19th Iranian Soil Science Congress
16-18 September, 2025

نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۲۵ تا ۲۷ شهریور ۱۴۰۴

مدیریت جامع‌نگر و هوشمند خاک و آب
Holistic and Smart Soil and Water Management
دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran

۰۴۲۵۰-۳۲۰۳۱

مقایسه کارایی برخی جدایه‌های باکتریایی در زیست‌پالایی خاک آلوده نفتی

محمدرضا ساریخانی[1*]، علی لطف‌الهی[2]، سودا هاشم‌زاده[3]، پوریا بخشایی[4]

۱- استاد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز
rsarikhani@yahoo.com
۲- کارشناس آزمایشگاه، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز
۳ و ۴: به ترتیب دانشجویان کارشناسی و کارشناسی ارشد علوم خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز

چکیده

آلودگی خاک به ترکیبات نفتی یکی از مشکلات جدی زیست‌محیطی است که می‌تواند اثرات مخربی بر اکوسیستم‌ها و سلامت انسان داشته باشد. روش‌های فیزیکی و شیمیایی پاک‌سازی خاک اغلب پرهزینه و مخرب هستند، در حالی که زیست‌پالایی میکروبی به عنوان یک روش پایدار و مقرون‌به‌صرفه مورد توجه قرار گرفته است. بر این اساس در این آزمایش ۹ جدایه باکتریایی موجود در بانک میکروبی (شامل H921، H814، H712، H711، S21-1، C16-2O، 14A-4، P5 و Bio4) برای حذف زیستی آلودگی نفتی (با آلودگی اولیه ۶/۵ درصد) مورد استفاده قرار گرفت. طول مدت آزمایش ۶۰ روز بود و آزمایش در دمای اتاق انجام شد. در طول آزمایش تامین رطوبت (هر دو روز یکبار)، همزدن (روزانه) و تلقیح میکروبی به همراه دادن محلول غذایی (NPK) (هر سه روز یک بار) انجام گرفت. توجه به علایمی چون کاهش بوی متصاعد شده از نمونه، تغییر رنگ آن و میزان نفت باقیمانده پس از شروع آزمایش از جمله معیارهای مقایسه‌ای بین تیمارهای آزمایشی بود. به منظور تعیین میزان نفت اولیه موجود و همچنین میزان باقیمانده در نمونه و درصد تجزیه نفت از روش سوکسله با بهره‌گیری از حلال دی‌اتیل اتر استفاده شد. از میان تیمارهای مورد استفاده سویه S21-1 بالاترین درصد تجزیه نفت را به خود اختصاص داد (۲۶ درصد) و در رتبه‌های بعدی 14A-4 و C16-2O قرار داشتند. تغییر رنگ تدریجی به همراه کاهش میزان نفت باقیمانده حاکی از برتری نسبی سویه S21-1 متعلق به جنس *سودوموناس* داشت.

واژگان کلیدی: تلقیح زیستی، زیست‌پالایی، هیدروکربن‌های نفتی

مقدمه

روش‌های پاکسازی خاک آلوده به سه دسته فیزیکی، شیمیایی و زیستی تقسیم می‌شوند. زیست‌پالایی به عنوان روشی کارآمد، با استفاده از ریزجاندارانی که هیدروکربن‌ها را به عنوان منبع کربن مصرف می‌کنند، آلودگی را به مواد بی‌ضرر تبدیل می‌نماید (Ebrahimi et al., 2013). انتخاب روش مناسب به عواملی مانند نوع آلودگی، هزینه و مقررات محیط‌زیستی بستگی دارد.

تلاش برای دسترسی به سویه‌های کارآمد برای رفع آلودگی‌های نفتی همواره مورد توجه تحقیقات مختلف بوده است (Ebrahimi et al., 2013; Ghavidel et al., 2016; Afsharnia et al., 2022). تفاوت در میزان و نوع آلودگی‌ها (آلودگی بالا یا کم، آلودگی آلیفاتیکی یا آروماتیکی و غیره) و همچنین شرایط محیطی (نوع خاک، شوری و pH خاک، دمای محیط و ...) باعث شده است که تحقیقات در این زمینه ادامه‌دار باشد تا سویه‌های کارآمد به دست آید. در میان ریزجانداران تجزیه‌کننده هیدروکربن‌ها، جدایه‌های باکتریایی به ویژه آن‌هایی که متعلق به جنس‌های *Pseudomonas*، *Bacillus* و *Rhodococcus* هستند، کارایی قابل توجهی در تجزیه ترکیبات پیچیده نفتی از خود نشان داده‌اند. توان آنزیمی آن‌ها، از جمله اکسیژنازها و دهیدروژنازها، امکان کاتابولیسم آلکان‌ها، ترکیبات آروماتیک و هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای را فراهم می‌کنند. با این حال، اثربخشی زیست‌پالایی به عواملی مانند انتخاب سویه میکروبی، شرایط محیطی (مانند دما، pH و در دسترس بودن مواد مغذی) و ترکیب آلاینده بستگی دارد (Ebrahimi et al., 2013; Afsharnia et al., 2022).

روش‌های متفاوتی جهت پایش وضعیت آلودگی و بررسی سلامت خاک وجود دارد که از جمله آن‌ها می‌توان توجه به پارامترهای زیستی (نظیر تنفس پایه و برانگیخته، جمعیت میکروبی و زیتوده آن) و فعالیت‌های آنزیمی اشاره کرد (Moradi et al., 2024a; 2024b; Norozpour et al., 2014). همچنین درنظر داشتن شاخصه‌های فیزیکی و شیمیایی نیز مورد توجه است. بعد از بکارگیری انواع تیمارهای زیست‌پالایی، نیز می‌توان از همین موارد برای بررسی موفقیت روش‌های زیست‌پالایی بهره جست، بدین منظور در مطالعه حاضر بر اندازه‌گیری TPH تاکید شده است. علاوه بر آن لزوم غربالگری سویه‌های بومی و مقاوم به شرایط محیطی خاص (مانند دمای بالا) نبایستی از نظر دور داشته شود. تایاگی و همکارانش (Tyagi et al., 2011) نشان دادند کـه ۱۳ روز پـس از تلقیح باکتری و کاربرد کود نیتـرات آمونیـوم، آلـودگی خـاک بـه گازوئیل به میزان ۹۰ درصد کاهش یافـت. ایـن نتیجـه بـه وسـیله مقایسه سطح زیرمنحنی پیک‌های کروماتوگرافی گازی (GC) به دست آمد که نشان‌دهنده مصرف گازوئیـل بـه وسـیله جمعیـت بـاکتری و افزایش فعالیت میکروبی در خاک آلوده در اثر تلقیح باکتری به خاک و کاربرد کود بود.

بر این اساس در مطالعه حاضر، پتانسیل تجزیه زیستی نه جدایه باکتریایی (H921، H814، H712، H711، S21-1، C16-2O، 14A-4، P5 و Bio4) در خاک آلوده نفتی با میزان آلودگی ۶/۵ درصد هیدروکربن‌های نفتی در یک دوره ۶۰ روزه مورد ارزیابی قرار گرفت. هدف این بود که با پیاده‌سازی و بکارگیری روش موجود در زیست‌پالایی ترکیبات نفتی، موثرترین باکتری انتخاب گردد. به همین خاطر آزمایش در شرایط طبیعی (دمای اتاق) با رطوبت کنترل‌شده، هوادهی (همزدن روزانه) و تغذیه با محلول مغذی NPK برای افزایش فعالیت میکروبی انجام شد. شاخص‌های کلیدی مانند کاهش بوی هیدروکربن، تغییرات رنگ قابل مشاهده و میزان باقیمانده نفت برای ارزیابی کارایی تجزیه پایش شدند.

برای انجام پروژه‌های زیست‌پالایی ترکیبات نفتی، دست‌یابی به سویه‌های کارآمد یکی از نکات کلیدی می‌باشد و هدف از اجرای این کار تحقیقی دست‌یابی به چنین موردی بوده است.

مواد و روش‌ها

الف- تهیه خاک آلوده به مواد نفتی

در این آزمایش از خاک‌های آلوده به نفت حوزه خلیج فارس استفاده شد. بدون انجام تیمار خاصی بر روی نمونه‌های مورد نظر پس از توزین به مقدار برابر در پتری‌دیش‌های شیشه‌ای استفاده شدند. برای هر تیمار ۲۰ گرم از خاک آلوده توزین و مورد استفاده قرار گرفت. نتایج آنالیز به روش سوکسله برای اندازه‌گیری هیدروکربن کل نفتی یا TPH نشان داد که مقدار اولیه نفت ۶/۵ درصد می‌باشد.

ب- تهیه و آماده‌سازی باکتری‌ها

در این آزمایش نه سویه باکتریائی (H921، H814، H712، H711، S21-1، C16-2O، 14A-4، P5 و Bio4) موجود در بانک میکروبی گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تبریز استفاده شد. برخی از این جدایه‌ها (نظیر H921، H814، H712 و H711) از خاک‌های آلوده نفتی نفت‌شهر کرمانشاه جداسازی شده بودند (Moradi et al., 2022) و برخی نیز مربوط به شرایط غیرآلوده نفتی بودند که قبلاً جداسازی و در بانک میکروبی موجود بودند. ابتدا کشت شبانه باکتری‌ها در محیط NB انجام گرفت. پس از رسیدن به جمعیت مطلوب (OD=1، جمعیتی معادل با ۱×۱۰^{۹} CFU/ml) درون یخچال نگهداری شده و قبل از استفاده به میزان ۱۰ برابر رقیق شده و برای تلقیح به خاک افزوده شد. رقیق‌سازی در آب مقطر یا در محلول NPK انجام گرفت. با توجه به میزان خاک مورد استفاده ۵ میلی‌لیتر از آن به ۲۰ گرم افزوده شد و خاک بهم زده شد. تلقیح باکتریایی در هر هفته، دوبار با فاصله حدود سه یا چهار روز انجام گرفت. مدت آزمایش ۶۰ روز به طول انجامید. جزئیات روش تلقیح میکروبی در بخش‌های زیر ارایه شده است.

ج- بررسی امکان رشد باکتری در دمای ۵۰ درجه سلسیوس

با توجه به پراکندگی مناطق آلوده نفتی در حوزه خلیج فارس و بالا بودن دما در این مناطق، آزمون قابلیت رشد باکتری‌ها در دمای بالا مورد توجه بود. بدین خاطر امکان رشد باکتری‌ها در محیط کشت جامد NA در دمای ۵۰ درجه سلسیوس ارزیابی شد. برای این منظور کشت خطی از باکتریها در پلیت انجام شد و رشد باکتریها در دو دمای ۲۸ و ۵۰ درجه سلسیوس درون انکوباتور مورد بررسی قرار گرفت.

د- اعمال تیمار زیست‌پالایی

مراحل اجرای تیمار زیست‌پالایی به شرح زیر بود (Sarikhani et al., 2025):

الف) افزودن سورفکتانت به خاک آلوده: برای این منظور از توئین ۸۰ استفاده شد. افزودن سورفکتانت (۱٪ V/W) به میزان ۵ میلی‌لیتر به ۲۰ گرم خاک فقط یکبار انجام گرفت و پس از آمیختن خاک، بعد از گذشت یک روز، تلقیح باکتریایی انجام پذیرفت.

ب) افزودن عناصر NPK به خاک آلوده: در این آزمایش از محلول N:P:K ۲۰:۲۰:۲۰ استفاده شد. برای تهیه ۱ لیتر از محلول فوق، ۵/۵ گرم N:P:K با ۱۲ گرم اوره (برای افزایش مقدار و سهم نیتروژن) مخلوط شد.

ج) تلقیح باکتریایی: زادمایه باکتریایی اولیه قبل از استفاده به میزان ۱۰ برابر رقیق شده و برای تلقیح به خاک افزوده شد. رقیق‌سازی در آب مقطر یا در محلول NPK انجام گرفت. سپس ۵ میلی‌لیتر از آن به ۲۰ گرم خاک افزوده شد و خاک بهم زده شد. تلقیح باکتریایی در هر هفته، دوبار با فاصله حدود سه یا چهار روز انجام گرفت. دلیل رقیق‌سازی مشابه‌سازی شرایط آزمایشگاهی با شرایط واقعی بود، زیرا که در کارهای میدانی معمولاً زادمایه مورد استفاده با جمعیت کمتری مورد استفاده قرار می‌گیرد.

د) هوادهی و تامین رطوبت خاک آلوده: هوادهی به صورت روزانه جهت تامین هوا از طریق همزدن خاک انجام گرفت. و آبدهی هر دو روز یکبار با افزودن ۵ میلی‌لیتر آب به ۲۰ گرم خاک انجام شد.

و- اندازه‌گیری TPH و درصد تجزیه آن

تعیین غلظت هیدروکربن‌های نفتی کل در خاک آلوده و خاک‌های تیمار شده بر اساس روش UNEP/IOC/IAEA سازمان محیط زیست آمریکا انجام شد (Anonymus, 1998). در این روش جهت تعیین غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی خاک، ابتدا ۱۰ گرم از نمونه خاک خشک درون کاغذ خشک کن قرار داده شد و اطراف آن مسدود شد، سپس در عصاره‌گیر سوکسله با ۳۰۰ میلی‌لیتر از دی‌اتیل اتر به مدت ۴ ساعت مورد استخراج قرار گرفت. سپس نمونه شسته شده با حلال فوق، به مدت دو روز درون آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس گذاشته شد تا کاملاً خشک شود. و از طریق فرمول ۱ مقدار هیدروکربن‌های نفتی یا درصد نفت در نمونه محاسبه شد.

$$\%TPH = (Wi- Wd)/Wd) \times 100 \quad (۱)$$

برای محاسبه درصد نفت موجود در نمونه کافی است وزن اولیه نمونه (Wi) از وزن نمونه شسته شده با حلال و خشک شده درون آون (Wd) کسر شود و در فرمول فوق قرار گیرد.

برای محاسبه درصد تجزیه زیستی TPH از رابطه ۲ استفاده شد: (۲)

$$\%TPH\ degradation = (Wi- Wf)/Wi) \times 100$$

Wi مقدار نفت اولیه موجود در تیمار (برابر با مقدار نفت اولیه موجود در تیمار شاهد) و Wf مقدار نفت باقیمانده بعد از فرایند زیست‌پالایی (نفت موجود در تیمارها).

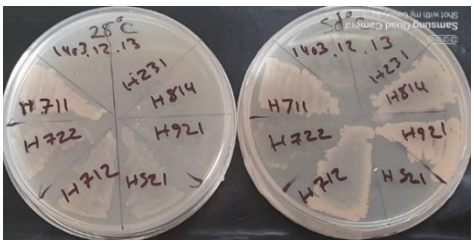
ز- طرح آماری و آنالیز داده‌ها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با اعمال تکرار مناسب (۲ تکرار) انجام شد و تجزیه آماری داده‌ها از طریق نرم‌افزار آماری SPSS صورت پذیرفت. مقایسات میانگین به روش دانکن انجام شد و نمودارها از طریق نرم افزار Excel ترسیم شد. تیمارهای آزمایش شامل ۹ سویه باکتریایی و یک نمونه شاهد بدون تلقیح بود. در این آزمایش تیمار شاهد، خاک آلوده بدون اعمال تلقیح میکروبی بود، که برای مقایسه کارایی زیست‌پالایی باکتری‌های مورد استفاده در آزمایش، درنظر گرفته شد. قابل ذکر است که در تیمار شاهد سایر عملیات (هوادهی، آبدهی و ...) انجام پذیرفت و فقط تلقیح میکروبی صورت نپذیرفت.

نتایج و بحث

رشد باکتری در دمای ۵۰ درجه سلسیوس

با توجه به میانگین بالای دما در بخش جنوبی کشور و کشورهای حوزه خلیج فارس و وجود دماهای بالا، طبیعی است که توجه به سویه‌های میکروبی که به خوبی در این شرایط امکان رشد و فعالیت داشته باشند، از نکات کلیدی است. همانگونه که از شکل ۱ برمی‌آید، عدم رشد برخی از باکتری‌ها نظیر H521 در دمای ۵۰ درجه سلسیوس دیده می‌شود. در نقطه مقابل برخی از جدایه‌ها در دمای بالاتر رشد بهتری داشتند (همانند جدایه H921 و H814). با توجه به اینکه تحمل دمای ۵۰ درجه برای انتخاب سویه‌ها برای آزمایش زیست‌پالایی مهم بود. ابتدا این تست دمایی جهت غربالگری باکتریها انجام شد و سویه‌های حساس همانند H521 برای بخش دوم آزمایش انتخاب نشدند.



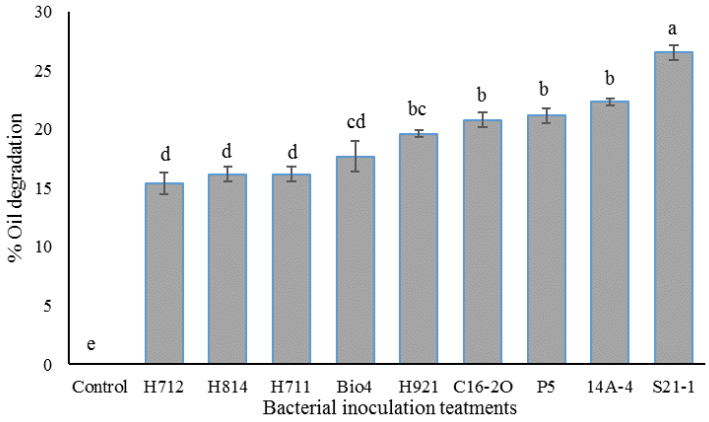
شکل ۱- بررسی توانایی رشد باکتری‌ها در دمای ۵۰ درجه سلسیوس. کشت خطی از باکتری‌های مورد آزمایش در دو دمای متفاوت (۵۰ درجه سلسیوس (سمت راست) و ۲۸ درجه سلسیوس (سمت چپ).

توجه به شاخصه‌های ظاهری خاک (رنگ و بوی خاک)

همانگونه که از تصویر برمی‌آید (شکل ۲)، در خلال فرایند زیست‌پالایی به مرور تغییراتی در ظاهر خاک آلوده نفتی مشاهده شد. به مرور از تیرگی آن کاسته شده و رنگ روشنتری پیدا نموده و به سمت قهوه‌ای شدن یا رنگ اصلی خاک سوق پیدا می‌کند، به بیان دیگر تغییر در ظاهر و رنگ خاک آشکار می‌گردد. سرعت این تغییر در تیمارهای کارآمد و موفق زیست‌پالایی بالاتر خواهد بود. علاوه بر تغییر رنگ خاک، بافت خاک و ساختمان خاک بهتر شده، بافت آن اسفنجی و پوک شده و شرایط تهویه خاک بهبود پیدا می‌کند. تغییر در میزان بوی متصاعد شده نیز مشهود بوده و روند کاهشی خواهد داشت. همچنین در مقایسه با روزهای نخست که در هنگام تامین رطوبت، حالت آبگریزی بارز بود جذب آب در نمونه‌ها با گذشت زمان بهتر می‌شود.

شکل ۲- مقایسه تیمارهای زیست‌پالایی بعد از تلقیح باکتریایی در مقایسه با نمونه شاهد. نمونه تیره (سمت راست پایین)، نمونه خاک آلوده نفتی است که تلقیح میکروبی در آن انجام نشده است و به عنوان نمونه شاهد می‌باشد.

میزان نفت خاک و درصد تجزیه نفت



شکل ۳- درصد تجزیه نفت یا ترکیبات نفتی (TPH) در تیمارهای تلقیح باکتریایی بعد از گذشت ۶۰ روز

آلودگی نفتی یکی از چالش‌های مهم زیست‌محیطی است که نیاز به روش‌های کارآمد برای پاک‌سازی دارد. زیست پالایی با استفاده از ریزجانداران، قارچ‌ها، یا آنزیم‌ها، هیدروکربن‌های نفتی را به ترکیبات کم‌خطرتر تجزیه می‌کند. برای ارزیابی موفقیت این فرآیند، محاسبه درصد تخریب نفت ضروری است. شکل ۳ نشان‌دهنده آن است که مقدار نفت در نمونه شاهد که هیچ تیماری بر روی آن انجام نشده است برابر با ۶/۵ درصد می‌باشد. در میان تیمارهای باکتریایی کمترین مقدار نفت مربوط به تیمار S21-1 می‌باشد. بر این اساس، نگاهی به درصد تجزیه نفت در بین تیمارها نشان داد که بالاترین مقدار تجزیه نفت مربوط به همین تیمار است (شکل ۳). همان‌گونه که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، این میزان در تیمار S21-1 حدود ۲۶ درصد به دست آمد. به نظر حذف کامل ترکیبات نفتی نیاز به زمان بیشتری داشته است. در مطالعات میدانی در مناطق آلوده با آلودگی بالا تمرکز بر کاهش آلودگی TPH به میزان کمتر از ۱ درصد می‌باشد. هر چند پیشرفت زیست‌پالایی به عوامل دیگری به جز غلظت اولیه آلاینده وابسته است اعم از نوع آلایندگی (سهم آلیفاتیک‌ها و آروماتیک‌ها)، نوع میکروب، شرایط محیطی (دما، رطوبت، تهویه، سطح عناصر غذایی و غیره).

در مطالعه حاضر باکتریهای مختلفی وابسته به جنس‌های مختلف (جنس‌هایی نظیر *باسیلوس*، *سودوموناس*، *پانتوآ*،...) استفاده شد. اما در مقام مقایسه با سایر گزارشات اعداد به دست آمده از تجزیه ترکیبات نفتی بسیار بالا نبودند. دلایلی مختلفی برای آن می‌توان متصور بود. از جمله، آنالیز GC-FID بر روی نمونه انجام نگرفت تا سهم ترکیبات آلیفاتیک و آروماتیک را مشخص نمود ولی به نظر توزیع این مواد در آلودگی نفتی عاملی برای کاهش تجزیه زیستی ترکیبات نفتی بوده است. شاید بتوان اینگونه عنوان نمود که باکتریهای مورد آزمون نیاز به زمان بیشتری برای حذف زیستی ترکیبات نفتی داشته‌اند، چنان که افشارنیا و همکاران (۲۰۲۲) میزان تجزیه حدود ۷۰ درصد را برای تیمار تلقیح باکتریایی COD2-3 بعد از سپری شدن ۴ ماه در آزمایش گلدانی گزارش نمودند.

نتیجه‌گیری

با توجه به توزیع و پراکندگی آلودگی‌های نفتی در مناطق نفت‌خیز بویژه در حوزه خلیج فارس و حاکم بودن دمای بالا در این مناطق، این آزمایش با هدف بررسی برخی از گونه‌های میکروبی متحمل به دمای ۵۰ درجه سلسیوس و امکان استفاده از آنها در زیست‌پالایی خاک‌های آلوده نفتی انجام گرفت. استفاده اولیه توبین ۸۰ به منظور افزایش فراهمی ترکیبات نفتی در تجزیه زیستی انجام گرفت و بعد از آن بکارگیری NPK و تلقیح باکتریایی در فواصل زمانی مشخص به همراه تامین رطوبت مناسب و هوادهی فعال صورت پذیرفت. توجه به داده‌های به دست آمده از میزان اولیه و باقیمانده TPH در نمونه شاهد و تیمار باکتریایی، حاکی از آن بود که بعد از گذشت ۶۰ روز مقدار اولیه ۶/۵ درصد TPH به ۴/۷ درصد کاهش یافته است. در این میان سویه S21-1 متعلق به جنس *سودوموناس* بالاترین کارایی را از خود نشان داد.

فهرست منابع

Afsharnia, M., Sarikhani, M. R., & Zarei, M. (2022). Isolation of oil degrading bacteria from oil contaminated soil around the oil refinery and petrochemical plants of Tabriz and identification of the efficient bacteria. Water and Soil Science, 32(4), 91-104. (In Persian with English abstract). DOI: 10.22034/WS.2021.45023.2408

Anonymous. (1998). *Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical Chemical Methods. Environmental Protection Agency*, USEPA, Washington DC, USA.

Ebrahimi, M., Fallah, A. R., & Sarikhani, M. R. (2013). Isolation and Identification of Oil-Degrading Bacteria from Oil-Polluted Soils and Assessment of Their Growth in the Presence of Gas Oil. *Water and Soil Science*. 23(1), 109-121. https://water-soil.tabrizu.ac.ir/article_201.html?lang=en

Ghavidel, A., Najirad, S., & Alikhani, H. A. (2016). Isolation and Study of Indigenous Bacteria of the Contaminated Soils in Southern of Tehran Oil Refinery plant for Bioremediation of Oil Contaminations. *Water and Soil Science*. 26(3), 175-185. https://water-soil.tabrizu.ac.ir/article_5543.html?lang=en

Moradi, Sh., Sarikhani, M. R., Beheshti Ale-Agha, A., Hassanpur, K., & Shiri, J. (2024a). Effects of natural and prolonged crude oil pollution on soil enzyme activities. *Geoderma Regional* 36 (2024) e00742

Moradi, Sh., Sarikhani, M. R., Beheshti Ale-Agha, A., Hassanpur, K., & Shiri, J. (2024b). Evaluation of the pattern of changes in basal and substrate-induced respiration in oil-contaminated soils (Case study: Naft-Shahr Kermanshah). *Water and Soil Science,* 34(1), 163-183. (In Persian with English abstract). DOI: 10.22034/ws.2021.48553.2502

Norozpour, M., Sarikhani, M. R., & Aliasgharzad, N. (2014). Monitoring of Soil Enzyme Activity Changes in a Heavy Naphtha-Contaminated Soil under Different Bioremediation Treatments. *Water and Soil Science*, 34(1), 217-233. DOI: 10.22034/ws.2021.48553.2448

Sarikhani, M. R., Afsharnia, M., Zareii, M., & Lotfolahi, A. (2025). Comparison of different bioremediation methods in reducing petroleum hydrocarbons in contaminated soil (case study: evaporation ponds of Tabriz refinery). *Water and Soil Science*

Thavamani, P., Malik, S., Beer, M., Megharaj, M., & Naidu, R. (2012). Microbial activity and diversity in long-term mixed contaminated soils with respect to polyaromatic hydrocarbons and heavy metals. *Journal of environmental management*, *99*, 10-17. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.12.030

Tyagi, M., da Fonseca, M. M. R., & de Carvalho, C. C. (2011). Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. *Biodegradation*, *22*, 231-241. https://link.springer.com/article/10.1007/s10532-010-9394-4

Comparative Analysis of Bacterial Isolates for Oil-Contaminated Soil Bioremediation

Mohammad Reza Sarikhani[1*], Ali Lotfolahi[2], Sevda Hashemzadeh[3], Pourya Bakhshaei[4]

[1] Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail: rsarikhani@yahoo.com

[2,3,4] Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

Abstract

Soil contamination by petroleum compounds is a serious environmental problem that can have devastating effects on ecosystems and human health. Physical and chemical soil remediation methods are often costly and destructive, while microbial bioremediation has gained attention as a sustainable and cost-effective alternative. In this experiment, nine bacterial isolates from a microbial culture collection (including H921, H814, H712, H711, S21-1, C16-2O, 14A-4, P5, and Bio4) were used for the bioremediation of petroleum-contaminated soil (initial contamination: 6.5%). The experiment lasted 60 days and was conducted at room temperature. During the experiment, moisture was maintained (every two days), stirring was performed (daily), and microbial inoculation along with NPK nutrient solution supplementation (every three days) were carried out. Key evaluation criteria included: reduction in emitted odor, changes in sample color, remaining petroleum levels after the experiment began. To determine the initial petroleum content, residual oil, and degradation percentage, the Soxhlet extraction method using diethyl ether as the solvent was employed. Among the tested strains, S21-1 showed the highest oil degradation rate (26%), followed by 14A-4 and C16-2O. Gradual color changes and reduced residual oil levels indicated the superior performance of strain S21-1, which belongs to the Pseudomonas genus.

Keywords: Bioaugmentation, Bioremediation, Total petroleum hydrocarbons