بررسی خاصیت رنگبری قارچ *Trametes hirsuta* بر رنگ صنعتی Remazol Black 5

زهرا علیشاهی[1*]، محمود ذکایی[1]، حسین عشقی[2]، ابوالفضل درودی[2] و الهه طبسی[1]

* پست الکترونیکی:alishahi.zahra@gmail.com

۱. دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

۲.دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی

چکیده

به منظور بررسی توانایی رنگبری قارچ *Trametes hirsuta* از گروه قارچهای ایجادکننده پوسیدگی سفید در گیاهان، این قلرچ در محیط مایع در حضور رنگ صنعتی Remazol Black 5 در غلظتهای ۲۵ ppm، ۵۰ppm و ۷۰ppm کشت داده شد. طیف جذبی محیط کشت فیلتر شده و جدا شده از قارچ در ۴ نوبت و بعد از گذشت ۸، ۱۶، ۲۴ و ۳۲ روز از زمان کشت، توسط دستگاه اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار گرفت. محاسبات آماری نشان داد با گذشت زمان و افزایش روزهای کشت، میزان حذف رنگ (Removal Efficiency) افزایش یافت. همچنین مشخص شد میزان حذف رنگ، توسط آنزیمهای قارچی با افزایش غلظت رنگ کاهش می یابد. علاوه بر آن مشخص شد افزایش غلظت باعث کاهش رشد میسلیوم قارچی میشود که نشان دهنده سمیت رنگ در غلظتهای بالای این رنگ برای قارچ مورد نظر است.

واژه های کلیدی: قارچهای ایجاد کننده پوسیدگی سفید، Remazol Black 5، خاصیت رنگبری، *Trametes hirsuta*

۱- مقدمه

ترکیبات آروماتیک طیف وسیعی از موادی را تشکیل میدهند که امروزه در صنایع مختلف مورد استفاده قرار میگیرند. موادی مثل Polychlorinated biphenyls (PCB)، Polycyclic Aromatic Hydrocarbons، حشره کش ها و رنگهای سنتزی (Novotný et al, 2004; Kirby et al, 2000). در این میان رنگهای سنتزی گروه بزرگی هستند که در صنایع مختلف مثل رنگرزی و پارچه بافی، چاپ کاغذ، داروسازی و صنایع غذایی مصرف میشوند (Eichlerova et al, 2005; Palmieri et al, 2005). معمولا حذف این موادرنگی براساس روشهای فیزیکی و شیمیایی است. روشهایی مانند Adsorption، Concentration، Incineration . این روشها گران هستند و معمولا خود باعث تولید مواد خطرناکی میشوند و بنابراین استفاده از روشهایی مثل تجزیه زیستی که دوستدار طبیعت است بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (Novotný et al, 2004; Mohammdi & nasernejad, 2008) یکی از روشهای زیستی استفاده از قارچهای ایجاد کننده پوسیدگی سفید در درختان (white rot fungi) است که نسبت به روشهای شیمیایی و فیزیکی بسیار ارزانتر میباشد (Yesilada et al, 2002). این گروه قارچی با تولید و ترشح آنزیمهای غیراختصاصی و خارج سلولی لیگنین را که ساختار آروماتیک دارد تجزیه میکنند و به دلیل غیراختصاصی بودن این آنزیمها، گروه وسیعی از مواد آروماتیک میتوانند به عنوان سوبسترای آنزیم قارچی مورد استفاده قرار گیرند (Rodríguez Couto et al, 2006; Murugesan et al, 2007). خارج سلولی بودن این آنزیمها باعث شده است که قارچهای ایجادکننده پوسیدگی سفید نسبت به باکتری ها که برای تجزیه مواد آروماتیک نیاز به جذب آنها دارند مقاوم تر باشند و کمتر تحت تاثیر سمیت ناشی از غلظت زیاد ماده سمی باشند (Madhavi et al, 2007; Robinson et al, 2001). مهمترین آنزیمهای قارچی تجزیه کننده آنزیم منگنز پراکسیداز (MnP)، لاکاز (Lac) و لیگنین پراکسیداز (LiP) میباشند (Tekere et al, 2001; Asgher et al, 2008; Trovaslet et al, 2007; McErlen et al, 2006; Domínguez et al, 2005).

در همین راستا برای بررسی توانایی رنگبری قارچهای ایجادکننده پوسیدگی سفید در ایران، قارچ *Trametes hirsuta* که از گروه قارچهای منفذدار بشمار می آید و در جنگل های شمال ایران به فراوانی یافت میشود، انتخاب شد.

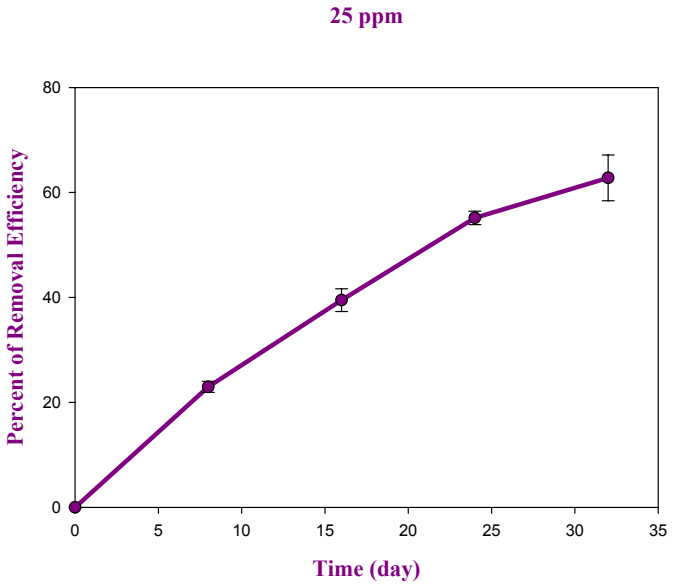
۲- مواد و روشها

در این آزمایش قارچ *Trametes hirsuta* از خانواده *Polyporaceae* ، از خانواده *Polyporaceae* که از گروه بازیدیومیستهاست انتخاب شد. ابتدا قارچ در محیط کشت مایع رشد داده شد و بعد از رشد کافی در دمای ۴°C نگهداری شد. برای انجام آزمایش محیط مایع حاوی مواد معدنی مورد استفاده قرار گرفت (mohorčič et al, 2005). بعد استریل کردن محیط کشت توسط اتوکلاو، رنگ Remazol Black 5 که یکی از رنگهای مورد استفاده در صنعت نساجی است در غلظتهای ۲۵ ppm، ۵۰ppm و ۱۰۰ppm به ارلنهای حاوی محیط کشت اضافه شد. سپس به هر ارلن ۳دیسک ۵mm اضافه شد و در دمای ۳۵°C در انکوباتور قرار داده شد. در روزهای هشتم، شانزدهم، بیست و چهارم و سی و دوم کشت، طیف جذبی محیط کشت جداشده از قارچ توسط کاغذ صافی، بوسیله دستگاه اسپکتوفتومتری مورد بررسی قرار گرفت و بااستفاده از معادله کالیبراسیون، درصد حذف رنگ بدست آمد.

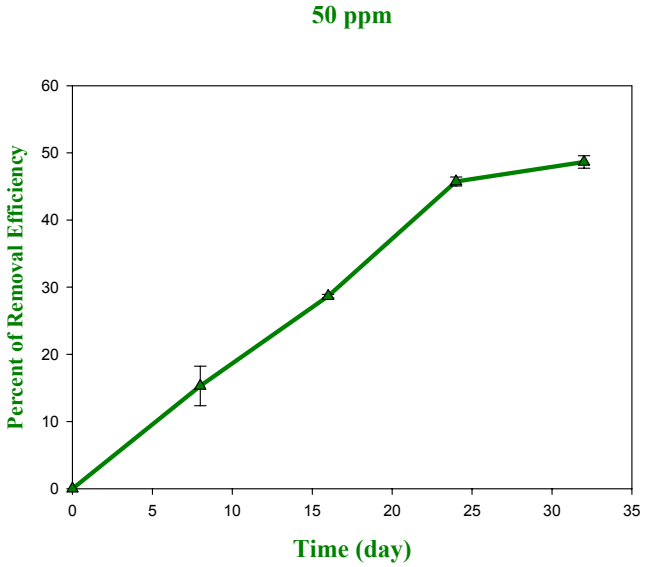
۳- نتایج

قارچ *Trametes hirsuta* رنگ RB5 را در غلظت ۲۵ ppm در روزهای هشتم بعد از کشت، ۲۲/۹۶٪، در روز شانزدهم ۳۹/۴۸٪ ، روز بیست وچهارم ۵۵/۱۶٪ و در روز سی و دوم بعد از کشت، ۶۵/۸۶٪ را رنگبری کرده است (شکل ۱).میزان رنگبری در غلظت ۵۰ppm به ترتیب روز هشتم ۱۵/۳۰٪ ، روز شانزدهم ۲۸/۶۷٪، روز بیست و چهارم ۴۵/۷۴٪ و روز سی و دوم ۴۸/۶۵٪ بدست آمد (شکل ۲).

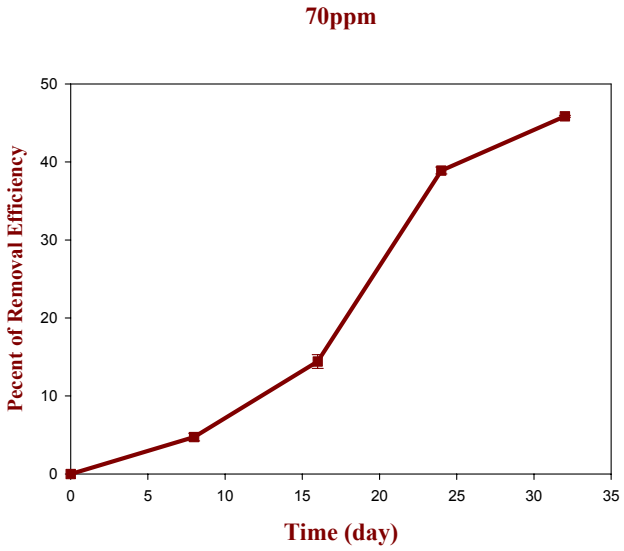
و در نهایت در غلظت ۷۰ppm میزان رنگبری رنگ RB5 توسط قارچ *T. hirsuta* روز هشتم ۴/۷۴٪، رنگ رنگبری شد، روز شانزدهم ۱۴/۴۲٪ ، روز بیست و چهارم ۳۸/۹۰٪ و روز سی ودوم ۴۵/۸۵٪ بدست آمد (شکل ۳).



شکل ۱. میزان رنگبری رنگ RB5 توسط *T. hirsute* در غلظت ۲۵ppm

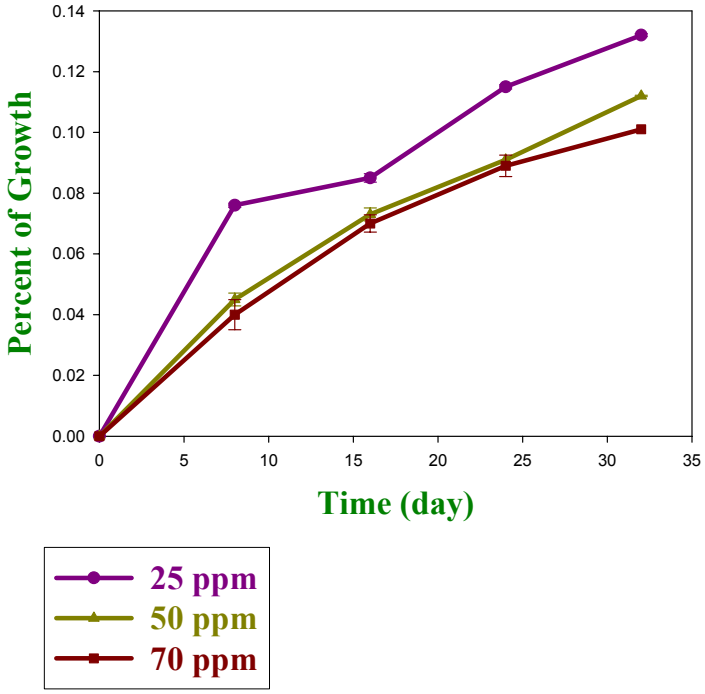


شکل ۲. میزان رنگبری رنگ RB5 توسط قارچ *T. hirsute* در غلظت ۵۰ppm



شکل ۳. مقدار رنگبری رنگ RB5 توسط قارچ *T. hirsute* در غلظت ۷۰ppm

همچنین بررسی وزن خشک میسلیوم بدست آمده در روزهای هشتم، شانزدهم، بیست و چهارم و سی ودوم نشان میدهد که با افزایش غلظت میزان رشد میسلیو کاهش می یابد که ناشی از سمیت این رنگ در غلظتهای بالا برای قارچ مورد نظر می باشد (شکل ۴).



شکل ۴. مقدار وزن خشک میسلیوم قارچ *T. hirsute*

۴- بحث و نتیجه گیری و پیشنهادات

نتایج نشان میدهند که رنگ RB5 با افزایش روز کشت قارچ *T. hirsuta*، به میزان بیشتری تجزیه میشود. در غلظت ۲۵ppm در هشت روز اول کشت میزان بیشتری رنگ نسبت به غلظتهای ۵۰ppm و ۷۰ppm تجزیه شد که نشان میدهد میزان حلالیت رنگ در غلظتهای بالا کاهش می یابد. از طرفی با افزایش غلظت رنگ میزان رنگبری کاهش می یابد که ناشی از کاهش فعالیت آنزیمی با افزایش غلظت برای قارچ مذکور می باشد. همچنین رنگ RB5 در غلظتهای بالا برای قارچ *T. hirsuta* سمی است و باعث کاهش رشد و کاهش وزن خشک میسلیوم میگردد (شکل ۴).

در نهایت پیشنهاد میشود با استفاده از گونه های مختلف قارچی که در ایران بوفور یافت میشوند و ابداع مکانیسمهایی برای رشد دادن قارچها در مقیاس صنعتی، روشهایی مقرون بصرفه برای از بین بردن مواد آروماتیک موجود در پسابهای صنعتی قبل از ورود به محیط زیست طراحی کرد.

مراجع

[1] Novotný, C. Svobodová, K. Erbanová, P. Cajthaml, T. Kasinath, A. Lang, E. Šašek, V. Ligninolytic fungi in bioremediation: extracellular enzyme production and degradation rate. Soil Biology & Biochemistry 2004; 36: 1545-1551.

[2] Kirby, N. Marchant, R. and McMullan, G., Decolourisation of synthetic textile dyes by *Phlebia tremellosa*, FEMS Microbiology Letters 2000; 188: 93-96.

[3] Eichlerova, I. Homolk, L. Nerud, F. Decolorization of high concentration of synthetic dyes by the white rot fungus *Bjerkandera adusta* strain CCBAS 232. Dyes and Pigments 2007; 75; 38-44.

[4] Palmieri, G. Cennamo, G. Sannia, G. Remazol Brilliant Blue R decolourisation by the fungus *Pleurotus ostreatus* and its oxidative enzyme system. Enzyme and Microbial Technology. 2005; 36; 17-24.

[5] Novotný, C. Svobodová, K. Kasinath, A. Erbanová, P. Biodegradation of synthetic dyes by *Irpex lacteus* under various growth conditions. International Biodeterioration & Biodegradation. 2004; 54: 215-223.

[6] Mohammadi, and Nasernejad, B. Enzymatic degradation of anthracene by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* immobilized on sugar bagasse. Journal of Hazardous Mterials 2008.

[7] Yesilada, O. Cing, S. Asma, D. Decolourisation of textile dye Astrazon Red FBL by *Funalia trogii* pellets. Bioresource Technology. 2002; 81: 155-157.

[8] Rodríguez Couto, S. Rosales, E. Sanromán, M. Decolourization of synthetic dyes by *Trametes hirsuta* in expanded-bed reactors. Chemosphere. 2006; 62; 1558-1563.

[9] Murugesan, K. Nam, I. Kim, Y. Chang Y. Decolorization of reactive dyes by a thermostable laccase produced by *Ganoderma lucidium* in solid state culture. Enzymes and Microbial Technology. 2007; 40: 1662-1672.

[10] Madhavi, S. Revankar, S. and Lele, S. S. Synthetic dye decolorization ny white rot fungus, *Ganoderma* sp.WR-1. Bioresource Technology 2007; 98: 775-780.

[11] Robinson, T. McMullan, G. Marchant, R. and Nigam. P., Remediation of dyes in textile e.uent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative, Bioresource Technology 2001;77: 247-255.

[12] Tekere, M. Mswaka, A. Y. Zvauya, R. Read, J. S. Growth, dye degradation and ligninolytic activity studies on Zimbabwean white rot fungi. Enzymes and Microbial Technology. 2001; 28: 420-426.

[13] Asgher, M. Bhatti, H. N. Ashraf, M. Legge, R. L. Recent developments in biodegradation of industrial pollutants by white rot fungi and their enzyme system. Bioderadation 2008.

[14] Trovaslet, M. Enaud, E. Guiavarc'h, Y. Corbisier, A. Vanhulle, S. Potential of *Pycnoporus sanguineus* laccase in bioremediation of wastewater and kinetic activation in the presence of an anthraquinonic acid dye. Enzymes and Microbial Technology. 2007; 41: 368-376.

[15] McErlean, C. Marchant, R. and Banat, I. M. An evaluation of soil colonization potential of selected fungi and their production of ligninolytic enzymes for use in soil bioremediation applications. Antonie van Leeuwenhoek 2006; 90: 147-158.

[16] Domínguez, A. Rodríguez Couto, S. and Sanromán, M. Á. Dye decolorization by *Trametes hirsuta* immobilized into alginate beads. World Juornal of Microbiology & Biotechnology 2005; 21: 405-409.

[17] Mohorčič, M. Teodorovič, S. Golob, V. Friedrich. J. . Fungal and enzymatic decolourisation of artificial textile dye baths. Chemosphere 2005; 63: 1709-1717.