



Available online: <https://ijhe.tums.ac.ir>

مقاله مرور ساختاریافته



## بررسی روش‌های تلقیح میکروبی و تحریک زیستی جهت آلودگی‌زدایی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی: مطالعه مروری نظام‌مند

بهناز عبداللهی نژاد<sup>۱</sup>، حسن پاسالاری<sup>۲،\*</sup>، مهدی فرزادکیا<sup>۲،۱\*</sup>

۱- مرکز تحقیقات تکنولوژی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران  
۲- گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

### اطلاعات مقاله: چکیده

**زمینه و هدف:** هدف این مطالعه، شناسایی و ارزیابی جامع مطالعات بین‌المللی در ارتباط با روش‌های تلقیح میکروبی و تحریک زیستی جهت آلودگی‌زدایی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی است.

**روش بررسی:** این مطالعه مروری نظام‌مند در ماه آوریل سال ۲۰۲۲ میلادی انجام شد. بررسی مطالعه مروری نظام‌مند حاضر با پرداختن به دو سؤال اصلی انجام گردید: (۱) آیا فرایند تحریک زیستی در پالایش زیستی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی موثر است و (۲) آیا فرایند تلقیح زیستی در پالایش زیستی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی موثر است؟ از پایگاه‌های جستجوی الکترونیکی استناد جهانی (Web of Science، PubMed و Scopus) جهت شناسایی مطالعات مربوطه استفاده گردید. پس از بررسی جامع مطالعات، ۱۲۳ مطالعه سازگار با هدف مطالعه و نیز ارائه دهنده اطلاعات کمی در ارتباط با فرایندهای تحریک زیستی و تلقیح زیستی در زمینه پالایش زیستی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی انتخاب شدند.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که روش‌های تحریک زیستی با تغییرات عمیق در جوامع باکتریایی، آرکی‌باکترها و قارچی خاک از نظر فعالیت، فراوانی و تنوع زیستی همراه است. به طور کلی، مواد مغذی و گیرنده‌های الکترون اضافه شده با تحریک زیستی، فعالیت میکروبی خاک را بهبود می‌بخشد، فراوانی باکتری‌ها و قارچ‌ها را افزایش می‌دهد و تکثیر انتخابی تخریب‌کننده‌های هیدروکربن‌های پلی‌آروماتیک (Petroleum hydrocarbon (PHC)) باکتریایی، آرکی‌باکترها و قارچی را تسریع می‌کند. استفاده از فناوری تلقیح زیستی در محیط آلوده به هیدروکربن‌های نفتی تأثیر مثبتی بر خاک اصلاح شده نشان داده است. با این حال، انتخاب سویه‌های میکروبی مناسب برای دستیابی به هدف باید بسیار دقیق انجام شود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از مطالعه حاضر که به تمامی جوانب زیست پالایی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی پرداخته است نشان داد استفاده از روش‌های تحریک زیستی و تلقیح زیستی با در نظر گرفتن شرایط محلی می‌تواند اقدام کارآمد در زمینه پالایش خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی باشد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۶  
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۷  
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۰۱  
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۳/۲۹

**واژگان کلیدی:** تلقیح میکروبی، تحریک زیستی، آلودگی خاک، هیدروکربن‌های نفتی

پست الکترونیکی نویسنده مسئول:  
farzadkia.m@iums.ac.ir

Please cite this article as: Abdollahinejad B, Pasalari H, Farzadkia M. Bioaugmentation and biostimulation methods for the decontamination of soils contaminated with petroleum compounds: a systematic review. Iranian Journal of Health and Environment. 2023;16(1):195-228.

## مقدمه

آلودگی خاک به عنوان یکی از معضلات زیست محیطی عمده در دنیا شناخته شده است. آلودگی خاک عبارت است از وجود، پخش یا آمیختن یک یا چند ماده خارجی به خاک به مقدار و مدتی که کیفیت فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی آن را به طوری که برای انسان یا سایر موجودات زنده یا گیاهان و یا آثار و ابنیه زیان آور است، تغییر دهد (۱). آلودگی خاک یکی از اثرات عمده و عوارض پیشرفت تکنولوژیکی بشر است. انواع آلاینده‌ها از جمله سوخت و فرآورده‌های نفتی، فلزات سنگین، ضایعات هیدروکربن، مواد مغذی بیش از حد (برای مثال، نیترات و فسفات)، سموم دفع آفات و علف‌کش‌ها روی خاک‌های سطحی و زیرزمینی تأثیر می‌گذارند. هزاران آلاینده شیمیایی که به صورت تجاری در مقیاس وسیعی تولید می‌شوند، روزانه در محیط‌های خشکی و آبرزی می‌شوند و در نتیجه، حدود ۳۳ درصد از کل خاک‌های جهان در معرض خطر تخریب قرار دارند (۱). به یکی از شایع‌ترین آلاینده‌های موجود در خاک مربوط به ترکیبات نفتی است. به طور عمده دلایل اصلی آلودگی خاک به ترکیبات نفتی را می‌توان به نشت مخازن ذخیره، لوله‌های انتقال، حوضچه‌های تبخیر، وقوع سوانح در حمل و نقل و پوسیدگی تانک‌های پمپ بنزین نسبت داد. این آلاینده‌ها در خاک می‌توانند از طریق مسیره‌ها (برای مثال، آب‌های زیرزمینی و رودخانه‌ها) منتقل شوند و خطرات سلامتی انسان را به همراه داشته باشند (۱). روش‌های گوناگون و متداول بسیاری برای پاکسازی ترکیبات نفتی از محیط وجود دارد که به سه دسته کلی روش‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی تقسیم می‌شوند. روش‌های فیزیکی و شیمیایی از روش‌های پرهزینه و گران بوده و معمولاً برای خاک‌هایی که آلودگی شدیدی دارند، پیشنهاد می‌شود. در این میان روش زیست پالایی بدلیل کارایی و استفاده مکرر در خاک در دهه اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته و ضرورت انجام پژوهش در این زمینه هنگامی روشن‌تر می‌گردد که به اهمیت خاک به عنوان یک پایگاه زیستی پراهمیت که می‌تواند از آلودگی آب‌های زیر زمینی

جلوگیری نماید، پی برد. زیست پالایی اغلب به عنوان یک روش اقتصادی و سازگار با محیط زیست است. چهار استراتژی کلی برای اصلاح زیستی عبارتند از تجمع زیستی، تحریک زیستی، زیست افزایی و تصفیه طبیعی (۱). برای بررسی میزان تحریک زیستی باکتری‌ها و تأثیر بر روی رشد و فعالیت سلولی، فاکتورهای محیطی مانند نوع منبع کربنی، مواد شیمیایی یا مواد مغذی، میزان هوادهی و درجه حرارت نیز مورد بررسی قرار می‌گیرند (۲). تجزیه میکروبی به عنوان مهمترین مکانیسم طبیعی برای حذف آلاینده‌های هیدروکربنی غیر فرار از محیط ظهور پیدا کرده است. اگرچه تجزیه زیستی به میزان آهسته رخ می‌دهد، می‌توان با استفاده از گونه‌های میکروبی که ضایعات نفت را با کارایی بیشتری تجزیه می‌کنند و یا با بهبود شرایط محیطی، نظیر اضافه کردن مواد غذایی و هوادهی آن را افزایش داد. هدف زیست پالایی نفت، تجزیه کامل هیدروکربن‌ها به آب و دی اکسید کربن توسط میکروارگانیسم‌ها است (۲). میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده نفت فراوان هستند و به منطقه تولیدکننده نفت محدود نمی‌شوند و در هر محیط قابل تصویری حضور دارند، هیدروکربن‌ها در محیط عمدتاً توسط قارچ‌های رشته‌ای، مخمرها، اکتینومایست‌ها و باکتری‌ها تجزیه می‌شوند. باکتری‌های تجزیه‌کننده ترکیبات نفتی شامل سودوموناس‌ها، آئروموناس‌ها و... هستند (۲). متداول‌ترین سورفکتانت‌های مورد استفاده شامل سورفکتانت‌های آنیونی مانند سدیم دودسیل سولفات (SDS)، کاتیونی مثل dodecylpyridinium chloride (DPC) و غیریونی از قبیل Triton X100، Tween 80 هستند، که معمولاً از سورفکتانت‌های غیر یونی به دلیل ظرفیت حل‌کنندگی بیشتر، کیفیت اقتصادی بالاتر، سمیت کمتر و همچنین داشتن قابلیت تجزیه زیستی در مقایسه با سورفکتانت‌های آنیونی و کاتیونی بیشتر استفاده می‌شود. همچنین در مقایسه با سورفکتانت‌ها، بیوسورفکتانت‌ها دارای مزایایی از قبیل تولید آسان از منابع تجدیدپذیر، فعالیت سطحی بسیار خوب، سازگاری زیست محیطی و تجزیه زیستی بسیار مناسب، و فعالیت بالا در شرایط

## مواد و روش‌ها

### الگوی جستجو و معیارهای انتخاب مطالعه

این مطالعه مروری نظام‌مند در ماه آوریل سال ۲۰۲۲ میلادی انجام شد. بررسی مطالعه مروری نظام‌مند حاضر با پرداختن به دو سؤال اصلی انجام شده است: (۱) آیا فرایند تحریک زیستی در پالایش زیستی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی موثر است و (۲) آیا فرایند تلقیح زیستی در پالایش زیستی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی موثر است؟ علاوه بر این، در این مطالعه از روش preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses (PRISMA) جهت طراحی مطالعه، استراتژی جستجو و انتخاب مطالعه استفاده گردید (۵). پایگاه داده‌های الکترونیکی جهانی (PubMed، Web of Science، Scopus) برای شناسایی مطالعات مربوطه به طور جامع و کامل جستجو شدند. منابع اضافی تحقیقات مربوطه با استفاده از روش دستی در دوره انجام مطالعه به تحقیقات انتخاب شده اضافه گردید. عنوان و چکیده پژوهش‌های منتشره شناسایی شده توسط نویسندگان از نظر سازگاری با اهداف این مطالعه مروری نظام‌مند، مورد بررسی قرار گرفت.

### فرایند انتخاب مقالات و استخراج داده

در ابتدا با استفاده از استراتژی جستجو و براساس کلید واژه‌های تعریف شده (Soil pollution، TPH، Bioaugmentation، Biostimulation) مقالات انتخاب گردیدند. پس از حذف مطالعات تکراری در پایگاه‌های الکترونیکی مختلف و واجد شرایط بودن تحقیق با توجه به اهداف و معیارهای ورود به مطالعه، استخراج کامل داده‌ها از مطالعات انتخاب شده انجام گردید. اطلاعات عمومی و خاص به دست آمده از مطالعات شامل نام نویسنده اول، سال، نام مجله، نوع ماده تحریک زیستی، نوع میکروارگانیسم‌ها و شرایط راهبری نیز در فایل مجزا جمع‌آوری گردید. در این مرحله براساس الگوی جامع (PRISMA)، محققین سعی بر انتخاب مقالات نمایه شده در پایگاه‌های معتبر و

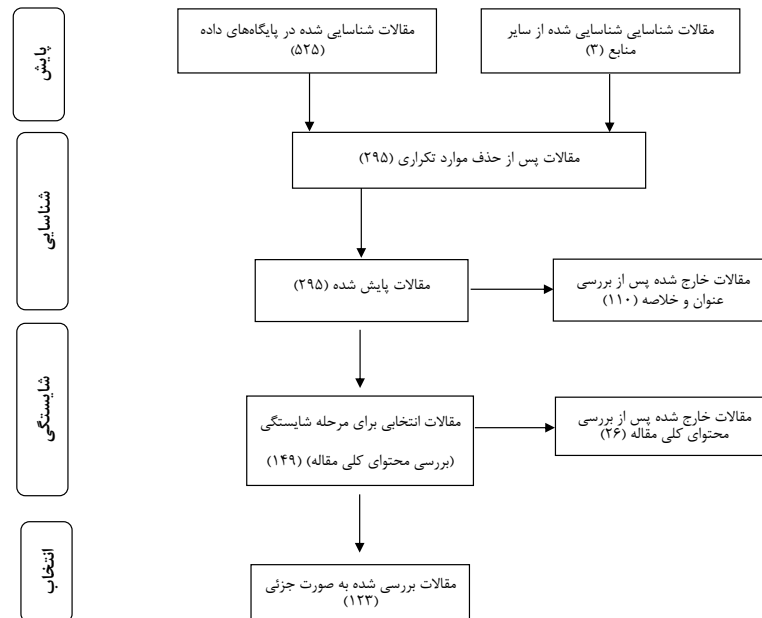
زیست محیطی بسیار سخت است (۳). بیوسورفاکتانت‌ها می‌توانند در مقادیر زیاد، بعنوان محصول جانبی یا مواد مورد مصرف برای مواد آب‌گریز مثل هیدروکربن‌ها تولید شوند (۴). رامنولپید یک نوع بیوسورفاکتانت است که اصولاً توسط باکتری سودوموناس تولید شده و ۴ برابر موثرتر از سورفاکتانت‌های غیریونی مانند Tween 80 است. بنابراین بیوسورفاکتانت‌ها دارای پتانسیل بالایی در افزایش حلالیت PAHها بوده و برای افزایش تجزیه زیستی مفید هستند (۴). سیستم‌های آنزیمی سیتوکروم P450 در تجزیه زیستی هیدروکربن‌های نفتی دارای اهمیت هستند. توانایی چند گونه مخمر برای استفاده از n-آلکان‌ها و هیدروکربن‌های آلیفاتیک دیگر به عنوان تنها منبع کربن و انرژی به واسطه وجود اشکال سیتوکروم P450 میکروزومال متعدد معین می‌گردد. این آنزیم‌های سیتوکروم P450 از گونه‌های مخمر مانند کاندیدا مالتوزا، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا اپیکولا جدا می‌شوند. تنوع سیستم‌های آلکان اکسیژناز در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها که فعالانه در تجزیه آلکان‌ها تحت شرایط هوازی شرکت می‌کنند آنزیم‌های سیتوکروم P450، آلکان هیدروکسیلازهای دی‌آهن غشای انتگرال به عنوان مثال، alkB، متان‌نواکسیژنازهای دی‌آهن محلول و متان‌نواکسیژنازهای حاوی مس باند شده به غشا توسط محققین مورد بحث واقع شده است. فعالیت آنزیمی لاکاز نیز به عنوان یکی از مهمترین آنزیم‌های دخیل در حذف ترکیبات نفتی با فعالیت بسیار بالا در جنس *Phaeosphaeria* مطرح است (۴). بنابراین با توجه به اهمیت موضوع آلودگی‌های نفتی در خاک در سطح جهانی، داشتن اطلاعات جامع و یکپارچه در مورد روش‌های مختلف زیست‌پالایی و مقایسه کارایی آنها می‌تواند به عنوان راهنما برای محققین و افراد درگیر در زمینه پالایش آلودگی خاک موثر و مفید باشد. بنابراین، مطالعه حاضر، یک تحقیق مروری نظام‌مند است و هدف از این تحقیق، یکپارچه‌سازی اطلاعات مربوط به روش‌های تلقیح میکروبی و تحریک زیستی جهت آلودگی‌زدایی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی با تکیه بر تجربیات جهانی است.

Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)) (Preferred Reporting Items for Systematic) جهت انتخاب مطالعات با توجه به هدف مطالعه در شکل ۱ نشان داده شده است. پس از شناسایی و حذف مطالعات تکراری در پایگاه‌های علمی مختلف ۲۹۵ مقاله باقی ماند. در این مرحله، نویسندگان عنوان و چکیده مطالعات را مورد بررسی قرار داده و مطالعاتی که با اهداف این مطالعه مروری سازگاری نداشتند، از مطالعه کنار گذاشته می‌شدند (تعداد مطالعه باقیمانده: ۱۸۵). در این مرحله، نویسندگان با نگاهی دقیق‌تر به بررسی کل محتوای مطالعات انتخابی از مراحل قبل پرداختند و همچنین آندسته از مطالعاتی که با اهداف مطالعه و الگوی انتخاب مقالات همخوانی نداشتند از ادامه روند خارج شدند (تعداد مطالعه باقیمانده: ۱۲۰). علاوه بر این، در طی بررسی مطالعات، ۳ مطالعه به صورت دستی به مطالعات اضافه گردید. در پایان، داده‌های اختصاصی با تمرکز تاثیرگذاری فرایندهای تحریک زیستی و تلقیح زیستی بر کارایی پالایش زیستی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی استخراج گردید.

متناسب با اهداف مطالعه دارند. و با طرح این سوال که آیا عنوان مقاله متناسب با سوالات پژوهشی و اهداف طرح است، مقاله انتخاب یا از روند مطالعه مروری خارج می‌شدند. در این مرحله، مقالات انتخاب شده در مرحله قبل مورد پایش قرار گرفتند و مقاله‌ای که هماهنگ با سوالات پژوهشی و اهداف مقاله باشد و به طور جزئی نیز به روش‌های تلقیح میکروبی و تحریک زیستی جهت آلودگی زدایی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی پرداخته بود، انتخاب شدند. در این مرحله با نگاه دقیق‌تر به مطالب ارائه شده در متن کامل مقاله و همچنین اهداف پژوهشی طرح، مقالات انتخاب می‌شدند. در این مرحله، اطلاعات مورد نیاز براساس اهداف مطالعه و معیارهای لازم جهت انتخاب مقالات، از مطالعات استخراج گردید. از آنجایی که هدف از این مطالعه تاثیر بررسی روش‌های تلقیح میکروبی و تحریک زیستی جهت آلودگی زدایی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی است.

## یافته‌ها

نمودار موارد گزارش دهی ترجیحی برای بررسی‌های سیستماتیک و متاآنالیز



شکل ۱- نمودار گرافیکی انتخاب مطالعات براساس الگوی PRISMA

## بحث

### – زیست پالایی (Bioremediation)

زیست پالایی به عنوان «استفاده از فرآیندهای با واسطه بیولوژیکی جهت سم زدایی، تخریب یا تبدیل آلاینده‌ها به حالت بی ضرر» تعریف می‌شود (۶). زیست پالایی از ظرفیت بسیاری از میکروارگانیسم‌ها برای استفاده از هیدروکربن‌ها به عنوان منبع کربن و انرژی (تجزیه زیستی)، تبدیل یا معدنی سازی این آلاینده‌ها به مواد کمتر مضر یا غیرخطرناک بهره می‌برد. این ترکیبات سپس در چرخه‌های بیوژئوشیمیایی طبیعی ادغام می‌شوند (۷، ۸). پتانسیل زیست پالایی به شکل طبیعی در یک اکوسیستم خاک به عنوان بازبایی طبیعی شناخته می‌شود (۹). تخریب میکروبی PHC در خاک (یا به عبارت دیگر، اثربخشی فرآیند زیست پالایی توسط سه گروه از عوامل محدود می‌شود (۱۰): ۱- ویژگی‌های جامعه میکروبی بومی (از نظر طبقه بندی، ژن، تنظیم و بیان ژن، تنوع متابولیک، تحمل به فلزات و سایر گزنوبیوتیک‌های سمی، مکانیسم‌های جذب یا چسبندگی سوبسترا، کموتاکسی و تشکیل بیوفیلم). ۲- شرایط محیطی (به عنوان مثال، در دسترس بودن مواد مغذی، گیرنده‌های نهایی الکترون، شوری، فشار، دما، pH و رطوبت) و ۳- ماهیت شیمیایی و خواص فیزیکوشیمیایی PHC‌ها (یعنی حلالیت، غلظت، آبگریزی، فراریت و جرم مولکولی) (۶). برای غلبه بر محدودیت‌هایی که استراتژی‌های مبتنی بر زیست پالایی ممکن است متحمل شوند، تقویت زیستی (یعنی تلقیح خاک با میکروارگانیسم‌های برون‌زا یا درون‌زای تجزیه‌کننده هیدروکربن) و تحریک زیستی (یعنی افزودن مواد مغذی مناسب و/یا گیرنده‌های الکترون برای تحریک ظرفیت تخریب آلاینده در خاک‌ها توسط جمعیت میکروبی) توسعه داده شده است (۱۱). روش‌های مختلف تحریک زیستی و/یا تلقیح زیستی به‌طور گسترده برای زیست پالایی خاک‌های آلوده در محیط‌های مختلفی مانند محیط‌های آزمایشگاهی (ex-situ) یا در محل (in-situ) استفاده شده است (۹، ۱۰، ۱۲، ۱۳). به نظر می‌رسد که اثربخشی روش‌های تحریک زیستی و تلقیح

زیستی با توجه به شرایط خاص سایت و همچنین نوع مواد مغذی و تلقیح‌هایی که استفاده می‌شوند متفاوت است (۱۱)، (۱۴). به طور کلی، تحریک زیستی به عنوان بهترین گزینه برای سرعت بخشیدن به پالایش خاک‌های الیگوتروف در نظر گرفته می‌شود، این در حالی است که تقویت زیستی به عنوان مناسب‌ترین استراتژی برای پالایش خاک‌هایی با جوامع میکروبی ضعیف در تجزیه‌کننده‌های PHC شناخته شده است (۱۲). با این حال، چندین کار انجام شده با هدف مقایسه میزان حذف PHC‌ها در طول زیست پالایی همزمان انواع مختلف خاک‌های آلوده به PHC از طریق تحریک زیستی و تلقیح زیستی، نتایج بهتری را در مورد استفاده از روش تحریک زیستی در دراز مدت گزارش کرده‌اند (۱۱، ۱۵-۱۷).

### – تحریک زیستی

آلودگی خاک به یک محصول مشتق شده از نفت باعث عدم تعادل در نسبت (C:N) می‌شود و دسترسی به مواد مغذی ضروری برای رشد و فعالیت میکروبی را محدود می‌کند (۱۸). فقدان نسبت متوازن C:N:P در محیط بسیاری از فرآیندهای زیست پالایی را که شامل میکروارگانیسم‌های اتوکتون هستند را محدود می‌کند (۱۹). در نتیجه، اکثر استراتژی‌های تحریک زیستی به افزودن مواد مغذی معدنی به خاک (مانند کودهای معدنی غنی از نیتروژن و فسفر) یا مواد آلی مختلف (مانند کود حیوانی، فاضلاب خانگی، زغال زیستی کاه برنج)، بقایای گیاهی و انواع محصولات مختلف فرایند کمپوست به منظور بهبود پتانسیل تجزیه زیستی میکروارگانیسم‌های بومی متکی هستند (۶). هنگامی که کمپوست به خاک اعمال می‌شود، میکروبیوم‌های اضافه شده به آن نیز می‌توانند در تخریب PHC موجود در خاک نقش داشته باشند. در این مورد، افزودن کمپوست به خاک برای اهداف زیست پالایی به عنوان یک رویکرد تحریک زیستی و تلقیح زیستی به طور همزمان در نظر گرفته می‌شود (۲۰). سایر استراتژی‌های تحریک زیستی شامل استفاده از اجزایی مانند بیوسورفکتانت‌ها و گیرنده‌های الکترون (به عنوان مثال،  $O_2$ ، آهن (III)، نیترات، یا سولفات) است

(۶، ۲۱). از نظر تئوری، ۱۵۰ میلی گرم نیتروژن و ۳۰ میلی گرم فسفر برای تجزیه ۱ گرم هیدروکربن مورد نیاز است. در نتیجه، نسبت ۱:۵:۱۰۰ = C:N:P به عنوان نسبت بهینه برای تحریک زیستی خاک‌های آلوده به PHC در نظر گرفته شده است (۲۱). با این حال، نسبت مناسب C:N:P باید برای هر سایت آلوده شناسایی شود، زیرا هر محصول مشتق شده از نفت دارای خواص متفاوتی است و هر سایت آلوده تحت تاثیر عوامل محیطی متفاوتی قرار می‌گیرد. به عنوان مثال، Turgay و همکاران (۲۰۱۰) با موفقیت (استفاده از لئوناردیت) خاک یک سایت آلوده به نفت خام که دارای نسبت C:N:P = ۱:۱۵:۱۰۰ را با استفاده از مکانیسم تحریک زیستی پاکسازی کردند (۲۲)، در حالی که Qin و همکاران (۲۰۱۳) خاک آلوده به نفت را از طریق استفاده از زغال زیستی تولیدی از کاه برنج با استفاده از نسبت C:N:P = ۱:۱۰:۱۰۰ پاکسازی کردند (۲۳). در برخی از مطالعات دیگر، با افزایش سورفاکتانت‌ها به خاک‌های آلوده نفتی امکان تجزیه پذیری میکروبی آنها را افزایش داده‌اند. متداول‌ترین سورفاکتانت‌های مورد استفاده شامل سورفاکتانت‌های آنیونی مانند سدیم دودسیل سولفات (SDS)، کاتیونی مثل (1-dodecylpyridinium chloride (DPC)) و غیر یونی از قبیل Triton X-100، Tween 80 هستند. معمولاً از سورفاکتانت‌های غیر یونی به دلیل ظرفیت حل‌کنندگی بیشتر، هزینه‌های کمتر، سمیت کمتر و همچنین داشتن قابلیت تجزیه زیستی در مقایسه با سورفاکتانت‌های آنیونی و کاتیونی بیشتر استفاده می‌شود. در مقایسه با سورفاکتانت‌ها، بیوسورفاکتانت‌ها دارای مزایایی از قبیل تولید آسان از منابع تجدیدپذیر، فعالیت سطحی بسیار خوب، سازگاری زیست محیطی و تجزیه زیستی بسیار مناسب، و فعالیت بالا در شرایط زیست محیطی بسیار سخت هستند (۳). رامنولیبید یک نوع بیوسورفاکتانت است که اصولاً توسط باکتری سودوموناس تولید شده و ۴ برابر مؤثرتر از سورفاکتانت‌های غیر یونی مانند Tween 80 است. بنابراین بیوسورفاکتانت‌ها دارای پتانسیل بالایی در افزایش حلالیت

PAHها بوده و برای افزایش تجزیه زیستی مفید هستند (۴). عدم حضور سورفاکتانت باعث می‌شود هیدروکربن‌ها به سختی از خاک واجذب شود، به همین دلیل سرعت تجزیه زیستی در مقایسه با حضور سورفاکتانت‌ها کمتر است. Thavasi و همکاران (۲۰۱۱) نیز در تحقیق خود به بهبود میزان تجزیه زیستی در حضور بیوسورفاکتانت در اثر افزایش دسترسی زیستی به هیدروکربن‌ها دست یافتند (۲۴). برای تجزیه هیدروکربن‌ها، نه تنها برهم‌کنش سورفاکتانت و هیدروکربن‌ها مهم است، بلکه برهم‌کنش بین سورفاکتانت و میکروارگانیسم، که ممکن است چسبندگی هیدروکربن به غشای سلول میکروبی را فراهم آورد، نیز عامل مهم دیگری است (۲۵). Liu و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که پیش تصفیه با سورفاکتانت‌ها باعث تغییر گروه‌های تابعی سطح سلول پنی سیلیوم شده که منجر به چسبندگی یا جذب میکروارگانیسم به فنل می‌شود. توانایی سورفاکتانت‌ها و بیوسورفاکتانت‌ها در افزایش حذف آلاینده‌های آب گریز به دو عامل حلالیت و امولسیون سازی مربوط است (۲۶). Mohanty و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی مکانیسم اثر سورفاکتانت‌ها و بیوسورفاکتانت‌ها نشان دادند که در حضور تریتون افزایش سطح به دلیل امولسیون شدن به همراه چسبندگی سلول منجر به افزایش مصرف n-alkane از مایع شد در حالی که تأثیر رامنولیبید به مکانیسم حلال سازی آن مربوط می‌شود (۲۶).

دینامیک میکروبی در طی فرایند تحریک زیستی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی

در طول پالایش زیستی خاک‌های آلوده به PHC از طریق تحریک زیستی، مطالعه جوامع میکروبی مؤثر نیز مهم هستند، زیرا داده‌های به‌دست آمده از این بررسی‌ها ممکن است برای شناسایی ویژگی‌های میکروبی خاص که منجر به افزایش نرخ‌های آلودگی‌زدایی می‌شوند مفید است (۷). این داده‌ها می‌توانند بیشتر برای بهینه‌سازی استراتژی‌های زیست پالایی موجود و توسعه راهبردهای جدید مورد استفاده قرار گیرند (۲۷). در خاک، گروه‌هایی از باکتری‌ها، آرکی‌باکتری‌ها، قارچ‌ها و

تلقی می‌شود که روش تحریک زیستی دربرگیرنده استفاده از کمپوست باشد (۳۴). تنفس میکروبی پارامتر دیگری است که معمولاً در حین تحریک زیستی خاک‌های آلوده اندازه‌گیری می‌شود. تغییرات در تولید  $CO_2$  به طور غیر مستقیم منعکس کننده تجزیه میکروبی هیدروکربن‌ها است. به طور کلی، افزایش نرخ تنفس میکروبی و فعالیت آنزیمی با کاهش محتوای PHC در خاک در طی تصفیه‌های تحریک زیستی همراه است (۱۶).

(ب) فراوانی جوامع میکروبی خاک

تکنیک‌های روش‌شناختی مانند اسیدهای چرب فسفولیپید (PLFA) و تجزیه و تحلیل کمی واکنش زنجیره‌ای پلیمر (Quantitative polymerase chain reaction (qPCR)) برای نظارت بر اندازه نسبی جوامع باکتریایی، آرکی‌باکترها و قارچی در طول پاکسازی زیستی خاک‌های آلوده به PHC از طریق تحریک زیستی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. qPCR همچنین برای تعیین کمیت ژن‌های کلیدی در تخریب PHC استفاده می‌شود. qPCR اطلاعات مفیدی در مورد اندازه نسبی جمعیت میکروبی که به طور بالقوه فرآیند تصفیه زیستی را انجام می‌دهند، ارائه می‌کند. زیست توده باکتریایی موجود در خاک معمولاً پس از اعمال فرایندهای تحریک زیستی افزایش می‌یابند، زیرا افزایش سطوح مواد مغذی رشد باکتری‌ها به‌ویژه رشد باکتری‌های r-strategists را تحریک می‌کند (۷). پاسخ جوامع باکتریایی به مواد مغذی ورودی فوری است. به عنوان مثال، Margesin و همکاران (۲۰۰۷) افزایش قابل توجهی در فراوانی باکتری‌های مبتنی بر PLFA، ۷ روز پس از کاربرد کودهای معدنی NPK (نیتروژن، فسفر، پتاسیم) در طی پاکسازی زیستی خاکی که به طور مصنوعی با غلظت‌های مختلف روغن دیزل آلوده شده است، گزارش کردند (۸). با گذشت زمان، اندازه نسبی جوامع باکتریایی در تصفیه‌های تحریک زیستی بیشتر از تصفیه کنترل (تضعیف طبیعی) نمود پیدا می‌کند (۳۵). این امر به ویژه زمانی مشهود است که مقادیر به کار رفته از مواد مغذی نسبت متعادلی از C:N:P را در طول فرآیند حفظ کند. به عنوان مثال، Han و همکاران

جلبک‌ها در تخریب PHC نقش دارند (۲۸). در این بخش به ارائه یک مرور کلی از پویایی جوامع میکروبی خاک، از جمله گونه‌های باکتریایی و آرکی‌باکترها و همچنین قلمرو قارچی، از نظر (الف) فعالیت، (ب) فراوانی، و (ج) ترکیب طبقه بندی در طول زیست پالایی خاک‌های آلوده به PHC از طریق تحریک زیستی پرداخته می‌شود.

(الف) فعالیت جوامع میکروبی خاک

فعالیت آنزیم‌های میکروبی خاک نقش مهمی در چرخه مواد مغذی ایفا می‌کند و می‌تواند شاخص‌های حساس آلودگی محیطی باشد (۱۶). به این ترتیب، فعالیت آنزیم‌های میکروبی به طور معمول در طول فرایندهای زیست پالایی خاک اندازه‌گیری می‌شود. پتانسیل (به عنوان مثال، تحت شرایط آزمایشگاهی بهینه دما و غلظت سوبسترا) فعالیت آنزیمی مانند دهیدروژناز، کاتالاز، لیپاز و اوره آز در آزمایش‌های تحریک زیستی کوتاه‌مدت و بلندمدت خاک‌های آلوده با PHC اندازه‌گیری می‌شود (با استفاده از روش‌های عمدتاً فتومتریک، انواع مختلف کودها و اصلاح کننده‌ها) (۱۱، ۱۶، ۲۹-۳۲). به طور کلی، روش تحریک زیستی به دلیل تحریک فعالیت میکروارگانیسم‌های اتوکتون منجر به افزایش تولید آنزیم میکروبی می‌شوند که این افزایش‌ها در ابتدای آزمایش‌های زیست پالایی مشهودتر است. مقادیر بالاتر برای فعالیت‌های آنزیمی خاک مانند دهیدروژناز و کاتالاز همراه با کاهش محتوای PHC نشان دهنده مشارکت واضح جوامع میکروبی بومی در تخریب PHC است (۳۳). Liu و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که فعالیت دهیدروژناز با افزایش سریع میزان حذف PHC در طول تحریک زیستی با زباله‌های کهنه از محل‌های دفن زباله، یک خاک آلوده به نفت همبستگی مثبت دارد (۲۹). ترکیب مواد مغذی از تجزیه زیستی هیدروکربن پشتیبانی می‌کند. با این حال، دوزهای بسیار بالای مواد مغذی ممکن است منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های میکروبی نشود (۸). از سوی دیگر، نظارت بر آنزیم‌های خارج سلولی مانند  $\beta$  گلوکوزیداز و فسفاتازها (اسیدی یا قلیایی) زمانی مفید

هستند، باشد. برخلاف باکتری‌ها، فراوانی جوامع آرکی‌باکترها پس از افزودن مواد مغذی در روش‌های تحریک زیستی افزایش نمی‌یابد که در مطالعات Rölöng و همکاران (۲۰۰۴) و de Jesus و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش شده است (۳۸، ۳۹). در مورد جوامع قارچی، Covino و همکاران (۲۰۱۶) افزایش فراوانی قارچ (با اندازه‌گیری ارگوسترول تعیین می‌شود) را در طول زیست پالایی خاک آلوده طولانی‌مدت به نفت از طریق تحریک زیستی به مدت ۳۰ و ۶۰ روز با استفاده از مخلوط لیگنوسولوزی ثبت کردند (۴۰). بر این اساس، Mair و همکاران (۲۰۱۳)، در طی پاکسازی زیستی خاک آلوده به PHC از یک سایت نظامی آلپ با استفاده از سه نوع روش تحریک زیستی (کوددهی مبتنی بر NPK و دو محصول تجاری Inipol و Terramend)، افزایش قابل توجهی از نشانگر زیستی PLFA قارچی 18:2ω6,9 در تمامی روش‌های کوددهی شده در مقایسه با خاک بارور نشده پس از ۱۵ و ۳۰ هفته آزمایش مشاهده کردند (۳۵). بنابراین، اثر مفید روش‌ها تحریک زیستی بر اندازه نسبی جوامع قارچی خاک در نتیجه افزایش سطوح عناصر غذایی واضح مشهود است. با این حال، Margesin (۲۰۱۴) اخیراً استدلال کرده‌اند که تغییرات فراوانی قارچ در طول آزمایش‌های زیست پالایی می‌تواند توسط عوامل متفاوتی از مقادیر مواد مغذی، به عنوان مثال، دمای انکوباسیون یا سایر عوامل فیزیکی‌شیمیایی و محیطی خاک انجام شود (۸).

ج) ترکیب طبقه بندی جوامع میکروبی خاک

در این بخش، یک مرور کلی از گروه‌های اصلی جوامع باکتریایی، آرکی‌باکترها و قارچی خاک که به طور بالقوه در تخریب PHC در طول پاکسازی زیستی خاک‌های آلوده از طریق تحریک زیستی با استفاده از فن‌آوری‌های پیروژه‌ای یا Illumina درگیر هستند، ارائه شده است.

جوامع باکتریایی

چندین مطالعه مبتنی بر pyrosequencing و Illumina تنوع جوامع باکتریایی را در طول تحریک زیستی خاک‌های آلوده به PHC از مکان‌های جغرافیایی مختلف با استفاده از

(۲۰۱۷) دریافتند که تعداد کپی ژن 16S rRNA باکتریایی پس از ۹۰ روز تحریک زیستی خاک آلوده به PAH با استفاده از سه نوع مختلف زباله به طور قابل توجهی بیشتر از خاک اصلاح نشده است (۳۶). با این حال، برخی از مطالعات به ارتباط معنی‌داری بین افزایش فراوانی باکتری و میزان حذف PHC دست نیافته‌اند (۳۷). Margesin (۲۰۱۸) پیشنهاد کرد که نرخ‌های زیست‌پالایی بهبود یافته را می‌توان به میزان بیشتری با تحریک فعالیت‌های میکروبی بومی خاک منتسب کرد تا افزایش فراوانی میکروبی (۸). به این ترتیب، کمی‌سازی ژن‌های عملکردی خاص باکتری به عنوان مثال، alkB (رمزکننده برای آلکان منواکسیژناز)، phnAc (زیر واحد بزرگ نفتالین دی‌اکسیژناز)، nah (نفتالین دی‌اکسیژناز)، یا PAH RHDα (حلقه هیدروکسیله‌کننده دی‌اکسیژناز آلفا) نشان داده شده است که یک رویکرد آموزنده‌تر برای دانستن پویایی فراوانی باکتری‌های درگیر در تخریب PHC است (۲۱). یکی از ژن‌هایی که بیشتر به عنوان نشانگر عملکردی استفاده می‌شود، alkB است، زیرا آلکان منواکسیژناز آنزیم کلیدی در تجزیه هوازی آلکان باکتریایی است. این آنزیم در یک واکنش زنجیره‌ای با حامل‌های الکترون عمل می‌کند تا آلکان را به الکل تبدیل کند، که متعاقباً وارد مسیر اکسیداسیون β باکتری می‌شود (۱۸). Han و همکاران (۲۰۱۷)، در مطالعه تحریک زیستی فوق، گزارش دادند (۳۶) که سه نوع ضایعات مورد استفاده (ساقه گندم، ضایعات بستر کشت قارچ و کود گاوی) به طور قابل توجهی فراوانی ژن‌های تجزیه‌کننده PAH مورد آزمایش را افزایش دادند (pdo1) (کدکننده پیرن دی‌اکسیژناز و nah). جالب توجه است که Masy و همکاران (۲۰۱۶)، با مقایسه روش‌های تحریک زیستی و تلقیح زیستی برای پاکسازی زیستی یک خاک غنی از خاک رس آلوده به دیزل، نسبت بین ژن‌های alkB و 16S rRNA را محاسبه کردند (۱۷). این امر می‌تواند یک رویکرد جالب برای دانستن پویایی فراوانی جمعیت‌های باکتریایی که به طور فعال در تخریب PHC در ارتباط با فراوانی کل جامعه باکتریایی درگیر

*Pseudomonas fluorescens* توانایی انطباق با بسیاری از هیدروکربن‌های مختلف نه تنها با آنزیم‌های کاتابولیک، بلکه همچنین با تنظیم متابولیک را دارند (۴۲). طبق جدول *Pseudomonas spp.* ۱ به طور فعال در بازیابی برخی از خاک‌های آلوده مورد مطالعه شرکت داشتند. این جنس به طور گسترده در خاک پراکنده شده است و بسیاری از گونه‌های سودوموناس قادر به سازگاری با محیط‌های غذایی متغیر (هم اولیگوتروفیک و هم کپیوتروفیک) و شرایط pH هستند (۷). این امر پویایی *Pseudomonas spp.* را توضیح می‌دهد. در طی فرآیندهای تحریک زیستی دخالت قابل توجه پلاسمیدها در تخریب PHC یکی دیگر از خصوصیات *Pseudomonas spp.* است. در واقع، بسیاری از این مسیرهای رمزگذاری پلاسمید برای تخریب هیدروکربن مشخص شده‌اند (۴۳). با توجه به این ویژگی‌ها، گونه‌های متعددی از جنس *Pseudomonas* برای اهداف افزایش زیستی استفاده می‌شوند (۴۴). سایر جنس‌های گاما پروتئوباکتری مانند اسینتوباکتر، مارینوباکتر، استنوتروفوموناس و ویبریون نیز به عنوان تجزیه کننده‌های PHC گزارش شده‌اند (۱۳).

انواع مختلف عوامل محرک توصیف کرده‌اند (جدول ۱). این مطالعات به بررسی چگونگی تاثیر حضور آلودگی PHC بر ترکیب جامعه باکتریایی از طریق تکنیک‌های توالی یابی بالا و پایش شیمیایی غلظت PHC، پرداخته‌اند. در مطالعات فهرست شده در جدول ۱، تحریک زیستی عمدتاً در شرایط هوازی انجام شده است. همه طبقات پروتئوباکتری، به جز اسیلون پروتئوباکتری‌ها، نشان داده‌اند که به مکمل‌های مواد مغذی در روش‌های تحریک زیستی پاسخ می‌دهند (۱۸). به نظر می‌رسد گاما پروتئوباکتری‌ها و آلفا پروتئوباکتری‌ها نقش مهمی در فرآیندهای آلودگی زدایی داشته باشند. تعدادی از مطالعات دخالت فعال گاما پروتئوباکتری‌ها را در تخریب PHC‌ها گزارش کرده‌اند. "تغییر گاما" یک پدیده شناخته شده است که پس از آلودگی خاک به PHC زمانی که آلاینده به عنوان منبع مواد مغذی برای تجزیه کننده‌ها عمل می‌کند، رخ می‌دهد (۲۸، ۴۱). در گاما پروتئوباکتری‌ها، گونه‌های سودوموناس به عنوان تجزیه کننده آلکان و هیدروکربن‌های آروماتیک موثر در خاک‌های آلوده به نفت شناخته شده‌اند و فراوانی نسبی آنها به طور قابل توجهی با نرخ تخریب بالا ارتباط دارد (۲۳). به عنوان مثال، *Pseudomonas putida* و

جدول ۱- مطالعات کلیدی که تغییرات ترکیب جوامع باکتریایی را در طی فرایند پالایش زیستی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی از طریق تحریک زیستی با استفاده از pyrosequencing یا تکنیک Illumina توصیف می‌کنند

موقعیت جغرافیایی	نوع آلودگی	غلظت اولیه هیدروکربن‌های نفتی (mg/L)	تصفیه تحریک زیستی	مدت زمان آزمایش تحریک زیستی (روزها)	گروه‌های باکتریایی که در تخریب هیدروکربن‌های نفتی نقش دارند	منابع
ایالات متحده آمریکا	PAHs	۲۹۵ (PAH)	کود غیر آلی NPK	۵۳۴	<i>Alphaproteobacteria</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>	(۴۵)
بارسلونا، اسپانیا	کرتوزوت	۲۸۱۵	لیگنوسلولزی (کاه گندم و سیوس گندم)	۱۲۰	<i>Alphaproteobacteria</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>	(۴۶)

ادامه جدول ۱- مطالعات کلیدی که تغییرات ترکیب جوامع باکتریایی را در طی فرایند پالایش زیستی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی از طریق تحریک زیستی با استفاده از pyrosequencing یا تکنیک Illumina توصیف می‌کنند

موقعیت جغرافیایی	نوع آلودگی	غلظت اولیه هیدروکربن‌های نفتی (mg/L)	تصفیه تحریک زیستی	مدت زمان آزمایش تحریک زیستی (روزها)	گروه‌های باکتریایی که در تخریب هیدروکربن‌های نفتی نقش دارند	منابع
بلژیک	سخت و گرمایشی	از ۶۱۱۷ تا ۱۹۶	اکسیژن	۱۰۰	<i>Betaproteobacteria</i>	(۱۷)
هانگزو، چین	PAHs	۱/۳ (PAH)	رامنولیبیدها، توئین ۸۰ و سدیم دودسیل بنزن سولفونات	۹۰	<i>Pseudomonas (Gammaproteobacteria), Bacillus (Firmicutes), Sphingomonas (Alphaproteobacteria)</i>	(۴۷)
گلا، ایتالیا	محصولات مشتق شده از نفت	۱۰,۲۰۰	مخلوط لیگنوسلولزی (کاه گندم و چوب صنوبر)	۶۰	<i>Alphaproteobacteria, Actinobacteria</i>	(۴۰)
ترکیه	نفت خام	نمایش داده نشده	اوره $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ , $(\text{KH}_2\text{PO}_4)$	۴۹	<i>Proteobacteria (Pseudomonas), Firmicutes, Bacteroidetes</i>	(۲۱)
ولسبرگ تایستن، ایتالیا	گازوئیل	۶۲۲۰	کود غیر آلی NPK	۱۰۵	<i>Gammaproteobacteria, Bacteroidia (Bacteroidetes)</i>	(۷)
ساسکاچوان، کانادا	محصولات مشتق شده از نفت	۵۱۹۶	کود NPK و اصلاحات هومیت	۲۶۰	<i>Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria</i>	(۴۸)

مثال، گونه‌های خاصی مانند *Trichoderma asperellum*, *Lasiodiplodia theobromae* و *Aspergillus fumigatus* قادر به تجزیه ترکیبات مشتق شده از PHC هستند (۵۰). ثابت شده است که کاه گندم یکی از مناسب‌ترین مواد برای تحریک قابلیت‌های تجزیه زیستی قارچ‌های خاک در فرآیندهای تحریک زیستی است (۴۶). *Stella* و همکاران (۲۰۱۷) افزایش قابل توجهی را در فراوانی جنس‌های *Pluteus*, *Sphaerobolus*, *Agrocybe* و *Cryptococcus (Basidiomycota)* مشاهده کردند که یک ماده لیگنوسلولزی مشابه در خاک آلوده به PHC اعمال

این امر به خوبی نشان می‌دهد که اثربخشی بتاپروتئوباکتری‌ها به عنوان تجزیه کننده‌های PHC ممکن است با در دسترس بودن کافی مواد مغذی مرتبط باشد (۱۸).

#### جوامع قارچی

کاربرد مواد اصلاح کننده برای ترویج تکثیر گروه‌های قارچی خاص، که ممکن است در تخریب کلی آلاینده‌ها در یک مکان معین آلوده به PHC نقش داشته باشند، پیشنهاد شده است. توانایی ترشح آنزیم‌های کاتابولیک درگیر در تخریب PHC مانند لاکازها و/یا پراکسیدازها در قارچ‌های متعلق به شاخه *Ascomycota* توصیف شده است (۴۹). به عنوان

شده (۵۱). جمعیت قارچ‌های متعلق به شاخه Ascomycota (به عنوان مثال، *Penicillium spp.* و *Stachybotrys spp.*) نیز با استفاده از این ماده به طور قابل توجهی افزایش یافت. جالب توجه است که این یافته همچنین با شواهد قبلی که نشان دهنده توانایی گونه‌های پنی سیلیوم مانند *P. digitatum*, *P. purpurescens*, *P. chrysogenum* و *P. aurantiogriseum* (Ascomycota) برای تجزیه برخی از ترکیبات PHC بود، مطابقت داشت (۵۲، ۵۳). این مطالعه تکثیر جنس‌های *Chaetomium* و *Neurospora* را توصیف می‌کند و توانایی‌های بالقوه این قارچ‌ها را در تخریب سلولز نشان می‌دهد، زیرا آنها دارای فعالیت کارآمد سلوبیوز دهیدروژناز هستند (۵۴). مطالعات دیگر بر روی تجزیه و تحلیل ترکیب قارچی در طول کمپوست ترکیبی مواد در یک مکان آلوده به PHC متمرکز شده است (۴۰)، نشان داده است که Ascomycota فراوان‌ترین شاخه در مرحله اول کمپوست سازی مشترک موادی مانند قارچ تازه است. تجزیه و تحلیل ترکیب قارچی در سطح گونه غالب بودن *Chaetothyriales* و *Helotiales* را نشان می‌دهد که به عنوان مخمرهای سیاه رشته‌ای با توانایی جذب هیدروکربن‌های معطر کوچک توصیف می‌شوند (۵۵، ۵۶). با این حال، کمپوست کردن موادی مانند برش چمن تازه باعث تکثیر قابل توجهی از گونه ساکارومیسیتال در فازهای اول و پایانی می‌شود. در هر صورت، توانایی مخمر برای تولید پراکسیدازهای خارج سلولی که در تجزیه ترکیبات هیدروکربنی مناسب هستند، توصیف شده است (۵۷). از سوی دیگر، موفقیت رویکردهای تحریک زیستی ممکن است توسط برخی از عوامل خاک مانند دما و سایر عوامل محدود شود. در مورد قارچ‌ها، مطالعات تحریک زیستی برای شناسایی تخریب‌کننده‌های PHC قارچی مفید در نظر گرفته شده‌اند.

#### – تلقیح زیستی هیدروکربن‌های نفتی

تلقیح زیستی تکنیکی است که در زیست پالایی به منظور افزایش جمعیت میکروبی با افزودن محیط کشت‌های میکروبی انتخاب شده در یک مکان برای بهبود پاکسازی آلاینده‌ها و افزایش زمان فرایند تخریب مورد نیاز استفاده می‌شود (۵۹). هدف از تلقیح زیستی تکمیل جمعیت میکروبی موجود به منظور بهبود عملکرد آن است (۶۰-۶۲) در برخی موارد، جمعیت‌های میکروبی طبیعی و بومی در خاک قادر به تجزیه طیف وسیعی از هیدروکربن‌های نفتی نیستند (۶۳). بنابراین، تلقیح زیستی برای پالایش موفق مکان آلوده از طریق تسریع فعالیت ارگانیسم‌ها در شرایط محیطی مناسب به کار گرفته می‌شود (۶۴). جزئیات مزایا و محدودیت‌های فرآیند تلقیح زیستی در جدول ۲ نشان داده شده است.

شده (۵۱). جمعیت قارچ‌های متعلق به شاخه Ascomycota (به عنوان مثال، *Penicillium spp.* و *Stachybotrys spp.*) نیز با استفاده از این ماده به طور قابل توجهی افزایش یافت. جالب توجه است که این یافته همچنین با شواهد قبلی که نشان دهنده توانایی گونه‌های پنی سیلیوم مانند *P. digitatum*, *P. purpurescens*, *P. chrysogenum* و *P. aurantiogriseum* (Ascomycota) برای تجزیه برخی از ترکیبات PHC بود، مطابقت داشت (۵۲، ۵۳). این مطالعه تکثیر جنس‌های *Chaetomium* و *Neurospora* را توصیف می‌کند و توانایی‌های بالقوه این قارچ‌ها را در تخریب سلولز نشان می‌دهد، زیرا آنها دارای فعالیت کارآمد سلوبیوز دهیدروژناز هستند (۵۴). مطالعات دیگر بر روی تجزیه و تحلیل ترکیب قارچی در طول کمپوست ترکیبی مواد در یک مکان آلوده به PHC متمرکز شده است (۴۰)، نشان داده است که Ascomycota فراوان‌ترین شاخه در مرحله اول کمپوست سازی مشترک موادی مانند قارچ تازه است. تجزیه و تحلیل ترکیب قارچی در سطح گونه غالب بودن *Chaetothyriales* و *Helotiales* را نشان می‌دهد که به عنوان مخمرهای سیاه رشته‌ای با توانایی جذب هیدروکربن‌های معطر کوچک توصیف می‌شوند (۵۵، ۵۶). با این حال، کمپوست کردن موادی مانند برش چمن تازه باعث تکثیر قابل توجهی از گونه ساکارومیسیتال در فازهای اول و پایانی می‌شود. در هر صورت، توانایی مخمر برای تولید پراکسیدازهای خارج سلولی که در تجزیه ترکیبات هیدروکربنی مناسب هستند، توصیف شده است (۵۷). از سوی دیگر، موفقیت رویکردهای تحریک زیستی ممکن است توسط برخی از عوامل خاک مانند دما و سایر عوامل محدود شود. در مورد قارچ‌ها، مطالعات تحریک زیستی برای شناسایی تخریب‌کننده‌های PHC قارچی مفید در نظر گرفته شده‌اند.

یک مطالعه اخیر مبتنی بر *pyrosequencing* جوامع قارچی در سه نوع خاک آلوده که در معرض افزایش زیستی با استفاده از *Irpex lacteus* و *Pleurotus ostreatus* قرار گرفته‌اند، توانایی دو قارچ انتخاب شده را برای رقابت با میکروارگانیسم‌های

جدول ۲- مزایا و محدودیت‌های مطالعه تلقیح زیستی بر روی هیدروکربن‌های نفت (۶۵، ۶۶)

مزایا	محدودیت‌ها
هزینه ارزان‌تر (نگهداری کم از نظر کار کارگری)	میکروب‌ها برای زنده ماندن در منطقه مورد نظر به شرایط محیطی مطلوب نیاز دارند.
این فرآیند را می‌توان در محل انجام داد.	باکتری‌ها نمی‌توانند هر نوع زباله‌ای را متابولیزه کنند این یک فرآیند طولانی مدت است.
تکنیک سازگار با محیط زیست از میکروب‌های بالقوه تجزیه کننده به جای استفاده از افزودنی‌های شیمیایی برای تصفیه آلاینده استفاده می‌شوند. کمترین تأثیر مضر را بر محیط زیست می‌گذارد.	میکروب‌ها مواد زائد خود را تولید می‌کنند.
فرآیند در محل پتانسیل ایجاد یک آشفستگی بزرگ در طول حمل و نقل را کاهش می‌دهد (غیر تهاجمی).	رقابت بین میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده نفت در خاک و سویه‌های تقویت شده منجر به شکست در افزایش بیولوژیکی می‌شود.
این یک فرآیند طبیعی است که در آن میکروب‌ها به پاکسازی منطقه ادامه می‌دهند.	نظارت روزانه بر عوامل فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی برای دستیابی به حداکثر فرآیند تجزیه زیستی
میکروب‌ها نفت را به ترکیبات کربنی ساده‌ای تجزیه می‌کنند که برای ساخت قندها، چربی‌ها و پروتئین‌های مورد نیاز برای رشد استفاده می‌شود.	

با طول زنجیره  $C_{10}-C_{40}$  را به عنوان منبع انرژی و رشد تجزیه کند (۶۸). Gentry و همکاران (۲۰۰۴) دریافتند که استفاده از سویه‌هایی که بیوسورفکتانت تولید می‌کنند برای تخریب آلاینده‌ها از جمله ترکیبات مختلف PAH امکان پذیرتر هستند (۶۹). بسیاری از مطالعات در مورد تلقیح زیستی نشان داده‌اند که باکتری‌های گرم منفی متعلق به گونه‌های سودوموناس، فلاووباکتریوم، اسفنگوموناس و آکروموباکتر (۶۲) برای تجزیه هیدروکربن‌های نفتی استفاده شده‌اند. در همین حال، سایر گونه‌های باکتری گرم مثبت بالقوه مانند مایکوباکتریوم، باسیلوس، و رودوکوکوس به خوبی از منابع کربن استفاده می‌کنند. لازم به ذکر است که قارچ‌هایی مانند اسپرزیلوس، پنی سیلیوم و ورتیسیلیوم نیز در اهداف تلقیح زیستی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. مطالعات Ying و همکاران

توجه به این نکته حائز اهمیت است که گونه‌های میکروارگانیسم‌های مختلف، قابلیت‌های تجزیه زیستی متفاوتی در تجزیه هیدروکربن‌ها دارند. با توجه به این واقعیت، انتخاب میکروارگانیسم برای مطالعه زیست پالایی برای پالایش موفق بسیار مهم است. مطالعه انجام شده توسط Vecchioli و همکاران (۱۹۹۰) نشان داد که تخریب بیولوژیکی خاک‌های آلوده با هیدروکربن‌های نفتی ممکن است با تلقیح باکتری‌های بومی افزایش یابد (۶۷). انتخاب محیط کشت مناسب با بهترین ویژگی‌ها مانند کشت آسان، رشد سریع و داشتن قابلیت‌های بالا برای مقاومت در برابر سمیت بالای آلاینده‌ها بهترین روش برای زیست پالایی است. محققین نشان دادند که محیط کشت حاوی تنها *Acinetobacter sp.* این پتانسیل را دارد که n-آلکان‌های

گردیده است (۷۰). جدول ۳ میکروارگانیسم‌های منتخب کشف شده را نشان می‌دهد که در تلقیح زیستی هیدروکربن‌های نفتی در محیط آلوده استفاده می‌شوند.

(۲۰۱۰) نشان دادند که تلقیح زیستی خاک آلوده به PAH با *Paracoccus sp.* سویه HPD-2 پس از یک دوره ۲۸ روزه منجر به تخریب ۳۲/۲ درصدی کل ترکیبات PAH در خاک

جدول ۳- میکروارگانیسم انتخابی مورد استفاده در تلقیح زیستی هیدروکربن‌های نفتی در خاک

منابع	ملاحظات	میکروارگانیسم‌ها (جنس یا گونه)
(۷۱)	میکروارگانیسم مورد استفاده در تجزیه نفت خام در مدت ۱۳ ماه	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Pseudomonas alcaligenes</i> <i>Alcaligenes xylosoxidans</i> <i>Burkholderia cepacia</i> <i>Acinetobacter lwoffii</i> <i>Pseudomonas stutzeri</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Pseudomonas vesicularis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
(۶۳)	باکتری‌های اصلی تخریب نفت مورد استفاده در محیط‌های دریایی و خاکی	<i>Achromobacter</i> <i>Arthrobacter</i> <i>Bacillus</i> <i>Flavobacterium</i>
(۷۲)	رایج‌ترین قارچ‌هایی که در تلقیح زیستی نفت استفاده می‌شوند	<i>Amorphoteca</i> <i>Neozartoya</i> <i>Cephalosporium</i> <i>Penicillium</i> <i>Graphium Aspergillus</i>

راکتورها نشان داد (۷۵). مطالعه انجام شده توسط Dams و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که استفاده از *Sphingobium chlorophenolicum* برای بازیابی خاک آلوده به پنتاکلوروفنل (PCP) پس از ۲ هفته انکوباسیون، ۸۰ درصد PCP اضافه شده تجزیه شد، در حالی که در خاک غیر تلقیح شده حدود ۵ درصد تجزیه گردید. این یافته نشان می‌دهد که سویه‌های تقویت‌شده *Sphingobium chlorophenolicum* تجزیه PCP سریع‌تر را در مقایسه با خاک غیر تلقیح شده انجام می‌دهند (۷۶). جدول ۴ میکروارگانیسم‌های منفرد منتخب مورد استفاده در تلقیح زیستی خاک آلوده را نشان می‌دهد.

تلقیح زیستی با تک سویه

استفاده از سویه‌های خاص تجزیه‌کننده ترکیبات نفتی در یک محیط کشت واحد برای اصلاح خاک‌های آلوده به نفت یکی از قوی‌ترین ابزارها جهت زیست‌پالایی است. اساساً تک سویه‌های جدا شده یا کشت‌های غنی شده با غربالگری قبلی تحت تاثیر غلظت‌های مختلف آلاینده‌ها انتخاب می‌شوند (۷۳). مطالعه قبلی گزارش داده‌اند که استفاده از کشت منفرد با پتانسیل‌های بیوشیمیایی سازگار عملکرد مناسبی در تجزیه ترکیبات هیدروکربنی دارند (۷۴). به عنوان مثال، کاربرد کشت خالص سودوموناس پوتیدا ZWL73 در خاک آلوده به ۴-کلرونیتروبنزن (4CNB) بیشترین تخریب 4CNB را در

جدول ۴- میکروارگانیسم‌های منفرد منتخب که معمولاً در تلقیح زیستی خاک آلوده به ترکیبات معطر استفاده می‌شوند.

منابع	آلاینده	میکروارگانیسم‌ها (تک سویه)
(۷۷)	نفت خام، PAHs	<i>Comamonas testosterone</i> BR60
(۷۸)	۴-کلروفنل	<i>Arthrobacter chlorophenolicus</i> A6L
(۷۹)	فلورن	<i>Absidia cylindrospora</i>
(۸۰)	نفت گاز دریایی	<i>Pseudomonas</i> sp. ST41
(۸۱)	گازوئیل	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> WatG
(۷۶)	پنتاکلروفنل	<i>Sphingobium chlorophenolicum</i> ATCC
(۸۲)	فنیتروئین	<i>Burkholderia</i> sp. FDS-1
(۸۳)	فنل	<i>Aspergillus</i> sp. LEBM2
(۸۴)	هیدروکربن آلیفاتیک و آروماتیک	<i>Gordonia</i> sp. BS29
(۷۵)	۴-کلرونیتروبنزن	<i>Pseudomonas putida</i> ZWL73
(۳۱)	HWM-PAHs (۷-۴ حلقه)	<i>Trichocladium</i>
(۸۵)	لجن نفتی	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> BAS-Cr1 <i>Candida tropicalis</i> RETL-Cr1 <i>Chromobacterium violaceum</i> MAB-Cr1 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> RAS-Cr1 <i>Sphingomonas paucimobilis</i> ReTOS-Cr1

لانگ بیج، ظرفیت تخریب ۷۵-۷۳ درصد از بخش‌های سبک ( $C_{12}$ - $C_{23}$ ) و سنگین ( $C_{23}$ - $C_{40}$ ) از کل هیدروکربن‌های نفتی را نشان داد. این در حالیست که حذف ۴۶-۴۹ درصد در نتیجه تجزیه زیستی توسط فرایند تضعیف طبیعی به دست آمد (۸۷). این یافته‌ها نشان داد که افزودن کنسرسیوم باکتری به خاک بالاترین تخریب را ۱/۵ برابر بیشتر از روش تضعیف طبیعی انجام می‌دهد. Jacques و همکاران (۲۰۰۸) ظرفیت کنسرسیوم گونه‌های مختلف *Bacillus cereus*، *Mycobacterium fortuitum*، *Gordonia polyisoprenivorans*، *Microbacterium* sp.، *Fusarium* و *Microbacteriaceae* باکتری *oxysporum* را برای تجزیه و معدنی سازی آنتراسن، فنانترن

تلقیح زیستی با کنسرسیوم‌های میکروبی یکی دیگر از رویکردهای تلقیح زیستی، استفاده از کنسرسیوم‌های میکروبی برای حذف آلاینده‌های هدف است. گزارش شده است که ترکیبی از دو یا چند محیط کشت دارای اثرات هم افزایی بوده و پتانسیل بالایی برای تجزیه کننده خوب بسیاری از ترکیبات هیدروکربنی به ویژه شکستن PAH دارند. مطالعه قبلی نشان داده است که استفاده از کشت‌های مخلوط (کنسرسیوم) قوی‌تر از سویه‌های منفرد است، زیرا واسطه‌های مسیر کاتابولیک یک سویه ممکن است توسط سویه‌های دیگر دارای مسیر کاتابولیک مناسب بیشتر تخریب شوند (۸۶). همانطور که توسط Bento و همکاران (۲۰۰۵) ذکر شده است، افزودن یک کنسرسیوم باکتری جدا شده از خاک

۷۰ روزه تجزیه می‌شود. جدول ۵ میکروارگانیسم‌های کنسرسیوم منتخب را نشان می‌دهد که در تلقیح زیستی خاک آلوده به ترکیبات هیدروکربنی پلی آروماتیک (PAH) استفاده می‌شوند.

و پیرن در خاک گزارش کردند (۸۸). نتایج نشان داد که هر ترکیب PAH از ۹۶ درصد به ۹۹ درصد دوزهای اولیه (۵۰۰، ۲۵۰ و ۱۰۰۰ mg/kg) توسط این کنسرسیوم در یک دوره

**جدول ۵- میکروارگانیسم‌های کنسرسیوم مورد استفاده در تلقیح زیستی خاک آلوده به ترکیبات هیدروکربنی پلی آروماتیک (PAH)**

منابع	آلوده/تصفیه شده	میکروارگانیسم‌ها (تک سویه)
(۷۷)	نفت خام، PAHs	<i>Comamonas testosterone BR60</i>
(۷۸)	۴-کلروفنل	<i>Arthrobacter chlorophenolicus A6L</i>
(۷۹)	فلورن	<i>Absidia cylindrospora</i>
(۸۰)	نفت گاز دریایی	<i>Pseudomonas sp. ST41</i>
(۸۱)	گازوئیل	<i>Pseudomonas aeruginosa WatG</i>
(۷۶)	پتاکلروفنل	<i>Sphingobium chlorophenolicum ATCC</i>
(۸۲)	فنیتروتیون	<i>Burkholderia sp. FDS-1</i>
(۸۳)	فنل	<i>Aspergillus sp. LEBM2</i>
(۸۴)	هیدروکربن آلیفاتیک و آروماتیک	<i>Gordonia sp. BS29</i>
(۷۵)	۴-کلرونیتروبنزن	<i>Pseudomonas putida ZWL73</i>
(۳۱)	HWM-PAHs (۴ تا ۷ حلقه)	<i>Trichocladium</i>
(۸۵)	لجن نفتی	<i>Pseudomonas aeruginosa BAS-Cr1</i> <i>Candida tropicalis RETL-Cr1</i> <i>Chromobacterium violaceum MAB-Cr1</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia RAS-Cr1</i> <i>Sphingomonas paucimobilis ReTOS-Cr1</i>
(۸۹)	هیدروکربن‌های نفتی	<i>Alphaproteobacteria,</i> <i>Gammaproteobacteria and</i> <i>Acidobacteriae</i>
(۹۰)	دیزل	<i>A. sclerotiorum CBMAI 849, C. cladosporioides CBMAI 857, B. subtilis CBMAI 707, and C. laurentii CRM 707</i>
(۹۱)	لجن نفتی	A2 ( <i>Pseudomonas putida</i> ), A4 ( <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> ) and L5 ( <i>Sphingomona sp</i> )
(۹۲)	هیدروکربن‌های نفتی	<i>Arthrobacter citreus (strain E) and Rhodococcus jostii (strain D)</i>

ادامه جدول ۵- میکروارگانیسم‌های کنسرسیون منتخب مورد استفاده در تلقیح زیستی خاک آلوده به ترکیبات هیدروکربنی پلی آروماتیک (PAH)

منابع	آلوده/تصفیه شده	میکروارگانیسم‌ها (تک سویه)
(۹۳)	هیدروکربن‌های نفتی 786338,1	<i>Aspergillus niger</i> MT786339, 1, <i>Aspergillus fumigatus</i> MT786338, 1, <i>Aspergillus terreus</i> MT786341, 1, and <i>Aspergillus flavus</i> MT786340, 1
(۹۴)	هیدروکربن‌های نفتی	<i>Ochrobactrum</i> , <i>Rhodococcus</i>
(۹۵)	هیدروکربن‌های نفتی	<i>Echinochloa polystachya</i> (Kunth) Hitchc.
(۹۶)	لجن نفتی	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
(۹۷)	هیدروکربن‌های نفتی	<i>Azomonas</i> , <i>Luteimonas</i> , <i>Pseudosphingobacterium</i> , and <i>Parapedobacter</i>
(۹۸)	هیدروکربن‌های نفتی	<i>Sphingomonas changbaiensis</i> and <i>Pseudomonas stutzeri</i>
(۹۹)	هیدروکربن‌های نفتی	<i>Pseudomonas</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Bacillus</i> , and <i>Azomonas</i>
(۱۰۰)	هیدروکربن‌های نفتی	<i>Raoultella ornithinolytica</i> strain PS (GenBank accession number KY464986), <i>Serratia marcescens</i> strain PL (GenBank accession number KY652842), <i>Bacillus subtilis</i> strain BJ11 (GenBank accession number MH666097), <i>Acinetobacter pittii</i> strain BJ6 (GenBank accession number MH667652) and <i>Acinetobacter lwoffii</i> strain BJ10 (GenBank accession number MH666098)
(۱۰۰)	هیدروکربن‌های نفتی	<i>Raoultella ornithinolytica</i> strain PS (GenBank accession number KY464986), <i>Serratia marcescens</i> strain PL (GenBank accession number KY652842), <i>Bacillus subtilis</i> strain BJ11 (GenBank accession number MH666097), <i>Acinetobacter pittii</i> strain BJ6 (GenBank accession number MH667652) and

ادامه جدول ۵- میکروارگانیسم های کنسرسیون منتخب مورد استفاده در تلقیح زیستی خاک آلوده به ترکیبات هیدروکربنی پلی آروماتیک (PAH)

منابع	آلوده/تصفیه شده	میکروارگانیسم ها (تک سویه)
(۱۰۱)	هیدروکربن های نفتی	<i>Acinetobacter lwoffii</i> strain BJ10 (GenBank accession number MH666098)
(۱۰۲)	هیدروکربن های نفتی	<i>Pleurotus</i> sp. <i>Aspergillus niger</i> , <i>Penicillium ochrochloron</i> , and <i>Trichodema viride</i>

شده توسط آژانس حفاظت از محیط زیست ایالات متحده از ۱۰:۱ تا ۱۰۰:۱ برای تصفیه زیستی ترکیبات نفتی که از انبارهای زیرزمینی نشت می کنند، متغیر است. این طیف وسیع از مقادیر نشان می دهد که نیاز به نیتروژن به شرایط محیطی و همچنین نوع آلاینده ها و منطقه، میکروارگانیسم های موجود و منبع نیتروژن مورد نیاز بستگی دارد (۱۰۶). مقادیر بهینه نیتروژن برای افزایش رشد سلولی میکروارگانیسم ها، کاهش فاز سازگاری و حفظ سریع فعالیت میکروارگانیسم ها یافت شد (۱۰۶، ۱۰۷). از سوی دیگر، غلظت بیش از حد مواد مغذی نیز می تواند فعالیت تجزیه زیستی میکروارگانیسم ها در خاک را به تاخیر بیندازد (۱۰۸).

محتوای رطوبت خاک

رطوبت خاک را می توان به عنوان مقدار آب موجود در مواد خاک تعریف کرد. از آنجایی که آب جزء اصلی فرآیند بیولوژیکی و اکولوژیکی است، مقدار آب موجود در خاک برای انجام فرایندهای پالایش بسیار مهم است. یک میکروارگانیسم برای رشد و انتشار مواد مغذی خود در طول فرآیند تجزیه زیستی به آب کافی نیاز دارد. به طور کلی، نوع خاک عامل اصلی تأثیرگذار بر میزان آب خاک است. تخریب هوازی بهینه در مقیاس فیلدی (آزمایشی) بیشتر در خاک با رطوبت ۸۰-۵۰ درصد رخ می دهد (۱۰۹). با این حال، زمانی که رطوبت خاک کمتر از ۱۰ درصد باشد، ظرفیت تخریب به دلیل زیست فعالی

عوامل موثر بر تخریب هیدروکربن های نفتی در محیط زیست دما

درجه یا شدت گرما یا سرمای موجود در خاک است. در تجزیه زیستی هیدروکربن ها، دما با تأثیر مستقیم بر شیمی آلاینده ها مانند فیزیولوژی و تنوع فلور میکروبی نقش مهمی ایفا می کند. مطالعه قبلی نشان داده است که دمای بالا منجر به نرخ تخریب بالای فرآیند تخریب بیولوژیکی در خاک می شود (۱۰۳). طبق گفته Gunkel (۱۹۶۷)، دمای پایین منجر به کاهش سرعت فعالیت میکروبی می شود (۱۰۴). بنابراین این امر بر تجزیه هیدروکربن توسط میکروب ها در خاک تأثیر می گذارد. Parr و همکاران (۱۹۹۴) اظهار داشتند که محدوده ۲۰ تا ۳۵ °C بهینه ترین دما برای رشد میکروارگانیسم ها است (۱۰۵). در این محدوده اکثر میکروارگانیسم ها به حداکثر تخریب محصولات هیدروکربنی دست می یابند. این امر توسط Hong و همکاران (۲۰۰۷) ثابت شده است (۸۲).

مواد مغذی

مواد مغذی یکی از عوامل حیاتی مهم برای رشد میکروبی هستند. مطالعات قبلی نشان داده است که عناصر غذایی (نیتروژن و فسفر) از عواملی هستند که بیشتر بر سرعت تجزیه زیستی نفت در خاک تأثیر می گذارند. بسیاری از محققین نشان داده اند که تلقیح زیستی جهت تجزیه زیستی هیدروکربن با حضور عناصر غذایی در خاک موثرتر است. نسبت C/N توصیه

فعالیت میکروبی بهینه را در  $pH = 7/4$  و مهار قابل توجهی در  $pH = 7/4$  مشاهده کردند (۱۱۶). Dibble و همکار (۱۹۷۶) همچنین محدوده  $pH$  بهینه  $7/5 - 8/5$  را برای تجزیه زیستی لجن نفتی گزارش کردند (۱۱۵).

#### اکسیژن

در دسترس بودن اکسیژن یکی از عوامل حیاتی برای تخریب هوازی است (۱۱۷). اولین حمله به هیدروکربن‌ها توسط میکروارگانیسم‌ها همیشه مستلزم عمل یک آنزیم اکسیژناز است که واکنش‌های بیوشیمیایی را در حضور اکسیژن کاتالیز می‌کند (۶۳، ۱۱۸). به همین ترتیب، یک راه بسیار سریع و موثر برای نظارت بر تجزیه زیستی هوازی، تعیین میزان مصرف اکسیژن است. Franzmann و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که غلظت اکسیژن در سطح خاک حدود ۲۰ درصد است اما در عمق  $0/25$  m زیر سطح به ۱۴ درصد و در  $0/75$  متر زیر سطح به  $1/2$  درصد کاهش می‌یابد. به طور مشابه، سطح اکسیژن کاهش یافت و در  $1$  m زیر سطح در ۱ درصد ثابت ماند (۱۱۹). در این مرحله، تجزیه زیستی بنزن کاملاً بی‌هوازی است. غلظت اکسیژن بین ۲ تا ۵ درصد حداقل محدوده برای تجزیه زیستی هوازی است، این در حالیست که Hinchee و همکار (۱۹۹۶) نرخ‌های کمتری از تجزیه زیستی، به ویژه زمانی که سطح اکسیژن زیر ۱۰ درصد بود، یافتند (۱۱۲). به منظور حفظ فعالیت‌های تجزیه زیستی هوازی، راه‌های مختلفی برای تامین اکسیژن اضافی به محل آلوده وجود دارد. چندین تکنیک استفاده شده عبارتند از تزریق یا استخراج هوا در حین تهویه زیستی، افزودن اکسیژن خالص، شخم زدن خاک (Soil Tilling)، و چرخش مکانیکی (۱۱۲).

استفاده از پراکسید هیدروژن و پراکسید کلسیم که مواد شیمیایی توصیه شده هستند، یک روش جایگزین برای افزودن اکسیژن است (۱۲۰، ۱۲۱). با این حال، فعالیت میکروبی زمانی که در معرض جریان هوای بیش از حد در خاک قرار می‌گیرد، شرایط غیر فعال خواهد بود. این امر به دلیل جریان هوای بیش از حد است که باعث رطوبت کم در

کم میکروارگانیسم‌ها در خاک کاهش می‌یابد (۱۱۰). مطالعه در مورد بقای *Achromobacter piechaudii* TBPZ و تخریب تریبروموفنل (TBP) در خاک با محتوای ۲۵ و ۵۰ درصد آب مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان داد که هنگامی که آلاینده در معرض ۱۰ درصد رطوبت قرار گیرد، تخریب کمتر از شرایط بهینه است (۱۱۱). محققین همچنین یادآور شدند که فرآیند تخریب کم به دلیل محدودیت عرضه سوبسترا و اثرات نامطلوب فیزیولوژیکی مرتبط با کم آبی سلولی در خاک است. از طرف دیگر، رطوبت اضافی به طور قابل توجهی نفوذپذیری گاز خاک را کاهش می‌دهد و در نتیجه تخریب زیستی را محدود می‌کند (۱۱۲).

#### pH

میکروارگانیسم‌ها برای زنده ماندن و تکثیر به محدوده خاصی از  $pH$  خاک نیاز دارند. مطالعات قبلی گزارش کرده‌اند که برخی از میکروارگانیسم‌ها می‌توانند در محدوده وسیعی از  $pH$  زنده بمانند، اما برخی دیگر به تغییرات کوچک حساس هستند. محدوده موثر  $pH$  خاک توصیه شده توسط Dupon و همکاران (۱۹۹۱)  $8/5 - 5/5$  گزارش شده است (۱۱۳)، و USEPA (۱۹۹۵) پیشنهاد می‌کند که محدوده بهینه  $pH$  برای زیست پالایی موفقیت آمیز ۶ تا ۸ است. با این حال، تنفس میکروبی براساس استفاده از اکسیژن در خاک‌هایی مشاهده شده است که  $pH$  کمی کمتر از ۵ یا بالاتر از ۹ بوده است (۱۱۲). سطوح مناسب  $pH$  نیز به نوع آلاینده‌ها بستگی دارد. به همین ترتیب، Hambrick III و همکاران (۱۹۸۰) گزارش کردند که هنگامی که  $pH$  از  $6/7$  به ۸ افزایش یابد، نرخ معدنی سازی اکتادکان افزایش می‌یابد. با این حال، نرخ معدنی سازی نفتالین بدون تغییر در این محدوده باقیمانده است (۱۱۴).  $pH$  بهینه خاک برای تجزیه زیستی هیدروکربنی نیز به نوع گونه‌های میکروبی موجود بستگی دارد. با این وجود، اکثر باکتری‌ها در  $pH$  خنثی به خوبی رشد می‌کنند (۶۳، ۱۱۵). Verstraete و همکاران (۱۹۷۵) تجزیه زیستی خاک آلوده به بنزین را در محدوده  $pH = 4/5 - 8/5$  مطالعه کردند و

خاک و در نتیجه خشک شدن خاک برای فعالیت میکروبی می‌شود (۱۲۲). جدول ۶ خلاصه‌ای از پارامترهای مختلف که بر میزان تخریب زیستی در خاک تأثیر می‌گذارد را نشان می‌دهد.

جدول ۶- خلاصه‌ای از عوامل فیزیکی مختلف که بر میزان زیست پالایی تأثیر می‌گذارند

منابع	شرایط	پارامتر
(۱۲۳)	حملات هیدروکربنی توسط میکروب‌ها به ترتیب نزولی از ترکیبات زیر n-آلکان < آلکان شاخه‌ای < آروماتیک با وزن مولکولی کم < آلکان‌های حلقوی است.	ساختار و ترکیب هیدروکربن
(۱۲۴)	با افزایش دما، سرعت تجزیه زیستی نیز به دلیل کاهش فعالیت آنزیمی کاهش می‌یابد بیشترین میزان تخریب در محدوده $30-40^{\circ}\text{C}$ (خاک)، $20-30^{\circ}\text{C}$ (آب شیرین)، $15-20^{\circ}\text{C}$ (دریایی) رخ می‌دهد.	دما
(۱۲۵)	دسترسی به اکسیژن در خاک به میزان مصرف $\text{O}_2$ توسط میکروب‌ها و نوع خاک با بسترهای قابل استفاده بستگی دارد که منجر به کاهش اکسیژن می‌شود.	اکسیژن
(۱۰۸، ۷۲)	مواد مغذی برای رشد میکروبی و فعالیت آنزیم در خاک مهم است.	مواد مغذی
(۱۲۴، ۱۱۵)	pH خنثی مورد علاقه اکثر باکتری‌ها و قارچ‌های هتروتروف است.	اسیدیته و قلیابیت
(۱۱۵)	نرخ بهینه زیست پالایی لجن نفتی در خاک در اشباع آب ۳۰ تا ۹۰ درصد	رطوبت خاک

فرایند تخریب میکروبی  
۱- باکتری  
باکتری‌ها یکی از بازیگران کلیدی در زیست پالایی هستند.  
مطالعات قبلی نشان داده‌اند (جدول ۷) که بسیاری از باکتری‌ها توانایی تبدیل و تخریب بسیاری از انواع آلودگی‌ها را در ماتریکس‌های آلاینده‌های مختلف دارند (۱۲۶). چندین باکتری به دلیل قابلیت متابولیکی خود در استفاده از منابع

خود می‌توانند در زیستگاه آلوده زنده بمانند و می‌توانند جایگاه مناسبی را اشغال کنند. علاوه بر این، برخی از آلاینده‌ها مانند هیدروکربن‌ها اغلب منابع بالقوه انرژی برای رشد آنها هستند. این امر توسط Yakimov و همکاران (۲۰۰۷) ثابت شده است (۱۲۷). آنها گزارش دادند که چندین باکتری منحصرأ از هیدروکربن‌ها به عنوان تنها منبع کربن خود تغذیه می‌کنند. طبق نظر Scragg (۲۰۰۵)، خاک طبیعی معمولاً حاوی میکروارگانیسم‌هایی در محدوده  $10^4$ - $10^7$  CF/g خاک است. با این حال، برای اهداف زیست پالایی، تعداد میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده نباید کمتر از  $10^3$  در هر گرم خاک باشد (۱۲۸). مقدار CFU/g خاک کمتر از  $10^3$  نشان دهنده وجود غلظت سمی آلاینده‌های آلی یا معدنی است. همانطور که توسط Margesin و همکاران (۲۰۰۳) ذکر شده است (۸)، بهترین میکروارگانیسم انتخاب شده برای زیست پالایی باید دارای ویژگی‌های توسعه فعالیت کاتابولیک، القای آنزیم‌های خاص، توسعه قابلیت‌های متابولیک جدید از طریق تغییرات ژنتیکی، و انتخاب غنی سازی ارگانیسم‌هایی باشد که قادر به تبدیل آلاینده هدف به ترکیبات ساده هستند.

۲- قارچ‌ها

قارچ‌ها یکی از تجزیه کننده‌های اصلی هیدروکربن‌ها هستند. آنها از مکانیسم دیگری غیر از مکانیسم تجزیه توسط باکتری‌ها برای تخریب استفاده می‌کنند. در برخی موارد، قارچ‌ها ممکن است بتوانند ترکیب هیدروکربنی را سریع‌تر از باکتری‌های تجزیه کننده تجزیه کنند. قارچ‌ها معمولاً برای تجزیه PAH‌های پنج حلقه‌ای که توسط باکتری‌ها کمتر تجزیه می‌شوند، مورد استفاده قرار می‌گیرد. به گفته Field و همکاران (۱۹۹۲)، قارچ‌ها آنزیم‌های اکسیدکننده خارج سلولی را برای تخریب لیگنین ترشح می‌کنند (۱۲۹). قارچ‌های پوسیدگی سفید یکی از گونه‌هایی هستند که قادر به تجزیه لیگنین هستند. لیگنین یک مولکول تصادفی پیچیده است که حاوی تعداد زیادی گروه معطر است. به همین دلیل آنها را کاندیدای احتمالی تخریب PAH می‌دانند، آنزیم‌های تجزیه کننده لیگنین پراکسیداز و

منگنز پراکسیداز نشان داده‌اند که می‌توانند برخی از ترکیبات مشابه به لیگنین را تجزیه کنند. مطالعات McFarland و همکاران (۱۹۹۲) گزارش داد که پراکسیدها در تجزیه PAH به کینون‌ها نقش دارند (۱۳۰). با این حال، قارچ‌ها مانند باکتری‌ها هیدروکربن‌ها را به طور کامل به  $CO_2$  تجزیه نمی‌کنند. به گفته Field و همکاران (۱۹۹۲)، بیشترین تبدیل هیدروکربن‌ها توسط قارچ‌ها به تنهایی ۱۹ درصد است (۱۲۹).

### ۳- جلبک‌ها

جلبک‌ها همچنین امکان تجزیه هیدروکربن‌ها به ویژه PAH‌ها را دارند. آنها از مکانیسم یوکاریوتی مشابه قارچ‌ها استفاده می‌کنند. این مکانیسم‌ها از یک آنزیم دی اکسیژناز استفاده می‌کنند که منجر به تشکیل گروه‌های هیدروکسیل سیس ترانس می‌شود. جلبک‌ها به نور وابسته هستند تا بتوانند PAH‌ها را تجزیه کنند. متابولیت‌های انجام شده توسط جلبک‌ها بستگی به نوع تابش نوری دارند که جلبک‌ها دریافت می‌کنند. تولید کینین‌ها با شدت نور مرتبط است و بنابراین سمیت PAH‌ها برای جلبک‌ها نیز با شدت نور مرتبط است (۱۳۱). برخی از جلبک‌های سبز بسیار موثر هستند. آنها تمام PAH‌ها را در ۵ روز از ۶ روز برای غلظت‌های کم تجزیه می‌کنند، اما سایر جلبک‌های سبز، زرد و سبز آبی موثرتر هستند (۱۳۱). نشان داده شده است که تفاوت در میزان تخریب برای جلبک‌های مختلف بسیار زیاد است، اما باید در نظر گرفت که سرنوشت PAHs متفاوت است. PAH‌ها می‌توانند توسط جلبک‌ها تجزیه شوند یا در جلبک‌ها به عنوان زیست توده انباشته شوند. برخی از جلبک‌ها فقط تجمع می‌کنند، در حالی که برخی دیگر تقریباً تمام PAH‌ها را تخریب می‌کنند. این در آزمایشی که بر روی تجزیه بنزوپیرن توسط Muñoz و همکاران (۲۰۰۳) نشان داده شده است (۱۳۲). نتایج این مطالعه نشان داد که بیش از ۹۰ درصد از بنزوپیرن در زیست توده جلبک قهوه‌ای یافت می‌شود.

جدول ۷- تلقیح زیستی ویژه مطالعات موردی هیدروکربن نفتی

منابع	ملاحظات	کاهش TPH	TPH اولیه	میکروارگانسیم‌های مورد استفاده	مدت زمان تحقیق	نوع آلاینده	مقیاس تصفیه
(۱۳۳)	آنها یک سویه جدید با نرخ قابل توجهی از قابلیت تخریب گازوئیل را یافتند که ۶۶ درصد تخریب را در ۳۰ روز دوره انکوباسیون نشان می‌دهد.	۶۶٪	-	<i>Single culture P. aeruginosa</i>	۳۰ روز	گازوئیل	مقیاس آزمایشگاهی (بیوراکتور)
(۱۳۴)	افزودن میکروارگانسیم‌های خارجی می‌تواند فرآیند تجزیه زیستی را در مقایسه با بدون میکروارگانسیم‌های خارجی بهبود بخشد.	۵۲٪/۷۵	۱۲۹۶۰۰ mg/kg	<i>Single culture (Rhedor)</i>	۱۶۰ روز	لجن نفتی	بستر آماده (مقیاس فیلدی)
(۱۳۵)	افزودن <i>P. aeruginosa</i> سرعت تجزیه زیستی را در مقایسه با شاهد کاهش داد	۵۱٪-n آلکان و ۴۴٪- هیدروکربن آلیفاتیک	-	<i>Single culture P. aeruginosa</i>	۱۹۰ روز	خاک آلوده از سایت پالایشگاه نفت یونان	مقیاس آزمایشگاهی
(۱۳۶)	تخریب -n آلکان‌ها و ترکیبات آروماتیک در طول زمان تجزیه زیستی رخ می‌دهد	۹۶٪	-	کنسرسیوم باکتری	۱۰ ماه	پالایشگاه نفت	مقیاس فیلدی
(۱۳۷)	تلقیح بیولوژیکی <i>A. baumannii</i> T30C در خاک در کاهش TPH معنی دار نیست زیرا نتایج بسیار بالاتر از شاهد نیست.	۴۳٪	۴۲۰۰ mg/kg	<i>Acinetobacter baumannii</i> T30C	۳۵ روز	نفت خام	مقیاس آزمایشگاهی
(۸۵)	نتیجه ثابت کرد که افزودن کنسرسیوم میکروبی از پیش انتخاب شده در تخریب لجن نفتی در مدت ۳ ماه بهترین عملکرد را داشت.	۷۹٪	۱۰۰ mg/kg	کنسرسیوم باکتری	۲ ماه	لجن نفتی	مقیاس آزمایشگاهی

ادامه جدول ۷- تلقیح زیستی ویژه مطالعات موردی هیدروکربن نفتی

منابع	ملاحظات	کاهش TPH	TPH اولیه	میکروارگانیسم‌های مورد استفاده	مدت زمان تحقیق	نوع آلاینده	مقیاس تصفیه
(۱۱)	تخریب TPH با تلقیح زیستی سویه اسیتوباکتر SZ-1 KF453955 پس از ۶ هفته دوره تصفیه افزایش یافت.	۳۴٪	۶۶۰۰ mg/kg	<i>Acinetobacter</i> strain SZ-1 KF453955	۱۰ هفته	خاک آلوده به نفت در شهرستان زیچانگ در چین	مقیاس آزمایشگاهی
(۱۳۸)	افزودن سویه‌های میکروبی آگروژن به طور قابل توجهی سرعت تجزیه زیستی را در مقایسه با خاک با مواد مغذی به تنهایی افزایش داد.	۶۹٪	-	کنسرسیوم باکتری از ۹۲۷ سویه مختلف	۱۹۵ روز	خاک آلوده به PAH و TPH	مقیاس آزمایشگاهی
(۱۳۹)	افزایش تخریب نفت پس از افزودن کنسرسیوم باکتریایی منتخب در خاک آلوده به لجن نفتی رخ می‌دهد.	۷۶٪	-	کنسرسیوم باکتری	۹۰ روز	لجن نفتی	مقیاس آزمایشگاهی

رویشی، تقریباً ۸۳ درصد نمونه‌ها حاوی کمتر از ۱۰ ppm TPH بودند. در میان گیاهان مورد استفاده برای تخریب نفت، *Thespesia populnea*، *Cordia subcordata*، و *Scaevola sericea* دارای پتانسیل در تحمل شرایط فیلدی و تسهیل پاکسازی خاک‌های آلوده به سوخت دیزل هستند (۱۴۰). محققین همچنین گزارش دادند که مقدار زیادی از آلاینده‌های آبگریز مانند TPH، BTEX و PAHs در ریشه‌های ریز خاک سطحی پیوند و تبدیل می‌شوند. Miya و همکار (۲۰۰۱) همچنین گزارش دادند که مهمترین مکانیسم حذف آلی گستره دیزل در خاک آلوده با پوشش گیاهی در قسمت ریزوسفر گیاهان رخ می‌دهد (۱۴۰). این امر به دلیل این واقعیت است که ترکیبات PAH بسیار آبگریز هستند و

تخریب در سطح گیاهان فناوری‌های مبتنی بر گیاه شامل استفاده از گیاهان برای حذف، انتقال، تثبیت و از بین بردن آلودگی‌های آلی یا معدنی در آب‌های زیرزمینی، آب‌های سطحی و خاک است. این فناوری‌ها به دلیل مزیت‌هایشان، یعنی روش‌های سازگار با محیط زیست، مقرون به صرفه، صرفه‌جویی در مصرف انرژی، و از نظر زیبایی‌شناختی برای اصلاح مکان‌هایی با سطوح آلودگی کم تا متوسط، به‌طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته‌اند. مطالعه انجام شده توسط دپارتمان مدیریت زیست محیطی آلاباما بر روی حدود ۱۵۰۰ یارد مکعب خاک بود که ۷۰ درصد از نمونه‌های پایه حاوی بیش از ۱۰۰ ppm هیدروکربن کل نفت (TPH) بود. نتایج نشان داد که پس از ۱ سال پوشش

بیوسورفکتانت‌ها به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است.

#### تخریب بی‌هوازی

هضم بی‌هوازی، تجزیه میکروبی مواد آلی در غیاب اکسیژن است که در طی آن سوبسترا مراحل هیدرولیز و اسیدسازی به ترکیبات ساده و در نهایت گاز متان تبدیل می‌شوند. مسیرهای متابولیک تجزیه زیستی آلکان در شرایط بی‌هوازی به خوبی شناخته نشده است. بیشتر گزارش‌های مربوط به معدنی سازی بی‌هوازی هیدروکربن‌های آلیفاتیک نشان داده است که چندین آلکیل بنزن، آلکان یا آلکن به صورت بی‌هوازی به عنوان سوبسترا توسط چندین گونه از باکتری‌های نیتراژزدایی، احیاکننده آهن و کاهنده سولفات استفاده می‌شوند. گروه دیگری از باکتری‌های بی‌هوازی تجزیه کننده هیدروکربن «احیا کننده پروتون» هستند که به ارتباط سنتروفی با متانوژن‌ها بستگی دارند. برای دو آلکیل بنزن، تولوئن و اتیل بنزن، جزئیات مسیرهای بیوشیمیایی درگیر در معدنی سازی بی‌هوازی شناخته شده است. این هیدروکربن‌ها در ابتدا توسط واکنش‌های جدید مورد حمله قرار می‌گیرند و سپس به بنزوئیل-کوآ اکسید که یک واسطه رایج در کاتابولیسم بی‌هوازی بسیاری از ترکیبات آروماتیک است تبدیل می‌شوند.

#### نتیجه‌گیری

ثابت شده است که تحریک زیستی یک روش کارآمد برای پالایش خاک‌های آلوده به PHC است. اکثر روش‌های تحریک زیستی نرخ نهایی حذف PHC را از ۷۰ تا ۹۰ درصد ارائه می‌دهند.  $30 \pm 10$  درصد باقیمانده از هیدروکربن‌هایی تشکیل شده است که از نظر ساختاری به دلیل فراهمی زیستی بسیار محدودشان، کمتر برای تجزیه زیستی در دسترس هستند. نرخ‌های تخریب آلودگی موفقیت‌آمیز به دست آمده از طریق روش‌های تحریک زیستی با تغییرات عمیق در جوامع باکتریایی، آرکی باکترها و قارچی خاک از نظر فعالیت، فراوانی و ترکیب همراه است. به طور کلی، مواد مغذی و گیرنده‌های الکترون اضافه شده با تحریک زیستی، فعالیت میکروبی خاک

جذب آنها می‌تواند فراهمی زیستی جذب گیاه و تبدیل گیاهی در خاک را کاهش دهد.

– مکانیسم‌های تجزیه بیولوژیکی هیدروکربن و محصولات واسطه حاصل از تجزیه آنها

تجزیه زیستی فرآیندی است که در آن میکروارگانیسم‌ها آلاینده‌های آلی را به ترکیبات سمی کمتر تبدیل یا معدنی می‌کنند. ماده شیمیایی آلی را می‌توان با دو مکانیسم تجزیه زیستی که هوازی (با اکسیژن) یا بی‌هوازی (بدون اکسیژن) است، تجزیه کرد.

#### تخریب هوازی

تخریب هوازی با دخالت اکسیژن و فرایند اکسیداسیون شناخته می‌شود. به طور کلی، این فرآیند شامل تجزیه آلاینده‌های آلی توسط میکروارگانیسم‌ها در صورت وجود اکسیژن است. آلاینده‌های آلی در شرایط هوازی به سرعت توسط باکتری‌های هوازی تجزیه می‌شوند. تخریب با حمله سلولی به آلاینده‌های آلی به نام فرآیند اکسیداتیو شروع می‌شود. بعداً فعالسازی همراه با ادغام اکسیژن به نام یک واکنش کلیدی آنزیمی که توسط اکسیژنازاها و پراکسیدازها کاتالیز می‌شود ادامه می‌یابد. این فرآیند آلاینده‌های آلی را به متابولیت‌های واسطه‌ای مانند واسطه‌های چرخه اسید تری کربوکسیلیک تبدیل می‌کند. پس از آن زیست توده سلولی از متابولیت‌های پیش ساز مرکزی، به عنوان مثال، استیل-CoA، سوکسینات و پیرووات ایجاد می‌شود. در فرایند تجزیه هیدروکربن‌های آروماتیک، زیست توده منجر به تبدیل هیدروکربن‌های آروماتیک به واسطه‌های طبیعی مانند کاتکول و پروتوکاتچوات می‌شود. برخی از باکتری‌های گرم منفی دارای پلاسمیدها (پلاسمیدهای TOL) هستند که آنزیم‌هایی را برای تجزیه هیدروکربن‌های معطر کد می‌کنند. این فرآیند عمدتاً شامل هیدروکسیلاسیون است که توسط دی اکسیژناز کاتالیز می‌شود. مکانیسم‌های دیگر شامل اتصال سلول‌های میکروبی به بسترها برای تولید بیوسورفکتانت‌ها هستند (۱۴۱). مکانیسم جذب مرتبط با اتصال سلول‌ها به قطرات روغن هنوز ناشناخته است، اما تولید

جدای از آن، عوامل فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی محیط نیز نقش مهمی در اهداف زیست پالایی دارد. بنابراین با توجه به واقعیت فوق، مطالعه حاضر که به تمامی جوانب زیست پالایی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی پرداخته است می‌تواند به انتخاب بهترین تکنولوژی پالایش خاک در نظر گرفتن شرایط محلی کمک کننده باشد.

### ملاحظات اخلاقی

نویسندگان کلیه نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

### تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت‌های مالی و معنوی دانشگاه علوم پزشکی ایران برای انجام طرح تحقیقاتی با کد ۱۸۵۲۰-۶۱-۹۹-۱ تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

را بهبود می‌بخشد، فراوانی کلی باکتری‌ها و قارچ‌ها را افزایش می‌دهد و تکثیر انتخابی تخریب کننده‌های PHC باکتریایی، آرکی باکترها و قارچی را ترویج می‌کند. در آینده، مطالعات عملکردی بیشتری (مبتنی بر متانژنومیک یا متاترانسکریپتومی) در طی روش‌های زیست پالایی برای رمزگشایی ویژگی‌های جوامع میکروبی مسئول تخریب PHC از نظر فعالیت مورد نیاز است. استفاده از فناوری تلقیح زیستی در محیطی آلوده به هیدروکربن‌های نفتی تأثیر مثبتی بر خاک اصلاح شده نشان داده است. با این حال، انتخاب سویه‌های میکروبی مناسب برای دستیابی به هدف باید بسیار دقیق انجام شود. موثرترین روش حذف هیدروکربن در محیط براساس انتخاب میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده نفت است که بتواند در غلظت بالایی از آلاینده‌ها زنده بماند. در واقع، توانایی تلقیح گونه‌های زیستی مقاوم و سازگار برای زنده ماندن در شرایط پرتنش، پتانسیل زیادی برای اصلاح خاک‌های آلوده ایجاد می‌کند.

## References

1. Chen M, Xu P, Zeng G, Yang C, Huang D, Zhang J. Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: Applications, microbes and future research needs. *Biotechnology Advances*. 2015;33(6, Part 1):745-55.
2. Momeni, M. and Farzadkia, M. and Esrafil, A. and Kermani, M. Bioremediation of soils contaminated with diesel using biostimulation method in the bioreactors of vermicompost and activated sludge. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, 2018 ; 27 (158). 179-192. (in Persian)
3. Namkoong W, Hwang E-Y, Park J-S, Choi J-Y. Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environmental Pollution*. 2002;119(1):23-31.
4. Saichek RE, Reddy KR. Electrokinetically enhanced remediation of hydrophobic organic compounds in soils: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2005;35(2):115-92.
5. Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic Reviews*. 2015;4(1):1-9.
6. Gkorezis P, Daghio M, Franzetti A, Van Hamme JD, Sillen W, Vangronsveld J. The interaction between plants and bacteria in the remediation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Frontiers*

- in Microbiology. 2016;7:1836.
7. Siles JA, Margesin R. Insights into microbial communities mediating the bioremediation of hydrocarbon-contaminated soil from an Alpine former military site. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2018;102(10):4409-21.
  8. Margesin R. Bioremediation and biodegradation of hydrocarbons by cold-adapted yeasts. In: Buzzini, P., Margesin, R., editors. *Cold-adapted Yeasts*. Springer, Berlin, Heidelberg.; 2014. p. 465-80.
  9. Azubuike CC, Chikere CB, Okpokwasili GC. Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2016;32(11):1-18.
  10. Adams GO, Fufeyin PT, Okoro SE, Ehinomen I. Bioremediation, biostimulation and bioaugmentation: a review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*. 2015;3(1)-28-39.
  11. Wu M, Dick WA, Li W, Wang X, Yang Q, Wang T, et al. Bioaugmentation and biostimulation of hydrocarbon degradation and the microbial community in a petroleum-contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2016;107:158-64.
  12. Kuppusamy S, Thavamani P, Venkateswarlu K, Lee YB, Naidu R, Megharaj M. Remediation approaches for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contaminated soils: Technological constraints, emerging trends and future directions. *Chemosphere*. 2017;168:944-68.
  13. Varjani SJ. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Bioresource Technology*. 2017;223:277-86.
  14. Suja F, Rahim F, Taha MR, Hambali N, Razali MR, Khalid A, et al. Effects of local microbial bioaugmentation and biostimulation on the bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in crude oil contaminated soil based on laboratory and field observations. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2014;90:115-22.
  15. Qiao J, Zhang C, Luo S, Chen W. Bioremediation of highly contaminated oilfield soil: Bioaugmentation for enhancing aromatic compounds removal. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*. 2014;8(2):293-304.
  16. Polyak YM, Bakina LG, Chugunova MV, Mayachkina NV, Gerasimov AO, Bure VM. Effect of remediation strategies on biological activity of oil-contaminated soil-A field study. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2018;126:57-68.
  17. Masy T, Demanèche S, Tromme O, Thonart P, Jacques P, Hiligsmann S, et al. Hydrocarbon biostimulation and bioaugmentation in organic carbon and clay-rich soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 2016;99:66-74.
  18. Vandera E, Koukkou AI. Bacterial community response to hydrocarbon contamination in soils and marine sediments: a critical review of case studies. *Microbial Ecotoxicology*. 2017:185-226.
  19. Safdari M-S, Kariminia H-R, Rahmati M, Fazlollahi F, Polasko A, Mahendra S, et al. Development of bioreactors for comparative study of natural attenuation, biostimulation, and bioaugmentation of petroleum-hydrocarbon contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*. 2018;342:270-8.
  20. Kästner M, Miltner A. Application of compost for effective bioremediation of organic contaminants and pollutants in soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2016;100(8):3433-49.
  21. Shahi A, Aydin S, Ince B, Ince O. Evaluation of microbial population and functional genes during the bioremediation of petroleum-contaminated soil as an effective monitoring approach. *Ecotoxicology and*

- Environmental Safety. 2016;125:153-60.
22. Turgay OC, Erdogan EE, Karaca A. Effect of humic deposit (leonardite) on degradation of semi-volatile and heavy hydrocarbons and soil quality in crude-oil-contaminated soil. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2010;170(1):45-58.
  23. Qin G, Gong D, Fan M-Y. Bioremediation of petroleum-contaminated soil by biostimulation amended with biochar. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2013;85:150-5.
  24. Thavasi R, Jayalakshmi S, Banat IM. Application of biosurfactant produced from peanut oil cake by *Lactobacillus delbrueckii* in biodegradation of crude oil. *Bioresource Technology*. 2011;102(3):3366-72.
  25. Zhao Z, Selvam A, Wong JW-C. Effects of rhamnolipids on cell surface hydrophobicity of PAH degrading bacteria and the biodegradation of phenanthrene. *Bioresource Technology*. 2011;102(5):3999-4007.
  26. Mohanty S, Mukherji S. Surfactant aided biodegradation of NAPLs by *Burkholderia multivorans*: comparison between Triton X-100 and rhamnolipid JBR-515. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2013;102:644-52.
  27. Stenuit B, Eysers L, Schuler L, Agathos SN, George I. Emerging high-throughput approaches to analyze bioremediation of sites contaminated with hazardous and/or recalcitrant wastes. *Biotechnology Advances*. 2008;26(6):561-75.
  28. Militon C, Boucher D, Vachelard C, Perchet G, Barra V, Troquet J, et al. Bacterial community changes during bioremediation of aliphatic hydrocarbon-contaminated soil. *FEMS Microbiology Ecology*. 2010;74(3):669-81.
  29. Liu Q, Li Q, Wang N, Liu D, Zan L, Chang L, et al. Bioremediation of petroleum-contaminated soil using aged refuse from landfills. *Waste Management*. 2018;77:576-85.
  30. Fan M-Y, Xie R-J, Qin G. Bioremediation of petroleum-contaminated soil by a combined system of biostimulation–bioaugmentation with yeast. *Environmental Technology*. 2014;35(4):391-9.
  31. Silva-Castro GA, Rodelas B, Perucha C, Laguna J, González-López J, Calvo C. Bioremediation of diesel-polluted soil using biostimulation as post-treatment after oxidation with Fenton-like reagents: assays in a pilot plant. *Science of The Total Environment*. 2013;445:347-55.
  32. Xu Y, Lu M. Bioremediation of crude oil-contaminated soil: comparison of different biostimulation and bioaugmentation treatments. *Journal of Hazardous Materials*. 2010;183(1-3):395-401.
  33. Maila MP, Cloete TE. The use of biological activities to monitor the removal of fuel contaminants—perspective for monitoring hydrocarbon contamination: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2005;55(1):1-8.
  34. Bastida F, Jehmlich N, Lima K, Morris B, Richnow H, Hernández T, et al. The ecological and physiological responses of the microbial community from a semiarid soil to hydrocarbon contamination and its bioremediation using compost amendment. *Journal of Proteomics*. 2016;135:162-9.
  35. Mair J, Schinner F, Margesin R. A feasibility study on the bioremediation of hydrocarbon-contaminated soil from an Alpine former military site: effects of temperature and biostimulation. *Cold Regions Science and Technology*. 2013;96:122-8.
  36. Han X, Hu H, Shi X, Zhang L, He J. Effects of different agricultural wastes on the dissipation of PAHs and the PAH-degrading genes in a PAH-contaminated soil. *Chemosphere*. 2017;172:286-93.

37. Ka J, Yu Z, Mohn W. Monitoring the size and metabolic activity of the bacterial community during biostimulation of fuel-contaminated soil using competitive PCR and RT-PCR. *Microbial Ecology*. 2001;42(3):267-73.
38. Röling WF, Couto de Brito IR, Swannell RP, Head IM. Response of archaeal communities in beach sediments to spilled oil and bioremediation. *Applied and Environmental Microbiology*. 2004;70(5):2614-20.
39. de Jesus HE, Peixoto RS, Cury JC, van Elsas JD, Rosado AS. Evaluation of soil bioremediation techniques in an aged diesel spill at the Antarctic Peninsula. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2015;99(24):10815-27.
40. Covino S, Stella T, D'Annibale A, Lladó S, Baldrian P, Čvančarová M, et al. Comparative assessment of fungal augmentation treatments of a fine-textured and historically oil-contaminated soil. *Science of The Total Environment*. 2016;566:250-9.
41. Dong Y, Lang Z, Kong X, Lu D, Liu Z. Kinetic and multidimensional profiling of accelerated degradation of oil sludge by biostimulation. *Environmental Science: Processes & Impacts*. 2015;17(4):763-74.
42. Kulkarni S, Palande A, Deshpande M. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in soils. In: Satyanarayana, T., Johri, B. editors. *Microorganisms in Environmental Management*. Springer, Dordrecht.; 2012. p. 589-606.
43. Vasudevan N, Bharathi S, Arulazhagan P. Role of plasmid in the degradation of petroleum hydrocarbon by *Pseudomonas fluorescens* NS1. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 2007;42(8):1141-6.
44. Lim MW, Von Lau E, Poh PE. A comprehensive guide of remediation technologies for oil contaminated soil—Present works and future directions. *Marine Pollution Bulletin*. 2016;109(1):14-45.
45. Singleton DR, Jones MD, Richardson SD, Aitken MD. Pyrosequence analyses of bacterial communities during simulated in situ bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2013;97(18):8381-91.
46. Lladó S, Gràcia E, Solanas A, Viñas M. Fungal and bacterial microbial community assessment during bioremediation assays in an aged creosote-polluted soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 2013;67:114-23.
47. Wang L, Li F, Zhan Y, Zhu L. Shifts in microbial community structure during in situ surfactant-enhanced bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*. 2016;23(14):14451-61.
48. Kim J, Lee AH, Chang W. Enhanced bioremediation of nutrient-amended, petroleum hydrocarbon-contaminated soils over a cold-climate winter: The rate and extent of hydrocarbon biodegradation and microbial response in a pilot-scale biopile subjected to natural seasonal freeze-thaw temperatures. *Science of The Total Environment*. 2018;612:903-13.
49. Prasad R, Nayak SC, Kharwar RN, Dubey NK. Role of Fungi in Bioremediation and Environmental Sustainability. In: Prasad, R., Nayak, S.C., Kharwar, R.N., Dubey, N.K., editors. *Mycoremediation and Environmental Sustainability. Fungal Biology*. Springer;2021 p. 187-200.
50. Zafra G, Absalón ÁE, Cuevas M, Carmen D, Cortés-Espinosa DV. Isolation and selection of a highly tolerant microbial consortium with potential for PAH biodegradation from heavy crude oil-contaminated soils. *Water, Air, & Soil Pollution*. 2014;225(2):1-18.
51. Stella T, Covino S, Čvančarová M, Filipová A, Petruccioli M, D'Annibale A, et al. Bioremediation of long-term PCB-contaminated soil by white-rot fungi. *Journal of Hazardous Materials*. 2017;324:701-10.

52. Mouhamadou B, Faure M, Sage L, Marçais J, Souard F, Geremia RA. Potential of autochthonous fungal strains isolated from contaminated soils for degradation of polychlorinated biphenyls. *Fungal Biology*. 2013;117(4):268-74.
53. Tigini V, Prigione V, Di Toro S, Fava F, Varese GC. Isolation and characterisation of polychlorinated biphenyl (PCB) degrading fungi from a historically contaminated soil. *Microbial Cell Factories*. 2009;8(1):1-14.
54. Harreither W, Sygmund C, Augustin M, Narciso M, Rabinovich ML, Gorton L, et al. Catalytic properties and classification of cellobiose dehydrogenases from ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*. 2011;77(5):1804-15.
55. Thion C, Cébron A, Beguiristain T, Leyval C. Long-term in situ dynamics of the fungal communities in a multi-contaminated soil are mainly driven by plants. *FEMS Microbiology Ecology*. 2012;82(1):169-81.
56. Prenafeta-Boldu FX, Summerbell R, Sybren de Hoog G. Fungi growing on aromatic hydrocarbons: biotechnology's unexpected encounter with biohazard? *FEMS Microbiology Reviews*. 2006;30(1):109-30.
57. Yang Q, Zhang H, Li X, Wang Z, Xu Y, Ren S, et al. Extracellular enzyme production and phylogenetic distribution of yeasts in wastewater treatment systems. *Bioresource Technology*. 2013;129:264-73.
58. Zafra G, Taylor TD, Absalón AE, Cortés-Espinosa DV. Comparative metagenomic analysis of PAH degradation in soil by a mixed microbial consortium. *Journal of Hazardous Materials*. 2016;318:702-10.
59. Alvarez PJ, Illman W. Fate and transport equations and analytical models for natural attenuation. *Bioremediation and Natural Attenuation: Process Fundamentals and Mathematical Models*: Wiley Online Library; 2006. p. 169-99.
60. Iwamoto T, Nasu M. Current bioremediation practice and perspective. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2001;92(1):1-8.
61. Vogel TM. Bioaugmentation as a soil bioremediation approach. *Current Opinion in Biotechnology*. 1996;7(3):311-6.
62. El Fantroussi S, Agathos SN. Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation? *Current Opinion in Microbiology*. 2005;8(3):268-75.
63. Leahy JG, Somerville CC, Cunningham KA, Adamantiades GA, Byrd JJ, Colwell RR. Hydrocarbon mineralization in sediments and plasmid incidence in sediment bacteria from the Campeche Bank. *Applied and Environmental Microbiology*. 1990;56(6):1565-70.
64. Boopathy R. Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresource Technology*. 2000;74(1):63-7.
65. Edwards E, Cox E. Field and laboratory studies of sequential anaerobic-aerobic chlorinated solvent biodegradation. In *Situ and on-Site Bioremediation*. 1997;3:261-5.
66. Carter SR, Jewell WJ. Biotransformation of tetrachloroethylene by anaerobic attached-films at low temperatures. *Water Research*. 1993;27(4):607-15.
67. Vecchioli G, Del Panno M, Pinceira M. Use of selected autochthonous soil bacteria to enhanced degradation of hydrocarbons in soil. *Environmental Pollution*. 1990;67(3):249-58.
68. Throne-Holst M, Wentzel A, Ellingsen TE, Kotlar H-K, Zotchev SB. Identification of novel genes involved in long-chain n-alkane degradation by *Acinetobacter* sp. strain DSM 17874. *Applied and Environmental Microbiology*. 32-3327:(10);2007.
69. Gentry T, Rensing C, Pepper I. New approaches for bioaugmentation as a remediation technology. *Critical*

- Reviews in Environmental Science and Technology. 2004;34(5):447-94.
70. Teng Y, Luo Y, Sun M, Liu Z, Li Z, Christie P. Effect of bioaugmentation by *Paracoccus* sp. strain HPD-2 on the soil microbial community and removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from an aged contaminated soil. *Bioresource Technology*. 2010;101(10):3437-43.
71. Peressutti SR, Alvarez HM, Pucci OH. Dynamics of hydrocarbon-degrading bacteriocenosis of an experimental oil pollution in Patagonian soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2003;52(1):21-30.
72. Chaillan F, Chaineau C, Point V, Saliot A, Oudot J. Factors inhibiting bioremediation of soil contaminated with weathered oils and drill cuttings. *Environmental Pollution*. 2006;144(1):255-65.
73. Hosokawa R, Nagai M, Morikawa M, Okuyama H. Autochthonous bioaugmentation and its possible application to oil spills. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2009;25(9):1519-28.
74. Deviny JS, Chang S-H. Bioaugmentation for soil bioremediation. *Environmental Science and Pollution Control Series*. 2000:465-88.
75. Niu X, Tang W, Huang W, Ren G, Wang Q, Luo D, et al. RNAi-directed downregulation of OsBADH2 results in aroma (2-acetyl-1-pyrroline) production in rice (*Oryza sativa* L.). *BMC Plant Biology*. 2008;8(1):1-10.
76. Dams R, Paton G, Killham K. Bioaugmentation of pentachlorophenol in soil and hydroponic systems. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2007;60(3):171-7.
77. Gentry TJ, Newby DT, Josephson KL, Pepper IL. Soil microbial population dynamics following bioaugmentation with a 3-chlorobenzoate-degrading bacterial culture. *Biodegradation*. 2001;12(5):349-57.
78. Jernberg C, Jansson JK. Impact of 4-chlorophenol contamination and/or inoculation with the 4-chlorophenol-degrading strain, *Arthrobacter chlorophenolicus* A6L, on soil bacterial community structure. *FEMS Microbiology Ecology*. 2002;42(3):387-97.
79. Garon D, Sage L, Wouessidjewe D, Seigle-Murandi F. Enhanced degradation of fluorene in soil slurry by *Absidia cylindrospora* and maltosyl-cyclodextrin. *Chemosphere*. 2004;56(2):159-66.
80. Stallwood B, Shears J, Williams P, Hughes K. Low temperature bioremediation of oil-contaminated soil using biostimulation and bioaugmentation with a *Pseudomonas* sp. from maritime Antarctica. *Journal of Applied Microbiology*. 2005;99(4):794-802.
81. Ueno A, Hasanuzzaman M, Yumoto I, Okuyama H. Verification of degradation of n-alkanes in diesel oil by *Pseudomonas aeruginosa* strain WatG in soil microcosms. *Current Microbiology*. 2006;52(3):182-5.
82. Hong Q, Zhang Z, Hong Y, Li S. A microcosm study on bioremediation of fenitrothion-contaminated soil using *Burkholderia* sp. FDS-1. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2007;59(1):55-61.
83. Dos Santos VL, de Souza Monteiro A, Braga DT, Santoro MM. Phenol degradation by *Aureobasidium pullulans* FE13 isolated from industrial effluents. *Journal of Hazardous Materials*. 2009;161(2-3):1413-20.
84. Franzetti A, Caredda P, Ruggeri C, La Colla P, Tamburini E, Papacchini M, et al. Potential applications of surface active compounds by *Gordonia* sp. strain BS29 in soil remediation technologies. *Chemosphere*. 2009;75(6):801-7.
85. Zaida N, Piakong M, editors. Effectiveness of single and microbial consortium in bioaugmentation of oil sludge contaminated soil at different concentration levels: a laboratory scale. *Proceeding of ICOFA; International Conference of Future Asian*; 2017.

86. Heinaru E, Merimaa M, Viggor S, Lehiste M, Leito I, Truu J, et al. Biodegradation efficiency of functionally important populations selected for bioaugmentation in phenol-and oil-polluted area. *FEMS Microbiology Ecology*. 2005;51(3):363-73.
87. Bento FM, Camargo FA, Okeke BC, Frankenberger WT. Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresource Technology*. 2005;96(9):1049-55.
88. Jacques RJ, Okeke BC, Bento FM, Teixeira AS, Peralba MC, Camargo FA. Microbial consortium bioaugmentation of a polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil. *Bioresource Technology*. 2008;99(7):2637-43.
89. Eze MO, Thiel V, Hose GC, George SC, Daniel R. Enhancing rhizoremediation of petroleum hydrocarbons through bioaugmentation with a plant growth-promoting bacterial consortium. *Chemosphere*. 2022;289:133143.
90. Giovanella P, de Azevedo Duarte L, Kita DM, de Oliveira VM, Sette LD. Effect of biostimulation and bioaugmentation on hydrocarbon degradation and detoxification of diesel-contaminated soil: a microcosm study. *Journal of Microbiology*. 2021;59(7):634-43.
91. Wei X, Peng P, Meng Y, Li T, Fan Z, Wang Q, et al., editors. *Degradation Performance of Petroleum-Hydrocarbon-Degrading Bacteria and its Application in Remediation of Oil Contaminated Soil*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science; 2021: IOP Publishing.
92. Hamidi Y, Ataei SA, Sarrafi A. Biodegradation of total petroleum hydrocarbons in oily sludge: a comparative study of biostimulation, bioaugmentation, and combination of methods. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 2021;96(5):1302-7.
93. Hernández-Adame N, López-Miranda J, Martínez-Prado M, Cisneros-De La Cueva S, Rojas-Contreras J, Medrano-Roldán H. Increase in total petroleum hydrocarbons removal rate in contaminated mining soil through bioaugmentation with autochthonous fungi during the slow bioremediation stage. *Water, Air, & Soil Pollution*. 2021;232(3):1-15.
94. Liang J, Gao S, Wu Z, Rijnaarts HH, Grotenhuis T. DNA-SIP identification of phenanthrene-degrading bacteria undergoing bioaugmentation and natural attenuation in petroleum-contaminated soil. *Chemosphere*. 2021;266:128984.
95. da Silva Correa H, Maranhão LT. The potential association of *Echinochloa polystachya* (Kunth) Hitchc. with bacterial consortium for petroleum degradation in contaminated soil. *SN Applied Sciences*. 2021;3(1):1-12.
96. Varjani S, Upasani VN. Soil microcosm study for bioremediation by a crude oil degrading *Pseudomonas aeruginosa* NCIM 5514. *Journal of Environmental Engineering*. 2020;146(5):04020027.
97. Wu M, Guo X, Wu J, Chen K. Effect of compost amendment and bioaugmentation on PAH degradation and microbial community shifting in petroleum-contaminated soil. *Chemosphere*. 2020;256:126998.
98. Li Q, Huang Y, Wen D, Fu R, Feng L. Application of alkyl polyglycosides for enhanced bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil using *Sphingomonas changbaiensis* and *Pseudomonas stutzeri*. *Science of The Total Environment*. 2020;719:137456.
99. Wu M, Wu J, Zhang X, Ye X. Effect of bioaugmentation and biostimulation on hydrocarbon degradation and microbial community composition in petroleum-contaminated loessal soil. *Chemosphere*. 2019;237:124456.
100. Abena MTB, Li T, Shah MN, Zhong W.

- Biodegradation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in highly contaminated soils by natural attenuation and bioaugmentation. *Chemosphere*. 2019;234:864-74.
101. Romero-Silva R, Sánchez-Reyes A, Díaz-Rodríguez Y, Batista-García RA, Hernández-Hernández D, Tabullo de Robles J. Bioremediation of soils contaminated with petroleum solid wastes and drill cuttings by *Pleurotus* sp. under different treatment scales. *SN Applied Sciences*. 2019;1(10):1-9.
102. Essabri A, Aydinlik NP, Williams NE. Bioaugmentation and biostimulation of total petroleum hydrocarbon degradation in a petroleum-contaminated soil with fungi isolated from olive oil effluent. *Water, Air, & Soil Pollution*. 2019;230(3):1-16.
103. Nur Zaida Z, Piakong M. Bioaugmentation of petroleum hydrocarbon in contaminated soil: a review. *Microbial Action on Hydrocarbons*. 2018:415-39.
104. Gunkel W. Experimentell-ökologische Untersuchungen über die limitierenden Faktoren des mikrobiellen Ölabbaues im marinen Milieu. *Helgolaender Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen*. -25-210:(1)15;1967.
105. Parr JL, Claff RE, Kocurek DS, Lowry JC. INTERLABORATORY STUDY OF ANALYTICAL METHODS FOR PETROLEUM HYDROCARBONS. *Analysis of Soils Contaminated with Petroleum Constituents*. 1994;1221:53.
106. Leys NM, Bastiaens L, Verstraete W, Springael D. Influence of the carbon/nitrogen/phosphorus ratio on polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by *Mycobacterium* and *Sphingomonas* in soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2005;66(6):726-36.
107. Ferguson SH, Franzmann PD, Revill AT, Snape I, Rayner JL. The effects of nitrogen and water on mineralisation of hydrocarbons in diesel-contaminated terrestrial Antarctic soils. *Cold Regions Science and Technology*. 2003;37(2):197-212.
108. CHOI S-C, KAE KK, JAE HS, SANG-JIN K. Evaluation of fertilizer additions to stimulate oil biodegradation in sand seashore mesocosms. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2002;12(3):431-6.
109. Pramer D, Bartha R. Preparation and processing of soil samples for biodegradation studies. *Environmental Letters*. 24-217:(4)2;1972
110. TESTA S, Winegardner D. Restoration of petroleum contaminated aquifers. 2nd edition Lewis Pub. Inc, Boca Raton. 1991.
111. Ronen Z, Vasiluk L, Abeliovich A, Nejidat A. Activity and survival of tribromophenol-degrading bacteria in a contaminated desert soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 2000;32(11-12):1643-50.
112. Hinchee RE, Leeson A. Soil bioventing: Principles and practice: 1st edition. CRC Press; 1996.
113. Dupont RR, Doucette WJ. Potential and the Application of Bioventing at a Fuel-Contaminated Site. *In Situ Bioreclamation: Applications and Investigations for Hydrocarbon and Contaminated Site Remediation*. 1991;1:262.
114. Hambrick III GA, DeLaune RD, Patrick Jr W. Effect of estuarine sediment pH and oxidation-reduction potential on microbial hydrocarbon degradation. *Applied and Environmental Microbiology*. 1980;40(2):365-9.
115. Dibble J, Bartha R. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Applied and Environmental Microbiology*. 1979;37(4):729-39.
116. Verstraete W, Vanlooche R, DeBorger R, Verlinde A, editors. Modelling of the breakdown and the mobilization of hydrocarbons in unsaturated soil layers. *Proceedings of the 3rd International Biodegradation Symposium*, Applied Science Publishers Ltd, London; 1976.

117. Floodgate G. The fate of petroleum in marine ecosystem. *Petroleum Microbiology*. 1984;355-98.
118. Okoh AI. Biodegradation alternative in the cleanup of petroleum hydrocarbon pollutants. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*. 2006;1(2):38-50.
119. Franzmann PD, Zappia LR, Power TR, Davis GB, Patterson BM. Microbial mineralisation of benzene and characterisation of microbial biomass in soil above hydrocarbon-contaminated groundwater. *FEMS Microbiology Ecology*. 1999;30(1):67-76.
120. Fiorenza S, Duston K, Ward C. Decision making—is bioremediation a viable option? *Journal of Hazardous materials*. 1991;28(1-2):171-83.
121. Fagan M. Peroxygens enhance biological treatment. *Environmental Protection*. 1994;5(9).
122. Pedersen T, Curtis J. Soil vapor-extraction technology: Reference handbook. Final report, Jun 89-Mar 90. Camp Dresser and McKee, Inc., Cambridge, MA (USA); 1991.
123. Fusey P, Oudot J. Relative influence of physical removal and biodegradation in the depuration of petroleum-contaminated seashore sediments. *Marine Pollution Bulletin*. 1984;15(4):136-41.
124. Atlas RM, Bartha R. Stimulated biodegradation of oil slicks using oleophilic fertilizers. *Environmental Science & Technology*. 1973;7(6):538-41.
125. Delille D, Coulon F, Pelletier E. Effects of temperature warming during a bioremediation study of natural and nutrient-amended hydrocarbon-contaminated sub-Antarctic soils. *Cold Regions Science and Technology*. 2004;40(1-2):61-70.
126. Saval S. Situación actual y perspectivas de la biorremediación de suelos y acuíferos en México. *Biocología*. 1998;3:71-6.
127. Yakimov MM, Timmis KN, Golyshin PN. Obligate oil-degrading marine bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*. 2007;18(3):257-66.
128. Scragg AH. *Environmental biotechnology: 2nd edition*. OXFORD university press New York; 2005
129. Field J, De Jong E, Feijoo Costa G, De Bont J. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by new isolates of white rot fungi. *Applied and Environmental Microbiology*. 1992;58(7):2219-26.
130. McFarland M, Qiu X, Sims J, Randolph M, Sims RC. Remediation of petroleum impacted soils in fungal compost bioreactors. *Water Science and Technology*. 1992;25(3):197-206.
131. Warshawsky D, Cody T, Radike M, Reilman R, Schumann B, LaDow K, et al. Biotransformation of benzo [a] pyrene and other polycyclic aromatic hydrocarbons and heterocyclic analogs by several green algae and other algal species under gold and white light. *Chemico-Biological Interactions*. 1995;97(2):131-48.
132. Munoz R, Guieysse B, Mattiasson B. Phenanthrene biodegradation by an algal-bacterial consortium in two-phase partitioning bioreactors. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2003;61(3):261-7.
133. Sharma A, Kumar P, Rehman MB. Biodegradation of diesel hydrocarbon in soil by bioaugmentation of *Pseudomonas aeruginosa*: a laboratory scale study. *International Journal of Environmental Bioremediation and Biodegradation*. 2014;2(4):202-12.
134. De-qing S, Jian Z, Zhao-long G, Jian D, Tian-li W, Murygina V, et al. Bioremediation of oil sludge in Shengli oilfield. *Water, Air, and Soil Pollution*. 2007;185(1):177-84.
135. Karamalidis A, Evangelou A, Karabika E, Koukkou A, Drainas C, Voudrias E. Laboratory scale bioremediation of petroleum-contaminated soil by indigenous microorganisms and added *Pseudomonas aeruginosa* strain Spet. *Bioresource Technology*.

- 2010;101(16):6545-52.
136. Mandal AK, Sarma PM, Jeyaseelan CP, Channashettar VA, Singh B, Lal B, et al. Large scale bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated waste at Indian oil refineries: case studies. *International Journal of Life science and Pharma Research*. 2012;2(4):L114-L28.
137. Chang LK, Ibrahim D, Omar IC. A laboratory scale bioremediation of Tapis crude oil contaminated soil by bioaugmentation of *Acinetobacter baumannii* T30C. *African Journal of Microbiology Research*. 2011;5(18):2609-15.
138. Asquith EA, Geary PM, Nolan AL, Evans CA. Comparative bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by biostimulation, bioaugmentation and surfactant addition. *Journal of Environmental Science and Engineering A*. 2012;1(5):637-50.
139. Vasudevan N, Rajaram P. Bioremediation of oil sludge-contaminated soil. *Environment International*. 2001;26(5-6):409-11.
140. Miya RK, Firestone MK. Enhanced phenanthrene biodegradation in soil by slender oat root exudates and root debris. *Journal of Environmental Quality*. 2001;30(6):1911-8.
141. Hommel R. Formation and phylogenetic role of biosurfactants. *Journal of Applied Microbiology*. 1990;89(1):158-19.



Available online: <https://ijhe.tums.ac.ir>

Systematic Review Article



## Bioaugmentation and biostimulation methods for the decontamination of soils contaminated with petroleum compounds: a systematic review

Behnaz Abdollahinejad<sup>1</sup>, Hasan Pasalari<sup>1,2</sup>, Mahdi Farzadkia<sup>1,2,\*</sup>

1- Research Center for Environmental Health Technology (RCEHT), Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

### ARTICLE INFORMATION:

**Received:** 25 February 2023

**Revised:** 17 May 2023

**Accepted:** 22 May 2023

**Published:** 19 June 2023

**Keywords:** Bioaugmentation, Biostimulation, Soil pollution, Petroleum hydrocarbons

**\*Corresponding Author:**

farzadkia.m@iums.ac.ir

### ABSTRACT

**Background and Objective:** The purpose of this study is to identify and comprehensively evaluate international studies related to bioaugmentation and biostimulation methods for the remediation of soils contaminated with petroleum compounds.

**Materials and Methods:** This systematic review study was conducted in April 2022. The present systematic review study was conducted to address two main questions: 1) Is biostimulation an effective process in the bioremediation of soils contaminated with petroleum hydrocarbons; and 2) Is bioaugmentation an effective process for bioremediation of soils contaminated with petroleum hydrocarbons? Global electronic databases (PubMed, Web of Science, and Scopus) were used to identify relevant studies. After a comprehensive review of studies, 123 studies consistent with the purpose were selected.

**Results:** The results showed that biostimulation methods can have profound changes in bacterial, Archaeobacteria, and soil fungal communities in terms of activity, frequency, and composition. In general, the nutrients and electron receptors added in the biostimulation process improve soil microbial activity, increasing the overall abundance of bacteria, and fungi and promoting selective replication of bacterial, archival, and fungal polyaromatic hydrocarbons (PHC) destroyers. The use of bioaugmentation technology in an environment contaminated with petroleum hydrocarbons has a positive effect on the refining process. However, it is necessary to precisely select the appropriate microbial strains. The most important factor in the removal of hydrocarbons in the soil is the selection of oil-decomposing microorganisms that can survive in high concentrations of pollutants.

**Conclusion:** Therefore, the result indicated that biostimulation and bioaugmentation can efficiently improve the THP removal efficiency in contaminated soil by considering the environmental conditions.

Please cite this article as: Abdollahinejad B, Pasalari H, Farzadkia M. Bioaugmentation and biostimulation methods for the decontamination of soils contaminated with petroleum compounds: a systematic review. *Iranian Journal of Health and Environment*. 2023;16(1):195-228.

