مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الهندسية المجلد (40) العدد (1) 2018
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Engineering Sciences Series Vol. (40) No. (1) 2018

phenol Remove using Some microorganisms

Dr. Nahed Farhoud *
Dr. Elham Munir Baddour**

(Received 13 / 12 / 2017. Accepted 21 / 1 / 2018)

□ ABSTRACT □

This research work addressed laboratory study for biological treatment of phenol. Figuring phenol disintegration will give an idea of biodegradation of most organic chemicals since it is included in the composition of most of them.

Biological treatment is considered one of the effective and economic ways to address phenol treatment by biodegradation as compared with high cost methods of physical and chemical processing. The method is of low efficiency when applied to high concentrations, in addition to formation of secondary compounds that may be more dangerous than the target material.

The study focused on use of three isolates, i.e. *Pseudomonas, Chlorella* and *Acentobacter*. They were taken from the Microbiology Studies Laboratory at Allepo University, and characterized by its resistance to phenol at concentrations that reached up to 600 mg/L. It was found that algae *Chlorella* genus is the best sample in the disintegration of phenol and the most resistant. It has been able to disintegrate more than 90% of the concentration of phenol in its media within two weeks. The study showed that a vaccine of 4% of the size of the media was enough to resist inhibiting effect to phenol. Best results were achieved the in biodegradation rates of phenol at the temperature range of 30 to 35°C, moderate pH (7 = pH) and ventilation at rotation speed of 125 rev/min, coupled with the best rate of growth after 48 hours of incubation.

The research recommended to use microorganisms, that are characterized by resistance to phenol and its compounds and most capable of its disintegration of using it as the sole source of carbon and energy such as species of *Pseudomonas*, *Acentobacter* and *Chlorella*.

Keywords: Phenol, bacteria, Biological treatment, microbiology, Pseudomonas, Acinetobacter, Chlorella

* **Associate Professor, Department of Environmental Engineering, Faculty of Technical Engineering, Aleppo University.**
** **Associate Professor, Department of Environmental Engineering, Faculty of Technical Engineering, Aleppo University, Syria.**
Email: dr_elham_bador@hotmail.com, Phone: +963933215767

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الهندسية المجلد (40) العدد (1) 2018
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Engineering Sciences Series Vol. (40) No. (1) 2018

إزالة الفينول باستخدام بعض الأحياء الدقيقة

الدكتورة ناهد حسن فرهود*
الدكتورة إلهام منير بدّور**

(تاريخ الإيداع 13 / 12 / 2017. قُبِل للنشر في 21/ 1 / 2018)

□ ملخّص □

يُعّد الفينول ومشتقاته اللّبنة الأساسية لمدى واسع من المواد العضوية العطرية الصنعية الخطرة والشائعة في مياه الصرف الصناعي، كما أنه يوجد في البيئة بشكل طبيعي فهو من المواد العطرية المنحلة بالماء وسهل الانتشار ضمن مكونات البيئة، وتكمن خطورة الفينول بمقاومته للتفكك، وبسميته حتى بالتراكيز المنخفضة؛ إضافة لتشكيل مركبات كلور الفينول عند معالجة المياه الحاوية عليه بالكلور حيث تملك هذه المركبات عتبات منخفضة لإدراك الطعم والرائحة.

تطرق هذا البحث لدراسة مخبرية لإزالة الفينول بالمعالجة الحيوية، فدراسة تفككه تعطي فكرة عن تفكك أغلب المواد الكيميائية العضوية كونه يدخل في تركيب معظمها.

تُعد طريقة المعالجة الحيوية من الطرق الفعالة والاقتصادية لمعالجة الفينول وذلك بالتفكك الحيوي، مقارنة مع المعالجة الفيزيائية والكيميائية المرتفعة التكاليف، والمنخفضة الفعالية عند تطبيقها على التراكيز العالية، إضافة لتكوينها لمركبات ثانوية ربما تكون أشد خطراً من المادة الهدف.

انطلاقاً مما سبق ركزت الدراسة على استخدام ثلاثة عزلات وهي Pseudomonas، Chlorella Acentobacter حيث تم أخذها من مخبر دراسات الأحياء الدقيقة، وتميزت بمقاومتها للفينول بتراكيز وصلت حتى 600 ملغ/ل. وقد تبين أن الطحالب من جنس الChlorella هي العينة الأفضل في تفكك الفينول والأكثرها مقاومة وقد استطاعت تفكيك أكثر من 90% من تركيز الفينول في مستنبتاتها خلال أسبوعين، و أظهرت الدراسة أن لقاحاً بنسبة 4% من حجم المستنبت كان كافياً لمقاومة التأثير المثبط للفينول، وتحققت أفضل نتائج في معدلات التفكيك الحيوي للفينول في المجال الحراري 30-35°م ودرجة الحموضة المعتدلة (pH= 7) والتهوية عند سرعة دوران 125 دورة/ دقيقة، مترافقةً مع أفضل معدل للنمو بعد 48 ساعة من الحضن.

وخلص البحث بتوصية استخدام الأحياء الدقيقة التي تتميز بمقاومتها للفينول ومركباته والأكثر قدرةً على تفككه واستخدامه كمصدر وحيد للكربون والطاقة كأنواع جنس الزائفة .Pseudomonas spp والـ Acentobacter والـ Chlorella.

*أستاذ مساعد– قسم تقانات الهندسة البيئية– كلية الهندسة التقنية– جامعة حلب– حلب سورية.
** أستاذ مساعد– قسم تقانات الهندسة البيئية– كلية الهندسة التقنية– جامعة حلب– حلب – سورية.

مقدمة:

اكتسبت البيئة في العقود الأخيرة العديد من المركبات الغريبة Xenobiotic Compounds عن الأنظمة الحيويّة، والتي أثرت سلباً على الأنظمة البيئية من خلال ما أحدثته من تغيرات فيزيائية وكيميائية (Abd-El Hameidshalaby, 2003). فهي تسبب خللاً في الأنظمة البيئية لاحتوائها على تركيبات جزيئية لا توجد في الطبيعة ما يجعلها سامة للأحياء والكائنات المفككة Decomposer، إضافةً لصعوبة إزالتها من البيئة (Press-Kristensen, 2007).

تعتبر نواتج النشاط الصناعي والزراعي من أكثر مصادر التلوث في معظم بلدان العالم (Sabri, 2003)، فهي تصدر كميات عالية نسبياً من الملوّثات التي ثَبُت تأثيرها السام والمسبب للطفرات الوراثية والسرطانات، ولإمكانيتها للتراكم الحيوي.

تنتشر الملوثات الكيميائية (بما فيها الملوثات العضوية واللاعضوية) في الغلاف الجوي والمائي والأرضي، وتميل هذه الملوثات للتحول إلى مركبات أخرى، قد تكون أشد سميّة من حالتها الأولى بسبب تعرضها للعديد من العمليات الفيزيائية والكيميائية والحيويّة في البيئة.

ويعتبر تلوث المياه من أهم المشكلات المستعصية التي تعاني منها دول العالم بلا استثناء، فقد أدت الحاجة لإزالة الملوثات إلى تطوير عدة تقنيات حديثة لمعالجتها وإزالة سميّتها للحصول على بيئة صحيّة. بدلاً عن الطرائق التقليدية (دفن الملوثات أو رميها أو حرقها) (Abd-El Hameidshalaby, 2003) ، وتعد المعالجة الحيوية من إحدى الطرائق لمعالجة الملوثات، فتُحول فيها المواد الكيميائية في البيئة إلى ثنائي أكسيد الكربون وماء ومواد لاعضوية مختلفة (Press-Kristensen, 2007).

ويُقيَّم مصير المركبات الكيميائية في البيئة بسهولة معدنتها Mineralization من قبل الأحياء الدقيقة إلى مركبات ضعيفة التفكك Weak Compounds ومركبات عنيدة التفكك Recalcitrant Compounds ومركبات مقاومة للتفكك Persistent Compounds .

أهمية البحث و أهدافه:

نظرا" لأن الفينول يدخل في إنتاج العديد من الصناعات، ويعد من أكثر الملوثات البيئية شيوعاً وخاصة في مياه الصرف الصناعي، ويتميز الفينول بخطورته ومقاومته للتفكك، وسميته حتى بالتراكيز المنخفضة. لذلك كان لابد من التخلص منه بشتى الطرائق وكان التفكك الحيوي أفضلها.

و الهدف من هذا البحث هو استخدام عزلات من الـ Acentobacter, Chlorella , Pseudomonas , المفككة للفينول، و اختبار قدرة العزلات على تفكك الفينول واختيار العزلة الأفضل،

طرائق البحث ومواده:

تطرق البحث لدراسة نظرية لمعالجة الملوثات الفينوليّة، ودراسة مخبرية لاستخدام عزلات من الـ Acentobacter, Chlorella , Pseudomonas , المفككة للفينول، و اختبار قدرة العزلات على تفكك الفينول واختيار العزلة الأفضل.

1 الدراسة النظرية لمعالجة الملوثات الفينوليّة:

يعد تلوث التربة والمياه السطحية والجوفية بالملوثات العضوية بشكل عام والفينول بشكل خاص من المشاكل الخطيرة التي تواجه العالم (Shourian *et al.*, 2009) لذلك كان لابد من إزالتها قبل طرحها إلى البيئة (Al-Khalid and El-Naas, 2012)، ومن طرائق الإزالة ما يلي:

1. **الطرائق الفيزياكيميائية Physico-Chemical:** تعتمد هذه الطرائق على استخدام الأكسدة الكيميائية للملوثات باستعمال بيروكسيد الهيدروجين (Oturan, 2014)، والمذيبات الكيميائية التبادل الأيوني، وعمليات الترسيب والتعويم، والترشيح الفائق، والتفكيك الكهروكيميائي، والامتزاز على مواد مسامية كالكربون المنشط ونشارة الخشب، والحرق، بالإضافة إلى العديد من الطرائق غير البيولوجية (Kotresha and Vidyasagar, 2008)، التي تترافق مع العديد من المشاكل أهمها ارتفاع تكاليفها وتشكيلها لمواد ثانوية خطرة قد تكون أخطر من الفينول بحد ذاته (Al-Khalid and El-Naas, 2012).

2. **طرائق التفكك الحيوي Biodegradation:** حيث تعتبر المعالجة الحيوية من الطرائق الواعدة وبديلاً عن التقنيات آنفة الذكر، فهي أقل كلفةً كما أنها قادرة على تحويل الفينول وغيره من الملوثات إلى مكوناتها المعدنية غير العضوية وهذا ما جعلها من إحدى التقنيات المفضلة عالمياً.

لقد اعتمدنا بدراستنا على المعالجة الحيوية باستخدام الكائنات الحيّة (نباتات وجراثيم وفطريات) في معالجة وإزالة الملوثات السامة (مواد عضوية، ومواد لاعضوية، ومعادن ثقيلة) من التربة الزراعية والمياه الملوثة ومقالب القمامة.

ومن الأحياء الدقيقة المتميزة بقدرتها على تفكك الفينول جنس الزائفة *Pseudomonas* والذي يعد من أشهر الأحياء الدقيقة قدرة على تفككه وبتراكيز عالية منه إضافة لأنواع من الطحالب بعض أنواع الأحياء الدقيقة القادرة على استهلاك الفينول كمصدر للكربون والطاقة.

- **عزلة *Pseudomonas*:**

تتميز أفراد جنس *Pseudomonas* ببساطة متطلباتها الغذائية وسهولة عزلها فهي تنمو على العديد من الأوساط العضوية واللاعضوية ، وفي درجة حموضة وحرارة معتدلة، فدرجة الحرارة المثلى لنمو معظم أنواعه 28-30°م. كما يتميز بأنه من أسرع الأحياء تكيفاً في البيئات المختلفة وذات الظروف الصعبة. فالعديد من أفراده مقاوم للمضادات الحيوية والمطهرات والمنظفات والمعادن الثقيلة والمحلات العضوية. لذلك كان استخدام أفراده مفضلاً في العديد من الأبحاث الخاصة بالمعالجة الحيوية.

وقد أجريت دراسات عدة تنوعت فيها الأنواع والتراكيز التي يستطيع كل نوع تفكيكها ونذكر منها، دراسة أجراها الباحث Kotresh وزميله Vidyasagar عام 2008 على عزلة حصلا عليها من مياه صرف لمصنع ورق أظهرت أنها قادرة على تفكيك 1300 ملغ/ل من الفينول. وفي دراسة أخرى قام بها الباحث وزملاؤه على العزلة تبين أنها تستطيع تفكيك 1000 ملغ/ل في حال توفر الشروط المثلى لنموها وكذلك الأمر في دراسة الباحث، (وفي دراسة أخرى على أحد أنواع هذا النوع والمعزول من مياه صرف لمصنع أدوية تبين أن العزلة كانت قادرة على تفكيك 100 ملغ/ل).

- **عزلة *Chlorella*:**

تنمو في المياه العذبة وظهرت منذ أكثر من مليار سنة وهو كائن مجهري واشتق من chloros يعني الأخضر و أيلا الصغيرة ويحتوي أكبر قدر ممكن من الكلوروفيل هي ذات كفاءة عالية في معالجة مياه الصرف الصحي واتضح

أن الطحالب قادرة على النمو في ظل 500mg-700mg دون إعاقة واضحة وحتى 1500 mg مع تناقص وإعاقة في النمو وتستهلك زمناً قدره 7 أسابيع.

- **عزلة *Acentobacter*:**

هو جنس من البكتريا سالبة الغرام وهي غير متحركة يمكن عزلها من التربة بسبب تواجدها الكبير وتتميز ببساطة متطلباتها الغذائية وسهولة عزلها فهي تنمو على العديد من الأوساط، وفي درجة حموضة وحرارة معتدلة، فدرجة الحرارة المثلى لنمو معظم أنواعه 28-30°م.

ونشير هنا أن كُلاً من الأحياء الدقيقة الهوائية واللاهوائية تستطيع تفكيك الفينول إلاّ أن الأحياء الدقيقة الهوائية أكثر قدرة على تفككه (Lika et al.,2009) فهي أسرع نمواً، إضافة لكلفة تنفيذها المنخفضة وسهولة تطبيقها مقارنة بالأحياء الدقيقة لاهوائية التفكك (Mittal, 2011).

يتم تفكك الفينول هوائياً من قبل عدد من الأحياء الدقيقة ومنها *Acentobacter calcoceticus* و *Candida tropicalis* وأنواع جنس الزائفة (*Pseudomonas*(Basha et al., 2010 والتي تعتبر الأشهر بتفكيكها للفينول وغيره من الملوثات.

وهناك مجموعة من العوامل الحيوية أو البيئية (Al-Khalid and El-Naas, 2012) المؤثرة على التفكيك الحيوي للفينول، وهذه العوامل يمكن أن تحفز أو تثبط عملية التفكك وذلك بانعكاسها على نمو الكائن الحي الذي يقوم بهذه العملية تتضمن هذه العوامل كلاً من درجة الحرارة ودرجات الحموضة ومحتوى الأوكسجين وتوافره، إضافة لتركيز الفينول الذي يعمل بالتراكيز العالية على تثبيط الكائن المفكك له ولكي يتحقق التفكيك الأمثل يجب أن تلائم هذه الظروف الكائن الحيّ. كما يؤثر استخدام المزارع النقية والمختلطة على معدل التفكيك، فالمزارع المختلطة القادرة على تفكيك الفينول أكثر كفاءة في هذه العملية.

2- الدراسة المخبرية:

2. 1. الاعتيان Sampling :

جُمِعَت ثلاث عينات لأحياء محددة الهوية من مخبر دراسات الأحياء الدقيقة في كلية العلوم بجامعة حلب، كما مبين بالجدول (1):

الجدول (1)

رقم العينة	1	2	3	4
الاحياء	*Pseudomonas*	*Chlorella*	*Acentobacter*	*عينة تربة كشاهد*

2. 2. عزل جراثيم جنس الزائفة المفككة للفينول:

1-اعتمد الوسط الملحي المعدني MS الحاوي على الفينول فقط كمصدر وحيد للكربون لعزل الجراثيم المفككة للفينول وفق التالي:

2-أُخذَ 5 مل من كل عينة (بعد رجها) ووُضعت في 50 مل من وسط MS المزود بالفينول بتركيز 100 ملغ/ل ضمن حويجلات بسعة 250 مل، وحُضنت عند درجة حرارة 30°م مدة 48 ساعة، وتهوية بسرعة 125 دورة/دقيقة باستخدام حاضنة مزودة بهزاز دوراني الشكل (1).

الشكل (1): الهزاز الدوراني

3-أخذ 5 مل من المعلق السابق من كل عينة وأُضيف إلى حويجلات أخرى لنفس الوسط وبتراكيز متدرجة من الفينول، اعتباراً من 100-600 ملغ/ل، وبشكلٍ متتالٍ وبنفس ظروف الحضن السابقة.

3.2 قياس تركيز الفينول:

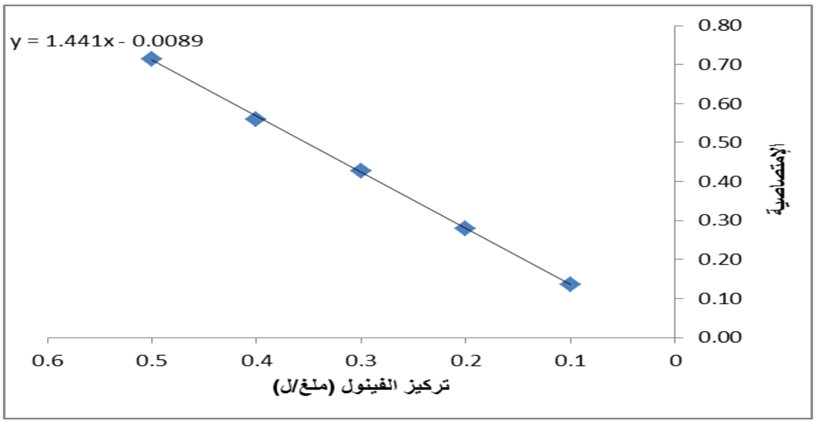
استخدمت طريقة 4-Aminoantipyrine ككاشف لوني لقياس تراكيز الفينول، وتعتمد هذه الطريقة على تفاعل الفينول مع 4-Aminoantipyrine عند درجة حموضة 7.9±0.1 والذي يعطي صباغاً في المحلول المائي مع Potassium Ferricyanide $K_3Fe(CN)_6$، ويقاس اللون باستعمال جهاز Spectrophotometer عند طول موجة 500 نانومتر.

ولتحديد تركيز الفينول المتبقي في الوسط قمنا برسم المخطط البياني الذي يربط بين تراكيز الفينول المعلومة مقدرة بالملغ/ل وقيمة الكثافة الضوئية OD :

1. أُضيف 2.5 مل من هيدروكسيد الأمونيوم NH_4OH (0.5 N) لكل من سلسة التراكيز والشاهد.
2. عُدلت قيم pH المحلول إلى 7.9±0.1 باستعمال الوقاء الفوسفاتي، ثم أُضيف 1 مل من محلول 4-Aminoantipyrine (2%) ومُزِج جيداً.
3. أُضيف 1 مل من $K_3Fe(CN)_6$ (8%) ومُزِجَ جيداً، ثم قيست الكثافة الضوئية OD بعد 15 دقيقة.
4. رُسم المخطط البياني (الجدول 2) (الشكل 2) الذي يربط بين تراكيز الفينول المعلومة مقدرة بالملغ/ل وقيمة الامتصاصية Absorption ومن معادلة ميل المستقيم تم استنتاج علاقة لحساب تركيز الفينول المتبقي.

الجدول (2)

تركيز الفينول ملغ/ل	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
الامتصاصية (A)	0.14	0.28	0.43	0.56	0.72



الشكل(2): مخطط بياني يربط بين الامتصاصية وتركيز الفينول.

حيث: y= الامتصاصية و x= تركيز الفينول

5. حُسب تركيز الفينول المتبقي من العلاقات الآتية:

$$\text{تركيز الفينول المتبقي } (x) = \frac{y+0.0089}{1.441}$$

6. ونسبة التفكيك من العلاقة

$$\text{نسبة التفكيك} = \frac{\text{تركيز الفينول البدئي} - \text{تركيز الفينول المتبقي}}{\text{تركيز الفينول البدئي}} \times 100$$

7. بعد وضع كواشف الفينول والانتظار مدة ربع ساعة نلاحظ تلون الشاهد الإيجابي الذي يحوي فينول باللون الأحمر والشاهد السلبي الذي لا يحوي فينول باللون الأصفر كما مبين في الصورة (1).

الصورة (1).

النتائج والمناقشة:

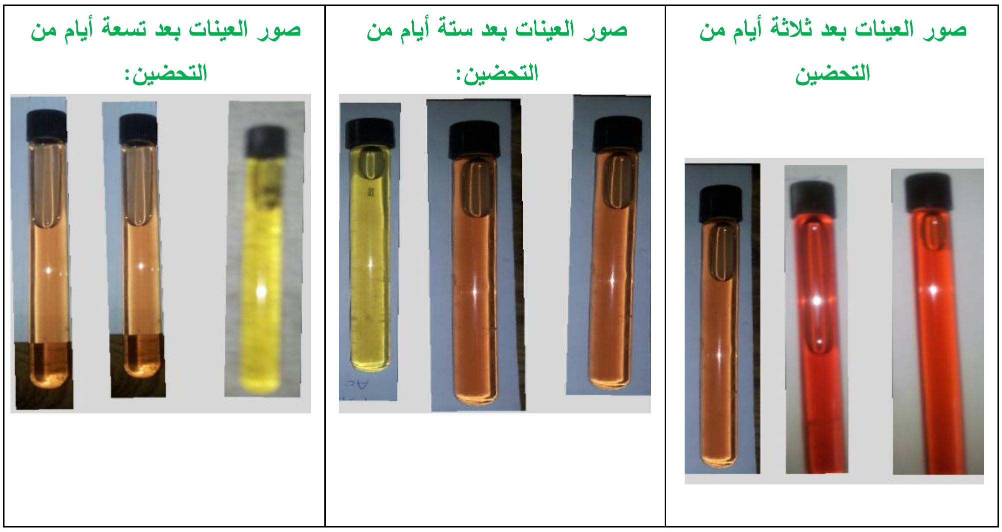
بعد وضع الفينول بتراكيز متتالية (100) (200) ملغ/لتر مبدئياً للأحياء السابقة والانتظار والتحضين للمدة المحددة (3، 6، 9) أيام تم أخذ 1 مل من المحلول الأم للعينات المعزولة وأضيفت له الكواشف المذكورة والانتظار مدة ربع ساعة لاحظنا تلون العينات بألوان مختلفة تعتمد درجتها على كمية الفينول المتبقية في العينة دون تفكك كما مبين في الصور (2) (3)، ثم تم وضعها في الجهاز وإجراء قياسات تركيز الفينول الموضحة في الجداول (3) (4).

➢ بعد وضع الفينول بتراكيز (400) ملغ/لتر مبدئياً للأحياء السابقة والانتظار والتحضين للمدة المحددة (3) أيام، (6) أيام، أسبوع، أسبوعين تم أخذ 1 مل من المحلول الأم للعينات المعزولة وأضيفت له الكواشف

المذكورة والانتظار مدة ربع ساعة لاحظنا تلون العينات بألوان مختلفة تعتمد درجتها على كمية الفينول المتبقية في العينة دون تفكك كما مبين في الصورة (4)، ثم تم وضعها في الجهاز وإجراء قياسات تركيز الفينول الموضحة في الجدول (5).

بعد وضع الفينول بتراكيز (600) ملغ/لتر مبدئياً للأحياء السابقة والانتظار والتحضين للمدة المحددة (3) أيام، (6) أيام، أسبوع، أسبوعين تم أخذ 1 مل من المحلول الأم للعينات المعزولة وأضيفت له الكواشف المذكورة والانتظار مدة ربع ساعة، ثم تم وضعها في الجهاز وإجراء قياسات تركيز الفينول الموضحة في الجدول (6).

1- اختيار العزلة الأفضل في تفكيك الفينول:



الصورة (2): تبين تلون العينات بعد ثلاثة و ستة و تسعة أيام بتركيز 100 ملغ/لتر

الجدول (3) الفينول بتركيز 100ملغ/ليتر

نوع العينة	طحالب Chlorella			Acentobacter			Pseudomonas		
عدد الأيام	3	6	9	3	6	9	3	6	9
الامتصاصية	0.47	0.19	0.1	1.09	0.96	0.37	1.13	0.95	0.33
تركيز الفينول المتبقي	33	13	7.5	76	67.2	26.2	79.03	66.5	23.5
نسبة التفكك %	67	87	92.5	24	32.8	73.7	20.97	33.5	76.5

الجدول (4) الفينول بتركيز 200ملغ/ليتر

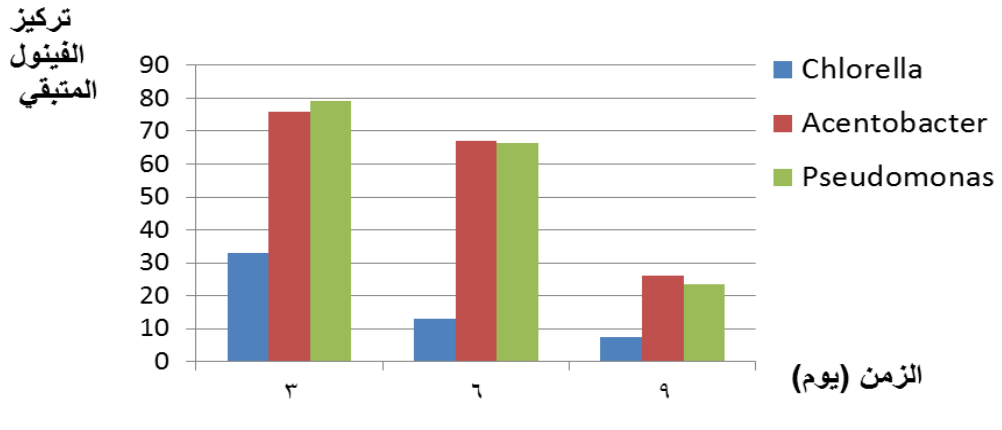
العينة	طحالب Chlorella			Acentobacter			Pseudomonas		
عدد الأيام	3	6	9	3	6	9	3	6	9
الامتصاصية	1.95	1.15	0.28	2.39	1.59	1.07	2.46	1.76	1.11
تركيز الفينول المتبقي	136	80	19.4	166.05	110.4	74.3	171.19	118.3	77.2
نسبة التفكك	32	60	90.18	16.97	44.8	62.85	14.40	40.85	61.4

الجدول (5) الفينول بتركيز 400 ملغ/ليتر

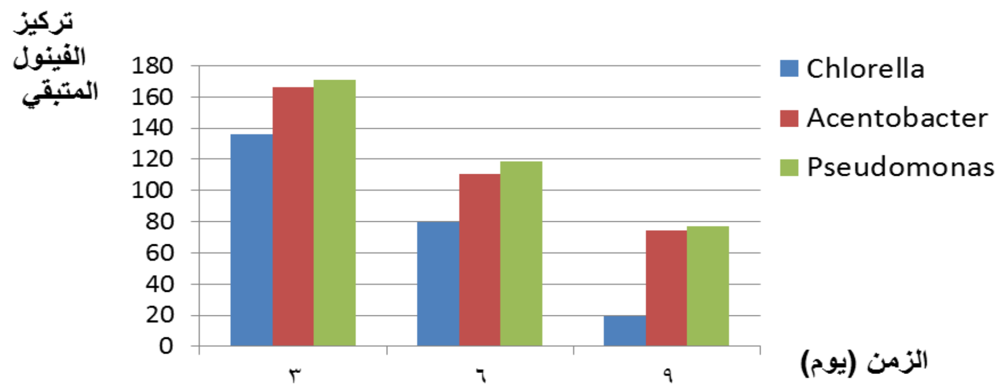
عينة	Chlorella طحالب				Acentobacter				Pseudomonas			
عدد الأيام	3	6	اسبوع	اسبوعان	3	6	اسبوع	اسبوعان	3	6	اسبوع	اسبوعان
الامتصاصية	5.43	5.15	3.2	2.02	5.64	5.57	4.89	3.69	5.68	5.62	4.99	3.73
تركيز الفينول المتبقي	378.1	358.3	222.13	140.9	392.4	387.24	340.243	257.25	395.13	391.16	347.32	259.80
نسبة % التفكيك	5.4	10.4	44.2	64.7	1.9	3.19	41.9	35.7	1.21	2.21	13.17	35.05

الجدول (6) الفينول بتركيز 600 ملغ/ليتر

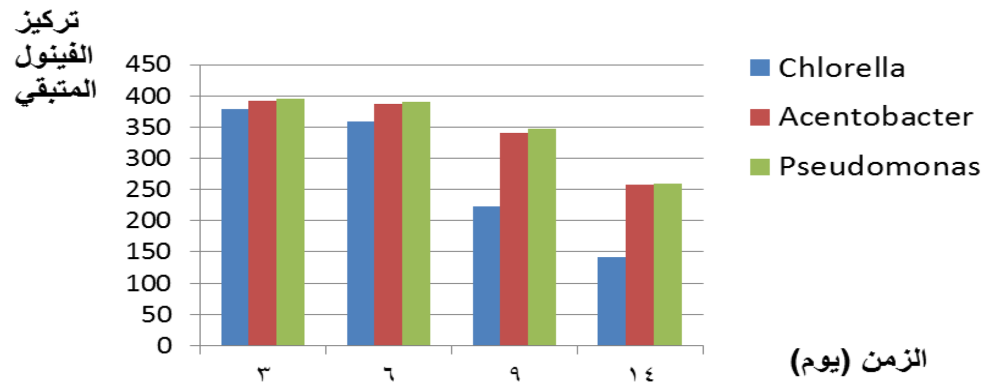
عينة	Chlorellaطحالب				Acentobacter				Pseudomonas			
عدد الأيام	3	6	اسبوع	اسبوعان	3	6	اسبوع	اسبوعان	3	6	اسبوع	اسبوعان
الامتصاصية	8.55	8.30	6.73	5.01	8.61	8.49	8.40	8.18	8.6	8.53	8.43	8.21
تركيز الفينول المتبقي	594.15	577.3	468.23	348.3	598.3	590.4	584.12	568.9	598.1	592.7	586.03	570.4
نسبة التفكيك	0.9%	3.78%	21.9%	41.9%	0.28%	1.6%	2.6%	5.1%	0.3%	1.21%	2.32%	4.93%



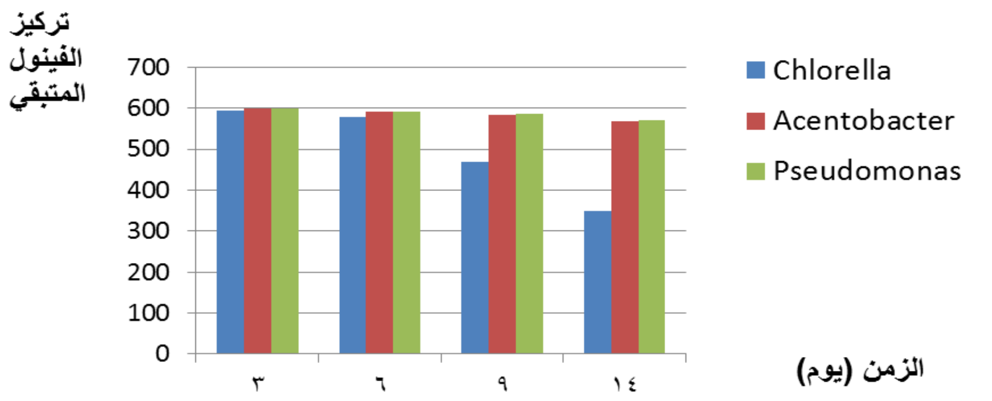
الشكل (٣) تخفيض وإزالة الفينول بالعلاقة بين نوع البكتريا و الزمن عند التركيز ١٠٠ ملغ/لتر



الشكل (٤) تخفيض وإزالة الفينول بالعلاقة بين نوع البكتريا و الزمن عند التركيز ٢٠٠ ملغ/لتر



الشكل (٥) تخفيض وإزالة الفينول بالعلاقة بين نوع البكتريا و الزمن عند التركيز ٤٠٠ ملغ/لتر



الشكل (٦) تخفيض وإزالة الفينول بالعلاقة بين نوع البكتريا و الزمن عند التركيز ٦٠٠ ملغ/لتر

نستنتج مما سبق:

➢ **العزلة الأفضل في تفكك الفينول عند التركيز 100 ملغ/لتر:**

يتضح من الجدول **(3) و من الشكل (3) حيث** بلغت نسبة تفكك 100 ملغ/ل بعد تسعة أيام حوالي 93% (تركيز الفينول المتبقي حوالي 7ملغ) لعزلة Chlorella تليها عزلة **Pseudomonas** نسبة تفكيك حوالي 77% (تركيز الفينول المتبقي حوالي 23ملغ) تليها عزلة **Acentobacter** نسبة تفكيك 74 % (تركيز الفينول المتبقي 26ملغ) لقد اقترب لون الكاشف المأخوذ من الوسط الحاوي على الطحالب قريب جداً من لون الوسط الذي لا يحوي على فينول دليل أن الطحالب قد فككت الكمية كلها ولم يلاحظ أي تأثير مثبط لهذا التركيز ع النمو البكتيري والطحلبي.

➢ **العزلة الأفضل في تفكك الفينول عند التركيز 200 ملغ/لتر:**

يتضح من الجدول (4) و من الشكل (4) حيث بلغت نسبة التفكك بتركيز 200 ملغ/ل بعد تسعة أيام حوالي 91% (تركيز الفينول المتبقي حوالي 20 ملغ) لعزلة Chlorella تليها عزلة **Pseudomonas** نسبة تفكك 63% (تركيز الفينول المتبقي حوالي 75ملغ) تليها عزلة **Acentobacter** نسبة تفكك حوالي 62 %(تركيز الفينول المتبقي حوالي 78ملغ) لقد اقترب لون الكاشف المأخوذ من الوسط الحاوي على الطحالب قريب جدا من لون الوسط الذي لا يحوي على فينول دليل أن الطحالب قد فككت الكمية كلها ولم يلاحظ أي تأثير مثبط لهذا التركيز ع النمو البكتيري والطحلبي.

➢ **العزلة الأفضل في تفكك الفينول عند التركيز 400 ملغ/لتر:**

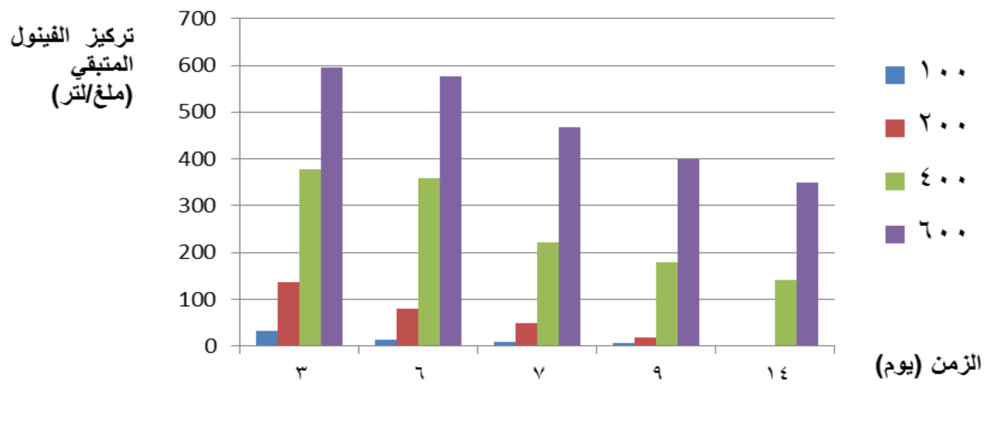
يتضح من الجدول (5) و من الشكل (5) حيث بلغت نسبة تفكك 400 ملغ/ل بعد أسبوعين 65%(تركيز الفينول المتبقي 140ملغ) لعزلة Chlorella تليها عزلةAcentobacter نسبة تفكيك 36% (تركيز الفينول المتبقي257ملغ) تليها عزلة Pseudomonas نسبة تفكيك 35% (تركيز الفينول المتبقي 259ملغ) لقد تم زيادة المدة اللازمة للتفكك إلى أسبوعين مع هذا التركيز نظراً لعدم قدرة العزلات على التفكك الكامل للفينول المضاف لوحظ تناقص في كثافة الأحياء لكل من العزلات الثلاث بسبب التأثير المثبط لهذا التركيز لذلك تم زيادة مدة التحضين.

➢ **العزلة الأفضل في تفكك الفينول عند التركيز 600 ملغ/لتر:**

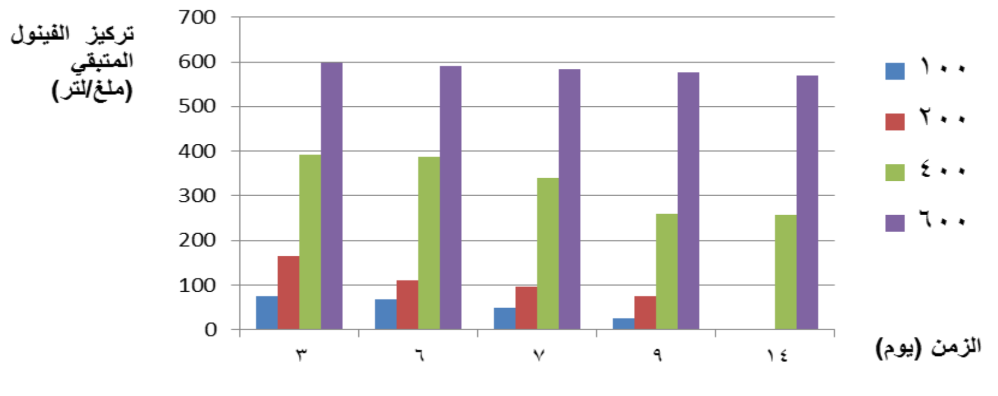
يتضح من الجدول (6) و من الشكل (6) حيث بلغت نسبة تفكيك 600 ملغ بعد أسبوعين 42%(تركيز الفينول المتبقي 348ملغ) لعزلة Chlorella تليها عزلة Acentobacter نسبة تفكك 6% (تركيز الفينول المتبقي568ملغ) تليها عزلة Pseudomonas نسبة تفكك 5%(تركيز الفينول المتبقي 570ملغ) لقد تم زيادة المدة اللازمة للتفكك إلى أسبوعين مع هذا التركيز نظرا لعدم قدرة العزلات على التفكيك الكامل للفينول المضاف لوحظ تناقص في كثافة الأحياء لكل من العزلات الثلاث بسبب التأثير المثبط لهذا التركيز.

2-قدرة البكتريا على تخفيض وإزالة التراكيز البدائية المختلفة من الفينول:

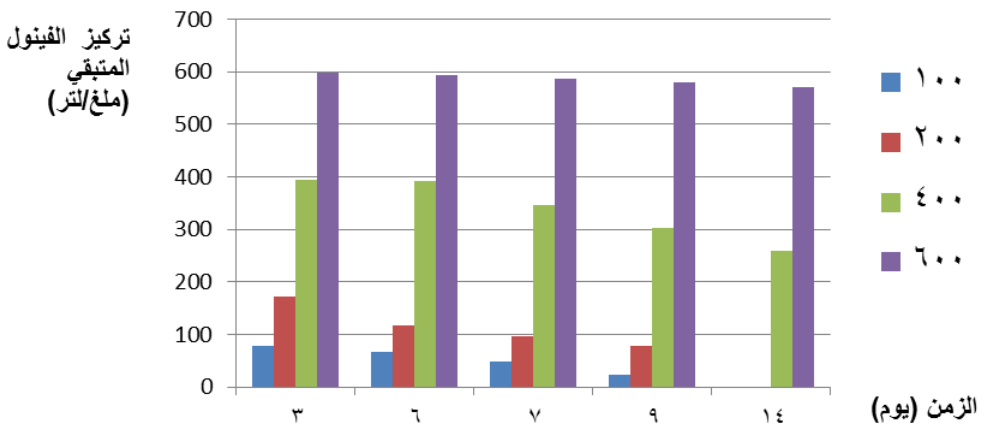
تم استخدام ثلاث أنواع من الأحياء الدقيقة *Chlorella* ، *Acentobacter* ، *Pseudomonas* من اجل تفكيك تراكيز بدائية مختلفة من الفينول (100.200.400.600)ملغ/ل كما هو مبين في الاشكال (7، 8، 9)



الشكل (٧) دراسة قدرة البكتريا (الطحالب Chlorella) على تخفيض وإزالة التراكيز البدائية المختلفة من الفينول بالعلاقة مع الزمن



الشكل (٨) دراسة قدرة البكتريا (Acentobacter) على تخفيض وإزالة التراكيز البدائية المختلفة من الفينول بالعلاقة مع الزمن



الشكل (٩) دراسة قدرة البكتريا (Pseudomonas) على تخفيض وإزالة التراكيز البدائية المختلفة من الفينول بالعلاقة مع الزمن

الاستنتاجات والتوصيات:

-أظهرت نتائج زرع كل من العزلات الثلاث على الوسط الزرعي MS المزود بالفينول بتراكيز متزايدة من (100-600 ملغ/ل) أن أفضل معدلات النمو والتفكيك كانت للعزلة Chlorella في جميع التراكيز المدروسة.

-العزلة Chlorella هي العينة الأفضل في تفكك الفينول والأكثرها مقاومة وقد استطاعت تفكيك أكثر من 90% من تركيز الفينول في مستنبتاتها خلال أسبوعين.

-أظهرت الدراسة أن لقاحاً بنسبة 4% من حجم المستنبت كان كافياً لمقاومة التأثير المثبط للفينول.

-تحققت أفضل نتائج في معدلات التفكيك الحيوي للفينول في المجال الحراري 30-35°م ودرجة الحموضة المعتدلة (pH= 7) والتهوية عند سرعة دوران 125 دورة/ دقيقة، مترافقةً مع أفضل معدل للنمو بعد 48 ساعة من الحضن.

-نلاحظ أنه عند التراكيز البدائية المنخفضة للفينول تمكنت الطحالب من تفكيك الفينول بشكل أفضل منه من أجل التراكيز المرتفعة ولكن مع ذلك تم تفكيك الفينول حتى من أجل تراكيز بدائية 600 ملغ/لتر ولكن بعد زمن أكبر من أسبوع.

ونستنتج مما سبق لدى دراسة تأثير كل من المصادر النيتروجينية والكربونية المختلفة على معدل التفكك الحيوي للفينول تبين أن المصادر النيتروجينية العضوية كانت شبه مثبطة للتفكك الحيوي بينما كانت الأفضل تأثيراً على معدل النمو الجرثومي. في حين كان كلوريد الأمونيوم أفضل المصادر النيتروجينية في تحسين معدلي النمو والتفكك للنوع الجرثومي المدروس وبتركيز 0.99غ/ل.

وخلص البحث بتوصية استخدام الأحياء الدقيقة التي تتميز بمقاومتها للفينول ومركباته والأكثر قدرةً على تفككه واستخدامه كمصدر وحيد للكربون والطاقة كأنواع جنس الزائفة .Pseudomonas spp والـ Acentobacter والـ Chlorella.

المراجع:

1. ABD-EL HAMEIDSHALABY M.E., *Biological degradation of substrate mixtures composed of phenol, benzoate and acetate by Burkholderia cepacia G4. Ph. D Thesis.* Gesellschaft fur Biotechnologische Forschung mbH, MascheroderWegl, D–38124 Braunschweig, Germany. 2003.

2. AL-KHALID T.; EL-NAAS M.H.; *Aerobic biodegradation of phenols: a comprehensive review. Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 42, 2012.1631-1690..

3. BASHA K.M.; RAJENDRAN A.; THANGAVELU V., *Recent advances in the biodegradation of phenol: a review*. *Asian J Exp Biol Sci* 1, 2010.219-234.

4. KOTRESHA D.; VIDYASAGAR G., *Isolation and characterisation of phenol-degrading Pseudomonas aeruginosa MTCC 4996.* World Journal of Microbiology and Biotechnology. 24, 2008.541-547.

5. KOTRESHA D.; VIDYASAGAR G., *isolation of phenol degrading bacterial strains form industrial effluents in india*. International Journal of Bioassays 2, 2013.1608-1611.

6. LIKA K.; PAPADAKIS I. A., *Modeling the biodegradation of phenolic compounds by microalgae*. J. Sea Res. 62, 2009. 135–146

7. MITTAL A., *Biological Wastewater Treatment*. Water Today. August, Fulltide, 2011.32-44.

8. OTURAN M.A., *Electrochemical advanced oxidation technologies for removal of organic pollutants from water*. Environ Sci Pollut Res, 2014. 8333-8335.

9. PRESS-KRISTENSEN K., *Biodegradation of xenobiotic organic compounds in wastewater treatment plants*. Institute of Environment & Resources. Lyngby, Denmark, The Technical University of Denmark. Ph. D 57. 2007.

10. SABRI, A. *Harads of industrial pollution and how to confront the risks (in Arabic)* (Unpubluished document). 2003

11. SHOURIAN M.; NOGHABI K. A.; ZAHIRI H. S.; BAGHERI T.; KARBALLAEI G.; MOLLAEI M.; RAD I.; AHADI S.; RAHEB J.; ABBASI H., *Efficient ph enol degradation by a newly characterized Pseudomonas sp.* SA01 isolated from pharmaceutical wastewaters. Desalination; 246, 2009. 577–594.