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

جداسازی باکتریهای تجزیه‌کننده نفت و مقایسه کارایی آنها در زیست‌پالایی خاک آلوده نفتی

محمدرضا ساریخانی[1*]، میترا ابراهیمی[2]

۱- استاد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
rsarikhani@yahoo.com
۲- دانشجوی فرادکترای بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

چکیده

در این مطالعه از یک خاک آلوده نفتی حاشیه خلیج فارس اقدام به جداسازی باکتریهای تجزیه‌کننده نفت شد و سپس کارایی آنها در حذف زیستی نفت از همان خاک آلوده مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور با بکارگیری خاک آلوده در محیط پایه CFMM، غنی‌سازی میکروبی (با تکرار کشت به مدت چندین روز) انجام گرفت. بعد از اطمینان از افزایش جمعیت میکروبی موجود در خاک، اقدام به تهیه سریهای رقت نموده و جداسازی و خالص‌سازی با بهره‌گیری از محیط فوق انجام شد. جدایه‌های به دست آمده از نظر سرعت رشد و همچنین توانایی رشد در دمای بالا (۵۰ درجه سلسیوس) مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفتند. سپس جدایه‌های به دست آمده (شامل KK3، KK4، KK6، KK7، KK8، KK9، KK10، KK14، KK16، KK17 و KK19) برای حذف زیستی آلودگی نفتی (با آلودگی اولیه ۶/۵ درصد) مورد استفاده قرار گرفتند. دو سویه دیگر نیز در این آزمایش گنجانده شد که از این خاک جداسازی نشده بودند (S21-1 و H712). 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، جدایه KK17 بالاترین درصد تجزیه نفت را به خود اختصاص داد (۳۸ درصد) و در رتبه‌های بعدی KK16، KK14 و KK9 قرار داشتند. تغییر رنگ تدریجی به همراه کاهش میزان نفت باقیمانده حاکی از برتری نسبی سویه KK17 داشت.

واژگان کلیدی: تلقیح زیستی، زیست‌پالایی، هیدروکربن‌های نفتی

مقدمه

آلودگی نفتی به دلیل مصرف گسترده سوخت‌های فسیلی به معضلی جهانی تبدیل شده است. این مشکل در خاورمیانه و کشورهای نفت‌خیز خلیج فارس شدیدتر است. درگیریها و جنگها نیز بر گسترش این موضوع بی‌تاثیر نبوده‌اند. هیدروکربن‌های نفتی از پایدارترین آلاینده‌های آلی هستند که با ورود به خاک و آب‌های زیرزمینی، محیط زیست و سلامت انسان را تهدید می‌کنند. آلودگی نفتی یکی از چالش‌های مهم زیست‌محیطی است که نیاز به روش‌های کارآمد برای پاک‌سازی دارد (Ebrahimi et al., 2013). آلودگی خاک با هیدروکربن‌های نفتی یک چالش زیست‌محیطی جدی محسوب می‌شود که خطرات قابل توجهی برای اکوسیستم‌ها، بهره‌وری کشاورزی و سلامت انسان ایجاد می‌کند. زیست‌پالایی میکروبی به عنوان یک روش نوظهور، پایدار و سازگار با محیط زیست که از قابلیت‌های متابولیک میکروارگانیسم‌ها برای تجزیه هیدروکربن‌ها به محصولات کم‌خطرتر استفاده می‌کند، در مدیریت این نوع آلاینده‌ها می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد (Moradi et al., 2024). در میان میکروارگانیسم‌های 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. ماشین‌آلات آنزیمی آن‌ها، از جمله اکسیژنازها و دهیدروژنازها، امکان کاتابولیسم آلکان‌ها، ترکیبات آروماتیک و هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAH) 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).

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). بویژه تفاوت در میزان و نوع آلودگی‌ها (آلودگی بالا یا کم، آلودگی آلیفاتیکی یا آروماتیکی و ...) و همچنین شرایط محیطی (نوع خاک، شوری و pH خاک، دمای محیط و ...) باعث شده است که تحقیقات در این حوزه ادامه داشته باشد. آفرت و همکارانش (Auffret et al., 2014) در مطالعه‌ای اقدام به جداسازی باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت از خاک و فاضلاب نمودند و از کنسرسیوم باکتریایی (مخلوط ۱۳ گونه باکتریایی موثر در تجزیه آلاینده‌های نفتی در خاک) برای زیست‌پالایی استفاده نمودند. آنها مشاهده کردند که با تلقیح این کنسرسیوم باکتریایی به خاک آلوده بعد از گذشت ۱۱۳ روز، از ۱۶ نوع ترکیب نفتی موجود در خاک، ۱۳ نوع بطور کامل و ۲ نوع بطور نسبی از خاک حذف شدند. تایاگی و همکارانش (Tyagi et al., 2011) نشان دادند که ۱۳ روز پس از تلقیح باکتری و کاربرد کود نیترات آمونیوم، آلودگی خاک به گازوئیل به میزان ۹۰ درصد کاهش یافت. این نتیجه به وسیله مقایسه سطح زیرمنحنی پیک‌های کروماتوگرافی گازی (GC) به دست آمد که نشان‌دهنده مصرف گازوئیل به وسیله جمعیت باکتری و افزایش فعالیت میکروبی در خاک آلوده در اثر تلقیح باکتری به خاک و کاربرد کود بود.

بر این اساس در مطالعه حاضر، ابتدا اقدام به جداسازی باکتریهای تجزیه‌کننده نفت شد و سپس پتانسیل تجزیه زیستی آنها در همان خاک آلوده نفتی در یک دوره ۶۰ روزه مورد ارزیابی قرار گرفت. 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. اندازه‌گیری هیدروکربن‌ها با استفاده از روش سوکسله و حلال دی‌اتیل اتر انجام شد تا اندازه‌گیری دقیقی از آلودگی باقیمانده تضمین شود.

مواد و روش‌ها

الف- تهیه خاک آلوده به مواد نفتی

در این آزمایش از خاکهای آلوده به نفت حوزه خلیج فارس استفاده شد. از این خاک هم به منظور جداسازی باکتریهای تجزیه‌کننده نفت استفاده شد و هم برای زیست‌پالایی. برای هر تیمار ۲۰ گرم از خاک آلوده توزین و مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری هیدروکربن نفتی کل یا TPH نشان داد که مقدار اولیه نفت در این خام آلودهٔ ۶/۵ درصد می‌باشد.

ب- جداسازی و آماده‌سازی باکتریها

برای جداسازی باکتریهای تجزیه‌کننده نفت از محیط CFMM استفاده شد (Ebrahimi et al., 2013). اجزا این محیط در یک لیتر شامل (NH_4NO_3، ۳ گرم؛ Na_2HPO_4، ۲/۲ گرم؛ KH_2PO_4، ۰/۸ گرم؛ $MgSO_4$، ۰/۰۱ گرم، $FeSO_4$، ۰/۰۰۵ گرم، $CaCl_2$، ۰/۰۰۵ گرم و آگار ۱۵ گرم) بود. برای جداسازی باکتریها ابتدا غنی‌سازی میکروبی انجام شد به این صورت که حدود ۵ گرم از خاک آلوده به ۵۰ میلی‌لیتر محیط CFMM مایع افزوده شد و بر روی شیکر انکوباتور قرار داده شد. پس از مشاهده کدورت نسبی، اقدام به انتقال بخشی از روشناور به محیط CFMM جدید شد و بدین صورت پس از چندین بازکشت، اقدام به تهیه سریهای رقت نموده و با استفاده از محیط CFMM جامد (حاوی نفت) اجازه رشد به باکتریها و خالص‌سازی آنها شد. در کشتهای میکروبی، پس از تهیه محیط CFMM جامد در هر پتری‌دیش به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر نفت خام افزوده شد و بر سطح آن گسترده شد. در بخش خالص‌سازی از محیط NA نیز استفاده شد. گرچه تعداد باکتریهای جدا شده در ابتدا حدود ۲۰ جدایه بود اما برای ادامه کار، نه سویه باکتریائی (شامل KK3، KK4، KK6، KK7، KK8، KK9، KK10، KK14، KK16، KK17 و KK19) درنظر گرفته شد. لازم به ذکر است که دو سویه دیگر نیز در این آزمایش گنجانده شد (S21-1 و H712). این سویه‌ها از بانک میکروبی گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تبریز تهیه شدند. به منظور استفاده از این باکتریها در امر زیست‌پالایی خاک آلوده، ابتدا کشت شبانه باکتریها در محیط NB انجام گرفت. پس از رسیدن به جمعیت مطلوب (OD=1، جمعیتی معادل با 1×10^9 CFU/ml) درون یخچال نگهداری شده و قبل از استفاده به میزان ۱۰ برابر رقیق شده و برای تلقیح خاک آوده استفاده شدند. رقیق‌سازی در آب مقطر یا در محلول NPK مورد استفاده، 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. سعی شد هوادهی روزانه باشد و در روزهای غیر از تلقیح باکتری در صورت نیاز به همان میزان آب برای هر تیمار افزوده و همزده شود. مدت آزمایش ۶۰ روز به طول انجامید. جزئیات روش تلقیح میکروبی در بخش ۳ 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 رشد باکتریها در پلیت 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 (با غلظت ۱٪ V/W) استفاده شد. افزودن سورفکتانت 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

زیست پالایی با استفاده از میکروارگانیسم‌ها، قارچ‌ها، یا آنزیم‌ها، هیدروکربن‌های نفتی را به ترکیبات کم‌خطرتر تجزیه می‌کند. برای ارزیابی موفقیت این فرآیند، محاسبه درصد تخریب نفت ضروری است. هرچند روشهای دیگری نیز برای این مورد وجود دارد (جدول ۱). 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. سپس از طریق فرمول ۱ مقدار هیدروکربن‌های نفتی یا درصد نفت در نمونه محاسبه شد. (۱) $\%TPH = (Wi- Wd)/Wd) \times 100$

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

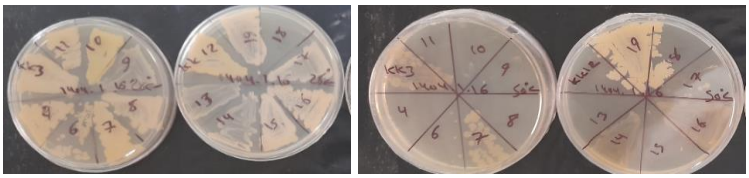
ز- طرح آماری و آنالیز داده‌ها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با اعمال تکرار مناسب 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 ۱۳ جدایه 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.

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 KK11 در دمای ۵۰ درجه سلسیوس دیده می‌شود. در نقطه مقابل برخی از جدایه‌ها در دمای بالاتر رشد بهتری داشتند (همانند جدایه KK19). 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 تاکید بر استفاده از سویه‌های مقاوم به دما برای بخش دوم آزمایش بود.



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).

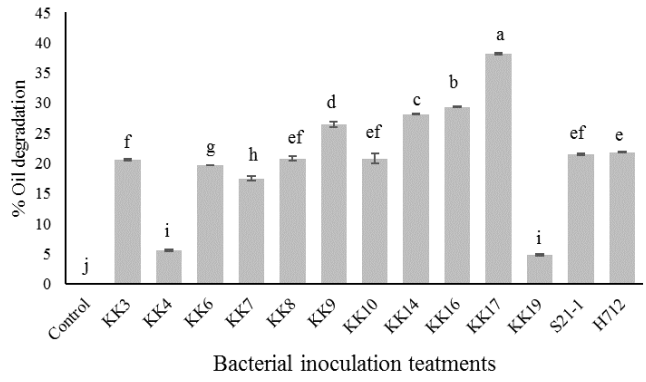
همانگونه که از تصویر برمی‌آید (شکل ۲)، در خلال فرایند زیست‌پالایی به مرور شاهد تغییراتی در ظاهر خاک آلوده نفتی هستیم. به مرور از تیرگی آن کاسته شده و رنگ روشنتری پیدا نموده و به سمت قهوه‌ای شدن یا رنگ اصلی خاک سوق پیدا می‌کند، به بیان دیگر تغییر در ظاهر و رنگ خاک آشکار می‌گردد. سرعت این تغییر در تیمارهای کارآمد و موفق زیست‌پالایی بالاتر خواهد بود. بخشی از این تغییرات در جدول ۱ قابل مشاهده است.

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

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک مورد پالایش زیستی قبل و بعد از تیمارهای زیستی.

خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک	قبل از زیست‌پالایی	بعد از زیست‌پالایی
تغییرات فیزیکی		
بافت خاک و ساختمان خاک	خاک فشرده، روغنی و چرب است ساختار خاک تخریب شده و فاقد دانه‌بندی مناسب به دلیل فقدان فعالیت میکروبی، کاهش نفوذپذیری خاک	بازگشت تخلخل و نفوذپذیری خاک به حالت عادی. بهبود تشکیل خاکدانه‌ها به دلیل فعالیت میکروارگانیسم‌ها و ترشح مواد پلیمری
رنگ خاک	رنگ خاک تیره یا قهوه‌ای تیره	رنگ خاک روشنتر شده، هیوی طبیعی خاک ظاهر می‌شود
بوی خاک	بوی شدید مواد نفتی	بدون بو، بوی خاک غالب است
جذب آب	آبگریزی غالب است	بهبود جذب آب
تغییرات شیمیایی		
مقدار هیدروکربن (TPH, Alkanes, PAH,...)	بالا بودن مقدار و نوع آلاینده	کاهش TPH به زیر ۱٪
سطح عناصر غذایی	کمبود نسبی نیتروژن و فسفر در نمونه (به دلیل مصرف توسط میکروارگانیسم‌ها برای تجزیه هیدروکربن‌ها)، بالا بودن C/N	افزایش نسبی به دلیل معدنی شدن مواد آلی و افزودن کودهای نیتروژنه (مثلاً اوره)، کاهش C/N
سمیت	بالا بودن سمیت و ممانعت از استقرار گیاه و فون خاک	کاهش اثرات سمی بر گیاهان و موجودات زنده خاک (با تست جوانه‌زنی گیاه، یا تست بقاء کرم خاکی کاهش سطح آلودگی قابل انجام است)
تغییرات زیستی		
فعالیت میکروبی	کاهش فعالیت میکروبی (کاهش تنوع میکروبی و تنها استقرار گونه‌های مقاوم به ترکیبات نفتی)- تنوع میکروبی کم و غالبیت با گونه‌های مقاوم به آلاینده	افزایش فعالیت و تنوع میکروبی (استقرار باکتریهای هتروتروف عمومی)- بازگشت باکتریها، قارچها و اکتینومیستهای مفید
فعالیت تنفسی	پایین بودن به دلیل سرکوب متابولیسم میکروبی	افزایش تنفس در نتیجه افزایش فعالیت متابولیکی میکروبها
فعالیت آنزیمی	کاهش فعالیت آنزیمی	افزایش فعالیت آنزیمی (دِهیدروژناز، لیپاز و...)، افزایش آنزیم‌های مرتبط با تجزیه آلاینده‌ها
رشد گیاه و حضور فون خاک	عدم رشد گیاه یا حضور فون خاک (کرم خاکی و ...)	احیاء و استقرار پوشش گیاهی و فون جانوری (نشانه احیا سلامت خاک)

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

در مطالعه حاضر جدایه‌های باکتریایی مختلفی جداسازی شدند که از نوع گرم مثبت یا منفی بودند اما شناسایی آنها هنوز کامل نشده است. اما به نظر جدایه‌های موثرتر در تجزیه زیستی نفت می‌توانند کاندید شناسایی مولکولی باشند. 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. از منظری دیگری می‌توان گفت باکتریهای مورد آزمون نیاز به زمان بیشتری برای حذف زیستی ترکیبات نفتی داشته‌اند.

نتیجه‌گیری

برای انجام پروژه‌های زیست‌پالایی ترکیبات نفتی، دست‌یابی به سویه‌های کارآمد یکی از نکات کلیدی می‌باشد و هدف از اجرای این کار تحقیقی، تلاش برای دست‌یابی به چنین موردی بوده است. 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 درصد کاهش یافته است. در این میان جدایه KK17 بالاترین کارایی را از خود نشان داد (۳۸ درصد تجزیه نفت)، هر چند اجرای آزمایش‌های میدانی نیز ضروت دارد تا بتوان توصیه نهایی را داشت.

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

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

Isolation of oil-degrading bacteria and comparison of their efficiency in the bioremediation of oil-contaminated soil

Mohammad Reza Sarikhani[1*], Mitra Ebrahimi[1]

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

Abstract

In this study, oil-degrading bacteria were isolated from an oil-contaminated soil from the Persian Gulf coast, and their efficiency in the bioremediation of oil from the same contaminated soil was evaluated. For this purpose, microbial enrichment was performed by culturing the contaminated soil in CFMM basal medium over several days with repeated subculturing. After confirming the increase in the microbial population in the soil, serial dilutions were prepared, and isolation and purification were carried out using the same medium. The obtained isolates (KK3, KK4, KK6, KK7, KK8, KK9, KK10, KK14, KK16, KK17, and KK19) were compared and evaluated in terms of growth rate and ability to grow at high temperatures (50°C). The obtained isolates were then used for the bioremediation of oil contamination (with an initial contamination level of 6.5%). Two additional strains (S21-1 and H712), which had not been isolated from this soil, were also included in the experiment. The duration of the experiment was 60 days, and it 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. Indicators such as the reduction of emitted odor, color change, and the amount of residual oil after the start of the experiment were among the comparative criteria between the experimental treatments. To determine the initial oil content and the remaining oil in the samples, as well as the percentage of oil degradation, the Soxhlet extraction method using diethyl ether as the solvent was employed. Among the tested treatments, isolate KK17 showed the highest percentage of oil degradation (38%), followed by KK16, KK14, and KK9. The gradual color change, along with the reduction in residual oil, indicated the relative superiority of strain KK17.

Keywords: Bioaugmentation, Bioremediation, Total petroleum hydrocarbons