

تجزیه زیستی فنل

احمد پارسا منفرد*، کامبیز اکبری نوقابی

کارشناس ارشد دانشگاه علم و صنعت ایران، تهران، ایران

استادیار پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

parsa.am@hotmail.com

چکیده

امروزه فعالیت‌های شیمیایی، ترکیبات سمی فراوانی را به محیط زیست وارد می‌کند. ترکیبات آروماتیک، یک دسته وسیع از این گروه هستند. فنل یکی از ترکیبات آروماتیک بسیار سمی است که از طرق مختلف وارد محیط می‌شود. روش‌های مختلف شیمیایی جهت پاک‌سازی محیط طراحی شده‌اند، اما هزینه زیادی داشته و مشکلات فراوانی به وجود می‌آورند. باکتری‌های فراوانی شناسایی شدند که از فنل به عنوان ماده غذایی استفاده کرده و توانایی حذف این ترکیب سمی را دارند. در این پژوهش ژن‌های دخیل در تجزیه فنل بررسی شده و تاثیر چند عامل مهم از جمله منبع کربن، نیتروژن و اثر دما بر روی تجزیه فنل مورد بررسی قرار گرفته است.

کلمات کلیدی: فنل، تجزیه‌ی زیستی، باکتری تجزیه کننده، مسیر تجزیه، خوشه‌ژنی dmp

مقدمه

آروماتیک چندحلقه‌ای هستند. این ترکیبات از طرق مختلف وارد محیط می‌شوند. برخی، به عنوان ترکیبی از کودها، حشره‌کش‌ها (شکل ۱) و علف‌کش‌ها به طور مستقیم در محیط پخش شده‌اند. برخی دیگر، شامل هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای، دی‌بنزو پارا-دی اکسین، دی بنزوفوران، از طریق فرآیند احتراق وارد محیط شده‌اند. انواع زیادی از زئوبیوتیک‌ها در خروجی فاضلاب پیدا شده‌اند که بوسیله تولید و مصرف محصولات صنعتی معمولی ایجاد شده‌اند (۱).

فرآیندهای ژئوشیمیایی و بیولوژی طبیعی، مقدار زیادی ترکیبات ارگانیک با تنوع وسیعی از ساختارها را تولید می‌کنند. ده‌ها هزار ترکیب ارگانیک به صورت مصنوعی، بوسیله سنتز شیمیایی برای اهداف کشاورزی یا صنعتی که هم‌نوع قابل مشاهده‌ای در جهان طبیعت ندارد، تولید می‌شوند. این‌چنین ترکیبات جدید، زئوبیوتیک (Xenobiotics) نام‌گذاری شدند (۱،۲). یک لیست در حال افزایش از زئوبیوتیک‌ها در مقدار زیاد، به محیط زیست آزاد می‌شوند که شامل تعدادی از ترکیبات آلیفاتیک هالوژن‌دار و آروماتیک، نیتروآروماتیک‌ها، فتال استرها و هیدروکربن‌های



شکل ۱- آزاد شدن فنل به صورت ترکیب در حشره‌کش‌ها

سنگ، ترکیبات شیمیایی کشاورزی پیدا می‌شود.

انتشار فنل در محیط

فنل به آب و هوا در نتیجه تولید، استفاده در رنگ‌ها و سنتز ارگانیک ترکیبات فنلی آزاد می‌شود. فنل در محصولات نفتی مثل قطران زغال سنگ و کرزوتن (creosote) پیدا شده است و می‌تواند با سوختن چوب به‌طور خودبه‌خود وارد محیط شود. فنل همچنین بوسیله تجزیه طبیعی فاضلاب‌های ارگانیک شامل بنزن (که بزرگترین محصول تجزیه بنزن است)، بطور وسیع در محیط پیدا می‌شود. این ماده همچنین می‌تواند از طریق فاضلاب کارخانه‌های کاغذ، چرم، پلی‌مر و پتروشیمی وارد آب‌های سطحی شود (۴).

غلظت‌های فنل در آب‌های سطحی متفاوت است. در آب‌های طبیعی این مقدار بین ۰/۰۱-۲ میکروگرم در لیتر است. آلودگی آب‌های رودخانه‌ها با فاضلاب حاصل از فرآیندهای کارخانه‌های پتروشیمی، باعث شده که مقدار فنل از ۴۰ میلی‌گرم در لیتر فراتر برود. آقای Delfino در کار خود آلودگی آب‌های زیرزمینی با فنل را که مورد مصارف خوراکی می‌شود، توصیف کردند. این نویسنده مقدار روزانه‌ای از فنل که هر

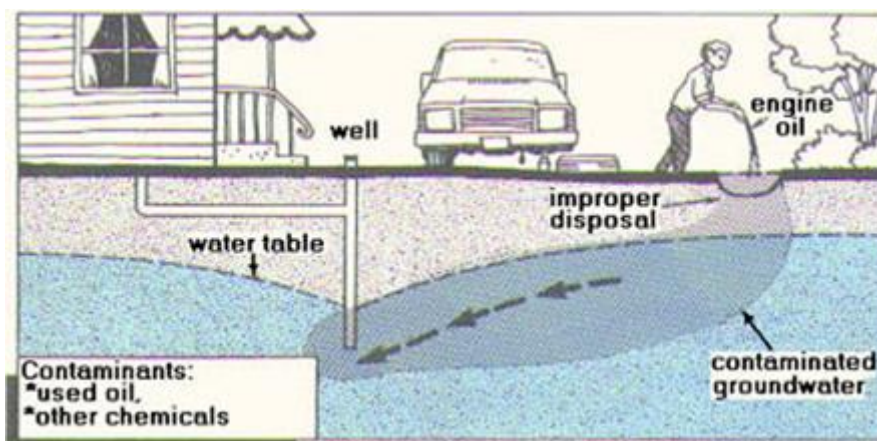
در لیست آلوده‌کننده‌های مهم آژانس حفاظت محیط زیست (EPA)، ترکیباتی وجود دارند که با حلال‌های آلی تحت شرایط اسیدی قابل استخراج هستند و به خانواده فنل تعلق دارند. فنل (هیدروکسی بنزن) بی‌رنگ، کریستالی با بویی خاص، محلول در آب و حلال‌های آلی است. فنل، یکی از اولین ترکیباتی است که توسط آژانس حفاظت از محیط زیست آمریکا در لیست آلوده‌کننده‌های مهم قرار گرفت. فنل از واکنش بین کلروبنزن و سدیم هیدروکسید، اکسیداسیون تولوئن و تولید بنزن و پیرولین به وجود می‌آید. این ماده در شاخه‌های مختلف صنعت شامل تولید شیمیایی آلکیل فنل، کرزول (cresol)، زایلنول (xylene)، رنگ‌های فنلی، آنیلین (aniline) و خیلی ترکیبات دیگر، در حشره‌کش‌ها، مواد فرار، رنگ‌ها و تولیدات کارخانه‌های پوشاک، نفت و تولید قیر مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳).

فنل یکی از پرکاربردترین در بین ترکیبات ارگانیک، به صورت معمولی و یا واحد ساختاری پایه برای انواعی از ترکیبات ارگانیک سنتتیک است. فنل به‌طور معمول در مواد ارگانیک در حال فساد مثل سبزیجات، زغال

"پارسا و اکبری، تجزیه زیستی فنل"

می‌دهد که این مقدار می‌تواند دلیل افزایش اسهال، التهابات دهانی و ادرار تیره شود (۴).

شخص دریافت می‌کند راه، بین ۱۰ تا ۲۴۰ میلی گرم در هر نفر توصیف کرده است. این نتیجه نشان



شکل ۲- انتشار فنل از روغن‌های سوخته اتومبیل در خاک و آب‌های زیرزمینی

در معرض قرار گرفتن کارگراها در مقابل بیوسید-ا-فنیل فنل (Biocide-o-phenylphenol) سرویس‌های کارگری را نگران کرده است. این ترکیب همچنین برای گندزدایی تجهیزات پزشکی و آشغال‌های بیمارستانی کاربرد دارد. مثال‌های دیگر استفاده از تری کلروفنل (Trichlorophenol) و پاراکلرومتاکرزول-p (chloro-m-cresol) در صنایع چرم و پوشاک برای حفاظت در مقابل باکتری‌های است (۴).

فنل ممکن است در طی فرآیند تولید، در طی بارگیری و انتقال و انتشار از مکان زباله‌های خطرناک و محل دفن زباله، به خاک وارد شود. معمولاً اطلاعات در مورد غلظت فنل موجود در خاک در این جایگاه‌ها، نسبت به جایگاه‌های زباله‌های خطرناک کمتر است. این ممکن است به خاطر سرعت سریع تجزیه زیستی و انتشار آن باشد. آزاد شدن فنل از خاک به آب‌های زیرزمینی از طریق این خاک آلوده، زمان بر خواهد بود. فنل در آب‌های زیرزمینی خصوصاً در نزدیکی

عموماً ترکیبات فنلی در غلظت‌های کم در هوا مشاهده شده‌اند. گرچه غلظت‌های بالای فنل به مناطق شهری مربوط می‌شود. هوای آلوده به فنل مناطق شهری به خاطر صنعتی شدن و گسترش شهرها، رو به افزایش است.

آلودگی‌های شغلی و در معرض فنل قرار گرفتن، به تولید رنگ‌های فنلی که به مواد پلاستیکی، تولید چسب، فیبرها با کاربردهای متفاوت و رنگ‌ها مربوط است. در طی فرآیند تولید رنگ‌ها در دماهای بالا، برخی مواد فنلی (مثل خود فنل و ام-کرزول) پخش می‌شوند. وقتی کارگراها در معرض بنزن قرار می‌گیرند، به طور غیرمستقیم در معرض فنل قرار دارند. چرا که فنل از متابولیسم بنزن در بافت‌های بدنشان تولید می‌شود. با توجه به حضور بنزن در بنزین و در نتیجه در خروجی وسایل نقلیه و در دود سیگار آلودگی‌های فنلی حاصل از این طریق باید مد نظر گرفته شود.

جایگاه تخلیه فاضلاب‌های خطرناک یافت شده است (۵).



شکل ۳- آزاد شدن فنل در اثر تجزیه زباله‌های آلی

پاک‌سازی محیط

فاضلاب‌های حاوی فنل، به کمک روش‌های فیزیکو شیمیایی از جمله روش‌های اکسید کردن الکترولیتی، اسمز معکوس، فتوشیمیایی، جذب سطحی و استفاده از اوزون تیمار شده‌اند. این روش‌ها مشکلات خاص خود را دارند. برای مثال روش‌های الکتروشیمیایی، اسمز معکوس، فتوشیمیایی و استفاده از اوزون روش‌های پرهزینه‌ای هستند و روش جذب سطحی، مشکل حذف و دفع لجن باقی‌مانده را به همراه دارد.

با وجود سمیت ترکیبات خانواده فنل، انواع مختلفی از باکتری‌های خاک توانایی تجزیه این ترکیبات آروماتیک از جمله فنل، پارا-متا و اروتوکرزول، نفتالن، فلوروگلوکوسینول، رسورسینول و تلون را دارند، که در کشت‌های خالص از این ترکیبات به عنوان منبع کربن و انرژی استفاده می‌کنند. برخی از این میکروارگانیسم‌ها فقط بر روی یکی از این ترکیبات اثر می‌گذارند، ولی برخی دیگر در حضور مجموعه‌ای از این ترکیبات فعالیت می‌کنند (۶). در تحقیقات چند محقق نشان داده شده است که این

باکتری‌ها در خاک‌های کشاورزی بیشتر از خاک‌های دست نخورده پیدا می‌شوند. بر اساس مورفولوژی و ویژگی‌های کشت، این گونه‌ها در خانواده‌های Coccaceae, Mycobacteriaciae, Bacteriaceae, Pseudomonadaceae, Spiellaceae, Bacillaceae قرار گرفته‌اند (۷).

تقریباً هر کدام از این ترکیبات می‌توانند توسط برخی میکروارگانیسم‌ها به عنوان منبع انرژی و یا واحد ساختمانی استفاده شود. فنل نه تنها برای انسان بلکه برای میکروارگانیسم‌ها هم، خطرناک و سمی است (۸). تحمل میکروارگانیسم‌ها در مقابل میزان غلظت فنل متفاوت است. روش‌های متفاوتی برای غلبه بر اثر ممانعت‌کنندگی فنل در فاضلاب‌ها بر روی رشد میکروارگانیسم‌ها معرفی شده‌اند. از جمله این روش‌ها می‌توان به ایجاد سازگاری سلول‌ها به غلظت‌های بالای فنل (۹)، تثبیت سلول‌ها (۱۰) و استفاده از میکروارگانیسم‌های مهندسی شده (۱۱)، تغذیه محیط کشت با منابع کربن معمول مثل گلوکز و عصاره مخمر اشاره کرد. آژانس‌های دولتی، در اغلب موارد تمایل به آزاد شدن گونه‌های میکروارگانیسم‌های مهندسی شده به محیط را به خاطر اثرات اکولوژیکی

"پارسا و اکبری، تجزیه زیستی فنل"

آب‌گریزی، نفوذ موثر بیشتر غشای سلولی را توسط فنل و در نتیجه سمیت آلوده‌کننده‌های خارجی را افزایش می‌دهد. وقتی که اثرات سمی فنل را مقایسه می‌کنیم، کسی نمی‌تواند این پارامترهای مهم pK_a ثابت وابسته به ترکیب) و $\log P$ (ضریب بخش اکتانول-آب از اسید غیروابسته) را نادیده بگیرد. افزایش آب‌گریزی و مقدار $\log P$ و کاهش مقدار pK_a باعث نفوذ پذیری موثرتر غشا بوسیله زنوبیوتیک‌ها و در نتیجه افزایش سمیت آن‌ها می‌شود. مثلاً ۲ و ۴-کلروفنل که (در مقابل ترکیبات دیگر فنلی) بالاترین مقدار $\log P$ و کمترین مقدار pK_a را دارد (۱۲).

جدول ۱- فاکتورهای موثر در انتشار ترکیبات سمی

The compound	Log P	pK_a
Catechol	0.7	9.30
Phenol	1.47	9.98
2,4-dimethylphenol	1.99	10.26
2,4-dichlorophenol	3.23	7.81

ممانعت از همین تجزیه در آب یا خاک ممکن است بوسیله غلظت‌های بالا و سمی آن یا ترکیبات دیگر، یا فاکتورهای دیگر مثل کمبود مواد مغذی یا میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده روبرو شود.

تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌ها، از فنل به عنوان تنها منبع کربن و انرژی در شرایط هوازی و بی‌هوازی استفاده می‌کنند. تحقیقات نشان می‌دهد که جمعیتی از جلبک‌های آب شیرین، توانایی حذف غلظت‌های پایین فنل در محیط‌های آبی را دارند. اولین گزارش از تجزیه فنل بوسیله سیانوباکتری‌های *Anabaena cylindrica* و *Phormidium foveolarum* بوسیله Ellis (۱۹۷۷) ارائه شده است (۱۳).

غلظت بالای فنل، اثر ممانعت‌کنندگی روی

غیرقابل پیش‌بینی، ندارند. نشان داده شده است که تثبیت در بسترهای مختلف شامل هیدروژل‌ها، کربن فعال و غشاهای فیبری منفذدار، روش‌های قابل اعتمادی برای غلبه بر اثر ممانعت‌کنندگی فنل دارند (۴۲).

فعالیت سمی فنل

اثر سمی ترکیبات ارگانیک، به فاکتورهای زیادی وابسته است. نفوذ فنل به داخل ارگانیسم‌ها، به انتشار این ترکیب از خلال غشای سلولی وابسته است. فاکتوری که به شدت انتشار را تحت تاثیر قرار می‌دهد، آب‌گریزی بودن ترکیبات مختلف است. افزایش

آب‌گریزی ممکن است آخرین فاکتور باشد، زمانی که مقادیر pK_a ترکیبات مشابه باشند. مثلاً فنل‌ها که مقادیر pK_a مشابهی دارند که نرخ انتقال آن‌ها، به طول زنجیره آلیفاتیک آن‌ها وابسته است. درجه انتشار این ترکیبات فنلی به ترتیب زیر است:

Methylphenol > ethylphenol > propylphenol > butylphenol

تجزیه فنل

استفاده از ترکیبات آروماتیک بوسیله باکتری‌ها، اکنون به خوبی شناخته شده است و محققین مختلف از مکان‌های مختلف، جداسازی این میکروارگانیسم‌ها را که توانایی تجزیه سوبستراهای فنلی دارند، توصیف کرده‌اند.

فنل در خاک به طور معمول سریع تجزیه می‌شود، اما

در مصرف این ماده به میکروارگانیسم کمک می‌کند، انجام گرفته است. در عین حال، برخی قارچ‌ها فنل اکسیدازهای خارج سلولی نشان می‌دهند که در تجزیه لیگنین، یک ترکیب پیچیده فنلی، فعال هستند (۱۴). در جدول ۲ برخی از میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده فنل به همراه نرخ تجزیه توسط آن‌ها ذکر شده است.

میکروارگانیسم‌ها دارد، اما مشخص شده که هیچ اثری روی رشد *Synechococcus PCC 7002* تحت نور مداوم ندارد. حقیقت این است که فنل تحت شرایط فتوسنتزی تجزیه نمی‌شود، این مساله از طریق عدم تشکیل واسطه‌های حاصل از سوخت و ساز فنل توسط سیانوباکتری‌ها ثابت شده است (۱۳). با وجود این که تجزیه فنل مورد مطالعه قرار گرفته است، مطالعه کمی روی آنزیم‌های خارج سلولی که

جدول ۲- نمونه‌ای چند از باکتری‌های تجزیه کننده فنل

مرجع	نرخ تجزیه	غلظت فنل	میکروارگانیسم
Wurster et al. (13)	0.833 mg/L/h (غیر فتوسنتزی)	100 mg/L	<i>Synechococcus PCC 7002</i>
EVANS 1947 (15)	-	100 mg/L	<i>Flavobacterium helvolum</i>
N. M. Arif et al (29)	8.97 mg/L/h	1100 mg/L	<i>Rhodococcus AQ5NOL 2 KCTC 11961BP</i>
Shweta et al.(45)	13.8 mg/L/h	1000 mg/L	<i>P. aeruginosa SPD10</i>

اکسیداسیون‌های آنزیمی مورد نیاز است. در هیچ نمونه‌ای به وضوح نشان داده نشده که یک گیرنده هیدروژن، نسبت به اکسیژن ملکولی کافی خواهد بود. اطلاع از این که تجزیه داخل یا خارج سلولی انجام می‌شود، اهمیت دارد. چرا که آنزیم‌های ترشح شده، به شدت تحت تاثیر شرایط فیزیکی و شیمیایی محیط قرار دارند (۱۶).

تجزیه هوازی فنل

در تجزیه هوازی میکروارگانیسم‌ها، خصوصا باکتری‌ها، به‌طور معمول فنل را در دو مسیر مختلف ارتو یا متا، که بر اساس شکست حلقه آروماتیک نامگذاری می‌شود، تجزیه می‌کنند (۱۷). هر دو مسیر در قدم اول آنزیم فنل هیدروکسیلاز را استفاده می‌کنند، اما در قدم دوم تجزیه یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها، به ترتیب از کاتکول ۱،۲-دی هیدروکسیژناز (ارتو) یا ۲،۳-دی هیدروکسیژناز (متا)

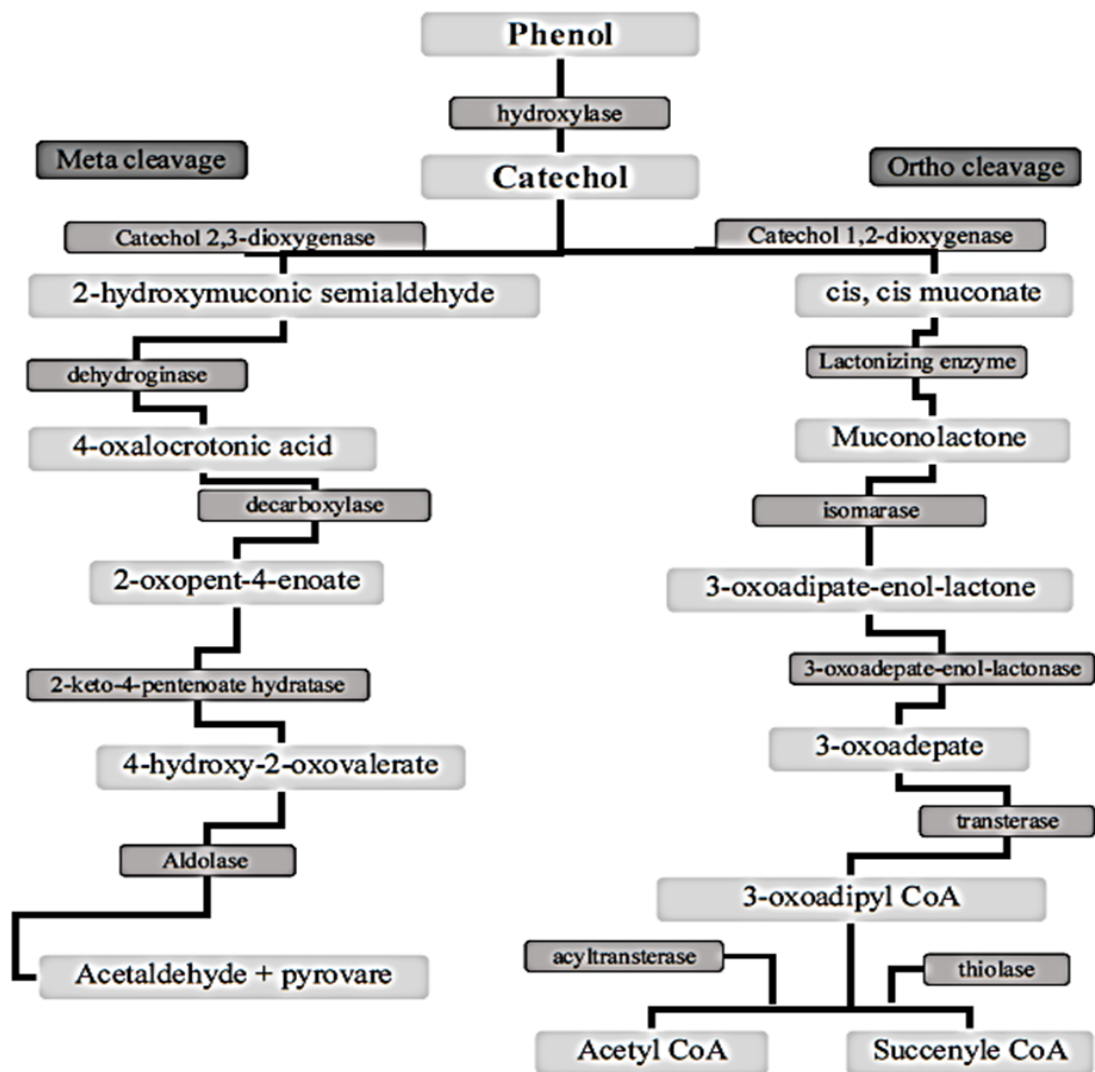
مکانیسم آنزیمی اکسیداسیون باکتریایی

اکسیداسیون زیستی ترکیبات فنلی، موضوع تحقیقات بسیاری بوده است و سیستم‌های آنزیمی توصیف شده، شناخته شده‌اند. اکسیداسیون ترکیبات منوهیدروکسی به دی‌هیدروکسی فنل، بوسیله فقط یک آنزیم خوب توصیف شده، منوفنلاز حاوی کوپر، تیروزیناز تسریع شده است. اما این آنزیم، هیچ اثری روی بنزوئیک اسید ندارد. اکسیداسیون مشتقات دی هیدروکسی فنل به کوئینون مربوطه، بوسیله گستره وسیعی از آنزیم‌های مختلف تسریع شده است، شامل (الف) آنزیم‌های پروتینی کوپر دار، به عنوان مثال تیروزیناز، لاکیز، پلی فنل اکسیداز و دوپا (۳،۴) دی هیدروکسی فنیل آلانین) اکسیداز. (ب) آنزیم‌های پروتینی آهن‌دار، مثل پرواکسیداز، یا مجموعه سایتوکروم (۱۵). اکسیژن فعال یا ملکولی برای همه این

"پارسا و اکبری، تجزیه زیستی فنل"

گروه هیدروکسیل به موقعیت ارتو، واکنشی که به نوکلئوتید پیریدین احیا شده نیاز دارد (NADH₂)، استفاده می‌شود (شکل ۴).

استفاده می‌کنند (۱۸ و ۱۹). در قدم اول از تجزیه هوازی فنل، اکسیژن ملکولی بوسیله آنزیم فنل هیدروکسیلاز برای اضافه کردن



شکل ۴- تجزیه هوازی فنل

باکتریایی که با فنل به عنوان سوبسترا آغاز شده بود، تایید شد (۱۵). ملکول کاتکول حاصل (1, 2- dihydroxybenzene) می‌تواند بوسیله دو مسیر متفاوت بر اساس نوع

اوانس (۱۹۴۷) در تحقیقاتش با بررسی میزان اکسیژن مصرفی در اکسیداسیون کاتکول و فنل، نشان داد که اولین محصول بعد از اکسیداسیون فنل، کاتکول است. این نتیجه با جداسازی کاتکول از محیط کشت

جنس سودوموناس موضوع مطالعات مختلف بوده است. توانایی تجزیه رنج وسیعی از ترکیبات آروماتیک، سودوموناس‌ها را به ارگانسیم‌های جذابی در زمینه کاربرد تیمار فاضلاب‌ها تبدیل کرده است.

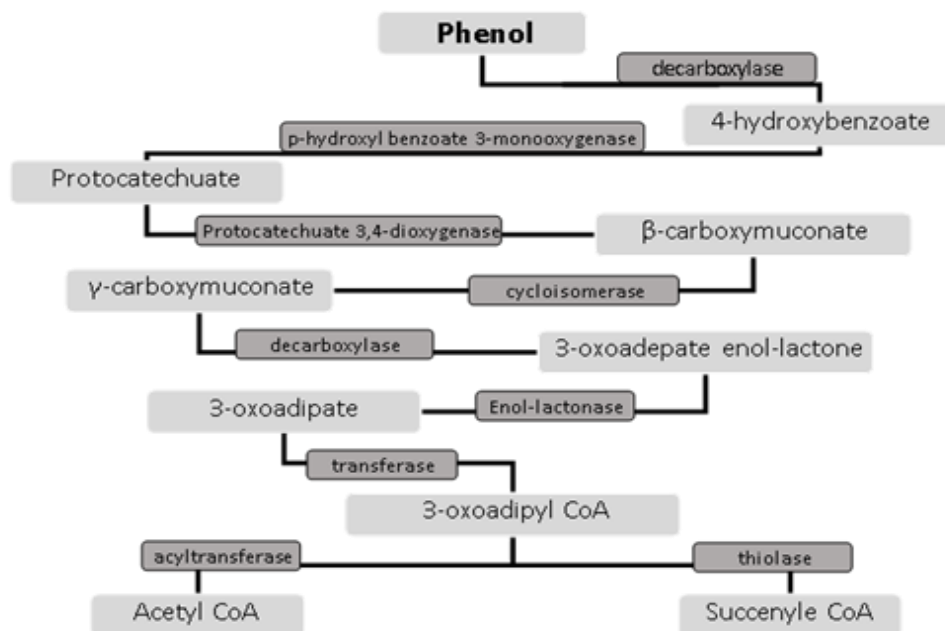
تجزیه بی‌هوازی فنل

فنل همچنین می‌تواند در غیاب اکسیژن تجزیه شود. این مسیر از تجزیه هوازی پیچیدگی کمتری دارد (شکل ۵). در این مسیر فنل در موقعیت پارا، کربوکسیله شده و به ۴-هیدروکسی بنزوات تبدیل می‌شود که اولین قدم در مسیر تجزیه بی‌هوازی است (۲۲). آنزیمی که در این مرحله دخالت می‌کند، ۴-هیدروکسی بنزوات کربوکسیلاز است. در تجزیه بی‌هوازی بسیاری از ترکیبات آروماتیک دیگر هم، حضور واکنش کربوکسیلاسیون نشان داده شده است. ارگانسیم‌های *Thauera aromatica* و *Desulphobacterium phenolicum* توانایی تجزیه فنل تحت شرایط بی‌هوازی را دارند.

میکروارگانسیم تجزیه شود. در مسیر ارتو- یا β -کتوآدیپات، حلقه‌ی آروماتیک بین گروه‌های هیدروکسیل کاتکول بوسیله کاتکول ۱،۲-دی هیدروکسیژناز (شکست بین دو گروه الکل intradiol fission) شکسته می‌شود (۲۰، ۲۱ و ۱۵). سپس موکونات حاصل، از طریق β -کتوآدیپات، به حدواسط‌های چرخه کربس تبدیل می‌شود.

در مسیر متا، شکست حلقه‌ی نزدیک دو گروه هیدروکسیل کاتکول انجام می‌شود (شکست خارج دو گروه الکی (extradiol fission)). آنزیم ۲،۳-دی اکسیژناز، کاتکول را به ۲-هیدروکسی موکونیک سمی آلد‌هاید تبدیل می‌کند. سپس این ترکیب با تجزیه بیشتر به حدواسط‌های چرخه کربس تبدیل می‌شود.

ارگانسیم‌های *Acietobacter calcoceticus*، *Pseudomonas species* و *Candida tropicalis* بسیاری از یوکاریوت‌ها، فنل را در مسیر هوازی از طریق روش ارتو تجزیه می‌کنند. گونه‌های هوازی

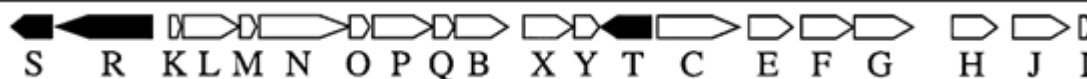


شکل ۵- تجزیه بی‌هوازی فنل

ژن‌های دخیل در تجزیه فنل

مطالعات مختلفی روی سوخت و ساز میکروبی فنل برای درک بهتر تجزیه ترکیبات آروماتیک انجام شده است. درحالی که مطالعات کمی با اهداف متاژنومیک در این مسیر انجام شده است. یکی از کامل‌ترین مطالعات روی تجزیه ترکیبات آروماتیک از باکتری‌های غیرقابل کشت توسط Suenaga و همکاران در ساخت کتابخانه متاژنومیک از لجن فعال فاضلاب کارخانه زغال انجام شد (۲۳). آن‌ها ۳۶ کلون با آرایش ژنی جدید از دی اکسیژنازهای اکسترادیول (Extradiol dioxygenase)، یک آنزیم کلیدی در تجزیه ترکیبات آروماتیک، جدا کردند. Dong و همکاران، ژن‌های تجزیه کننده فنل را در *Bacillus stearotherophilus* FDTP-3 بررسی کردند و مشاهده کردند که ژن‌های *pheA* و *pheB* که

به ترتیب به آنزیم‌های فنل هیدروکسیلاز و کاتکول ۱،۲ دی اکسیژناز تعلق دارند، پشت سرهم و در یک قالب رونویسی قرار دارند (۲۴). Shingler گزارش کرد که در *Pseudomonas CF600* ژن‌های لازم برای تجزیه فنل (*dmpK,L,M,N,O,P,Q,B,C,D,E,F,G,H,I*)، از طریق یک اپرون بسیار بزرگ رونویسی می‌شوند (۲۵). بیان اپرون بوسیله فعال کننده‌ی رونویسی حساس به فنل، *DmpR*، که به صورت متنوع از *dmpK* رونویسی می‌شود، کنترل می‌شود (۲۶). ژن‌های چند جزئی فنل هیدروکسیلاز و ۲،۳ کاتکول دی اکسیژناز (*aphKLMNOPQB*)، و ژن تنظیم کننده‌ی حساس به فنل (*aphR*)، در *C. testosteroni TA441* هم گزارش شده‌اند (۲۷).



شکل ۶- نقشه فیزیکی خوشه ژنی *aph* مربوط به باکتری *C. testosteroni TA441*

بردند. به عنوان مثال Arai و همکاران، در بخشی از کار خود با آنالیز تولی ترجمه شده ژن *aphT* نشان دادند که محصول این ژن به خانواده LysR از تنظیم کننده‌های رونویسی تعلق داشته و نقش تنظیم کنندگی دارد (۲۷). مطالعات بیشتر نشان داد که این دسته ژنی، در اپرون *aph* تحت کنترل دو ناحیه قرار دارد. ژن مربوط به فعال کننده حساس به فنل، *aphR*، نزدیک *aphK* در جهت مخالف قرار دارد. ژن *aphS* که در پایین دست ژن *aphR* قرار دارد، پروتئین GntR را رمز می‌کند که

باکتری *Comamonas testosteroni TA441*، اپرونی دارد با چندین ژن که آنزیم‌های مربوط به تجزیه فنل در مسیر شکست متا روی آن قرار دارد (شکل ۶). با مطالعاتی که روی ژن‌های مختلف از طریق ایجاد موتاسیون و یا ایجاد برش توسط آنزیم‌های محدود کننده در این اپرون انجام شد، نقش هر ژن مشخص شد. از طرفی با مقایسه توالی‌های پروتئینی ترجمه شده از ژن‌هایی که نقش آن‌ها تعیین نشده بود، با بانک‌های پروتئینی و تشابه با خانواده‌های پروتئینی تنظیم کننده، به نقش تنظیم کنندگی برخی ژن‌ها پی

درجه توانایی تجزیه فنل را دارد (۲۹). باکتری‌های دیگر در دماهای خیلی پایین یا بالا، توانایی تجزیه فنل را دارند. مثلا Kotturi و همکاران در مطالعه خود متوجه شدند *Pseudomonas putida*، توانایی تجزیه فنل را به‌طور مطلوب در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد دارد (۳۰). همچنین Yanase و همکاران باکتری گرمادوست *Bacillus stearothermophiles* را معرفی کردند که توانایی تجزیه فنل را در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد دارد (۳۱).

در یک تحقیق (۳۲)، اثر دما در تجزیه فنل توسط *Pseudomonas sp. phDVI* بررسی و همانند نمودارهای Error! Reference source not found. به تصویر کشیده شد. همانطور که قابل مشاهده است، دما اثر قابل‌ملاحظه‌ای روی تجزیه فنل نشان می‌دهد. تجزیه در دماهای ۱۰ و ۴۰°C پایین هستند، اما مقادیر مناسب در دمای ۳۰°C ثبت شدند. از طرفی در دمای ۳۰°C با افزایش غلظت فنل از ۳۰۰ به ۴۰۰، باز هم نرخ تجزیه فنل ثابت است. این مساله نشان می‌دهد که دمای ۳۰°C، دمای مطلوب برای این باکتری در تجزیه فنل است. این دمای مطلوب می‌تواند علاوه بر اثر روی فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده، روی نرخ انتقال فنل از غشای سلول هم موثر باشد.

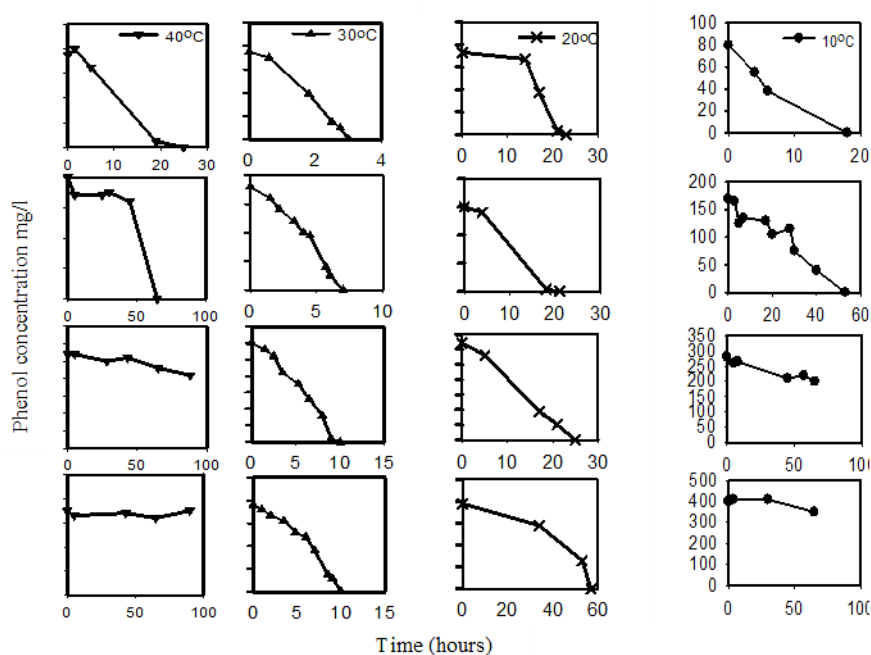
به خانواده تنظیم‌کننده‌های رونویسی تعلق دارد. این پروتئین به ناحیه پروموتور بین *aphK* و *aphR* متصل شده و بیان این دو ژن را کنترل می‌کند (۲۸). ژن‌های *aph CEFHGJI* ممکن است مثل یک اپرون بیان شوند. این ژن‌ها در تجزیه پایین‌دست فنل فعالیت می‌کنند. به همین دلیل، یک ناحیه کنترلی دیگر در این توالی وجود دارد. پروموتور ژن *aphC*، که تحت کنترل محصول ژن *aphT*، پروتئین *AphT* و *AphR* است. سرکوبگر *AphT*، توسط یکی از ترکیبات حدواسط، در تجزیه فنل، یعنی ۲-هیدروکسی موکونیک سمی آلدئید، غیرفعال می‌شود. پس تا زمانی‌که فنل، سرکوب‌کننده *AphR* را غیرفعال نکند و بخش اول تجزیه فنل در سلول باکتری انجام نشود، آنزیم‌های بعدی که در تجزیه پایین دست فنل نقش دارند، فعال نمی‌شوند (۲۸).

اثر شرایط کشت در تجزیه فنل

۱- اثر دما بر روی تجزیه فنل

باکتری‌ها در گستره دمایی وسیعی فعالیت می‌کنند و این گستره دمایی به نوع باکتری، مکان رشد و مواد مغذی مورد نیاز آن‌ها بستگی دارد. اثر دما روی باکتری *Rhodococcus sp. strain AQ5NOL* نشان می‌دهد که این باکتری در رنج دمایی بین ۲۰ تا ۳۵

"پارسا و اکبری، تجزیه زیستی فنل"



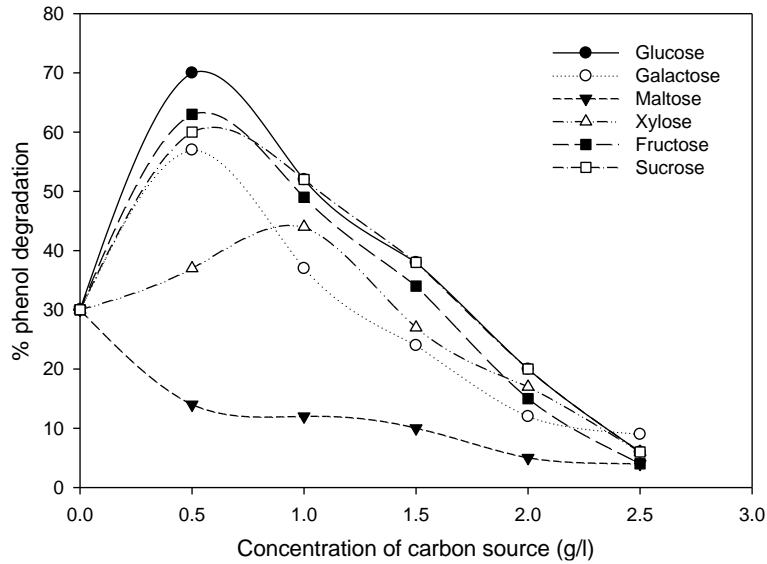
شکل ۷- اثر دما بر تجزیه فنل (نمودارها با برنامه سیگما پلات ویرایش ۱۰ ترسیم شدند)

اثر منبع کربن روی تجزیه فنل

میکروارگانیسیم‌ها به مواد مغذی، الکترون‌ها و انرژی از محیط اطرافشان برای حمایت از رشد نیاز دارند. تجزیه زیستی سوبستراهای ارگانیک برای میکروارگانیسیم‌ها، انرژی و مواد سازنده برای رشد سلول‌های جدید و حفظ بقای سلول (از موادی که تجزیه پذیری کمتری دارند) فراهم می‌کند (۳۳). به‌طور عمومی، میکروارگانیسیم‌ها در محیط‌هایی که با مواد اضافی مغذی تامین شده، رشد می‌کنند (۳۴). اگرچه، رشد می‌تواند بوسیله اضافه کردن دو یا تعداد بیشتری ماده مغذی به طور همزمان تحت تاثیر قرار بگیرد (۳۵). اگر یک جمعیت میکروبی، روی محیطی از سوبستراهای مخلوط رشد داده شوند، میکروب‌ها یک یا دو سوبسترا را مصرف می‌کنند. گرچه چندین الگو می‌تواند مشاهده شود. در این مخلوط، سوبستراها هر کدام می‌توانند اثر مثبت، منفی یا خنثی

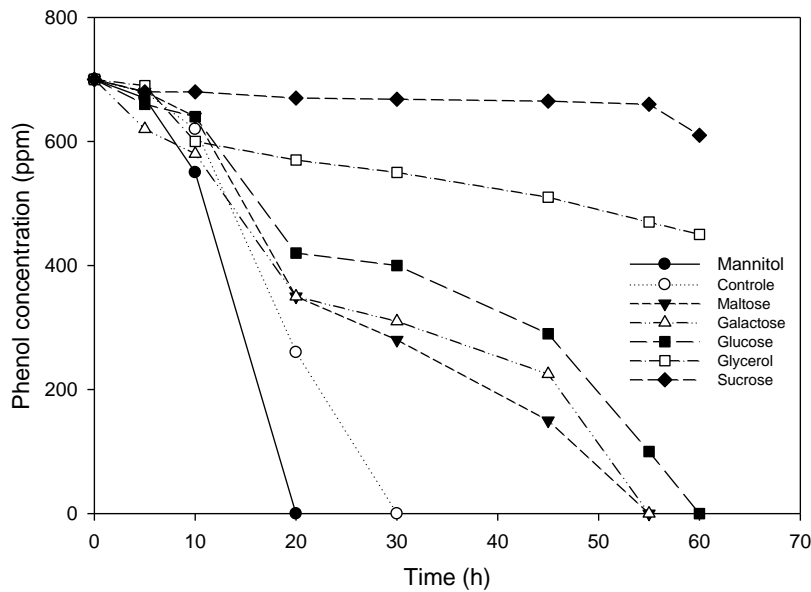
روی یکدیگر داشته و نرخ رشد را افزایش یا کاهش دهند و یا این‌که مشابه زمانی باشند که به صورت جداگانه در محیط حضور دارند (۳۶). قارچ *Trametes versicolor* ۱۰۶ppm فنل را در حضور گلوکز، ۹۳ppm را در حضور فروکتوز و ۹۴ppm را در حضور نشاسته در طی ۵ روز تجزیه می‌کند (۳۷). *Elangovan* و همکاران نشان دادند که *Flavobacterium sp.* ۸۷٪ فنل موجود را در حضور گلوکز تجزیه می‌کند (۳۸). قارچ‌ها بیشتر به گلوکز و فروکتوز، نسبت به نشاسته تمایل نشان می‌دهند. Chandana Lakshmi و همکاران، بر روی اثر منبع کربن روی تجزیه فنل توسط *Pseudomonas aeruginosa* (NCIM 2074) به نتایجی که در شکل ۸ نشان داده شده، رسیدند (۳۹). این مساله قابل مشاهده است که گلوکز بهترین منبع برای تجزیه فنل است. از طرفی نشان داده شده است که غلظت بالای گلوکز اثر

منفی روی تجزیه فنل دارد، بطوری که در غلظت ۲/۵ گرم در لیتر گلوکز، تجزیه فنل کاملاً سرکوب می‌شود. Ghosh و Satsangee گزارش کردند که گلوکز در برداشت فنل دخالت می‌کند (۴۰).



شکل ۸- اثر منبع کربن روی تجزیه فنل

M. Shourian و همکاران نشان دادند (شکل ۹) که مانیتول با غلظت ۱٪ w/v در میان منابع کربن از جمله مالتوز، گالاکتوز، گلوکز، گلیسرول و ساکارز، بهترین منبع کمکی کربن در تجزیه فنل است. به نحوی که *Pseudomonas sp. SA01* فنل با غلظت ۷۰۰ ppm را در کمتر از ۲۰ ساعت تجزیه می‌کند (۴۱).

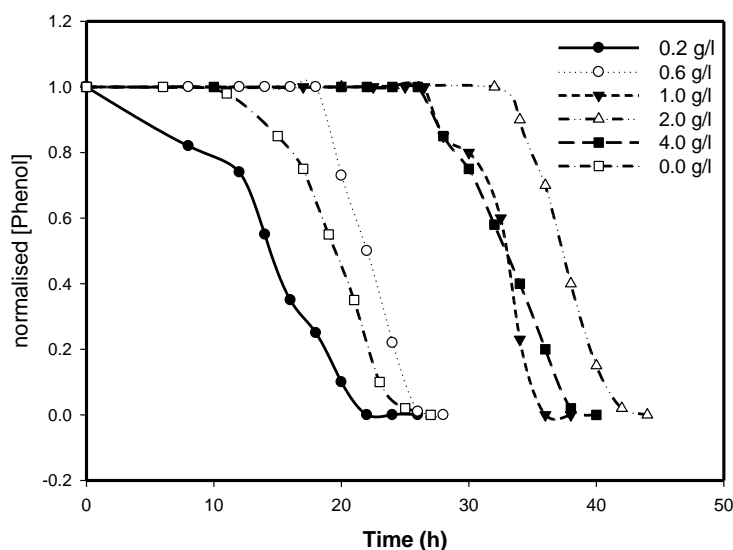


شکل ۹- اثر منبع کربن روی تجزیه فنل توسط M. Shourian و همکاران

"پارسا و اکبری، تجزیه زیستی فنل"

نشان داده شده مقدار خاصی از عصاره مخمر Lob و همکاران (۴۲) نشان دادند که عصاره مخمر، بهترین منبع کربن کمی برای تجزیه فنل توسط باکتری *Pseudomonas putida* ATCC 49451 است. در مطالعات این محققین هم همانطور که در شکل ۱۰

نشان داده شده مقدار خاصی از عصاره مخمر (۰/۲g/L) نرخ تجزیه فنل را افزایش می‌دهد و افزایش بیشتر غلظت عصاره مخمر اثر مثبتی ندارد.

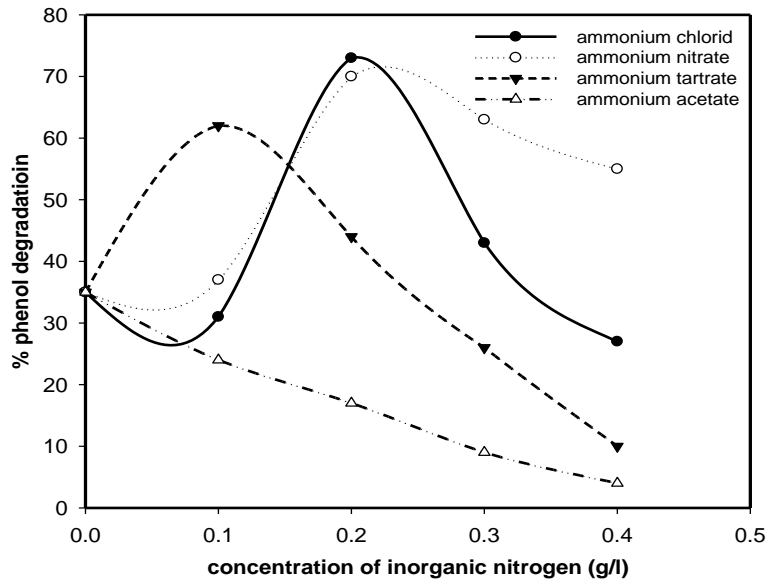


شکل ۱۰- اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر روی تجزیه فنل

شده، آمونیوم کلراید با غلظت ۰/۲ گرم در لیتر، بهترین اثر را روی تجزیه فنل دارد. افزایش غلظت آمونیوم کلراید تا این مقدار، اثر سمی فنل را کاهش می‌دهد. البته افزایش غلظت آمونیوم کلراید اثر منفی روی تجزیه می‌گذارد. Suseela و Premalatha و Rajakumar نیز در کار خود به همین نتیجه رسیدند (۴۳).

اثر منبع نیتروژن روی تجزیه فنل

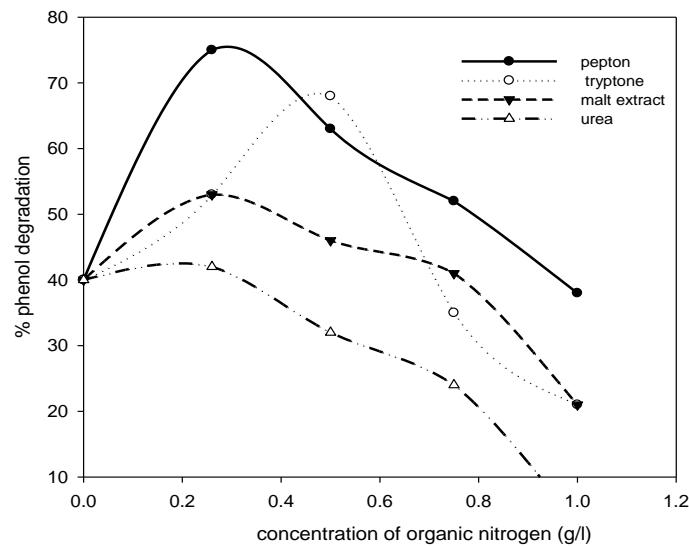
نیتروژن مهمترین ماده مغذی بعد از منبع کربن در تجزیه فنل است. نیتروژن از منابع مختلف شامل منابع آلی و غیر آلی تامین شده است. از جمله منابع غیر آلی که در تجزیه فنل استفاده شده است، می‌توان به آمونیوم کلراید، آمونیوم نترات، آمونیوم استات و آمونیوم تترات اشاره کرد. Chandana Lakshmi و همکاران (۳۹) نشان دادند که در بین ترکیبات اشاره



شکل ۱۱- اثر منبع نیتروژن غیر آلی روی تجزیه فنل

روی تجزیه فنل داشته است. این مساله توسط چند محقق دیگر هم تایید شده است (۴۵ و ۴۴). ولی باز هم افزایش غلظت، اثر معکوس روی تجزیه فنل داشته است.

اثر منابع نیتروژن آلی مختلفی از جمله پپتون، تریپتون، عصاره جو و اووه و ... روی تجزیه فنل مورد بررسی قرار گرفتند. همانطور که در شکل ۱۲ که از کار Chandana Lakshmi گرفته شده است، نشان داده شده، پپتون با غلظت ۰/۲۵ گرم بر لیتر بهترین اثر را



شکل ۱۲- اثر منبع نیتروژن آلی روی تجزیه فنل

"پارسا و اکبری، تجزیه زیستی فنل"

باکتری‌ها بیشتر تجزیه هوازی را برای استفاده از فنل استفاده می‌کنند. نکته مهم در تجزیه فنل در مسیر هوازی یا بی‌هوازی این است که در هر دو مسیر، مرحله اول، اضافه کردن به ترتیب یک گروه هیدروکسیل یا کربوکسیل است که تعادل الکترونی حلقه بنزنی را به هم می‌زند و شکست حلقه را آسان می‌کند.

بررسی روی ژن‌های تجزیه کننده فنل این مساله را نشان می‌دهد که باکتری در همه حال شرایط بهینه مصرف انرژی را در نظر می‌گیرد. همچنان که در صورت نبودن منابع کربن دیگر سراغ فنل می‌رود. از طرفی اگر منبع فنلی در محیط وجود نداشته باشد، انرژی خود را صرف تولید آنزیم‌های تجزیه کننده نمی‌کند.

مطالعه روی روند تجزیه و بررسی پارامترهای تاثیرگذار روی نرخ تجزیه فنل توسط میکروارگانیسم‌ها، می‌تواند ما را به شرایط بهینه برای رشد آن‌ها برساند. نرخ تجزیه فنل، تحت تاثیر وضعیت انرژی و فاز رشد میکروارگانیسم‌های مطالعه شده قرار دارد. به عنوان مثال در فاز سکون، نیاز سلول برای حفظ بقای خود کاهش می‌یابد.

علاوه بر فاز رشد، نرخ تجزیه به شدت تحت تاثیر ترکیبات محیط کشت قرار دارد. یک منبع کربن یا نیتروژن که به راحتی نیاز میکروارگانیسم را تامین کند، تحمل آن میکروارگانیسم را نسبت به غلظت‌های بالای فنل افزایش داده و یک فاکتور انتخابی برای آن سویه است. دلیل افزایش نرخ تجزیه فنل، شاید به خاطر حفظ ظرفیت رشد سلول در حضور یک منبع کربن یا نیتروژن خاص است. علاوه بر این، آن منبع خاص کربن ممکن است یک تمایل در ارگانیسم برای

Abd-El-Haleem و همکاران (۴۶) که روی تجزیه فنل توسط *Acinetobacter sp. strain W-17* در فاضلاب کار می‌کردند، نشان دادند که غلظت مشخصی از نیترات و آمونیوم می‌تواند بر روی سرعت تجزیه فنل اثر گذار باشند. در حالی که همچون مطالعات ذکر شده بالا، افزایش غلظت این دو منبع نیتروژن، اثر منفی روی تجزیه فنل دارد. از طرفی نتایج بررسی روی تبدیل آمونیوم به نیترات نشان داد که این مسیر هیچ اثری روی تجزیه فنل ندارد، که می‌توان این نتیجه را گرفت که تجزیه فنل و تبدیل آمونیوم به نیترات، دو مسیر کاملا جداگانه دارند. محققان دیگر هم این مساله را نشان دادند که آنزیم‌های اکسید کننده (مثل اکسیژنازها) که در تجزیه فنل نقش دارند، هیچ فعالیت خاصی روی تجزیه آمونیوم ندارند.

برخی ترکیبات، علاوه بر تامین منبع نیتروژن، می‌توانند نیازهای دیگر باکتری را هم فراهم کنند. به طور مثال بهترین منبع کربن برای باکتری *Rhodococcus sp. strain AQ5NOL* آمونیوم سولفات معرفی شده است (۲۹). این منبع، علاوه بر تامین نیتروژن، منبع کربن خوبی برای این باکتری به شمار می‌رود.

بحث و نتیجه گیری

آلودگی محیط با ترکیبات شیمیایی سمی و خطرناک، یکی از مشکلات بزرگ در زندگی صنعتی امروز است. یکی از اهداف مهم چرخه‌های بیوتکنولوژی محیطی، استفاده از میکروارگانیسم‌ها برای پاکسازی آلوده کننده‌های ارگانیک از محیط‌های آلوده است.

با این‌که تجزیه فنل در شرایط هوازی و بی‌هوازی انجام می‌شود، ولی بر اساس تحقیقات انجام شده،

کرده‌اند، با تجزیه این مواد هماهنگ شده‌اند. چرا که پروتئین‌هایی که در دماهای بالا یا پایین شناسایی و جداسازی می‌شوند، در ارگانسیم‌هایی حضور دارند که در آن دماها زندگی می‌کنند. اثر دما را نمی‌توان فقط روی فعالیت آنزیم‌های چرخه تجزیه فنل موثر دانست، بلکه باید این نکته را مورد توجه قرار داد که دما می‌تواند در نرخ انتقال فنل از غشای سلولی هم موثر باشد.

پیشنهاد

با توجه به بررسی روی مطالعات مختلف انجام شده در زمینه تجزیه فنل، به این نتیجه می‌توان رسید که برای دستیابی به بهترین سویه‌ی تجزیه کننده فنل برای کاربردهای پاکسازی محیط، بهتر است ابتدا روی باکتری‌هایی که در محل مورد نظر حضور دارند، بررسی انجام شود. باکتری‌های حاضر در محل، با شرایط سازگار شده‌اند و نیازهای دمایی و منابع حداقلی مورد نیاز آن‌ها مشخص است. در این حالت که نیاز به تطبیق باکتری با شرایط سخت محیط مورد نظر وجود ندارد، می‌توان روی افزایش توانایی باکتری در تجزیه فنل مطالعه انجام داد.

جذب فنل ایجاد کرده و برای فعالیت آنزیم‌های فعال در تجزیه فنل مطلوب باشد. دلیل دیگری که می‌توان برای افزایش نرخ تجزیه فنل در حضور منبع کربن کمکی ذکر کرد، این است که این منبع براحتی توسط سلول مورد تجزیه قرار می‌گیرد و باعث افزایش سلولی می‌شود، در نتیجه تعداد بیشتر سلول افزایش نرخ تجزیه را به همراه خواهد داشت. دلیل این‌که افزایش منبع کربن کمکی بیش از مقدار مناسب، اثر منفی دارد، شاید این باشد که وقتی آن منبع کربن نیاز سلول را برطرف می‌کند، دیگر سلول برای تامین نیاز خود به کربن به سمت تجزیه یک ماده سمی مثل فنل نرود.

دمای مطلوب برای تجزیه فنل دمای میانه است، که البته به نوع میکروارگانیسمی که عمل تجزیه را انجام می‌دهد بستگی دارد. چرا که باکتری‌های گرمادوست یا سرمادوستی جداسازی شدند که توانایی تجزیه فنل را در شرایط اقلیمی خود نشان می‌دهند. دلیل این‌که دمای مطلوب برای تجزیه فنل دمای میانه است، شاید این باشد که این باکتری‌های تجزیه کننده در محل حضور فعالیت انسان‌ها که این آلودگی‌ها را ایجاد

References

1. **Glazer, Alexander N., and Hiroshi Nikaido. (2007).** *Microbial biotechnology*. second edi. Cambridge University Press.
2. **Reardon, Kenneth F, Douglas C Mosteller, and Julia D Bull Rogers. (2000).** "Biodegradation Kinetics of Benzene, Toluene, and Phenol as Single and Mixed Substrates for *Pseudomonas putida* F1."
3. **Bruce, R, J SANToDoNATo, and M NeAl. (1987).** "summary re- view of the health effects associated with phenol." *Toxicol. indust. health* 3: 535.
4. **TsuruTA, Y., WaTANAbE S., and Inoue H. (1996).** "Fluorometric determination of phenol and p-cresol in urine by precolumn high-performance liquid chromatography using 4- (N-phtha limidiny) benzenesulfonyl chloride, *Analyt.*" *Biochem.* 86: 243,

فهرست منابع

5. Keith, Sam, John R Doyle, Carolyn Harper, Moiz Mumtaz, Oscar Tarrago, David W Wohlers, Gary L Diamond, Mario Citra, and Lynn E Barber. (2012). "POTENTIAL FOR HUMAN EXPOSURE." In *Toxicological Profile for Radon*, p. 149–172.
6. Larkin, M.J., L.A. Kulakov, and C.R Allen. (2005). "Biodegradation and Rhodococcus-masters of catabolic versatility." *Environ Biotechnology* 16: 282–290.
7. DelFiNo, F, and D Dube. (1976). "Persistent contamination of ground water by phenol." *environ. sci. health* 43: 345.
8. Anonymous. (1979). *Phenol ambient water quality criteria*. Washington, DC.
9. Masque, C, M Nolla, and A Bordons. (1987). "Selection and adaptation of a phenol- degrading strain of Pseudomonas." *Biotechnol Lett* 9: 655–660.
10. Keweloh, H, HJ Heipieper, and HJ Rehm. (1989). "Protection of bacteria against toxicity of phenol by immobilization in calcium alginate." *Appl Microbiol Biotechnol* 31: 383–389.
11. Soda, S, M Ike, and M Fujita. (1998). "Effects of inoculation of a genetically engineered bacterium on performance and indigenous bacteria of a sequencing batch activated sludge process treating phenol." *Ferment Bioeng* 86: 90–96.
12. Michalowicz, J, and W Duda. (2007). "Phenols – Sources and Toxicity." *journal of environment* 16(3): 347–362.
13. Wurster, M, S Mundt, E Hammer, F Schauer, and U Lindequist. (2003). "Extracellular degradation of phenol by the cyanobacterium Synechococcus PCC 7002." *Journal of Applied Phycology* 15(2/3): 171–176.
14. Merrocal, M.m, J. Rodrigus, A.s Ball, and M.e Arias. (1997). "Solubilization and mineralization of C14 lignocellulose from wheat straw by Streptomyces cyaneus CECT 3335 during growth in solid state fermentation." *applied microbial. biotechnol.* 48: 379–384.
15. Evans, W C. (1947). "Oxidation of phenol and benzoic acid by some soil bacteria." *The Biochemical journal* 41(3): 373–82.
16. Lones, Ct, and Gt Lonergan. (1997). "Prediction of phenol oxidase expression in fungus using the fractal dimention." *biotechnol* (19): 65–69.
17. Pya, Ahamad, and Kunhi Aam. (1996). "Dgradation of phenol through ortho-cleavage pathway by Pseudomonas stutzeri strain SPCZ." *app microbiol* 22: 26–29.
18. Muller, Rh, and W Babel. (1994). "Phenol and its drivatives as heterotrophic substrate for microbial growth-an energetic comparison." *app microbial biotechnol* 42: 442–456.
19. Neujahr, Hy, and A Gal. (1973). "Phenol hydroxylase from yeast: purification and properties of the enzyme from Trichosporon cutaneum." *biochem* 35: 386–400.
20. Harwood, C S, and R E Parales. (1996). "The beta-ketoadipate pathway and the biology of self-identity." *Annual review of microbiology* 50: 553–90.
21. Kilby, B.A. (1948). "The bacterial oxidation of phenol to β -ketoadipic acid." *Biochem* 43.
22. Williams, By R J, and W C Evans. (1975). "The Metabolism of Benzoate by Moraxella Species Through Anaerobic Nitrate Respiration." *Biochem* 148: 1–10.
23. Suenaga, H, T Ohnuki, and K Miyazaki. (2007). "Functional screening of a metagenomic library for genes involved in microbial degradation of aromatic compounds." *Environ Microbiol* 9: 2289–2297.
24. Dong, Fu-min, Li-li Wang, Chang-mei Wang, and Jie-ping Cheng. (1992). "Molecular cloning and mapping of phenol degradation genes from Bacillus stearothermophilus FDTP-3 and their

- Molecular Cloning and Mapping of Phenol Degradation Genes from *Bacillus stearothermophilus* FDTP-3 and Their Expression in *Escherichia coli*." *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* 58(8): 2531–2535.
25. **Shingler, V. (1996).** "Metabolic and regulatory check points in phenol degradation by *Pseudomonas* sp. CF600." In *Molecular Biology of Pseudomonas*, eds. T. Nakazawa, K. Furukawa, D. Haas, and S. Silver. Washington, DC: American Society for Microbiology, p. 153–154.
 26. **Shingler, V., M. Bartilson, and T. Moore. (1993).** "Cloning and nucleotide sequence of the gene encoding the positive regulator (DmpR) of the phenol catabolic pathway encoded by pVI150 and identification of DmpR as a member of the NtrC family of transcriptional activators." *Bacteriol* 175: 1596–1604.
 27. **Arai, H., S. Akahira, T. Ohishi, M. Maeda, and T. Kudo. (1998).** "Adaptation of *Comamonas testosteroni* TA441 to utilize phenol: organization and regulation of the genes involved in phenol degradation." *Microbiology* 144: 2859–2903.
 28. **Arai, H, S Akahira, T Ohishi, and T Kudo. (1999).** "Adaptation of *Comamonas testosteroni* TA441 to utilization of phenol by spontaneous mutation of the gene for a trans-acting factor. *Mol Microbiol* 33, 1132–1140." *Mol Microbiol* 33: 1132–1140.
 29. **Arif, N M, S A Ahmad, M A Syed, and M Y Shukor. (2013).** "Isolation and characterization of a phenol-degrading *Rhodococcus* sp. strain AQ5NOL 2 KCTC 11961BP." *journal of basic microbiology* 53: 9–19.
 30. **Kotturi, G., C.W. Robinson, and W.E. Inniss. (1991).** "Phenol degradation by a psychotropic strain of *Pseudomonas putida*." *Appl. Microbiol. Biotechnol* 34: 539–543.
 31. **Yanase, H., K. Zuzan, K. Kita, S. Sogabe, and N. Kato. (1992).** "Degradation of phenols by thermophilic and halophilic bacteria isolated from a marine brine sample." *Ferment. Bioeng.* 74: 297–300.
 32. **Polymenakou, Paraskevi N, and Euripides G Stephanou. (2005).** "Effect of temperature and additional carbon sources on phenol degradation by an indigenous soil *Pseudomonad*." *Biodegradation* 16: 403–413.
 33. **Cornelissen, G, and DT Sijm. (1996).** "An energy budget model for the biodegradation and co-metabolism of organic substances." *Chemosphere* 33(5): 817–830.
 34. **Harder, W, I Dijkhuizen, and JR Postgate. (1982).** "Strategies of mixed substrate utilization in microorganisms." *biological sciences* 297: 459–480.
 35. **Rutgers, M, PA Balk, and K van Dam. (1990).** "Quantification of multiple-substrate controlled growth-simultaneous ammonium and glucose limitation in chemostat cultures of *Klebsiella pneumoniae*." *Archives of Microbiology* 153(5): 478–484.
 36. **Meyer, JS, MD Marcus, and HL Bergman. (1984).** "Inhibitory interactions of aromatic organics during microbial degradation." *Environmental Toxicology and Chemistry* 3(4): 583–587.
 37. **Udayasoorian, C., and P.c Prabu. (2005).** "Biodegradation of phenols by ligninolytic fungus *Trametes cersicolar*." *biological sciences* 5(6): 824–827.
 38. **Elangovan, N, p.s sudhankar Gandhi, and P.t. Kalaichelvan. (2003).** "Utilization of lignin related phenolic derivatives by *Flavobacterium* sp." *microbiol. biotechnol. envron* 5: 177–182.
 39. **Chandana Lakshmi, Mvv, V Sridevi, M Narasimha Rao, and Avn Swamy. (2011).** "OPTIMIZATION OF PHENOL DEGRADATION FROM *Pseudomonas aeruginosa* (NCIM 2074) USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY." *international journal of research in pharmacy and chemistry* 1(4): 925–935.
 40. **Satsangee, R, and P Ghosh. (1990).** "Anaerobic degradation of phenol using an acclimated mixed

culture." *Applied Microbiology and Biotechnology* 34(1): 127–130.

41. **Shourian, Mitra, KA Noghabi, and HS Zahiri. (2009).** "Efficient phenol degradation by a newly characterized *Pseudomonas* sp. SA01 isolated from pharmaceutical wastewaters." *Desalination*.
42. **Loh, KC, and CPP Tan. (2000).** "Effect of additional carbon sources on biodegradation of phenol." *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 64: 756–763.
43. **Premalatha, A, and G Suseela Rajakumar. (1994).** "Pentachlorophenol degradation by *Pseudomonas aeruginosa*." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 10(3): 334–337.
44. **Kotresha, D, and GM Vidyasagar. (2008).** "Isolation and characterization of phenol-degrading *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 4996." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24(4): 541–547.
45. **Shweta, and K Dhandayuthapani. (2013).** "Original Research Article Influence of media supplements on phenol biodegradation by *Pseudomonas aeruginosa* SPD10." *journal of current microbiology and applied sciences* 2(6): 64–69.
46. **Abd-el-haleem, Desouky, Usama Beshay, Abdu O Abdelhamid, Hassan Moawad, and Sahar Zaki. (2003).** "Effects of mixed nitrogen sources on biodegradation of phenol by immobilized *Acinetobacter* sp. strain W-17." *African Journal of Biotechnology* Vol. 2(January): 8–12.

Phenol Biodegradation

Ahmad Parsa Monfared*, Kambiz Akbari Noghabi

MSc of Iran university of science and technology, Tehran, Iran

Assistant professor of national institute of genetic engineering and biotechnology, Tehran, Iran

parsa.am@hotmail.com

Abstract

Today chemical activities inter a lot of toxic compounds into the environment. Aromatic compounds are a large category of these group. Phenol is one of most toxic aromatic compounds that inter into the environment by various way. Several methods introduced to invironmental cleanup but they are very expensive and make a lot of problems. Numerous microorganism has been identified that use phenol as a nutrient and they can eliminate this compound. In this research the genes which participate in phenol biodegradation, and the effect of several substantial factor such as carbon, nitrogen and temperature on phenol biodegradation are analyzed.

Keywords: phenol, microorganism, biodegradation, degradation pathway, dmp gene cluster