مجله‌ی علمی، پژوهشی دانشگاه علـوم پزشکی زنجـان
دوره‌ی ۱۸، شماره‌ی ۷۰، بهار ۱۳۸۹، صفحات ٦٨ تا ٨٠

تجزیه‌ی ترکیبات آروماتیک موجود در نفت خام توسط میکروارگانیسم‌های جداشده از محیط

امیر رضا طلایی[۱]، دکتر نعمت ا... جعفرزاده[۲]، دکتر محمد رضا طلایی[۳]، دکتر مسعود بهشتی[۳]

نویسنده‌ی مسئول: اصفهان، دلیجان، موسسه‌ی آموزش عالی جامی، گروه مهندسی عمران و محیط زیست atalaie@jami.ac.ir

دریافت: ۸۸/۲/۱۹ پذیرش: ۸۸/۷/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: *آلودگی‌های نفتی یکی از معضلات مهم در سرتاسر دنیا می‌باشد که محققین زیادی به بررسی روش‌های مختلف حذف آن پرداخته‌اند. در این میان روش‌های بیولوژیکی توسط محققین بیش از سایر روش‌ها مورد توجه و بررسی قرار گرفته است. هدف از مطالعه‌ی حاضر یافتن میکروارگانیسمی از محیط‌های آلوده به ترکیبات نفتی بود که قادر به تجزیه‌ی بخش آروماتیک نفت خام باشد.*

روش بررسی: *برای یافتن این‌گونه میکروارگانیسم‌ها از نقاطی که برای مدت‌ها به ترکیبات نفتی آلوده بودند، نمونه‌برداری شد. در ادامه، میکروارگانیسم‌های موجود در نمونه‌های برداشت شده که قادر به ادامه‌ی حیات در مجاورت نفت خام به عنوان تنها منبع کربن بودند، جداسازی و در نهایت خالص سازی شدند.*

یافته‌ها: *در این مطالعه ۱۴ میکروارگانیسم از نمونه‌ها جداسازی و خالص‌سازی گردید که همگی باکتری بودند. میکروارگانیسم‌های خالص سازی شده برای تعیین میزان کارایی‌شان در تجزیه‌ی ترکیبات آروماتیک به کمک روش اسپکتروفتومتری و در نهایت جهت تعیین صحت آزمایش‌ها به کمک کروماتوگرافی گازی مورد آزمایش قرار گرفتند. در این میان باکتری‌هایی که در این مطالعه **A**-۳ و **A**-۱۴ نام‌گذاری شدند، به ترتیب با ۸۹ و ۸۶ درصد کاهش ترکیبات آروماتیک بیشترین کارایی را در تجزیه‌ی ترکیبات آروماتیک موجود در نفت خام دارا بودند. در نهایت با بررسی‌های میکروبیولوژی باکتری **A**-۱۴ به عنوان سودوموناس آیروژنوزا شناسایی گردید.*

نتیجه‌گیری: *نتایج این مطالعه نشان داد که امکان تجزیه بیولوژیکی ترکیبات آروماتیک موجود در نفت خام که از سمی‌ترین ترکیبات آن محسوب می‌گردد وجود دارد. همچنین مشخص گردید که در طبیعت امکان یافت میکروارگانیسم‌هایی که توانایی تجزیه‌ی ترکیبات نفتی را بدون طی مرحله سازگارسازی داشته باشد، وجود دارد.*

واژگان کلیدی: ترکیبات آروماتیک، نفت خام، تجزیه‌ی بیولوژیکی، سودوموناس آیروژنوزا، کشت خالص

مقدمه

توسعه‌ی روزافزون استفاده از مواد شیمیایی در تولیدات صنعتی مقادیر زیادی ضایعات شیمیایی خطرناک تولید کرده است. این ترکیبات اغلب منجر به آلودگی محیط زیست می‌شوند (۱). امروزه بیش از ۷۰۰۰۰ نوع ماده‌ی شیمیایی آلی به‌طور عمومی مصرف می‌شود، که از این تعداد تنها اثرات کمی از آن‌ها بر سلامت بشر و محیط زیست مورد آزمایش و

۱- کارشناس ارشد محیط زیست، مربی گروه مهندسی عمران و محیط زیست، موسسه آموزش عالی جامی، دلیجان
۲- دکترای تخصصی مهندسی بهداشت محیط، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
۳- دکترای مهندسی شیمی، استادیار دانشگاه اصفهان

سنجش قرار گرفته است (۲). هیدروکربن‌های نفتی یک دسته از این آلاینده‌های خطرناک محیط هستند که بر اساس فعالیت‌های مختلف در محیط زیست تجمع می‌یابند (۳). آن‌ها یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های محیط محسوب می‌شوند (۴). سالانه بیش از دو میلیون تن نفت در جهان تولید می‌شود که در حدود ۱۰ درصد آن‌ها در اثر حوادث مختلف از قبیل شکستن خطوط انتقال و یا نشت از تانک‌های ذخیره وارد محیط زیست می‌شود (۵). برابر گزارش‌های ارایه شده تا سال ۱۹۹۸ حدود ۷۵۰۰۰۰ تانک ذخیره‌ی زیرزمینی در ایالات متحده‌ی آمریکا وجود داشت که از این تعداد حدود ۳۰۰۰۰۰ تانک نشت می‌کرد و هر سال ۳۰۰۰۰ تانک نشت کننده به این تعداد افزوده می‌شود. بیش از نیمی از این تانک‌ها برای ذخیره‌ی هیدروکربن‌های نفتی به کار می‌روند. هیدروکربن‌های نفتی اغلب سمی هستند و دفع و یا تخلیه‌ی آن‌ها در محیط زیست مشکلات زیادی را به وجود می‌آورد. این ترکیبات در قبال تجزیه‌ی زیستی مقاوم بوده، ممکن است به دلیل جابجایی و انتقال وارد آب‌ها شوند و خطرات زیادی را برای محیط زیست به وجود آورند (۵). یکی از اجزای ترکیبات نفتی، هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای هستند. در کشورهای صنعتی و نیمه صنعتی به جز تانک‌های نشت کننده زیرزمینی، منابع اصلی آلودگی به هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای واکنش‌های احتراقی هستند (۳). از آنجا که ضریب اکتانول- آب ترکیبات هیدروکربنی آروماتیک چند حلقه‌ای بالا و حلالیت آن‌ها در آب کم است، در رسوبات تجمع می‌کنند به طوری که خاک و یا رسوبات ممکن است به عنوان محل ذخیره‌ی این ترکیبات ذکر شوند (۶و۳). بسیاری از ترکیبات چند حلقه‌ای موجود در نفت خام مانند نفتالین و فناترین در حشره‌کش‌ها، قارچ کش‌ها، پاک‌کننده‌ها و رنگ‌ها نیز وجود دارند. اغلب این ترکیبات دارای خواص نامطلوب سمی، موتاژن و یا سرطان‌زایی هستند (۸و۷). لذا بازیافت، تصفیه و دفع این مواد شیمیایی سمی اهمیت زیادی دارد. در دهه‌ی اخیر اصلاح زیستی از یک فناوری ناشناخته رشد کرد، به طوری که در حال حاضر یکی از فناوری‌های اصلی برای رفع آلودگی به شمار می‌رود. توسعه‌ی روز افزون این روش به‌دلیل هزینه‌ی کمتر و کارایی بیشتر آن نسبت به سایر فناوری‌های موجود است (۹). چون هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای ترکیباتی با حلالیت پایین هستند، قابلیت دسترسی زیستی به آن‌ها کم بوده، بنابر این نیاز به توسعه‌ی فرآیند اصلاح زیستی مطرح می‌شود (۸). هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای موجود در نفت خام بر روی سلامت انسان اثرات سمی دارند که این اثرات از طریق در معرض ماده‌ی آلوده قرارگرفتن (غبار آلوده، دود، مانند دوده سیگار و...)، خوردن غذای آلوده و یا از طریق تماس پوستی با محصولات نفتی جذب بدن می‌شوند (۶). محققین زیادی به بررسی نحوه‌ی حذف ترکیبات نفتی و آروماتیکی از محیط پرداخته‌اند. به‌طور مثال طلایی و همکاران در سال ۱۳۸۸ طی مطالعه‌ای موفق به جداسازی میکروارگانیسم‌هایی شدند که قادر بود، ۹۰ درصد نفت خام را در مدت زمان ۵ روز تجزیه نماید (۱۰). همچنین آن‌ها در مطالعات بعدی خود نیز موفق به بکارگیری میکروارگانیسم‌های مذکور در تجزیه‌ی گازوئیل شدند (۱۱). لی و همکارانش (۱۲) در مطالعه‌ای بر روی تجزیه‌ی بیولوژیکی فاضلاب‌های تولیدی در مناطق نفت خیز توانستند تعدادی از میکروارگانیسم‌هایی را شناسایی نمایند که قادر به مصرف نفت خام به صورت محلول در آب و یا به صورت قطرات ریز بودند. با کمک این میکروارگانیسم‌ها لی توانست ۸۵ درصد نفت خام موجود در این گونه پساب‌ها را در مدت زمان ۷ روز تجزیه نماید. تلز و همکارانش به بررسی یک سیستم لجن فعال در حذف کل ترکیبات هیدروکربنی (TPH) از آب‌های شور خارج شده از چاه‌های نفت که در حد اشباع حاوی نفت خام به صورت محلول و قطرات ریز بودند، پرداختند. تلز از روش سازگارسازی برای افزایش

قابلیت میکروارگانیسم‌های موجود در لجن فعال برای تجزیه‌ی ترکیبات نفتی استفاده نمود. وی موفق شد در مدت زمان ۲۰ روز ۹۸ درصد کل ترکیبات نفتی موجود در این پساب‌ها را تجزیه نماید (۱۳). دیبل و همکارش بارتا نیز در مطالعه‌ی خود به بررسی تاثیر حضور نیتروژن، فسفر و آهن در حذف ترکیبات نفتی در آب دریا پرداختند. آن‌ها دریافتند، آب دریا حاوی مقادیر مورد نیاز آهن برای رشد میکروارگانیسم‌های نفت خوار می‌باشد، ولی نیتروژن و فسفر کافی را در اختیار ندارد (۱۴). ویرا و همکارانش نیز در مطالعه‌ای به مقایسه‌ی تجزیه‌ی بیولوژیک گازوئیل توسط دو دسته از میکروارگانیسم‌های جدا شده از خاک دریاچه‌ای که حاوی مقادیر زیادی از گازوئیل بود پرداختند. آن‌ها موفق به حذف ۹۰ درصد گازوئیل موجود در آب در مدت زمان ۴۰ روز شدند و در ادامه‌ی کار بهینه سازی شرایط رشد این میکروارگانیسم‌ها را نیز انجام دادند (۱۵).

هدف از انجام این مطالعه جداسازی میکروارگانیسم‌هایی می‌باشد که بدون نیاز به مرحله‌ی سازگار سازی قادر به تجزیه‌ی ترکیبات آروماتیک موجود در نفت خام شناور بر روی آب باشند.

روش بررسی

نمونه برداری: در این مطالعه از چهار نقطه شامل فاضلاب فرآیندی پالایشگاه تهران، خاک آلوده به نفت اطراف پالایشگاه تهران، فاضلاب بهداشتی پالایشگاه تهران که مشخصاً به نفت خام هم آلوده بود، خاک اطراف محل تخلیه‌ی بنزین و گازوئیل در یک پمپ بنزین در شهر اهواز، نمونه برداری شد. نمونه برداری خاک از عمق ۵ سانتی‌متری صورت گرفت. مقدار نمونه‌ی برداشت شده از خاک حدوداً ۱۰۰ گرم و نمونه‌ی برداشت شده از فاضلاب یک لیتر بود. تمام نمونه‌ها در ظروف شیشه‌ای استریل در کنار یخ تا رسیدن به آزمایشگاه نگهداری شدند (۱۶).

جداسازی میکروارگانیسم‌ها: میکروارگانیسم‌ها برای متابولیسم خود نیازمند عناصر مختلفی می‌باشند که به عناصر اصلی (منبع کربن، نیتروژن، فسفر و...)، عناصر فرعی (کلسیم، منیزیم و...) و عناصر جزیی (روی، کروم و...) تقسیم بندی می‌گردند. در این مطالعه از ترکیبات زیر در قالب یک محیط کشت برای تامین مواد مغذی مورد نیاز رشد باکتری‌ها استفاده گردید. محیط کشت زیر با فرمولاسیون ذکر شده در این مطالعه، محیط کشت معدنی نامیده شد. کلیه‌ی این مواد در آب مقطر دوبار تقطیر و حل گردیدند. ۰/۱ گرم در لیتر $MgSO_4$، ۰/۵ گرم در لیتر KH_2PO_4، ۰/۰۱ گرم در لیتر $CaCl_2.2H_2O$، ۰/۰۰۱ گرم در لیتر $FeSO_4$، ۱ گرم در لیتر $NaNO_3$، ۰/۵ گرم در لیتر K_2HPO_4 اضافه شد و pH نمونه به کمک محلول هیدروکسید سدیم بر روی ۷/۲ تنظیم گشت (۱۶). در ۵ ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت معدنی ریخته، یک میلی‌لیتر نفت خام به عنوان تنها منبع کربن به هر ارلن مایر اضافه گردید. یک میلی‌لیتر از هر نمونه‌ی فاضلاب به صورت جداگانه در ارلن مایرها ریخته شد و ارلن مایر در یک شیکر انکوباتور با سرعت هوادهی ۱۶۰ دور در دقیقه و دمای ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت. نمونه‌های خاک نیز پس از مخلوط شدن با یکدیگر و انحلال ۵ گرم از آن در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب و قرار گرفتن بر روی شیکر با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه، برای مدت زمان ۱۰ دقیقه در یک مکان آرام جهت ته‌نشین شدن ذرات درشت خاک قرار گرفت. پس از مدت زمان ذکر شده ۱ میلی‌لیتر از مایع زلال رویی به ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت معدنی استریل انتقال یافت و به مدت ۷۲ ساعت در شیکر انکوباتور با دور ۱۶۰ دور در دقیقه و دمای ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. مطالعات میکروسکوپی که با کمک تهیه‌ی لام مرطوب از نمونه‌ها و با کمک یک میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر انجام پذیرفت، رشد تعداد قابل توجهی از

میکروارگانیسم‌ها را در ارلن‌مایرهای فوق نشان داد (۱۶).

خالص‌سازی میکروارگانیسم‌ها: برای خالص‌سازی میکروارگانیسم‌ها در این مطالعه از دو محیط کشت نوترینت‌آگار برای جداسازی باکتری‌ها و محیط کشت PDA برای جداسازی قارچ‌ها و مخمرها استفاده گردید (۱۶). با کمک لوپ آزمایشگاهی و در شرایط استریل، ۰/۱ میلی‌لیتر از محتوای ارلن‌مایرهای حاوی میکروارگانیسم‌های کشت داده شده در محیط کشت معدنی به محیط‌های جامد نوترینت آگار و PDA انتقال داده شد. محیط نوترینت آگار به مدت ۴۸ ساعت و محیط PDA به مدت ۵ روز در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از گذشت مدت زمان‌های ذکر شده، پلیت‌های حاوی محیط کشت و میکروارگانیسم‌های رشد کرده بر روی آن از انکوباتور خارج و با کمک روش کشت خطی در محیط کشت نوترینت آگار و با پاساژهای متناوب، خالص‌سازی میکروارگانیسم‌های رشد نموده بر روی محیط‌های ذکر شده انجام شد (۱۷). لازم به ذکر است که برای خالص سازی میکروارگانیسم‌ها، بایستی از تک‌کلنی‌های ایجاد شده در محیط کشت که با کمک کشت خطی ایجاد می‌گردند، میکروارگانیسم‌ها برداشت شده (توسط لوپ آزمایشگاهی) و به محیط کشت نوترینت آگار جدید انتقال یابد. این عمل تا به‌دست آوردن کلنی‌های خالص ادامه می‌یابد. در نهایت از میکروارگانیسم‌های خالص‌سازی شده اسلنت تهیه شد و در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. برای نگهداری طولانی مدت میکروارگانیسم‌های خالص‌سازی شده هر ۴ ماه پس از فعال سازی مجدد به اسلنت جدید منتقل شدند.

در بررسی کارایی میکروارگانیسم‌ها در تجزیه‌ی ترکیبات آروماتیک نفت خام، در ابتدا برای به‌دست آوردن میکروارگانیسم کافی، از محیط کشت نوترینت براث استفاده گردید. مقدار اندکی از هر میکروارگانیسم موجود بر روی اسلنت‌ها به ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری جداگانه حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت تونرینت براث، تلقیح شد و به مدت ۲۰ ساعت در شیکر انکوباتور با دمای ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از این مدت زمان، میکروارگانیسم کافی برای انجام ادامه‌ی آزمایش‌ها تولید شد. ۱ میلی‌لیتر از محیط کشت حاوی هر یک از این میکروارگانیسم ها به ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت معدنی منتقل شد و در نهایت به هرکدام از آنها ۱ میلی‌لیتر نفت خام اضافه شد. این ارلن‌مایرها در یک شیکر انکوباتور با دور ۱۶۰ دور در دقیقه و دمای ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، برای مدت زمان ۱۵ روز قرار گرفتند (۱۶). جهت کسب نتایج دقیق‌تر به ازای هر ارلن‌مایر حاوی محیط معدنی، نفت و میکروارگانیسم، یک ارلن‌مایر شاهد با همان شرایط ولی بدون میکروارگانیسم در شیکر انکوباتور قرار گرفت. پس از پایان ۱۵ روز نفت خام باقی مانده در ارلن‌مایرها به کمک اضافه نمودن ۲۵ میلی‌لیتر تتراکلریدکربن به ارلن‌مایرها و قرار دادن آن‌ها به مدت ۱۵ دقیقه بر روی شیکر با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه استخراج گردید. سپس جداسازی دو فاز تتراکلریدکربن حاوی نفت خام و محیط کشت معدنی به کمک قیف جداکننده (دکانتور) انجام پذیرفت. در نهایت فاز حلال جدا شده پس از سانتریفوژ با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه برای جداسازی میکروارگانیسم‌ها و مواد معلق و رقیق‌سازی به میزان ۱۰۰ برابر به کمک روش اسپکتروفتومتری و در طول موج ۲۵۴ نانومتر برای تعیین میزان مواد آروماتیک موجود در آن مورد بررسی قرار گرفت (۱۶). در نهایت برای تعیین دقیق مقدار حذف کل ترکیبات نفتی (TPH) و در کنار آن ترکیبات آروماتیک از روش کروماتوگرافی گازی (GC) نیز برای برخی نمونه‌ها که توانایی بالایی از خود جهت حذف ترکیبات نفتی نشان داده بودند، استفاده شد.

بررسی تولید بیوسورفاکتانت‌ها: در این مرحله از آزمایش‌ها برای تعیین امکان تولید بیوسورفاکتانت‌ها از آزمون‌های پراکندگی نفت و آزمون شاخص امولسیون‌سازی (E24) طبق

روش‌های استاندارد ذکر شده توسط منابع مختلف استفاده گردید (۱۸و۱۶). برای انجام این آزمون‌ها ابتدا میکروارگانیسم‌ها به ارلن‌مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت معدنی که نفت خام به عنوان تنها منبع کربن آن‌ها در نظر گرفته شده است، اضافه گردید. سپس ارلن‌مایرها به مدت ۱۵ روز در شیکر انکوباتور قرار گرفته، پس از آن آزمون پراکندگی نفت بر روی آن‌ها انجام شد. برای انجام آزمون پراکندگی نفت ۱۰ میلی‌لیتر از محیط کشت موجود در ارلن‌مایرهای فوق به‌وسیله‌ی سمپلر برداشته شد. ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در داخل یک پلیت بزرگ ریخته شد و سپس ۲۰ میلی‌لیتر نفت خام به سطح آن افزوده گردید. در ادامه، نمونه‌ی برداشته شده از محیط کشت بر روی سطح نفت ریخته شد. پخش شدن محیط کشت بر روی سطح روغن معیاری از وجود ترکیبات فعال سطحی در محیط کشت است. برای این آزمون یک محیط شاهد با آب مقطر نیز در نظر گرفته شد (به جای ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت از آب مقطر استفاده شد) که با مقایسه‌ی نمونه محیط کشت و نمونه‌ی شاهد می‌توان به وجود سورفاکتانت‌ها در محیط پی برد (۱۶). کلیه‌ی میکروارگانیسم‌های جدا شده در این آزمون موفق به، تولید بیوسورفاکتانت‌ها بودند. میکروارگانیسم‌هایی که در این آزمون موفق بودند، در مرحله‌ی بعد به‌منظور تعیین شاخص امولسیون سازی مورد آزمایش قرار گرفتند. جهت انجام آزمون شاخص امولسیون سازی ۲ میلی‌لیتر از محتویات هر ارلن‌مایر در یک لوله‌ی آزمایش جداگانه، محتوی ۲ میلی‌لیتر نفت سفید ریخته شده، به مدت ۳ دقیقه تحت ورتکس شدید قرار گرفت. سپس این لوله به مدت ۲۴ ساعت بی‌حرکت مانده، پس از آن ارتفاع لایه‌ی امولسیون به کل ارتفاع لوله محاسبه گردید و به عنوان شاخص امولسیون سازی گزارش شد (۱۶).

بررسی میکروارگانیسم‌ها: در این مطالعه از میکروسکوپ المپیوس مدل CH40 با قابلیت ایجاد زمینه‌ی تاریک و عکس‌برداری برای بررسی میکروارگانیسم‌های خالص‌سازی شده استفاده گردید. در این مطالعه پس از انجام آزمون گرم، میکروارگانیسم‌ها مورد بررسی مورفولوژی قرار گرفتند (۱۶). در نهایت با انجام آزمایش‌های ویژه که توسط آزمایشگاه گروه بیوتکنولوژی دانشگاه اصفهان انجام پذیرفت، نوع میکروارگانیسم مشخص گردید. آزمایش‌های انجام شده جهت شناسایی میکروارگانیسم عبارت از آزمون کاتالاز، آزمون گرم، آزمون اکسیداز، آزمون امکان رشد در شرایط بی‌هوازی، تعیین مشخصات مرفولوژی کلنی‌های رشد کرده بر روی محیط کشت جامد، آزمون تولید پیگمان رنگی در دماهای بالا، آزمون قابلیت حل پیگمان‌های رنگی تولید شده در آب، اسید استیک و کلروفرم، آزمون امکان تولید هیدروژن سولفید و بررسی رشد میکروارگانیسم در محیط کشت مایع (نوترینت براث) بود (۱۸-۱۶).

روش‌های آزمایشگاهی: در این مطالعه برای سنجش ترکیبات آروماتیک از روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۵۴ نانومتر استفاده شد که در برخی از کتب مرجع همچون کتاب روش‌های استاندارد برای تعیین غلظت ترکیبات آروماتیک توصیه شده است (۱۶). منحنی کالیبراسیون رسم شده در طول موج ۲۵۰ نانومتر، $y = 0.2104x + 0.2204$ بود. سنجش میزان جذب با کمک یک دستگاه اسپکتروفتومتر (JascoV-570) با طول موج قابل تنظیم ۱۹۰ الی ۲۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. همچنین برای تعیین PH از PH متر دیجیتال استفاده گردید. پس از انجام آزمایش‌های تعیین کارایی میکروارگانیسم‌ها در حذف ترکیبات آروماتیک به روش اسپکتوفتومتری، یک نمونه از میکروارگانیسمی که بیشترین میزان حذف ترکیبات آروماتیک را دارا بود، به همراه نمونه‌ی شاهد آن به کمک دستگاه کروماتوگرافی گازی جهت تعیین کل ترکیبات نفتی نیز مورد آزمایش قرار گرفت. برای انجام این بخش از آزمایش از یک دستگاه کارماتوگرافی گازی ساخت شرکت واریان مجهز به یک ستون مویین غیر قطبی

CP SIL8 و آشکار ساز FID استفاده گشت. کل مدت زمان آزمایش بر روی ۳۰ دقیقه تنظیم گشت. دمای ستون برای ۳ دقیقه بر روی ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داشته شد و پس از آن دما با نرخ ۱۵ درجه بر دقیقه تا دمای ۳۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد افزایش یافت و برای ۵ دقیقه در این دما باقی ماند. بعد از آن مجدداً دما با نرخ ۱۵ درجه بر دقیقه تا رسیدن دما به ۳۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد افزایش یافت و تا پایان مدت زمان آزمایش در همان دما باقی ماند. گاز حامل در این آزمایش نیتروژن بود. دمای اینجکتور و آشکار ساز به ترتیب ۳۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۲۸۵ درجه‌ی سانتی‌گراد بود.

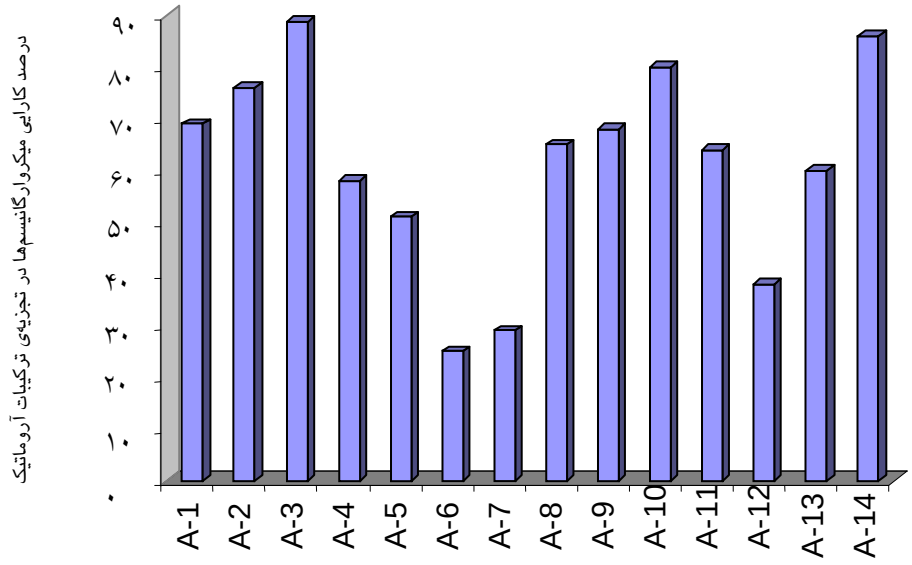
یافته‌ها

مشخصات میکروارگانیسم‌های خالص‌سازی شده در این مطالعه شامل ۱۴ میکروارگانیسم بود که از منابع نمونه‌برداری شده به‌دست آمد. نتایج بررسی‌های میکروسکوپی و آزمایش گرم بر روی آن‌ها در جدول ۱ نمایش داده شده است.

جدول ۱: مشخصات باکتری‌های به‌دست آمده در مطالعه

شماره	محل برداشت نمونه	نوع محیط کشت	شکل باکتری	رنگ کلنی	آزمون گرم
۱	فاضلاب فرآیندی پالایشگاه تهران	PDA	میله‌ای	زرد	–
۲	نمونه‌ی خاک پالایشگاه تهران	محیط معدنی	کروی	صورتی	+
۳	فاضلاب فرآیندی پالایشگاه تهران	PDA	میله‌ای	سبز	–
۴	فاضلاب بهداشتی پالایشگاه تهران	PDA	میله‌ای	قرمز کم رنگ	+
۵	نمونه‌ی خاک پالایشگاه تهران	محیط معدنی	کروی	قهوای باز	–
۶	نمونه‌ی خاک پالایشگاه تهران	محیط معدنی	کروی	سفید	–
۷	فاضلاب بهداشتی پالایشگاه تهران	PDA	کروی	سبز فسفری	–
۸	فاضلاب بهداشتی پالایشگاه تهران	PDA	کروی	نارنجی	–
۹	خاک پمپ بنزین	PDA	کروی	قهوای کم رنگ	+
۱۰	خاک پمپ بنزین	PDA	میله‌ای	قهوای با کلنی بزرگ	–
۱۱	فاضلاب فرآیندی پالایشگاه تهران	محیط معدنی	میله‌ای	سفید	–
۱۲	فاضلاب بهداشتی پالایشگاه تهران	محیط معدنی	میله‌ای	سفید	–
۱۳	فاضلاب بهداشتی پالایشگاه تهران	محیط معدنی	میله‌ای	زرد	+
۱۴	خاک پمپ بنزین	PDA	میله‌ای	قهوه ای پر رنگ	–

نتایج تعیین کارایی باکتری‌ها در نمودار ۱ نمایش داده شده است. همان‌طور که در این نمودار مشاهده می‌گردد، باکتری A-۳ و A-۱۴ بیشترین کارایی را در تجزیه‌ی ترکیبات آروماتیک موجود در نفت خام دارا بود و این کارایی به ترتیب عبارت از ۸۹ و ۸۶ درصد بود. با توجه به بالا بودن نرخ تجزیه‌ی ترکیبات آروماتیک توسط میکروارگانیسم A-۱۴ این میکروارگانیسم برای شناسایی و بررسی‌های تکمیلی انتخاب گردید. باکتری A-۱۴ که دارای بیشترین توانایی در تجزیه‌ی بیولوژیک نفت خام بود از خاک جدا شده بوده و یک باکتری میله‌ای و گرم منفی بود. تست اکسیداز و کاتالاز این باکتری نیز مثبت بود. این باکتری در شرایط بی‌هوازی قادر به رشد نبود. این امر نشانگر هوازی مطلق بودن این باکتری بود. وسط کلنی‌های حاصل از رشد این میکروارگانیسم بر روی محیط نوترینت آگار کمی برآمده تر و اطراف آن‌ها نامنظم بود.

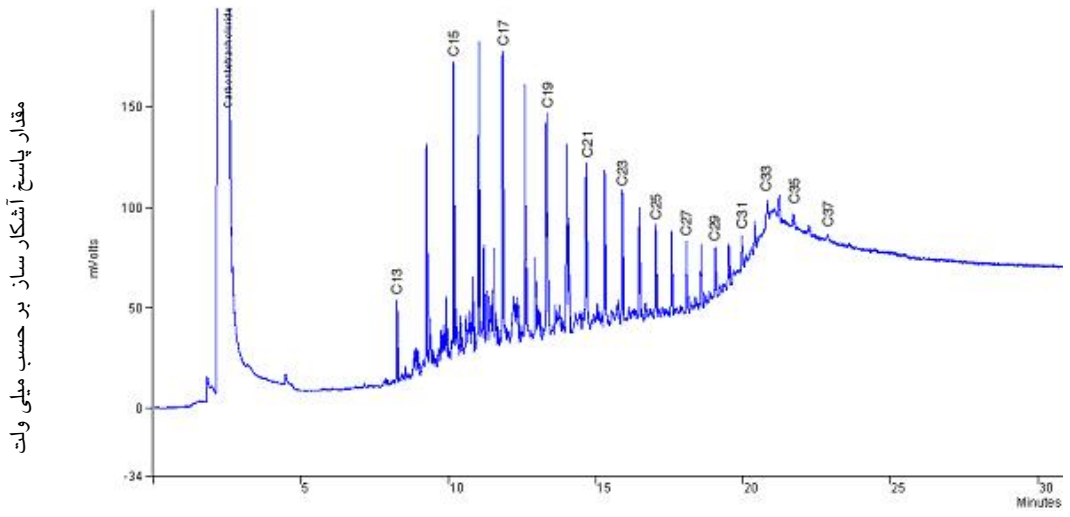


نمودار ۱: نتایج قابلیت باکتری‌ها در تجزیه‌ی ترکیبات آروماتیک موجود در نفت خام شناور

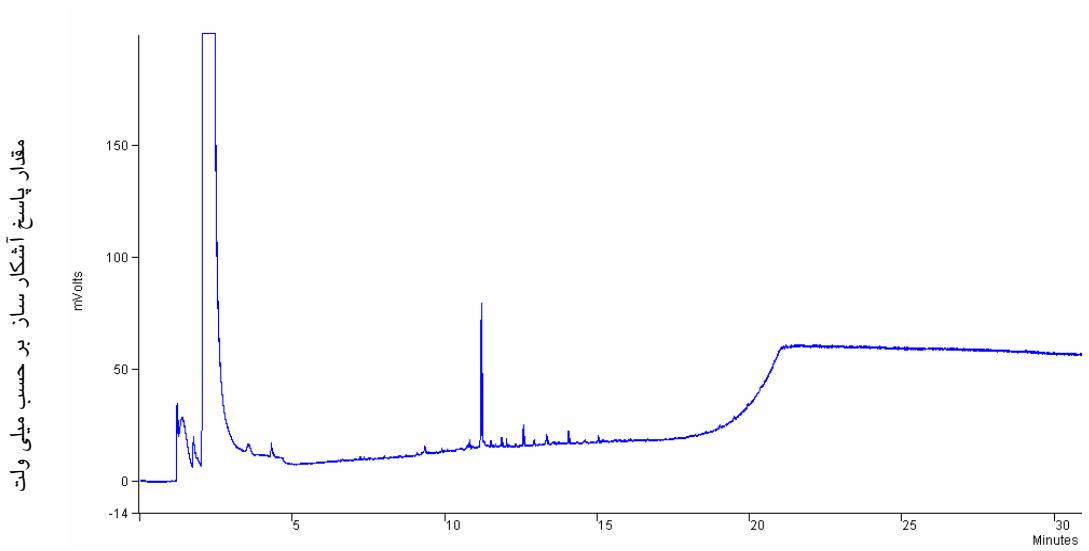
پس از گذشت سه روز از انکوباسیون کلنی‌های رشد کرده بر روی محیط نوترینت آگار پیگمان‌های سبز رنگی را در اطراف کلنی‌ها تشکیل دادند. این پیگمان در اثر تماس با آب و اسید استیک از محیط کشت جامد شسته شد ولی کلروفرم تاثیری برروی این پیگمان نداشت. در اثر رشد این میکروارگانیسم در محیط نوترینت براث کدورتی یکنواخت در تمام محیط کشت ایجاد گردید و تولید بوی مطبوعی نمود. همچنین این میکروارگانیسم قادر به تولید هیدروژن سولفید نیز نبود. مشخصات فوق مختص گونه‌ی سودوموناس آیروژنوزا می‌باشد (۱۶). جهت نمایش مقدار کل ترکیبات هیدروکربن موجود در نفت خام پیش و پس از تجزیه‌ی بیولوژیکی از دستگاه کروماتوگرافی گازی استفاده شد. نتایج این آزمایش در نمودار ۲ و ۳ نمایش داده شده است. در نمودار ۲ نتیجه‌ی آزمایش نمونه‌ی شاهد و در نمودار ۳ نتیجه‌ی نمونه‌ی تجزیه شده با سودوموناس آیروژنوز نمایش داده شده است. در این مطالعه از دو آزمون E24 و آزمون پراکندگی نفت برای تعیین امکان تولید بیوسورفاکتانت‌ها توسط میکروارگانیسم‌های خالص‌سازی شده استفاده گردید. آزمون پراکندگی نفت آزمونی کیفی بود که کلیه‌ی میکروارگانیسم‌های جدا شده در این مطالعه در آن موفق بودند. این امر نشان‌گر تولید مقادیر هرچند اندک توسط کلیه‌ی میکروارگانیسم‌ها بود. پس از آن کلیه‌ی میکروارگانیسم‌ها توسط آزمون کمی E24 برای تعیین شاخص امولسیون سازی تحت بررسی قرار گرفتند که نتایج آن‌ها در جدول ۲ نمایش داده شده است.

جدول ۳-۲: میزان شاخص امولسیون سازی میکروارگانیسم‌های مختلف در این مطالعه

نام باکتری	A-۱	A-۲	A-۳	A-۴	A-۵	A-۶	A-۷	A-۸	A-۹	A-۱۰	A-۱۱	A-۱۲	A-۱۳	A-۱۴
شاخص امولسیون سازی	٪ ۱۶	٪ ۱۲	٪ ۱۶	٪ ۸	٪ ۱۲	٪ ۲۰	٪ ۲۰	٪ ۱۶	٪ ۲۴	٪ ۱۱	٪ ۴	٪ ۳۶	٪ ۲۸	٪ ۱۲



نمودار ۲: نتیجه‌ی آزمون کارماتوگرافی گازی در نمونه‌ی شاهد



نمودار ۳: نتیجه‌ی آزمون کارماتوگرافی گازی در نمونه‌ی تجزیه شده توسط سودوموناس آیروژنوزا

در این مطالعه ۱۴ میکروارگانیسم که همگی توانایی تجزیه ترکیبات آروماتیک را داشتند از محیط‌هایی که برای سال‌ها به ترکیبات نفتی آلوده بوده‌اند و میکروارگانیسم‌های موجود در آن با مصرف این‌گونه ترکیبات سازگار شده‌اند، جداسازی شد. در این مطالعه یافته‌های زیر بدست آمد: با وجود انجام تحقیقات زیاد در زمینه‌ی استفاده از قارچ‌ها و مخمرها در

تجزیه‌ی ترکیبات نفتی، میکروارگانیسم‌های جدا شده در این مطالعه همگی باکتری بودند و احتمالاً محیط‌های کشت مورد استفاده برای جداسازی قارچ‌ها یا مخمرهای احتمالی موجود در نمونه‌های گرفته شده، مناسب نبوده است و یا مخمرها و قارچ‌های موجود در نمونه‌ها توانایی لازم در زمینه‌ی استفاده از نفت خام به عنوان تنها منبع کربن را نداشته‌اند.

بحث

همان‌طور که در جدول ۱ مشخص است، بیشتر میکروارگانیسم‌های خالص‌سازی شده گرم منفی بوده، تعداد میکروارگانیسم‌های گرم مثبتی که توانایی رشد در برابر نفت خام را داشته باشند در نمونه‌های گرفته شده به مراتب کمتر بود. کلیه‌ی میکروارگانیسم‌های جدا سازی شده پس از انجام مطالعات میکروسکوپی به عنوان باکتری شناسایی شدند. با وجود انجام تحقیقات مختلفی بر روی کاربرد قارچ‌ها و مخمرها در تجزیه‌ی ترکیبات نفتی در این مطالعه بر روی هیچ‌کدام از محیط‌های کشت مخمر و یا قارچی که توانایی رشد در برابر ترکیبات نفتی را داشته باشد، رشد نکرد (۱۶). همان‌طور که در جدول ۱ مشخص است ۸ عدد از باکتری‌های به‌دست آمده میله‌ای و مابقی کروی بودند. برخی دیگر از محققین نیز موفق به جداسازی میکروارگانیسم‌هایی برای تجزیه‌ی ترکیبات آروماتیک شدند. به‌طور مثال رضایی و همکارانش در مطالعات خود موفق به جداسازی تعدادی میکروارگانیسم به کمک محیط‌های کشت فوق الذکر گردیدند که توانایی تجزیه برخی از ترکیبات آروماتیک را داشتند (۱۹). بر اساس نمودار ۱، ۵ نمونه‌ی دیگر از باکتری‌ها قادر بودند، بیش از ۶۰ درصد ترکیبات آروماتیک را تجزیه نمایند. راندمان تجزیه‌ی ترکیبات آروماتیک توسط A-۳ و A-۱۴ تقریباً یکسان بود. سودوموناس آیروژنوزا یکی از میکروارگانیسم‌های مهم در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی است و می‌تواند منجر به مرگ بیماران نیز گردد. لیکن ممکن است این میکروارگانیسم به مرور زمان به دلیل قرارگیری در محیط متفاوت با بدن انسان و یا بیمارستان دچار تغییرات ژنتیکی زیادی شده باشد. لذا این امر می‌تواند در تحقیقات بعدی محققین جهت ادامه‌ی این تحقیق در نظر گرفته شود و با کمک تکنولوژی‌های نوین توالی ژنتیکی میکروارگانیسم جدا شده در این مطالعه بررسی و با سودوموناس آیروژنوزای ایجاد کننده‌ی عفونت‌های بیمارستانی مقایسه گردد (۱۶). تعداد زیادی از محققین موفق به جداسازی سودوموناس آیروژنوس برای تجزیه‌ی برخی از ترکیبات نفتی شده‌اند. به‌طور مثال لی و همکاران این میکروارگانیسم را از آب‌های خارج شده به همراه نفت خام از مخازن نفتی جدا نمودند. آن‌ها با کمک این میکروارگانیسم ۸۰ درصد نفت خام محلول در آب را تجزیه نمودند (۱۲). یکی از برتری‌های این مطالعه نسبت به مطالعه‌ی لی و همکارانش تجزیه‌ی ترکیبات آروماتیک موجود در نفت خام شناور بر روی آب بود که کمتر محققی به این امر پرداخته است. در مطالعات مشابه انجام پذیرفته، اغلب محققین به بررسی تجزیه‌ی بخش محلول شده نفت خام و یا قطرات کوچک نفتی موجود در فاضلاب‌های آلوده به نفت پرداخته‌اند لیکن در این مطالعه به بررسی تجزیه‌ی نفت خام شناور بر روی آب در غلظت‌های بالا پرداخته شده است (۱۶). لیانگ و همکارانش نیز در مطالعه خود به بررسی تجزیه‌ی ترکیبات نفتی با کمک سودوموناس آیروژنوزا پرداختند و در گزارشات خود امکان تجزیه‌ی ترکیبات نفتی را توسط این میکروارگانیسم تایید نمودند (۲۰).

در ادامه‌ی مطالعه برای تعیین صحت آزمایش‌های انجام شده با روش اسپکتروفتومتری و همچنین تعیین تجزیه‌ی احتمالی سایر بخش‌های نفت خام از دستگاه کارماتوگرافی گازی جهت مشخص نمودن کارایی میکروارگانیسم سودوموناس آیروژنوزا در تجزیه‌ی کل ترکیبات نفتی (TPH) استفاده گردید زیرا بخشی از TPH را هیدروکربن‌ها آروماتیک

تشکیل می‌دهند. نتایج این آزمایش در نمودار ۲ و ۳ نمایش داده شده است. روش به کار گرفته شده در انجام آزمایش کروماتوگرافی گازی منجر به نمایش ملکول‌های ۱۰ کربنه الی ۴۰ کربنه در نمونه‌ی ورودی شد. بزرگ‌ترین و اولین پیک نمایش داده شده در نمودار ۲، حلال استفاده شده برای جداسازی فاز آلی (تتراکلریدکربن) از محیط کشت بود و سایر پیک‌های ایجاد شده مربوط به بخش‌های مختلف نفت خامی بوده که در نمونه‌ی شاهد موجود بود. همان طور که مشخص است، بسیاری از پیک‌های موجود در نمونه‌ی شاهد در نمودار ۳ کاملاً محو و یا بسیار کاهش یافته است. این امر نشان دهنده‌ی مصرف بخش عمده‌ای از نفت خام توسط سودوموناس آیروژنوزا می‌باشد. تلز و همکارانش نیز در مطالعه‌ی خود موفق به تجزیه‌ی ۹۸ درصد نفت خام موجود در آب‌های خروجی از چاه‌های نفت شدند که فقط حاوی بخش محلول شده نفت خام و قطرات کوچک نفتی بود. آن‌ها از راکتور لجن فعال با یک دوره‌ی سازگار سازی ۱۰ روزه برای مطالعه‌ی خود استفاده نمودند (۱۳). لیکن در مطالعه‌ی آن‌ها از غلظت نفت ورودی کمتری به راکتور در مقایسه با مطالعه‌ی حاضر استفاده شده بود. همچنین در مطالعه‌ی حاضر نیازی به طی مرحله‌ی سازگارسازی نیز نبود که این خود یکی از برتری‌های این مطالعه بود. همان‌طور که در این نمودارها مشخص است، سودوموناس آیروژنوزا تقریباً قادر به مصرف کلیه‌ی بخش‌های نفت خام به عنوان منبع کربن خود بوده است و تجزیه‌ی نفت خام توسط این میکروارگانیسم محدود به طیف خاصی از ترکیبات نفتی موجود در نفت خام نمی‌گردد.

آزمون‌های تولید بیوسورفاکتانت: میکروارگانیسم‌ها با تولید آنزیم‌هایی خاص باعث ایجاد قطرات بسیار ریزی از توده‌های بزرگ نفت می‌شوند. این آنزیم‌ها را اصطلاحاً بیوسورفکتانت می‌نامند. بیوسورفاکتانت‌ها باعث ایجاد سطح تماس بیشتر بین میکروارگانیسم‌ها و نفت شده باعث افزایش سرعت تجزیه‌ی ترکیبات نفتی می‌شوند. میزان کارایی بیوسورفکتانت تولیدی با کمک آزمایش‌های مختلفی از قبیل آزمون پراکندگی نفت و E24 مشخص می‌گردد (۱۶). بر اساس جدول ۲، باکتری‌های A-۱۴ و A-۳ که بیشترین مقدار تجزیه‌ی ترکیبات آروماتیک موجود در نفت خام را ارایه دادند، تنها قادر به تولید ۱۲ درصد شاخص امولسیون سازی بودند و باکتری A-۱۲ قادر به تولید بیشترین میزان شاخص امولسیون سازی (۳۶ درصد) بود. برخی از محققین همچون لیانگ و همکاران در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که وجود ترکیبات سورفکتانتی برای شروع تجزیه‌ی ترکیبات نفتی لازم و ضروری است و بعضاً اضافه نمودن سورفکتانت سنتزی برای شروع تجزیه بیولوژیکی لازم می‌گردد (۲۰). همان‌طورکه از نتایج ارایه شده در جدول ۲ مشخص است کلیه‌ی میکروارگانیسم‌های جدا شده در این تحقیق قادر به تولید بیوسورفکتانت بوده، برای شروع تجزیه‌ی بیولوژیکی نیازی به اضافه نمودن سورفکتانت‌های سنتزی به محیط کشت نبوده است که این امر نیز یکی دیگر از برتری‌های این مطالعه نسبت به سایر مطالعات قبلی بوده است. میکروارگانیسم A-۱۴ پس از مطالعات میکروب‌شناسی به عنوان سودوموناس آیروژنوزا شناسایی گردید که محققین مختلف نیز موفق به جداسازی آن از سایر محیط‌های آلوده و کاربرد آن در تجزیه‌ی برخی برش‌های نفتی شده بودند. البته لازم به ذکر است که استفاده از کشت‌های خالص میکروارگانیسم‌ها در صنعت بعضاً مشکل بوده، نیازمند تحقیقات بیشتر در مقیاس‌های نیمه صنعتی و در نهایت صنعتی می‌باشد. کلیه‌ی میکروارگانیسم‌های جدا شده در این مطالعه توانایی تولید بیوسورفکتانت‌ها را داشته، می‌توانستند بدون نیاز به اضافه نمودن سورفکتانت سنتزی به محیط، تجزیه‌ی ترکیبات آروماتیک را شروع نمایند. این در حالی است که برخی از محققین اضافه نمودن ترکیبات سریع تجزیه شونده همچون گلسیرین و یا سورفکتانت‌های سنتزی را برای شروع

فرآیند تجزیه‌ی بیولوژیکی ترکیبات نفتی لازم دانسته‌اند. با توجه به نتایج آزمایش‌های کروماتوگرافی گازی (GC)، سودوموناس آیروژنوزای جدا شده در این مطالعه علاوه بر توانایی تجزیه‌ی ترکیبات آروماتیک موجود در نفت خام، توانایی تجزیه‌ی تقریباً کلیه‌ی بخش‌های نفت خام را نیز داشت. استفاده از میکروارگانیسم‌های جدا شده در این مطالعه در تصفیه‌ی فاضلاب‌های آلوده به ترکیبات نفتی می‌تواند منجر به حذف مرحله‌ی سازگارسازی میکروارگانیسم‌ها در تصفیه خانه‌های صنعتی گردد. این امر در مرحله‌ی راه‌اندازی تصفیه خانه‌های صنایع نفتی اهمیت بسیاری می‌یابد و منجر به کاهش زمان مورد نیاز در به حداکثر رساندن راندمان تصفیه و جلوگیری از آلودگی محیط زیست می‌گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که امکان تجزیه بیولوژیکی ترکیبات آروماتیک موجود در نفت خام که از سمی‌ترین ترکیبات آن محسوب می‌گردد وجود دارد. همچنین مشخص گردید که در طبیعت امکان یافت میکروارگانیسم‌هایی که توانایی تجزیه‌ی ترکیبات نفتی را بدون طی مرحله سازگارسازی داشته باشد، وجود دارد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله از همکاری صمیمانه‌ی گروه مهندسی شیمی دانشگاه اصفهان و گروه مهندسی عمران و محیط زیست موسسه‌ی آموزش عالی جامی کمال تشکر را دارند.

References

1- Rittman BE, McCarty PL. Environmental biotecnology principles and application. Singapore: McGraw-HILL; 2001.

2- Juhasz AL, Naidu R. Bioremedition of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. *Inter Biodeter Biodegrad*. 2000; 45: 57-88.

3- Dobler R, Saner M, Bachofen R. Population changes of soil microbial communities induced by hydrocarbon and heavy metal contamination. *Bioremediation J*. 2000; 4: 41-56.

4- Ewies JB, Ergas SJ, Chang DPV, Schroeder ED. Bioremediation principles. USA: Mc Graw-Hill; 1998.

5- Qingxin L, Kang C, Zhang CH. Waste water produced from an oilfield and continuous treatment with and oil-degrading bacterium. *Process Biochem*. 2005; 40, 873-7.

6- Kastner M. Degradation of aromatic and polyaromatic compounds. 211-71. In: Rehm HJ, Reed G. Biotechnology, environmental processes. Germany: Wiley Vch; 2000.

7- Sudip KS, Om VS, Rakesh KJ. Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. *Trends in Biotechnol*. 2002; 20: 243-8.

8- Cookson JT, Bioremediation engineering design and application, New York: Mc Graw-Hill; 1995.

9- Laor Y, Storm PF, Farmer WJ. Bioavailability of phenanthrene sorbed to mineral-associated humic acid. *Wat Res.* 1999; 33: 1719-29.

10- Talaie AR, Jafaarzadeh N, Talaie MR, Beheshti M. Optimization of floating crude biodegradation by experimental design method. *Koomesh J Semnan Uni Med Sci.* 2008; 11: 41-54.

11- Talaie AR, Jafaarzadeh N, Talaie MR, Optimization biodegradation of floating diesel fuel contaminated wastewater using the tagochi method. *J Water Wastewater*. 2008; 20: 57-68.

12- Reisinger HJ, Johnstone EF, Hubbard P. Cost effectiveness and feasibility comparision of bioventing vs. conventional soil venting. In: Hinchee RE, Alleman BC, Hoeppel RE, Miller RN. Hydrocarbon bioremediation, USA: Lewis; 2004.

13- Tellez GT, Nirmalakhandan N, Jorge L, Torresdey G. Performance evaluation of an activated sludge system for removing petroleum hydrocarbons from oilfield produced water performance evaluation of an active sludge system for removing petroleum hydrocarbons from oilfield produced water. *Adv Environ Res.* 2002; 6: 455-70.

14- Dibble JT, Bartha R. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Appl Environ Microbiol.* 1979; 37: 729-39.

15- Vieira PA, Vieira RB, Franc FP, deCardoso VL. Biodegradation of effluent contaminated with diesel fuel and gasoline. *J Hazar Mater.* 2007; 140: 52-9.

16- Talaie AR. Parametric study of petroleum compounds biodegradation using microorganisms, [dissertation] Ahvaz: Ahvaz Branch of Azad University; 2008.

17- Bisher L. Practical microbiology, Tehran: Tehran university publication; 1992.

18- Makkar RS, Cameotra SS. Production of biosurfactant at mesophilic and thermophilic conditions by a strain of *Bacillus subtilis*. *Indus Microb Biotech.* 1998; 20: 48-52.

19- Rezaee kalantari R. Effect of humic compounds on bioremediation of hydrocarbon contaminated soils; [dissertation]. Tehran: Tarbiat modares University; 2003.

20- Zhang GL, Wu YT, Xian XP, Meng Q. Biodegradation of crude by pseudomonas aeruginosa in the presence of rhamnolipids. *J of Zhejiang Uni Sci.* 2005; 6B: 725-30.

Biodegradation of Aromatic Compounds in Crude Oil by Isolated Microorganisms from Environment

Talaie AR[1], Jafaarzahe N[2], Talaie M[3], Beheshti M[3]

[1]Dept. of Civil and Environmental Engineering, Delijan Jami Institute of Technology, Delijan, Iran.

[2]Dept. of Environmental Health, Jondishopor University of Medical Sciences, Ahwaz, Iran.

[3]Dept. of Chemical Engineering, Isfahan University, Isfahan, Iran

***Corresponding Author*:** Talaie AR, Dept. of Civil and Environmental Engineering, Jami Institute of Technology, Delijan, Iran.

E-mail: atalaie@jami.ac.ir

Received: 9 May 2009 **Accepted:** 3 Oct 2009

Background and Objective: Oil pollutions are one of the most important environmental problems worldwide that researchers have tried different methods for its degradation. In this regards biological methods attracted the attention of the researchers more than other methods. The main objective of this study was to find microorganisms that could degrade aromatic components in the floating crude oil.

***Materials and Methods*:** In order to find such microorganisms, some samples were taken from areas contaminated by petroleum compounds. Microorganisms that could live with crude oil as sole carbon source were isolated. From these samples 14 microorganisms isolated which all were bacteria. The variations of aromatic compounds concentration were measured by gas chromatography method.

Results: Among 14 microorganisms two microorganisms that called A-3 and A-14 had more ability and degraded the aromatic components 89% and 86% respectively. By microbiological techniques it was found that A-14 is *pseudomonas aerogenusa.*

Conclusion: The results of this study showed that biodegradation of aromatic compounds that are one of the must toxic materials in crude oil are possible. Also indicated that some oil-degrading microorganisms exist in the nature that do not need to adaptation for biodegradation of oily compounds.

Key words: Aromatic Compounds, Crude Oil, Biodegradation, Pseudomonas Aerogenusa, Pure Culture.