

علوم و تکنولوژی محیط زیست ، دوره دهم، شماره یک، بهار ۸۷

رنگ زدایی رنگ Reactive Black 5 توسط سویه های بومی جداسازی شده از پساب کارخانجات نساجی در تهران

اشرف السادات نوحی

استاد دانشگاه تهران و عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

مؤگان امتیاز جو

استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال – دانشکده علوم و فنون دریایی

نگار اردوزاده (مسئول مکاتبات)

کارشناس ارشد رشته میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

تاریخ پذیرش: ۸۵/۶/۱۱

تاریخ دریافت: ۸۵/۱/۲۱

چکیده

رنگ های مصنوعی از جمله مواد آلوده کننده طبیعت به شمار می آید که همراه با پساب کارخانجات صنعتی وارد محیط شده و نهایتاً باعث آلودگی اکوسیستم های طبیعی از جمله خاک، آب های سطحی و زیرزمینی و موجودات زنده می شود. رنگ های آزو متداول ترین رنگ های به کار رفته مصنوعی است و در بین آن ها رنگ های راکتیو (*reactive*) به خاطر حلالیت بالا در آب و تجزیه پذیری پایین به عنوان مسأله سازترین ترکیبات در پساب های صنایع نساجی شناخته شده است .

هدف از این مطالعه جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم های بومی برتر تجزیه کننده رنگ از پساب رنگ رزی بوده است و از میان ۱۵ سویه میکروبی جدا سازی شده از پساب رنگ رزی یکی از کارخانجات نساجی در تهران، یک سویه باسیل گرم منفی بی هوازی اختیاری (*Shewanella putrefaciens*) که قدرت زیادی در رنگ بری رنگ های آزو به خصوص رنگ *reactive black 5* داشت، خالص (از بین سویه های باکتریایی و قارچی متنوعی که در محیط پساب موجود بود، خالص سازی گردید یعنی با تجدید کشت، کلنی تک از آن به دست آمد) و بر اساس آزمایش های بیوشیمیایی و ژنتیکی *rRNA* ۱۶S شناسایی گردید.

نتایج نشان می دهد که این سویه عمل رنگ زدایی را در حضور یک منبع کربن و انرژی خارجی در مدت زمان کوتاه تری انجام می دهد. تیمار این رنگ توسط سویه *Shewanella putrefaciens* در طی مدت زمان ۱۲ ساعت قادر به تجزیه ۸۰٪ از رنگ بود و در مدت زمان ۲۴ ساعت عمل رنگ بری حدود ۱۰۰٪ صورت گرفت. رنگ بری در محیط پایه نمکی هنگامی که رنگ به عنوان تنها منبع کربن و انرژی محسوب می شد در عرض ۴۸ ساعت، ۸۵٪ بوده است. سویه *Shewanella putrefaciens* در دمای ۳۰ °C، pH ۶-۵، دور همزن ۱۵۰ rpm و غلظت رنگ ۲۰۰ ppm بیشترین توان رنگ بری را دارد. منبع ترجیحی کربن، ساکارز بود

و در محیط واجد عصاره مخمر به عنوان منبع نیتروژن رنگ بری بهتر صورت گرفت و در نهایت سلول های فاز لگاریتمی رشد، بهترین فعالیت را نشان داد.

نظر به این که سویه جداسازی شده فوق (*Shewanella putrefaciens*) عمل رنگ بری را در مدت زمان بسیار کوتاهی انجام می دهد و حتی به صورت اتوتروفی نیز این عمل صورت می گیرد، استفاده از این باکتری در تصفیه بیولوژیک پساب های واجد رنگ های صنعتی می تواند کمک موثری در تصفیه و استفاده مجدد این گونه آب ها باشد .

واژه های کلیدی: رنگ راکتیو بلک ۵ ، سویه *Shewanella putrefaciens* ، تصفیه بیولوژیک، رنگ زدایی

مقدمه

آلودگی های محیطی حاصل از پساب های رنگی کارخانجات نساجی انجام گرفته است.

میکروارگانسیم های متفاوت از جمله قارچ ها، باکتری های هوازی، بی هوازی اختیاری و اجباری و برخی مخمرها توانایی تجزیه انواع رنگ های آزو را دارند .

تجزیه رنگ ها توسط باکتری های مختلف از جمله پروتئوس میرابیلیس^۱، سویه های سودوموناس^۲، آکتینوباسیلوس سوکسینوجنس^۳، سودوموناس لوتولا^۴ و مایکوباکتریوم اویوم^۵، گزارش شده است (۱).

تجزیه بیولوژیک آلوده کننده ها در اکوسیستم های طبیعی توسط عوامل مختلف محیطی مانند pH، دما، اکسیژن و غیره تحت تأثیر قرار می گیرد (۶)، بنابراین استفاده از میکروارگانسیم های بومی در این زمینه می تواند بسیار مؤثر باشد .

این تحقیق با هدف جداسازی میکروارگانسیم های بومی تجزیه کننده رنگ از پساب رنگ رزی، شناسایی بیوشیمیایی و ژنتیکی سویه برتر و بررسی شرایط بهینه رشد و رنگ زدایی آن، انجام شد .

رنگ ها به میزان فراوانی در صنایع نساجی، چاپ، غذایی، دارویی و آرایشی استفاده می شود (۱). امروزه رنگ های نساجی یکی از متداول ترین مواد شیمیایی مصرفی است. در حدود ده هزار رنگ مختلف با تولید جهانی سالیانه بیش از ۷۰۰ هزار تن به طور تجاری قابل دسترس می باشد (۲) و ۶۰-۷۰٪ از آن ها را رنگ های آزو تشکیل می دهد (۳). به طور معمول در حین تولید و استفاده حدود ۱۵-۱۰٪ از این رنگ ها به محیط وارد می شود (۳). با وجود این که رنگ های آلی تنها بخش کوچکی از بار آلی پساب را تشکیل می دهد، ولی وجود آن ها از نظر ظاهری قابل قبول نیست، همچنین مشخص شده که برخی رنگ های آزو و یا ترکیبات حاصل از تجزیه آن ها، سمی، جهش زا و سرطان زا می باشد (۴).

با توجه به وجود دامنه وسیعی از رنگ ها با ساختارهای مختلف، فاضلاب عمدتاً می تواند ترکیبات بسیار متغیری داشته باشد. در حال حاضر سیستم های تصفیه متداول برای حذف رنگ ها در دسترس است که به طور اولیه وابسته به اصول فیزیکی و شیمیایی می باشد. در این روش ها به دلیل به کار بردن مقادیر بالای مواد شیمیایی، میزان زیادی لجن تولید می شود و رنگ ها به طور کامل از بین نمی رود و از لحاظ اجرایی نیز سخت و پر هزینه است (۵) .

رنگ زدایی میکروبی علاوه بر این که از نظر اقتصادی بسیار به صرفه می باشد، از لحاظ کمک به سلامت محیط زیست نیز بسیار با ارزش است (۶) .

در دو دهه گذشته کارهای قابل توجهی با هدف استفاده از میکروارگانسیم ها به عنوان عوامل پاک کننده

- 1- *Proteus mirabilis*
- 2- *Pseudomonas spp.*
- 3- *Actinobacillus succinogenes*
- 4- *Pseudomonas luteola*
- 5- *Mycobacterium avium*

روش بررسی

- جداسازی باکتری های هوازی و بی هوازی اختیاری از

- رنگ ها

نمونه های لجن و پساب رنگ رزی .
برای ردیابی باکتری های بی رنگ کننده، نمونه های پساب و لجن جمع آوری شده از کارگاه رنگ رزی در منطقه صنعتی تهران، از تکنیک های غنی سازی با استفاده از محیط کشت A، استفاده شد و برای خالص سازی و شناسایی میکروارگانسیم ها، رقت های 10^{-1} تا 10^{-7} آن به پتری دیش های استریل واجد ۱۴ میلی لیتر نوترین آگار منتقل گردید (۸و۷).

رنگ های مورد استفاده در این تحقیق از کارگاه رنگ رزی در تهران تهیه شد و شامل :

Reactive Black5 (ریمارول بلک)

Reactive Red 141

Reactive Yellow81

Reactive Blue MR

Reactive Red 120

بود که محصول شرکت های SINOCEM و UAHO

چین می باشد .

- انتخاب سوبه برتر باکتریایی با ویژگی رنگ زدایی

برای انجام آزمایش رنگ زدایی، ۲۰ میلی لیتر آب ، ۱-۰/۵ میلی لیتر رنگ از محلول رنگی اصلی و ۲۰ میلی لیتر از محیط کشت ۱۸ ساعته B دارای سلول، به فائل های ۱۰۰ میلی لیتری افزوده شد ، سپس فائل ها به مدت یک هفته روی همزن انکوباتور با دور ۱۵۰rpm در 30°C گرماگذاری شد. pH نهایی روی 7 ± 0.2 تنظیم گردید (۵).

Reactive Black 5 (RB5) یک رنگ راکتیو

سولفوناته با دو پیوند آزو، محلول در آب و سیاه رنگ بوده، سرطان زا و سمی است که در صنایع نساجی مصرف زیادی دارد و در این تحقیق به عنوان رنگ مدل برای آزمایش های بهینه سازی مورد استفاده قرار گرفت .

- محیط های کشت

برای جداسازی باکتری ها از محیط کشت A ، شامل

ترکیبات : عصاره گوشت (۰/۳)، پپتن (۰/۵)، کلرید سدیم(۰/۵) بر حسب g/l و ۱۰۰ ppm (mg/l) رنگ RB5 استفاده گردید (۷) .

جهت خالص سازی و شناسایی باکتری های موجود

محیط کشت نوترین آگار مورد استفاده قرار گرفت (۸).

محیط کشت مایع B برای آزمایش رنگ زدایی شامل ترکیبات :

K_2HPO_4 (۳/۵) ، KH_2PO_4 (۱/۵) ، NaCl (۰/۵)،

MgCl_2 (۰/۱۵) ، Na_2SO_4 (۰/۱۴) ، به اضافه ساکارز (۰/۱) و

عصاره مخمر (۰/۰۵) بر حسب g / l و رنگ RB5 (۱cc از

محلول استوک با غلظت ۱g/l) بود (۶).

- سنجش فعالیت رنگ زدایی

برای سنجش فعالیت رنگ زدایی، فاز جامد (شامل سلول ها) و فاز مایع نمونه های کشت، به وسیله سانتریفیوژ ۶۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه جدا شدند و سپس غلظت رنگ باقی مانده در محلول رویی، در طول موج بیشینه (λ_{max}) رنگ RB5 با روش اسپکتروفوتومتری در مقایسه با محیط بدون رنگ ، به مدت ۷ روز ، اندازه گیری شد (۶).

درصد رنگ زدایی مطابق با فرمول زیر محاسبه گردید :

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

D = درصد رنگ زدایی، A_{ini} = جذب اولیه، A_{obs}

= جذب مشاهده شده.

سوبه هایی که دارای سرعت رنگ بری بالاتر بود،

جهت شناسایی بیشتر و تعیین توان رنگ بری در پساب های واقعی حاوی این رنگ ، مورد بررسی قرار گرفت. شناسایی

باکتری بر اساس صفات شکلی ، بیوشیمیایی و ژنتیکی 16s

rRNA انجام گردید .

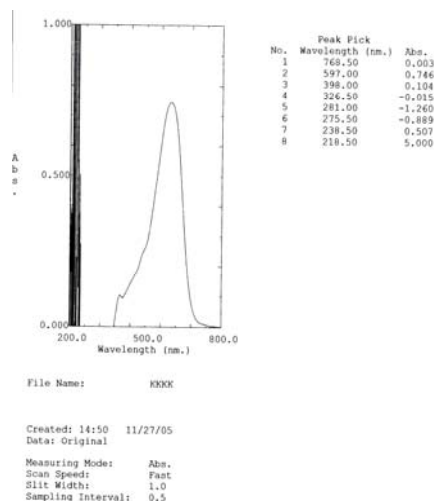
- نمونه برداری

نمونه برداری از پساب و لجن کارگاه رنگ رزی در

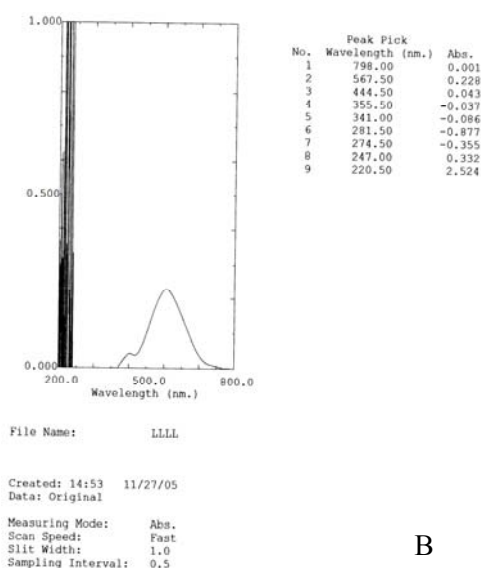
فائل های استریل صورت گرفت. نمونه ها بر روی یخ به

آزمایشگاه منتقل و تا زمان آزمایش در یخچال 4°C نگه داری

شد .



A



B

نمودار ۱- طیف uv-vis از به ترتیب A) رنگ RB5 و B) رنگ تیمار شده به وسیله *Shewanella putrefaciens* (سلول های ۱۸ ساعته فعال در مایع مغذی) بعد از ۳۰ دقیقه

علاوه بر این، سویه یاد شده قادر بود ۸۹٪ رنگ Reactive Red 141 و ۸۱٪ رنگ Reactive Red 120 را نیز در مدت سه روز، تجزیه نماید (جدول ۱). دلیل دیگر انتخاب این سویه برای شناسایی و ادامه کار، توانایی این باکتری در استفاده از رنگ به عنوان تنها منبع کربن و انرژی در محیط بود. با وجود این، رنگ زدایی در حضور منبع کربن و انرژی خارجی، بسیار سریع تر صورت گرفت (۹۷٪ در مدت زمان کمتر از ۲۴ ساعت).

- بهینه سازی شرایط رنگ بری

رنگ بری در حضور منابع متعدد کربن (ساکارز، گلوکز، فروکتوز، لاکتوز و مانیتول) و نیتروژن (عصاره مخمر، عصاره گوشت، پپتن، کلرید آمونیوم و سولفات آمونیوم)، غلظت های مختلف رنگ (۴۰۰-۵۰ mg/l)، میزان تلقیح (۰ تا ۲۰۰ میلی گرم)، مقادیر pH (۲ تا ۹) آزمایش گردید (۶) و نظر به این که بسیاری از پساب های رنگ رزی، از کارخانجات به چاه هایی تخلیه می شوند که دمای آن ها کمتر از دمای محیط است، لذا تأثیر دما نیز (۵۰، ۳۷، ۳۰، ۲۵، ۵) بر روی رنگ زدایی توسط سویه *Sh. putrefaciens*، مورد بررسی قرار گرفت.

تمامی آزمایش ها ۳ بار تکرار و نتایج به صورت میانگین ارایه شده است.

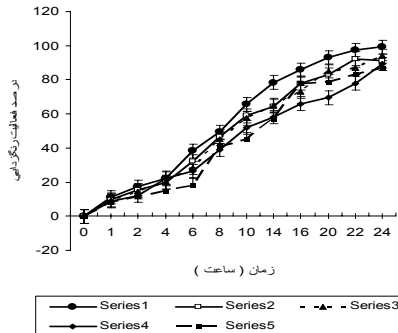
طول موج بیشینه RB5 با استفاده از Shimadzu uv-2101 pc:u-vis scanning spectrophotometer و رنگ بری و تجزیه رنگ با دستگاه Shimadzu uv-120-01 spectrophotometer مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

از میان نمونه های برداشت شده از پساب و لجن کارگاه رنگ رزی، ۱۵ سویه باکتریایی به دست آمد. بررسی های ماکروسکوپی و میکروسکوپی انجام گرفته بر روی ۱۵ باکتری جداسازی شده، نشان داد که ۶ سویه باسیل گرم مثبت واجد اسپور و ۳ سویه باسیل گرم مثبت، ۳ سویه کوکوباسیل گرم منفی، ۲ سویه باسیل گرم منفی و در نهایت ۱ سویه کوکوباسیل گرم منفی واجد کپسول می باشد.

در بین سویه های فوق، سویه شماره ۲، باسیل گرم منفی *Shewanella putrefaciens*، توانایی رنگ زدایی کامل (۹۷٪) رنگ RB5 را در مدت زمان کمتر از ۲۴ ساعت، در دمای ۳۰ °C و دور همزن ۱۵۰rpm نشان داد (نمودار ۱).

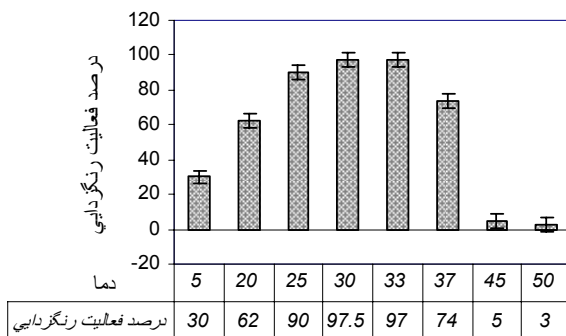
در بین منابع نیتروژنی مورد استفاده، عصاره مخمر به عنوان منبع نیتروژن آلی، بهترین اثر را بر رشد سلولی و رنگ زدایی سویه یاد شده داشت (نمودار ۳).



نمودار ۳- اثر منبع نیتروژن (آلی و معدنی) بر رنگ زدایی رنگ RB5 توسط سویه *Shewanella putrefaciens*

تأثیر دما بر رنگ زدایی

نتایج نشان داد که بیشتر فعالیت رنگ زدایی در محدوده دمایی ۲۵ تا ۳۵ درجه سانتی گراد انجام می شود و بهترین دما برای عمل رنگ زدایی 30°C می باشد. افزایش بیشتر دما تا 50°C تأثیر زیادی در کاهش فعالیت رنگ زدایی سویه *Sh. putrefaciens* داشت (نمودار ۴).



نمودار ۴- فعالیت رنگ زدایی رنگ RB5 توسط سویه *Shewanella putrefaciens* در محدوده دمایی ۵-۵۰

تأثیر pH بر فعالیت رنگ زدایی

نتایج نشان داد که وقتی pH اولیه محیط پایین تر از ۴/۵ باشد، فعالیت رنگ زدایی بسیار کند است. میزان رنگ

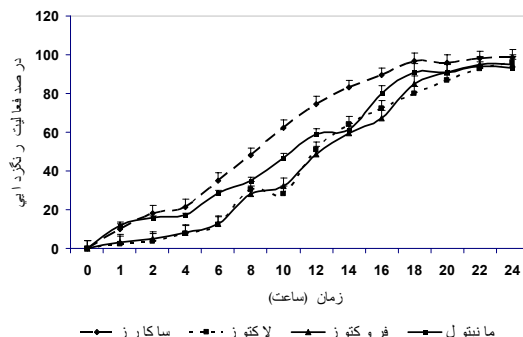
جدول ۱- رنگ زدایی رنگ های مختلف توسط سویه *Shewanella putrefaciens* در 30°C

شماره	رنگ	درصد رنگ زدایی
۱	Reactive Black5	$97 \pm 3\%$
۲	Reactive Red141	$89 \pm 3\%$
۳	Reactive Red120	$81 \pm 3\%$
۴	Reactive Yellow81	$7 \pm 3\%$
۵	Reactive Blue MR	0%

شناسایی این سویه بر اساس آزمایش های معمول بیوشیمیایی و در نهایت شناسایی ژنتیکی 16s rRNA صورت گرفت و توالی یابی در برنامه BLAST، ۹۹٪ فیلوژنی را با باکتری *Shewanella putrefaciens* سویه *hac 411* نشان داد.

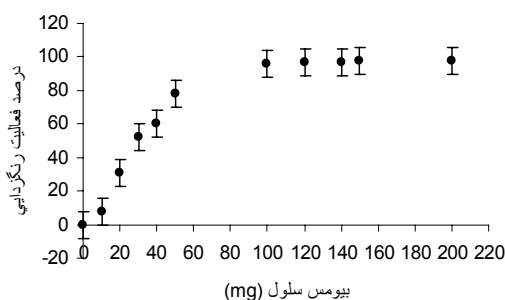
بهینه سازی

تأثیر منابع کربن و نیتروژن بر رنگ زدایی نتایج نشان داد که رنگ بری رنگ RB5 توسط سلول های فعال *Sh. putrefaciens*، مستقل از منبع کربن و نیتروژن خارجی نیز صورت می گیرد ولی سرعت رنگ زدایی کندتر می شود. منابع کربنی و نیتروژنی مختلف، پاسخ های متفاوتی را بر رنگ بری توسط *Sh. putrefaciens*، ایجاد کرد. در بین منابع کربنی، ساکارز نسبت به مانیتول، فرکتوز و لاکتوز تأثیر بیشتری بر رنگ بری داشت، در ضمن *Sh. putrefaciens* از گلوکز به عنوان منبع ترجیحی کربن استفاده نکرده و حتی رشد باکتری در محیط واجد این قند بسیار کند می باشد (نمودار ۲).



نمودار ۲- اثر منبع کربن بر رنگ زدایی رنگ RB5 توسط سویه *Shewanella putrefaciens*

بالتر، سرعت رنگ بری ثابت بوده است. بنابراین نسبت سلول به رنگ را می توان ۶ به ۱ تخمین زد (نمودار ۷).



نمودار ۷- اثر مقدار بیومس مرطوب سویه *Shewanella putrefaciens* بر رنگ زدایی رنگ RB5 در غلظت ۲۰ ppm

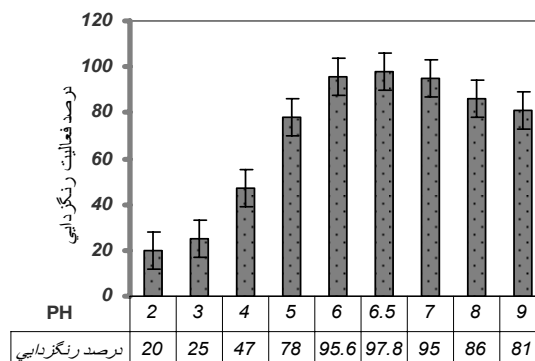
بحث

به علت مصرف بیش از حد آب جهت رنگ رزی الیاف و مقاومت ذاتی رنگ های مختلف در مقابل تجزیه بیولوژیک، معمولاً این ترکیبات بدون تغییر در طی تصفیه های فیزیکی و شیمیایی خارج می شود. به دلیل مصرف رنگ راکتیو بلک ۵ (RB5) در نساجی ایران، ورود میزان زیاد این رنگ در طول عملیات رنگ رزی به محیط و عدم تصفیه رنگ فوق با روش های متداول تصفیه، این رنگ جهت رنگ زدایی و تجزیه بیولوژیک انتخاب گردید.

چگونگی رنگ زدایی این رنگ و پساب واقعی حاوی آن توسط قارچ های گوناگون از جمله *Bjerkandera adusta*, *Penicillium geacetrivorus*, *Umbelopsis versicolor* انجام گرفته است ولی هیچ گزارشی مبنی بر رنگ زدایی باکتریایی راکتیو بلک ۵ (RB5) وجود ندارد.

نتایج نشان داد که در بین سویه های جدا شده، سویه شماره ۲ (*Shewanella putrefaciens*) توانایی رنگ زدایی رنگ های Reactive Red 141، Reactive Red 120 و Reactive Black 5 را در شرایط هوای داراست و قادر به رنگ زدایی رنگ های Reactive Blue MR و Reactive Yellow 81 نمی باشد. نتایج به دست آمده در این گزارش با نتایج

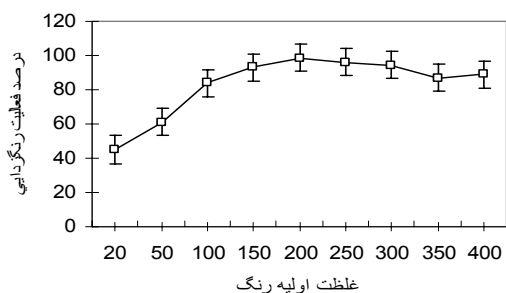
زدایی با افزایش pH محیط از ۵ (۷۸٪) به ۶/۵ (۹۸٪) افزایش یافته و در pH بین ۶-۶،۵ به حداکثر می رسد. با وجود این افزایش بیشتر pH، میزان رنگ بری را کاهش داد (نمودار ۵).



نمودار ۵- فعالیت رنگ زدایی رنگ RB5 توسط سویه *Shewanella putrefaciens* در محدوده pH=۹-۲

تأثیر غلظت رنگ بر رنگ بری

فعالیت رنگ زدایی *Sh. putrefaciens* در حضور غلظت های مختلف رنگ RB5 از ۲۰-۴۰۰ ppm بررسی شد. نتایج نشان داد که میزان رنگ زدایی با افزایش غلظت اولیه رنگ تا ۲۰۰ ppm، افزایش می یابد و افزایش بیشتر غلظت اولیه رنگ، سبب کاهش میزان رنگ زدایی می شود (نمودار ۶).



نمودار ۶- اثر غلظت رنگ بر فعالیت رنگ زدایی سویه *Shewanella putrefaciens*

تأثیر میزان تلقیح بر رنگ زدایی

مشاهدات نشان داد که میزان رنگ زدایی با افزایش میزان تلقیح، افزایش می یابد. ۱۲۰ mg سلول مرطوب می تواند غلظت ۲۰ ppm رنگ RB5 را کاملاً رنگ بری کند. در مقادیر

همکارانش (۱۹۹۷) وجود عصاره مخمر باعث تولید واسطه های اکسید احیایی (redox mediator) شده و یا موجب احیای ناقلمینی می شود که در رنگ زدایی رنگ نقش دارند. رشد سودوموناس لوتولا به طور مستقیم به غلظت عصاره مخمر وابسته است و زمانی که غلظت عصاره مخمر کاهش می یابد، سرعت رشد و رنگ زدایی کم می شود (۱۲).

همچنین Nigam و همکارانش در سال ۱۹۹۶، گزارش دادند که بیشترین رنگ زدایی رنگ های آزو توسط کنسرسیوم باکتریایی PDW در حضور ۵ گرم بر لیتر عصاره مخمر رخ می دهد که با نتایج تحقیق حاضر همسویی دارد (۳). Blumel Sik (۱۹۹۸) سویه ای جدا نمود که توانایی رنگ بری و استفاده از رنگ آزوسولفوناته (۴-کربوکسی -۴- سولفو آزوبنزن) را به عنوان تنها منبع کربن و انرژی داراست (۷). سویه *Sh.putrefaciens* نیز این توانایی را در حضور رنگ RB5 نشان داد.

دمای بهینه برای بیشترین فعالیت رنگ زدایی با *Sh.putrefaciens* در حدود ۳۰ °C مشخص شد و بالاتر رفتن دما، میزان رنگ زدایی کاهش می یافت. مشاهده شده که کلبسیلا پنمونیه *RS-1* و آلکالی ژنز *Liquefaciens S-1* هیچ گونه فعالیت رنگ زدایی رنگ متیل رد را در ۴۵ °C نشان نمی دهد (۱۳).

Madamwar و همکارانش نیز در سال ۲۰۰۵، گزارش نمودند که با افزایش دما از ۲۰ °C تا ۳۰ °C میزان رنگ زدایی رنگ Reactive Violet 5 توسط کنسرسیوم باکتریایی RVM11.1، افزایش می یابد و افزایش بیشتر دما، باعث کاهش میزان رنگ زدایی می شود (۶).

کلبسیلا پنمونیه *RS-13* رنگ متیل رد را به طور کامل در pH بین ۶ تا ۸ تجزیه می کند، در حالی که آلکالی ژنز *Liquefaciens S-1* می تواند متیل رد را در pH ۶/۵ به طور کامل تجزیه نماید (۱۳).

Mali و همکارانش در سال ۱۹۹۹ در یافتند که pH بین ۶ تا ۸، بهینه pH برای رنگ زدایی رنگ های آزو و تری فنیل متان توسط سویه های سودوموناس می باشد (۱۴).

Pasti-Grigsby (۱۹۹۲)، Nigam (۱۹۹۶) و Karapinar, Kapdan (۲۰۰۰)، همخوانی دارد و این محققان در تحقیقات خود ثابت نمودند که ساختار شیمیایی رنگ، تعیین کننده رنگ زدایی مؤثر ناشی از میکروب می باشد (۱۰ و ۹، ۱).

Zimmerman و همکارانش (۱۹۸۲) نتایج مشابهی مبنی بر متفاوت بودن تجزیه پذیری رنگ های آزو بر اساس ساختار آن ها گزارش دادند. این پژوهشگران یادآور شدند که ترکیبات آزو با یک گروه هیدروکسیل یا آمینو نسبت به ترکیبات آزو با گروه های متیل، متوکسی، سولفو یا نیترو راحت تر مورد تجزیه قرار می گیرد (۱۱).

Banat و همکارانش (۱۹۹۶) جهت جداسازی سویه های فعال در رنگ زدایی از روش غنی سازی استفاده کردند و پس از چندین ماه تجدید کشت جهت سازگاری میکروارگانیسم های نمونه با رنگ های آزو، آزمایش های خود را آغاز نمودند (۳). در این گزارش با انتخاب نمونه های رنگی و پساب های حاوی رنگ های مختلف، سویه های سازش یافته در مدت زمان کمتری جداسازی گردید.

در این تحقیق برای اولین بار سویه ای از *Shewanella putrefaciens* که توانایی رنگ زدایی و حذف کامل رنگ آزو RB5 را در شرایط هوازی دارد، از محیط جداسازی گردید.

نتایج به دست آمده توسط Karvapinar و Kapdam (۲۰۰۰) نشان داد که رنگ زدایی پساب نساجی توسط اجتماعی از باکتری ها در حضور قندهای ساکارز و لاکتوز در مقایسه با گلوکز سریع تر صورت می گیرد و عصاره مخمر به عنوان مناسب ترین منبع کربن و نیتروژن در مقایسه با سایر منابع کربن و نیتروژن در رنگ زدایی پساب نساجی مؤثر است (۹). در مورد سویه *Shewanella putrefaciens* نیز عصاره مخمر مناسب ترین منبع نیتروژن بود. احتمالاً عصاره مخمر نیازمندی عنصری، ویتامین و غیره را برآورده می سازد (۳) و بر طبق نتایج به دست آمده توسط Kudlick

- Characterization of aerobic azo dye degrading bacteria and their activity in biofilms. *Water Science and Technology* **36**, 215–220.
6. **Moosvi, S. Keharia, H. Madamwar, D.** 2005 Decolourization of Textile dye reactive violet 5 by a newly isolated bacterial consortium RVM 11.1. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **21**, 667–672.
 7. **Blümel, S., M. Contzen, M. Lutz, A. Stolz, and H.-J. Knackmuss.** 1998. Isolation of a bacterial strain with the ability to utilize the sulfonated azo compound 4'-sulfoazobenzene as the sole source of carbon and energy. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**:2315-2317
 8. **James, G. Capuccinio & Natalie Sherman,** 1996 *Microbiology Laboratory Manual*; Fourth Edition.
 9. **Kapdan I.K.** 2000. Effect of environmental conditions on biological decolorization of textile dyestuff by *C. Versicolor*. *Enzyme Microb. Technol.* **26**:381-387.
 10. **Pasti, Grigsby M.B.** 1992. Influence of aromatic substitution patterns of azo dye degradability by *Streptomyces* spp & *Phanerochate chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**:3605-13.
 11. **Zimmermann, T., H. G. Kulla, and T. Leisinger.** 1982. Properties of purified orange II azoreductase, the enzyme initiating azo dye degradation by *Pseudomonas* KF46. *Eur. J. Biochem.* **129**:197-203.
 12. **Hu, T.L.** 1998 Degradation of azo dye RP2B by *Pseudomonas luteola*. *Water Science and Technology* **38**, 299–306.
 13. **Wong, P.K. & Yuen, P.Y.** 1998 Decolourization and biodegradation of N, N-dimethyl-p-phenylenediamine by *Klebsiella pneumoniae* RS-13 and کنسرسیوم باکتریایی PVM11.1 بهترین رنگ زدایی رنگ Reactive Violet 5 را در pH بین ۷ تا ۸/۵ نشان داد (۶). مشخص شد که بیشتر فعالیت رنگ زدایی در غلظت رنگ ۲۰۰ ppm رخ می دهد. مشاهدات مشابهی در سال ۱۹۹۹ توسط Sani & Banerje در مورد رنگ زدایی رنگ های تری فنیل متان توسط سویه های *Kurthia* ثبت گردیده است (۱۵).
- با توجه به ویژگی های سویه جداسازی شده در این تحقیق شامل تجزیه هوازی رنگ های آزو، رشد و رنگ زدایی به صورت اتوتروفی و تحمل شرایط پیچیده پساب، می توان در مرحله ای از سیستم تصفیه مکمل پساب از این باکتری استفاده نمود.
- منابع
1. **Ramvalho, P. A., H. Scholze, M. H. Cardoso, M. T. Ramalho, and A. M. Oliveira-Campos.** 2002. Improved conditions for the aerobic reductive decolorisation of azo dyes by *Candida zeylanoides*. *Enzyme Microb. Technol.* **31**:848-854
 2. **McMullan, G., Meehan, C., Conneely, A., Kirby, N., Robinson, T., Nigam, P., Banat, I.M., Marchant, R. & Smyth, W.F.** 2001 Microbial decolourisation and degradation of textile dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology* **56**, 81–87.
 3. **Banat, I. M., P. Nigam, D. Singh, and R. Marchant.** 1996. Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: a review. *Biores Technol.* **58**:217-227.
 4. **Chung KT, Cerniglia CE,** 1992, Mutagenicity of azo dyes: structure activity relationships. *Mutat Res*, **277**(3), 201-20.
 5. **Coughlin, M.F., Kinkle, B.K., Tepper, A. & Bishop, P.L.** 1997

- dyes. Journal of Scientific and Industrial Research **59**, 221–224
15. **Sani, R. & Banerjee, U.** 1999 Decolourization of triphenylmethane dyes and textile and dye stuff effluent by *Kurthia* sp. Enzyme and Microbial Technology **24**, 433–437.
- Acetobacter liquefaciens S-1. Journal of Applied Microbiology **85**, 79–87.
14. **Mali, P.L., Mahajan, M.M., Patil, D.P. & Kulkarni, M.V.** 1999. Biodecolourisation of members of triphenylmethane and azogroups of