

بررسی تجزیه زیستی رنگ آزوی "قرمز کونگو" موجود در

فاضلاب صنایع توسط باسیلوس تورنزنسیس

سلمان احمدی اسب چین^{۱*}، رضا تبارکی^۲، محمد فریدی^۳، باقر سیدعلیپور^۴

۱- دانشیار میکروبیولوژی، دانشگاه مازندران

۲- دانشیار شیمی تجزیه، دانشگاه ایلام

۳- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه ایلام

۴- استادیار بیوشیمی، دانشگاه مازندران

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۰۴

پیام نگار: sahmadyas@yahoo.fr

چکیده

صنایع نساجی یکی از مصرف کننده‌های مهم آب به‌شمار می‌آیند و مقدار زیادی آلودگی آب ایجاد می‌کنند؛ یکی از مهم‌ترین این آلودگی‌ها رنگ‌های آزو هستند. فرایندهای میکروبی برای تیمار فاضلاب نساجی به خاطر موثر بودن، هماهنگی با محیط زیست و تولید لجن کم مفیدند. نمونه برداری از خاک انجام و بر اساس خصوصیات زیست‌شیمیایی باسیلوس تورنزنسیس شناسایی شد. باسیلوس تورنزنسیس می‌تواند رنگ آزوی قرمز کونگو را در شرایط مختلف تحمل و آن را تجزیه کند. مشخص شد که باسیلوس تورنزنسیس رنگ قرمز کونگو را در مدت ۴۸ ساعت به میزان ۸۳ درصد تجزیه کرد؛ همچنین، نشان داده شد که شرایط بهینه برای رنگزدایی این رنگ توسط این گونه دمای ۳۷ درجه، pH خنثی، غلظت رنگ ۵۰ میلی گرم در لیتر و شرایط ایستاست. این قدرت تجزیه باعث افزایش کاربرد ریزاندامگانها برای حذف رنگ‌های آزو می‌شود.

کلیدواژه‌ها: تجزیه زیستی، رنگ آزو، قرمز کونگو، باسیلوس تورنزنسیس

۱- مقدمه

است، از طریق حضور یک یا چند پیوند آزو شناخته می‌شوند [۶ و ۵]. صنایع نساجی یکی از بزرگترین تولیدکننده‌های آلودگی آبی‌اند که ناشی از مصرف زیاد آب در فرایند رنگ‌رزی است [۷]. تخلیه نابجای فاضلاب این صنایع که شامل رنگ‌های آزو و متابولیت‌های آن است، در بوم سازگانه‌های آبی باعث ایجاد منظره ناخوشایند و سبب کاهش عبور نور خورشید می‌شود که به کاهش فعالیت فتوسنتز، نامحلول کردن غلظت اکسیژن، کاهش کیفیت آب و تاثیر سمی حاد بر گیاهان و آبزیان می‌انجامد که به پیش آمدن

سالانه بیش از هفتصد هزار تن و حدود ده هزار نوع رنگ متفاوت و مواد رنگی در سراسر جهان تولید می‌شود [۱]. مواد رنگزای آزو بیش از ۶۰٪ کل این رنگ‌های تولیدی را دربر می‌گیرد که از این مقدار حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد وارد فاضلاب صنایع مرتبط می‌شود و بر اساس فعالیت‌های مختلف در محیط زیست انباشته می‌شوند [۲-۴]. این رنگ‌ها که رایج‌ترین رده رنگ‌های به کار رفته در صنایع نساجی

* باپلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه

گزارشی مبنی بر رنگ‌زدایی این رنگ توسط گونه باسیلوس تورنژنسیس گزارش نشده است.

هدف از این مطالعه، بررسی توانایی باکتری باسیلوس تورنژنسیس در تجزیه رنگ آزوی قرمز کونگو، و بررسی میزان تجزیه رنگ براساس غلظت‌های اولیه بوده است. همچنین، اثر فاکتورهای مختلف بر میزان رنگبری این گونه، بررسی شده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱ جداسازی و شناسایی ریزاندامگان (میکروارگانسیم)

ابتدا نمونه برداری از خاک منطقه شازند اراک انجام شده است. علت این انتخاب استقرار صنایع در این منطقه و از این رو الودگی فاضلاب این کارخانجات به آلاینده‌های رنگی است. از این نمونه‌ها بر روی محیط نوترین آگار کشت داده شد. پس از انکیباسیون از تک کلنی‌های به دست آمده کشت خالص داده شد و بر اساس آزمونهای زیست‌شیمیایی گونه باسیلوس تورنژنسیس شناسایی شد. آزمونهای انجام شده شامل: رنگ آمیزی گرم به منظور تعیین گرم مثبت و منفی بودن باکتری، رنگ آمیزی اسپور به منظور شناسایی وجود اسپور، آزمون کاتالاز به منظور شناسایی حضور آنزیم کاتالاز؛ با حضور این آنزیم آب اکسیژنه به آب و اکسیژن تجزیه می‌شود، آزمون اکسنده به منظور شناسایی وجود سیتوکروم اکسنده در باکتری، آزمون سیترات برای اینکه بگویم باکتری توانایی استفاده از سیترات به عنوان منبع کربن را دارد. آزمون SIM^۱ به منظور شناسایی حرکت در باکتری و این که باکتری توانایی تولید اندول از اسید آمینه تربیتوفان، تولید سولفید هیدروژن بررسی شد. آزمون TSI^۲ بررسی تخمیر قندهای گلوکز، ساکارز و لاکتوز بوسیله باکتری است. آزمون VP-MR^۳ تولید استوئین و اسید را بررسی می‌کند. آزمون اوره آز به منظور بررسی دارا بودن آنزیم اوره آز در باکتری به کار می‌رود. آزمون احیای نیترات نیز توانایی باکتری در احیای نیترات و تولید نیتريت بررسی شد [۷]. باکتری مورد مطالعه گرم مثبت، باسیل، دارای حرکت، اندول منفی، تولید هیدروژن سولفید منفی، تخمیر گلوکز مثبت، لاکتوز منفی، متیل رد منفی، تولید استوئین مثبت، سیترات منفی، تولید اوه آز منفی، اکسیداز مثبت و کاتالاز مثبت است.

مشکلات زیست محیطی منجر می‌شود [۵]. بعضی از رنگ‌های آزو و متابولیت‌های آن‌ها ممکن است جهش‌زا یا سرطان‌زا نیز باشند [۸]. پس، تصفیه و تیمار فاضلاب این صنایع قبل از ورود آن به محیط زیست ضروری است [۷]. روش‌های فیزیکی و شیمیایی متنوعی مانند جذب سطحی، ته نشینی شیمیایی، تاباندن لیزر، اکسایش، احیای شیمیایی و تجزیه الکتروشیمیایی برای حذف رنگ‌ها از فاضلاب استفاده می‌شوند [۷]. این روش‌های تصفیه فاضلاب عموماً هزینه‌بر، دارای کارایی کم و محدودند و مقدار زیادی مواد دفعی ایجاد می‌کنند که از بین بردن این مواد، خود مشکل جدیدی است [۹]. به همین دلیل، امروزه حذف رنگ به روش زیستی مورد توجه زیادی قرار گرفته است [۱۰-۱۴]. پاکسازی زیستی به دلیل کم هزینه بودن، عدم آسیب‌رسانی به طبیعت و تولید مقدار کم مواد دفعی، از اهمیت زیادی برخوردار است [۱۵]. در دهه‌های گذشته ریزاندامگانه‌های زیادی که قادر به رنگ‌زدایی رنگ‌های آزو هستند، شناسایی شده‌اند که شامل باکتری [۱۶-۱۸]، قارچ [۱۹-۲۲]، مخمر [۲۳]، اکتینومیست [۲۴] و جلبک [۲۵] اند. قرمز کونگو یک رنگ مهم سرطان‌زاست که در صنایع برای رنگ‌رزی مصرف می‌شود و به ایجاد مشکلات زیست محیطی و سلامتی می‌انجامد که علت آن تخلیه رنگ از فاضلاب‌های صنایع است [۲۶]. نام علمی رنگ قرمز کنگو نمک سدیم بنزیدین دی آزو بیس-۱- نفتیل آمین-۴ سولفونیک اسید است. فرمول آن $C_{32}H_{22}Na_2O_6S_2$ و دارای وزن مولکولی ۶۶۶۹۶ گرم بر مول است. رنگ قرمز کنگو برای رنگ آمیزی تولیدات کاغذ، پارچه و خمیر کاغذ و در پزشکی به عنوان رنگ زیستی و به عنوان شناساگر، یعنی از رنگ قرمز-قهوه‌ای در محیط‌های پایه به رنگ آبی در محیط اسیدی تبدیل می‌شود.

رویه‌مرفته، ۶۰ و ۷۰ درصد از کل رنگ‌ها را رنگ‌های آزو تشکیل می‌دهد و معمولاً در حین تولید و مصرف حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد از این رنگ‌ها از طریق فاضلاب به محیط وارد می‌شود [۲۸]. به دلیل مصرف رنگ قرمز کونگو در نساجی، ورود میزان زیاد این رنگ در طول عملیات رنگبری به محیط و عدم تصفیه رنگ فوق با روش‌های متداول تصفیه، این رنگ برای رنگ‌زدایی و تجزیه زیستی انتخاب شد. چگونگی رنگ‌زدایی قرمز کونگو و فاضلاب واقعی حاوی آن توسط بعضی گونه‌های باسیلوس و سدوموناس انجام گرفته است ولی هیچ

1. Sulphid-Indol Motility
2. Triple Sugar Iron Agar
3. Methyl Red Voges Proskauer

۲-۲ رنگ

رنگ آزوی قرمز کونگو برای انجام این آزمایش از شرکت سیبا (CIBA) خریداری شد.

۳-۲ سنجش فعالیت رنگزدایی

برای سنجش فعالیت رنگزدایی، فاز جامد و فاز مایع نمونه‌های کشت، به کمک سانتریفیوژ ۶۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه جدا شدند و سپس غلظت رنگ باقیمانده در محلول رویی، در طول موج بیشینه ۴۹۲ نانومتر رنگ قرمز کونگو با روش طیف-نورسنجی، در زمان‌های مختلف، اندازه‌گیری شد [۲۷]. نمونه‌ها در ارن مایر ۲۵۰ میلی لیتری واجد ۵۰ میلی لیتر نوترینت برات در دمای ۳۷ درجه سلسیوس صورت گرفته است. کشت باکتری در محیط نوترینت آگار و رنگزدایی در محیط نوترینت برات صورت گرفته است.

رنگزدایی مطابق با فرمول زیر محاسبه شد:

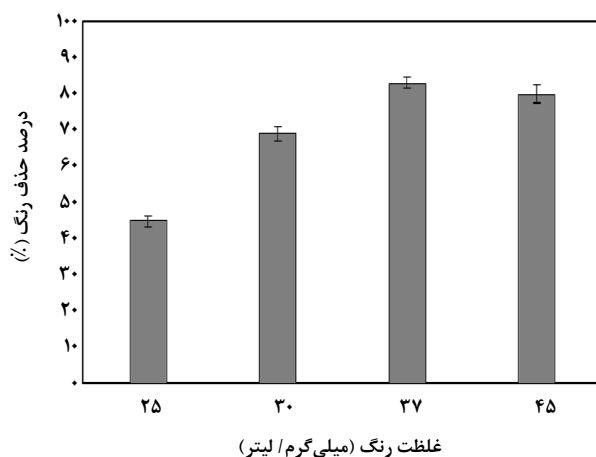
$$D = \frac{100(A_{in} - A_{ob})}{A_{in}}$$

درصد رنگ زدایی (D)

جذب اولیه (A_{in})

جذب مشاهده شده (A_{obs})

دمای ۳۷ درجه سلسیوس کمی بیشتر از درصد حذف به دست آمده در دمای ۴۵ درجه سلسیوس و خیلی بیشتر از درصد حذف به دست آمده در دمای ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس است. بیشتر رنگ زدایی‌ها از طریق گونه‌های باسیلوس از جمله باسیلوس تورننسیس در دمای بین ۳۷ تا ۴۰ درجه سلسیوس انجام شده است. از جمله این تحقیقات می‌توان به گزارش‌های اوتورکار و همکاران [۲۹] و کولکار و همکارانش [۳۰] اشاره کرد. همچنین، وانگ و همکاران [۳۶] در سال ۲۰۰۹ رنگزدایی رنگ Reactive Black 5 توسط گونه *انتروباکتر*^۲ را بررسی کردند و پی بردند که با افزایش دما از ۲۲ تا ۳۷ درجه، میزان رنگزدایی افزایش می‌یابد و با افزایش دما رسیدن آن به ۴۲ درجه نیز میزان رنگزدایی کاهش می‌یابد. پس دمای بهینه به منظور رنگزدایی ۳۷ درجه است. افزایش دما باعث سرکوب شدن فعالیت رنگزدایی و از دست رفتن ساختار سلول و غیر فعال شدن آنزیم‌ها می‌شود. ساراتال [۳۷] در سال ۲۰۰۹ تاثیر دما بر رنگزدایی رنگ Scarlet R توسط مخلوط میکروبی پروتئوس و لگاریس^۳ و میکروکوکوس گلوتامیکوس^۴ را بررسی کردند که درصد رنگزدایی در دماهای ۳۰، ۳۷، ۴۰، ۴۵ و ۵۰ درجه به ترتیب ۱۰۰، ۹۴، ۸۲ و ۴۵ درصد است. این داده‌ها نشان داد که محدوده مناسب دما برای رنگزدایی ۳۰ تا ۳۷ و دمای بهینه ۳۷ درجه سلسیوس است.



شکل ۱. تاثیر دما بر رنگزدایی رنگ قرمز کونگو توسط گونه باسیلوس تورننسیس.

۴-۲ بهینه‌سازی شرایط رنگبری

رنگبری در حضور غلظت‌های مختلف رنگ (۵۰ تا ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر)، مقادیر pH (۹-۵)، شرایط محیط (شیکنگ و استاتیک)، زمان (از صفر تا ۷۲ ساعت) آزمایش شد. همچنین، تاثیر دماهای مختلف (۲۵، ۳۰، ۳۷ و ۴۰ درجه سلسیوس) بر میزان رنگزدایی رنگ قرمز کونگو توسط گونه باسیلوس تورننسیس بررسی شد. آزمایش‌ها در شرایط ایستا^۱ انجام گرفت. تمامی آزمایش‌ها سه بار تکرار و نتایج به صورت میانگین ارائه شده است.

۳- نتایج و بحث

۳-۱ تاثیر دما بر رنگزدایی

نتایج (شکل (۱)) نشان داد که درصد حذف رنگ کونگو قرمز در

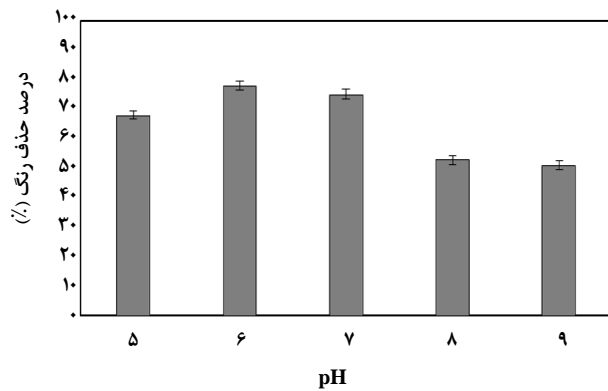
1. Static

2. *Enterobacter Sp. EC3*
3. *Proteus Vulgaris*
4. *Micrococcus Glutamicus*

۲-۲ تأثیر pH بر رنگ‌زدایی

نتایج (شکل ۲) نشان داد که بیشترین میزان رنگ‌زدایی در محدوده pH بین ۶ تا ۷ صورت می‌گیرد و افزایش و کاهش pH به کاهش محسوسی در میزان رنگ‌زدایی می‌انجامد.

آنجانیا و همکارانش [۳۱] نشان دادند که درصد رنگ‌زدایی رنگ Metanil Yellow توسط گونه‌های *باسیلوس*^۱ و *لایزینی باسیلوس*^۲ و در pH بین ۶ تا ۸ بیشترین مقدار است. همچنین، موودی و همکاران [۳۸] در سال ۲۰۱۰ به این نتیجه رسیدند که رنگ‌زدایی رنگ Reactive Red 195 توسط سویه *باسیلوس سرئوس* در pH حدود ۶ به میزان ۹۷ درصد انجام می‌شود. به طور کلی، می‌توان گفت که تأثیر pH بر رنگ‌زدایی رنگ‌ها به خاطر تأثیر آن بر رشد باکتری‌هاست. یعنی، در هر pH که باکتری بیشترین مقدار رشد را داشته باشد، می‌تواند بیشترین درصد رنگ‌زدایی را هم بروز دهد.

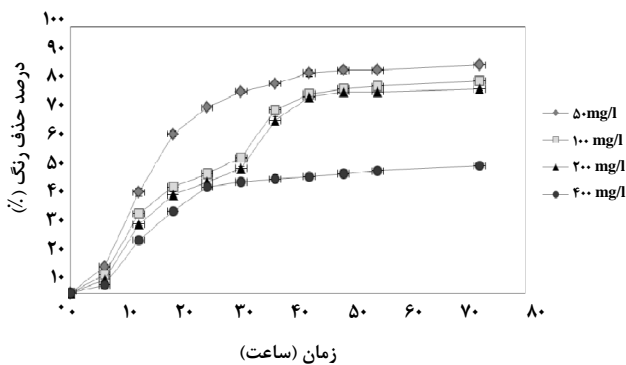


شکل ۲. تأثیر pH بر میزان رنگ‌زدایی رنگ قرمز کونگو توسط گونه *باسیلوس تورنژنسیس*.

۳-۳ تأثیر غلظت رنگ بر رنگبری

فعالیت رنگ‌زدایی *باسیلوس تورنژنسیس* در حضور غلظت‌های مختلف رنگ قرمز کونگو از ۵۰ تا ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر بررسی شد. نتایج نشان داد که میزان رنگ‌زدایی در طول زمان با افزایش غلظت اولیه رنگ کاهش می‌یابد (شکل ۳). یعنی، هر چه رنگ بیشتری در محیط باشد *باسیلوس تورنژنسیس* قادر به تجزیه درصد کمتری از آن است؛ به طوری که در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر میزان رنگبری حدود ۸۰٪ ولی در غلظت حدود ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر این رنگ‌زدایی به عدد ۴۰٪ می‌رسد.

تأثیر غلظت اولیه رنگ در رنگ‌زدایی میکروبی در رنگ‌های سنتتیک به خوبی مطالعه شده و مشخص شده است که با افزایش غلظت رنگ، رنگ‌زدایی کاهش می‌یابد. این کاهش رنگ‌زدایی با افزایش غلظت ناشی از تأثیر سمی رنگ بر رشد ریزاندامگانها در غلظت بالای رنگ است. بنابر گزارش گوپینات و همکاران [۳۴] در سال ۲۰۰۹، در هنگام تجزیه رنگ قرمز کونگو توسط گونه‌های *باسیلوس* که روی فاضلاب صنایع انجام شد، با افزایش غلظت رنگ میزان رنگ‌زدایی کاهش می‌یابد و در غلظت بالا (۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر) به طور کامل از رنگ‌زدایی جلوگیری می‌شود. در گزارش آن‌ها مشخص شد که در غلظت‌های پایین، رنگ میزان رنگ‌زدایی در زمان کمتری به بیشترین میزان خود می‌رسد، اما هر چه غلظت افزایش یابد درصد رنگ‌زدایی در زمان بیشتری به حداکثر میزان خود می‌رسد. پارشتی و همکاران [۳۵] در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که مالاشیت گرین در غلظت‌های بالا تأثیر سمی بر باکتری *کوکوریا روزا*^۳ می‌گذارد. همچنین، ایچلرووا و همکاران [۴۰] در سال ۲۰۰۶ ظرفیت رنگ‌زدایی رنگ‌های سنتتیک را از طریق گونه قارچ *دیکومیتوس اسکوالنس*^۴ مطالعه کردند و پی بردند که رنگ‌های مالاشیت گرین و بلور ویوله باعث کاهش محسوس رشد حتی در غلظت پایین (۵۰ میلی گرم در لیتر) رنگ می‌شوند. نیز نشان دادند که مالاشیت گرین در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر باعث جلوگیری از رشد *دیکومیتوس اسکوالنس* می‌شود. مشاهدات مشابهی در سال ۲۰۱۲ توسط پرومال و همکارانش [۳۲] در مورد رنگ‌زدایی رنگ قرمز کونگو توسط باکتری‌های جدا شده از خاک آلوده ثبت شده است.



شکل ۳. تأثیر غلظت اولیه رنگ بر میزان رنگ‌زدایی رنگ قرمز کونگو توسط گونه *باسیلوس تورنژنسیس*.

3. *Kocuria Rosea* MTCC1532
4. *Dichomitus Squalens*

1. *Bacillus* Sp
2. *Lysinibacillus* sp

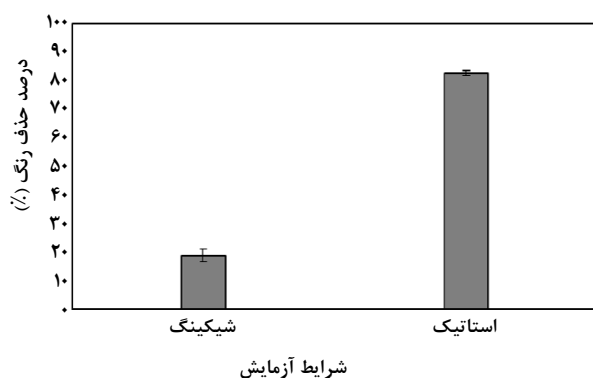
۳-۴ تاثیر زمان تلقیح بر میزان رنگبری

نتایج نشان داد که ابتدا با گذشت زمان (از زمان صفر تا ۴۸ ساعت) درصد رنگزدایی افزایش می‌یابد و این افزایش رنگزدایی چشمگیر است. ولی از ۴۸ ساعت به بعد میزان رنگزدایی به تدریج و به کندی افزایش می‌یابد. از این رو می‌توان زمان ۴۸ ساعت را برای کاربرد صنعتی از گونه باکتریایی *Bacillus* *tuozhensis* مناسب در نظر گرفت (شکل (۴)).

زمان رنگ زدایی با توجه به سویه باکتری مورد نظر و رنگ مورد استفاده می‌تواند تغییر کند. سارایو و همکارانش [۳۳] نشان دادند که رنگ رمازول اورانژ پس از ۲۴ ساعت توسط باکتری *Sordomonas* *aeruginosa*^۱ تا ۹۴ درصد تجزیه می‌شود. در پژوهشی که کولکار و همکاران [۳۰] در سال ۲۰۰۸ انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که سویه باکتریایی *Bacillus* *tuozhensis*^۲ در مدت ۴۸ ساعت ۱۰۰ درصد رنگ‌های Acid Orange 10 و Disperse Blue 79 را تجزیه می‌کند. و آنجانیوا و همکاران [۳۱] نیز در سال ۲۰۱۱ پی بردند که گونه‌های *Bacillus* *tuozhensis* رنگ Acid Yellow 36 را در مدت ۴۸ ساعت به طور کامل تجزیه می‌کند.

مقایسه شد. معلوم شد که میزان رنگزدایی در شرایط ایستا لرزشی^۳ بیشتر است (شکل (۵)).

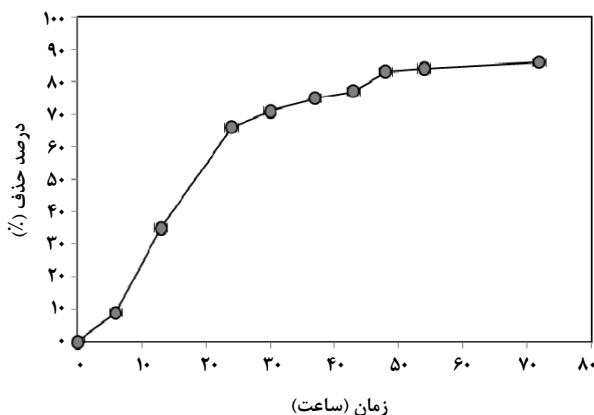
با توجه به فعال شدن آنزیم آزو ریدوکتاز در شرایط بی‌هوازی بیشتر، مطالعات برتر بودن شرایط بی‌هوازی نسبت به شرایط هوازی برای رنگ زدایی رنگ‌های آزو را اثبات کرده‌اند که از جمله این مطالعات می‌توان به تحقیق کولکار و همکارانش [۳۰] اشاره کرد که نشان دادند اگر چه رنگزدایی رنگ Acid Orange 10 در شرایط هوازی توسط گونه *Bacillus* *tuozhensis* فقط ۴۵ درصد است، ولی در شرایط بی‌هوازی مقدار رنگبری توسط این گونه تا ۹۰ درصد هم می‌رسد. برخی پژوهشگران حدس زده‌اند که حضور اکسیژن معمولاً مانع احیای پیوندهای آزو می‌شود زیرا تنفس هوازی ممکن است در استفاده از NADH⁺ چیره شود که مانع انتقال الکترون به پیوند آزو می‌شود [۳۹].



شکل ۵. تاثیر شرایط آزمایش بر رنگزدایی رنگ قرمز کونگو از طریق گونه *Bacillus* *tuozhensis* (دما ۳۷ درجه سلسیوس، مدت زمان ۴۸ ساعت، غلظت رنگ ۵۰ میلی گرم بر لیتر، pH=۶).

۴- نتیجه گیری کلی

براساس یافته‌ها، مشخص شد که گونه *Bacillus* *tuozhensis* در بهترین شرایط قادر به تجزیه ۸۳ درصد از رنگ قرمز کونگو است. می‌توان نتیجه گرفت که *Bacillus* *tuozhensis* می‌تواند برای حذف رنگ از صنایع، نامزد مناسبی باشد و باید کارهای دیگری به منظور مطالعات در سطح بالاتر از آزمایشگاهی و به صورت نیمه صنعتی صورت گیرد، تا بتوان از روشهای زیستی به صورت مشترک با روشهای مرسوم مانند روشهای شیمیایی استفاده کرد.



شکل ۴. تاثیر زمان بر رنگزدایی رنگ قرمز کونگو توسط گونه *Bacillus* *tuozhensis*.

۳-۵ تاثیر اختلاط بر درصد رنگزدایی

به منظور بررسی تاثیر شرایط ایجاد هوازی و از طریق اختلاط بر میزان رنگبری آزمایش رنگزدایی در انکیباتور شیکر دار با دور 150rpm انجام، و با رنگبری به دست آمده در شرایط استاتیک

3. Shaking

1. *Pseudomonas Aeruginosa*
2. *Bacillus Fusiformis* KMK5

- [1] Deveci, T., Unyayar, A., Mazmanci, M. A., "Production of Remazol Brilliant Blue R decolorising oxygenase from the culture filtrate of *Funalia trogii* ATCC 200800". *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 30, 25–32. (2004).
- [2] Mansour, H. B., Corroler, D., Barillier, D., Ghedira, K., Chekir, L., Mosrati, R., "Evaluation of genotoxicity and pro-oxidant effect of the azo dyes: AcideYellow 17, violent 7 and orange 52, and of their degradation products by *Pseudomonas putida* mt-2". *Food and Chemical Toxicology*. 45, 1670-1677. (2007).
- [3] Dafale, N., Wate, S., Meshram, S., Nandy, T. "Kinetic study approach of remazol black-B use for the development of two-stage anoxic-oxic reactor for decolorization/biodegradation of azo dyes by activated bacterial consortium". *Journal of Hazardous Materials*. 159,319-328. (2008).
- [4] Mohana, S., Shrivastava, Sh., Divecha, J., Madamwar, Datta, "Response surface methodology for optimization of medium for decolorization of textile dye Direct Black 22 by a novel bacteria consortium". *Bioresource Technology*. 99, 562-569, (2008).
- [5] Vandevivere, P. C., Bianchi, R., Verstraete, W., "Treatment and reuse of wastewater from the textile wet-processing industry: Review of emerging technologies". *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 72, 289–302. (1998).
- [6] Lucas, M. S., Peres, J. A., "Decolorization of the azo dye reactive black 5 by Fenton and photo-Fenton oxidation". *Dyes and Pigments*. 71, 236–244, (2006).
- [7] Saratale, R. G., Saratale, G. D., Chang, J. S., Govindwar, S. P., "Bacterial decolorization and degradation of azo dyes a review". *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 42, 138–157. (2011).
- [8] McCann, J., Ames, B. N., "Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: assay of 300 chemicals: discussion". *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 73, 950–954, (1976).
- [9] Banat, I. M., Nigam, P., Singh, D., Merchant, R., "Microbial decolorization of textile dye containing effluents: a review". *Bioresource Technology*. 58, 217_227, (1996).
- [10] Kalyani, D. C., Telke, A. A., Dhanve, R. S., Jadhav, J. P., "Ecofriendly biodegradation and detoxification of Reactive Red 2 textile dye by newly isolated *Pseudomonas* SP". *Journal of Hazardous Materials*. 163(2-3), 735– 42. (2009).
- [11] Nigman, P., Bant, I. M., Singh, D., Marchant, R., "Microbial process for the decolorization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dye". *Process Biochemistry* 31(5), 435– 42, (1996).
- [12] Coughlin, M. F., Kinkle, B. K., Tepper, A., Bishop P. L., "Characterization of aerobic azo dye degrading bacteria and their activity in biofilm". *Water science and Technol.* 36(1), 215– 20, (1997).
- [13] Bafana, A., Saravana Devi, S., Krishnamurthi, K., Chakarabarti, T., "kinetics of decolourisation and biotransformation of direct Black 38 by *C. hominis* and *P. stutzeri*". *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 74(5), 1145– 52, (2007).
- [14] Ali, N., Ikramullah Lutfullah, G. h., Hameed, A., Ahmed, S., "Decolorization of Acid Red 151 by *Aspergillus niger* S A 1 under different physicochemical condition". *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 24(7), 1099–1105, (2008).
- [15] Banat, I. M., Nigam, P., Singh, D., Merchant, R., "Microbial decolorization of textile dye containing effluents: a review". *Bioresource Technology*. 58, 217_227, (1996).
- [16] Zimmerman, T., Kulla, H. G., Leisinger, T., "Properties of purified orange II azo reductase, the enzyme initiating azo dye degradation by *Pseudomonas* KF46". *Journal of Biochemistry*. 129,197-203, (1982).
- [17] Sani, R. K., Banerjee, U. C., "Decolorization of triphenyl methane dyes and textile and dye-stuff effluent by *Kurthiasp*". *Enzyme and Microbial Technology*. 24, 433-437, (1999).
- [18] Haug, W., Schmidt, A., No'rtemann, B., Hempel, D. C., Stolz, A., Knackmuss, H. J., "Mineralization of the sulfonated azo dye mordant yellow 3 by a 6-aminophthalene-2-sulfonated-degrading bacterial consortium". *Applied and Environmental Microbiology*. 57, 3144-3149, (1991).
- [19] Gold, M. H., Alic, M., "Molecular biology of lignin degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*". *Microbiological Reviews*. 57, 605-622, (1993).
- [20] Swamy, J., Ramsay, J. A., "The evaluation of white rot fungi in the decolorization of textile dyes". *Enzyme and Microbial Technology*. 24, 130-137, (1999).
- [21] Balan, D. S. L., Monteiro, R. T. R., "Decolorization of textile indigo dye by ligninolytic fungi". *Journal of Biotechnology*. 89,141-145, (2001).
- [22] Novotny, C., Rawal, B., Bhatt, M., Patel, M., Sasek, V., Molitoris, P., "Capacity of *Irpex lacteus* and *Pleurotus ostreatus* for decolorization of chemically different dyes". *Journal of Biotechnology*. 89, 113-122, (2001).
- [23] Martins, M. A. M., Cardoso, M. H., Queiroz, M. J., Ramalho, M. T., Campos, A. M. O., "Biodegradation of azo dyes by the yeast *Cardizazyloides* in batch aerated cultures". *Chemosphere* 38, 2455-2460, (1999).
- [24] Zhou, W., Zimmermann, W., "Decolorization of industrial effluents containing reactive dyes by actinomycetes". *FEMS Microbiology Letters*. 107, 157-162, (1993).
- [25] Dilek, F. B., Taplamacioglu, H. M., Tarlan, E., "Colour and AOX removal from pulping effluents by algae". *Applied Microbiology and Biotechnology*. 52, 585-591, (1999).
- [26] Kumar, A., Sawhney, R., "Identification of *Bacillus subtilis* sub sp *subtilis* "RA-29", a Congo Red Decolorizer using 16S rDNA Sequencing". *Researcher*. 3(12), 18-22, (2011).

- [27] Moosvi, S., Keharia, H., Madamwar, D., "Decolourization of Textile dye reactive violet 5 by a newly isolated bacterial consortium RVM\ " .\.\.) World Journal of Microbiology and Biotechnology. 21,667–672, (2005).
- [28] Banat, I. M., Nigam, P., Singh, D., Marchant, R., "Microbial decolorization of textile- dye containing effluents: a review". Bioresource Technology.58, 217-227, (1996).
- [29] Oturkar, C. C., Nemade, H. N., Mulik, P. M., Patole, M. S., Hawaldar, R. R., Gawai, K. R., "Mechanistic investigation of decolorization and degradation of Reactive Red 120 by Bacillus lentus BI377". Bioresource Technology. 102, 758–764, (2011).
- [30] Kolekar, Y. M., Pawar, S. P., Gawai, K. R., Lokhande, P. D., Shouche, Y. S., Kodam, K. M., "Decolorization and degradation of Disperse Blue 79 and Acid Orange 10, by Bacillus fusiformis KMK5 isolated from the textile dye contaminated soil. " Bioresource Technology; 99, 8999–9003, (2008).
- [31] Anjaneyaa, O., YogeshSoucheb, S., Santoshkumara, M., Karegoudara, T. B., "Decolorization of sulfonatedazo dye Metanil Yellow by newly isolated bacterial strains: Bacillus sp. strain AK1 and Lysinibacillus sp. strain AK2". Journal of Hazardous Materials. 190, 351–358, (2011).
- [32] Perumal, K., Baby Malleswari, R., Catherin, A., SambandaMoorthy, T. A., "Decolourization of Congo Red dye by bacterial consortium isolated from dye contaminated soil, Paramakudi, Tamil Nadu". Journal of Microbiology and Biotechnology Research. 2(3), 475-480, (2012).
- [33] Sarayu, K., Sandhya, S., "Aerobic biodegradation pathway for Remazol Orange by Pseudomonas aeruginosa". Applied Biochemistry and Biotechnology. 160, 1241–53, (2010).
- [34] Gopinath, K. P., Sahib, H. A. M., Muthukumar, K., Velan, M., "Improved biodegradation of Congo red by using Bacillus sp". Bioresource Technology. 100, 670–675, (2009).
- [35] Parshetti, G., Kalme, S., Saratale, G., Govindwar, S., "Biodegradation of Malachite green by Kocuria rosea MTCC 1532". Acta Chimica Slovenica. 53, 492–498, (2006).
- [36] Wang, H., Zheng, X. W., Su, J. Q., Tian, Y., Xiong, X. J., Zheng, T. L., "Biological decolorization of the reactive dye Reactive Black 5 by a novel isolated bacterial strain Enterobacter sp. EC3". Journal of Hazardous Materials. 171, 654–659, (2009).
- [37] Saratale, R. G., Saratale, G. D., Chang, J. S., Govindwar, S. P., "Ecofriendly Decolorization and Degradation of Reactive Green 19A Using Micrococcus glutamicus NCIM- 2168". Bioresource Technology 110, pp. 3897, (2009).
- [38] Modi, H. A., Rajput, G., Ambasana, C., "Decolorization of water soluble azo dyes by bacterial cultures, isolated from dye house effluent". Bioresource Technology. 101, pp. 6580–3, (2010).
- [39] Bromley-Challenor, K. C. A., Knapp, J. S., Zhang, Z., Gray, N. C. C., Hetheridge, M. J., Evans, M. R., "Decolorization of an Azo Dye by Unacclimated Activated Sludge under Anaerobic Conditions". Water Reserch, 34, pp. 4410, (2004).
- [40] Eichlerova, I., Homolka, L., Nerud, F., "Synthetic dye decolorization capacity of white rot fungus, Dichomitus squalens". Bioresource Technology. 97, 2153–2159, (2006).