محیط زیست طبیعی، منابع طبیعی ایران، دوره ۶۹، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۵
صفحات ۷۵۷ تا ۷۷۱

بررسی زیست پالایی ترکیبات آروماتیک نفتی با میکروارگانیسم های خاک در شهر تبریز

خسرو صدیق بیان*[1]، مهناز مظاهری اسدی[2]، عباس فرازمند[3]، علیرضا منادی سفیدان[4]، ناصرعلی اصغرزاد[5]

۱- دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، پژوهشکده بیوتکنولوژی، سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

۲- استاد، پژوهشکده بیوتکنولوژی، سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

۳- استادیار، پژوهشکده بیوتکنولوژی، سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

۴- دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۵- استاد، گروه علوم خاک، دانشگاه تبریز، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۹/۱۶ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۵/۱۱)

چکیده

خاک های آلوده به ترکیبات نفتی معمولادارای گونه های باکتریایی قادر به تجزیه ترکیبات آروماتیک هستند.هیدروکربن‌های آروماتیک پلی سیکلیک همانند آنتراسن ، نفتالین و فنانترن سمی ترین و سرطانزاترین آلاینده ها بوده و آسیب‌های جدی به محیط زیست و موجودات زنده وارد می کنند. این ترکیبات غالبا توسط صنایع پیروشیمی به خاک ها تخلیه می شوند. روش های بیولوژیکی با بکار گیری میکروارگانیسم های موثر جدا شده از خاک های آلوده نفتی برای پاک سازی این خاک ها ترجیح داده می شود. میکروارگانیسم ها از این هیدروکربن ها بعنوان منبع کربن و انرژی استفاده کرده و نهایتاً تولید آب، CO_2 و مواد بی‌ضرر می‌کنند. در این مطالعه، نمونه هایی از خاک های آلوده محوطه پالایشگاه و مجتمع پتروشیمی ، ایستگاه های پمپ بنزین و گاراژهای تعمیر اتومبیل در شهرتبریز برداشته شدند و سوسپانسیون خاک ها در محیط های اختصاصی کشت شده و ۱۰۰ جدایه بدست آمد. از هیدروکربن های آنتراسن، فنانترن و نفتالین به مقدار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به محیط مولرهینتون براث افزوده و جمعیت ثابتی از باکتری های فوق بصورت جداگانه اضافه شد و به مدت یک هفته در $28^{\circ}c$ با دور ۱۳۰ در دقیقه در انکوباتور نگهداری شد. میزان تخریب هیدروکربن های مذکور با روش اسپکتروفتومتری تعیین گردید. نهایتا تعداد زیادی از باکتری های تجزیه کننده هیدروکربن های آروماتیک با قدرت تخریب مختلف بدست آمد، در بین آنها بترتیب ۵۱٪، ۴۷٪ و ۴۱٪ از کل جدایه ها دارای قدرت تجزیه بیولوژیکی بیش از ۳۰٪ ازمواد نفتالین ، آنتراسن و فنانترن بودند. با تکثیر انبوه و مساعد کردن شرایط رشد، میتوان از این جدایه های موثر در پاک سازی خاک های آلوده به هیدروکربن های آروماتیک در مناطق آلوده نفتی استفاده کرد.

کلید واژگان: آلودگی خاک ، تجزیه زیستی، سموم آروماتیک، میکروارگانیسم های خاک

---

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۹۱۴۷۷۰۷۸۴۷ ایمیل: sadighbayan@yahoo.com

۱. مقدمه

هیدروکربن‌های آروماتیک پلی سیکلیک جزء آلاینده‌های محیطی می‌باشند که از منابع مختلف ازجمله صنایع نفت وپتروشیمی، داروسازی، رنگ، لاستیک، پلاستیک، فاضلاب های صنعتی، خانگی و غیره وارد اکوسیستم‌های آب و خاک می شوند و بطور مستقیم وغیرمستقیم به انسان منتقل و عوارض متعددی ازجمله سرطان را منجر می گردند. از مهمترین آنها می توان به نفتالین، آنتراسن، فنانترن، فلورن،کریزن، فلورانتن، پیرن و مشتقات آنها اشاره کرد(Fedorov, 1992). این ترکیبات در محیط، اغلب به صورت مخلوط های پیچیده ای حضور دارند و به صورت منفرد دیده نمی شوند. بصورت خالص معمولاً جامداتی بی رنگ تا سفید یا زرد کم رنگ بوده و در رنگ سازی، ساخت پلاستیک ها، آفت کش ها و آسفالت جاده ها به کار می روند. هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه ای دسته بزرگی از سرطان زاهای محیطی هستند که در همه جا به عنوان آلاینده های محیطی از جمله آب، هوا و خاک دیده می شوند و بواسطه مقاومت شان در محیط های مختلف برای سلامتی انسان مضر می باشند. از آنجایی که این مواد از حوادث طبیعی از قبیل آتش سوزی جنگل ها، فعالیت های آتشفشانی و همچنین در فرایندهای احتراق ناقص سوخت های فسیلی، کوره های متالوژی و غیره حاصل می شوند، لذا به طور گسترده ای در محیط پراکنده اند. جدا از مقادیر کم حاصل از منابع ژئوشیمیایی و طبیعی، ترکیبات آروماتیک چند حلقه ای عموماً از منابع انسانی حاصل می شوند. دودکش های صنعتی، اگزوز اتومبیل ها، زباله سوزها و وسایل گرم کننده خانگی از منابع مهم آلودگی هوا توسط هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه ای می باشند. آلودگی ناشی از منابع نفتی نیز قابل توجه است. این آلودگی می تواند به علت ترکیدگی لوله های نفتی، پوسیدگی تانکرها، نشت مخازن سطحی و یا حتی زیرزمینی و اتفاقات متعدد دیگری که اغلب در تولید و انتقال مواد نفتی رخ می دهد، باشد. علاوه بر این، این آلودگی می تواند بطور طبیعی و به خاطر نفوذ نفت از مخازن زیرزمینی نفت و گاز به سطوح فوقانی نیز بوجود آید(Jussara & Francisca, 1999).

تماس انسان با آروماتیک چند حلقه ای ممکن است از طریق پوست، استنشاق غبار، خاک یا هوا و خوردن غذاهای آلوده به این مواد ایجاد شود، این ترکیبات می توانند در همه بافت های دارای چربی وارد شوند وتمایل زیادی به ذخیره شدن در کلیه و کبد دارند. سمیت آنها به ترکیب فیزیکوشیمیایی، سمیت ذاتی، متابولیتها و داروهای کلینیکی بستگی دارد. برای حلال هایی مثل بنزن و استیرن، متابولیت ها سموم اصلی هستند(Chanieau*etal* .,2005). برای برطرف نمودن آلاینده های نفتی راه حل های زیستی و غیرزیستی مطرح می باشند.

تکنولوژی پاک سازی پسماندهای نفتی و صنعتی متنوع بوده و مهمترین آنها عبارتند از:

روش ترمیک: سوزاندن مواد وپسماندها در مخازن روباز

روش فیزیکی: مدفون کردن پسماندها در مناطق محصور، فیلتراسیون تحت شرایط خلا و فشار

روش شیمیایی: محلول کردن پسماندها با استفاده از حلال ها، مواد آلی(اپوکسید، پلی استریول، قطران و پلی اورتان)

روش فیزیکو شیمیایی: استفاده از عواملی مانند واکنشگرها

روش بیولوژیکی: تخریب و تجزیه با استفاده از پتانسیل میکروبیولوژی مناسب با خاک منطقه

پاکسازی زیستی یکی ازروش های اصلی پاک سازی محیطی می باشدکه دراین روش ازموجودات زنده بویژه باکتری ها، قارچ ها وگیاهان به منظورتجزیه آلاینده های محیطی وتبدیل آنهابه ترکیبات غیرسمی استفاده می شوند(Zhang *etal*., 2004).

Andrei و همکاران در سال ۲۰۰۴ در تحقیق خود با طراحی راکتور و مدل‌های ریاضی نشان دادند که *Ps.Putida G7* جدا شده از خاک قادر است در شرایط آزمایشگاهی در عرض ۵ روز ۹۵٪ از نفتالین(بعنوان نمونه‌ای از PAHs)را تخریب و تجزیه کند.

Zhang و همکاران در سال ۲۰۰۴ ثابت کردند که یک گونه *Pseudomonas* قادر به حل کردن فنانترن از ۰/۷ به ۳۵ میلی‌گرم در لیتر در حضور سورفکتانت تولید شده از آن باکتری بوده و نهایتاً منجر به تخریب فنانترن می‌شود.

کارایی وسرعت فرآیند تجزیه هیدروکربن ها به نوع ترکیبات آلاینده، طبیعت ماده آلوده شده با ترکیبات نفتی، شرایط محیطی و ویژگی های جمعیت میکروبی بستگی دارد(White, 1997). بسیاری ازمیکروارگانیسم ها قادرند از ترکیبات نفتی به عنوان منبع کربن وانرژی استفاده کنند وآنها را به موادی ازقبیل آب ودی اکسید کربن تبدیل نمایند(Supaka *etal*., 2001). روند تجزیه آلاینده هایکسان نبوده وگروهی سریعاً توسط میکروارگانیسم ها تجزیه وحذف می شوند اما بخش عمده آن به کندی تجزیه می گردد و درنتیجه درمحیط زیست باقیمانده و تجمع می یابند. تجمع این ترکیبات شیمیایی درمحیط زیست تهدید جدی برسلامت انسان ودیگر موجودات است(Mirsal, 2004).

در این پژوهش در نظر بود که پتانسیل تجزیه بیولوژیکی میکروب های موجود در محیط زیست و مناطق آلوده به ترکیبات نفتی بر روی چندین نوع هیدروکربن آروماتیک پلی سیکلیک با سمیت زیاد بررسی شود.

هیدروکربن‌های آروماتیک پلی سیکلیک جزء آلاینده‌های محیطی می‌باشند که از منابع مختلف ازجمله صنایع نفت وپتروشیمی، داروسازی، رنگ، لاستیک، پلاستیک، فاضلاب های صنعتی، خانگی و غیره وارد اکوسیستم‌های آب و خاک می شوند و بطور مستقیم وغیرمستقیم به انسان منتقل و عوارض متعددی ازجمله سرطان را منجر می گردند. از مهمترین آنها می توان به نفتالین، آنتراسن، فنانترن، فلورن،کریزن، فلورانتن، پیرن و مشتقات آنها اشاره کرد(Fedorov, 1992). این ترکیبات در محیط، اغلب به صورت مخلوط های پیچیده ای حضور دارند و به صورت منفرد دیده نمی شوند. بصورت خالص معمولاً جامداتی بی رنگ تا سفید یا زرد کم رنگ بوده و در رنگ سازی، ساخت پلاستیک ها، آفت کش ها و آسفالت جاده ها به کار می روند. هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه ای دسته بزرگی از سرطان زاهای محیطی هستند که در همه جا به عنوان آلاینده های محیطی از جمله آب، هوا و خاک دیده می شوند و

بواسطه مقاومت شان در محیط های مختلف برای سلامتی انسان مضر می باشند. از آنجایی که این مواد از حوادث طبیعی از قبیل آتش سوزی جنگل ها، فعالیت های آتشفشانی و همچنین در فرایندهای احتراق ناقص سوخت های فسیلی، کوره های متالوژی و غیره حاصل می شوند، لذا به طور گسترده ای در محیط پراکنده اند. جدا از مقادیر کم حاصل از منابع ژئوشیمیایی و طبیعی، ترکیبات آروماتیک چند حلقه ای عموماً از منابع انسانی حاصل می شوند. دودکش های صنعتی، اگزوز اتومبیل ها، زباله سوزها و وسایل گرم کننده خانگی از منابع مهم آلودگی هوا توسط هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه ای می باشند . آلودگی ناشی از منابع نفتی نیز قابل توجه است. این آلودگی می تواند به علت ترکیدگی لوله های نفتی، پوسیدگی تانکرها، نشت مخازن سطحی و یا حتی زیرزمینی و اتفاقات متعدد دیگری که اغلب در تولید و انتقال مواد نفتی رخ می دهد، باشد. علاوه بر این، این آلودگی می تواند بطور طبیعی و به خاطر نفوذ نفت از مخازن زیرزمینی نفت و گاز به سطوح فوقانی نیز بوجود آید(Jussara & Francisca, 1999).

تماس انسان با آروماتیک چند حلقه ای ممکن است از طریق پوست، استنشاق غبار، خاک یا هوا و خوردن غذاهای آلوده به این مواد ایجاد شود، این ترکیبات می توانند در همه بافت های دارای چربی وارد شوند وتمایل زیادی به ذخیره شدن در کلیه و کبد دارند. سمیت آنها به ترکیب فیزیکوشیمیایی، سمیت ذاتی، متابولیتها و داروهای کلینیکی بستگی دارد. برای حلال هایی مثل بنزن و استیرن، متابولیت ها سموم اصلی هستند(Chanieau*etal* .,2005). برای برطرف نمودن آلاینده های نفتی راه حل های زیستی و غیرزیستی مطرح می باشند.

تکنولوژی پاک سازی پسماندهای نفتی و صنعتی متنوع بوده و مهمترین آنها عبارتند از:

روش ترمیک: سوزاندن مواد وپسماندها در مخازن روباز

روش فیزیکی: مدفون کردن پسماندها در مناطق محصور، فیلتراسیون تحت شرایط خلا وفشار

روش شیمیایی: محلول کردن پسماندها با استفاده از حلال ها، مواد آلی(اپوکسید، پلی استریول، قطران و پلی اورتان)

روش فیزیکو شیمیایی: استفاده از عواملی مانند واکنشگرها

روش بیولوژیکی: تخریب و تجزیه با استفاده از پتانسیل میکروبیولوژی مناسب با خاک منطقه

پاکسازی زیستی یکی ازروش های اصلی پاک سازی محیطی می باشدکه دراین روش ازموجودات زنده بویژه باکتری ها، قارچ ها وگیاهان به منظورتجزیه آلاینده های محیطی وتبدیل آنهابه ترکیبات غیرسمی استفاده می شوند(Zhang *etal*., 2004).

Andrei و همکاران در سال ۲۰۰۴ در تحقیق خود با طراحی راکتور و مدل‌های ریاضی نشان دادند که *Ps.Putida G7* جدا شده از خاک قادر است در شرایط آزمایشگاهی در عرض ۵ روز ۹۵٪ از نفتالین(بعنوان نمونه‌ای از PAHs)را تخریب و تجزیه کند.

Zhang و همکاران در سال ۲۰۰۴ ثابت کردند که یک گونه *Pseudomonas* قادر به حل کردن فنانترن از ۰/۷ به ۳۵ میلی‌گرم در لیتر در حضور سورفکتانت

تولید شده از آن باکتری بوده و نهایتاً منجر به تخریب فنانترن می‌شود.

کارایی وسرعت فرآیند تجزیه هیدروکربن ها به نوع ترکیبات آلاینده، طبیعت ماده آلوده شده با ترکیبات نفتی، شرایط محیطی و ویژگی های جمعیت میکروبی بستگی دارد(White, 1997). بسیاری ازمیکروارگانیسم ها قادرند از ترکیبات نفتی به عنوان منبع کربن وانرژی استفاده کنند وآنها را به موادی ازقبیل آب ودی اکسید کربن تبدیل نمایند(Supaka *etal*., 2001). روند تجزیه آلاینده هایکسان نبوده وگروهی سریعاً توسط میکروارگانیسم ها تجزیه وحذف می شوند اما بخش عمده آن به کندی تجزیه می گردد و درنتیجه درمحیط زیست باقیمانده و تجمع می یابند. تجمع این ترکیبات شیمیایی درمحیط زیست تهدید جدی برسلامت انسان ودیگر موجودات است(Mirsal, 2004).

در این پژوهش در نظر بود که پتانسیل تجزیه بیولوژیکی میکروب های موجود در محیط زیست و مناطق آلوده به ترکیبات نفتی بر روی چندین نوع هیدروکربن آروماتیک پلی سیکلیک با سمیت زیاد بررسی شود.

۲. مواد و روش ها

برای تهیه سویه های میکروبی دارای پتانسیل بالقوه تخریبی، ازخاک چهار منطقه آلوده به فرآورده های نفتی بشکل طویل المدت شامل اراضی آلوده مجتمع پالایشگاه نفت، پتروشیمی، ایستگاه های پمپ بنزین و گاراژهای تعمیر خودروها با عمر حداقل ده سال درشهرتبریز نمونه برداری گردید(Barathi& Vasudevan, 2001).

جهت نمونه برداری مرکب و جداسازی میکروارگانیسم های مختلف سطح و عمق در هر منطقه مورد نظراز ۵ ناحیه جمعا ۵۰۰گرم خاک از عمق ۳۰- ۰ سانتی متری برداشته و در کیسه های پلاستیکی در باز(جهت حفظ تبادلات نور و هوا)به آزمایشگاه منتقل گردید. با استفاده از روش های تهیه رقت های متوالی، سوسپانسیون $۱۰^{-۵}$-$۱۰^{-۱}$ از نمونه ها با سرم فیزیولوژی و کشت میکروبی خطی و سطحی در محیط های نشاسته کازئین آگار وانکوباسیون در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد به مدت ۷ روزانجام گردید. پرگنه های میکروبی جدا شده در محیط مخمرگلوکزمالت آگار بصورت خالص کشت و نگهداری شد(Andrea *et al*., 2001).

جهت بررسی پتانسیل سویه های جداشده در تخریب بیولوژیکی هیدروکربن های آروماتیک، در لوله های فالکون بازاء هر سویه میکروبی و درشرایط استریل، ۲۵ میلی لیتر محیط تریپتیک سوی براث، ۰/۵ میلی لیتر سوسپانسیون نیم مک فارلند از هر سویه افزوده شد. به هر کدام از۳ لوله فالکون ۲۵ میلی گرم از هیدروکربن های آروماتیک نفتالین، فنانترن و آنتراسن(ساخت شرکت Merck)بصورت جداگانه اضافه شده و تمامی لوله ها در انکوباتور شیکردار با دمای ۲۸ درجه سانتیگراد و سرعت ۱۳۰ دور در دقیقه به مدت ۷ روز تیمار گردید(آزمایشات در سه تکرار انجام شد) (Bhattacharya *et al*., 2003).

جهت سنجش میزان تجزیه بیولوژیکی هیدروکربن های فوق، محتویات لوله های فالکون به قیف دکانتاسیون منتقل و پس از افزودن ۱۰ میلی لیترحلال تولوئن و بهم زدن، دو فاز ایجاد گردید. فاز زیرین که محتوی محیط کشت، آب و تجمع باکتری ها می باشد تخلیه

شده و فاز رویی که شامل تولوئن، هیدروکربن باقیمانده و متابولیت های حاصل از تجزیه هیدروکربن ها است در شیشه های تمیز جهت اندازه گیری میزان جذب نوری و سنجش هیدروکربن باقی مانده جمع آوری گردید.

به منظور رسم منحنی کالیبراسیون، از محلول های با غلظت های مختلف از استاندارد نفتالین، فنانترن و آنتراسن(ساخت شرکت Merck)استفاده گردید و طیف جذبی مربوط به هر کدام از محلول ها در محدودهٔ ۵۰۰-۲۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر دو شعاعی(مدل UV1700Shimadzu ساخت ژاپن)ثبت گردید. حداکثر پیک جذب نوری هر یک از هیدروکربن‌ها به عنوان λ_{max} مربوط به آنها می‌باشد که جهت سنجش‌های جذبی نمونه‌های تیمار شده در همان طول موج استفاده خواهد شد. با مشخص شدن λ_{max} و طول موج خاص می‌توان با اسپکتروفتومتر تک شعاعی(مدل Pharmacia Biotech ساخت امریکا)نیز جذب نوری را قرائت کرد. قرائت میزان جذب نوری هر کدام ازمتابولیت ها در مقابل نمونه استاندارد هیدروکربن های نفتالین، فنانترن و آنتراسن(۲۵ میلی گرم از هیدروکربن خاص در ۱۰ میلی لیتر تولوئن)انجام شده و با رابطه ۱، میزان کاهش غلظت هیدرروکربن خاص تعیین گردید(Suzelle*et al*., 2006).

$$\text{درصد تخریب (رابطه ۱)} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100$$

A_1: جذب نوری هیدروکربن قبل از تخریب A_2: جذب نوری هیدروکربن بعد از تخریب توسط میکروارگانیسم

باکتری های دارای بیشترین قدرت تخریب هیدروکربن ها مورد بررسی دقیق قرار گرفت. برای شناسایی این باکتری ها اولین مشخصه شناسایی، ظاهرباکتری هاست .ازاینرو خصوصیات ظاهری کلنی باکتری ها ازلحاظ اندازه، شکل، رنگ، لبه، سطح وشفافیت مورد بررسی قرارگرفت.

برای شناسایی دقیق تراز آزمایشات معمول میکروبیولوژی و آزمایش های تشخیص بیوشیمیایی براساس کتاب راهنمای سیستماتیک باکتری شناسی برگی از جمله: اوره، تریپل شوکرآیرون آگار، رنگ آمیزی گرم، تست های کاتالاز، اکسیداز، ژلاتین، وژوپروسکوئر، سیمون سیترات، ایندول، متیل رد، آلانین، اکسیداسیون وتخمیرلایزین، رشد برروی محیط های کشت مک کانکی، احیای نیترات و حرکت و جداول تعین هویت باکتری هااستفاده شد (Barathi&Vasudevan , 2001).

۳. نتایج

از هر منطقه ۲۵ سویه باکتریایی جداسازی، خالص و جمعا ۱۰۰ سویه باکتری جدا گردید. پس از تیمار این سویه ها بطور مجزا با هیدروکربن های آروماتیک فنانترن، آنتراسن و نفتالین در شرایط مشخص انکوباسیون و استخراج هیدروکربن باقی مانده، میزان تخریب هرکدام از هیدروکربن ها مشخص گردید. با استفاده از رابطه ۱ درصد تخریب بیولوژیکی هر یک از هیدروکربن ها در مقابل سویه های تیمار شده محاسبه شده و مطابق جداول ۴-۱ نشان داده می شود.

جدول ۱- درصد تخریب هیدروکربن های آنتراسن، فنانترن و نفتالین توسط باکتری های جداشده ازنمونه خاک پالایشگاه تبریز.

	کد باکتری	درصد تخریب آنتراسن	درصد تخریب فنانترن	درصد تخریب نفتالین		کد باکتری	درصد تخریب آنتراسن	درصد تخریب فنانترن	درصد تخریب نفتالین
۱	*Bacillus sp.1*	۲۸/۶	۲۳/۴	۹/۲	۱۴	*Acinetobacter sp.2*	۲۰/۹	۳۹/۸	۴۱/۴
۲	*Pseudomonas sp.1*	۲۹/۲	۲۹/۱	۵۰/۴	۱۵	*Bacillus sp.2*	۸۲/۶	۲۰/۶	۶۳/۲
۳	*Micrococcus sp.1*	۶/۲	۳۳/۳	۳۶/۸	۱۶	*Achromobacter sp.2*	۱۵	۱۳/۷	۱۱/۶
۴	*Mycobactrium sp.1*	۱۲/۶	۳۰/۳	۱۶/۶	۱۷	*Pseudomonas sp.5*	۳۴/۶	۲۹/۴	۴۷/۶
۵	*Acinetobacter sp.1*	۳/۴	۲۰/۸	۱۹/۵	۱۸	*Streptomyses sp.2*	۳۷	۱۸/۳	۲۲/۵
۶	*Pseudomonas sp.2*	۵۵/۲	۲۹/۴	۴۹/۵	۱۹	*Acinetobacter sp.3*	۳۸/۲	۲۶	۳۱/۶
۷	*Pseudomonas sp.3*	۳۷/۷	۳۰/۱	۱۲/۴	۲۰	*Bacillus sp.3*	۳۶/۵	۶۲/۵	۶۸/۲
۸	*Arthrobacter sp.1*	۵/۳	۳/۳	۴۱/۳	۲۱	*Pseudomonas sp.6*	۴۵	۱۷/۶	۳۸/۶
۹	*Achromobacter sp.1*	۱۹/۴	۳۴/۶	۵۷/۱	۲۲	*Micrococcus sp.2*	۲۸	۱۶/۶	۳۰/۶
۱۰	*Pseudomonas sp.4*	۲۳/۴	۳۵/۷	۴۶/۶	۲۳	*Acinetobacter sp.4*	۱۱	۳۴/۳	۲۰/۶
۱۱	*Arthrobacter sp.2*	۳۵/۸	۲۵/۸	۲۴/۱	۲۴	*Bacillus sp.4*	۳/۴	۸/۸	۲/۷
۱۲	*Streptomyses sp.1*	۱۲/۶	۱۴/۱	۳۰/۱	۲۵	*Pseudomonas sp.7*	۳۱	۲۱/۱	۲۶/۴
۱۳	*Pseudomonas sp.8*	۱۰/۸	۸۲/۱	۳۵/۳					

جدول ۲- درصد تخریب هیدروکربن های آنتراسن، فنانترن ونفتالین توسط باکتری های جداشده ازنمونه خاک پتروشیمی تبریز.

	کد باکتری	درصد تخریب آنتراسن	درصد تخریب فنانترن	درصد تخریب نفتالین		کد باکتری	درصد تخریب آنتراسن	درصد تخریب فنانترن	درصد تخریب نفتالین
۱	*Pseudomonas sp.9*	۲۰	۱۴/۱	۱۱/۷	۱۴	*Arthrobacter sp.5*	۲۴/۶	۰	۷/۸
۲	*Achromobacter sp.3*	۱۲	۳۲/۸	۱۸/۳	۱۵	*Bacillus sp.7*	۳۶/۹	۰	۱۱/۳
۳	*Pseudomonas sp.10*	۴۱	۴۷/۲	۵۵/۵	۱۶	*Pseudomonas sp.15*	۶۲/۸	۲۳/۲	۵۶/۷
۴	*Bacillus sp.5*	۴۱	۲۵/۲	۳۷/۷	۱۷	*Micrococcus sp.3*	۶/۷	۳۳/۲	۱۳/۴
۵	*Pseudomonas sp.11*	۵۱	۲۹/۴	۶۳/۲	۱۸	*Bacillus sp.8*	۶۰/۴	۴۲/۴	۶۸/۳
۶	*Acinetobacter sp.5*	۲۰	۳۸/۸	۲۷/۳	۱۹	*Mycobactrium sp.2*	۲۶/۳	۰	۱۹/۵

ادامه جدول ۲- درصد تخریب هیدروکربن های آنتراسن، فنانترن ونفتالین توسط باکتری های جداشده ازنمونه خاک پتروشیمی تبریز.

درصد تخریب نفتالین	درصد تخریب فنانترن	درصد تخریب آنتراسن	کد باکتری		درصد تخریب نفتالین	درصد تخریب فنانترن	درصد تخریب آنتراسن	کد باکتری	
۶۳/۱	۴۴/۸	۵۵/۲	*Acinetobacter sp.6*	۲۰	۵۷/۷	۲۵/۳	۴۵/۲	*Pseudomonas sp.12*	۷
۳۳/۳	۲۸/۲	۴۲/۶	*Bacillus sp.9*	۲۱	۳۸/۶	۱۰/۸	۴۱	*Bacillus sp.6*	۸
۴۰/۶	۳۰/۵	۵۳/۵	*Pseudomonas sp.16*	۲۲	۲۹/۸	۱۴/۵	۲۷	*Arthrobacter sp.3*	۹
۲۶/۴	۴۲	۳۶	*Bacillus sp.10*	۲۳	۳۳/۷	۲۳/۴	۳۴	*Pseudomonas sp.13*	۱۰
۲۷/۴	۳۴	۲۳/۶	*Acinetobacter sp.7*	۲۴	۳۳/۲	۲۷/۶	۲۵/۱	*Streptomyses sp.3*	۱۱
۳۶/۹	۲۷/۶	۲۸/۹	*Bacillus sp.11*	۲۵	۵۹/۷	۳۳/۳	۶۶/۸	*Pseudomonas sp.14*	۱۲
					۴۰/۳	۲۷	۳۸/۷	*Arthrobacter sp.4*	۱۳

جدول ۳- درصد تخریب هیدروکربن های آنتراسن، فنانترن ونفتالین توسط باکتری های جداشده ازنمونه خاک ایستگاه های پمپ بنزین تبریز.

درصد تخریب نفتالین	درصد تخریب فنانترن	درصد تخریب آنتراسن	کد باکتری		درصد تخریب نفتالین	درصد تخریب فنانترن	درصد تخریب آنتراسن	کد باکتری	
۶۲/۲	۵۳/۸	۴۵/۸	*Pseudomonas sp.21*	۱۴	۳۷/۸	۲۹/۲	۳۲	*Mycobactrium sp.3*	۱
۹۲/۲	۵۸/۳	۶۱/۵	*Pseudomonas sp.22*	۱۵	۴۴/۴	۳۱	۳۴/۶	*Pseudomonas sp.17*	۲
۳۰/۶	۲۲/۸	۱۹/۲	*Arthrobacter sp.6*	۱۶	۱۵/۶	۱۳/۸	۲۶/۲	*Micrococcus sp.4*	۳
۴۸/۸	۳۴	۳۷/۷	*Mycobactrium sp.*	۱۷	۰	۰	۰	*Achromobacter sp.4*	۴
۳۳/۵	۳۱/۲	۴۶/۶	*Bacillus sp.14*	۱۸	۱۷/۷	۸/۷	۲۳/۱	*Pseudomonas sp.18*	۵
۰	۰	۰	*Streptomyses sp.5*	۱۹	۶/۸	۲۳	۳۶/۲	*Bacillus sp.12*	۶
۲/۷	۸/۲	۳/۴	*Arthrobacter sp.7*	۲۰	۳۱/۵	۲۳/۶	۲۹/۶	*Acinetobacter sp.8*	۷
۲۳	۳۶/۸	۱۷/۲	*Bacillus sp.15*	۲۱	۱۸/۶	۴۰/۸	۳۰/۴	*Bacillu sp.13*	۸
۰	۱۰	۰	*Micrococcus sp.6*	۲۲	۳۶/۶	۳۰/۴	۱۱/۳	*Acinetobacter sp.9*	۹
۲/۹	۳/۲	۴/۸	*Bacillus sp.16*	۲۳	۱۸/۶	۲۲	۱۵/۲	*Micrococcus sp.5*	۱۰
۲۳/۳	۳۴	۱۷/۷	*Bacillus sp.17*	۲۴	۳۳/۴	۵۹/۲	۲۵/۲	*Streptomyses sp.4*	۱۱
۴۱/۶	۵۴/۷	۳۷/۲	*Pseudomonas sp.23*	۲۵	۱۹/۱	۲۸	۲۰/۷	*Pseudomonas sp.19*	۱۲
					۴۰/۷	۲۳/۲	۳۹/۶	*Pseudomonas sp.20*	۱۳

جدول ۴- درصد تخریب هیدروکربن های آنتراسن، فنانترن ونفتالین توسط باکتری های جداشده ازنمونه خاک گاراژها و تعمیرگاه های خودرو شهر تبریز.

	کد باکتری	درصد تخریب آنتراسن	درصد تخریب فنانترن	درصد تخریب نفتالین		کد باکتری	درصد تخریب آنتراسن	درصد تخریب فنانترن	درصد تخریب نفتالین
۱	*Achromobacter sp.5*	۲۱/۶	۳۷/۸	۱۴/۴	۱۴	*Bacillus sp.*	۴۰/۷	۳۰/۱	۳۰/۴
۲	*Arthrobacter sp.8*	۰	۰	۰	۱۵	*Acinetobacter sp.11*	۱۸/۴	۰	۳/۵
۳	*Pseudomonas sp.24*	۳۱/۸	۳۳/۶	۱۹/۴	۱۶	*Pseudomonas sp.28*	۳۶/۳	۲۵/۹	۱۸/۸
۴	*Pseudomonas sp.25*	۵۳/۶	۴۲	۲۶/۶	۱۷	*Bacillus sp.20*	۲۲	۱۸/۴	۱۵/۱
۵	*Micrococcus sp.7*	۲۵/۹	۲۲/۸	۹/۳	۱۸	*Pseudomonas sp.29*	۵۶/۱	۳۹/۴	۵۲/۴
۶	*Streptomyses sp.6*	۱۱/۸	۰	۰	۱۹	*Micrococcus sp.8*	۲۹/۳	۵۱/۶	۳۶/۴
۷	*Acinetobacter sp.10*	۲۸/۹	۰	۲/۴	۲۰	*Bacillus sp.21*	۳۷/۸	۳۳/۲	۲۱/۶
۸	*Pseudomonas sp.26*	۱۳/۸	۹/۶	۰	۲۱	*Pseudomonas sp.30*	۴۷/۴	۵۹/۶	۳۰/۶
۹	*Bacillus sp.18*	۳۴/۷	۵۲/۶	۴۴/۷	۲۲	*Bacillus sp.22*	۴۱/۹	۴/۹	۱۱/۴
۱۰	*Pseudomonas sp.27*	۶۷	۴۵/۷	۷۲/۳	۲۳	*Pseudomonas sp.31*	۴۲/۶	۲۸/۴	۳۳/۴
۱۱	*Mycobactrium sp.4*	۲۷/۲	۲۱/۶	۱۶/۸	۲۴	*Acinetobacter sp.12*	۶۱/۳	۶۵/۸	۵۵/۸
۱۲	*Streptomyses sp.7*	۵۲/۷	۶۸/۹	۶۳/۸	۲۵	*Bacillus sp.23*	۸/۳	۰	۵/۵
۱۳	*Bacillus sp.19*	۲۶/۱	۷/۸	۱۱/۶					

درشرایط طبیعی، تخریب هیدروکربن های نفتی مختلف توسط میکروارگانیسم های خاک در محدود ۱۰-۵٪ بصورت طویل المدت امکان پذیر می باشد، لکن با توجه به منابع مختلف پژوهشی تجزیه حداقل بیش از ۳۰٪ در شرایط آزمایشگاهی پس از یک هفته شرایط انکوباسیون، پتانسیل مطلوبی در نظر گرفته میشود (Rodrigo *et al.*, 2005).

می توان جمعیت باکتری های دارای قدرت تخریب

بیولوژیکی بیش از ۳۰٪ هر یک از هیدروکربن ها را با توجه به مناطق زیست آنها تعیین کرد (جدول ۵).

جدول ۵- جمعیت آماری باکتری ها با پتانسیل تخریب بیش از ۳۰٪ هیدروکربن ها .

نوع هیدروکربن	تعداد سویه های با پتانسیل تخریب بیش از ۳۰٪			
	پالایشگاه	پتروشیمی	ایستگاه های پمپ بنزین	تعمیرگاه ها
نفتالین	۱۵	۱۵	۱۲	۹
آنتراسن	۹	۱۵	۱۰	۱۳
فنانترن	۹	۹	۱۱	۱۲

با توجه به نتایج حاصل می توان بیشترین درصد تخریبی هیدروکربن ها توسط باکتری های جدا شده از نواحی آلوده نمونه برداری شده را مشاهده کرد. در این مناطق بندرت باکتری هایی مشاهده گردید که اصلا قادر به تخریب هیدروکربن خاصی نباشند.

در پژوهش حاضر پس از انجام بررسی های اولیه و شناسایی میکروبیولوژیکی و تعین هویت، جنس باکتری های با پتانسیل قوی تخریبی شامل ۳۳٪ سودوموناس، ۳۸٪ باسیلوس، ۹٪ اسینتوباکتر، ۵٪ آرتروباکتر، ۵٪ مایکوباکتریوم، ۶٪ میکروکوکوس و ۴٪ استرپتومایسس تعیین گردید.

۴. بحث و نتیجه گیری

باکتری ها بعلت داشتن آنزیم‌های مختلف تجزیه‌کننده نسبت به سایر میکروارگانیسم ها از اهمیت بیشتری برخوردارند(Leeper, 1994). از مهمترین آنها می‌توان به باسیلوس ها، سودوموناس ها، انتروباکتریاسه‌ها، استرپتومایسس‌ها و مایکوباکتریوم‌ها اشاره کرد که قادر به استفاده از هیدروکربن‌های آروماتیک پلی سیکلیک بعنوان منبع کربن و انرژی بوده و با تولید بیوسورفکتانت‌هایی، باعث تجزیه و تخریب ساختمان شیمیایی این ترکیبات گردیده و با تولید متابولیت‌های مختلف نهایتاً می توانند این مواد آلی را با درصدهای مختلفی، تجزیه کرده و تولید CO_2 و H_2O و مواد بی‌ضرر دیگر نمایند(Abd EL latif *et al.*, 2009). هدف از این طرح، بررسی قدرت تجزیه کنندگی میکروارگانیسم های موجود در انواع خاک های آلوده به مواد نفتی و مقایسه پتانسیل این میکروارگانیسم ها و اثبات قدرت خود پالایی خاک در برابر انواع آلاینده ها، از طریق متابولیسم میکروارگانیسم های تجزیه کننده در آن بود. در ادامه کارهای تحقیقاتی مشابه توسط محققین مورد بررسی قرار می گیرد، Bhattacharya و همکاران در سال ۲۰۰۳ در تحقیق خود ۱۵۰ سویه باکتری تجزیه کننده هیدروکربن های نفتی را از خاک‌های آلوده نفتی در هندوستان جدا کرده و نشان دادند که *Ps.citronellolis* از نظر توانایی تخریب ترکیبات آروماتیک و آلیفاتیک بر سایر سویه ها غالب می‌باشد.

Barathi و Vasudevan درسال ۲۰۰۱ طرح خود تحت عنوان مصرف هیدروکربن‌های نفتی توسط *fluorescensPseudomonas* ایزوله شده از خاک های آلوده به نفت نشان دادند که این سویه میکروبی قدرت تخریب آلکان‌های زنجیره کوتاه و بلند را به میزان قابل توجهی دارد.

Eder و همکاران در سال ۲۰۰۶ یک سویه*Pseudomonas* را از خاک آلوده به مواد نفتی از پالایشگاه نفت جدا کردند این باکتری با تولید سورفکتانت هایی، قدرت تخریب ۷۲٪ آنتراسن را دارا می‌باشد.

با توجه به مطالعات فوق و نتایج جدول ۵ در پژوهش حاضر و جداسازی انواع باکتری ها با پتانسیل تجزیه کنندگی هیدروکربن های نفتی می توان چنین نتیجه گرفت که خاک های با آلودگی نفتی به مدت طولانی مانند پالایشگاه، پتروشیمی و تعمیرگاه های خودروها دارای باکتری های تجزیه کننده هیدروکربن های نفتی به مقدار زیاد با پتانسیل های متفاوت می باشند.

Bestetti وهمکاران در سال ۲۰۰۲ طی مطالعات خود برروی رسوبات آبکی پسماندهای نفتی، باکتری هایی را جدا کردند که قادر به تجزیه ۹۹٪ نفتالین و تبدیل آب به CO_2 و H_2O در عرض ۳ روز می‌باشد در حالی که میزان تخریب نفتالین بدون حضور این باکتری ۲۵٪ در عرض ۴ روز بود.

Rodrigo و همکاران در سال ۲۰۰۵ در تحقیق خود برروی گونه‌های*Pseudomonas* جدا شده از خاک های آلوده پتروشیمی از بین ۲۶ سویه قادر به شناسایی ۳ سویه گردیدند که در محیط کشت حاوی آنترانس بخوبی رشد کرده و از لحاظ توالی ۱6SrRNA مشابه *Ps. Citronellolis* و *Ps.aeruginosa* بودند که باتولید متابولیت های ثانویه به ترتیب توانایی تخریب ۷۱٪ و ۵۶٪ از آنتراسن موجود در محیط کشت در مدت ۴۸ ساعت را داشتند.

همچنانکه از این تحقیق بر می آید سویه های سودوموناس موجود در خاک های آلوده نفتی قادر به تخریب ترکیبات آروماتیک نفتی در حد قابل توجه می باشند، در تحقیق حاضر نیز اغلب سویه های قوی تجزیه کننده آروماتیک ها، سودوموناس ها و باسیلوس ها می باشند.

در نتایج کسب شده در پژوهش حاضر مشخص شدکه باکتری های موجود در محیط های بسیار آلوده، بعلت مجاورت طولانی مدت با این ترکیبات، قدرت بسیار بالایی در جهت تخریب بیولوژیکی هیدروکربن های آروماتیک دارند واین موضوع با نتایج کسب شده از مقالات مذکور بسیار همخوانی دارد. همچنین سویه سودوموناس جنس غالب تحقیق ها می باشد که در تحقیق حاضر نیز ملاحظه گردید.

چنانچه از نتایج تحقیق برمی آید، درصد بسیار اندکی از باکتری های موجود در این نوع خاک ها بدون قدرت تجزیه کنندگی هیدروکربن های نفتی می باشند. پژوهش ها نشان می دهد که باکتری های خاک های بسیار آلوده به ترکیبات نفتی در اثر موتاژن و توانایی تطابق با محیط زندگی بسیار سخت، قادر به تجزیه بیولوژیکی ترکیبات آروماتیک و بسیارسمی و پایدارمی باشند. در پژوهش حاضر نیز از هیدروکربن های پلی سیکلیک آروماتیک مانند نفتالین، آنتراسن و فنانترن استفاده گردید و مشاهده شد که باکتری های متعددی قدرت تخریب این هیدروکربن ها را دارند.

MohmoudAbou و همکاران در سال ۲۰۰۳ در مطالعه خود تحت عنوان تخریب بیولوژیکی نفتالین توسط *Pseudomonas* نشان دادند که در بیوراکتور تحت شرایط دمای ۳۰°c، pH=۷ و غلظت نفتالین ۲۵mM در انکوباتور شیکردار در عرض ۴ روز ۶۰٪ نفتالین تجزیه می‌شود.

Jussara و Francisca در سال ۱۹۹۹ در طرح تحقیقاتی خود نشان دادند که قدرت تخریب هیدروکربن‌های نفتی توسط میکروفلور طبیعی خاک با افزودن منبع نیتروژن و فسفر از ۱۱/۹ درصد به ۴۲/۹ درصد تحت شرایط انکوباسیون، در عرض ۲۸ روز افزایش می‌یابد. در شرایط فوق میزان تخریب ترکیبات مختلف بقرار زیر می‌باشد: دودکان ۱۰۰٪، تری دکان ۸۹٪، تترادکان ۷۹٪، پنتادکان ۶۸٪، هگزادکان ۴۷٪، هپتادکان ۴۶٪، اوکتادکان ۸۲٪، نونادکان ۶۰٪، ایکوزان ۵۶٪.

Chaineau و همکاران در سال ۲۰۰۵ در طرح پژوهشی خود با عنوان اثرات غلظت مواد مغذی برروی تخریب بیولوژیکی نفت خام توسط جمعیت میکروبی خاک در یک نمونه خاک کشاورزی، میزان تجزیه این مواد را از ۴۷٪ به ۶۲٪ رساندند.

در تحقیق انجام شده تقریبا حدود ۴۷٪ از سویه ها قادر به تجزیه بیش از ۳۰٪ از مقدار اولیه هیدروکربن های آروماتیک سه گانه بوده و حتی سویه هایی شناسایی گردید که قدرت تخریبی بیش از ۹۰-۸۰٪ از انواع هیدروکربن ها را نیز دارا بودند. با توجه به مقالات عنوان شده و پژوهش انجام یافته باید متذکر شد که در شرایط طبیعت هیچ وقت نمی توان شاهد تجزیه بیولوژیکی با این سرعت بود چرا که تحقیقات در شرایط آزمایشگاهی با مواد مکمل و عناصر غذایی ضروری مانند پتاسیم، نیتروژن و شرایط دمایی و هوادهی مناسب و همچنین مقدار آلاینده ها در حد کنترل شده انجام گردیده است. لذا می توان بطور کلی نتیجه گرفت که با مدیریت و کنترل عوامل موثر و مساعد کننده متابولیسم و تجزیه هیدروکربن ها بعنوان منبع کربن وانرژی توسط میکروارگانیسم های مستعد از جمله تنظیم عناصر و مواد ضروری مانند پتاسیم و نیتروژن، میزان رطوبت خاک، هوادهی، کودهای معدنی، مخلوط کردن خاک، کنترل دما و اسیدیته خاک و عوامل مشابه دیگر می توان در مقیاس کاربردی و نیمه صنعتی اقدام به پاکسازی انواع آلودگی های نفتی و صنعتی از خاک و محیط زیست نمود.

در این کار پژوهشی پس از جداسازی تعدادی از باکتری های خاک (۱۰۰ نمونه) مناطق آلوده به مواد نفتی تبریز، اقدام به تیمار و نهایتاً تخریب هیدروکربن‌های آنتراسن، نفتالین و فنانترن با این میکروارگانیسم‌ها نموده و درصدهای مختلفی از تخریب مشاهده و گزارش داده می‌شود. با توجه به نتایج و یافته‌های طرح، باکتری های جدا شده از خاک های آلوده، پتانسیل و قدرت تخریب و تجزیه هیدروکربن‌های نفتی را در شرایط آزمایشگاهی و با استفاده از محیط‌های کشت غنی شده دارای منابع فسفر، نیتروژن و گوگرد به طور قابل توجهی دارند. نتایج بدست آمده از این مطالعه را بصورت زیر می توان خلاصه کرد:

۱- خاک های آلوده به مواد نفتی دارای انواع میکروب های تجزیه کننده ترکیبات نفتی با پتانسیل های مختلف هستند.

۲- این باکتری ها می توانند از هیدروکربن های نفتی

بعنوان منبع کربن وانرژی جهت ادامه حیات استفاده کنند.

۳- پاک سازی بیولوژیکی بعنوان یک روش اصولی و مهم از سه جنبه اقتصادی، اکولوژیکی واجتماعی می تواند در طرح های کاربردی و صنعتی مطرح باشد.

۴- با افزودن مکمل های عناصر ضروری مانند فسفر، نیتروژن وپتاسیم می توان روند پاک سازی بیولوژیکی را از نظر سرعت و کیفیت بهبود بخشید.

۵- می توان با مجموعه ای از باکتری های مختلف جدا شده از خاک، و ایجاد شرایط مساعد عملیات پاک سازی مناطق آلوده به ترکیبات پایدار و بسیار سمی نفتی را انجام داد.

References:

Abd El-Latif Hesham., Saad A. Alamri., Sardar Khan., Motamed E. Mahmoud and Hashem M. Mahmoud., 2009. Isolation and molecular genetic characterization of a yeast strain able to degrade petroleum polycyclic aromatic hydrocarbons. African Journal of Biotechnology 8(10), 2218-2223.

Andrea,R., Yonge,D.R and Petersen,J.,2001. Biodegradation of polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Soil Fungi. J of Braz. J. Microbiol 23(4), 127-133.

Andrei, E., Puntus,F and Sakharovsky,V.G., 2004.Efficiency of naphthalence biodegradation by *Pseudomonas putida G7* in soil. ChemTechnolBiotechnol 79, 562-569.

Barathi ,S and Vasudevan, N., 2001.Utilization of petroleum hydrocarbons by *Pseudomonas fluorescens* isolated from a petroleum-contaminated soil. J of Environment International 26 (5-6), 413-416.

Bestetti, G.,Collina,E.,Gennavo,P.DI.,Lasagni,M and Pitea,D., 2002.Kinetic study of naphthalene biodegradation inaerobic slurry phase microcosms for the optimisation of the process.Jour. Water, Air, and Soil Pollution 3, 223-231.

Bhattacharya,D.,S. Krishnan,P., Mishra ,M and Lal.,2003.Evaluation of genetic diversity among *Pseudomonas sp*. African Journal of Biotechnology 20, 120-130.

Chaineau,C.H.,Rougeux,G.,Yepremian,C and Oudot,J.,2005. Effects of nutrient concentration on the biodegradation of crude oil and associated microbial populations in the soil, Jour. Soil Biology and Biochemistry 37(8),1490-1497.

Eder, C., Santos EC, Jacques RJ and Bento FM.,2006. Anthracene biodegradation and surface activity by an iron – stimulated *Pseudomonas sp*. J of Braz-J-Microbial 50, 88-93.

Fedorov, M.V., 1992. Biological fixation of atmospheric nitrogen, 4nd ed. Gosudarstv.Izdatel.Sel' skokhoz. Let. Moscow(Russian).

Jussara P. Del'Arco and Francisca P. de Franca.,1999. Biodegradation of crude oil in sandy sediment, Jour. International Biodeterioration & Biodegradation 44, 87-92.

Leeper, G., 1994. Introduction to soil science, 4th ed. Melbourne, Limitations and potentials for biological nitrogen fixation in the tropics (Basic Life Sc. Vol. 10), Eds,Management 68, 242-250.

Li,Wang.,Suzelle,B and Jin-Woo.K.,2006.Biodegradation of pentyl amine and aniline from petrochemical wastewater, J. of

Environmental Management., Vol. 83, PP. 191-197.

Mahmoud Abou, S and Macchi,R., 2003.Biodegradation of naphthalene by free and alginate entrapped *Pseudomonas sp*. International Biodeterioration&Biodgreadation 54, 61-67.

Rodrigo J.S. Jacques.,Eder C. Santos.,Fatima M. Bento.,Maria C.R. Peralba.,Pedro A. Selbach.,Enilson L.S. Sa and Flavio A.O. Camargo.,2005. Anthracene biodegradation by *Pseudomonas sp*. Isolated from a petrochemical sludge land farming site. International Biodeterioration& Biodegradation 56, 143-150.

Metting, F.B., 1993. Structure and physiological ecology of soil microbial communities.Jour. In F.B. Metting (ed.), Soil microbial ecology: Applications in agricultural and environmental management, Marcel Dekker, Inc., New York. PP. 3-25.

Mirsal ,IA., 2004. Soil Pollution: Origin, Monitoring and Remediation, 1st ed., Springer. Germany.

Supaka,N., Pinphanichakarn,P.,Pattaragulwanit,K.,Thaniyavarn,S., Omori,T and Juntongjin,K., 2001.Isolation and characterization of a phenanthrene degrading *Sphingomonas sp*. Strain P2 and its ability to degrade fluoran thene and pyrene via cometabolism. Research Article Science Asia 27, 21-28.

White, R., 1997. Priciples and practice of soils science, Third Edition, Blackwell Ltd.

Verhoeff, H.A and De Goeda,R.G.M., 1998. In ecological interactions in the soil plants, microbes and animals (ed. A.H. Fitter).BES Special Publicuation 4. Blackwell, Oxford, pp. 367-76.

Zhang, H.,Kallimanis.A.,Koukkou.A.I and Drainas,C., 2004. Isolation and characterization of novel bacteria degrading polycyclic aromatic hydrocarbons from polluted Greek soils. J of Applied Microbiology and Biotechnology 65, 124-131.

Evaluation of Biodegradation of Petroleum Aromatic Compounds with Soil Microorganisms in Tabriz City

Sadighbayan KH[1*],Mazaheri assadi M[2], Farazmand A[3], Monadi AR[4], Aliasgharzad N[5]

1- Student of PhD , Department of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran

2- Professor, Department of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran

3- Assistant professor, Department of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran

4- Associated professor, Department of Microbiology, College of Medicine, Tehran Medicine University, Tehran, Iran

5- Professor, Department of agriculture, Tabriz University (Tabriz, Iran)

Received: 7-Dec.-2014 Accepted: 2-Aug-2015

Abstract:

Oil contaminated soils usually harbor bacterial species capable of degrading aromatic compounds. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) such as anthracene, naphthalene, phenanthrene, are the most toxic and carcinogenic pollutants which cause severe damages to the environment and living organisms. These compounds are mainly discharged to the soil by petrochemical industries. Biological methods by using efficient microorganisms isolated from oil contaminated soils are preferred for removing these materials from soils. The microorganisms use hydrocarbons as sources of carbon and energy to produce water, CO_2, biomass and harmless materials. In this study, soil samples were taken from different oil-pollute regions of the Tabriz Petroleum Refinery, Petrochemical Industry, gasoline service stations and cargarages. The soil suspensions were cultured in selective media and 100 isolates were obtained. Phenanthren, anthracene and naphthalene at a rate of 1000 mg/L were added to the Muller Hilton broth medium and then a fixed amounts of these bacteria were added, separately. They were incubated in shaker-incubator with 130 rpm at 28˚C for one week. The rate of PAHs destruction was evaluated by spectrophotometery method. Many bacterial isolates possessing different PAHs destroying rates were obtained. Among the isolates, %51, %47and %41 of them were capable of destruction(up to %30) of naphthalene, anthracene and phenanthrene, respectively. By improving the growth conditions and proliferation of effective bacteria it can be possible to remediate PAHs- polluted soils in oil contaminated regions.

Key words: Aromatic toxins, Biodegradation, Polycyclic hydrocarbons, Soil contamination

---

* Corresponding author; Tel:+98-9147707847, E.Mail:sadighbayan@yahoo.com