Archive of SID

مجله علمی- پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی
تابستان ۱۳۸۹، دوره دوم، شماره پنجم، صفحه ۲۰-۱۳

بررسی میزان جذب فسفات تحت شرایط هوازی و بی هوازی توسط باکتری بومی جداسازی شده از خاک های آلوده به قطران

عبد الرزاق مرزبان[۱]، غلامحسین ابراهیمی پور[۱]، مریم کارخانه[۲]، جواد فخاری[۱]، سارا محسنی[۲]، هاوری علایی[۱]

۱- دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم زیستی، گروه میکروبیولوژی

۲- دانشگاه الزهرا (س)، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

نویسنده مسؤول: عبد الرزاق مرزبان، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم زیستی، گروه میکروبیولوژی. marzban86@gmail.com

دریافت: ۸۹/۲/۱۱ پذیرش: ۸۹/۴/۱۲

چکیده

زمینه و هدف: افزایش میزان مواد آلی، نیتروژن و فسفات در محیط های آبی توازن رشد موجودات آبزی را به هم می زند و علاوه بر آن مشکلات زیست محیطی جدی را ایجاد می کند. هدف از این پژوهش بررسی میزان جذب فسفات توسط باکتری جداشده از خاک های آلوده به قطران به منظور حذف فسفات از آب های حاوی غلظت بالای فسفات می باشد.

روش بررسی: در ابتدا نمونه برداری از خاک های آلوده به قطران با هدف جداسازی یک باکتری تجزیه کننده قطران در اطراف پالایشگاه قطران اصفهان صورت گرفت جداسازی روی محیط کشت نوترینت آگار انجام شد و در مرحله شناسایی کلنی ها مشخص گردید که مصرف فسفات در این باکتری بالاست. بنابراین به منظور تعیین شرایط بهینه جذب فسفات اثر متغیرهای دما، pH، منبع کربن، غلظت فسفات و نیتروژن روی جذب فسفات بررسی شدند. مقدار فسفات جذب شده به روش رنگ آمیزی اسید اسکوربیک در محیط کشت اندازه گیری شد. وزن خشک سلول نیز بعنوان شاخص رشد باکتری درنظر گرفته شد. در انتها توانایی جذب فسفات آن با باکتریهای Acinetobacter calcuaceticous و E.coli بعنوان شاهد مثبت و منفی مقایسه شد و همچنین رشد و جذب فسفات تحت شرایط هوازی و بی هوازی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: آزمایش شناسایی باکتری به روش بیوشیمیایی و بررسی های ژنتیکی به روش آنالیز قطعه ۱٦S rDNA، تشابه این باکتری را با جنس سودوموناس نشان داد. شرایط بهینه جذب فسفات برای این سویه در pH معادل ۷/۵، دمای $35\ ^{o}c$، استات سدیم به عنوان منبع کربن تحت شرایط هوازی و فسفات به اندازه ۱۰ برابر نسبت P ارائه شده توسط گیبس بدست آمد. بیشترین مقدار جذب فسفات تحت شرایط بهینه ٤/٥ درصد وزن خشک سلول بود.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج به دست آمده این باکتری بومی توانایی نسبتاً مطلوبی در جذب فسفات و ذخیره آن دارد و به دلیل سرعت رشد بالای آن می تواند جهت حذف فسفات از پساب ها مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: جذب فسفات، خاک های آلوده به قطران، سودوموناس

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

پیشرفت های صنعتی سبب افزایش رفاه بشر گردیده، با این وجود گاهی سبب ورود آلاینده های مختلف شیمیایی و بیولوژیکی به محیط شده است. لذا کنترل آلاینده ها و برنامه ریزی در جهت حذف آنها یک امر بسیار ضروری می باشد. با ورود فاضلاب های شهری، پساب های کشاورزی، دترجنت ها، آفت کش ها و موادی که حاوی مواد آلی، نیتروژن و فسفات است، جلبک ها و سیانوباکترها بیش از حد رشد کرده و کدورت آب ها رخ داده، بدنبال آن مرگ آبزیان اتفاق می افتد(۱). به دلیل اینکه افزایش فسفات و نیتروژن نقش اساسی در این فرایند دارد، توجه ویژه ای در جهت حذف آنها از محیط صورت گرفته است و همچنین مقدار این مواد در آب ها به عنوان یکی از شاخص های استاندارد سلامتی آب و پساب قلمداد شده است (۲).

امروزه برای حذف این آلاینده ها مطالعات زیادی انجام شده و روش های مختلف شیمیایی و بیولوژیکی نیز بکار برده شده است. در روش شیمیایی با استفاده از مواد شیمیایی و رسوب دادن، آلاینده ها را از محیط جدا می کنند. این روش اغلب هزینه بر و گاهی نیز به دلیل سمیت مواد اضافه شده به محیط آسیب وارد می شود (۱و۳). در روش های بیولوژیکی با استفاده از میکروارگانیسم های جاذب فسفات و دنیتریفیکانت ها حذف این مواد از محیط صورت می گیرد. این روش به دلیل هزینه پایین، کم خطر بودن و رسیدن این مواد به حد استاندارد بین المللی مورد توجه قرار گرفته است (۴).

به فرایند استفاده از میکروارگانیسم ها در جهت حذف آلاینده های محیطی درمان زیستی (Bioremediation) اطلاق می گردد. حذف بیولوژیک فسفات توسط باکتری های جاذب فسفات یکی از مهم ترین فرایندهای درمان زیستی به شمار می رود (۵و۶). بیشترین کاربرد این باکتری ها در تصفیه فاضلاب در فرایند لجن فعال است. دراین روش طی فرایند هوازی باکتری ها فسفات را جذب و به صورت پلی فسفات ذخیره می کنند و در مرحله بی هوازی فسفات را آزاد می کنند (۷و۸). جنس های گوناگونی از باکتری های جاذب فسفات مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته اند که شاخص ترین آنها جنس *Acinetobacte*r است (۹و۱۰). برخی از باکتری ها که در این زمینه مورد توجه قرار گرفته اند عبارتند *Pseudomonas*، *Borkholderia*، *Flovobacterium* و *Corynebacterium* و چندین جنس دیگر که از محیط های آلوده و فاضلاب ها جداسازی شده اند (۱۱و۱۲). از آنجایی که تحقیقات در زمینه جداسازی و شناسایی باکتری های جاذب فسفات و بررسی میزان جذب آنها می تواند نقش مهمی در افزایش کارایی تصفیه پسآب ها داشته باشد، هدف از جداسازی این نمونه در ابتدا مطالعه و بررسی تجزیه قطران بود اما طی مراحل تحقیق مشخص شد که این باکتری توانایی نسبتا مطلوبی در جذب و ذخیره فسفات دارد. بنابراین بررسی های دقیقتر با تاکید بر توانایی جذب فسفات توسط باکتری مورد نظر و بهینه سازی شرایط جذب فسفات و همچنین رشد باکتری انجام گرفت(۸).

روش بررسی

گرد آوری نمونه: کلیه مواد و محیط های مورد استفاده از محصولات شرکت مرک (Merck) تهیه شد. محل نمونه برداری در این تحقیق خاک های آلوده به قطران اطراف پالایشگاه قطران اصفهان بود. در ابتدا نمونه خاک درون یک بطری درپوش دار استریل جمع آوری شد و به آزمایشگاه انتقال داده شد پس از آن به متظور جداسازی باکتری ابتدا حدود ۱۰ گرم از خاک درون یک ارلن شیاردار ml ۲۵۰ ریخته شد. سپس ml۱۰۰ آب استریل شده به آن اضافه شد آنگاه به مدت یک ساعت در دمای اتاق با دور شیکر rpm ۱۰۰ تکان داده شد پس از گذشت این مدت، ارلن ثابت نگه داشته شد تا خاک و سایر ذرات رسوب کنند. در مرحله بعد از سوپرناتانت رقت های 10^{-1} تا 10^{-10} تهیه شدند و از هر رقت ۱۰۰ میکرولیتر روی محیط نوترینت آگار، با میله سرکج کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری در ۳۵ درجه سانتی گراد، کلنی های متعددی روی سطح آگار ظاهر شدند. کلنی های حاصل روی سطح نوترینت آگار خالص سازی شدند. در مراحل بعدی مطالعه روی کلنی های خالص شده مشخص گردید که سویه مورد بررسی قادر به مصرف نسبتا بالایی از فسفات است و جهت تایید آن رنگ آمیزی گرانول های پلی فسفات به روش نایسر انجام شد. شناسایی باکتری نیز به روش های بیوشیمیایی و آنالیز قطعه ۱۶S rDNA انجام شد.

محیط های مورد استفاده و روش های اندازه گیری رشد و جذب فسفات: برای تعیین شرایط بهینه رشد و جذب فسفات نمونه باکتری در محیط پایه نمکی (BSM) شامل۱/۹۵ گرم

www.SID.ir

Archive of SID

کلرید آمونیوم، ۰/۲۴ گرم دی سدیم هیدروژن فسفات، ۰/۰۱ گرم سولفات آهن (II)، ۰/۰۵ گرم کلرید پتاسیم، ۰/۰۱ گرم سولفات منیزیم، ۰/۸۵ گرم کلرید سدیم، ۰/۰۱ گرم کلرید کلسیم، ۱ میلی لیتر محلول میکرو عناصر و ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر. محلول میکرو عناصر نیز شامل ۲۰ میلی گرم کلرید مس (II)، ۱۰۰ میلی گرم کلرید نیکل، ۲۰۰ میلی گرم کلرید کبالت، ۲۶ میلی گرم سلنیت سدیم، ۵۰ میلی گرم مولیبدات سدیم، ۳۰ میلی گرم ولفرامات سدیم، ۱۰ میلی گرم وانادات سدیم و ۱ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲۵٪ در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر کشت داده شد. اندازه گیری مقدار رشد باکتری در محیط پایه نمکی و همچنین مقدار فسفات جذب شده بطور همزمان صورت گرفت. روش کار بدین صورت بود که ابتدا ۱۰ ml از محیط کشت را برداشته و پس از سانتریفوژ، رسوب سلولی باقیمانده در لوله آزمایش در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد در آون خشک شد و وزن سنجی توسط ترازوی دیجیتال ۰/۰۰۱ ± گرم مدل Sartorius انجام شد.

اندازه گیری غلظت فسفات در محیط کشت با روش رنگ آمیزی آسکوربیک اسید با دقت ۴/۵ میکرومول در لیتر انجام شد (۱۱). در این روش، از دو معرف استفاده شد: معرف آمونیوم هپتامولیبدات شامل ۱/۲۵ گرم آمونیوم هپتامولیبدات $[(NH_4)_6 \quad Mo_7O_{24}, \quad 4H_2O]$ را در ۴۰ میلی لیتر اسیدسولفوریک ۲/۵ مولار حل کرده و حجم محلول را به ۵۰ میلی لیتر رسانده و محلول دوم اسیدآسکوربیک ۴٪ (۱گرم اسید آسکوربیک را در ۲۵ میلی لیتر آب مقطر). این محلول ۶ هفته در یخچال پایدار می ماند (۱۳).

بررسی اثر pH بر روی جذب فسفات: به منظور تعیین اثر pH بر روی میزان جذب فسفات، در ارلنهای شیاردار ۲۵۰ ml حاوی ۱۰۰ ml محیط پایه معدنی با ۳ درصد استات سدیم بعنوان منبع کربن، pH محیطها توسط اسید کلریدریک و هیدروکسید سدیم ۰/۱ مولار روی ۴، ۶، ۷، ۷/۵، ۸، ۹ و ۱۰ تنظیم شد و سپس محیط ها اتوکلاو شدند. محلول دی پتاسیم هیدروژن فسفات نیز جداگانه اتوکلاو، و پس از سرد شدن به محیطها افزوده شد. ارلنها پس از تلقیح ۱ ml از محیط حاوی باکتری با کدورتی معادل معادل ۰/۵ مک فارلند (10^8 باکتری) در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد با دور شیکر ۱۰۰ دور در دقیقه گرماگذاری شدند و در فواصل زمانی متفاوت میزان رشد با اندازه گیری میزان وزن خشک سلول و میزان مصرف فسفات با استفاده از روش رنگ آمیزی فسفات تعیین گردید.

بررسی اثر دما بر جذب فسفات: پس از بهینه‌سازی فاکتور pH، اثر دماهای مختلف بر روی رشد و جذب فسفات بررسی شد. به منظور مطالعه دمای بهینه جذب فسفات ارلن های شیاردار ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محیط پایه با ۳ درصد استات سدیم در دماهای متفاوت ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سانتی گراد با pH برابر ۷/۵ با دور شیکر ۱۰۰ دور در دقیقه گرماگذاری شدند. سپس میزان فسفات جذب شده توسط سلول ها به همراه وزن خشک سلول اندازه گیری شد.

بررسی منابع کربن متفاوت بر میزان جذب فسفات: به منظور تعیین بهترین منبع کربن به محیط کشت پایه منابع کربن مختلف از قبیل گلیسرول، سیترات، استات و روغن خوراکی (زیتون) به میزان ۱ درصد به عنوان تنها منبع کربن به محیط کشت پایه نمکی (BSA) اضافه شد و مطابق آزمایش های قبل گرماگذاری صورت گرفت و میزان جذب فسفات به همراه وزن خشک سلول تعیین گردید.

بررسی اثر غلظت آمونیوم (NH_4Cl) بعنوان منبع نیتروژن بر جذب فسفات: برای تعیین مقدار بهینه N، در ارلن های شیاردار حاوی ۱۰۰ ml محیط پایه معدنی با ۳ درصد استات سدیم مقادیر متفاوت ۲/۱،۰۹/۹۵، ۵/۸۵ و ۷/۵ گرم در لیتر که به ترتیب ۱، ۱/۵، ۳ و ۴ برابر مقدار استاندارد آمونیوم Gibbs (۱۹۷۵) افزوده شد. همچنین pH آنها بر روی ۷/۵ تنظیم شد و پس از اتوکلاو محیط‌ها، محلول دی پتاسیم هیدروژن فسفات نیز جداگانه اتوکلاو شد و مطابق روش ذکر شده گرماگذاری و همچنین وزن خشک و میزان جذب فسفات تعیین گردید.

بررسی اثر غلظت فسفات (K_2HPO_4) بر روی میزان جذب فسفات: به منظور اثر غلظت فسفات محیط بر روی میزان جذب آن مقادیر متفاوت ۰/۲۹، ۰/۵۸، ۱،۱/۱۶ ۲/۳۶ و ۲/۹ که به ترتیب ۱، ۲، ۴، ۸ و ۱۰ برابر مقدار P ارائه شده توسط Gibbs(۱۹۷۵) به ارلنهای شیاردار حاوی ۱۰۰ ml محیط پایه نمکی افزوده شد و طبق آزمایشات قبلی گرماگذاری صورت گرفت و رشد و جذب فسفات اندازه گیری شدند.

مقایسه جذب فسفات نمونه مورد بررسی با کنترل مثبت و منفی از نظر جذب فسفات: بدین منظور باکتری نمونه را مطابق شرایط بهینه تعیین شده توسط آزمایش های قبلی کشت داده و همزمان از (ATCC23055) *calcuaceticous Acinetobacter* بعنوان کنترل مثبت و (ATCC8739) *E.coli* بعنوان کنترل منفی استفاده گردید لازم به ذکر است که برای هر کدام از این باکتری شرایط بهینه رشد مربوطه اعمال گردید. سپس مقدار فسفات جذب شده توسط هر نمونه

www.SID.ir

Archive of SID

در شرایطی که بیشترین رشد را داشت به عنوان معیار جذب فسفات و به نسبت وزن خشک سلولی مقدار فسفات جذب شده تعیین شد.

بررسی رشد و جذب فسفات تحت شرایط هوازی و بی هوازی: برای بررسی شرایط هوازی و بی هوازی بر روی میزان جذب فسفات ابتدا ۲۰۰ میلی لیتر محیط کشت پایه درون ارلن ۲۵۰ میلی لیتری ریخته، پس از استریل کردن و تلقیح باکتری، برای ایجاد شرایط بیهوازی ۱۰ میلی لیتر پارافین روی آن اضافه گردید و به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۵ °C بدون شیکر گرماگذاری شد. در مرحله بعد با استفاده از پیپت ۱۰۰ میلی لیتر از محیط کشت حاوی باکتری را برداشته (طوریکه پارافین وارد پیپت نگردد) و درون یک ارلن استریل دیگر ریخته و به مدت ۱۸ ساعت تحت شرایط هوازی و با ۱۰۰ دور در دقیقه درون شیکر گرماگذاری شد. در مرحله آخر مطابق با مرحله اول شرایط بی‌هوازی بر روی محیط کشت اعمال شد. در تمام این مراحل توسط دستگاه اسپکتوفتومتر کدورت سلولی تعیین شد و مقدار تغییرات فسفات نیز اندازه گیری گردید.

شناسایی باکتری: شناسایی سویه خالص شده از طریق آزمایش های تشخیصی بیوشیمیایی (Bergey 1994) و آنالیز فیلوژنی قطعه ۱۶S rDNA انجام شد (۱۴). در این بررسی ابتدا استخراج DNA به روش Marmur تغییریافته صورت گرفت (۱۵). سپس با پرایمر های ژن ۱۶S rDNA که شامل توالی های (۳'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-۵') Forwardو (۳'-ACGGCTACCTTGTTACGACTT-۵') Reverse بودند استخراج و تکثیر ژن ۱۶S rDNA انجام شد و بعد از انجام الکتروفورز روی ژل، محصولات PCR از روی ژل بازیابی شده و قطعات تکثیر شده و خالص شده با استفاده از یک DNA Sequencer و به روش اتوماتیک (SEQLAB, Germany) بر اساس *Chain Termination Method* روش Sanger و به سفارش شرکت سیناژن (*Tehran, Iran*) تعیین توالی شد برای تعیین میزان قرابت با باکتری های دیگر کاوش‌هایی در بانک‌های اطلاعاتی EMBL/GenBank انجام شد و با استفاده از *BLASTN (www.ncbi.nlm.nih.gov)* جستجوهای همولوژی به عمل آمد.

یافته ها

با مطالعات صورت گرفته مشخص شد که سویه جداسازی شده باسیل گرم منفی و هوازی اجباری است. نتایج آزمایش های ریخت شناسی، بیوشیمیایی و آنالیز قطعه ۱۶S rDNA نشان دهنده تشابه این باکتری با جنس سودوموناس می باشد.

ارزیابی عامل pH روی میزان جذب فسفات: نتایج حاصل از بررسی اثر pH در شکل ۱ ارائه شده است. همانطور که نتایج حاصل از این آزمایش نشان می دهد، بهترین pH رشد در محدوده ۷/۵- ۷ بود. لازم به ذکر است که این باکتری در pH برابر ۴ قادر به رشد نبود. با احتساب این مساله pH برابر ۷/۵ بعنوان pH بهینه جذب فسفات در نظر گرفته شد.

اثر دما بر جذب فسفات: فاکتور دما، با در نظر گرفتن pH بهینه (۷/۵) مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در شکل۱ دیده می شود محدوده دمای بهینه جذب فسفات ۳۵-۳۰ درجه سانتی گراد تعیین شد. بنابراین برای سهولت و افزایش رشد باکتری دمای ۳۵ درجه سانتی گراد بعنوان دمای بهینه در نظر گرفته شد.

ارزیابی منابع کربن مختلف بروی جذب فسفات: تعیین فاکتور منبع کربن با در نظر گرفتن مقادیر بهینه pH و دما صورت گرفت. نتایج حاصل از این بررسی در شکل ۲ نشان دهنده بیشترین میزان جذب فسفات در حضور ۱ درصد استات سدیم و روغن می باشد. با ارزیابی این مشاهدات و با توجه به این نکته که سرعت رشد در حضور استات سدیم بیشتر و همچنین بدلیل تولید بیوسورفاکتانت و افزایش کدورت محیط کشت در حضور روغن اندازه گیری فسفات در محیط کشت به دشواری صورت می گرفت لذا جهت سهولت در مطالعه، استات سدیم بعنوان منبع کربن بهینه برای ادامه تحقیق در نظر گرفته شد.

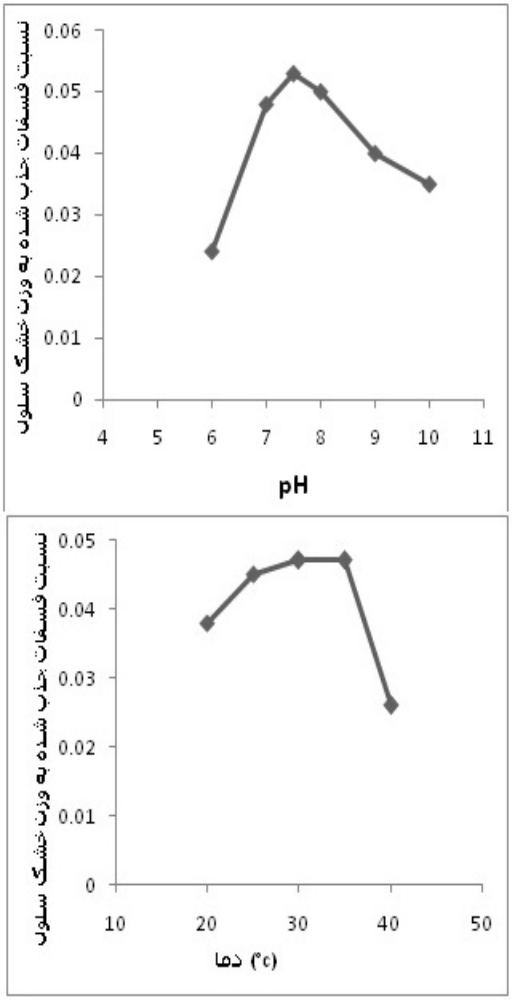
تأثیر غلظت آمونیوم بر میزان جذب فسفات: برای بدست آوردن مقدار بهینه نیتروژن pH، دما و منبع کربن بهینه اعمال شد و نتایج بدست آمده نشان داد که غلظت آمونیوم تاثیری بر میزان جذب فسفات ندارد (شکل ۳).

اثر غلظت فسفات بر میزان جذب آن: میزان رشد و جذب فسفات با در نظر گرفتن مقادیر بهینه pH، دما، منبع کربن و نیتروژن صورت گرفت. نتایج حاصل از این بررسی در شکل ۳ آمده است. باکتری در تمام مقادیر فسفات رشد تقریبا یکسانی داشت اما مقدار جذب فسفات با افزایش آن به طور قابل توجهی

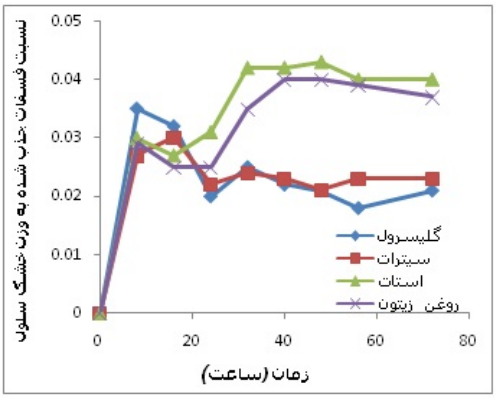
www.SID.ir

Archive of SID

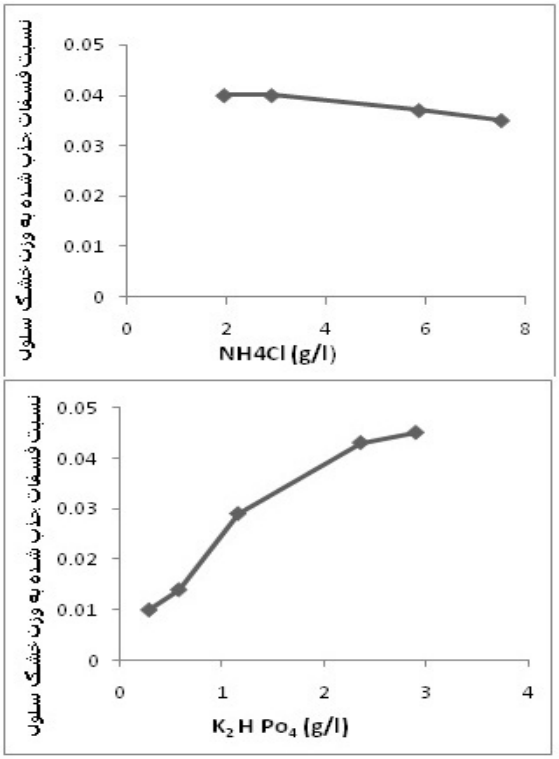
افزایش داشت، به طوریکه با ۱۰ برابر شدن فسفات در محیط کشت میزان جذب ۵ برابر شد.



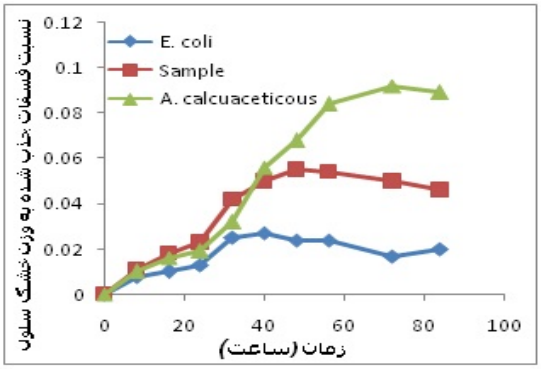
شکل ۱. تأثیر pH و دما بروی جذب فسفات



شکل ۲. بررسی منابع کربن به میزان ۱ درصد روی میزان جـذب فسفات



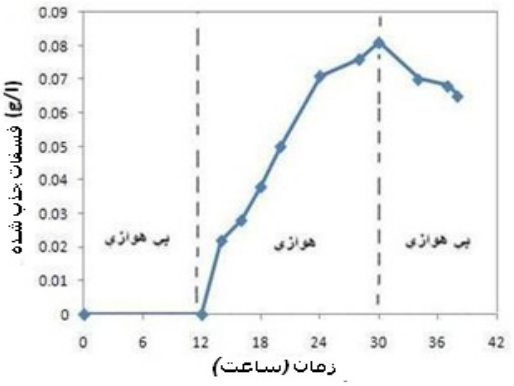
شکل ۳. تأثیر غلظت آمونیوم بروی جذب فسفات و تأثیر غلظت فسفات در محیط روی جذب آن



شکل ۴. مقایسه میزان جذب فسفات توسط نمونه(■) با سویه های استاندارد *A. calcuaceticous* (▲)و E. Coli(♦) به عنوان کنترل مثبت و منفی

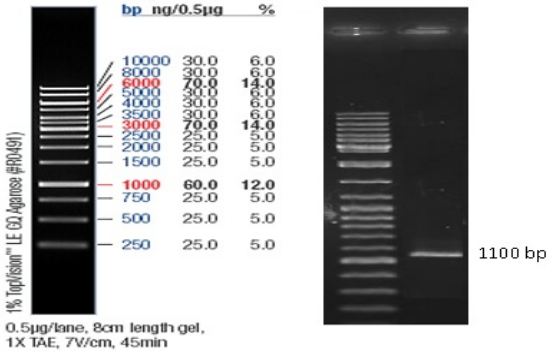
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵. گرماگذاری بی هوازی ۱۲-۰ ، هوازی ۳۰-۱۲ و بی هوازی ۳۸-۳۰

نتایج شناسایی باکتری: محصول تکثیر قطعه ۱۶ S rDNA بر روی ژل آگاروز ۱ درصد نشان دهنده توالی ۱۱۰۰ نوکلئوتیدی است که در شکل شماره ۸ دیده می شود.



شکل ۸. باند قطعه ۱۶S rDNA حاصل از PCR

پس از ویرایش توالی بدست آمده از تکثیر قطعه ۱۶ S rDNA توسط برنامه Bioedit 5.0.6 یک توالی ۱۰۰۵ نوکلئوتیدی به کمک نرم افزار Blast در NCBI مورد بررسی قرار گرفت که نتایج بدست آمده نشان داد باکتری تحت مطالعه ۹۸ درصد با جنس سودوموناس آئروژینوزا شباهت دارد و همچنین خصوصیات بیوشیمیایی نیز این شباهت را تائید نمود.

بحث

تحقیقات زیادی بر روی باکتری های جاذب ذخیره کننده فسفات انجام شده است و این مطالعات همگی نشان می دهد که جذب و ذخیره فسفات تحت شرایط هوازی صورت می گیرد و در شرایط بی هوازی و یا کاهش فسفات در محیط، باکتری از فسفات ذخیره شده جهت تولید انرژی و رشد استفاده می کند (۱۶). در این تحقیق مشاهده شد که جذب فسفات در شرایط هوازی با افزایش فسفات محیط تا ۱۰ برابر استاندارد گیبس بطور ۵ برابر افزایش می یابد. دمای بهینه جذب برای این سویه حدود ۳۵ درجه تعیین شد که با دمای تعیین شده توسط محققان دیگر از جمله Mullan و Rustrian مطابقت دارد(۱۷و۱۸). بیشترین جذب فسفات برای *Borkholderia cepacia AM19* در شرایط اسیدی در pH برابر با ۵/۵ تعیین شد در حالیکه pH بهینه رشد برای این سویه مورد نظر حدود ۷ تا ۷/۵ بود (۱۷). این مطالعه *A. calcuaceticous* بعنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد و مشخص شد که باکتری مورد مطالعه ما از نظر مقدار فسفات تقریباً نصف این سویه استاندارد فسفات جذب می کند. این مقدار جذب فسفات در مقایسه با تحقیقات Mullan روی *Borkholderia cepacia* AM19 که حدود ۱۳/۶ وزن خشک سلولی است به مراتب کمتر است(۱۷). تحقیقات انجام شده توسط Rustrian در سال ۱۹۹۷ روی Acinetobacterدرشرایط اسیدی و با افزودن پروپیونیک اسید بعنوان منبع کربن، نشان دهنده جذب فسفات در حدود ۲۸ درصد برای این باکتری بود (۱۸). در این رابطه Auling و همکارانش در سال ۱۹۹۱ گزارش کردند که در شرایط افزایش فسفات در فاضلاب بیشترین جذب فسفات متعلق به جنس *Acinetobacter* با ۱۰ تا ۱۲درصد جذب می باشد (۷).

نتیجه گیری

همانطور که نشان داده شد، سویه تحت بررسی قادر به حذف فسفات با ۱ درصد روغن خوراکی به عنوان منبع کربن است. نکته قابل توجه در این مطالعه اینست که اگرچه کارایی این سویه در جذب فسفات نسبت به باکتری های استاندارد جاذب فسفات کمتر می باشد، اما با در نظر گرفتن این نکته که این سویه قابلیت بالایی در حذف ترکیبات روغنی دارد لذا استفاده از آن در سبب افزایش کارایی فرایند تصفیه فاضلاب با حذف همزمان ترکیبات روغنی و فسفات می باشد. یک نکته مهم دیگر سرعت رشد و تولید بیومس سلولی است که تقریباً ۱/۵ برابر *A. calcuaceticous* است که بدلیل بالا بودن سرعت رشد میزان جذب در واحد زمان افزایش داشته و کارایی آن را در جهت حذف فسفات از محیط بالا می برد.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1- Ahn J, Schroeder S, Beer M, McIlroy S, Bayly C.R, May W.J, Vasiliadis G, Seviour J.R. *Ecology of the microbial community removing phosphate from wastewater under continuously aerobic conditions in a sequencing batch reactor.* Applied and Environmental Microbiology, 2007; 73: 2257–2270.

2- Bina B. *Efficiency of a small scale hydroponics wastewater.* Water and wastewater winter. 2005; 15:4 (52):39-46.

3- Kuroda A, Takiguchi N, Nomura K. *Polyphosphate from activated sludge for phosphorous reuse and recycling.* Biotechnology and Bioengineering. 2002; 78: 333-338.

4- Panswad T, Doungchai A, Anotai J. *Effect of temperature shock on activities of phosphorus-accumulating organisms.* Science Asia. 2003; 29: 365-370.

5- Hupfer M and Gloss S. *Methods for detection and quantification of polyphosphate and polyphosphate accumulating microorganisms in aquatic sediments.* Int. Rev. Hydrobiol. 2008; 93: 1-30.

6- Taheriyoun M, Karamouz M, Baghvand A. *Development of an entropy based fuzzy eutrophication index for reserviour water quality evaluation.* Iran J Environ Health Sci Eng. 2010; 7: 1-14.

7- Auling G, Pilz F, Busse HJ, Karrasch S, Streichan M, Schön G. *Analysis of the polyphosphate-accumulating microflora in phosphorus-eliminating, anaerobic-aerobic activated sludge systems by using diaminopropane as a biomarker for rapid estimation of Acinetobacter spp.* Applied and Environmental Microbiology. 1991; 57: 3585-3592.

8- Tafakori V. *Isolation of best utilizing coal tar bacterium from soils contaminated coal tar* [Dissertation]. Tehran: Shahid Beheshti University; 2004.

9- Muyima NYO and Cloete TE. *Growth and phosphate uptake of immobilized Acinetobacter cells suspended in activated sludge mixed liquor.* Water Research. 1995; 29: 2461-2466.

10- Reddy T, Bux F. *The effect of media on evaluating the phosphate uptake capacity of activated sludge bacterial isolates.* Water SA. 2002; 28: 159-164.

11- Kulaev IS, Vagabov VM, Kulakovskaya TV. *The biochemistry of inorganic polyphosphates.* John Wiley & Sons Ltd. 2004; 125-177.

12- Tandoi V, Majone M, May J, Ramadori R. *The behaviour of polyphosphate accumulating Acinetobacter isolates in an anaerobic-aerobic chemostat.* Water Research, 1998; 32: 2903-2912.

13- Murphy J, Riley JPA. *A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters.* Anal. Chim. Acta. 1986; 27: 31-36.

14- Buchanan RE , Gibbons NE. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.* Baltimore: William and Wilkins Publishers; 1994.

15- Marmure J. *A procedure for the deoxyribonucleic acid from micro-organisms*. J. mol. Biol, 1961; 3: 208-218.

16- McGrath WJ, Cleary S, Mullan A, Quinn PJ. *Acid-Stimulated Phosphate Uptake by Activated Sludge Microorganisms under Aerobic*. Laboratory Conditions. 2001; 35(18): 4317-4322.

17- Mullan A, Quinn JP, McGrath JW. *Enhanced phosphate uptake accumulation in Borkholderia cepacia grown under low-pH conditions.* Microb Ecol, 2002; 44: 69-77.

18- Rustrian E, Delgenes JP, Moletta R. *Phosphate release and uptake by pure cultures of Acinetobacter sp. effect of the volatile fatty acids concentration.* Current Microbiology, 1997; 34: 43–48.

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir