استخدام الكتلة الحيوية لنوعين من الفطريات بطريقة المفاعل الحيوي المتسلسل في خفض الملوثات الصبغية الملونة

Using Serial Fungal Bioreactor for Reducing the Colored Dyes Wastewater

حسين علي سبتي خالد فالح حسن أنعام نوري علي
وزارة العلوم والتكنولوجيا
Hussein Ali Sabtie Khalid Falih Hassan Inaam Noori Ali
Ministry of Science and Technology

الملخص

استخدم المفاعل الحيوي الفطري المتسلسل الحاوي على نوعين من الفطريات *Trichoderma harzianum* ، *Penicillium spp.* لمعالجة الفضلات الأصبغية الملونة الناتجة مع مياه الفضلات الصناعية لمصانع النسيج في مدينة الكاظمية/ بغداد. استخدمت الكتل الحيوية المختلفة العائدة لنوعي الفطريات المستزرعة مختبرياً والتي تراوحت 5غم و10غم في كل معاملة لمياه الفضلات الصبغية الملونة لكلا الصبغتين الزرقاء والحمراء المستخدمة في مصانع النسيج القطنية. ازدادت فعالية الاختزال الحيوي خلال المراحل المتعاقبة للمفاعل الفطري مما أدى إلى خفض الألوان بدرجة كبيرة وبشكل خاص عند إجراء بعض التغييرات المحددة لظروف عمل المفاعل. قيست بعض المتغيرات البيئية قبل وبعد المعالجة والمتمثلة بالامتصاصية والنفاذية والعكورة لمياه الفضلات. سجلت العلاقة الايجابية للتفاعل الحيوي بين كميات الكتلة الحية للفطريات وعملية خفض الملوثات اللونية النسيجية تفاعلاً طردياً بواسطة المفاعل الحيوي الفطري في معالجة الملوثات اللونية للصبغتين.

الكلمات المفتاحية: المفاعل الحيوي، مياه الصرف ، الفطريات، التحطيم الحيوي

Abstract

Serial fungal bioreactor which contained two species of fungi, *Trichoderma harzianum and Penicillium spp.* were used to reduce the colored dyes wastewater in the textile factories in Al-Kadhmia city/ Baghdad. Different biomass of two fungi species which cultured in the laboratory ranged five and ten grams for each treatment the colored dyes wastewater for both blue and red dyes that used in cotton textile factories. The activity of bio-reduction was increasing during multi-stages of fungal bioreactor due to more decreasing of colored wastewater of textile dyes specially when happening some specific changes in its processes. Another environmental factors were measured such as absorbance, transmission and turbidity before and after treatment. Positively relationship of fungal biomass quantities were recorded extrusive relationship in bio-reaction processes forreducingthe colored textile wastewater treatment by serial fungal bioreactor.

Key words: Bioreactor, Wastewater, Fungi, Biodegradation

المقدمة

كثرت النشاطات المتعلقة بالصناعات النسيجية والتي تنتج الكميات الكثيرة من الملوثات الصبغية الملونة الى البيئة المائية [1]، إذ ان أكثر من 100000 نوع من الاصباغ التجارية يستخدم في مجال الصناعات النسيجية والورقية والجلدية والصيدلانية والصناعات الغذائية [2]. تعد الاصباغ ذات استخدامات واسعة في الصناعات المختلفة إلا انها ذات أضرار كبيرة منها التأثيرات البصرية، حجب نفوذ اشعة الشمس، زيادة المتطلب الكيمياوي للأوكسجين، السمية العالية وكونها مواد مشوهة ومسرطنة [3]. أن الصناعات النسيجية هي إحدى الصناعات التي تطلق كميات كبيرة من مياه الفضلات التي تحوي الكثير من الملوثات الصبغية فضلاً عن أن 10% من تلك الاصباغ المستخدمة في الصناعات النسيجية تكون غير مستخدمة في تلك الصناعة وتذهب مع مياه الفضلات المصرفة الى الجسم المائي [4،5] اذ تسبب تلك الاصباغ عرقلة عملية التركيب الضوئي للنباتات المائية بسبب ما تسببه من ضعف نفاذية واختراق للأشعة الشمسية فضلاً عن السمية العالية التي تمتلكها نتيجة تواجد مركبات الكلوريدات والمعادن والمركبات الاروماتية وغيرها من المركبات السامة [6].

استخدمت الطرائق الإحيائية في معالجة الملوثات الملونة المصرفة من مصانع النسيج وذلك من خلال استخدام الأحياء المجهرية اذ لها القابلية على إزالة الألوان فضلاً عن تأيضها لتلك المواد الصبغية الملونة ،إذ استخدمت بعض انواع الاغشية المحملة بنوع من الفطريات في عملية التحلل الحياتي للفضلات الصبغية الخطرة فضلاً عن خفض المواد العضوية الاخرى بنسب عالية بلغت 97% للكاربون العضوي الكلي [2] (TOC)، اذ استخدم فطر الجذور البيضاء *Phanerochaetech rysosporium* عند ظروف قياسية محددة في إختزال الصبغة السامة (البرتقالية) المصرفة من معامل النسيج [5]، كذلك استخدم الفطر *Fusarium solani* في عمليتي إزالة الألوان والتحطيم الحيوي للصبغتين Crystal Violet و Malachite Green المعزولة من الفضلات المتدفقة من المصانع التي تستخدم هذه الأصباغ في نشاطها، إذ كانت لهذا النوع الفطري القابلية على إزالة اللون والتحطيم الحيوي للتراكيز العالية من هذه الأصباغ المستخدمة [7].

تهدف الدراسة الحالية إلى معرفة قابلية المفاعل الحيوي الفطري المتسلسل في اختزال الملوثات لمحاليل الفضلات اللونية الصناعية المصرفة إلى البيئة المائية نتيجة الاستخدام الصناعي في مصانع النسيج القطني وتنظيف البيئة المائية من الآثار السامة الناتجة عنها.

المواد و طرائق العمل

1. عزل وتشخيص وتنقية الفطريات: تم عزل وتنمية وتشخيص نوعين من الفطريات المحلية من مياه نهر دجلة وحسب طريقة Romero [8] اذ تم تحضير الوسط الزرعي الصلب Potato dextrose agar (PDA) المضاف اليه المضاد الحيوي الكلورمفنيكول المحضر من إذابة 250 ملغم من المضاد في 250 مليلتر ماء مقطر، وضع مليلتر واحد من عينة مياه النهر في أطباق زجاجية معقمة ذات قطر تسع سنتمترات وأضيف الوسط الزرعي الصلب المعقم إليها وتحريكها ببطء وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 25م و لمدة 48

ساعة وملاحظة ظهور المستعمرات الفطرية، عملت شرائح زجاجية Slides لغرض تشخيص الأنواع الفطرية وبالاعتماد على المفتاح التصنيفي [9]، نقل جزء من المستعمرة الفطرية الى اطباق جديدة حاوية على وسط PDA لغرض تنقيتها وتم الحصول على الفطرين *T. harzianum* و *Penicillium* sp. أن البيئة الخارجية للمفاعل الحيوي الفطري تميزت بدرجة الحرارة 28±2م والدالة الحامضية كانت تساوي 7 التي استمرت طيلة فترة المعالجة.

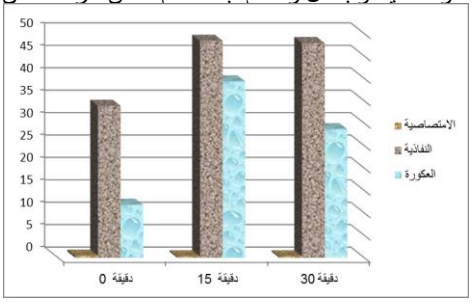
2. **تحضير الاصباغ**: تم تحضير محلول خزين مائي لصبغتي direct blue وreactive red بتركيز 1غم/ لتر ومنها حضرت التراكيز التخفيفية المتسلسلة المستخدمة في التجربة g/L 0.03, 0.01, 0.005 وبطريقة التخافيف باستخدام ماء مقطر معقم وبحجم 100 مليلتر لكل تركيز.
3. **المفاعل الحيوي الفطري المتسلسل**: استخدم المفاعل الحيوي الفطري المتسلسل كمنظومة تطبيقية مختبرية شكل (1)، أربعة أقماع فصل متعامدة بسعة 50 مليلتر مرتبة بشكل شاقولي ومثبتة على حامل معدني تحوي على نوع من الأحجار المحلية (الكرانيت) وبأحجام مختلفة تتراوح من 0.3سم إلى 4سم ومرتبة من الحجم الأصغر نزولا إلى الأكبر كحامل Carrier للكتلة الفطرية الحية، إذ تم مزج الكتلة الفطرية الحية وبنسبة 15% ون حجم القمع وبوزن 5 غرام و 10 غرام كل على حدة مع الأحجار الأصغر حجما 0.3-0.7 سنتمتر لتكوين الطبقة الإحيائية الحية، تم استبقاء الصبغة لفترة 15 دقيقة وبواقع سرعة جريان 20 قطرة/دقيقة و فترة استبقاء 30 دقيقة بواقع سرعة جريان 45 قطرة/دقيقة ولكل قمع على التوالي.

شكل رقم (1): يوضح منظومة المفاعل الحيوي الفطري المتسلسل المختبري

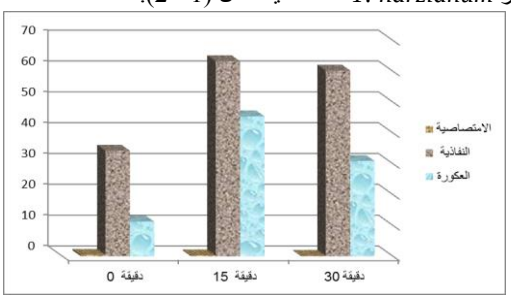
4. **الفحوصات الكيميائية والفيزيائية**: قيست بعض العوامل البيئية المختارة كالامتصاصية والنفاذية للصبغات خلال زمن المعاملة قبل وبعد المعاملة باستخدام جهاز Spectrophotometer وعلى طول موجي 570 للصبغة الزرقاء و 530 للصبغة الحمراء وقيست العكورة باستخدام جهاز Turbidity meter.

النتائج والمناقشة

تشير النتائج إلى كفاءة استخدام العزلات الفطرية المنتخبة في تحطيم الملوثات الصبغية المستخدمة في الصناعات النسيجية، إذ أشارت النتائج إلى خفض الامتصاصية وتغيير كبير في الطيف اللوني للأصباغ الملوثة لمياه الفضلات الصناعية والمتمثلة بالصبغة الزرقاء والصبغة الحمراء فضلاً عن زيادة النفاذية وهو ما يدلل إيجابية المعالجة الإحيائية باستخدام تلك العزلتين المحليتين، إذ تمتلك المفاعلات الحيوية الفطرية القابلية الكبيرة على مقاومة الحامضية الناتجة بفعل الاكسدة والتحطيم الحيويين فضلا عن تحملها لظروف الجفاف مقارنة بالأنواع البكتيرية المستخدمة في المفاعلات الحيوية [10،11]. سجلت قابلية الفطريات المستخدمة في المفاعل الحيوي الفطري المتسلسل نتائج ايجابية عبر مراحله من خلال مرور مياه الفضلات خلال المفاعل ضمن مستوى جريان منتظم فقد انخفضت الامتصاصية وازدادت كل من العكورة والنفاذية خلال معاملة الصبغة الزرقاء و إنخفاض تركيز اللون الأزرق خلال عملية الادمصاص والامتصاص لحاملات الاصباغ الملونة للمياه و بشكل واضح بأستخدام خمس غرامات من الفطر *T. harzianum* ككتلة حية شكل (1 ، 2).

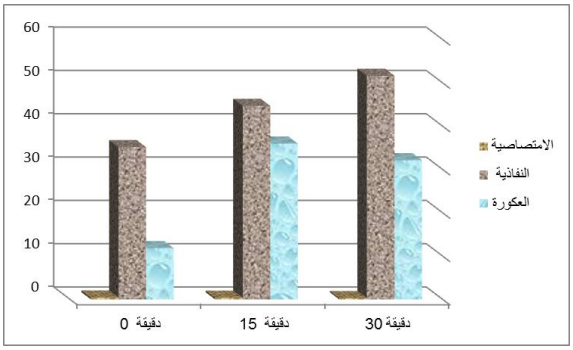


شكل (1): خفض الصبغة الزرقاء باستخدام الفطر*T. harzianum* بوزن 5 غرام كتلة

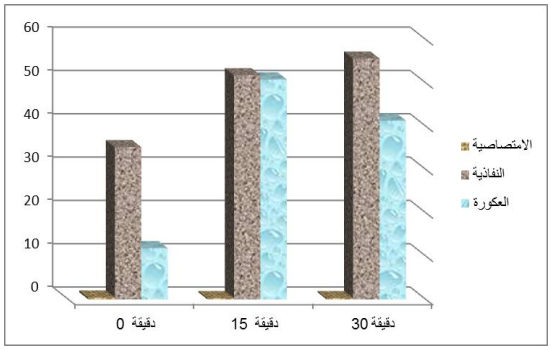


شكل (2): خفض الصبغة الزرقاء باستخدام الفطر *T. harzianum*بوزن 10 غرام كتلة حية

زادت كفاءة الفطر على الاختزال الحيوي من خلال زيادة الكتلة الحية له ، إذ تناسبت طردياً، وهذا ماسجل خلال زيادة الكتلة الحية 10غرام [12] حيث سجلت أنخفاض للامتصاصية وزيادة للعكورة والنفاذية نتيجة انتشار تلك الاصباغ داخل النسيج الفطري وبذلك سجل الفارق الكبير في لون المحيط لمياه الفضلات الملوث لونياً نتيجة تراكم المواد الصبغية داخل النسيج، إذ شوهدت الحبيبات الصبغية في داخل النسيج الفطري وعلى الحافات الخارجية للهايفات الفطرية، اضف الى ذلك في الامتصاص الحيوي يحصل تبادل آيوني في تلك العملية للصبغات الحامضية [12] أما المعاملة الاحيائية لمعالجة الملوثات الصبغية بأستخدام الفطر sp.*Penicillium* بكلتا كتلتيه الحيويتين (5 و10غم) حيث سجلت نتائج ايجابية في عملية خفض التراكيز الملونة 0.01 و0.03 و0.05 وهذا يعود الى كفاءة الفطر في قابليته على تحطيم وامتصاص الاصباغ الملوثة شكل (3،8) وهذا يتفق ما سجل من خلال معاملة تلك الملوثات السائلة بأستخدام ثمانية سلالات للفطر *Aspergillus* strains بعد اضافة المنشطات الكاربونية والنتروجينية للبيئة المائية والتي اسهمت بتفعيل النشاط الفطري للمعالج [12،13] فضلاً عن استخدام النوع *P. simplicissimum* لازالة التلوث اللوني والسمية التي قلت من التأثير الحاد الى التأثير البسيط في نفس الوقت [14].



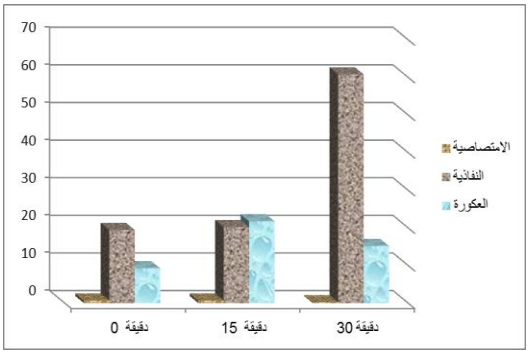
شكل (3): خفض الصبغة الزرقاء باستخدام الفطر sp.*Penicillium* بوزن 5 غرام كتلة حية



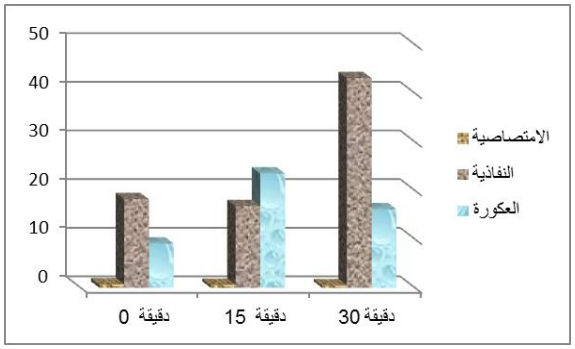
شكل (4): خفض الصبغة الزرقاء باستخدام الفطر sp.*Penicillium* بوزن 10 غرام كتلة حية

أشارت النتائج الحالية الى تماثل في المعالجة الحيوية للاصباغ مع ما جاء في الدراسات الاخرى التي استخدامت الفطر جنس الـ *Trichoderma* في خفض الملوثات الصبغية لمصانع النسيج والتي سجلت خلال هذه المعالجة نتائج ايجابية في خفض تلك الملوثات خلال فترة معالجة مناسبة 2-24 ساعة والتي اشارت الى كفاءة كبيرة قس للاصلاح الحياتي Bioremidation بواسطة العزلات المنتخبة [13] أما فيما يتعلق بالفطر جنس *Penicillium* فقد سجلت كفاءته من خلال استخدام الكتلة الحية له حيث سجلت نسبة 89% لازالة الصبغة Reactive Black-5 الناتجة من الفضلات النسيجية [15].

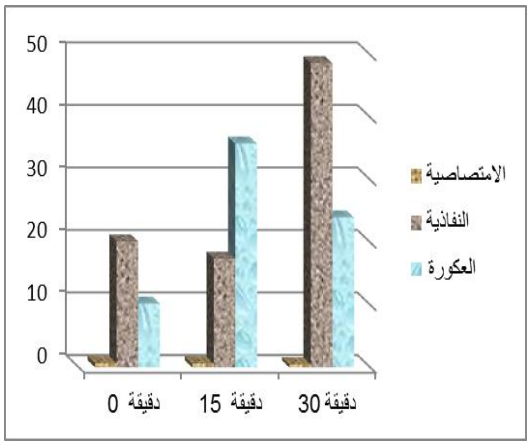
تنتج بعض الانواع الفطرية انزيمات خارج خلوية تعمل على تحوير اللكنين ليصبح اكثر سهولة للتحطم بفعل تقنية التقييد الحيوي لتلك الانواع الفطرية [1] استخدمت تقنيات الاصلاح الفطري fungal bioremediation في التخلص من الملوثات اللونية والتي تعمل على تحطيمها وذلك من خلال انتاج الانزيمات الفطرية كإنزيم ligninperoxidases الذي يعمل على المساعدة في ازالة اللون [16،17] اشارت هذه الدراسة الى امكانية حقيقية لاستخدام المفاعلات الحيوية الفطرية الى كفاءتها في معالجة هذه الفضلات الصناعية الملونة المصرفة من المصانع النسيجية وتلافي خطورتها في خفض السموم في البيئة المائية فضلاً عن التخلص من الملوثات اللونية في البيئة المائية.



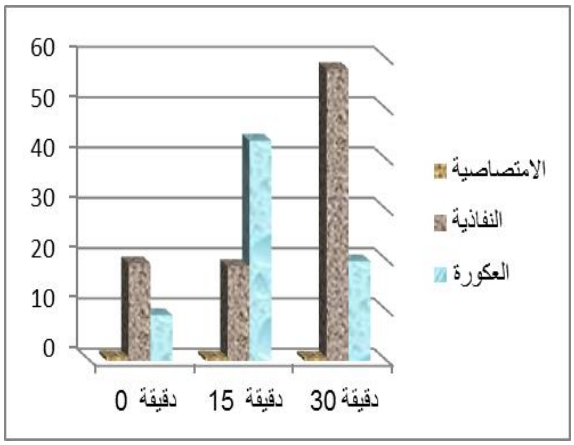
شكل (5): خفض الصبغة الحمراء باستخدام الفطر *T. harzianum* بوزن 5 غرام كتلة حية



شكل (6): خفض الصبغة الحمراء باستخدام الفطر *T. harzianum* بوزن 10 غرام كتلة حية



شكل (7): خفض الصبغة الحمراء باستخدام الفطر*Pencillium sp.*بوزن 5 غرام كتلة حية



شكل (8): خفض الصبغة الحمراء باستخدام الفطر*Pencillium sp.*بوزن 10 غرام كتلة حية

References

1. Enayatzamir, K. Alikhani, H. A., Yakhchali, B., Tabandeh, F., Rodríguez, C. S. (2010). Decolouration of azo dyes by Phanerochae techrysosporium immobilised into alginate beads. Environ Sci. Pollut. Res. Int. 17(1):145-153.
2. Hai, F. I., Yamamoto, K. and Fukushi, K. (2006). Hybrid treatment systems for dye wastewater. Crit. Rev. Env. Sci. technol. 37:315-377.
3. Fazli, M.M., Mesdaghinia, A.R., Naddafi, K., Nassri, S., Yunesian, M., Assadi, M.M., Rezaie, S. and Hamzehei, H. (2010). Optimization of reactive blue decolorization by Ganoderma sp. Using response surface methodlogy. Iran J. Environ. Helth Sci. Eng. 7:35-42.
4. Moreiera, M.T., Viacava, C. and Vidal, G. (2004). Fed-batch decolorization of poly R-478 by trametes versi color. Braz. Arch. Biol. Technol. 47:179-183.
5. Sharma, P., Singh, I. and Dilbaghi, N. (2009). Response surface methodological approach for the decolorization of simulated dye effluent using Aspergillus fumigates fersenius. J. Hazard. Mater., 161:1081-1086.
6. Daneshvar, N., Ayazloo, M., Khataeeal, A.R. and Pourhassan, M. (2007). Biological decolorization of dye solution containing malachite green by microalgae Cosmarium sp. Bioresour. Technol. 98:1176-1182.
7. Abdein, R. M. A. (2008). Decolorization and biodegradation of crystal violet and malachite green by Fussariumsolani (martius) saccardo. A comparative study on biosorption of dyes by the dead fungal biomass. Am Euras. J. Bot. 1:17-31.
8. Romero, S. M., Comerio, R.M., Larumbe, G., Riteni, A., Vaamonde, G. and Fernandez, P. V. (2005). Toxigenic fungi isolated from dried vine fruits in Argentin. Int. J. Food microbial. 104:43-49.
9. Singh, H. (2006). Fungal Decolorization and Degradation of Dyes. Published Online: 6 MAR, DOI: 10.1002/0470050594.ch10.
10. Webster, J. (1980). Introduction to fungi. Cambridge university press. London.
11. Groenestijn,V. J.W, Heininge, V. WN, Kraakm, N.J. (2001). Biofilters based on the action of fungi.Water Sci. Technol. 44(9):227-234.
12. سبتي، حسين علي و علي، انعام نوري. (2012). استخدام المفاعل الحيوي الفطري لخفض تراكيز الملوثات الملونة المتدفقة من مصانع-11 الغزل والنسيج. المؤتمرالرابع للعلوم البيئية 5-6 كانون الاول، جامعة بابل: 110-118.
13. Laszlo, J.A. (1994). Removing Acid Dyes From Textile Wastewater Using Biomass For Decolorization. PhD. Thesis.U.S.D.A., Agricultural Research Service, Nat'l Center for Agricultural Utilization Research, Peoria, IL
14. Abd El-Rahim W. M and, Moawad, H. (2003). Enhancing bioremoval of textile dyes by eight fungal strains from media supplemented with gelatine wastes and sucrose. J. Basic Microbiol. 2003;43(5):367-375.
15. Torralba, B.L.R.1, Nishikawa, M.M.1, Baptista, D.F.2, Magalhães, D.P.2, Silva, M. (2009). Decolorization of different DYES BY *Penicillium simplicissimum and* toxicity evaluation after fungal treatment. Brazilian Journal of Microbiology (2009) 40: 808-817

16. Erdal, S. and Taskin, M. (2010). Uptake of textile dye Reactive Black-5 by *Penicilliumchrysogenum*MT-6 isolated from cement-contaminated Soil. African Journal of Microbiology Research Vol. 4 (8) :618-625.
17. Aleksander, P. (2010). Fungal bioremediation. Conferences Seminars, University of Ljubjana, S.I.