudh در مطالعات خود دریافتند که باکتری جداسازی شده در اسیدیته ۵ حداکثر رنگ زدایی را داشتند. نتایج این تحقیقات با تحقیق حاضر، همخوانی دارد (Shah et al., 2011) (Sahasrabudhe et al., 2013).

اسیدیته بر روی ساختار رنگ و فعالیت آنزیم تاثیر گذار است و تغییرات pH باعث غیر فعال شدن آنزیم های دخیل در رنگ زدایی می شود (Kannan et al., 2013) (Sawhney et al., 2011).

همچنین نتایج نشان داد که با افزایش درصد تلقیح میزان رنگ زدایی کاهش پیدا می کند. (Lucious) و همکاران در سال (۲۰۱۴) به این نتیجه رسیدند که

افزایش درصد تلقیح باعث کاهش رنگ زدایی در گونه های باسیلوس می شود. نتایج این تحقیق با تحقیق حاضر همسویی دارد (Lucious et al., 2014). البته همواره متناسب با افزایش درصد تلقیح درصد رنگ زدایی افزایش پیدا نمی کند. همچنین تحقیقات نشان داده است که ارتباط واضحی بین درصد رنگ زدایی و درصد تلقیح وجود ندارد (Amr et al., 2012). (Lucious et al., 2014).

در رابطه با منبع ازت مشخص شد، زمانی که منبع نیتروژن عصاره مخمر باشد، فعالیت رنگ زدایی بیشتر است. تحقیقات Sethi و Bibi نشان داده است که زمانیکه عصاره مخمر به عنوان منبع نیتروژن باشد، رنگ زدایی به حداکثر خود می رسد. این نتایج با نتایج تحقیق حاضر تطابق دارد (Sethi et al., 2012, Bibi et al., 2012). منبع نیتروژن جهت رنگ زدایی بسیار با اهمیت است زیرا این منبع برای احیاء NADH ضروری است. در باکتری به عنوان الکترون دهنده در شکستن پیوندهای آزو نقش بسیار مهمی بازی می کند. (Sahasrabudhe et al., 2014, 2011).

نتایج این بررسی نشان داد اگر منبع کربن زایلوز باشد، فعالیت رنگ زدایی حداکثر است. زمانی که رنگ قرمز کنگو تنها منبع کربن مورد نیاز باکتری بود، حدود ۵۰ درصد رنگ حذف شد. Sahasrabudhe و

امری لازم و ضروری است. همچنین به دلیل مصرف رنگ قرمز کنگو در صنایع نساجی ایران و ورود میزان زیاد این رنگ در طول عملیات رنگرزی به محیط و عدم تصفیه رنگ فوق، این رنگ جهت رنگ زدایی انتخاب شد.

با توجه به اینکه باکتری باسیلوس سابتیلیس پاتوژن و سمی نیست و باعث هیچگونه بیماری جدی در انسان و سایر جانوران نمی شود و در همه جا از جمله خاک، آب و کمپوست گیاهی یافت می شود (Priest, 1993) و همچنین رنگ بری این باکتری در محدوده وسیعی از شرایط صورت می گیرد، می توان گفت سویه جداسازی شده مذکور انتخاب مناسبی برای استفاده در عملیات تصفیه پساب کارخانجات نساجی می باشد. از سویی میتوان پایلوت سیستم را به گونه ای طراحی کرد که پس از طی مدت زمان تخمیر و رنگزدایی باکتری را رسوب داده، و مانع از ورود آن به محیط زیست شد. همچنین با توجه به ویژگی سویه جداسازی شده در این تحقیق شامل تجزیه هوازی رنگ آزو و تحمل شرایط پیچیده پساب، پیشنهاد می شود از سیستم های تصفیه زیستی شامل این باکتری استفاده شود.

شرایط بهینه برای یاکتری جدا شده شامل زایلوز به عنوان منبع کربن، عصاره مخمر به عنوان منبع نیتروژن، اسیدیته برابر ۵، درصد تلقیح پنج درصد و دمای ۲۵ درجه

همکاران در سال ۲۰۱۴ با توجه گوناگونی استفاده از انواع منابع کربن نتایج مشابهی را بدست آوردند (Sahasrabudhe et al., 2014). برای افزایش رنگ زدایی، منبع کربن اضافی در محیط اختصاصی نیاز است. باکتری در فقدان منبع کربن هم می تواند رنگ آزو را تا حدودی تجزیه کند. منبع کربن می تواند الکترون های کافی برای شرایط احیاء فراهم کند تا باکتری بتواند پیوندهای آزو را بشکند (Sethi et al., 2012, Bibi et al., 2012, Sahasrabudhe et al., 2014).

دمافاکتور موثر دیگری در رنگزدایی است. نتایج حاصله روشن نمود که افزایش دما باعث کاهش قابل ملاحظه ای در رنگ زدایی می شود. Sahasrabudhe و Suganya و Kannan در تحقیق خود به این نتیجه رسیدند که در دمای بالا رنگ زدایی بطور قابل ملاحظه ای کاهش پیدا می کند. این تحقیقات مطابق با تحقیق حاضر است (Praveen et al., 2012, Suganya et al., 2014). دما نقش مهمی در رشد باکتری و فعالیت آنزیم بازی می کند. (Sahasrabudhe et al., 2014, Kannan et al., 2013).

### نتیجه گیری

با توجه به مصرف بیش از حد آب در صنایع نساجی و عدم تصفیه پساب نساجی در کشورهای در حال توسعه بخصوص ایران، تصفیه این پساب ها

سانتیگراد می باشد. پیش بینی نرم افزار آماری Minitab نشان داد که باکتری جدا شده در شرایط بهینه توانایی حذف کامل رنگ را دارد و با توجه به معنا دار بودن فاکتورها طی ۲۴ ساعت و همچنین حذف قابل توجه و چشمگیر رنگ طی این مدت، پیشنهاد می گردد این دوره انکوباسیون در تصفیه پساب به کار گرفته شود.

## Refrence

- Alalewi, A. & Jiang, C. (2012) Bacterial influence on textile wastewater decolorization. *Journal of Environmental protection* 3(08): 889.
- Greenberg, A. (2005) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.*: American Water Works Association. American Public Works Association/Water Environment Federation, 9-37.
- Eton, A. D. , Clesceri S. L., Greenberg, A. E., Franson M.A. H. (1915) *Standard methods for the examination of water and wastewater (Vol. 2).* American Public Health Association.
- Banat, I. M., Nigam, P., Singh, D. & Marchant, R. (1996) Microbial decolorization of textile-dyecontaining effluents: a review. *Bioresource technology*, 58(3): 217-227.
- Bhatt, N., Patel, K. C., Keharia, H. & Madamwar, D. (2005) Decolorization of di-azo-dye Reactive Blue 172 by *Pseudomonas aeruginosa* NBAR12. *Journal of basic microbiology* 45(6): 407-418.
- Bibi, R., Arshad, M. & Asghar, H. N. (2012) Optimization of Factors for Accelerated Biodegradation of Reactive Black-5 Azo Dye. *International Journal of Agriculture & Biology* 353-359.
- Campos, R., Kandelbauer, A., Robra, K. H. Cavaco-Paulo, A. & Gübitz, G. M. (2001) Indigo degradation with purified laccases from *Trametes hirsuta* and *Sclerotium rolfsii*. *Journal of biotechnology* 89(2), 131-139.
- Carliell, C. M., Barclay, S. J., Naidoo, N., Buckley, C. A., Mulholland, D. A. & Senior, E. (1995) Microbial decolourisation of a reactive azo dye under anaerobic conditions. *Water Sa-Pretoria-*, 21, 61-61.
- Chang, J. S., Chou, C. & Chen, S. Y. (2001) Decolorization of azo dyes with immobilized *Pseudomonas luteola*. *Process Biochemistry*, 36(8): 757-763.
- Chen, K. C., Wu, J. Y., Liou, D. J. & Hwang, S. C. J. (2003) Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains. *Journal of Biotechnology* 101(1): 57-68.

- Clarke, E. A. & Anliker, R. (1980) Organic dyes and pigments. In Athropogenic compounds (pp. 181-215). Springer Berlin Heidelberg.
- Coughlin, M. F., Kinkle, B. K., Tepper, A. & Bishop, P. L. (1997) Characterization of aerobic azo dye-degrading bacteria and their activity in biofilms. *Water Science and Technology* 36(1): 215-220.
- Fu, Y. & Viraraghavan, T. (2001) Fungal decolorization of dye wastewaters: a review. *Bioresource technology* 79(3): 251-262.
- Gingell, R. & Walker, R. (1971) Mechanisms of azo reduction by *Streptococcus faecalis* II. The role of soluble flavins. *Xenobiotica* 1(3), 231-239.
- Gurulakshmi, M., Mani, D. S. & Venba, R. (2008) Biodegradation of Leather ACID Dye by *Bacillus subtilis* 7(05): 12-18.
- Horikoshi, K. & Akiba, T. (1982) Alkalophilic microorganisms: a new microbial world. Springer Verlag 276-283.
- Kannan, S., Dhandayuthapani, K. & Sultana, M. (2013) Original Research Article Decolorization and degradation of Azo dye-Remazol Black B by newly isolated *Pseudomonas putida*. *International Journal of Current Microbiol. Apps for Science* 2(4): 108-116.
- Khalid, A., Arshad, M. & Crowley, D. E. (2008) Decolorization of azo dyes by *Shewanella* sp. under saline conditions. *Applied microbiology and biotechnology* 79(6): 1053-1059.
- Lewis, D. M. (1999) Coloration in the next century. *Coloration Technology* 29(1), 23-28.
- Liu, G. F., Zhou, J. T., Wang, J., Song, Z. Y. & Qv, Y. Y. (2006) Bacterial decolorization of azo dyes by *Rhodopseudomonas palustris*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 22(10): 1069-1074.
- Lucious, S., Reddy, E. S., Anuradha, V., Yogananth, N., Ali, M. Y. S., Vijaya, P. & Parveen, P. M. K. (2014) Decolorization of acid dyes by *B. cereus* and *P. aeruginosa* isolated from effluent of dyeing industry. *International Journal of Pure and Applied Biosciences* 2(3): 23-29.
- MacPhee, D. G. & Podger, D. M. (1975) Hair dyes correspondence. *Medical journal australia* 2(1): 33.
- McMullan, G., Meehan, C., Conneely, A., Kirby, N., Robinson, T. Nigam, P. & Smyth, W. F. (2001) Microbial decoloriation and degradation of textile dyes. *Applied microbiology and biotechnology*, 56(1-2): 81-87.
- Moosvi, S., Keharia, H. & Madamwar, D. (2005) Decolorization of textile dye Reactive Violet 5 by a newly isolated bacterial consortium RVM 11.1. *World*

- Journal of Microbiology and Biotechnology 21 (5): 667-672.
- Namasivayam, C., Radhika, R. & Suba, S. (2001) Uptake of dyes by a promising locally available agricultural solid waste: coir pith. Waste Management 21(4): 381-387.
- Nigam, P., Banat, I. M., Singh, D. & Marchant, R. (1996) Microbial process for the decolorization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes. Process biochemistry 31(5): 435-442.
- Nikulina, G. L., Deveikis, D. N. & Glu, P. (1995) Toxicity dynamics of anionic dyes in the air of a work place and long-term effects after absorption through the skin. Meditsina truda i promyshlennaia ekologiia (6): 25-28.
- O'Neill, C., Hawkes, F. R., Hawkes, D. L., Lourenço, N. D., Pinheiro, H. M. & Delée, W. (1999) Colour in textile effluents—sources, measurement, discharge consents and simulation: a review. Journal of Chemical Technology and Biotechnology 74(11): 1009-1018.
- Pearce, C. I., Lloyd, J. R. & Guthrie, J. T. (2003) The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: a review. Dyes and pigments 58(3): 179-196.
- Praveen Kumar, G. N. & Bhat Sumangala, K. (2012) Decolorization of azo dye Red 3BN by bacteria
- Priest, F. G. (1993) Systematics and ecology of Bacillus. In *Bacillus subtilis* and other Gram-positive bacteria (pp. 3-16). American Society of Microbiology.
- Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R. & Nigam, P. (2001) Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. Bioresource technology 77(3), 247-255.
- Sahasrabudhe, M. M., Saratale, R. G., Saratale, G. D. & Pathade, G. R. (2014) Decolorization and detoxification of sulfonated toxic diazo dye CI Direct Red 81 by *Enterococcus faecalis* YZ 66. Journal of Environmental Health Science and Engineering 12(1): 151-159.
- Sahasrabudhe, M. M. & Pathade, G. R. (2011) Decolourization of CI reactive yellow 145 by *Enterococcus faecalis* strain YZ66. Archives of Applied Science Research 3(3): 403-414.
- Sawhney, R. & Kumar, A. (2011) Congo Red (Azo dye) decolourization by local isolate VTII inhabiting dye effluent exposed soil. International Journal of Environmental Sciences 1(6): 1261.3
- Sethi, S. Malviya, M. M. Sharma, N. & Gupta, S. (2012) Biodecolorization of



- Azo Dye by Microbial Isolates from Textile Effluent and Sludge. *Universal Journal of Environmental Research & Technology* 582-590.
- Shah, M. P. Patel, K. A . & Darji, A. M. (2013) Microbial Degradation and Decolorization of Methyl Orange dye by an Application of *Pseudomonas* spp. ETL-1982. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation* 1(1), 26-36.
- Suganya, K. Revathi, K. Anuradha, V. & Gopi, K. (2014) Optimization of Parameters for Decolorization of Reactive Dyes using Bacterial Isolates. *Bio-science Biotechnology Restaurant Asia* 11: 339-342.
- Taran, M. & Amirkhani, H. (2010) Strategies of poly (3-hydroxybutyrate) synthesis by *Haloarcula* sp. IRU1 utilizing glucose as carbon source: optimization of culture conditions by Taguchi methodology. *International journal of biological macromolecules* 47(5): 632-634.
- Yang, W. P. & Tarng, Y. S. (1998) Design optimization of cutting parameters for turning operations based on the Taguchi method. *Journal of materials processing technology* 84(1): 122-129.
- Wang, S. (2008) A comparative study of Fenton and Fenton-like reaction kinetics in decolourisation of wastewater. *Dyes and Pigments* 76(3) 714-720.
- Wuhrmann, K. Mechsner, K. L. & Kappeler, T. H. (1980) Investigation on rate—Determining factors in the microbial reduction of azo dyes. *Applied microbiology and biotechnology* 9(4): 325-338.
- Zissi, U. & Lyberatos, G. (1996) Azo-dye biodegradation under anoxic conditions. *Water Science and Technology* 34(5-6): 495-500.