شناسایی باکتری‌های هوازی تجزیه کنندهٔ فنل در سیستم ترکیبی بیوفیلتر و لجن فعال

رضا شکوهی[۱] ، مسعود حاجیا[۲] ، احمد جنیدی[۳]
حسین موحدیان عطار[۴] ، عبدالرحیم پرورش[۴]

(دریافت ۸٤/٤/۱۱ پذیرش ۸٤/۸/۱۹)

چکیده

شناسایی باکتری‌های هوازی تجزیه کننده مواد سمی، گام مهمی در روند تکاملی سیستم‌های تصفیه فاضلاب محسوب می‌شود. باکتری‌های مؤثر در تصفیه و حذف آلاینده‌ها متناسب با نوع آلاینده و نوع سیستم و شرایط محیطی حاکم برآن متفاوت است. با شناسایی این باکتری‌ها می‌توان شرایط بهینه برای عملکرد سیستم را تعیین و به حداکثر راندمان دست پیدا کرد و با استفاده از روشهای بیوتکنولوژی نسبت به تقویت آنها برای تصفیه آلاینده‌های مورد نظر اقدام نمود. هدف از انجام این پژوهش، شناسایی باکتری‌هایی است که توانایی تجزیه فنل و حذف آن در سیستم بیولوژیکی ترکیبی بیوفیلتر و لجن فعال (BF/AS) را دارند. برای انجام این پژوهش ابتدا مقداری لجن بیولوژیکی تصفیه‌خانه فاضلاب شهری به عنوان منبع اولیه میکربی، به داخل سیستم تلقیح شد و با تزریق مداوم محلول شیرخشک و هوا تعداد آنها افزایش داده شد. سپس با تزریق تدریجی فنل در مدت سه ماه به تدریج فنل جایگزین شیر خشک گردید. نمونه‌برداری پس از سازگاری میکربها با فنل و استفاده از آن به عنوان تنها منبع مواد غذایی صورت گرفت. به منظور تفکیک میکروارگانیسم‌ها ابتدا نمونه‌ها در محیطهای کشت اختصاصی و افتراقی کشت داده شد و پس از تشکیل و تکثیرکلنی‌ها، با انجام آزمایشهای متعدد باکتری‌های هوازی مورد شناسایی قرار گرفتند. در بررسی میکروسکوپی اولیه پس از رنگ‌آمیزی اسمیر مستقیم انواع باسیل‌ها و کوکوباسیل‌های گرم منفی،قارچ، آمیب، باکتری‌های رشته‌ای و اسپیروکت‌ها مشاهده گردید. آزمایشهای بعدی نشان داد که تمامی باکتری‌های هوازی موجود در این سیستم غیر تخمیری بوده و نتیجه تست OF گلوکز آنها منفی می‌باشد. باکتریهایی که در این مطالعه شناسایی شده‌اند عبارت‌اند از: *سودوموناس آئورژیناز، اسینتوباکتر، مورکسلا، سودوموناس آلکالیژنز، برواندیوموناس ویسیکالریس*. نظر به اینکه در محلول ورودی به سیستم بجز فنل هیچ ماده دیگری وجود نداشته است، لذا می توان نتیجه گرفت که باکتری های موجود در این سیستم از فنل به عنوان تنها منبع تأمین کربن و انرژی استفاده کردند. ضمناً با توجه به آنکه باکتری بی هوازی اجباری در این مطالعه شناسایی نگردید، مشخص شد که تجزیه فنل در این سیستم در شرایط کاملاً هوازی انجام می‌شود؛ چون تمام باکتری‌های جدا شده هوازی هستند. دستاورد مهم دیگر اینکه باکتری *برواندیوموناس ویسیکالریس* برای اولین بار به عنوان باکتری تجزیه کننده فنل گزارش شد.

واژه‌های کلیدی: *فنل، سیستم‌های ترکیبی، باکتری های تجزیه کننده فنل، بیوفیلتر، لجن فعال.*

۱- دانشجوی دکتری بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و عضو هیئت علمی گروه بهداشت محیط دانشکده بهداشت همدان- Shokoohia@yahoo.com
۲- دانشیار دانشگاه علوم پزشکی، دانشگاه بقیاه... (عج)
۳- استادیار گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت همدان
۴- استادیار گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت اصفهان

Identification of Phenol Degrader Aerobe Bacteria in Combined Biological Phenol Treatment System of Biofilter and Activated Sludge

Reza Shokoohi[1] , Masoud Hajia[2] , Ahmad Jonaidi[3]
Hossein Movahedin Attar[4], Abdorahim Parvaresh[4]

Abstract

Disposal of chemical and toxic pollutants via industrial wastewaters into the environment has always been a hazard to water resources. According to scientific reports, biological systems are the most suitable method for treatment of such wastewaters. Obviously various effective organisms depend on the type of pollutants, treatment plant system and environmental conditions. Identification of the most effective microorganism is necessary for determination of optimum conditions, method of control and monitoring of bioreactor to access the maximum efficiency and improvement of operation. The objective of this study was to identify phenol degrader aerobe bacteria in combined biological phenol-treatment system of biofilter and activated sludge. Some amount of biological sludge was provided from domestic wastewater treatment as a primary source of microbe and was added to the designed reactor. Then samples were collected after growth of microbial mass. Phenol concentration and environmental condition (i.e. dissolved oxygen and pH) were stabilized after gradually adaptation of the system to phenol All samples were collected by sterile glass container. These samples were cultured on enrichment media and identified by various differential tests. dentification results proved phenol degrader bacteria are aerobe, nonfrementer but had negative result for of test with glucose as substra. These isolated bacteria were *Pseudomonas aerginosa, P.alcaligenes, Moraxella sp, Acinetobacter sp, and Brevundiomonas vesicularis* Because phenol was the only substrate and nitrogen and phosphorus as necessary factor in this system, all biodegrader bacteria used only Phenol as their both carbon and energy source. Phenol is degraded in a completely aerobic condition and dissolved oxygen concentration is sufficient since all the bacteria are aerobes.

Keywords: *Phenol, Combined System, Phenol Degrader Bacteries, Biofilter, Activated Sludge*.

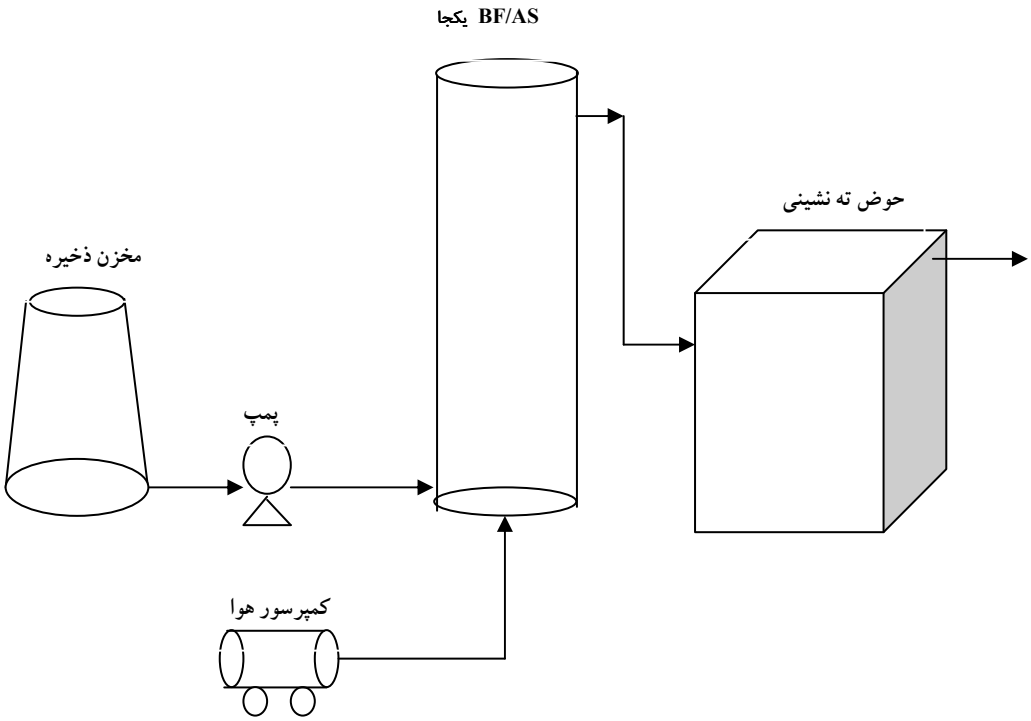
[1] Ph.D. Student Faculty of Public Health Isfahan University of Medical Science. Shokoohia@yahoo.com
[2] Assoc. Prof. Medicine Science University of Baqiyyat Allah
[3] Assist. Prof. Faculty of Public Health Hamedan University of Medical Science
[4] Assist. Prof. Faculty of Public Health Isfahan University of Medical Science

۱- مقدمه

فنل، یکی از هیدروکربن‌های آروماتیک سمی است که آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا [1] آن را در دسته آلاینده‌های مقدم [2] قرار داده است[۱]. این ماده و مشتقات آن درصنایع متعددی ازجمله صنایع تولید رزین، رنگ، سموم دفع آفات، داروسازی، پالایشگاههای نفت، صنایع پتروشیمی، معادن زغال سنگ، صنایع فولاد و آلومینیوم و تعدادی صنایع دیگر کاربرد دارد و ازطریق دفع غیربهداشتی فاضلاب صنایع یادشده باعث آلودگی محیط زیست و به خصوص منابع آب می‌شود[۲و۳]. برای تصفیه فاضلابهای حاوی فنل، روشهای متعددی وجود دارد که مهم‌ترین آنها عبارت‌اند از: اکسیداسیون شیمیایی، جذب سطحی، تصفیه بیولوژیکی و ترکیبی از روشهای مذکور [۳ و ۴].

در بین روشهای بیان شده، سیستم‌های بیولوژیکی به دلیل مزایای خاصی که نسبت به سایر روشها دارند، بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرند. یکی ازمزایای عمده این روشها، این است که سازگاری بیشتری با محیط زیست دارند؛ به عبارت دیگر، از دیدگاه محیط زیست ایمن‌تر محسوب می‌شوند [۵]. برای مثال در فرآیند جذب سطحی، مواد آلاینده بدون تغییر و به طور موقت بر روی ماده جاذب جذب می‌شوند و ممکن است تحت تأثیر عوامل مختلفی مجدداً مواد آلاینده را در محیط زیست آزاد نمایند. مزیت دیگر این سیستم‌ها نسبت به روشهای شیمیایی، این است که معمولاً در آنها هیچ گونه ماده شیمیایی زیان آوری برای محیط زیست مصرف نمی‌شود، لذا دفع پساب و لجن حاصل از این فرآیندها نسبت به فرآیندهای شیمیایی اثرات سوء کمتری در منابع پذیرنده، به دنبال دارد[۶]. سیستم‌های تصفیه بیولوژیکی براساس نحوه استقرار میکروارگانیسم‌ها به دو دسته سیستم‌های رشد چسبیده و معلق تقسیم می‌شوند. درسیستم‌های رشد چسبیده، میکروارگانیسم‌ها برروی بسترهای نگهدارنده‌ای ازجنس پلاستیک، سنگ و نظایرآن چسبیده و تشکیل بیوفیلم می‌دهند؛ ولی درسیستم‌های رشد معلق، بسترخاصی وجود ندارد و میکروارگانیسم‌ها در داخل سیستم شناور یا معلق هستند. مزیت اصلی سیستم‌های رشد چسبیده این است که در این گونه سیستم‌ها امکان حضور تعداد و تنوع میکربی بیشتری وجود دارد، به همین دلیل تحمل و قابلیت انعطاف آنها در بارهای آلی بالا و نوسانات کیفی، زیاد است ولی معمولاً امکان دستیابی به استانداردهای پساب در سیستم‌های رشد معلق بیشتر است. لذا برای دستیابی به مزایای هر دو سیستم، در این پژوهش، ازتصفیه بیولوژیکی ترکیبی برای حذف فنل استفاده شده است[۶]. نمای کلی و روندنمای سیستم مورد مطالعه در شکل ۱ نشان داده شده است.

[1] Environmental Protection Agency (EPA)
[2] Priority Pollutants



شکل ۱ - روندنمای سیستم ترکیبی BF/AS

چون در سیستم‌های تصفیه بیولوژیکی، میکروارگانیسم‌ها مسئول تصفیه آلاینده‌های مورد نظر می‌باشند و از طرف دیگر گونه‌های میکربی مؤثر در فرآیند تصفیه، متناسب با نوع ماده آلاینده و همچنین نوع سیستم تصفیه متفاوت است، لذا شناسایی و معرفی این گونه میکرب‌ها برای استفاده طراحان و بهره‌برداران سیستم‌های تصفیه و همچنین محققان مختلف به خصوص متخصصان محیط زیست و بیوتکنولوژی مفید می‌باشد.

برای شناسایی میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده فنل در تعدادی از سیستم‌های تصفیه فاضلاب از جمله سیستم لجن فعال، تحقیقات متعددی توسط محققان مختلف انجام شده است، ولی تاکنون در خصوص شناسایی میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده فنل درسیستم‌های تصفیه بیولوژیکی ترکیبی بیوفیلتر و لجن فعال (BF/AS) تحقیقی یکپارچه صورت نگرفته است[۵،۷،۸و۹]. هدف از انجام این پژوهش شناسایی باکتری‌هایی است که قادر به تجزیه فنل و حذف آن در سیستم بیولوژیکی ترکیبی BF/AS باشند.

۲- مواد و روشها

۲-۱- مشخصات سیستم مورد مطالعه

سیستم مورد مطالعه، یک راکتور بیولوژیکی ترکیبی است که بخشی از باکتری‌های موجود در آن به صورت معلق و بخشی بر روی بستر نگهدارنده چسبیده‌اند. رژیم هیدرولیکی در این سیستم مستمر می‌باشد. پساب خروجی از راکتور بیولوژیکی برای جداسازی لخته‌های بیولوژیکی وارد حوض ته‌نشینی می‌شود. در این سیستم، مانند فرآیندهای لجن فعال، بخشی از لجن ته‌نشین شده به راکتور بیولوژیکی برگشت داده می‌شود. مشخصات عمده سیستم و بعضی از شرایط زیست‌محیطی در زمان انجام تحقیق به شرح زیر می‌باشد:

ظرفیت سیستم ۲۵ لیتر، زمان ماند هیدرولیکی ۷ ساعت، غلظت فنل ورودی به سیستم ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، غلظت اکسیژن محلول ۲ میلی‌گرم در لیتر و pH برابر ۷/۵ می‌باشد. مراحل انجام این پژوهش که از نوع توصیفی، است به شرح زیر می‌باشد.

۲-۲- تهیه باکتری و سازگار کردن آنها با فنل

باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش از لجن بیولوژیکی تصفیه‌خانه فاضلاب شهری تهیه شد و پس از تلقیح به سیستم مورد مطالعه و با تزریق مستمر محلول شیرخشک و هوا به مدت یک ماه، باکتری‌ها تکثیر شده و بیوفیلم بر روی بستر نگهدارنده تشکیل گردید.

بعد از تکثیر باکتری‌ها، علاوه بر محلول شیرخشک، فنل با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر اضافه شد و به تدریج به غلظت فنل افزوده شد و غلظت شیر خشک کاهش داده شد. بعد از حدود سه ماه فقط محلول فنل به عنوان تنها ماده غذایی و ازت و فسفر به عنوان مواد مغذی ضروری به راکتور تزریق شد.

۲-۳- نمونه برداری

در این پژوهش، عملیات نمونه‌برداری برای انجام آنالیز، پس از سازگاری میکرب‌ها با فنل، و استفاده از آن به عنوان تنها ماده غذایی قابل دسترس، صورت گرفت. منبع اولیه میکربی در این سیستم، لجن بیولوژیکی تصفیه‌خانه فاضلاب شهری است. نمونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش توسط ظروف شیشه‌ای استریل از باکتری‌های ته‌نشین شده در واحد کلاریفایر تهیه شد. به منظور اطمینان بیشتر از صحت نتایج، مجموع عملیات نمونه‌برداری و آنالیز نمونه‌ها تا سه مرتبه تکرار شد.

۲-۴- روش شناسایی باکتری‌ها

به منظور شناسایی باکتری‌ها، پس از مشاهده اسمیر مستقیم، برای جداسازی انواع کلنی‌ها، از آزمایشهای بیوشیمیایی استفاده شد. برای جداسازی اولیه از محیطهای آگار خوندار و EMB[1] استفاده شد. در کشت اولیه، انواع کلنی‌ها جدا شد، پس ازکشت مجدد، به منظور تهیه کشت خالص، هر یک از آنها در محیطهای BHI[2]، EBM و آگار خوندار کشت گردید. پس از تهیه کشت خالص، برای شناسایی باکتری‌ها با توجه به آنکه تمام باکتری‌ها گرم منفی بودند از آزمایشهای کاتالاز، اکسیداز، TSI[3]، سیترات، SIM[4]، اوره، OF[5]، گلوکز، تعیین حساسیت به پلی میکسین، هیدرولیز ژلاتین، هیدرولیز اسکولین، Dnase، قندهای مانیتول و مالتوز استفاده شد و با استفاده از جدول نتایج، اقدام به شناسایی باکتری‌ها گردید و تعیین هویت آنها صورت گرفت[۱۰ و ۱۱].

۳- نتایج

نتایج این پژوهش را می توان به چند قسمت به شرح زیر تقسیم‌بندی کرد:

۳-۱- نتایج حاصل از سازگاری میکروارگانیسم‌ها

در این پژوهش مشخص شد که می‌توان میکروارگانیسم‌های مربوط به تصفیه‌خانه فاضلاب شهری را به طور تدریجی به مدت

[1] Eosin Methylene Blue
[2] Brain Heart Infusion
[3] Triple Sugar Iron
[4] Sulfide Indole Motility Agar
[5] Oxidative Fermentative Basal Medium

حدود سه ماه با فنل سازگار کرد، به نحوی که بدون نیاز به ماده غذایی دیگر و یا سوبسترای مشارکتی، فنل به عنوان تنها منبع تأمین کربن و انرژی مورد استفاده قرار گیرد.

۳-۲- نتایج حاصل از آنالیز میکربی در سیستم مورد مطالعه

۳-۲-۱- مطالعات میکروسکوپی اسمیر مستقیم نمونه قبل از مواجهه آنها با فنل

در بررسی میکروسکوپی، نمونه انواع باسیل‌ها، کوکو باسیل‌ها، کوکسی‌های گرم منفی و مثبت، قارچ، آمیب و اسپیروکت مشاهده شد. سپس با توجه به ضرورت شناسایی نوع میکروارگانیزم‌ها، نسبت به جداسازی آنها در محیط کشت و شناسایی توسط آزمایشهای افتراقی، اقدام گردید. باکتری‌هایی که در مرحله اولیه جدا شدند عبارت بودند از :

باسیلوس[1]، ای کلای[2]، نیسیریا[3]، مورکسلا[4]، اسینتوباکتر[5]، فلاووباکتریوم[6]، سودوموناس آئورژیناز[7]، سودوموناس آلکالیژنز[8]، برواندیوموناس ویسیکالریس[9]

علاوه بر باکتری‌های فوق دو باکتری دیگر نیز جداسازی شد و برخی از آزمایشهای افتراقی بر روی آنها صورت گرفت؛ لکن متأسفانه به دلیل در اختیار نبودن بعضی از مواد، امکان تشخیص دقیق آنها میسر نشد. مشخصات باکتری‌های شناسایی شده در جدول ۱ و مشخصات باکتری‌های ناشناخته در جدول ۲ نشان داده شده است. این دو باکتری پس از مواجهه با فنل، با آن سازگار شده و در محیط کشت همچنان قابل جداسازی بودند.

۳-۲-۲- نتایج حاصل از جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم‌ها

پس از جدا سازی میکروارگانیسم‌ها در محیطهای مغذی، باکتری‌های جدا شده با استفاده از تست‌های در دسترس شناسایی شد.

باکتری‌هایی که در این پژوهش به طور مشخص و قابل استناد شناسایی شده‌اند عبارت‌اند از:

سودوموناس آئورژیناز، سودوموناس آلکالیژنز، اسینتوباکتر، مورکسلا و برواندیوموناس ویسیکالریس

[1] Bacilus
[2] E.coli
[3] Neisseria
[4] Morexlla
[5] Acinetobacter
[6] Flavobacterium
[7] Pseudomonas aeruginosa
[8] Pseudomonas alcalignes
[9] Brevundiomonas vesicalaris

۴- بحث

نتایج حاصل از این پژوهش مؤید آن است که اولاً می‌توان سیستم مورد مطالعه را در مدت حدود سه ماه با فنل در غلظت بالا (۵۰۰میلی‌گرم بر لیتر) سازگار کرد؛ به نحوی که بدون افزودن ماده دیگری در این غلظت بالا، آن را تحمل نموده و به عنوان ماده غذایی مصرف نماید. ثانیاً به دلایل زیر می‌توان نتیجه گرفت که تمامی باکتری‌های شناسایی شده، از فنل به عنوان تنها منبع کربن و انرژی استفاده کرده‌اند:

- تمامی میکروارگانیسم‌های شناسایی شده فاقد اسپور می‌باشند و نمی‌توانند مدت طولانی را بدون مواد غذایی تحمل نمایند.
- نمونه‌های مورد آنالیز ۹ ماه بعد از دورهٔ سازگاری و قطع کامل شیر خشک تهیه شده‌اند و در این مدت هیچ ماده غذایی دیگری به جز فنل در دسترس آنها قرار نگرفته است.
- تمام میکرب‌های جدا شده با سیل گرم منفی بدون اسپور و از نظر متابولیکی فعال می‌باشند.

این پژوهش نشان می‌دهد با توجه به این که تمام میکروارگانیسم‌های شناسایی شده از نوع هوازی هستند، غلظت اکسیژن محلول موجود در بیوراکتورهای مورد مطالعه برای تجزیه فنل و رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها کافی می‌باشد و با در نظر گرفتن این نتایج، مسیر متابولیسم فنل توسط میکروارگانیسم‌های مذکور و محصولات واسطه و نهایی مشخص می‌شود.

نکته دیگر اینکه باکتری‌های شناسایی شده در این مطالعه گرم منفی و غیرتخمیری می‌باشند و هرچند به عنوان باکتری‌های اکسید کننده شناخته می‌شوند، ولی قادر به اکسیداسیون گلوکز نمی‌باشند.

دو نوع از باکتری‌های شناسایی شده در پژوهش حاضر به نامهای *سودوموناس آئورژیناز* و *سودوموناس آلکالیژنز* جزء گونه‌های *سودوموناس* هستند. توانایی سودوموناس‌ها در خصوص تجزیه فنل توسط محققین مختلف گزارش شده است. برای مثال سرنیگلیا[10] و کرو[11]، گونه *سودوموناس پوتیدا*[12] را هم به عنوان تجزیه کننده فنل گزارش کرده‌اند [۷].

ژرمن وهمکارانش[13] هم، گونه *سودوموناس* را در یک سیستم لجن فعال که به منظور تصفیه فاضلاب فنلی مورد تصفیه قرار گرفته بود، شناسایی کرده‌اند، ولی به طور مشخص نوع *سودوموناس* را گزارش نکرده‌اند[۸].

[10] Cerniglia
[11] Crow
[12] Pseudomonas putida
[13] German et al.

جدول ۱- مشخصات باکتری‌های شناسایی شده تجزیه کننده فنل در سیستم BF/ AS

ویژگی	مورفولوژی	آگار خوندار	EMB	کاتالاز	اکسیداز	TSI	سیترات	اوره آز	اندول	حرکت	پلی میکسین	گلوکز	ژلاتیناز	اسکولین	سایر تست‌ها
سودوموناس آئورژیناز	باسیل گرم منفی	مثبت پیگمان سبز-آبی	مثبت	مثبت	مثبت	K/K	مثبت	منفی	منفی	مثبت	S	O اکسیداتیو	مثبت	منفی	رشد در ۴۲°C
مورکسلا	کوکسیویئد	مثبت کلنی زرد	منفی	مثبت	مثبت	K/K	منفی	منفی	منفی	منفی	S ضعیف	منفی	منفی	منفی	حساس به CB[1] حساس به پنی سیلین
برواندیوموناس ویسیکالریس	باسیل گرم منفی	مثبت کلنی زرد	مثبت	مثبت	مثبت	K/K	منفی	منفی	منفی	مثبت	S	منفی	مثبت	مثبت	تجزیه گلوکز در شرایط هوازی
سودوموناس آلکالیژنز	باسیل گرم منفی	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	K/K	مثبت	منفی	منفی	مثبت	S	منفی	منفی	منفی	
اسینتو باکتر	باسیل گرم منفی	مثبت	مثبت	مثبت	منفی	K/K	مثبت	منفی	منفی	منفی	انجام نشد	منفی	-منفی	منفی	به پنی سیلین مقاوم

جدول ۲- مشخصات باکتری های ناشناخته تجزیه کننده فنل در سیستم BF/ AS

ویژگی	مورفولوژی	آگار خوندار	EMB	کاتالاز	اکسیداز	TSI	سیترات	اوره آز	اندول	حرکت	پلی میکسین	گلوکز	ژلاتیناز	اسکولین
سودوموناس آئورژیناز	باسیل گرم منفی کوتاه	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	K/K	منفی	منفی	مثبت ضعیف	مثبت	S	منفی	منفی	منفی
مورکسلا	باسیل گرم منفی بلند و بزرگ	مثبت کمی موکوئید	بسیار ضعیف	بسیار ضعیف	مثبت	K/K	متغیر	منفی	منفی	ضعیف	S	منفی	منفی	متغیر مثبت

[1] Carbenicillin

ال سید و همکارانش[1] با انجام تحقیقاتی توانستند دو باکتری شناسایی کنند که قادرند فنل را در غلظتهای بالا تجزیه نمایند. نام این دو باکتری *بورکهلدریاسپاشیا PW3*[2] و *سودوموناس آئورژیناز AT2*[3] گزارش شده است[۹].

سودوموناس‌ها که به نظر می‌رسد بیشترین توانایی را در تجزیه آلاینده‌های آلی از جمله فنل دارند، جزء باکتری‌های میله‌ای شکل گرم منفی هستند که هرگز به صورت تخمیری عمل نمی‌کنند. بعضی از باکتری‌های مربوط به این گونه قادرند بیش از ۱۰۰ نوع ماده آلی مختلف را به عنوان منبع کربن مصرف نمایند. توانایی زیاد *سودوموناس‌ها* در تجزیه مواد آلی صرفاً به دلیل توانایی آنها در تولید آنزیم‌های کاتابولیکی نیست، بلکه به قابلیتهای آنها در تنظیم مسیرهای متابولیکی هم بستگی دارد[۵].

توانایی گونه *مورکسلا* نیز برای تجزیه فنل قبلاً توسط محققین متعددی مورد تأیید قرار گرفته و اخیراً هم شیمازو و همکارانش[4] توانستند با کمک روشهای مهندسی ژنتیک توانایی گونه *مورکسلا* را با هدف تجزیه سریع تر آفت‌کشهای ارگانوفسفره و *سودوموناس نیتروفنل*[5] افزایش دهند [۱۲].

در خصوص توانایی *برواندیوموناس ویسیکالریس* برای تجزیه فنل تاکنون گزارشی ارائه نشده است. ولی نتایج تحقیقات به عمل آمده توس اسمجکال و همکارانش[6] نشان داد که باکتری *برواندیوموناس* قادر است سم علف‌کشی به نام ۴-(۲و۴-دیکلروفنوکسی) بوتریک اسید و ۴-(۴-کلرو-متیل فنوکسی) بوتریک اسید را تجزیه نماید[۱۳].

۵- نتیجه گیری

نظر به این که در محلول ورودی به سیستم به جز فنل هیچ ماده دیگری وجود نداشته است، می‌توان نتیجه گرفت که میکروارگانیسم‌های موجود در این سیستم از فنل به عنوان تنها منبع تأمین کربن و انرژی استفاده کردند. ضمناً با شناسایی این میکروارگانیسم‌ها مشخص شد تجزیه فنل در این سیستم در شرایط کاملا" هوازی انجام می‌شود، چون تمام باکتری‌های جدا شده هوازی هستند. علاوه بر این، با شناسایی این میکروارگانیسم‌ها می‌توان عوامل مؤثر در رشد و تکثیر آنها و عملکرد سیستم را به طور دقیق‌تر مشخص کرد. دستاورد مهم دیگر این که باکتری *برواندیوموناس ویسیکالریس* برای اولین بار به عنوان باکتری تجزیه کننده فنل گزارش می‌شود و تاکنون گزارشی در این مورد ارائه نشده است و با توجه به این که غلظت فنل ورودی به سیستم در این مطالعه نسبتاً بالا می‌باشد، حضور، تحمل و تجزیه فنل در این غلظت توسط این باکتری قابل توجه می‌باشد.

۶- قدردانی

بدین وسیله از سرکار خانم مریم حیدربرقی کارشناس محترم آزمایشگاه میکرب شناسی دانشگاه علوم پزشکی همدان که در انجام این تحقیق با ما کمال همکاری و مشارکت را نموده‌اند، صمیمانه سپاسگزاری می‌نماییم.

---

[1] El Sayed et al.
[2] Burkholderiacepacia PW3
[3] Pseudomonas Aeruginosa AT2
[4] Shimazu et al.
[5] P-Nitrophenol
[6] Smejkal et al.

۷- مراجع

1- Sullivan, B.G., Garry, G.R., and Krieger, G.R.(2001). *Clinical environmental health and toxic exposure*, 2nd Ed., Lippin Cott Williams & Wilkins, USA.

2- Cohrssen, B., and Charles, H. (2001). *Patty's toxicology*, 5th Ed., John Wiley and Sons, Canada.

3- Patterson, J.W. (1975). *Wastewater treatment technology*, Ann Arbor Science Publishers Inc., USA.

4- Freeman, H. (1989). *Standard handbook of hazardous waste treatment and disposal*, McGraw- Hill, USA.

5- Rehm, H., and Reed, G. (1999). *Biotechnology*, 2nd Ed., Vol 11a., WIEY-VCH, Weinheim, Germany.

6- Tchobanoglous, G. (2003). *Wastewater engineering,* McGraw-Hill, USA.

7- Roberts, E. (1992). *Bioremediation of petroleum contaminate sites,* Ck Smoley, USA.

8- German, B., Ariel, G. (1996). “Characterization of the Microorganisms from an Acclimated Activated Sludge Degrading Phenolic Compounds. ”*J.Wat. Sci.Tech.*, 34(5-6), 289-294.

9- El-Sayed, W.S., Ibrahim, M.K., Abu-Shady, M., El-Beih, F., Ohmura, N., Saiki, H., and Ando, A. (2003). "Isolation and Characterization of Phenol-Catabolizing Bacteria from a Coking Plant." *J.Biosci.Biotechnol. Biochem.* ,67(9), 2026-2029.

10- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schrechenberger, P.C., and Winn, W.C.(1997). *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, 15th Ed, Lippin Cott, Philadelphia, USA.

11- Yean, F.M.(2000). *Biochemical test of identification of medical bacteria*, 3rd Ed, Williams Wilkins.

12- Shimazu, M., Mulchandani, A., and Chen, W.(2001). “Simultaneous Degradation of Organic Phosphorus Pesticides and P-Nitro Phenol by a Genetically Engineering Moraxella SP.” *J. Biotecnol. Bioeng.*, 76, 318-324.

13- Smejkal, C.W., Seymour, F.A., Burton, S.K., and Lappin-Scott, H.M. (2003). “Characterisation of Bacterial Cultures Enriched on the *Chlorophenoxyalkanoic* Acid Herbicides 4-(2,4-Dichlorophenoxy) Butyric Acid and 4-(4-Chloro-2-Methylphenoxy) Butyric Acid. ” *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 30(9), 561-567.