

## *Investigating the Efficiency of Wastewater Treatment Plant Sludge in Removing Azo Dye Reactive Red 195 from Synthetic Wastewater in Aerobic and Anaerobic Conditions*

Ramazan ali Dianati Tilaki<sup>1</sup>

Jalal Kazemi Tabar<sup>2</sup>

Masoumeh Eslamifar<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup> MSc in Environmental Health Engineering, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>3</sup> PhD Student of Microbiology, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received November 15, 2023; Accepted June 1, 2024)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Azo dyes are present in the wastewater of most textile factories, and if they enter water resources, they pose risks to the health of humans and the living environment due to the effects of toxicity, biological accumulation, and mutagenicity. This study aimed to determine the removal of azo dye by a biological method using wastewater treatment plant sludge in aerobic and anaerobic conditions and isolation and identification of bacteria.

**Materials and methods:** This experimental study, was conducted in the faculty of health, at Mazandaran University of Medical Sciences. In this study, the removal of reactive red azo dye 195 in the wastewater of textile factories was investigated using the activated sludge of the wastewater treatment plant. Experiments were carried out in batch mode in both aerobic and anaerobic conditions with 192 samples. The concentrations of azo dye in the range available in the wastewater of textile factories were 50, 65, and 80 mg/liter. The culture medium used in this study was a mineral medium containing glucose. Bottles containing culture medium, sludge, and azo dye were kept at 30°C in an incubator in aerobic and anaerobic conditions for 8 days. The effect of factors including contact time, amount of sludge, and concentration of color was investigated. Sampling was done at the contact times of 1, 2, 4, and 8 days and after centrifuge, the color concentration was measured by spectrophotometric method at a wavelength of 545 nm. The total organic carbon (TOC) concentration of the samples was measured by a TOC analyzer. After removing the color, the bacteria in the bottles were identified by the differential diagnosis method and using special culture media, gram staining techniques, and biochemical tests.

**Results:** In anaerobic conditions and contact time of 8 days, the removal of azo dye in concentrations of 50 and 80 mg/liter by using 5 ml of biomass was obtained by 93 and 82%, respectively. In the aerobic condition, the removal of the dye was achieved to more than 90% within two days, and after that, the removal efficiency reached 100% with a gently increasing slope up to 8 days. By increasing the concentration of dye from 50 to 80 mg/liter, the removal efficiency decreased by about 10%. Increasing the volume of sludge from 5 to 10 ml in both cases did not have a significant effect on increasing the amount of dye removal. The amount of azo dye removal was higher in aerobic than in anaerobic conditions. In aerobic conditions, for all dye concentrations, the TOC removal rate was about 85-90%. There was no significant difference in the amount of TOC removal for 5 and 10 ml of sludge. The average TOC removal in aerobic was about 10% higher than in anaerobic conditions. In the aerobic condition, the identified bacteria included *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aerogenosa*, and in the anaerobic condition, the identified bacterial species were *Lactobacillus*, *Enterococcus faecalis*, and *Bacillus cereus*.

**Conclusion:** Complete removal of azo dye from textile wastewater by sludge biomass under microaerophilic culture conditions is possible with a contact time of 8 days or more. The dye removal efficiency was higher in partial aerobic than in absolute anaerobic conditions. The identified azo dye-removing bacteria were mainly facultative anaerobic and microaerophilic.

**Keywords:** azo dye, textile wastewater, activated sludge, aerobic, anaerobic

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (234): 133-143 (Persian).

**Corresponding Author:** Ramazan ali Dianati Tilaki - Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Ira. (E-mail: rdianati@mazums.ac.ir)

## بررسی کارایی لجن تصفیه خانه فاضلاب در حذف رنگ آزو راکتیو قرمز ۱۹۵ از فاضلاب مصنوعی در شرایط هوازی و بی هوازی

رضانعلی دیان‌تی تیلکی<sup>۱</sup>

جلال کاظمی تبار<sup>۲</sup>

معصومه اسلامی‌فر<sup>۳</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** رنگ‌های آزو در فاضلاب اغلب کارخانجات نساجی وجود دارند و در صورت ورود به منابع آب با توجه به اثرات سمیت، تجمع بیولوژیکی و جهش‌زایی سلامت انسان و محیط زیست را با خطر مواجه می‌کنند. این مطالعه با هدف تعیین میزان حذف رنگ آزو به روش بیولوژیکی با کاربرد لجن تصفیه‌خانه فاضلاب در شرایط هوازی و بی‌هوازی و جداسازی و شناسایی باکتری‌ها، انجام پذیرفت.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه تجربی در دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شد. در این مطالعه حذف رنگ آزو راکتیو قرمز ۱۹۵ موجود در فاضلاب کارخانجات نساجی با استفاده از لجن فعال تصفیه‌خانه فاضلاب مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات به صورت ناپیوسته در دو حالت هوازی و بی‌هوازی با ۱۹۲ نمونه انجام شد. غلظت‌های رنگ مورد آزمایش در محدوده موجود در فاضلاب کارخانجات نساجی ۵۰، ۶۵ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. محیط کشت مورد استفاده محیط معدنی حاوی گلوکز بود. بطری‌های حاوی رنگ، لجن و محیط کشت در دو حالت هوازی و بی‌هوازی به مدت ۸ روز در انکوباتور دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. اثر عوامل موثر شامل زمان تماس، مقدار لجن و غلظت رنگ مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌گیری در زمان تماس‌های ۱، ۲، ۴ و ۸ روز انجام و پس از سانتریفیوژ، غلظت رنگ به روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت کل کربن آلی (TOC) نمونه‌ها به وسیله دستگاه آنالیزور TOC اندازه‌گیری شد. پس از حذف رنگ، شناسایی باکتری‌های موجود در ظروف به روش تشخیص افتراقی و با استفاده از محیط کشت‌های اختصاصی، رنگ‌آمیزی گرم و تست‌های بیوشیمیایی صورت گرفت.

**یافته‌ها:** در حالت بی‌هوازی و در زمان تماس ۸ روز حذف رنگ در غلظت ۵۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر با استفاده از ۵ میلی‌لیتر لجن به ترتیب ۹۳ و ۸۲ درصد به دست آمد. در حالت هوازی حذف رنگ با راندمان بیش از ۹۰ درصد طی دو روز زمان تماس حاصل شد و پس از آن راندمان حذف با شیب ملایم افزایشی پس از ۸ روز به حدود ۱۰۰ درصد رسید. با افزایش غلظت رنگ از ۵۰ به ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر راندمان حذف حدود ۱۰ درصد کاهش یافت. افزایش حجم لجن از ۵ به ۱۰ میلی‌لیتر در هر دو حالت تاثیر معنی‌داری بر افزایش میزان حذف رنگ نداشت. میزان حذف رنگ آزو در حالت هوازی بیش‌تر از حالت بی‌هوازی بود. در حالت هوازی برای همه غلظت‌های رنگ، میزان حذف TOC حدود ۸۵ تا ۹۰ درصد به دست آمد. میزان حذف TOC در مقادیر ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر لجن اختلاف معنی‌داری نداشت. میانگین حذف TOC در حالت هوازی حدود ۱۰ درصد بیش‌تر از حالت بی‌هوازی بود. در حالت هوازی شناسایی شده شامل *اشریشیا کلی*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و در حالت بی‌هوازی گونه‌های باکتریایی شناسایی شده *لاکتوباسیلوس*، *انتروکوکوس فکالیس* و *باسیلوس سرئوس* بودند.

**استنتاج:** حذف کامل رنگ آزو از فاضلاب صنعت نساجی به وسیله زیست توده لجن تصفیه‌خانه فاضلاب در شرایط کشت میکروآئروفیلیک در زمان تماس ۸ روز امکان‌پذیر است. راندمان حذف رنگ در شرایط هوازی جزئی نسبت به حالت بی‌هوازی مطلق بیش‌تر بود. باکتری‌های شناسایی شده حذف‌کننده رنگ عمدتاً از نوع بی‌هوازی اختیاری و میکروآئروفیلیک بودند.

**واژه‌های کلیدی:** رنگ آزو، فاضلاب نساجی، لجن فعال، هوازی، بی‌هوازی

E-mail: rdianati@mazums.ac.ir

**مؤلف مسئول:** رضانعلی دیان‌تی - ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده بهداشت

۱. دانشیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری ایران

۲. کارشناس ارشد بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۸/۲۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۲/۱۰/۳ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۳/۱۲

## مقدمه

یکی از آلوده‌ترین فاضلاب‌های صنعتی فاضلاب صنایع نساجی می‌باشد. در صنعت نساجی حدود ۱۵ درصد از کل رنگ‌های مورد استفاده وارد فاضلاب می‌شود (۱). حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد از رنگ‌های مورد استفاده در صنعت نساجی را رنگ‌های آزو تشکیل می‌دهند (۲). معمولاً غلظت رنگ‌های آزو در پساب نساجی در محدوده ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر است (۳). رنگ‌های آزو دارای حلقه‌های بنزنی به همراه یک یا چند گروه  $-N=N-$  هستند که به‌عنوان عامل رنگ‌زا عمل می‌کنند (۴). به‌دلیل سمیت، تجمع بیولوژیکی و جهش‌زایی، ورود رنگ‌های آزو به منابع آب خطرات زیادی برای محیط زیست و سلامتی انسان ایجاد می‌کند (۵).

تصفیه فاضلاب کارخانجات نساجی به روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی مانند جذب سطحی، انعقاد و لخته‌سازی، اکسیداسیون پیشرفته، روش‌های غشایی و بیولوژیکی قابل انجام است (۶). در روش جذب سطحی رنگ تجزیه نمی‌شود و فقط انتقال رنگ از محیط آبی به جاذب جامد انجام می‌شود که موجب تولید پسماند آلوده می‌گردد (۷). هم‌چنین برای رنگ‌های با حلالیت بالا در محیط آبی، حذف آن‌ها با روش‌های متداول مانند انعقاد و لخته‌سازی با مشکل مواجه می‌شود (۸). در روش‌های شیمیایی اغلب به مواد شیمیایی گران قیمت نیاز است و لجن شیمیایی تولید می‌شود. روش‌های مختلف بیولوژیکی شامل هوازی و بی‌هوازی در سیستم‌های رشد معلق و چسبیده نیز در تصفیه فاضلاب نساجی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۸). حذف رنگ در سیستم‌های بیولوژیکی عمدتاً با دو مکانیسم جذب سطحی بیولوژیکی (biosorption) و تجزیه بیولوژیکی (biodegradation) انجام می‌شود که راندمان حذف رنگ به پارامترهایی مانند زمان تماس، غلظت رنگ و مقدار زیست توده بستگی دارد. در حالت بی‌هوازی تجزیه بیولوژیکی رنگ‌های آزو به کمک آنزیم آزو رداکتاز قابل انجام

است که طی یک سری واکنش‌های بیوشیمیایی، آمین‌های آروماتیک تشکیل می‌شوند که دارای سمیت زیاد و خاصیت جهش‌زایی می‌باشند (۹). مطالعاتی نشان می‌دهند که در حالت بی‌هوازی-هوازی در شرایط میکروآئروفیلیک تجزیه و حذف رنگ آزو صورت می‌گیرد (۱۰-۱۲). در حالت میکروآئروفیلیک باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری با قابلیت تحمل حداقل مقدار اکسیژن فعال می‌شوند که می‌توانند رنگ را تجزیه نمایند (۱۰).

مطالعاتی درباره حذف رنگ‌های آزو به روش‌های بیولوژیکی انجام شده است که از آن جمله حذف رنگ راکتیو سیاه ۵ و ناوی ۱۰۶، استفاده از لجن گرانوله بی‌هوازی راکتور UASB، حذف رنگ آزو راکتیو آبی  $H_3R$  با استفاده از لجن تصفیه‌خانه فاضلاب شهری و جذب بیولوژیکی رنگ سبز درخشان (A-BG) با استفاده از لجن تصفیه‌خانه فاضلاب کارخانه لبنیات می‌باشند (۱۳-۱۶). با توجه به این که مطالعاتی نشان می‌دهد که لجن تصفیه‌خانه فاضلاب قابلیت حذف رنگ را دارا می‌باشد، لازم است مطالعات مختلفی در این زمینه انجام شود تا جزئیات حذف رنگ‌های صنعتی خطرناک با استفاده از آن مشخص شود (۱۳، ۱۴). لذا در این مطالعه حذف یک نوع رنگ آزو با استفاده از لجن تصفیه‌خانه فاضلاب مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این مطالعه تعیین میزان حذف رنگ آزو راکتیو قرمز ۱۹۵ با استفاده از لجن تصفیه‌خانه فاضلاب در دو حالت هوازی، بی‌هوازی و جداسازی و شناسایی باکتری‌ها بود.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، به منظور حذف رنگ از لجن تانک ته‌نشینی ثانویه تصفیه‌خانه فاضلاب در دو حالت هوازی و بی‌هوازی استفاده شد. محیط کشت حاوی  $(NH_4)_2SO_4$ ،  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ،  $NH_4Cl$ ،  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ،  $NaHCO_3$ ،  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ،  $NaCl$ ،  $KH_2PO_4$  و گلوکز به ترتیب دارای مقادیر ۰/۲۸، ۰/۰۲، ۰/۲۳، ۰/۰۵، ۰/۰۷،

قرار گرفت و آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد. جداسازی و شناسایی باکتری‌ها با نمونه برداری از بطری‌ها پس از پایان مدت کشت و حذف رنگ، در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده بهداشت انجام شد. شناسایی اولیه باکتری‌های جداسازی شده با استفاده از محیط‌های کشت افتراقی و اختصاصی باکتری‌ها، رنگ آمیزی گرم و تست‌های بیوشیمیایی صورت گرفت. محیط‌های کشت مورد استفاده شامل تریپتون سوی برات، EMB agar بلا آگار، نوترینت آگار، مک کانگی آگار، مانیتول سالت آگار، PSE Agar، استامید برات، MRS agar بود. بعد از انتقال نمونه‌ها، محیط‌های کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور نگهداری شدند، سپس کلنی‌ها جداسازی و خالص سازی گردید و مورد بررسی مورفولوژیکی قرار گرفت. کلنی‌ها پس از رنگ آمیزی گرم و بررسی میکروسکوپی، شناسایی گونه‌ها مطابق با دستورالعمل Bergey تست‌های بیوشیمیایی تشخیصی مانند کاتالاز، کوآگولاز، اکسیداز، تخمیر قندها، DNase، سیمون سترات، اوره، MRVP، SIM، TSI و سایر تست‌های تشخیصی انجام شد. سپس گونه‌های زیر که در قسمت نتایج ارائه شده است در هر یک از حالت‌های هوازی و بی‌هوازی شناسایی گردید (۱۸).



تصویر شماره ۱: تصویر حذف بیولوژیکی رنگ راکتیو قرمز ۱۹۵، چپ: رنگ با غلظت اولیه ۸۰ میلی گرم بر لیتر، راست: پس از ۸ روز

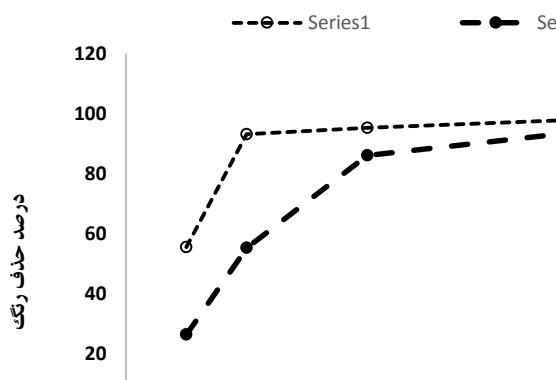
۰/۱۵، ۰/۰۴، ۰/۵ و ۱ گرم در لیتر تهیه شد (۱۷). ابتدا محلول استوک رنگ راکتیو قرمز ۱۹۵ با غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر تهیه شد. برای به دست آوردن طول موج جذب حداکثر، از محلول ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر از این رنگ استفاده شد. در طول موج‌های مختلف (از ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر) میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفومتر قرائت شد که طول موج جذب حداکثر ۵۴۵ نانومتر به دست آمد. با اضافه نمودن حجم‌های لازم از محلول استوک رنگ، محلول‌های رنگ آزو در آب مقطر تهیه شد. سپس به حجم‌های ۴۰ و ۴۵ میلی لیتر از محلول‌های رنگی به ترتیب مقادیر ۱۰ و ۵ میلی لیتر لجن به اضافه ۵۰ میلی لیتر محیط کشت اضافه شد به گونه‌ای که غلظت رنگ در محلول نهایی در مقادیر ۵۰، ۶۵ و ۸۰ میلی گرم بر لیتر به دست آمد. با توجه به این که غلظت رنگ آزو در فاضلاب نساجی در محدوده ۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر گزارش شده، لذا در این تحقیق غلظت‌های اولیه رنگ در مقادیر فوق مورد آزمایش قرار گرفتند (۳). بطری‌های حاوی محیط کشت، رنگ و لجن در دو حالت هوازی و بی‌هوازی در انکوباتور قرار داده شدند. در حالت بی‌هوازی ظروف به صورت در بسته و در وضعیت ساکن بدون هم زدن (استاتیک) بودند و در حالت هوازی درب بطری با پارافیلیم پوشانده شد و به منظور تبادل هوا، روی آن منافذی ایجاد شد. دمای انکوباتور ۳۰ درجه سانتی گراد تنظیم گردید. با اضافه نمودن آب مقطر به بطری‌های هوازی حجم آب تبخیر شده جبران می‌شد. بعد از گذشت یک، دو، چهار و هشت روز مقداری نمونه از ظروف برداشته و پس از سانتریفیوژ نمودن، میزان جذب نور در طول موج ۵۴۵ نانومتر اندازه گیری شد. و هم چنین غلظت کل مواد آلی محلول (TOC) در ظروف کشت با استفاده از دستگاه آنالیزور TOC اندازه گیری شد. تعداد نمونه‌ها به روش فول فاکتوریل برابر با ۱۹۲ نمونه محاسبه شد. کلیه اندازه گیری‌ها به صورت دو یا سه بار تکرار و میانگین اعداد مورد استفاده

## یافته‌ها

تاثیر غلظت لجن بر حذف رنگ در شرایط هوازى و بی‌هوازى

در نمودار شماره ۱، حذف رنگ آزو مورد آزمایش با افزودن ۵ و ۱۰ میلی لیتر از لجن به محیط کشت در دو حالت هوازى و بی‌هوازى در زمان تماس ۸ روز نشان داده شده است. همان گونه که ملاحظه می شود در حالت بی هوازى حذف رنگ در غلظت ۵۰ و ۸۰ میلی گرم بر لیتر با استفاده از ۵ میلی لیتر لجن به ترتیب ۹۳ و ۸۲ درصد و با استفاده از ۱۰ میلی لیتر لجن به ترتیب ۹۵ و ۸۵ درصد به دست آمد. اثر اضافه نمودن حجم لجن بر میزان حذف رنگ معنی دار نبود ( $P > 0.05$ ). اما با افزایش غلظت رنگ از ۵۰ به ۸۰ میلی گرم بر لیتر راندمان حذف رنگ حدود ۱۰ درصد کاهش نشان داد ( $P < 0.05$ ). در شرایط هوازى حذف رنگ در غلظت‌های ۵۰ و ۸۰ میلی گرم بر لیتر با استفاده از ۵ میلی لیتر به ترتیب ۹۵ و ۸۵ درصد و با استفاده از ۱۰ میلی لیتر لجن به ترتیب ۹۸ و ۸۸ درصد به دست آمد. اثر اضافه نمودن حجم لجن بر میزان حذف رنگ از نظر آماری معنی دار نبود ( $P > 0.05$ ). در این حالت نیز با افزایش غلظت رنگ راندمان حذف کاهش یافت.

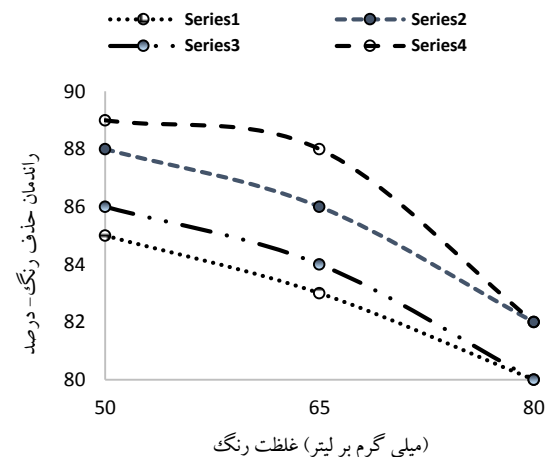
تاثیر زمان تماس بر حذف رنگ در شرایط هوازى و بی‌هوازى  
میزان حذف رنگ در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر در شرایط هوازى و بی‌هوازى با استفاده از ۱۰ میلی لیتر لجن در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است. مشاهده می شود که در حالت هوازى حذف رنگ با راندمان بیش از ۹۰ درصد طی دو روز زمان تماس حاصل شد و پس از آن راندمان حذف با شیب ملایم افزایشی پس از ۸ روز به حدود ۱۰۰ درصد رسید. هم چنین ملاحظه می شود که در شرایط بی هوازى راندمان حذف رنگ پس از ۴ روز تماس به ۸۶ درصد و پس از ۸ روز به ۹۵ درصد رسید.



نمودار شماره ۲: اثر زمان تماس بر حذف رنگ ۵۰ میلی گرم بر لیتر رنگ با کاربرد ۱۰ میلی لیتر لجن در دو حالت هوازى و بی‌هوازى

تاثیر غلظت لجن بر حذف TOC در شرایط هوازى و بی‌هوازى

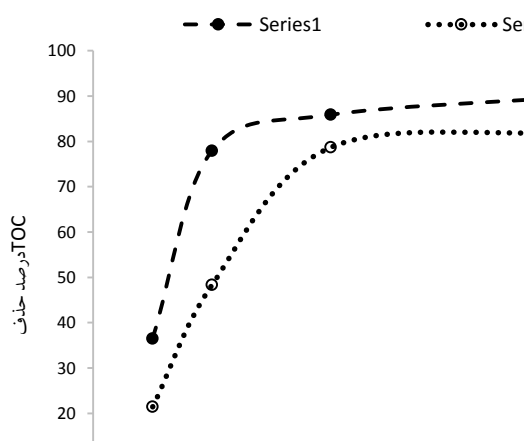
در نمودار شماره ۳، حذف TOC در شرایط هوازى و بی هوازى برای غلظت‌های مختلف رنگ با استفاده از ۵ و ۱۰ میلی لیتر لجن در زمان تماس ۸ روز نشان داده شده است. در حالت هوازى برای همه غلظت‌های رنگ، میزان حذف TOC حدود ۸۵ تا ۹۰ درصد به دست آمد. مشاهده می شود که میزان حذف TOC در مقادیر ۵ و ۱۰ میلی لیتر از لجن تقریباً یکسان بود و اختلاف معنی داری نداشت ( $P > 0.05$ ). همان گونه که ملاحظه می شود در حالت بی هوازى حذف TOC مقدار کم تری نسبت به حالت هوازى به دست آمد ( $P < 0.05$ ). در آزمایش COD علاوه بر مواد آلی، ترکیبات غیر آلی و یون‌های فلزی موجود



نمودار شماره ۳: اثر غلظت اولیه رنگ و مقدار لجن بر راندمان حذف رنگ در دو حالت هوازى و بی‌هوازى در زمان ۸ روز

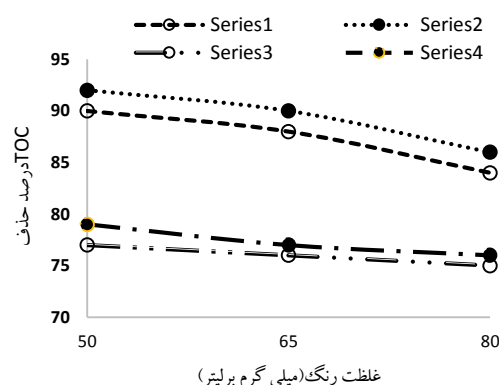
تماس حدود ۸۰ درصد بود که پس از ۸ روز تغییر محسوس صورت نگرفت و نسبتاً ثابت باقی ماند.

جداسازی و شناسایی باکتری های حذف کننده رنگ پس از مشاهده حذف رنگ در هر یک از شرایط هوازی و بی هوازی، نمونه برداری باکتریایی انجام گردید و باکتری ها مطابق با جدول شماره ۱، شناسایی شدند.



نمودار شماره ۴: تأثیر زمان تماس بر حذف TOC در دو حالت هوازی و بی هوازی

در نمونه نیز اکسید می گردند که به همین دلیل در یک نمونه معین مقادیر COD بیش تر از TOC به دست می آید، اما در اندازه گیری TOC تنها کربن آلی مورد سنجش قرار می گیرد. لذا برای تعیین میزان مواد آلی، اندازه گیری TOC نسبت به COD برتری دارد. میانگین مقدار TOC اولیه در نمونه ها ۴۸۲ میلی گرم بر لیتر بود. مقادیر TOC باقیمانده در نمونه ها به صورت کلی شامل باقیمانده رنگ و مواد آلی مورد سنجش قرار گرفت.



نمودار شماره ۳: تأثیر مقدار لجن بر حذف TOC در غلظت های مختلف رنگ در دو حالت هوازی و بی هوازی در زمان ۸ روز

## بحث

هدف از انجام این تحقیق تعیین میزان حذف رنگ آزو و کل کربن آلی (TOC) با استفاده از لجن تصفیه خانه فاضلاب در دو حالت هوازی و بی هوازی بود.

### حذف رنگ با استفاده از لجن هوازی

با کاربرد لجن تصفیه خانه فاضلاب حذف رنگ به میزان حدود ۹۰ درصد مشاهده شد و افزایش حجم لجن

### تأثیر زمان تماس بر حذف TOC در شرایط هوازی و بی هوازی

حذف TOC در زمان تماس های مختلف با استفاده از ۱۰ میلی لیتر لجن و ۸۰ میلی گرم بر لیتر رنگ در شرایط هوازی و بی هوازی در نمودار شماره ۴ نشان داده شده است. ملاحظه می شود که در حالت هوازی میزان حذف TOC پس از دو روز تماس حدود ۷۸ درصد بود و بعد از ۸ روز به ۹۰ درصد افزایش یافت. اما میزان حذف TOC در شرایط بی هوازی پس از ۴ روز زمان

جدول شماره ۱: گونه های باکتریایی شناسایی شده حذف کننده رنگ در شرایط هوازی و بی هوازی

گونه	شکل و رنگ پذیری	متابولسم	روش با هوادهی لجن
اشریشیاکلی	باسیل گرم منفی	بی هوازی اختیاری	با هوادهی لجن
استافیلوکوکوس اورئوس	کوکوس گرم مثبت	هوازی	
سودوموناس آئروژینوز	باسیل گرم منفی	هوازی	
لاکتوباسیلوس	باسیل گرم مثبت	بی هوازی با قابلیت تحمل اکسیژن، میکرو آئروفیلیک	بدون هوادهی لجن
انتروکوکوس فکالیس	کوکوس گرم مثبت	بی هوازی اختیاری	
باسیلوس سرئوس	باسیل گرم مثبت	بی هوازی اختیاری	

تأثیر محسوسی بر افزایش میزان حذف رنگ نداشت ( $P > 0/05$ ). در تحقیقی حذف زیستی رنگ آزو قهوه‌ای ۷۰۳ با استفاده از باکتری سودوموناس ائروژنوز در شرایط هوازی مورد بررسی قرار گرفت. غلظت رنگ مورد آزمایش در محدوده ۲۰ تا ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر بود. حذف رنگ حدود ۴۰ درصد در زمان تماس ۳ روز مشاهده شد (۱۹). در تحقیق دیگری حذف رنگ‌های آزو راکتیو نارنجی ۱۶ و راکتیو سیاه ۵ با استفاده از باکتری هوازی باسیلوس سرئوس مورد بررسی قرار گرفت. محیط کشت مورد استفاده لاکتوز برات و دما ۳۷ درجه سانتی گراد و غلظت رنگ در محدوده ۵۰ تا ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر بود. حذف رنگ با راندمان ۴۰ تا ۱۰۰ درصد در مدت زمان ۵ روز صورت گرفت (۲۰). در یک مطالعه تجزیه بیولوژیکی رنگ آزو نارنجی بازی ۲ در محدوده غلظت ۵ تا ۴۰ میلی گرم بر لیتر با استفاده از باکتری‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت که بیش‌ترین درصد حذف (۸۰ درصد) مربوط به باکتری شیرشیکلی و کم‌ترین درصد حذف (۴۸ درصد) مربوط به باکتری سودوموناس بود. هم‌چنین راندمان حذف رنگ با استفاده از باکتری استفیلوکوکوس اورئوس ۸۰ درصد گزارش شد که داده‌های آن با توجه به همسان بودن باکتری‌ها با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (۲۱). یافته‌های یک تحقیق در باره جذب بیولوژیکی دو رنگ آزو راکتیو سیاه ۵ و ناوی ۱۰۶ با استفاده از لجن تصفیه خانه فاضلاب شهری در شرایط هوازی نشان داد که میزان حذف رنگ به غلظت لجن مرتبط بود و با افزایش نسبت غلظت رنگ به غلظت لجن راندمان حذف رنگ کاهش یافت که با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. جذب بیولوژیکی رنگ راکتیو سیاه ۵ به وسیله لجن به وجود گروه عاملی وینیل سولفون در رنگ نسبت داده شده است (۱۳).

#### حذف رنگ با استفاده از لجن بی‌هوازی

در شرایط بی‌هوازی اضافه نمودن حجم لجن تأثیر

قابل ملاحظه ای بر افزایش راندمان حذف رنگ نداشت ( $P > 0/05$ ). در یک مطالعه حذف رنگ راکتیو قرمز ۱۹۵ در غلظت ۳۰ میلی گرم بر لیتر با استفاده از ۴ گونه ائروباکتری بی‌هوازی اختیاری با اضافه نمودن ۱ گرم بر لیتر گلوکز به عنوان کمک سوپسترا مورد بررسی قرار گرفت و راندمان ۹۰ درصد حذف رنگ پس از ۲ روز تماس در شرایط کشت استاتیک گزارش شد (۲۲). در مطالعه دیگری حذف رنگ آزو راکتیو قرمز ۱۹۵ با استفاده از باکتری بی‌هوازی اختیاری گرم منفی کوکوباسیلوس مورد بررسی قرار گرفت. راندمان حذف رنگ پس از ۵ روز تماس بیش از ۹۵ درصد به دست آمد که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (۲۳). در یک تحقیق حذف ۵۰ میلی گرم بر لیتر رنگ راکتیو قرمز ۱۹۵ با استفاده از یک گونه باکتری ائروکوکوس جداسازی شده از پساب نساجی در شرایط کشت بی‌هوازی استاتیک در زمان تماس ۴ روز در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد با راندمان ۱۰۰ درصد گزارش شد (۲۴). در تحقیق دیگری حذف ۲۰ نوع رنگ آزو با استفاده از لجن گرانوله بی‌هوازی در راکتور UASB مورد مطالعه قرار گرفت. حذف کامل رنگ‌های مورد آزمایش با این روش صورت گرفت. گزارش شد که ارتباط معنی‌داری بین وزن مولکولی رنگ و مدت زمان حذف رنگ وجود نداشت که نشان می‌داد نفوذ مولکول‌های رنگ در دیواره سلولی باکتری‌ها فاکتور موثر نبود. هم‌چنین گزارش شده است که چون لجن UASB حاوی سولفید است لذا رنگ‌زدایی طی واکنش شیمیایی با سولفید موجب بهبود فرایند حذف رنگ می‌شود (۱۴).

#### حذف TOC در حالت‌های هوازی و بی‌هوازی لجن

در شرایط بی‌هوازی حذف TOC نسبت به شرایط هوازی به مقدار کم‌تری صورت گرفت ( $P < 0/05$ ) در شرایط کشت میکروآئروفیل که اکسیژن در حداقل مقدار ممکن وجود دارد باکتری‌های هوازی اختیاری فعال می‌شوند که می‌توانند مولکول‌های رنگ را تجزیه نموده و آمین‌های آروماتیک به وجود آورند سپس در فرایند

برابر بود (۲۶). هم‌چنین با پژوهش Yan و همکاران که به بررسی حذف همزمان رنگ در شرایط بی‌هوازی و آمین‌های آروماتیک در شرایط هوازی پرداخت، که در آن به ترتیب حذف ۸۸ درصدی رنگ و ۷۰ درصدی TOC صورت گرفته بود مطابقت دارد (۲۷).

#### جداسازی و شناسایی باکتری ها

همان‌طور که در جدول شماره ۱ و جدول شماره ۲، نشان داده شده است در تحقیق حاضر گونه‌های باکتریایی شناسایی شده در شرایط هوازی باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری *اشیرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژنوز* و در شرایط بی‌هوازی باکتری‌های میکرو آئروفیلک شامل *لاکتوباسیلوس*، *انتروکوکوس فکالیس* و *باسیلوس* بود. در یک تحقیق که به منظور تعیین حذف رنگ آزو آبی  $H_3R$  با استفاده از زیست توده لجن تصفیه‌خانه فاضلاب شهری انجام شد ابتدا باکتری‌های موجود در لجن قبل از تماس با رنگ شناسایی گردید که گونه‌های باکتریایی هوازی اختیاری *آئروموناس*، *اشیرشیاکلی*، *سودوموناس آئروژنوز*، *کلستریدیوم*، *استافیلوکوکوس* و *سالمونلا* شناسایی شد (۱۵). در مطالعات مختلف درباره حذف بیولوژیکی رنگ‌های آزو باکتری‌های مختلفی شناسایی شد و برای حذف رنگ خاصی مورد آزمایش قرار گرفت به‌عنوان

بعدی که هوازی خواهد بود آمین‌های آروماتیک تجزیه و معدنی‌سازی صورت می‌گیرد. در تحقیقی حذف ۴ نوع رنگ آزو با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با استفاده از کنسرسیون دونوع باکتری، طی فرایند متوالی میکروآئروفیل-هوازی، در زمان تماس ۳۰ ساعت و دمای انکوباتور ۳۰ درجه سانتی‌گراد راندمان حذف رنگ ۹۹ درصد و راندمان حذف TOC ۶۲ تا ۷۲ درصد بود. در فرایند متوالی هوازی-میکروآئروفیل، آمین‌های آروماتیک تشکیل شد، اما با انجام فرایند متوالی میکروآئروفیل-هوازی، آمین‌های آروماتیک تجزیه گردید (۱۱). در تحقیق دیگری تجزیه بیولوژیکی و حذف کامل رنگ آزو آبی راکتیو ۱۷۲ با استفاده از باکتری *Providencia rettgeri* در شرایط کشت میکروآئروفیلک در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و زمان تماس ۲۰ ساعت انجام و ۵۲ درصد حذف TOC و ۸۵ درصد حذف COD گزارش شد (۱۲).

با توجه به نتایج تحقیقات مشابه درصد حذف در مطالعه حاضر با نتایج مطالعه Sarvajith و همکاران در یک محدوده بوده است؛ اما با این تفاوت که در مطالعه حاضر حذف رنگ در زمان تماس کم‌تری انجام شد (۲۵). در مطالعه Baêta و همکاران که حذف رنگ آزو با روش ترکیبی هوازی/بی‌هوازی انجام شد با نتایج مطالعه حاضر که در آن حذف رنگ آزو به‌صورت مجزا با روش‌های هوازی و بی‌هوازی بود مقدار حذف

جدول شماره ۲: خصوصیات بیوشیمیایی باکتری‌های شناسایی شده

تست‌های بیوشیمیایی تشخیصی																	گونه‌های باکتریایی شناسایی شده					
G	X	M	N	L	G	X	O	H	M	X	I	U	V	C	M	S	L	S	T	C	C	
R	I	O	I	Y	L	Y	R	2	A	L	N	R	P	I	A	U	A	A	S	A	O	
		T	S	S	U	S	N	S	N	N	D			T	L	C	C	H	I	T	A	
-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	K/K	+	-	سودوموناس آئروژنوز
+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	A/A	+	+	باسیلوس
-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	A/A	+	N	اشیرشیاکلی
+	-	-	+	N	+	+	N	-	+	+	N	-	+	+	+	+	+	+	N	+	+	استاف اورئوس
+	+	-	-	N	+	+	N	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	N	-	N	لاکتوباسیلوس
+	-	-	N	N	+	N	N	-	+	N	-	-	+	+	+	+	+	+	N	-	-	انتروکوکوس فکالیس
																			SC+			

GR = GRAM REACTION,  
LYS = LYSINE,  
H<sub>2</sub>S, MAN = MANOSE,  
VP = Voges-Proskauer,  
LAC = LACTOSE,  
COAG = COAGULASE,

XI = OXIDASE,  
GLU = GLUCOSE,  
XL = XYLASE,  
CIT = CITRATE,  
STH = STARCH HYDROLYSIS,  
SC = Esculin,

MOT = MOTILITY,  
XYS = XYLOSE,  
IND = INDOLE,  
MAL = MALTOSSE,  
CAT = CATALASE,  
D = DNase Test

NI = NITRATE,  
ORN = ORNITHINE,  
UR = UREASE,  
SUC = SUCROSE,  
TSI = Triple Sugar Iron Agar,

مکانیسم حذف رنگ (تجزیه بیولوژیکی یا جذب روی زیست توده) از اهداف این مطالعه نبوده و پیشنهاد می‌شود طی مطالعه جداگانه‌ای مورد بررسی قرار گیرد.

### سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت محیط و طرح تحقیقاتی مصوب با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1398.1216 می‌باشد که بدین وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه به خاطر تامین مالی این طرح تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

چند نمونه می‌توان به جداسازی و شناسایی باکتری *Sordomonas* آئروژنوز از محل تخلیه پساب نساجی، جداسازی باکتری *Staphylococcus hominis* از خاک آلوده به فاضلاب نساجی و جداسازی باکتری هوازی *Bacillus* سرئوس از خاک آلوده به پساب نساجی اشاره نمود (۲۸،۲۰،۱۹). یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد با استفاده از لجن ته‌نشینی ثانویه تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری می‌توان رنگ‌های آزو را با راندمان بالایی حذف نمود. باکتری‌های جداسازی شده از لجن حذف‌کننده رنگ نیز عمدتاً از نوع بی‌هوازی اختیاری و یا میکروآئروفیلیک شناسایی شدند. مشخص نمودن

### References

- Islam MT, Al Mamun MA, Halim AFMF, Peila R, Sanchez Ramirez DO. Current trends in textile wastewater treatment—bibliometric review. *Environ Sci Pollut Res* 2024; 31: 19166-19184.
- Brüschweiler BJ, Merlot C. Azo dyes in clothing textiles can be cleaved into a series of mutagenic aromatic amines which are not regulated yet. *Regul Toxicol Pharmacol* 2017; 88: 214-226.
- Yaseen D, Scholz M. Textile dye wastewater characteristics and constituents of synthetic effluents: a critical review. *International Journal of Environmental Science and Technology* 2019; 16(4): 1193-1226
- Benkhaya S, M'rabet S, El Harfi A. Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes. *Heliyon* 2020; 6(1): e03271.
- Alderete BL, da Silva J, Godoi R, da Silva FR, Taffarel SR, da Silva LP, et al. Evaluation of toxicity and mutagenicity of a synthetic effluent containing azo dye after advanced oxidation process treatment. *Chemosphere* 2021; 263: 128291.
- Zazooli MA, Yazdani J, Balarak D, Ebrahimi M, Mahdavi Y. Investigating the Removal Rate of Acid Blue 113 from Aqueous Solution by Canola. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2012; 21(2): 71-78 (Persian).
- Dianati Tilaki R, Kavyani S, Hassani Nejad-Darzi SK, Yazdani Cahrati J. Kinetics Study on Adsorption of Three Azo Dyes (Reactive Red 198, Cationic Red GTL 18 and Cationic Red GRL 46) by Zeolite Clinoptilolite. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2014; 24(118): 158-169 (Persian)
- Dutta S, Bhattacharjee J. A comparative study between physicochemical and biological methods for effective removal of textile dye from wastewater. *Development in wastewater treatment research and processes: Elsevier*; 2022: 1-21.
- Pinheiro LRS, Gradíssimo DG, Xavier LP, Santos AV. Degradation of azo dyes: bacterial potential for bioremediation. *Sustainability* 2022; 14(3): 1510.

10. Khan Z, Jain K, Soni A, Madamwar D. Microaerophilic degradation of sulphonated azo dye-Reactive Red 195 by bacterial consortium AR1 through co-metabolism. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2014; 94: 167-175.
11. Lade H, Kadam A, Paul D, Govindwar S. Biodegradation and detoxification of textile azo dyes by bacterial consortium under sequential microaerophilic/aerobic process. *EXCLI J* 2015; 14: 158-174.
12. Lade SG H, Govindwar SP, Paul D. Low-Cost Biodegradation and Detoxification of Textile Azo Dye C.I. Reactive Blue 172 by *Providencia rettgeri* Strain HSL1. *Journal of Chemistry* 2015; 894109(4): 1-10.
13. Ganesh R, Boardman GD, Michelsen D. fate of azo dyes in sludges. *water Research* 1994; 28(6): 1367-1376.
14. Van der Zee FP, Lettinga G, Field JA. Azo dye decolourisation by anaerobic granular sludge. *Chemosphere* 2001; 44(5): 1169-1176.
15. Flayeh HM. Biosorption of Reactive Azo Dye from synthetic wastewater using low cost Dead Sludge Biomass. *Association of Arab Universities Journal of Engineering Sciences* 2017; 24(1): 61-76.
16. Sassi M, Benaouda B, Eric Guibal. Biosorption of an industrial dye (A-BG) by a dairy sludge. *American Journal of Environmental Protection* 2014; 3(5): 292-298.
17. Leyla Çelik1 AÖaMIA. Biodegradation of reactive red 195 azo dye by the bacterium *Rhodospseudomonas palustris* 51ATA. *African Journal of Microbiology Research* 2012; 6(1): 120-126.
18. Saha AK SN, Mohanta MK, Mandal A, Haque F. Identification and characterization of azo dye decolourizing bacterial strains, *Alcaligenes faecalis* E5. Cd and A. faecalis Fal. 3 isolated from textile effluents. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences* 2017; 31(1): 163-175.
19. Ullah Khan A, Zahoor M, Ur Rehman M, Ikram M, Zhu D, Naveed Umar M, et al. Bioremediation of Azo Dye Brown 703 by *Pseudomonas aeruginosa*: An Effective Treatment Technique for Dye-Polluted Wastewater. *Microbiol Res* 2023; 14(3): 1049-1066.
20. Fareed A, Zaffar H, Bilal M, Hussain J, Jackson C, Naqvi TA. Decolorization of azo dyes by a novel aerobic bacterial strain *Bacillus cereus* strain ROC. *PloS One* 2022; 17(6): e0269559.
21. Ikram M, Naeem M, Zahoor M, Hanafiah MM, Oyekanmi AA, Ullah R, et al. Biological degradation of the azo dye basic orange 2 by *Escherichia coli*: A sustainable and ecofriendly approach for the treatment of textile wastewater. *Water* 2022; 14(13): 2063.
22. Jirasripongpunrn K, Nasanit R, Niruntasook J, Chotikasatian B. Decolorization and Degradation of C.I. Reactive Red 195 by *Enterobacter* sp. *Science & Technology Asia* 2007; 12(4): 6-11.
23. Mohd Zaini Nawahwi1 ZiaAY. Degradation of the Azo Dye Reactive Red 195 by *Paenibacillus* spp. R2. *J Bioremed Biodeg* 2013; 4(1): 1-7.
24. Birmole R, Parkar A, Aruna K. Biodegradation of Reactive Red 195 By A Novel Strain *Enterococcus casseliflavus* RDB\_4 Isolated from Textile Effluent. *Nature Environment & Pollution Technology*; 2019; 18(1): 97-109.
25. Sarvajith M, Reddy GKK, Nancharaiah Y. Textile dye biodecolourization and ammonium removal over nitrite in aerobic granular sludge

- sequencing batch reactors. *J Hazard Mater* 2018; 342: 536-543.
26. Baeta BE, Lima DR, Silva SD, Aquino SF. Evaluation of soluble microbial products and aromatic amines accumulation during a combined anaerobic/aerobic treatment of a model azo dye. *Chemical Engineering Journal* 2015; 259: 936-944.
27. Yan LKQ, Fung KY, Ng KM. Aerobic sludge granulation for simultaneous anaerobic decolorization and aerobic aromatic amines mineralization for azo dye wastewater treatment. *Environ Technol* 2018; 39(11): 1368-1375.
28. Rajat Pratap Singh PKS, Ram Lakhan Singh. Bacterial Decolorization of Textile Azo Dye Acid Orange by *Staphylococcus hominis* RMLRT03. *Toxicol Int* 2014; 21(2): 160-166.