مجله علوم وفنون دریایی، فصل نامه ی علمی پژوهشی

دوره ۲۰، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰، صفحات ۸۵ تا ۹۵

مقاله پژوهشی

Available Online: *http://jmst.kmsu.ac.ir*

تجزیه زیستی بیس فنل آ با استفاده از باکتری بومی جدا شده از رسوبات خورموسی (خلیج فارس)

راضیه نصراله زاده*[۱]، علیرضا صفاهیه [۱]، دکتر حسین ذوالقرنین [۱]، اسحاق زمانی [۱]، کمال غانمی [۲]

۱. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.
۲. گروه شیمی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

* نویسنده مسؤل، پست الکترونیک: r_nasrolahzadeh@kmsu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۰۵ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۸/۰۲/۰۴

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22113/JMST.2019.128614.2149

چکیده

بیس فنل‌آ، یکی از مهم‌ترین مواد مختل کننده اندوکرینی در محیط زیست است. به همین علّت این ماده، به یک خطر عمده برای محیط زیست انسانی و سایر موجودات زنده تبدیل شده‌است. روش‌های مختلفی برای حذف آلاینده های صنعتی وجود دارد که در این میان، جوامع باکتریایی نقش عمده‌ای در تجزیه زیستی بیس فنل آ وارده به محیط زیست ایفا می‌کنند. در این تحقیق با نمونه برداری از رسوبات منطقه صنعتی خور موسی بندر امام خمینی، یک گونه باکتری دریایی مقاوم به غلظت‌های مختلف بیس فنل آ تحت عنوان *Pseudomonas putida*، جداسازی و به روش مولکولی 16S rRNA و تست‌های بیوشیمیایی شناسایی شد. میزان رشد باکتری در غلظت‌های مختلف بیس فنل آ و در مدت زمان ۶ روز در فواصل ۲۴ ساعته بررسی گردید. راندمان تجزیه بیس فنل آتوسط باکتری با استفاده از سنجش مقدار آن در محیط کشت محاسبه گردید.

باکتری مذکور، قادر به رشد در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. نتایج حاصل از رشد باکتری در محیط کشت MSM نشان داد که بهینه رشد این باکتری، غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر است و به طوری که نتایج حاصل از سنجش میزان تجزیه زیستی BPA توسط دستگاه HPLC در غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر با ۸۲/۸ ٪ این امر را تأیید نمود. از این باکتری، می‌توان برای بهبود بخشیدن جمعیت میکروبی مناطق آلوده به بیس فنل آ و رفع این آلاینده از محیط های ساحلی استفاده کرد.

واژگان کلیدی: تجزیه زیستی، بیس فنل آ، رسوبات خور موسی، *Psudomonas putida*.

۱. مقدمه

بیس فنل آ (C15H16O2) یک ترکیب آلی است که عمدتاً به عنوان مونومر، برای تولید پلاستیک‌های پلی-کربناته، اپوکسی رزین‌ها و عایق‌های حرارتی استفاده‌می‌شود. بیس فنل آ باعث ایجاد اثرات ژنوتوکسیک و استروژنیک بر روی انسان و دیگر جانوران می‌شود و از ترکیبات مختل کننده اندوکرینی محسوب می‌شود (Hu et al., 2002; Oshiman et al., 2007; Negintaji et al., 2018). غلظت‌های مختلف این ترکیبات در آبزیان باعث افزایش مرگ و میر، کاهش باروری، افزایش تولید تخم‌های نابارور، رفتارهای استرسی، کاهش وزن، شیوع دوجنسیتی، تغییرات ظاهری، رشد غیر نرمال گنادها، کاهش بقای لاروها و تغییر نسبت جنسی به سمت جنس ماده می‌گردد (Vazquez-Duhalt et al., 2005; Negintaji et al., 2018). تقاضای روزافزون برای استفاده از این ماده در صنایع مختلف در کل دنیا منجر به افزایش تولید و مصرف این ماده شیمیایی شده‌است. حجم مصرفی بالای این ماده، سهم بسزایی در انتشار آلودگی آن در محیط زیست‌های مختلف دارد (Zhang et al., 2013). صنایع پتروشیمی یکی از منابع آلوده کننده اکوسیستم های آبی به شمار می‌رود (Mori Bazofti et al., 2014; Monavari, 2001). مجتمع پتروشیمی خوزستان در مجاورت خورموسی، در حال تولید و استفاده از بیس فنل آ برای تولید محصولات پلیمری مختلف است و به‌دلیل اثرات مضرّی که این ماده دارد، حضور آن در محیط زیست به عنوان یک نگرانی مطرح شده‌است (Negintaji et al., 2015; Li et al., 2007). به همین دلیل، توسعه تکنیک‌های مؤثر برای پاکسازی بیس فنل آ از محیط زیست امری ضروری است (Suzuki et al., 2004; Liu et al., 2011). روش‌های مختلفی برای حذف بیس فنل آ وجود دارد که متداول‌ترین روش‌ها، شامل روش های شیمیایی و زیستی است. از میان تکنیک‌های حذف بیس فنل آ از محیط زیست، تجزیه زیستی به دلیل مزیت‌های اقتصادی و امکان تولید محصولات جانبی کم خطر، ترجیح داده می‌شود (Alexievaa et al., 2004). این نوع پاکسازی معمولاً با استفاده از میکروارگانیسم های بومی همان محل انجام گرفته و مطالعات نشان می‌دهد که میکروارگانیسم‌های مختلفی از جمله باکتری‌ها و قارچ ها، قادر به تجزیه و استفاده از این ترکیب به عنوان منبع کربن و انرژی هستند (Kang et al., 2006). فنل به راحتی قابل حذف نیست و اثر بازدارندگی بر فعالیت‌های طبیعی بسیاری از میکروارگانیسم‌ها در غلظت‌های مختلف دارد. همچنین، فاکتورهای مختلفی از جمله دما، pH، دسترسی به اکسیژن محلول و ... بر سینتیک میکروارگانیسم‌ها تأثیر گذارند((Agarry et al., 2008).

گونه‌های متعلق به جنس *Pseudomonas* یکی از شناخته شده‌ترین باکتری‌های تجزیه کننده بیس فنل آ هستند که قادر به استفاده از این ماده به عنوان تنها منبع کربن و انرژی هستند. *Pseudomonas* ها باکتری‌های میله‌ای شکل، گرم منفی و متحرکی هستند که معمولا به صورت هوازی رشد کرده و تنوع تغذیه‌ای و اکولوژیکی زیادی دارند و معمولا در آب و خاک زیست می‌کنند (Haas and Défago, 2005) و به دفعات از محیط‌های آلوده به بیس فنل آ جداسازی و شناسایی شده‌اند. تجزیه زیستی فنول با استفاده از باکتری‌های جنس *Pseudomonas* توسط محققین زیادی در کشت‌های خالص و مخلوط باکتری‌ها با جزئیات کامل مورد مطالعه قرار گرفته است (Allsop et al., 1993; Wang and Li, 2007). این محققین دریافته‌اند مشکلی که این باکتری‌ها با آن مواجه هستند بازدارندگی سوبسترا است، که به این وسیله رشد آنها و همین‌طور تجزیه فنل توسط آنها در غلظت‌های بالای فنل محدود می‌شود. استراتژی‌های متعددی برای غلبه بر بازدارندگی سوبسترا ارائه شده‌است. این استراتژی‌ها شامل سازش سلول‌ها به غلظت‌های بالاتر فنل، استفاده از میکروارگانیسم‌های

مهندسی ژنتیک شده، و تثبیت سلول‌ها می باشند (Agarry *et al.*, 2008).

هدف از انجام این تحقیق، جداسازی و شناسایی گونه باکتریایی بومی مقاوم به بیس فنل آ از رسوبات مجاور پتروشیمی خوزستان واقع در خور موسی و بررسی عملکرد آن در تجزیه زیستی این ماده و سازگار کردن آن به مقادیر بالای بیس فنل آ در محیط کشت بود تا بتوان از این باکتری برای پاکسازی مناطق آلوده به بیس فنل آ استفاده کرد.

۲. مواد و روش ها

نمونه برداری و برداشت رسوبات از منطقه خور موسی با توجه به نزدیکی به تأسیسات پتروشیمی توسط گرب van veen و با سه تکرار انجام شد. نمونه‌های جمع آوری شده در بطری‌های شیشه ای استریل شده برروی یخ نگهداری و به سرعت به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل گردید.

غنی سازی و خالص سازی نمونه ها در آزمایشگاه به شرح ذیل انجام گرفت: تحت شرایط استریل ۱ گرم از رسوبات جمع آوری شده به محیط کشت مایع (Marine Salt Medium) MSM حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم بیس فنل آمنتقل گردید و به مدت یک هفته در انکوباتور شیکردار تحت شرایط دمای ۳۰°C و دور rpm ۱۵۰ نگهداری شد. پس از یک هفته۱ میلی‌لیتر از محیط کشت غنی شده به محیط کشت MSM جدید منتقل گردیده و سه هفته متوالی فرآیند غنی سازی تکرار شد. ترکیبات بکار رفته در محیط کشت MSM شامل NH_4CL، K_2HPO_4، $MgSO_4$، $FeSO_4$، $CaCl_2.H_2O$ و عناصر میکرو شامل $ZnCl_2$، $MnSO_4$، $CoCl_2$، $NiCl_2.6H_2O$، $CuCl_2$، $NaMoo_4.2H_2O$، V، Se و HCL بود (Seoud and Maachi, 2003). پس از سه هفته غنی سازی، ۱۰۰ میکرولیتر از آخرین مرحله غنی سازی، بر روی محیط کشت MSM جامد، به روش spread plate کشت داده و در دمای ۳۰°C به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت کلنی های باکتریایی متفاوت از نظر ظاهری بر سطح محیط کشت ظاهر شدند. به منظور خالص سازی هر یک از کلنی‌ها به دفعات بر روی پلیت-های MSM جامد جداگانه به صورت خطی کشت داده شد (Mohandass et al., 2012). سپس، باکتری تجزیه کننده بیس فنل آ شناسایی شدند.

برای شناسایی این باکتری از آنالیز توالی 16S rRNA و تست‌های بیوشیمیایی استفاده شد. بدین منظور DNA باکتری جداسازی شده به روش جوشاندن استخراج گردید (Ntsaluba et al., 2011). ژن 16S rRNA با واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و با استفاده از آغازگرهای مستقیم و معکوس تکثیر گردید. مشخصات این آغازگرها شامل آغازگر مستقیم (5′-CCCGGGATCCAAGCTTACGGCTACCTTGT-3′) 16S-F و آغازگر معکوس (5′-CCGAATTCGTCGACAACAGAGTTTGATC CTGGCTCAG-3′) 16S-R بود (Weisburg et al., 1991). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با دستگاه ترموسایکلر، بر اساس بهینه سازی میزان مواد و دمای دستگاه و با این شرایط انجام گرفت: واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل واسرشت در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۶ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه و بسطدر دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۷۰ ثانیه و در نهایت مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. در نهایت، تعیین توالی 16S rRNA توسط شرکت Bioneer کره انجام شد و پس از اصلاح توالی‌های بدست آمده با قرار دادن آنها در پایگاه بانک جهانی ژن (NCBI)، شناسایی بر اساس بالاترین میزان شباهت در پایگاه داده صورت گرفت.

به منظور بررسی میزان رشد این باکتری در حضور بیس فنل آ به عنوان تنها منبع کربن و انرژی، باکتری در ارلن

های حاوی محیط کشت MSM و غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر بیس فنل آ کشت داده شد. همچنین، به منظور تهیه نمونه شاهد برای هر باکتری یک ارلن حاوی محیط کشت MSM و فاقد بیس فنل آ در نظر گرفته شد. تلقیح باکتری با استفاده از استاندارد نیم مک فارلند انجام شد. رشد باکتری، هر ۲۴ ساعت یکبار به مدت ۶ روز با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۰۰ nm سنجش گردید (Nnamchi et al., 2006).

به منظور بررسی میزان توانایی این باکتری در تجزیه بیس فنل آ، باکتری در ارلن‌های حاوی محیط کشت MSM و غلظت‌های ۱۰۰،۲۰۰ و۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیس فنل آبه مدت ۶ روز و در دمای ۳۰ ˚C با دور ۱۵۰rpm انکوبه شد. ارلن حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیس فنل آ و فاقد باکتری به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. در فواصل زمانی معین ۳ میلی‌لیتر از هر محیط کشت به لوله‌های شیشه‌ای منتقل شد. استخراج بیس فنل آ از محیط کشت به روش استخراج مایع- مایع با استفاده از محلول دی کلرومتان انجام گرفت. نمونه‌ها پس از آماده سازی با استفاده از دستگاه HPLC آنالیز شدند (Gonzalez-Casado et al., 1998). به منظور بررسی وجود اختلاف معنی دار بین میزان رشد این باکتری در غلظت‌های مختلف بیس فنل آ از نرم افزار SPSS، آزمون One-Way ANOVA و پس آزمون Tukey استفاده گردید. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excell انجام گرفت.

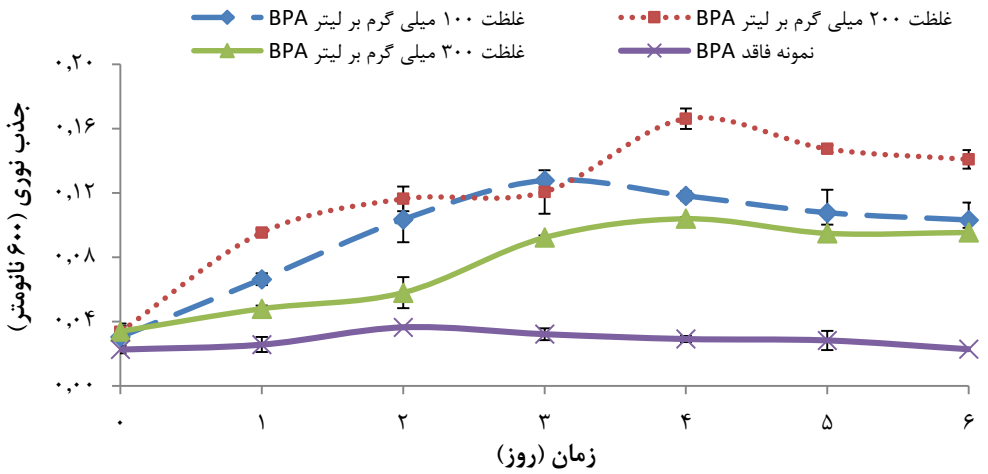
۳. نتایج

باکتری جداسازی شده در این تحقیق،با توجه به نتایج آنالیز توالی 16S rRNA با ۱۰۰ درصد شباهت در پایگاه داده NCBI و تست‌های بیوشیمیایی باکتری *Pseudomonas putida* تعیین شد. ویژگی های این گونه باکتری شامل: میله‌ای گرم منفی، مثبت در تست کاتالاز و اکسیداز ، متحرک توسط تاژک قطبی و منفی در تخمیر کربوهیدرات است. نتایج تست‌های به کار رفته به منظور شناسایی گونه باکتری مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول۱: نتایج حاصل از تست های بیوشیمیایی باکتری *P.putida* (+ : مثبت، - : منفی، A: تولید اسید، K: تولید باز)

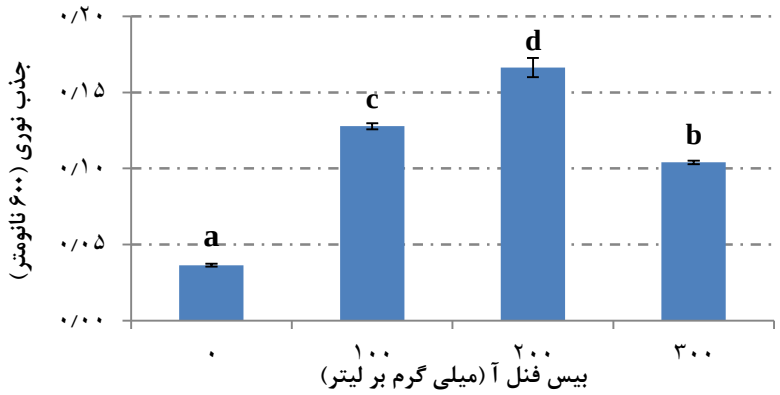
رنگ آمیزی گرم	-
شکل سلول	میله ای
کاتالاز	+
اکسیداز	+
KOH	+
سیمون سیترات	+
اندول	-
TSI	A/K
اوره آز	-
MR	-
VP	+
تولید سولفور	-
تحرک	-
احیای نیترات	-
رشد بر روی محیط مک کانکی	+

رشد باکتری *P. putida* در غلظت‌های مختلف بیس فنل آ در شکل (۱) نشان داده شده است. این باکتری در غلظت های مختلف رشد متفاوتی از خود نشان داد. بطوریکه حداکثر جذب نوری در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب ۰/۱۳، ۰/۱۷، ۰/۱ بود. مطابق شکل (۱) حداکثر رشد در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر متعلق به روزهای ابتدایی سنجش بود. ولی در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر رشد باکتری ابتدا به کندی صورت گرفت و در نهایت در روز چهارم توانست حداکثر رشد خود را نشان دهد. باکتری در نمونه فاقد بیس فنل آ، رشد نداشت.



شکل۱: روند رشد باکتری *P.putida* در غلظت‌های مختلف بیس فنل آ

بررسی حداکثر رشد باکتری *P. putida* در غلظت‌های مختلف BPA نشان داد که این باکتری در غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر رشد بهتری داشت. همچنین بین حداکثر رشد باکتری *P. putida* در غلظت‌های مختلف بیس فنل آ اختلاف معنی دار ($P<0/05$) وجود داشت (شکل ۲).



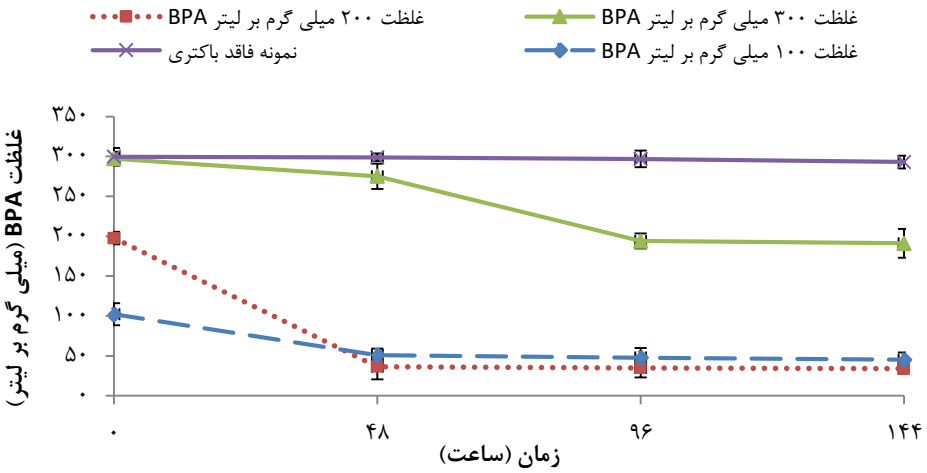
شکل ۲: مقایسه حداکثر رشد باکتری *P.putida* در غلظت‌های مختلف بیس فنل آ

نتایج مربوط به تجزیه زیستی بیس فنل آ توسط باکتری *P. putida* در جدول (۲) نشان داده شده است. باکتری *P. putida* در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پس از مدت زمان ۱۴۴ ساعت غلظت بیس فنل آ را به ترتیب ۷/۰۷ ± ۴۵/۱۲، ۱/۲۵± ۳۳/۹۸، ۰/۹± ۱۹۱/۰۹ میلی‌گرم بر لیتر کاهش داد. بیشترین درصد تجزیه توسط *P. putida* در آخرین روز عملکرد این باکتری در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با میزان ۸۲/۸ درصد را به خود اختصاص داد. راندمان تجزیه زیستی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر نیز پس از پایان ۱۴۴ ساعت به ترتیب ۵۵/۸ و ۳۵/۷ درصد بود.

جدول۲: میزان تجزیه زیستی بیس فنل آ در غلظت های مختلف توسط باکتری *P.putida*

غلظت (mg/L) / زمان (ساعت)	۱۰۰	۲۰۰	۳۰۰
۰	۱۰۲/۱۶ ± ۷/۶۳	۱۹۷/۵۹ ± ۲/۲۶	۲۹۷/۲ ±۲/۶۷
۴۸	۵۱/۰۵ ± ۳/۰۶	۳۶/۶۲± ۲/۵۶	۲۷۵/۰۵ ±۷/۸۵
۹۶	۴۷/۷۷ ± ۲/۸۰	۳۴/۹۱ ± ۰/۸	۱۹۳/۹۱ ±۱/۴۰
۱۴۴	۴۵/۱۲ ± ۷/۰۷	۳۳/۹۸ ± ۱/۲۵	۱۹۱/۰۹±۰/۹
راندمان تجزیه زیستی (٪)	۵۵/۸	۸۲/۸	۳۵/۷

بیشترین میزان تجزیه در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در ۴۸ ساعت اول صورت گرفت. در غلظت ۳۰۰ میلی-گرم برلیتر در ۴۸ ساعت اول روند تجزیه کند بود و بیشترین میزان تجزیه در ۴۸ ساعت دوم اتفاق افتاد. تجزیه در نمونه شاهد مشاهده نشد (شکل ۳).



شکل۳: میزان تجزیه زیستی باکتری *P.putida* در غلظت‌های مختلف بیس فنل آ

۴. بحث و نتیجه گیری

تحقیق حاضر با هدف جداسازی و شناسایی باکتری بومی تجزیه‌کننده بیس فنل آ در خورموسی انجام پذیرفت که حاصل آن، جداسازی و شناسایی گونه باکتری *Pseudomonas putida* بود. همچنین، قابلیت رشد و تجزیه زیستی این باکتری در سه غلظت ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از بیس فنل آ مورد بررسی قرار گرفت. Ike et al. (1995) از پساب خروجی کارخانه تولید کننده اپوکسی‌رزین باکتری *Psudomonas paucimobilis* سویه FJ-4 را جداسازی و شناسایی کردند که قادر به تجزیه مؤثر ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از بیس فنل آ طی مدت زمان ۱۲ ساعت بود (Ike et al., 1995). بعدها Kang و Kondo باکتریهای *Pseudomonassp.* سویه KA4 و *Pseudomonas putida* سویه KA5 را جداسازی و شناسایی نمودند که هر دو سویه قادر به تجزیه حدود ۹۰ درصد از بیس فنل آ با غلظت اولیه ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بودند (Kang and Kondo, 2002).

در این مطالعه، نمودار رشد باکتری *P. putida* نشانگر سرعت رشد بسیار خوب این باکتری در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از بیس فنل آ نسبت به غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم می باشد حتی به طور غیر قابل انتظاری سرعت رشد در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیشتر از غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود؛ که علت این امر می تواند ناشی از کمبود منبع کربن در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بوده که به عامل محدود کننده‌ای برای رشد سریع باکتری تبدیل گردیده است. بالا بودن سرعت رشد باکتری *P. putida* در غلظت قابل توجه ۲۰۰ میلی‌گرم برلیتر نشان دهنده سازگاری بسیار خوب این باکتری با ماده بیس فنل آ است. کاهش رشد این باکتری در غلظت ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر می‌تواند ناشی از بالا بودن سمیت بیس فنل آ و اثر بازدارندگی سوبسترا بر باکتری‌های این جنس باشد. Matsumura et al. (2009) ده سویه مختلف متعلق به جنس *Pseudomonas* را جداسازی، شناسایی و گزارش کردند که همگی قادر به تجزیه ۱۱۵ میلی‌گرم بر لیتر از بیس فنل آ بودند (Matsumura et al., 2009).

بیشترین میزان رشد باکتری *P. putida* جداسازی شده از رسوبات خورموسی، در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از بیس فنل آ ثبت شد که با نتایج حاصل از نمودار عملکرد تجزیه‌ای این باکتری که توسط دستگاه HPLC به‌دست آمده مطابقت داشت؛ به گونه‌ای که بالاترین راندمان تجزیه‌زیستی این باکتری در غلظت ۲۰۰ میلی-گرم بر لیتر و به میزان ۸۲/۸ درصد بود. با این حال، در غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر راندمان تجزیه ای آن به ترتیب ۵۵/۸ و ۳۵/۷ درصد ثبت شد. Masuda et al. (2007) سویه باکتریایی *Pseudomonas* N-502 *monteilii* جداسازی و شناسایی کرده و نشان دادند که این سویه قادر به تجزیه کامل ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از بیس فنل آ در مدت زمان ۱۰ روز بود (Masuda et al., 2007). در برخی گزارشات حتی از افزایش کارایی تجزیه بیس فنل آ توسط باکتری *Pseudomonas sp.* نام برده شده است که باعث افزایش سرعت تجزیه برای باکتری *Sphingomonas sp.* در تجزیه این ماده می‌شود. در حالیکه حدود ۴۰ روز طول می‌کشید تا باکتری *Sphingomonas* خود به تنهایی ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از بیس فنل آ را تجزیه نماید، مخلوطی از هر دو گونه این باکتری‌ها قادر به تجزیه کامل این مقدار از بیس فنل آ در مدت ۷روز بودند (Sakai et al., 2007).

در این پژوهش باکتری *Pseudomonas putida* با استفاده از آنالیز توالی ۱۶S rRNA و تست های بیوشیمیایی شناسایی شد. این باکتری قادر به رشد در غلظت‌های مختلف بیس فنل آ بود. همچنین عملکرد رشدی بهتری در غلظت های پایین نسبت به غلظت های بالا از خود نشان داد. این باکتری با راندمان تجزیه زیستی

۸۲/۸ درصد و ۵۵/۸ درصد در غلظت های ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عملکرد تجزیه ای بهتری نسبت به غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با راندمان ۳۵/۷ درصد داشت. با توجه به عملکرد تجزیه ای قابل ملاحضه این باکتری در تجزیه بیس فنل آ و نیز ارزان و کم‌خطر بودن این روش نسبت به سایر روش های پاکسازی بیس فنل آ از محیط زیست می‌توان از این باکتری به طور مؤثر برای بهبود بخشیدن جمعیت میکروبی مناطق آلوده به بیس‌فنل آ استفاده نمود.

References:

Agarry, S., Durojaiye, A. and Solomon, B. 2008. Microbial degradation of phenols: a review. International Journal of Environment and Pollution. 32: 12-28.

Alexievaa, Z., Gerginova, M., Zlateva, P. and Peneva, N. 2004. Comparison of growth kinetics and phenol metabolizing enzymes of Trichosporon cutaneum R57 and mutants with modified degradation abilities. Enzyme and Microbial Technology. 34: 242-247.

Allsop, P., Chisti, Y., Moo-Young, M. and Sullivan, G. 1993. Dynamics of phenol degradation by Pseudomonas putida. Biotechnology and bioengineering. 41: 572-580.

Gonzalez-Casado, A., Navas, N., Del Olmo, M. and Vilchez, J. 1998. Determination of bisphenol A in water by micro liquid—liquid extraction followed by silylation and gas chromatography—mass spectrometry analysis. Journal of chromatographic science. 36: 565-570.

Haas, D. and Défago, G. 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. Nature reviews. Microbiology. 3: 307.

Hu, J. y., Aizawa, T. and Ookubo, S. 2002. Products of aqueous chlorination of bisphenol A and their estrogenic activity. Environmental science and technology. 36: 1980-1987.

Ike, M., Jin, C. S. and Fujita, M. 1995. Isolation and characterization of a novel bisphenol A-degrading bacterium Pseudomonas paucimobilis strain FJ-4. Japanese Journal of Water Treatment Biology. 31: 203-212.

Kang, J. H., Katayama, Y. and Kondo, F. 2006. Biodegradation or metabolism of bisphenol A: from microorganisms to mammals. Toxicology. 217: 81-90.

Kang, J. H. and Kondo, F. 2002. Bisphenol A degradation by bacteria isolated from river water. Archives of environmental contamination and toxicology. 43: 0265-0269.

Li, J., Zhou, B., Shao, J., Yang, Q., Liu, Y. and Cai, W. 2007. Influence of the presence of heavy metals and surface-active compounds on the sorption of bisphenol A to sediment. Chemosphere. 68: 1298-1303.

Liu, Y., Sun, W. and Ni, J. 2011. Biodegradation of bisphenol A, 17 β-estradiol, and 17 α-ethynylestradiol in river water. International Journal of Environment and Pollution. 45: 225-236.

Masuda, M., Yamasaki, Y., Ueno, S. and Inoue, A. 2007. Isolation of bisphenol A-tolerant/degrading Pseudomonas monteilii strain N-502. Extremophiles. 11: 355-362.

Matsumura, Y., Hosokawa, C., Sasaki-Mori, M., Akahira, A., Fukunaga, K., Ikeuchi, T., Oshiman, K. I. and Tsuchido, T. 2009. Isolation and characterization of novel bisphenol-A-degrading

Oshiman, K.i., Tsutsumi, Y., Nishida, T. and Matsumura, Y. 2007. Isolation and characterization of a novel bacterium, Sphingomonas bisphenolicum strain AO1, that degrades bisphenol A. Biodegradation. 18: 247-255.

Sakai, K., Yamanaka, H., Moriyoshi, K., Ohmoto, T. and Ohe, T. 2007. Biodegradation of bisphenol A and related compounds by Sphingomonas sp. strain BP-7 isolated from seawater. Bioscience, biotechnology, and biochemistry. 71: 51-57.

Seoud, M. A. and Maachi, R. 2003. Biodegradation of naphthalene by free and alginate entrapped Pseudomonas sp. Zeitschrift für Naturforschung C. 58: 726-731.

Suzuki, T., Nakagawa, Y., Takano, I., Yaguchi, K. and Yasuda, K. 2004. Environmental fate of bisphenol A and its biological metabolites in river water and their xeno-estrogenic activity. Environmental science and technology. 38: 2389-2396.

Vazquez-Duhalt, R., Marquez-Rocha, F., Ponce, E., Licea, A. and Viana, M. 2005. Nonylphenol, an integrated vision of a pollutant. Applied Ecology and Environmental Research. 4: 1-25.

Wang, C. and Li, Y. 2007. Incorporation of granular activated carbon in an immobilized membrane bioreactor for the biodegradation of phenol by Pseudomonas putida. Biotechnology letters. 29: 1353-1356.

Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A. and Lane, D. J. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. Journal of bacteriology. 173: 697-703.

Zhang, W., Yin, K. and Chen, L. 2013. Bacteria-mediated bisphenol A degradation. Applied microbiology and biotechnology. 97: 5681-5689.

bacteria from soils. Biocontrol science. 14: 161-169.

Mohandass, R., Rout, P., Jiwal, S. and Sasikala, C. 2012. Biodegradation of benzo [a] pyrene by the mixed culture of Bacillus cereus and Bacillus vireti isolated from the petrochemical industry. Journal of Environmental Biology. 33: 985.

Monavari, S. 2001. Environmental impact assessment guidelines for petrochemical plants. Pp. eds. DOE press. Tehran, Iran.

Mori Bazofti, H., Dadolahi Sohrab, A., Dostshenas, B., Safahyeh, A. and Savari, A. 2014. The study of petrochemical industries sewage effects on the water quality in Khor Musa. Journal of Marine Science and Technology. 13(1):71-80.

Negintaj, A., Archangi, B., Movahedinia, A., Safahieh, A. and Eskandari, G. 2015. Effects of bis-phenol A (BPA) on cellular and molecular levels of yellowfin seabream (Acanthopagrus latus). Journal of Marine Science and Technology. 13(4):20-30.

Negintaji, A., Safahieh, A., Zolgharnein, H. and Matroodi, S. 2018. Short-term induction of vitellogenesis in the immature male yellowfin seabream (Acanthopagrus latus) exposed to bisphenol A and 17 β-estradiol. Toxicology and industrial health. 0748233717748099.

Nnamchi, C., Obeta, J. and Ezeogu, L. 2006. Isolation and characterization of some polycyclic aromatic hydrocarbon degrading bacteria from Nsukka soils in Nigeria. International Journal of Environmental Science and Technology. 3: 181-190.

Ntsaluba, L., Agundiade, O., Mabinya, L. and Okoh, A. 2011. Studies on bioflocculant production by Methylobacterium sp. Obi isolated from a freshwater environment in South Africa. African Journal of Microbiology Research. 5: 4533-4540.

Journal of Marine Science and Technology

Fall 2021, Vol. 20, No. 3. p: 85-95.

Khorramshahr University of Marine Science and Technology

Available Online: *http://jmst.kmsu.ac.ir*

Original Article

Biodegradation of Bisphenol A by Indigenous Bacteria Isolated from the Mousa Creek Sediments (Persian Gulf)

Razieh Nasrolahzadeh [1*], Alireza Safahieh [1], Hossein Zolgharnein [1], Issac Zamani [1], Kamal Ghanemi [2]

1. Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

2. Department of Marine Chemistry, Faculty of Marine Science and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

*Corresponding Author E-mail: r_nasrolahzadeh@kmsu.ac.ir

Received: 25 April 2018 **Accepted:** 24 April 2019

DOI: 10.22113/JMST.2019.128614.2149

Abstract

Bisphenol-A (BPA) is one of the most important endocrine disrupters that has arrived to the environment, because of this reason, it has been developed into a detrimental material for human beings and other organisams. There are several ways for degradation or removal of industrial pollutants, in which the bacterial communities plays a major role in the biodegradation of BPA in the environment.In this study, contaminated sediments were collected in Mousa Creek. The isolates were identified by biochemical tests and 16S rRNA gene sequence analysis. The isolated Bacteri was *Pseudomonas putida.* Growth and degradation ability of isolated baccteri was measured in 100, 200 and 300 ppm of BPA in 24-hour intervals for 6 days. Bacterial growth rate was detected with spectrophotometer at 600 nm. Efficiency of BPA degradation was performed by Liquid-liquid extraction method and measured by HPLC. This bacteri was able to grow at concentrations of 100, 200 and 300 ppm of BPA. So, the biodegradation results from mineral salt medium (MSM) indicated that *Pseudomonas putida* have the best degradation efficiency at the 200 ppm of the BPA. Biodegredation result by HPLC method show that the percentage of the degradation efficiency at the 200 ppm was 82.8 percent.These results demonstrated this indigenous bacteria (*Pseudomonas putida*) can be used to improve the bacterial communities contaminated by Bisphenol A and to eliminate the pollutants from the costal environment.

Key words: Biodegredation, Bisphenol A, *Psudomonas putida*,Mousa Creek, sediments.

List of Table and Figures

Table 1: Results of Biochemical Tests of *P. putida* (+: positive, -: negative, A: acid production, K: alkaline production)
Table 2: Biodegradation Rate of Bisphenol A in Different Concentrations by *P. puttida*
Figure 1: Growth Diagram of *P. putida* in Different Doncentrations of Bisphenol A.
Figure 2: Comparison of maximal Growth of *P. putida* in Different Concentrations of Bisphenol A.
Figure 3: Biodegradation Rate of *P. putida* in Different Concentrations of Bisphenol A.