تأثير الظروف البيئية على قدرة بكتريا *Pseudomonas fluorescence* SKفي تحلل الفينول

سوزان كامران حسن حسن رحيم الشريفي

الملخص

استخدمت عزلة بكتريا*Pseudomonas fluorescence* SKكعزلة كفوءة في تحليل مركب الفينول ودرس تأثير الظروف البيئية في قابليتها على تحليل الفينول بوصفه مصدراً وحيداً للكربون والطاقة. أزداد نمو البكتريا ا من 10×122^4 الى 10×187^4 وحدة تكوين مستعمرة/مل عند استخدام الحاضنة الهزازة ،وان افضل مدة حضن كانت 48 ساعة، وافضل درجة حرارة كانت 25°م واعطت الدالة الحامضية 7-8 افضل نمواً، أظهرت النتائج ان الوسط الزرعي المعدني مضافاً له الفينول مصدر كربونياً ومستخلص الخميرة كان الافضل في تنمية البكتريا وثم استهلاك الفينول.

المقدمة

يعد الماء المقوم الاساس للحياة وهو شرط ضروري لوجود الحياة (32)فالماء أهم العناصر البيئية وتأتي أهمية الماء للانسان بعد أوكسجين الهواء مباشرة و يمثل أكبر المركبات الكيميائية الموجودة في الكائنات الحية، و يكون حوالي 60–95% من الوزن الكلي لمختلف الخلايا والانسجة ويتخلل الماء في أجزاء كل خلية ونسيج(29)، أذ يحتاج الانسان الى 2.5–3 لتر كل يوم من مياه الشرب بضمنها كمية المياه الداخلة في الغذاء، لذا يجب أن تكون المياه الصالحة للشرب خالية من الملوثات الكيميائية والفيزيائية والاحيائية.

تقذف الصناعات المختلفة اعداداً كبيرة من الملوثات الى البيئة المائية ومن هذه الملوثات المواد العضوية السامة، وتكمن خطورتها في امكانية تراكمها وزيادة تراكيزها عبر السلاسل الغذائية وبالتالي يصبح تركيزها في هذه الكائنات اكثر بكثير من تركيزها في البيئة نتيجة عملية التركيز الحيوي (Bioconcentration)، فضلاً عن تأثيراتها في صحة الانسان، ويعد الفينول والمركبات الفينولية من ملوثات المياه السامة، اذ ان الحد الاقصى المسموح به في مياه الشرب 0.002 ملغم/لتر، ولزيادة طرح المياه الصناعية الملوثة بهذا المركب كان لابد من ايجاد طرائق كفوءة لازالة هذه الملوثات عن طريق استخدام انظمة مايكروبايولوجية لازالة المركبات السامة من المخلفات الصناعية، قبل طرحها الى الانهار(12).

أظهرت الدراسات مؤخراً وجود انواع من الاحياء المجهرية،مثل بعض أنواع من البكتريا،والطحالب، والفطريات، والخمائر لها القابلية على الارتباط بأيونات العناصر الثقيلة المتوفرة في البيئة الخارجية لسطح الخلية او تجميعها داخل الخلية، لذلك من الممكن استعمال مثل هذه الاحياء في إزالة بعض ايونات العناصر الثقيلة السامة من الماء، ومثال على هذه الاحياء ***Proteus mirabilis, Proteus vulgaris* 2E, *Escherichia coli,* *Salmonella typhi, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus vulgaris* 7E** (5).

هدفت الدراسةالحالية تقويم تأثيرالظروف البيئية في قدرة بكتريا ***Pseudomonas fluorescence* SK** في تحلل الفينول.

جزءمن اطروحة الدكتوراه للباحث الاول

كلية الزراعة – جامعة بغداد– بغداد، العراق.

المواد وطرائق البحث

استعملت عزلة بكتريةSK *Pseudomonas fluorescence* استحصلت في دراسة سابقة (3)كعزلة كفوءة في تحليل مركب الفينول ودرست الظروف البيئية في عملية تحلل الفينول،اجريت التجارب بواقع مكررين لكل معاملة وكانت كما يأتي:

الاوكسجين

نشطت العزلة البكترية ولقحت الدوارق الحاوية على 10 ملليتر من وسط المغذي السائل الحاوي على 2غم من فوسفات البوتاسيوم احادية الهيدروجين K_2HPO_4وغرام من كلوريد الصوديوم NaCl و0.5غم من نترات الامونيوم NH_4NO_3 و0.2 غم من كبريتات المغنيسيوم $MgSO_4.7H_2O$ و0.2 غم من كلوريد الكالسيوم $CaCl_2.2H_2O$و0.01 غم من كلوريد الحديديك $FeCl_3$.أذيبت المكونات في الماء المقطر واكمل الحجم الى1000 مليلتر الذي يحوي الفينول بمقدار 100 ملغم/لتر بوصفه مصدراً وحيداً للكربون بتركيز لقاح $1x10^5$خلية/مل كما اجريت معاملة سيطرة خلت من الفينول (وهو المصدر الوحيد للكاربون والطاقة في وسط النمو)، ولم يظهر نمواً وقد وحضنت بعض الدوارق في حاضنة هزازة بسرعة 150 دورة /دقيقة وبعضها الاخر في حاضنة مستقرة لمدة 72 ساعة بدرجة حرارة 30 م لكلتا الحاضنتين واجريت التخافيف اللازمة وزرعت بالاطباق لحساب العدد الكلي الحي.

مدة الحضن

أجريت الخطوات السابقة نفسها المتعلقة بالتنشيط والتلقيح وحضنت بحاضنة هزازة بسرعة 150دورة/دقيقة بدرجة حرارة 30 مئوي للمدد 12، 24 ، 48، 72 ،96 ساعة واجريت التخافيف اللازمة وزرعت بالاطباق لحساب العدد الكلي الحي.

درجة الحرارة:

اجريت الخطوات السابقة نفسها المتعلقة بالتنشيط والتلقيح للعزلة البكترية وحضنت بحاضنة هزازة 150 دورة /دقيقة بدرجات حرارة مختلفة 20 ، 25 ، 30 ،35 ،40°م لمدة 48 ساعة . واجريت التخافيف اللازمة وزرعت بالاطباق لحساب العدد الكلي الحي.

رقم الهيدروجين

جريت الخطوات السابقة نفسها بالتنشيط والتلقيح للعزلة البكترية وعدل الرقم الهيدروجين للوسط الى 5 ، 6 ،7 ،8 ،9 وحضنت بحاضنة هزازة بسرعة 150 دورة /دقيقة بدرجة حرارة 25 م لمدة 48 ساعة. واجريت التخافيف اللازمة وزرعت بالاطباق لحساب العدد الكلي الحي.

المغذيات

اجريت الخطوات السابقة نفسها المتعلقة بالتنشيط والتلقيح للعزلة البكترية .لقحت الدوارق بعدة اوساط تركيبية، الدورق الاول بوسط المغذي السائل الذي يحوي على الفينول بمقدار 100 ملغم / لتر والدورق الثاني بوسط المغذي السائل الذي يحوي الفينول بالنسبة نفسها ومسحوق الكلوكوز بتركيز 0.5 غم /لتر والدورق الثالث بوسط المغذي السائل والفينول ومستخلص الخميرة 2 غم/لتر والدورق الرابع بوسط المغذي السائل الحاوي على الفينول ومسحوق الكلكوز ومستخلص الخميرة بالتراكيز السابقة نفسها وعدل الرقم الهيدروجين الى 7 وحضنت بحاضنة

هزازة بسرعة 150 دورة /دقيقة بدرجة حرارة 25°م.لمدة 48 ساعة. واجريت التخافيف اللازمة وزرعت بالاطباق لحساب العدد الكلي الحي.

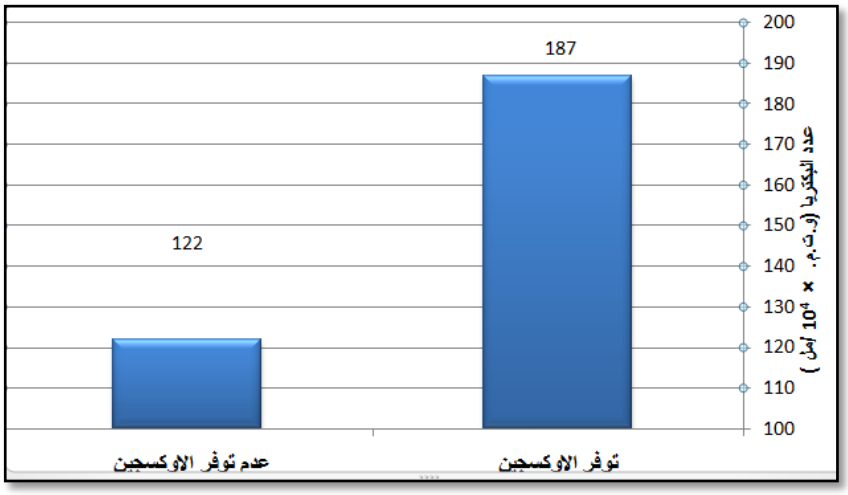
النتائج والمناقشة

تأثير الظروف البيئية في عملية تحلل الفينول:

الأوكسجين:

درس تأثير التهوية في نمو العزلة البكتريةSK *Pseudomonas fluorescence* واستهلاكها للمخلفات النفطية. اذ درس تأثير التحريك المستمر في مزارع البكتريا يعده وسيلة تهوية تزيد في كفاءة البكتريا على تحليل الفينولات. واظهرت النتائج ان تحليل الفينولات في المزارع المتحركة افضل من الساكنة، إذ بلغ العدد الكلي للبكتريا (187×10^4) (وحدة تكوين مستعمرة/مل) لدى تنمية المزارع في الحاضنة الهزازة (150 دورة /دقيقة)كما موضح في الشكل(1) كما لم يظهر نمواً لعينة السيطرة لعدم توفر المصدر الكربوني اللازم للنمو،اما في الحاضنة الساكنة فكان اعلى نمواً وصلت اليه الخلايا هو (122×10^4) (و.ت.م./مل). وهذا يشير ان التهوية لها دور مؤثر في سرعة وكفاءة عملية التحلل (18، 22، 26)، اذ ان تجهيز حوض المخلفات النفطية بالهواء عامل مهم لنجاح عملية المعالجة، فان التحريك المستمر للوسط يساعد في زيادة ذائبية الهواء في الوسط؛ مما يحفز عمل الانزيمات البكترية المحللة، أي ان جزيئة الفينول تصبح جاهزة لعملية الاستهلاك من قبل عمليات الايض الخلوي .

وكانت هذه النتائج متوافقة مع Moleo وجماعته (18)، Ali وجماعته (4) في ان التهوية اكثر مواتية لعمليات التحلل البايولوجي لان الاوكسجين يعمل مستقبلاً للالكترونات، وتستهلكه الاحياء المجهرية في عملية التنفس ويشارك في التفاعلات المحفزة للانزيمات(11،16،27). وتتفق مع نتائج الدراسة ايضاً Kleifatو Khaled(15) إذ اثبتا ان *Actinobacillus* sp. اعطى اعلى فعالية لتحلل الفينول عند الظروف المثلى للتحلل بدرجة حرارة من 35 _37°م لدى استخدام حاضنة هزازة بسرعة 150 دورة بالدقيقة.



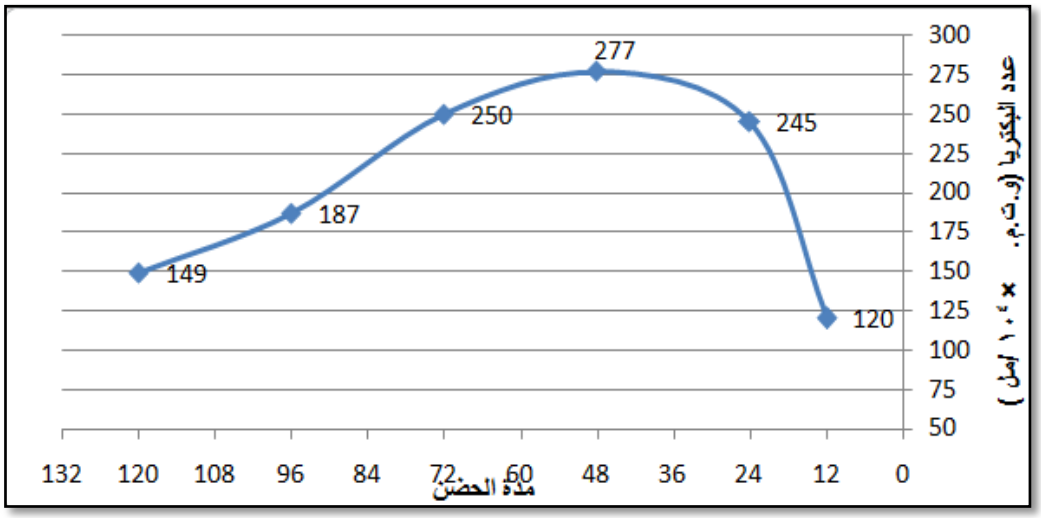
شكل 1: تاثير التهوية في نمو بكتريا SK *Pseudomonas fluorescence* باستعمال الوسط المغذي المدعم بالفينول بوصفه مصدراً وحيداً للكاربون والطاقة

مدة الحضن:

تمت دراسة تأثير مدة الحضن المختلفة على نمو العزلة*Pseudomonas fluorescence* SK في الوسط المعدني السائل الحاوي على 100ملغم/لتر فينول وبحاضنة متحركة بسرعة 150دورة /دقيقة وبدرجة حرارة 30م، تشير النتائج في شكل (2) ان معظم الزيادة في الكتلة الحيوية للعزلة حصلت في اليوم الثاني من الحضن،إذ بلغت 275×10^4 (و.ت.م./مل) من اثناء 48 ساعة.

تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه Bhattacharya وجماعته(8) في ان العزلات المستخدمة *Pseudomonas aeruginosa* MTCC1034, *Pseudomonas fluorescens* MTCC 2421،*Bacillus cereus* ATCC9634قد اعطت اعلى نمواً للبكتريا في 48 ساعة وثم اعطت اعلى تحللاً للفينول في بداية طور الثبات.

ويتفق كذلك مع ما وجده Mahiudddin وجماعته(17) في ان العزلة *Pseudomonas fluorescence* استهلكت الفينول بشكل كامل واعطت اعلى نمواً في 48 ساعة وذكر Bared وجماعته(7) في ان عزلة *Pseudomonas aeruginosa* حللت الفينول بتركيز80 ملغم/لتر اثناء اربعة ايام.يتبين من خلال النتائج التي تم الحصول عليها من هذه الدراسة، أن سرعة تحلل الفينول يكون مرتبطا" بالنمو الذي يزداد في نهاية الطور اللوغاريتمي حتى يصل الى اعلى قيمة في بداية طور الثبات. وقد يعود سبب انخفاض سرعة النمو في طور الانحدار الى نفاذ المغذيات الاخرى مثل مصادر النيتروجين والكربون، او يعود السبب الى انخفاض الرقم الهيدروجيني بفعل تراكم المواد الايضية الناتجة من عمليات الاكسدة التي هي نواتج ذات سمية ذاتية (Autotoxic) للخلايا،اوالى نقص الاوكسجين وقلة التهوية(23،25).

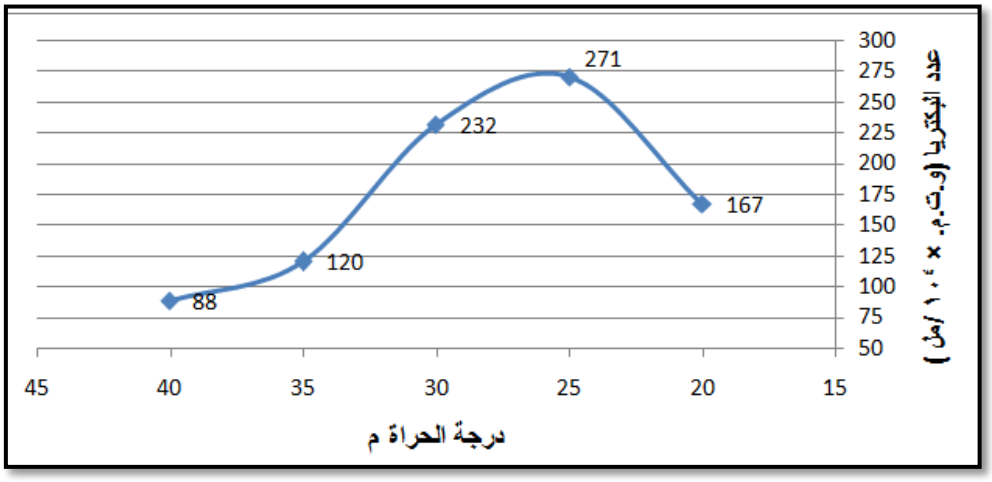


شكل 2: تأثير مدة الحضن في نمو بكتريا *Pseudomonas fluorescence SK*باستعمال الوسط المغذي المدعم بالفينول بوصفه مصدراً وحيداً للكربون والطاقة.

درجة الحرارة:

درس تأثير درجة الحرارة في نمو العزلة *Pseudomonas fluorescence* SK في الوسط المعدني السائل الحاوي على 100ملغم/لتر فينول،ويبين شكل (3) ان افضل نمواً للعزلة كان في درجة حرارة 25°م، اذ سجل عندها اعلى نمواً للعزلة الذي بلغ 271×10^4 و.ت.م./مل . أمّا عند درجتي الحرارة 35 و40 °م ، فقد لوحظ ان معدل النمو يقل تدريجياً، إذ بلغ 120×10^4 و88×10^4 و.ت.م./مل على التوالي وبذلك فأن معدل تحلل الفينول انخفض ايضاً بسبب قلة نمو البكتريا لتوقف فعالية ايض الانزيمات بارتفاع درجة الحرارة. تؤثر درجة الحرارة في

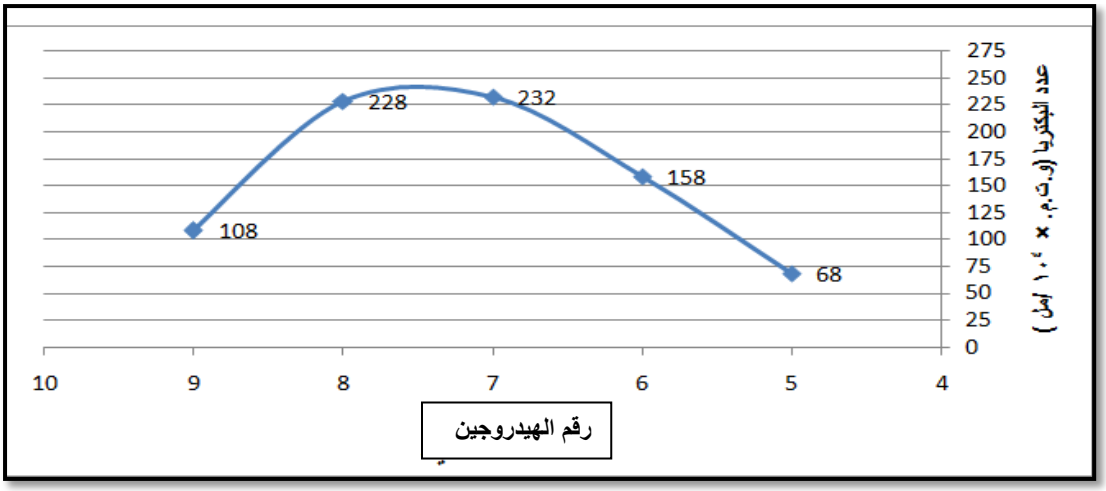
نمو وتكاثر الاحياء المجهرية وفعاليتها الايضية ولوحظ ان رفع درجة الحرارة عن الدرجة المثلى لبكتريا *Pseudomonas sp.* يثبط النمو والتكاثر، وتتكون نواتج خلوية غير كاملة الاكسدة (21).



شكل3:تأثير درجة الحرارة على نمو بكتريا *Pseudomonas fluorescence* SK باستعمال الوسط المغذي المدعم بالفينول كمصدراً وحيداً للكربون والطاقة.

رقم الهيدروجين:

درس تأثير رقم الهيدروجين للوسط الزرعي في نمو العزلة البكترية. اذ نميت العزلة في الوسط المعدني السائل ذي ارقام هيدروجينية تراوحت بين 5–9. ومثلما موضح في الشكل (4) تشير النتائج الى ان اعلى نمو للخلايا البكترية يكون عند الرقم الهيدروجيني 7 – 8 ، ويقل النمو للعزلة البكترية عند الرقم الهيدروجيني الاقل من 7 و الاعلى من 8، وهذا يتوافق مع ما توصل اليه Annadurai وجماعته(6) ان افضل تفكيك حياتي للفينول من قبل بكتريا *Pseudomonas pictorum* كان عند رقم هيدروجين الامثل بين 6.8 و7 وكذلك ويتفق مع ما اشاروا اليه Bared وجماعته(7)، Chakraborty جماعته (9)، Chandra وجماعته(10)و Bhattacharya وجماعته (8) في ان افضل تحلل للفينول كان عند رقم هيدروجين (7 – 8) بالنسبة للبكتريا *Pseudomonas* sp. و*Bacillus* sp. وكذلك يتفق مع ما اشار اليه Shourian وجماعته(30)، Ali وجماعته(4)ان بكتريا *Pseudomonas* sp اعطت اعلى فعالية تحلل عند رقم هيدروجين 6.5 بدرجة حرارة 30 ˚م في حين عند رفع درجة الحرارة الى 40˚م اعطت اعلى فعالية تحلل عند رقم هيدروجين 7.5 اما عند ارتفاع درجة الحرارة الحضن الى 45˚م فكان اعلى تحلل عند رقم هيدروجين 8.



شكل **4**: تأثير الدالة الحامضية في نمو بكتريا ***Pseudomonas fluorescence*** **SK** باستعمال الوسط المغذي المدعم بالفينول مصدراً وحيداً للكربون والطاقة.

وانّ درجة حموضة الوسط الذي تعيش فيه الخلايا البكترية يمكن أن يؤثر بشكل مباشر او غير مباشر على نمو وفعالية البكتريا، اذ ان سطوح الخلايا البكترية تحتوي على العديد من المواد او التراكيب التي يمكن ان تتفاعل مع ايونات الهيدروجين، وتحلل مثل هذه المواد سيؤدي الى ارباك في الصفات النفوذية للخلايا، لذا يمكن لايونات H^+ان تؤثر في الفعاليات الحيوية للخلايا، ثم النمو بشكل غير مباشر، وذلك من خلال تأثيرها في نفاذية الخلايا . وفضلاً عن هذا فان المواد الغذائية الموجودة في الوسط المحيط للخلايا ستتأثر طبيعتها وتفككها؛ مما قد يعيق نقلها الى داخل الخلايا البكترية (**2،1**).

وتتفق نتائج هذه الدراسة مع ما اشار اليه **Annadurai** وجماعته(**6**) ان افضل تفكيكاً حياتياً للفينول من قبل بكتريا ***Pseudomonas pictorum*** كان عند رقم هيدروجين أمثل بين **6.8** و**7** وبدرجة حرارة**30**°م وباستخدام الفينول مصدراً للطاقة بتركيز**0.2** غم/لتر.

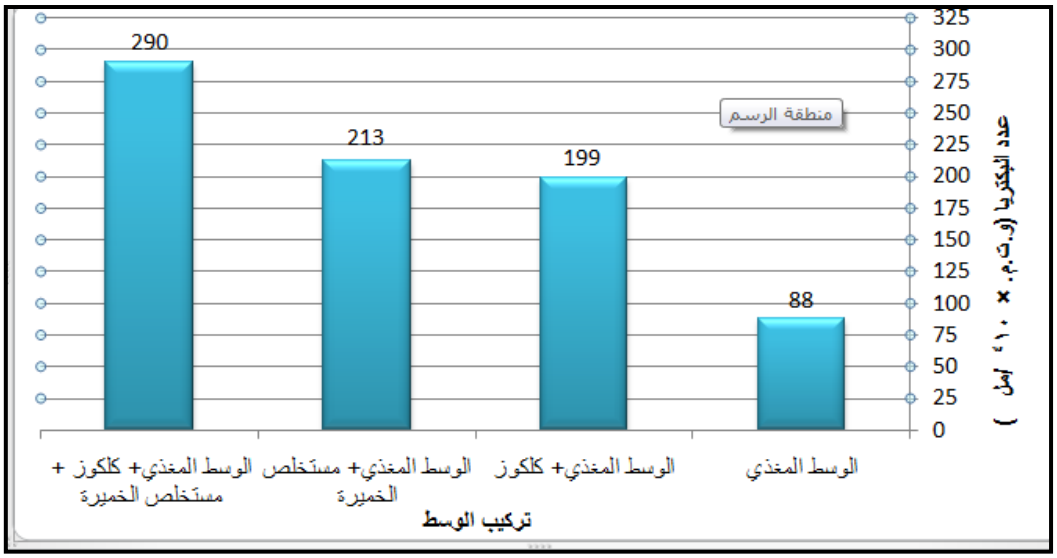
تركيب الوسط:

درس تأثير تركيب الوسط المعدني السائل في سرعة تحليل الفينول. وبعد مدة حضانة **48** ساعة بالظروف المثلى، بينت النتائج ان وجود المصادر الكربونية والنتروجينية (سهلة التمثيل) قد حفّز (**Induce**) نمو العزلة البكترية وتحليل الفينول بنسب متفاوتة، اذ اظهرت النتائج المبينة في شكل (**5**)ض بان اعلى كتلة حيوية للعزلة تم الحصول عليها عند استخدام الوسط التالي (الوسط المعدني الحاوي على **100**ملغم/لتر فينول مضافاً اليه الكلوكوز مصدراً كربونياً ومستخلص الخميرة مصدراً نيتروجينياً)،اذ بلغت **290** × 10^4و.ت.م. /مل. وبينت النتائج ان الوسط المستخدم فيه الوسط المعدني مضافا اليه مستخلص الخميرة /مصدراً نتروجينياً والفينول كمصدر كربوني اعطى كذلك نمو بكترياً اكثر بقليل من الوسط الذي يحوي الوسط المعدني مضافاً اليه الكلوكوز فقط بوجود الفينول وهذا يعطى نمواً اكثر بكثير من العزلة التي اعتمدت على مكونات الوسط المعدني فقط، اذ بلغت **213** × 10^4 ، **199** × 10^4، **88** × 10^4 (و.ت.م. /مل)على التوالي.

هذا يتفق مع ما وجده**Movahedin** وجماعته (**19**) و **Pierre** وجماعته (**20**)، **Ali** وجماعته(**4**) في اضافة الكلوكوز مصدر كربونياً ومستخلص الخميرة مصدر نتروجيني للوسط يزيد قابلية البكتريا على تحلل الفينول قياساً بالحالات التي لم تتم اضافة المغذيات للوسط.ويتفق مع ما ذكره **Ali** وجماعته (**4**) في زيادة معدل نمو بكتريا

P . aeruginosa عند استخدام الوسط المعدني مضافا اليه الكلوكوز ومستخلص الخميرة والفينول وفسر ذلك في ان الزيادة السريعة في النمو عند وجود التراكيز الواطئة من المصدر النيتروجيني الى حاجة البكتريا للنيتروجين من اجل النمو وتكوين الكتلة الحيوية،.حيث تحتاج البكتريا الى النيتروجين الى ان تدخل طور الثبات،. فقد وجد **Robert** وجماعته(**24**)،**Syldatk** وجماعته (**31**)، جمعة وجماعته(**2**).ان تحديد النيتروجين في الوسط الزرعي يؤدي الى زيادة الانتاج بشكل كبير اثناء طور الثبات. وان مستخلص الخميرة يحوي معادن ضرورية لنمو البكتريا فتعطي معدلاً نمو اعلى للبكتريا وانها اسهل تحللاً من الفينول، لذلك تستهلكه البكتريا في بداية الطور اللوغارتمي وصولاً الى طور الثبات (**4**).

واكد **Chakraborty** وجماعته (**9**) ان وجود الكلوكوز يؤثر في كفاءة تحلل الفينول اذ ان اضافة **0.25%** كلوكوز يزيد من معدل تحلل الفينول الى **97.88%** لكن بزيادة تركيز الكلوكوز الى **0.5%** قلل من معدل تحلل الفينول الى **55.36%** .ويرجع السبب الى ان التركيب الكيميائي للكلوكوز ابسط من التركيب الكيمياءي للفينول، لذلك ستلجأ البكتريا اولا لتحليل واستهلاك المركبات الابسط تمثيلا والتي تتمثل بالكلكوز وبعد نفاذ الكلوكوز من الوسط تلجيء الى استهلاك الفينول (**13**، **14**، **28**) .ويتفق مع ما وجده **Bhattacharya** وجماعته(**8**) في ان اضافة المصادر النتروجينة والكربونية للوسط الزرعي تزيد من كفاءة تحلل الفينول ووجد ايضاً ان الكلوكوز افضل مركباً كربونياً يزيد التحلل ففي اضافة الكلوكوز للوسط الزرعي بوجود الفينول اعطى فعالية تحلل اعلى من اضافة الفركتوز والسكروز والمالتوز واللاكتوز والنشا، وكذلك وجد ان اضافة البيتون مصدر نتروجينياً للوسط الزرعي اعطى اعلى فعالية تحلل للفينول من اضافة التربتون واليوريا والكازين اوكلوريد الامونيوم او سلفات الامونيوم او نترات الصوديوم.



شكل **5**: تأثير وسط النمو على بكتريا ***Pseudomonas fluorescence*** **SK**بأستعمال الحاضنة الهزازة بسرعة **150** دورة/دقيقة وبدرجة حرارة **25**°م بعد **48** ساعة.

المصادر

1- العبيدي، امل علي (**2004**). العوامل المؤثرة في التحلل الحيوي لمياه مخلفات وحدة المعالجة في مصفى الدورة – بغداد. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.

2- جمعة،ناظم حسن حيدر(**2007**)معالجة الملوثات النفطية بعزلات محلية لبكتريا ***Pseudomonas aeruginosa*** المنتجة للمستحلبات الحياتية. اطروحة دكتوراه. كلية العلوم. جامعة بغداد.

3- حسن، سوزان كامران (**2014**).عزل وتشخيص البكتريا المحلله للفينول من المياه والعوامل البيئية المؤثرة عليها ودراسة بعض العناصر المعدنية في مياه الفضلة الصناعية .أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

4- **Ali, O.; A. Namane and A.Hellal (2012).Microbial degradation of phenol by *Pseudomonas aeruginosa* : . Rev. Microbiol. Ind. San et Environn., 6(1) : 35-53 .**

5- **Adeniji, A. (2004) .Biosoremediation of arsenic ,chromium , lead and mercury . National Network of Environmental Management Studies Fellow . WWW.Clu- in. org.**

6- **Annadurai, G.; L.Y. Ling and J. Lee (2007). Biodegradation of phenol by *Pseudomonas pictorum* on immobilized with chitin. African J. of Biotech., 6(3): 296-303.**

7- **Bared, R.; A. Boucheta; M. Chaib; S. Kacimi (2010). Phenol and Benzoic Acid Degradation by *Pseudomonas aeruginosa* . Journal of Water Resource and Protection,2: 788-791.**

8- **Bhattacharya, S.; D. Arijit and P. Nalini (2012). Ex situ biodegradation of phenol by native bacterial flora isolated from industrial effluent. Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences, 2(2): 1091-1101.**

9- **Chakraborty S.; T. Bhattacharya; T.N. Patel and K.K. Tiwari (2010). Biodegradation of phenol by native microorganisms isolated from coke processing wastewater.Journal of Environmental Biology , 31: 293-296.**

10- **Chandra, R.; S. Yadav; R. Naresh and V. Rai (2011). Phenol degradation by *Paenibacillus thiaminolyticus* and *Bacillus cereus* in axenic and mixed conditions.World J.MicrobiolBiotechnol.,27:2939–2947.**

11- **- Harayama, S. and M. Renik (1989) Bacterial aromatic ring cleavage enzymes are classified into two different gene families. J. Biol. Chem., 264:15328-15333.**

12- **Indu N.C.; K. Jayachandran and S. Shankar (2008) Biodegradation of phenol, School of Biosciences, M.G.University,Kottayam, Kerala, India. African Journal of Biotechnology, 7 (25): 4951-4958.**

13- **Kar, S.; T. Swaminathan and A. Baradarajan (1996). Studies on biodegradation of a mixture of toxic and non toxic pollutant using Arthrobacter species.Bioproc.Biosys.Engg., 15: 195-199.**

14- **Khaled, M. and K. Khleifat (2006) Biodegradation of phenol by *Ewingellaa mericana*: Effect of carbon starvation and some growth conditions. Process Biochemistry, 41: 2010-2016 .**

15- **Khleifat K. and D. Khaled (2007). Biodegradation of phenol by *Actinobacillus* sp. Mathematical interpretation and Effect of some growth conditions. Bioremediation J., 11: 103-112.**

16- **Leveau, J.Y. and M. Bouix (1999) Bio-ingénierie. In: Scriban R. Biotechnologie, Tec& Doc, Paris, 229-313.**

17- **Mahiudddin M.; A.N.M. Fakhruddin1 and A. Abdullah-Al-Mahin (2011). Removal of phenol by a soil isolated *Pseudomonas fluorescens* PU1. Bangladesh.**

18- **Meloa, J.S.; S. Kholi; A.W. S.F. Patwardhan and D. Souza (2005). Effect of oxygen transfer limitations in phenol biodegradation. Process Biochem.,40:625–628.**

19- **Movahedin, H.; R. Shokoohi; A. Parvaresh; M. Hajia and J.A. Jafari (2006). Evaluating the effect of glucose on phenol removal efficiency and changing the dominant microorganisms in the serial combined biological system.J Res Health Sci., 6(1): 8-13.**

20- **Pierre,C.; D. Sylvain; C.B. Yannick and A. Richard (2011).Phenol biodegradation by the thermo acidophilic archaeon *Sulfolobussolfataricus* 98\2: in a Fed-Batch Bioreactor,22:475- 484.**

21- **Potztogova; I.N. (1978) .The effect of above- optimum temperature on bacteria and yeasts. Izv.Akad. Nauk.SSSR , Ser. Biol. , 4 : 588 - 597 .**

22- **Pritchard P.H.; J. G.Mueller; J.C. Rogers ; F.V. Kremer and J.A. Glaser (1992). Oil spill in Oil Alaska. Biodegradation,3 : 315 – 335.**

23- **Ramana, K.V. and N.G. Karanth (1989). Production of biosurfactant by the resting cells of *Pseudomonas aeruginosa*.CFTR-6.Biotech.Lett.,11:437-442.**

24- **Robert, M.; M.E. Mercade; M.P. Bosch; J.L. Parra; M.J. Espuny; M.A. Manresa and J. Guinea (1989). Effect of the carbon source on biosurfactants production by *Pseudomonas aeruginosa* 44T1.Biotechnol.Lett., 11:871-874.**

25- **Ron, E.Z. and E. Rosenberg (2001). Natural roles of biosurfactants. Environ. Microbiol., 3(4): 229-236.**

26- **Rosenberg E.; R. Legmann; A. Kushmaro; R. Taube; E. Adler and E. Z. Ron (1992). Petroleum bioremediation-a multiphase problem Biodegradation, 3 : 337 - 350.**

27- **Saez, P.B. and B.E. Rittman (1993). Biodegradation kinetics of a mixture containing a primary substrate (phenol) and Inhibitory co-metabolite (4-chlorophenol).Biodegradation, 4:3–21.**

28- **Santos, V.L.; N.M. Heilbuth; D.T. Braga; A.S. Monteiro and V.R.J. Linardi (2003). Phenol degradation by a *Graphium* sp. FIB4 isolated from industrial effluents. Basic Microbiol., 43: 238-248.**

29- **Senta, A. and M.M. Rajcic (2007) . Drinking water safety from private wells in Zagreb,129: 39 – 43.**

30- **Shourian, M.; K.A. Noghabi; H.S. Zahiri; T. Bagheri; G. Karballaei; M. Mollaei, I. Rad; S. Ahadi; J. Raheb; and H. Abbasi (2009). Efficient phenol degradation by a newly characterized *Pseudomonas* sp. SA01 isolated from pharmaceutical wastewaters. Desalination,246 :577–594.**

31- **Syldatk, C.; S. Lang, and F. Wanger (1985). Chemical and physical characterization of four interfacial-active rhaminolipids from *Pseudomonas sp.* DSM 2874 grown on n-alkanes. Z. Natturforsch., 40C: 51-60.**

32- **WHO (World Health Organization) .(2010). Guidelines for Drinking Water Quality.**

EFFECT OF ENVIRONMENTAL CONDITIONS ON *Pseudomonas fluorescence*SK CAPABILITY ON PHENOL DEGRADATION

S. K. Hassan **H. R. Al-Sherefi**

ABSTRACT

This investigation was carried out to detect The effect of environmental conditions on bacteria ability (*Pseudomonas fluorescence*SK) to degrade phenol as sole Carbone source was studied. The bacterial count increased from 122 x 10^4 to 187x10^4 .The optimum incubation period was 48 hours at 25˚C and pH 7-8. The cultural media composed of mineral, phenol and yeast extract which was the best for bacterial growth and phenol consumption.

---

part of Ph.D. Thesis for the first author.
Collage of Agric. –Baghdad Univ. –Baghdad, Iraq.