

## بررسی مدل تجزیه زیستی فناترین در خاک های آلوده توسط اسپیتوباکتر SP

فاطمه رشید اشموق<sup>۱</sup>، روشنگر رضائی کلانتری<sup>۲</sup>، مهدی فرزادکیا<sup>۳</sup>، احمد جنیدی جعفری<sup>۴</sup>، رامین نبی زاده<sup>۴</sup>

نویسنده مسئول: تهران، میدان آرژانتین، خیابان الوند، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی ایران [roshanak.r.k@gmail.com](mailto:roshanak.r.k@gmail.com)

پذیرش: ۸۸/۰۴/۲۳

دریافت: ۸۸/۰۱/۲۷

### چکیده

**زمینه و هدف:** هیدروکربن های معطر چند حلقه ای دسته ای از آلاینده های خطرناک محیط با خاصیت سرطان زایی و جهش زایی اند که بر اساس فعالیت های مختلف در محیط زیست تجمع می یابند. لذا تصفیه این مواد شیمیایی اهمیت زیادی دارد. در این میان استفاده از روش های زیستی به دلیل سادگی فرایند و هزینه کمتر به عنوان یک روش موثر و مقرون به صرفه توصیه شده است. در این تحقیق به منظور بررسی روند کاهش آلودگی هیدروکربن های نفتی در فرایند اصلاح زیستی، مدل تجزیه زیستی فناترین در خاک های آلوده به ترکیبات نفتی مورد بررسی قرار گرفت.

**روش بررسی:** ابتدا از خاک آلوده به ترکیبات نفتی باکتری های مستعد تجزیه PAHs جداسازی شدند سپس قابلیت آنها در تجزیه زیستی فناترین در محیط دوغابی بررسی گردید و با استفاده از اسپیتوباکتر که بیشترین توانایی را در حذف فناترین داشت، مدل تجزیه زیستی در خاک در مقیاس آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته ها:** راندمان حذف فناترین برای غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ۹۹/۴ درصد در طول ۳۳ روز برای غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ۹۶ درصد در طول ۶۰ روز دوره تجزیه زیستی به دست آمد. نرخ کاهش فناترین برای غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بین ۲/۹۹ تا ۸/۸۶ میلی گرم بر کیلوگرم در روز و برای غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بین ۱/۴ تا ۱۱/۰۹ میلی گرم بر کیلوگرم در روز بود.

**نتیجه گیری:** بررسی نتایج نشان داد میزان حذف فناترین به غلظت اولیه آلودگی بستگی دارد و با افزایش غلظت اولیه نرخ حذف فناترین افزایش می یابد. همچنین با تقریب مناسبی می توان گفت که حذف فناترین از مدل سینتیک درجه صفر و یک پیروی می کند.

**واژه گان کلیدی:** اسپیتوباکتر، سینتیک تجزیه زیستی، هیدروکربن های معطر چند حلقه ای

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی ایران

۲- دکترای مهندسی عمران محیط زیست، دانشیار دانشکده بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی ایران

۳- دکترای بهداشت محیط، استادیار دانشکده بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی ایران

۴- دکترای بهداشت محیط، دانشیار دانشکده بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی تهران

## مقدمه

هیدروکربن های معطر چند حلقه ای به ترکیباتی اطلاق می شوند که دو یا چند حلقه بنزنی به صورت خطی، مثلثی (زاویه دار) و یا خوشه ای داشته باشند (۱). این ترکیبات از احتراق ناقص مواد آلی، سوختن زغال سنگ، سوخت های فسیلی، پالایشگاه های نفت و گاز و نشست ترکیبات نفتی در محیط زیست به وجود می آیند (۲-۴). وجود آنها در محیط زیست به علت سمیت زیاد، اثرات سرطان زاوی و مقاومت زیست محیطی یک نگرانی بزرگ به شمار می رود. به همین دلیل توسط آژانس حفاظت محیط زیست ایالت متحده امریکا (USEPA) و انجمن اروپایی به عنوان آلاینده های دارای تقدم بالا معرفی شده اند (۵-۷). هیدروکربن های معطر چند حلقه ای تمایل شدیدی به پیوند با مواد آلی در خاک دارند که علت آن خاصیت هیدروفوبیک بالا و حلالیت کم آنها در آب است بنابراین در خاک و رسوبات تجمع می یابند به طوری که ممکن است خاک به عنوان محل ذخیره این ترکیبات ذکر شود (۸،۷). همچنین این ترکیبات با چسبیدن به ذرات خاک، به سمت آب های زیرزمینی حرکت کرده و باعث آلودگی آنها نیز می گردند (۷). خاک های آلوده ممکن است شامل بیش از ۱۰۰۰۰ میلی گرم از این ترکیبات در هر کیلوگرم خاک باشند (۹).

امروزه برای کاهش و یا حذف آلاینده های آلی به ویژه ترکیبات نفتی از خاک، با توجه به بافت خاک، ماهیت آلاینده و غلظت آنها از روش های مختلف فیزیکی، شیمیایی و زیستی به صورت مجزا و یا توأم استفاده می شود. جذب کربن فعال (۱۰)، اولترافیلتراسیون (۱۱) و یا استفاده از غشاها (۱۲) از روش های متداول تصفیه فیزیکی اند. متداول ترین روش های تصفیه شیمیایی اکسیداسیون با استفاده از ازن (۱۳)، پرتو فرابنفش/پراکسید هیدروژن (۱۴) است. این روش ها گران قیمت بوده و از این رو استفاده از فرایندهای زیستی به دلیل توانایی این فرایندها در تجزیه ترکیبات خطرناک بیشتر از سایر روش ها مورد توجه قرار گرفته است. روش های زیستی معمولا

اثرات منفی کمتری بر روی محیط داشته و محصولات جانبی آنها نیز کمتر است. در میان روش های زیستی روش اصلاح زیستی به عنوان یک روش موثر و مقرون به صرفه توصیه شده است. مزیت این روش نسبت به سایر روش های فیزیکی و شیمیایی، سادگی فرایند و هزینه کمتر آن است (۱۵،۱).

مهم ترین عامل در امکان انجام فناوری زیستی وجود میکروارگانیسم در مکان آلوده است و از میان این میکروارگانیسم، باکتری ها و قارچ ها مهم ترین گروه هستند (۱۵). بیش از ۲۰۰ گونه میکروارگانیسم که قادر به تجزیه هیدروکربن ها هستند، شناسایی شده اند. از این گونه ها می توان به باکتری های هتروتروف، الیگوتروف، فتوتروف، باکتری های هوازی، قارچ ها و اکتینومیسست ها اشاره کرد. باکتری های مهم شامل گونه های پ سودمونا، آرتروباکتر، اسپیتوباکتر، فلاووباکتریوم، الکالی ژنز، میکروکوکوس، باسیلوس و غیره است (۱۶).

مطالعات سینتیکی فرایند زیست سالم سازی را می توان در دو گروه دسته بندی کرد: ۱. بررسی فاکتورهای موثر بر مقدار ترکیبات تغییر شکل یافته در طی زمان ۲. بررسی انواع منحنی های شرح دهنده تغییر شکل ترکیبات و تعیین این که کدام یک از این منحنی ها برای تجزیه ترکیبات معین توسط کشت های میکربی در مقیاس آزمایشگاهی و گاهی در مقیاس مکانی مناسب است.

به منظور بررسی روند کاهش فنانترین در فرایند اصلاح زیستی و تعیین میزان حذف روزانه باکتری فوق الذکر معادله های منحنی های حاصله نیز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. هدف از این تحقیق بررسی مدل تجزیه زیستی فنانترین در خاک های آلوده توسط اسپیتوباکتر و همچنین تعیین بهترین معادله خط است.

## مواد و روش ها

خاک آلوده به ترکیبات نفتی از منطقه اطراف پالایشگاه تهران جهت جداسازی میکروارگانیسم تجزیه کننده فنانترین جمع آوری گردید. ۱۵ گرم خاک آلوده به ترکیبات نفتی را با

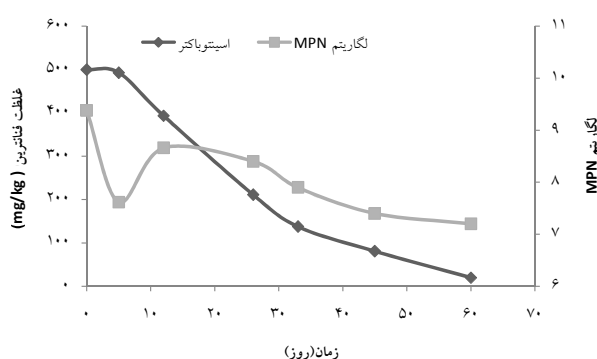
در فاز دوغابی استفاده گردید. به منظور بررسی توانایی میکروارگانسیم در تجزیه زیستی فنانترین، باکتری های خالص به به ارلن های حاوی محیط کشت معدنی اضافه شدند. برای این که باکتری ها در محدوده نسبتا مشخصی از نظر جمعیت میکربی باشند، باکتری های اضافه شده به محیط کشت غنی سازی در حدی اضافه گردید که در طول موج ۶۳۰ نانومتر دانسیته نوری برابر ۱ حاصل گردد (۱۹).

سپس از محلول فوق ر به نمونه های خاک که قبلا آماده شده بودند؛ اضافه شد تا نسبت وزنی حجمی ۱۰:۱۰۰ حاصل گردد (۲۱، ۲۰). به منظور اطمینان از تجزیه زیستی، برای هر نمونه یک شاهد میکربی (شامل کلیه مراحل فوق بدون فنانترین) و یک شاهد شیمیایی (شامل کلیه مراحل فوق بدون باکتری) به کار رفت. به منظور جلوگیری از انجام فرآیندهای میکربی در شاهد شیمیایی، ۱۰۰ میلی گرم  $HgCl_2$  به محتویات ارلن اضافه گردید. نمونه ها بر روی شیکر با دور ۱۶۰ دور در دقیقه قرار داده شده و در دمای محیط میزان تجزیه فنانترین مورد بررسی قرار گرفت. مقدار فنانترین موجود در خاک براساس روش USEPA ۳۵۵۰B با استفاده از دستگاه اولتراسونیک با محلول استون استخراج و نهایتا با دستگاه GC سنجش شد (۲۲). برنامه دمایی GC به ترتیب زیر بود: زمان اولیه ۱ دقیقه در ۱۰۰ درجه سانتی گراد و با سرعت ۱۰ درجه سانتی گراد در دقیقه تا دمای ۲۵۰ درجه سانتی گراد، دمای نهایی ۲۵۰ درجه سانتی گراد، دمای انژکتور ۲۵۰ درجه سانتی گراد، دمای دتکتور ۲۷۰ درجه سانتی گراد و دستگاه GC مورد استفاده از (شرکت کرومپک CHOROMPAK CP ۹۰۰۱) با ستون HP۵) بود.

برای بررسی جمعیت میکربی از روش MPN استفاده شد. در روش MPN از نمونه های باکتری مورد نظر در سرم فیزیولوژی استریل به طور سری محلول هایی با رقت  $10^{-1}$  نسبت به یکدیگر تهیه شد. به دلیل این که از جمعیت میکربی مورد نظر اطلاعی در دسترس نبود از رقت  $10^{-1}$  تا  $10^{-10}$  استفاده شد. سپس به محیط نوترینت برات استریل که به طور ۵ لوله ای استفاده می شود به میزان ۱۰٪ کل حجم رقت

۱۵۰ میلی لیتر آب مقطر استریل مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. بعد از ته نشینی، ۲ میلی لیتر از مایع رویی سوسپانسیون فوق به ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت معدنی استریل حاوی منبع کربنی فنانترین اضافه شد (۱۷). محیط کشت معدنی حاوی (گرم در لیتر)  $(0/2) KH_2PO_4$ ،  $(0/8) CaCl_2$ ،  $(0/1) Mg SO_4 \cdot 7H_2O$ ،  $(1) K NH_4$ ،  $(0/1) K_2HPO_4$ ،  $(0/1) NaCl$  و  $(0/1) FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ،  $(0/1) 2H_2O$  عناصر جزئی بود. محلول عناصر جزئی حاوی (میلی گرم در لیتر):  $(500) EDTA$ ،  $(200) FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ،  $(3) MnCl_2 \cdot 4H_2O$ ،  $(30) H_3BO_3$ ،  $(20) CoCl_2 \cdot 6H_2O$ ،  $(10) CuSO_4 \cdot 2H_2O$ ،  $(6) NiCl_2 \cdot 6H_2O$ ،  $(3) Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$  بود (۱۸). ارلن ها در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد حدود ۲ ماه گرماگذاری شدند. برای تامین مواد مغذی و منبع کربنی کافی، هر ۷ روز یکبار محیط تازه شده و ۲ میلی لیتر از محیط قبلی به محیط جدید اضافه می شد (۱۷). پس از سازگاری میکربی و غنی سازی، باکتری ها مورد شناسایی قرار گرفتند. به منظور تشخیص از تست های تشخیصی فنیل آلانین، لازین، اکسیداز، کاتالاز و محیط کشت افتراقی مکانیکی و EMB استفاده شد.

برای بررسی تجزیه زیستی فنانترین در فاز دوغابی، از خاک غیر آلوده به ترکیبات نفتی به عنوان خاک اولیه استفاده شد. مقدار ۵ کیلوگرم از آن در دمای اتاق کاملا خشک و از الک ۲ میلی متری عبور داده شد تا خاک یکنواختی به دست آید. سپس این خاک در چند مرحله با استون صنعتی در مرحله آخر با استون با خلوص بیش از ۹۹٪ شستشو داده شد. پس از اطمینان از عدم حضور هر گونه مواد نفتی، نمونه ها را در اتوکلاو قرار داده تا استریل گردند. پس از استریل کردن، با استفاده از محلول استوک با غلظت ۵۰۰ میلی گرم فنانترین در یک لیتر استون به میزان مناسب به خاک اضافه گردید تا غلظت های ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم فنانترین بر کیلوگرم خاک حاصل گردد سپس حلال در زیر هود در مدت ۲۴ ساعت تبخیر شد (۱۸). از این خاک برای تجزیه زیستی فنانترین



شکل ۲: چگونگی رشد باکتری و حذف فنانتترین توسط اسیتوباکتر sp با غلظت اولیه ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم

در نهایت روند کاهش فنانتترین با ۴ معادله منحنی خطی، نمایی و چند جمله ای درجه ۲ و ۳ فیت شد نتایج در جدول ۱ نشان داده شده اند.

معادله رگرسیون چندجمله ای درجه ۳ بهترین معادله برای غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم با ضریب تبیین ( $R^2$ ) برابر ۰/۹۵۷۹ و برای غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم با ضریب تبیین ( $R^2$ ) برابر ۰/۹۹۱ به دست آمد.

### بحث و نتیجه گیری

پس از غنی سازی، باکتری های جداسازی و شناسایی شده شامل اسیتوباکتر sp، کپنوسیتوفوگا اکرا، باسیلوس لیچنی فرمیس، باسیلوس sp، استافیلوکوکوس گزیلوسوس بودند. آزمایشات اولیه نشان دادند توانایی اسیتوباکتر sp در حذف فنانتترین بیش از سایر باکتری ها است بنابراین از این باکتری برای بررسی مدل تجزیه زیستی فنانتترین در خاک های آلوده استفاده شد.

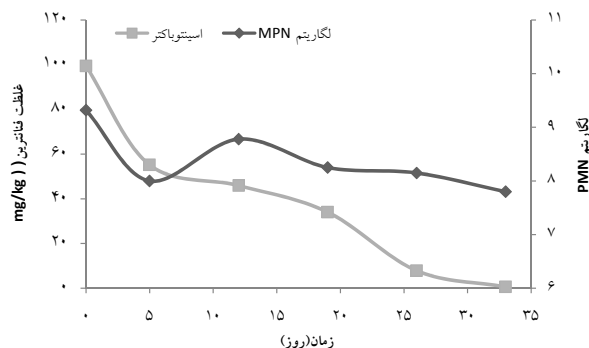
در چند دهه اخیر توانایی باکتری ها برای استفاده از PAHs به عنوان سوبسترای رشد توسط مطالعات وسیع مستند شده است (۳) از باکتری های جداسازی شده در تحقیقات دیگران می توان به پseudomonas، باسیلوس، استافیلوکوکوس و اسیتوباکتر اشاره کرد که توانستند در محیط حاوی فنانتترین، پیرین و فلورانتن رشد کرده و این ترکیبات را تجزیه کنند (۲۳). با توجه به راندمان بالای حذف فنانتترین در محیط ۱۰۰ و ۵۰۰

میکربی مورد نظر ریخته شد. پس از ۴۸ ساعت گرماگذاری دردمای ۳۰ درجه سانتی گراد رشد میکربی با مشاهده کدورت قابل رویت بود. سپس نتایج با استفاده از جدول استاتیکی تخمین زده شد (۱۷).

### یافته ها

نتایج حاصل از تجزیه زیستی فنانتترین در مدت ۳۳ و ۶۰ روز تجزیه و همچنین تغییرات جمعیت میکربی در شکل های ۱ و ۲ ارایه شده است. در ۵ روز اول پس از تلقیح، نرخ کاهش فنانتترین در محیط ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (شکل ۱) ۸/۸۴ میلی گرم بر کیلوگرم در روز و در محیط ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، ۱/۴ میلی گرم بر کیلوگرم در روز بود. در این فاصله زمانی روند تغییرات جمعیت باکتریایی نسبت به روز صفر کاهش داشته و به ۸/۸۵ الی ۹۱٪ جمعیت اولیه خود رسید.

بیشترین نرخ کاهش فنانتترین در محیط ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در فاصله زمانی ۱۰ روز اول به دست آمد و بیانگر این است که بیشترین حذف فنانتترین در این فاصله زمانی رخ داده است. در حالی که برای غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیشترین نرخ کاهش فنانتترین مربوط به ۱۰ روز سوم (۱۱/۰۹ میلی گرم بر کیلوگرم در روز) به دست آمد. در نهایت بعد از گذشت ۳۳ و ۶۰ روز از زمان شروع تجزیه زیستی، بیش از ۹۵٪ فنانتترین توسط این باکتری حذف گردید و نرخ کاهش فنانتترین در محیط ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به ترتیب ۲/۹۹ و ۸ میلی گرم بر کیلوگرم در روز رسید.



شکل ۱: چگونگی رشد باکتری و حذف فنانتترین توسط اسیتوباکتر sp با غلظت اولیه ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم

کاهش فناترین تا روز ۳۳ تقریباً ثابت مانده است. دلیل این امر را می توان کاهش محدودیت منبع کربنی و یا کاهش جمعیت زنده باکتریایی دانست که نتوانستند تکثیر سلولی مناسبی داشته باشند و و یا تولید مواد واسطه ای است که ممکن است برخی از آنها برای میکرو ارگانسیم مفید نباشد (۲۵، ۲۶).

کاهش رشد جمعیت میکروبی در ۵ روز اول به دلیل تغییر در شرایط محیط کشت بود. با توجه به این که روند جداسازی بر اساس فرایند سازگاری بوده و اسپیتوباکتری که با فناترین توانایی رشد داشته جداسازی شد، اما از طرفی پس از تکثیر در محیط کشت عمومی آزمایشگاهی (آگار R<sub>p</sub>A) میکروارگانسیم به دلیل شرایط رشد در محیط ضیافتی (شرایط غنی از مواد غذایی) پس از وارد شدن به شرایط قحطی (محیط حاوی کشت معدنی و منبع کربن فناترین) دچار حالت تنش شده و رشد آن کاهش یافت. اسپیتوباکتر در مقابل این تنش عکس العمل نشان داده و دوباره خود را با شرایط جدید سازگار کرده و رشد آن افزایش یافت (۲۷). به طوری که پس از حدود ۷ روز به حداکثر رشد یعنی ۱/۵ تا ۲۲ برابر حداقل رشد رسید.

با وجود این که با افزایش درجه معادله تطابق بین نتایج حاصل از آزمایشات و معادله بیشتر می شود، اما ضرایب تبیین نشان می دهند که معادلات درجه یک و حتی خطی نیز توانسته اند رگرسیون مناسبی را حاصل نمایند.

به منظور بررسی سیتیتیکی روند کاهش فناترین در خاک

میلی گرم بر کیلوگرم (به ترتیب ۹۹/۴٪ و ۹۶٪) می توان گفت که اسپیتوباکتر پتانسیل بالایی در حذف فناترین از خاک های آلوده دارد. نتایج حاصل از تحقیق مارکز و همکارانش (۲۰۰۵) نشان داد که ۵۷ الی ۷۰٪ هیدروکربن ها (غلظت اولیه ۱۵۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) توسط باسیلوس و پ سودوموناس در مدت ۳۰ روز حذف گردید. نرخ کاهش هیدروکربن ها بین ۰/۲۷ تا ۰/۳۹ گرم بر کیلوگرم در روز بود و میزان کاهش آنها در طول ۳۰ روز به ۸/۱ - ۶/۷۱ گرم بر کیلوگرم خاک رسید (۲۴). این میزان در این مطالعه در غلظت های ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در طول ۳۰ روز به ترتیب بین ۰/۰۸۱۸ تا ۰/۰۹۹۴ و ۰/۱۶۸ تا ۰/۳۸ گرم بر کیلوگرم خاک به دست آمد. غلظت اولیه در تحقیق مارکز ۳۰ برابر غلظت ۵۰۰ و ۱۵۰ برابر غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با تحقیق ما می باشد که می توان نتیجه گرفت که با افزایش غلظت اولیه نرخ حذف افزایش می یابد. ضمن این که در تحقیق حاضر نیز با مقایسه بین نرخ حذف در محیط ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خاک نیز نتیجه ی فوق حاصل گردید.

در تحقیقی که توسط بن سید و همکارانش (۲۰۰۷) در تونس انجام شد اسپیتوباکتر SP و استافیلوکوکوس SP توانستند به ترتیب حدود ۷۰ و ۸۰٪ از فناترین را حذف کنند (۲۳). قابل ذکر است که در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، درصد حذف فناترین در روز ۲۶ بیش از ۹۰٪ بوده و بعد از آن میزان

جدول ۱: معادله منحنی خط تجزیه فناترین توسط اسپیتوباکتر

غلظت اولیه ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	غلظت اولیه ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	
$y = -\frac{1}{826}x + 490/5$ $R^2 = 0/948$	$y = -\frac{2}{719}x + 83/56$ $R^2 = 0/911$	معادله خطی
$y = 666/8e^{-0/05x}$ $R^2 = 0/956$	$y = 159/5e^{-0/13x}$ $R^2 = 0/927$	معادله نمایی
$y = 0/102x^2 - 14/77x + 533/6$ $R^2 = 0/987$	$y = 0/053x^2 - 4/454x + 90/76$ $R^2 = 0/941$	معادله چند جمله ای درجه دو
$y = 0/002x^3 - 0/111x^2 - 9/990x + 519/3$ $R^2 = 0/991$	$y = -0/0045x^3 + 0/2784x^2 - 7/1976x + 94/952$ $R^2 = 0/9579$	معادله چند جمله ای درجه سه

نفتی به غلظت اولیه بستگی داشته و با افزایش آن نرخ حذف افزایش می یابد.

### تشکر و قدردانی

مراتب تشکر و قدردانی خود را از خانم دکتر فلورا شایق، مسئول محترم گروه فناوری و نوآوری پژوهشگاه صنعت نفت، آقای فرامرز مسجدیان مربی گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی و آقای مهندس علی اسرافیلی مسئول محترم آزمایشگاه تجزیه دستگاهی دانشکده بهداشت به خاطر همکاری در مراحل مختلف تحقیق ابراز می نمایم. تحقیق حاصل مربوط به پایان نامه دوره کارشناسی ارشد گروه مهندسی بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی ایران بوده و از کلیه ی حامیان این تحقیق سپاسگزاری به عمل می آید.

معادلات خطی، نمایی، چند جمله ای درجه دو و سه مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج نشان داد که در اکثر موارد کاهش فنانتترین در محیط دوغابی با تبیین مناسبی (بیش از ۰/۹) از معادلات سینتیکی بیان شده پیروی می کند که با افزایش درجه معادله، ضریب تبیین نیز افزایش می یابد (جدول ۱). این تبعیت در غلظت های بالاتر بیشتر مشهود است: به طوری که برای غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم می توان گفت که روند کاهش از معادله نمایی یا سینتیک درجه اول پیروی می کند و این تبعیت با نظرات مالتیک و همکاران (۲۰۰۹) که نشان دادند سینتیک تجزیه زیستی می تواند از طریق سینتیک درجه اول تخمین زده شود مطابقت دارد (۲۸). نهایتاً می توان گفت که باکتری های بومی توانایی مناسبی در حذف آلودگی های نفتی دارند و در مقیاس آزمایشگاهی روند حذف با تقریب مناسبی قابل پیش بینی است با توجه به داده ها می توان نتیجه گرفت که نرخ حذف آلاینده های

### منابع

- Juhasz, A.L. and Nadiu, R., 2000. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo [a] pyrene. *International Biodeterioration & biodegradation*. 45(1-2):57-88.
- Zhuang, W. Q., Tay, J. H., Massena, A. M., Krumholz, L. R., Tay, S. T. L., 2003. Importance of Gram-positive naphthalene-degrading bacteria in oil-contaminated tropical marine sediments. *Letters in Applied Microbiology*. 36(4):251-257.
- Bamforth, S.M and Singleton, L., 2005. Review Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 80(7):723-736.
- Samant, K. S, Om V. Singh and Rakesh K. Jain, 2002. Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. *TRENDS in Biotechnology*. 20 (6):243-248.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 1996. Polycyclic aromatic hydrocarbons, <http://www.atsdr.cdc.gov>
- Smith, M. J., Lethbridge, G, Burn, R. G., 1997. Bioavailability and biodegradation of Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils. *FEMS Microbiology Letters*. 152(1):141-147.
- Morzik, A., Piotrowska-seget, z., Łabużek, S., 2002. Bacterial Degradation Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Polish Journal of environmental Studies*. 12(1):15-25.
- Gennaro P. Di, Franzetti, A., Bestetti G, Lasagni, M, Pitea, D., Collina E., 2007. Slurry phase bioremediation of PAHs in industrial landfill samples at laboratory scale. *Waste Management*. 28(8):1338-45.
- Wilcke, w., 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in soil – a review, *J. plant Nutr. Soil. Sci*. 163:229-248.
- Zongqiang, G. Kassem, A. Berndt-Michael, W.,

- Peijun Li., 2007. Activated carbon adsorption of PAHs from vegetable oil used in soil remediation. *Journal of Hazardous Materials* .143 (1-2) 372-378.
11. Elmaleh, S. and Ghaffor, N. 1996. Upgrading oil refinery effluents by cross-flow ultra filtration. *Water Science Technology*. 34(9):231-238.
12. Binet, T. and Espedal, E., 1996. Membrane separation of produced water. *Water Science Technology*. 34(9):239-246.
13. Rivas, J. Gimeno, O., Ruth, G., Calle, D., Beltrán, F. J., 2009. Ozone treatment of PAH contaminated soils: Operating variables effect. *Journal of Hazardous Materials*.169( 1-3):509-515.
14. Youn-Joo, An., Elizabeth, R. Carraway. 2002. PAH degradation by UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in per fluorinated surfactant solution. *Water Research*. 36(1):309-314
15. Ewies, J.B., Ergas, S.J., Chang, D.P.V. and Schroeder, E.D., 1998. *Bioremediation principles*. Mc Grow-Hill.
16. Chaudhry, R.G., 1994. *Biological Degradation and Bioremediation*. Chapman & Hall. London.
17. Rezaei Kalantary, R., Badhoubi, A., Shojaosadati, S.A. and Ganjdoust, H., 2004. Biodegradation of Anthracene in supersaturated medium by contaminated soil microorganisms mix culture. *Modarres Technical and Eng.*, 14:39-48.(Persian)
18. Carlstrom, C.J. and Tuovinen, O.H., 2003. Mineralization of phenanthrene and flouranthene in yardwaste compost. *Environmental Pollution*, 124(1): 81-91.
19. Ressler, B.P., Kneifel, H. Winter, J. 1999. Bioavailability of Polycyclic aromatic hydrocarbons and formation of humic acid-like residues during bacterial PAH degradation. *Applied. Microbiology & Biotechnology*. 53:85-91.
20. Cassidy, D.P., Efendiev, S. and White, D.M., 2000. A comparison of CSTR and SBR bioslurry reactor performance. *Water Research*. 34(18): 4333-4342.
21. Ramirez, N., Cutright, T. and Ju, L.-K., 2001. Pyrene biodegradation in aqueous solutions and soil slurries by *Mycobacterium* PYR-1 and enriched consortia. *Chemosphere*, 44(5): 1079-1086.
22. EPA (1996). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): Ultrasonic Extraction, Method 3550B. <http://www.epa.gov/storet/modern/doc/LabSamplePrep20.pdf>
23. Ben Said, O., Goni-Urriza, M.S., El Bour, M., Dellali, M., Aissa, P., and Buran, R., 2007. Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria from Bizerte lagoon sediment, Tunisia. *Journal of Applied Microbiology*. 104(4): 987-997.
24. Marquez-Rocha, F.J., Olmos-Soto, J., Rosano-Hernandez, M.C. Muriel Garcia, m., 2005. Determination of the hydrocarbon-degrading metabolic capabilities of tropical bacterial isolates. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 55(1):17-23.
25. Ruberto, L., S. Vazquez, et al. (2003). "Effectiveness of the natural bacterial flora, biostimulation and bioaugmentation on the bioremediation of a hydrocarbon contaminated Antarctic soil." *International Biodeterioration & Biodegradation* 52(2): 115-125.
26. Gao, Y., X. Yu, et al. (2006). "Interactions of rice (*Oryza sativa* L.) and PAH-degrading bacteria (*Acinetobacter* sp.) on enhanced dissipation of spiked phenanthrene and pyrene in waterlogged soil." *Science of the Total Environment*, 372(1): 1-11.
27. Rittman, B.E and Mc Carty, P.L, 2001. *Environmental biotechnology*.
28. Maletić, S., Dalmacija, B., Rončević, S., Agbaba, J., Petrović, O., 2009. Degradation Kinetics of an Aged Hydrocarbon-Contaminated Soil. *Water Air Soil Pollution*. 202(1-4):149-159.

## **Survey of Phenanthrene Biodegradation's Model in Contaminated Soils by Acinetobacter SP**

**Rashid Ashmagh F. <sup>1</sup>, \*Rezaei Kalantary R. <sup>2</sup>, Farzadkia M. <sup>3</sup>, Joneidy Jafari A. <sup>3</sup>, Nabizadeh R. <sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Department of Environmental Health Engineering, Iran University, of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Department of Environmental Health, School of Public Health Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Department of Environmental Health, School of Public Health Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>4</sup>Department of Environmental Health, School of Public Health Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received 16 April 2009; Accepted 13 June 2009

### **ABSTRACT**

**Backgrounds and Objectives:** Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are a group of hazardous pollutants which have carcinogenic and mutagenic properties and accumulated in environment by different actions, therefore treatment of them is important. Biological treatments are simple and cheap technologies. This technology was recommended as a cost-effective method for treatment of these pollutants. In order to investigate the trend of pollution reduction of petroleum hydrocarbons in bioremediation, the phenanthrene biodegradation's model in contaminated soils was studied.

**Materials and Methods:** Firstly, PAHs capable degrading bacteria was isolated from petroleum contaminated soils and then their ability for biodegradation of phenanthrene was assessed in slurry phase. After that by using *Acinetobacter* which have the most potential of removing phenanthrene from soil, the biodegradation model was investigated in bench scale.

**Results:** Phenanthrene removal efficiency was obtained 99.4% for 100 mg/kg and 96 % for 500 mg/kg concentrations in 33 and 60 days biodegradation period respectively. Phenanthrene reduction rate varied from 2.99 to 8.86 and 1.4 to 11.09 mg/kg/day for 100 and 500 mg/kg concentrations, respectively.

**Conclusion:** Rate of phenanthrene removal is depended on primary concentration of contamination and by increasing of primary concentration, phenanthrene removal rate was increased. Also removal efficiency followed zero and first order kinetic model with good correlation.

**Key words:** *Acinetobacter* SP, biodegradation kinetic, Polycyclic aromatic Hydrocarbons

---

\*Corresponding Author: [roshanak.r.k@gmail.com](mailto:roshanak.r.k@gmail.com)

Tel: +98 21 88779118 Fax: +98 21 88779118