

## جداسازی و شناسایی باکتری های تجزیه کننده فنل از رودخانه کر و بررسی سینتیک رشد آنها

فرشید کفیل زاده<sup>۱</sup>، فاطمه دهقانی<sup>۱</sup>، محمد صادق فرهنگ دوست<sup>۲</sup>

۱- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران.

۲- جهاد دانشگاهی واحد فارس، شعبه فیروزآباد، فیروز آباد، ایران.

یافته / دوره چهاردهم / شماره ۵ / زمستان ۹۱ / مسلسل ۵۴

### چکیده

دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۴/۱۳ ، پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۸/۱۴

**\* مقدمه:** در گذشته از روش های فیزیکی شیمیایی برای حذف فنل ومشتقات آن استفاده می شد ولی امروزه تصفیه زیستی در اولویت قرار دارد. باکتری ها با تکثیر سریع در حضور فنل و ترکیبات آن توانایی فوق العاده ای را در حذف این ترکیبات نشان داده اند. هدف از این پژوهش جداسازی و شناسایی باکتری های تجزیه کننده فنل از آب و رسوب رودخانه کر و بررسی سینتیک رشد آنها در حضور این ماده سمی می باشد.

**\* مواد و روش ها:** ۶۰ نمونه آب و رسوب از مناطق مختلف رودخانه کر جمع آوری گردید. جداسازی باکتری های تجزیه کننده فنل با کشت نمونه ها بر روی محیط پایه نمکی فنل برات انجام شد. برای غربالگری باکتری های تجزیه کننده فنل معرف برموتیمول بلو به محیط اضافه گردید. در نهایت با کشت باکتری ها در غلظت های مختلف فنل، که از ۰/۲ تا ۰/۹ گرم برلیتر بود، توانایی باکتری ها در تجزیه غلظت های مختلف فنل اندازه گیری شد. به منظور بررسی سینتیک رشد باکتریها از ثبت مداوم OD استفاده گردید. در این روش پس از ثبت اولیه جذب نوری، محیطهای کشت در دمای ۳۰<sup>0C</sup> به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار و با دور ۱۰۰ rpm قرار داده شد و تا ۳۰۰ ساعت جذب نوری قرائت گردید.

**\* یافته ها:** سودوموناس ها از جمله مهمترین باکتری های تجزیه کننده فنل جدا شده از رودخانه کر بودند که فراوانی وسیعی را در قسمت های مختلف رودخانه نشان دادند. اسینتوباکتر نیز به نوبه خود قابل توجه بود. اکثر باکتری های جدا شده قدرت قابل ملاحظه ای در تجزیه فنل نشان دادند. به طوری که سودوموناس تا غلظت ۰/۹ گرم برلیتر، اسینتوباکتر تا غلظت ۰/۸ گرم بر لیتر، شیگلا، سالمونلا، کلبسیلا و سیتروباکتر تا غلظت حدود ۰/۶ گرم بر لیتر و بقیه باکتری ها تا غلظت ۰/۳-۰/۲ گرم بر لیتر فنل را توانستند حذف کنند. بررسی میزان OD نیز تأییدی بر نتایج به دست آمده بود به طوری که بالاترین میزان OD مربوط به باکتری سودوموناس به دست آمد و ماکزیمم جذب نوری هر باکتری در حداکثر غلظت تجزیه به وسیله آن مشاهده گردید.

**\* بحث و نتیجه گیری:** رودخانه کر دارای تعداد زیادی از باکتری های تجزیه کننده فنل است که قدرت تجزیه ای بالایی دارند. از مهمترین این جنس ها می توان به سودوموناس و اسینتوباکتر اشاره کرد.

**\* واژه های کلیدی:** فنل، تجزیه، سودوموناس، اسینتوباکتر، رودخانه کر.

آدرس مکاتبه: جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه زیست شناسی

پست الکترونیک: Kafilzadeh@jia.ac.ir

## مقدمه

فنل‌ها ترکیباتی با فرمول عمومی  $\text{ArOH}$  می‌باشند که به شدت سمی بوده و در اشکال گوناگون و یا در ارتباط با عناصر دیگر به فراوانی یافت می‌شوند (۱).

فنل در مقابل تجزیه باکتریایی مقاوم می‌باشد، زیرا این ماده برای باکتری‌ها حتی در غلظت‌های کم سمی است. روش‌های زیادی جهت حذف فنل از آب‌ها و پساب‌ها بکار می‌رود که شامل تجزیه زیستی، فیلترهای غشایی، جذب، اکسیداسیون و استخراج به وسیله غشاء مایع می‌باشد. روش‌های فیزیکوشیمیایی دارای معایبی از قبیل قیمت بالا، بازده پایین، مصرف انرژی زیاد و تولید لجن حاوی آهن بوده در حالیکه روش تجزیه زیستی آسان، موثر و ارزان قیمت می‌باشد (۲).

ترکیبات فنلی در محیط زیست اثرات مضرى همچون کاهش رشد، کاهش مقاومت در برابر بیماری، مرگ و میر موجودات آبرزی و افزایش رشد گیاهان هرز را ایجاد می‌کنند و چنانچه آلودگی فنلی به آب‌های زیرزمینی راه پیدا کند مسائل اکولوژیک جدی را در بر خواهد داشت. به همین دلیل مقدار مجاز فنل در خروجی صنایع نایستی از ۵ میلی‌گرم در لیتر بیشتر باشد. با توجه به موارد فوق‌الذکر حذف فنل از محیط زیست خصوصاً آب و منابع آبی اهمیت زیادی دارد (۱).

تجزیه‌ی هوازی فنل مثل سایر ترکیبات آروماتیک ابتدا با هیدروکسیلاسیون حلقه‌ی فنلی شروع می‌شود. آنزیم مسئول این مرحله آنزیم فنل هیدروکسیلاز می‌باشد که آنزیم کلیدی مرحله‌ی تجزیه‌ی هوازی است. هیدروکسیلاسیون حلقه منجر به ایجاد کاتکول می‌شود که از طریق مسیر اورتو یا پارا می‌شکند. تمامی ترکیبات حاصله از هر دو مسیر (استیل کوآنزیم A، سوکسینات، اسید پیروویک و استالدهید) در نهایت وارد چرخه‌ی کربس (TCA) می‌شوند و برای تولید انرژی به کار می‌روند. تجزیه بی‌هوازی فنل به وسیله‌ی باکتری‌های

متعدد مشاهده شده است. در همه‌ی این موارد فنل به ۴- هیدروکسی بنزوات، کربوکسیله می‌شود. تجزیه بی‌هوازی در نهایت منجر به ایجاد بنزوئیل کوآنزیم A می‌شود. متابولیسم بیشتر ماده اخیر منجر به تشکیل ۳ مولکول استیل کوآنزیم A و یک مولکول  $\text{CO}_2$  می‌گردد (۳).<sup>۱</sup>

تاکنون میکروارگانیسم‌های متعددی اعم از باکتری‌ها، مخمرها، قارچ‌ها و جلبک‌ها به عنوان تجزیه‌کننده‌ی فنل از منابع مختلف جداسازی شده‌اند ولی در این بین باکتری‌ها از اهمیت خاصی برخوردارند. از بین مخمرهای تجزیه‌کننده فنل می‌توان *Phanerochaete Trichosporon cutaneum*، *Candida chryso sporium*، *Pleurotutus ostreatus* و *tropicalis* را نام برد. از انواع قارچ‌های تجزیه‌کننده‌ی فنل می‌توان به *Fusarium Aspergillus fumigatus* اشاره کرد. جلبک *Ochromonas danica* نیز قادر به تجزیه‌ی فنل از مسیر متا می‌باشد. از بین باکتری‌های تجزیه‌کننده نیز می‌توان به *Pseudomonas sp* و *Acinetobacter* اشاره کرد (۴-۶).

اولین گزارش تجزیه باکتریایی فنل توسط تیبلس<sup>۱</sup> و بکر<sup>۲</sup> در سال ۱۹۸۹ انجام شد. در این تحقیق میزان تجزیه فنل توسط باکتری‌ها ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بدست آمد (۲). در سال ۲۰۰۷، آداو<sup>۳</sup> و همکارانش گزارش کردند که سویه (ATCC 11171 (DQ 831531) قادر به تجزیه فنل تا غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد (۷). در صورتیکه وانگ<sup>۴</sup> و همکاران گزارش نمودند که سویه‌ای از باکتری *Acinetobacter sp* قادر به تجزیه این ترکیب تا غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر است (۸).

1. Tibbles
2. Baecker
3. Adav
4. Wang

درمورد نمونه های آب نیز روش به همین صورت بود با این تفاوت که مقدار اولیه ۱۰ میلی لیتر نمونه آب با ۱۰۰ میلی لیتر از محیط کشت فنل براث مخلوط و همگی مراحل قبل تکرار گردید (۹).

در مرحله بعد باکتری های جدا شده بر اساس مشاهدات مرفولوژیک و اختصاصات بیوشیمیایی تعیین هویت شدند. بدین منظور آزمایش های رنگ آمیزی گرم، تولید آمیلاز و ژلاتیناز، مصرف سیترات، تست ایندول و غیره انجام گردید. روش برگری<sup>۲</sup> جهت شناسایی باکتری ها بکار رفت.

#### بررسی توانایی حذف فنل توسط باکتری ها :

در این تحقیق برای بررسی توانایی حذف فنل توسط باکتری ها، از محیط پایه ی نمکی فنل براث با غلظت های مختلف فنل استفاده گردید. برای هر باکتری ۱۰ لوله از محیط فنل براث در نظر گرفته شد و غلظت های فنل از ۰/۲ تا ۰/۹ گرم بر لیتر به ترتیب به لوله ها اضافه گردید. باکتری ها به مدت ۱ هفته با هوادهی منظم در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتیگراد کشت داده شدند.

جهت ارزیابی حذف فنل توسط باکتری های تجزیه کننده ی جدا شده، روش گیبس<sup>۳</sup> به کار رفت. در این روش از 4- 2,6-Dichloroquinone chloroimide (معرف گیبس) که با فنل واکنش داده و یک ترکیب آبی رنگ ایجاد می کند، استفاده شد. نحوه ی انجام سنجش با معرف گیبس بدین صورت است که ۱۵۰ میکرولیتر از مایع رویی محیط کشت پس از سانتریفیوژ که pH آن برابر ۸ است را با ۳۰ میکرولیتر از  $\text{NaHCO}_3$  با pH=۸ مخلوط کرده و ۲۰ میکرولیتر از معرف گیبس (۱ میلی گرم برلیتر) به مخلوط اضافه می گردد. سپس آن را به مدت ۴۵-۱۵ دقیقه در دمای اتاق با دستگاه ترمومیکسر به هم زده و در نهایت جذب مخلوط در ۶۳۰ نانومتر خوانده می شود (۱۰).

هدف از این پژوهش جداسازی و شناسایی باکتری های تجزیه کننده فنل از آب و رسوب رودخانه کر در استان فارس و بررسی سینتیک رشد آن ها و همچنین سنجش میزان حذف فنل توسط باکتری های جدا شده می باشد.

#### مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی<sup>۱</sup> در ۳ فصل زمستان، بهار و تابستان بر روی آب و رسوب رودخانه کر انجام شد. رودخانه کر با طول تقریبی ۲۸۰ کیلومتر و حوزه آبخیزی به مساحت ۹۷۰۰ کیلو متر مربع می باشد. شکل ۱ موقعیت جغرافیایی رودخانه کر را نشان می دهد.

نمونه برداری با ظروف کاملاً استریل و در هر بار ۲۰ نمونه (۱۰ نمونه رسوب / ۱۰ نمونه آب) که جمعا ۶۰ نمونه شد، جمع آوری گردید. نمونه ها کمتر از مدت زمان ۶ ساعت و در فلاسک حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل گردیدند.

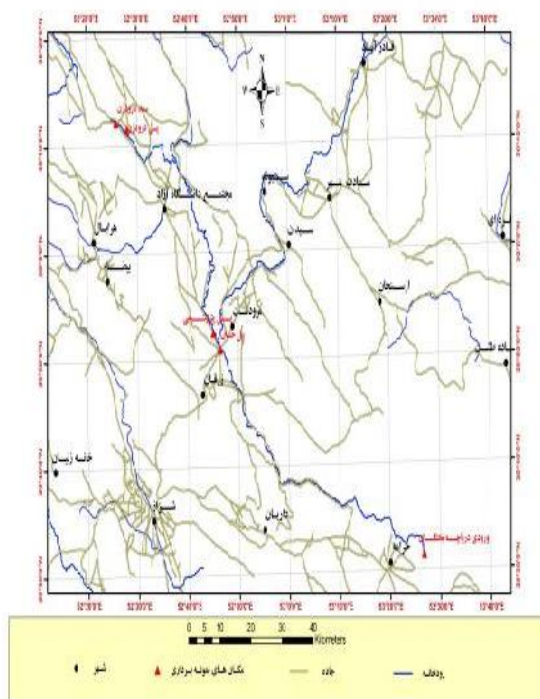
#### جداسازی و شناسایی باکتری های تجزیه کننده ی فنل :

در مورد نمونه های رسوب، جداسازی بدین صورت بود که ۱۰ گرم از نمونه ی رسوب با ۱۰۰ میلی لیتر از محیط کشت فنل براث مخلوط و به مدت یک هفته در دمای ۳۰<sup>oC</sup> و با هوادهی قرار داده شد. بعد از این زمان ۱ میلی لیتر از محیط مذکور به ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت جدید فنل براث تلقیح گردید و مجدداً به مدت ۱ هفته در دمای ۳۰<sup>oC</sup> و با هوادهی قرار داده شد. پس از پاساژ دوم ۱ میلی لیتر به محیط کشت جدید فنل براث تلقیح گردید و به مدت یک هفته دیگر در شرایط مذکور انکوبه شد. این پاساژ دادن تا زمانی تکرار گردید که کدورت به دست آمده ناشی از رشد باکتری و نه از کدورت رسوب مخلوط شده با اولین محیط کشت باشد. پس از پاساژ نهایی به صورت ایزوله روی محیط کشت فنل آگار کشت داده شد و باکتری ها به صورت کلنی تک جداسازی گردیدند.

## تعیین رشد باکتری‌های جدا شده در غلظت‌های مختلف فنل

## توسط بررسی جذب نوری آن‌ها (سینتیک رشد):

در این روش بهترین سویه‌های تجزیه‌کننده فنل از بین باکتری‌های تجزیه‌کننده فنل، با مطالعه جذب نوری آنها مشخص شدند. روش کار به این صورت است که در ارلن‌های جداگانه به میزان ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت فنل پراث (با غلظت‌های متفاوت فنل) ریخته شد. سپس به میزان ۵ میلی‌لیتر محیط کشت حاوی باکتری به هر کدام اضافه گردید. برای هر کدام از باکتری‌ها ۸ ارلن در نظر گرفته شد و در هر ارلن غلظت‌های ۰/۲ تا ۰/۹ گرم بر لیتر فنل اضافه گردید. برای هر باکتری یک ارلن به صورت شاهد در نظر گرفته شد. در محیط شاهد تنها محیط کشت پایه بدون فنل با سویه مشخص وجود داشت. پس از ثبت اولیه جذب نوری، محیط‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $30^{\circ}\text{C}$  انکوبه گردیدند و سپس جذب آن‌ها تا ۳۰۰ ساعت در ۶۰۰ نانومتر خوانده شد (۱۱).



شکل ۱- موقعیت جغرافیایی رودخانه کربافته‌ها

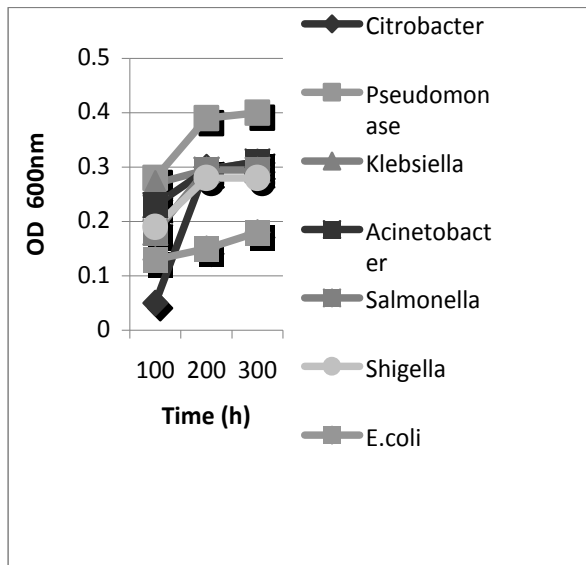
## یافته‌ها

باکتری‌های جدا شده در این تحقیق عبارت بودند از: سودوموناس، اسینتوباکتر، اشیریشیا کلی، باسیلوس، استافیلوکوکوس، شیگلا، آلكالی ژنز، سریشیا، سیتروباکتر، سالمونلا و ادواردوسیلا. فراوانی این باکتری‌ها در فصول مختلف، متفاوت می‌باشد، ولی باکتری سودوموناس بیشترین فراوانی را در فصول نمونه برداری نشان داد. به طوری که در زمستان، بهار و تابستان به ترتیب ۱۵، ۲۰ و ۱۳ درصد فراوانی را به خود اختصاص داد (نمودار ۱).

نتایج نشان داد که باکتری‌های جدا شده غلظت‌های متفاوتی از فنل را تجزیه می‌کنند. باکتری سودوموناس تا غلظت ۰/۹ گرم بر لیتر، اسینتوباکتر تا غلظت ۰/۸ گرم بر لیتر، شیگلا، سالمونلا، کلبسیلا و سیتروباکتر تا غلظت حدود ۰/۶ گرم بر لیتر و بقیه باکتری‌ها تا غلظت ۰/۳-۰/۲ گرم بر لیتر فنل را توانستند حذف کنند. همانطور که در نمودار ۲ نیز نشان داده شده بیشترین توانایی تجزیه و حذف فنل به ترتیب مربوط به باکتری‌های سودوموناس و اسینتوباکتر می‌باشد.

نتایج جذب نوری (سینتیک رشد) در ۶۰۰ نانومتر نیز نشان می‌دهد که بیشترین رشد باکتری سودوموناس در غلظت ۰/۹ گرم بر لیتر، اسینتوباکتر در غلظت ۰/۸ گرم بر لیتر، شیگلا، سالمونلا، کلبسیلا و سیتروباکتر در غلظت ۰/۶ گرم بر لیتر، و بقیه باکتری‌ها در غلظت ۰/۲ گرم بر لیتر فنل می‌باشد. کلیه باکتری‌های جدا شده، پس از حدود ۲۰۰ ساعت ماکزیمم جذب نوری را نشان دادند.

با توجه به نمودار ۳، بیشترین جذب نوری مربوط به باکتری سودوموناس می‌باشد. پس از آن باکتری‌های سیتروباکتر، اسینتوباکتر، کلبسیلا، سالمونلا و شیگلا بوده که تقریباً "میزان جذب نوری ماکزیمم یکسانی را نشان دادند. باکتری اشیریشیا کلی در درجه بعدی قرار دارد. سایر باکتری



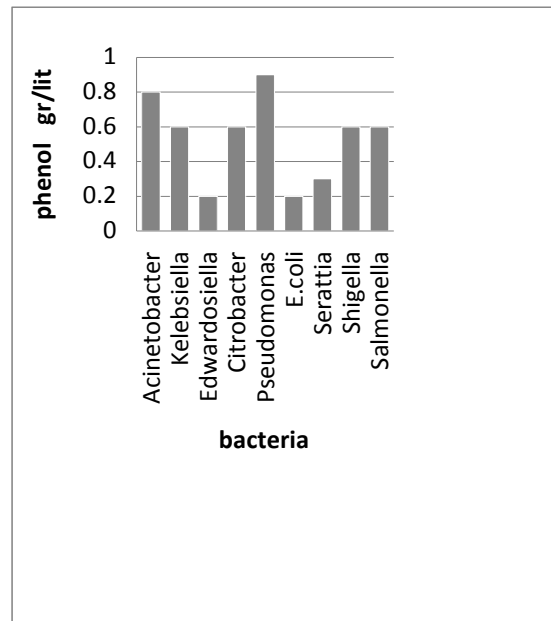
نمودار ۳- بررسی جذب نوری (OD600) باکتری‌های جدا شده طی ۳۰۰ ساعت

### بحث و نتیجه‌گیری

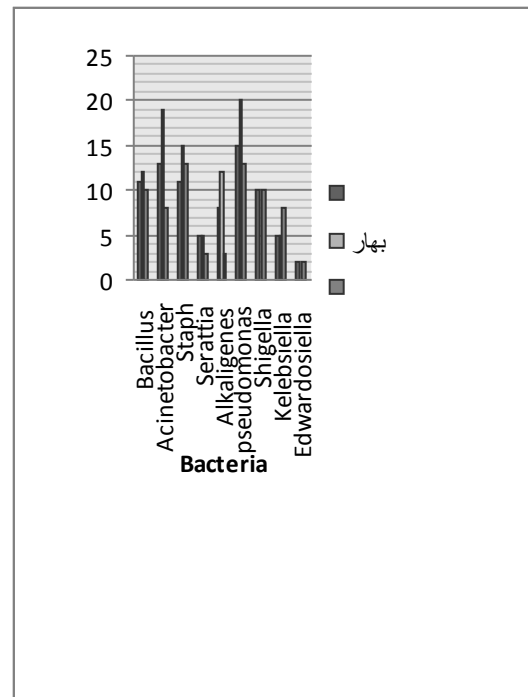
باکتری‌ها با تکثیر سریع در حضور فنل و ترکیبات آن توانایی فوق‌العاده‌ای را در حذف این ترکیبات نشان داده‌اند. بنابراین می‌توان با جداسازی، خالص‌سازی و تکثیر گونه‌هایی که توانایی بالایی در حذف این ترکیبات دارند، در مناطقی که آلودگی فنلی وجود دارد از آن‌ها استفاده کرد. باکتری‌های مختلفی از جنس‌های گوناگون بعنوان تجزیه‌کننده فنل جداسازی شده‌اند. اکثر این باکتری‌ها، باکتری‌های گرم منفی هستند که عمدتاً متعلق به خانواده سودوموناسه می‌باشند (۱۲).

محیطه<sup>۱</sup> و همکاران در سال ۲۰۱۰، باکتری‌های هوازی را از خاک آلوده به ترکیبات زئوبیوتیک<sup>۲</sup> با استفاده از تکنیک غنی‌سازی به وسیله فنل به عنوان منبع کربن و انرژی جداسازی کردند. باکتری خاک به عنوان *Streptococcus epidermis* شناسایی گردید. این باکتری قادر به تجزیه

های جدا شده در این تحقیق ماکزیمم جذب نوری کمی نشان دادند.



نمودار ۲- مقدار حذف فنل توسط باکتری‌های جدا شده



نمودار ۱- درصد حضور باکتری‌های جدا شده در فصول مختلف

1. Mohite  
2. Xenobiotic

فنل تا ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر بود (۱۳). در تحقیق حاضر باکتری مذکور جداسازی نگردید.

لو<sup>۱</sup> و همکاران در سال ۲۰۰۹، باکتری‌های تجزیه‌کننده ۴-کلرو فنل را از آب رودخانه Qinhuaier جداسازی کردند. باکتری‌های جدا شده به عنوان *Mycopiana*, *Flavobacterium* و *Psudomonas*, *Alcaligenes* شناسایی شدند (۱۴). در تحقیق جاری نیز دو باکتری سودوموناس و آلکالی ژنز از رودخانه کر جدا گردیدند.

حسن شاهیان و همکارانش در سال ۲۰۰۷، باکتری‌های تجزیه‌کننده فنل را در خاک آلوده به این ماده جداسازی و شناسایی کردند. تمام ایزوله‌ها ۰/۲ گرم بر لیتر فنل را مصرف نموده و به عنوان گونه‌های سودوموناس شناسایی شدند (۱۵). در تحقیق حاضر نیز سودوموناس جدا شده از رودخانه کر بیشترین فراوانی را داشت ولی قادر به مصرف فنل تا غلظت ۰/۹ گرم بر لیتر بود.

احمد و همکاران در سال ۲۰۱۱، تعداد ۳۷ باکتری را از نمونه‌های آب و خاک در مالزی که توانایی تجزیه فنل را داشتند جداسازی کردند. بیشترین فعالیت تجزیه فنل مربوط به سویه‌ای از اسینتوباکتر بود که قادر به تجزیه ۱۵۰۰ میلی گرم بر لیتر فنل بود (۲). در تحقیق جاری نیز این باکتری مشاهده گردید و میزان تجزیه فنل به وسیله آن حدود ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر بدست آمد.

کفیل‌زاده و همکاران در سال ۲۰۱۱، تجزیه زیستی فنل را در دریاچه پریشان مورد بررسی قرار دادند. باکتری‌های سودوموناس، اسینتوباکتر، کلبسیلا، سیتروباکتر و شیگلا به ترتیب غالب‌ترین باکتری‌های تجزیه‌کننده فنل در این دریاچه بودند. سودوموناس و اسینتوباکتر بیشترین توانایی را در تجزیه فنل داشتند. تمام باکتری‌های جدا شده در غلظت ۰/۲ گرم بر لیتر فنل بیشترین جذب نوری را نشان دادند (۱۲). در

تحقیق حاضر نیز دو باکتری مذکور به عنوان قوی‌ترین باکتری‌های تجزیه‌کننده فنل تعیین گردیدند. ولی ماکزیمم جذب نوری باکتری‌های جدا شده در غلظت‌های متفاوتی از فنل بدست آمد.

موحدیان و همکاران در سال ۲۰۰۹، باکتری‌های تجزی‌کننده فنل در لجن فعال را با استفاده از تکنیک PCR شناسایی کردند. از ۱۰ ایزوله، ۶ ایزوله به عنوان سودوموناس پوتیدا تعیین گردیدند. بهترین باکتری‌های تجزیه‌کننده فنل که مقدار ۶۰۰-۵۰۰ میلی گرم بر لیتر فنل را بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون تجزیه کردند متعلق به سویه‌های باکتری مذکور بود. میزان حذف فنل با میزان رشد باکتری‌های جدا شده ارتباط داشت. به طوری که ماکزیمم رشد باکتری‌ها (بیشترین جذب نوری در ۶۰۰ نانومتر) در غلظت ۶۰۰-۵۰۰ میلی گرم بر لیتر فنل اتفاق افتاد (۱۶). در تحقیق جاری نیز مقدار ماکزیمم رشد باکتری‌ها با ماکزیمم غلظت تجزیه فنل در باکتری‌های مختلف رابطه داشت. به طوری که ماکزیمم OD<sub>۶۰۰</sub> برای هر باکتری در حداکثر غلظت تجزیه به وسیله آن‌ها مشاهده گردید.

توانایی تجزیه ترکیبات مختلف توسط باکتری‌ها می‌تواند مربوط به مقدار غلظت نیمه اشباع آن‌ها ( $K_S$ ) باشد. باکتری‌ها از این لحاظ به ۳ دسته  $K_S$  کم، متوسط و زیاد تقسیم می‌شوند. مثلاً "سودوموناس متعلق به گروه  $K_S$  زیاد می‌باشد. در نتیجه برای رسیدن به رشد ماکزیمم به غلظت بیشتری از فنل نیاز دارد (۱۶).

کوتنی<sup>۲</sup> و همکارانش در سال ۲۰۰۳، طی تحقیقی باکتری‌های تجزیه‌کننده فنل را از خاک‌های سیبری جداسازی کردند. آنها به این نتیجه رسیدند که جنس غالب در تجزیه فنل

1.Lu

2.Koutny

در این خاک‌ها *Pseudomonas* و بویژه گونه *putida* می‌باشد (۹).

روش‌های مختلفی توسط محققین برای سنجش حذف فنل بکاررفته است. بطوریکه واتانابه<sup>۲</sup> و همکاران در سال ۱۹۹۸، روش کالریمتری با استفاده از رنگ ۴-آمینوآنتی پیرین را جهت اندازه‌گیری میزان باقیمانده در محیط کشت بکار بردند (۱۷).

محققین دیگری همچون وایتلی<sup>۳</sup> و همکاران در سال ۲۰۰۱ و کوتنی در سال ۲۰۰۳ نیز از این روش برای سنجش مقدار فنل باقیمانده استفاده کردند. سلوارتنم<sup>۴</sup> و همکاران در سال ۱۹۹۷، به وسیله HPLC مقدار فنل را سنجش کردند. همچنین هینارو<sup>۵</sup> در سال ۲۰۰۰ و فریس<sup>۶</sup> در سال ۱۹۹۷ نیز از همین روش سود بردند (۹، ۱۸، ۱۹).

در این تحقیق روش گیبس و با استفاده از معرف ۶۲ دی کلرو کینون<sup>۴</sup>- کلروایمید برای سنجش حذف فنل بکار رفت. این روش توسط محققین دیگری همچون کینتانان<sup>۷</sup> و همکاران در سال ۱۹۹۷ بکاررفته است (۲۰).

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که باکتری‌های تجزیه‌کننده فنل پراکندگی وسیعی در رودخانه کر دارند. گونه‌های تجزیه‌کننده فنل جداسازی شده عمدتاً دارای توانایی بالقوه‌ای در تجزیه فنل می‌باشند. با بررسی مطالعات انجام شده و همچنین نتایج حاصل از تحقیق حاضر این نتیجه به دست می‌آید که باکتری‌های تجزیه‌کننده فنل عمدتاً متعلق به جنس سودوموناس می‌باشند. اسینتوباکتر نیز در رتبه دوم از نظر اهمیت قرار دارد. البته شایان ذکر است که دیگر باکتری‌های جدا شده نیز توانایی‌های متفاوتی در تجزیه فنل از خود نشان دادند.

### تشکر و قدر دانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم به خاطر حمایت‌های مالی و همچنین از کلیه پرسنل آزمایشگاه تحقیقاتی آن واحد سپاسگزاری می‌گردد.

1. Watanabe
2. Whiteley
3. Selvaratnam
4. Heinaru
5. Fries
6. Quintana

## References

1. The environmental protection agency (EPA). Collation of toxicological data and intake values for humans. EPA report, 2004, pp. 44-64.
2. Ahmad SA, Syed MA, Arif NM, Abdul Shukor MY, Shamaan NA. Isolation, identification and characterization of elevated phenol degrading *Acinetobacter* sp. strain AQ5NOL 1. *Aust J Basic Appl Sci.* 2011; 5(8): 1035-1045.
3. Basha KM, Rajendran A, Thangavelu V. Recent advances in the Biodegradation of Phenol: A review. *Asian J Exp Biol Sci.* 2010; 1(2): 219-234.
4. Godjevargova T, Ivanova D, Alexieva Z, Dimova N. Biodegradation of toxic organic components from industrial phenol production wastewater by free and immobilized *Trichosporon cutaneum* R57. *Process Biochem.* 2003; 38(6): 915-920.
5. Quan X, Shi H, Zhang Y, Wang J, Qian Y. Biodegradation of 2,4-dichlorophenol and phenol in airlift inner-loop bioreactor immobilized with *Achromobacter* sp. *Sep Purif Technol.* 2004; 34(1-3): 97-103.
6. Ariana F., Elke B., and Thomas B. Rapid monitoring of the biodegradation of phenol-like compounds by the *Candida maltosa* using BOD measurements. *Inter Biodeter Biodegr.* 2004; 54(1): 69-76.
7. Adav SS, Chen MY, Lee DJ, Ren NQ. Degradation of phenol by *Acinetobacter* strain isolated from aerobic granules. *Chemosphere.* 2007; 67(8): 1566-1572.
8. Wang, Y, Tian Y, Han B, Zhao HB, Bi JN, Cai BL. Biodegradation of phenol by free and immobilized *Acinetobacter* sp. strain PD12. *J Environ Sci.* 2007; 19(2): 222-225.
9. Koutny M, Ruzicka J, Chlachula J. Screening for phenol-degrading bacteria in the pristine solids of south Siberia. *Appl Soil Ecol.* 2003; 23(1): 79-83.
10. Quintana MG, Didion C, Dalton H. Colorimetric method for a rapid detection of oxygenated aromatic biotransformation product. *Biotechnol Tech.* 1997; 11(8): 585-587.
11. Ali S, Fernandez- Lafuente R, Cowan DA. Meta-pathway degradation of phenolics by thermophilic *Bacilli*. *Enzyme Microb Tech.* 1998; 23(7-8): 462-468.
12. Kafilzadeh F, Farhangdoost MS, Rezaeian AA, Mahjour AA. Assessment of bioremediation of phenol using native bacteria isolated from water and sediments of Parishan Lake. *J Microb World.* 2009; 2(2): 89-95 [In Persian].
13. Mohite BV, Jalgaonwala RE, Pawar S, Morankar A. Isolation and characterization of phenol degrading bacteria from oil contaminated soil. *Innovative Romanian Food Biotechnology.* 2010; 7: 61-65.
- 14- Lu GH, Wang C, Sun Z. Biodegradation of complex bacteria on phenolic derivatives in river water. *Biomed Environ Sci.* 2009; 22(2): 112-117.
15. Hassanshahian M, Golbang N, Emtiazi G. Isolation and molecular determination of phenol degrading bacteria. *Res J Univers Isfahan Sci.* 2007; 28: 1-8.
16. Movahedian H, Khorsandi H, Salehi R, Nikaeen M. Detection of phenol degrading



- bacteria and *Pseudomonas putida* in activated sludge by polymerase chain reaction. *Iran J Environ Health Sci Eng.* 2009; 6(2): 115-120.
17. Watanabe K, Yamamoto S, Hino S, Harayama S. Population dynamics of phenol-degrading bacteria in activated sludge determined by *gyrB*-targeted quantitative PCR. *Appl Environ Microbiol.* 1998; 64(4): 1203-1209.
  18. Whiteley AS, Bailey MJ. Bacterial Community structure and physiological state within an industrial phenol bioremediation system. *Appl Environ Microbiol.* 2000; 66(6): 2400-2407.
  19. Whiteley AS, Wiles S, Lilley K, Philp J, Bailey MJ. Ecological and physiological analyses of *Pseudomonad* species within an phenol remediation system. *J Microbiol Methods.* 2001; 44(1): 79-88.
  20. Quintana MG, Diditon C, Dalton H. Colorimetric method for a rapid detection of oxygenated aromatic biotransformation products. *Biotechnol Tech.* 1997; 11(8): 585-587.