بررسی تجزیه میکروبی رنگ ایندیگوکارمین توسط باکتری گرم مثبت باسیلوس آلبوس

سمیه نوری[۱]، سلمان احمدی اسب چین[۱*]

۱) گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۵ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۵**

چکیده

مقدمه: از مهم ترین آلاینده های زیست محیطی می توان به رنگ های سنتزی اشاره کرد. تقریباً ده هزار رنگ و رنگدانه های متفاوت در صنعت استفاده می شود و بیش از ۰/۷ میلیون تن از رنگ های سنتزی سالانه در سراسر جهان تولید می شود. رنگ های سنتزی در صنایع نساجی، رنگرزی، چرم سازی، کاغذسازی، چاپ، غذایی و دارویی استفاده می شوند. بیشتر رنگ ها برای گیاهان و جانوران سمی یا جهش زا و سرطان زا هستند. تخلیه این پساب ها به داخل آب ها باعث آسیب به محیط زیست می گردد. بنا بر این حذف این رنگزاها از محیط زیست ضروری به نظر می رسد. روش های مختلف فیزیکی و شیمیایی برای رنگ زدایی پساب های رنگی نساجی وجود دارد اما این روش ها نسبتاً پرهزینه هستند و اغلب محصولات جانبی خطرناکی تولید می کنند. در سال های اخیر از روش تجزیه زیستی به خاطر هزینه کم و مطمئن به عنوان روش جایگزین و بی خطر استفاده گردید. در این روش میکروارگانیسم ها، به ویژه باکتری ها جهت حذف رنگ ها استفاده می شوند. هدف از تیمار میکروبی رنگ زدایی و سم زدایی از پساب های آلوده به رنگ می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه از باکتری باسیلوس آلبوس جداسازی شده از پساب صنعتی در مازندران به عنوان یک نمونه از باکتری های گرم مثبت استفاده گردید. رنگ زدایی به وسیله این باکتری در سیستمی که شامل محیـــط کشـــت و رنگ است مورد بررسی قرار گرفت. عوامل موثر در رنگ زدایی ایندیگوکارمین شامل زمان، غلظت اولیه رنگ، دما، pH، به هم زدن یا بدون هم زدن، هوازی یا بی هوازی مورد آزمایش قرار گرفت.

یافته های پژوهش: نتایج نشان داد طی یک دوره ۵۴ ساعته، دمای ۵۰ درجه سانتی گراد، غلظت رنگ ۱۰۰ میلی گرم در لیتر و pH حدود ۱۰، بیشینه رنگ زدایی که برابر با ۹۵ درصد است انجام گرفت.

بحث و نتیجه گیری: مطالعه حاضر تاثیر بالای این سویه از باسیلوس در حذف رنگ را تایید می کند. آزمایش اصلی در رنگ زدایی ایندیگوکارمین در شرایط هوازی متمرکز شد.

واژه های کلیدی: باسیلوس آلبوس، ایندیگوکارمین، پساب، رنگ زدایی، تجزیه زیستی رنگ

* نویسنده مسئول: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

Email: sahmadyas@yahoo.fr

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

آلودگی محیط زیست یکی از مهم ترین و اصلی ترین مشکلاتی است که جهان امروز با آن دست و پنجه نرم می کند. بنا بر این، آگاهی از اهمیت محیط زیست سالم و پاک ، برای زندگی بهتر و سالم تر، افزایش می یابد. در دهه های اخیر با افزایش رشد جمعیت جهان و افزایش بیش از حد فعالیت های صنعتی به همراه عدم رعایت استانداردهای زیست محیطی سبب شده تا مقادیر زیادی از آلاینده ها به محیط زیست وارد شوند. از این رو ارائه راهکارهایی جهت کاهش مصرف و استفاده صحیح از این ترکیبات و حذف آلاینده ها از محیط زیست ضروری به نظر می رسد(۳-۱).

در این میان، رنگ های سنتزی به عنوان یکی از آلاینده های سمی و مضر می باشند که خطر و تهدیدی جدی برای سلامت موجودات زنده اکوسیستم از جمله انسان به حساب می آیند. رنگ ها در صنایع مختلف مانند چرم سازی، پارچه بافی، پزشکی، غذایی، آرایشی و بهداشتی و به ویژه صنایع نساجی و رنگرزی مورد استفاده قرار می گیرند. رنگ های سنتزی از خطرناک ترین آلوده کننده هایی هستند که وجودشان در آب نشانه ای از آلودگی آب ها محسوب می گردد، بنا بر این اکوسیستم های آبی به شدت در معرض خطر هستند. از آن جایی که در صنایع نساجی و رنگرزی مقادیر زیادی آب مصرف می گردد، بنا بر این این صنایع از بزرگ ترین مصرف کنندگان آب می باشد. در نتیجه پساب این صنایع آلوده به مواد رنگزا می گردد، مقادیر زیاد رنگ موجود در فاضلاب این صنایع، سمی، مقاوم به تجزیه زیستی و در محیط زیست پایدار می باشد(۴،۵).

مواد رنگزایی که در صنایع رنگرزی به کار می روند بر اساس ساختار شیمیایی و مولکولی که دارند شامل رنگ های دایرکت، رنگ های ری اکتیو و رنگ های سولونت می باشند(۶،۷). تقسیم بندی دیگر مواد رنگزا بر اساس کاربردی که دارند شامل رنگزاهای بازی، رنگزاهای اسیدی، رنگزاهای مستقیم، رنگزاهای دندانه ای، رنگزاهای آزوئیکی، رنگزاهای گوگردی، رنگزاهای خمره ای، رنگزاهای دیسپرس و رنگزای ری اکتیو می باشند(۸،۹). اولین رنگزای سنتزی تجاری به نام ماووین در سال ۱۸۵۶ توسط ویلیام هنری پرکین کشف و تا پایان قرن نوزدهم بیش از ده هزار رنگزا و رنگدانه مصنوعی آلی تهیه گردد(۱۰،۱۱).

از آن جایی که، فرآیندهای صنعتی عموماً در نزدیک آب انجام می شوند، به طوری که بیشتر کارخانه های نساجی، رنگرزی، آبکاری فلزات و غیره در مجاورت رودخانه ها و جایی که آب وجود دارد قرار دارند، در نتیجه این فرآیندها به همراه فاضلابی که از این صنایع خارج می شود، آلودگی های آب را از طریق مواد آلی و غیرآلی افزایش می دهند. بنا بر این، رنگزاها از جمله آلوده کننده های موثر بر آب ها هستند(۱۲). فاضلاب این صنایع علاوه بر داشتن انواع مواد رنگزای مصنوعی دارای ترکیباتی نظیر اسیدها، شوینده ها، اکسیدکننده ها، نمک و غیره می باشد(۳).

رنگ های سنتزی برای موجودات زنده شامل، جانوران و گیاهان سمی، جهش زا و سرطان زا هستند. تخلیه پساب های رنگی صنایع به داخل رودخانه ها و دریاچه ها باعث مرگ و میر آبزیان می گردد، در نتیجه زندگی موجودات آبزی را به مخاطره انداخته و در نهایت می تواند از طریق چرخه غذایی به انسان ها منتقل گردد(۱۳). پساب های واجد مواد رنگی که از طریق آب آلوده به بدن انسان وارد می شوند می توانند سبب اختلالاتی مانند تهوع، سوراخ شدن سپتوم بینی، زخم شدن پوست و غشاء مخاطی، آسیب کلیوی، گرفتگی عضلانی، آماس پوست، خونریزی، فشارخون بالا، تب پراکنده، سوزش شدید دستگاه تنفسی و هم چنین سرطان گردد. با وجود این که رنگ های آلی تنها بخش کوچکی از بار آلی پساب را تشکیل می دهند، ولی وجود آن ها با این مقدار کم نیز قابل قبول نیست. این رنگ ها و یا مشتقات حاصل از تجزیه آن ها سمیت زیادی داشته و باعث جهش ژنتیکی می گردند. بنا بر این برای جلوگیری از خطرات آن ها نیاز به حداقل رساندن انتشار زیست محیطی رنگ ها ضروری می باشد.

روش های مختلف حذف رنگ های سنتزی از فاضلاب شامل روش های فیزیکی، شیمیایی و زیستی می باشند. از جمله روش های فیزیکی و شیمیایی از قبیل اکسیداسیون، نانوفیلتراسیون، اوزوناسیون، جذب، انعقاد و ته نشینی می توان نام برد. این روش ها در تصفیه پساب های آلوده به دلیل ثبات شیمیایی این

آلوده کننده های رنگی خیلی کارآمد و موثر نمی باشند؛ از نظر اقتصادی پرهزینه بوده و گاهی محصولات جانبی خطرناکی تولید می کنند و از سویی باعث تولید لجن فعال می گردد. این روش ها در امر تصفیه پساب ها به زمان بیشتری نیاز دارند و از لحاظ اجرا مراحل سخت و پیچیده ای را شامل می گردند، آلودگی های ثانویه ایجاد کرده و قادر به حذف کامل رادیکال های رنگزا و متابولیت های آن ها نمی باشد(۹). در چند دهه اخیر حذف آلاینده ها از جمله رنگزاها با استفاده از روش های زیستی بسیار مورد توجه محققان قرار گرفته است. روش زیستی بر اساس حضور یک میکروارگانیسم زنده برای آلودگی زدایی و تیمار فاضـــلاب های آلـــوده استفاده می گردد. در این روش از میکروارگانیسم ها برای تجزیه آلاینده استفاده می گردد. میکروارگانیسم های مختلف شامل باکتری ها، قارچ ها و جلبک ها در این روش مورد استفاده قرار می گیرند. روش تیمار زیستی مزایای قابل توجهی دارد، از جمله، روش سازگار با محیط زیست و دوستدار محیط زیست، ارزان قیمت و کم هزینه، دائمی و آسان، تولید لجن بسیار کم و هم چنین محصولات پایانی که در اثر تجزیه تولید می گردد به طور کامل معدنی هستند و این تولیدات سمی نمی باشند(۱۴،۱۵).

در این تحقیق از باکتری باسیلوس آلبوس از جنس باسیلوس که از باکتری های گرم مثبت(باکتری ساپروفیت در خاک، آب و هوا دیده می شود، کاتالاز مثبت) می باشد، استفاده گردید. به منظور جداسازی باکتری های تجزیه کننده رنگ نمونه برداری در اوایل آبان ۱۳۹۵ انجام گرفت، نمونه ها به صورت پساب و لجن از کارخانه صنعتی رنگ سازی در مازندران به آزمایشگاه انتـــقال یافت. پس از چندین بار کشت و خالص سازی باکتری ها، باکتری مورد نظر در محیط کشت نوترینت آگار به صورت خطی کشت داده شد. نمونه کشت داده شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد و کشت تازه ای از باکتری به مقدار زیاد تهیه گردید. ســـپس از این باکتری به منظور رنگ زدایی رنگ اینـــدیگوکارمین در شرایط هوازی و بی هـــــوازی بررسی گـــردید، زیرا باکتری گرم مثبت هوازی-بی هوازی اخـــتیاری می باشد.

مواد و روش ها

به منظور جداسازی باکتری تجزیه کننده رنگ ایندیگوکارمین، نمونه برداری از پساب و لجن کارخانه صنعتی رنگ سازی در مازندران انجام گرفت و به آزمایشگاه انتقال یافت. از آن جایی که محیط واجد رنگ می باشد عموماً دارای باکتری های تجزیه کننده رنگ نیز می باشد، لذا پس از چندین بار کشت و خالص سازی باکتری ها در محیط کشت نوترینت آگار(شرکت مرک)، باکتری مورد نظر جداسازی گردید. سپس برای انجام آزمایشات رنـــگ زدایـــی محیط کشت نوترینت براث(شرکت مرک) تهیه گردید و باکتری مورد نظر در این محیط، کـــشت داده شد و در حضـــور رنگ ایندیگوکارمین مورد آزمایش قرار داده شد و پارامترهای مختلفی نظیر غلظت های اولیه رنگ، زمان، pH و غیره به منظور بررسی توانایی رنگبری رنگ ایندیگوکارمین مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی هر یک از پارامترها، یک پارامتر را متغیر و بقیه را ثابت در نظر گرفته شد.

بررسی اثر غلظت بر رنگ زدایی رنگ ایندیگوکارمین توسط باکتری باسیلوس آلبوس: به منظور بررسی اثر غلظت اولیه رنگ ایندیگوکارمین به وسیله باسیلوس مورد نظر غلظت های ۲۰۰-۲۵ (۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰) میلی‌گرم بر لیتر از رنگ تهیه گردید. چهار محیط کشت نوترینت براث که هر کدام حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت نوترینت براث می باشد تـــهیه گردید سپس pH آن ها را با pH بهینه رشد باکتری ها تنظیم کرده، باکتری به این محیط ها تلقیح گردید بعد از گذشت ۲۴ ساعت رنگ ایندیگوکارمین اضافه گردید سپـــس در بازه های زمانی متفاوت مقدار ۵ میلی لیتر از محیط برداشته و بعد از سانتریفیوژ با دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ده دقیقه، صورت گرفت. سپس محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ را جداسازی کرده و میزان رنگ موجود در آن را توسط دستگاه اسپکتروفتومتری با طول موج nm ۶۰۰ اندازه گیری گردید(۱۳،۱۴).

بررسی تاثیر زمان بر رنگ زدایی رنگ ایندیگوکارمین توسط باکتری باسیلوس آلبوس: به منظور بررسی تاثیر زمان بر میزان رنگ زدایی ایندیگوکارمین به وسیله باسیلوس پس از تهیه محیط کشت pH محیط توسط دستگاه pH متر در pH بهینه تنظیم گردید. سپس میزان

رنگ زدایی از زمان صفر تا ۷۲ ساعت بررسی گردید. در هر یک از بازه های زمانی ۵ میلی لیتر از محیط برداشته و پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر میزان رنگ زدایی در آن مشخص گردید. بررسی نتایج نشان داد که در کدام بازه زمانی بیشترین میزان رنگ زدایی توسط باکتری صورت گرفته بود و زمان بهینه رنگ زدایی به دست آمد. در ادامه تعیین سایر بهینه ها برای پارامترهای بعدی با توجه به این زمان بهینه مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی تاثیر pH بر رنگ زدایی از سوی باکتری باسیلوس آلبوس: به منظور بررسی تاثیر پارامتر pH بر رنگ زدایی بعد از تهیه محیط کشت ها و قبل از اتوکلاو pH هر یک از محیط ها با استفاده از HCl و NaOH توسط دستگاه pH متر، pH های اسیدی تا بازی تنظیم گردید. پس از گذشت مدت زمان بهینه به دست آمده در آزمایش های قبلی، ۵ میلی لیتر از هر محیط توسط دستگاه سانتریفیوژ با دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و محلول رویی به دست آمده به منظور سنجش میزان رنگ موجود در آن با دستگاه اسپکتروفتومتری با طول موج ۶۰۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. سپس pH بهینه جهت انجام رنگبری رنگ ایندیگوکارمین از سوی سیستم مشخص گردید.

بررسی تاثیر دما بر رنگ زدایی توسط باکتری باسیلوس آلبوس: به منظور بررسی تاثیر دما بر رنگبری رنگ ایندیگوکارمین از سوی باکتری، میزان رنگ زدایی در زمان بهینه در دماهای(۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰) درجه سانتی گراد انجام گرفت. سپس از سانتریفیوژ با دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر میزان رنگ موجود در محیط اندازه گیری شد و پس از آن آنالیز داده به دست آمده، دمای بهینه در رنگبری رنگ ایندیگوکارمین از سوی باکتری تعیین گردید.

بررسی تاثیر شرایط شیکینگ و استاتیک بر رنگ زدایی توسط باکتری باسیلوس آلبوس: به منظور بررسی شرایط شیکینگ(هوادهی) و ایستایی(استاتیک) در رنگ زدایی رنگ ایندیگوکارمین توسط باکتری، ابتدا در محیط کشت های تهیه شده pH را بهینه در نظر گرفته و بعد از تلقیح باکتری و رنگ، یک محیط در انکوباتور استاتیک(بدون هم زدن) در مدت زمان بهینه و دمای بهینه قرار داده شد. سپس در مدت زمان بهینه مقدار ۵ میلی لیتر از محیط برداشته و بعد از سانتریفیوژ با دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه میزان رنگ زدایی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین گردید. در بررسی شرایط شیکینگ(هم زدن) محیط دیگر را در انکوباتور شیکردار(rpm ۱۵۰) با توجه به pH و دمای بهینه به دست آمده قرار داده و در مدت زمان بهینه سانتریفیوژ با دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت و سپس توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۶۰۰ نانومتر میزان رنگ زدایی از سوی باکتری تعیین گردید. پس از مقایسه داده های به دست آمده مشخص گردید در کدام یک از شرایط باکتری توانایی بیشتری در رنگ زدایی رنگ ایندیگوکارمین را دارا می باشد.

تاثیر بیومس مرده و زنده باکتریایی در رنگ زدایی ایندیگوکارمین: به منظور بررسی میزان رنگ زدایی در این دو شرایط، پس از تهیه محیط کشت نوترینت براث که pH آن برابر بهینه تنظیم گردید، پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری رنگ ایندیگوکارمین اضافه شد و در مدت زمان بهینه ۵ میلی لیتر از نمونه پس از سانتریفیوژ با دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه میزان رنگ موجود در محلول رویی توسط دستگاه اسپکتروفتومتری مشخص گردید. در بررسی بیوماس مرده باکتری پس از تهیه ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت با pH بهینه، باکتری تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد. سپس این محیط در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه اتوکلاو گردید. بیوماس مرده باکتریایی به دست آمده و رنگ ایندیگوکارمین اضافه شد. در مدت زمان بهینه ۵ میلی لیتر از محیط را سانتریفیوژ با دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت سپس توسط اسپکتروفتومتر میزان رنگ موجود در مایع رویی حاصل از سانتریفیوژ مشخص گردید.

تعیین درصد رنگ زدایی با استفاده از دستگاه طیف‌سنج تک طول موج: برای تعیین میزان رنگ زدایی از نتایج حاصل از بررسی شرایط مختلف نام برده شده، در صورتی که در محیط باکتری وجود داشته و فاز جامد

(شامل سلول باکتری) از فاز مایع نمونه های کشت توسط دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی گردید. در محلول رویی به دست آمده از سانتریفیوژ غلظت رنگ باقی مانده در طول موج بیشینه(λmax) مربوط به ماده رنگزای ایندیگوکارمین که برابر ۶۰۰ نانومتر است با استفاده از دستگاه طیف سنج اندازه‌گیری شد. درصد رنگ زدایی با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید(۱۴).

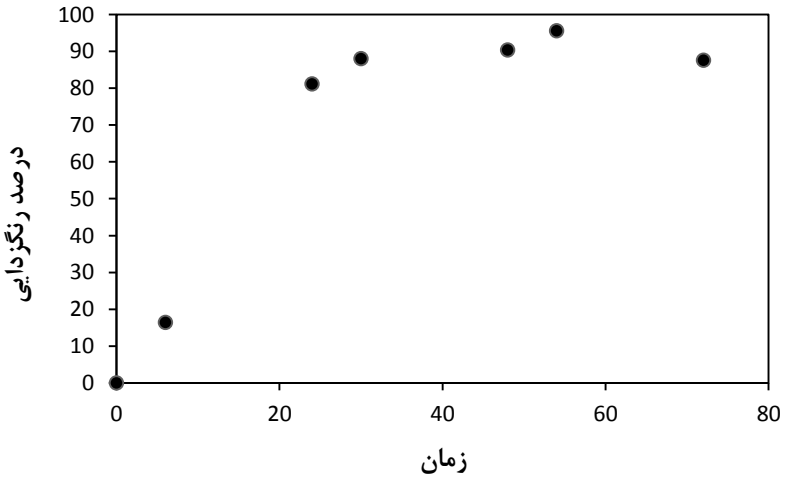
$$DE\ (\%) = \frac{OD_1 - OD_t}{OD_1} \times ۱۰۰ \qquad (۱)$$

که در این رابطه DE: توانایی رنگ زدایی(درصد)، OD_1: جذب اولیه، OD_t: جذب بعد از گذشت زمان t است(۱۴،۱۵).

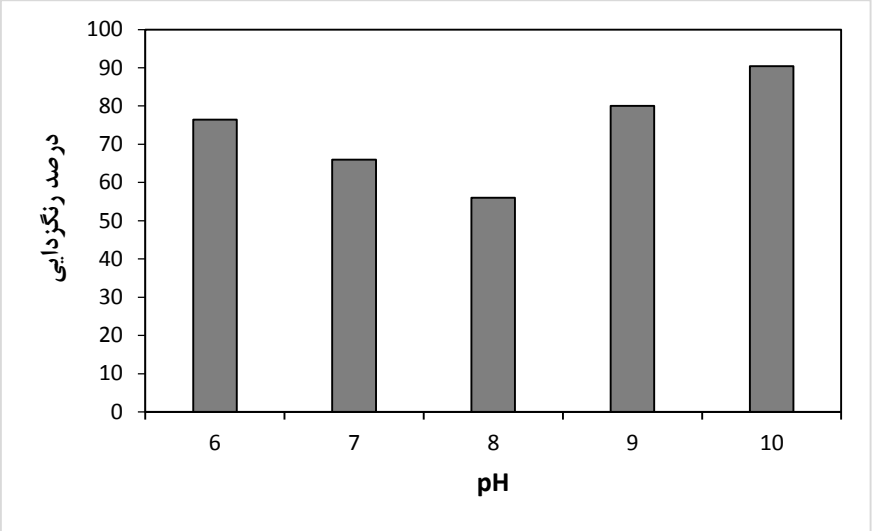
یافته های پژوهش

تاثیر زمان بر رنگ زدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری باسیلوس آلبوس: همان گونه که در شکل شماره ۱ مشاهده گردید، زمان از لحظه صفر تا ۷۲ ساعت مورد مطالعه قرار گرفت. با گذشت زمان از لحظه صفر تا حدود ۵۴ ساعت میزان رنگ زدایی از سوی باکتری به طور تصاعدی افزایش می یابد. به طوری که در ۵۴ ساعت میزان رنگ زدایی به ۹۵ درصد رسید و از زمان ۵۴ تا ۷۲ ساعت تغییر محسوس در میزان رنگ‌زدایی مشاهده نشد. در زمان ۵۴ ساعت بیشترین میزان تجزیه توسط باکتری نشان داده شد پس مشخص گردید که زمان بهینه جهت انجام رنگ زدایی از سوی سیستم معادل ۵۴ ساعت می باشد(شکل شماره ۱).

تاثیر pH بر میزان رنگ زدایی ایندیگوکارمین از سوی باکتری باسیلوس آلبوس: در بررسی میزان رنگ زدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری مورد نظر در pH های مختلف(۵، ۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰) مورد بررسی قرار گرفت که با گذشت زمان از لحظه صفر تا حدود ۵۴ ساعت و در pH حدود ۱۰ بیشترین میزان رنگ زدایی از سوی باکتری انجام گرفت به طوری که میزان رنگبری به حدود ۹۱ درصد رسید. بنا بر این pH حدود ۱۰ به عنوان pH بهینه جهت رنگ زدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری انتخاب گردید. باکتری در pH ۵ و ۶ توانایی رشد نداشت از این دو pH در محاسبه pH بهینه برای تجزیه رنگ از سوی باکتری محاسبه نگردید(شکل شماره ۲).



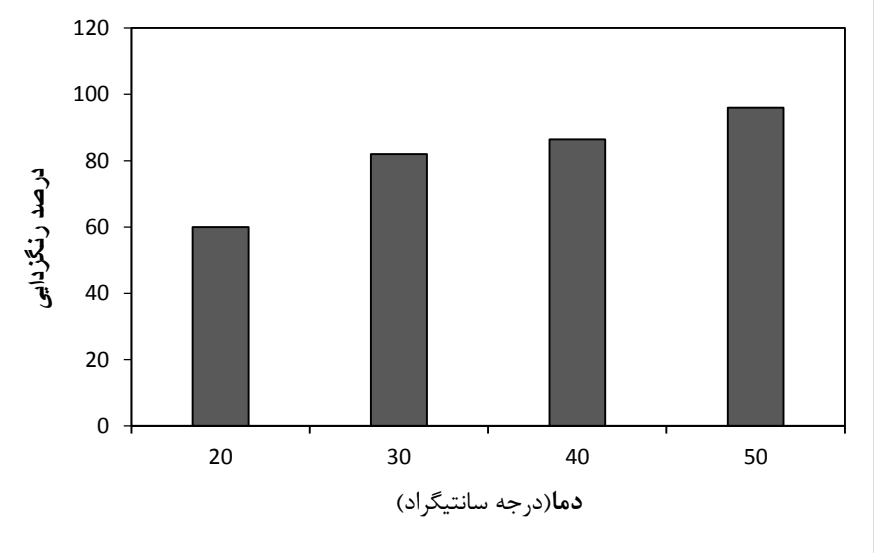
شکل شماره ۱. تاثیر زمان بر میزان رنگ زدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری باسیلوس آلبوس (دما ۳۷ درجه سانتی گراد، pH در حدود ۱۰، غلظت رنگ ۱۰۰ میلی گرم در لیتر)



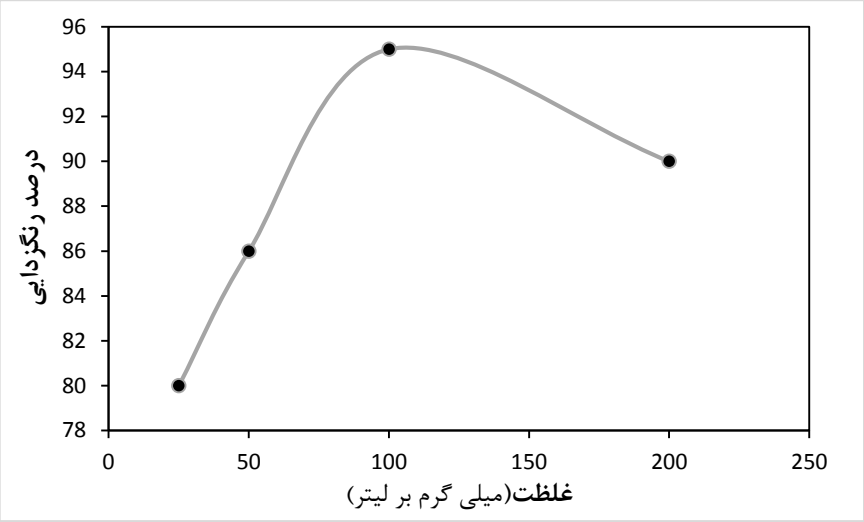
شکل شماره ۲. تاثیر pH بر میزان رنگ زدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری باسیلوس آلبوس

تاثیر دما بر میزان رنگ زدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری باسیلوس آلبوس: با بررسی تاثیر دماهای مختلف (۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰) مشخص گردید مناسب ترین دما جهت رنگ زدایی ایندیگوکارمین از سوی سیستم ۵۰ درجه سانتی گراد می باشد که باکتری در این دما بالاترین توانایی را در رنگبری دارا می باشد. درصد تجزیه رنگ ایندیگوکارمین در این دما ۹۶ درصد است. هم چنین مشخص شد با افزایش دما از ۳۰ به ۵۰ درجه سانتی گراد، درصد تجزیه رنگزا ایندیگوکارمین افزایش یافته است(شکل شماره ۳).

تاثیر غلظت های اولیه مختلف رنگ ایندیگوکارمین بر میزان رنگ زدایی توسط باکتری باسیلوس آلبوس: بررسی میزان رنگ زدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری در غلظت های مختلف(۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰) میلی گرم در لیتر نشان می دهد که با افزایش غلظت اولیه رنگ از ۲۵ تا ۱۰۰ میلی گرم در لیتر، درصد رنگ زدایی افزایش می یابد و در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر حدود ۹۵ درصد می باشد. اما از غلظت ۱۰۰ به ۲۰۰ میلی گرم در لیتر درصد رنگ زدایی کاهش یافت. در نتیجه غلظت بهینه رنگ زدایی توسط باکتری ۱۰۰ میلی گرم در لیتر مشخص شد در این غلظت باکتری توانایی بیشتری در رنگبری رنگ ایندیگوکارمین را دارا می باشد(شکل شماره ۴).



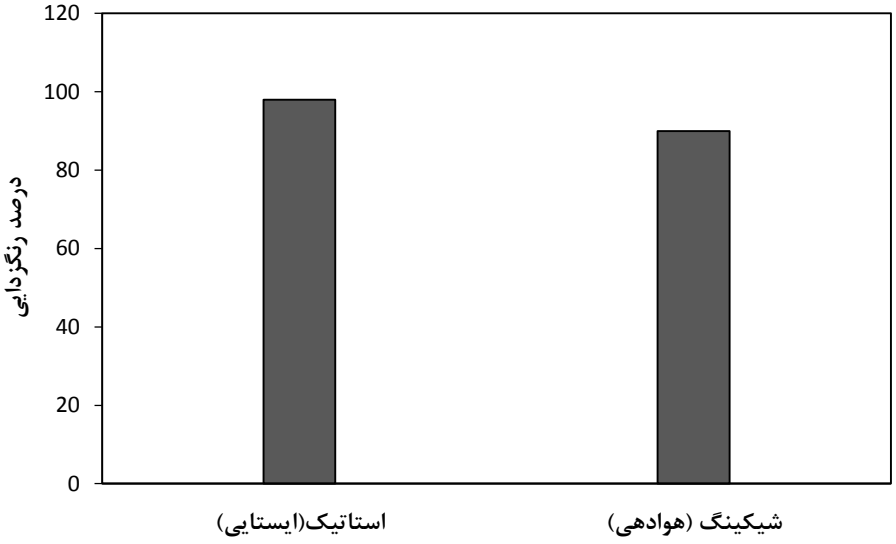
شکل شماره ۳. تاثیر دما بر میزان رنگ زدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری باسیلوس آلبوس



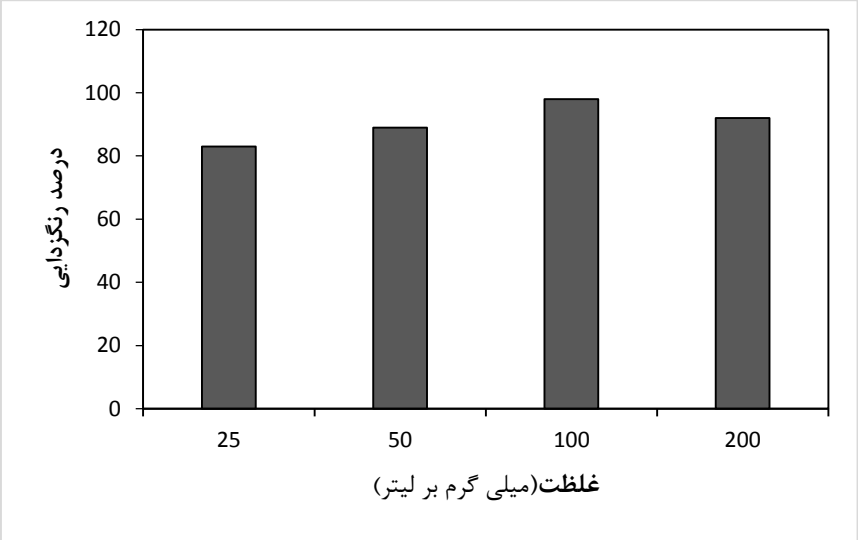
شکل شماره ۴. تاثیر غلظت های اولیه مختلف رنگزا بر میزان رنگ زدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری باسیلوس آلبوس

تاثیر شرایط مختلف شیکینگ و استاتیک بر میزان رنگ زدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری باسیلوس آلبوس: در بررسی میزان رنگ زدایی ایندیگوکارمین توسط سیستم تحت شرایط شیکینگ(هم زدن) و استاتیک(ایستایی یا بدون هم زدن) مشخص شد که در شرایط شیکینگ که محیط در انکوباتور شیکردار قرار داده شد میزان درصد رنگ زدایی حدود ۹۰ درصد می باشد و در حالتی که محیط در انکوباتور بدون شیکردار قرار داده شد میزان درصد رنگ زدایی حدود ۹۸ درصد می باشد در نتیجه بهینه رنگ زدایی در شرایط استاتیک افزایش می یابد(شکل شماره ۵).

تاثیر بیوماس مرده و زنده باکتریایی در رنگ زدایی رنگ ایندیگوکارمین توسط باکتری باسیلوس آلبوس: با بررسی تاثیر بیوماس مرده و زنده باکتری مشخص شد که بیوماس مرده باکتری میزان رنگ زدایی بیشتری دارد و رنگ زدایی در این محیط حدود ۹۸ درصد می باشد در نتیجه رنگ زدایی توسط بیوماس مرده باکتری افزایش می یابد(شکل شماره ۶).



شکل شماره ۵. تاثیر شرایط شیکینگ و استاتیک بر میزان رنگ زدایی توسط باکتری باسیلوس آلبوس



شکل شماره ۶. تاثیر بیوماس مرده بر میزان رنگ زدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری باسیلوس آلبوس

بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق تجزیه زیستی رنگ ایندیگوکارمین از سوی باسیلوس آلبوس صورت گرفته است. در رنگ زدایی میکروبی دو مکانیسم اصلی شامل جذب زیستی، تجزیه زیستی و یا ترکیبی از دو روش فوق وجود دارد. در روش جذب زیستی از باکتری، جلبک، قارچ رشته ای و مخمر برای حذف رنگ از محیط استفاده می گردد. ظرفیت جذب زیستی میکروارگانیسم به هتروپلی ساکارید و لیپید دیواره سلولی بستگی دارد و بر روی آن ها توزیع شده است که شامل گروه های عاملی مختلف از جمله آمینو، کربوکسیل، هیدروکسیل و فسفات می باشد که باعث ایجاد پیوند قوی بین رنگزا و دیواره سلولی می گردد. در جذب زیستی، سلول های غیرزنده نسبت به سلول های زنده دارای مزیت بالاتری می باشند چرا که سلول های غیرزنده به مواد غذایی نیاز ندارند و قابلیت انباشتگی و استفاده طولانی مدت دارند. هم چنین جذب زیستی تحت تاثیر شرایط و فاکتورهایی مانند دما، قدرت یونی، pH، زمان، غلظت رنگ، ساختار شیمیایی و ترکیب رنگ، نوع میکروارگانیسم قرار دارد(۱۶،۱۷).

مکانیسم تجزیه زیستی رنگزا از سوی یک قارچ با ساز و کار تجزیه زیستی رنگزا از سوی یک باکتری متفاوت است. به طور کلی چند آنزیم در فرآیند تجزیه زیستی و حذف آلودگی های رنگی از محیط نقش دارند، شامل آنزیم های اکسیدوردوکتاز نظیر: فنولوکسیداز (لاکاز)، منگنزپروکسیداز، لیگنین پروکسیداز و غیره می باشند(۱۹-۱۶).

یافته های به دست آمده از این تحقیق نشان داد که برای سیستم شامل باسیلوس آلبوس، محیط کشت و رنگزای ایندیگوکارمین، مدت زمان ۵۴ ساعت زمان بهینه ای می باشد که حداکثر میزان رنگ زدایی صورت گرفت. به طور کلی در بیشتر پژوهش های مربوط به رنگ زدایی باکتریایی بسته به نوع باکتری و نوع ماده رنگزا از نظر ساختار شیمیایی و مولکولی فرآیند رنگبری از ۸ ساعت تا ۵ روز می تواند متغیر باشد که این زمان برای قارچ ها در فرآیند رنگبری بسیار کمتر بوده و در حدود یک ساعت است. بر اساس نتایج حاصل از این بررسی مشخص شد در تجزیه رنگزای ایندیگوکارمین pH مناسب رنگ زدایی از سوی باکتری برابر ۱۰ است. نتایج نشان داد، pH اسیدی، بهترین pH برای تجزیه رنگ ایندیگوکارمین می باشد اما از آن جایی که ایندیگوکارمین یک رنگزای اسیدی می باشد چنان چه در pH حدود ۵ باید درصد بالایی از تجزیه رنگ صورت گیرد، اما از طرف دیگر باکتری در این pH اسیدی شرایط مناسبی برای رشد نداشت، بنا بر این از این pH صرف نظر گردید چرا که باکتری قادر به زنده ماندن و رشد نبوده است. مقایسه این تحقیق با نتایج پژوهش‌های محققین دیگر نشان داد شرایط بهینه pH قبل از شرایط رنگ و مجیط به نوع باکتری بستگی دارد. به طوری که

رنگ زدایی رنگ قرمز کنگو به وسیله باسیلوس سوبتیلیس، pH بهینه ۸ بوده است. نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت از ۲۵ به ۱۰۰ میلی گرم در لیتر درصد تجزیه افزایش پیدا کرده ولی در ادامه کاهش رنگ زدایی مشاهده شد. که این به دلیل محدود شدن و کم شدن مواد مغذی درون محیط کشت و هم چنین رنگ به عنوان منبعی از کربن و انرژی برای باکتری است در نتیجه باکتری از حداکثر منابع کربن استفاده کرده و از محیط کشت که حاوی مـــواد مغذی می باشد نیز برای رشدش استفاده می کند و در نتیجه محیط کشت از مواد مغذی خود تهی می شود و هم چنین غلظت بالای رنگ ایندیگ.کارمین سمی بر باکتری است که باعث عدم رشد دوباره باکتری در محیط می شود. این نتایج با حذف رنگزاهای دیگر توسط باکتری های باسیلوس لنتوس، پائنی باسیـــلوس لاروا، سودوموناس آئروژینوزا و اسینتوباکتر لووفی هم خوانی دارد(۲۰،۲۱). در بررسی تاثیر دما بر میزان رنگ زدایی مشخص شد که سیستم در دماهای بالا مانند ۵۰ درجه سانتی گراد بیشترین درصد رنگ زدایی انجام می گیرد. از آن جایی که در این دما باسیلوس آلبوس زنده نخواهد ماند می توان گفت بیوماس مرده باکتری به دلیل متلاشی شدن ساختمـــان و دیواره اش در دمای بالا باعث رها شدن آنزیم های مقاوم به حرارت تولید شده توسط باکتری که در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد قادر به انجام بیشترین میزان رنگ زدایی ایندیگوکارمین می باشـــد. رنگ ایندیگوکارمین معمولاً در دمای بالا(حدود ۳۹ درجه سانتی گراد) جذب الیاف می شود لذا می توان گفت که در دماهای بالا هم می تواند به خوبی تجزیه گردد. نتایج این تحقیق نشـــان داده، باکتری به حالت بیومس مرده فرآینـــد تجزیه را بیشتر از حالت زنده نشان داده است.

کد اخلاق: IR.UMZ.REC.1397.106

References

1. An H, Qian Y, Gu X, Tang WZ. Biological treatment of dye wastewaters using an anaerobic-oxic system. Chemosphere 1996; 12:2533-42 doi. 10.1016/s0045-6535(96)00349-9

2.Dafale N, Wate S, Meshram S, Nandy T. Kinetic study approach of remazol black-b use for the development of two stage anoxic oxic reactor for decolorization biodegradation of azo dyes by activated bacterial consortium. J Hazard Mate 2008; 159: 319-28. doi. 10.1016/j.jhazmat.2008.02.058

3.Asad S, Amoozegar MA, Pourbabaee A, Sarbolouki MN, Dastgheib SM. Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. Bioresour Technol 2007; 98: 2082-8. doi.10.1016/j.biortech.2006.08.020

4.Barragan BE, Costa C, Marquez MC. Biodegradation of azo dyes by bacteria inoculated on solid media. Dyes Pig 2007; 75: 73-81. doi. 10.1016/j.dyepig.2006.05.014

5.Singh RL, Singh PK, Singh R. Enzymatic decolorization and degradation of azo dyes a review. Int Biodeter Biodegr 2015; 104:21-23. doi.10.1016/j.ibiod.2015.04.027

6.Hai FI, Yamamoto K, Fukushi K. Hybrid treatment systems for dye wastewater. Crit Rev Env Sci Tec 2007; 37: 315-77. doi.10.1080/10643380601174723

7.Hunger K. Industrial dyes chemistry properties applications. 1th ed. John Wiley Sons Publication. 2013; P.131-9.

8.Ardejani FD, Badii K, Limaee NY, Mahmoodi NM, Arami M, Shafaei SZ. et al. Numerical modelling and laboratory studies on the removal of direct red 23 and direct red 80 dyes from textile effluents using orange peel a low cost adsorbent. Dyes Pig 2007; 73:178-85. doi.10.1016/j.dyepig.2005.11.011

9.Kalyani DC, Patil PS, Jadhav JP, Govindwar SP. Biodegradation of reactive textile dye red BLI by an isolated bacterium Pseudomonas sp. SUK1. Bioresour Technol 2008; 99: 4635-41. doi.10.1016/j.biortech.2007.06.058

10.Gupta VK. Application of low cost adsorbents for dye removal a review. J Environ Manage 2009; 90:2313-42. doi.10.1016/j.jenvman.2008.11.017

11.Phugare S, Patil P, Govindwar S, Jadhav J. Exploitation of yeast biomass generated as a waste product of distillery industry for remediation of textile industry effluent. Int Biodeter Biodegr 2010; 64: 716-26. doi.10.1016/j.ibiod.2010.08.005

12.Wu Y, Li T, Yang L. Mechanisms of removing pollutants from aqueous solutions by microorganisms and their aggregates a review. Bioresour Technol 2012; 107: 10-18. doi. 10.1016/j.biortech.2011.12.088
13.Lin J, Zhang X, Li Z, Lei L. Biodegradation of reactive blue 13 in a two stage anaerobic aerobic fluidized beds system with a Pseudomonas sp. isolate. Bioresour Technol 2010; 101: 34-40. doi.10.1016/j.biortech.2009.07.037
14.Sharma MK, Sobti RC. Rec effect of certain textile dyes in Bacillus subtilis. Environ Mut2000; 465: 27-38. doi.10.1016/S1383-5718(99)00201-6
15. Forgacs E, Cserhati T, Oros G. Removal of synthetic dyes from wastewaters a review. Environ Int 2004; 30: 953-71. doi.10.1016/j.envint.2004.02.001
16.Bromley KCA, Knapp JS, Zhang Z, Gray NCC, Hetheridge MJ, Evans MR. Decolorization of an azo dye by unacclimated activated sludge under anaerobic conditions. Water Res 2000; 34: 4410-8. doi.10.1016/S0043-1354(00)00212-8
17.Solís M, Solis A, Perez HI, Manjarrez N, Flores M. Microbial decolouration of azo dyes a review. Process Biochem 2012; 47: 1723-48. doi.10.1016/j.procbio.2012.08.014
18. Saratale RG, Saratale GD, Chang JS, Govindwar SP. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes a review. J Taiwan Inst Chem Eng2011; 42:138-57. doi. 10.1016/j.jtice.2010.06.006
19. Shah MP, Patel KA, Nair SS, Darji AM. Microbial degradation of textile dye remazol black b by Bacillus sp. ETL-2012. J Bioremed Biodeg. 2013; 4:194. doi: 10.4172/2155-6199.1000180.
20. Haghshenas H, Kay M, Dehghanian F. Molecular dynamics study of biodegradation of azo dyes via their interactions with AzrC azoreductase. J Biomol Struct Dyn 2016; 34:453-62. doi. 10.1080/07391102.2015.1039585
21. Mahmood S, Azeem K, Muhammad A. Detoxification of azo dyes by bacterial oxidoreductase enzymes. Crit Rev Biotechnol 2016; 36:639-51. doi.10.1016/j.scitotenv.2016.04.122

Study of Microbial Decolorization of Indigo Carmine Dye by Bacillus albus

Noori S[1], Ahmadyasbchin S[1]*

(Received: January 5, 2020 Accepted: February 24, 2020)

Abstract

Introduction: The synthetic dyes pollution has turned out to be one of the most important environmental problems. Approximately 10000 different dyes and pigments are used industrially and over 0.7 million tons of synthetic dyes are produced annually, worldwide. Synthetic dyes are extensively in the textile dyeing, leather tanning, paper, food and medicine industries. The majority of these dyes are either toxic to flora and fauna or mutagenic and carcinogenic. The disposal of these wastes into receiving waters cause damage to the environment. Therefore, removing them from environment is imperative various methods for physical and chemical decolorization of dyes in wastewater but these methods are rather costly and sometimes product hazardous by-products. In recent years, biodegradation approach of its cost-effectiveness and safe method. In this method, microorganisms, particularly bacteria are used for removing dyes. The goal of microbial treatment is to decolorize and detoxify the dye-contaminated effluents.

Materials and Methods: In this study, bacillus albus bacteria were isolated Mazandaran industrial wastewater used as an example of gram-positive bacteria. Decolorization by these bacteria was investigated by a system which contained both medium and dye. The effects of operational parameters of indigo carmine including time, initial dye concentration, temperature, pH, shaking/non shaking, aerobic/anaerobic were tested. *Ethics code:* IR.UMZ.REC.1397.106

Findings: The results demonstrated that over a period of 54 h, at 50° C, 100 mg/l of concentration and pH=10, maximum decolorization of 95 percent was performed.

Discussion and conclusions: The present study confirms high effectiveness of bacillus strains in dye removal. The main experiment was focused on decolorization of indigo carmine in aeration conditions.

Keywords: Bacillus albus, Indigo carmine, Wastewater, Decolorization, Biodegradation dye

1.Dept of Microbiology, University of Mazandaran, Iran, Babolsar, Iran
**Corresponding author Email: sahmadyas@yahoo.fr*