مجله سلامت و محیط، فصلنامه‌ی علمی پژوهشی
انجمن علمی بهداشت محیط ایران
دوره پنجم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۱، صفحات ۱۷۹ تا ۱۸۸

رنگ‌زدایی از ریمازول برلیانت بلو رویال توسط قارچ گانودرمای ساکن شده در آلژینات سدیم

کاظم ندافی[۱]، مهران محمدیان فضلی[۲]، علیرضا مصداقی‌نیا[۳]، سیمین ناصری[۴]، مهناز مظاهری اسدی[۵]، مسعود یونسیان[۶]

نویسنده مسئول: زنجان، خیابان پروین اعتصامی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، دانشکده بهداشت و پیراپزشکی، گروه بهداشت محیط *mhrnmoh@zums.ac.ir*

دریافت: ۹۰/۰۸/۲۴ پذیرش: ۹۰/۱۱/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: *آلودگی زیست محیطی و مخاطرات بهداشتی مواد رنگی به طور گسترده‌ای توسط صنایع مختلف ایجاد می‌گردد. پایداری این مواد موجب می‌شود که روش‌های گوناگونی برای حذف آنها بررسی شود. کاربرد قارچ‌های ریسه سفید در این زمینه مورد توجه محققین قرار گرفته است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف استفاده از قارچ ریسه سفید گانودرمای ساکن شده در آلژینات سدیم برای حذف رنگ ریمازول برلیانت بلو رویال از محیط آبی انجام شده است.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی، ابتدا شرایط حذف رنگ نسبت به فاکتورهای غذایی، محیطی و عملیاتی بهینه‌سازی گردید و سپس کارایی رنگ‌زدایی سلول‌های ساکن شده مورد بررسی قرار گرفت. طراحی آزمایش‌ها با روش فاکتوریل کسری دو سطحی و روش سطح پاسخ انجام شد و مدل آماری فرایند با کمک نرم افزار MiniTab برازش گردید.*

یافته ها: *نتایج تحقیق نشان داد که پارامترهای نوع و غلظت منبع کربن، دما و pH مهم‌ترین عوامل در حذف رنگ توسط قارچ گانودرما است. نتایج در شرایط بهینه منبع کربن (گلیسرول با غلظت ۱۹/۱۴ گرم در لیتر، دمای ۲۷ درجه سلسیوس و مقدار pH اولیه محیط کشت معادل۶/۲۶، میزان حذفی برابر ۹۵/۳ درصد را نشان داد که نسبت به شرایط اولیه، ۱/۲۷ برابر افزایش کارایی داشته است.*

نتیجه گیری: *قارچ گانودرمای ساکن شده دارای پتانسیل مطلوبی جهت حذف رنگ از محیط آبی است ولی باید شرایط آن را نسبت به نوع آلاینده مورد بررسی و بهینه سازی قرار داد. کاربرد طراحی آزمایش‌ها به روش فاکتوریل کسری نیز به لحاظ روش طراحی تحقیق از الویت بالایی جهت کاهش تعداد آزمایش‌ها و صرفه‌جویی در منابع و نیز تحلیل آماری داده‌های آزمایشی برخوردار است. پیشنهاد می‌گردد از این پتانسیل‌ها در جهت کاهش هزینه‌های پالایش محیط کمک گرفته شود.*

واژگان کلیدی: ***قارچ گانودرما، ساکن‌سازی سلولی، رنگ‌زدایی از پساب، طراحی آزمایش‌ها، فاکتوریل کسری***

۱- دکترای بهداشت محیط، دانشیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲- دکترای بهداشت محیط، استادیار دانشکده بهداشت و پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان
۳- دکترای بهداشت محیط، استاد دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴- دکترای شیمی، استاد دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۵- دکترای بیوتکنولوژی، استاد پژوهشکده بیوتکنولوژی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران
۶- دکترای اپیدمیولوژی، دانشیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

مقدمه

رشد صنعتی جهان ضمن تامین منافعی برای بشر، آلودگی‌های زیست محیطی نیز به بار آورده که منجر به آسیب به تعادل محیط زیست گشته و از سویی سلامت انسان را به مخاطره انداخته است. مواد رنگ‌زای صنعتی دسته وسیع و مهمی از آلاینده‌های یاد شده است. رنگ‌زاهای صنعتی شامل ساختار شیمیایی متفاوتی همچون اسیدی، قلیایی، راکتیو، دیسپرس، آزو، دی آزو، پایه آنتراکینون و رنگ‌زاهای فلزی هستند که در صنایع نساجی، غذایی، لوازم آرایشی و بهداشتی و صنایع دارویی کاربرد وسیع دارند(۱). دفع و تخلیه پساب‌های رنگی به آب‌های پذیرنده زیان‌های زیست محیطی جدی وارد می کند. کاهش نفوذ نور و کاهش سطح فتوسنتز در منابع آب، تخلیه مواد سمی و فلزات سنگین، تغییر pH، تغییر رنگ آب، ورود مواد تجزیه ناپذیر، مواد سرطان‌زا و جهش زا یا تولید محصولاتی از این قبیل در اثر تجزیه محیطی، همگی بخشی از این اثرات هستند. مشخص شده است که تجزیه بی هوازی رنگ‌های آزو، ترکیبات بی‌رنگی به نام آمین‌های آروماتیک تولید می‌کند که متاسفانه سمی‌تر از خود رنگ‌زا و تجزیه آنها مستلزم تجزیه هوازی است(۵-۲).

در حال حاضر تکنیک‌های مختلفی برای حذف رنگ مطرح است که شامل روش‌های بیولوژیکی، شیمیایی و فیزیکی است و هریک از آنها دارای مزایا و معایبی است. روش‌های بیولوژیکی به دلیل پایداری مواد رنگی سنتتیک در محیط‌های هوازی، بیشتر شامل سیستم‌های بی‌هوازی است(۸-۶).

در حال حاضر استفاده از قارچ‌های تجزیه‌کننده لیگنین موسوم به قارچ‌های ریسه سفید یا قارچ‌های تجزیه سفید White rot fungi به علت داشتن آنزیم‌های خارج سلولی غیراختصاصی در تجزیه لیگنین و مواد وابسته به آن مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند. استفاده از این سیستم آنزیمی برای آلاینده‌های پایداری مانند هیدروکربن‌های آروماتیک چند هسته ای، فنل‌های کلرینه، بی‌فنیل‌های چند کلره، دی اکسین‌ها، آفت کش‌ها، مواد منفجره، رنگ‌ها و غیره استفاده شده است (۴). این آنزیم‌ها که اساسا شامل لیگنین پراکسیداز، منگنز پراکسیداز و لاکاز است برحسب نوع قارچ و نوع رنگ‌زای مورد تجزیه، مسئولیت حذف رنگ را دارند. کاربرد قارچ‌ها به دلیل آنکه برگرفته از فرایندهای طبیعی محیط زیست‌اند، مورد مطالعه متخصصین بیوتکنولوژی محیط زیست قرار گرفته است و با موفقیت‌هایی هم همراه بوده ولی هنوز تحقیقات زیادی نیز به دلیل تنوع قارچ‌ها، تنوع شرایط زیست و نیز تنوع مواد رنگ‌زای سنتتیک بایستی صورت گیرد(۱۱-۸).

بنابراین تحقیق حاضر با هدف تعیین کارایی قارچ گانودرمای ساکن شده در آلژینات سدیم در حذف رنگ ریمازول برلیانت بلو رویال از محیط آبی سنتتیک انجام شده است.

مواد و روش‌ها

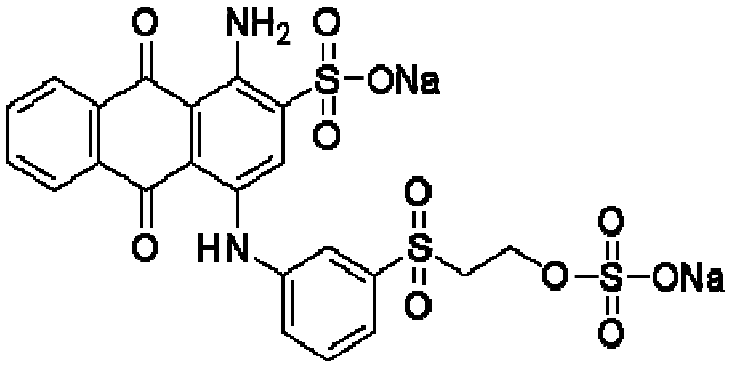
میکروارگانیسم: قارچ گانودرما به صورت اسلنت از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران Persian Type Culture Collection (PTCC) وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری و تهیه گردید. قارچ گانودرما از جمله قارچ‌های بازیدیومیست ریسه سفید و تجزیه‌کننده لیگنین است. این قارچ غیر بیماری‌زا بوده و مصرف خوراکی و پزشکی نیز دارد(۱۲).

مواد: ماده رنگزای ریمازول برلیانت بلو رویال یا ری اکتیو بلو ۱۹ دارای فرمول خطی $C_{22}H_{16}N_2Na_2O_{11}S_3$ و شکل مولکولی زیر (شکل ۱) است. جرم مولکولی این ترکیب ۶۲۶/۵۴ گرم بر مول است. شماره فهرست رنگ CI Number آن ۶۱۲۰۰ و CAS Number آن ۱-۷۸-۲۵۸۰ است. حداکثر جذب این ماده رنگ‌زا در طول موج ۵۹۲ نانومتر اتفاق می‌افتد (λ_{max} = 592 nm).

فرم فیزیکی این رنگ‌زا، پودر آبی تیره بوده و محلول آن نیز آبی تیره تا سیاه است و تا حد یک میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر آب قابل انحلال است (۱۳و۱۴).

محیط کشت: محیط کشت مصرفی شامل محیط جامد اسلنت پتیتو دکستروز برای نگه‌داری و ذخیره‌سازی قارچ، محیط کشت مایع پتیتو دکستروز برای تهیه پیش کشت و نیز محیط کشت پایه سنتتیک مایع برای بررسی حذف رنگ بودند. برای تهیه محیط شیب‌دار پتیتو دکستروز آگار به صورت زیر عمل می‌شود:

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]



شکل ۱: مولکول ماده رنگی ریمازول برلیانت بلو رویال (۱۳)

۲۰۰ تا ۳۰۰ گرم سیب زمینی تکه‌تکه شده و پس از یک ساعت جوشاندن، عصاره‌گیری می‌شود. به عصاره حاصل ۲۰ گرم آگار و ۱۵ تا ۲۰ گرم گلوکز افزوده شده و حجم کل به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده می‌شود. در نهایت محلول حاصل اتوکلاو شده و به صورت مایل قرار داده می‌شود تا شکل اسلنت به دست آید.

برای تهیه محیط پیش کشت یعنی پتیتو دکستروز مایع، کلیه مراحل فوق بدون افزودن آگار انجام می‌شود (۱۴و۱۵).

برای تهیه محیط کشت پایه سنتتیک مواد شیمیایی با مقدار و ترکیب زیر در یک لیتر آب مقطر استفاده می‌شود (۱۴و۱۵): گلوکز ۲۰gr، عصاره مخمر ۲/۵ g، پتاسیم دی هیدروژن فسفات ۱g، دی سدیم هیدروژن فسفات ۰/۰۵ g، سولفات منیزیم هفت آبه ۰/۵ g، کلرید کلسیم ۰/۰۱ g، سولفات آهن هفت آبه ۰/۰۱ گرم، سولفات منگنز چهار آبه ۰/۰۰۱g، سولفات روی هفت آبه ۰/۰۰۱g، سولفات مس پنج آبه ۰/۰۰۲g. pH محیط کشت در نهایت روی ۵/۵ تنظیم گردید (۱۴و۱۵).

روش تحقیق: تحقیق حاضر از نوع تجربی بوده و تعداد نمونه‌ها بر اساس روش طراحی آزمایش‌ها طی دو مرحله غربال‌گری فاکتورهای مؤثر و بهینه‌سازی فرایند محاسبه شده‌اند. در مرحله غربال‌گری از روش فاکتوریل کسری دو سطحی استفاده شد. مزیت این روش این است که ضمن صرفه جویی در هزینه آزمایش‌ها، اثرات اصلی و اثرات متقابل فاکتورها نیز برآورد می‌گردد. به منظور بهینه‌سازی فرایند نیز روش سطح پاسخ با مدل درجه دوم استفاده گردید. این روش در میان طرح‌های فاکتوریل کسری، به ویژه زمانی که متغیرها جنبه کمی دارند و می‌توان پس از تهیه داده‌ها، به یک مدل آماری دست یافت، از اولویت برخوردارست (۱۴و۱۵). جدول ۱ فاکتورها و سطوح مورد بررسی در تحقیق حاضر را نشان می‌دهد. پس از کسب شرایط بهینه، سلول‌های قارچی در آلژینات سدیم ساکن‌سازی شده و نتایج مربوط به حذف رنگ طبق رابطه ۱ محاسبه و گزارش گردید.

(۱)

$$Decolorization(\%) = \frac{ADMI_i - ADMI_f}{ADMI_i} \times 100$$

در این رابطه $ADMI_i$ و $ADMI_f$ به ترتیب مقدار رنگ نمونه قبل و بعد از فرایند رنگ‌زدایی است.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و آزمون‌های آماری (رگرسیون) از نرم افزار MiniTab 15 استفاده شد و رسم گراف‌ها و نمودارها از نرم افزار فوق و Excel استفاده گردید.

ساکن‌سازی سلولی: به منظور ساکن‌سازی سلول‌های قارچی در آلژینات سدیم، حجم مورد نظری از محلول ۱/۵ تا ۲ درصد آلژینات سدیم در آب بدون یون تهیه گردید. مخلوط حاضر توسط همزن مغناطیسی همزنی شد تا یک محلول ویسکوز یکنواخت حاصل گردید و سپس در اتوکلاو با شرایط دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت دوازده دقیقه استریل گردید. محلول استریل به صورت آسپتیک با سلول های قارچی مخلوط شد و تا یکنواختی کامل همزنی ادامه یافت. به منظور تشکیل گلوله‌های آلژینات کلسیم حاوی سلول‌های قارچی، به کمک یک قطره چکان با روزنه تقریبی ۳ میلی‌متر، قطرات آلژینات سدیم مخلوط با قارچ به درون محلول کلرید کلسیم ۰/۲۵

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

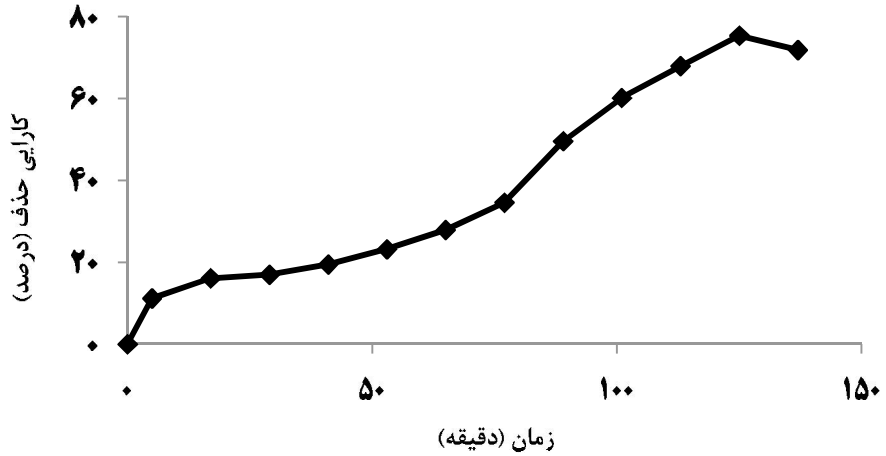
جدول ۱: فاکتورها و سطوح مورد نظر برای مطالعه حذف رنگ ریمازول برلیانت بلو رویال توسط قارچ گانودرما در مرحله غربال‌گری فاکتورها

فاکتور	واحد	سطح	
		بالا(+)	پایین(-)
نوع منبع کربن	--	گلیسرول	نشاسته
غلظت منبع کربن	گرم در لیتر	۲۰	۴۰
غلظت منبع نیتروژن	گرم در لیتر	۰/۲	۰/۴
غلظت سولفات مس	میلی گرم در لیتر	۱	۳
غلظت اتانول	درصد حجمی	۰	۲
غلظت اولیه ماده رنگی	میلی گرم در لیتر	۱۰۰	۲۰۰
حجم تلقیح	میلی لیتر	۵	۱۰
اولیه pH	--	۵	۶
دما	سلسیوس	۲۵	۳۰
دور همزن	دور در دقیقه	۱۰۰	۱۵۰
نوع منبع کربن	--	گلیسرول	نشاسته

مولار استریل شده چکانده شد. حدود ۲۰ تا ۳۰ دقیقه بعد گلوله‌های آلژینات کلسیم قوام یافته از محلول کلرید کلسیم جمع آوری گردید و با آب بدون یون شست‌وشو داده شد. از این سلول‌های ساکن شده به عنوان پیش کشت جهت مطالعه حذف رنگ و تلقیح به محیط اصلی حاوی رنگ استفاده گردید (۱۶).

یافته‌ها

ابتدا به منظور تعیین پتانسیل حذف رنگ، تغییرات غلظت رنگ‌زا (درصد حذف رنگزا) با گذشت زمان مطالعه گردید. هدف از این مرحله تعیین حداکثر مقدار حذف رنگ و تعیین زمان وقوع حداکثر رنگ‌زدایی بود. در این مرحله از پلت‌های قارچی معلق در محیط مایع سنتتیک استفاده گردید. شکل ۲ نتایج این مرحله را نشان می‌دهد.



شکل ۲: تغییرات حذف رنگ ریمازول برلیانت بلو رویال توسط قارچ گانودرما در مرحله مقدماتی (محیط کشت پایه، غلظت رنگ‌زا ۱۵۰ میلی گرم در لیتر، دما ۲۷ درجه سلسیوس و همزن ۱۲۵ دور در دقیقه)

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

جدول ۲: میزان و نوع اثر فاکتورهای مهم در فرایند حذف رنگ از ماده رنگی ریمازول برلیانت بلو رویال توسط قارچ گانودرما در مرحله غربال‌گری

فاکتور یا برهمکنش	برآورد اثر	سطح معنی دار
دما	۵/۰۸	۰/۰۰۰۱
نوع منبع کربن × دما	۴/۴۶	۰/۰۰۰۱
غلظت منبع کربن × دما	۴/۱۸	۰/۰۰۰۱
نوع منبع کربن	–۳/۹۲	۰/۰۰۰۱
غلظت منبع نیتروژن × اتانول	۳/۵۵	۰/۰۰۰۱
نوع منبع کربن × غلظت منبع کربن	–۳/۴۲	۰/۰۰۰۱
pH اولیه	۲/۷۸	۰/۰۰۰۱
نوع منبع کربن × غلظت رنگ	۲/۷۷	۰/۰۰۰۱
غلظت منبع نیتروژن × سرعت همزن	–۲/۵۵	۰/۰۰۱
غلظت منبع کربن × غلظت سولفات مس	–۲/۳۹	۰/۰۰۲
غلظت منبع کربن	–۲/۲۹	۰/۰۰۳
غلظت منبع کربن × غلظت منبع نیتروژن	–۱/۹۷	۰/۰۰۹

مطابق شکل فوق، بیشترین حذف رنگ به میزان ۷۵/۴ درصد پس از ۱۲۵ ساعت یعنی تقریبا ۵ روز به وقوع پیوست و پس از آن مجددا کاهش رنگ فروکش نمود. بر اساس نتیجه این مرحله، کلیه آزمایش های بعدی بر پایه حذف رنگ پس از ۵ روز انجام شد.

در بخش بعدی طی دو مرحله نسبت به شناسایی (غربال‌گری) فاکتورهای اصلی و بهینه‌سازی آنها جهت کسب حداکثر رنگ‌زدایی اقدام شد. در مرحله غربال‌گری با توجه اثر اصلی هر فاکتور و اثرات متقابل موجود میان فاکتورها و نیز آزمون‌های آماری انجام شده نسبت به انتخاب نوع فاکتورها و سطوح قابل قبول برای مرحله بهینه‌سازی، پرداخته شد. جدول ۲ نتایج این مرحله را نشان می‌دهد.

بر اساس نتایج فوق نوع منبع کربن، غلظت منبع کربن، دما و pH فاکتورهای موثری بودند که بهینه‌سازی فرایند بایستی بر پایه آنها انجام گردد. بدین منظور مرحله بهینه‌سازی با روش طراحی آزمایش سطح پاسخ انجام و پس تحلیل آماری و مدل‌سازی فرایند نسبت به تعیین سطوح بهینه برای هر فاکتور اقدام شد. جدول ۳ نتایج این مرحله و مدل آماری برازش شده توسط نرم افزار MiniTab 15 (معادله ۲) را نشان می‌دهد.

(۲)

$$\text{Decolorization (\%)} = 92.717 - 2.7\ X_2 + 1.338\ X_3 - 0.115\ X_1^2 - 0.515\ X_2^2 - 1.465\ X_3^2 + 0.113\ X_1 X_2 + 0.138\ X_1 X_3 - 0.188\ X_2 X_3. \quad (R^2=0.94)$$

در مدل آماری فوق X_1 فاکتور غلظت منبع کربن (گلیسرول)، X_2 فاکتور دما و X_3 فاکتور pH است. بر اساس مدل برازش شده برای آزمایش‌های صورت گرفته، پیش‌بینی گردید که مقدار بهینه غلظت منبع کربن (گلیسرول)g/L ۱۹/۱۴، مقدار بهینه دما،^0C ۲۷ و مقدار بهینه pH اولیه محیط کشت معادل ۶/۲۶ تعیین و میزان درصد حذف رنگ نیز ۹۵/۳ درصد محاسبه شد.

شرایط فوق برای سلول‌های قارچی ساکن شده در آلژینات سدیم مورد آزمایش قرار گرفت تا میزان کارایی این سلول‌ها نسبت به شرایط اولیه بررسی شود. نتایج حذف رنگ ریمازول برلیانت بلو رویال توسط قارچ ساکن شده، در شکل ۳ ارایه شده است.

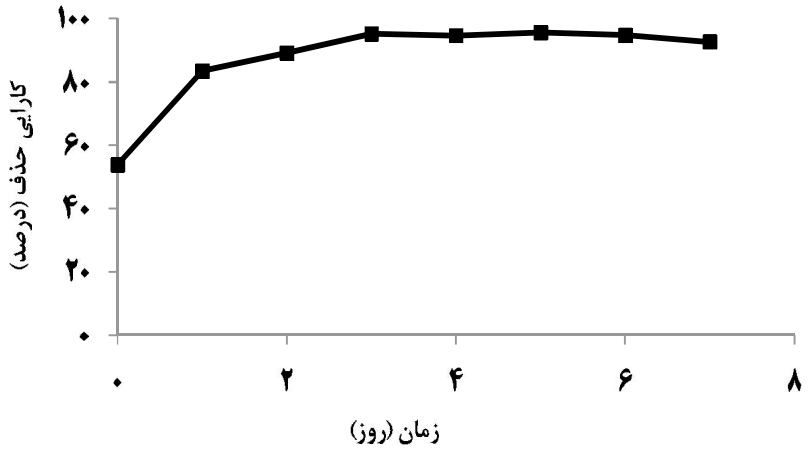
[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

جدول ۳: میزان و نوع اثرات فاکتورهای مورد بررسی در فرایند حذف رنگ از ریمازول برلیانت بلو رویال توسط قارچ گانودرما در مرحله بهینه‌سازی

فاکتور یا برهمکنش	ضریب اثر	سطح معنی دار
نوع منبع کربن (گلیسرول)	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰
دما	-۲/۷	۰/۰۰۰۱
pH	۱/۳۳۸	۰/۰۰۰۱
غلظت منبع کربن * غلظت منبع کربن	-۰/۱۱۵	۰/۶۷۱
دما * دما	-۰/۵۱۵	۰/۰۶۷
pH * pH	-۱/۴۶۵	۰/۰۰۰۱
غلظت منبع کربن * دما	۰/۱۱۳	۰/۶۶۴
غلظت منبع کربن * pH	۰/۱۳۸	۰/۵۹۶

بحث

براساس شکل ۱ در مطالعه مقدماتی حذف رنگ، قارچ گانودرما قادر به حذف رنگ بوده و حداکثر حذف تقریبا پس از پنج روز به میزان ۷۵/۴ درصد اتفاق افتاد. پس از این زمان مقدار حذف مجددا کاهش یافت. این کاهش به دلیل تشکیل رنگ قرمز تیره و سپس آبی تیره بود که می‌تواند منتسب به ایجاد کمپلکس‌های واسط رنگی باشد. لی و همکارانش ضمن مطالعه تولید لاکاز توسط قارچ ترامتس ورسیکلر تشکیل رنگ تیره را در محیط کشت مشاهده و پس از بررسی آن را به تشکیل ملانین در نتیجه پلیمریزاسیون منومرهای واسطه بیولوژیکی نسبت دادند (۱۷).



شکل ۳: تغییرات حذف رنگ ریمازول برلیانت بلو رویال توسط قارچ گانودرمای ساکن شده در آلژینات سدیم

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

فو و ویراراقاوان در سال ۲۰۰۱؛ وزنبرگ سال ۲۰۰۳ و اصغر در سال ۲۰۰۸ گزارش نموده‌اند که میزان حذف رنگ در مورد سویه‌های مختلف قارچی به دلیل نیازهای فیزیولوژیکی و محیطی، تفاوت در نوع آنزیم غالب تولیدی و اختلاف در مشخصات ماده رنگی در معرض، تفاوت دارد (۷،۹،۱۸و۱۹). به طور مثال، پارک و همکارانش در سال ۲۰۰۷ گزارش نمودند که فونالیا تروجئی رنگ ری آکتیو سیاه ۵ را در شرایط مشابه پس از ۴ روز به میزان ۹۵ درصد حذف می‌نماید (۱۹). اکثر گزارش‌ها نیز گویای آن هستند که قارچ‌های ریسه سفید برای حذف رنگزاهای مختلف تا حد بالای ۹۰ درصد، زمانی بین ۷ تا ۲۰ روز را لازم دارند (۱۹و۲۱). بنابراین با توجه به گزارش‌های فوق به نظر می‌رسد بهینه‌سازی فرایند می‌تواند منجر به بهبود کارایی حذف رنگ توسط قارچ شود. از این‌رو مراحل بعدی آزمایش ها با رعایت صرفه‌جویی در هزینه‌ها و منابع، با طراحی آزمایش های فاکتوریل کسری انجام شد.

به منظور یافتن فاکتورهای موثر بر حذف رنگ و نیز درک اثرات واقعی متغیرها، علاوه بر توجه به اثرات اصلی Main effect هر فاکتور، در نظر گرفتن اثرات متقابل Interaction effect فاکتورها نیز حایز اهمیت است. لذا مطابق جدول ۲ اثرات اصلی و متقابل به لحاظ نوع، میزان و کیفیت اثر بر رنگ زدایی ارایه گردیدند. خلاصه این اثرات عبارتند از:

براساس آزمایش های انجام شده در مرحله غربال‌گری و شناسایی فاکتورهای مهم، نتیجه‌گیری می‌شود که دما با برآورد اثر ۵/۰۸، دارای بیشترین نقش بوده و اثر مثبت بر رنگ‌زدایی دارد ($P<$ ۰/۰۰۰۱). نوع منبع کربن با برآورد اثر ۳/۹۲-، دارای رتبه دوم از نظر میزان اثر بوده، و اثر منفی بر رنگ‌زدایی داشت. به این معنی که گلیسرول از نشاسته موثرتر بوده است ($P<$ ۰/۰۰۰۱). pH با برآورد اثر ۲/۷۸، دارای رتبه سوم از نظر میزان اثر بوده، و اثر آن مثبت است ($P<$ ۰/۰۰۰۱). غلظت منبع کربن با برآورد اثر ۲/۲۹-، رتبه چهارم را داشته و اثر منفی بر فرایند می‌گذارد ($P<$ ۰/۰۰۳).

سایر محققین نتایج مشابهی به لحاظ اهمیت انتخاب منبع کربن گزارش نموده‌اند. روانکار و همکارانش در سال ۲۰۰۷ اثر نوع منبع کربن بر حذف رنگزای آمارانت توسط گانودرما را مطالعه کردند و از میان پنج منبع مختلف شامل فروکتوز، ساکاروز، نشاسته، گلوکز و گلیسرول؛ نشاسته را بهترین منبع کربن گزارش نمودند (۲۲). ژانگ و همکارانش در سال ۱۹۹۹، منبع کربن را به عنوان سابستریت کمکی در حذف رنگ از پساب‌ها توسط قارچ‌های ریسه سفید موثر دانستند. به علاوه فاکتورهای دما و pH، عوامل کلیدی در حذف رنگ شناخته شدند(۲۳). فو و ویراراقاوان در سال ۲۰۰۱ گلوکز، نشاسته، مالتوز و سلولز را به عنوان منابع مطلوب کربن و انرژی قارچ‌ها گزارش نمودند(۷). مویو و همکارانش در سال۱۹۹۱ اثرات گلوکز روی حذف رنگ را مطالعه و مشاهده کردند غلظت گلوکز بر فرایند رنگ زدایی اثر قابل توجهی ندارد(۲۴).

به منظور بهینه‌سازی فرایند، طراحی آزمایش‌ها به روش سطح پاسخ با مدل درجه دوم صورت گرفت. این روش طراحی در میان طرح های فاکتوریل کسری، به ویژه زمانی که متغیرها جنبه کمی دارند و می‌توان پس از تهیه داده‌ها، به یک مدل آماری دست یافت، از اولویت برخوردار است.

از مدل آماری برازش شده شماره ۱ بر داده‌های آزمایشی و جدول ۳ استنتاج می‌شود که تغییر غلظت گلیسرول، اثر خطی و غیرخطی معنی‌داری بر میزان حذف رنگ ندارد. تغییر دما، اثر خطی معنی‌دار ($P<$ ۰/۰۰۰۱) بر میزان حذف رنگ دارد ولی در مورد اثر غیرخطی آن این‌گونه نبود. تغییر pH اولیه محیط، اثر خطی و غیرخطی معنی‌دار بر میزان حذف رنگ دارد ($P<$ ۰/۰۰۰۱).

نرم افزار MiniTab 15.1 قابلیتی دارد که براساس مدل برازش شده و در محدوده سطح متغیرها نقطه حداکثر را جستجو و ارایه می‌نماید. نتیجه یاد شده عبارت بود از مقدار بهینه غلظت گلیسرول ۱۹/۱۴ گرم در لیتر، مقدار بهینه دما ۲۷ درجه سلسیوس، مقدار بهینه pH اولیه محیط کشت معادل۶/۲۶، میزان درصد حذف رنگ نیز ۹۵/۳ درصد محاسبه شد.

روانکار و همکارانش در سال ۲۰۰۷، فرایند رنگ زدایی از آمارانت را با غلظت های مختلف نشاسته، عصاره مخمر و سولفات مس با روش طرح آماری تاگوچی بهینه‌سازی کردند. مشخص شد قارچ گانودرما Ganoderma sp. WR-1 پس از بهینه‌سازی در حضور نشاسته ۲۰ گرم در لیتر، عصاره مخمر ۱/۲۵ گرم در لیتر و سولفات مس ۱ میلی گرم در لیتر، افزایش قابلیت حذف ۲۸ درصدی یافته است (۲۲).

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

شکل ۳ تغییرات حذف رنگ توسط سلول‌های ساکن شده را نشان می‌دهد. نقطه ماکزیمم این منحنی، حذف رنگ به میزان ۹۵/۶۳ درصد در روز پنجم حاصل شده است. اما دقت بیشتر نشان می‌دهد که طی سه روز اول تغییر حذف رنگ از ۵۳/۸۱ درصد به ۹۵/۲۶ درصد اتفاق افتاده است. یعنی عملا سرعت حذف رنگ در این شرایط بیشتر بوده است. در مطالعات مشابه، پارک و همکارانش در سال ۲۰۰۷ توانستند با ساکن‌سازی قارچ فونالیا تروجئی در آلژینات سدیم، رنگ اسید بلاک ۵۲ را در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر به میزان ۹۳/۸ درصد پس از ۵/۷ روز حذف نماید (۲۰). کاسینات و همکارانش در سال ۲۰۰۳ حذف رنگ راکتیو بلو ۱۹ در غلظت ۱۵۰ mg/L را با قارچ ایرپکس لاکتوس ساکن شده روی دو مدیای مختلف شامل پلی اورتان و پاین وود بررسی کردند. حذف رنگ پس از ۶ روز به ترتیب ۸۵/۸ و ۱۰۰ درصد بود (۱۹).

نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده نشان داد که قارچ گانودرما پس از بهینه‌سازی و ساکن‌سازی سلولی قادر است به میزان قابل توجهی کارایی حذف رنگ را بهبود بخشد به طوری‌که میزان حداکثر حذف رنگ طی پنج روز از ۷۵ درصد به بیش از ۹۵ درصد، معادل ۱/۲۷ برابر، افزایش یابد. به علاوه استفاده از روش طراحی آزمایش‌ها در طرح تحقیق، این مزیت را به همراه داشت که ضمن کاهش تعداد آزمایش ها و صرفه جویی در منابع، تحلیل صحیح تری از فرایند را به جهت برآورد اثرات اصلی و اثرات متقابل فاکتورها ارایه نماید.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه با عنوان "بررسی امکان استفاده از قارچ گانودرما در حذف رنگ ریمازول برلیانت بلو رویال از محیط آبی" در مقطع دکتری در سال ۱۳۸۹ است که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران اجرا شده که بدینوسیله از پشتیبانی آن قدردانی می‌شود.

منابع

1.Mahmoodi NM, Arami M, Gharanjig K. Laboratory studiesandCFDmodelingofphotocatalyticdegradation of colored textile wastewater by titania nanoparticles. Desalination and Water Treatment.2009;1:312–7.
2. Sarnthima R, Khammuang S. Evaluation of dyes decolorizationbythecrudeenzymefromPleurotussajor-caju grown on sorghum seed media. Pakistan journal of Biological Sciences. 2008;11(1):62-7.
3. Omar HH. Algal decolorization and degradation of monoazo and diazo dyes. Pakistan Journal of Biological Sciences. 2008;11(10):1310-6.
4. Rodriguez E, Pickard MA, Vazquez-Duhalt R. Industrial dye decolorization by laccases from ligninolytic fungi. Current Microbiology. 1999;38(1):27-32.
5. Erkurt EA., Unyayar A, Kumbur H. Decolorization of synthetic dyes by white rot fungi, involving laccase enzyme in the process. Process Biochemistry. 2007;42(10):1429-35.
6. Li L, Dai W, Yu P, Zhao J, Qu Y. Decolorization of synthetic dyes by crude laccase from Rigidoporuslignosus W1. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. 2008;84(3):399-404.
7. Fu Y, Viraraghavan T. Fungal decolorization of dye wastewater: A review. Bioresource Technology. 2001;79(3):251-62.
8. Nyanhongo GS, Gomes J, Gubitz GM, Zvauya R, Read J, Steiner W. Decolorization of textile dyes by laccases from a newly isolated strain of Trametesmodesta. Water Research. 2002;36(6):1449-56.
9. Asgher M, Bhatti HN, Ashraf M, LeggeRL. Recent developments in biodegradation of industrial pollutants by white rot fungi and their enzyme system. Biodegradation. 2008;19(6):771-83.
10. dosSantos AB, Cervantes FJ, van Lier JB. Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: Perspectives for anaerobic biotechnology. Bioresource Technology. 2007;98(12):2369-85.
11. Casieri L, Varese GC, Anastasi A, Prigione V, Svobodova K, Filippelo Marchisio V, et al. Decolorization and detoxication of reactive industrial dyes by immobolized fungi Trametespubescens and Pleurotusostreatus. Folia Microbiology.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

2008;53(1):44-52.
12. Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST). Persian Type Culture Collection. Tehran: IROST; 2005 [cited 2010 Jun 17]. Available from: www.irost.org/persian/ptcc.
13. Rezaee A, Ghaneian MT, Khavanin A, Hashemian SJ, Moussavi Gh, Ghanizadeh Gh, et al. Photochemical oxidation of reactive blue 19 dye(RB19) in textile wastewater by UV/K2S2O8 process. Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering. 2008;5(2):95-100.
14.Mohammadian Fazli M, Mesdaghinia AR., Naddafi K, Nasseri S, Yunesian M, Mazaheri Assadi M, et al. Screening of factors affecting reactive blue 19 decolorization by Ganoderma sp. Using fractional factorial experimental design. Desalination and Water Treatment. 2010;22:22-9.
15. Mohammadian Fazli M, Mesdaghinia AR, Naddafi K, Nasseri S, Yunesian M, Mazaheri Assadi M, et al.Optimization of reactive blue 19 decolorization by ganoderma sp. using response surface methodology. Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering. 2010;7(1):35-42.
16. Park C, Lee B, Han E-J, Lee J, Kim S. Decolorization of acid black 52 by fungal immobilization. Enzyme and Microbial Technology. 2006;39(3):371-4.
17. Lee I-Y, Jung K-H, Lee Ch-H, Park Y-H. Enhanced production of laccase in Trametesversicolor by the addition of ethanol. Biotechnology Letters. 1999;21(11):965-8.
18. Wesenberg D, Kyriakides I, Agathos SN. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. Biotechnology Advances. 2003;22(1-2):161-87.
19. Toh Y-C, Yen JJL, Obbard JP, Ting Y-P. Decolourisation of azo dyes by white-rot fungi (WRF) isolated in Singapore. Enzyme and Microbial Technology. 2003;33(5):569-75.
20. Park C, Lim J-S, Lee Y, Lee B, Kim S-W, Lee J, et al. Optimization and morphology for decolorizationof reactive black 5 by Funaliatrogii. Enzyme and Microbial Technology. 2007;40(7):1758-64.
21. Kirby N, Marchant R, McMullan G. Decolourisation of synthetic textile dyes by Phlebiatremellosa. FEMS Microbiology Letters. 2000;188(1):93-96.
22. Revankar MS, Lele SS. Synthetic dye decolorization by white rot fungus, Ganoderma sp. WR-1.Bioresource Technology. 2007;98(4):775-80.
23. Zhang F, Knapp JS, Tapley KN. Decolorization of cotton bleaching effluent with wood rotting fungus. Water Research. 1999;33(4):919-28.
24. Mou DG, Lim KK, Shen HP. Microbial agants for decolorization of dye wastewater. Biotechnology Advances. 1991;9(4):613-22.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

Decolorization of Remazol Briliant Blue Royal by Ganoderma Sp. Immobilized in Sodium Alginate

Kazem Naddafi[1], [*]Mehran Mohammadian Fazli[2], , Ali Reza Mesdaghinia[1], Simin Nasseri[1], Mahnaz Mazaheri Assadi [3], Masoud Yunesian[1]

[1]Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[2]Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Health, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

[3]Biotechnology Center, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran

Received; 05 November 2011 Accepted; 30 January 2012

ABSTRACT

Background and Objectives: Environmental pollution and health risks of dyestuffs extensively are caused by many industries. Nonbiodegradability of dyes is important so that different methods are studied for removing them. The use of white rot fungi is promising technique in this regard. Therefore, objective of this work is to investigate Rimazol Brilliant Blue Royal decolorization by immobilized Ganoderma sp. in sodium alginate from aqueous solution.

Material and Methods: This is an experimental study. First, the nutritional, environmental, and operational conditions of decolorization process were optimized. Then, efficiency of immobilized fungal cells was investigated. Experimental designs were provided using fractional factorial methods and quadratic model was fitted on decolorization data by MiniTab software.

Results: Our findings showed that type and concentration of carbon source, temperature, and pH were the most important factors affecting decolorization and statistically significant. Optimal conditions to 95.3 percent color removal were: glycerol as carbon source at 19.14 g/L; temperature, 27 oC and initial pH, 6.26. Moreover, decolorization efficiency increased from 75 percent up to 95 percent by improving process and fungal immobilization.

Conclusion: Ganoderma fungus has suitable potential to decolorization. Besides, optimization and cell immobilization can improve its capability. Application of experimental design to research methodology is important because of decreasing in experiments and saving resources. It is suggested to use these potentials in environmental pollution control.

Keywords: Ganoderma sp., Cell immobilization, Effluent decolorization, Experimental design, Fractional factorial

***Corresponding Author**: *mhrnmoh@zums.ac.ir*
***Tel:**+98 241 7273128, **Fax:** +98 241 7273153*

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]