علوم و تکنولوژی محیط زیست ، دوره سیزدهم، شماره چهار، زمستان ۹۰

رنگ زدایی رنگ زاهای نساجی توسط فانروکایت کریسوسپوریوم تثبیت یافته بر سنگ معدنی آذرین

رسول قاسم زاده[۱*]

rslghasemzadeh@yahoo.com

افضل کریمی[۲]

فرزانه وهابزاده[۳]

تاریخ دریافت:۸۶/۱۰/۵ **تاریخ پذیرش:۸۷/۵/۵**

چکیده

در مطالعه حاضر قارچ ریسه سفید فانروکایت کریسوسپوریوم[۴] به صورت کشت آزاد و تثبیت یافته بر سنگ معدنی آذرین به حالت های ساکن و همزن دار، با استفاده از محیط کشت با منبع محدود کننده نیتروژن رشد داده شد تا توانایی آن در تخریب انواع مختلف رنگ زاهای نساجی مورد مطالعه قرار گیرد. این قارچ توانست گروه های ساختاری مختلف رنگ زاها شامل: آزوئیک، راکتیو، اسیدی، بازی، دیسپرس و متال کمپلکس با غلظت ۴۵ ppm را در طول ۱۵-۷ روز به طورکامل رنگ زدایی کند. به غیر از متال کمپلکس که تنها از طریق جذب زیستی رنگ زدایی شد، گروه های رنگ زای دیگر توسط آنزیم های لیگنیناز و منگنز پراکسیداز تولید شده توسط قارچ تجزیه شدند.

در طول فرآیند رنگ زدایی، فعالیت آنزیم های منگنز پراکسیداز و لیگنیناز مشاهده گردید. حداکثـــر فعالیت هر یک از این آنزیم ها به ترتیب در روزهای ۷ و ۹ برابر با ۱۷۴ U/L و ۵۰۰ U/L در محیط کشت تثبیت یافته و لرزان بود.

واژه های کلیدی: رنگ زدایی، فانروکایت کریسوسپوریوم تثبیت شده، سنگ آذرین، لیگنیناز، منگنز پراکسیداز

۱- مربی گروه مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان*(مسئول مکاتبات).

۲- استاد یار گروه شیمی کاربردی و مهندسی شیمی، دانشکده شیمی، دانشگاه تبریز

۳- استاد گروه صنایع غذایی و بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی امیر کبیر

۴ - phanerochaete chrysosporium

مقدمه

امروزه بالغ بر ۱۰۰۰۰ نوع رنگ زای مختلف با مقدار بیش از ۷۰۰۰۰۰ تن در سال به طور تجاری تولید می شود و ۵ تا ۱۰٪ از این مقدار به روش هـای مختلف وارد پسـاب هـا می گردد (۱). تخلیه این مواد در محیط زیست علاوه بر سمیت، به دلیل رنگی بودن از نفوذ نور آفتاب در عمق آب ها کاسته و باعث افت فعالیت فتوسنتزی اکوسیستم های آبی و پایین آمدن غلظت اکسیژن محلول و افزایش دما در آن ها می شود. ظهور این پدیده می تواند منجر به ایجاد شرایط بی هوازی و مرگ سازواره های هوازی آبی و دریایی شود.

روش های معمولی تصفیه در حذف آلاینده های رنگی موثر نیستند و تصفیه فیزیکوشیمیایی (جذب سطحی، تجزیه شیمیایی، فوتوکاتالیز، اوزوناسیون و غیره) نیز به دلیل هزینه سنگین و فقدان کارایی لازم عمومیت نـدارنـد (۲). روش های زیستی موجود نیز در رنگ بری پساب ها به خصوص برای ترکیبات دارای وزن ملکولی زیاد، تاثیر چندانی ندارند و این گونه ترکیبات توسط باکتری ها به راحتی تجزیه نمی شوند. قارچ های ریسه سفید توان تجزیه طیف وسیعی از مواد شیمیایی از جمله رنگ زاها را دارند و می توانند واکنش تخریب را تا تشکیل آب و دی اکسید کربن پیش ببرند (۳). مزیت دیگر استفاده از این قارچ ها این است که آن ها نیازی به آماده سازی برای آلاینده به خصوص ندارنـد و همچنین می تواننـد آلاینده های با مقدار بسیار کم را نیز به طور کامل تجزیه نمایند.

عملیات رنگ بری توسط قارچ های ریسه سفید از طریق سیستم لیگنینولیتیک آن ها صورت می گیرد که در شرایط محدودیت منابع کربن یا نیتروژن فعال می شود (۴). آنزیم های لیگنینولیتیک شامل لیگنیناز (LiP, E. C 1.11.1.14) منگنز پر اکسید از (MnP, E. C. 1.11.1.13) و لکاز (Lac, E. C. 1.10.3.2) می باشند و به طور غیر اختصاصی توان تجزیه طیف وسیعی از آلاینده ها را حتی در مخلوط پیچیده دارند. از آن جا که این آنزیم ها خارج سلولی هستند، محدودیت نفوذ سوبسترا به داخل سلول برای تجزیه که عمدتاً در مورد باکتری ها مطرح است، وجود ندارد. همچنین طبیعت خارج سلولی بودن این آنزیم ها موجب مقاومت قـارچ در مقـابل غلظت های بالای آلاینـده هـا می شود (۵).

تثبیت سلول های قارچی روی بستر جامد به شکل لایه نازک، سطح تماس آن ها را با محیط مغذی و اکسیژن افزایش می دهد. به طور خلاصه تثبیت سلولی روی پایه جامد، زمینه رشد بهتری برای قارچ فراهم می سازد و باعث تولید آنزیم بیشتری می گردد (۶). از آن جا که فعالیت آنزیمی این قارچ ها در انتهای فاز رشد و ابتدای متابولیسم ثانـویه ظاهـر می شود (۷) و با توجه به پایین بودن سرعت رشد یا توقف آن در این مرحله، به شکل مناسبی باید از خروج سلول ها در طول فرآیند پیوسته به خصوص در نرخ رقیق سازی بالا، جلوگیری به عمل آید. تثبیت روی بستر جامد می تواند راهکار موثری به این مساله ارایه نماید.

سنگ های معدنی آذرین حاصل از گدازه های آتشفشانی واجد شرایط به عنوان پایه مناسب هستند و با توجه به ناچیز بودن هزینه تهیه و سهولت دسترسی به آن و عدم تجزیه توسط میکرب یا تولید ترکیبات احیاناً سمی (به دلیل طبیعت معدنی و خنثای پایه و فقدان عناصر سنگین در ترکیب آن)، می تواند منجر به کاهش مشکلات تولید آنزیم و اجرای عملیات زیستی در مقیاس بالا گردد. ریخت ظاهری متخلخل به همراه ساختار شیمیایی سنگ آذرین و تکثیر رشته ای فانروکایت کریسوسپوریوم، زمینه را برای اتصال با روش های جذب سطحی و اتصالات عرضی مهیا می سازد.

هدف از اجرای این تحقیق بررسی اثر فانروکایت کریسوسپوریوم در رنگ زدایی گروه های مختلف رنگ زا در کشت آزاد و تثبیت یافته بر سنگ آذرین است. همچنین اثر شرایط مختلف عملیاتی بر رنگ زدایی و تولید آنزیم های پراکسیداتیو نیز مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش ها

۱. ریزسازواره

فانروکایت کریسوسپوریوم (PTCC: 1557) از کلکسیون میکربی سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. بعد از کشت این قارچ بر روی عصاره مالت آگار ۲/۵٪ در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ روز، اسپورهای تکثیر یافته تا زمان استفاده در شرایط تاریک و دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه داری شدند و زیرکشت ها به طور مکرر هر دو ماه یک بار تهیه گردیدند (۶).

۲. ترکیب محیط کشت

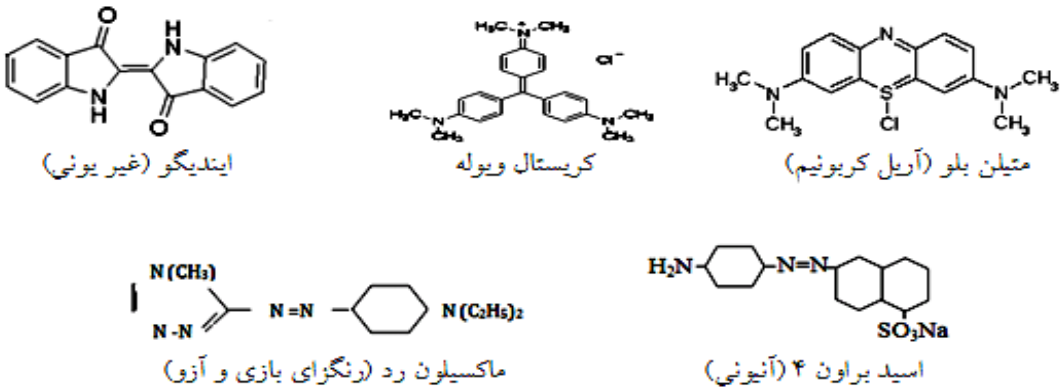
ترکیب هر لیتر محلول آبی محیط کشت قارچ فانروکایت کریسوسپوریوم با منبع محدود کننده نیتروژنی بر اساس منابع علمی موجود (۸) به صورت جدول ۱ تهیه گردید.

۳. معرف ها و مواد شیمیایی

علاوه بر معرف های شیمیایی، از محلول آبی پیگمنت متال۳ و مواد رنگ زای گروه های دیگر (شکل ۱) با غلظت های مختلف به عنوان آلاینده های مقاوم مدل استفاده شد. همه مواد از شرکت های معتبر خارجی تهیه شدند.

جدول ۱- ترکیب محیط کشت فانروکایت کریسوسپوریوم با منبع نیتروژنی محدود کننده رشد (۸)

ماده شیمیایی	غلظت (گرم بر لیتر)	ماده شیمیایی	غلظت (گرم بر لیتر)
$AlK(SO_4)_2.12H_2O$	۰/۰۰۰۶	$MgSO_4.7H_2O$	۰/۵
$CaCl_2$	۰/۱	$MnSO_4$	۰/۰۳
$CoCl_2$	۰/۰۰۶	$Na_2MoO_4.2H_2O$	۰/۰۰۰۶
$CuSO_4$	۰/۰۰۶	NaCl	۰/۰۶
di-Ammonium tartarate ($C_4H_{12}N_2O_6$)	۰/۲	Thiamin	۰/۰۰۱
$FeSO_4.7H_2O$	۰/۰۰۶	Tween 80	۰/۵
Glucose ($C_6H_{12}O_6$)	۱۰	Veratryl alcohol (3, 4-Dimethoxybenzyl alcohol)	۰/۰۷
H_3BO_3	۰/۰۰۰۶	Yeast extract	۰/۰۱۲
KH_2PO_4	۲	$ZnSO_4.H_2O$	۰/۰۰۶



شکل ۱- ساختار ملکولی رنگ زاهای مورد استفاده در این تحقیق

۴. تثبیت *فانروکایت کریسوسپوریم* بر سنگ آذرین

کلوخه های اولیه سنگ آذرین (هر یک حدود ۱۰۰ گرم و با قطر تقریبی ۱۰ سانتی متر) از بازار داخلی تهیه و به قطعات کوچک تر کروی شکل با قطر تقریبی ۱ سانتی متر خرد شدند. قطعات حاصل به مدت چند دقیقه به ترتیب در محلول های آبی یک نرمال NaOH و نیز H_2So_4 غوطه ور شده و سپس عمل شستشو با آب و به دنبال آن با آب مقطر انجام گرفت. ارلن مایر محتوی محیط کشت، رنگ زا و سنگ آذرین سترون شده، پس از تلقیح با سوسپانسیون اسپور قارچ به مقدار حجمی ۱۰٪، در شیکرانکوباتور قرار داده شد. عملیات تثبیت و رنگ زدایی همزمان با رشد قارچ به انجام رسید (۶).

۵. رنگ زدایی نیمه پیوسته مکرر

در این عملیات کلیه مراحل مشابه عملیات ناپیوسته اجرا گردید و تنها در زمان های مختلف پس از تکمیل رنگ زدایی، چند قطره از محلول رنگ زای غلیظ (۱۰۰۰۰ ppm) به محیط کشت اضافه شد تا دوباره به غلظت اولیه خود برسد (۴۵ ppm).

۶. سنجش فعالیت لیگنیناز (لیگنین پراکسیداز، LiP)

سنجش فعالیت این آنزیم با استفاده از روش مندرج در مرجع (۸) و بر اساس اکسایش وراتریل الکل به وراتریل آلدئید صورت گرفت. بر این اساس یک واحد فعالیت آنزیمی (U) مقداری است که بتواند اکسیداسیون کاتالیتیکی یک میکرومول وراتریل الکل را در مدت زمان یک دقیقه در دمای محیط انجام دهد. در طول موج ۳۱۰ nm، ضریب خاموشی (ε) ماده تشکیل یافته $LM^{-1}cm^{-1}$ ۹۳۰۰ و طول سل اسپکتروفوتومتر ۱ cm بود.

۷. سنجش فعالیت منگنز پراکسیداز (MnP)

فعالیت منگنز پراکسیداز بر اساس اکسایش ۱ mM از سولفات منگنز در محلول حاوی ۵۰ mM سدیم مالونئات (pH = ۴/۵) و ۰/۱ mM پراکسید هیدروژن سنجیده شد (۲). کاتیون منگنز III حاصل از اکسایش سولفات منگنز توسط آنزیم، با بنیان مالونئات ترکیب پیچیده (کمپلکس) تشکیل می دهد که در ۲۷۰ nm جذب دارد. واکنش بلافاصله بعد از اضافه کردن پراکسید هیدروژن شروع می گردد (ضریب خاموشی مربوط به این کمپلکس برابر $LM^{-1}cm^{-1}$ ۱۱۵۹۰ است). فعالیت یک واحد آنزیمی منگنز پراکسیداز مقداری است که قادر باشد تشکیل یک میکرومول از این کمپلکس را در مدت زمان یک دقیقه کاتالیز کند.

۸. تعیین غلظت باقی مانده رنگ زا

مقدار جذب هر رنگ زا در زمان های مختلف و در مقابل محیط کشت عاری از رنگ به عنوان شاهد، در طول موج مربوط به حداکثر جذب آن رنگ زا قرائت گردید. مقدار باقی مانده رنگ در هر لحظه از تقسیم مقدار جذب قرائت شده به مقدار جذب اولیه آن به دست آمد و به صورت درصد بیان شد.

نتایج و بحث

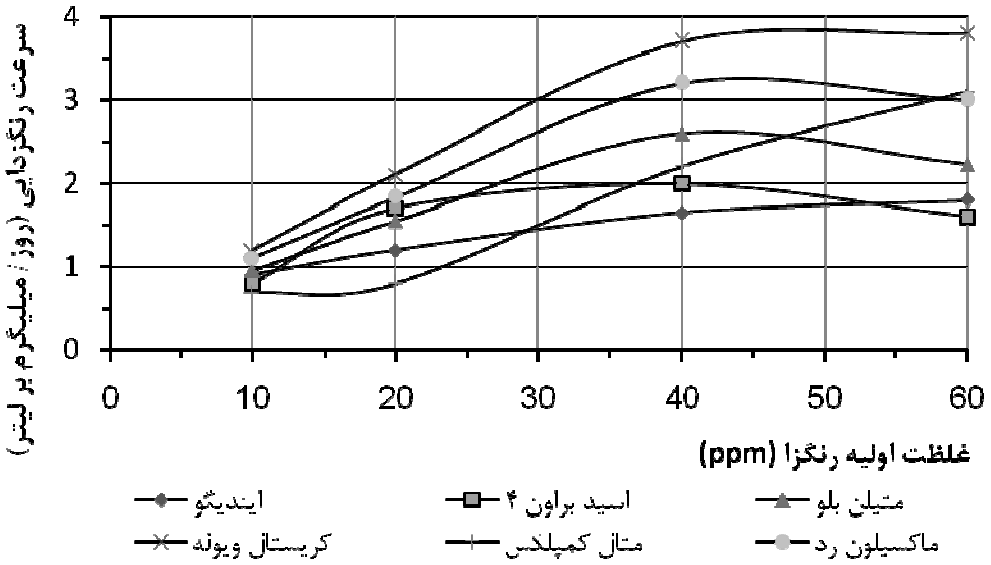
۱. اثر غلظت اولیه رنگ زا

سنجش رنگ باقی مانده در مایع محیط کشت ریزسازواره حاوی هر یک از رنگ زاها (شکل ۱ و متال کمپلکس) نشان از کاهش شدید شدت رنگ محیط کشت در همان روزهای اولیه و رنگی شدن توده سلولی داشت. به عبارت دیگر به موازات رشد سلول در محیط، پدیده جذب رنگ زا توسط توده سلولی به وقوع می پیوندد. بنابراین مقدار و سرعت جذب رنگ زا در این مرحله بستگی به مقدار و سرعت رشد توده سلولی و سطح تماس آن با محیط مایع حاوی رنگ زا دارد. به طوری که در محیط کشت تثبیت یافته یا آزاد لرزان، به دلیل افزایش سطح تماس ریز سازواره با محیط رنگی، سرعت کاهش غلظت رنگ محیط بیشتر و زمان تکمیل رنگ زدایی کمتر از محیط کشت های ساکن و آزاد بود (جدول ۲). حداقل تا روز سوم عملیات هیچ آنزیم پراکسیداز در محیط کشت تولید نمی شود (۶و ۸) بنابراین می توان انتظار داشت که سرعت جذب رنگ زا به خواص سطحی و فیزیکی آن و نوع تعامل با

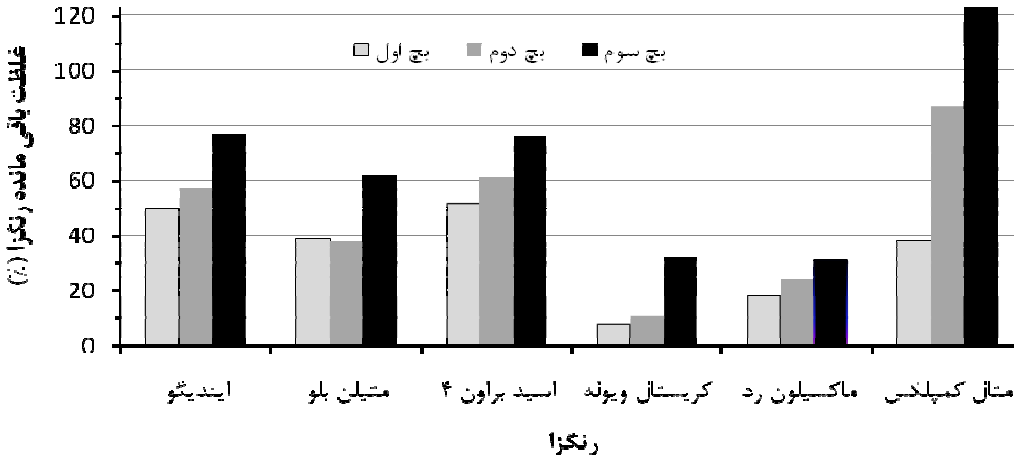
توده میکربی مربوط است و ساختار شیمیایی و مقاومت آن در برابر آنزیم های تجزیه کننده نقشی در این مرحله از رنگ زدایی (جذب زیستی رنگ زا) ندارد.

بر اساس نتایج حاصل (شکل ۲)، افزایش غلظت اولیه رنگ زا (در محدوده ppm ۱۰ تا ppm ۶۰) در محیط کشت ابتدا موجب بالاتر رفتن سرعت متوسط رنگ زدایی گردید تا در غلظت حدود ppm ۴۵ به حداکثر مقدار خود رسید. سپس به تدریج کاهش یافت. اغلب رنگ زاهای مورد مطالعه، در غلظت های بیشتر از ppm ۴۵ اثر بازدارندگی بر روی سرعت این فرآیند داشتند. همچنین زمان اضافه کردن رنگ زا به محیط کشت قبل از تلقیح اسپور قارچ یا اضافه کردن آن پس از رشد رشته ها (روز دوم بعد از تلقیح محیط کشت) تغییر قابل توجهی در سرعت رنگ زدایی ایجاد نمی کند (۶).

در روزهای چهارم به بعد، فعالیت آنزیم های پراکسیداز قابل توجه بود (شکل ۴) و فعل و انفعال این آنزیم ها با رنگ زاهای مورد مطالعه موجب تجزیه آن ها گشت (مرحله تجزیه زیستی). نشان داده شده است که تجزیه رنگ زاها توسط این آنزیم ها کامل بوده و تا تشکیل آب و دی اکسید کربن پیشرفت می کند (۱). رنگ زای متال کمپلکس به دلیل خصلت ترکیب شیمیایی آن، قابل تجزیه توسط آنزیم ها نیست و ساز و کار حذف آن تنها از طریق جذب در توده میکربی می باشد.



شکل ۲- اثر غلظت اولیه رنگ زاهای مورد مطالعه بر سرعت رنگ زدایی در محیط کشت با محدودیت منبع نیتروژن در شرایط ساکن (سلول های آزاد)



شکل ۳- رنگ زدایی مکرر رنگ زاهای مختلف در کشت ساکن و آزاد فانروکایت کریسوسپوریوم

۲. اثر شرایط عملیاتی

مطالعه اثر همزدن محیط کشت نشان داد که به طور کلی در کشت لرزان (۴۵ rpm) فانروکایت کریسوسپوریوم در مقایسه با کشت ساکن، فعالیت رنگ زدایی بهتری (سرعت رنگ زدایی بیشتر) انجام می گیرد (جدول ۲). این مشاهده برای هر دو مورد کشت های تثبیت یافته و سلول های آزاد فانروکایت کریسوسپوریوم صادق است. در این کشت ها تا روز هفتم تا حدود ۶۵٪ و ۸۰٪ غلظت اولیه رنگ زا به ترتیب توسط سلول های تثبیت یافته و سلول های آزاد از بین رفت. رشد آزاد قارچ در محیط کشت ساکن به صورت توده ای و در شرایط همزن دار به شکل قطعات کوچک عدسی شکل است و در روش اخیر سطح تماس بیشتری با محیط حاوی رنگ زا ایجاد می کند (۶). همچنین ریزسازواره مورد مطالعه در شرایط همزن دار آنزیم بیشتری نیز تولید می کند (۱۰). بنابراین بدیهی است که در این شرایط فعالیت کاتالتیکی بهتری داشته باشد. یک افت ناگهانی در رنگ محیط کشت سلول های آزاد در کشت لرزان در فاصله زمانی روزهای هشتم و نهم نیز مشاهده گردید که دلیل آن فعالیت قابل ملاحظه آنزیمی محیط در این فاصله زمانی است.

در جدول ۲ مشاهده می گردد که زمان تکمیل رنگ زدایی به طور کلی در کشت های تثبیت یافته نسبت به کشت های آزاد و در شرایط لرزان نسبت به شرایط ساکن کوتاه تر است. به عبارت دیگر تثبیت ریزسازواره به دلیل کمک به پخش آن در محیط کشت موجب تسهیل پدیده های انتقال جرم رنگ زا و مواد مغذی و اکسیژن می شود. در این شرایط آنزیم بیشتری نیز تولید شد (شکل های ۴و۵) و در نتیجه سرعت رنگ زدایی نسبت به حالت های دیگر افزایش یافت.

۳. رنگ زدایی نیمه پیوسته (مکرر)

شکل ۳ نشان می دهد که در بچ های دوم و سوم عملیات مکرر رنگ زدایی، توانایی رنگ زدایی محیط کشت کاهش یافت. با افزایش سن محیط کشت و عدم کنترل عوامل تاثیرگذار مانند مواد مغذی، سطح فعالیت آنزیم های پراکسیداز کاهش می یابد (۶) در نتیجه کارایی سیستم نیز در تجزیه رنگ زاها افت پیدا کرده و به تدریج از بین می رود. رنگ زدایی متال کمپلکس به دلیل عدم تجزیه آنزیمی، به مرور در بچ های دوم و سوم، با جذب در توده ریزسازواره، آن را اشباع می کند و همان طور که در شکل ۳ ملاحظه می گردد، تنها ساز و کار رنگ زدایی این رنگ زا (جذب زیستی) نیز به تدریج متوقف گردید. به علت احتمال مرگ ریز سازواره در بچ سوم رنگ زدایی متال کمپلکس، مقداری از رنگ زای جذب شده در بچ های قبلی نیز

به محیط کشت بازترشح می شود. بنابراین غلظت رنگ زای اندازه گیری شده (شکل ۳) در این حالت در محیط کشت بیش از رنگ زای اضافه شده بوده است (۱۲۲٪).

رنگ زاهای مختلف در عملیات مکرر رنگ زدایی غلظت باقی مانده متفاوتی در انتهای هر بچ داشته اند (شکل ۳). مقاومت هر ساختار شیمیایی در مقابل تجزیه توسط آنزیم های لیگنیناز و منگنز پراکسیداز بستگی به خواص پیوندهای ملکول آن ها دارد و سینتیک تجزیه در شرایط یکسان از این عامل تبعیت می کند. اما تجزیه هر رنگ زا (با هر سرعتی) دلیل فعالیت کاتالیتیکی ریزسازواره بوده و نشان دهنده حضور آنزیم های پراکسیداتیو در محیط و فعالیت آن هاست.

جدول ۲- اثر تثبیت و شرایط عملیاتی بر زمان تکمیل رنگ زدایی در کشت فانروکایت کریسوسپوریوم در غلظت ppm ۱۰ از رنگ زاهای مختلف

رنگ زا	کشت ساکن		کشت لرزان	
	سلول آزاد	سلول تثبیت یافته	سلول آزاد	سلول تثبیت یافته
	زمان رنگ زدایی کامل (روز)			
ایندیگو	۲۵	۲۵	۲۲	۱۴
متیلن بلو	۲۲	۱۷	۱۸	۱۲
اسید براون ۴	۲۴	۲۲	۲۰	۱۵
کریستال ویوله	۱۷	۱۱	۱۵	۸
ماکسیلون رد	۱۹	۱۸	۱۶	۷
متال کمپلکس	۲۶	۲۴	۱۸	۱۵

۴. تولید پراکسیدازها

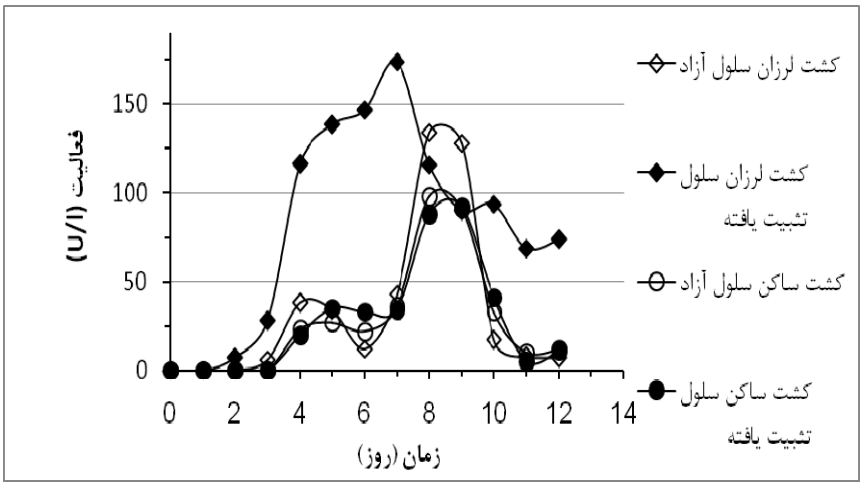
شکل های ۴ و ۵ روند فعالیت آنزیم منگنز پراکسیداز و لیگنیناز را در محیط های کشت فانروکایت کریسوسپوریوم نشان می دهند. فعالیت آنزیم های لیگنیولیتیک در محیط های کشت در زمان های مختلف معمولاً همراه با افت و خیز است (۲،۵،۷و۱۰). علت این گونه روند فعالیت، ناپایـــداری این آنزیم ها در محیط کشت است به طوری که در هر زمان در مقابل تولید آنزیم ها، مقادیری از آن ها نیز فعالیت خود را از دست می دهند. فعالیت منگنز پراکسیداز در روز هفتم و هشتم به حداکثر مقدار خود U/L ۱۷۴ وU/L ۱۳۵ به ترتیب در کشت لرزان تثبیت یافته وکشت لرزان آزاد رسید. بلافاصله بعد از این روزها کاهش قابل ملاحظه ای نیز در غلظت باقی مانده رنگ زا در محیط کشت مشاهده شد. به طور کلی تولید آنزیم منگنز پر اکسیداز در کشت تثبیت یافته نسبت به سلول های آزاد فانروکایت کریسوسپوریوم زودتر شروع شد (به ترتیب روز دوم و روز سوم) و مقدار آن نیز در اکثر روزها بیشتر بود(شکل ۴).

فعالیت لیگنیناز نسبت به منگنز پراکسداز دیرتر مشاهده گردید و دیرتر به حداکثر مقدار خود رسید (شکل ۵) اما حداکثر فعالیت این آنزیم در مقایسه با منگنز پراکسیداز بیشتر بود. به عنوان مثال حداکثر فعالیت این آنزیم در محیط کشت لرزان و تثبیت یافته فانروکایت کریسوسپوریوم در روز نهم حدود U/L ۵۰۰ بوده است.

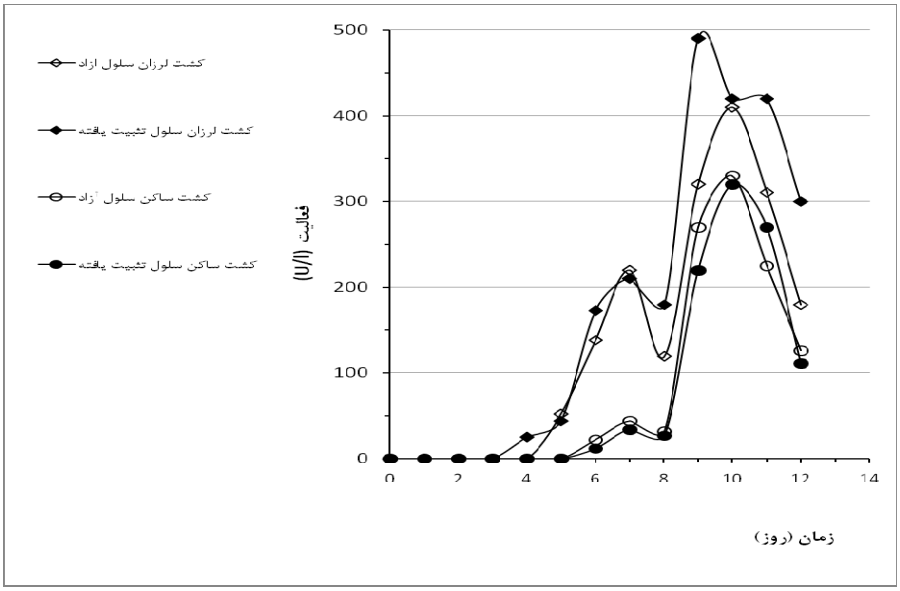
به مرور زمان با تولید آنزیم های پراکسیداتیو تخریب آنزیمی ملکول های رنگ زا اتفاق می افتد و به تدریج کل رنگ

محیط اعم از جذب شده و رنگ زای محلول تجزیه می گردد (مرحله تجزیه آنزیمی). اختلاف در سرعت رنگ زدایی رنگ زاها با یکدیگر به مرحله دوم (رنگ زدایی آنزیمی) مربوط می شود و در مرحله اول، اختلاف سرعت رنگ زدایی رنگ زاها قابل توجه نبوده است. تفاوت در زمان تکمیل رنگ زدایی (علی رغم سرعت تقریباً یکسان جذب زیستی برای رنگ زاهای مختلف) به همراه بی رنگ شدن کل محیط کشت و توده سلولی نیز مشاهده فوق را تایید می کند که در نهایت رنگ زدایی آنزیمی و لااقل تجزیه قسمت رنگ زای ملکول ها اتفاق افتاده است.

در تمام کشت ها، در مرحله دوم رنگ زدایی هر دو آنزیم لیگنیناز و منگنز پراکسیداز کمابیش دارای فعالیت بوده اند. بنابراین نمی توان در مورد اثر و سهم هریک از این آنزیم ها یا وجود رابطه سینرژیک بین آن ها برای تجزیه این رنگ زاها در تحقیق حاضر اظهار نظر کرد و بررسی چنین اثراتی نیازمند بررسی های بیشتر مانند انجام آزمایش های رنگ زدایی با هر یک از این آنزیم ها به صورت خالص یا هدایت محیط کشت به تولید انتخابی هر یک از آن هاست.



شکل ۴- فعالیت آنزیم منگنز پراکسیداز در شرایط مختلف کشت فانروکایت کریسوسپوریوم



شکل ۵- فعالیت آنزیم لیگنیناز در شرایط مختلف کشت فانروکایت کریسوسپوریوم

نتیجه گیری

قارچ فساد سفید فانروکایت کریسوسپوریوم به دلیل تولید آنزیم های پراکسیداز قادر است ترکیبات سخت تجزیه پذیر مانند ساختارهای مختلف رنگ زا را تجزیه نماید. رنگ زدایی مواد مورد مطالعه به دو روش جذب زیستی و تجزیه آنزیمی است. مرحله اخیر تا زمانی که قارچ قادر به تولید آنزیم های پراکسیداتیو باشد، برقرار خواهد بود.

سنگ معدنی آذرین بستر مناسبی برای تثبیت قارچ مورد مطالعه فرآهم آورد و فعالیت آنزیم تثبیت یافته در این پایه در مقایسه با کشت آزاد چه از نظر تولید آنزیم ها و چه از لحاظ رنگ زدایی افزایش یافت. همزدن محیط کشت نیز شرایط مناسبی برای فعالیت قارچ فراهم کرد.

منابع

1. Yesilada O, Asma D, Cing S (2003) Decolorization of textile dyes by fungal pellets. Process Biochem. 38:933-938
2. Shrivastava R, Christian V, Vyas BRM (2005) Enzymatic decolorization of sulfonphthalein dyes. Enzyme Microb. Technol. 36:333-337
3. Chagas EP, Durrant LR (2001) Decolorization of azo dyes by *phanerochaete chrysosporium* and *Pleurotus sajorcaju*. Enzyme microb. Technol. 29:473-477
4. Kapdan L, Oztekin R (2003) Decolorization of textile dyestuff reactive Orange 16 in fed-batch reactor under anaerobic condition. enzyme microbial technol. 33:231-35
5. Kargi F, Kapdan IK (2002) Biological decolorization of textile dyestuff containing wastewater by *coriolus versicolor* in a rotating biological contactor. Enzyme microb. technol. 30: 195-199
6. Karimi A, Vahabzadeh F, Bonakdarpour B (2006) Use of Kissiris immobilized *phanerochaete chrysosporium* for synthetic dye decolorization – involvement of manganese peroxidase. World J. Microbiol. Biotechnol. 22:1251-1257
7. Ruckenstein E, Wang XB (1994) Production of lignin peroxidase by *phanerochaete chrysosporium* immobilized on porous poly(styrene-divinylbenzene) carrier and its application to the degrading of 2-chlorophenol. Biotechnol. Bioeng. 44:79-86
8. Tien M, Kirk K (1988) Lignin Peroxidase of *phanerochaete chrysosporium* Methods Enzymol. 161: 238-240
9. Gandolfi-Boer C, Obici L, Souza C, Perelta R (1994) Decolorization of synthetic dyes by solid state cultures of *Lentinula (Lentinus) edodes* producing manganese peroxidase as the main ligninolytic enzyme. Biores. Technol. 94:107-112
10. Venkatadri R, Irvine R (1990) Effect of agitation on ligninase activity and ligninase production by *phanerochaete chrysosporium* Appl. Environ. Microbiol. 56: 2684–2691