



بررسی کارایی باکتری های تجزیه کننده ی نفت در مقادیر pH طی زمان های مختلف در محیط مایع

زهرا یاراحمدی^{۱*}، حسین بشارتی^۲، علیرضا فلاح^۳ و محمدرضا ساریخانی^۴

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد کرج ۲و۳-اعضای هیات علمی موسسه تحقیقات خاک و آب و ۴-عضو هیات علمی دانشگاه تبریز

نویسنده مسئول: زهرا یار احمدی

email:zhr_yarahmadi63@yahoo.com

چکیده

خاک اساس هستی، تولید و انبار مواد خام است و نقش مهمی را در زندگی انسان ایفا می کند، حفاظت خاک به عنوان یک وظیفه سیاست محیطی مانند آب و هوا واجب و ضروری می باشد. مشکلات ناشی از آلودگی های نفتی و تأثیرات ویرانگر آن بر حیات موجودات زنده و اکوسیستم قابل چشم پوشی نیست، مقابله با این مشکلات و برگزیدن راه حل مناسب نیازمند تحقیق و تدبیر فراوان است. در میان راهکارهای ارائه شده استفاده از میکروارگانیسم ها روشی است که با عنوان تجزیه زیستی در اکثر کشور های پیشرفته مورد استفاده قرار می گیرد، بکارگیری زیست پالایی در رفع آلودگی مناطق آلوده به وسیله تعدادی از پارامترهای زیست محیطی محدود می شود، از جمله این پارامتر ها pH می باشد. از خاک استان بوشهر در این مطالعه چهار سویه باکتریایی جداسازی شد، سویه های مذکور تحت عنوان سودوموناس استاتزری، کریزو باکتریوم، اسیتو باکترجانسونی، سودوموناس آئروجینوس نامگذاری شدند، این باکتری ها از لحاظ بررسی کارایی در تجزیه ماده نفتی (گازوئیل) در مقادیر pH و در طی زمان های مختلف مورد بررسی قرار گرفتند. نتیجه بدست آمده حاکی از این است که از لحاظ بررسی کارایی بهترین حالت باکتری سودوموناس آئروجینوس می باشد. هم چنین این باکتری ها قادر به رشد و تجزیه نفت در مقدار pH برابر ۷/۵ و زمان ۱۷ روز به طور قابل توجهی می باشند.

واژگان کلیدی: زیست پالایی، آلودگی، pH، عوامل محیطی

مقدمه

در کشور ما ایران به دلیل نفت خیز بودن و مصرف بالای مواد نفتی، آلودگی خاک به مواد نفتی یکی از معضلات اساسی می باشد، تأثیرات منفی ناشی از آلودگی منجر به ارائه برنامه ها و دستورالعمل هایی برای حفظ و حمایت از محیط زیست گردید که در این میان کاربرد روش های زیستی از میان گزینه های اصلاح خاک برتری دارد. (Cunningham et.al, 2007) میکروارگانیسم ها توانایی تجزیه گسترده ای از ترکیبات نفتی را دارند و به فراوانی در این محیط ها وجود دارند، هدف در بیوریمیدشن تحریک میکروارگانیسم ها با عناصر غذایی و دیگر مواد شیمیایی است که قادرند آلاینده ها را تحریک کنند. بیوریمیدشن امروزه بر پایه نقش میکروارگانیسم های بومی برای مکان های آلوده و هم چنین تشویق آنها برای بدست آوردن اپتی مم عناصر غذایی و دیگر مواد شیمیایی ضروری برای متابولیسم شان استوار است. (Trtu and Estoni, 2004)



مواد و روش ها

جهت انجام این مرحله از آزمایش ابتدا محیط کشت پایه معدنی مایع CFMM که یک محیط حداقل می باشد تهیه و pH محیط ها قبل از اتوکلاو بر روی 9/5، 7/5، 5/5 تنظیم شد سپس عمل تلقیح باکتری ها در داخل محیط نوتریت براس صورت گرفت، بعد از رشد باکتری های جدید، از هر کدام از باکتری ها و در دو تکرار به مقدار 1/5 میلی لیتر بداخل ویال های استریل ریخته شد، سپس ویال ها توسط دستگاه سانتریفوژ گردیدند، رسوب باقی مانده داخل ویال ها مستقیماً به ارلن های شیاردار 250 میلی لیتری حاوی محیط و 0/01 گازوئیل خالی گردید، سپس ارلن ها روی شیکر قرار داده شدند تا رشد باکتری ها در زمان های مختلف حاصل گردد و روزانه به منظور تعیین pH، OD600 نانومتر و توسط دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید.

محیط کشت CFMM (carbon frace minral medium) شامل: $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، NH_4NO_3 3gr ، Na_2HPO_4 2/75 gr ، KH_2PO_4 0/8gr ، $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0/005gr ، $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0/01gr ، $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0/005gr می باشد.

نتایج و بحث

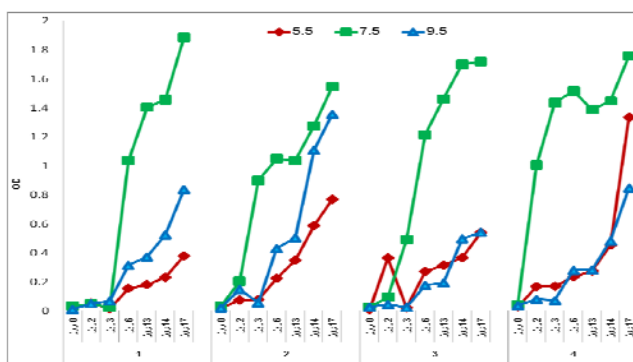
بر روی سویه های باکتریهای جداسازی شده از نمونه خاکهای استان بوشهر، تاثیر سطح pH، سویه باکتری و زمان تیمار و اثرات متقابل آن ها در تجزیه ماده نفتی (گازوئیل) تحت طرح فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کاملاً تصادفی بررسی شد. مقایسه میانگین تیمارها با آزمون چند مرحله ای دانکن در سطح احتمال 0/01 انجام پذیرفت و نتایج جدول تجزیه واریانس حاکی از این موضوع بود که میزان pH برای سویه باکتری، زمان و اثر متقابل باکتری با pH همگی در سطح احتمال 0/01 معنی دار بوده است.

جدول ۱ تجزیه واریانس تیمار های سویه باکتری، pH، زمان و اثر متقابل آنها

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	سطح معنی داری
سویه باکتری	۳	۱/۱۲	۰/۳۷۴	۱۴/۷۹	کمتر از ۰/۰۰۰۱
pH	۲	۱۶/۷۰	۸/۳۵۲	۳۲۹/۷۱	کمتر از ۰/۰۰۰۱
زمان	۶	۲۲/۰۰۰	۳/۶۶۶	۱۴۴/۷۵	کمتر از ۰/۰۰۰۱
pH*باکتری	۶	۱/۴۹	۰/۲۴۹	۹/۸۶	کمتر از ۰/۰۰۰۱
pH*زمان	۱۲	۵/۰۰۲	۰/۴۱۸	۱۶/۴۶	کمتر از ۰/۰۰۰۱
زمان*سویه باکتری	۱۸	۱/۱۳	۰/۰۶۳	۲/۴۸	کمتر از ۰/۰۰۰۱
زمان*سویه باکتری*pH	۳۶	۳/۴۳	۰/۰۹۵	۳/۷۶	کمتر از ۰/۰۰۰۱

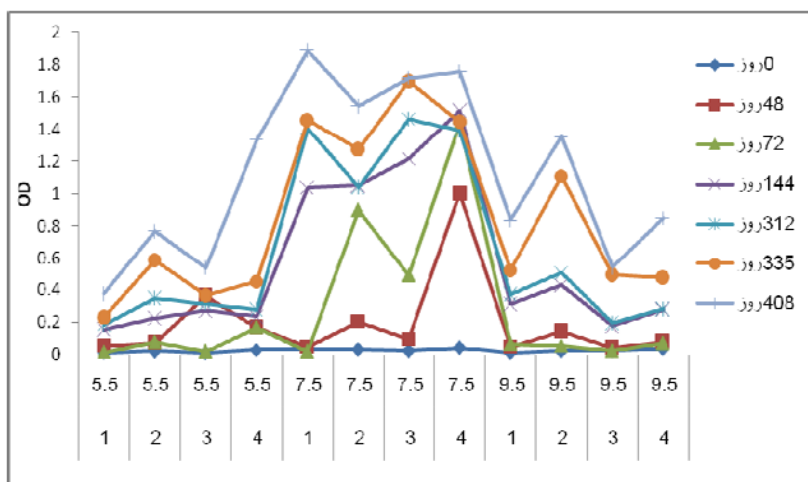
نتایج مقایسه تیمار زمان با استفاده از آزمون چند مرحله ای دانکن در سطح احتمال 0/05 درصد صورت پذیرفت و نشان داد که بهترین زمان تیمار ۱۷ روز می باشد و بعد از آن به ترتیب 14 و ۱۳ روز می باشد، بهترین مقدار pH ۷/۵ می باشد و بعد از آن به ترتیب ۹/۵ و ۵/۵ می باشد. از نظر نوع باکتری بهترین به ترتیب ۲ و ۴ می باشد و باکتری او ۳ بعد از آن قرار می گیرد که به لحاظ آماری باهم تفاوت معنی داری ندارند. از نظر اثر متقابل زمان و pH بهترین حالت برای هر ۴ سویه باکتری 7/5 و pH ۱۷ روز است و پس از آن pH 7/5 و زمان ۱۳ و ۱۴ روز قرار دارد، هم چنین از نظر اثر متقابل باکتری، pH و زمان بهترین حالت باکتری ۴ و مقدار pH 7/5 و زمان ۱۷ روز است و پس از آن باکتری ۱ و مقدار pH 7/5 و زمان ۱۷ روز است. برای اثر متقابل pH و نوع باکتری بهترین حالت باکتری ۴ و pH 7/5 است و پس از آن باکتری ۳ و pH 7/5 یا باکتری ۱ و pH 7/5 که با هم تفاوت معنی داری ندارند. اثر متقابل باکتری و زمان بهترین حالت باکتری ۴ و تیمار ۱۷ روز را نشان می دهد. همچنین باکتری ۲ و زمان ۱۷ روز نیز با حالت قبل تفاوت معنی داری ندارند و می تواند بهترین حالت باشد. از نظر اثر متقابل باکتری، pH و زمان بهترین حالت باکتری ۴ و مقدار pH 7/5 و زمان ۱۷ روز است و بعد از آن باکتری ۳ و pH 7/5 و زمان ۱۷ روز می باشد.

نمودار مربوطه حاکی از این موضوع است که بالاترین OD جمعیت باکتری ها مربوط به pH= ۷/۵ است که این مقدار با افزایش زمان تیمار بیشترین مقدار را بخود اختصاص می دهد. کمترین OD برای تمامی باکتری ها مربوط به pH= ۵/۵ و زمان صفر، ۲ و ۳ روز تیمار می باشد.



مقایسه میانگین OD چهار نوع باکتری در pH های مختلف در سطح ۵ درصد

نتایج بر روی شکل زیر حاکی از آن است که بالاترین میانگین جمعیت OD باکتری ها مربوط به pH= ۷/۵ می باشد هم چنین میانگین بیشترین زمان مربوط به زمان ۱۷ روز و کمترین میانگین زمانی مربوط به زمان صفر می باشد. این مقادیر در دیگر pH ها با هم تفاوت ندارند.





با توجه به نفت خیز بودن ایران و با توجه به آلودگی ناشی از این مواد، افکار عمومی برای رفع ناشی از این مشکل متوجه گردیده است، این تحقیق نیز با هدف دستیابی به استفاده از گونه های کارا در جهت رفع آلودگی های نفتی بخصوص در جنوب کشور است، زیست پالایی یک اصطلاح کلی در جهت رفع آلودگی های زیست محیطی بوسیله فرآیندهای بیولوژیکی و شامل استفاده از ارگانیسم های زنده و خصوصاً باکتری ها می باشد. (Alexander, 1994 ; Collonis , 2008). Anonymous (2004) نیز بیان کرد که زیست پالایی می تواند هم با تکیه بر میکروارگانیسم های انیدوزن (بومی خاک) و هم میکروارگانیسم های اگزوزن جداسازی شده از محیط های دیگر، صورت گیرد.

نتیجه گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان می دهد که باکتری های بومی نفت خوار جداسازی شده از خاک های آلوده نفتی، قادر به « تجزیه زیستی » یا « حذف بیولوژیک » گازوئیل هستند و در زیست پالایی محیط های آلوده به مواد نفتی اهمیت زیادی دارند، که از لحاظ بررسی کارایی بهترین حالت باکتری ۴ و در مقدار pH ۷/۵ و در طی تیمار زمانی ۱۷ روز می باشد، نتایج هم چنین نشان میدهد که با استفاده از امکانات آزمایشگاهی موجود در داخل کشور و میکروارگانیسم های بومی، امکان اصلاح بیولوژیکی خاک های آلوده با هیدروکربن های نفتی، در داخل کشور بدون نیاز به وارد کردن گونه های خالص شده میکروارگانیسم ها از سایر کشورها، وجود دارد.

منابع

1. Alexander , M; 1995 . How toxic are chemicals in soil . Environ. Sci. technol. 29, 2713 – 2717
2. Anonimous.2004 .Enhanced Bioremediation. (www.Cpeo.org)
3. Collonis , j . R . 1998. Enhanced Applied Bioremediationenvironmental . Central crest , Houston , Texas . 713,680 – 1601
4. Cunnigham ,j.A. et al. 2001. Enhanced in situ bioremediation of BTEX – contaminated groundwater by combined injection of nitrate and sulfate . E5.
5. tartu ,E.andEstoni , D.2004. Principle of Bioremidation. National Academy of science .in situ Bioremidation. Http: // www.nap.edu/catalog/213/