

## بررسی نقش میکروارگانیسم‌های جداسده از خاک در حذف بیولوژیکی آلاینده‌های سمی و پایدار نفتی

حسرو صدیق‌بیان<sup>۱\*</sup>، علیرضا منادی<sup>۲</sup>، هائده مبین<sup>۳</sup>، دنیز صدیق‌بیان<sup>۵</sup>

۱. دانشجوی دکتری گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز

Adehnad@abrii.ac.ir

۲. استادیار مرکز آموزش کشاورزی استان آذربایجان شرقی

DrMonadi@yahoo.com

۳. استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز

Drhmobaiyen@yahoo.com

۴. استادیار گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز

deniz.sdg@gmail.com

۵. دانشجوی رشته شیمی کاربردی دانشکده شیمی دانشگاه تبریز

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۱۱/۲۹

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۱/۶/۱۸

### چکیده

در بین آلاینده‌های ورودی به محیط‌زیست، هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAHs) Hydrocarbons از نظر آسیب‌های مختلف و مهم به انسان و محیط‌زیست اهمیت خاصی دارند. این مواد جزو آلاینده‌های نفتی‌اند که در ساختمان آن‌ها حلقه‌هایی بنزنی به کار رفته است. این ترکیبات مانند آنتراسن، نفتالین و فناتنن از مهم‌ترین آلاینده‌های سمی و سرطان‌زا به شمار می‌روند که در اثر دفع غیراصولی پسماندهای صنایع از جمله نفت و پتروشیمی، رنگ و لاستیک‌سازی، داروسازی و پلاستیک باعث آسیب جدی و آلودگی خاک، آب و موجودات زنده و آثار سوء فراوانی می‌شوند. برای پاکسازی این مواد طرق مختلفی مطرح است که روش‌های بیولوژیکی و استفاده از پتانسیل میکروارگانیسم‌های بومی خاک به علت ارزان و قابل دسترس بودن بر سایر روش‌ها ترجیح داده می‌شوند. میکروارگانیسم‌های در خاک از این هیدروکربن‌ها به‌منزله منبع کربن، انرژی و تولید آب، CO<sub>2</sub>، بیومس و مواد بی‌ضرر استفاده می‌کنند. در این مطالعه، از نقاط مختلف تبریز و خاک‌های آلوده پالایشگاه تبریز نمونه‌برداری و در محیط کشت YGM و استارج کازئین آگار کشت میکروبی انجام شد و ۱۰۰ گلخانه میکروب خالص و ایزوله به دست آمد. از هیدروکربن آنتراسن غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر در محیط کشت مولرهینتون براث تهیه و مقدار ثابتی از باکتری‌های فوق به صورت جداگانه اضافه شد. سپس، به مدت یک هفته در ۲۸ درجه سانتی گراد با شیکر ۱۲۰ دور در دقیقه تیمار و انکوباسیون و میزان تخریب آنتراسن با اسپکتروفوتومتر، ارزیابی و درصد تخریب تعیین شد. ۹۰٪ باکتری تجزیه کننده آنتراسن جدا شد که میزان تخریب آن‌ها بین ۳/۴-۸۲/۶ درصد بود و تعداد ۱۳ سوش تخریب بیش از ۵۰ درصد داشتند. با بهبود شرایط رشد و تکثیر باکتری‌های مؤثر و تجزیه و شناسایی متابولیت‌های حاصل از تخریب می‌توان در پایلوت نیمه‌صنعتی و کاربردی به پاکسازی خاک‌های آلوده از PHAs و تولید متابولیت‌های مفید مثل انواع اسیدها، الکل‌ها و دیگر مواد بی‌ضرر اقدام کرد.

### کلیدواژه

آلودگی خاک، تجزیه بیولوژیکی، سوموم آروماتیک، میکروارگانیسم‌های خاک.

جلب کرده است. هیدروکربن‌های نفتی در سطح دریا و خشکی تهدیدی جدی برای اکوسیستم به شمار می‌آیند، زیرا برای محیط‌زیست به شدت سرطان‌زا و مضرنند. نفت خام در سطح زمین، سبب آتش‌سوزی، آلودگی آب‌های زیرزمینی و هوانیز می‌شود، به همین علت این آلودگی‌ها

مبازه با آلودگی‌های نفتی از زمان پیدایش این ماده سیاهرنگ گرانبهای بخشی از پژوهش‌های علمی را به خود اختصاص داده که در گذشته به مراتب کمتر و امروزه به طور روزافزون، توجه متخصصان و کارشناسان را به خود

سرطان‌زاهای قوی برای انسان شناخته شده‌اند. این نوع ترکیب‌ها معمولاً در اثر حرارت مواد آلی در درجات بالا ایجاد می‌شوند. محققان بر این باورند افرادی که با قطران زغال‌سنگ کار می‌کنند یا اشخاص سیگاری، بر اثر این گونه مواد، مبتلا به سرطان پوست و ریه می‌شوند (Gilchrist, 1998). اصلاح زیستی راهکار یا فرایندی است که در آن، از میکروارگانیسم‌ها، گیاهان یا آنزیم‌های گیاهی یا میکروبی برای سمیت‌زدایی آلینده‌ها در خاک یا محیط‌های دیگر استفاده می‌شود. در این تغییر شکل، برای میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده کربن انرژی فراهم می‌شود تا برای تبدیل آلینده‌ها به ترکیبات حد واسط با سمیت کمتر یا معدنی کردن آن‌ها به اشکال غیرآلی (از قبیل  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ) استفاده شود. ژن‌های میکروبی، آنزیم‌های تجزیه‌کننده یا کاتالیست‌های بیولوژیکی را می‌سازند که مواد شیمیابی خطرناک را در محیط خاک اکسید، احیا، دهالوژنه، دآلکیله، دامینه و هیدرولیز می‌کنند (Samanta, 2002).

### مواد و روش بررسی

تجهیزات: سمپلر (مدل Volac ساخت انگلستان)، انکوباتور معمولی (مدل Inculab ساخت ژاپن)، انکوباتور شیکردار (مدل پارس آنالیز ایران)، دستگاه اسپکتروفوتومتر دوشعاعی (مدل UV1700 Shimadzu ساخت ژاپن).

این تحقیق در سه مرحله اصلی به ترتیب زیر انجام شد:

الف) تهیه سوش‌های خالص باکتریایی از نمونه‌های خاک؛

ب) تیمار باکتری‌ها با رقت مشخص هیدروکربن مورد نظر؛

ج) استخراج هیدروکربن باقیمانده و تعیین درصد تخریب.

پس از حفر چاه‌ای به عمق ۳۰ سانتی‌متری از انتهای به سمت بالا در مناطق مختلف خاک آلوده به مواد نفتی

باید هر چه سریع‌تر پاکسازی شود تا محیطی ایمن و عاری از خطر داشته باشیم (Chaineau, 2000). برای پاکسازی و آلودگی‌زدایی مواد نفتی، روش‌های استاندارد و معمول زیادی وجود دارد که به علت هزینه بالا و پایین‌بودن کارایی کمتر استفاده می‌شوند. پروسه‌های پاکسازی بیولوژیک مواد نفتی، ترکیبات سمی را به مواد غیرسمی و بی خطر تبدیل می‌کنند. این عمل در نتیجه فعالیت‌های متابولیک میکروارگانیسم‌هایی صورت می‌گیرد که قادرند از مواد نفتی به منزله منبع انرژی و کربن خود استفاده کنند. عرضه این فناوری می‌تواند بسیار مفید باشد، زیرا قادر است بدون ایجاد خلل در محیط‌زیست طبیعی، ترکیبات سمی مواد نفتی را به مواد غیرسمی تبدیل کند. در مقایسه با دیگر فناوری‌های پاکسازی مانند سوزاندن و دفن لجن‌های نفتی، روش بیولوژیک بسیار ارزان‌تر و مقرون به صرفه‌تر است (Chaineau, 2003). نفت خام علاوه بر آنکه از هیدروکربن‌های مختلف شامل پارافین (آلکان‌ها)، الفین (آلکن‌ها)، استیلن (آلکین‌ها)، نفتین (سیکلوآلکان‌ها) و هیدروکربن‌های آروماتیک تشکیل شده، حاوی ترکیبات گوگردی، اکسیژن، ازت و فلزات نیز هست که مهم‌ترین فلزات آن وانادیم، سدیم و نیکل است (Marle, 1991). آروماتیک‌ها با شاخه کناری یا چندحلقه‌ای، مانند بنزن، تولوئن، آنتراسن و نفتالین، که در ترکیب نفت خام مشاهده می‌شوند، نسبت به سایر هیدروکربن‌های نفت خام از چگالی بالاتر و سمیت و پایداری زیادی برخوردارند (Gilchrist, 1998). آنتراسن ( $\text{C}_{14}\text{H}_{10}$ ) به شکل کریستال زرد با فلورسنس آبی، محلول در الکل و اتر، و نامحلول در آب است و در دمای  $27/4$  درجه سانتی‌گراد وزن مخصوص  $1/25$ ، نقطه ذوب  $217$  درجه سانتی‌گراد، نقطه جوش  $340$  درجه سانتی‌گراد و نقطه اشتعال  $250$  درجه سانتی‌گراد دارد و ماده‌ای سرطان‌زا و سمی است.

هیدروکربن‌های پلی‌سیکلیک آروماتیک، از جمله آنتراسن، که دارای حلقه‌های متراکم‌اند، به منزله

## نتایج

از نمونه‌های خاک کشت داده شده، ۱۰۰ سوش باکتریایی شامل ۸۶ سوش از خاک مناطق مختلف و ۱۴ سوش از پالایشگاه تبریز، ایزوله و خالص شدند. با استفاده از اسپکتروفتومر دوشعاعی جذب نوری نمونه‌های تیمارشده در طول ۳۶۰ نانومتر قرائت شد. مثال‌هایی از طیف‌های جذبی نمونه‌های تیمارشده آنتراسن با غلظت اولیه  $1\text{mg/ml}$  با باکتری‌های در شکل ۱ آمده است. با مشخص شدن اعداد  $A_1$  و  $A_2$  در رابطه  $\frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100$ ، میزان درصد تخریب بیولوژیکی آنتراسن، تحت تأثیر باکتری‌های مختلف به دست آمد (جدول ۱). بیشترین تخریب آنتراسن  $82/6$  درصد است. با توجه به مورفولوژی کلونی‌ها و بررسی مشخصات اولیه، باکتری‌های جداسده از دو خانواده استرپتومایسین‌ها و سودوموناس‌هایند. بیشترین درصد تخریب‌های بیولوژیک مربوط به گروه سودوموناس‌هاست.

## بحث و نتیجه‌گیری

ضرورت اصلاح خاک از آلاینده‌ها، امری مهم و اجتناب‌ناپذیر است (Cole, 1994). در این کار پژوهشی با این نگرش، پس از جداسازی تعدادی از باکتریای خاک (۱۰۰ نمونه) مناطق مختلف تبریز (۸۶ سوش باکتریایی) و خاک مناطق آلوده به مواد نفتی پالایشگاه تبریز (۱۴ سوش باکتریایی)، آنتراسن (بهمنزله هیدروکربن پلی‌سیکلیک آروماتیک) با این میکروارگانیسم‌ها تیمار و تخریب و درصدهای مختلفی از تخریب مشاهده و گزارش شد. با توجه به نتایج و یافته‌های طرح، باکتری‌های جداسده از خاک، پتانسیل و قدرت تخریب و تجزیه هیدروکربن‌های نفتی را در شرایط آزمایشگاهی و با استفاده از محیط‌های کشت غنی‌شده دارای منابع فسفر و نیتروژن دارند. سوابق تحقیقاتی انجام شده نیز این موضوع را تأیید می‌کنند.

و همکاران (۱۹۹۹) در طرح تحقیقاتی خود نشان دادند قدرت تخریب هیدروکربن‌های نفتی از طریق میکروفلور طبیعی خاک با افزودن منبع نیتروژن و فسفر از

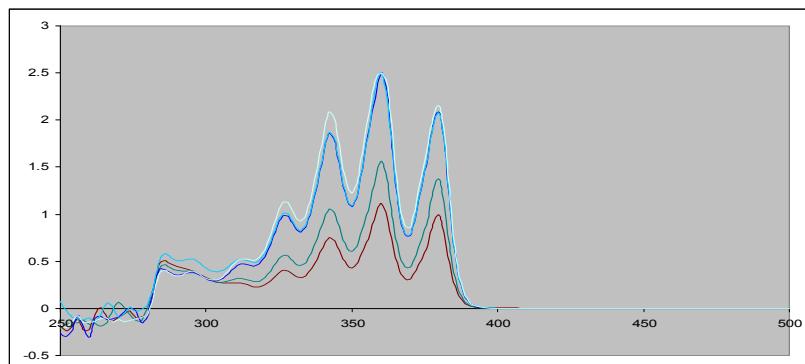
پالایشگاه در تبریز، از طول گودال حفرشده نمونه خاک برداشته شد. از نمونه‌های خاک رقت‌های  $10^{-4}$ -۱ به صورت سریدر سرم فیزیولوژیک تهیه شد. از هر رقت به دست آمده به میزان ۱۰۰ مایکرو در پلیت حاوی محیط کشت نشاسته کازئین آگار (Starch casein agar) منتقل و با اسپریدر در سطح پلیت پخش شد. این پلیت‌ها در انکوباتور دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز قرار گرفتند. سپس، کلونی‌ها از طریق لوب استریل به پلیت حاوی محیط کشت اختصاصی YGM (مخمر گلوکز مالت آگار) منتقل و دوباره انکوبه شدند. روشی که برای به دست آوردن تک‌کلونی استفاده شد، کشت خطی بود. برای تیمار باکتری با هیدروکربن آنتراسن، در شرایط استریل به تعداد باکتری‌های جداسده در ارلن مایرهای شیشه‌ای ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هیتتون براث (Liofilchem) (ایتالیا) و ۲۵ میلی‌گرم پودر آنتراسن (MERCK آلمان) ریخته شد. از باکتری‌های خالص شده، سوسپانسیون ۰/۵ مک فارلنده تهیه و ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون فوق، به محیط کشت‌ها اضافه شد. ارلن‌ها به مدت ۷ روز در انکوباتور شیکردار ۱۲۰ دور در دقیقه با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. با استفاده از ۵ لیتر حلal تولوئن و روش دکانتاسیون با قیف، آنتراسن باقی‌مانده و تجزیه‌نشده و متابولیت حاصل از تجزیه آنتراسن از محیط کشت جدا شدند. میزان آنتراسن تخریب شده در برابر استانداردهای معین آنتراسن در طول موج محدوده  $500-200$  نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومر دوشعاعی اندازه‌گیری شد. پس از قرائت جذب نوری نمونه‌ها و مقایسه طیف نمونه‌ها با استاندارد و کاهش میزان جذب نوری نمونه‌ها می‌توان تجزیه هیدروکربن و درصد تخریب آن از طریق باکتری را تعیین کرد.

$$\frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100 = \text{درصد تخریب} \quad (1)$$

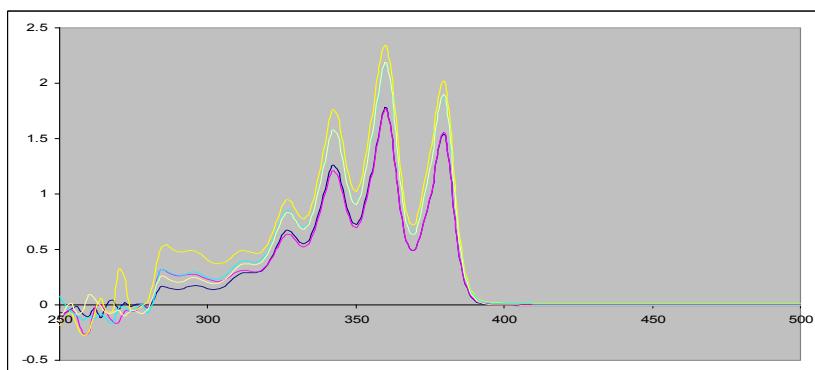
$A_1$ : جذب هیدروکربن قبل از تخریب از طریق میکروارگانیسم و  $A_2$ : جذب هیدروکربن بعد از تخریب از طریق میکروارگانیسم (Southam, 2001).

جدول ۱. درصد تخریب آنتراسن با ۱۰۰ سوш باکتری جداسده از خاک

ردیف	سوش میکروبی	درصد تخریب	ردیف	سوش میکروبی	درصد تخریب
۱	g <sub>1</sub>	۲۸/۶	۵۱	M <sub>31</sub>	۳۲
۲	g <sub>2</sub>	۲۹/۲	۵۲	M <sub>58</sub>	۲۴/۶
۳	g <sub>3</sub>	۶/۲	۵۳	M <sub>60</sub>	۲۶/۲
۴	g <sub>4</sub>	۱۲/۶	۵۴	M <sub>61</sub>	۰
۵	g <sub>5</sub>	۳/۴	۵۵	M <sub>65</sub>	۲۳/۱
۶	g <sub>6</sub>	۵۵/۲	۵۶	M <sub>66</sub>	۳۶/۲
۷	g <sub>7</sub>	۳۷/۷	۵۷	C <sub>2</sub>	۲۹/۶
۸	g <sub>8</sub>	۰	۵۸	C <sub>7</sub>	۳۰/۴
۹	g <sub>9</sub>	۰	۵۹	C <sub>15</sub>	۰
۱۰	g <sub>10</sub>	۰	۶۰	C <sub>17</sub>	۱۵/۲
۱۱	g <sub>11</sub>	۳۵/۸	۶۱	C <sub>18</sub>	۲۵/۲
۱۲	g <sub>12</sub>	۱۲/۶	۶۲	B <sub>2</sub>	۲۰/۷
۱۳	g <sub>13</sub>	۱۰/۸	۶۳	B <sub>7</sub>	۳۹/۶
۱۴	g <sub>14</sub>	۲۰/۹	۶۴	B <sub>19</sub>	۴۵/۸
۱۵	F <sub>6</sub>	۸۲/۶	۶۵	B <sub>20</sub>	۶۱/۵
۱۶	F <sub>9</sub>	۱۵	۶۶	B <sub>25</sub>	۱۹/۲
۱۷	F <sub>10</sub>	۲۴/۶	۶۷	B <sub>27</sub>	۳۷/۷
۱۸	F <sub>11</sub>	۳۷	۶۸	B <sub>33</sub>	۴۷/۶
۱۹	F <sub>12</sub>	۳۸/۲	۶۹	A <sub>۱</sub>	۰
۲۰	F <sub>13</sub>	۳۷/۵	۷۰	A <sub>۲</sub>	۳/۴
۲۱	F <sub>14</sub>	۴۵	۷۱	A <sub>۳</sub>	۱۷/۲
۲۲	F <sub>19</sub>	۲۸	۷۲	A <sub>۴</sub>	۰
۲۳	F <sub>20</sub>	۱۱	۷۳	A <sub>۵</sub>	۴/۸
۲۴	F <sub>22</sub>	۰	۷۴	A <sub>۶</sub>	۱۷/۷
۲۵	F <sub>24</sub>	۳۱	۷۵	A <sub>۷</sub>	۳۷/۲
۲۶	E <sub>۱</sub>	۲۰	۷۶	A <sub>۸</sub>	۲۱/۱
۲۷	E <sub>۲</sub>	۱۲	۷۷	A <sub>۹</sub>	۰
۲۸	E <sub>۳</sub>	۴۱	۷۸	A <sub>۱۰</sub>	۳۱/۸
۲۹	E <sub>۴</sub>	۴۱	۷۹	A <sub>۱۱</sub>	۵۳/۶
۳۰	E <sub>۵</sub>	۵۱	۸۰	A <sub>۱۲</sub>	۲۵/۹
۳۱	E <sub>۶</sub>	۲۰	۸۱	A <sub>۱۶</sub>	۱۱/۸
۳۲	E <sub>۷</sub>	۴۵/۲	۸۲	A <sub>۱۷</sub>	۲۸/۹
۳۳	E <sub>۸</sub>	۴۱	۸۳	A <sub>۲۰</sub>	۱۳/۸
۳۴	E <sub>۹</sub>	۲۷	۸۴	A <sub>۲۲</sub>	۳۴/۷
۳۵	E <sub>۱۰</sub>	۳۴	۸۵	A <sub>۲۳</sub>	۶۷
۳۶	E <sub>۱۱</sub>	۲۵/۱	۸۶	A <sub>۲۵</sub>	۲۷/۱
۳۷	E <sub>۱۲</sub>	۶۷/۸	۸۷	A <sub>۲۶</sub>	۵۲/۷
۳۸	E <sub>۱۳</sub>	۳۸/۷	۸۸	A <sub>۲۷</sub>	۲۶/۱
۳۹	E <sub>۱۴</sub>	۲۴/۶	۸۹	A <sub>۲۸</sub>	۴۰/۷
۴۰	E <sub>۱۵</sub>	۳۶/۹	۹۰	A <sub>۲۹</sub>	۱۸/۴
۴۱	E <sub>۱۶</sub>	۷۲/۸	۹۱	A <sub>۳۰</sub>	۳۷/۳
۴۲	E <sub>۱۷</sub>	۰	۹۲	A <sub>۳۱</sub>	۲۲
۴۳	E <sub>۱۸</sub>	۶۰/۴	۹۳	A <sub>۳۲</sub>	۵۶/۱
۴۴	E <sub>۱۹</sub>	۲۷/۳	۹۴	A <sub>۳۳</sub>	۲۹/۳
۴۵	E <sub>۲۰</sub>	۵۵/۲	۹۵	A <sub>۳۴</sub>	۳۷/۸
۴۶	D <sub>۶</sub>	۴۲/۶	۹۶	A <sub>۳۵</sub>	۴۷/۴
۴۷	D <sub>۲۳</sub>	۵۳/۰	۹۷	A <sub>۳۶</sub>	۴۱/۹
۴۸	D <sub>۲۶</sub>	۳۶	۹۸	A <sub>۳۷</sub>	۴۲/۶
۴۹	D <sub>۴۰</sub>	۲۳/۶	۹۹	A <sub>۳۸</sub>	۶۱/۳
۵۰	M <sub>۲</sub>	28.9	۱۰۰	A <sub>۳۹</sub>	۸/۳



A. جذب نوری ۵ نمونه متابولیت حاصل از تخریب بیولوژیک  $.g_6=1.118$ ,  $g_7=1.566$ ,  $g_8=2.5$ ,  $g_9=2.5$ ,  $g_{10}=2.5$



B. جذب نوری ۵ نمونه متابولیت حاصل از تخریب بیولوژیک  $g_1=1.785$ ,  $g_2=1.768$ ,  $g_3=2.344$ ,  $g_4=2.185$ ,  $g_5=2.415$ ,  $g_6=2.5$

شکل ۱. طیف جذبی نمونه‌های تیمارشده آنتراسن پس از تخریب بیولوژیکی در مقابل استاندارد با اسپکتروفوتومتر دوشعاعی در طول موج ۳۶۰ نانومتر

و نشان دادند نفتالین و فنانترن در محیط کشت و مجاورت باکتری‌ها در ۶۰ ساعت و پیرن در ۸۰ ساعت کاملاً تخریب می‌شوند.

در این تحقیق ثابت شد که باکتری‌های جداشده از خاک و مواد مکمل غذایی (مانند نیتروژن، فسفر، پتاسیم و جزآن) در شرایط آزمایشگاهی به منظور تخریب بیولوژیکی هیدروکربن‌های نفتی پتانسیل قوی دارند. در این طرح برای اثبات این موضوع از هیدروکربن‌های پایدار با سمیت زیاد مثل آنتراسن استفاده و مشاهده شد از ۱۰۰ سوش جداشده، ۹۰ باکتری قدرت تجزیه آنتراسن بین ۳/۴-۸۲/۶ درصد داشتند و ۱۳ سوش دارای قدرت تخریب بیش از ۵۰ درصد بودند. همچنین، در این تحقیق از باکتری‌های در خاک آلوده پالایشگاه نفت تبریز استفاده شد که نهایتاً ۱۴ سوش باکتری جدا شد. از ۸۶ سوش

۱۱/۹ به ۴۲/۹ درصد تحت شرایط انکوباسیون، در ۲۸ روز افزایش می‌یابد. میزان تخریب ترکیبات مختلف در شرایط فوق به قرار زیر است: دودکان ۱۰۰ درصد، تری‌دکان ۸۹ درصد، تترادکان ۷۹ درصد، پتادکان ۶۸ درصد، هگزادکان ۴۷ درصد، هپتادکان ۴۶ درصد، اوکتادکان ۸۲ درصد، نونادکان ۶۰ درصد و ایکوکزان ۵۶ درصد.

Chaineau و همکاران (۲۰۰۵) در طرح پژوهش خود با نام «آثار غلطت مواد مغذی بر تخریب بیولوژیکی نفت خام از طریق جمعیت میکروبی خاک در یک نمونه خاک کشاورزی» میزان تجزیه این مواد را از ۴۷ به ۶۲ درصد رساندند.

Saumyen و همکاران (۱۹۹۹) با استفاده از سوش باکتریابی و با طراحی راکتور و مدل ریاضی، کینتیک تخریب مخلوطی از نفتالین، فنانترن و پیرن را مطالعه کردند

جداشده از خاک قادر است در شرایط آزمایشگاهی در ۵ روز ۹۵ درصد از نفتالین (به منزله نمونه‌ای از PAHs) را تخریب و تجزیه کند.

Farinazleen و همکاران (۲۰۰۴) با کنسرسیومی از باکتری‌های *Bacillus* و *Pseudomonas* میزان تخریب بیولوژیکی هیدروکربن‌های نفتی در خاک را بررسی کردند. غلظت باقیمانده نفت خام ( $C_{15}-C_{22}$ ) بعد از ۳۰ روز،  $\frac{74}{34}$  درصد و بعد از ۶۰ روز به  $\frac{19}{34}$  درصد در محیط رسید.

Zhang و همکاران (۲۰۰۴) ثابت کردند که یک گونه *Pseudomonas* قادر به حل کردن فناتنرن از  $0/7$  به  $35$  میلی‌گرم در لیتر در حضور سورفکتانت تولیدشده از آن باکتری است و نهایتاً به تخریب فناتنرن منجر می‌شود.

Rodrigo و همکاران (۲۰۰۵) در تحقیق خود روی گونه‌های *Pseudomonas* جداشده از خاک‌های آلوده پتروشیمی از بین  $26$  سوش قادر به شناسایی  $3$  سوش شدند که در محیط کشت حاوی آنتراسن به خوبی رشد کردند و از لحاظ توالی rRNA 16S مشابه *Ps. aeruginosa* و *Citronellolis* بودند که با تولید متابولیت‌های ثانویه به ترتیب توانایی تخریب  $71$  و  $56$  درصد از آنتراسن در محیط کشت در مدت  $48$  ساعت را داشتند.

باکتری‌ها به علت داشتن آنزیم‌های مختلف تجزیه‌کننده نسبت به سایر میکروارگانیسم‌ها اهمیت بیشتری دارند. از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به باسیلوس‌ها، سودوموناس‌ها، انتروباکتریاسه‌ها، استرپتومایسیس‌ها و مایکوباکتریوم‌ها اشاره کرد که قادر به استفاده از PAHs به مثابة منبع کربن و انرژی‌اند و با تولید بیوسورفکتانت‌هایی، باعث تجزیه و تخریب ساختمان شیمیایی این ترکیبات می‌شوند و با تولید متابولیت‌های مختلف می‌توانند این مواد آلی را با درصددهای مختلفی، تجزیه و  $CO_2$  و  $H_2O$  و مواد بی‌ضرر دیگر تولید کنند. در پژوهش انجام‌شده باکتری‌های جداشده از دو خانواده استرپتومایسیس‌ها و سودوموناس‌ها بودند و گروه سودوموناس‌ها از پتانسیل بیشتری نسبت به

جداشده از خاک مناطق غیرآلوده شهر،  $81$  سوش و از  $14$  سوش جداشده از پالایشگاه تبریز  $11$  سوش قادر به تجزیه آنتراسن شدند. با بررسی نتایج می‌توان به پتانسیل باکتری‌های خاک پی‌برد.

Eder و همکاران (۲۰۰۶) یک سوش *Pseudomonas* را از خاک آلوده به مواد نفتی از پالایشگاه نفت جدا کردند. این باکتری با تولید سورفکتانت‌هایی، قدرت تخریب  $72$  درصد آنتراسن را داراست.

در طرح پژوهشی انجام‌شده علاوه بر باکتری‌های جداشده از خاک مناطق آلوده نفتی، از باکتری‌های مناطق غیرآلوده نیز استفاده و مشاهده شد اغلب میکروارگانیسم‌های فلور طبیعی در انواع مختلف خاک‌ها، قدرت تجزیه هیدروکربن‌های آلاینده را دارند.

Giraud و همکاران (۲۰۰۱) از بین  $40$  سوش جداشده از مناطق آلوده و پسماندهای نفتی نشان دادند که  $33$  سوش قادر به تجزیه فلورانتین و  $2$  سوش قادر به تخریب آنتراسن بیشتر از  $70$  درصدند.

MohmoudAbou و همکاران (۲۰۰۳) در مطالعه خود با عنوان «تخریب بیولوژیکی نفتالین از طریق *Pseudomonas*» نشان دادند که در بیوراکتور در شرایط دمایی  $30$  درجه سانتی‌گراد،  $pH=7$  و غلظت نفتالین  $25mM$  در انکوباتور شیکردار در  $4$  روز  $60$  درصد نفتالین تجزیه می‌شود.

ممکن است هیدروکربن‌های فراری مانند نفتالین در زمان طولانی خود به خود تجزیه شوند، اما این تجزیه در مجاورت باکتری‌های خاکزی و شرایط انکوباسیون مناسب به طور چشمگیر و چندین برابر افزایش می‌یابد.

Bestetti و همکاران (۲۰۰۲) طی مطالعات خود روی رسوبات آبکی پسماندهای نفتی، باکتری‌هایی را جدا کردند که قادر به تجزیه  $99$  درصد نفتالین و تبدیل آب به  $CO_2$  و  $H_2O$  در  $3$  روز است، در حالی که میزان تخریب نفتالین بدون حضور این باکتری  $25$  درصد طی  $4$  روز بود.

Andrei و همکاران (۲۰۰۴) در تحقیق خود با طراحی راکتور و مدل‌های ریاضی نشان دادند که *Ps.Putida G7*

میکروارگانیسم‌ها و اثبات قدرت خودپالایی خاک در برابر انواع آلاینده‌ها، از طریق متابولیسم میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده در آن است.

گروه دیگر برخوردارند. هدف از این طرح، بررسی قدرت تجزیه‌کننده‌گی میکروارگانیسم‌ها در انواع خاک‌های آلوده و غیرآلوده به مواد نفتی و مقایسه پتانسیل این

## منابع

- Andrei, E., et al. 2004. Efficiency of naphthalene biodegradation by *pseudomonas putida* G7 in soil. *ChemTechnolBiotechnol*, Vol. 79, PP: 562-569.
- Bestetti, G., et al. 2002. Kinetic study of naphthalene biodegradation in aerobic slurry phase microcosms for the optimisation of the process. *Jour. Water, Air, and Soil Pollution*, Vol.3, PP: 223-231.
- Chaineau, C.H., J.L., Chaineau, and J.,Oudot. 2000. Biodegradation of fuel oil hydrocarbons in the rhizosphere of Maize (*Zea mays L.*) .*Jour of EnvironmentalQuality*, Vol. 29, PP: 569-578.
- Chaineau, C.H.,et al.2003. Bioremediation of a crude oil polluted soil : biodegradation, leaching and toxicity assessments. *Water Air Soil Pollution.*, Vol. 144, PP: 419-440.
- Chanieau, C.H., G., Rougeux., C., Yeremian. 2005. Effects of nutrient concentration on the biodegradation of crude oil and associated microbial populations in the soil. *Soil Biology and Biochemistry.*, Vol.37, Issue 8, P: 1490-1497.
- Cole, G.M.1994. Assessment and remediation of petroleum contaminated sites,TD879.P4C65, Lewis Publishers, Florida, USA.
- Eder, C.,et al. 2006. Anthracene biodegradation and surface activity by an iron – stimulated *Pseudomonas* sp. *Braz-J-Microbial.*, Vol. 50, PP: 88-93.
- Farinazleen,M.G . 2004.Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium.  *International Biodeterioration&Biodegradation*,Vol.54, Issue 1, PP: 61-94
- Gilchrist, T.L.1998. Heterocyclic chemistry, Second edition, Longman. Scientific &Thechnical.
- Giraud, F.,et al. 2001.Biodegradation of Anthracene and fluoranthene by fungi isolated from an Experimental constructed wetland for Wastewater Treatment. *Elsevier Wat. Res* , Vol. 35, No.17, PP: 4126-4136.
- Jussara, P.,P., Francisca. 1999. Biodegradation of crude oil in sandy sediment. *International Biodeterioration& Biodegradation*, Vol. 44, PP: 87-92.
- Mahmoud Abou, S., M. Rachida. 2003. Biodegradation of naphthalene by free and alginate entrapped *pseudomonas* sp. *International Biodeterioration&Biodgreadation*, Vol. 54, PP: 61-67.
- Marle, C.M. 1991. Oil entrapment and mobilization. In M. Baviere (ed.), *Basic Concepts in Enhanced Oil Recovery Processes*. Elsevier Applied Science, London, United Kingdom. PP: 3-39.
- Rodrigo, J.S., et al. 2005. Anthracene biodegradation by *Pseudomonas* sp. Isolated from a petrochemical sludge landfarming site. *International Biodeterioration& Biodegradation.*, Vol. 56, PP: 143-150.
- Samanta, S.K., O.V., Singh., R.K., Jain.2002. Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. *Trends in Biotechnology*, Vol. 20, PP: 243-248.
- Saumyen, G.,et al. 1999.Multisubstrate Biodegradation kinetics of Naphthalene, Phenanthrene, and Pyrene Mixtures.*Jour of Environmental Management.*, Vol. 68, PP: 242-250.
- Southam, G., M.,Whitney.,C.,Knickerbocker.2001. Structural characterization of the hydrocarbon degrading bacteria-oil interface: implications for bioremediation. *International Biodeterioration& Biodegradation*, Vol. 47, Issue 4, PP: 197-201.
- Zhang, H., et al.2004. Isolation and characterization of novel bacteria degrading polycyclic aromatic hydrocarbons from polluted Greek soils. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 65, PP: 124-131.