

## اصلاح زیستی خاک آلوده به فنانترو و پیرن توسط کود مرغی

مهدی یزدانی

دانشجوی کارشناسی شیمی محیط زیست، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان).

mehdiyazdani2010@yahoo.com

### چکیده

یکی از شایع‌ترین آلاینده‌های موجود در خاک، هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای هستند. این ترکیبات به علت پراکنش محیطی گسترده، سرطان‌زایی و ایجاد اختلالات جنینی از اهمیتی خاص برخوردارند. بر اساس مقایسه‌ی روش‌های مختلف، کاربرد روش‌های زیستی در بین گزینه‌های اصلاح خاک آلوده، مقرون به صرفه و دارای برتری است. علاوه بر انتخاب بهترین روش، باید سایر عوامل اثرگذار را نیز مورد بررسی قرار داد تا بالاترین راندمان را در اثر استفاده از روش مورد نظر به دست آورد. علاوه بر اینکه کود مرغی دارای میکروارگانیسم‌های موثر بر اصلاح زیستی است، عناصر غذایی مورد نیاز را نیز می‌تواند برای کشت مجدد خاک، فراهم کند. در این مقاله با استناد به پژوهش‌های قبلی در مورد اصلاح زیستی هیدروکربن‌های حلقوی در طی سال‌های گذشته، اهمیت خاک در زندگی همه‌ی موجودات و همچنین استفاده از توان بالای باکتری‌های موجود در کود مرغی، روش ترکیب این کود با خاک آلوده به فنانترو و پیرن مورد بازبینی قرار گرفته است.

**واژه‌های کلیدی:** اصلاح زیستی، فنانترو، پیرن، کود مرغی، سودوموناس.

### هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای

هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای<sup>۱</sup> به ترکیباتی اطلاق می‌شود که دارای دو یا چند حلقه بنزنی هستند و از مواد شیمیایی بالقوه خطرناک برای محیط زیست و همچنین آلاینده عمده آب، هوا و خاک محسوب می‌شوند. این ترکیبات بر اساس تعداد حلقه‌ها، نوع حلقه و ترکیب اتم‌هایشان طبقه‌بندی می‌شوند. گروهی از آنها با وزن مولکولی کم، دارای ۲ یا ۳ حلقه‌ی آروماتیک و گروهی دیگر با وزن مولکولی بالا، حاوی بیش از ۳ حلقه آروماتیک هستند. هیدروکربن‌های آروماتیک تنها اتم‌های کربن و هیدروژن در ساختار خود دارند، اما بعضی از کربن‌های آنها می‌توانند به وسیله‌ی نیتروژن، سولفور و اکسیژن جانشین شده و در نتیجه هیدروکربن‌های هتروآروماتیک چند حلقه‌ای از قبیل کاربازول و بنزوفوران ایجاد شود. امروزه می‌دانیم که هیدروکربن‌های با وزن مولکولی کم واقعاً سمی و گروه دیگر با وزن مولکولی بالا، جهش‌زا هستند. هیدروکربن‌ها تا حد زیادی در چربی‌ها محلول بوده و به راحتی

توسط کبد و غدد لنفاوی پستانداران جذب می‌شوند. آنها توسط خون و کبد سریعاً در تمام بافت‌های بدن توزیع و البته به لحاظ نوع حالیت، بیشتر در چربی‌های بدن تجمع پیدا می‌کنند. وجود آنها در محیط زیست به علت سمیت زیاد، اثرهای سرطان‌زایی و مقاومت زیست محیطی یک نگرانی بزرگ به شمار می‌رود. به همین دلیل توسط آژانس حفاظت محیط زیست ایالت متحده آمریکا<sup>۲</sup> و آژانس مواد سمی و ثبت بیماری<sup>۳</sup> به‌عنوان آلاینده‌های دارای تقدم بالا معرفی شده‌اند (۱۲).

تاکنون پژوهش‌های گسترده‌ای بر روی تجزیه زیستی در باکتری‌های جدا شده از محیط‌های طبیعی صورت گرفته است. سودوموناس‌ها از مهم‌ترین باکتری‌های تجزیه‌کننده ترکیبات آروماتیک هستند. این باکتری‌ها قادر به استفاده از ترکیبات مذکور و تبدیل آنها به دی‌اکسیدکربن و انرژی هستند. با توجه به نتایج پژوهش‌ها ملاحظه می‌شود که پژوهشگران سودوموناس‌ها را به‌عنوان مهم‌ترین جنس تجزیه‌کننده ترکیبات آروماتیک، در اکوسیستم‌های مختلف

2- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY

3- Agency for Toxic Substances and Disease Registry

1- Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

## "یزدانی، اصلاح زیستی خاک آلوده به فناترن و پیرن توسط کود مرغی"

میکروارگانسیم‌های بومی یک حوزه جهت حذف آلودگی هیدروکربن‌ها بدون هرگونه دستکاری ژنتیکی و انواع غیر بومی، می‌توان اظهار داشت اصول پایه‌ای ایمنی زیستی بر طبق پروتکل کارتاها رعایت شده است (۱).

### فناثرن

فناثرن از جمله ترکیبات سه حلقه‌ای آروماتیک بوده و به دنبال انتقال به انسان عوارض متعددی نظیر ضایعات کبدی و کلیوی را ایجاد می‌کند. همچنین پوست انسان را به نور حساس، مقدار کمی آلرژی ایجاد کرده و در سیستم‌های باکتریایی تحت شرایط مشخص جهش‌زایی می‌کند. برخی از پژوهش‌ها که در پدیده‌ی تجزیه باکتریایی فناثرن انجام شده است عبارتند از: جداسازی و شناسایی باکتری‌های تجزیه‌کننده‌ی هیدروکربن‌های پلی‌آروماتیک سه حلقه‌ای (آنتراسن و فناثرن) توسط عبدالسلام و همکاران در سال ۲۰۰۹، جداسازی باکتری‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (از جمله فناثرن) از خاک‌های مختلف قطر توسط الثانی و همکارانش در سال ۲۰۰۹. از دیگر

معرفی کرده‌اند (۱). مورزیک (۲۰۰۳) بر روی تجزیه زیستی هیدروکربن‌ها پژوهش‌هایی را انجام و دو جنس باکتریایی به نام مایکوباکتریوم و سودوموناس که قابلیت بالایی در تجزیه بیشتر ترکیبات هیدروکربن آروماتیک داشتند را مورد بررسی قرار داد (۲).

در بیشتر پژوهش‌های انجام شده دو جنس باکتریایی سودوموناس و مایکوباکتریوم جداسازی شده است که این واقعیت می‌تواند حاکی از مقاومت بالای این دو باکتری در برخورد با بیشتر هیدروکربن‌ها باشد. البته رایت در سال ۱۹۹۱ گزارش داد که میکروارگانسیم‌هایی که راه‌های تجزیه‌ای مشابه و اکسیژنازهای مشابه دارند قادر به تجزیه هیدروکربن‌ها هستند و تصور می‌شود که بیشتر این ترکیبات در حالی که از نظر ساختمان مشابه هستند (مانند فناثرن، آنتراسن، بنزن، نفتالین و پیرن) احتمال دارد اکسیژنازهای آن‌ها نیز مشابه باشد (۱۳). بنابراین مجموعه میکروارگانسیم‌های خالص سازی شده طیف وسیعی از آلاینده‌های محیطی را حذف می‌کنند که از این نظر بسیار سودمند هستند. در صورت استفاده از

### پیرن

پیرن یک هیدروکربن متقارن حاوی چهار حلقه‌ی آروماتیک به هم اتصال یافته است و یکی از ۱۲۹ آلوده کننده برتر گرد آوری شده به وسیله آژانس حفاظت محیط زیست ایالت متحده آمریکا است. پیرن خود، یک ترکیب جهش‌زا نیست ولی دارای چهار هسته آروماتیک است که در چندین هیدروکربن سرطان‌زا از قبیل بنزوپیرن، ۱ و ۲ و ۳ ایندینوپیرن و ۱ نیتروپیرن یافت می‌شود. اگر چه پیرن در شرایط طبیعی به وسیله جمعیت میکروبی بومی تجزیه می‌شوند ولی این فرآیندها به‌طور معمول زمان‌بر است، در نتیجه نیاز به توسعه روش‌های پاک‌سازی ساده و با صرفه برای خاک‌هایی که با هیدروکربن‌ها آلوده شده‌اند، امری بدیهی است. تاکنون پژوهش‌های گسترده‌ای بر روی تجزیه زیستی پیرن توسط باکتری‌های جدا شده از محیط‌های طبیعی صورت گرفته است. در سال ۱۹۹۸، چرچیل و همکاران موفق به جداسازی سویه مایکوباکتریوم با توانایی استفاده از هیدروکربن‌های سه و چهار حلقه‌ای شدند. در پژوهش‌های دیگری نیز که با هدف جداسازی و شناسایی باکتری‌های تجزیه کننده

پژوهش‌هایی که در این زمینه انجام شده است، می‌توان به پژوهش نوری و همکاران (۱۳۸۵) اشاره کرد. آن‌ها باکتری‌های گرم مثبت تجزیه کننده‌ی فنانتین آب‌های بنادر امیرآباد و نوشهر را مورد پژوهش قرار دادند و نتایج به دست آمده نشان داد که از ۱۶ نمونه‌ی جداسازی شده باکتری‌های گرم مثبت تجزیه کننده فنانتین، ۹ نمونه متعلق به جنس باسیلوس و ۷ نمونه کورینه باکتریوم بوده است. طبق نتایج آیتکن و همکاران در سال ۱۹۹۸، باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس در حضور فنانتین قادر به رشد بودند. در پژوهش آن‌ها این باکتری‌ها از قدرت رشد بالایی برخوردار بودند. کارول (۲۰۰۵) ۵۰ گونه‌ی باکتریایی تجزیه کننده فنانتین را، که همگی متعلق به جنس سودوموناس بودند را از خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی پالایشگاه مرسین در ترکیه جداسازی و خالص‌سازی کرد که بهترین رشد را در محیط کشت MM9 حاوی فنانتین داشتند (۳). همچنین در پژوهشی دیگر، اسیتو باکتر و استافیلوکوکوس توانستند به ترتیب حدود ۷۰ و ۸۰ درصد از فنانتین را حذف کنند (۲).

## "یزدانی، اصلاح زیستی خاک آلوده به فناترن و پیرن توسط کود مرغی"

پلازمید بزرگ یافت شد. نتایج نشان دادند که پلازمیدها نقش اساسی را در تکامل توانایی تجزیه در بین میکروارگانیسم‌ها بازی می‌کنند. آن‌ها به جمعیت‌های باکتریایی اجازه دسترسی به انتقال افقی ژن که ممکن است برای بقای آنها مهم باشد را می‌دهند. امروزه مکانیسم مقاومت به پیرن و پلازمیدهای مسئول، در باکتری‌ها به خوبی شناخته شده است. در نهایت چوهان و همکاران (۲۰۰۸) راهبردهای تجزیه زیستی را توسط باکتری‌ها مورد بررسی قرار داده و با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان گفت استفاده از روش تجزیه زیستی از خاک‌های حاوی آلاینده‌های آلی از قبیل پیرن در گام اول، مستلزم جداسازی و شناسایی دقیق باکتری‌های مؤثر و سپس کاربرد آن‌ها برای فرایند پاکسازی زیستی است. در پژوهش‌های مشابهی که در سال ۲۰۱۱ توسط کریستوفر و همکارانش انجام شد نیز توانایی استفاده و رشد سویه مایکوباکتریوم در محیط‌های کشت غنی‌سازی شده در حضور هیدروکربن پیرن تایید شد. باکتری جداسازی شده در تجزیه فناترن با سه حلقه آروماتیک و پیرن با چهار حلقه آروماتیک بسیار مؤثر ولی در استفاده از

ترکیبات سه و چهار حلقه‌ای از قبیل آنتراسن، فناترن و پیرن بر روی محیط آبی انجام شد، جنس‌های باکتریایی گوردونیا و رودوکوکوس به‌عنوان باکتری‌های توانمند در تجزیه پیرن، جداسازی شد. همچنین به‌طور گسترده‌ای در اکوسیستم آبی و خاکی تجزیه هیدروکربن پیرن به وسیله باکتری‌های جدا شده، گزارش شد. در پژوهش‌های دیگر نیز، محصولات متابولیسم ناقص پیرن به وسیله چندین سویه باکتریایی متفاوت مورد بررسی قرار گرفت. از جمله در سودوموناس اشتوتزری و باسیلوس سرئوس، پیرن به سیس - ۵ دی هیدروکسی، ۵ دی هیدرو پیرن و در اسفینگوموناس یانوی کویای، پیرن به پیرن ۴ و ۵ دیون و سیس - ۵ دی هیدرو، ۵ دی هیدروکسی پیرن متابولیزه شد. در حالی که پژوهشگران دیگری، متابولیسم کامل پیرن به آب و دی اکسید کربن را توسط سویه باسیلوس سابتیلوس گزارش دادند. شو و همکاران (۲۰۰۴) پژوهش‌هایی را بر روی نواحی آلوده به سوخت انجام دادند و مایکوباکتریوم اس. ۶۵ را جداسازی کردند. در سویه جداسازی شده که دارای توانایی رشد بر روی فناترن، پیرن و فلورانتن بود، یک

(LMO, GMO)<sup>۶۵</sup> باید انجام گیرد. دستورالعمل‌های ایمنی زیستی بسیار متنوع بوده و طیف گسترده آن عرصه‌های مختلف علمی و فنی را در برمی‌گیرد (۵).

مهم‌ترین عامل در امکان انجام فناوری زیستی وجود میکروارگانیسم در مکان آلوده است و از میان میکروارگانیسم‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها مهم‌ترین گروه هستند. بیش از ۲۰۰ گونه میکروارگانیسم که قادر به تجزیه هیدروکربن‌ها هستند، شناسایی شده‌اند. از این گونه‌ها می‌توان به باکتری‌های هتروتروف، الیگوتروف، فتواتروف، باکتری‌های هوازی، قارچ‌ها و اکتینومیست‌ها اشاره کرد. باکتری‌های مهم شامل گونه‌های سودوموناس، آرتروباکتر، اسینتوباکتر، فلاووباکتریوم، آلکالی‌ژنز، میکروکوکوس، باسیلوس و غیره است. امروزه برای کاهش و یا حذف آلاینده‌های آلی به‌ویژه ترکیبات نفتی از خاک، با توجه به بافت خاک، ماهیت آلاینده و غلظت آن‌ها از روش‌های مختلف فیزیکی، شیمیایی و زیستی به‌صورت مجزا و یا توأم استفاده می‌شود. جذب کربن فعال، اولترا

بنزوپیرن با پنج حلقه آروماتیک و فلورن با سه حلقه آروماتیک ضعیف عمل کرد (۴).

### اصلاح زیستی

اصلاح زیستی، بخشی از یک فناوری به شمار می‌رود که از فرآیندهای میکروبی جهت تبدیل آلاینده‌های محیط زیست به محصولاتی با سمیت کمتر نظیر دی‌اکسید کربن، آب و ترکیبات آلی ساده بهره می‌برد. این روش برای پاک‌سازی مواد دفعی مایع و جامد غیرسمی، آب‌های آلوده، مواد دفعی سمی زیان‌آور و آلودگی نفتی به کار می‌رود. آنچه که این فرآیند را به یک فرایند بسیار مهم در عرصه حفاظت از محیط زیست مبدل می‌سازد، استفاده از میکروارگانیسم‌های بومی منطقه‌ای جهت حفظ ایمنی زیستی است. ایمنی زیستی<sup>۴</sup> مبحثی نوین در علم را برای پژوهشگران و سازمان‌های ذی‌ربط می‌گشاید و در عین حال نگرانی عمیق و جدی را در دید عموم ایجاد می‌کند. ایمنی زیستی، شامل تدابیر مهم برای حفظ محیط زیست و تنوع زیستی است که قبل از رها سازی موجودات زنده تراریخته

5 - LMO : Living Modified Organisms

6 - GMO : Gene Modified Organisms

4 - Biosafety Clearing House

## "یزدانی، اصلاح زیستی خاک آلوده به فنانترن و پیرن توسط کود مرغی"

ماده خام از مواد زاید صنعتی استفاده کرد (۲). به‌طور کلی می‌توان گفت که بخش عمده‌ای از نفت که به خاک وارد می‌شود، شامل ترکیبات مختلف است که در این میان آلکان‌ها جزو تجزیه‌پذیرترین و رزین‌ها از جمله ترکیبات بسیار مقاوم از نقطه نظر تجزیه زیستی در آن هستند. اما ترکیبات آروماتیک به‌ویژه هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک در حد میانه این دو مجموعه از لحاظ تجزیه زیستی قرار دارند. اهمیت این گروه از ترکیبات به لحاظ سمیت بالا و تمایل به تجمع زیستی است، به همین دلیل بررسی تجزیه‌پذیری این گروه از اهمیت زیادی برخوردار است. توانایی باکتری‌ها در خاک، آب و یا رسوبات برای تجزیه زیستی هیدروکربن‌ها، به پیچیدگی ساختمان شیمیایی ترکیب و همچنین مقدار سازگاری آنزیمی باکتری‌ها، نسبت به واکنش مواجه شدن با هیدروکربن‌ها است. به‌طور کلی هیدروکربن‌های دارای دو یا سه حلقه آروماتیک به آسانی قابل تجزیه هستند و باکتری‌های متعددی جداسازی شده‌اند که توانایی استفاده از آن‌ها را با وزن مولکولی پایین به‌عنوان تنها منبع کربن و انرژی را دارند

فیلتراسیون و استفاده از غشاها از روش‌های متداول تصفیه فیزیکی‌اند. متداول‌ترین روش‌های تصفیه شیمیایی اکسیداسیون با استفاده از ازن و پرتو فرابنفش/پراکسید هیدروژن است. این روش‌ها گران قیمت بوده و از این رو استفاده از فرآیندهای زیستی به دلیل توانایی این فرآیندها در تجزیه ترکیبات خطرناک بیشتر از سایر روش‌ها مورد توجه قرار گرفته است. روش‌های زیستی به‌طور معمول اثرهای منفی کمتری بر روی محیط داشته و محصولات جانبی آنها نیز کمتر است. در میان روش‌های زیستی روش اصلاح زیستی به‌عنوان یک روش موثر و مقرون به صرفه توصیه شده است. مزیت این روش نسبت به سایر روش‌های فیزیکی و شیمیایی، سادگی فرآیند و هزینه کمتر آن است (۴). متجاوز از ۲۰ سال گذشته تجزیه زیستی ترویج پیدا کرد و به‌عنوان یک استراتژی اقتصادی برای پاکسازی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌ها با استفاده از باکتری‌های تجزیه‌کننده، مورد استفاده قرار گرفت. پاکسازی زیستی نه فقط در تجزیه آلودگی‌ها می‌تواند مؤثر واقع شود بلکه می‌توان از آن برای پاکسازی مواد ناخواسته از هوا، خاک، آب،

میکروارگانسیم‌ها توانایی تخریب هیدروکربن‌ها را در حد متوسط دارا هستند. شکاف آنزیماتیک حلقه‌های آروماتیک و همچنین کاتالیزور آنها توسط دی‌اکسیژناز است. در تجزیه ترکیبات آروماتیک مجموعه‌ای از عوامل بیولوژیک (نظیر فون بتیک، نوع موجود و تعداد آن) و غیربیولوژیک (نظیر منبع نیتروژن، فسفر، اکسیژن، اسیدیته و سایر مواد محرک رشد) دخالت دارند (۱).

#### خاک

خاک یکی از مکان‌های عمده‌ی زندگی میکروارگانسیم‌ها محسوب می‌شود. فراوان‌ترین میکروارگانسیم‌ها در خاک، باکتری‌ها هستند. علاوه بر اینکه خاک یکی از منابع ارزشمند طبیعت بوده و باکتری‌های موجود در آن سبب پالایش طبیعی خاک از آلودگی‌ها می‌شوند، ولی مدت‌هاست که توسط مواد نفتی و مشتقات آن در اثر عواملی نظیر استخراج، حمل و نقل، ذخیره‌سازی و همچنین استفاده نادرست از این مواد، آلوده شده است. آلودگی مواد نفتی، توان خاک‌ها را برای استفاده‌های بهینه در زمینه کشاورزی و

اما هیدروکربن‌هایی که دارای ۴ حلقه آروماتیک (از قبیل پیرن) یا تعداد بیشتر هستند، بسیار سرسخت هستند. میکروارگانسیم‌ها توسط واکنش‌های تنفسی هوازی و بی‌هوازی، تخمیر، کومتابولیسم و دهالوژنه کردن، هیدروکربن‌ها را به ترکیبات کم‌ضررتر تبدیل و از آن‌ها به‌عنوان منبع کربن و انرژی استفاده می‌کنند. در اکوسیستم‌های دریایی اکسیداسیون نوری، اکسیداسیون شیمیایی، متابولیسم شدن بیولوژیک از جمله فرآیندهای مهم تغییر شکل هیدروکربن‌ها است. باکتری‌ها و قارچ‌ها، این ترکیبات را به مشتقات دی‌هیدرو دی‌ال‌ها و کاتکول، اکسید می‌کنند. اکسیداسیون‌های بعدی این مواد باعث تبدیل شدن آن‌ها به دی‌اکسیدکربن و آب می‌شود. همگام با پیشرفت فناوری و ارابه‌ی ابزار و روش‌های جدید، پژوهشگران با انجام پژوهش‌های گسترده، دامنه پژوهش‌های خود را گسترش داده و به یافته‌های جدید دست یافتند. نظیر نتایج پژوهش‌هایی که برای تجزیه میکروبی هیدروکربن‌ها در بالا ذکر شد و همچنین نقش دو گروه آنزیم مونو و دی‌اکسیژناز را که در تجزیه آن‌ها بسیار مهم هستند را نیز، نشان دادند. بسیاری از

## "یزدانی، اصلاح زیستی خاک آلوده به فناترن و پیرن توسط کود مرغی"

هیدروکربن‌ها در این پژوهش بین ۰/۲۷ تا ۰/۳۹ گرم بر کیلوگرم در روز بود و میزان کاهش آن‌ها در طول ۳۰ روز به ۸/۱ - ۶/۷۱ گرم بر کیلوگرم خاک رسید (۴). در ضمن عمل زیست پالایی، با کنترل و بهینه‌سازی بعضی فاکتورهای محیطی می‌توان میزان و سرعت تجزیه زیستی را به گونه دلخواه افزایش داد. میکروارگانیسم‌ها علاوه بر نیازی که به شرایط مناسب از جمله دما، اکسیژن و اسیدپتته برای رشد و زنده ماندن خود دارند، به عوامل دیگری نیز مانند شوری و عناصر غذایی وابسته هستند (۱۵). رضایی کلانتری و همکاران (۱۳۹۱) اثر مواد مغذی و شوری را بر حذف فناترن از خاک آلوده مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از پژوهش‌های آن‌ها نشان داد که با افزایش غلظت مواد مغذی، میکروارگانیسم‌ها قادرند مقدار بیشتری فناترن را از خاک آلوده حذف کنند، اما شوری در محدوده غلظت مشخصی تنها موجب تاخیر در رشد میکروارگانیسم‌ها شده و اثر ممانعت‌کنندگی و یا پیشرفت بر حذف فناترن نداشته است (۷). اسیدپتته، مقدار آب، مقدار مواد آلی، قدرت یونی، ترکیب محلول خاک، بافت و توزیع اندازه ذرات، نفوذپذیری، دما، هدایت

همچنین تولید محصول را به‌طور شدیدی کاهش می‌دهد. زیرا رها شدن ترکیبات نفتی در خاک، سبب از بین رفتن پوشش و تنوع گیاهی و جانوری خاک می‌شود. علاوه بر اثر سمیت هیدروکربن‌ها بر رشد و نمو گیاهان، این ترکیبات باعث کاهش خصوصیات فیزیکی خاک (گسیختگی خاک دانه‌ها، کاهش خلل و فرج و افزایش وزن مخصوص ظاهری خاک) نیز می‌شوند. کاربرد روش‌های معمول حرارتی، شیمیایی-فیزیکی و یا سایر روش‌های دیگری که به منظور پاک‌سازی این نوع آلاینده‌ها از خاک که یک محیط جامد معدنی متخلخل است، همواره با مشکلاتی مواجه بوده است (۶). بنابراین اثرهای منفی ناشی از آلودگی نفتی خاک، منجر به ارزیابی برنامه‌ها و دستورالعمل‌هایی برای حفاظت از محیط زیست شده است، که در این میان کاربرد روش‌های زیستی در بین گزینه‌های اصلاح خاک برتری دارد (۱۴). نتایج حاصل از پژوهش مارکز و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که ۵۷ الی ۷۰ درصد هیدروکربن‌ها (غلظت اولیه ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) توسط باسیلوس و سودوموناس در طی مدت ۳۰ روز از محیط کشت حذف شد. نرخ کاهش

بیشترین فعالیت باکتری‌ها را می‌توان به لایه‌های سطحی محدود کرد، زیرا منابع مورد نیاز آن‌ها در این لایه‌ها به آسانی در دسترس است.

هیدروکربن‌ها تمایل شدیدی به پیوند با مواد آلی در خاک دارند که علت آن خاصیت آب‌گریزی بالا و حلالیت کم آن‌ها در آب است، بنابراین در خاک و رسوبات تجمع پیدا می‌کنند به طوری که ممکن است خاک به عنوان محل ذخیره این ترکیبات بیان شود. همچنین این ترکیبات با اتصال به ذرات خاک، به سمت آب‌های زیر زمینی حرکت کرده و باعث آلودگی آن‌ها نیز می‌شوند. خاک‌های آلوده ممکن است شامل بیش از ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم از این ترکیبات در هر کیلوگرم خاک باشند (۴). مصداقی‌نیا و همکاران (۱۳۸۳) در پژوهشی موفق به جداسازی باکتری‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های آروماتیک در خاک‌های آلوده ایران شدند و توانستند گونه‌هایی نظیر باسیلوس، سودوموناس و میکروکوکوس را از محیط جدا کنند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که زیست‌پالایی خاک‌های آلوده در ایران یک روش به‌طور کامل اجرایی و کاربردی است (۹). بررسی نتایج

هیدرولیکی و نوع کانی‌های خاک بر جذب و حرکت باکتری‌ها مؤثرند (۱۶). علاوه بر این، جذب باکتری‌ها روی سطح ذرات خاک به ویژگی‌های یاخته باکتری مانند بار سطحی آن، وجود پلی‌ساکاریدها در سطح یاخته، سطح ویژه یاخته و وجود پیلی و تاژک بستگی دارد. باکتری‌ها به خاطر وجود پلی‌ساکاریدها در سطح خود دارای بار الکتریکی منفی هستند. برهم‌کنش بین باکتری و ذرات خاک به واسطه نیروهای واندروالسی و الکترواستاتیک صورت می‌گیرد. این نیروها در انتقال و جذب باکتری‌ها نقش زیادی دارند. از طرف دیگر به دلیل ناپیوستگی منافذ و وجود منافذ انتها بسته<sup>۷</sup> در خاک، باکتری‌ها می‌توانند در منافذ خاک حبس شده و انتقال پیدا نکنند. ابراهیمی و همکاران (۱۳۸۸) چگونگی نشر و استقرار آلودگی‌های هیدروکربنی را در خاک اطراف پالایشگاه سرخون شبیه‌سازی و مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که با افزایش عمق برداشت نمونه‌های آلودگی، مقدار آن به شدت کاهش می‌یابد. به عبارت دیگر می‌توان گفت که بخش بزرگی از آلودگی‌ها در لایه‌های سطحی خاک موجودند (۸). بر این اساس

7 - Dead-end pores

## "یزدانی، اصلاح زیستی خاک آلوده به فنانترن و پیرن توسط کود مرغی"

خاک آلوده، باید به دنبال منابعی بود که تامین کننده‌ی این میکروارگانیسم‌ها باشد.

### کود

امروزه در دنیا تلاش بر آن است که برای تولید محصولی بهتر، سالم‌تر و ایمن برای محیط زیست، کودها را به صورت بهینه مصرف کنند. برای آنکه خاک از لحاظ مواد غذایی متعدد دچار کمبود نشود، استفاده از کود یک روش بسیار مفید است. بقا باکتری‌ها در خاک به روش افزودن کود به خاک، نوع کود (مایع یا جامد)، فعالیت‌های بیولوژیک خاک، دمای محیط، مقدار یا پتانسیل آب در خاک و فراهمی عناصر غذایی در محیط بستگی دارد (۱۷). کودهای حیوانی به علت دارا بودن حجم وسیعی از مواد آلی و غذایی باقی مانده، جهت حفظ حاصلخیزی خاک و بهبود رشد گیاهان زراعی در جهت افزایش تولید، به‌عنوان یکی از راه حل‌های اساسی و مفید جهت افزایش عملکرد و بهبود کیفیت محصول، تأمین امنیت غذایی و همچنین پایداری در تولید، به نظر می‌رسد. کود حیوانی از فضولات مایع و جامد چهارپایان اهلی و گاه و کلشی که برای تهیه بستر دام و نشخوار

پژوهش‌های انجام شده، توانایی میکروارگانیسم‌هایی نظیر جنس سودوموناس را در تجزیه مواد نفتی تایید می‌کند. دو مکانیسم عمده در ارتباط با تجزیه زیستی هیدروکربن‌ها توسط باکتری‌های سودوموناس مطرح است. یکی تولید بیوسورفکتانت رامنولپید و دیگری تولید آنزیم‌های خارج سلولی از قبیل لیپاز که در تجزیه ترکیبات استری و لیپیدی نقش بارزی دارند. بیوسورفکتانت تولیدی توسط برخی از سودوموناس‌ها، نقش مهمی در تجزیه زیستی هیدروکربن‌ها دارد. تولید این نوع سورفکتانت باعث افزایش سطح تماس باکتری به هیدروکربن‌های حلقوی شده و به این طریق سطح تماس باکتری و دسترسی آنزیمی را برای باکتری بالا می‌برد. اسکندری و همکاران (۱۳۹۱) نمونه‌هایی از خاکشهای آلوده‌ی اطراف مخازن نفت و بنزین پالایشگاه شهر اصفهان را جمع‌آوری و مورد پژوهش قرار دادند. نتایج حاصل از کار آنها نشان داد که به‌طور تقریبی ۱۳/۳ درصد از کل باکتری‌های هتروتروف، قدرت تجزیه‌کنندگی هیدروکربن‌های حلقوی را دارند (۱۰). بنابراین به منظور افزایش بازده تجزیه زیستی

سودوموناس و همچنین باسیلوس‌ها اشاره کرد (۲۱-۱۸). غلظت باکتری در کود دامی به مقدار زیادی وابسته به نوع حیوان، روش نگهداری کود و میزان تجزیه آن پیش از افزودن به خاک دارد. یونک (۱۹۹۹) میزان کلیفرم مدفوعی بیشتری را در یک گرم کود مرغی نسبت به کود گاوی و لجن فاضلاب اندازه گرفت. بر این اساس به نظر می‌رسد کود مرغی مکان مناسبی برای رشد و تکثیر باکتری‌ها باشد. وجود مقادیر زیاد ترکیبات کربن آلی قابل تجزیه در فضولات مرغ، می‌تواند در رشد و تکثیر باکتری‌ها مؤثر باشد. در کود گاوی مقادیر زیادی کاه و کلش با ترکیبات غیرقابل تجزیه مانند لیگنین و سلولز وجود دارد که مکان مناسبی برای فعالیت باکتری‌ها نیست. عوامل مختلفی بر میزان پالایش خاک آلوده توسط باکتری‌ها مؤثر هستند، که یکی از این عوامل ویژگی‌های منبع باکتری‌هاست (۲۲). در سیستم تغذیه گیاه با کود شیمیایی، عناصر غذایی به خصوص نیتروژن در مرحله رشد رویشی مصرف شده و گیاه در مراحل بعدی به تدریج با کمبود آن‌ها روبرو می‌شود. ولی زمانی که از سیستم تغذیه آلی (کود مرغی) استفاده می‌شود، مواد

کنندگان به کار رفته، تشکیل شده است. از لحاظ وزنی، تولید کود دامی جامد سه برابر کود مایع است و تقریباً ۵۰ درصد نیتروژن، تمام فسفر و ۴۰ درصد پتاس موجود در کود دامی در قسمت جامد آن متمرکز است. همچنین قسمت مایع دارای مقدار زیادی نیتروژن قابل جذب است که از لحاظ اقتصادی ارزش زیادی دارد. کود مرغی در بین سایر کودها دارای بیشترین مقدار نیتروژن و فسفر است. این دو عنصر مهم‌ترین مواد مغذی مورد نیاز برای رشد میکروبی هستند که بیشتر در محل‌های اصلاح زیستی، کمبود آن‌ها وجود دارد (۶). جعفری مقدم و همکاران (۱۳۸۸)، ۴ نوع کود را به منظور اثرهای آن‌ها بر عملکرد گندم، مورد بررسی و مقایسه قرار دادند. این کودها شامل کود مرغی، گاوی، گوسفندی و شیمیایی بود. نتایج نشان داد که بیشترین عملکرد تحت اثر کود مرغی می‌تواند انجام بگیرد (۱۱). همچنین در کودهای دامی مقادیر زیادی باکتری وجود دارد. از جمله باکتری‌های موجود در فضولات دامی که تحت عنوان کود حیوانی استفاده می‌شود، می‌توان به اشریشیاکولی، مایکوباکتریوم، استافیلوکوکوس، کورینه باکتریوم،

## "یزدانی، اصلاح زیستی خاک آلوده به فناترن و پیرن توسط کود مرغی"

تجزیه‌ی هیدروکربن‌های حلقوی در خاک افزایش یابد، عناصر سازنده‌ی این ترکیبات نیز آزاد شده و عملکرد گیاه را می‌تواند به بالاترین سطح خود برساند. در واقع این موضوع، یکی دیگر از مهم‌ترین مزیت‌های استفاده از کود مرغی نسبت به سایر انواع کودها است که در کوتاه‌زمان انجام می‌گیرد. بنابراین می‌توان گفت که کود مرغی، به‌عنوان یک عامل چندگانه رفتار می‌کند. این کود علاوه بر فراهم کردن عناصر غذایی با ارزش برای گیاه، شرایط مورد نیاز را در جهت روند بهبود آلودگی‌ها و همچنین کشت مجدد در خاک را نیز فراهم می‌کند. امید است با پیشرفت روزافزون بشر، شرایطی فراهم شود تا محیط زیست بتواند قدرت دوباره‌ی خود را به‌عنوان یک خود پالاینده به‌دست آورد.

### تشکر و قدردانی

لازم می‌دانم مراتب سپاس و قدردانی خود را از سرکار خانم آتوسا عبدالهی و همچنین جناب آقای دکتر محمدرضا یزدانی که همواره از راهنمایی‌هایشان برخوردار بوده‌ام ابراز کنم.

غذایی مورد نیاز گیاه در اثر پیشرفت فرآیند معدنی شدن کود افزایش یافته و عناصر غذایی گیاه را تا مراحل نهایی رشد فراهم می‌کند.

### نتیجه‌گیری

با توجه به بحث‌ها و پژوهش‌های گوناگونی که در زمینه‌های مختلف صورت گرفته، پیشنهاد می‌شود برای بالا بردن راندمان اصلاح زیستی خاک آلوده به هیدروکربن‌های آروماتیک (از جمله فناترن و پیرن)، از عواملی مانند کود مرغی به منظور افزایش تعداد باکتری‌های تجزیه‌کننده این ترکیبات استفاده شود. کود مرغی شامل برخی مواد آلی و غذایی باقی مانده بوده و حذف زیستی آلاینده‌ها رویکردی در جهت حفظ محیط زیست است. این نوع کود به چرخه‌ی طبیعی محیط زیست باز می‌گردد و نگرانی‌های ناشی از باقی ماندن آن در طبیعت نیز برطرف می‌شود. علاوه بر اینکه کود مرغی یک منبع از میکروارگانسیم‌های مختلف است، می‌توان به فراهم کردن یک سیستم تغذیه مناسب برای گیاه توسط آن نیز اشاره کرد. هنگامی که

References

منابع مورد استفاده

۱. امتیازجو م.، صدیقی س. امتیازجو م. (۱۳۸۸). اصلاح زیستی آنتراسن در حوزه آبی سیری خلیج فارس با رویکرد ایمنی زیستی. فصل نامه علوم و تکنولوژی محیط زیست. ۱۱(۳): ۲۵۸-۲۶۸.
۲. کفیلزاده ف.، افروغ ر. الهوردی ق. جمالی ه. هوشیاری پور ف. (۱۳۹۰). جداسازی و شناسایی باکتری های تجزیه کننده پیرن از خاک های اطراف محل های دفن زباله در شیراز و بررسی سینتیک رشد آنها. مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا. ۱(۳): ۱۵۴-۱۵۹.
۳. کفیلشزاده ف.، حسینی س ز، جمالی ه. (۱۳۹۱). جداسازی و شناسایی باکتری های بومی تجزیه کننده فنانترون از خاک های آلوده به نفت خام در اطراف پالایشگاه آبادان و ارزیابی میزان رشد آنها. مجله علوم بهداشتی جندی شاپور. ۴ (۱): ۲۹-۳۹.
۴. رضایی کلانتری ر.، رشیداشمق ف. فرزادکیا م. جنیدی جعفری ا. نبی زاده ر. (۱۳۸۸). بررسی مدل تجزیه زیستی فنانترون در خاک های آلوده توسط اسپیتو باکتر. فصل نامه علمی پژوهشی انجمن علمی بهداشت محیط ایران. ۲ (۳): ۱۹۶-۲۰۳.
۵. مظاهری اسدی م . وفا م. (۱۳۸۳). ایمنی زیستی برای همه. ۱ (۱). انتشارات موج سبز. تهران. ۳۶ صفحه.
۶. رضایی کلانتری ر.، اسرافیلی ع. روانی پور م. فرزادکیا م. هاشمی نجف آبادی س. (۱۳۹۱). مقایسه تاثیر مواد مغذی و شوری بر حذف فنانترون از خاک آلوده. فصل نامه علمی پژوهشی انجمن علمی بهداشت محیط ایران. ۵(۴): ۴۱۱-۴۲۲.
۷. رضایشکلانتری ر.، اسرافیلی ع. روانی پور م. فرزادکیا م. هاشمی نجف آبادی س. (۱۳۹۱). مقایسه تاثیر مواد مغذی و شوری بر حذف فنانترون از خاک آلوده. فصل نامه علمی پژوهشی انجمن علمی بهداشت محیط ایران. ۵(۴): ۴۱۱-۴۲۲.

"یزدانی، اصلاح زیستی خاک آلوده به فناترن و پیرن توسط کود مرغی"

۸. ابراهیمی س.، شایگان ج. ملکوتی م ج. بای بوردی م. قدوسی ج. اکبری ع. آتش جامه ا. (۱۳۸۸). بررسی نشر آلودگی هیدروکربنی در خاک محدوده پالایشگاه سرخون. مجله پژوهش‌های حفاظت آب و خاک. ۱۶ (۴): ۱۰۱-۱۲۴.
۹. ساریخانی م ر.، ابراهیمی م. فلاح ع ر. (۱۳۹۲). بررسی تجزیه زیستی هیدروکربن‌های نفتی گازییل، تولوئن و فناترن توسط سه گونه باکتری سودوموناس پوتیدا، سودوموناس فلورسنس، پانتیا اگلمرنس. نشریه دانش آب و خاک. ۲۳ (۲): ۲۹-۴۱.
۱۰. اسکندری س.، هودجی م. طهمورث‌پور آ. عبدالمهی آ. (۱۳۹۱). پتانسیل زیست درمانی باکتری‌های گرم مثبت بومی جداسازی شده از خاک آلوده به هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای. مجله دنیای میکروب‌ها. ۶ (۱۴): ۳۴-۴۴.
۱۱. جعفری مقدم م.، رضا پور م. آروین پ. خندان ت. (۱۳۸۹). مقایسه اثرات کودهای دامی و شیمیایی بر عملکرد و اجزا عملکرد گندم. پنجمین همایش ملی ایده‌های نو در کشاورزی ۲۷-۲۸ بهمن (۱۳۸۹). دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان).
12. Blanco S G. 2012. Biodegradation of PAHs: Analysis and stimulation of Degrading Bacterial populations. Ph.D Thesis. Biology faculty, University of Barcelona, Spain.
13. Wright, J .D ., Ratledge , C ., 1991. Isolation of Rhodotorularubra strains showing difference in degradation of aromatic compounds. Applied Microbiology and Biotechnology. 35: 94-99.
14. Zongqiang, G. Kassem, A. Berndt-Michael, W., Peijun Li., 2007. Activated carbon adsorption of PAHs from vegetable oil used in soil remediation. Journal of Hazardous Materials .143 (1-2) 372-378.
15. Cookson, J.T. 1995. Bioremediation Engineering Designee and Application. MC Graw-Hill, New York, Ny, USA. Journal Ecology Microbiology. 25: 178-200.
16. Lo, K. W., Y. C. Jin and T. Viraraghavan. 2002. Transport of bacteria in heterogeneous media under leaching conditions. Environmental Engineering Science. 1: 383-395.
17. Unc, A. and M. J. Goss. 2003. Movement of faecal bacteria through the vadose zone. Water Air Soil poultry. 149: 327-337.

18. Alexander, D.C., J.A.J.Carriere, and K.A. Mckay.1968. Bacteriological Studies of Poultry Litter fed to livestock. Canadian Veterinary Journal 9:127-131.
19. Hutchison, M.L., Walters, L.D., Avery, S.M., Munro, F., and Moore, A. 2005. Analyses of livestock production, waste storage, and pathogen levels and prevalences in farm manures. Applied and Environmental Microbiology. 71: 1231-1236.
20. Dhararani,T.S., C. Shankar, J. Park, M. Dexilin, R.R. Kumar and K. Thamaraiselvi.2009. study on acquisition of bacterial antibiotic resistance determinants in poultry litter. poultry Science. 88:1381-1387.
21. Graham, J. P., S. L. Evans, L. B. Price. E. K. Silbergeld. 2009. Fate of antimicrobial resistant Enterococci and Staphylococci and resistance determinants in stored poultry litter. Environmental Research. 109:۶۸۹-۶۸۲.
22. Unc, A. 1999. Transport of faecal bacteria from manure through the vadose zone. MSc. Thesis, University of Guelph, Guelph, Ontario , Canada.