



## بررسی تأثیر شوری بر کارایی فرآیند اصلاح زیستی خاک آلوده به فنانتین

معصومه روانی پور<sup>۱</sup>، روشنک رضایی کلانتری<sup>۱\*</sup>، مهدی فرزادکیا<sup>۱</sup>، سمیره هاشمی نجف آبادی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۲</sup> گروه بهداشت محیط، معاونت بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

<sup>۳</sup> گروه بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس

### چکیده

زمینه: فنانتین یکی از آلاینده‌های هیدروکربنه‌ی آروماتیک چندحلقه‌ای بوده که به دنبال فرآیند احتراق ناقص سوخت‌های فسیلی، آلودگی نفتی و فرآیندهای صنعت نفت و گاز و غیره بوجود می‌آیند. سمیت، سرطان‌زایی، خصوصیات آب‌گریزی و تمایل به تجمع در بافت خاک و ورود به زنجیره غذایی اهمیت آنها را از نظر بهداشت عمومی و محیط زیست افزایش داده است. اصلاح زیستی یک روش اقتصادی و مؤثر برای تجزیه آلاینده‌های سمی از قبیل فنانتین می‌باشد. در این تحقیق تأثیر شوری بر کارایی اصلاح زیستی خاک آلوده به فنانتین مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها: خاک عاری از هر نوع آلودگی شیمیایی و میکروبی، به‌طور مصنوعی به فنانتین آلوده شده سپس محلول نوترینت با دو غلظت بیشینه و کمینه شوری تهیه بعد مخلوط میکروبی که توانایی تجزیه فنانتین را دارد به محلول اضافه نموده، طوری که نسبت ۱۰ درصد وزنی به حجمی (خاک به محلول) حاصل گردد، سپس نمونه‌ها هوادهی شدند. غلظت فنانتین باقیمانده در خاک پس از استخراج با اولتراسونیک توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: در شرایطی که غلظت نمک حداکثر بود رشد میکروبی دارای فاز تأخیری طولانی‌تری بوده و در غلظت حداقل نمک این فاز کوتاه‌تر بود. بررسی نتایج حاصل از انجام فرآیند استخراج با کروماتوگرافی گازی در پایان ۵۶ روز درصد حذف در نمونه‌های حداکثر و حداقل نمک را به ترتیب ۷۰/۵ درصد و ۷۱/۸ درصد نشان داد.

نتیجه‌گیری: علی‌رغم اینکه فاز تأخیری در نمونه نمک حداکثر طولانی‌تر شد، اما، همان‌طور که نتایج استخراج نشان داد درصد حاصل از حذف در دو محلول تفاوت چندانی نداشت. نتیجه می‌شود، شوری موجب افزایش فاز تأخیری شده اما اثر ممانعت‌کنندگی بر حذف هیدروکربن فنانتین ندارد.

واژگان کلیدی: آلودگی خاک، هیدروکربن‌های معطر چند حلقه‌ای، اصلاح زیستی، شوری

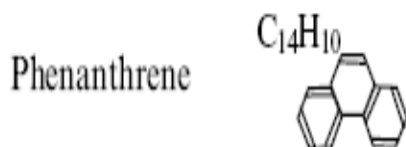
دریافت مقاله: ۸۹/۳/۲- پذیرش مقاله: ۸۹/۳/۲۶

\* تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت

E-mail : roshanak.r.k@gmail.com

## مقدمه

آلاینده‌های گسترده زیست محیطی می‌باشند که به دنبال فرآیند احتراق ناقص سوخت‌های فسیلی، دود سیگار، دود خروجی از اگزوز موتورهای دیزلی، آلودگی نفتی و فرآیندهای صنعتی مانند صنایع پتروشیمی و نفت، فاضلاب‌های خانگی و صنعتی و نشن محصولات نفتی از کشتی‌ها بوجود می‌آیند. غلظت PAH در رسوبات دریایی ممکن است به بیش از ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هم برسد (۱۱-۶). به دنبال تحقیقات انجام شده بسیاری از آلاینده‌های اولیه آلی در نمونه‌های خاک شناسایی شده‌اند که مشخصاً فلورانتین و فنانتین در کل نمونه‌های آلوده خیابانی حضور داشتند (۱۲). فنانتین نماینده ترکیبات سه حلقه‌ای PAH بوده و دارای وزن مولکولی ۱۷۸/۲۳، چگالی ۱/۰۶۳، نقطه جوش ۳۴۰ و حلالیت ۱ میلی‌گرم در لیتر آب می‌باشد (شکل ۱) (۱۳).



شکل ۱) ساختار شیمیایی هیدروکربن آروماتیک سه حلقه‌ای فنانتین

به‌طور معمول با افزایش اندازه مولکولی، حلالیت و قابلیت دسترس‌پذیری زیستی PAHها کاهش می‌یابد و در نهایت موجب کاهش قابلیت تجزیه زیستی آنها می‌گردد (۶، ۸ و ۱۷-۱۴). ترکیبات PAH همچنین تمایل به جذب شدن به ذرات خاک را دارند، که منجر به محدود شدن دسترس‌پذیری زیستی آنها در خاک می‌گردد (۸، ۱۰، ۱۸ و ۱۹). روش‌های متداول حرارتی، شیمیایی- فیزیکی و غیره جهت پاک‌سازی این نوع آلاینده‌ها خصوصاً در خاک که یک محیط

رشد قابل توجه صنعت نفت و صنایع جانبی آن که به تولید، انبار و انتقال و غیره این مواد منتهی شده، هیدروکربن‌های نفتی را در زمره گسترده‌ترین آلاینده‌های محیط زیست قرار داده است (۱ و ۲). سالانه بیش از ۲ میلیارد تن نفت خام در کل جهان تولید می‌شود. نشن اتفاقی در دریا و رهاسازی نفت از تانکرها در دریاها تنها ۱۰ درصد از کل آلودگی‌های حاصل از تخلیه هیدروکربن‌های نفتی به محیط زیست است (۳). مقادیر بزرگ و اتفاقی ورود این آلاینده‌ها شامل نشن از بخش‌های صادرات نفت، تانکرهای نفت، خطوط لوله نفت (زیر زمین و زیر دریا)، تانکرهای ذخیره و روغن‌های روان‌کننده دریایی می‌باشد (۲). ترکیبات مختلف تشکیل‌دهنده نفت اثرات سوء متفاوتی بر موجودات زنده داشته و می‌توانند از طریق هوا، غذا و آب، جذب بدن شوند؛ بالاخص هیدروکربن‌های نفتی می‌توانند از طریق شش‌ها و معده جذب شوند (۴). در صورت مواجهه حاد، بدن انسان با این ترکیبات نفتی، عوارضی چون التهاب، تکثیر سریع سلولی، شاخی شدن و ریشی شدن پوست را موجب می‌شوند. صدمه به سیستم اعصاب و لنف‌ها، ممانعت از عملکرد سیستم ایمنی، نکروزه شدن آدرنال و اثرات سوء بر سلول‌های جنسی بخشی از اثرات مخرب این آلاینده‌هاست (۵). به‌جهت خصوصیات سرطان‌زایی و جهش‌زایی هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای، آژانس حفاظت محیط‌زیست ایالات متحده ۱۶ ترکیب از این هیدروکربن‌ها را به‌عنوان آلاینده‌های اولیه عنوان کرده است (۶ و ۷). هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAH=Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) از دو یا چندحلقه بنزنی تشکیل شده (۸ و ۹) و جزء

شوری بالا مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند، هر چند بسیاری از مناطق خشکی نیز وجود دارند که دارای خاک با شوری بالا بوده و باید بتوان روش صحیح تصفیه را برای مواقعی که این مناطق به هر ترتیب آلوده به آلاینده‌های نفتی می‌شوند، اتخاذ نمود. به‌همین منظور تحقیق حاضر به‌بررسی تأثیر شوری بر فرآیند اصلاح زیستی خاک‌های آلوده به ترکیب نفتی فنانتین می‌پردازد

### مواد و روش کار

برای انجام آزمایشات مواد شیمیایی زیر به‌کار رفت: فنانتین با درجه خلوص بالا، استون HPLC grade شرکت ROMIL، نوترینت برات و R2A آگار شرکت BIOMARK، نمک‌های محیط کشت معدنی و NaCl شرکت Merck. خاک معمولی از ارتفاع ۲۰-۵ سانتی‌متری بالایی سطح زمین در شهر تهران برداشته شد. قبل از تزریق آلاینده، خاک در معرض هوا خشک گردیده و از الک ۲ میلی‌متری برای حذف سنگ‌ها عبور داده شد. سپس برای عاری بودن از مواد آلی آنرا با استون شسته و این کار طی سه مرحله تکرار انجام گرفت. نهایتاً برای حذف استن، خاک با آب مقطر مورد شستشو قرار گرفت. ۲ گرم از خاک خشک و آماده شده را در شیشه‌هایی به رنگ تیره که به‌عنوان یک راکتور زیستی ناپیوسته آزمایش (Bach reactor) عمل می‌کنند ریخته و در اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در زمان ۱۵ دقیقه) استریل شدند. سپس به‌طور مصنوعی به فنانتین آلوده شده به‌طوری‌که غلظت فنانتین در خاک به ۵۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم خاک رسید (۲۵). به‌منظور آماده‌سازی محلول نوترینت محیط کشت غنی‌سازی (۲۶) بر اساس جدول ۱ تهیه شد و به ظروف نمونه و

جامد معدنی متخلخل است، به‌دلایل گوناگون، نظیر پائین بودن حلالیت، غیرقطبی بودن و آب‌گریز بودن همواره با مشکلاتی مواجه بوده است (۱). روش اصلاح زیستی (Bioremediation) یک فرآیند مؤثر، دوستدار اکوسیستم و اقتصادی است که به‌منظور حذف آلاینده‌ها از خاک، از میکروارگانیسم‌های زنده برای کاهش آلاینده‌های آلی و نتیجتاً پاک‌سازی محیط استفاده می‌کند (۱، ۶، ۹ و ۲۳-۲۰). تجزیه میکروبی PAHها به‌عوامل مختلفی چون دمای محیط، PH، شوری، دسترسی به اکسیژن، دسترسی به نوترینت‌ها، مقدار و ترکیب شیمیایی آلاینده نفتی، خصوصیات فیزیکوشیمیایی PAHها و نوع عملکرد آنها با ترکیبات زنده و غیرزنده محیط زیست پیرامونشان بستگی دارد (۲ و ۷). در شانگهای تحقیق گسترده‌ای بر روی آلودگی انواع مختلف خاک‌ها مانند خاک خیابان، کشاورزی، صنعتی و غیره انجام شد و در نهایت PAHهای ۲ و ۳ حلقه‌ای از ترکیبات اصلی موجود در خاک‌های صنعتی شناخته شدند (۲۴). شوری به‌عنوان یک فاکتور مؤثر بر تجزیه میکروبی مطرح می‌باشد. ارگانیسم‌هایی یافت شده‌اند که در آب دریا قادر به تجزیه میکروبی نفت در غلظت‌های نمکی متفاوت از ۰/۱ درصد تا ۲ درصد بوده و شامل میکروبی‌های سودوموناس SP، انتروباکتر، و تعدادی از گرم منفی‌های هوازی می‌باشند (۲). تحقیقات نشان داده با افزایش غلظت نمک، در میزان حلالیت PAHهای آنتراسن، ۲ متیل آنتراسن، ۲ اتیل آنتراسن و بنزوآپیرن موجود در آب شور دریا کاهش ایجاد شده اما در مقابل، افزایش غلظت نمک موجب افزایش در حلالیت بنزوآنتراسن شده است (۷). اخیراً دریاها و اقیانوس‌ها و سواحل آنها به‌عنوان محیط‌های آلوده به ترکیبات نفتی با

در این حالت فاز جامد خاک به فاز دوغابی با نسبت ۱۰ درصد وزنی حجمی تبدیل می‌گردد. برای قرائت دانسیته اپتیکی از دستگاه اسپکتروفتومتر CECIL UV/VIS مدل ۷۱۰۰ استفاده گردید. جهت اطمینان از روند رشد میکروبی در نمونه‌های اصلی، نمونه‌هایی نیز به‌عنوان شاهد میکروبی که حاوی میکروب و خاک بدون فناترین و محلول نوترینت همراه یا بدون نمک (شوری) می‌باشد و نیز نمونه‌هایی از شاهد شیمیایی که تنها حاوی خاک آغشته به فناترین و نوترینت همراه یا بدون نمک (شوری) بود، در نظر گرفته شدند (جدول ۲). برای شوری دو سطح در نظر گرفته می‌شود: سطح min آن برابر صفر و سطح max آن برابر ۲ درصد وزنی به حجمی (۲۸) تعیین شد. PH محلول sal max برابر ۷/۳ و PH محلول Sal min برابر ۷ بود. کلیه راکتورها به‌منظور هوادهی و ایجاد شرایط هوازی بر روی دستگاه شیکر Heidolph مدل ProMAX 2020 با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه در دمای محیط قرار گرفتند. در این مطالعه دمای محیط آزمایشگاه که دامنه تغییرات آن محدود بوده است (۳ ± ۲۲)، به‌عنوان دمای آزمایش برای خاک در نظر گرفته شد. آزمون میکروبی MPN (روش ۹ لوله‌ای) با فواصل زمانی تعریف شده برای کلیه نمونه‌ها انجام شد. به این منظور از سرم فیزیولوژی و نوترینت براث سترون در رقت‌های مناسب استفاده شد. نسبت باکتری اضافه شده به محیط کشت نوترینت براث ۱۰ درصد حجمی بود به‌گونه‌ای که به ازای ۹ میلی‌لیتر نوترینت براث ۱ میلی‌لیتر باکتری رقیق شده در سرم فیزیولوژی به محلول اضافه شد. بعد از ۴۸ ساعت گرماگذاری نتایج بر اساس جدول استاتیکی تخمین زده شد (۲۹ و ۳۰). در ادامه به‌منظور تعیین غلظت آلاینده باقی‌مانده در

شاهد طبق جدول ۲ نمک (NaCl) اضافه گردید. برای تنظیم PH محلول‌های تهیه شده، با استفاده از PH سنج مدل HACH 40d، PH کلیه نمونه‌ها در محدوده خشتی که مناسب رشد میکروب‌های هتروتروف می‌باشد تنظیم گردید.

#### جدول ۱) خصوصیات محلول محیط کشت معدنی مصرفی و عناصر جزئی آن

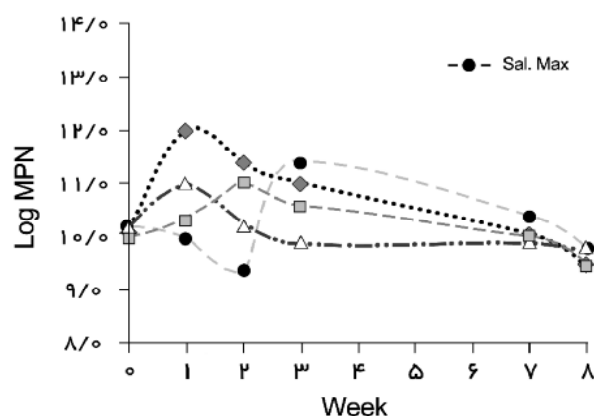
عناصر	محلول نوترینت (گرم/لیتر)	
	۰/۸	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
	۰/۲	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
	۱	KNO <sub>3</sub>
Macro & Miero	۰/۲	MgSo <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O
	۰/۸	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O
	۰/۸	NaCl
	۰/۰۱	FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O
Trace	۱MI	Trace elements

در مرحله بعد مخلوط میکروبی شامل باکتری‌های باسیلوس لیچینی فرمیس، باسیلوس SP. و استافیلوکوکوس گزیلوس، اسپیتوباکتریومانی و کپنوسیتوفاگا اوکاریا که توانایی تجزیه فناترین را داشته و در تحقیق جداگانه‌ای از بافت خاک طبیعی جداسازی شده بودند (۲۷) بر روی محیط کشت آگار تکثیر یافته و به‌عنوان تجزیه‌کننده آلاینده فناترین با دانسیته اپتیکی معادل یک (OD=1) و در طول موج ۶۳۰ نانومتر به هریک از محلول‌های تهیه شده اضافه شد (۲۶).

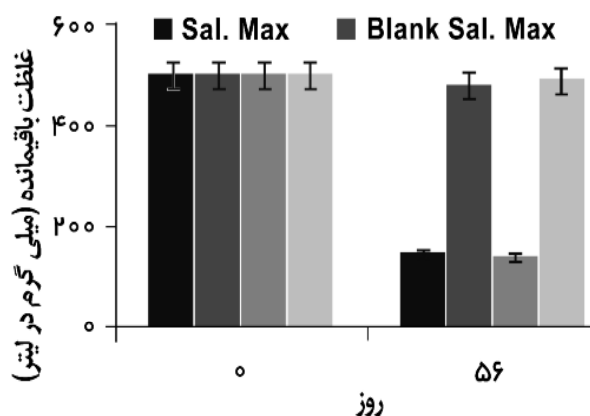
#### جدول ۲) وضعیت نمونه‌های اصلی و شاهد‌های میکروبی و شیمیایی آنها

نمونه	غلظت شوری	جمعیت میکروبی	فناترین (میلی‌گرم/لیتر)
نمونه ۱	Max	+	+
نمونه ۲	Min	+	+
شاهد شیمیایی نمونه ۱	Max	-	+
شاهد شیمیایی نمونه ۲	Min	-	+
شاهد میکروبی نمونه ۱	Max	+	-
شاهد میکروبی نمونه ۲	Min	+	-

منبع کربنه اولیه موجود و مورد دسترس باکتری‌ها دارای رشد میکروبی کمتری بوده‌اند. با توجه به انجام آزمون استخراج توسط GC، غلظت باقی‌مانده فنانترین در اثر تجزیه میکروبی و نمونه‌های شاهد آن توسط نمودار ۲ مشخص گردید. در هر دو نمونه Sal. max (با غلظت شوری ماکزیمم) و Sal. min (با غلظت شوری مینیمم) کاهش در غلظت آلاینده مشاهده گردید و نمونه‌های شاهد آنها نیز تقریباً در همان حد اولیه باقی ماندند.



نمودار ۱) چگونگی رشد میکروبی در نمونه‌ها



نمودار ۲) غلظت باقیمانده نمونه‌ها در طی زمان

### بحث

اصلاح زیستی یک تکنولوژی جوان و نوظهور می‌باشد و در طی ۳۰ سال گذشته به‌طور موفقیت‌آمیزی برای تصفیه خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی استفاده شده

خاک با استفاده از حلال استون و به‌وسیله دستگاه اولتراسونیک مدل Bandelin Sonoplus بر اساس روش (EPA) ۳۵۵۰ آژانس حفاظت محیط زیست (۳۱) عمل استخراج صورت گرفت و محلول حاصل به‌دستگاه سانتریفوژ با مدل Hettich Universal منتقل و در سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. غلظت آلاینده باقی‌مانده با دستگاه GC مدل CHROMPACK CP 9001 و ستون HP5 تعیین شد. برنامه دمایی GC به شرح زیر تنظیم گردید: زمان اولیه ۱ دقیقه در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، دمای نهایی ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، دمای انژکتور ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و دمای دتکتور ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد. کلیه مراحل آزمایش در آزمایشگاه پایلوت دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران صورت پذیرفته است.

### یافته‌ها

به‌دنبال اجرای طرح و پس از گذشت دوره زمانی ۵۶ روز (هشت هفته) مطابق با نمودار ۱ چگونگی رشد میکروب اضافه شده به‌خاک آلوده بدست آمد. در این نمودار غلظت ماکزیمم شوری نمونه اصلی ابتدا کاهش رشد تا هفته دوم و سپس افزایش شدید در رشد میکروبی تا هفته سوم مشاهده شده و سپس روند نزولی دارد. نمودار شاهد آن تا هفته دوم رشد صعودی و تا هفته هشتم روند کاهشی دارد. در نمونه با شوری حداقل نیز دو نمودار نمونه اصلی و شاهد آن دارای روند مناسبی در رشد میکروبی بوده و در هفته اول در حداکثر رشد خود قرار دارند. در هر دو نمودار با شوری بیشینه و کمینه نمونه‌های شاهد نسبت به نمونه‌های اصلی به‌دلیل عدم وجود فنانترین به‌عنوان تنها

اما اثر ممانعت‌کنندگی روی معدنی شدن (تجزیه کامل تا رسیدن به CO<sub>2</sub> و آب) کل هگزادکان در پایان آزمایش‌ها نشان نداد (۳۵). میل و همکاران دریافتند که اثر ممانعت‌کنندگی شوری در حدود (W/V) ۲/۴ درصد از NaCl است (۳۶). چن (Chen) و همکاران در تحقیق خود دریافتند که مهم‌ترین فاکتورها بر تجزیه فنانترین شوری در حد ۱/۵ درصد و میزان تلقیح میکروبی اولیه از نوع باکتری اسپینگوموناس Sp. به میزان (MPN/g) ۱۰<sup>۶</sup> بوده و شرایط بهینه برای تجزیه زیستی فنانترین، در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، شوری ۱/۵ درصد، نسبت C/N برابر ۱۰۰/۱ و میزان تلقیح (MPN/g) ۱۰<sup>۶</sup> با غلظت فنانترین ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پیش‌بینی شد. تغییرات غلظت اولیه فنانترین بین ۵ تا ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود و بعد از ۶ روز آزمایش تغییرات درصد حذف فنانترین از ۵۰ درصد تا ۹۰ درصد به‌دست آمد (۹). در مقایسه با مطالعه حاضر که با غلظت شوری ۲ درصد، میزان تلقیح اولیه مخلوط باکتریایی (MPN/g) ۱۰<sup>۹</sup> و غلظت اولیه فنانترین برابر ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انجام شد، پس از ۵۶ روز درصد حذف فنانترین ۷۰/۵ درصد به‌دست آمد که به‌نظر می‌رسد دلایل واضح تفاوت درصد حذف مربوط به غلظت اولیه فنانترین و نوع باکتری‌های به‌کار رفته و احتمالاً دمای دوره آزمایش باشد. نتایج موخر جی و همکاران نشان داد محیط میکروبی قادر به تحمل شوری تا غلظت ۳/۵ درصد بوده اما بهترین عملکرد حذف نفت دیزل را به‌میزان ۶۱ درصد در غلظت ۰/۵ درصد شوری به‌دست آوردند که در مقایسه با غلظت صفر شوری که ۳۹ درصد حذف داشت نتیجه بهتری بود (۳۷). مینایی تهرانی و همکاران نیز تأثیر شوری را بر میزان تجزیه بیولوژیکی PAHs در خاک آلوده به نفت خام سنگین در غلظت‌های ۰ تا ۵ درصد مطالعه نمود، اما نتایج نشان داد با افزایش در غلظت NaCl در خاک تجزیه بیولوژیکی کل نفت خام و PAHs روند کاهشی دارد (۲۸) که این نتیجه برخلاف تحقیق بارسن و همکاران

است (۳۲). بسیاری از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها توانایی تجزیه PAHهای ۲ تا ۶ حلقه‌ای را دارا هستند، که معمولاً در شرایط هوازی و بهینه انجام می‌شود (۳۳). باکتری‌هایی که اغلب در فرآیند اصلاح زیستی ترکیبات آلوده مؤثر می‌باشند، هتروتروف‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن‌ها هستند (۳۴). باکتری‌های خاک معمولاً در دماهای بین ۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد عمل می‌کنند (۳۲ و ۳۴). اغلب باکتری‌ها می‌توانند در فشار اسمزی گسترده مقاومت کنند. برای مثال باکتری هوازی خاک، آئروژنز آئروباکتر، می‌تواند در محیط با غلظت‌های نمک از ۰/۱ درصد تا حدود ۱۲ درصد باشد؛ اما کلیه باکتری‌های دریایی نیاز به حدوداً ۳/۵ درصد نمک دارند و نمی‌توانند در مقدار نمک کمتر از ۱ درصد رشد کنند (۲۸). شوری به‌عنوان یک فاکتور مؤثر در فرآیند اصلاح زیستی مطرح است. شوری بیش از حد بهینه موجب افزایش فاز تأخیری (Lag phase) در فرآیند رشد میکروبی شده و تمایل به کاهش میزان رشد میکروارگانیسم و ساخت بیومس دارد (۱۸). نتیجه مطالعه حاضر نیز نشان داد هنگامی که مقدار نمک در خاک در حداکثر مقدار خود بوده منجر به افزایش فاز تأخیری در فرآیند رشد میکروبی شده است که دلیل خوبی بر اثبات بالاتر بودن محدوده ماکزیمم شوری اضافه شده به نمونه ۱ از سطح بهینه مورد نیاز برای رشد باکتری می‌باشد. به‌عبارتی دیگر مقدار سطح بهینه شوری برای رشد مناسب میکروب‌های خاک بایستی کمتر از سطح بیشینه انتخابی در این مطالعه باشد. مطالعه‌ای که توسط بارسن (Børresen) و همکاران انجام شد نشان داد معدنی شدن هیدروکربن احیا شده در غلظت‌های بالای نمک نوترینت (۷۱mmol Na<sup>+</sup>/Kg soil و mg NH<sub>4</sub><sup>-</sup>) از طریق افزایش شوری خاک موجب ممانعت از تجزیه میکروبی هیدروکربن می‌شود. افزایش شوری در خاک با افزودن NH<sub>4</sub><sup>+</sup> و Na<sup>+</sup> زمان سازگاری میکروارگانیسم‌ها را افزایش داده

رشد آن می‌گردد اما بر فعالیت میکروب‌ها در راستای تجزیه آلاینده و کاهش آن تأثیری ندارد.

### تشکر و قدردانی

لازم می‌دانیم بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران به جهت تأمین مالی پایان‌نامه کد ۶۴۹ پ، همچنین جناب آقای مهندس علی اسرافیلی مسئول آزمایشگاه تجزیه دستگاهی و سرکار خانم مهندس رویا میرزایی مسئول آزمایشگاه میکروبی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران به دلیل همکاری‌های بی‌شائبه‌شان و سرکار خانم هندی‌زاده و کلیه دوستان و همکاران محترم که ما را در اجرای این تحقیق صمیمانه یاری نموده‌اند، اعلام نماییم.

می‌باشد. میزان مشابه حذف PAH از خاک با دو وضعیت شوری حداقل و حداکثر در تحقیق حاضر نشان‌دهنده عدم ممانعت از تجزیه میکروبی آلاینده تحت تأثیر شوری است. تفاوت بین درصد حذف نمونه اصلی با شوری حداقل و نمونه با شوری حداکثر چندان زیاد نبوده چنان‌که به ترتیب ۷۱/۸ و ۷۰/۵ درصد (با درصد اطمینان ۹۵ درصد) به دست آمد. این مسئله حاکی از آن است که علیرغم سطح بسیار متفاوتی که بین حداکثر و حداقل شوری ورودی به خاک وجود داشته، اما ظاهراً شوری نمی‌تواند به‌عنوان عامل تأثیرگذاری بر میزان تجزیه فنانتین و معدنی شدن آن عمل نماید. این نتیجه توسط تحقیق بارسن و همکاران که در سال ۲۰۰۷ به دست آمده بود نیز تأیید می‌گردد (۳۵). به عبارتی ساده‌تر شوری بر میزان رشد میکروبی تأثیر گذاشته و موجب تأخیر در

### References:

1. Yaghmaei S, editor. Bioremediation of polluted soils with phenanthrene and anthracene. The 6th National congress on chemistry engineering. 2001 Apr. 28, Isfahan, Iran. Tehran: Irandoc, 2010.
2. Doble M, Kumar A, editors. Biotreatment of industrial effluents. International ed. The United States of America: Elsevier: 2005, 241-54.
3. M. Atlas R, Philip JC, editors. Bioremediation-applied microbial solutions for real world environmental clean up. 1th ed. Washington D.C: ASM Press: 2005, 1-45.
4. Vetter RD, Carey MC, Patton JS. Coassimilation of dietary fat and benzo (a) pyrene in the small intestine: an absorption model using the killifish. *J Lipid Res* 1985; 26: 428-34.
5. Santodonato J, Howard P, Basu D. Health and ecological assessment of polynuclear aromatic hydrocarbons. *J Environ Pathol and Toxicol* 1981; 5: 1-364.
6. Kolomytseva MP, Randazzo D, Baskunov BP, et al. Role of surfactants in optimizing fluorene assimilation and intermediate formation by *Rhodococcus rhodochrous* VKM B-2469. *Bioresource Technology* 2009; 100: 839-44.
7. Pothuluri JV, Cernigelia CE. Microbial Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. In: Chaudhry GR, editor. Biological degradation and bioremediation of toxic chemicals. 1st ed. Kluwer Academic: Publishers; 1995: 93-124.
8. Piskonen R, Itäevaara M. Evaluation of chemical pretreatment of contaminated soil for improved PAH bioremediation. *Appl Microbiol Biotechnol* 2004; 65: 627-34.
9. Chen J, Wong MH, Wong YS, et al. Multi-factors on biodegradation kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by *Sphingomonas* sp. a bacterial strain isolated from mangrove sediment. *Mar Pollut Bull* 2008; 57: 695-702.
10. Samanta SK, Singh OV, Jain RK. Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. *Trends Biotechnol* 2002; 20: 243-8.
11. Zaidi BR, Imam SH. Factors affecting microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon phenanthrene in the Caribbean coastal water. *Mar Pollut Bull* 1999; 38: 737-42.
12. Mahvi AH, Mardani G. Determination of phenanthrene in urban runoff of Tehran, capital of Iran. *Iranian J Env Health Sci Eng* 2005; 2: 5-11.
13. Alcantara MT, Gomez J, Pazos M, et al. Combined treatment of PAHs contaminated soils using the sequence extraction with surfactant-electrochemical degradation. *Chemosphere* 2008; 70: 1438-44.
14. Powell SN, Singleton DR, Aitken MD. Effects of enrichment with salicylate on

- bacterial selection and PAH mineralization in a microbial community from a bioreactor treating contaminated soil. *Environ Sci Technol* 2008; 42: 4099-105.
15. Avramova T, Sotirova A, Galabova D, et al. Effect of Triton X-100 and rhamnolipid PS-17 on the mineralization of phenanthrene by *Pseudomonas* sp. cells. *Int Biodeter Biodegrad* 2008; 62: 415-20.
  16. Ahn CK, Woo SH, Park JM. Enhanced sorption of phenanthrene on activated carbon in surfactant solution. *Carbon* 2008; 46: 1401-10.
  17. Liang Y, Sorensen DL, McLean JE, et al. Pyrene fate affected by humic acid amendment in soil slurry systems. *J Biol Eng* 2008; 2: 11.
  18. Haderlein A, Legros R, Ramsay B. Enhancing pyrene mineralization in contaminated soil by the addition of humic acids or composted contaminated soil. *Appl Microbiol Biotechnol* 2001; 56: 555-9.
  19. Mohan SV, Kisa T, Ohkuma T, et al. Bioremediation technologies for treatment of PAH-contaminated soil and strategies to enhance process efficiency. *Rev Environ Sci Biotechnol* 2006; 5: 347-74.
  20. Robles-Gonzalez IV, Fava F, Poggi-Varaldo HM. A review on slurry bioreactors for bioremediation of soils and sediments. *Microb Cell Fact* 2008; 7: 5.
  21. Niqui-Arroyo JL, Bueno-Montes M, Posada-Baquero R, et al. Electrokinetic enhancement of phenanthrene biodegradation in creosote-polluted clay soil. *Environ Pollut* 2006; 142: 326-32.
  22. Keane A, Lau PCK, Ghoshal S. Use of a whole-cell biosensor to assess the bioavailability enhancement of aromatic hydrocarbon compounds by nonionic surfactants. *Biotechnol Bioeng* 2008; 99: 86-98.
  23. Alvarez PJJ, Illman WA, editors. *Bioremediation and natural attenuation: process fundamentals and mathematical models*. 2nd ed. New Jersey: John Wiley & sons, 2006, 12-20.
  24. Shi GT, Chen ZL, Xu SY, et al. Salinity and Persistent Toxic Substances in Soils from Shanghai, China. *Pedosphere* 2009; 19: 779-89.
  25. Carlstrom CJ, Tuovinen OH. Mineralization of phenanthrene and fluoranthene in yardwaste compost. *Environmental Pollution* 2003; 124: 81-91.
  26. Ressler BP, Kneifel H, Winter J. Bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons and formation of humic acid-like residues during bacterial PAH degradation. *Appl Microbiol Biotechnol* 1999; 53: 85-91.
  27. Rashid-Ashmogh F, Rezaei-Kalantary R, Farzadkia M, et al. Survey of phenanthrene biodegradation's model in contaminated soils by *Acinetobacter* SP. *Iran J Health Environ* 2009; 2: 196-203.
  28. Minai-Tehrani D, Minoui S, Herfatmanesh A. Effect of salinity on biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) of heavy crude oil in soil. *Bullet Environ Contam Toxicol* 2009; 82: 179-84.
  29. Juhasz AL, Stanley GA, Britz ML. Degradation of high molecular weight PAHs in contaminated soil by a bacterial consortium: Effect on microtox and mutagenicity bioassays. *Bioremed J* 2000; 4: 271-83.
  30. Taylor J. The estimation of numbers of bacteria by tenfold dilution series. *J Appl Microbiol* 2008; 25: 54-61.
  31. EPA. Ultrasonic Extraction: Method 3550C. Revision 3 Feb 2007. (Accessed in 3 May 2010 at [http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmeths/sw846/online/3\\_series.htm](http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmeths/sw846/online/3_series.htm)).
  32. Eweis JB, Ergas SJ, Chang DPY, et al, editors. *Bioremediation principles*. 1th ed. Singapore: WCB/ McGraw-Hill Co: 1998, 1-21.
  33. Saichek RE, Reddy KR. Electrokinetically enhanced remediation of hydrophobic organic compounds in soils: A review. *Crit Rev Environ Sci Technol* 2005; 35: 115-92.
  34. King RB, Long GM, Sheldon JK, editors. *Practical environmental bioremediation: the field guide*. 2nd ed. USA: CRC Press LLC: 1998, 13-29.
  35. Børresen MH, Rike AG. Effects of nutrient content, moisture content and salinity on mineralization of hexadecane in an Arctic soil. *Cold Reg Sci Technol* 2007; 48: 129-38.
  36. Betancur-Galvis LA, Alvarez-Bernal D, Ramos-Valdivia AC, et al. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated saline-alkaline soils of the former Lake Texcoco. *Chemosphere* 2006; 62: 1749-60.
  37. Mukherji S, Jagadevan S, Mohapatra G, et al. Biodegradation of diesel oil by an Arabian Sea sediment culture isolated from the vicinity of an oil field. *Bioresour Technol* 2004; 95: 281-6.