

نقش زیست فناوریانه میکروارگانیسم ها در زیست پالایی آلودگی نفتی دریاها

لادن بافته چی*

گروه میکروبیولوژی نفت، پژوهشکده علوم پایه کاربردی جهاد دانشگاهی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

ladanbaftechi@yahoo.com

چکیده:

رشد روز افزون جمعیت و گسترش صنایع به همراه افزایش فعالیت های گوناگون بشری سبب آلودگی های مختلف محیطی شده است. در این میان نشت نفت و آلودگی هیدروکربن های نفتی در محیط های دریایی از معضلات عمده به شمار می آیند که سلامت اکوسیستم این مناطق را با خطر جدی مواجه ساخته اند. ترکیبات سمی ناشی از هیدروکربن های نفتی در دریاها سبب مرگ و میر موجودات دریایی و ایجاد چرخه های زیست ژئوشیمیایی شده که سبب طولانی شدن تاثیر سمیت آنها در این محیط ها می شوند. از این رو پاکسازی محیط های دریایی از ترکیبات نفتی اهمیت بسزایی دارد. این امر بیشتر با روش های مختلف فیزیکی و شیمیایی انجام می شود که هر یک مزایا و معایب خاص خود را دارند. پاکسازی بیولوژیکی یا زیست پالایی روشی کارآمد و موثر در این زمینه است که برپایه پتانسیل میکروارگانیسم هایی چون باکتری ها، قارچ ها و جلبک ها در تجزیه زیستی آلودگی هایی مانند هیدروکربن های نفتی و تبدیل آنها به ترکیبات خنثی یا دوستدار محیط با هزینه کمتر عمل می کند. این پژوهش مروری بر آلودگی های نفتی، روش های زیست پالایی و نقش زیست فناوریانه میکروارگانیسم ها در پاکسازی و حذف این آلودگی ها از دریاها و اکوسیستم های ساحلی آنها دارد.

واژه های کلیدی: آلودگی دریاها، تجزیه زیستی، زیست پالایی، میکروارگانیسم ها، هیدروکربن های نفتی.

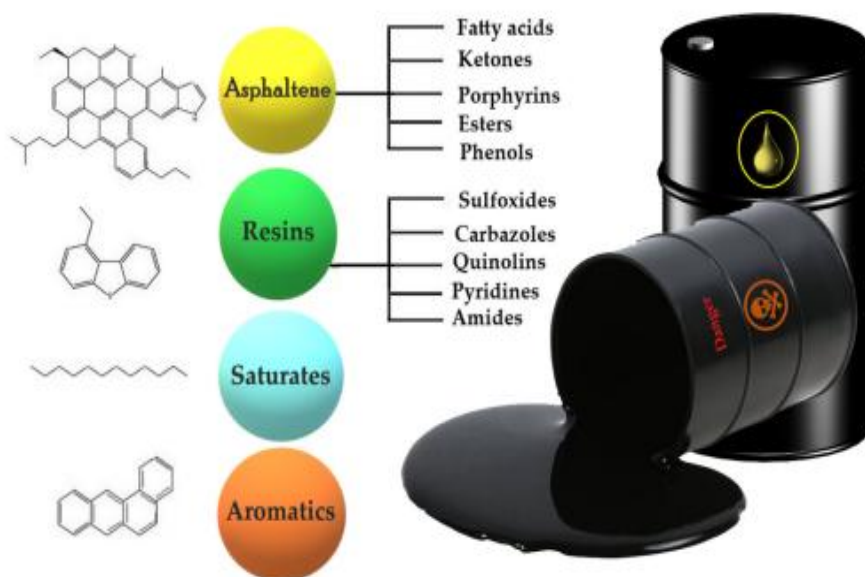
1- مقدمه:

پایه و شروع زندگی از دریا بوده و تا به امروز نیز ادامه دارد. حدود 70٪ کره زمین از آب دریا احاطه شده و موجودات دریایی ابتدایی ترین ارگانیسم ها از لحاظ پیچیدگی و تنوع گونه ای هستند. امروزه افزایش جمعیت نیاز به منابع طبیعی را بیشتر کرده و برای مقابله با این نیاز می توان از منابع دریایی که بیش از یک سوم زمین را اشغال کرده اند بهره گرفت. دریاها و اقیانوس ها یک سوم سطح کره زمین را در بر گرفته و این در حالی است که دارای شکل های متنوعی از زندگی هستند [1]. در سالهای اخیر، با توجه به رشد جمعیت و فعالیت های انسانی، آلوده کننده های مختلفی وارد اقیانوس ها و محیط های دریایی شده که تغییرات چشمگیر و مهمی را در این اکوسیستم های آبی بوجود آورده است. از جمله مهمترین این آلوده کننده ها می توان به ترکیبات نفتی اشاره کرد [2].

آلودگی های نفتی به صور مختلفی وارد دریا می شوند که عمدتاً به دو گروه طبیعی و مصنوعی تقسیم می شوند. حالت طبیعی شامل نشت نفت از مخازن و فعالیت های آتشفشانی اعماق دریاها است در حالیکه آلودگی های مصنوعی که غالباً شامل نشت نفت و ترکیبات مشتق از آن هستند و سبب آزاد سازی هیدروکربن های نفتی در اقیانوس ها و نواحی ساحلی می شوند، عمدتاً منوط به فعالیت های انسانی می باشند [3]. این موارد شامل رها سازی نفت خام از تانکرها، سکوها، ساحلی، سکوها، حفاری و چاه های نفتی؛ نشت ترکیبات نفتی تصفیه شده (مانند گازوئیل و دیزل) و محصولات جانبی آنها؛ مصرف سوخت

های سنگین تر توسط کشتی های بزرگ و نشت از هر نوع پسماند یا زائدات نفتی می باشد. غالباً نشت نفت در دریاها بسیار شایع است و معمولاً آلودگی های کم خصوصاً در نواحی که استانداردهای محیط زیستی یا قوانین مربوطه وجود ندارند، گزارش نمی شوند. آلودگی های نفتی به دلایل مختلفی در طی مراحل اکتشاف، استخراج و حمل و نقل نفت مانند فشار بیش از حد، مشکلات مکانیکی، خوردگی خطوط لوله و برخورد کشتی ها و سوانح دریایی ایجاد می شوند [4].

نفت خام ترکیب پیچیده ای از هیدروکربن ها است. این ترکیبات عموماً به 4 گروه اصلی تقسیم شده و بر این اساس به دو نوع نفت خام سبک و سنگین دسته بندی می شوند. ترکیبات نفت خام حاوی هیدروکربن های اشباع شده و هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای (PAH)^۱، نفت سبک و نفتی که حاوی مقادیر بیشتری رزین و ترکیبات آسفالتن به نسبت هیدروکربن های اشباع شده باشد، نفت سنگین تلقی می شود (شکل 1).



شکل 1: ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده نفت خام [5]

جهت پاکسازی آلودگی های نفتی محیط های دریایی از روش های مختلف فیزیکی، شیمیایی و مکانیکی استفاده می شود که هر یک مزایا و معایب خاص خود را دارند. مهمترین مزیت این روش ها سرعت بالای آنها در حذف آلودگی ها از سطح دریا است اما مشکل عمده آنها در تولید مواد شیمیایی حد واسط و خطرناکی است که مضرات برخی از آنها از آلودگی های اولیه بیشتر است. نهایتاً این روش ها تنها قادر به حذف آلودگی ها از سطح دریا هستند در حالیکه بسیاری از ترکیبات نفتی سنگین بوده و رسوبات اعماق دریاها را نیز درگیر می کنند [5].

از این رو کاربرد روش های بیولوژیکی جهت حذف آلودگی های نفتی در سال های اخیر بیشتر مورد توجه و بررسی قرار گرفته است. هرچند سرعت این روش ها به نسبت روش های ذکر شده کمتر است اما مزایای بیشتری دارند. از مهمترین مزایای این روش ها می توان به صرفه اقتصادی، عدم وجود ترکیبات حدواسط و نیز تجزیه کامل آلودگی ها از محیط های دریایی اشاره کرد. به این ترتیب تجزیه زیستی^۲ و زیست پالایی^۳ از مهم ترین تکنولوژی ها جهت پاکسازی و حفاظت محیط های دریایی محسوب می شوند [6]. این پژوهش به بررسی نقش و عملکرد میکروارگانیسم ها در زیست پالایی آلودگی های نفتی محیط های دریایی و اکوسیستم های مرتبط با آنها می پردازد.

¹ Polycyclic aromatic hydrocarbones

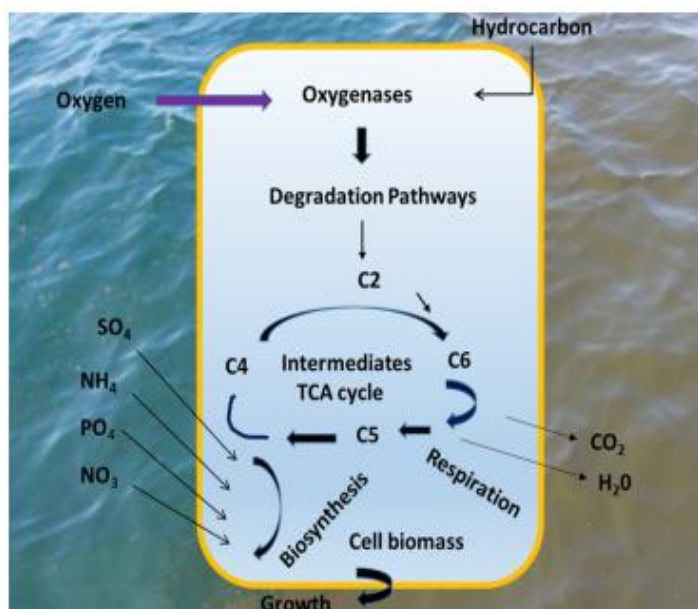
²-Biodegradation

³-Bioremediation

2- تجزیه زیستی Biodegradation

با توجه به محدودیت‌های روش‌های پاکسازی مکانیکی، فیزیکی و شیمیایی، امروزه زیست پالایی که بر اساس تجزیه زیستی فعالیت می‌کند؛ بعنوان تکنولوژی کارا و موثر جهت رفع هیدروکربن‌ها از مناطق آلوده گسترش یافته است. تجزیه زیستی مکانیسم اولیه و طبیعی است که جمعیت میکروارگانیسم‌های یک منطقه در مواجهه با آلودگی‌های ایجاد شده انجام داده و سبب تغییر شکل بیولوژیکی نفت و سایر آلوده کننده‌های هیدروکربنی و حذف آنها از محیط می‌شوند. این مکانیسم بلافاصله پس از آلوده شدن و نشست نفت در محیط‌های آبی صورت می‌گیرد. به این ترتیب میکروارگانیسم‌ها به صورت طبیعی تجزیه نفت را در آب انجام داده و در مناطق آلوده بسته به دسترسی به مواد غذایی رشد و فعالیت خود را انجام می‌دهند. این مراحل با ورود هیدروکربن‌های تجزیه پذیر به محیط‌های آلوده آغاز شده، در ماه اول شدت یافته و با گذشت زمان و کاهش مواد غذایی کم می‌شود. عموماً تجزیه زیستی مناسب به عوامل و فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی چون دما، pH، اکسیژن محلول در آب و مواد مغذی تنظیم کننده رشد میکروارگانیسم‌ها مانند برخی فاکتورهای بیولوژیکی مانند فعالیت آنزیمی کنترل کننده پتانسیل تجزیه زیستی بستگی دارد [7][8]. علاوه بر این عوامل، سایر فاکتورها مانند ترکیبات شیمیایی و شرایط فیزیکی نفت، نوع و مقدار نشست نفت، شرایط و خصوصیات اکوسیستم آلوده و غیره نیز بر کیفیت این امر تاثیر گذارند. از آنجا که سرعت این پدیده طبیعی پایین است به منظور اثر بخشی بیشتر نیازمند بکارگیری سایر روشها از جمله زیست پالایی می‌باشد.

هر نوع فعالیت تجزیه زیستی در محیط‌های دریایی نیازمند بررسی چگونگی تجزیه هیدروکربن‌ها توسط میکروارگانیسم‌ها و کاهش آسیب‌های اکوسیستمی است. بررسی‌ها نشان می‌دهند که نفت خام و محصولات تصفیه شده غالباً شامل ملکول‌های تجزیه پذیری هستند که میزان تجزیه آنها از محیط بستگی به قابلیت مصرفشان توسط میکروب‌ها دارد (شکل 2).



شکل 2: مکانیسم‌های اصلی دخیل در تجزیه زیستی هوازی هیدروکربن‌های نفتی در محیط‌های دریایی [9]

همان‌طور که مشاهده می‌شود اکسیژن نقش مهمی در تجزیه زیستی دارد. بررسی‌ها نشان می‌دهند میزان تجزیه زیستی هیدروکربن‌ها در شرایط بی‌هوازی (فقدان اکسیژن) به نسبت شرایط هوازی کمتر است. با حضور اکسیژن این مکانیسم سریعتر و راحت‌تر صورت می‌گیرد چرا که بیشتر گونه‌های باکتریایی، جلبکی و قارچی بیشترین پتانسیل تجزیه خود

را در حضور اکسیژن دارند. بنابراین افزودن اکسیژن به محیط های آلوده نیز میزان زیست پالایی را نسبت به شرایط طبیعی چندین برابر می کند. در محیط های هوازی معمولا میکروارگانیسم ها ترکیبات هیدروکربنی آلوده را از طریق افزودن یک حلقه غیر اشباع از هیدروکربن های آروماتیک حلقوی یا افزودن یک گروه هیدروکسیل به انتهای آلکانها و تشکیل الکل می-شکنند و آنها را به ترکیبات محلول در آب با اکسیژن تبدیل می کنند. علاوه بر این، میکروارگانیسم های هوازی پتانسیل بیشتری در تجزیه طیف وسیعی از هیدروکربن ها به نسبت بی هوازی ها دارند که سبب زیست پالایی موثر آلودگی های هیدروکربنی در شرایط هوازی می شود [10]. با وجود سرعت کم زیست پالایی در شرایط بی هوازی، تجزیه کامل بسیاری از هیدروکربن ها در فقدان اکسیژن صورت می گیرد. به عنوان مثال، تجزیه هیدروکربن های آروماتیک حلقوی 90 روز و تجزیه بنزن 120 هفته گزارش شده است [11].

3- زیست پالایی Bioremediation

تکنولوژی زیست پالایی یکی از روش های جایگزین جهت رفع آلودگی های محیطی است. این روش ابداعی مانند تجزیه زیستی با تکیه بر ویژگی های میکروارگانیسم ها (استفاده از ترکیبات متابولیکی متنوع تولید شده توسط میکروارگانیسم ها، بیومس و/یا بخش هایی از آنها) جهت تجزیه و حذف آلودگی های محیطی و تبدیل آنها به ترکیبات بی ضرر مانند CO_2 ، CH_4 ، H_2O و نیز افزایش سرعت تجزیه زیستی از اهمیت بسزایی برخوردار است. گروه های زیادی از میکروارگانیسم ها مانند مخمرها، قارچ ها، جلبک ها و باکتری ها پتانسیل زیست پالایی هیدروکربن های نفتی را دارند [12]. نرخ زیست پالایی با افزودن برخی عناصر مکمل مانند نیتروژن (N) به مناطق آلوده افزایش می یابد.

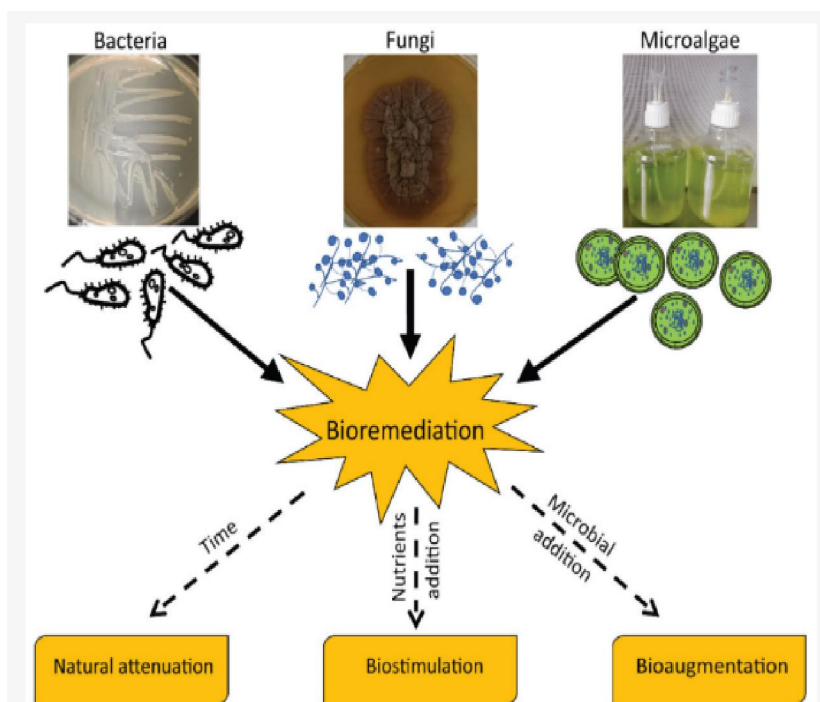
زیست پالایی بسته به منطقه کاربردی می تواند به صورت زیست پالایی در محل^۴ و یا خارج از محل^۵ انجام شود. زیست پالایی در محل معمولا تکنولوژی مطلوب و مناسبی است چرا که با توجه به انجام آن در محل آلودگی، هزینه های مربوطه کاهش یافته و نیازی به خارج کردن و انتقال آلودگی ها نیست. در حالیکه در زیست پالایی خارج از محل خارج کردن آلودگی ها و انتقال آنها بسیار هزینه بر است و این در حالی است که مشکلات مربوط به استخراج آنها از زیر آب و یا خاک را نیز باید در نظر داشت. تکنولوژی زیست پالایی عموما با دو رویکرد تحریک زیستی^۶ و انباشت زیستی^۷ مورد استفاده قرار می گیرد. (شکل 3)

⁴-in situ bioremediation

⁵-ex-situ bioremediation

⁶-Biostimulation

⁷-Bioaugmentation



شکل 3: نمای کلی از استراتژی زیست پالایی با دخالت گروه های مختلف میکروبی [13]

3-1- تحریک زیستی Biostimulation

تحریک زیستی به مفهوم ایجاد سلسله تغییرات محیطی است که سبب افزایش رشد میکروارگانیسم ها و نهایتاً تسریع تجزیه زیستی آلودگی های محیطی می شود. این تغییرات با افزودن مواد و ترکیباتی چون کربن، نیتروژن و فسفر به محیط و یا تغییر شرایط محیطی مانند رطوبت و میزان اکسیژن که از نیازهای اساسی جهت افزایش رشد و تنوع زیستی میکروارگانیسم ها است ایجاد می شود. نیتروژن، فسفات و اکسیژن ملکولی در دریاها از مهمترین موارد عوامل تحریک کننده غیر زیستی خصوصاً برای باکتری های تجزیه کننده هیدروکربن های نفتی هستند. در این میان تقویت کننده های نیتروژنه و فسفات مانند نیترات ها، آمونیوم فسفات، اوره و فسفات ها که حلالیت خوبی در آب دارند ترکیبات مناسبی هستند. همچنین اسید اوریک که منبع نیتروژن برخی گونه های باکتریایی مانند سویه های *Alcanivorax* است بعنوان کاتالیست زیستی جهت زیست پالایی لکه های نفتی معرفی شده است [14].

3-2- انباشت زیستی Bioaugmentation

انباشت زیستی به مفهوم استفاده از سویه های خاصی از میکروارگانیسم ها است که جداسازی شده و یا به منظور افزایش قابلیت کنترل آلودگی ها به عنوان مثال پاکسازی آلودگی های نفتی در اکوسیستم های دریایی آلوده اصلاح ژنتیکی شده اند. این مراحل بر اساس قابلیت میکروارگانیسم ها در متابولیسم کردن آلودگی ها و تبدیل آن ها به ترکیبات کم خطر با سمیت کمتر است. تجزیه زیستی به صورت طبیعی توسط میکروارگانیسم های بومی در محیط های آلوده رخ می دهد. معمولاً بدلیل پیچیدگی ساختار ترکیبات آلوده کننده و شرایط محیطی نا متعارف قابلیت تجزیه این میکروارگانیسم های بومی محدود است. به همین دلیل در این مناطق با استفاده از انباشت زیستی، تجزیه کامل ترکیبات آلوده کننده با ارگانیسم های میکروبی تخصصی انجام می شود [15].

انباشت زیستی که نوعی حالت کاشت میکروارگانیسم ها در مناطق آلوده به حساب می آید، در اکوسیستم های دریایی آلوده به ترکیبات نفتی جهت افزایش تجزیه آلودگی ها کاربرد وسیعی دارد. با این روش جمعیت خاصی از میکروارگانیسم ها که هیدروکربن ها را به عنوان تنها منبع کربن و انرژی مصرف می کنند افزایش می یابند. این گروه که میکروارگانیسم های تجزیه کننده هیدروکربن^۸ نام دارند عموماً باکتری هایی از سویه های *Cycloclasticus*, *Thalassolituus*, *Alcanivorax*, *Oleispira*, *Oleiphilus* هستند. سویه های *Cycloclasticus* تمایل بیشتری برای رشد بر روی هیدروکربن های آروماتیک مانند آنتراسن، فنانترن و نفتالن دارند در حالیکه *Oleispira*, *Oleiphilus* بیشتر بر روی هیدروکربن های آلیفاتیک، آلکانوت-ها و آلکانول ها رشد می کنند و گونه های *Alcanivorax* تنها بر روی آلکان های شاخه دار و n-آلکان ها رشد دارند [16].

4- میکروارگانیسم ها و زیست پایایی ترکیبات نفتی

4-1- باکتری ها

باکتری ها نخستین گروه میکروارگانیسم ها هستند که به ترکیبات نفتی حمله کرده و آن ها را به ترکیبات حد واسطی که توسط سایر میکروارگانیسم ها قابل استفاده باشد تبدیل می کنند. در محیط های دریایی، بیش از 200 گونه و 100 جنس میکروبی شناسایی شده که تجزیه هیدروکربن های نفتی را انجام می دهند و بیشتر آنها باکتری هستند [17]. سویه های زیادی از باکتری های تجزیه کننده نفت شامل *Neptunomonas*, *Alcanivorax*, *Cycloclasticus*, *Oleiphilus*, *Marinobacter* بوده و تجزیه آلکان ها و هیدروکربن های آروماتیک را انجام می دهند [16]. سایر گروه های باکتریایی که تجزیه هیدروکربن ها را در آب دریا و خاک انجام می دهند شامل: *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Actinomyces*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes*, *Nocardia*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas* می باشند [18] (جدول 1).

جدول 1: باکتری های تجزیه کننده نفت جدا شده از اکوسیستم های مختلف دریایی و هیدروکربن های مورد استفاده آنها

[13]	
باکتری های تجزیه کننده نفت	هیدروکربن های تجزیه شونده
<i>Alcaligenes aquatilis</i> BU33N	نفت خام و فنانترن
<i>Alcanivorax</i> sp. IO-7	آلکان
<i>Alcanivorax</i> sp. 24	آلکان
<i>Cupriavidus metallidurans</i> CH34	تولون
<i>Cycloclasticus</i> sp. BG-2	فنانترن
<i>Cycloclasticus</i> sp. 78-ME	هیدروکربن های آروماتیک حلقوی
<i>Cycloclasticus</i> sp. P1	نفتالن، فنانترن، پیرن
<i>Halomonas</i> sp. MCTG39a	هگزادکان
<i>Halomonas pacifica</i> Cnaph3	نفتالن
<i>Marinobacter hydrocarbonoclasticus</i> SdK644	نفت خام
<i>Oleispira antarctica</i> RB-8	آلکان های آلیفاتیک
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NP103	فنانترن و پیرن
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> N6P6	فنانترن و پیرن
<i>Pseudomonas</i> sp. spP48	فنل، نفتالن، پنتادکان

⁸Hydrocarbonoclastic microorganisms

Pseudomonas aeruginosa GOM1

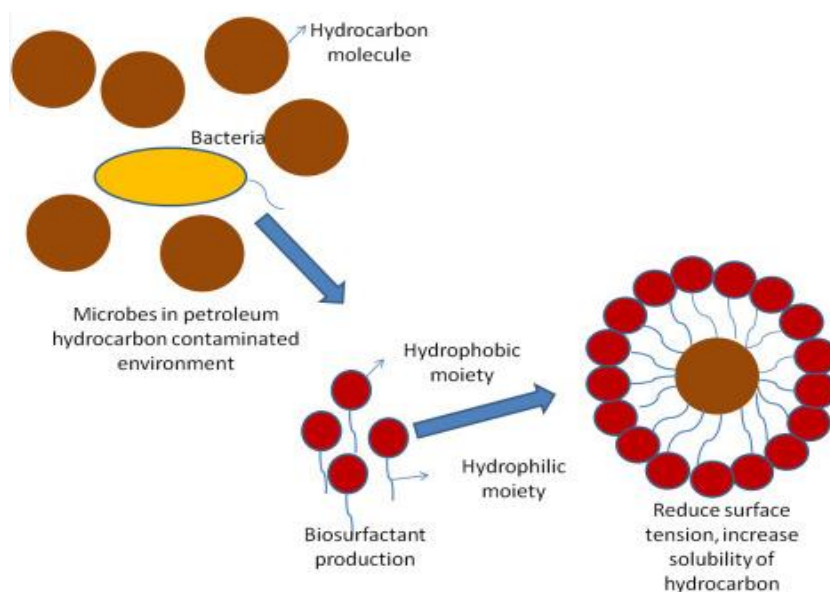
هگزادکان

Ralstonia picketti

نفت خام

تجزیه باکتریایی در محیط های دریایی تا حدی بستگی به ویژگی نمک دوستی^۹ آنها دارد که امکان فعالیت آنها را در مقادیر مختلف از استرس شوری فراهم می کند. Somee و همکاران [19] به بررسی قابلیت کنسرسیون نمک دوست متشکل از *Halomonas*, *Dietzia*, *Arthrobacter* پرداخته و نشان دادند که این ترکیب قادر به تجزیه 40٪ نفت دیزل می باشد. به نظر می رسد سویه های *Halomonas* قابلیت خوبی در تجزیه هیدروکربن های نفتی دارند.

استفاده از ترکیبات سورفکتانتی تولید شده توسط میکروارگانیسم ها نیز نقش موثری در زیست پالایی محیط های آلوده دارد [20]. این ترکیبات با دارا بودن بخش های دوگانه^{۱۰} نقش موثری در زیست پالایی دارند چرا که آلودگی ها که عمدتاً آب گریز^{۱۱} هستند به انتهای هیدروفوبی سورفکتانت ها متصل شده و تشکیل میسل می دهند و به این ترتیب به راحتی از رسوبات جدا می شوند (شکل 4). عموماً یکی از عوامل محدود کننده تجزیه زیستی هیدروکربن ها با توجه به طبیعت آب گریزی آنها عدم دسترسی و یا دسترسی ضعیف آنها به ترکیبات بیولوژیکی می باشد. بیوسورفکتانت ها با توجه به ماهیت ویژه خود سبب افزایش دسترسی زیستی هیدروکربن ها به سلول های میکروبی می شوند.



شکل 4: زیست پالایی و تولید بیوسورفکتانت توسط باکتریها جهت رفع آلودگی های هیدروکربنی [21]

رامنولیپیدها گروهی از بیوسورفکتانت ها هستند که نقش مهمی در رفع آلودگی های نفتی دریاها دارند. بررسی ها نشان می دهند افزودن رامنولیپیدها به محلولی از نفت خام و ماسه پس از 15 روز سبب تجزیه 30٪ ترکیبات فلورن، 20٪ فنانتین و 10٪ دی بنزوتیوفن می شود. به همین ترتیب، افزودن بیوسورفکتانت های مشابه رامنولیپید تولید شده توسط سویه

⁹-halophilic

¹⁰Amphiphilic moieties

¹¹Hydrophobe

مقاوم به شوری (*Pseudomona saeruginosa* (AHV-KH10) سبب تجزیه زیستی ترکیبات دیزلی تا 70٪ می شود [22]. نتایج پژوهش ها نشان می دهند استفاده ترکیبی از بیوسورفکتانت ها و ترکیبات محرک متابولیسم سوبه های میکروبی راهکار موثرتری جهت افزایش مراحل زیست پالایی است.

2-4- قارچ ها

قارچ ها متنوع ترین گروه یوکاریت های تک سلولی با بیش از 5 میلیون گونه در روی زمین هستند که تنها 5٪ آنها بررسی شده اند. بنابراین اکوسیستم های دریایی منابع ناشناخته ای از قارچ ها با کاربردهای بیوتکنولوژیکی گسترده هستند [23]. هرچند بیشتر بررسی های زیست پالایی بر باکتری ها متمرکز شده، اما امروزه استفاده از قارچ ها (قارچ پالایی^{۱۲}) با تکیه بر قابلیت این میکروارگانیسم ها در تولید آنزیم های مختلف برای تجزیه و تغییر شکل گروه های وسیعی از ترکیبات شیمیایی خطرناک مورد توجه و اهمیت ویژه قرار گرفته است. علاوه بر آزاد سازی آنزیم های خارج سلولی در محیط، قارچ ها فعالیت تجزیه کنندگی گسترده ای را از طریق شبکه های فیه (ریسه های) خود نیز انجام می دهند [24]. رشد راسی قارچ ها، نفوذ و ورود آنها را به رسوبات (آلودگی ها) راحت تر از سایر میکروارگانیسم ها کرده است و با توجه به انعطاف تنوع متابولیکی گسترده این موجودات، آنها قادر به همگون سازی هیدروکربن ها در محیط هایی با pH پایین و غلظت کم مواد غذایی نیز هستند [25].

گونه های زیادی از قارچ های خاکزی و نقش آنها در تجزیه زیستی هیدروکربن ها بررسی شده اند ولی در خصوص پتانسیل زیست پالایی هیدروکربن های نفتی قارچ ها در محیط های دریایی پژوهش های اندکی صورت گرفته است. اما همین بررسی ها نیز نشان می دهند قارچ های موجود در اکوسیستم های دریایی نقش موثری در تجزیه هیدروکربن های نفتی دارند [26] (جدول 2).

Barnes و همکاران [27] گونه های قارچی *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Acremonium* را از رسوبات مختلف دریایی جدا سازی کرده و نشان دادند گونه قارچی *Penicillium citrinum* قادر است آلودگی نفت خام را تا 77٪ و n-آلکانها را تا 95٪ کاهش دهد. همچنین در بررسی های انجام شده در خصوص پاکسازی رسوبات آلوده به هیدروکربن از سواحل غربی الجزایر گزارشاتی مبنی بر قابلیت 12 سوبه قارچی متعلق به جنس های *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* در خصوص تجزیه نفت خام و نیز تولید ترکیبات بیوسورفکتانتی منتشر شده است. قارچ ها همچنین قادر به تجزیه هیدروکربن های آروماتیک حلقوی (PAHs) نیز هستند. دو سوبه *Aspergillus clerotiorum* CBMAI 849, *Mucor racemosus* CBMAI 847 جدا شده از سواحل شمالی برزیل قادرند بین 50 و 90٪ ترکیبات پیرن و بنزوپیرن را متابولیزه کنند [28]. همچنین گزارشاتی در خصوص تجزیه ترکیبات حلقوی توسط سه سوبه *Tinctoporellus* sp. CBMAI 1061, *Peniophora* sp. CBMAI 106, *Marasmiellus* sp. CBMAI 1062 منتشر شده است. آنالیز متابولیت های حد واسطه تجزیه پیرن نشان می دهد قارچ پالایی ترکیبات آروماتیک از طریق سیستم سیتوکروم P450 و آنزیم های اپوکسید هیدرولاز انجام می شود [29].

جدول 2: قارچ های دریایی تجزیه کننده هیدروکربن ها [13]

¹²mycoremediation

ترکیبات	مکان	گونه های قارچی
نفت خام ، آلکان	رسوبات عمیق دریا	<i>Aspergillus sydowii</i> NIOSN-SK56C42
	جنگلهای مانگرو (پنجاب، گوا)	<i>Acremonium sclerotigenum</i> NIOSN-M109
	رسوبات مانگرو (پنجاب، گوا)	<i>Penicillium citrinum</i> NIOSN-M126
	اعماق دریا	<i>Aspergillus flavus</i> NIOSN-SK56S22
نفت خام	رسوبات دریایی (خلیج Oran ، الجزیره)	<i>Penicillium polonicum</i>
		<i>Penicillium cyclopiun</i>
		<i>Penicillium monoematosum</i>
		<i>Penicillium chrysogenum</i>
هگزادکان و 1- هگزادکان	منابع نفتی اعماق دریا (خلیج مکزیک)	<i>Aureobasidium</i> sp.
		<i>P.brevicompactum</i>
		<i>Phialocephal</i> sp.
		<i>Penicillium</i> sp.
پیرن و بنزوپیرن	نواحی ساحلی اقیانوس اطلس (Sao Paulo برزیل)	<i>Cladosporium</i> sp.
		<i>C.gracilis</i>
		<i>Aspergillus sclerotiorum</i> CBMAI 849
		<i>Mucor racemosus</i> CBMAI 847
پیرن و PAH	اسفنج های دریایی (<i>Dragmacidon reticulatum</i> , <i>Amphimedon viridis</i>)	<i>Tinctoporellus</i> sp. CBMAI1061

3-4- ریز جلبک ها

یکی از روش های جایگزین پاکسازی هیدروکربن ها با باکتری ها یا قارچ ها، گیاه پالایی^{۱۳} است که به معنای استفاده از گیاهان یا جلبک ها جهت حذف آلاینده های محیطی یا تغییر شکل آنها به ترکیبات کم خطر است. پروکاریت های تک سلولی فتوسنتز کننده یا یوکاریت ها مانند سیانوباکتری ها، جلبک های سبز، قهوه ای و قرمز که قابلیت رشد و تولید بیومس خوبی دارند، جایگاه ویژه ای در زیست پالایی دارند [30]. از حدود 50 سال پیش قابلیت تجزیه ترکیبات حلقوی مانند نفتالن توسط ریز جلبک ها بررسی شده و در سال های اخیر تجزیه پیرن ها به میزان 34 تا 100٪ در مدت 7 روز تیمار با ریز جلبک های سبز *Synechocystis*، *Chlamydomonas*، *Chlorella*، *Scenedesmus*، *Selenastrum* و سیانوباکتریوم گزارش شده است. گزارشات مشابهی نیز در خصوص حذف فناترن و فلورانتین توسط دیاتمه های *Skeletonema costatum*، *Nitzschia* sp. وجود دارد.

هرچند بیشتر گونه های ریز جلبکی که حذف هیدروکربن ها را از مناطق آلوده انجام می دهند از آب شیرین جدا سازی شده اند اما اکوسیستم های دریایی نیز به نوبه خود میزبان موجودات فتواتوتروف تجزیه کننده هیدروکربن ها هستند. علاوه بر این، استفاده از این موجودات فتوسنتز کننده دریایی به نسبت سویه های آب شیرین منافع زیادی دارد چرا که برای کشت آن ها از آب شور استفاده شده و این موجودات از قابلیت بیشتری برای فتوسنتز و تبدیل انرژی خورشیدی برخوردارند [31]. به این ترتیب، سیانوباکتری های دریایی *Agmenellum quadruplicatum*، *Microcoleus chthonoplastes*، *Phormidium*

¹³-phytoremediation

corium توانایی خوبی در حذف فنانترن دارند. سویه دریایی دیگر متعلق به جنس *Phormidium* جدا شده از توده های ریز جلبکی مناطق ساحلی خلیج *Todoa Santos* مکزیک قادرند 45 و 37٪ آلودگی های هگزادکان و دیزل را از آب دریا در مدت 10 روز جداسازی کنند. همچنین *Nannochloropsis oculata* (eustigmatophytae) و *Isochrysis galbana* (haptophytae) نیز نمونه های مناسبی جهت حذف هیدروکربن ها از آب های آلوده دریاها هستند که بازدهی بیش از 80٪ دارند [32].

از آنجا که توانایی ریز جلبک ها و/یا سیانوباکتری ها در مواجهه با ترکیبات نفتی به اثبات رسیده است، اما مکانیسم های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی دخیل در حذف هیدروکربن ها نیازمند بررسی های بیشتر است. تئوری های جذب زیستی (biosorption) و تجمع زیستی (bioaccumulation) که از مدل های موفق در زمینه چگونگی دینامیک حذف فلزات هستند، در خصوص مکانیسم های تجزیه هیدروکربن ها کارایی چندانی نداشته و از این رو چگونگی این امر نیازمند تحقیقات و بررسی های گسترده تری می باشد [33]. با این وجود، بررسی و مشاهده کشت فتوتروف های دریایی نشان می دهد که این کشت ها معمولا خالص نبوده و شامل توده های متنوعی از میکروب های فتوتروف می باشند که نقش عمده ای در تجزیه هیدروکربن ها دارند. در تایید این فرضیه *Chernikova* و همکاران [34] نشان دادند که باکتریهای هیدروکربنوکلاستیک مانند گونه های *Alcanivorax* یا *Marinobacter* معمولا همراه با کشت های دو ریز جلبک دریایی (*Pavlova lutheri*, *Nannochloropsis oculata*) با نفت خام مشاهده می شوند.

در هم افزایی^{۱۴} مخلوط جلبک-باکتری، اکسیژن تولید شده توسط مراحل فتوسنتزی جلبک ها سبب رشد باکتری ها، اکسیداسیون آلودگی ها و حذف هیدروکربن ها می شود. این اکسیژن مکمل، مشکل کمبود اکسیژن باکتری ها را در طی مراحل تجزیه فتوتروفی هیدروکربن ها برطرف می کند [35]. این همکاری همچنین می تواند سبب تولید ترکیباتی از ریز جلبک ها شده که سبب رشد بیشتر و افزایش فعالیت تجزیه کنندگی نفت باکتری شود.

در استفاده از ریز جلبک ها جهت پالایش رسوبات دریایی موارد بسیاری را باید در نظر داشت و بهینه سازی های مناسبی خصوصا از نظر نیازهای نوری، مشکلات استفاده از جلبک ها در زیر رسوبات و یا اعماق زیاد آب را در نظر گرفت. در این رابطه می توان از ریز جلبک های میکسوتروف یا فتوتروف استفاده کرد که خود نیازمند بررسی های بیشتر می باشند. علاوه بر این توسعه آنزیم های فرموله شده و/یا محصولات ریز جلبکی به جای استفاده از سلول های زنده، راهکار جدیدی برای زیست پالایی رسوبات دریایی و پاکسازی خاک ها می باشد [36]. به عنوان مثال *Hug* و همکاران [37] به بررسی پاکسازی رسوبات دریایی آلوده شده با ترکیبات فنلی با استفاده از ترکیبات استخراج شده از جلبک قرمز *Agardhiella subulata* که رادیکال های فعال در pH قلیایی تولید می کند پرداخته اند.

5- نتیجه گیری

پژوهش ها و بررسی های صورت گرفته نشان می دهند میکروارگانیسم ها اعم از باکتری ها، قارچ ها و ریز جلبک ها قابلیت تجزیه هیدروکربن ها را داشته و از پتانسیل خوبی جهت پاکسازی و پالایش رسوبات آلوده دریایی برخوردارند. از آنجا که هر سویه نیازهای متابولیکی متفاوتی داشته و در نتیجه کارایی متفاوتی در زیست پالایی هیدروکربن های نفتی دارد، این امر بسته به ساختار شیمیایی و دسترسی زیستی هیدروکربن ها و شرایط محیطی متفاوت است. از این رو لازم است بررسی های آتی در خصوص چگونگی پتانسیل برهم کنش های هم افزایی میان سویه های میکروبی و ارزیابی قابلیت آنها برای حذف هیدروکربن ها جهت کاربرد در محل و خارج از محل صورت گیرد. همچنین داده های بیشتری در خصوص برهم کنش های هیدروکربن-میکروارگانیسم و بررسی مسیرهای تجزیه آنها مورد نیاز است. این داده ها پیش نیاز مهمی جهت طراحی روش های موثر و مقرون به صرفه در محل آلودگی هستند چرا که وجود آلوده کننده های موجود در رسوبات و تجزیه و تغییر ناقص آنها سبب افزایش ریسک اکوتاکسیکولوژیکی و اثرات مخرب محیطی می شود. روش های مستقل از کشت مانند استخراج ژن

¹⁴synergy

میکروارگانیسم های دریایی نیز رویکرد مناسبی است که مشکلات کشت را نداشته و منجر به تسهیل شناسایی سویه های میکروبی تجزیه کننده جدید نیز می شوند . نهایتا کاربرد زیست پالایی رسوبات در محل با توجه به نتایج حاصله از فاز آزمایشگاهی یا پژوهش های مربوطه و تخمین مناسبی از هزینه های اقتصادی و اثرات محیطی ممکن، باید وارد فازهای بزرگتر و کاربردی تر شود. رعایت این نکات نشان دهنده جنبه های کلیدی و اصلی توسعه پایدار و اقتصادی زیست پالایی دخیل در رسوبات آلوده به هیدروکربن های نفتی می باشد.

مراجع

- [1] McGenity T.J., Folwell B.D., McKew B.a., Sanni G.O. Marine crude oil biodegradation : a central role for interspecies interactions. *Aquat Biosyst.* 2, 8:10, 2012.
- [2] Chen Q., Li J., Liu M., Sun H., Bao M. Study on the biodegradation of crude oil by free and immobilized bacterial consortium in marine environment. *PLoS One.* 12, e0174445, 2017.
- [3] Simister R., Taylor M.W., Rogers K.M., Schupp P.J., Deines P. Temporal molecular and isotopic analysis of active bacterial communities in two New Zealand sponges. *FEMS Microbiol. Ecol.* 85:195-205, 2013.
- [4] Lee K., Boufadel M., Chen B., Foght J., Hodson P., Swanson S. The behavior and environmental impacts of crude oil released into aqueous environments. Ottawa: The Royal Society of Canada, 2015.
- [5] Hassanshahian M., Amirinejad N., Askarinejad Behzadi M. Crude oil pollution and biodegradation at the Persian Gulf: A comprehensive and review study. *Journal of environmental and Health science and Engineering*, 18: 1415-1435, 2020.
- [6] Gong Y., Zhao X., Cai Z., O Reilly S.E., Hao X., Zhao D. A review of oil, dispersed oil and sediment interactions in the aquatic environment: influence on the fate, transport and remediation of oil spills. *Mar Pollut Bull.* 4:79:16-33, 2014.
- [7] Varjani S.J. and Upasani V.N. A new look at factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. *Int. Biodeter. Biodegr.* 120: 71-83, 2017.
- [8] Ahmed R.S. and Swargiary M.D. Plastic and petroleum hydrocarbon degrading potentials of single and mixed bacterial cultures isolated from garbage areas of Darrang. *Assam. Nat. Env. Poll. Tech.* 20(1):275-280, 2021.
- [9] Paniagua-Michel J. and Rosales A. Marine biodegradation- A sustainable biotechnology of petroleum hydrocarbons biodegradation in coastal and marine environments. *J. Bioremed. Biodeg.* 6:2, DOI: 10.4172/2155-6199.1000273, 2015.
- [10] Sexena R., Gothawal R. and Khan M.N. The prospective in-silco approach in bioremediation of petroleum hydrocarbon: success so far. *Octa J. Environ. Res.*, 1:45-63, 2015.
- [11] Meckenstock R.U. Anaerobic degradation of benzene and polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, 26:92-118, 2016.
- [12] Naeem U., and Qazi M.A. Leading edges in bioremediation technologies for removal of petroleum hydrocarbons. *Environ.Sci.Pollut.Res.*, 15:1-13, 2019.
- [13] Filippo A., Eugenio R., Clementina S., Christophe B., Adraiana I., Antonio A. Bacteria, fungi and microalgae for the bioremediation of marine sediments contaminated by petroleum hydrocarbons in the Omics Era. *Microorganisms*, 9, 1695, 2021.
- [14] Ron E.Z. and Rosenberg E. Enhanced bioremediation of oil spills in the sea. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 27:191-194, 2014.
- [15] Nzila A., Razzak S.A., Zhu J. Bioaugmentation: an emerging strategy of industrial wastewater treatment for reuse and discharge. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 13:846, 2016.
- [16] Nzila a., Samkaran S., Al-Momani M., Musa M.M. Isolation and characterization of bacteria degrading polycyclic aromatic hydrocarbons: Phenanthrene and anthracene. *Arch. Environ. Protect.* 44:651, 2018.

- [17] Brakstad O.G. Depletion and biodegradation of hydrocarbons in dispersions and emulsions of the Macondo 252 oil generated in an oil-on-seawater mesocosm flume basin. *Marine Pollut.*,84:125-134, 2014.
- [18] Villela H.D., Peixoto R.S., Soriano A.U., Carmo F.L. Microbial bioremediation of oil-contaminated seawater: A survey of patent deposits and the characterization of the top genera applied. *Sci. Total Environ.*, 666:743-758, 2019.
- [19] Somee M.R., Shavandi M., Dastgheib S.M.m., Amoozegar M.A. Bioremediation of oil –based drill cutting by a halophilic consortium isolated from oil-contaminated saline soil. *3Biotech* 8,229, 2018.
- [20] Ramdan M., de Moraes E.G., de Oliveira C.F., Zanfonato K., Costa J.A.V. Microalgae cultivation for biosurfactant production. *Afr. J. Microbiol. Res.* 9 2283-2289, 2015.
- [21] Dhanya M.S. Chapter 10- Biosurfactant –enhanced bioremediation of petroleum hydrocarbons, potential issues, challenges and future prospects. *Bioremediation for environmental sustainability*, 215-250, 2021.
- [22] Pourfadakari S., Ghafari S., Takdastan A., Jorfi S.A. A salt resistant biosurfactant produced by moderately halotolerant *Pseudomonas aeruginosa* (AHV-KH10) and its application for bioremediation of diesel-contaminated sediments in saline environments. *Biodegradation* 32, 327-341, 2021.
- [23] Amend A., Burgaud G., Cunliffe M., Edgcomb V.P., Ettinger C.L. Gutierrez M.H., Heitman J., Hom E.F.Y., Ianiri G., Jone A.C. Fungi in marine environment: open question and unsolved problems. *MBio* 10,1-5, 2019.
- [24] Asemoloye M.D., Tosi S., Dacco C., Wang X., Xu S., Mrchisio M.A., Gao W., Jonathan S.G., Pecoraro L. Hydrocarbon degradation and enzyme activities of *Aspergillusoryzae* and *Mucorirregularis* isolated from Nigerian crude oil-polluted sites. *Microorganisms* 8,1912, 2020.
- [25] Horel A., Schiewer S. Microbial degradation of different hydrocarbon fuels with mycoremediation of volatiles. *Microorganisms* 8,163, 2020.
- [26] Barone G., Varrella S., Tangherlini M., Rastelli E., Dell Anno A., Danovaro R., Corinaldesi C. Marine fungi: Biotechnological perspectives from deep-hypersaline anoxic basins. *Diversity* 11,113, 2019.
- [27] Barnes N.M., Khodse V.B., Lotlikar N.P., Meena R.M., Damare S.R. Bioremediation potential of hydrocarbon-utilizing fungi from select marine niches of India. *3 Biotech* 8,21, 2018.
- [28] Passarini M.R.Z., Rodrigues M.V.N., de Silva M., Sette L.D. Marine-derived filamentous fungi and their potential application for polycyclic aromatic hydrocarbon bioremediation. *Mar. Pollut. Bull.* 62,364-370, 2011.
- [29] Vieira G.A.L., Magrini M.J., Bonugli-Santos R.C., Rodrigues M.V.N., Sette L.D. Polycyclic aromatic hydrocarbons degradation by marine-derived basidiomycetes: Optimization of degradation process. *Braz.J. Microbiol.* 49,749-756, 2018.
- [30] Duane X., Chen Y., Yan Y., Feng L., Chen Y., Zhou Q. New method for algae comprehensive utilization: Algae-derived biochar enhances algae anaerobic fermentation for short-chain fatty acids production. *Bioresour.Technol.* 289,121637, 2019.
- [31] Tripathi B.N., Kumar D. Prospects and challenges in algal biotechnology, Springer. Berlin/Heidelberg, Germany, ISBN 9789811019500, 2017.
- [32] Ammar S.H., Khadim H.J., Mohamed A.J. Cultivation of *Nannochloropsis oculata* and *Isochrysis galbana* microalgae in produced water for bioremediation and biomass production. *Environ. Technol. Innov.* 10,132-142, 2018.
- [33] Mcgenity T.J., Folell B.D., Mckew B.A., Sani G.O. Marine crude-oil biodegradation: A central role for interspecies interactions. *Aquat.Biosyst.*8, 10, 2012.
- [34] Chernikova T.N., Bargiela R., Toshchakov S.V., Shivaraman V., Lunet E.A. Hydrocarbon degrading bacteria *Alcanivorax* and *Marinobacter* associated with microalgae *Pavlova lutheri* and *Nannochloropsis oculata*. *Front. Microbiol.*11, 572931, 2020.
- [35] Al-Hussieny A.A., Imran S.G. Jabur Z.A. The use of local blue-green algae in the bioremediation of hydrocarbon pollutants in wastewater from oil refineries. *Plant. Arch.* 20, 797-802, 2020.
- [36] Fu P., Secundo F. Algae and their bacterial consortia for soil bioremediation. *Chem. Eng.Trans.* 49, 427-432, 2016.



[37] Hug C.M., Huang C.P., Hsieh S.L., Tsai M.L., Chen C.W., Dong C. Di Biochar derived from red algae for efficient remediation of 4-nonylphenol from marine sediments. Chemosphere 254, 126916, 2020.

Biotechnological roll of microorganisms in bioremediation of marine petroleum pollutions

Ladan Baftehchi*

Department of petroleum microbiology, Research Institute of Applied Science of ACECR, Shahid Beheshti university, Tehran, Iran
ladanbaftehchi@yahoo.com

Abstract

Increasing population and development of industries with enhanced human activities cause different environmental pollutions. Among them, oil spills and petroleum hydrocarbon (PHCs) pollutions in marine environments are one of the most widespread problems that threatened these ecosystems. The toxic compounds from petroleum hydrocarbons in seawaters lead to the death of marine organisms and cause various biogeochemical cycle resulting in prolonged toxic effect on the marine ecosystems. So treatments these environments from petroleum compounds is so important. Their treatments usually performed by physical and/or chemical methods that each one has some benefits and disadvantages. Biological treatment or bioremediation is a promising method in this field based on the potential of microorganisms such as bacteria, fungi and microalgae in biodegradation of pollutants like petroleum hydrocarbons into neutralized or eco-friendly compounds with lower costs. This research review petroleum pollutions, bioremediation methods and biotechnological role of microorganisms for removing and treatment of marine ecosystems and their coastal area from these contaminants.

Key words: Biodegradation, Bioremediation, Marine pollution, Microorganisms, Petroleum hydrocarbons.