Journal of Environment and Water Engineering
ISSN: 2476-3683

مجله محیط زیست و مهندسی آب
شابک : ۲۴۷۶-۳۶۸۳

مقایسه حذف زیستی رنگ‌زاهای ریمازول بلک- بی و ریمازول رد-بی از محیط آبی به‌وسیله باکتری Streptomyces hygroscopicous PTCC1132

طیبه طباطبایی، طیبه تهمتن و محمد انصاری‌زاده

دوره۴، شماره ۱، بهار ۱۳۹۷، صفحات۷۱-۶۱

Vol. 4(1), Spring 2018, 61 – 71

DOI:10.22034/jewe.2018.54489

Examination of Biological Color Removal by the Bacterium Streptomyces Hygroscopicusremazol Blak-B Dye and Remazol Red-B from Aqueous Medium

Tabatabi T., Tahamtan T. and Ansarizadeh M.

www.jewe.ir

OPEN ACCESS

ارجاع به این مقاله: طباطبایی ط.، تهمتن ط. و انصاری زاده م. (۱۳۹۷). مقایسه حذف زیستی رنگ‌زاهای ریمازول بلک- بی و ریمازول رد-بی از محیط آبی به‌وسیله باکتری Streptomyces hygroscopicous PTCC1132. محیط‌زیست و مهندسی آب، دوره ۴، شماره ۱، صفحات: ۷۱ – ۶۱.

Citing this paper: Tabatabi T., Tahamtan T. and Ansarizadeh M. (2018). Examination of biological color removal by the bacterium streptomyces hygroscopicusremazol blak-b dye and remazol red-b from aqueous medium. J. Environ. Water Eng., 4(1), 61 – 71. DOI:10.22034/jewe.2018.54489

مقایسه حذف زیستی رنگ‌زاهای ریمازول بلک- بی و ریمازول رد-بی از محیط آبی به‌وسیله باکتری Streptomyces hygroscopicous PTCC1132

طیبه طباطبایی[۱]، طیبه تهمتن[۲] و محمد انصاری‌زاده[۳]*

[۱]استادیار، گروه محیط‌زیست، واحد بوشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده مهندسی منابع طبیعی و شیلات، بوشهر، ایران

[۲]مجتمع آموزش عالی سلامت ممسنی، گروه بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده بهداشت شیراز، ایران

[۳]دانشجوی دکتری تخصصی، گروه مهندسی محیط‌زیست، دانشگاه آزاد اسلامی بوشهر، دانشکده مهندسی منابع طبیعی و شیلات، بوشهر، ایران

***نویسنده مسئول:** mansarizadeh@yahoo.com

مقاله اصلی

تاریخ دریافت: [۱۳۹۶/۰۱/۲۰] **تاریخ بازنگری:** [۱۳۹۶/۰۳/۲۸] **تاریخ پذیرش:** [۱۳۹۶/۰۴/۲۶]

چکیده

رنگ‌زاهای آزو به‌عنوان دسته‌ای از رنگ‌ها کاربرد گوناگونی در صنایع مختلف دارند. برای حذف این مواد روش‌های فیزیکی و شیمیایی در نظر گرفته شده ولی به دلیل محدودیت و مشکلات این روش‌ها، تصفیه زیستی که روش اقتصادی و مؤثر برای پالایش و آلودگی‌زدایی از فاضلاب‌های آلوده به مواد رنگ‌زاست، ترجیح داده می‌شود. در این تحقیق توانایی حذف ماده رنگ‌زای ریمازول بلک- بی و ریمازول رد _ بی به‌وسیلهٔ باکتری Streptomyces hygroscopicus سویه PTCC1132 مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از روش تاگوچی و بررسی عواملی مانند درجه حرارت (۲۸-۳۵ $^{\circ}C$)،pH(6-8)، غلظت نمک (۰/۵-۲٪)، غلظت رنگ‌زا (۵۰۰-۱۰۰۰۰mg/l)، شرایط بهینه رنگ‌بری تعیین و میزان کاهش رنگ نمونه‌ها به‌وسیلهٔ دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis بررسی شد. بعد از طراحی ۱۶ آزمایش، نتایج با برنامه کامپیوتر Qualitek-4 تجزیه و تحلیل شد. بررسی‌ها نشان داد که باکتری Streptomyces hygroscopicus سویه PTCC1132 با احراز شرایط بهینه رشد به‌دست‌آمده طی تحلیل آزمایش‌ها، یعنی دمای ۳۳ $^{\circ}C$، pH برابر ۹، و غلظت نمک ۱٪ تا ۹۶/۳۹ درصد رنگ‌زای آزوی ریمازول بلاک-بی با غلظت (۵۰۰۰ppm) را از محیط آبی حذف می‌کند. این سویه با احراز شرایط بهینه رشد به‌دست‌آمده، یعنی دمای ۳۳ $^{\circ}C$، pH برابر ۸، و غلظت نمک ۱ تا ۱۰۰٪ ، رنگ‌زای آزوی ریمازول رد- بی را با غلظت (۱۰۰۰۰ppm) از محیط آبی حذف کرد. در نتیجه استفاده از این باکتری در تصفیه زیستی پساب‌های واجد رنگ‌های صنعتی می‌تواند کمک مؤثری در تصفیه و استفاده مجدد این‌گونه آب‌ها باشد.

واژه‌های کلیدی: حذف زیستی؛ باکتری، رنگ‌بری؛ رنگ‌زا؛ پساب نساجی.

۱- مقدمه

یکی از رایج‌ترین صنایع آلاینده محیط‌زیست پساب‌های صنعتی می‌باشد. صنایع نساجی و رنگرزی که از صنایع مهم و پایه بوده، یکی از شاخصه‌های پیشرفت هر کشوری محسوب می‌شوند. علاوه بر صنایع نساجی و رنگرزی، سایر صنایع از قبیل تولید مواد آرایشی، چرم‌سازی، داروسازی، کاغذسازی و کارخانه‌های تولید رنگ نیز فاضلاب‌های رنگی تولید می‌کنند. برآورد شده است که سالانه در حدود ۷۰۰۰۰۰ تن رنگ در سراسر جهان تولید می‌شود (Majlesi et al. 2009; Andre et al. 2007). ترکیبات آزو بزرگ‌ترین گروه رنگ‌زاهای آلی سنتزی را تشکیل می‌دهند، در نمایه رنگ‌زاها بیش از ۲۰۰۰ ترکیب آزو قیدشده است (Majlesi et al. 2009). رنگ‌های آزو از بزرگترین دسته از رنگ‌های سنتتیک با پیوند دوگانه نیتروژن- نیتروژن و تنوعی از رنگ‌ها و ساختارهای متصل به گروهای حلقوی، شناخته می‌شود و از پرمصرف‌ترین رنگ‌ها در صنعت نساجی می‌باشد(Kannan et al. 2013; Asad et al. 2007). تخلیه نابجای این پساب‌های رنگی محتوی رنگ‌های آزو و متابولیت‌های آن‌ها به بوم‌سازگان آبی از نظر زیباشناسی ناخوشایند است و منجر به کاهش نفوذ نور خورشید می‌شود و اثرات سمی حاد بر روی گیاهان آبزی و جانوران دارد (Saratale et al. 2011). رنگ‌های آزو به دلیل سمیت، جهش‌زایی و سرطان‌زا بودن برای بوم‌سازگان آبی از مهم‌ترین و بزرگترین آلاینده‌های شیمیایی به‌حساب می‌آیند (Joshi et al. 2013 ; Tastan et al. 2010). گزینه‌های زیادی از قبیل روش‌های فیزیکی و شیمیایی نظیر جذب، انعقاد، ته‌نشینی، صاف‌سازی و جذب سطحی به‌وسیله کربن فعال‌شده، اکسیداسیون به‌وسیله ازن، یونیزاسیون و اولترافیلتراسیون برای حذف مواد رنگ‌زا استفاده می‌شود (Khandare et al. 2013; Saratale et al. 2011). هر دو روش فیزیکی و شیمیایی دارای معایب بسیاری از قبیل تولید لجن به مقدار بالا، هزینه بالا و تشکیل محصولات جانبی می‌باشند (Wang et al. 2009). بنابراین در مقایسه با روش‌های فیزیکی و شیمیایی فرآیندهای زیستی، به‌دلیل مقرون‌به‌صرفه بودن و تولید لجن کم‌تر و هزینه پایین مورد توجه بسیاری قرار گرفته و تحت شرایط ایستا رنگ‌بری باکتریایی به‌خوبی اثر انتقال رنگ را اثبات کرده است (Gurulakshmi et al. 2008 and Joshi et al. 2013). بسیاری از این خرده‌زیستمندها شامل باکتری، قارچ، جلبک‌ها و اکتینومایست‌ها توانایی حذف رنگ‌های آزو را دارند. طولانی بودن دوره رشد و میزان رنگ‌زدایی متوسط قارچ‌ها و جلبک‌ها کاربرد سیستم‌های رنگزدایی به وسیلهٔ آنها را محدود می‌کند؛ در مقابل رنگزدایی به وسیلهٔ باکتری‌ها سریع‌تر انجام می‌گیرد (Kalyani et al. 2009). تجزیه زیستی آلوده‌کننده‌ها در بوم‌سازگان طبیعی به وسیلهٔ عوامل مختلف محیطی مانند دما، اکسیژن، pH و غیره تحت تأثیر قرار می‌گیرد. پساب بسیاری از کارخانه‌ها نساجی ایران به دلیل موقعیت جغرافیایی در زمین‌های شور و کویری رها می‌شوند. بنابراین خرده‌زیستمندهایی قادر به حذف رنگ از پساب می‌باشند که بتوانند این شرایط سخت را تحمل نموده و در آن رشد و فعالیت کنند و از آنجا که باکتری Streptomyces hygroscopicus (S. hygroscopicus) یک باکتری خاک‌زی می‌باشد و می‌تواند شرایط سخت (غلظت بالای رنگ و نمک) پساب را تحمل کند استفاده از این باکتری جهت تصفیه زیستی انتخاب مناسبی می‌باشد (Asad et al. 2007). روش تاگوچی به شکل گسترده‌ای برای بهینه‌سازی واکنش متغیرها به‌وسیله کاهش تعداد آزمایش‌ها به‌کار می‌رود. این روش به شناسایی فاکتورهای مؤثر و تعیین ارتباط بین متغیرها و شرایط عملکردی کمک می‌کند. آنالیز داده‌های آزمایشی به‌وسیله ANOVA (آنالیز واریانس) و فاکتورهای مؤثر خروجی فراهم می‌آورد که به شکل آماری دریافت سطوح بهینه مؤثر است. بنابراین، هدف از مطالعه حاضر بهینه‌سازی پارامترهایی است که کارایی رنگزدایی و کاهش COD را به‌وسیله باکتری S. hygroscopicus افزایش می‌دهند. همچنین بررسی توانایی باکتری S. hygroscopicus سویه PTCC1132 در حذف ماده رنگ‌زای ریمازول بلک-بی و ریمازول رد-بی از محیط آبی و تعیین شرایط بهینه این باکتری در حذف این رنگ‌زاها مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- خرده‌زیستمند و رنگ‌زاهای مورداستفاده

باکتری S. hygroscopicus PTCC1132 از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. در این تحقیق به‌منظور رشد سریع باکتری S. hygroscopicus از یک محیط کشت نیمه اختصاصی جدید بنام محیط کشت FZmsn استفاده شد که بر اساس دو محیط کشت رشد S. hygroscopicus یعنی GYM (Glucose Yeast Malt) و MSA (Manitol Salt) agar) می‌باشد. در این محیط کشت FZmsn که حاوی ۲۰g قند مانیتول، ۲۰g آرد سویا، ۵ g سدیم کلرید، ۲ g کلسیم کربنات، ۱۶ g آگار-آگار که در یک لیتر آب مقطر حل می‌گردد. پس از استریل کردن و خنک شدن ۱ g/l به آن نیستاتین در شرایط استریل اضافه می‌شود.

کلنی‌های باکتری S. hygroscopicus بر روی این محیط به رنگ سفید و به‌ظاهر خشک و گچی و هم‌چنین دارای بوی خاک هستند (Dervishi Harzvil et al. 2006). رنگ ریمازول رد– بی (RR-B) و ریمازول بلک – بی (RB-B) (تهیه‌شده از شرکت سیبا) که اولی یک رنگ مونوآزوی سولفاناته با فرمول شیمیایی $C_{18}H_{14}N_2Na_2O_{10}S_3$ و وزن مولکولی ۵۶۰/۴۸۵۷ g/mole و رنگ RR-B سولفوناته با دو پیوند آزو، به‌عنوان نماینده رنگ‌های آزو استفاده شدند. این رنگ‌زاهای راکتیو محلول در آب، سیاه‌رنگ، سرطان‌زا و سمی است که در صنایع نساجی مصرف زیادی دارد و وزن مولکولی آن ۹۹۱/۸۱ g/mole می‌باشد. RB-B دارای فرمول شیمیایی $C_{12}H_{21}N_5Na_4O_{19}S_6$ Ugurlu et al. (2008). استفاده از روش تاگوچی برای طراحی آزمایش برای تعیین شرایط بهینه در فرآیندهای زیست‌فناوری و میکروبی یک گزینه مثبت و مفید خواهد بود (Betlachand Shand et al. 1998; Taran et al. 2011). اولین گام در روش تاگوچی تعیین عوامل مؤثر و سطوح آن‌ها می‌باشد که در این تحقیق از بین عوامل مؤثر، چهار عامل و برای هر عامل چهار سطح در نظر گرفته شد. با توجه به این عوامل و سطوح، ۱۶ آزمایش به وسیله نرم‌افزار تاگوچی طراحی شد که آزمایش‌ها در جدول (۱) نشان داده‌شده است. قابل‌ذکر است انتخاب سطوح عوامل از نظم و رابطه خاصی پیروی نمی‌کند و به‌صورت تصادفی و انتخابی و با توجه به محدوده‌ای که باکتری موردمطالعه در آنها قادر به رشد بود، انتخاب‌شد.

جدول ۱- عوامل و سطوح انتخابی توسط تاگوچی
Table 1. Selected levels and parameters by Tagochi

آزمایش‌ها	دما	pH	غلظت رنگ	غلظت نمک
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	1	4	4	4
5	2	1	2	3
6	2	2	1	4
7	2	3	4	1
8	2	4	3	2
9	3	1	3	4
10	3	2	4	3
11	3	3	1	2
12	3	4	2	1
13	4	1	4	2
14	4	2	3	1
15	4	3	2	4
16	4	4	1	3

سطوح دما ۲۸،۳۰، ۳۳ و $^{\circ}C$ ۳۵، سطوح pH ۶ ،۷ و ۸ و ۹، سطوح غلظت رنگ ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰۰ و ppm ۱۰۰۰۰ سطوح غلظت نمک ۰/۵، ۱ و ۱/۵ و ۲٪ در نظر گرفته شد. برای انجام هر آزمایش ۲۰ سی‌سی از محیط کشت را درون ارلن ۱۰۰ ریخته و بعد از تنظیم pH و غلظت رنگ با توجه به شرایط تعیین‌شده به‌وسیلهٔ نرم‌افزار به هر ارلن ۵٪ آلودگی (تعداد باکتری) تلقیح شد. ارلن‌ها را جهت گرماگذاری درون انکوباتور به مدت پنج روز گذاشته و بعد از پایان آزمایش مقدار رنگ حذف‌شده از محیط با استفاده از اسپکتروفتومتر بررسی شد. برای سنجش فعالیت رنگزدایی فاز جامد (شامل لول‌ها) و فاز مایع نمونه‌های کشت، به‌وسیله سانتریفوژ rpm ۱۳۰۰۰ به‌مدت min ۴ جدا شد. سپس غلظت رنگ باقی‌مانده در محلول رویی در ماکزیمم طول‌موج جذبی

ریمازول بلک-بی یعنی ۵۹۵ nm و RR-B در ۵۴۶ nm با روش اسپکتروفتومتری در مقایسه با محیط بدون رنگ به‌مدت پنج روز با استفاده از رابطه (۱) اندازه‌گیری شد.

$$D=100(A_{ini}-A_{obs})/A_{ini} \quad (۱)$$

که در آن D درصد رنگ‌زدایی، A_{ini} جذب اولیه و A_{obs} جذب مشاهده‌شده جهت آنالیز رنگ‌بری از رنگ‌راها از دستگاه اسپکتروسکوپی UV-Vis استفاده می‌شود.

۳- یافته‌ها و بحث

۳-۱- رنگ‌زای RB-B

در جدول (۲) میانگین نتایج نهایی از ۱۶ آزمایش انجام‌شده، آورده شده است. این نتایج به کمک برنامه کامپیوتری Qualitek-4 مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. اثرات مربوط به هر سطح محاسبه شد. تأثیر هر سطح از هر فاکتور بر روی رنگ‌بری این سویه نشان داده شده است. در این مطالعه اثر غلظت رنگ، pH، غلظت نمک و دما روی حذف رنگ به وسیلهٔ باکتری S. hygroscopicus مورد بررسی قرار گرفت.

طبق شرایط بهینه معرفی‌شده به وسیلهٔ تاگوچی بعد از تکرار سه بار آزمایش میانگین نتایج نهایی درصد رنگ‌بری مشخص شد. نتایج نشان داد که فاکتور دما در سطح ۳ یعنی ۳۳ °C، فاکتور pH در سطح ۴ یعنی pH برابر ۹، غلظت رنگ محیط در سطح ۳ یعنی ۵۰۰۰ ppm، غلظت نمک محیط در سطح ۲ یعنی ۱ درصد، به‌وسیله باکتری S. hygroscopicus بیشترین تأثیر را در رنگ‌بری رنگ ریمازول بلک-بی دارند. طی تحلیل آزمایش‌ها به وسیلهٔ تاگوچی تأثیر متقابل فاکتورها مشخص شد. این تأثیرات متقابل بر اساس شاخص میزان بین دو فاکتور انتخابی اندازه‌گیری می‌شود که از ۵۲/۲۸ تا ۳/۴۵ ٪ تغییر می‌کند. شدت تأثیر متقابل بین دو عامل که کمترین تأثیر را در رنگ‌بری رنگ RB-B دارند شامل عامل دما در برابر فاکتور رنگ می‌باشد و حدود ۳/۴۵٪ است. بیشترین درصد شاخص شدت تأثیر متقابل ۵۲/۲۸٪ می‌باشد که مربوط به تأثیر متقابل فاکتور رنگ در فاکتور نمک است. مقایسه شاخص شدت تأثیر متقابل بین فاکتورها در جدول (۳) نشان می‌دهد که اثر یک فاکتور در بهینه‌سازی رنگ‌بری بسته به شرایط فاکتورهای دیگر دارد.

جدول۲- میانگین نتایج نهایی درصد رنگ‌بری از رنگ RB-B به وسیله باکتری S. hygroscopicus سویه PTCC1132

Table 2. Mean final RB-B removal percentage by S. hygroscopicus PTOCC1132

آزمایش‌ها	درصد رنگ‌بری	آزمایش‌ها	درصد رنگ‌بری	آزمایش‌ها	درصد رنگ‌بری	آزمایش‌ها	درصد رنگ‌بری
1	61.62	5	66.26	9	79.03	13	81.74
2	70.40	6	54.63	10	76.03	14	77.05
3	82.40	7	78.20	11	83.63	15	50.28
4	69.38	8	76.46	12	91.56	16	59.12

جدول ۳- تخمین تأثیرات متقابل فاکتورها بین پارامترهای مختلف بر میزان رنگ‌بری باکتری S. hygroscopicus سویهPTCC1132

Table 3. Predicted interaction effect between parameters on the dye removal by S. hygroscopicus PTOCC1132

تأثیر جفت فاکتور بر اساس (SI)	ستون	شدت تأثیرات متقابل (٪)	ستون	شرایط بهینه
فاکتوررنگ × فاکتور نمک	3×4	52.28	7	(2, 1)
فاکتورpH × فاکتور نمک	2×4	32.42	6	(4, 1)
فاکتور دما × فاکتورpH	1×2	24.72	3	(3, 4)
فاکتورpH× فاکتور رنگ	2×3	13.48	1	(4, 2)
فاکتور دما × فاکتور نمک	1×4	12.74	5	(3, 1)
فاکتور دما × فاکتور رنگ	1×3	3.45	2	(3, 2)

در جدول (۴) پارامترهای تأثیرگذار در رنگ‌بری رنگ‌زای RB-B به کمک آنالیز واریانس نشان داده‌شده است. ستون آخر اثرات هریک از فاکتورها را مشخص می‌کند، که مؤثرترین فاکتور در رنگ‌بری رنگ RB-B به وسیلهٔ سویه PTCC1132 فاکتور دما می‌باشد و بعد از آن فاکتور غلظت نمک و سپس غلظت رنگ‌زا بیشترین تأثیر را داشته‌اند و طبق جدول (۴) pH کمترین تأثیر را دارد.

جدول ۴- آنالیز واریانس برای رنگ‌بری رنگ RB-B به‌وسیله باکتری S. hygroscopicus سویهPTCC1132

Table 4. ANOVA for RB-B removal by.S hygroscopicus PTOCC11

ستون فاکتور	درجه آزادی	مجموع مربعات	واریانس	مجموع مربعات خالص	درصد(٪)
دما	3	585.443	195.147	2.093	15.62
pH	3	51.204	17.068	0.183	0
غلظت رنگ	3	487.411	162.47	1.743	10.613
غلظت نمک	3	554.084	184.694	1.981	14.019

برآورد شرایط بهینه برای حذف رنگ به وسیلهٔ باکتری S. hygroscopicus سویه PTCC1132 به‌وسیلهٔ تجزیه و تحلیل تاگوچی نشان داد که عامل دما نقش مهمی را در رنگ‌بری زیستی نسبت به عوامل دیگر بازیبرای حذف رنگ به وسیلهٔ باکتری موردنظر در حضور غلظت رنگ ۵۰۰۰ ppm و غلظت نمک ۱٪ و دمای ۳۳ °C و pH برابر ۹ به‌دست می‌آید. عامل pH کمترین نقش را دارد. طبق روش تاگوچی شرایط بهینه۹۶/۳۹٪ حذف رنگ از محیط آبی در شرایط ایستا داشته باشد (جدول ۵).

جدول ۵- شرایط بهینه برای رنگ‌بری رنگ‌زای RB-B به وسیله باکتریS. hygroscopicus سویه PTCC1132

Table 5. Optimum conditions for RB-B removal by S.hygroscopicus PTOCC1132

فاکتور	سهم	سطح (٪)
دما	3	10.2
pH	4	1.768
غلظت رنگ	3	6.373
غلظت نمک	2	5.695
جمع سهم فاکتورها	-	24.036
میانگین	-	72.361
نتیجه قابل‌انتظار در شرایط بهینه	-	96.397

۳- ۱- رنگ‌زای RR-B

داده های تحقیق به کمک برنامه کامپیوتری Qualitek- 4 مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت و اثرات مربوط به هر سطح محاسبه شد. در جدول (۶) میانگین نتایج نهایی حاصل از تحلیل آماری از ۱۶ آزمایش، آورده شده است.

جدول ۶- میانگین نتایج نهایی درصد رنگ‌بری از رنگ RR-B به وسیله باکتری S. hygroscopicus سویه PTCC1132

Table 6. Mean final RB-B removal percentage by S. hygroscopicus PTOCC1132

آزمایش‌ها	رنگ‌بری (٪)	آزمایش‌ها	رنگ‌بری (٪)	آزمایش‌ها	رنگ‌بری (٪)	آزمایش‌ها	رنگ‌بری (٪)
1	56.15	5	67.28	9	87.80	13	83.45
2	69.71	6	53.32	10	88.85	14	85.06
3	85.03	7	88.53	11	90.61	15	65.00
4	88.02	8	88.35	12	74.19	16	56.33

در جدول (۷) تأثیر هر سطح ازهر فاکتور بر روی رنگ‌بری این سویه نشان داده‌شده است که فاکتور دما در سطح ۳ یعنی ۳۳ $^{\circ}C$ ، فاکتور pH سطح ۳ یعنی pH برابر ۸، غلظت رنگ محیط در سطح ۴ یعنی ۱۰۰۰۰ ppm، غلظت نمک محیط در سطح ۲ یعنی ۱ ٪، به وسیله باکتری S. hygroscopicus سویه PTCC1132 بیشترین تأثیر را در رنگ‌بری رنگ RR-B دارند.

جدول۷- اثرات سطوح مختلف فاکتورها بر میزان رنگ‌بری باکتری S. hygroscopicus سویه PTCC1132

Table 7. Effect of different levels of factors on the dye removal by S. hygroscopicus PTOCC1132

فاکتور	1سطح	2سطح	3سطح	4سطح
دما	74.727	74.73	85.365	72.459
pH	73.669	74.235	82.292	76.722
غلظت رنگ	64.102	69.044	86.559	87.212
غلظت نمک	75.98	83.029	74.372	73.535

در جدول (۸) تأثیر متقابل فاکتورها مشخص‌شده است این تأثیرات متقابل بر اساس شاخص میزان بین دو فاکتور انتخابی اندازه‌گیری می‌شود که از ۵۷/۱۸ تا ۰/۵۳ ٪ تغییر می‌کند شدت تأثیر متقابل بین دو عامل که کمترین تأثیر را در رنگ‌بری رنگ RR-B دارند شامل عامل دما در برابر فاکتور رنگ می‌باشد و حدود ۰/۵۳٪ است. و بیشترین درصد شاخص شدت تأثیر متقابل ۵۷/۱۸ ٪ می‌باشد که مربوط به تأثیر متقابل فاکتور pH در فاکتور نمک است. مقایسه شاخص شدت تأثیر متقابل بین فاکتورها در این جدول نشان می‌دهد که اثر یک فاکتور در بهینه سازی رنگ‌بری بستگی به شرایط فاکتورهای دیگر دارد.

جدول ۸- تخمین تأثیرات متقابل فاکتورها بین پارامترهای مختلف بر میزان رنگ‌بری باکتری S. hygroscopicus سویه PTCC1132

Table 8. Estimating interaction effect between different parameters on the dye removal by S. hygroscopicus PTOCC1132

تأثیر جفت فاکتور بر اساس (SI)	ستون‌ها	شدت تأثیر متقابل (٪)	ستون	شرایط بهینه
pH× فاکتور نمک	2×4	57.18	6	(2, 3)
فاکتوررنگ× فاکتور نمک	3×4	52.21	7	(1, 2)
فاکتور دما× فاکتور pH	1×2	36.89	3	(3, 3)
فاکتور دما× فاکتور نمک	1×4	18.42	5	(2, 3)
فاکتور pH× فاکتور رنگ	2×3	7.05	1	(3, 1)
فاکتور دما×فاکتور رنگ	1×3	0.53	2	(1, 3)

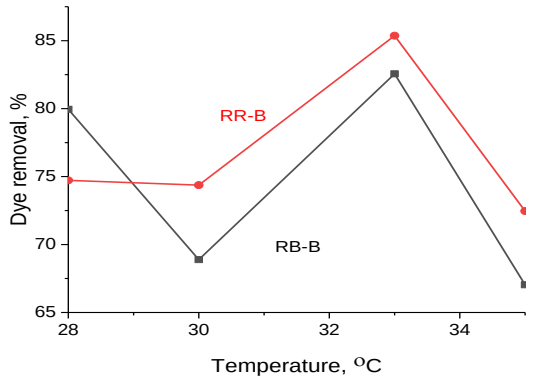
در جدول (۹) پارامترهای تأثیرگذار در رنگ‌بری رنگ RR-B به کمک آنالیز واریانس نشان داده‌شده است. ستون آخر اثرات هر یک از فاکتورها را مشخص می‌کند، که مؤثرترین فاکتور در رنگ‌بری رنگ ریمازول رد-B به وسیله سویه PTCC1132 فاکتور غلظت رنگ می‌باشد و بعد ازآن فاکتور غلظت دما و سپس غلظت نمک بیشترین تأثیر را داشته‌اند و طبق جدول (۹) pH کمترین تأثیر را دارد.

جدول ۹- آنالیز واریانس برای رنگ‌بری رنگ RR-B به وسیله باکتری Streptomyces hygroscopicus سویه PTCC11
Table 9. ANOVA for RR-B removal by S. hygroscopicus PTOCC1132

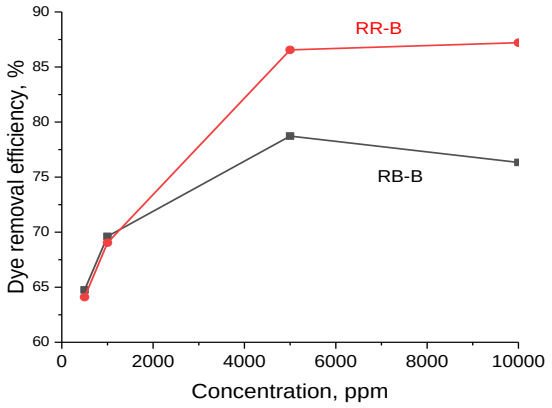
ستون فاکتور	درجه آزادی	مجموع مربعات	واریانس	مجموع مربعات خالص	درصد (٪)
دما	3	409.335	136.445	211.33	7.776
pH	3	186.12	62.04	0.0	0.0
غلظت رنگ	3	1700.093	556.697	1502.089	55.272
غلظت نمک	3	224.58	74.686	26.054	0.958

سهم هرکدام از فاکتورها در طی دوره‌ها نیز بررسی شد. نتایج نشان داد که دما نقش مهم و اساسی را در رنگ‌بری دارد و تحت شرایط بهینه انتظار می‌رود که این سویه نزدیک ۱۰۰ ٪ حذف رنگ ریمازول رد- بی را از محیط آبی در شرایط ایستا داشته باشد. نتایج همچنین نشان داد که بیشترین فعالیت رنگزدایی در ۳۳ °C برای هر دو رنگ‌زای RB-B و RR-B مشاهده شد و با افزایش دما از ۳۳ °C تا ۴۰ °C کاهش رنگ‌بری مشاهده می‌شود که درنتیجه کاهش فعالیت و رشد این سویه می‌باشد. شکل (۱) نشان می دهد که بیشترین فعالیت رنگزدایی در ۳۳ °C برای هر دو رنگ-زای دی آزو و مونو آزو مشاهده و با افزایش دما از ۳۳ تا ۴۰ °C کاهش رنگ‌بری مشاهده می‌شود که درنتیجه کاهش فعالیت و رشد این سویه می‌باشد.

بررسی‌ها نشان داد که باکتری S. hygroscopicus سویه PTCC1132 بیشترین میزان رنگزدایی از هر دو رنگ‌زا را در غلظت 5000 ppm از خود نشان می‌دهد. توانایی رنگ‌بری و زنده‌ماندن این سویه تا غلظت ۱۰۰۰۰ ppm موردبررسی قرار گرفت که در این غلظت، سویه PTCC1132 برخلاف گزارش‌های قبلی مقاومت بالایی در برابر سمیت رنگ از خود نشان می‌دهد و از رنگ به‌عنوان منبع کربن استفاده می‌کند و درواقع با افزایش غلظت رنگ میکروارگانیسم رشد بیشتری داشته و فعالیت رنگزدایی هم بیشتر خواهد بود (شکل ۲).

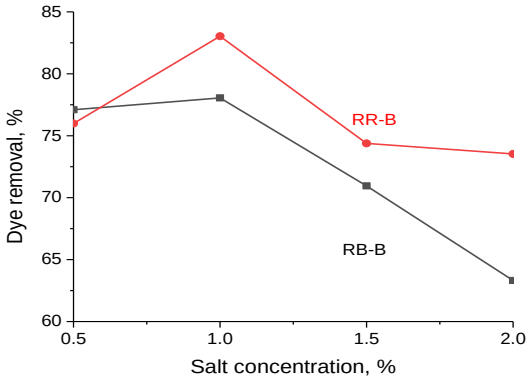


شکل ۱- تأثیر دما در رنگزدایی به وسیله باکتری سویه S. hygroscopicus
Fig. 1. Effect of temperature on the dye removal efficiency by S. hygroscopicus PTOCC1132



شکل ۲- تأثیر غلظت رنگ‌زا در رنگزدایی به وسیله باکتری S. hygroscopicus سویه PTCC1132
Fig.2 Effect of dye concentration of the removal efficiency by S. hygroscopicus PTOCC1132

ازآنجاکه باکتری S. hygroscopicus سویه PTCC1132 یک باکتری خاک‌زی می‌باشد. با وجود اینکه هالوموناس نیست می‌تواند تا حدی نمک را تحمل نماید و از نمک تا حد متعارفی جهت رشد ماده غذایی استفاده می‌کند. درنتیجه بیشترین میزان رشد را در غلظت نمک حدود ۱٪ دارند. بنابراین بیشترین میزان رنگ‌بری به وسیلهٔ این سویه برای هر دو رنگ در این غلظت از نمک می‌باشد باوجوداینکه سویه مدنظر نمک دوست نمی‌باشد. توانایی رنگ‌بری در محدوده وسیعی از غلظت نمک نکته مثبتی است که استفاده ازسویه موردنظر برای رنگ‌بری پساب در صنعت مناسب می‌سازد (شکل ۳).



شکل ۳- تأثیر غلظت نمک در رنگزدایی رنگ (RR-B) به وسیله باکتری S. hygroscopicus سویه PTCC1132

Fig 3. Effect of salt concentration on the dye removal efficiency by S. hygroscopicus PTOCC1132

pH از فاکتورهای مهم جهت بهتر شدن فعالیت رنگ‌زدایی می‌باشد. نتایج نشان داد که وقتی pH اولیه پایین است کاهش رشد باکتری و درنتیجه کاهش فعالیت رنگزدایی مشاهده می‌شود. حال آمکه با افزایش pH به سمت قلیایی شدن یعنی از pH ۷ تا ۸ افزایش رشد باکتری S. hygroscopicus و درنتیجه افزایش فعالیت رنگ‌زدایی مشاهده می‌شود. برای به‌دست آوردن حداکثر نرخ رنگ‌زدایی از رنگ‌های آزو بهینه‌سازی سیستم‌عامل نیز لازم است. آزمایش صنعتی شامل تعدادی پارامترها و طراحی فاکتوریل کامل است که نتیجه آن انجام تعداد زیادی آزمایش است. برای کاهش تعداد آزمایش‌ها، به‌وسیله بکار بردن ابزارهای آماری، تعداد کمی آزمایش با همه شرایط ممکن انتخاب می‌شود (Saudagar and Singhal. 2007). از نرم‌افزار Qualitek-4 برای طراحی اتوماتیک آزمایش‌ها در روش تاگوچی استفاده می‌شود (Roy 2007). تحقیقات نشان می‌دهد که کارایی سیستم‌های تیمار بیولوژیکی به مقدار زیاد تحت تأثیر پارامترهای عملکردی (مؤثر) قرار می‌گیرند. سطح هوادهی، دما، pH، و ساختار رنگ و غلظت رنگ پتانسیل کاهشی سیستم بایستی برای دستیابی به بیشترین نرخ کاهش رنگ بهینه‌سازی شوند (Chen et al. 2003).

۵- نتیجه‌گیری

نتایج آزمایش‌ها در این تحقیق نشان داد که:

۱- روش تاگوچی یکی از روش‌های مؤثر برای بهینه‌سازی پارامترهای موردنظر در فرایند رنگ‌بری زیستی رنگ ریمازول رد- بی و ریمازول بلک- بی به مقدار زیاد به‌وسیله باکتری S.hygroscopicus سویه PTCC1132 است.

۲- باکتری S. hygroscopicus سویه PTCC1132 در شرایط بهینه توانایی تقریباً ۱۰۰٪ رنگ‌بری برای رنگ ریمازول رد-بی و ۹۷٪ برای رنگ ریمازول بلک-بی دارد که در مقایسه با نتایج دیگر قابل‌ملاحظه است.

۳- با توجه به ویژگی‌های این سویه شامل رشد در شرایط سخت، تحمل شرایط پیچیده و سخت پساب، و هزینه پایین کشت، می‌توان گفت سویه مذکور جهت تصفیه پساب صنایع نساجی انتخاب مناسبی می‌باشد.

۴- بهینه pH برای رنگ ریمازول بلک-بی برابر ۹ و برای رنگ ریمازول رد- بی برابر ۸ است که این نشان‌دهنده توانایی این باکتری در تحمل شرایط قلیایی پساب می‌باشد.

Reference

Andre B., Santos D., Francisco J., Jules B. and Lier V. (2007). Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: Perspectives for anaerobic biotechnology. Bioresource Technology., 98(12), 2369-2385.

Asad S., Amoozegar M. A., Pourbabaee A. A., Sarbolou M. N. and Dastgheib S. M. M. (2007). Cetin D. and Donmez G. (2006). Decolorization of reactive dyes by mixed cultures isolated from textile effluent under anaerobic conditions. Enzyme and Microbial Technology;38: 926-930.

Chen K. C., Wu I. Y., Liou D. I. and Hwang, S. C. (2003). Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains. Journal of Biotechnology., 101, 57-68.

Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. J Biological Technology.,98(11),2082-88. [In Persian].

Dervishi Harzvili F., Hojati Z., and Mutvali Bashi M. (2006).separation and Rapid confirmation molecular of streptomycin antibiotic producing Streptomyces. Journal of Medical Sciences and Health Services - Medical Yazd.,2(4), 51-55.

Dong X., Zhou J. and Liu Y. (2003). Peptone–induced biodecolorization of Reactive Brilliant Blue(KN-R) by Rhodocycus gelatinosus XL-1.Process Biochem.,101(3),389–395.

Gurulakshmi M., Sudar D. N. P., Venba R., and Mani. (2008). Biodegradation of Leather ACID Dye by Bacillus subtilis. Advanced BioTech.,7 (5), 10.International Biodeterioration & Biodegradation., 63(4), 395–399.

Joshi B., Kabariya K. H., Nakrani S., Khan A., Farzin M., Parabial., Hiren V., Thakur C. H. M. and Doshi. (2013). Biodegradation of Turquoise Blue Dye by Bacillus Megaterium Isolated from Industrial Effluent. American Journal of Environmental Protection., 1 (2), 41-46.

Kalyani D. C., Telke A. A., Dhanve R. S. and Jadhav J. P. (2009). Ecofriendly biodegradation and detoxification of ReactiveRed 2 Textile dye by newly isolated Pseudomonas SP.SUK1. J HazardousMaterial.,163(2-3),735-42.

Kannan S., Dhandayuthapani K. and Sultana M. (2013). Decolorization and degradation of Azo dye - Remazol Black B by newly isolated Pseudomonas putida. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci; 2(4), 108-116.

Khalid A., Arshad M. and Crowley D. E. (2008). Accelerated decolorization of structurally different azo dyes by newly isolated bacterial strains.J Microbiol Biotechnol.,78(2), 361-69.

Khandare R. V., Kabra A., NAwate A. V. and Govindwar S. P. (2013). Synergistic degradation of diazo dye Direct Red 5B by Portulaca grandiflora and Pseudomonas putida. Int. J. Environ. Sci. Technol., 10(5), 1039-1050.

Mail P. L., Mahajan M. M., Patil D. P. and Kulkarni M. V. (2008).Biodecolourisation of members of triphenyl methane and azo groups of dyes. Journal of Scientific and Industrial Research.,59,221- 224.

Majlesi M., Yazdanbakhsh A. R., Sheikhmohamadi A. Sardar M. and Kashani Mis. (2009). Evaluation efficiency of iron, element in removal azo dye color of industrial effluent. Twelfth Conference of Environmental Health, School of Public Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences.p, 205-211.

Mohanty S., Dafale N. and Rao N. N. (2006). Microbial Decolorization of Reactive Black-5 in a Two-Stage Anaerobic–Aerobic Reactor Using Acclimatized Activated Textile Sludge. Biodegradation; 17:403.

Ogawa T., Shibata M., Yatome C. and Idaka, E. (1998). Growth inhibition of bacillus subtilis by basic dyes. Bull. Environ contam toxicol., 40(4), 545-552.

Ozdemir G., Pazarbasi B., Kocyigit A., Omeroglu E. E., Yasa I. and Karaboz I. (2008). Decolorization of Acid Black 210 by Vibrioharveyi TEMS1, a newly isolated bioluminescent bacterium from Izmir Bay,Turkey. World J MicrobiolBiotechnol., 24(8), 1375–1381.

Roy R. K. (2007). Qualitek-4, Software for Automatic Design and Analysis of Taguchi experiments, Nutek, Inc. Bloomfield Hills, Michigan, DSA. Free DEMO fromhttp://Nutek -us.com/wp-q4w.html.

Saratale R. G., Saratale G. D., Chang J. S. and Govindwar S. P. (2011). Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: A review.Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers; 42(1), 138–157.

Saratale R. G., Saratale G. D., Chang J. S., and Govindwar S. P. (2010). Decolorization and degradation of reactive dyes and dye wastewater by a developed bacterial consortium. Biodegra; 21: 999-1015.

Saratale R. G., Saratale G. D., Chang J. S., Govindwar S. P. (2011). Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: A review.Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers., 42(1), 138–157.

Saudagar P. S. and Singhal R. S. (2007). Optimization of nutritional requirements and feeding strategies for clavulanic acid production by Streptomyces clavuligerus.Bioresource Technology., 98, 2010-2017.

Saudagar P. S. and Singhal R. S. (2007). Optimization of nutritional requirements and feeding strategies for clavulanic acid production by Streptomyces clavuligerus. Bioresource Technology; 98: 2010-2017.

Shand R. F. and Betlach M. C. (1994). Bacteriol. bop gene cluster expression in bacteriorhodopsin-overproducing mutants of Halobacterium halobium.Journal of bacteriology.,176(6), 1655–1660.

Taran M. and Froedin N. (2013).Decolorization of Remazol Black B by Halomonas sp. PTCC1417 isolated from Urmia lake: Optimization by Taguchi methodology.MICROORGANISM BIOLOGYJOURNAL., 6(1),1-10.

Taran M., Monazah A. and Asadi N. (2011). Production of a novel biomacromolecule for nanodevices from glycerol as carbon source in different conditions.J Biol. Macromol.,49(5), 955-7.

Tastan B. E., Ertugrul S. G. and Dõnmez G. (2010). Effective bioremoval of reactive dye and heavy metals by Aspergillus versicolor.Bioresour. Technol., 101(3), 870-876.

Ugurlu M., Gurses A. and Acikyildiz M. (2008). comparison of textile dyeing effluent adsorption on commercial activated carbon and activated carbon prepared from olive stone by ZnCl2 activation. J Microporous and Mesoporous Materials., 111(1-3), 228-35.

Wang H., Qiang Su. J., Wei Zheng X., Tian Y., Xiong X. J. and Zheng T. L. (2009). Bacterial decolorization and degradation of the reactive dye Reactive Red 180 by Citrobacter sp. CK3.

Wang H., Qiang SuJ., Zheng X. W., Tian Y., Xiong X. J. and Zheng T. L. (2009).Bacterial decolorization and degradation of the reactive dye Reactive Red180 by Citrobacter sp. CK3.International Biodeterioration & Biodegradation., 63, 359-399.

Examination of Biological Color Removal by the Bacterium Streptomyces Hygroscopicusremazol Blak-B Dye and Remazol Red-B from Aqueous Medium

Tayebe Tabatabi[1], Tayebe Tahamtan[2] and Mohammad Ansarizadeh[3]*

[1]Assist. Professor., Department of Environmental, Bushehr Unit, Islamic Azad University, Faculty of Natural Resources and Fisheries, Bushehr, Iran

[2]Mamassani Higher Education Complex, Department of Health, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Iran

[3]Ph.D. Scholar., Department of Environmental Engineering, Islamic Azad University of Bushehr, Faculty of Natural Resources and Fisheries, Bushehr, Iran

***Corresponding author:** mansarizadeh@yahoo.com

Original Paper

Received: April 9, 2017 **Revsied**: June 18, 2017 **Accepted:** July 17, 2017

Abstract

Azo dyes have different applications in industry. Several chemical and physicalmethods have been proposed in removing of these dyestuffs. Alternatively, biological treatment is recognized as economical and environmentally friendly method for decolorization of dyestuff wastewaters. In the current research the capacity of the removal of Remazol Black-B and Remazol Red-B by *Streptomyces hygroscopicus* PTCC1132 in static condition was investigated. An OA layout was constructed with four factors: temperature (28-35°C), pH (6-8), salt concentration (0.5%-2%) and dye concentration (500-10000 mg/l) at four levels for the experimental design. The design and analysis of Taguchi experiments was performed by Qualitek-4 software. We showed that the Remazol Black-B decolorization can be significantly improved by Optimization of the factors involved in Remazol Black-B decolorization by *S. hygroscopicus*. The optimal conditions were pH 9, temperature 33°C, salt concentration 1% and dye concentration 5000 ppm. Under optimum conditions. Thus, this straine, under the achived effective condition az a result of exprements analysis i.e, temperature 33°C, pH=8, and salt concentration as 1% up to 100% of azo dyes(RR-B) with the density of (10000 ppm) will be removed aqueous medium.employing this type of bactria in biological treatment of wastwater with industrial dyes can be of great help in treatment and re-use wastewater.

Keywords: Biological Elimination; Bacteria; Decolorization; Azo Dyes; Textile; Wastewater