

## پاک‌سازی بیولوژیکی خاک‌های آلوده به اتیل بنزن، تولوئن و نفتالین

دکتر محمد رضا مهراسبی\*، دکتر محمود شریعت\*\*، دکتر بهزاد حقیقی\*\*\*، مهندس داریوش رنجبر\*\*\*\*

نویسنده‌ی مسئول: زنجان، دانشگاه علوم پزشکی، گروه بهداشت محیط mehrasbi@yahoo.com

دریافت: ۸۴/۴/۱۲ پذیرش: ۸۴/۱۲/۹

### چکیده

**زمینه و هدف:** هیدروکربن‌های آروماتیکی در اثر احتراق ناقص سوخت‌های فسیلی تولید می‌شوند و پس از انتشار در اتمسفر توسط نزولات جوی خاک را آلوده می‌کنند. مطالعات بسیاری عمل بذرافشانی میکروبی را در تجزیه‌ی هیدروکربن‌های آروماتیکی مؤثر دانسته و برخی مطالعات این عمل را در افزایش راندمان تجزیه‌ی بیولوژیکی مؤثر ندانسته‌اند. با توجه به یافته‌های متناقض، این مطالعه با هدف تعیین توانایی میکروارگانیسم‌های جداسازی شده از خاک‌های آلوده به نفت در تجزیه‌ی هیدروکربن‌های آروماتیکی به صورت جداگانه و مخلوط در سال ۱۳۸۳ در زنجان انجام گرفت.

**روش بررسی:** در این تحقیق تجزیه‌ی از نفتالین، تولوئن و اتیل بنزن به عنوان ترکیبات هیدروکربن آروماتیک شاخص استفاده شد. این مواد به عنوان تنها منبع کربن به خاک‌هایی که با جمعیت میکروبی جداسازی شده از مناطق آلوده تلقیح شده بودند، اضافه و پس از چهار ماه، آزمون شمارش میکروبی به عنوان شاخص فعالیت‌های میکروبی انجام شد. میزان حذف بیولوژیکی و غیر بیولوژیکی ترکیبات به روش گاز کروماتوگرافی تعیین و نتایج با استفاده از آزمون من ویتنی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

**یافته‌ها:** میانگین تعداد کلنی‌های تشکیل شده در هر گرم خاک در کشت‌هایی که از تولوئن، اتیل بنزن و نفتالین به عنوان منبع کربن در آن‌ها استفاده شده بود به ترتیب  $1.9 \times 10^6$ ،  $6.9 \times 10^5$ ،  $4.1 \times 10^6$  کلنی در هر گرم خاک بود. در کشت حاوی مخلوط این سه هیدروکربن میانگین تعداد کلنی‌ها در هر گرم خاک  $3.4 \times 10^6$  بود. درصد حذف بیولوژیکی سه هیدروکربن آروماتیک مورد مطالعه، وقتی به طور جداگانه در معرض میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده‌ی هیدروکربن قرار گرفتند، به ترتیب ۵۱، ۴۵ و ۶۹ درصد برای تولوئن، اتیل بنزن و نفتالین بود و وقتی این ترکیبات به صورت مخلوط به محیط کشت اضافه شدند، بیشترین درصد حذف به ترتیب مربوط به نفتالین (۸۰/۱ درصد)، اتیل بنزن (۶۵/۷ درصد) و تولوئن (۶۳/۶ درصد) بود.

**نتیجه‌گیری:** با جداسازی جمعیت میکروبی از خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی و تهیه‌ی یک مایع تلقیح می‌توان هیدروکربن‌های آروماتیک را به روش بیولوژیکی حذف نمود. از آنجا که تبخیر، یک روش مناسب در حذف هیدروکربن‌ها است، اصلاح خاک‌ها به روش هوا دهی توأم با روش تلقیح میکروبی روش‌های مناسبی جهت حذف هیدروکربن‌های آروماتیک از محیط خاک می‌باشند.

**واژگان کلیدی:** هیدروکربن‌های حلقوی، خاک، پاک‌سازی بیولوژیکی

\*دکترای تخصصی بهداشت محیط، استادیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان

\*دکترای تخصصی بهداشت محیط، استاد دانشگاه علوم پزشکی تهران

\*\*\*دکترای تخصصی شیمی، استادیار مرکز تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان

\*\*\*\*فوق لیسانس بهداشت محیط، مربی دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

## مقدمه

آلودگی منابع زیست محیطی توسط هیدروکربن‌های آروماتیکی یک حلقه‌ای و چند حلقه‌ای در دهه‌های اخیر توسط محققین مورد توجه بسیار قرار گرفته است، هم‌چنین خاصیت سرطان‌زایی بعضی از ترکیبات تولید شده در انسان و میکروارگانیسم‌ها، طی فرآیند بیوترانسفورماسیون به اثبات رسیده است (۱). مشخصه‌ی بارز این ترکیبات داشتن حلقه‌ی بنزنی است. این دسته از هیدروکربن‌ها پس از نفوذ در زمین، وارد آب‌های زیر زمینی شده و از طریق آب آشامیدنی به بدن وارد می‌شوند. برخی از این مواد در طبقه‌بندی مواد سرطان‌زا، در دسته‌ی یک و برخی در گروه ۲ قرار می‌گیرند. با توجه به گسترش بیماری‌های سرطانی یکی از مهم‌ترین اقدامات مؤثر، پیشگیری از آلودگی آب، خاک و هوا توسط این ترکیبات سرطان‌زا است (۱). این ترکیبات در اثر احتراق ناقص سوخت‌های فسیلی تولید می‌شوند و پس از انتشار در اتمسفر توسط نزولات جوی خاک را آلوده می‌کنند. از سوی دیگر آلودگی‌های محیطی در اثر فعالیت‌های صنعتی نظیر فعالیت صنایع پتروشیمی، نفت و صنایع مشابه در خاک به وجود می‌آیند (۲،۳). اگر چه تجزیه‌ی بیولوژیکی یک هیدروکربن آروماتیکی به تنهایی در کشت‌های خالص باکتریایی توسط یک گونه‌ی خاص باکتری‌ها به تأیید رسیده است ولی در محیط زیست با مخلوطی از هیدروکربن‌ها مواجه هستیم که می‌بایست توسط یک جمعیت مخلوط باکتریایی مورد تجزیه قرار گیرند (۴). سرعت تجزیه‌ی بیولوژیکی بنزن و تولوئن وقتی به تنهایی مورد تجزیه‌ی بیولوژیکی قرار می‌گیرند تا دو برابر آهسته‌تر از زمانی است که این ترکیبات در مخلوط با بنزن مورد تجزیه‌ی بیولوژیکی قرار می‌گیرند (۵). بر اساس گزارش محققان سرعت تجزیه‌ی بیولوژیکی بنزن، تولوئن، اتیل بنزن، گزینلن وقتی به طور جداگانه در معرض باکتری‌های تجزیه‌کننده‌ی هیدروکربن قرار می‌گیرند، نسبت به زمانی که مخلوط آن‌ها در محیط کشت قرار می‌گیرد،

یکسان نیست (۶). از سوی دیگر برای اصلاح بیولوژیکی محیط‌های آلوده، عمل بذردهی میکروبی توسط وارد کردن میکروارگانیسم‌های از قبل خودآده شده به منظور اصلاح بیولوژیکی محیط‌های آلوده و خالص و افزایش سرعت بیولوژیکی این ترکیبات موجود در خاک مورد تأکید خاص قرار گرفته است (۷). مطالعات بسیاری عمل تلقیح و یا بذر افشانی میکروبی را در تجزیه مؤثر دانسته‌اند، اما مطالعات دیگری نیز این عمل را در افزایش راندمان تجزیه‌ی بیولوژیکی مؤثر ندانسته‌اند (۸-۱۰). با توجه به یافته‌های متناقض در این خصوص، تحقیق حاضر با هدف تعیین توانایی میکروارگانیسم‌های جدا شده از خاک‌های آلوده به نفت بر تجزیه‌ی هیدروکربن‌های آروماتیک (نفتالین، تولوئن و اتیل بنزن) به صورت جداگانه و مخلوط در سال ۱۳۸۳ در زنجان انجام گرفت که به این منظور سه هیدروکربن آروماتیک به طور جداگانه و نیز به صورت مخلوط توسط جمعیت باکتری جداسازی شده از خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی، مورد تجزیه‌ی بیولوژیکی قرار گرفته و درصد حذف بیولوژیکی آنان سنجیده شد.

## روش بررسی

در این تحقیق تجربی به منظور جدا سازی میکروارگانیسم‌های خوگرفته با ترکیبات نفتی، از اطراف پمپ بنزین‌های موجود در زنجان و هم‌چنین از اطراف مخازن مرکز تهیه و توزیع فرآورده‌های نفتی استان زنجان، مقادیری خاک برداشت شد. خاک‌ها از فواصل ۵، ۱۰ و ۲۰ متری اطراف مخازن (در هر فاصله ۳ نمونه به صورت شعاعی) برداشت شدند. عمق برداشت خاک‌ها از سطح زمین ۰/۵ و یک متر بود و از هر نقطه ۵۰۰ گرم خاک برداشت شد. خاک‌ها در ظروف استریل به آزمایشگاه حمل و پس از مخلوط شدن کامل، باقی‌مانده‌های گیاهی و آشغال‌های آن جداسازی و سپس با الک ۲ میلی‌متری سرنده شدند. برای جداسازی

باکتری‌های خاک، ۹۵ میلی لیتر آب مقطر و ۲ قطره محلول توئین ۸۰، به ۱۰ گرم خاک افزوده شد. سپس این محلول به مدت ۲۵ دقیقه در یک تکان دهنده با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه در حرارت آزمایشگاه قرار گرفت ( $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد) (۱۱). ۹۵ میلی‌لیتر از محیط کشت نمک معدنی در یک ارلن مایر ۲۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و سپس ۲/۵ میلی لیتر از محلول هیدروکربن‌های نفتی شامل اتیل بنزن، تولوئن و نفتالین به نسبت‌های ۱:۱:۱ به عنوان منبع کربن به محیط کشت اضافه شد. این ارلن به مدت ۱۵ روز در دمای آزمایشگاه ( $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد) نگهداری و پس از گذشت ۱۵ روز ۲/۵ میلی لیتر از محلول موجود در این ارلن به ارلن دیگری با همان شرایط قبلی منتقل شد. این عمل در چهار دوره ۱۵ روزه تکرار و در پایان دوره چهارم تعداد کلنی‌ها در هر گرم بر روی محیط تریپوز سوی آگار شمارش شد که برابر با  $2 \times 10^7$  در هر میلی لیتر بود. از این مایع به عنوان مایع تلقیح جهت کشت میکروارگانیزمی در محیط خاک برای تجزیه هیدروکربن‌های آروماتیک استفاده شد (۱۲).

جهت کشت میکروارگانیزم‌های تجزیه کننده هیدروکربن خاک، از یک منطقه بیابانی که به دور از هر گونه فعالیت انسانی و جاده‌های بین شهری بود، مقداری خاک از عمق ۱۲ متری برداشته و پس از حمل به آزمایشگاه با سرند ۲ میلی متری سرند شدند. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و سپس در انکوباتور با ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. این عمل سه بار تکرار شد. سپس ۸ ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری انتخاب و استریل شدند و به هر ارلن ۲۰۰ گرم خاک آماده شده اضافه شد. جهت تأمین رطوبت توسط آب مقطر استریل میزان ظرفیت نگه‌داری آب برای تمامی نمونه‌ها ۴۵ درصد تنظیم شد. به دو ارلن تولوئن (به عنوان منبع کربن) به دو ارلن اتیل بنزن، به دو ارلن نفتالین و به دو ارلن مخلوطی از این سه هیدروکربن به نسبت ۱:۱:۱

اضافه شد. در هر مورد یکی از ارلن‌ها به عنوان شاهد بدون تلقیح میکروبی جهت تعیین روش‌های غیر بیولوژیکی در حذف هیدروکربن‌ها و به یک ارلن دیگر مایع تلقیح میکروبی اضافه شد. جهت جلوگیری از رشد میکروبی به ارلن‌های شاهد آزید سدیم ۳ درصد اضافه شد. ارلن‌ها در دمای آزمایشگاه ( $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد) به مدت ۵ ماه قرار گرفتند. جهت تأمین مواد مغذی از کودهای کشاورزی (کود اوره، سوپر فسفات و سولفات پتاسیم) استفاده شد به گونه‌ای که نسبت‌های کربن به نیتروژن، نیتروژن به فسفر، فسفر به پتاسیم به ترتیب ۱:۱۰، ۱:۵، ۱:۰/۵ تنظیم شدند (۱۲). با توجه به جرم حجمی هیدروکربن‌ها غلظت اولیه بر مبنای ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام تنظیم شد. در ابتدا و انتهای دوره کشت نمونه‌های خاک از ارلن جهت اندازه‌گیری باقی‌مانده‌ی هیدروکربن‌ها به روش GC-FAD (گاز کروماتوگرافی با دتکتور یونش شعله‌ای) برداشت (۱۲) و در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگه‌داری شدند. هم‌چنین در طول دوره کشت جهت ارزیابی فعالیت میکروبی، ۱۵ نمونه در فواصل زمانی مساوی برداشت و با تکرار سه تایی تعداد کلنی‌های تشکیل شده در هر گرم و فعالیت باکتری‌های تجزیه کننده ترکیبات آروماتیک توسط شمارش باکتری‌های کشت‌پذیر خاک اندازه‌گیری شد. نتایج بر حسب تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم خاک ثبت شد. تکرار آزمون ۳ بار بود و نتایج بر اساس میانگین تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم ثبت گردید (۱۳).

جهت اندازه‌گیری مقادیر هیدروکربن باقی‌مانده، از دی‌کلرومتان ۱:۱ به عنوان مایع استخراج استفاده شد. تعیین مقدار هیدروکربن‌ها به روش GC-FAD انجام شد. دستگاه گاز کروماتوگراف مدل Varian ۳۸۰۰ بود و دتکتور یونش شعله‌ای و ستون موئینه به طول ۲۵ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر بود. حرارت محل تزریق روی ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و دتکتور در ۲۵۰

جدول ۲: مقادیر حذف هیدروکربن‌ها در کشت‌های بیولوژیکی و غیر بیولوژیکی، زنجان ۱۳۸۳

منبع کربن	حذف بیولوژیکی	غیر بیولوژیکی	کل
تولوئن	۵۱	۳۰	۸۱
اتیل بنزن	۴۵	۳۷	۸۲
نفتالین	۶۹	۱۵	۸۴
مخلوط:			
تولوئن	۶۴	۲۴	۸۸
اتیل بنزن	۶۶	۲۳	۸۹
نفتالین	۸۰	۱۴	۹۴
کل حذف مخلوط	۶۵	۲۴	۸۹

هم به روش‌های غیر بیولوژیکی حذف می‌شوند. بنابراین اختلاف میزان حذف هیدروکربن‌ها در ظروف نمونه و شاهد نشان دهنده‌ی میزان حذف بیولوژیکی می‌باشد (نمودار ۱). آزمون آماری اختلاف معنی داری بین میزان حذف هیدروکربن‌ها در گروه شاهد و نمونه ( $P=0/04$ ) نشان داد. نمودار (۱) مقادیر حذف کل و حذف بیولوژیکی هیدروکربن‌های شاخص را در کشت‌های جداگانه و کشت‌های مخلوطی نشان می‌دهد. درصد حذف



نمودار ۱: مقادیر حذف هیدروکربن‌ها به تفکیک روش حذف بیولوژیکی و غیر بیولوژیکی، زنجان ۱۳۸۳

درجه‌ی سانتی‌گراد تنظیم شد و دمای ستون از ۴۰ درجه‌ی سانتی‌گراد با زمان ماند ۳ دقیقه شروع و سپس به سرعت ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در دقیقه رسید (۱۴). داده‌ها طبقه‌بندی و جهت مقایسه‌ی میانگین‌ها از آزمون من ویتنی (ویلکاسون) استفاده شد (۱۵).

### یافته‌ها

میانگین، حداکثر و حداقل تعداد کلنی‌ها در هر گرم از خاک ارلن‌ها در جدول (۱) ارائه شده است. چنان‌چه ملاحظه می‌شود بیشترین میانگین تعداد کلنی‌ها مربوط به نفتالین بوده و کمترین آن به اتیل بنزن اختصاص دارد.

جدول ۱: میانگین، حداکثر و حداقل تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم از خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌ها، زنجان ۱۳۸۳

منبع کربن	حداکثر	حداقل	میانگین
تولوئن	۳۴×۱۰ <sup>۶</sup>	۷۴×۱۰ <sup>۵</sup>	۲۰×۱۰ <sup>۶</sup>
اتیل بنزن	۲۰×۱۰ <sup>۶</sup>	۴۰×۱۰ <sup>۵</sup>	۷۰×۱۰ <sup>۵</sup>
نفتالین	۵۸×۱۰ <sup>۶</sup>	۲۹×۱۰ <sup>۶</sup>	۴۱×۱۰ <sup>۶</sup>
مخلوط	۲۵×۱۰ <sup>۶</sup>	۶۸×۱۰ <sup>۵</sup>	۱۰×۱۰ <sup>۶</sup>

هم‌چنین در این تحقیق مقادیر هیدروکربن موجود در ارلن‌ها در ابتدا و انتهای دوره‌ی کشت اندازه‌گیری شد. مقادیر حذف هیدروکربن‌ها در انواع کشت‌های بیولوژیکی و غیر بیولوژیکی در جدول (۲) ارائه شده است.

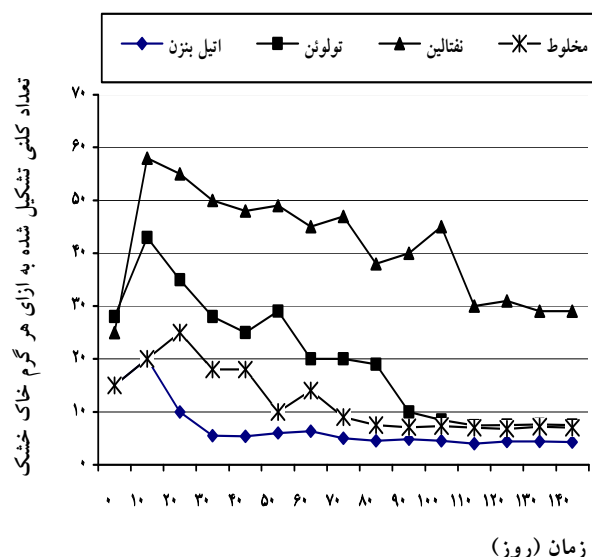
حذف هیدروکربن‌ها در ارلن‌های شاهد به روش‌های غیر بیولوژیکی صورت گرفته است زیرا ارلن‌های شاهد فاقد هرگونه رشد میکروبی بودند. روش‌های تبخیر و جذب سطحی در ذرات رس، از روش‌هایی هستند که باعث می‌شوند هیدروکربن‌ها از دسترس میکروارگانیسم‌های خاک دور مانده و در فرآیندهای تجزیه‌ی بیولوژیکی وارد نشوند. در ارلن‌های نمونه هیدروکربن‌ها هم به روش بیولوژیکی و

شده در هر گرم خاک در کشت‌هایی که از تولوئن، اتیل بنزن و نفتالین به عنوان منبع کربن استفاده شده بود به ترتیب  $19/7 \times 10^6$ ،  $69/4 \times 10^6$  و  $41/2 \times 10^6$  (کلنی در هر گرم خاک) بود. در کشت حاوی مخلوط این سه هیدروکربن میانگین تعداد کلنی ها در هر گرم خاک  $34 \times 10^6$  بود.

بر اساس نتایج این تحقیق در هر دو مورد کشت جداگانه و مخلوط، حذف غیر بیولوژیکی نفتالین از دو هیدروکربن دیگر کمتر است که به علت بالا بودن نقطه‌ی جوش این هیدروکربن می‌باشد، زیرا عامل اصلی در حذف غیر بیولوژیکی تبخیر می‌باشد. درصد حذف بیولوژیکی سه هیدروکربن آروماتیک مورد مطالعه وقتی به طور جداگانه در معرض میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده‌ی هیدروکربن قرار گرفته‌اند به ترتیب برای تولوئن، اتیل بنزن و نفتالین ۱، ۴۵ و ۶۹ درصد بود. بنابراین بیشترین درصد حذف بیولوژیکی را به ترتیب نفتالین، تولوئن و اتیل بنزن داشته‌اند. در حالی که وقتی این ترکیبات به صورت مخلوط به محیط کشت اضافه شدند، بیشترین درصد حذف به ترتیب مربوط به نفتالین (۸۰/۱ درصد)، اتیل بنزن (۶۵/۷ درصد) و تولوئن (۶۳/۶ درصد) بود. در هر دو نوع کشت، نفتالین در رتبه‌ی اول قرار دارد. این نتایج با نتایجی که محققین دیگر نیز ارائه داده‌اند قابل مقایسه است.

در مطالعه‌ای که توسط گرین (Green) و همکاران (۴) انجام شده بنزن، تولوئن، اتیل بنزن و گزیلن در حالت مخلوط و جداگانه در معرض تجزیه‌ی بیولوژیکی قرار گرفتند. نتایج مطالعه نشان داد که در حالت مجزا تولوئن سریع‌تر از اتیل بنزن تجزیه می‌شود ولی در حالت مخلوط اتیل بنزن سرعت تجزیه‌ی بیشتری دارد. در تحقیق ما نیز مشخص شد که وقتی سه هیدروکربن اتیل بنزن، تولوئن و نفتالین در محیط موجود باشند تولوئن در حالت مجزا سریع‌تر از اتیل بنزن تجزیه می‌شود ولی در حالت مخلوط برعکس نفتالین که یک آروماتیک چند حلقه‌ای است، خیلی سریع‌تر از ترکیبات دیگر

غیربیولوژیکی (ظروف شاهد) در حالت جداگانه هیدروکربن‌های خالص تولوئن، اتیل بنزن و نفتالین به ترتیب ۳۰، ۳۷، ۱۵ و در کشت مخلوط درصد حذف این سه هیدروکربن به ترتیب ۲۴، ۲۳ و ۱۳/۶ درصد می‌باشد. نمودار (۲) تغییرات تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم خاک را در طول دوره‌ی کشت در ارلن‌های مختلف نمونه به تفکیک نوع منبع کربن نشان می‌دهد. همان گونه که مشاهده می‌شود با افزایش زمان، تعداد کلنی‌های تشکیل شده از باکتری‌های کشت پذیر تجزیه کننده‌ی هیدروکربن، روند رو به کاهش داشته است.



نمودار ۲: تغییرات تعداد کلنی‌های تشکیل شده در هر گرم خاک در کشت‌های آلوده به هیدروکربن‌ها، زنجان ۱۳۸۳

## بحث

در این تحقیق نتایج آزمون شمارش میکروبی نشان داد که در کشت‌های حاوی هیدروکربن‌های خالص به طور جداگانه میانگین کلنی‌های تشکیل شده در محیط حاوی نفتالین نسبت به سایر کشت‌ها بالاتر است و تعداد تشکیل کلنی در کشت‌های جداگانه‌ی تولوئن و اتیل بنزن به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. میانگین تعداد کلنی‌های تشکیل

### نتیجه‌گیری

مهم‌ترین نتیجه حاصل از این تحقیق آن است که با جداسازی جمعیت‌های باکتریایی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی و تهیه‌ی یک مایع تلقیح می‌توان هیدروکربن‌های آروماتیک را به روش بیولوژیکی حذف نمود. از آنجا که تبخیر یک روش مناسب در حذف هیدروکربن‌ها است، اصلاح خاک به روش هوادهی توأم با روش تلقیح میکروبی از روش‌های مناسب جهت حذف هیدروکربن‌های آروماتیک از محیط خاک می‌باشد. درصد حذف ترکیبات آلی آروماتیک وقتی که به صورت مخلوط در خاک وجود داشته باشند در حدود ۶۵ درصد در مقایسه با تلقیح میکروبی است و سرعت تجزیه‌ی بیولوژیکی و میزان حذف هیدروکربن‌ها وقتی به صورت مخلوط در محیط وجود داشته باشند، نسبت به زمانی که به صورت انفرادی در محیط باشند تفاوت داشته و درصد حذف بالاتری دارند.

### تشکر و قدردانی

به این وسیله از اعضای محترم هیات علمی گروه شیمی دانشگاه علوم پایه زنجان قدردانی می‌گردد.

تجزیه می‌شود. به طور کلی در حالتی که هیدروکربن‌ها مخلوط شده و به عنوان منبع کربن به محیط اضافه شده‌اند، درصد حذف بیولوژیکی اجزا بالاتر بوده است. البته به طور قطع نمی‌توان در مورد علت این پدیده اظهار نظر نمود، چون هر کدام از ترکیبات طی مسیر بیوشیمیایی خاص خود مورد تجزیه واقع می‌شوند. مسیرهای متابولیکی alk (برای تجزیه‌ی آلکان‌ها)، مسیر nah (برای تجزیه‌ی نفتالین) و مسیر xyl (برای تجزیه‌ی تولوئن) کاملاً شناخته شده هستند (۱۶). از طرفی در یک مخلوط میکروبی، گونه‌های مختلف از باکتری‌ها وجود دارند که هر کدام از مسیرهای متابولیکی خاص خود، ترکیبات را تجزیه می‌کنند. وجود گونه‌های خاص تجزیه کننده‌ی یک هیدروکربن خاص (در این تحقیق نفتالین) می‌تواند درصد بالایی از این ترکیب را در محیط تجزیه نماید. ولی در مورد علت تفاوت در میزان تجزیه‌ی بیولوژیکی ترکیبات، زمانی می‌توان اظهار نظر نمود که عمل تجزیه با محیط‌های باکتریایی خالص انجام شود و یا ترکیب جمعیت میکروبی کاملاً مشخص باشد. در این تحقیق مقادیر قابل توجهی از ترکیبات آلی به روش‌های غیر بیولوژیکی حذف شده‌اند که تبخیر مهم‌ترین آن‌ها است. نفتالین با توجه به نقطه‌ی جوش بالا نسبت به دو هیدروکربن دیگر کمتر به روش غیر بیولوژیکی حذف شده است.

### منابع

- 1- Dipple A, Change SG, Bigger CAH. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Carcinogens*. New York: Wiley Liss Co; 1990, 109-27.
- 2- Balderian P, Wiche C, Gabriel J. Influence of cadmium and mercury and degradation of PAHs by *PLurutus ostereatus* in soil. *Appl Environ Microbiol*. 2000; 66: 2471-8.
- 3- Sims RC, Overcash MR. Fate of polycyclic aromatic compounds in soil-plant systems. *Residue Rev*. 1993; 88:1-68.
- 4- Greene EA, Kay JG, Jaber K, Lesy Stettmeier L. Composition of microbial community enriched on a mixture of aromatic hydrocarbons. *Appl Environ Microbiol*. 2000; 66: 5282-9.
- 5- Yerushalmi L, Guito EA. Kinetics of degradation of gasoline and its hydrocarbons constituents. *Appl Microbiol Biotechnol*. 1998; 49: 475-81.

- 6- Deeb RA, Alvares-cohen L. Temperature effects and substrate interactions during aerobic biotransformation of BTEX mixtures. *Biotechnol Bioengine*. 1999; 62: 526-36.
- 7- Atlas RM. *Bioremediation of Fossil Fuel Contaminated Soil*. Boston: Buterworth-heinemann; 1991, 14-32.
- 8- Brodkorb TS, Legge RL. Enhanced biodegradation of pheneteren in soil. *Appl Environ Microbiol*. 1992; 58: 3117-21.
- 9- Dott WD, Campfer FP, Schlebinger H, Strechle S. Comparison of autochthonous bacteria and respect to their effectiveness in fuel oil degradation. *J Ind Microbiol*. 1989, 4: 365-74.
- 10- Grosser RJ, Warshawsky JR. Indigenous and enhanced mineralization of pyren,benzo(a)pyrene and carbazole in soil. *Appl Environ Microbiol*. 1991; 57: 3462-9.
- 11- Margesine R, Schinner F. The impact of hydrocarbon remediation on enzyme activities and microbial properties of soil. *Acta Biotechnol*. 2000; 20: 313-33.
- 12- Alef K. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. London: Academic press; 1995, 1-220.
- 13- Jeffery A, Saitas PE. *Method NO. 1005: Total Petroleum Hydrocarbons, Revision 03* Texas: Texas Natural Resource Conservation Committee, 2001, 1-30.
- ۱۵- سر افراز علی اکبر. *آمار پزشکی پایه و بالینی*. مشهد: انتشارات دانشگاه علوم پزشکی، ۱۳۷۶، صفحات ۲۴۵ تا ۳۰۶.
- 16- Whyte LG, Bourbonniere L, Greer CW. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by Psychrotrophic Pseudomonas Strains possessing both alkane and naphthalen catabolic pathways. *Appl Environ Microbiol*. 1997; 63: 3719-37.