



## کد مقاله: Foodconf-1001

### نقش باکتری های تولید کننده بیوسورفکتانت در کاهش آلودگی های نفتی خاک

راضیه یزدانی<sup>۱\*</sup>، سید مجید لوح موسوی<sup>۲</sup>

۱- دانشجوی زیست شناسی سلولی مولکولی گرایش ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان

۲- عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان

[Ryazdani1997@gmail.com](mailto:Ryazdani1997@gmail.com)

#### چکیده

سابقه و هدف: بیوسورفکتانت ها ترکیبات زیستی آمفیفیلیک خارج سلولی یا بخشی از غشاء های سلولی تولید شده بوسیله انواع میکروارگانیسم ها هستند. هدف از این مطالعه شناخت مؤثرترین سویه باکتری تولید کننده بیوسورفکتانت در تجزیه هیدروکربن های نفتی در خاک های زراعی می باشد. مروری بر تحقیقات گذشته : در مطالعات پوررمی و همکاران از میان ۸۸ سویه باکتری جداسازی شده باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیس و سودوموناس آروژینوزا بیشترین اثر را در کاهش کشش سطحی دارا بودند و به کمتر از  $40 \text{ mn/m}$  رساندند. در مطالعات عادل و همکاران مؤثرترین سویه تولید کننده بیوسورفکتانت شیوانلا آلگاو شیوانلا یوینی بود. در مطالعه بنات سویه باکتری های سودوموناس آروژینوزا و سودوموناس فلورسانس مؤثرترین سویه های باکتری تولید کننده بیوسورفکتانت و همچنین تجزیه هیدروکربن های نفتی شناخته شد. نتیجه گیری و بحث : بیوسورفکتانت ها که گروهی از سورفکتانت ها هستند؛ این مولکول ها از دو بخش آبدوست و آبگریز تشکیل شده اند و از این رو قادر به افزایش تجزیه زیستی مواد آلی نامحلول در آب مانند هیدروکربن های نفتی می باشد. در بین میکروارگانیسم های تولید کننده بیوسورفکتانت باکتری سودوموناس آروژینوزا با تولید بیوسورفکتانت رامنولپید مؤثرترین سویه باکتری در بازیافت هیدروکربن های نفتی شناخته شد.

کلمات کلیدی : باکتری سودوموناس آروژینوزا، بیوسورفکتانت ها، سورفکتانت ها، هیدروکربن های نفتی

#### مقدمه

بیوسورفکتانت ها بواسطه میل به جذب سطحی شناخته می شوند و ترکیباتی آلی هستند که به طور گسترده وجود دارند [۱].

بیوسورفکتانت ها متابولیت های میکروبی دارای فعالیت سطحی بوده و از طریق تجمع در سطح بینابینی دو فاز غیر قابل اختلاط کشش سطحی را کاهش می دهند و باعث افزایش حلالیت ترکیبات آلی هیدروفوب می شوند. کاربرد این مواد در پنج دهه اخیر به علت زیست تخریب پذیری در مقایسه با سورفکتانت های شیمیایی به مقدار زیادی گسترش یافته است. دو مکانیسم برای افزایش تجزیه ترکیبات آلی کم محلول توسط بیوسورفکتانت ها وجود دارد :

۱- بیوسورفکتانت ها ترکیبات آبگریز را در داخل میسل های خود حل نموده و از این طریق به طور مؤثری حلالیت آبی ظاهری ترکیبات آلی و قابلیت دسترسی آن ها برای جذب توسط یک سلول افزایش می دهند.



۲- بیوسورفکتانت ها مانند شوینده (دترجنت) عمل می کنند و باعث آبگریز شدن سطح سلول شده (در نتیجه کاهش و حذف لیپوبلی ساکارید های غشاء خارجی) و در نتیجه افزایش تماس فیزیکی بین سلول و ترکیبات کم محلول فراهم می شود.

سمیت پایین، تجزیه زیستی بالاتر، سازگاری بالاتر با محیط زیست و توانایی سنتز آن ها در منابع تجدیدپذیر چندعملکردی بودن آنها و فعالیت ثابت و پایدار تحت شرایط سخت محیطی مانند pH، دمای بسیار بالا یا دمای بسیار پایین مزیت بیوسورفکتانت ها بر سورفکتانت های شیمیایی می باشد [۲].

مهم ترین انواع بیوسورفکتانت ها گلیکولیپیدها (گلیکولیپیدها) هستند که عبارتند از: رامنولیپید، تری هالولیپید ها و سوفورولیپیدها [۳]. ضریب تفکیک بالای هیدروکربن های نفتی که به میزان قطبیت دو سیال بستگی دارد، می تواند باعث جذب شدید این ترکیبات به سطح ذرات خاک شده و در محیط خاک ته نشین شوند؛ در خاک تجمع می کنند به طوری که خاک ممکن است به عنوان محل ذخیره این ترکیبات ذکر شوند [۳]. غلظتی که در آن میسل ها شروع به تجمع می کنند، غلظت بحرانی میسل<sup>۱</sup> نامیده می شود. این غلظت به نقطه ای مربوط است که در آن سورفکتانت کمترین کشش سطحی را نشان می دهد. در غلظت های پایین تر از بحرانی میسل (CMC)، به علت باندشدن میکروارگانیسم و سورفکتانت، میسل ها ظاهر نمی شوند [۴]. این مولکول ها به علت دو قطبی بودن ترجیحاً تمایل دارند در سطح بین مایع با هوا یا بین مایعات با درجه قطبیت و باندهای هیدروژنی مختلف مانند آب/هوا یا آب/نفت قرار بگیرند [۵و۶].

میکروارگانیسم های تولید کننده این ترکیبات به دلیل دارا بودن نسبت بالای سطح به حجم و ظرفیت متنوع بیوسنتتیک، گزینه مناسبی برای گسترش بیوسورفکتانت ها می باشند [۷].

#### تولید بیوسورفکتانت ها توسط میکروارگانیسم ها :

انواع بسیار زیادی از بیوسورفکتانت ها شناخته شده است، که مقدار و کیفیت آن ها متأثر از نوع کربن سوبسترا، غلظت یون های فسفر، نیتروژن، منیزیم و آهن در محیط و همچنین شرایط کشت میکروارگانیسم ها از جمله PH، دما، رقیق سازی وابسته می باشد [۸].

میکروارگانیسم های تولید کننده بیوسورفکتانت ها به دلیل توانایی تحمل شرایط محیطی سخت از جمله دمای بالا، فشار، شوری و توانایی رشد در محیط های بی هوازی و میکروآتروفیل را دارند و بنابراین می توان از این میکروارگانیسم ها در چاه های نفت استفاده نمود و به چاه های نفت تزریق نمود. مطابق مطالعات کلرک و همکاران در سال ۱۹۸۱ در ایالات متحده آمریکا تخمین زده شده است که ۵۰ تا ۷۰ درصد از چاه های نفت این کشور می توانند رشد میکروبی میکروارگانیسم ها در محدوده PH ۴ تا ۸ و دمای حداکثر تا ۷۵ درجه سانتی گراد و شوری حداکثر تا ۱۰ درصد را تحمل و رشد میکروارگانیسم ها پشتیبانی کنند [۸].

<sup>1</sup> Critical micelle concentration ) CMC(



### منابع کشت بیوسورفکتانت ها

چندین نوع از بیوسورفکتانت ها شناخته و جداسازی شده اند که شامل ترکیباتی از جمله گلیکولیپیدها، فسفولیپیدها، چربی های خنثی، اسید های چرب، پتیدولیپید ها، لیپولی ساکارید ها می باشند و چندین گونه دیگر که ترکیبات آنها هنوز شناخته نشده است [۸]. برخی از میکروارگانیسم ها در بخش های خاصی از محیط زیست سازگاری یافته اند مانند مخازن نفت، خاک و یا در دریا ها و اقیانوس ها . در ضمن مطالعه ای در کشور ونزوئلا باکتری سودوموناس سویه سودوموناس آئروژینوزا از نفت خام جدا شده و پس از جداسازی به منبع ذخیره آب که آلوده به هیدروکربن های نفتی بود اضافه گردید . این سویه توانست در محیط جدید با وجود شرایط دشوارتر محیطی از جمله غلظت بالای کلسیم ، منیزیم و درجه شوری سازگاری پیدا کند و به علاوه بیوسورفکتانت تولید شده توسط این باکتری تحت عنوان رامنولیپید ها نیز تغییری نکرده و توانست در تجزیه نفت نقش مؤثری را ایفا نماید. دیگر میکروارگانیسم های جدا شده از هیدروکربن های نفتی و خاک های آلوده می توان به ردوکوکوس ها، باسیلوس پومیلوس و انتروباکتر ها را نام برد. سایر میکروارگانیسم ها از منابع سوخت آلوده جدا سازی شدند . از جمله آگروباکتریوم آنتروپی یا از آب های آلوده جداسازی شدند مثل سودوموناس آئروژینوزا را نام برد [۸].

### مروری بر تحقیقات گذشته

تخمیر بیوسورفکتانت ها توسط گونه های بسیار مختلفی از میکروارگانیسم ها صورت می گیرد که در تحقیقات گذشته مورد بررسی قرار گرفته است. شرایط تولید و گسترش بیوسورفکتانت ها توسط چندین گونه از میکروارگانیسم ها مشخص شده است؛ در باکتری سودوموناس آئروژینوزا مشخص شده است که قادر به تولید بیوسورفکتانتی به نام رامنولیپید می باشد و به طور متوسط این ماده بر اکسید شدن نیتروژن و افزایش تولید فسفات لیمیت شده است. ردوکوکوس اس پی حداکثر میزان رشد و تولید بیوسورفکتانت ها را در محیط کشت ۰.۲٪ حجمی/حجمی حاوی ان-پارافین، نیترات به عنوان منبع نیتروژن را دارا می باشد و اولین محصول متابولیسم این باکتری به طور مستمر در محیط کشت تولید می شود [۹].

همچنین باکتری کانیدا بامبیکلا در شرایط کمبود نیتروژن محیطی قادر به تولید سوپروز لیپید می باشد. از جمله تکنیک هایی که برای شناسایی و تولید بیوسورفکتانت ها در حال توسعه می باشد به همولیز در محیط بلاد آگار، روش گسترش نفت، تست انهدام قطره، فعالیت امولسیون کننده و سنجش آگریزی سلول را نام برد.

### بحث

رایج ترین اشکال اصلاح زیستی در مقایسه با سایر گزینه ها، زمان نسبتاً طولانی به دلیل کینتیک کند آن ها است. تصفیه زیستی عبارت است از استفاده از میکروارگانیسم ها برای تبدیل مواد آلی آلوده کننده به ترکیبات کم خطرتر که این ترکیبات در مرحله بعد وارد چرخه های طبیعی می شوند. استفاده از این تکنولوژی با استفاده از میکروارگانیسم ها و متابولیت های آنها باعث افزایش بازیافت نفت خام و کاهش هدررفت آن از مخازن نفت و همچنین پاکسازی خاک های زراعی می شود [۱۰].





در حضور بیوسورفکتانت ها در اثر افزایش دسترسی زیستی به هیدروکربن میزان تجزیه زیستی شتاب می یابد؛ برای تجزیه هیدروکربن های نفتی نه تنها بر هم کنش بین سورفکتانت و هیدروکربن های نفتی مهم است بلکه بر هم کنش بین سورفکتانت و میکروارگانیسم، که ممکن است چسبندگی هیدروکربن به غشاء سلول را فراهم آورد، نیز عامل مهم دیگری است. عموماً مشخص شده است که نفت باعث خفتگی و اثرات سمی و فیزیولوژیکی بر گیاهان موجود در منطقه زراعی آلوده و سایر موجودات می شود. حتی اگر یک فرآورده نفتی به خودی خود سمی نباشد، زمانی که گیاهان و جانوران را بطور فیزیکی می پوشاند، ممکن باعث دخالت در عملکردهای فیزیولوژیکی معمول و مرگ جاندار شود [۱۱].

میکروارگانیسم ها از جمله باکتری ها از هیدروکربن های نفتی را به موادی همچون اسیدها، الکل ها، فنل ها، هیدروپراکسید ها، ترکیبات کربونیل، استرها و در نهایت دی اکسید کربن و آب تبدیل می کنند که شدت تصفیه هیدروکربن های نفتی به عوامل مختلفی از جمله ۱- ترکیب و غلظت آلودگی، ۲- جمعیت میکروبی مناسب، ۳- اسیدیته، اکسیژن و مواد مغذی محیط، ۴- ساختار و خواص فیزیکوشیمیایی خاک، ۵- تاریخچه آلودگی، ۶- دما، رطوبت، شوری محیط وابسته است [۱۱ و ۱۲]. بهینه سازی به روش های مختلف از جمله افزودن ترکیبات شیمیایی، تنظیم رطوبت، هوادهی، افزودن میکروب های آلودگی زدا و یا کمپوست کردن خاک با افزودن پسماندهای کشاورزی و دامی صورت می پذیرد. این عملیات ممکن است همراه با جابجا کردن یا بدون جابجا کردن خاک صورت پذیرد [۱۲].

### نتیجه گیری

با توجه به پژوهش های انجام گرفته در این زمینه میکروارگانیسم های مولد بیوسورفکتانت که از مؤثرترین این میکروارگانیسم ها در تجزیه نفت می توان به سودوموناس آئروژینوزا با تولید بیوسورفکتانت رامنولیپید و سودوموناس فلورسانس با تولید بیوسورفکتانت لیپوپتید را نام برد؛ که با کاهش کشش سطحی و بین سطحی مایعات و تشکیل میکرومولسیون بوسیله بیوسورفکتانت های تولیدی قادرند هیدروکربن های نفتی را تجزیه کنند. همچنین با بهینه کردن شرایط محیطی از جمله دما و pH و سایر فاکتور های محیطی می توان شرایط مناسب تری را برای تولید و ترشح بیوسورفکتانت ها ایجاد نمود. اما مکان های با آلودگی بالا (مناطق که به طور متمرکز و یا تحت تأثیر حرارت آلوده شده اند) استفاده از سورفکتانت های شیمیایی به صورت خارج از مکان نتایج مطلوب تری را حاصل می نماید.

### منابع کنفرانس ملی دستاوردهای نوین در

[1] Farn, R.J., 2006., Chemistry and Technology of surfactant, Blackwell publishing, 1, Britain, 315

[2] Tabatabaee, A., Mazaheri Assadi, M., Noohi, A. A., Sajadian, V. A., 2005., Isolation of biosurfactant producing Bacteria from oil reservoirs, Iranian JENV health, 1, 6-12.

[۳] قمی اوپلی، م. ۱۳۹۰. تعیین پارامتر های سینتیکی رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا در تولید بیوسورفکتانت رامنولیپید با استفاده از سوبسترای گلیسرول، دانشگاه شهید با هنر کرمان، پایان نامه دوره کارشناسی ارشد.

[۴] گلشن، م.، فرزاد کیا، م.، اسرافیلی، ع.، رضایی کلانتری، ر.، کریمی تکانلو، ل.، ۱۳۹۳. ارزیابی کارایی بیوسورفکتانت رامنولیپید MR01 و تریتون X-100 در حذف فنانترون از خاک، ۲، ۱۵۶-۱۴۳.



[۵] صفری، ا.، اکبر زاده خیایوی، م.، رعایایی اردکانی، م.، معتمدی، ح.، ۱۳۹۰. جداسازی باکتری های تولید کننده بیوسورفکتانت از اکوسیستم دریای خزر و تعیین فعالیت بیوسورفکتانتی آنها، فصلنامه علمی - پژوهشی فیض، ۴، ۳۳۱-۳۳۷.

[۶] عادل، م.، شاهیان، م. ح.، کریمی نیک، ا.، ۱۳۹۲. جداسازی شناسایی و تعیین ویژگی دو گونه شیوانلای تولید بیوسورفکتانت از خلیج فارس، مجله دنیای میکروب ها، ۱۴، ۶۱-۵۳.

[۷] مصطفی پور رمی، م. ج.، اسب چین، س. ا.، ۱۳۹۲. جداسازی و شناسایی باکتری تولید کننده بیوسورفکتانت از جنس باسیلوس سرئوس و بررسی اثرات ضد باکتریایی بیوسورفکتانت تولیدی در شرایط آزمایشگاهی، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک، ۱۲، ۷۴-۵۹.

[8] Banat, I.M. ,1994,. Biosurfactants production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation bioresource technology,51, 1-12.

[9] Salehzadeh, H. and Mohammadzad, S. ,2009,. Microbial enhanced oil recovery using biosurfactant produced by Alcaligenes faecalis, Iranian journal of Biotechnology, 4, 216-223.

[10] Gudina, E.J., Pereira, J.F.B, Costa, R., Coutinho, A. P., Teixeira, J.A. and Rodrigues, L. R. ,2013,. Biosurfactant- producing and oil degrading Bacillus

[۱۱] فخرزادگان، ا.، شاهیان، م. ح.، عسکری حصنی، م.، ۱۳۹۴. جداسازی و شناسایی باکتری های تجزیه کننده نفت خام از اکوسیستم جنگل های حرا بندر خمیر و میناب شمال خلیج فارس، مجله بوم شناسی آبریان، ۳، ۷۹-۷۰.

[۱۲] برین، ر.، ۱۳۹۱. بررسی حذف آلودگی های نفتی از خاک های آلوده به روش زیستی، دانشگاه اصفهان دانشکده علوم و فناوری های نوین بیوتکنولوژی، پایان نامه دوره کارشناسی ارشد.

کنفرانس ملی دستاوردهای نوین در  
 صنایع غذایی و تغذیه سالم