بررسی امکان وجود باکتریهای تجزیه کننده فنل در یک پساب فنل دار

سمیه اسکندری[۱] مهران هودجی[۲] آرزو طهمورث پور[۳]

[۱]- دانشجوی کارشناسی ارشد خاکشناسی- دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان
[۲]- استاد گروه خاکشناسی- دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان
۳- استاد گروه میکروبیولوژی-دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان

مقدمه

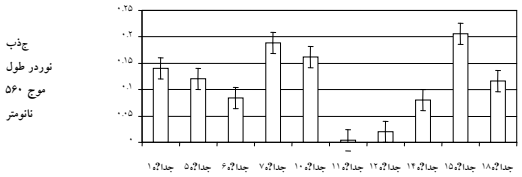
ترکیبات فنلی باعث پیدایش مشکلات اکولوژیکی بسیار جدی در محیط زیست می گردد که از جمله این مشکلات می توان به افزایش رشد علفهای هرز، کاهش رشد و مقاومت در برابر بیماری و در نهایت مرگ و میر موجودات آبزی اشاره نمود.برای تصفیه فاضلابهای حاوی فنل روشهای متعددی وجود دارد که از مهمترین آنها میتوان به اکسیداسیون شیمیایی، جذب سطحی، تصفیه بیولوژیکی و ترکیبی از روشهای مذکور اشاره کرد[۵ و۷]. در بین روشهای بیان شده تصفیه بیولوژیکی به دلیل مزایای خاصی که نسبت به سایر روشها دارد بیشتر مورد استفاده قرار می گیرند. از جمله اینکه استفاده از روشهای بیولوژیکی سازگاری بیشتری با محیط زیست داشته و احتمال اینکه فرایند معدنی شدن در حد کامل انجام گردد بسیار زیاد می باشد علاوه بر این روشهای بیولوژیک تصفیه نیاز به هزینه بسیار کمی در مقایسه با دیگر روشها دارد[۹].

تصفیه زیستی فنل بوسیله باکتری ها در طی تحقیقات زیادی بررسی شده و اکثر باکتریهایی که تا کنون مورد ارزیابی قرار گرفته اند قادر به تجزیه فنل در غلظتهای پایین بودند زیرا فنل در غلظتهای بالا با ایجاد لیز سلولی مانع رشد اکثر میکروارگانیسمها میگردد[۱]. به طور کلی در این تحقیق به جداسازی و بررسی باکتریهای تجزیه کننده فنل از پساب صنعتی و مطالعه روند تجزیه فنل توسط مقاوم ترین باکتریها پرداخته شده است.

مواد و روشها

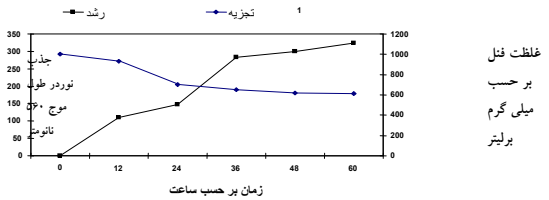
نمونه برداری:چند تنمونه تصادفی پساب از ورودی استخر فنل کارخانه ذوب آهن اصفهان تهیه گردید و با هم مخلوط شد. این نمونه در بطری شیشه ای اسید شویی شده و استریل جمع آوری گردیده و بر روی یخ به آزمایشگاه منتقل گردید.**pH** نمونه پساب پس از انتقال به آزمایشگاه اندازه گیری شد[۴]. برای اندازه گیری **BOD** از روش تیتراسیون استفاده شده است[۴]. برای اندازه گیری میزان **COD** از روش تقطیر برگشتی بسته استفاده شد[۴]. در اندازه گیری فنل از معرف گیبس استفاده شد و جذب نوری در طول موج ۶۳۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر، قرائت شد[۸]. برای جداسازی باکتری های تجزیه کننده فنل از محیط کشت حاوی ۵۳۵۰ میلی گرم Na_2HPO_4 ، ۲۶۷۰ میلی گرم NH_4Cl، ۰/۶ میلی گرم $CaCl_2.H_2O$ ، ۶ میلی گرم $MgSO_4$ ، ۲/۴میلی گرم $FeSO_4.H_2O$ و ۰/۰۹ میلی گرم $MnSO_4.H_2O$ در۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰۰ میلی گرم فنل استفاده شد[۱۰]. منحنی رشد و حذف فنل باکتریهای مقاوم که توانایی رشد بر روی ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر فنل را داشتند رسم شد[۶]. جهت انتخاب سویه های پر قدرت از میان سویه های جداشده از در محیط کشت مایع فنل دار با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر فنل استفاده شد. نتایج و بحث: خصوصیات پساب اسیدیته این پساب برابر ۷/۵۶ ، **BOD** برابر ۳۲۸/۳ ، **COD**برابر ۱۲۷۹/۳ و مقدار فنل ۱۲۰۷ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری شد. آژانس حفاظت از محیط زیست آمریکا مقدار مجاز فنل در پساب خروجی صنایع را برابر ۰/۵ میلی گرم بر لیتر تعیین کرده است [۱۱]. از طرفی مقدار استاندارد BOD_5 برای پسابهای صنعتی برابر با ۲۰ میلی گرم بر لیتر و میزان استاندارد **COD** برای پسابهای صنعتی ۱۲۰ میلی گرم بر لیتر تعیین شده است [۱۱].

- تصویر شماره ۱ انتخاب سویه های پر قدرت را نشان میدهد. سویه های شماره ۱۵ و ۷ بیشترین رشد را در طی مـدت ۲۴ ساعت در مجاورت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر فنل داشتند ۶۰٪ از سویه ها قادر بودند طی مدت زمان ۴۸ ساعت ۴۰٪ از فنل را تجزیه کنند.

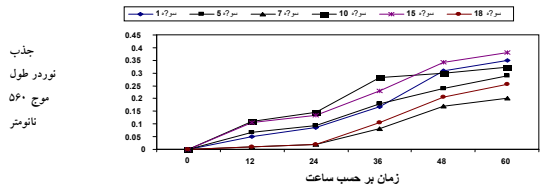


تصویر ۱:انتخاب سویه های پر قدرت از میان سویه های جدا شده

- منحنی رشد و تجزیه فنل سویه های مقاومی که بر روی ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر فنل رشد نمودند در نمودارهای ۲ تا۴نشان داده شده است. در سال ۲۰۰۷ آنادوریا و همکاران در بررسی تجزیه زیستی فنل بوسیله سودوموناس پیکتوروم به این نتیجه رسیدند که باکتری در اسیدیته خنثی تنها قادر است فنل را تا ۰/۲ میلی گرم بر لیتر تجزیه کند [۳].

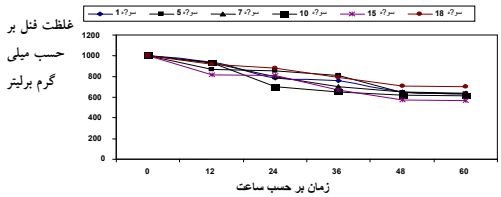


تصویر ۲:منحنی رشد و تجزیه فنل سویه ها در ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر فنل

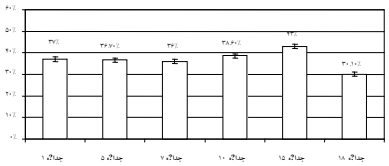


تصویر ۳: مقایسه منحنی رشد سویه ها در ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر فنل.

تصویر ۴: مقایسه منحنی تجزیه فنل سویه ها در ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر فنل.



تصویر ۵: درصد تجزیه فنل بوسیله باکتریهای مقاوم در طی ۴۸ ساعت



- میزان فنل تجزیه شده توسط هر یک از سویه ها به صورت درصد اندازه گیری شد از میان سویه ها، سویه ۱۵ و ۱۰ بیشترین تجزیه فنل را داشته اند و کمترین تجزیه فنل را سویه ۱۸ داشته است. آنادوریا و همکاران در سال ۲۰۰۴ در طی بررسی رفتار سودوموناس پوتیدا در تجزیه فنل به این نتیجه رسیدند که این باکتری فنل را فقط تا غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر تجزیه میکند[۲].

منابع

[1]Abuhamed, T. and E. Bayraktar. 2004. The biodegradation of benzene, toluene and phenol in a two-phase system. Biochemical Engineering Journal. 19, 137-146.
[2]Annadoria, G., Juang. R., and D. Lee. 2002. Microbiological degradation of phenol using mixed liquors of Pseudomonas Putida and actived sludge. Waste Management J. Vol. 22. pp: 703-710.
[3]Annaduria, G., Ling, L., and J., Lee. 2007. Biodegradation of phenol by Pseudomonas Pictorum on immobilized with chitin. African Journal of Biotechnology. Vol. 6. pp:296-303.
[4]APHA-American public Health Association . 1998. Standard Methods for the examination for the water and wastewater .20 th ed . AWWA, WPCF, Washington, D.C.
[5]Freeman, H. 1989. Standard Hand book of hazardous waste treatment and disposal. Mc Graw – Hill, USA.
[6]Neumann, G., Teras, R., Monson, L., Kivisaar, M., Schauer, F., and J. Heipieper.2004.Simultaneos degradation of Atrazine and Phenol by pseudomonas sp. Strain ADP: Effect of Toxicity and Adaptation. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 70. pp:1907-1912.
[7]Patterson, J.W.1975.Wastewater treatment technology.Ann Arbor science publishers, Inc.,USA.
[8]Quintana, M.G., Didion, C, and H. Dalton. 1997. colorimetric method for a rapid detection of oxygenated aromatic [9]Rehm, H., and G., Reed.1999. Biotechnology Second Edition . Vol. 11a. WIVY-VCH, Weinbeim Germany.
[10]Rigo, M. and R.M. Alegre. 2004. Isolation and selection of phenol-degrading microorganisms kinetics of the biodegradation. Folia Microbiology.Vol. 49. pp:41-45.
[11]The Environmental Protection Agency (EPA). 2004. Collation of toxicological data and intake values for humans. EPA report, 44-64.