# بررسی تجزیه زیستی رنگ ایندیگوکارمین بوسیله باکتری *Acinetobacter baumannii*

سلمان احمدی اسب چین[۱*]، رضا تبارکی[۲]، حسنا مرادی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۰۶
تاریخ تصویب: ۹۵/۰۶/۲۴

**چکیده**

***تخلیه پساب‌های رنگی به داخل رودخانه‌ها و دریاچه‌ها منجر به کاهش کیفیت آب می‌شود.به‌دلیل محدودیت‌ها و مشکلات روش-های غیر زیستی، تجزیه‌زیستی که روشی ارزان و موثر برای پالایش و آلودگی‌زدایی از فاضلاب‌های آلوده به مواد رنگزا است استفاده می گردد. در روش تجزیه‌زیستی از میکروارگانیسم‌ها یی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها وجلبک‌ها استفاده می‌شود. این موجودات تجزیه-کننده‌های باصرفه و سازگار با محیط‌زیست هستند که کاربرد آن‌ها در رنگزدایی روز به روز در حال گسترش است. در این مطالعه از باکتری Acinetobacter baumannii برای***

۱* دانشیار گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر،ایران
(نویسنده مسئول sahmadyas@yahoo.fr )
۲ دانشیار گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه ایلام، ایلام
۳ دانشجوی کارشناسی‌ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه ایلام، ایلام

***تجزیه‌زیستی رنگ ایندیگوکارمین استفاده گردید. برای مشاهده تحمل و مقاومت باکتری به رنگ مذکور،در پلیت نوترینت آگار بعد از اتوکلاو کردن ،قبل سفت شدن ۱۰۰ گرم رنگ اضافه گردید، آنگاه باکتری در آن کشت گردید. رشد باکتری در این حالت نشانه مقاوم بودن باکتری به رنگ است. ازمیان pH های بین۶ تا ۱۰، غلظت های۲۵ تا ۲۵۰ میلی گرم درلیتر، دمای ۳۰ تا ۵۵ درجه سانتی گراد و مدت زمان ۷۲ ساعت، با ثابت فرض کردن سایر فاکتورها و تنها متغییر درنظر گرفتن یک فاکتور در هر مرحله از آزمایش بهترین شرایط به دست آمد. طی آزمایشات صورت گرفته،مشخص گردید، بیشترین رنگبری در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و pH = ۱۰ برای ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر از رنگ ایندیگوکارمین در مدت زمان ۶۶ ساعت به میزان ۹۸/۸۸ درصد می باشد. .به بیانی دیگر حدود ۹۹% رنگ در شراط بهینه تجزیه گردید***

***واژه های کلیدی:*** ***باکتری*** *Acinetobact baumannii*، ***ایندیگوکارمین، تجزیه زیستی***

**مقدمه**

از سال ۱۸۵٦ که اولین رنگ سنتتیک به نام ماووین ساخته شد تاکنون صدهزار رنگ سنتتیک در جهان با حجم سالانه ی ۰/۷ میلیون تن ساخته می‌شودCarliell et al. (1995).رنگ‌ها به میزان فراوانی در صنایع نساجی، چاپ، غذایی، دارویی و آرایشی استفاده می‌شود Fu and Viraraghavan (2001). رنگ های نساجی امروزه یکی از متداول ترین مواد شیمیایی مصرفی است. حدود ده هزار رنگ مختلف با تولید جهانی سالیانه بیش از ۷۰۰ هزار تن به طور تجاری قابل دسترس است Hessel et al. (2007). مشکلات آلودگی حاصل از کارخانجات و صنایع نساجی از اساسی ترین ، مهمترین و بحث برانگیزترین مشکلات محیط زیستی به شمار می‌آیند(Fu and Viraraghavan. (2001. معمولاً ترکیبات رنگی را به‌صورت‌های مختلف طبقه‌بندی می‌کنند. رنگ‌هایی که در صنایع رنگرزی به‌کار می‌روند براساس کاربردی که دارند شامل رنگ‌های بازی، اسیدی، رنگ‌های مستقیم، دندانه‌ای، آزوئیکی، گوگردی، خمره‌ای، دیسپرس و واکنشی(راکتیو) می‌باشند. برطبق تئوری ویت ماده رنگزا از دو قسمت کروموفور و آگزوکروم تشکیل شده است. یک ترکیب آلی وقتی رنگی است که دارای یک یا چند گروه اشباع نشده باشد که به این گروه‌ها کروموفور می‌گویند. درواقع کروموفور بخشی از مولکول است که رنگ را پدید می‌آورد و به رنگساز مشهور است. اما بخش آگزوکروم ،گروه‌های شیمیایی موجود در ترکیبات رنگی هستند که باعث افزایش شدت رنگ شده و وظیفه آن‌ها پیوند با ماده ای است که قرار است رنگ‌آمیزی شود. براین اساس باتوجه به حضور و نوع گروه‌های شیمیایی کروموفوری در ترکیبات رنگی، رنگ‌ها را می‌توان به انواع زیر تقسیم‌بندی کرد. این تقسیم بندی شامل رنگ‌های نیترو، نیتروزو، آزو، ایندیگوییید، تری‌فنیل‌متیل یا هتروسیکلیک، فتالین وآنتروکوئینون می باشد..Ramalho, (2005),Dafale et al (2008).

یک طبقه‌بندی دیگر هم برای رنگ‌ها وجود دارد که براساس ساختار شیمیایی آنهاست. در این راستا رنگ‌ها در سه بخش عمده‌ی رنگ‌های کاتیونی، رنگ‌های آنیونی و رنگ‌های خنثی قرار می‌گیرند Chang Sook et al. (2008), Jin et al. (2007) .برای حذف مواد رنگزا از روشهای فیزیکی و شیمیایی از جمله جذب، انعقاد، ته نشینی، فیلتراسیون و غیره استفاده می گردد. از محدودیت ها و مشکلات روش های مذکور می توان به هزینه بالا، تولید مقدار زیاد لجن و همچنین ایجاد آلودگی های ثانویه اشاره کرد.Asad et al. (2007), Kalyani

et al. (2008). لذا رویکرد استفاده از روش های زیستی راهکاری آسان، دائمی، ارزان و موثر برای پالایش و آلودگی‌زدایی از فاضلاب‌های آلوده به مواد رنگزا مورد بررسی قرار گرفت. در این روش‌ها از میکروارگانیسم‌ها برای تجزیه آلاینده‌ها استفاده می‌شود. رنگ‌زدایی میکروبی می‌تواند به‌صورت جذب زیستی، تجزیه زیستی و یا ترکیبی از دو روش فوق باشد .Wu et al. 2012 Phugare et al. (2010), تیان و همکاران در کشور چین در سال ۲۰۱۳ از قارچ *Ganoderma weberianum* برای تجزیه زیستی رنگ ایندیگوکارمین استفاده کردند. Tian et al. (2013)

در این تحقیق از باکتری *Acinetobactor baumannii*، گرم منفی، دارای پیلی ، مولد اگزوپلی ساکارید، با ظاهری گرد یا میله ای شکل استفاده گردید. هدف از این تحقیق بررسی توانایی باکتری مذکور در رنگزدایی رنگ ایندیگوکارمین می باشد.

## مواد و روش ها

### کشت باکتری

باکتری مورد استفاده در این پژوهش *Acinetobacter baumannii* که به‌صورت فریزشده، به آزمایشگاه منتقل و درون محیط‌کشت نوترین‌آگار به‌صورت خطی کشت داده شد. این باکتری قبلا از خاک آلوده به نفت در نفت شهر کرمانشاه جداسازی گردید و شناسایی آن صورت گرفت.(Mostafapour el al. (2014 نمونه کشت داده شده به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد تا کشت تازه‌ای از باکتری را داشته باشیم. دمای بهینه برای رشد باکتری مذکور بین ۳۵ تا ٤٥ درجه سانتی گراد می باشد.

### مقاوم‌سازی باکتری به رنگ ایندیگوکارمین

باتوجه به اینکه که باکتری انتخاب شده تاکنون در معرض رنگی قرار نداشته و ممکن است رنگبری قابل توجهی از خود نشان ندهند یا اصلاً در حضور رنگ موردنظر قادر به رشد نباشد و یا اینکه بمیرد، فرآیند مقاوم‌سازی باکتری به رنگ ایندیگوکارمین انجام گرفت. بدین‌منظور یک‌بار دیگر محیط نوترین‌آگار ساخته شد ولی این‌بار بعد از اتوکلاو کردن محیط و قبل از ریختن محیط درون پلیت‌ها، وقتی‌که دمای محیط تقریباً به ٤٠ درجه سانتی‌گراد رسید، مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر از رنگ ایندیگوکارمین درون محیط ریخته و خوب حل گردید. بعد از حل شدن کامل رنگ در محیط، پلیت‌ها را آورده و محیط را درونشان ریخته و صبر کرده تا محیط سفت گردد. بنابراین اگر سویه‌ای که برای این پژوهش انتخاب گردید در محیط نوترین‌آگاری که حاوی رنگی سمی است قابلیت زنده ماندن و رشد را داشته باشد، پس نوعی تغییر در سیستم ژنتیکی‌اش رخ داده که این مقاومت

در آ ن ایجاد گردید. بعد از سفت شدن محیط نوترین‌آگار حاوی رنگ، باکتری را به‌صورت خطی بر روی محیط، کشت داده و پلیت را به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد درون آون قرار داده و آنگاه بعد از گذشت ۲٤ ساعت مشاهده گردید، باکتری *Acinetobacter baumannii* که انتخاب گردید به‌خوبی در حضور رنگ ایندیگوکارمین قابل رشد است.

## بررسی شرایط مختلف بر رنگزدایی بوسیله باکتری

جهت به‌دست آوردن بهینه رنگبری بوسیله باکتری لازم است آزمایشات در شرایط مختلف انجام پذیرد تا بهترین شرایط رنگبری مشخص و انتخاب گردد. بدین‌منظور در این پژوهش شرایط مختلفی نظیر زمان رنگبری، غلظت‌های اولیه مختلف از رنگ، pHهای مختلف برای محیط و دماهای مختلف به‌منظور بررسی قدرت رنگبری رنگ ایندیگوکارمین مورد مطالعه قرار گرفت.

## بررسی تاثیر زمان بر رنگزدایی بوسیله باکتری

به‌منظور بررسی تاثیر زمان بر میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین بوسیله باکتری، بعد از ساخت محیط‌کشت نوترینت براث در درون یک ارلن‌مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری و قبل از اتوکلاو محیط، ابتدا pH محیط مطابق pH بهینه به‌دست آمده برای سیستم، توسط دستگاه pH متر و با استفاده HClزا و NaOH تنظیم گردید. بعد از اتوکلاو و خنک شدن محیط، *Acinetobacter baumannii* را در محیط، کشت داده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت درون انکوباتور با دور ۱۵۰ دور در دقیقه گرمخانه‌گذاری گردید. بعد از گذشت ۲٤ ساعت ارلن‌مایر را از انکوباتور بیرون آورده و مقدار ۵۰ میلی‌گرم‌درلیتر رنگ ایندیگوکارمین به آن اضافه گردید. قبل از گرمخانه‌گذاری ارلن در درون آون، مقداری از محتویاتش را برای سانتریفیوژ با دور rpm ٤۰۰۰ و به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. بعد از سانتریفیوژ محلول رویی را جدا کرده و توسط دستگاه اسپکتروفتومتری تک طول‌موج(مدل CECIL ۳۰۰۰ ) در طول‌موج ٦۱۰ نانومتر مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. سپس ارلن‌مایر را درون آونی که دمایش بر روی ۳۷ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده قرار گرفت. در هریک از بازه‌های زمانی ٦، ۲٤، ۳۰، ٤۸، ٥٤، ٦٦ و ۷۲ ساعت مقداری از محلول درون ارلن‌مایر برداشته و سانتریفیوژ(مدل PE CO) گردیده و مجدداً توسط دستگاه اسپکتروفتومتری در طول‌موج برابر ٦۱۰ نانومتر آنالیز گردید. در انتها با استفاده از فرمول ۱ میزان درصد رنگزدایی از رنگ ایندیگوکارمین تعیین گردید.

**بررسی تاثیر غلظت‌اولیه رنگ بر رنگزدایی بوسیله باکتری**

برای بررسی تاثیر غلظت‌های اولیه‌ای از رنگ بر میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین بوسیله باکتری، ابتدا هنگام ساخت محیط‌کشت براساس pH بهینه به‌دست آمده برای باکتری ، pH محیط‌کشت تنظیم گردید. آنگاه محیط را اتوکلاو کرده و بعد از خنک شدنش در زیر هود، محیط به‌طور مساوی بین ٦ ارلن‌مایر تقسیم گردید. بعد از کشت باکتری در هر ٦ ارلن‌مایر، آن‌ها را به‌مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور با دور rpm۱۵۰ و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری کرده تا باکتری‌ها در محیط رشد کنند. بعد از گذشت ٢٤ ساعت ٦ ارلن‌مایر را از انکوباتور بیرون آورده و غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰ و۲۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر از رنگ ایندیگوکارمین را وزن کرده و به‌ترتیب به ارلن‌مایرهای ۱ تا ٦ اضافه گردید. در همان لحظه‌ی صفر مقدار اندکی از هر ٦ ارلن‌مایر برداشته و به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ٤٠٠٠ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریفیور، محلول رویی را جدا کرده و میزان رنگ موجود در آن با دستگاه اسپکتروفتومتری در طول‌موج برابر ٦١٠ نانومتر سنجیده شد. سپس ارلن‌مایرها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با توجه به زمان بهینه‌ای که برای سیستم به‌دست آورده‌ایم گرمخانه‌گذاری گردید. بعد از گذشت آن زمان بهینه، مجدداً مقداری از محتویات هر ٦ ارلن‌مایر برداشته و دوباره سانتریفیوژ کرده، محلول رویی را جدا کرده و با دستگاه اسپکتروفتومتری میزان رنگ موجود در آن اندازه گیری شد. در انتها با استفاده از فرمول ۱ میزان درصد رنگزدایی بوسیله باکتری را باتوجه به زمان صفر برای هر غلظت اولیه از رنگ ایندیگوکارمین تعیین گردید.

**بررسی تاثیرpH بر رنگزدایی بوسیله باکتری**

به‌منظور بررسی تاثیر pH بر میزان رنگبری از رنگ ایندیگوکارمین توسط باکتری، بعد از ساختن محیط‌کشت و قبل از اتوکلاو محیط، ۸ ارلن‌مایر آماده گردید. درون هرکدام ار ارلن‌مایرها مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط‌کشتی که اماده گردید، می‌ریزیم. ارلن-مایرها را برای بررسی pHاسیدی تا بازی از ۳ تا ۱۰ شماره‌گذاری گردید. بعد از تنظیم pH هر ۸ ارلن‌مایر، آن‌ها را اتوکلاو کرده آنگاه از اتوکلاو و خنک شدن محیط‌ها در هر ۸ ارلن‌مایر *Acinetobacter baumannii* کشت داده. سپس ارلن‌مایرها برای ٢٤ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و دور ۱۵۰ دور در دقیقه گرمخانه‌گذاری گردید. بعد از گذشت ٢٤ ساعت ارلن‌مایرها از انکوباتور خارج

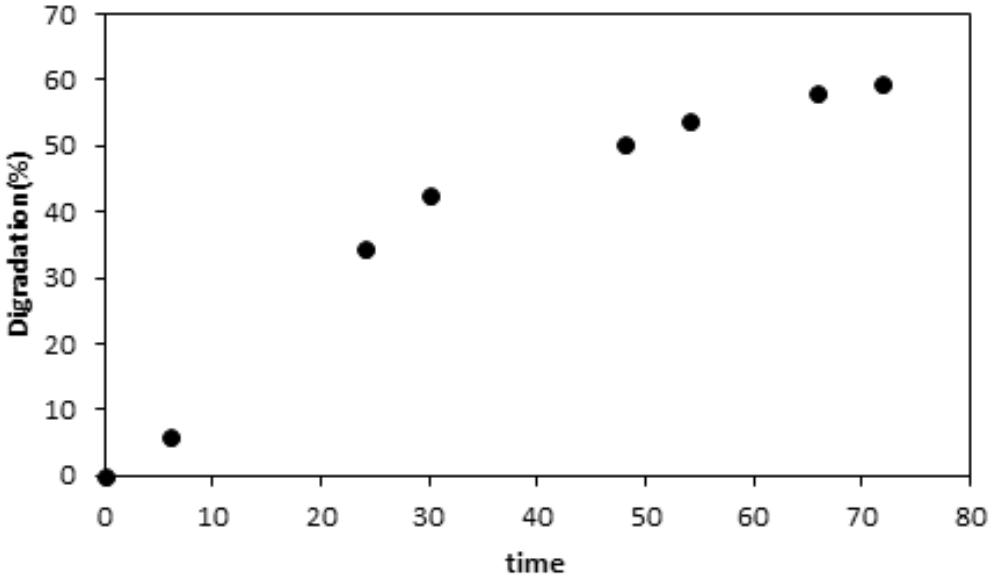
گردیده و به هرکدام مقدار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر رنگ ایندیگوکارمین اضافه گردید. در همان لحظه که معادل لحظه صفر است مقدار کمی از هر ارلن‌مایر برداشته و با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از سانتریفیوژ مایع رویی برای سنجش میزان رنگ موجود در آن با دستگاه اسپکتروفتومتری در طول‌موج ۶۱۰ نانومتر آنالیز گردید. بعد از گذشت زمان بهینه به‌دست آمده برای رنگزدایی، مجدداً از هر ۸ ارلن‌مایر مقدار اندکی برداشته و سانتریفیوژ گردیده و با دستگاه اسپکتروفتومتری آنالیز گردید. در انتها با استفاده از فرمول ۱ میزان درصد رنگزدایی ایندیگوکارمین بوسیله باکتری باتوجه به زمان صفر برای هر یک از pHها تعیین گردید.

**بررسی تاثیر دما بر رنگزدایی بوسیله باکتری**

به‌منظور بررسی تاثیر دما بر رنگبری رنگ ایندیگوکارمین بوسیله باکتری، بعد از ساخت محیط‌کشت و تنظیم pH محیط و سپس اتوکلاو آن، محیط‌کشت را در زیر هود به ۶ قسمت مساوی تقسیم گردید. در هر ۶ ارلن‌مایر باکتری *Acinetobacter baumannii* کشت گردید. سپس ارلن‌مایرها را به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دور ۱۵۰ دور در دقیقه و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید تا باکتری‌ها رشد کنند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت به هریک از ارلن‌مایرها مقدار ۵۰ میلی‌گرم-درلیتر رنگ ایندیگوکارمین اضافه گردید. در زمان اضافه‌کردن رنگ که معادل زمان صفر است مقدارحدود ده میلی لیتر از هر ۶ ارلن‌مایر برداشته و به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. آنگاه محلول رویی را جدا کرده و با دستگاه اسپکتروفتومتری برای تعیین میزان رنگ موجود در آن آنالیز گردید. در ادامه هریک از ۶ ارلن‌مایر در دماهای مختلف با یکدیگر( ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵، ۵۰ و۵۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. پس از گذشت زمان بهینه شرایط تجزیه، ارلن‌مایرها را که هرکدام در دمایی متفاوت با دیگری بوده از آون‌ها بیرون آورده و مقداری کم از هرکدام برداشته و سانتریفیوژ گردید و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول‌موج ۶۱۰ نانومتر میزان رنگ باقی‌مانده در محلول رویی بعد از سانتریفیوژ سنجیده شد. در انتها با استفاده از فرمول ۱ میزان درصد رنگزدایی از سوی باکتری باتوجه به زمان صفر در هر ۶ دما برای رنگ ایندیگوکارمین تعیین گردید.

**تعیین درصد رنگزدایی بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتری**

برای تعیین میزان رنگزدایی، در حالتی که در محیط باکتری وجود دارد، فاز




شکل ۱: تاثیر زمان بر میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری(دما ۳۷ درجه سانتی‌گراد، Hp=۱۰ ، غلظت رنگ ۵۰ میلی‌گرم-درلیتر، شرایط بدون‌همزدن).

جامد(شامل سلول باکتری) را از فاز مایع نمونه‌های کشت به‌وسیله سانتریفیوژ با دور ٤٠٠٠ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه جدا گردید. سپس در محلول رویی غلظت رنگ باقیمانده را در طول‌موج بیشینه ( λmax)مربوط به رنگ ایندیگوکارمین با دستگاه اسپکتروفتومتری، دریک زمان مشخص اندازه‌گیری گردید.

درصد رنگبری (D)با استفاده از فرمول زیر (فرمول ۱) محاسبه گردید:

$$D = \frac{(A_0 - A_t)}{A_0}$$

D: درصد رنگزدایی

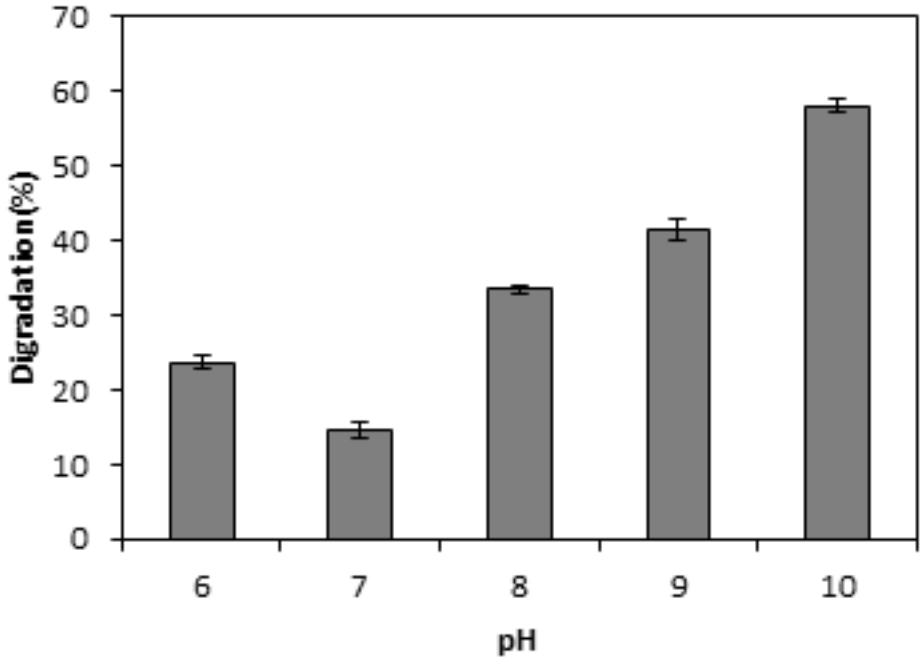
A0 : جذب در زمان صفر

At: جذب در زمان t

**نتایج**

**تاثیر زمان بر رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط سیستم**

همانگونه که در شکل ۱ مشاهده گردید که، با گذشت زمان از لحظه صفر تا حدود ٦٦ ساعت میزان رنگزدایی ازسوی باکتری به-طور تصاعدی افزایش می‌یابد. به گونه ای که در ٦٦ ساعت میزان رنگزدایی به ۵۸ درصد رسید و از زمان ٦٦ تا ۷۲ ساعت تغییر محسوسی در میزان رنگزدایی مشاهده نشد. پس مشخص گردید که زمان بهینه جهت انجام رنگبری رنگ ایندگویکارمین از سوی باکتری معادل ۵۸ ساعت می‌باشد. در ادامه سایر بهینه‌سازی‌ها در این زمان




شکل ۲: تاثیر pH بر میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری( زمان ٦٦ ساعت، دما ۳۷ درجه سانتی‌گراد، غلظت رنگ ۵۰ میلی-گرم‌درلیتر، شرایط بدون‌همزدن).

اندازه‌گیری شد.

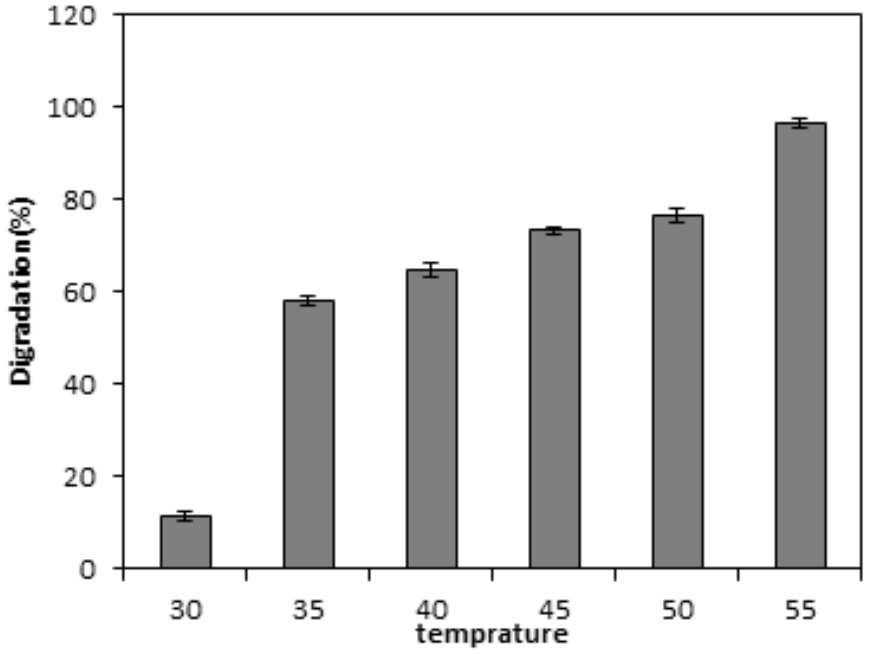
**تاثیر pH بر میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری**

با توجه به شکل ۲ میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری درpHهای مختلف(۳، ٤، ٥، ٦، ۷، ۸، ۹ و ۱۰) مشخص شد که در pH =۱۰ بیشترین میزان رنگبری ازسوی باکتری صورت می‌گیرد، این مقدار برابر۵۸ درصد بود. بنابراین pH=۱۰ به‌عنوان pH بهینه جهت رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری معرفی شد. *Acinetobacter baumannii* در pHهای ۳،٤ و ٥ قادر به رشد نبود، لذا این سه pHرا در محاسبه pH بهینه برای سیستم حاوی باکتری به حساب نیاوردیم.

**تاثیر دما بر میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری**

با بررسی تاثیر دماهای مختلف(۳۰، ۳۵، ٤۰، ٤٥، ٥۰ و٥٥) مشخص شد که مناسب‌ترین دما جهت رنگزدایی ایندیگوکارمین از سوی باکتری برابر ٥٥ درجه سانتی‌گراد است. با توجه به شکل ۳ درصد تجزیه رنگ ایندیگوکارمین در این دما معادل ۹٦/٥۸ درصد است. همچنین مشخص شد که با افزایش دما از ۳۰ به ٥٥ درجه سانتی‌گراد درصد تجزیه رنگ ایندیگوکارمین افزایش می‌یابد.

شاید بتوان استدلال کرد وقتی با بالا




شکل ۳: تاثیر دما بر میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط سیستم(زمان٦٦ ساعت، pH=۱۰، غلظت رنگ ۵۰ میلی‌گرم درلیتر، شرایط بدون‌همزدن).

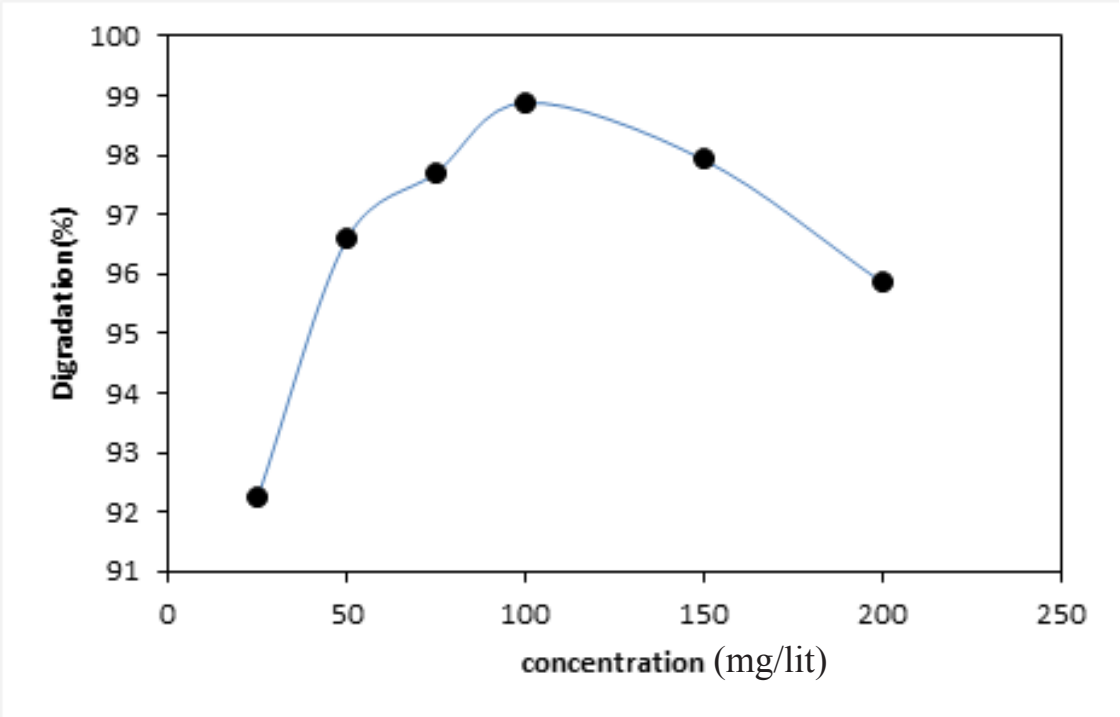
رفتن دما باکتری کشته می گردد،در این حالت بیومس مرده باکتری روند رنگبری را به نحو صحیح ادامه می دهد. در واقع در دمای خیلی بالا دیواره باکتری کشته شده نیز تخریب شده و آنزیم های اصلی دخیل در رنگبری رها می شوند و پروسه رنگبری را با حداکثر کارایی خود انجام می دهند.

## تاثیر غلظت‌های اولیه مختلف رنگ بر میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری

شکل ٤ نشان می دهد، میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری در غلظت‌های مختلف رنگ برحسب میلی‌گرم‌درلیتر(۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰) مشخص شد که با افزایش غلظت اولیه رنگ از ۲۵ تا ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر درصد رنگزدایی افزایش می‌یابد و در ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر حدود ۹۸/۸۸ درصد است، ولی از غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر به بعد درصد رنگزدایی دارای کاهش است.

## بحث و نتیجه‌گیری

باکتری که در این پژوهش استفاده شد به‌طور استاندارد و فریزشده تهیه گردید. یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد که برای سیستم شامل اسینتوباکتربائومانی *Acinetobacter baumanni* زمان ٦٦ ساعت زمان بهینه‌ای است که حداکثر میزان




شکل ٤: تاثیر غلظت‌های اولیه مختلف از رنگ بر میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری( زمان٦٦ ساعت، pH =۱۰، دما ٥٥ درجه سانتی‌گراد، شرایط بدون‌همزدن).

رنگزدایی در آن صورت می‌گیرد. به‌طور کلی در بیشتر پژوهش‌های مربوط به رنگزدایی باکتریایی بسته به نوع باکتری و نوع رنگ ازنظر ساختار شیمیایی، فرآیند رنگبری از ۸ ساعت تا ٥ روز می‌تواند متغیر باشد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در تجزیه رنگ ایندیگوکارمین pH مناسب رنگزدایی سیستم برابر ۱۰ است. در کاری که بوسیله تیان و همکاران انجام گرفت تجزیه رنگ ایندیگو کارمین بوسیله قارچ *Ganoderma weberianum* نتایج اینگونه بوده است. دمای بهینه بین ۲۸ تا ۳۳ درجه سانتی گراد و pH بهینه در حدود ٤,٥ بوده است و حداکثر تجزیه رنگ ایندیگو ۹۲ درصد بئده و برای ۲۰ میلی گرم در لیتر از رنگ ایندیگو با گذشت زمان یک ساعت به دست آمد Tian et al. (2013). چو و همکاران در سال ۲۰۱۱ تجزیه زیستی رنگ اینیگوکارمین را با استفاده از آنزیم لاکاز باکتری *Bacillus subtilis* پرداختند. در ازمایش این محققین مشخص گردید، به ازای اضافه کردن یک میلی گرم باکتری فوق ، میزان ٤٤/٦ میکروگرم از رنگ ایندیگوکارمین در دمای ٦۰ درجه سانتی گراد و در pH حدود ۸ و در مدت زمان ٤۲ ساعت صورت گرفت. علت درجه حرارت بالا اسپور دار بودن باکتری و مقاوم بودن به شرایط نامساعد

محیطی می باشد.(Cho et al. (2011 در بررسی تاثیر زمان بر میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط سیستم، در زمان ٦٦ ساعت بیشترین درصد تجزیه رنگ صورت گرفت. نتایج به‌دست آمده در این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت از ۲۵ به ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر درصد تجزیه بالا رفته ولی در ادامه شروع به کاهش می‌کند که این به‌دلیل محدودشدن و کم‌شدن موادمغذی درون محیط‌کشت و درنتیجه اثر بالای غلظت سمی رنگ بر باکتری است که باعث عدم رشد دوباره باکتری درمحیط می‌شود. در بررسی تاثیر دما بر میزان رنگزدایی مشخص شد که سیستم در دماهای بالا مانند دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد بیشترین درصد رنگزدایی را دارد. رنگ ایندیگوکارمین معمولاً در دماهای بالا(حدود۳۹ درجه سانتی‌گراد) جذب الیاف می‌شود لذا می‌توان گفت که در دماهای بالا هم می‌تواند به‌خوبی تجزیه گردد.

## منابع

مصطفی پور رمی، م ج. ، احمدی اسبچین، س. ، صفری، م. ( ۱۳۹۳). جداسازی و شناسایی سویه تولید کننده بیوسورفکتانت از جنس آسینتوباکتر و بررسی اثرات ضد باکتریایی بیوسورفکتانت تولید شده از آن بر روی برخی از باکتری های گرم مثبت و منفی در محیط آزمایشگاه. مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی. ٤( ١٤): ٧٩-٩١.

Asad, S., Amoozegar, M.A., Pourbabaee, A.A., Sarbolouki, M.N. and Dastgheib S.M.M.(2007). Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. Bioresource Technology. 98(11): 2082-2088.

Chang Sook, K., Zulkarnain, Z. and Abdul Halim, A. (2008). Removal of Cationic and Anionic dyes by immobilized titanium dioxide loaded activated carbon. The Malaysian Journal of Analytical Sciences. 12: 451-457.

Cho, E.A., Seo, J., Lee, D.W. and Pan, J.G. (2011)Decolorization of indigo carmine by laccase displayed on *Bacillus subtilis* spores. Enzyme and Microbial Technology. 10(1)100-104.

Carliell, C.M., Barclay, S.J., Naidoo, N., Buckley, C.A., Mulholland, D.A. and Senior, E. (1995). Microbial decolorization of a reactive azo dye under anaerobic conditions. Water SA. 21:61-69.

Dafale, N., Watea, S., Meshram, S. and Nandya, T. (2008). Kinetic study approach of remazol black- B use for the development of two-stage anoxic-oxic reactive for decolorization/ biodegradation of azo dyes by activated bacterial consortium. Journal of Hazardous Materials. 30: 319-328.

Fu, Y. and Viraraghavan, T. (2001). Fungal decolourization of dye wastewater: a review. Bioresource Technology. 79:251-262.

Hessel, C., Allegre, C., Maisseu, M., Charbit, F. and Moulin, P. (2007). Guidelines and legislation for dye house effluents. Journal of Environmental Management. 83: 171–180.

Jin, X.C., Liu, G.Q., Xu, Z.H. and Tao, W.Y.(2007). Decolorization of a dye industry effluent by *Aspergillus fumigates* XC6. Applied Microbiology and

Biotechnology. 74:239–243.

Kalyani, D.C., Pati, P.S., Gadhar, J.P. and Govindwar, S.P.(2008). Biodegradation of reactive textile dye Red Blibyan isolate bacterium *Pseudomonas sp* SUK1. Bioresource Technology. 99: 4635-4641.

Phugare, S., Pati, P., Govindwar, S. and Jadhav, J.(2010). Exploitation of yeast biomass generated as a waste product of distillery industry for remediation of textile industry effluent. International Biodeterioration and Biodegradation. 64: 716-726.

Ramalho, A. (2005). Degradation of dyes with microorganisms: studies with ascomycete yeasts. Ph.D thesis. University of Minho.

Tian, C., Tian, R., Zhou Y., Chen, Q. and Cheng, H. (2013). Decolorization of indigo dye and indigo dye-containing textile effluent by *Ganoderma weberianum*. African Journal of Microbiology Reseaarch.7 (11):941-947.

Wu, Y., Li, T. and Yang, L. (2012). Mechanisms of removing pollutants from aqueous solutions by microorganisms and their aggregates: A review Bioresource Technology. 107: 10-18.