

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

سلمان احمدی اسب چین<sup>۱\*</sup>، رضا تبارکی<sup>۲</sup>، حسنا مرادی<sup>۳</sup>

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. به دلیل محدودیت‌ها و مشکلات روش‌های غیر زیستی، تجزیه زیستی که روشی ارزان و موثر برای پالایش و آلودگی زدایی از فاضلاب‌های آلوده به مواد رنگزا است استفاده می‌گردد. در روش تجزیه زیستی از میکروارگانیسم‌هایی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها استفاده می‌شود. این موجودات تجزیه‌کننده‌های باصرفه و سازگار با محیط زیست هستند که کاربرد آن‌ها در رنگ زدایی 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 کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه ایلام، ایلام

تجزیه زیستی 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. از میان pH های بین ۶ تا ۱۰، غلظت های ۲۵ تا ۲۵۰ میلی گرم در لیتر، دمای ۳۰ تا ۵۵ درجه سانتی گراد و مدت زمان ۷۲ ساعت، با ثابت فرض کردن سایر فاکتورها و تنها متغییر در نظر 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 سانتی گراد و  $pH = 10$  برای ۱۰۰ میلی گرم در لیتر از رنگ ایندیگوکارمین در مدت زمان ۶۶ ساعت به میزان ۹۸/۸۸ درصد می باشد. به بیانی دیگر حدود ۹۹٪ رنگ در شرایط بهینه تجزیه گردید

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

## مقدمه

از سال ۱۸۵۶ که اولین رنگ سنتتیک به نام ماوین ساخته شد تاکنون صد هزار رنگ سنتتیک در جهان با حجم سالانه ۰/۷ میلیون تن ساخته می شود (Carliell et al. (1995). رنگ ها به میزان فراوانی در صنایع نساجی، چاپ، غذایی، دارویی و آرایشی استفاده می شود (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 می آیند (Fu and Viraraghavan. (2001). معمولاً ترکیبات رنگی را به صورت های مختلف طبقه بندی می کنند. رنگ هایی که در صنایع رنگرزی به کار می روند بر اساس کاربردی که دارند شامل رنگ های بازی، اسیدی، رنگ های مستقیم، دندان های، آزوئیکی، گوگردی، خمره ای، دیسپرس و واکنشی (راکتیو) می باشند. بر طبق 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

گروه ها کروموفور می گویند. در واقع کروموفور بخشی از مولکول است که رنگ را پدید می آورد و به رنگ ساز مشهور است. اما بخش آگزوکروم، گروه های شیمیایی موجود در ترکیبات رنگی هستند که باعث افزایش شدت رنگ شده و وظیفه آنها پیوند با ماده ای است که قرار است رنگ آمیزی شود. بر این اساس با توجه به حضور و نوع گروه های شیمیایی کروموفوری در ترکیبات رنگی، رنگ ها را می توان به انواع زیر تقسیم بندی کرد. این تقسیم بندی شامل رنگ های نیترو، نیتروزو، آزو، ایندیگوئید، تری فنیل متیل یا هتروسیکلیک، فتالین و آنتروکوئینون می باشد (Ramalho, (2005), Dafale et al. (2008).

یک طبقه بندی دیگر هم برای رنگ ها وجود دارد که بر اساس ساختار شیمیایی آنهاست. در این راستا رنگ ها در سه بخش عمده ای رنگ های کاتیونی، رنگ های آنیونی و رنگ های خنثی قرار می گیرند (Chang Sook et al. (2008), Jin et al. (2007). برای حذف مواد رنگزا از روش های 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

جداسازی گردید و شناسایی آن صورت گرفت. (Mostafapour et al. (2014) نمونه کشت داده شده به مدت ۲۴ 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 ۴۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

**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 محیط‌نوترین‌آگار ساخته شد ولی این‌بار بعد از اتوکلاو کردن محیط و قبل از ریختن محیط درون پلیت‌ها، وقتی که دمای محیط تقریباً به ۴۰ درجه سانتی‌گراد رسید، مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر 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 محیط‌نوترین‌آگاری که حاوی رنگی سمی است قابلیت زنده ماندن و رشد را داشته باشد، پس نوعی تغییر در سیستم ژنتیکی‌اش رخ داده که این مقاومت

(2008) et al. لذا رویکرد استفاده از روش‌های 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 *Acinetobacter baumannii* گرم منفی، دارای پیلی، مولد اگزوپلی ساکارید، با ظاهری گرد یا میله‌ای شکل استفاده گردید. هدف از این تحقیق بررسی توانایی باکتری مذکور در رنگ‌زدایی رنگ ایندیگوکارمین می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### کشت باکتری

باکتری مورد استفاده در این پژوهش *Acinetobacter baumannii* که به‌صورت فریزشده، به آزمایشگاه منتقل و درون محیط‌کشت‌نوترین‌آگار به‌صورت خطی کشت داده شد. این باکتری قبلاً از خاک آلوده به نفت در نفت شهر کرمانشاه

محیط، ابتدا pH محیط مطابق pH بهینه به دست آمده برای سیستم، توسط دستگاه pH متر و با استفاده از HCl 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 ۲۴ ساعت درون انکوباتور با دور ۱۵۰ دور در دقیقه گرمخانه گذاری گردید. بعد از گذشت ۲۴ ساعت ارلن مایر را از انکوباتور بیرون آورده و مقدار ۵۰ میلی گرم در لیتر رنگ ایندیگوکارمین به آن اضافه گردید. قبل از گرمخانه گذاری ارلن در درون آن، مقداری از محتویاتش را برای سانتریفیوژ با دور ۴۰۰۰ rpm و به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. بعد از سانتریفیوژ محلول رویی را جدا کرده و توسط دستگاه اسپکتروفتومتری تک طول موج (مدل CECIL ۳۰۰۰) در طول موج ۶۱۰ نانومتر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سپس ارلن مایر را درون آونی که دمایش بر روی ۳۷ درجه سانتیگراد تنظیم شده قرار گرفت. در هر یک از بازه های زمانی ۶، ۲۴، ۳۰، ۴۸، ۵۴، ۶۶ و ۷۲ ساعت مقداری از محلول درون ارلن مایر برداشته و سانتریفیوژ (مدل PE CO) گردیده و مجدداً توسط دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج برابر ۶۱۰ نانومتر آنالیز گردید. در انتها با استفاده از فرمول ۱ میزان درصد رنگزدایی از رنگ ایندیگوکارمین تعیین گردید.

در آن ایجاد گردید. بعد از سفت شدن محیط نوترین آگار حاوی رنگ، باکتری را به صورت خطی بر روی محیط، کشت داده و پلیت را به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد درون آن قرار داده و آنگاه بعد از گذشت ۲۴ ساعت مشاهده گردید، باکتری *Acinetobacter baumannii* که انتخاب گردید به خوبی در حضور رنگ ایندیگوکارمین قابل رشد است.

### بررسی شرایط مختلف بر رنگزدایی بوسیله باکتری

جهت به دست آوردن بهینه رنگبری بوسیله باکتری لازم است آزمایشات در شرایط مختلف انجام پذیرد تا بهترین شرایط رنگبری مشخص و انتخاب گردد. بدین منظور در این پژوهش شرایط مختلفی نظیر زمان رنگبری، غلظت های اولیه مختلف از رنگ، pH های مختلف برای محیط و دماهای مختلف به منظور بررسی قدرت رنگبری رنگ ایندیگوکارمین مورد مطالعه قرار گرفت.

### بررسی تاثیر زمان بر رنگزدایی بوسیله باکتری

به منظور بررسی تاثیر زمان بر میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین بوسیله باکتری، بعد از ساخت محیط کشت نوترینت برات در درون یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری و قبل از اتوکلاو

زمان بهینه‌ای که برای سیستم به‌دست آورده‌ایم گرمخانه‌گذاری گردید. بعد از گذشت آن زمان بهینه، مجدداً مقداری از محتویات هر ۶ ارلن‌مایر برداشته و دوباره سانتریفیوژ کرده، محلول رویی را جدا کرده و با دستگاه اسپکتروفتومتری میزان رنگ موجود در آن اندازه‌گیری شد. در انتها با استفاده از فرمول ۱ میزان درصد رنگزادایی بوسیله باکتری را با توجه به زمان صفر برای هر غلظت اولیه از رنگ ایندیگوکارمین تعیین گردید.

### بررسی تاثیر pH بر رنگزادایی 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 از ارلن‌مایرها مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط‌کشتی که آماده گردید، می‌ریزیم. ارلن‌مایرها را برای بررسی pH اسیدی 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 ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و دور ۱۵۰ دور در دقیقه گرمخانه‌گذاری گردید. بعد از گذشت ۲۴ ساعت ارلن‌مایرها از انکوباتور خارج

### بررسی تاثیر غلظت اولیه رنگ بر رنگزادایی بوسیله باکتری

برای بررسی تاثیر غلظت‌های اولیه‌ای از رنگ بر میزان رنگزادایی 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 ۶ ارلن‌مایر تقسیم گردید. بعد از کشت باکتری در هر ۶ ارلن‌مایر، آن‌ها را به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دور rpm ۱۵۰ و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری کرده تا باکتری‌ها در محیط رشد کنند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت ۶ ارلن‌مایر را از انکوباتور بیرون آورده و غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر از رنگ ایندیگوکارمین را وزن کرده و به‌ترتیب به ارلن‌مایرهای ۱ تا ۶ اضافه گردید. در همان لحظه‌ی صفر مقدار اندکی از هر ۶ ارلن‌مایر برداشته و به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریفیوژ، محلول رویی را جدا کرده و میزان رنگ موجود در آن با دستگاه اسپکتروفتومتری در طول‌موج برابر ۶۱۰ نانومتر سنجیده شد. سپس ارلن‌مایرها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با توجه به

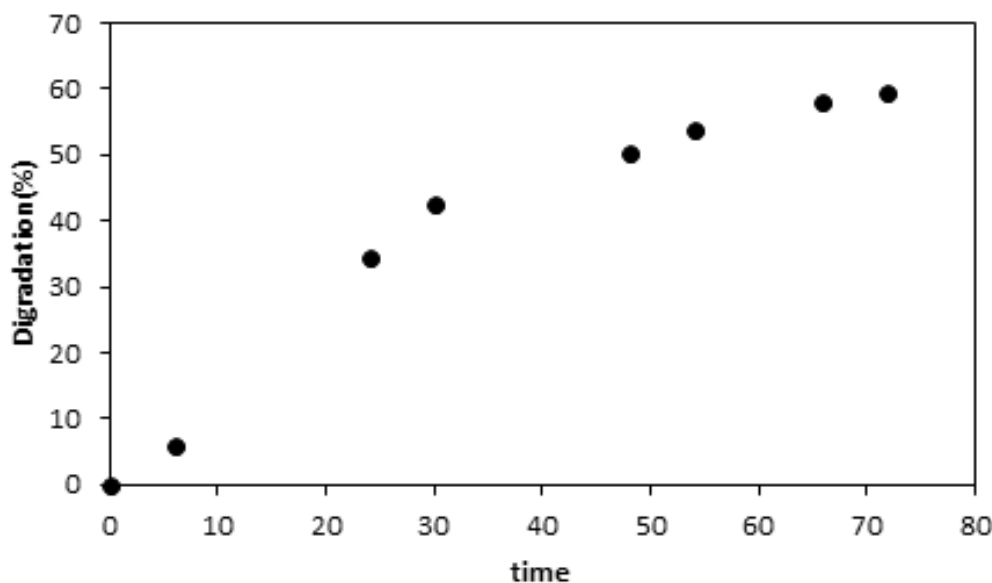
۲۴ ساعت به هریک از ارلن‌مایرها مقدار ۵۰ میلی‌گرم-درلیتر رنگ ایندیگوکارمین اضافه گردید. در زمان اضافه کردن رنگ که معادل زمان صفر است مقدار حدود ده میلی لیتر از هر ۶ ارلن‌مایر برداشته و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. آنگاه محلول رویی را جدا کرده و با دستگاه اسپکتروفتومتری برای تعیین میزان رنگ موجود در آن آنالیز گردید. در ادامه هریک از ۶ ارلن‌مایر در دماهای مختلف با یکدیگر (۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵، ۵۰ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. پس از گذشت زمان بهینه شرایط تجزیه، ارلن‌مایرها را که هرکدام در دمایی متفاوت با دیگری بوده از آن‌ها بیرون آورده و مقداری کم از هرکدام برداشته و سانتریفیوژ گردید و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۱۰ نانومتر میزان رنگ باقی مانده در محلول رویی بعد از سانتریفیوژ سنجیده شد. در انتها با استفاده از فرمول ۱ میزان درصد رنگدایی از سوی باکتری با توجه به زمان صفر در هر ۶ دما برای رنگ ایندیگوکارمین تعیین گردید.

#### تعیین درصد رنگدایی بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتری

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

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 به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از سانتریفیوژ مایع رویی برای سنجش میزان رنگ موجود در آن با دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۱۰ نانومتر آنالیز گردید. بعد از گذشت زمان بهینه به دست آمده برای رنگدایی، 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 رنگدایی ایندیگوکارمین بوسیله باکتری با توجه به زمان صفر برای هر یک از pHها تعیین گردید.

**بررسی تاثیر دما بر رنگدایی بوسیله باکتری**  
به منظور بررسی تاثیر دما بر رنگبری رنگ ایندیگوکارمین بوسیله باکتری، بعد از ساخت محیط کشت و تنظیم pH محیط و سپس اتوکلاو آن، محیط کشت را در زیر هود به ۶ قسمت مساوی تقسیم گردید. در هر ۶ ارلن‌مایر باکتری *Acinetobacter baumannii* کشت گردید. سپس ارلن‌مایرها را به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دور ۱۵۰ دور در دقیقه و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید تا باکتری‌ها رشد کنند. بعد از گذشت



شکل ۱: تاثیر زمان بر میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری (دما ۳۷ درجه سانتی‌گراد،  $H_p=10$ ، غلظت رنگ ۵۰ میلی‌گرم-درلیتر، شرایط بدون همزدن).

جامد(شامل سلول باکتری) را از فاز مایع نمونه‌های کشت به‌وسیله سانتریفیوژ با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه جدا گردید. سپس در محلول رویی غلظت رنگ باقیمانده را در طول‌موج بیشینه ( $\lambda_{max}$ ) مربوط به رنگ ایندیگوکارمین با دستگاه اسپکتروفتومتری، در یک 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  
 $A_0$ : جذب در زمان صفر

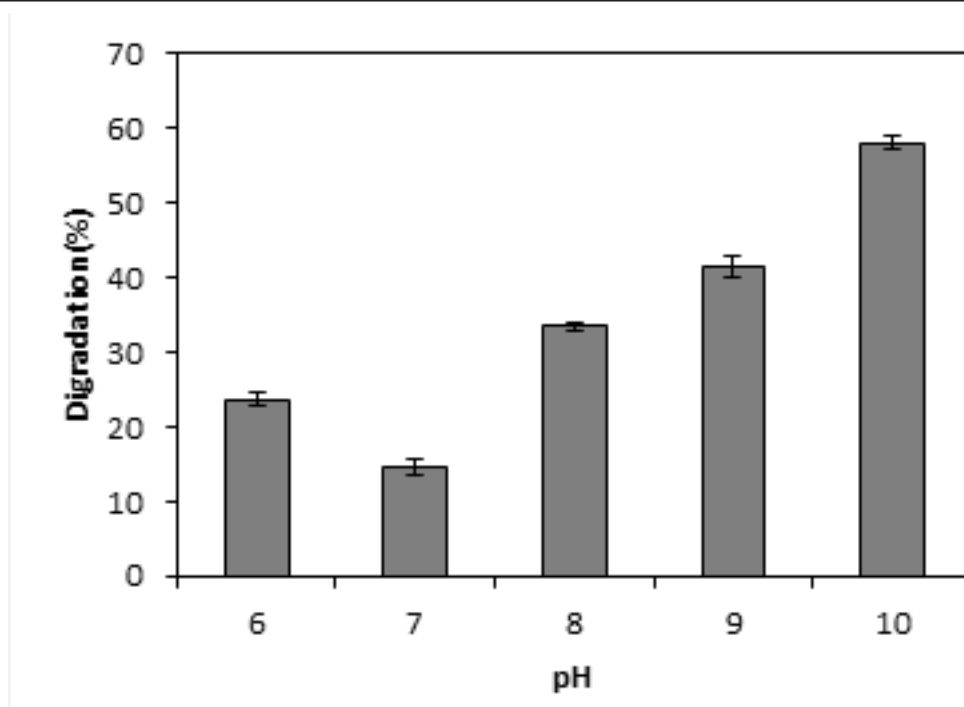
At: جذب در زمان t

**نتایج**

**تاثیر زمان بر رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط سیستم**

همانگونه که در شکل ۱ مشاهده گردید که، با گذشت زمان از لحظه صفر تا حدود ۶۶ ساعت میزان رنگزدایی از سوی باکتری به‌طور تصاعدی افزایش می‌یابد. به‌گونه ای که در ۶۶ ساعت میزان رنگزدایی به ۵۸ درصد رسید و از زمان ۶۶ تا ۷۲ ساعت تغییر محسوسی در میزان رنگزدایی مشاهده نشد. پس مشخص گردید که زمان بهینه جهت انجام رنگبری رنگ ایندیگوکارمین 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 ۶۶ ساعت، دما ۳۷ درجه سانتی‌گراد، غلظت رنگ ۵۰ میلی-گرم‌درلیتر، شرایط بدون همزدن).

اندازه‌گیری شد.

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

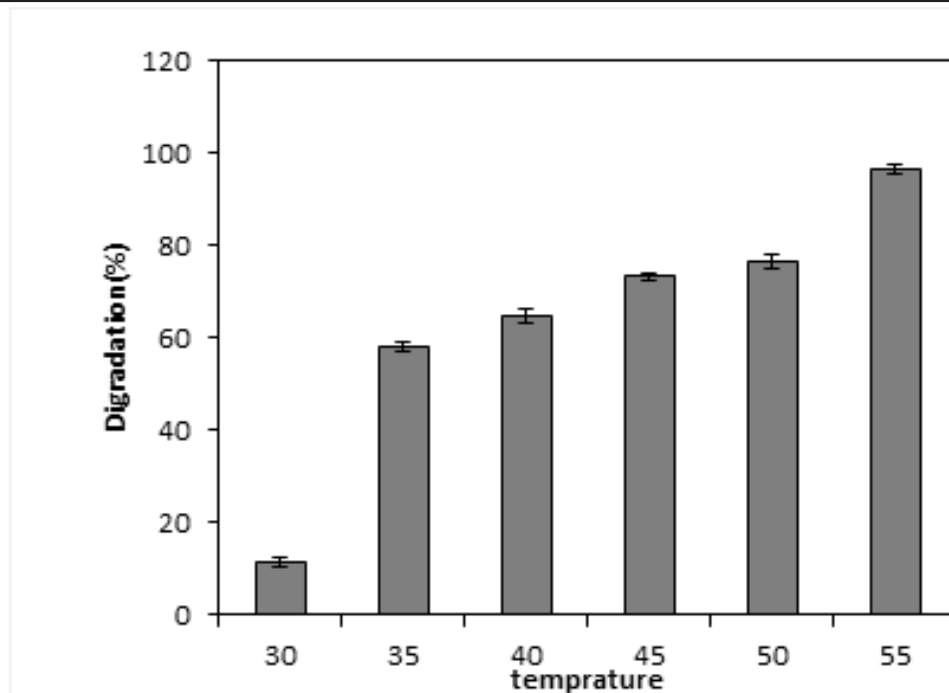
با توجه به شکل ۲ میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری در pH های مختلف (۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰) مشخص شد که در  $pH = 10$  بیشترین میزان رنگبری از سوی باکتری صورت می‌گیرد، این مقدار برابر ۵۸ درصد بود. بنابراین  $pH = 10$  به‌عنوان pH بهینه جهت رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری معرفی شد. در *Acinetobacter baumannii* pH های ۳، ۴ و ۵ قادر به رشد نبود، لذا این سه pH را 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، ۴۰، ۴۵، ۵۰ و ۵۵) مشخص شد که مناسب‌ترین دما جهت رنگزدایی ایندیگوکارمین از سوی باکتری برابر ۵۵ درجه سانتی‌گراد است. با توجه به شکل ۳ درصد تجزیه رنگ ایندیگوکارمین در این دما معادل ۹۶/۵۸ درصد است. همچنین مشخص شد که با افزایش دما از ۳۰ به ۵۵ درجه سانتی‌گراد درصد تجزیه رنگ ایندیگوکارمین افزایش می‌یابد.

شاید بتوان استدلال کرد وقتی با بالا



شکل ۳: تاثیر دما بر میزان رنگزایی ایندیگوکارمین توسط سیستم (زمان ۶۶ ساعت، pH=۱۰، غلظت رنگ ۵۰ میلی گرم در لیتر، شرایط بدون همزدن).

۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰) مشخص شد که با افزایش غلظت اولیه رنگ از ۲۵ تا ۱۰۰ میلی گرم در لیتر درصد رنگزایی افزایش می یابد و در ۱۰۰ میلی گرم در لیتر حدود ۹۸/۸۸ درصد است، ولی از غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر به بعد درصد رنگزایی دارای کاهش است.

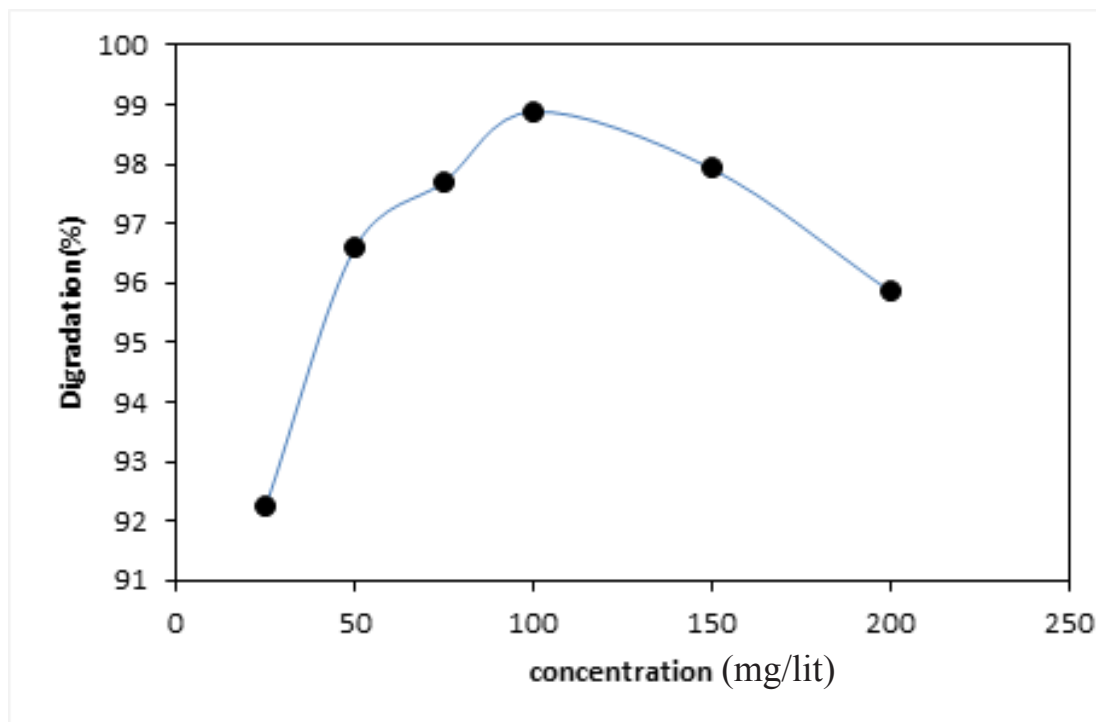
### بحث و نتیجه گیری

باکتری که در این پژوهش استفاده شد به طور استاندارد و فریز شده تهیه گردید. یافته های حاصل از این تحقیق نشان داد که برای سیستم شامل اسینتوباکتر بائومانی *Acinetobacter baumannii* زمان ۶۶ ساعت زمان بهینه ای است که حداکثر میزان

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 غلظت های اولیه مختلف رنگ بر میزان رنگزایی ایندیگوکارمین توسط باکتری**

شکل ۴ نشان می دهد، میزان رنگزایی ایندیگوکارمین توسط باکتری در غلظت های مختلف رنگ بر حسب میلی گرم در لیتر (۲۵،



شکل ۴: تاثیر غلظت‌های اولیه مختلف از رنگ بر میزان رنگدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری (زمان ۶۶ ساعت،  $pH = 10$ ، دما ۵۵ درجه سانتی‌گراد، شرایط بدون همزدن).

ایندیگو ۹۲ درصد بئوده 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 ایندیگوکارمین را با استفاده از آنزیم لاکاز باکتری *Bacillus subtilis* پرداختند. در آزمایش این محققین مشخص گردید، به ازای اضافه کردن یک میلی گرم باکتری فوق، میزان ۴۴/۶ میکروگرم از رنگ ایندیگوکارمین در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و در  $pH$  حدود ۸ و در مدت زمان ۴۲ ساعت صورت گرفت. علت درجه حرارت بالا اسپور دار بودن باکتری و مقاوم بودن به شرایط نامساعد

رنگدایی در آن صورت می‌گیرد. به‌طور کلی در بیشتر پژوهش‌های مربوط به رنگدایی باکتریایی بسته به نوع باکتری و نوع رنگ از نظر ساختار شیمیایی، فرآیند رنگبری از ۸ ساعت تا ۵ روز می‌تواند متغیر باشد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در تجزیه رنگ ایندیگوکارمین  $pH$  مناسب رنگدایی سیستم برابر ۱۰ است. در کاری که بوسیله تیان و همکاران انجام گرفت تجزیه رنگ ایندیگوکارمین بوسیله قارچ *Ganoderma weberianum* نتایج اینگونه بوده است. دمای بهینه بین ۲۸ تا ۳۳ درجه سانتی‌گراد و  $pH$  بهینه در حدود ۴٫۵ بوده است و حداکثر تجزیه رنگ

محیطی می باشد. (Cho et al. (2011) در بررسی تاثیر زمان بر میزان رنگدایی ایندیگوکارمین توسط سیستم، در زمان ۶۶ ساعت بیشترین درصد تجزیه رنگ صورت گرفت. نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت از ۲۵ به ۱۰۰ میلی گرم در لیتر درصد تجزیه بالا رفته ولی در ادامه شروع به کاهش می کند که این به دلیل محدود شدن و کم شدن مواد مغذی درون محیط کشت و در نتیجه اثر بالای غلظت سمی رنگ بر

باکتری است که باعث عدم رشد دوباره باکتری در محیط می شود. در بررسی تاثیر دما بر میزان رنگدایی مشخص شد که سیستم در دماهای بالا مانند دمای ۵۵ درجه سانتی گراد بیشترین درصد رنگدایی را دارد. رنگ ایندیگوکارمین معمولاً در دماهای 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.

## 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. ۴ (۱۴): ۷۹-۹۱.
- Asad, S., Amoozegar, M.A., Pourbabae, 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 Research. 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.