پانزدهمین کنگره علوم خاک ایران

۶ تا ۸ شهریور ۱۳۹۶ محور مقاله: بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک

جداسازی باکتری‌های نفت‌خوار از خاک‌های آلوده پالایشگاه و پتروشیمی تبریز و ارزیابی کارایی تجزیه نفتی آنها

مهناز افشارنیا[۱]، محمدرضا ساریخانی[۲]، محمود زارعی[۳] و علی لطف الهی[۴]

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی دکترا، دانشیار بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک دانشگاه تبریز، ۳- استادیار، شیمی کاربردی از دانشگاه تبریز، کارشناس آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه تبریز

چکیده

هیدروکربن‌های نفتی از عمده‌ترین آلاینده‌های آلی در اکوسیستم‌های آبی و خاکی در سراسر دنیا محسوب می‌شوند. یکی از راه‌های ارزان و مقرون به صرفه، استفاده از ریزجانداران برای حذف یا کاهش آلودگی نفتی است. در این مقاله به نحوه جداسازی و ارزیابی کارایی این باکتریها از مکان‌های آلوده پالایشگاه و پتروشیمی تبریز پرداخته شده است. از میان ۶۰ جدایه جداسازی شده ، ۲۰ جدایه کارای تجزیه نفت خام با استفاده از روش‌های مختلف کمی و کیفی شناسایی شدند. کاراترین جدایه‌ها که هم دارایOD، بیومس میکروبی و درصد تجزیه نفتی بالایی بودند و هم به تستهای تولید بیوسورفاکتانت پاسخ مثبت دادند شامل ۱۰ جدایه CD2-1، CD1-5، CD4-3، CD4-2، CD9-3، CD6-3، CD7-1، CD3-1، CD1-1 و CD8-1 بودند. دیگر جدایه‌های کارای تجزیه نفتی که دارایOD، بیومس میکروبی و درصد تجزیه نفتی بالایی بودند ولی توانایی تولید بیوسورفاکتانت نداشتند شامل ۱۰ جدایه CD1-4، CD5-6، CD4-5، CD7-3، CD4-6، CD6-1، CD6-4، CD2-3، CD8-2 و CD3-3 شدند.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های نفت‌خوار، خاک آلوده به نفت، جداسازی، بیوسورفاکتانت

مقدمه

آلودگی خاک با نفت خام و مشتقات آن از جمله خطرناک‌ترین انواع آلودگی‌های زیست محیطی محسوب می‌گردد. رشد روزافزون صنعت نفت و صنایع جانبی در ایران، هیدروکربن‌های نفتی را جزء اولین آلاینده‌های محیطی به خصوص در مناطق جنوبی کشور و اطراف پالایشگاه‌ها، صنایع پتروشیمی و نیروگاه‌های کلان‌شهرهای ایران قرار داده است (رجایی و همکاران، ۱۳۹۱). آبگریزی نسبتاً بالای هیدروکربن‌های نفتی موجب افزایش چشمگیر قابلیت تجمع آنها در خاک شده و منجر به کاهش دسترسی زیستی این آلاینده‌ها جهت حذف زیستی می‌گردد؛ لذا می‌بایست راهکارهای مناسبی جهت حذف یا کنترل آلاینده‌های نفتی در خاک اتخاذ شود. در سه دهۀ اخیر روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی مختلفی نظیر تصفیه حرارتی، تثبیت و جامدسازی و زیست‌پالایی یا زیست‌سالم‌سازی، جهت رفع آلودگی از خاک معرفی و مورد استفاده قرار گرفته‌اند. روش-های فیزیکی و شیمیایی جهت حذف آلودگی از مناطق با وسعت نسبتاً کم کاربرد دارند و برای آلودگی‌های در سطح وسیع بسیار پرهزینه هستند (De la Fuente et al., 2011).

با بیان مشکلات ذکر شده و توجه به اصل حفظ بهداشت و سلامت جامعه و نیز اصل توجه به سلامت خاک‌ها در تولید بهینه محصولات کشاورزی، لزوم پاکسازی محیط زیست از آلاینده‌هایی مثل پلی‌هیدروکربن‌های نفتی به وضوح قابل درک است. زیست‌پالایی یکی از روش‌هایی است که می‌تواند در حذف یا کاهش آلودگی‌های نفتی بکار رود و برخلاف برخی از روش-های گذرا و موقتی، این روش در بعضی شرایط راه‌حل دائمی محسوب می‌گردد (Agamuthu et al, 2013). از آنجائی‌که خاک پالاینده طبیعی محسوب می‌شود که این ویژگی را مرهون خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خود است، بسیاری از میکروارگانیسم‌های موجود در خاک قادرند از ترکیبات نفتی به عنوان منبع کربن و انرژی استفاده کنند و آنها را به موادی از قبیل H_2O و CO_2 تبدیل نمایند (Yu et al., 2011). جداسازی این میکروارگانیسم‌ها از محیط‌های آلوده نفتی و ارزیابی کارایی آنها در تجزیه نفت و تکثیر و بکارگیری آنها به‌صورت کنسرسیوم باکتریایی از مراحل ابتدایی زیست‌پالایی می‌باشد (Meenu

(Tyagi, 2010). در این پژوهش سعی بر آن شده است که از مکان‌های آلوده پالایشگاه و پتروشیمی تبریز، باکتری‌های نفت‌خوار یا تجزیه‌کننده ترکیبات نفتی بومی جداسازی شده و با استفاده از انواع تست‌های کمی و کیفی و مقایسه آنها بهترین و کاراترین باکتریها برای رفع آلودگی این خاک‌ها برای روش زیست پالایی معرفی گردد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از خاک‌های آلوده به مواد نفتی و جداسازی باکتریهای نفت‌خوار

نمونه برداری از ۹ مکان آلوده به نفت در پالایشگاه و پتروشیمی تبریز انجام شد. برای جداسازی باکتری‌های تجزیه‌کننده ترکیبات نفتی ابتدا اقدام به غنی‌سازی میکروبی شد. برای غنی‌سازی، از محیط کشت حداقل MSM عاری از منابع کربن با کمی تغییرات استفاده شد. محیط کشت MSM استفاده شده شامل؛ NH_4Cl 2g، KH_2PO_4 5g، Na_2HPO_4 4g، 0.2 g $MnSO_4$، $MgSO_4$ 0.2 g، $FeCl_3$ 0.05g ، $CaCl_2$ 0.001g، $CoCl_2$ 0.001g، $(NH_4)_6Mo_7O_2$ 0.0001g در لیتر با تنظیم pH ۷/۲ بود (Maiti and Bhattacharyya, 2012). بدین ترتیب ۱۰ گرم از نمونه خاک آلوده به ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط MSM استریل حاوی ۳٪ نفت خام افزوده شد و به مدت۱ هفته در دمای ۲۶°C و شیک ۱۲۰ rpm قرار گرفت. همچنین ۱۰ گرم از نمونه خاک بدون افزودن نفت خام در محیط MSM نیز به عنوان شاهد لحاظ شد. بعد از گذشت یک هفته، یک زیرکشت تهیه شد؛ بدین صورت که ۲ml از این محیط کشت به ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط MSM استریل تازه حاوی ۳٪ نفت خام اضافه شد و مجدداً به مدت یک هفته دیگر در شرایط فوق قرار گرفت. پس از گذشت زمان و مشاهده کدورت کافی در ارلن‌ها و علائم رشد باکتری در مقایسه با ارلن شاهد، اقدام به تهیه سری رقت شده و سپس از رقت‌های 10^{-4}، 10^{-5} و 10^{-6} تهیه شده مقدار ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به محیط کشت MSM جامد حاوی ۲ درصد نفت خام اضافه و با میله شیشه‌ای پخش شد. بعد از ظهور کلنی‌ها در سطح پلیت (مطابق شکل ۴)، کلنی‌های منتخب به محیط نوترینت آگار انتقال داده شدند و پس از اطمینان از خلوص کلنی‌ها (با انجام زیرکشت‌های متوالی) اقدام به تهیه استوک جدایه‌ها در گلیسرول ۱۵٪ شد.

ارزیابی کارائی تجزیه ترکیبات نفتی

برای بررسی کارائی تجزیه ترکیبات نفتی، ابتدا از جدایه‌ها در ۱۰ ml محیط کشت نوترینت براث کشت شبانه داده شد و پس از سانتریفیوژ روشناور آنها دور ریخته شد و رسوب باکتری با با سرم فیزیولوزیک ۰/۹٪ شستشو شد و سپس رسوب باکتری در ۳ میلی‌لیتر از سرم معلق شد و ml ۱ از آن برای تلقیح در ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت MSM استریل با ۲٪ نفت خام افزوده شد. ارلن‌ها به مدت ۹ روز در دمای ۲۶°C و ۱۲۰ rpm شیک شدند. این آزمایش برای هر جدایه در ۳ تکرار و با حضور ارلن شاهد بدون تلقیح باکتری انجام گرفت. بعد از گذشت ۹ روز آزمایشات زیر شامل (قرائت چگالی نوری، توزین بیوماس میکروبی، تعیین درصد تجزیه نفت خام و تست‌های تولید بیوسورفاکتانت) انجام گرفت.

اندازه‌گیری کدورت محیط کشت باکتریها

بعد از ۹ روز و کدر شدن محیط‌های کشت، ۳ میلی لیتر از محیط کشت‌ها پس از هم زدن به داخل کوت اسپکتروفتومتر ریخته شد و چگالی نوری آنها در طول موج ۶۰۰ nm قرائت شد. لازم به ذکر است که بعد از قرائت اولیه OD و به دست آمدن اعداد بیش از یک، ابتدا نمونه‌ها رقیق شده و نتایج پس از تصحیح اثر رقت گزارش شده است. این روش بر آن بنا نهاده شده است که باکتریهای که از ترکیبات نفتی بهتر استفاده می‌کنند قادر به تولید و تکثیر بیشتری بوده و ضمن افزایش بیوماس میکروبی باعث کدورت محیط خواهند شد (Maiti and Bhattacharyya, 2012).

اندازه‌گیری بیومس میکروبی

حجم مناسبی از محیط کشت‌ها به درون ویال‌های ۲ میلی‌لیتری ریخته شد، سپس در دور ۱۳۰۰۰سانتریفیوژ شدند و روشناور به دور ریخته شد و وزن پلت باکتری بعد از خشک شدن درون آون در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت، وزن شد (Chandankerea et al, 2013).

درصد تجزیه نفت خام

برای محاسبه میزان نفت تجزیه شده از رابطه (۱) استفاده شد (Ibrahim et al., 2013). برای این کار ابتدا به باقیمانده محیط کشت، ۱۵ml دی‌اتیل‌اتر اضافه شد، پس از همزدن محیط، به داخل قیف جداکننده استوانه‌ای ریخته شد و بدین ترتیب نفت خام حل شده در دی‌اتیل‌اتر از محیط کشت باکتری جدا شد؛ سپس نفت خام و دی اتیل اتر جدا شده در لوله های آزمایش از قبل وزن شده ریخته شده و در بن ماری در ۳۶ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از تبخیر کامل دی‌اتیل‌اتر، مقادیر نفت خام باقیمانده برای نمونه شاهد و جدایه‌های باکتریایی توزین شد.

$$\%B = 100(W_1 - W_C) / W_1 \qquad (۱)$$

B درصد تجزیه زیستی، W_1 وزن نفت باقیمانده در نمونه شاهد و W_C وزن نفت باقیمانده در جدایه‌ها می‌باشد.

تست‌های تولید بیوسورفاکتانت

فعالیت گستردگی روغن[1]

این آزمایش با اضافه کردن ۵۰ ml آب مقطر در داخل پتری‌دیش و اضافه کردن ۱۰۰ µl نفت خام به سطح آب انجام گرفت. سپس ۱۰ µl از روشناور حاصل از محیط‌های کشت بر روی لایه نفتی ایجاد شده، ریخته شد (Ibrahim et al, 2013). قطر قطره حاصله عاری از نفت اندازه‌گیری شد. در این آزمایش دو شاهد SDS به عنوان کنترل + و آب مقطر به عنوان کنترل - استفاده شد.

تست همولیزه شدن بر روی بلاد آگار[2]

به مقدار ۱۰ µl از محیط‌های کشت جدایه‌های باکتری برداشته شد و بر روی بلاد آگار حاوی ۵٪ (v/v) خون گوسفندی در پلیت‌ها به صورت نقطه‌ای در سه تکرار کشت داده شد و در ۲۶°c داخل انکوباتور به مدت ۵ روز نگهداری شدند (Ibrahim et al., 2013). فعالیت همولیزی بلاد آگار با ایجاد یک هاله شفاف به دور کلنی‌ها ظاهر می‌شود که نشاندهنده تولید بیوسورفاکتانت از آن جدایه‌ها می‌باشد (شکل ۴).

تست CTAB[3] متیلن بلو آگار

برای انجام ایت تست از محیط‌های کشت هر جدایه باکتری به مقدار ۱۰ µl برداشته شد و بر روی CTAB متیلن بلو آگار (حاوی CTAB ۰/۲ mg/ml و ۰/۰۰۵ µg/ml متیلن بلو در نوترینت آگار) در پلیت‌ها به صورت نقطه‌ای در سه تکرار کشت داده شد و در ۲۶°c داخل انکوباتور به مدت ۵ روز نگهداری شدند (Chandankerea et al, 2013). CTAB یک دترجنت کاتیونی می‌باشد. بنابراین ایجاد یک هاله آبی تیره به دور کلنی‌ها در محیط کشت CTAB متیلن بلو آگار (که رنگ پایه آن آبی روشن می‌باشد) نشان دهنده تولید بیوسورفاکتانت آنیونی از طرف جدایه‌ها می‌باشد (شکل ۴).

بعد از انجام آزمایش‌های فوق کارآمدترین جدایه‌ها برای شناسایی مولکولی معرفی خواهند شد و استفاده از آنها در تیمارهای زیست‌پالایی صورت خواهد گرفت.

نتایج و بحث

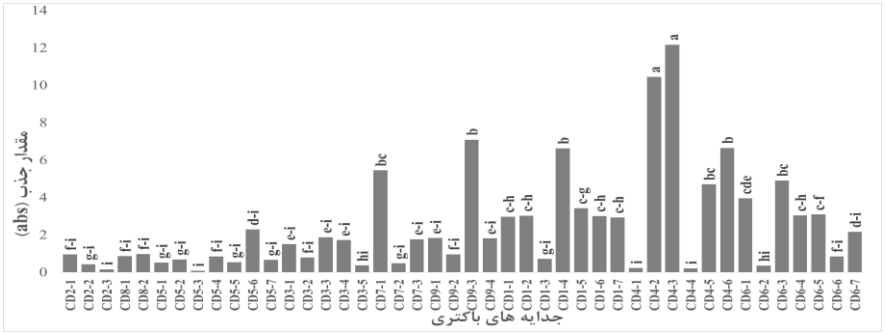
بعد از رشد کامل باکتری‌ها و کلنی‌ها در پلیت‌ها در مرحله اول آزمایش ۶۰ جدایه جداسازی شد که با توجه به نوع گرم، ریخت و شکل، رنگدانه و الگوی رشد، کلنی‌های مشابه حذف شده و ۴۴ جدایه متفاوت از لحاظ مورفولوژی نگهداری و استوک آنها تهیه شد.

کدورت سنجی باکتریها (OD_{600} باکتریها)

از بین ۴۴ جدایه باکتریایی ۸ جدایه دارای OD بالایی بودند، جدایه‌های CD4-3[4] و CD4-2 (به ترتیب ۱۲/۱۸ و ۱۰/۴۵) بیشترین کدورت را داشته و اختلاف معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد. جدایه‌های CD9-3، CD4-6 و CD1-4 هر سه به

[1] Oil displacement activity
[2] Haemolytic activity
[3] ستیل تری متیل آمونیوم بروماید (دترجنت کاتیونی)

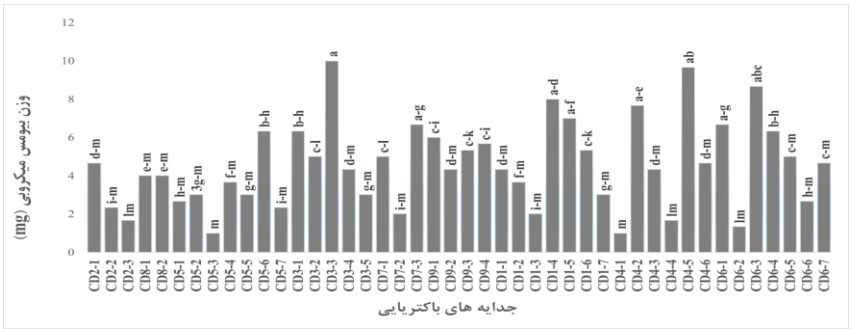
ترتیب ۷/۱، ۶/۶۵ و ۶/۶۳ اختلاف معنی‌داری با سایر جدایه‌ها داشتند ولی اختلاف معنی‌داری بین آنها دیده نشد. جدایه-های CD7-1، CD6-3 و CD4-5 نیز هر سه به ترتیب الویت سومین مقام را داشته، اختلاف معنی‌داری با سایر جدایه‌ها داشتند ولی اختلاف معنی‌داری در بینشان دیده نشد. بین OD، بیومس و درصد تجزیه نفتی ضریب همبستگی مثبت وجود داشت، این ضریب بین OD و بیومس میکروبی ۰/۷۰۶ و بین OD و درصد تجزیه نفتی ۰/۸۱۹ بود. باکتریهایی که در آنها میزان کدورت محیط کشت بیشتر بود؛ نفت خام باقیمانده در محیط نیز کمتر بود و بیشتر توانسته بودند نفت خام را تجزیه کنند.



شکل ۱- مقایسه OD_{600} جدایه‌های باکتریایی

نتایج بیومس میکروبی

جدایه CD3-3 با ۱۰ mg دارای بالاترین بیومس میکروبی در میان همه جدایه‌ها بود ولی با توجه به نتایج OD_{600}، جدایه-های مشترکی که هم دارای OD_{600} بالاتر و هم بیومس میکروبی بالایی بودند، در این مرحله انتخاب شدند. جدایه‌های CD4-5 و CD6-3 که علاوه بر کدورت بالا (به ترتیب ۴/۷ و ۴/۹) بیشترین بیومس میکروبی (به ترتیب ۹/۶۶ mg و ۸/۶۶) را نیز داشته و اختلاف معنی‌داری بین آنها و سایر جدایه‌ها مشاهده شد. جدایه‌های CD1-5، CD7-3، CD3-1، CD5-6، CD6-1، CD6-4 و CD2-1 نیز در محدوده بالای بیومس میکروبی قرار داشتند. ضریب همبستگی بین بیومس میکروبی و درصد تجزیه نفتی ۰/۸۹۹ بود یعنی باکتریهایی که توان تجزیه زیستی بالای نفتی داشته‌اند و توانسته‌اند از نفت خام به عنوان منبع کربن و انرژی استفاده کنند بهتر رشد کرده و دارای جمعیت و بیومس میکروبی بیشتری بودند.



شکل ۲- مقایسه بیومس میکروبی جدایه‌های باکتریایی

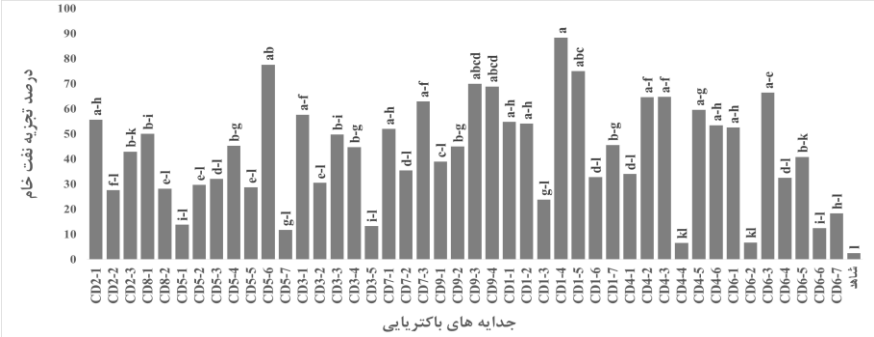
درصد تجزیه نفت خام جدایه‌ها

در بین جدایه‌ها جدایه CD1-4 با اختلاف معنی‌داری یعنی ۸۸/۲۵٪ از سایر جدایه‌ها بالاترین درصد تجزیه نفتی را داشت. جدایه های CD5-6 و CD1-5 به ترتیب با ۷۷/۴۶٪ و ۷۴/۹۵٪ از جدایه‌هایی بودند که دارای بالاترین درصد تجزیه نفتی و بیومس میکروبی (به ترتیب ۶/۳۳ و ۷ میلی گرم) بودند. جدایه‌های CD7-3، CD3-1، CD6-1 و CD2-1 نیز در محدوده بالای

---

[4] معرف شماره خاک (۴) و شماره ایزوله (۳) است.CD بوده مثلا جدایه ۳-۴ Crude oil degrading مخفف CD پیشوند

درصد تجزیه نفتی بوده و دارای بیومس میکروبی بالایی بودند. جدایه‌های CD1-4، CD9-3، CD6-3، CD4-3، CD4-2، CD4-5، CD4-6 و CD7-1 جدایه‌هایی مشترک در OD و درصد تجزیه نفتی بالا بودند. جدایه‌های CD9-4، CD1-1، CD1-2 و CD8-1 نیز از جدایه‌هایی بودند که فقط درصد تجزیه نفت بالایی داشتند. باکتری‌ها و قارچها تنها گونه‌های بیولوژیکی دارای توانایی متابولیکی برای استفاده از کربن نفت در سنتز سلولی خود هستند. ۱۳-۵۰ ٪ درصد هیدروکربن‌های نفتی توسط باکتری‌ها و ۵۰- ۸۲٪ توسط قارچها تجزیه می شوند؛ اما برای پاک‌سازی خاک‌ها از باکتری‌ها به علت فراوانی زیاد، افزایش سرعت رشد و استفاده از طیف وسیعی از هیدروکربن‌ها، بیشتر استفاده می‌شود (Wolicka et al., 2009).

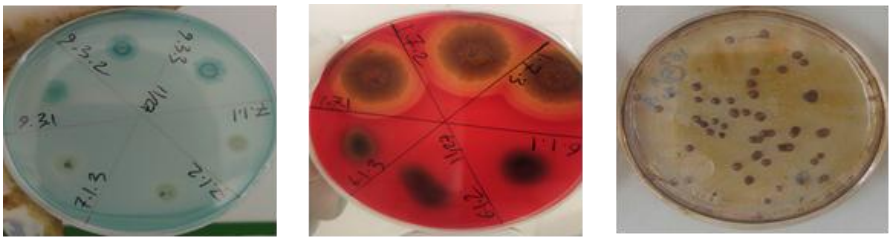


شکل ۳- مقایسه درصد تجزیه نفت خام در جدایه‌های باکتریایی

تولید بیوسورفاکتانت

جدایه‌های CD9-3 و CD8-2 به هر سه تست گستردگی روغن و بلاد آگار و CTAB آگار پاسخ مثبت دادند. جدایه‌های CD2-1، CD1-7و CD8-1 هر سه به گستردگی روغن و بلاد آگار پاسخ مثبت نشان دادند. جدایه CD3-4 به دو تست گستردگی روغن و CTAB آگار پاسخ مثبت نشان داد. جدایه CD4-3 به تست بلاد آگار پاسخ مثبت داده و دارایOD و درصد تجزیه نفتی بالایی بود. یکی از ویژگی‌های بارز باکتری‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن‌ها توانایی امولسیونه‌کنندگی آنها در محلول از طریق تولید عامل فعال سطحی همانند سورفاکتانت‌های زیستی می‌باشد. سورفاکتانت‌های زیستی به طور مستقیم در فرایند حذف هیدروکربن از طریق افزایش دسترسی زیستی و تجزیه زیستی آنها دخالت دارند (Ganesh and Lin, 2009).

در مرحله دوم آزمایش پس از ارزیابی کارائی باکتریها ۲۰ باکتری کارای نفتی از ۴۴ جدایه استوک شده، انتخاب شدند.کاراترین جدایه‌ها که هم دارایOD، بیومس میکروبی و درصد تجزیه نفتی بالایی بودند و هم به تستهای تولید بیوسورفاکتانت پاسخ مثبت دادند شامل ۱۰ جدایه CD2-1، CD1-5، CD4-3، CD4-2، CD9-3، CD6-3، CD7-1، CD3-1، CD1-1 و CD8-1 بودند. دیگر جدایه‌های کارای تجزیه نفتی که دارایOD، بیومس میکروبی و درصد تجزیه نفتی بالایی بودند ولی توانایی تولید بیوسورفاکتانت نداشتند شامل ۱۰ جدایه CD1-4، CD5-6، CD4-5، CD7-3، CD4-6، CD6-1، CD6-4، CD2-3، CD8-2 و CD3-3 شدند.



شکل ۴- تصویر مراحل جداسازی اولیه (سمت راست)، تست همولایزیز خون (وسط)، تست CTAB (سمت چپ)

منابع

رجایی، س.، رئیسی، ف. و سیدی، س. م. ۱۳۹۱. زیست‌پالایی خاک آلوده به نفت خام مسن به روش‌های افزایش بیولوژیک و گیاه‌پالایی. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، جلد ۲۶، شماره ۵، ۹۰۸ تا ۹۲۱.

Agamuthu, P., Tan, Y.S. and Fauziah, S.H. 2013. Bioremediation of hydrocarbon contaminated soil using selected organic wastes. Procedia Environmental Sciences., 18 : 694 – 702.

Chandankerea R, Yaoa J., Choic M.M.F., Masakoralaa,d K. and Chana Y. 2013. An efficient biosurfactant-producing and crude-oil emulsifying bacterium Bacillus methylotrophicus USTBa isolated from petroleum reservoir. Biochemical Engineering , 74: 46– 53.

De la Fuente, C., Clemente, R., Martinez-Alcala, I., Tortosa, G. and Bernal, M.P. 2011. Impact of fresh and composted solid olive husk and their water-soluble fractions on soil heavy metal fractionation; microbial biomass and plant uptake. J. Hazard. Mater., 186:1283–1289.

Ganesh, A. and Lin, J. 2009. Diesel degradation and biosurfactant production by Gram- positive isolation African Journal of biotechnology., 8(21): 5847-5854.

Ibrahim, M.L., Ijah, U.J.J., Manga, S.B., Bilbis, L.S. and Umar, S. 2013. Production and partial haracterization of biosurfactant produced by crude oil degrading bacteria. International Biodeterioration & Biodegradation:81: 28-34.

Mao, J., Luo, Y., Teng, Y. and Li, Z. 2012. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil by a bacterial consortium and associated microbial community changes. International Biodeterioration & Biodegradation., 70: 141-147.

Meenu Tyagi, M., da Fonseca. M. R. and de Carvalho, C. C. C. R. 2010. Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes: Biodegradation. DOI 10.1007/s10532-010-9394-4.

Maiti A and Bhattacharyya N. 2012. Biochemical characterics of a polycyclic aromatic hydrocarbon degrading bacterium isolated from an oil refinery site of west Bengal, India. Advances in Life Science and its Applications (ALSA), 1. 3: 48-53.

Wolicka, D., Suszek, A., Borkowski, A., and Bielecka, A. 2009. Application of aerobic microorganisms in bioremediation in situ of soil contaminated by petroleum products. Biortech., 100: 3221-3227.

Yu, Z., Zeng, G.M., Chen, Y.N., Zhang, J.C., Yu, Y., Li, H. and et al. 2011. Effects of inoculation with Phanerochaete chrysosporium on remediation of pentachlorophenol-contaminated soil waste by composting. Process Biochem., 46: 1285–1291.

Isolation of oil degrading bacteria from the oil contaminated soil of oil refinery and petrochemical industry of Tabriz and the assessment of bacterial oil degrading efficiency

M. Afsharnia[1], M. R. Sarikhani[2] and M. Zareii[3], A. Lotfollaio[4]

1 and 2- PhD Student and Associate professor of Soil Biology and Biotechnology, University of Tabriz, 3- Assistant Professor of Applied Chemistry, University of Tabriz, 4- Expert of Biology Soil science Laboratory, University of Tabriz

Abstract

Petroleum hydrocarbons are the most common organic contaminants in water and soil ecosystems around the world. Bioremediation of soil microorganisms is one of cost-effective approachs to remove or reduce oil pollution. Accordingly, the aim of this study was isolation of crude oil degrading (CD) bacteria from contaminated samples of refinery and petrochemical industry of Tabriz and assessment of its ability in oil degrading. Based on bacterial growth indicators (e.g. OD and microbial biomass), percent of crude oil degrading and production of biosurfactant, 20 efficient strains were introduced among the 60 isolated strains in MSM medium. The most efficient strains that had the highest OD, microbial biomass and percentage of oil biodegrading with biosurfactant production ability were included isolates CD2-1, CD1-5, CD4-3, CD4-2, CD9-3, CD6-3, CD7-1, CD3-1, CD1-1 and CD8-1. While other efficient isolates (CD1-4, CD5-6, CD4-5, CD7-3, CD4-6, CD6-1, CD6-4, CD2-3, CD8-2 and CD3-3) did not have the ability to produce biosurfactant.

Keywords: Oil degrading bacteria, Oil contaminated soil, Oil biodegradation, biosurfactant.