مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره هفتم، شماره بیست و هشتم - پائیز ۱۳۹۶

Research Article
مقاله تحقیقی

رنگبری از پساب کارخانه‌های نساجی به‌وسیله کنسرسیوم باکتری‌های ترموفیل

میلاد صابرطحان[۱]، عباس فرازمند[۲*]، احمدعلی پوربابایی[۳]

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پزشکی و علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران
۲. پژوهشکده زیست‌فناوری، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران
۳. گروه بیوفیزیک، مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: امروزه آب در دسترس برای مصارف آشامیدنی و صنعتی محدود است. با استفاده از فرآیند تصفیه می‌توان آب مصرفی در صنایع را که از عمده‌ترین مصرف‌کننده‌های آب می‌باشد بازیافت کرده و به چرخه صنعت بازگردانده می‌شود. با استفاده از باکتری‌های تجزیه کننده ترکیب‌های رنگی عملیات تجزیه و حذف رنگ‌ها به خصوص رنگ‌های گروه آزو را انجام داده شد.

مواد و روش: نمونه‌ها در محیط‌های تریپتیکاز سوی براث (TSB) کشت داده شد. با استفاده از یک محیط کشت حاوی ترکیب‌های رنگی پساب نساجی، توانایی رشد و تجزیه رنگ توسط سویه‌های جدا شده بررسی شد. از شرایط گرمخانه گذاری در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و هوادهی به مدت سه روز برای ارزیابی مقایسه‌ای سویه‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: از میان ۲۴ سویه جدا شده از پساب کارخانه نساجی، کنسرسیومی از سه سویه برتر برای رنگبری پساب استفاده شد. این سه سویه جدا شده پس از غربالگری با شرایط خاص برای کنسرسیوم استفاده شد.

بحث: با استفاده از باکتری‌های تجزیه کننده ترکیب‌های رنگی عملیات تجزیه و حذف رنگ‌ها به‌خصوص رنگ‌های گروه آزو صورت گرفت. دمای بالای ۸۰ درجه پساب در حوضچه متعادل‌سازی تصفیه‌خانه و وجود املاح در آن، محل مناسبی را برای جداسازی باکتری‌های گرمادوست و تحمل کننده گرما و نمک فراهم کرده است. باکتری‌های جداسازی شده از سه ویژگی قابلیت تجزیه رنگ، رشد در دما بالا و تحمل نمک برخوردار شدند.

نتیجه‌گیری: ایجاد کنسرسیومی از سه سویه جدا شده، امکان رنگبری از نمونه واقعی پساب نساجی تا میزان ۹۰ درصد حاصل شد. این سه سویه توان رنگبری از پساب را در دمای ۳۶ تا ۵۱ درجه سانتی‌گراد و مقادیر pH ۵/۵ تا ۹/۵ و میزان نمک از ۰ تا ۷ درصد را دارا شدند.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های ترموفیل، رنگبری، نساجی، پساب، کنسرسیوم باکتریایی و تجزیه زیستی

مقدمه

صنایع نساجی از زمان قدیم به‌عنوان یکی از بزرگ‌ترین مصرف‌کنندگان آب و در ضمن آلوده کننده مهم محیط زیست به شمار آمده‌اند. پساب کارخانه‌های نساجی حاوی مواد شیمیایی مختلف ازجمله رنگ‌ها، فلزات سنگین، دترجنت‌ها، املاح، آنیون‌ها نظیر کلرور، سولفور، سولفید و هم‌چنین مواد معلق زیاد می‌باشد. ورود پساب نساجی به محیط‌زیست نه‌تنها ایجاد منظره ناخوشایند می‌کند بلکه

نویسنده مسئول :
پژوهشکده زیست فناوری، سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران
پست الکترونیکی: farazmand@irost.ir
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۷

بعد به محیط‌ها افزوده شدند. از بین نه سویه جدا شده، سه سویه بر اساس میزان و سرعت رنگبری انتخاب شد.

برای بررسی توان رنگبری سویه‌ها، هر یک از سویه‌ها و کنسرسیومی از سه سویه برتر در محیط کشت حاوی سه رنگ مختلف دیسپرس قرمز ۶۰ ، دیسپرس آبی ۵۶ و دیسپرس زرد ۵۴ و پساب (پساب واقعی از همان محل نمونه‌گیری) مورد بررسی قرار گرفت.

برای انتخاب سویه‌های نهایی موارد زیر مورد آزمایش قرار گرفت:

۱) بررسی رشد و رنگزدایی پساب واقعی و پساب ساختگی با سه رنگ پرمصرف ذکر شده در صنعت نساجی و تعیین میزان رنگ حذف شده از محیط در یک هفته با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری با دستگاه اسپکتروفوتومتر WPA
۲) تعیین میزان رنگبری در pH های مختلف
۳) رنگبری در غلظت‌های مختلف رنگ‌های ذکر شده در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm
۴) استفاده از رنگ به‌عنوان تنها منبع کربن
۵) بررسی توانایی رنگبری از پساب ساختگی با مخلوط سه رنگ

تمام آزمایش‌های فوق در شرایط پایه‌ی دما ۵۰ درجه سانتی‌گراد، pH ۷/۴ و غلظت ppm ۵۰ رنگ انجام گرفت.

شرایط مختلف هوادهی با استفاده از سه نوع محیط کشت:

۱) شرایط هوازی: محیط‌های رنگبری در ارلن‌های ۵۰ میلی‌لیتر تهیه و روی شیکر با دور ۱۵۰ rpm گرمخانه گذاری شد.
۲) شرایط بی‌هوازی: محیط‌های کشت در لوله‌های با اندازه متوسط تهیه و در جار بی‌هوازی، همراه gaspack در انکوباتور گرماگذاری شد.
۳) شرایط انوکسیک: لوله‌های حاوی محیط کشت مستقیم درون انکوباتور گرماگذاری شد.

تمام آزمایش‌ها با سه بار تکرار انجام شد و محیط‌های حاوی رنگ و بدون رنگ تلقیح نشده به‌عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت (۵).

پس از بررسی‌های صورت گرفت کنسرسیوم سه سویه ازلحاظ تحمل دمایی، تحمل مقدار رنگ موجود در پساب و محیط ساختگی، مقدار رنگبری و سرعت رشد بررسی و جدا گردید.

بررسی میزان رنگ و کدورت در محیط:

ابتدا طیف جذبی هر رنگ در محدوده ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر تعیین شد تا بیشینه طول موج جذبی هر رنگ مشخص شود. سپس منحنی استاندارد هر رنگ با توجه به میزان جذب در بیشینه طول موج جذبی و غلظت رنگ در محیط، رسم شد. از لوله‌های گرمخانه گذاری شده در زمان مورد نظر یک میلی‌لیتر نمونه برداشته شد و با دور ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. میزان جذب هر رنگ در بیشینه طول موج جذبی آن اندازه‌گیری و درصد رنگبری نیز مطابق فرمول زیر محاسبه شد (۱ ، ۳) :

$$D(\%)= (A-A0)/A_0\times100$$

A= جذب در محیط، پس از رنگبری
A_0= جذب محیط شاهدرنگی
D= درصد رنگبری

بررسی ویژگی‌های فیزیولوژیک و ریخت‌شناسی:

کلیه آزمایش‌های این بخش در مرحله رشد لگاریتمی باکتری‌ها انجام گرفت به‌جز آزمایش‌های مربوط به اسپور باکتری‌ها که در مرحله رکود رشد می‌باشند. ریخت‌شناسی کلنی روی محیط نوترینت آگار به‌اضافه پنج درصد سدیم کلراید بعد از دو روز بررسی شد. رنگ‌آمیزی گرم بر اساس روش Burke انجام شد (۴).

تحمل نمک سدیم کلراید در حضور تراکم صفر تا ۱۰ درصد در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در محیط نوترینت آگار و محیط ساختگی شامل ۱۰ گرم در لیتر گلوکز و ۱ گرم در لیتر عصاره مخمر مورد سنجش قرار گرفت. رشد در دماهای مختلف در محیط نوترینت براث یا نوترینت

آگار در دماهای ۳۰، ۳۴، ۳۸، ۴۲، ۴۶، ۵۰ و ۵۴ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. محدوده pH برای رشد با تنظیم pH نهایی محیط با HCl و NaOH یک نرمال بین ۳ تا ۱۴ تعیین شد (۹).

تعیین توالی 16S rDNA و آنالیز فیلوژنی:

این بخش از آزمایش‌ها تنها در مورد سه سویه SN5، SN2، SN10 تشکیل دهنده کنسرسیوم انجام شد. از سویه‌های مورد نظر کشت تازه تهیه کرده و سویه‌های مورد نظر رنگ‌آمیزی گرم تهیه و مشخص شد که باکتری‌ها، شامل یک باسیل گرم مثبت اسپور دار و دو کوکوباسیل گرم منفی می‌باشد و برای شناسایی به کلکسیون منطقه‌ای میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران در سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (PTCC) ارسال شد. قطعه‌های DNA تکثیر داده شده با پرایمرهای عمومی ژن RNA ریبوزومی 16s مورد توالی یابی قرار گرفت. توالی استخراج شده این باکتری با استفاده از پایگاه داده‌های بیوانفورماتیک EzTaxon مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. پرایمرهای عمومی (GAACGCTGGCGGCGTGCCTA) مورد استفاده قرار گرفت.

بحث:

برای بررسی توان سویه‌ها در رنگبری از رنگ‌های مورد استفاده در کارخانه نساجی، با استفاده از سه سویه جداسازی شده و کنسرسیومی از این سویه‌ها مقدار رنگبری برای سه نوع رنگ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که کنسرسیوم سه باکتری جداشده از توان رنگبری بالاتری نسبت به حالت رنگبری توسط هریک از سویه منفرد را دارا می‌باشند. P Joshi؛ و همکارانش در سال ۲۰۱۵ در تجزیه بیولوژیکی از رنگ با استفاده از کنسرسیومی متشکل از باکتری جدا شده از پساب نساجی دریافتند که کنسرسیومی از باکتری سودوموناس و اکتینوباکتر ها توانایی رنگبری از پساب نساجی را تا ۹۶ درصد دارا هستند. سویه‌های جدا شده توسط بررسی‌های انجام شده به دلیل توان ترموفیل بودن نسبت به سویه‌های ذکر شده در آزمایش‌های سال ۲۰۱۵ Josh و همکاران برای تصفیه‌خانه‌ها نساجی که به دلیل بالا بودن دمای خروجی پساب، کارایی بالاتری را دارا می‌باشند (۱۴).

از بین منابع نیتروژن آلی و معدنی، منابع آلی بهترین اثر و از بین همین منابع آلی، عصاره‌ی مخمر مؤثرترین نقش را بر رنگبری سویه مطلوب داشت. گزارش‌های دیگر نیز نتایج مشابه را نشان می‌دهند. به نظر می‌رسد متابولیسم عصاره مخمر برای تولید دوباره NADH که الکترون دهنده برای احیای پیوند آزو محسوب می‌شود لازم است.

داده‌ها هم‌چنین افزایش رنگبری سویه‌ها را با افزایش میزان عصاره مخمر در محیط کشت نشان می‌دهند ولی این افزایش رنگبری از میزان ۰/۵ تا ۱ درصد عصاره مخمر در محیط با شیب ملایمی افزایش می‌یابد، در نتیجه به دلایل اقتصادی از ۰/۵ درصد عصاره مخمر در آزمایش‌های بعدی استفاده شد.

منابع کربن مختلف غیر از یک یا دو مورد که در رنگبری سویه‌های مختلف اثر منفی داشتند، بقیه تأثیر معنی‌داری بر رنگبری هیچ یک از سویه‌ها نداشتند. این نتیجه به توانایی‌های متابولیسمی باکتری‌های مختلف در استفاده از منابع کربن متفاوت مربوط می‌شود. غلظت‌های مختلف گلوکز هم در محیط رنگبری تأثیر معنی‌داری بر رنگبری هیچ یک از سویه‌ها نداشت.

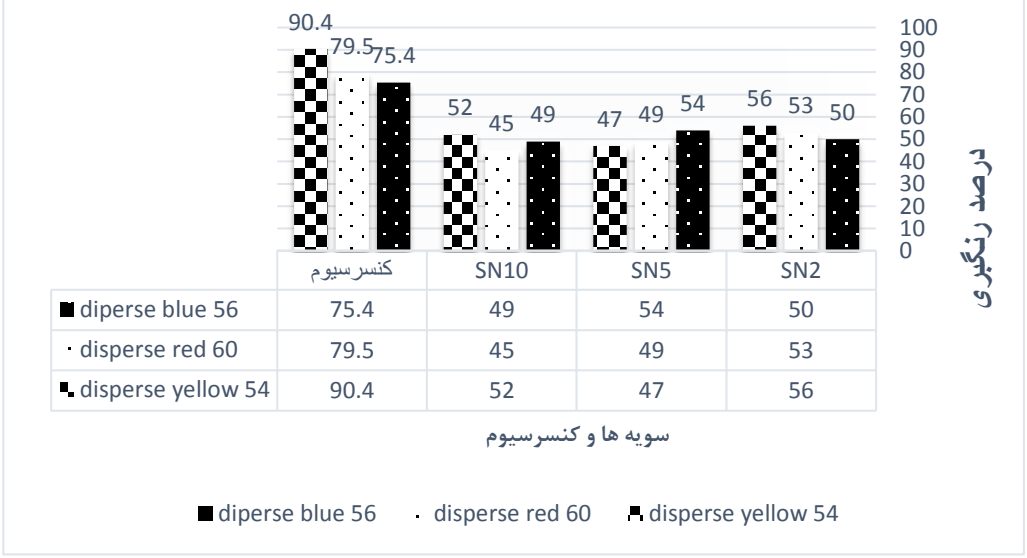
از بین نمک‌های مختلف، کلرید سدیم بیش‌ترین اثر را بر رنگبری از خود نشان داد. به نظر می‌رسد حضور این نمک برای رشد و فعالیت باکتری‌های تحمل‌کننده نمک ضروری است. افزایش مقدار کلرید سدیم در محیط تا حدی سبب افزایش رنگبری و سپس سبب کاهش آن در سویه مطلوب شد؛ که این اثر نیز به بارهای سطحی آنزیم مؤثر در رنگبری و فعالیت آن در غلظت‌های مختلف نمک، مرتبط است (۱۰).

تفاوت در رنگبری رنگ‌های مختلف ممکن است به ساختار و پیچیدگی رنگ‌های مختلف، به‌ویژه به گروه‌های عاملی

متصل به حلقه‌های آروماتیک و برهم‌کنش فضایی آن‌ها با پیوند آزو موجود در ساختار رنگ‌های دیسپرس مربوط باشد. لزوم بررسی رنگبری سویه‌ها از رنگ‌های مختلف به این دلیل است که در یک پساب نساجی طیف وسیعی از رنگ‌ها با ساختارهای مختلف و حتی انواع مختلفی از رنگ‌های با یک ساختار وجود دارد. رنگ‌های گوناگون هر چند از یک خانواده برای مثال دیسپرس باشند ولی گروه‌های جانشینی مختلفی در ساختارشان موجود است که بر رنگبری آن‌ها تأثیر می‌گذارد. بنابراین سویه‌هایی که تعداد بیش‌تری از رنگ‌ها را بتوانند بی‌رنگ کنند و توانایی رنگبری از مخلوط رنگ‌ها را نیز داشته باشند، از ارزش و اهمیت بالاتری برخوردارند. قابل ذکر است که این قابلیت در سه سویه منتخب وجود داشت. در نمودار بالا نشان داده شده است که توان رنگبری کنسرسیوم سه باکتری منتخب، بسیار بالاتر نسبت به حالت استفاده از تک سویه

توانایی استفاده از رنگ به‌عنوان منبع کربن و انرژی در محیط از دیگر صفاتی است که میکروارگانیسم‌های محدودی این توانایی را دارند. سویه‌های جدا شده از پساب نساجی توانایی استفاده از رنگ به‌عنوان منبع کربن را به‌تنهایی ندارد ولی هر سه سویه در کنسرسیوم انتخابی در محیطی شامل یک درصد (w/v) از رنگ به‌عنوان منبع کربن و عصاره مخمر به‌عنوان منبع نیتروژن رشد کردند. برای اطمینان از عدم استفاده از عصاره مخمر به‌عنوان منبع کربن و نیتروژن در آزمایش دیگری از منبع نیتروژن معدنی به‌جای عصاره مخمر استفاده شد، که رشد سویه‌های منتخب در این محیط نیز مشاهده گردید (۱ ، ۱۲).

آزمایش‌ها نشان داد که توانایی رنگبری سویه‌ها در کنسرسیوم باکتریایی به‌مراتب بالاتر از توانایی رنگبری



نمودار ۱-۱: مقایسه درصد رنگبری سویه ها و کنسرسیوم برای سه رنگ دیسپرس

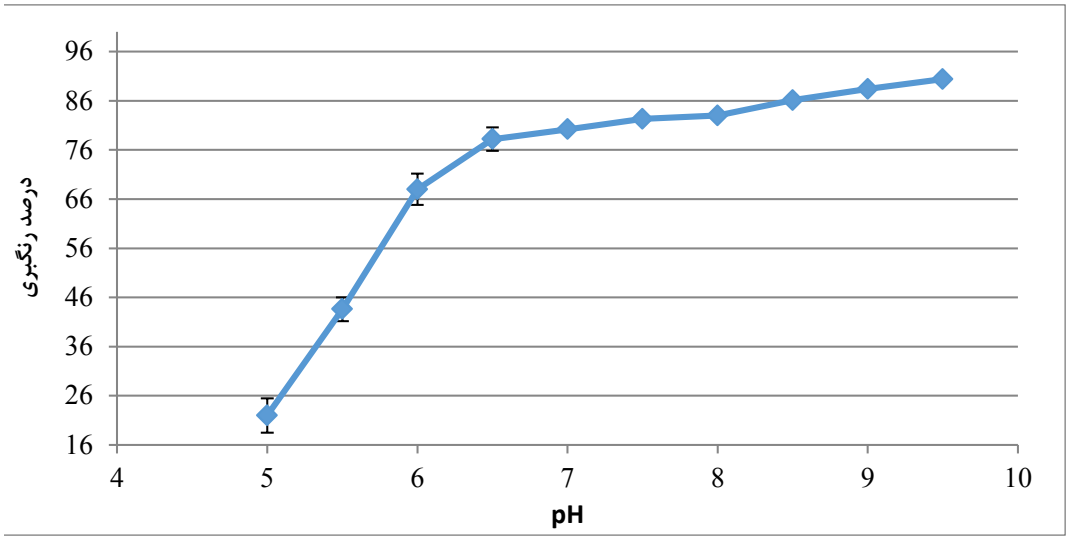
در رنگبری بود.

توان رنگبری از غلظت‌های مختلف رنگ توسط سویه‌ها، نشان دهنده‌ی مناسب بودن سویه برای آزمایش‌های رنگبری می‌باشد. سویه‌های منتخب دارای توان رنگبری تا ۵۰۰ppm می‌باشند. توان رنگبری در غلظت بالا در کنسرسیوم باکتریایی بسیار مشهودتر و درصد بالاتری نشان داد (۷).

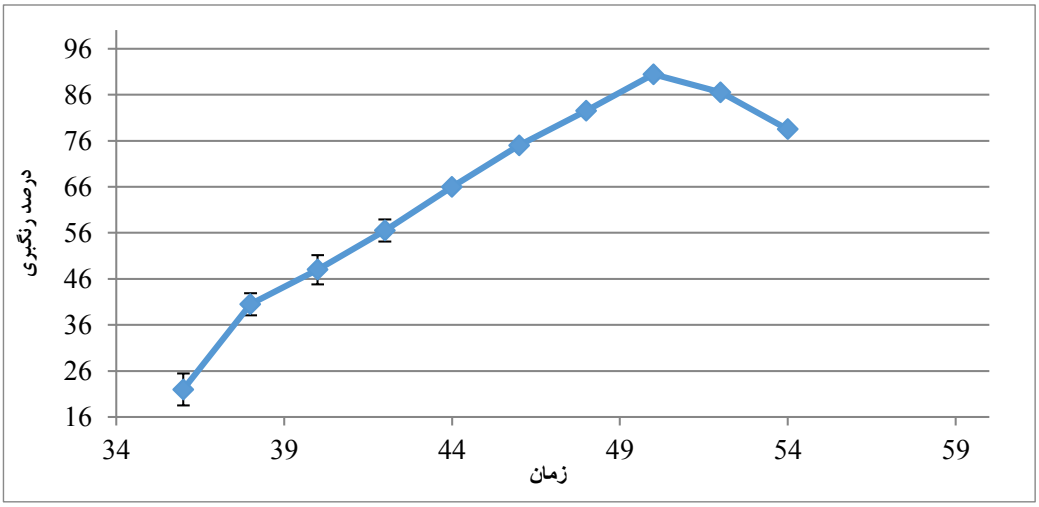
سویه‌ها در حالت تک در محیط ساختگی و محیط پساب استریل می‌باشد.

اثر فاکتورهای مختلف بر رنگبری این کنسرسیوم نیز بررسی شد. چنانچه هر سه سویه و کنسرسیوم در محدوده وسیعی از pH رنگبری بالایی دارند، که از قابلیت‌های دیگری است که کم‌تر در مورد باکتری‌هایی با توانایی رنگبری ذکر می‌شود ولی با افزایش pH میزان رنگبری

افزایش می‌یابد. افزایش رنگبری با افزایش pH ممکن است به دلیل افزایش رشد باکتری‌ها در pHهای بالاتر باشد. لازم به ذکر است که pH پسابی که از آن این سویه‌ها جدا شد حدود ۷ و دمای آن ۵۴ درجه سانتی‌گراد بود (۸ ، ۱۳).



نمودار۱: درصد رنگبری کنسرسیوم در pH مختلف



نمودار۲: درصد رنگبری کنسرسیوم در دماهای مختلف

درصد رنگبری کنسرسیوم در نمودار pH های مختلف در دمای ۵۰ درجه می‌باشد که نشان دهنده بالا رفتن درصد رنگبری همراه با افزایش pH می‌باشد. درصد رنگبری کنسرسیوم در نمودار دماهای مختلف در pH ۸ می‌باشد که نشان دهنده بالا رفتن درصد رنگبری همراه با افزایش دما می‌باشد. البته توان رنگبری کنسرسیوم در دمای بالا نیاز به بررسی‌های بیش‌تر در دماهای بالاتر دارد که بتوان گفت آیا کنسرسیوم توان رشدی دارد یا نه نمودار نشان دهنده کاهش رشد بعد از دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. ولی برای نظر قطعی نیاز به بازه بیش‌تری می‌باشد که نیاز به طراحی انکوباتورهای شیکرداری با تحمل دمای بالا می‌باشد (۱۱).

- فاکتورهای بررسی شده در نمودارها به‌صورت جدول زیر برای کنسرسیوم باکتریایی گزارش شد:

جدول ۱: محدوده شرایط محیطی مناسب برای رنگبری توسط کنسرسیوم سه باکتری SN2، SN5 و SN10 از پساب واقعی

محدوده pH	دمای قابل رشد (درجه سانتی‌گراد)	شرایط هوادهی	میزان نمک (درصد)
۵/۵ تا ۹/۵	۳۶ تا ۵۱	هوادهی - انوکسیک	۰ تا ۷

نتیجه‌گیری:

در شرایط هوادهی رشد باکتری‌های مورد بحث حداکثر است، ولی بیش‌ترین میزان رنگبری در شرایط بی‌هوازی با کم‌ترین رشد قابل مشاهده صورت می‌گیرد. ازاین‌رو استفاده از شرایط رشد دو مرحله‌ای هوازی – انوکسیک برای رشد باکتری‌ها و رنگبری با استفاده از اختلاط سه باکتری SN2، SN5، SN10 به دست آمد. در شرایط هوازی حداکثر میزان رشد باکتری‌ها حاصل گردید و

جدول ۲: بررسی مقدار رنگبری از پساب توسط سه سویه منتخب و کنسرسیوم سه سویه

سویه باکتری	میزان درصد رنگبری از پساب				مکانیسم رنگبری
	هوازی	بی‌هوازی	انوکسیک (ایستا)	هوازی- انوکسیک	
SN2	۴۱/۶	۴۵	۴۸	۵۳/۲	حذف
SN5	۴۳/۵	۳۸	۴۲	۴۸/۳	جذب
SN10	۴۶/۶	۴۰	۳۹	۶۳/۵	حذف
کنسرسیوم باکتری	۶۰/۳	۴۶/۴	۸۲	۹۰/۴	حذف

در جدول فوق مقایسه رنگبری سویه‌ها نشان داده می‌شود که اختلاط برتری محسوسی از خود نشان می‌دهد. با توجه به حالت‌های مختلف مورد آزمایش برای تجزیه رنگ، بهترین شکل برای حذف رنگ، ایجاد شرایط رشد دو مرحله‌ای بود. در این روش دو مرحله‌ای، توان بالایی از باکتری برای رشد و رنگبری حاصل گردید.

در این روش ابتدا سویه‌ها و یا اختلاط حاصل از سویه‌ها را در حالت هوازی (شیکر انکوباتور) برای حداکثر رشد باکتری قرار داده شد و سپس در حالت حداکثری رشد باکتری یا کنسرسیوم، وارد حالت ایستا (انوکسیک) گردید. با انجام این روش میزان درصد رنگبری، افزایش قابل توجهی نسبت به حالت هوازی، بی‌هوازی و انوکسیک سپس با تأمین شرایط انوکسیک امکان حذف حداکثری رنگ فراهم گردید. نتایج نشان می‌دهد که مجموعه‌ای از عوامل مختلف بر رنگبری و درنتیجه تولید آنزیم ایفا کننده نقش اصلی مؤثر در رنگبری، مؤثر است. مقدار رنگبری نهایی که توسط کنسرسیوم باکتریایی برای پساب واقعی به ثبت رسید ۹۰/۴ درصد می‌باشد. سویه‌های جدا شده و مورد بررسی در این آزمایش‌ها باسیل گرم مثبت اسپوردار و دو کوکوباسیل گرم منفی می‌باشد. کوکوباسیل ها و باسیل ذکر شده از گونه باسیلوس می‌باشند.

به‌صورت تنها داشت. در بررسی روش دو مرحله‌ای، مشاهده گردید که رنگبری توسط اختلاط باکتریایی از سه سویه منتخب بسیار متفاوت با حالت استفاده از سویه‌ها به‌صورت منفرد می‌باشد. همان‌طور که در جدول بالا نشان داده شده است، اختلاط در حالت دو مرحله‌ای درصد رنگبری بالایی به‌صورت حذف رنگ از محیط نشان می‌دهد. نتایج نشان‌دهنده این است که کنسرسیوم کارایی بالاتری برای حوضچه‌های تصفیه‌خانه دارد.

سپاسگزاری:

از همکاری مجموعه پرسنل پژوهشکده زیست‌فناوری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران و نیز همکاری آقای سید محمدرضا نجاتی تشکر می‌گردد.

منابع:

1. Asad, S., M. A. Amoozegar, A. A. Pourbabaee, M. N. Sarbolouki and S. M. M. Dastgheib (2007). "Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria." Bioresource technology 98(11): 2082-2088
2. Ghaly, A. E., R. Ananthashankar, M. Alhattab and V. V. Ramakrishnan (2014). "Production, characterization and treatment of textile effluents: A critical review." JCEPT journal 5: 182.
3. Hashemi, T., S. M. Baseri and N. Bahador (2014). "Isolation of Halophilic Bacteria from Maharlu salt Lake-Iran and their evaluation for the production of bioactive compounds." 365-370.
4. Josh P. A, Biodegradation of dyes using consortium of bacterial strains isolated from textile effluent, EJEBAU journal, 2015, 5(7):36-40
5. Kalyani, D. C., A. A. Telke, R. S. Dhanve and J. P. Jadhav (2009). "Ecofriendly biodegradation and detoxification of Reactive Red 2 textile dye by newly isolated Pseudomonas sp. SUK1." Journal of HM 163(2): 735-742
6. Murrray RGE, Doetsch RN, Robinow CF (1994) Gerhardt P, Murray RGE, Wood WA, Krieg NA Methods for general and molecular bacteriology. ASM journal.
7. Paraschiv, D., C. Tudor and R. Petrariu (2015). "The Textile Industry and Sustainable Development: A Holt–Winters Forecasting Investigation for the Eastern European Area." Sustainability **7**(2): 1280-1291.
8. Pisczek, J. C. (2005). "An Evaluation of Anoxic/Aerobic Treatment for the Removal of Chemical Oxygen Demand and Fiber Reactive Azo Dye Color."
9. San Miguel, G., S. D. Lambert and N. J. D. Graham (2006). "A practical review of the performance of organic and inorganic adsorbents for the treatment of contaminated waters." JCTB journal 81(10): 1685-1696
10. Sharma S. , Isolation and Identification of a novel Endophyte from a plant Amaranthus spinosus International Journal of CMAS ISSN: 2319-7706 Volume4Number2(2015)pp.785-798.
11. Verma, A. and P. Shirkot (2014). "Research Article Purification and Characterization of Thermostable Laccase from Thermophilic Geobacillus thermocatenulatus MS5 and its applications in removal of Textile Dyes. SAJB journal: 479-485.
12. Viswanath, B., B. Rajesh, A. Janardhan, A. P. Kumar and G. Narasimha (2014). "Fungal laccases and their applications in bioremediation." Enzyme research 2014.
13. Yu, S., M. Liu, M. Ma, M. Qi, Z. Lü and C. Gao (2010). "Impacts of membrane properties on reactive dye removal from dye/salt mixtures by asymmetric cellulose acetate and composite polyamide nanofiltration membranes." JMS journal 350(1): 83-91.
14. Josh P. A, Biodegradation of dyes using consortium of bacterial strains isolated from textile effluent, European Journal of Experimental Biology, 2015, 5(7):36-40