Nova Biologica Reperta 7(3): 322-330 (2020)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.7.3.322

یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۷، شماره ۳، صفحات ۳۲۲ الی ۳۳۰ (۱۳۹۹)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.3.1.7]
[DOI: 10.52547/nbr.7.3.322]

جذب زیستی رنگ آزو کنگورد توسط قارچ *Mucor circinelloides* و کاربرد آن در رنگ‌بری زیستی پساب صنایع نساجی

احسان آذین و حمید مقیمی
بخش زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران
مسئول مکاتبات: حمید مقیمی، hmoghimi@ut.ac.ir

چکیده. سالانه مصرف گسترده رنگ‌ها در صنایع نساجی و تخلیه پساب‌ها به محیط منجر به آلودگی‌های وسیع زیست‌محیطی می‌شود؛ بنابراین تصفیه این پساب‌ها با استفاده از روش‌های کارآمد و دوست‌دار محیط‌زیست ضروری است. در این مطالعه، جداسازی سویه‌های توانمند با روش غنی‌سازی صورت پذیرفت و با توجه به بیشترین میزان جذب رنگ در طول‌موج ۵۰۰ نانومتر در کمترین زمان، بهترین جدایه انتخاب و در غلظت‌های مختلف از کنگورد مورد بررسی رنگ‌بری قرار گرفت. در این مطالعه ۵۰ گونه قارچی جداسازی شد که ۱۰ جدایه دارای ویژگی رنگ‌بری بود. بر اساس نتایج جدایه ADH8 با جذب ۹۴ درصد از رنگ به عنوان قارچ برتر انتخاب شد. علاوه بر این، طی ۴۸ ساعت ۸۰ درصد از رنگ در غلظت‌های مختلف توسط این جدایه از محیط‌کشت حذف و بیشترین میزان رشد و حذف رنگ در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد. همچنین نتایج حاکی از آن بود که غلظت‌های مختلف نمک، تأثیری بر میزان جذب رنگ توسط جدایه منتخب ندارد. شناسایی مولکولی توالی ITS جدایه ADH8 مشخص کرد که این جدایه به میزان ۱۰۰ درصد مشابه *Mucor circinelloides* بوده و با کد شناسایی UTMC 5032 در کلکسیون میکروارگانیسم‌های دانشگاه تهران ثبت و نگهداری گردید. نتایج حاصل از میزان رنگ‌بری پساب واقعی صنایع رنگرزی نشان داد که بیشترین میزان جذب رنگ توسط *M.* UTMC 5032 *circinelloides* ۶۰-۳۵ درصد طی تیمار ۳ ساعته زیست‌توده با پساب رنگرزی نسبت به نمونه شاهد بود. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد *M.* UTMC 5032 *circinelloides* توانایی بالایی در جذب رنگ‌های آزو داشته و برای اولین بار جهت جذب پساب‌های صنایع نساجی مورد استفاده قرارگرفته است.

واژه‌های کلیدی. پساب رنگرزی، تصفیه زیستی، جداسازی، غربالگری، جاذب قارچی

The biosorption of Congo red azo dye by fungus *Mucor circinelloides* and its application in the decolorization of textile industry wastewater

Ehsan Azin & Hamid Moghimi
Microbial Technology and Products Research Center, University of Tehran, Tehran, Iran
Correspondent author: hmoghimi@ut.ac.ir

Abstract. The extensive application of dyes in the textile industries and their discharge in the wastewaters leads to numerous environmental pollutions; therefore, treating these wastewaters by efficient and eco-friendly methods is a necessity. In this study, potent strains were isolated by the enrichment technique according to their maximum dye sorption at the lowest possible time at 500nm. Consequently, the best isolate was selected and the dye removal was investigated in different concentrations of Congo red. Therefore, 50 different fungal strains were isolated in this study, of which 10 were able to dye removal. According to the results, isolate ADH8 was selected as the best strain with 94% of dye sorption. Moreover, during 48 hours, 80% of dye content was removed at all dye concentrations by this isolate, and the most growth rate and dye removal was achieved at 1000 mg/l. The results showed that different salt concentrations have no effect on dye sorption of the selected isolate. Molecular identification of ADH8 revealed that this isolate have a 100% similarity to *Mucor circinelloides* which was deposited under the accession number of UTMC5032 in the University of Tehran Microorganisms Collection. The results obtained from the dye removal of textile wastewater showed that the most amount of dye sorption by *M. circinelloides* UTMC5032 was 35-60% during three hours of biomass treatment as compared with the control sample. The obtained results indicated that, *M. circinelloides* UTMC5032 is highly capable in azo dyes sorption and could be utilized in the biosorption of dye in the textile industries wastewaters for the first time.

Key words. biotreatment, dyeing effluents, isolation, myco-sorbent, screening

Received 24.04.2017/ Revised 04.04.2019/ Accepted 22.04.2019/ Published 21.11.2020

دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۰۴/ اصلاح: ۱۳۹۸/۰۱/۱۵/ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۰۲/ انتشار: ۱۳۹۹/۰۹/۰۱

مقدمه

در حال حاضر بیش از صد هزار نوع رنگ به‌صورت تجاری وجود دارد که سالانه بیش از ۷۰۰ هزار تن از این رنگ‌ها در سراسر جهان تولید و به مصرف می‌رسند. رنگ‌های آزو گروه بزرگی از رنگ‌های مصنوعی بوده که در صنایع مختلف از قبیل صنایع کاغذسازی، لوازم‌آرایشی، صنایع غذایی و به‌ویژه نساجی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Amoozegar et al., 2011; Sivasamy & Sundarabal 2011; Taran, 2013). این رنگ‌ها با پیوندهای دوگانه میان دو اتم نیتروژن خود شناخته می‌شوند (Jafari et al., 2013; Almeida & Corso, 2014). در حدود ۲۵-۱۰ درصد از رنگ‌های مورداستفاده در صنایع رنگرزی وارد پساب شده و ۲۰-۲ درصد به‌طور مستقیم وارد محیط‌زیست می‌شوند (Carmen & Daniela, 2012). ورود این رنگ‌ها به محیط‌زیست علاوه بر چهره نازیبایی که به محیط می‌دهند باعث جلوگیری از نفوذ نور و اکسیژن درون آب شده و در نتیجه خطر از بین رفتن آبزیان را به دنبال دارد (Jafari et al., 2013, Wang et al., 2015). علاوه بر این مطالعات متعددی نشان داده است که برخی از این رنگ‌ها در مواردی باعث ایجاد تومور و سرطان در انسان می‌شوند (Stingley et al., 2010; Wang et al., 2015). ازجمله روش‌های حذف این رنگ‌ها از پساب‌های تولیدی صنایع نساجی می‌توان به روش‌های فیزیکی و شیمیایی و روش‌های زیستی اشاره نمود. روش‌های فیزیکی و شیمیایی دارای معایبی نسبت به روش‌های حذف زیستی هستند که می‌توان به هزینه بالای تجهیزات و تولید مقادیر زیادی لجن اشاره کرد. این موارد باعث شده که روش‌های زیستی حذف رنگ از پساب‌های نساجی به علت هزینه‌های پایین نسبت به سایر روش‌ها مناسب‌تر باشد. حذف زیستی رنگ‌های آزو توسط گروه‌های مختلف میکروارگانیسم‌ها شامل انواع باکتری‌ها، قارچ‌ها، مخمرها و جلبک‌ها گزارش‌شده که به دو شکل تجزیه زیستی و جذب زیستی صورت می‌گیرد (Sivasamy & Sundarabal, 2011). در تجزیه زیستی میکروارگانیسم، رنگ را از طریق آنزیم‌های اکسیدوردوکتازی خود شکسته که در برخی موارد ترکیبات سمی‌تر از رنگ اولیه به‌صورت آمین‌های آروماتیک تولید می‌گردد که این عمل سمی‌تر شدن پساب تولیدی را در پی دارد (Katuri et al., 2009). روش جذب زیستی نسبت به تجزیه زیستی به دلیل عدم تولید متابولیت‌های سمی و همچنین استفاده گسترده در شرایط محیطی مناسب‌تر به نظر می‌رسد. این در حالی است که در روش تجزیه زیستی که در آن آنزیم‌ها دخیل هستند باید شرایط محیطی به‌گونه‌ای باشد تا آنزیم در آن عملکرد مناسبی داشته باشد. در روش جذب زیستی، رنگ موجود در پساب به گروه‌های عاملی موجود در سطح میکروارگانیسم متصل می‌شود. قارچ‌ها به دلیل داشتن سطوح سلولی گسترده، میکروارگانیسم‌های توانمندی در حذف رنگ از پساب‌های نساجی به طریق جذب زیستی هستند (Ranjusha et al., 2010). پساب‌های حاصل از صنایع رنگرزی علاوه بر موارد ذکرشده دارای ۱۰-۴ درصد نمک نیز هستند که حضور نمک می‌تواند در میزان جذب و یا تجزیه رنگ تأثیرگذار باشد (Carmen & Daniela, 2012). با توجه به مطالب ذکرشده و توانایی قارچ‌ها در حذف و جذب زیستی ترکیبات رنگی و نیز تحمل شرایط تنش‌زای محیطی، هدف از انجام این پژوهش معرفی جدایه‌های قارچی است که توانمندی جذب رنگ‌های آزو را دارا هستند.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌های خاک

در این مطالعه ۶ نمونه خاک از نمونه‌های شور و خاک اطراف صنایع نساجی در کاشان جمع‌آوری شد. قبل از استفاده این نمونه‌ها به‌طور کامل کوبیده و همگن شده و برای جداسازی جدایه‌های قارچی مورداستفاده قرار گرفت.

محیط کشت و شرایط رشد

در این مطالعه روش غنی‌سازی جهت جداسازی قارچ‌های توانمند در جذب رنگ‌های آزو مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور از محیط کشت دارای ترکیبات زیر بر حسب گرم بر لیتر استفاده شد: گلوکز (۲۰)، عصاره مخمر (۰/۵)، KH_2PO_4 (۱)، $MgSO_4.H_2O$ (۰/۵)، $FeSO_4.7H_2O$ (۰/۰۱)، Na_2HPO_4 (۰/۰۵)، $ZnSO_4.7H_2O$ (۰/۰۰۱)، $CaCl_2$ (۰/۰۱)، $MnSO_4.4H_2O$ (۰/۰۰۱)، $CuSO_4.5H_2O$ (۰/۰۰۲) در یک لیتر آب دیونیزه و pH محیط کشت در ۰/۲± ۷ تنظیم (Ma et al., 2014). همچنین کنگورد به‌عنوان رنگ آزو مورداستفاده قرار گرفت. سپس محیط کشت مذکور همراه با ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر رنگ کنگورد اتوکلاو شده و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین به منظور جلوگیری از رشد باکتری‌ها به محیط کشت افزوده شد. در ادامه ۰/۱ گرم از نمونه خاک همگن‌شده به محیط کشت موجود در هر فلاسک اضافه و فلاسک‌ها به شیکر انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و ۱۷۰ دور در دقیقه منتقل گردید. پس از مشاهده رنگ‌بری در فلاسک ۱۰۰ میکرولیتر از محیط غنی‌شده بر روی محیط کشت PDA دارای تتراسایکلین به‌صورت کشت گسترده کشت داده شد و پلیت‌ها به درون انکوباتور ۲۸ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.3.1.7]
[DOI: 10.52547/nbr.7.3.322]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.3.1.7]

[DOI: 10.52547/nbr.7.3.322]

پس از رشد قارچ‌ها در پلیت جدایه‌های قارچی حاصل بر روی محیط کشت PDA خالص‌سازی شد.

انتخاب جدایه با بیشترین میزان جذب رنگ

پس از خالص‌سازی جدایه‌های قارچی در محیط کشت PDA، انتخاب جدایه برتر بر اساس حداکثر میزان جذب رنگ انجام شد. بر این اساس، هر یک از جدایه‌های خالص‌سازی شده در محیط کشت مایع حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کنگورد کشت داده شده و برای یک هفته در شیکر انکوباتور با دور ۱۷۰ و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرما گذاری گردید. در ادامه پس از یک هفته، محیط‌کشت در ۴۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شده و جذب سوپرناتانت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۰۰ نانومتر از طریق رابطه زیر مورد بررسی قرار گرفت. معادله زیر مربوط به نحوه محاسبه میزان حذف رنگ با استفاده از خواندن جذب نمونه تیمار شده و نمونه شاهد را نشان می‌دهد. در این رابطه D برابر با درصد حذف رنگ، Ct برابر با میزان جذب بعد از رنگ بری و Ci برابر با میزان جذب اولیه رنگ است (Taha et al. 2014). سنجش میزان رنگ‌بری در هر یک برای هریک از جدایه‌ها با ۳ تکرار انجام شد.

$$D = 100\left(\frac{Ci - Ct}{Ci}\right)$$

معادله ۱

سنجش میزان رنگ‌بری جدایه منتخب

پس از انتخاب جدایه برتر از لحاظ میزان جذب رنگ سنجش‌های مربوط به رنگ‌بری این جدایه در غلظت‌های مختلف رنگ مورد آزمایش قرار گرفت. در این مرحله جدایه منتخب در محیط کشت همراه با غلظت‌های ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر رنگ کشت داده شد و به شیکر با دور ۱۷۰ و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. سنجش میزان رنگ‌بری در هر یک از غلظت‌های رنگ با ۳ تکرار انجام شد. بعد از ۴۸ ساعت میزان جذب رنگ و حذف آن از طریق سانتریفوژ محلول رویی و بررسی میزان رنگ باقیمانده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. درنهایت میزان زیست توده خشک تولید شده در محیط‌های کشت رنگی با غلظت مختلف جهت بررسی سمیت رنگ بر جدایه با انتقال به فور با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای یک شبانه‌روز مورد وزن سنجی قرار گرفت.

شناسایی سویه منتخب

به‌منظور شناسایی قارچ جداسازی شده با تهیه اسلاید کالچر و رنگ‌آمیزی با لاکتوفنل کاتن بلو ویژگی‌های میکروسکوپی و مورفولوژیکی کلونی قارچی در محیط PDA مورد بررسی قرار گرفت (Watanabe, 2010). جهت شناسایی سویه منتخب به طریق مولکولی مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم زیست توده قارچی در هاون ریخته و با استفاده از ازت مایع زیست توده، منجمد شده و در هاون کوبیده شد. استخراج DNA قارچ با استفاده از روش فنل-کلروفرم صورت گرفت (Sambrook & Russell 2001). واکنش PCR، DNA جداسازی شده با استفاده از پرایمرهای ITS1 و ITS4 (ITS1: 5′-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3′ و ITS4: 5′-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3′) انجام شد. محصول PCR توسط شرکت ماکروژن کره جنوبی تعیین توالی شده و نتیجه به دست آمده از طریق هم‌ردیفی توالی و مقایسه آن در پایگاه اطلاعاتی NCBI مورد بررسی قرار گرفت (Jafari et al., 2014).

مقایسه میزان جذب زیستی رنگ توسط زیست توده تر و خشک *M. circinelloides* UTMC 5032

در این مطالعه علاوه بر بررسی جذب رنگ در محیط کشت، میزان جذب رنگ توسط زیست توده تر و خشک در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر رنگ محلول در آب مقطر مورد مقایسه قرار گرفت. بدین منظور جهت تهیه زیست توده، *M. circinelloides* UTMC 5032 در محیط کشت PDB تلقیح گردید و زیست توده تولیدی پس از یک هفته با سانتریفوژ با دور ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه از محیط کشت جدا شد. در ادامه زیست توده جداشده سه بار با سرم فیزیولوژی شسته شد. جهت تهیه زیست توده خشک، بیومس قارچی حاصل به مدت یک شبانه‌روز در فور ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. ۰/۵ گرم از زیست توده تر و ۰/۱ گرم از زیست توده خشک تهیه‌شده به فلاسک‌های حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محلول آب و رنگ ۶۰۰ میلی-گرم بر لیتر افزوده شده و فلاسک‌ها به شیکر با دور ۱۷۰ منتقل شد. پس از ۳ ساعت میزان جذب رنگ و حذف آن از طریق سانتریفوژ محلول و بررسی میزان رنگ باقیمانده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

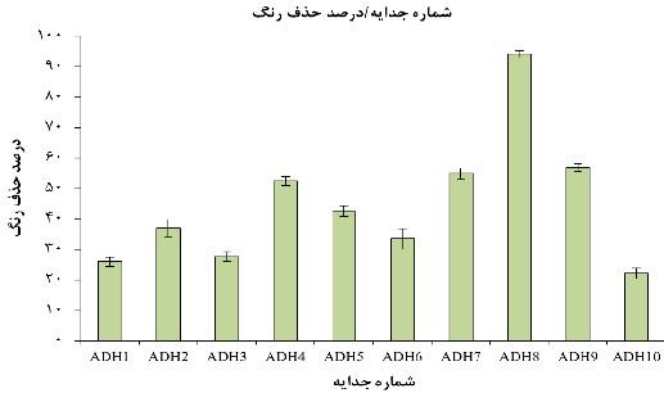
بررسی میزان جذب رنگ *M. circinelloides* UTMC 5032 از پساب صنایع نساجی

به‌منظور بررسی عملکرد زیست توده قارچی در حذف رنگ از پساب صنایع نساجی از ۳ حوضچه پساب کارگاه رنگرزی نمونه‌گیری انجام شد. سپس در هر یک از فلاسک‌ها ۲۰ میلی‌لیتر از پساب ۳ ۰/۵ گرم از زیست توده تر حوضچه مختلف ریخته و به میزان آماده‌شده در مرحله قبل به هر یک از فلاسک‌های حاوی پساب رنگی افزوده شد و فلاسک‌ها به شیکر با دور ۱۷۰ منتقل شدند. پس از ۳ ساعت، پساب‌های تیمار شده با زیست‌توده، سانتریفوژ شده و

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.3.1.7]

[DOI: 10.52547/nbr.7.3.322]



شکل ۱- درصد حذف کنگورد در غلظت اولیه ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر توسط ۱۰ جدایه قارچی مختلف به دست آمده طی مرحله غنی‌سازی.

Fig. 1. Congo red removal percentage at initial concentration of 600 mg/l by 10 fungal isolates obtained during the enrichment step.

میزان حذف رنگ از پساب با استفاده از اسپکتروفتومتر مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی میزان حذف رنگ، جذب نور پساب مورد آزمایش در طول‌موج‌های بین ۴۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر مورد خوانش قرار گرفت و با جذب نمونه شاهد مورد مقایسه قرار گرفت (Almeida & Corso, 2014).

اثر NaCl بر میزان جذب زیستی رنگ توسط *M. circinelloides* UTMC 5032

در این مرحله به منظور ارزیابی اثر نمک بر میزان جذب رنگ توسط زیست توده تر *M. circinelloides* UTMC 5032 غلظت‌های مختلف نمک شامل (۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ گرم در لیتر) از NaCl مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور فلاسک‌های مربوطه برای ۳ ساعت به انکوباتور شیکردار منتقل گردید. سپس هر یک از نمونه‌ها سانتریفوژ و جذب آن‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مورد سنجش قرار گرفت.

آنالیز آماری

نتایج و اطلاعات به دست آمده در مراحل مختلف، بوسیله نرم افزار آماری SPSS 19 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در این پژوهش از آزمون آماری One – way ANOVA، Tukey با ضریب اطمینان ۹۵ درصد استفاده شده و سطح معناداری نتایج به صورت $P \leq 0.05$ گزارش شد.

نتایج

جداسازی و خالص‌سازی جدایه‌های قارچی مختلف

در این مرحله از ۶ نمونه خاک جمع آوری شده از اطراف کارخانجات نساجی کاشان ۵۰ جدایه قارچی از فلاسک‌های غنی سازی جداسازی به‌دست آمد که ۱۰ جدایه قارچی مختلف دارای توانایی رنگ‌بری با ویژگی‌های ریخت‌شناسی متفاوت در محیط PDA خالص سازی شد. جدایه‌های قارچی به منظور انجام مراحل بعدی آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

انتخاب جدایه با بیشترین میزان جذب رنگ

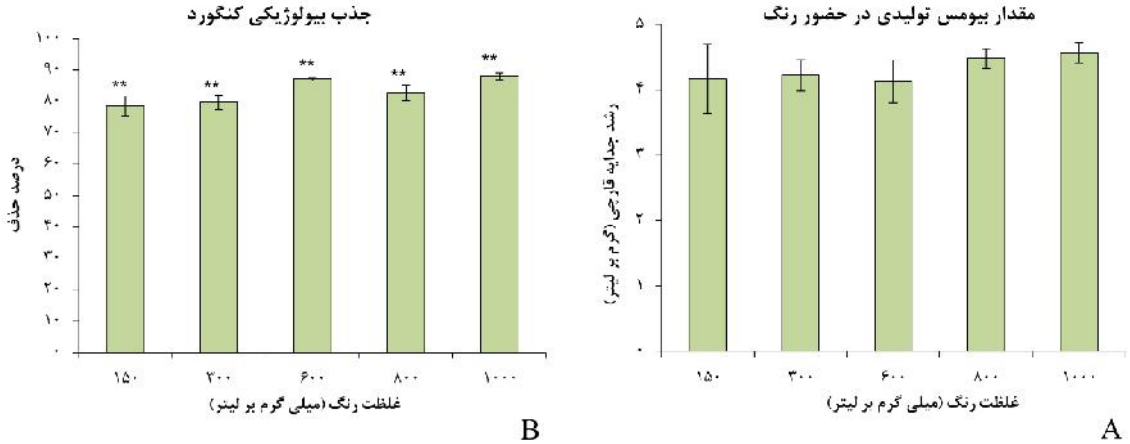
بررسی توانایی هر یک از جدایه‌های به دست آمده در حذف ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر رنگ نشان داد که از میان ۱۰ جدایه، جدایه شماره ADH8 با ۹۴ درصد حذف رنگ بیشترین میزان جذب رنگ را دارا است (شکل ۱). بر اساس نتایج ارائه شده در شکل ۱ سایر جدایه‌ها نیز میزان حذف بین ۳ تا ۵۵ درصد را نشان دادند. جدایه ADH8 به عنوان جدایه برتر برای ادامه بررسی‌ها انتخاب شد.

سنجش میزان رنگ‌بری جدایه منتخب

بررسی‌های انجام‌گرفته در مورد میزان و زمان جذب جدایه منتخب نشان داد که این جدایه توانایی بالایی در جذب رنگ در کمتر از ۴۸ ساعت را دارا است. بر اساس نتایج به دست آمده و بررسی‌های آماری نشان داده شد که حضور غلظت‌های مختلف رنگ تاثیر معناداری بر میزان رشد جدایه قارچی نداشته است (شکل ۲ A). نتایج حاصل از آنالیز آماری میزان حذف رنگ جدایه منتخب در غلظت‌های متفاوت رنگ از ۱۵۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نشان از معنی‌دار بودن داده‌ها حاصل داشت. این سویه در جذب مقادیر بالای رنگ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر توانمند ارزیابی شد (شکل ۲ B).

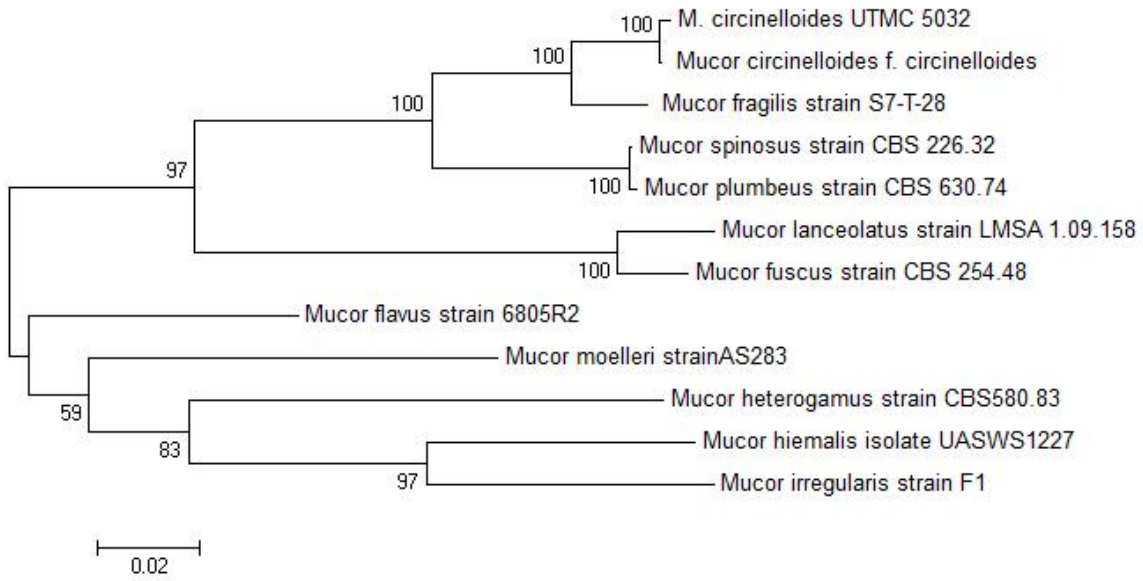
شناسایی جدایه منتخب

بررسی‌های ریخت‌شناسی کلنی پنبه‌ای شکل در محیط PDA و اسلاید کالچر تهیه شده از قارچ منتخب ساختار سلول‌های سنئوسیتی همراه با اسپورانژیوم، اسپورانژیوسپور و کلوملای متورم مشاهده شده نشان داد که جدایه منتخب متعلق به جنس *Mucor* است. شناسایی مولکولی این قارچ با استفاده از پرایمرهای ITS1 و ITS4 و BLAST در پایگاه اطلاعاتی NCBI نشان داد که



شکل ۲- A. میزان زیست توده قارچی تولیدشده در غلظت‌های مختلف کنگورد. **B**. درصد جذب کنگورد توسط جدایه منتخب قارچی در غلظت‌های مختلف رنگ بعد از ۴۸ ساعت. علامت ** نشان دهنده سطح معناداری با $P \leq 0.01$ است.

Fig. 2. A. Amount of fungal biomass produced in different concentrations of Congo red. **B.** Adsorption percentage of Congo red by selected fungal isolate at different dye concentrations after 48 hours. ** = $P \leq 0.01$.



شکل ۳- موقعیت فیلوژنتیکی توالی ژن *M. circinelloides* UTMC 5032 ITS آنالیز اتصال-همسایگی با استفاده از بوت استرپ ۱۰۰۰پرایمرهای ITS، با الگوریتم اتصال- همسایگی برای همردیفی و تعیین فاصله‌ی توالی‌ها و نیز نرم‌افزار مگا ۵/۱ نشان می‌دهد.

Fig. 3. Phylogenetic position of partial ITS gene from *M. circinelloides* UTMC 5032. Neighbor-joining analysis using 1000 bootstrap replicates was used to infer tree topology by MEGA 5.1.

ADH8 متعلق به *Mucor circinelloides* بوده و با کد ۵۰۳۲ در کلکسیون میکروارگانیسم‌های دانشگاه تهران ثبت و نگهداری گردید. جدول ۱ ویژگی‌های ژن تعیین توالی شده و سویه مشابه به دست آمده را نشان می‌دهد. همچنین رسم درخت فیلوژنی این جدایه نشان داد که ADH8 بیشترین نزدیکی را با *M. circinelloides* دارا است (شکل ۳).

مقایسه میزان جذب زیست توده تر و خشک در *M. circinelloides* UTMC 5032

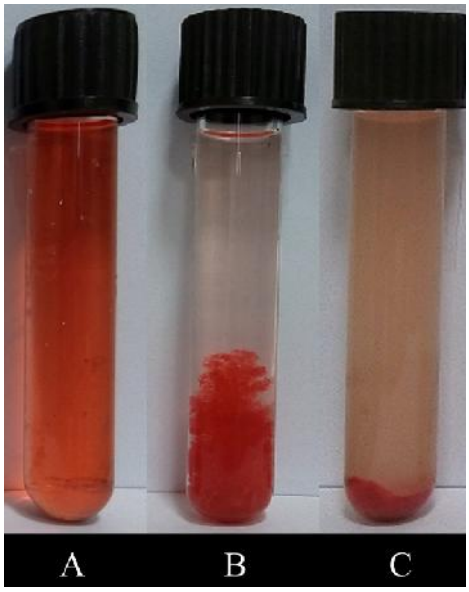
بررسی‌های انجام‌گرفته جهت مقایسه میان جذب زیستی رنگ توسط زیست توده تر و زیست توده خشک نشان داد مکانیسم جذب غیر فعال بوده و هر دو نوع جاذب خشک و تر تهیه شده قادر به جذب زیستی رنگ هستند. براساس نتایج به دست آمده (شکل ۴ و جدول ۲) در این مرحله، ادامه آزمایش ها روی زیست توده تر انجام شد.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.3.1.7]
[DOI: 10.52547/nbr.7.3.322]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

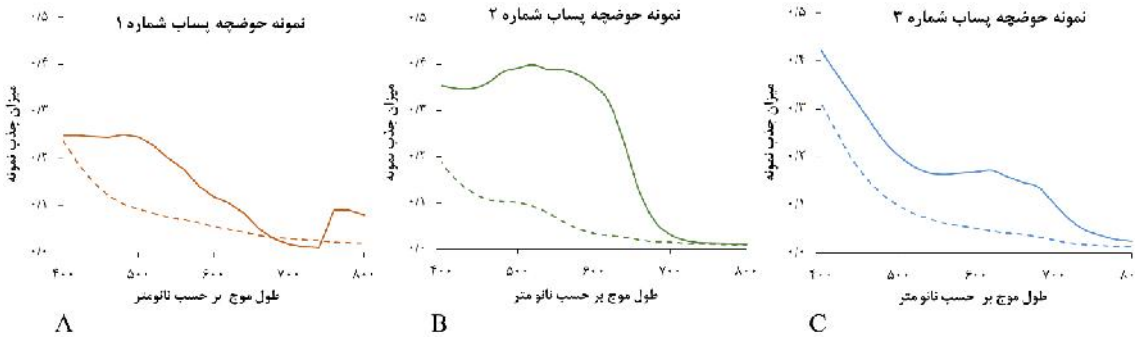
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.3.1.7]

[DOI: 10.52547/nbr.7.3.322]



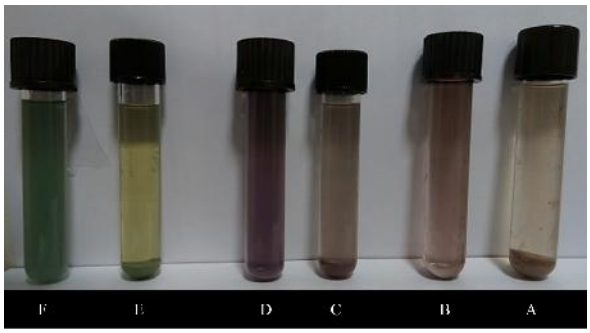
شکل ۴- A. شاهد کنگورد ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر. **B.** زیست توده تر در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر محلول رنگ. **C.** زیست توده خشک در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر محلول رنگ بعد از گذشت ۳ ساعت از زمان تلقیح.

Fig. 4. A. Congo red control, 600 mg/l. **B.** wet biomass at 600 mg/l dye solution. **C.** dry biomass at 600 mg/l dye solution after 3h from inoculation.



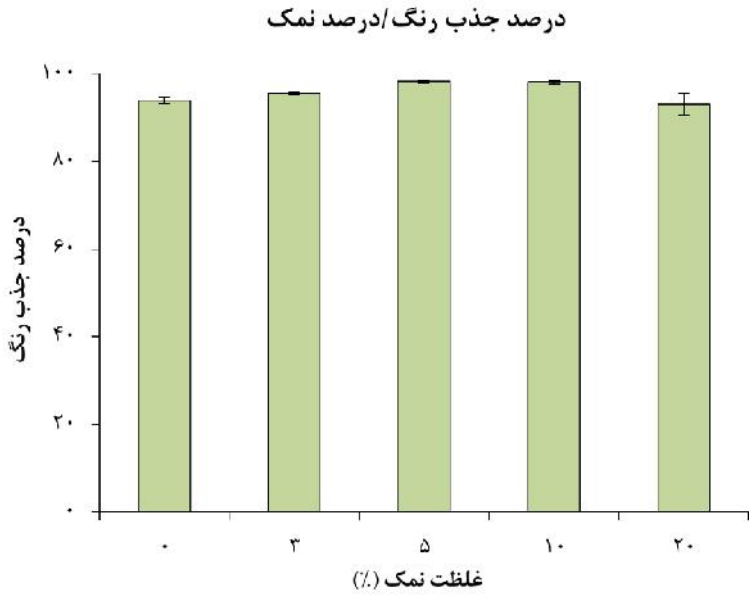
شکل ۵- جذب نمونه‌های کنترل (خط) و تیمار شده با زیست توده قارچی (خط چین) پساب‌های ۳ حوضچه مختلف پساب کارخانه رنگرزی در طول‌موج بین ۴۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر.

Fig. 5. Absorbance of controls (lines) and fungal biomass treated wastewater (dashes) of three different textile wastewater ponds in 400-800 nm.



شکل ۶- A. پساب حوضچه شماره ۱تیمار شده با قارچ ، **B.** نمونه شاهد از حوضچه شماره ۱، **C.** پساب تیمار شده با قارچ حوضچه شماره ۲، **D.** نمونه شاهد از حوضچه شماره ۲، **E.** پساب تیمار شده با قارچ حوضچه شماره ۳، **F.** نمونه شاهد از حوضچه شماره ۳.

Fig. 6. A. Pond 1 treated wastewater with the fungal isolates. **B.** Pond 1control sample. **C.** Pond 2 treated wastewater with the fungal isolates. **D.** Pond 2 control sample. **E.** Pond 3 treated wastewater with the fungal isolates. **F.** Pond 3 control sample.



شکل ۷- درصد حذف کنگورد در محلول ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر رنگ با غلظت‌های مختلف نمک ($p>0.05$).

Fig. 7. Congo red removal percentage at 600mg/l dye solution with different salt concentrations ($p>0.05$).

بررسی جذب رنگ جدایه قارچی از پساب واقعی صنایع رنگرزی توسط *M. circinelloides* UTMC 5032

بررسی حذف رنگ توسط زیست توده قارچی از پساب کارگاه رنگرزی نشان از توانمندی این قارچ در حذف رنگ از پساب دارای مخلوطی از رنگ‌های مختلف داشت (شکل ۵ و ۶). شکل ۵ طیف جذبی در طول موج‌های مختلف نمونه‌های حوضچه‌های مختلف پساب رنگی تیمار شده با زیست توده تر قارچ را نسبت به نمونه شاهد نشان می‌دهد. شکل ۶ نمونه‌های تیمار شده با زیست توده تر جدایه منتخب و نمونه شاهد از پساب‌های ۳ حوضچه مختلف یک کارگاه رنگرزی را بعد از گذشت سه ساعت از تیمار نشان می‌دهد.

اثر NaCl بر میزان جذب زیستی رنگ توسط *M. circinelloides* UTMC 5032

با توجه به ماهیت شور پساب صنایع رنگرزی در بسیاری از مناطق کشور اثر غلظت‌های مختلف نمک بر جذب زیستی رنگ در این مرحله مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۷). بر اساس نتایج به دست آمده و بررسی‌های آماری نشان داده شد که حضور غلظت‌های مختلف نمک تاثیر معناداری بر میزان جذب زیستی رنگ نسبت به نمونه شاهد نداشته است ($p>0.05$).

بحث

امروزه افزایش تولید پساب‌های رنگی صنایع نساجی به عنوان یک مشکل زیست محیطی مهم مطرح است. استفاده از میکروارگانیسم‌های جذب‌کننده این ترکیبات یکی از روش‌های مناسب و مقرون به صرفه است. در مطالعه انجام‌گرفته با توجه به نتایج به دست آمده نشان داده شد که سویه *M. circinelloides* UTMC 5032 قارچی توانمند در جذب مقادیر بالایی از رنگ دی آزو کنگورد و رنگ‌های موجود در پساب واقعی صنایع رنگرزی است. آزمایشات انجام‌شده با استفاده از زیست توده تر و خشک نشان از این داشت که هر دو نوع زیست توده قادر به جذب مقادیر قابل‌توجهی از رنگ هستند. بنابراین بر اساس این مشاهده می‌توان احتمال داد که مکانیسم جذب رنگ توسط این سویه مستقل از متابولیسم قارچ است و به‌صورت غیرفعال از نوع جذب زیستی سطحی است (Singh 2015). قارچ‌ها به دلیل دارا بودن ترکیبات پلی‌ساکاریدی فراوان از قبیل کیتین و کیتوزان در دیواره خود که دارای تعداد زیادی گروه‌های عاملی هیدروکسیل و آمین است توانمندی بالایی در جذب آلاینده‌های مختلف از پساب‌ها دارند. وجود تنوع بالایی از گروه‌های عاملی در ساختار سطحی میکروارگانیسم‌های قارچی عاملی مهم در توانمندی بالای این موجودات زنده برای جذب ترکیبات مختلف هستند. از طرفی دیگر این میکروارگانیسم‌ها به دلیل دارا بودن نسبت سطح به حجم بالاتر نسبت به باکتری‌ها توانمندی بالایی را در جذب آلاینده‌ها از خود نشان می‌دهند. در مطالعه‌ای بر روی قارچ‌های *Aspergillus niger* و *Trichoderma* sp. انجام گرفت، در غلظت رنگ ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر بعد از ۵ ساعت تنها در حدود ۵۰ درصد حذف رنگ مشاهده شد (Sivasamy & Sundarabal 2011). با مقایسه نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج مطالعات پیشین می‌توان نتیجه گرفت که UTMC 5032

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.3.1.7]
[DOI: 10.52547/nbr.7.3.322]

M. circinelloides نسبت به دو قارچ آزمایش شده قادر به حذف درصد بالایی از غلظت رنگ طی مدت زمان کمتری است. مقادیر زیست توده تولیدی در غلظت‌های مختلف رنگ نشان داد که غلظت‌های بالای رنگ بر روی این قارچ سمی نبوده و سویه معرفی شده در این پژوهش قادر به رشد و جذب رنگ حتی در غلظت‌های بالا (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) است. این درحالی است که به طور متوسط میزان غلظت رنگ در پساب صنایع نساجی و رنگرزی ۲۰۰-۱۰ میلی‌گرم بر لیتر گزارش شده است (Ali et al., 2009). با توجه به شور بودن پساب صنایع نساجی به ویژه در مناطق مرکزی کشور نمک می‌تواند به عنوان یک عامل تاثیر گذار در جذب زیستی رنگ مطرح باشد (Carmen & Daniela, 2012). نتایج به دست آمده از بررسی اثر غلظت‌های مختلف نمک و رنگ بر میزان جذب زیستی رنگ توسط UTMC 5032 *M. circinelloides* نشان داد نمک اثری روی جذب رنگ توسط این سویه نداشته و می‌توان از این سویه در حذف زیستی رنگ از پساب شور صنایع نساجی استفاده کرد.

براساس نتایج به دست آمده در این پژوهش UTMC 5032 *M. circinelloides* برای اولین بار به عنوان عامل زیستی مناسب و توانمند در جذب رنگ‌های آزو از پساب‌های کارخانجات نساجی معرفی شد که زیست‌توده حاصل از آن توانایی حذف رنگ در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر رنگ را در شرایط شور با غلظت ۲۰۰ گرم بر لیتر نمک NaCl تا بیش از ۹۰ درصد در مدت زمان ۳ ساعت دارا است. با توجه به توانمندی این سویه در جذب رنگ‌های آزو و عدم گزارش آن به عنوان عامل زیستی جذب کننده رنگ-های آزو، این جدایه می‌تواند به‌عنوان گزینه ارزشمندی در جهت جذب رنگ از پساب‌های صنایع نساجی معرفی شود.

نتیجه گیری

وجود نمک در پساب صنایع نساجی موجب شده است که حذف آلاینده‌های رنگی از این پساب‌ها با مشکلات متعددی همراه باشد. با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش و توانمندی بالای UTMC 5032 *M. circinelloides* در حذف کنگورد از محلول آبی و همچنین ترکیبات رنگی موجود در پساب‌های واقعی، استفاده از جاذب‌های قارچی می‌تواند راهکاری مناسب در جهت حذف آلاینده‌ها از پساب صنایع نساجی باشد. جذب رنگ کنگورد در غلظت ۲۰۰ گرم بر لیتر نمک سدیم کلرید نشان دهنده عدم تداخل نمک در جذب رنگ توسط جاذب زیستی UTMC 5032 *M. circinelloides* است. با توجه به این نتایج، جداسازی و شناسایی جاذب‌های جدید قارچی به دلیل سطح جذب بالا و دارا بودن پلیمرهای زیستی با توان جذب بالا در ساختار دیواره خود، بسیار حائز اهیمت است.

سپاسگزاری

از کلیه پژوهشگران آزمایشگاه بیوتکنولوژی محیطی دانشگاه تهران که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند سپاسگزاریم.

REFERENCES

Ali, N., Hameed, A. & Ahmed, S. 2009. Physicochemical characterization and Bioremediation perspective of textile effluent, dyes and metals by indigenous Bacteria. Journal of Hazardous Materials 164: 322-328.

Almeida, E. & Corso, C. 2014. Comparative study of toxicity of azo dye Procion Red MX-5B following biosorption and biodegradation treatments with the fungi *Aspergillus niger* and *Aspergillus terreus*. Chemosphere 112: 317-322.

Amoozegar, M.A., Hajighasemi, M., Hamedi, J., Asad, S. & Ventosa, A. 2011. Azo dye decolorization by halophilic and halotolerant microorganisms. Annals of Microbiology 61: 217-230.

Carmen, Z. & Daniela, S. 2012. Textile organic dyes–characteristics, polluting effects and separation/elimination procedures from industrial effluents–a critical overview. Organic Pollutants Ten Years After the Stockholm Convention-Environmental and Analytical Update, InTech: Croatia 55-86.

Jafari, N., Kermanshai, R.K. & Soudi, M.R. 2013. Screening, identification and optimization of a yeast strain, *Candida palmioleophila* JKS4, capable of azo dye decolorization. Iranian Journal of Microbiology 5: 434-440.

Jafari, N., Soudi, M.R. & Kasra-Kermanshahi, R. 2014. Biodecolorization of textile azo dyes by isolated yeast from activated sludge: *Issatchenkia orientalis* JKS6. Annals of Microbiology 64: 475-482.

Katuri, K.P., Mohan, S.V., Sridhar, S., Pati, B. & Sarma, P. 2009. Laccase-membrane reactors for decolorization of an acid azo dye in aqueous phase: process optimization. Water Research 43: 3647-3658.

Ma, L., Zhuo, R., Liu, H., Yu, D., Jiang, M., Zhang, X. & Yang, Y. 2014. Efficient decolorization and detoxification of the sulfonated azo dye Reactive Orange 16 and simulated textile wastewater containing Reactive Orange 16 by the white-rot fungus *Ganoderma* sp. En3 isolated from the forest of Tzu-chin Mountain in China. Biochemical Engineering Journal 82: 1-9.

Ranjusha, V., Pundir, R., Kumar, K., Dastidar, M. & Sreekrishnan, T. 2010. Biosorption of Remazol Black B dye (Azo dye) by the growing *Aspergillus flavus*. Journal of Environmental Science and Health, Part A 45: 1256-1263.

Sambrook, J. & Russell, D. W. 2001. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York. 559-562.

Singh, S. N. 2015. Microbial degradation of synthetic dyes in wastewaters, Springer. pp: 2-6.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.3.1.7]
[DOI: 10.52547/nbr.7.3.322]

Sivasamy, A. & Sundarabal, N. 2011. Biosorption of an azo dye by *Aspergillus niger* and *Trichoderma* sp. fungal biomasses. Current Microbiology 62: 351-357.

Stingley, R.L., Zou, W., Heinze, T.M., Chen, H. & Cerniglia, C.E. 2010. Metabolism of azo dyes by human skin microbiota. Journal of Medical Microbiology 59: 108-114.

Taran, M. 2013. Decolorization of Remazol Black-B by *Halomonas* sp. PTCC1417 isolated from Urmia lake: Optimization by Taguchi methodology. Biological Journal of Microorganism 6: 1-10.

Taha, M., Adetutu, E., Shahsavari, E., Smith, A. & Ball, A. 2014. Azo and anthraquinone dye mixture decolourization at elevated temperature and concentration by a newly isolated thermophilic fungus, *Thermomucor indicae-seudaticae*. Journal of Environmental Chemical Engineering 2: 415-423.

Wang, M.X., Zhang, Q.L. & Yao, S.J. 2015 A novel biosorbent formed of marine-derived *Penicillium janthinellum* mycelial pellets for removing dyes from dye-containing wastewater. Chemical Engineering Journal 259: 837-844.

Watanabe, T. 2010. Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species. CRC press, 119-124.

*****

How to cite this article:

Azin, E. & Moghimi, H. 2020. Biosorption of congo red azo dye and decolorization of textile industry wastewater by fungus Mucor circinelloides UTMC 5032. Nova Bioloica Reperta 7: 322-330. (In Persian).

آذین، ا. و مقیمی، ح. ۱۳۹۹. جذب زیستی رنگ آزو کنگورد توسط قارچ Mucor circinelloides UTMC 5032 و رنگ‌بری زیستی پساب صنایع نساجی. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۷: ۳۳۰-۳۲۲.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.3.1.7]

[DOI: 10.52547/nbr.7.3.322]