ORIGINAL ARTICLE

# *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[1]
Jalal Kazemi Tabar[2]
Masoumeh Eslamifar[3]

[1] Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] MSc in Environmental Health Engineering, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] 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)

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-08-05 ]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و چهارم شماره ۲۳۴ تیر سال ۱۴۰۳ (۱۴۳-۱۳۳)

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

**رمضانعلی دیانتی تیلکی**[۱]
**جلال کاظمی تبار**[۲]
**معصومه اسلامی‌فر**[۳]

## 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 جهش زایی 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 تصفیه خانه 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 بی هوازی به‌مدت 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 به‌وسیله 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 به‌دست 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 درصدکاهش 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 به‌دست 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 باکتری‌های شناسایی شده شامل *اشریشیا کلی*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودموناس آئروژنوزا* و در حالت بی‌هوازی گونه‌های باکتریایی شناسایی شده *لاکتوباسیلوس*، *انتروکوکوس فکالیس* و *باسیلوس سرئوس*، بودند.

**استنتاج:** حذف کامل رنگ آزو از فاضلاب صنعت نساجی به‌وسیله زیست توده لجن تصفیه خانه 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 عمدتا از نوع بی‌هوازی اختیاری و میکروآئروفیلیک بودند.

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

**مولف مسئول: رمضانعلی دیانتی**–ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده بهداشت E-mail: rdianati@mazums.ac.ir
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 دکترای 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

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-08-05 ]

## 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 رنگ های آزو تشکیل می‌دهند(۲). معمولا 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 رنگ زا 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 لخته سازی، 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 عمدتا 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(۱۲-۱۰). 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 تصفیه خانه فاضلاب کارخانه لبنیات می‌باشند(۱۶-۱۳). باتوجه به این‌که مطالعاتی نشان می‌دهد که لجن تصفیه خانه 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(۱۴،۱۳). لذا در این مطالعه حذف یک نوع رنگ آزو با استفاده از لجن تصفیه خانه 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 دردو حالت هوازی و بی هوازی استفاده شد. محیط کشت حاوی $(NH_4)_2SO_4$، $CaCl_2.2H_2O$، $NH_4Cl$، $FeCl_3.6H_2O$، $KH_2PO_4$، $NaCl$، $MgSO_4.7H_2O$، $NaHCO_3$ و گلوکز به ترتیب دارای مقادیر ۰/۲۸، ۰/۰۲، ۰/۲۳، ۰/۰۵، ۰/۰۷،

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-08-05 ]

۰/۱۵، ۰/۰۴، ۰/۵ و ۱ گرم در لیتر تهیه شد(۱۷). ابتدا محلول استوک رنگ راکتیو قرمز ۱۹۵ با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه شد. برای به‌دست آوردن طول موج جذب حداکثر ، از محلول ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از این رنگ استفاده شد. در طول موج‌های مختلف ( از ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر) میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد که طول موج جذب حداکثر ۵۴۵ نانومتر به‌دست آمد. با اضافه نمودن حجم‌های لازم از محلول استوک رنگ، محلول‌های رنگ آزو در آب مقطر تهیه شد. سپس به حجم‌های ۴۰ و ۴۵ میلی‌لیتر از محلول‌های رنگی به ترتیب مقادیر ۱۰و ۵ میلی‌لیتر لجن به اضافه ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت اضافه شد به گونه‌ای که غلظت رنگ در محلول نهایی در مقادیر ۵۰، ۶۵ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد. با توجه به این‌که غلظت رنگ آزو در فاضلاب نساجی در محدوده ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم 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 به‌صورت در بسته و در وضعیت ساکن بدون هم زدن (استاتیک) بودند و در حالت هوازی درب بطری با پارافیلم پوشانده شد و به منظور تبادل هوا، روی آن منافذی ایجاد شد. دمای انکوباتور ۳۰ درجه سانتی‌گراد 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 ازظروف برداشته و پس‌از سانتریفیوژ نمودن، میزان جذب نور در طول موج ۵۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. و هم‌چنین غلظت کل مواد آلی محلول (TOC) در ظروف کشت با استفاده از دستگاه آنالیزور TOC اندازه‌گیری شد. تعداد نمونه‌ها به روش فول فاکتوریل برابر با ۱۹۲ نمونه محاسبه شد. کلیه اندازه‌گیری‌ها به صورت دو یا سه بار تکرار و میانگین اعداد مورد استفاده قرار گرفت و آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار 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، رنگ‌آمیزی گرم و تست‌های بیوشیمیایی صورت گرفت. محیط‌های کشت مورد استفاده شامل تریپتون سوی براث، EMB agar بلادآگار، نوترینت آگار، مک کانگی آگار، مانیتول سالت آگار، PSE Agar، استامید براث، MRS agar بود. بعد از انتقال نمونه‌ها، محیط‌های کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند، سپس کلنی‌ها جداسازی و خالص‌سازی گردید و مورد بررسی مورفولوژیکی قرار گرفت. کلنی‌ها پس از رنگ‌آمیزی گرم و بررسی میکروسکوپی، شناسایی گونه‌ها مطابق با دستورالعمل Bergey تست‌های بیوشیمیایی تشخیصی مانند کاتالاز، کوآگولاز، اکسیداز، تخمیر قندها، DNase، سیمون سیترات، 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).

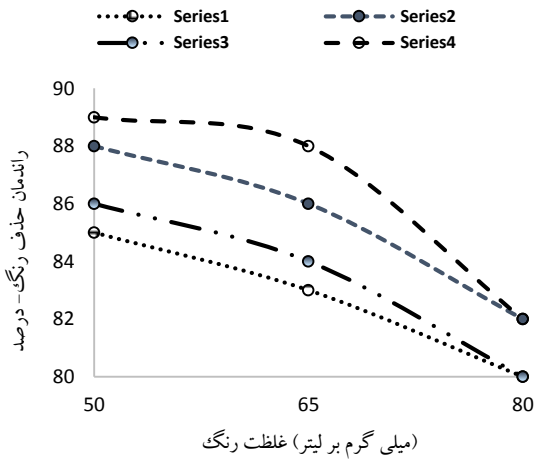
**تصویر شماره ۱:** تصویر حذف بیولوژیکی رنگ راکتیو قرمز ۱۹۵، چپ: رنگ با غلظت اولیه ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر، راست: پس از ۸ روز

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-08-05 ]

## یافته‌ها

*تاثیر غلظت لجن بر حذف رنگ در شرایط هوازی و بی‌هوازی*

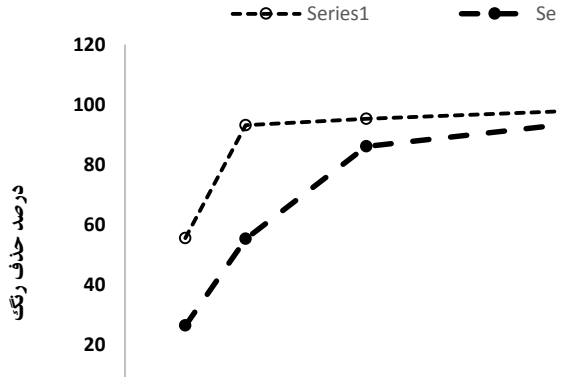
در نمودار شماره ۱، حذف رنگ آزو مورد آزمایش با افزودن ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر از لجن به محیط کشت در دو حالت هوازی و بی‌هوازی در زمان تماس ۸ روز نشان داده شده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود در حالت بی هوازی حذف رنگ در غلظت ۵۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر با استفاده از ۵ میلی‌لیتر لجن به‌ترتیب ۹۳ و ۸۲ درصد و با استفاده از ۱۰میلی‌لیتر لجن به ترتیب ۹۵ و ۸۵ درصد به‌دست آمد. اثر اضافه نمودن حجم لجن بر میزان حذف رنگ معنی‌دار نبود(P>۰/۰۵). اما با افزایش غلظت رنگ از ۵۰ به ۸۰ میلی گرم بر لیتر راندمان حذف رنگ حدود ۱۰ درصد کاهش نشان داد(P<۰/۰۵). در شرایط هوازی حذف رنگ در غلظت‌های ۵۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر با استفاده از ۵ میلی‌لیتر به‌ترتیب ۹۵ و ۸۵ درصد و با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر لجن به ترتیب ۹۸ و ۸۸ درصد به‌دست آمد. اثر اضافه نمودن حجم لجن بر میزان حذف رنگ از نظر آماری معنی‌دار نبود(P>۰/۰۵). در این حالت نیز با افزایش غلظت رنگ راندمان حذف کاهش یافت.




**نمودار شماره ۱:** اثر غلظت اولیه رنگ و مقدار لجن بر راندمان حذف رنگ در دو حالت هوازی و بی‌هوازی در زمان ۸ روز

*تاثیر زمان تماس بر حذف رنگ در شرایط هوازی و بی‌هوازی*

میزان حذف رنگ در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر در شرایط هوازی و بی‌هوازی با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر لجن در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که 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. هم‌چنین ملاحظه می‌شود که در شرایط بی هوازی راندمان حذف رنگ پس از ۴ روز تماس به ۸۶ درصد و پس از ۸ روز به ۹۵ درصد رسید.



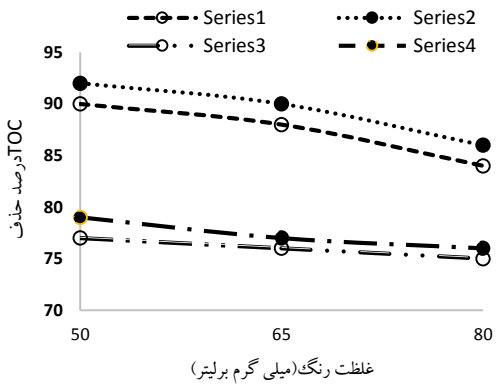

**نمودار شماره ۲:** اثر زمان تماس بر حذف ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر رنگ با کاربرد ۱۰ میلی‌لیتر لجن در دو حالت هوازی و بی‌هوازی

*تاثیر غلظت لجن بر حذف TOC در شرایط هوازی و بی‌هوازی*

در نمودار شماره ۳، حذف TOC در شرایط هوازی و بی هوازی برای غلظت‌های مختلف رنگ با استفاده از ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر لجن در زمان تماس ۸ روز نشان داده شده است. در حالت هوازی برای همه غلظت‌های رنگ، میزان حذف TOC حدود ۸۵ تا ۹۰ درصد به‌دست آمد. مشاهده می‌شود که میزان حذف TOC در مقادیر ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر از لجن تقریبا یکسان بود و اختلاف معنی‌داری نداشت(P>۰/۰۵). همان‌گونه که ملاحظه می‌شود در حالت بی‌هوازی حذف TOC مقدار کم‌تری نسبت به حالت هوازی به‌دست آمد(P<۰/۰۵). در آزمایش COD علاوه بر مواد آلی، ترکیبات غیرآلی و یون‌های فلزی موجود

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-08-05 ]

در نمونه نیز اکسید می‌گردند که به همین دلیل در یک نمونه معین مقادیر COD بیش‌تر از TOC به‌دست می‌آید، اما در اندازه‌گیری TOC تنها کربن آلی مورد سنجش قرار می‌گیرد. لذا برای تعیین میزان مواد آلی، اندازه گیری TOC نسبت به COD برتری دارد. میانگین مقدار TOC اولیه در نمونه‌ها ۴۸۲ میلی‌گرم بر لیتر بود. مقادیر TOC باقیمانده در نمونه‌ها به‌صورت کلی شامل باقیمانده رنگ و مواد آلی مورد سنجش قرار گرفت.



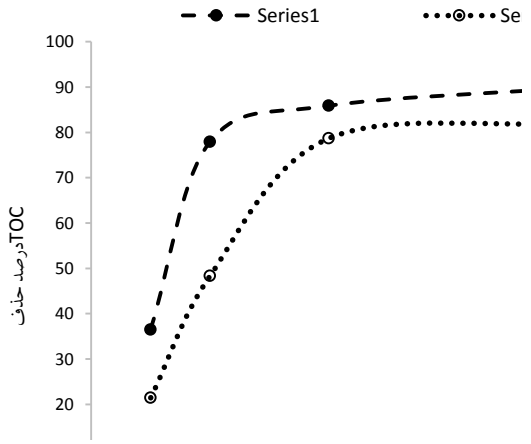

**نمودار شماره ۳:** تاثیر مقدار لجن بر حذف TOC در غلظت‌های مختلف رنگ در دو حالت هوازی و بی‌هوازی در زمان ۸ روز

*تاثیر زمان تماس برحذف TOC در شرایط هوازی و بی‌هوازی*

حذف TOC در زمان تماس‌های مختلف با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر لجن و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر رنگ در شرایط هوازی و بی‌هوازی در نمودار شماره ۴ نشان داده شده است. ملاحظه می‌شود 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 بی‌هوازی پس از ۴ روز زمان تماس حدود ۸۰ درصد بود که پس از ۸ روز تغییر محسوس صورت نگرفت و نسبتا ثابت باقی ماند.

*جداسازی و شناسایی باکتری های حذف کننده رنگ*

پس از مشاهده حذف رنگ در هر یک از شرایط هوازی و بی‌هوازی، نمونه‌برداری باکتریایی انجام گردید و باکتری‌ها مطابق با جدول شماره ۱، شناسایی شدند.




**نمودار شماره ۴:** تاثیر زمان تماس بر حذف TOC در دو حالت هوازی و بی‌هوازی

## 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 بی‌هوازی بود.

*حذف رنگ با استفاده از لجن هوازی*

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

**جدول شماره ۱:** گونه‌های باکتریایی شناسایی شده حذف‌کننده رنگ در شرایط هوازی و بی‌هوازی

| روش | متابولیسم | شکل و رنگ‌پذیری | گونه |
|---|---|---|---|
| با هوادهی لجن | بی‌هوازی اختیاری | باسیل گرم منفی | *اشریشیاکلی* |
| | هوازی | کوکوس گرم مثبت | *استافیلوکوکوس اورئوس* |
| | هوازی | باسیل گرم منفی | *سودوموناس آئروژنوز* |
| بدون هوادهی لجن | بی‌هوازی با قابلیت تحمل اکسیژن، میکروآئروفیلیک | باسیل گرم مثبت | *لاکتوباسیلوس* |
| | بی‌هوازی اختیاری | کوکوس گرم مثبت | *انتروکوکوس فکالیس* |
| | بی‌هوازی اختیاری | باسیل گرم مثبت | *باسیلوس سرئوس* |



[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-08-05 ]

تاثیر محسوسی بر افزایش میزان حذف رنگ نداشت (P>۰/۰۵). 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 میلی‌گرم برلیتر 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 براث و دما ۳۷ درجه سانتی‌گراد و غلظت رنگ در محدوده ۵۰ تا ۲۵۰ میلی‌گرم 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 میلی‌گرم بر لیتر با استفاده از باکتری‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت که بیش‌ترین درصد حذف (۸۰ درصد) مربوط به باکتری *اشیرشیاکلی* و کم‌ترین درصد حذف (۴۸درصد) مربوط به باکتری *سودوموناس* بود. هم‌چنین راندمان حذف رنگ با استفاده از باکتری *استافیلوکوکوس 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 به‌وسیله لجن به‌وجود 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 تاثیر قابل ملاحظه ای بر افزایش راندمان حذف رنگ نداشت (P>۰/۰۵). در یک مطالعه حذف رنگ راکتیو قرمز ۱۹۵ در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر با استفاده از ۴ گونه انتروباکتر بی‌هوازی اختیاری با اضافه نمودن ۱ گرم بر لیتر گلوکز به عنوان کمک سوبسترا 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 به‌دست آمد که با مطالعه حاضر همخوانی دارد(۲۳). در یک تحقیق حذف ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر رنگ راکتیو قرمز ۱۹۵ با استفاده از یک گونه باکتری *انتروکوکوس* جداسازی شده از پساب‌نساجی در شرایط کشت بی‌هوازی استاتیک در زمان تماس ۴ روز در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد 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 صورت‌گرفت.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<۰/۰۵) 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

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-08-05 ]

بعدی که هوازی خواهد بود آمین‌های آروماتیک تجزیه و معدنی‌سازی صورت می‌گیرد. درتحقیقی حذف ۴ نوع رنگ آزو با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با استفاده از کنسرسیوم 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 میکروآئروفیلیک 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 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 به‌ترتیب حذف ۸۸ درصدی رنگ و ۷۰ درصدی TOC صورت گرفته بود مطابقت دارد(۲۷).

*جداسازی و شناسایی باکتری ها*

همان‌طورکه 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 *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژنوز* و در شرایط بی‌هوازی باکتری‌های میکرو آئروفیلیک 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

**جدول شماره ۲:** خصوصیات بیوشیمیایی باکتری‌های شناسایی شده

| گونه‌های باکتریایی شناسایی شده | تست‌های بیوشیمیایی تشخیصی | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | COAG | CAT | TSI | STH | LAC | SUC | MAL | CIT | VP | UR | IND | XL | MAN | H2S | ORN | XYS | GLU | NI | MOT | XI | GR |
| *سودوموناس آئروژنوزا* | - | + | K/K | - | - | - | - | + | - | + | - | + | - | - | + | - | + | + | + | + | - |
| *باسیلوس* | + | + | A/A | + | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + |
| *اشریشیاکلی* | N | + | A/A | - | + | + | - | - | - | - | + | + | + | - | + | + | + | - | + | - | - |
| *استاف اورئوس* | + | + | N D+ | + | + | + | + | + | + | - | N | + | + | - | N | + | + | N | - | - | + |
| *لاکتوباسیلوس* | N | - | N | + | + | + | + | + | - | - | - | + | + | - | N | + | + | N | - | - | + |
| *انتروکوکوس فکالیس* | - | - | N SC+ | + | + | + | + | + | + | - | - | N | + | - | N | N | + | N | - | - | + |

GR = GRAM REACTION, XI= OXIDASE, MOT= MOTILITY, NI= NITRATE,
LYS= LYSINE, GLU= GLUCOSE, XYS= XYLOSE, ORN= ORNITHINE,
$H_2S$, MAN= MANOSE, XL= XYLASE, IND= INDOLE, UR= UREASE,
VP= Voges-Proskauer, CIT= CITRATE, MAL= MALTOSE, SUC= SUCROSE,
LAC= LACTOSE, STH= STARCH HYDROLYSIS, CAT= CATALASE, TSI= Triple Sugar Iron Agar,
COAG= COAGULASE, SC=Esculin, D=DNase Test

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-08-05 ]

چند نمونه می‌توان به جداسازی و شناسایی باکتری *سودوموناس آئروژنوز* از محل تخلیه پساب نساجی، جداسازی باکتری *Staphylococcus* hominis از خاک آلوده به فاضلاب نساجی و جداسازی باکتری هوازی *باسیلوس سرئوس* از خاک آلوده به پساب نساجی اشاره نمود(۱۹،۲۰،۲۸). 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 حذف کننده رنگ نیز عمدتا از نوع بی‌هوازی اختیاری و یا میکروآئروفیلیک شناسایی شدند. مشخص نمودن 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 بدین‌وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه به خاطر تامین مالی این طرح تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

## References

1. 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.
2. 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.
3. 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
4. Benkhaya S, M'rabet S, El Harfi A. Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes. Heliyon 2020; 6(1): e03271.
5. 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.
6. 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).
7. Dianati Tilaki R, Kavyani S, Hassani Nejad-Darzi SK, Yazdani Cahrati J. Kinetics Study onAdsorption 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)
8. 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.
9. Pinheiro LRS, Gradíssimo DG, Xavier LP, Santos AV. Degradation of azo dyes: bacterial potential for bioremediation. Sustainability 2022; 14(3): 1510.

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-08-05 ]

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 Rhodopseudomonas 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. Decolorizationand Degradationof C.I. Reactive Red 195 by Enterobactersp. 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

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-08-05 ]

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.

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-08-05 ]