

بررسی حذف رنگ ریمازل بلک-B توسط باکتری هالوموناس جدا شده از دریاچه ارومیه با استفاده از روش تاگوچی

مجتبی تاران: دانشیار میکروبیولوژی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران، mojtabataran@yahoo.com **
نسرین فروع دین: کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران، nasrinfuroedin@yahoo.com

چکیده

مقدمه: در میان رنگ‌های شیمیایی، رنگ‌های آزو، متداول‌ترین رنگ‌های بکار رفته مصنوعی هستند و کاربرد زیادی در نساجی دارند. این رنگ‌ها از آلاینده‌های مهم محیط زیست به شمار می‌آیند. امروزه به دلیل محدودیت و مشکلات روش‌های فیزیکی- شیمیایی در حذف مواد رنگ‌زا، تصفیه زیستی که روشی اقتصادی و موثر برای پالایش و آلودگی زدایی است، ترجیح داده می‌شود.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، با استفاده از روش تاگوچی و بررسی عواملی مثل درجه حرارت، اسیدیته، غلظت رنگ و غلظت نمک در محیط، شرایط بهینه رنگ‌بری باکتری هالوموناس سویه PTCC1714 به منظور حذف رنگ ریمازل بلک-B از محیط آبی بررسی شد. با توجه به جدول آرایه‌ها در ۴ عامل و ۴ سطح ۱۶ آزمایش طراحی شد. پس از انجام آزمایش‌ها، نتایج به دست آمده با استفاده از برنامه کامپیوتری Qualitek-4 تجزیه و تحلیل شد.

نتایج: بررسی‌ها نشان داد که باکتری نمک دوست هالوموناس سویه PTCC1714 توانایی رنگ‌بری در محدوده وسیعی از نمک تا ۲۰ درصد و اسیدیته ۵ تا ۹ را دارد. از نظر تحمل‌پذیری رنگ، این سویه تا ۵ گرم در میلی‌لیتر (ppm) (۵۰۰۰) رنگ را تحمل می‌کند و بالاترین رنگ‌بری را در ۱۰۰ ppm دارد.

بحث و نتیجه‌گیری: این سویه با احراز شرایط بهینه رشد به دست آمده طی تحلیل آزمایش‌ها، یعنی دمای ۳۱ درجه سانتی‌گراد، اسیدیته ۹، و غلظت نمک ۱۰، تا ۹۴ درصد رنگ آزوی ریمازول بلک-B با غلظت ۱۰۰ ppm را از محیط آبی حذف می‌کند؛ که این مقدار در خور توجه است. با توجه به این که سویه هالوموناس PTCC1714 عمل رنگ‌بری را در مدت زمان بسیار کوتاهی یعنی ۷۲ ساعت و به شکل هوازی انجام می‌دهد، استفاده از این باکتری در تصفیه بیولوژیک پساب‌های واجد رنگ‌های صنعتی می‌تواند کمک موثری در تصفیه و استفاده مجدد این گونه آب‌ها باشد.

واژه‌های کلیدی: باکتری هالوموناس، رنگ‌های آزو، رنگ ریمازول بلک-B، رنگ‌بری، نساجی

مقدمه

آلودگی محیط زیست یکی از مهم‌ترین مسائل تهدید کننده جوامع بشری است. در چند دهه اخیر به دلیل افزایش فعالیت‌های صنعتی و عدم رعایت الزامات زیست محیطی مقادیر زیادی از آلاینده‌ها وارد محیط می‌شوند. رنگ‌ها از جمله مواد شیمیایی هستند که به میزان فراوانی در صنایع نساجی، چاپ، غذایی، دارویی و آرایشی استفاده می‌شوند (۱-۳). امروزه رنگ‌های نساجی یکی از پرمصرف‌ترین مواد شیمیایی مصرفی هستند. در حدود ده هزار رنگ مختلف با تولید جهانی سالیانه بیش از هفتصد هزار تن به طور تجاری قابل دسترس هستند (۳-۵). با وجود این که رنگ‌های آلی تنها بخش کوچکی از بار آلی پساب را تشکیل می‌دهد، وجود آن‌ها از نظر ظاهری قابل قبول نیست. در میان رنگ‌های شیمیایی، رنگ‌های آزو^۱ متداول‌ترین رنگ‌های به کار رفته مصنوعی هستند و حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد از رنگ‌های مصرفی را تشکیل می‌دهند (۱، ۳، ۶ و ۹). رنگ‌های آزو با پیوند $N=N$ شناخته می‌شوند که دارای تنوع رنگی بالایی هستند و به عنوان یکی از آلاینده‌های مهم محیط‌زیست محسوب می‌شوند (۶-۸). برخی رنگ‌ها و یا ترکیبات حاصل از تجزیه آن‌ها سمی، جهش‌زا، سرطان‌زا و برای عمل فتوسنتز بسیار مضر هستند زیرا باعث جلوگیری از انتقال و نفوذ نور شده و بنابراین بر فعالیت فتوسنتز گیاهان آبی‌زی تاثیر گذاشته باعث افزایش COD فاضلاب‌ها می‌شوند. در نتیجه حتی در غلظت‌های کم، زندگی جانوران آبی را به مخاطره انداخته و از طریق جانوران آبی وارد چرخه غذایی انسان‌ها می‌شود. یکی از انواع رنگ‌های آزو ماده رنگ‌زای ریمازول بلک-B (RB-B) است که در صنایع نساجی و چرم استفاده زیادی دارد و به عنوان یکی از

آلاینده‌های مهم محیط زیست محسوب می‌شود، بنابراین، حذف این ماده رنگ‌زا از پساب ضروری است (۷ و ۱۰-۱۴).

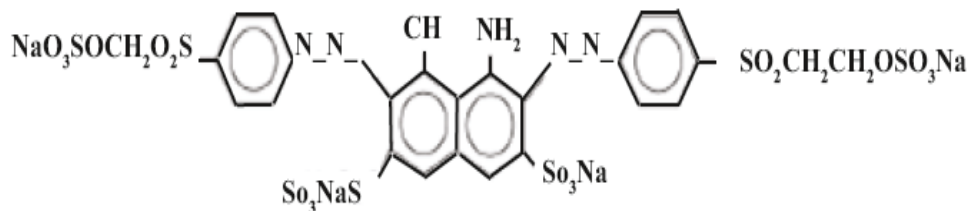
امروزه سیستم‌های تصفیه متداولی برای حذف رنگ‌ها در دسترس است که وابسته به اصول فیزیکی و شیمیایی مانند: جذب، انعقاد، فیلتراسیون، ته‌نشینی و سایر... است. از محدودیت‌ها و مشکلات این روش‌ها می‌توان به هزینه بالا، تولید مقدار زیاد لجن و در نهایت ایجاد آلودگی‌های ثانویه اشاره کرد (۱، ۳ و ۱۵-۱۸). امروزه حذف رنگ به روش زیستی مورد توجه زیادی قرار گرفته است (۱۶-۱۹ و ۲۱). روش‌های تصفیه زیستی راهکاری آسان، دائمی، ارزان و موثر برای پالایش فاضلاب‌های آلوده به مواد رنگ‌زاست. در این روش‌ها از میکروارگانیسم‌هایی مانند: باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها، اکتینومیست‌ها، که توانایی حذف رنگ‌های آزو را دارند استفاده می‌شود (۲۳ و ۲۴). سیکل رشد طولانی و میزان رنگ زدایی متوسط قارچ‌ها و جلبک‌ها باعث شده کاربرد سیستم‌های رنگ‌زدایی توسط آن‌ها محدود شود، در مقابل رنگ زدایی توسط باکتری‌ها، سریع‌تر انجام می‌شود (۱۶ و ۲۲).

پساب بسیاری از کارخانجات نساجی ایران به دلیل موقعیت جغرافیایی در زمین‌های شور و کویری رها می‌شود، همچنین، در مراحلی از رنگ‌ریزی برای بالا بردن کارایی از نمک‌های محلول مانند سدیم کلرید و پتاسیم کلرید استفاده می‌شود. بنابراین، میکروارگانیسم‌هایی قادر به حذف رنگ از پساب می‌باشند که بتوانند این شرایط سخت را تحمل و در آن رشد و فعالیت کنند (۳، ۲۵ و ۲۶). با توجه به دلایل ذکر شده، استفاده باکتری‌های نمک‌دوست^۲ و تحمل‌پذیر نمک^۳ انتخاب خوبی برای تصفیه این گونه پساب‌ها به شمار می‌آید،

مواد و روش‌ها

باکتری *Halomonas sp.* PTCC1714 (جدا شده از دریاچه ارومیه) از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه شد. برای رشد باکتری از محیط کشت نمکی شامل: ۱۰ گرم گلوکز، ۱/۴ گرم $\text{H}_2\text{O} \cdot \text{MgSO}_4$ ، ۲/۳ گرم NH_4Cl ، ۰/۶ گرم K_2HPO_4 ، ۰/۰۱ گرم FeSO_4 و ۷ H_2O و ۱۰۰ گرم NaCl در حجم کل یک لیتر استفاده شد.

در این تحقیق، از رنگ ریمازل بلک-B (RB-B)، به عنوان نماینده رنگ‌های آزو استفاده شد، که از پرمصرف‌ترین رنگ‌ها در صنعت نساجی به شمار می‌آید. این رنگ دی آزوی^۴ سولفاناته، با فرمول شیمیایی $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{Na}_4\text{O}_{19}\text{S}_6$ و وزن مولکولی ۹۹۱/۸۲ گرم بر مول از شرکت سیبا^۵ تهیه شد. ساختار رنگ در شکل ۱ نشان داده شده است.



Remazol Black B

شکل ۱- ساختار رنگ ریمازل بلک-B (۱۱)

خطا، با حالتی که تمام ترکیب‌های ممکن اجرا شود، یکسان باشد. پس از انجام آزمایش‌ها و با ارزیابی پاسخ‌های به دست آمده، بهترین پاسخ انتخاب می‌شود. در این روش با کاهش تعداد آزمایش‌ها، زمان کل انجام آزمایش‌ها نیز تا حد زیادی کاهش می‌یابد (۴۱).

در روش تاگوچی اولین گام، تعیین عوامل موثر و سطوح آن‌هاست. در میان عوامل موثر در رشد و رنگ‌بری این سویه، دما، اسیدیته و غلظت نمک اهمیت

زیرا این باکتری‌ها تحمل‌پذیری بالایی به شرایط سخت محیطی مانند وجود مقدار بالای نمک و مواد آلاینده مانند فلزات سنگین و اکسی آنیون‌ها از خود نشان می‌دهند (۲۷ و ۲۸). در این تحقیق، توانایی رنگ‌بری باکتری هالوموناس سویه PTCC 1714 جدا شده از دریاچه ارومیه در حذف ماده رنگ‌زای ریمازل بلک-B از محیط آبی و تعیین شرایط بهینه این باکتری در حذف رنگ بررسی شد. لزوم استفاده از این سویه از باکتری در این تحقیق، بیشتر بومی بودن آن بوده و همچنین، نمک دوستی است و طبق دلایل ذکر شده گزینه مناسبی برای حذف رنگ‌های آزو از محیط‌های شور محسوب می‌شود.

روش طراحی آزمایش

در این پژوهش، برای طراحی آزمایش و تعیین شرایط بهینه رنگ‌بری سویه مورد مطالعه از روش تاگوچی^۶ استفاده شد. روش تاگوچی یک روش طراحی آزمایش از نوع کسری از فاکتوریل کامل است، که در این روش تعدادی از ترکیب‌های ممکن بین متغیرها انتخاب می‌شود. انتخاب این تعداد بر اساس طرح آزمایش به کار رفته، طوری انجام می‌شود که واریانس

جدول ۲- عوامل و سطوح انتخابی توسط تاگوچی

آزمایش‌ها	دما	اسیدیته	رنگ غلظت	غلظت نمک
۱	۱	۱	۱	۱
۲	۱	۲	۲	۲
۳	۱	۳	۳	۳
۴	۱	۴	۴	۴
۵	۲	۱	۲	۳
۶	۲	۲	۱	۴
۷	۲	۳	۴	۱
۸	۲	۴	۳	۲
۹	۳	۱	۳	۴
۱۰	۳	۲	۴	۳
۱۱	۳	۳	۱	۲
۱۲	۳	۴	۲	۱
۱۳	۴	۱	۴	۲
۱۴	۴	۲	۳	۱
۱۵	۴	۳	۲	۴
۱۶	۴	۴	۱	۳

بررسی میزان رنگ و کدورت در محیط

ابتدا طیف جذبی رنگ RB-B در محدوده ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر تعیین شد، تا بیشینه طول موج جذبی رنگ RB-B مشخص شود. ماکزیم طول موج جذبی آن در ۵۹۵ نانومتر بود. از ارلن‌های گرماگذاری شده برای اندازه‌گیری طیف جذبی در طول موج ۵۹۵ نانومتر، ۲ میلی‌لیتر نمونه برداشته و با دور ۱۲۰۰۰ rpm به مدت ۳ دقیقه سانتریفوژ شد. مایع رویی را برداشته و در ۵۹۵ نانومتر میزان جذب نور اندازه‌گیری شد. از آنجا که ماکزیم حذف رنگ در روز سوم بود و پس از ۳ روز به علت مرگ باکتری جذب کاهش می‌یافت، درصد رنگ‌بری مطابق فرمول زیر محاسبه شد.

$$D (\%) = \frac{(A - A^{\circ})}{A} \times 100$$

A = جذب در محیط پس از رنگ‌بری

A[°] = جذب در محیط شاهد (اولیه)

D = درصد رنگ‌بری

زیادی دارند. همچنین، با توجه به بررسی میزان حذف رنگ، یکی از عوامل‌ها نیز غلظت رنگ محیط در نظر گرفته شد. به طور کلی چهار عامل درجه حرارت، غلظت نمک، غلظت رنگ و اسیدیته با چهار سطح در نظر گرفته شد. در جدول ۱ عوامل‌ها و سطوح بررسی شده نشان داده شده است.

جدول ۱- عوامل و سطوح مورد بررسی در طراحی آزمایش‌ها

عامل	سطح ۱	سطح ۲	سطح ۳	سطح ۴
دما (درجه سانتی‌گراد)	۳۱	۳۳	۳۵	۴۰
اسیدیته	۵	۶/۵	۷/۵	۹
غلظت رنگ (ppm)	۱۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰۰
غلظت نمک (درصد)	۵	۱۰	۱۵	۲۰

بررسی رنگ‌بری در شرایط محیطی متفاوت

با توجه به جدول آرایه‌های متعامد شامل: چهار عامل و چهار سطح، شانزده آزمایش طراحی شد. در جدول ۲ آزمایش‌ها نشان داده شده است. شایان ذکر است اختلاف مشاهده شده بین سطوح از نظم خاصی تبعیت نمی‌کند و به شکل انتخابی است.

برای انجام هر آزمایش ۲۰ سی سی از محیط کشت یاد شده را در ارلن‌های ۱۰۰ ریخته، پس از تنظیم اسیدیته و غلظت رنگ با توجه به شرایط تعیین شده توسط نرم‌افزار، به هر ارلن ۵ درصد آلودگی تلقیح کرده و ارلن‌ها را برای هوادهی درون آنکوباتور شیکردار با دور ۱۲۰ rpm در دمای مشخص شده به مدت ۵ روز گذاشته و مقدار حذف رنگ با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر بررسی شد.

نتایج

پس از احراز شرایط لازم برای هر ۱۶ آزمایش مشخص شده به وسیله نرم افزار تاگوچی و انجام آزمایش‌ها و بررسی میزان رنگ‌بری در محیط، نتایج به کمک برنامه کامپیوتری Qualitek-4 تجزیه و تحلیل و اثرات مربوط به هر سطح محاسبه شد. نتایج حاصل از این تحلیل آماری در جدول ۴ آمده است.

در جدول ۴ تاثیر هر سطح از هر عامل بر روی

رنگ‌بری این سویه نشان داده شده است، که عامل دما در سطح ۱ یعنی ۳۱ درجه سانتی‌گراد، اسیدیته در سطح ۴ یعنی اسیدیته برابر ۹، غلظت رنگ محیط در سطح ۱ یعنی ۱۰۰ ppm و درصد نمک محیط در سطح ۲ یعنی غلظت ۱۰ درصد نمک کلرید سدیم بیش‌ترین تاثیر را در رنگ‌بری رنگ RB-B توسط باکتری هالوموناس سویه PTCC 1714 دارند.

جدول ۳- نتایج نهایی درصد رنگ‌بری رنگ ریمازل بلک-B توسط باکتری هالوموناس سویه PTCC 1714

درصد رنگ‌بری	آزمایش‌ها	درصد رنگ‌بری	آزمایش‌ها	درصد رنگ‌بری	آزمایش‌ها	درصد رنگ‌بری	آزمایش‌ها
صفر	۱۳	۲۱/۵۰	۹	۲۲/۵۹	۵	۵۱/۸۶	۱
صفر	۱۴	۰/۴۸	۱۰	۲۰/۲۲	۶	۵۳/۸۷	۲
۹/۶۱	۱۵	۵۹/۹۱	۱۱	۲۷/۰۴	۷	۳۵/۳۸	۳
۴۰/۲۷	۱۶	۴۵	۱۲	۵۹/۲۱	۸	۶۳/۹۰	۴

جدول ۴- اثر سطوح مختلف عامل‌ها بر میزان رنگ‌بری باکتری هالوموناس سویه PTCC 1714

عامل	سطح ۱	سطح ۲	سطح ۳	سطح ۴
دما	۵۱/۲۵۲	۳۲/۲۶۴	۳۱/۷۲۲	۱۲/۴۷
اسیدیته	۲۳/۹۸۷	۱۸/۶۴۲	۳۲/۹۸۵	۵۲/۰۹۵
غلظت رنگ	۴۳/۰۶۵	۳۲/۷۶۷	۲۹/۰۲۲	۲۲/۸۵۵
غلظت نمک	۳۰/۹۷۵	۴۳/۲۴۷	۲۴/۶۸	۲۸/۸۰۷

جدول ۵- تخمین تاثیرات متقابل بین شاخص‌های مختلف بر میزان رنگ‌بری باکتری هالوموناس سویه PTCC 1714

تاثیر جفت عامل بر اساس (SI)	ستون‌ها	شدت تاثیر متقابل (درصد)	ستون	شرایط بهینه
عامل اسیدیته × عامل نمک	۲×۴	۸۲/۷۳	۶	(۴، ۴)
عامل اسیدیته × عامل رنگ	۲×۳	۴۹/۲۳	۱	(۴، ۴)
عامل دما × عامل نمک	۱×۴	۲۳/۵۹	۵	(۴، ۱)
عامل دما × عامل اسیدیته	۱×۲	۳/۴۲	۳	(۴، ۱)
عامل رنگ × عامل نمک	۳×۴	۰/۶۴	۷	(۴، ۴)
عامل دما × عامل رنگ	۱×۳	۰/۲۸	۲	(۴، ۱)

می‌دهد که اثر یک عامل در بهینه‌سازی رنگ‌بری بسته به شرایط عامل‌های دیگر دارد.

تعیین شاخص‌های تاثیرگذار در رنگ‌بری رنگ RB-B به کمک تحلیل واریانس در جدول ۶ نشان داده شده است. ستون آخر اثرات هر یک از عامل‌ها را در رنگ‌بری تعیین می‌کند. عامل دما موثرترین عامل برای رنگ‌بری رنگ RB-B توسط باکتری هالوموناس سویه PTCC 1714 است، پس از آن عامل اسیدیته و سپس غلظت رنگ و در پایان غلظت نمک به ترتیب بیش‌ترین تاثیر را دارد.

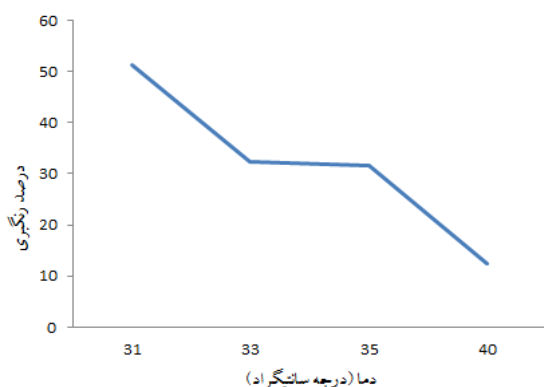
در جدول ۵ تاثیرات متقابل عامل‌ها مشخص شده است. این تاثیرات متقابل بر اساس شاخص میزان بین دو عامل انتخابی اندازه‌گیری می‌شود، که از ۸۲/۷۳ تا ۰/۲۸ درصد تغییر می‌کند. شدت تاثیر متقابل بین دو عامل که کم‌ترین تاثیر را در رنگ‌بری رنگ RB-B دارند شامل: عامل دما در برابر عامل رنگ و حدود ۰/۲۸ درصد است. بیش‌ترین درصد شاخص شدت تاثیر متقابل است. ۸۲/۷۳ درصد است که به تاثیر متقابل عامل اسیدیته در برابر عامل غلظت نمک مربوط است. مقایسه شاخص شدت تاثیر متقابل بین عامل‌ها در این جدول نشان

جدول ۶- تحلیل واریانس برای رنگ‌بری رنگ RB-B توسط باکتری هالوموناس سویه PTCC 1714

ستون عامل	درجه آزادی	مجموع مربعات	واریانس	مجموع مربعات خالص	درصد
دما	۳	۳۰۰۸/۸۲۳	۱۰۰۲/۹۴۱	۲۶۷۱/۰۰۷	۳۵/۳۱۴
اسیدیته	۳	۲۵۸۹/۵۲۴	۸۶۳/۱۷۴	۲۲۵۱/۷۰۹	۲۹/۷۷۱
غلظت رنگ	۳	۸۶۱/۹۹۵	۲۸۷/۳۳۱	۵۲۴/۱۸	۶/۹۳
غلظت نمک	۳	۷۶۵/۲۴۲	۲۵۵/۰۸	۴۲۷/۴۲۷	۵/۶۵۱

بحث و نتیجه‌گیری تاثیر دما بر رنگ‌زدایی

نتایج نشان داد که بیشتر فعالیت رنگ‌زدایی در ۳۱ درجه سانتی‌گراد انجام می‌شود، و با افزایش دما تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد باعث کاهش فعالیت رشد این سویه باکتری شده، در نتیجه رنگ‌بری نیز کاهش می‌یابد (شکل ۲).



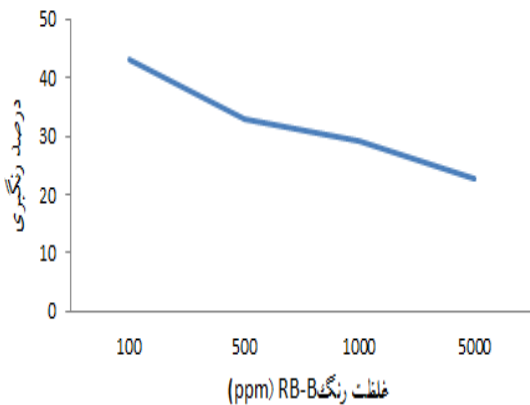
شکل ۲- نمودار تاثیر دما در رنگ‌زدایی رنگ RB-B توسط باکتری هالوموناس سویه PTCC 1714

جدول ۷- شرایط بهینه برای رنگ‌بری توسط باکتری هالوموناس سویه PTCC1714

عامل	سطح	سهم (درصد)
دما	۱	۱۹/۳۲۵
اسیدیته	۴	۲۰/۱۶۷
غلظت رنگ	۱	۱۱/۱۳۷
غلظت نمک	۲	۱۱/۳۲
جمع سهم عامل‌ها	-	۶۱/۹۴۸
میانگین	-	۳۱/۹۲۷
نتیجه قابل انتظار در شرایط بهینه	-	۹۳/۸۷۶

در جدول ۷ سهم هر کدام از عامل‌ها در طی دوره‌ها مشخص شده است. طبق این جدول دما و اسیدیته نقش مهمی در رنگ‌بری این سویه دارند. تحت شرایط بهینه نشان داده شده در این جدول که در جدول ۲ نیز بیان شده انتظار می‌رود نزدیک ۹۴ درصد حذف رنگ از محیط آبی داشته باشد.

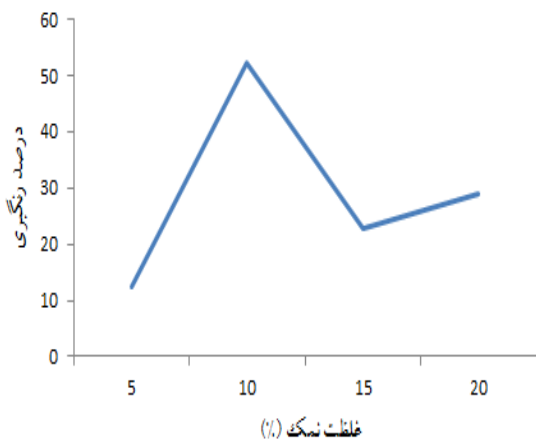
رنگ‌ها در سنتز DNA تاثیر گذاشته و باعث اختلال در سنتز DNA می‌شوند (۳). به این دلیل با افزایش غلظت رنگ سمیت آن بالا رفته و باعث مرگ باکتری می‌شود و رنگ‌بری کاهش می‌یابد (شکل ۴).



شکل ۴- نمودار تاثیر غلظت رنگ در رنگ‌زدایی رنگ RB-B توسط باکتری هالوموناس سویه PTCC 1714

تاثیر غلظت نمک بر رنگ‌زدایی

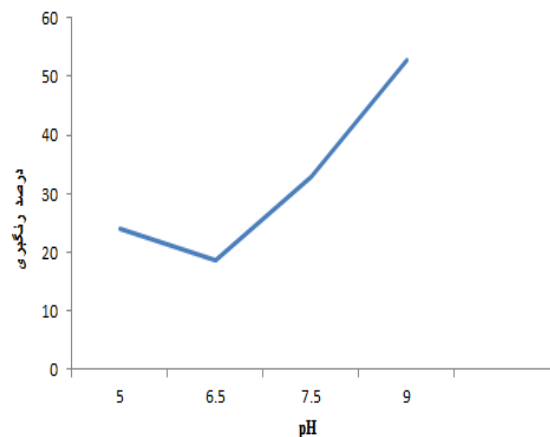
با توجه به نتایج حاصل از تحلیل آماری به وسیله نر افزار 4-Qualitik باکتری هالوموناس سویه PTCC1714 در غلظت نمک ۱۰ درصد بیش‌ترین میزان رنگ‌زدایی را داشته و با افزایش مقدار نمک میزان رنگ‌بری آن کاهش می‌یابد. (شکل ۵).



شکل ۵- نمودار تاثیر غلظت نمک در رنگ‌زدایی رنگ RB-B توسط باکتری هالوموناس سویه PTCC 1714

تاثیر اسیدیته در رنگ‌زدایی

نتایج نشان داد که وقتی اسیدیته اولیه پایین است، فعالیت رنگ‌زدایی بسیار کند می‌شود. میزان رنگ‌زدایی با افزایش اسیدیته محیط به ۹، به حداکثر می‌رسد (شکل ۳). اهمیت اسیدیته در رنگ‌بری از این نظر است که در مراحل از فرآیند رنگ‌رزی الیاف، در مورد گروهی از رنگ‌های آزو، برای بالا بردن کارایی عملیات رنگ‌بری، اسیدیته محیط باید قلیایی باشد (۳ و ۲۹). از آنجا که باکتری هالوموناس سویه PTCC1714 در شرایط با اسیدیته بالا قابلیت رشد و رنگ‌زدایی را دارد گزینه مناسب برای رنگ‌زدایی این رنگ آزوی سمی است.



شکل ۳- نمودار تاثیر اسیدیته در رنگ‌زدایی رنگ RB-B توسط باکتری هالوموناس سویه PTCC 1714

تاثیر غلظت رنگ بر رنگ‌زدایی

فعالیت رنگ‌زدایی این سویه در حضور غلظت‌های مختلف رنگ RB-B از ۱۰۰ تا ۵۰۰ ppm بررسی شد. نتایج نشان داد که میزان رنگ‌زدایی با افزایش غلظت رنگ اولیه کاهش می‌یابد و بیش‌ترین میزان رنگ‌زدایی در غلظت ۱۰۰ ppm است. رنگ‌های آزو عموماً دارای یک یا چند گروه سولفونیک اسید در حلقه آروماتیک خود هستند که باعث سمیت آن‌ها می‌شود و از طرف دیگر مانع رشد اکثر میکروارگانیسم‌ها می‌شوند و این

جمله غلظت نمک بالا، غلظت رنگ بالا، و اسیدیته بالا، و هزینه پایین کشت) می‌توان گفت سویه مذکور انتخاب مناسبی برای استفاده در عملیات تصفیه پساب کارخانجات نساجی است. البته تاکنون گزارشی در مورد استفاده از نمک‌دوست‌ها به شکل فعال در رنگ‌بری پساب گزارش نشده است (۳۱-۳۲ و ۳۹-۴۰). بنابراین، باید تحقیقات بیشتری به منظور استفاده در پساب نساجی بر روی این سویه انجام شود.

References

- (1) Nohi A. S, Emtiyazjo M, Urdozade N. Reactive black 5 dye decolorization by Native strains isolated from wastewater of textile factories in Tehran. *science & technol invirenmental* 2006; 10(1): 19- 27.
- (2) Ramalho P. A, Scholze M. H, Cardoso M. T. Improved condition for the aerobic reductive decolorization of azo dyes by *candida zeylanoides*. *Enzyme microb technol* 2002; 31(6): 848-54
- (3) Asad S, Amozegar M. A, Pourbabaee A. A, Sarbolouki M. N, Dastgheibs M. M. Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. *J Bioresource Technol* 2007; 98(11): 2082-88.
- (4) McMullan G, Meehan C, Conneely A, Kirby N, Robinson T, Nigm P, et al. microbial decolorization on degradation of textile dyes. *Apple Microbiol and biotechnol* 2001; 56(1-2): 81-7.
- (5) Vijayaraghavan K, Yun Y. Bacterial Biosorbents and biosorption. aReview. *Biotech Advanc* 2008; 26(3): 266- 91.
- (6) Byoumi R. A, Musa S. M, Bahobil A. S, Louboudy S. S & Elsakawey T. A. Biodecolorization and biodegradation of azo dyes some bacterial isolates. *J Apple Envir & Biol sciences* 2010;1(1): 1- 25.

کلبسیا پنومونیه RS-13^۷ رنگ متیل رد^۸ را به طور کامل در اسیدیته بین ۶ تا ۸ تجزیه می‌کند. در حالی که آلکالی ژنز لیکویفاشنس S-1^۹ می‌تواند متیل رد را در اسیدیته ۶/۵ به طور کامل تجزیه نماید (۳۷).

میل و همکارانش^{۱۰} در سال ۱۹۹۹ دریافتند که اسیدیته بین ۶ تا ۸، اسیدیته بهینه برای رنگ زدایی رنگ‌های آزو و تری فنیل متان^{۱۱}، توسط سویه‌های سودوموناس است (۳۸).

کنسرسیوم باکتریایی 1.pvm11^{۱۲} بهترین رنگ‌زدایی رنگ Reactive violet 5 را در اسیدیته بین ۷ تا ۸/۵ نشان داد (۱۸). توانایی رنگ‌بری در غلظت‌های بالای رنگ مثلا تا ۵۰۰۰ ppm رنگ از صفاتی است که کمتر سویه‌هایی با این توانایی گزارش شده است (۳۱-۳۴). طبق تحقیقاتی که اسد و همکارانش^{۱۳} در سال ۱۳۸۶ بر روی باکتری‌های نمک-دوست جدا شده از پساب نساجی انجام دادند از بین نمک‌های مختلف، سدیم کلرید بیش‌ترین اثر را بر رنگ‌بری نشان داد. آن‌ها اعلام کردند که حضور این نمک برای رشد و فعالیت باکتری‌های نمک دوست و تحمل پذیر نمک ضروری است (۳۵). البته توانایی رنگ‌بری در محدوده وسیعی از غلظت نمک نکته مثبتی است که استفاده از سویه مورد نظر را برای رنگ‌بری پساب در صنعت مناسب می‌سازد. باکتری‌های نادری قادر به رنگ‌بری در شرایط هوادهی هستند (۳۶). این که سویه مورد نظر ما نیز در شرایط هوازی قادر به رنگ‌بری است حائز اهمیت است. همچنین، در این مطالعه مشخص شد که باکتری ذکر شده می‌تواند در شرایط مختلف رنگ RB-B را از محیط حذف نماید. با توجه به ویژگی‌های سویه مورد مطالعه در این تحقیق (شامل: تجزیه هوازی رنگ RB-B، رشد در شرایط سخت از

- (7) Supaka N, Juntongjin K, Damaronglerd S, Delia M. I, Strehaiano P. Microbial decolorization of reactive azo dyes in a sequential anaerobic-aerobic system. *J chemic Engin* 2004; 99(2): 169– 76.
- (8) Kolekar Y. M, Pawar S. H. P, Gawai K. R, Lokhande P. D, shouche Y. S, Kodam K. M. Decolorization and degradation of Disperse Blue 7 and Acid Orange 10 by *Bacillus fusiformis* KMK5 isolated from the textile dye contamination soil. *J Bioresource Technobiol* 2008; 99(18): 8999– 9003.
- (9) Bant I. M, Nigman D, Marchant R. microbial decolorization of textile dye containing effluents: areview. *Bioresource technol* 1996; 58(3): 217– 27.
- (10) Mohana S, Shrivastava S. h, Divecha J, Madamwar D. Response surface methodology for optimization of medium for decolorization. *J Bioresource Technol*; 2008 99(3): 562– 69.
- (11) Bahmani P, Rezaie kalantari R, Gholami M, Jonidi Jafari A, Javadi Z, Survey of ability of activated sludge isolated Bacteria in removal of RB-B Dyestuf from Aqueous Medium Iran. *J Health & Environ* 2010; 3(4): 389– 98.
- (12) Mansour H. B, Corroler D, Barillier D, Ghedria K, Chekir L, Mosrati R. Evaluation of genotoxicity and pro oxidant effect of the azo dyes:Acid Yellow17,Violent7 and Orange 52 and of their degradation product by *Pseudomonas putida* mt-2. *J food & chemical Toxicol* 2007; 45(9): 1670– 77.
- (13) Malik P. K. Use of activated carbons prepared from sawdust and rice-husk for adsorption of acid dyes:acase study of Acid Yellow 36. *Dyes & pigments* 2003; 56(3): 239– 49.
- (14) Badie K. h, yosefi Limaie N, Tehranibagha A, Shafaie Tonekaboni S. Z. Using Taguchi experimental desingn method for decolorization condition optimize from textile effluent with Orange peel adsorbent. *Ninth Natinal congress of chemic engin iran* 2004: 2914– 21.
- (15) Hessel C, Allegre C, Maisseu M, Charbit F, Moulin P. Guidelies and legislation for dye house effluents. *J Environ Management* 2007; 83(2): 171– 80.
- (16) Kalyani D. C, Telke A. A, Dhanve R. S, Jadhve J. P. Ecofriendly biodegradation and detoxification of Reactive Red 2 textille dye by newly isolated *Pseudomonas* SP. SUK1. *J Hazardous Material* 2009; 163(2-3): 735– 42.
- (17) Nigman P, Bant I. M, Singh D, Marchant R. Microbial process for the decolorization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dye. *Proc Biochem* 1996; 31(5): 435– 42.
- (18) Coughlin M. F, Kinkle B. K, Tepper A & Bishop P. L. Characterization of aerobic azo dye degrading bacteria and their activity in biofilm. *Water science and Technol* 1997; 36(1): 215– 20.
- (19) Bafana A, Saravana Devi S, Krishnamurthi K, Chakarabarti T. kinetics of decolourisation and biotransformation of direct Black 38 by *C. hominis* and *P. stutzeri*. *J Microbiol Biotechnol* 2007; 74(5): 1145– 52.
- (20) Ozdemir G, Pazarbasi B, Kocyigit A, Omeroglu E. E, Yasa I, Laraboz I. Decolorization of Acid Black 210 by *Vibrio Havvi* TEMS1, anewly isolated bioluminescent bacterium from Izmir Bay, Turkey. *J Microbiol Biotechnol* 2008; 24(8): 1375– 81.
- (21) Ali N, Ikramullah, Lutfullah G. h, Hameed A, Ahmed S. Decolorization of Acid Red 151 by *Aspergillus niger* S A 1 under different physicoche mical condition. *J Microbial Biotechnol* 2008; 24(7): 1099– 1105.
- (22) Chang J. S. h, chou C. h, Chen S. h. Y. Decolorization of azo dyes with immobilized *Pseudomonas luteola*. *Process Biochemistry* 2001; 36(8-9): 757– 63.
- (23) Ramalho P. A, Scholze H, Cardoso M. H, Ramalho M. T & Oliveria A. M. Improved condition for the aerobic reductive decolorization of azo dyes by *Candida zeylanoides*. *Enzyme microb Technol* 2002; 31(6): 848– 54.
- (24) Rodriguez couto S. A promising inert support for laccase white-rot fungus *trametes pubescens*. *J Hazardous Materials* 2012; 233(34): 158– 62.

- (25) Dellile D, Basseres A, Dessomemes A. A. Effectiveness of bioremediation for oil-polluted Antarctic seawater. *Polar Biol* 1998; 19(4): 237–41.
- (26) Margesin R, Schinner F. Biological decontamination of oil spills in cold environment. *J Chem Technol Biotechnol* 1999; 74(5): 381–89.
- (27) Kinkle B. K, Sadwsky M. J, Johnstone K, Koskinen W. E. Tellurium and Selenium resistance in *Rhizobium meliloti* from soil. *Apple Environ Microbiol* 1994; 60(5): 1674–77.
- (28) Nriagu J. O, Payna J. M. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *J Nature*; 1988 333(6165): 134–9.
- (29) Aksu Z. Reactive dye bioaccumulation by *saccharomyces cervisiae*. *Process Biochem*; 2003 38(10): 1437–44.
- (30) Amirkhani H, Asgarani E, khodabandeh M. Determination of optimization of optimum growth condition for *Haloarcula* IRU1 isolated from urmia lake by Taguchi method. *National institute of Genetic Engin & Biotech Iran* 2010; 25 (1). 148–56.
- (31) Kodam K. M, Soojhawon I, Lokhande P. D, Gawai K. R. Microbial decolorization of reactive azo dyes under aerobic conditions. *Word J Microb Biot* 2005; 21(3): 367–70.
- (32) moosvi S, keharia H, madamwar D. decolorization of textile dye reactive violet 5 by a newly isolated bacterial consortium RVM 11. *Word J Microb Biot* 2005; 21(5); 667–72
- (33) Ogawa T, Fujii H, Kawai K, Yatome C, Idaka E. Growth inhibition of *bacillus subtilis* upon interaction between basic dye and DNA. *Bull Environ contam toxicol* 1989; 42(3): 402- 8.
- (34) Supaka N, Juntongjin K, Damronglerd S, Delia M. L, Strehaiano P. Microbial decolorization of reactive azo dyes in a sequential anaerobic- aerobic system. *J Chem Eng* 2004; 99(2): 169– 176.
- (35) Asad S, Amoozegar M. A, Pourbabai A. A, Sarboluki M. N, Dastgheib S. M. M. Effects of various factors on the decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. *J Biology of iran*; 2006; 21 (1): 5–16.
- (36) Wuhmann K, Mechsner K, Kappeler T. Investigation on rate determining factors in the microbial reduction of azo dyes. *Eur J Appl Microbiol Biotechnol* 1980; 9: 325–38.
- (37) Wong P. K, yuen P. Y. Decolourization and biodegradation of N, N-dimethyl- p phenylendiamine by *Klebsilla pneumonia* RS-13 and *Aceto bacter liquefaciens* s-1. *J Appl Microb* 1998; 85(1): 79– 87.
- (38) Mail P. L, Mahajan M. M, Patil D. P, Kulkarni M. V. Biodecolourisation of members of triphenyl methane and azo groups of dyes. *J Scientific & Industrial Research* 2000; 59(3): 221–4.
- (39) Chen K. C, Wu J. Y, Liou D. J, Hwang S. C. J. Decolorization of the textile azo dyes by newly isolated bacterial strains. *J biotechnol* 2003; 101(1): 57– 68.
- (40) Dong X, Zhou J, Liu Y. Peptone-induced biodecolorization of Reactive Brilliant Blue (KN-R) by *Rhodocycus gelatinosus* XL-1. *Process Biochem* 2003; 39(1): 89– 94.
- (41). Taran M, Amirkhani H. Strategies of poly(3-hydroxybutyrate)synthesis by *Haloarkula* sp. IRU1 utilizing glucose as carbon source: optimization of culture conditions by taghuchi methodology. *J Biological Macromolecules* 2010; 47(5): 632-34.

¹. Azo dyes
². Halophilic
³. Halotolerant
⁴. Diazo
⁵. CIBA
⁶. Taghuchi method
⁷. *Klebsiella pneumoniae*
⁸. Methyl Red
⁹. Alkali genes Liquefacient-S-1
¹⁰. Maillet al
¹¹. 3-phenyl-methane
¹². Bacterial Consortium PVM11-1
¹³. Asad et al

Decolorization of Remazol Black-B by *Halomonas* sp. PTCC1417 isolated from Urmia lake: Optimization by Taguchi methodology

Mojtaba Taran^{* **}

Associate Professor of Microbiology, Razi University, Kermanshah, Iran, mojtabatan@yahoo.com

Nasrin Froedin

M.Sc. of Microbiology, Razi University, Kermanshah, Iran, nasrinfroedin@yahoo.com

Abstract

Introduction: Azo dyes account as the most dyes of all textile dyestuffs produced, and are the most common dye in textile industries. Azo dyes-containing effluents from these industries have caused serious environmental pollution. Compared with chemical/physical methods, biological processes have received more interest.

Materials and methods: In this study, we investigated effects of four factors including temperature, pH, dye concentration, salt concentration on decolorization of Remazol Black B by *Halomonas* sp. PTCC1714. The optimization of dye decolorization in 16 experiments with different conditions was statistically analyzed using Taguchi design in Qualitek-4 software.

Results: The results showed that *Halomonas* sp. PTCC1714 was able to decolorize Remazol Black B in varying salt at 5–20% (w/v), pH at 5-9, dye concentration at 100-5000 ppm and temperature 31-40 °C. The optimum factor levels were a dye concentration of 100 ppm, salt concentration 10 % (w/v) and pH 9 and temperature 31°C. The predicted value obtained for dye decolorization under these conditions was about 94%.

Discussion and conclusion: It can be concluded that *Halomonas* sp. PTCC1714 has a high potential for decolorization of Remazol Black B from textile wastewater under different conditions.

Key words: Halomonas, Azo dyes, Rimazol Black-B, Decolorization, Textile wastewater

* Corresponding Author

** Islamic Azad University, Science and Research Branch, Kermanshah, Iran

Received: February 6, 2013 / **Accepted:** July 6, 2013