پژوهش و فناوری محیط زیست،۱۴۰۰ ۶(۱۰)، ۱۳۵-۱۵۰

پژوهش و فناوری محیط زیست

وبگاه نشریه: www.journal.eri.acecr.ir

پژوهشکده محیط زیست

شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۳۰۶۰

مطالعهٔ کارایی روش‌های مختلف تجزیهٔ زیستی میکروبی در حذف آلاینده‌های هیدروکربنی نفت خام

فرهود نوائی [۱*]، عباس هاشمی‌زاده [۲]

۱- دانشجوی کارشناسی، گروه مهندسی‌نفت، دانشکدهٔ مهندسی‌نفت و پتروشیمی، دانشگاه حکیم‌سبزواری، سبزوار، ایران.

۲- استادیار، گروه مهندسی‌نفت، دانشکدهٔ مهندسی‌نفت و پتروشیمی، دانشگاه حکیم‌سبزواری، سبزوار، ایران

چکیده

آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی، از لحاظ تجزیه‌پذیری جزء ترکیب‌های سخت بوده و به‌عنوان آلاینده‌های آلی پایدار و مهم طبقه‌بندی می‌شوند. این آلاینده‌ها اثرات نامطلوبی بر سلامت انسان و محیط پیرامونش دارند و مقابله با آلودگی محیط زیست ناشی از آن‌ها مسئلهٔ مهمی برای جهان و جوامع بشری است. هرچند پاکسازی این آلاینده‌ها از محیط زیست یک مشکل اساسی است، اما تجزیهٔ بیولوژیکی که از فعالیّت بیولوژیکی طبیعی و تجزیهٔ میکروبی استفاده می‌کند، یک روش سازگار با محیط زیست و اقتصادی برای کنترل این نوع آلودگی‌ها است و در پاک‌سازی محیط‌های آلوده با هیدروکربن‌های نفتی به یک روش اصلی تبدیل شده است. پژوهش حاضر یک بررسی جامع، به‌هنگام و کارآمد دربارهٔ تصفیهٔ زیستی آلاینده‌های هیدروکربنی نفت خام با در نظر گرفتن دگرگونی و تغییرات هیدروکربن‌ها توسط میکروارگانیسم‌ها با تمرکز ویژه بر بینش‌های جدید به وجود آمده در چند سال اخیر را ارائه می‌دهد. نتایج مطالعه حاضر به خوبی نشان می‌دهد آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی با استفاده از برخی میکروارگانیسم‌ها مانند اولئوفیلیک، تا حد قابل قبولی زیست‌تجزیه‌پذیر بوده و حذف آن‌ها با این روش مقرون به صرفه و اقتصادی است، همچنین تجزیهٔ بیولوژیکی میکروبی آلاینده‌های هیدروکربن نفتی، از طریق فعالیّت‌های کاتالیزوری- آنزیمی میکروارگانیسم‌ها صورت می‌گیرد و میزان تخریب آلاینده‌ها را تا چندین برابر روش‌های سنتی افزایش دهد.

کلید واژه‌ها: تخریب میکروبی، آلاینده‌های هیدروکربنی نفتی، تجزیهٔ بیولوژیکی، پالایش زیستی.

*پست الکترونیکی نویسنده مسئول: a.hashemizadeh@hsu.ac.ir

Journal of Environmental Research and Technology, 6(10)2021. 135-150

Journal of Environmental Research and Technology

journal homepage :www.journal.eri.acecr.ir

Environmental Research institute

Online ISSN: 3060-2676

Study of the different microbial biodegradation methods efficiency in the removal of crude oil hydrocarbon contaminants

Farhood Navaie[*1], Abbas Hashemizadeh[2]

1- BSc Student, Department of Petroleum Engineering, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Petroleum Engineering, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran

Abstract

Petroleum hydrocarbon contaminations are one of the hardest compounds in terms of decomposition and control and classified as stable and important organic contaminants which have adverse effects on human health and his environment and coping with the environmental contamination caused by petroleum hydrocarbon is an important issue for the world and human societies. Although removal of these contaminants from the environment is a major problem, biodegradation (which uses natural microbial biodegradation) is an ecofriendly and economical approach to control these types of contaminants and has become a main method for cleaning up environments contaminated with petroleum hydrocarbons. The present study provides a comprehensive, up-to-date and efficient review of the bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants, taking into account the hydrocarbon alterations by microorganisms with a particular focus on the new insights gained in recent years. Also, the metabolism of hydrocarbons in microorganisms has been described by reviewing the researches presented in recent years. The results of the study show well that petroleum hydrocarbon contaminants are biodegradable to an acceptable degree using some microorganisms such as oleophilic and their removal is cost-effective and economical by this method. Also, microbial biodegradation of petroleum hydrocarbon contaminants uses the enzymatic catalytic activities of microorganisms and increases the degradation of contaminants several times more than traditional methods.

Keywords: Microbial degradation, Petroleum hydrocarbon contaminants, Biodegradation, Bioremediation.

*Corresponding author E-mail address: a.hashemizadeh@hsu.ac.ir

مقدمه

امروزه هیدروکربن‌های نفتی یک منبع مهم انرژی و ماده اولیه برای صنایع مختلف هستند و افزایش تقاضا برای فرآورده‌های نفتی در زندگی روزمره ممکن است باعث کمبود آن‌ها و افزایش هزینه شود زیرا هنوز گزینه‌های مناسب و رایج جایگزین یافت نمی‌شوند (اولانرواجو[۱] و همکاران، ۲۰۲۰). آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی ترکیبات آلی هستند که فعالیّت‌های انسانی مانند روان آب‌های صنعتی و شهری، رهاسازی پساب، فعالیّت‌های سکوهای بهره‌برداری نفت در دریا و خشکی و همچنین نشت‌های تصادفی باعث انتشار این آلاینده‌ها می‌شوند این در حالی است که همواره محیط‌های دریایی به عنوان آخرین و بزرگترین محل برای آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی در نظر گرفته می‌شوند (محمدی[۲] و همکاران، ۲۰۲۰).

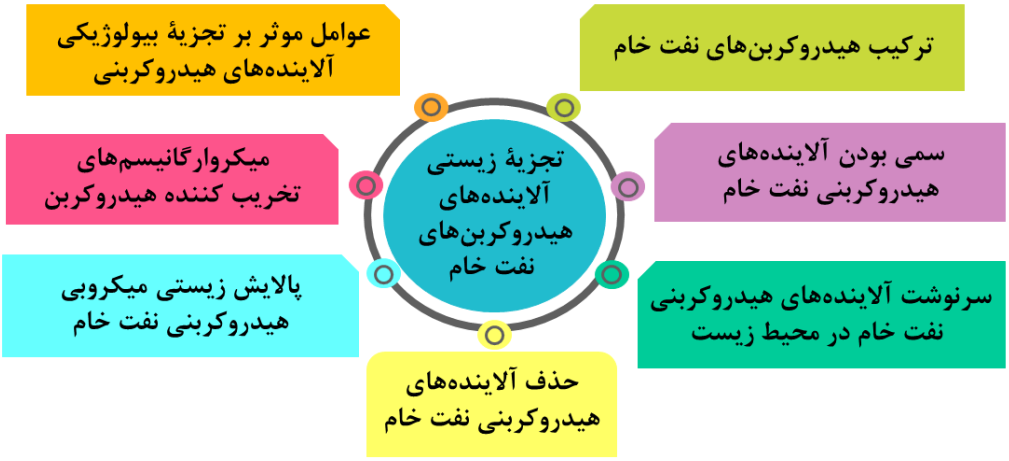
حذف آلاینده‌های هیدروکربن و بازیافت بیشتر نفت خام دو چالش اصلی بهره‌وری محیط زیستی در صنعت نفت هستند. نفت خام اغلب از پارافین، مواد معطر، رزین و آسفالتین تشکیل می‌شود و مخلوطی از انواع هیدروکربن‌های ساده و پیچیده است که می‌تواند توسط چندین میکروارگانیسم طبیعی که هرکدام قادر به تجزیهٔ گروه خاصی از مولکول‌های هیدروکربن هستند، تخریب شود (وانگ[۳] و همکاران، ۲۰۱۹؛ حسن‌شاهیان[۴] و همکاران، ۲۰۲۰). هیدروکربن‌های نفتی عمدتا از نسبت‌های مختلف کربن و هیدروژن تشکیل شده‌اند، با این حال اغلب، مقداری نیتروژن، گوگرد و اکسیژن دارند. نفت خام را می‌توان بر اساس درصد نسبی مواد تشکیل دهنده سنگین وزن مولکولی موجود در آن به عنوان نفت سبک، متوسط یا سنگین طبقه‌بندی کرد (پین‌هیرو[۵] و همکاران، ۲۰۱۹). ترکیب نفت خام ممکن است با محل و سن یک میدان نفتی و همچنین عمق چاه نفت متفاوت باشد (ساکسن هوفر[۶] و همکاران، ۲۰۲۱). حدود ۸۵ درصد از اجزای تشکیل دهنده انواع نفت خام را می‌توان به چهار بخش الف) اشباع (آلیفاتیک)، ب) مواد معطر (هیدروکربن‌های حلقه‌ای)، ج) رزین‌ها و د) آسفالتین‌ها تقسیم کرد که آسفالتین‌ها خود بر اساس ساختارهای شیمیایی به آلکان‌ها (پارافین‌ها) و سیکلوآلکان‌ها دسته‌بندی می‌شوند (آگباجی[۷] و همکاران، ۲۰۲۱). هیدروکربن‌های معطر دارای یک یا چند حلقهٔ معطر هستند که معمولاً با گروه‌های مختلف آلکیل جایگزین می‌شوند. رزین‌ها و آسفالتین‌ها دارای ترکیب‌های کربنی بسیار پیچیده در کنار بسیاری از اتم‌های نیتروژن، گوگرد و اکسیژن و در مقایسه با بخش‌های اشباع و معطر، حاوی ترکیب‌های قطبی غیرهیدروکربنی هستند (رابسون[۸] و همکاران، ۲۰۱۷)؛ این در حالی است که هر جز دارای یک رفتار شیمیایی منحصر به فرد است که بر تجزیهٔ بیولوژیکی آنها تأثیر می‌گذارد. تاثیر این اجزای آلاینده‌های هیدروکربنی بر جامعه بشری شامل مرگ و میر ناشی از نکروز حاد، هیپوترمی، استنشاق، غرق شدن و بلعیدن ترکیب‌های سمی بشود و همچنین ترکیب‌های آلی فرار نفت‌خام که برای پوست و سایر بافت‌های انسان مضر است که از جمله تأثیرهای کوتاه‌مدت است (کمال[۹] و همکاران، ۲۰۱۶). تأثیرهای طولانی مدت بر روی سایر موجودات زنده شامل ناهنجاری‌های تکاملی حیوان‌های دریایی مانند کاهش فک، عدم تنوع رنگی در حیوان‌ها و غیره است که این اثرها باعث تغییر در جمعیّت یا جامعه گونه‌ای و در نتیجه باعث تغییر در کل بوم سازگان می‌شود (اوخوربور[۱۰] و همکاران، ۲۰۲۱).

با توجّه به بررسی آخرین مطالعات صورت گرفته، در حال حاضر بسیاری از کشورها در سراسر جهان با مشکلات فراوانی ناشی از آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی روبرو هستند که خود یکی از آلاینده‌های آلی پایدار[۱۱] هستند. پاک‌سازی این مکان‌های آلوده با تجزیهٔ بیولوژیکی گزینه مناسبی است زیرا روش‌های معمول فیزیکی و شیمیایی برای پاک‌سازی از نظر فنی و همچنین اقتصادی چالش‌زا به نظر می‌رسد (ورجانی[۱۲] و همکاران، ۲۰۱۷). سلول‌های میکروبی ساکن نسبت به سلول‌های میکروبی آزاد برای بهبود بقا و حفظ عوامل تجزیهٔ بیولوژیکی در مکان‌های آلوده برتری دارند. با این حال رویکردهای تجزیهٔ بیولوژیکی فعلی با تعدادی محدودیت مواجه‌اند که شامل ویژگی‌های آلاینده‌ها، توانایی‌های ضعیف جوامع میکروبی در شرایط خاص، وجود زیستی کمتر آلاینده‌ها و شرایط رشد می‌شود (مگرج[۱۳] و همکاران، ۲۰۱۱). عوامل موثر بر میزان تخریب بیولوژیکی میکروارگانیسم‌ها، روند تغییرات میکروبی آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی،

---

[1] Olanrewaju
[2] Mohammadi
[3] Wang
[4] Hassanshahian
[5] Pinheiro
[6] Sachsenhofer
[7] Agbaji
[8] Robson
[9] Kamal
[10] Ukhurebor
[11] Persistent Organic Pollutants (POPs)
[12] Varjani
[13] Megharaj

مسیرهای تخریب آلاینده‌های هیدروکربن و انواع فناوری‌های زیست پالایی و فرآیندها هستند و در شکل ۱ ابعاد مختلف تجزیه زیستی آلاینده‌های هیدروکربنی که در مطالعات اخیر به آنها پرداخته شد را مشاهده می‌کنید. عوامل یاد شده در کنار محدودیت‌های موجود برای هر رویکرد تجزیهٔ بیولوژیکی اتخاذ شده، ساز و کار موثر را مشخص می‌کنند (ورجانی و همکاران، ۲۰۱۷؛ محمدی و همکاران، ۲۰۲۰).



شکل ۱- تجزیه زیستی آلاینده‌های هیدروکربنی نفت

با توجّه به تاثیر آلاینده‌های هیدروکربنی نفتی و میزان تاثیر آنها که مورد بحث قرار گرفت، درک عوامل موثر بر زیست پالایی و تخریب میکروبی ضروری است. این مطالعه به صورت انتخابی به بررسی و ارائه دیدگاه انتقادی در مورد فراهمی زیستی بسترها، میکروارگانیسم‌ها در تجزیهٔ آلاینده‌های هیدروکربنی نفت خام و روش‌های مولکولی برای توصیف آنها، ساز و کارهای تخریب تحت شرایط هوازی و بی هوازی، عوامل تجاری تجزیهٔ زیستی تجاری در دسترس و عوامل موثر بر تجزیهٔ زیستی این آلاینده‌ها می‌پردازد. همچنین در مورد عوامل موثر بر میزان تجزیهٔ بیولوژیکی، متابولیسم میکروبی آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی، مسیرهای تخریب آلاینده‌های هیدروکربن و انواع فناوری‌های تصفیهٔ بیولوژیکی بحث شده است و بررسی عوامل پالایش زیستی، ارگانیسم‌های اصلاح شده ژنتیکی و تجزیهٔ بیولوژیکی آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی توسط میکروارگانیسم‌ها صورت گرفته است. هدف از پژوهش حاضر گسترش دامنه پالایش زیستی آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی ضمن در نظرگرفتن فرآیند تجزیه و سرنوشت هیدروکربن‌های نفتی در محیط زیست و انتخابی آگاهانه از فرآیند بهینه و موثر است.

- **آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی**

آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی بدلیل خاصیّت آب‌گریزی خود قبل از تخریب توسط میکروب‌ها، نیاز به انحلال دارند (ژو[1] و همکاران، ۲۰۱۸). مواد فعّال سطحی[2]، سطح ترکیب‌ها آبگریز را افزایش داده و باعث افزایش حلالیت آنها در آب می‌شوند، از این رو وجود مواد فعّال فعّال سطحی ممکن است تخریب میکروبی آلاینده‌ها را افزایش دهد (کاموترا[3] و همکاران، ۲۰۱۰). تماس سلول با بسترهای آبگریز بسیار مهم است زیرا مرحلهٔ اولیه تخریب هیدروکربن آلیفاتیک و آروماتیک اغلب با واکنش‌های اکسیداسیون و توسط اکسیژن‌سازهای مرتبط با سطح سلول انجام می‌شود (فوئنتس[4] و همکاران، ۲۰۱۴). دو روش معمولاً برای دسترسی باکتری‌ها به آلاینده‌های هیدروکربنی نفت به عنوان بستر در نظر گرفته شده است که روش اول جذب سطحی در اثر تماس مستقیم سلول با هیدروکربن و روش دوم پیوستن مواد فعال سطحی زیستی[5] با واسطه تماس سلول با هیدروکربن‌های نامیزه[6] شده است (یونیمکی[7] و همکاران، ۲۰۱۸). در روش دوم و برای جذب واسطه با مادهٔ فعال سطحی، اکثر باکتری‌های تجزیه‌کننده آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی تولیدکننده و ترشح‌کنندهٔ مواد فعال سطحی زیستی با مواد شیمیایی متنوع هستند که امکان نامیزه شدن ترکیب‌ها آبگریز را فراهم می‌کنند (کارلاپودی[8] و همکاران، ۲۰۱۸).

---

[1] Xu, X.
[2] Surfactants
[3] Cameotra
[4] Fuentes
[5] Biosurfactants
[6] Emulsion
[7] Unimke
[8] Karlapudi

مواد فعال کنندهٔ سطح می‌توانند هیدروکربن‌های آبگریز را مانند یک روکش بپوشانند تا مجموعه کامل از طریق غشای سلول منتقل شود که باعث انجام متابولیسم درون سیتوپلاسم می‌شود (فلیکس[1] و همکاران، ۲۰۱۹).

- **حذف آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی**

بسیاری از روش‌های رایج فیزیکی و شیمیایی به دلیل هزینه‌های حفاری و حمل و نقل مواد آلوده در نتیجهٔ مقابله در محل، گران هستند (کوی[2] و همکاران، ۲۰۲۰). همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، برخی از این روش‌ها عبارتند از شستشوی خاک، غیرفعّالسازی شیمیایی مثل استفاده از پرمنگنات پتاسیم و پراکسید هیدروژن به عنوان یک اکسیدکنندهٔ شیمیایی برای معدنی‌کردن آلاینده‌های غیر محلول، سوزاندن و همچنین سایر تکنیک‌های فیزیکی و شیمیایی مانند پراکندگی، رقت، جذب، واجذب و تبدیل غیر زنده و غیره است (هال[3] و همکاران، ۲۰۱۹). بالابودن هزینه‌ها و کارایی محدود این روش‌های مقابله و پاک‌کردن فیزیکی و شیمیایی باعث توسعهٔ فناوری‌های جایگزین برای کاربردهای درجا، به ویژه بر اساس توانایی‌های بازسازی بیولوژیکی گیاهان و میکروارگانیسم‌ها شده است (استوار و همکاران، ۱۳۹۹). تصفیهٔ زیستی سایت‌های آلوده به نفت با استفاده از روش‌های بیولوژیکی مانند کاربرد موجودات زنده برای تخریب و سم‌زدایی آلاینده‌ها را می‌توان فناوری سبز تعریف کرد که یک تکنیک کارآمد، مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست می‌باشد (ورجانی و همکاران، ۲۰۱۷).

جدول ۱- مقایسهٔ کلی روش‌های حذف آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی

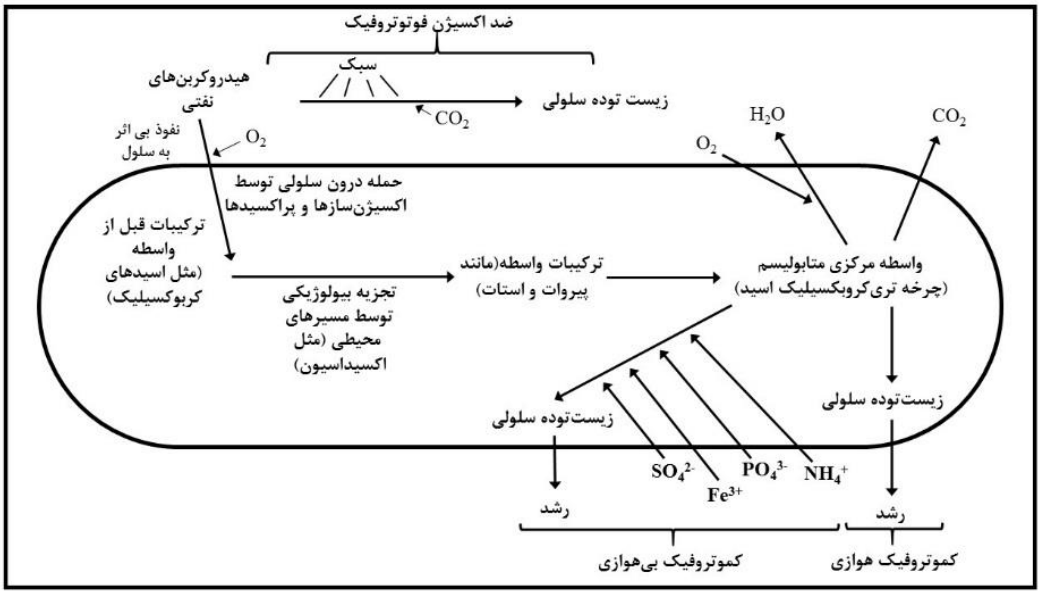
حذف آلاینده	مثالی از روش حذف	مزایا	معایب
فیزیکی	شست‌وشوی خاک	سهولت انجام	هزینهٔ زیاد
شیمیایی	غیر فعّالسازی شیمیایی	مقرون به صرفه	آلودگی محیط‌زیستی
بیولوژیکی	زیست پالایی/ تخریب میکروبی	دوستدار محیط‌زیست	تهیّه میکروارگانیسم

زیست پالایی آلاینده‌ها، یک روش نوآورانه در حذف آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی است که در آن میکروارگانیسم‌ها آلاینده‌های آلی خطرناک را بدون تأثیر منفی بر محیط به ترکیب‌ها بی‌ضرر مانند CO_2، CH_4، H_2O و زیست توده تغییر داده (تن‌زاده و همکاران، ۱۳۹۵) و باعث می‌شوند که تجزیهٔ بیولوژیکی یکی از سازوکارهای اصلی برای از بین بردن آلاینده‌های هیدروکربنی از محیط شود (آباتنه[4] (آباتنه[4] و همکاران، ۲۰۱۷؛ ورجانی و همکاران، ۲۰۱۷).

استفاده از میکروارگانیسم به عنوان ابزار افزایش‌دهنده توانایی‌های کاتالیزوری موجودات زنده برای افزایش میزان تخریب آلاینده‌ها مفید است و همچنین می‌تواند برای ازدیاد برداشت نفت میکروبی[5] نیز مورد استفاده قرار گیرد (صافدل[6] و همکاران، ۲۰۱۷). پالایش زیستی میکروبی هیدروکربن‌های نفتی به طور گسترده‌ای برای تصفیهٔ آلودگی هیدروکربن‌های نفتی در هر دو بوم سازگان[7] خاکی و آبی استفاده می‌شود و این در حالی است که برخی میکروارگانیسم‌ها توانایی تخریب آلکان‌ها و یا مواد معطر را دارند و در مناطق آلوده با توجه به محیط سازگار شده و جهش‌های ژنتیکی ایجاد شده در نسل‌های بعدی، برای تبدیل شدن به مواد تجزیه‌کنندهٔ هیدروکربن‌ها آماده می‌شوند (عباسیان[8] و همکاران، ۲۰۱۵). بطور کلی میکروارگانیسم‌ها مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها به دلیل توانایی تخریب آلاینده‌های هیدروکربنی نفتی به عنوان تجزیه کننده‌های اولیه و بیشترین عوامل فعال در تخریب آلاینده‌های نفتی گزارش شده‌اند (مکن استاک[9] و همکاران، ۲۰۱۶؛ عباسیان و همکاران، ۲۰۱۵). تجزیهٔ بیولوژیکی آلاینده‌ها شامل واکنش‌های متابولیکی پی‌درپی توسط آنزیم‌ها آنزیم‌ها انجام می‌شود (سرسایا[10] و همکاران، ۲۰۱۹) و در اکثر آنزیم‌های میکروارگانیسم‌ها برای تجزیهٔ زیستی بر روی پلاسمیدها[11] رمزگذاری می‌شوند. پلاسمیدها روی کروموزوم قرار دارند که نقش آنها در تخریب هیدروکربن به‌خصوص ترکیب‌ها پیچیده اهمیّت می‌یابد

[1] Felix
[2] Cui
[3] Hall
[4] Abatenh
[5] Microbial enhanced oil recovery (MEOR)
[6] Safdel
[7] Ecosystem
[8] Abbasian
[9] Meckenstock
[10] Sarsaiya
[11] Plasmids

(اوبایوری[1] و همکاران، ۲۰۱۰). به منظور تخریب و تجزیهٔ هیدروکربن‌های نفت خام می‌توان سامانه‌های مختلف آنزیمی را واسطه قرار داد که عموما حملهٔ اولیه با مکانیزم‌های الف) اتصال سلول‌های میکروبی به لایه‌های زیرین و ب) تولید مواد زیستی، مواد فعال سطحی زیستی یا بیوپلیمرها، حلال‌ها، گازها و اسیدها صورت می‌پذیرد (دَس[2] و همکاران، ۲۰۱۱؛ الحواش[3] و همکاران، ۲۰۱۸). ترکیبات آلی، مانند هیدروکربن‌ها، می‌توانند به عنوان اهداکننده الکترون موردنیاز برای مسیرهای متابولیک میکروارگانیسم‌ها و گاهی اوقات تنها منبع کربن مورد استفاده قرار گیرند (لیو[4] و همکاران، ۲۰۲۰). همان‌طور که در شکل ۱ قابل مشاهده است، نمای کلی سه مسیر ممکن استفادهٔ میکروارگانیسم‌های تخریب‌کننده هیدروکربن‌های نفتی رسم شده است. سه روش ممکن، برای استفاده از هیدروکربن‌های نفتی فوتوتروف[5]- ضداکسیژن، کموتروف[6]- هوازی و کموتروف- بی‌هوازی هستند. حملهٔ اولیه داخل سلولی آلاینده‌های آلی یک فرآیند اکسیداسیون است، سپس اکسیژنازها و پراکسیدازها فعال‌سازی را انجام داده و نقش کاتالیزور برای ترکیب اکسیژن را به عهده می‌گیرند (ویلکس[7] و همکاران، ۲۰۱۶). مسیرهای تخریب محیطی، آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفت خام را گام به گام از واسطه‌های متابولیسم به واسطهٔ مرکزی تبدیل می‌کنند. سنتز زیست توده سلولی از متابولیت‌های پیش‌ساز مرکزی مانند سوکسینات، استات و پیروات صورت می‌گیرد و مسیر اصلی و رایج تخریب زیستی این آلاینده‌های آلی را رقم می‌زند (شکل ۲) (عباسیان و همکاران، ۲۰۱۵)، با وجود این مسیرهای تخریب متنوع و ژن‌های کاتابولیک برای تخریب زیستی گروه هیدروکربن‌های خاص گزارش شده است که بسته به طول زنجیره و نوع آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی، آنزیم‌های مختلفی برای ورود اکسیژن در بستر مورد نیاز است تا تجزیهٔ بیولوژیکی آغاز و انجام شود (تروسکویچ[8] و همکاران، ۲۰۱۹).



شکل ۲- نمای کلی مسیربالقوهٔ تجزیهٔ هیدروکربن‌های نفتی توسط میکروارگانیسم‌ها

- **تجزیهٔ بیولوژیکی**

پالایش زیستی (شامل استفاده از میکروارگانیسم‌ها) به منظور تجزیهٔ مواد آلی خطرناک به ماده‌های بی‌ضرر مانند دی‌اکسیدکربن و آب مورد استفاده قرار می‌گیرد. تکنیک‌ها و ابزارهای زیست‌شناسی مولکولی مدرن دانش فعلی ما را در ارتباط با میکروارگانیسم‌هایی که امکان رشد در محیط‌های کشت را ندارند افزایش داده‌اند. روش بی‌حرکتی[9] در مواقع نشت نفت خام در دریا که میکروب‌ها یا آنزیم‌ها در یک فضای محدود با روش‌های شیمیایی یا فیزیکی بی‌حرکت می‌شوند به طور وسیع استفاده می‌شود و امکان استفادهٔ مجدد از آن‌ها را می‌دهد

[1] Obayori
[2] Das
[3] Al-Hawash
[4] Liu
[5] Phototroph
[6] Chemotroph
[7] Wilkes
[8] Truskewycz
[9] Immobilization method

(تانگ[1] و همکاران، ۲۰۱۳). راندمان تخریب هیدروکربن‌های پلی آروماتیک در فیلتر هوادهی بیولوژیکی[2] به روش بی حرکتی با میکروارگانیسم‌های B350M و B350 به ترتیب ۹۰ و ۸۴ درصد گزارش شده است (ورجانی و همکاران، ۲۰۱۷).
مواد فعال سطحی تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها به عنوان ماده فعال سطحی زیستی عمل کرده و باعث شکاف در میان آلاینده‌های هیدروکربنی، تشکیل گروه مولکولی به‌هم پیوسته[3] در غلظت بحرانی خود، افزایش تحرک، وجود زیستی و قرار گرفتن در معرض باکتری‌ها ها می‌شوند که نتیجه آن تخریب بیولوژیکی هیدروکربن خواهد بود (کامارا[4] و همکاران، ۲۰۲۰؛ نئو[5] و همکاران، ۲۰۲۰). میزان فعالیّت تجزیهٔ بیولوژیکی به شرایط رشد میکروب‌ها از جمله مواد مغذی، امکان‌پذیری زیستی بستر، میزان دسترسی به اکسیژن، پذیرنده‌های الکترون، دما، pH، شوری و فشار بستگی دارد (غُسَل[6] و همکاران، ۲۰۱۶). در ادامه ضمن تشریح این موارد به بررسی جدیدترین تکنیک‌های مولکولی برای توصیف میکروارگانیسم‌های تخریب کننده هیدروکربن و عامل‌های موثر بر تخریب میکروبی این آلاینده‌ها پرداخته می‌شود.

- **میزان جذب میکروبی و تخریب زیستی هیدروکربن**

میزان جذب میکروبی و به دنبال آن تخریب زیستی هیدروکربن به حلالیت آبی هیدروکربن‌ها بستگی دارد. حلالیت زیاد آلاینده‌ها در آب ممکن است برای میکروارگانیسم‌های تخریب‌کننده هیدروکربن‌های نفتی مضر باشد (آمودو[7] و همکاران، ۲۰۱۳). در روند جذب از بخش‌های مختلف نفتی، n-آلکان‌ها با طول میانی C_{10}-C_{25} توسط میکروارگانیسم‌ها ترجیح داده می‌شوند و از این رو به راحتی قابل تجزیهٔ زیستی هستند. آلکان‌های زنجیره بلند یعنی C_{25}-C_{40} از نظر ماهیت به دلیل حلالیت آبی ناچیز آبگریز هستند و برای تجزیهٔ بیولوژیکی مشکل ایجاد می‌کند (پینتو[8] و همکاران، ۲۰۲۱). آلکان‌ها و سیکلوآلکان‌های شاخه‌ای کندتر از آلکان‌های خطی ذکر شده تخریب می‌شوند ولی با این حال، با کاهش درجه آلکیلاسیون بنزن‌ها و هیدروکربن‌های پلی‌آروماتیک[9]، میزان حلالیت آروماتیک در آب افزایش می‌یابد (جلیل‌زاده و همکاران، ۱۳۹۶). مواد آروماتیک بسیار متراکم، ساختارهای سیکلوپارافینی و مواد آسفالتی به دلیل وزن مولکولی بالا و نقاط جوش زیاد مقاومت زیادی در برابر تخریب میکروبی دارند (ورجانی و همکاران، ۲۰۱۷؛ آمودو و همکاران، ۲۰۱۳). میکروارگانیسم‌های تخریب‌کنندهٔ هیدروکربن در بسیاری از محیط‌ها حتی در محیط‌های بکر وجود دارند. بطور مثال، در امتداد خطوط حمل و نقل اقیانوسی و در مناطق ساحلی آلوده به نفت، جمعیّت میکروبی تخریب‌کنندهٔ هیدروکربن به طور قابل توجهی بالاتر از مناطق دریایی است که هیچ‌گونه تماس قبلی با نفت خام نداشتند. جمعیّت میکروارگانیسم‌ها با استفاده از هیدروکربن یک سال پس از نشت نفت می‌تواند افزایش هم داشته باشد یعنی می‌توانند حتی یک سال پس از فعالیّت در صورت وجود هیدروکربن همچنان به تجزیه ادامه دهند. با این حال، با کاهش غلظت نفت در رسوبات دریایی، جمعیّت میکروب‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن کاهش می‌یابد تا زمانی که به سطوح مشابه آن در مکان‌های غیرآلوده برسد (ران[10] و همکاران، ۲۰۱۴). در میان تمام میکروب‌ها، باکتری‌ها به عنوان تجزیه‌کننده‌ها و استفاده-کننده‌های اولیه آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی گزارش می‌شوند. تخریب زیستی به عنوان یک فرآیند طبیعی بسته به نوع نفت ممکن است به کندی پیش برود، نفت‌های خام سبک سریع‌تر از نفت‌های سنگین تجزیه می‌شوند زیرا n-آلکان‌ها می‌توانند توسط طیف گسترده-ای از باکتری‌ها تخریب شوند، اما توانایی تخریب ترکیب‌ها پیچیده مانند هیدروکربن‌های پلی‌آروماتیک در تعداد بسیار کمی از این گونه‌ها یافت می‌شود (برزِزکس[11] و همکاران، ۲۰۱۸). نفت خام مخلوطی از هیدروکربن‌ها است که می‌تواند توسط چندین ماده میکروبی طبیعی تخریب شود، هر کدام می‌توانند گروه خاصی از ترکیب‌ها را استفاده یا تخریب نمایند. به طور کلی انشعاب متیل باعث افزایش مقاومت هیدروکربن‌ها در برابر حمله میکروبی می‌شود. سیکلوآلکان‌ها به ویژه نسبت به آلکان‌ها در برابر تخریب میکروبی مقاوم هستند. ترکیب‌های آلی حلقوی پیچیده مانند هوپان‌ها، پریستین و فیتان از ماندگارترین اجزای آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی در محیط هستند. هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای به دلیل سمی بودن، کم فرار بودن، مقاومت در برابر تخریب میکروبی و میل زیاد به رسوب، بیشترین نگرانی را دارند (دَس و همکاران، ۲۰۱۱). در شرایط مناسب نفت خام کاملاً قابل تجزیه است زیرا از آلکن‌های با زنجیره متوسط

[1] Tong
[2] Biological Aerated Filter (BAF)
[3] Micelle
[4] Câmara
[5] Niu
[6] Ghosal
[7] Amodu
[8] Pinto
[9] Poly-Aromatic Hydrocarbon (PAH)
[10] Ron
[11] Brzeszcz

تشکیل شده است ولی نفت‌های خام سنگین آسفالتنی- نفتنیک در یک دورهٔ زمانی مناسب، تحت شرایط رشد مطلوب برای میکروارگانیسم‌ها تقریباً ۱۱ درصد قابل تجزیه است (وایخوم[1] و همکاران، ۲۰۲۰). همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌کنید، خلاصه‌ای از از عوامل موثر بر جذب میکروبی و تخریب زیستی آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی، طرح شده است.

- **ارگانیسم‌های اصلاح‌شدهٔ ژنتیکی**

کنسرسیوم[2] مصنوعی یا ارگانیسم‌های اصلاح شده ژنتیکی[3] با پتانسیل پالایش زیستی را می‌توان با استفاده از ابزارهای پیشرفته علمی ایجاد کرد. ارگانیسم‌های اصلاح شدهٔ ژنتیکی را در شرایط آزمایشگاهی با کمک تکنیک‌های مدرن زیست شناسی مولکولی با انتقال پلاسمیدهای حاوی مواد ژنتیکی لازم از میکروارگانیسم‌های برونزا به بومی تهیه می‌کنند (شارما[4] و همکاران، ۲۰۲۰). ارگانیسم‌های اصلاح اصلاح شده ژنتیکی که به این ترتیب تهیه می‌شوند توانایی تصفیهٔ زیستی مکان‌های آلوده با هیدروکربن‌های نفتی را دارند (لی[5] و همکاران، ۲۰۱۹). کنسرسیوم میکروبی بی‌حرکت نسبت به میکروب آزاد با دمای پایین، نسبت به شرایط قلیایی و اسیدی و غلظت‌های مختلف NaCl سازگارتر است و همچنین می‌تواند ۴۷ درصد تخریب بیشتر نفت خام را ارائه دهد (شِن[6] و همکاران، ۲۰۱۵). مهم ترین مشکلات این کنسرسیوم‌ها باز زیستی و تفاوت شرایط عملکردی و پایداری آنها در شرایط آزمایشگاهی با محیط طبیعی در طی تصفیهٔ زیست محیطی هستند (اوسایی[7] و همکاران، ۲۰۲۰؛ پین‌هیرو و همکاران، ۲۰۱۹). با توجّه به پیشرفت‌های اخیر، روش بی‌حرکتی سلول-های میکروبی برای تصفیهٔ آلودگی‌های صنعت نفت می‌تواند بیش از پیش مورد توجه محققان و فعالان صنعت قرار گیرد.

شکل ۳-نمودار عوامل موثر بر میزان جذب میکروبی و تخریب زیستی

- **نحوهٔ عملکرد میکروارگانیسم‌ها**

استفاده میکروارگانیسم‌ها از هیدروکربن‌های نفتی می‌تواند به روش‌های فوتوتروف، کم اکسیژن، کموتروف، هوازی و بی‌هوازی صورت پذیرد. مرحله اولیه تعامل بین آلاینده‌های نفتی و میکروارگانیسم‌ها شامل تماس مستقیم بین آن‌ها است. این برهم‌کنش مستقیم به ساختار دیوارهٔ سلول، یعنی آبگریز بودن سطح آن بستگی دارد (سوزا[8] و همکاران، ۲۰۱۴). در حین تماس مستقیم، هیدروکربن‌ها به عنوان قطره‌های زیر میکروسکوپی به سلول نفوذ می‌کنند و فعالیّت مادهٔ فعال سطحی و آبگریزی باعث تعامل بین میکروارگانیسم و بستر نامحلول می‌شود و بر محدودیت انتشار در حین انتقال بستر به سلول غلبه می‌کند. میکروب‌های توانمند در تخریب نفت همراه با مادهٔ فعال سطحی در شرایط بی‌اکسیژن برای متانوژنز[9] درجا در مخازن نفت موثرتر هستند. میکروب‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های نفتی انواع مختلف مواد فعال سطحی زیستی را تولید می‌کنند که به سطح سلول متصل هستند یا می‌توانند به عنوان مولکول‌های خارج سلول آزاد شوند (ژو[10] و همکاران، ۲۰۱۹). تولید مادهٔ فعال سطحی زیستی به عنوان یک ویژگی اتکولوژیک[11] است که فراهمی زیستی هیدروکربن (میزان دسترسی میکروارگانیسم‌ها از نظر فیزیکی و شیمیایی به ماده‌ها)، فعالیّت میکروبی و تماس و انتقال را در میکروارگانیسم‌ها افزایش می‌دهد (کرتس[12] و همکاران، ۲۰۱۹). مواد فعال سطحی زیستی به طور موثری می‌توانند کشش‌بین سطحی نفت و آب و همچنین گرانروی نفت را در محل آلودگی کاهش دهند و تا ۷۷ درصد هیدروکربن‌های نفت خام را تجزیه می‌کنند (ورجانی

[1] Waikhom
[2] Consortia
[3] Genetically Modified Organisms (GMOs)
[4] Sharma
[5] Li
[6] Shen, T.
[7] Ossai
[8] Souza
[9] Methanogenesis
[10] Xu, D.
[11] Autecological
[12] Kertesz

و همکاران، ۲۰۱۷). عملکرد میکروارگانیسم‌ها بر آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی شامل واکنش‌های متابولیکی کاتالیز شده توسط انواع آنزیم‌ها است. برخی از آنزیم‌های مهم که نقش مهمی ایفا می‌کنند شامل اکسیژنازها، پراکسیدازها، ردوکتازها، هیدروکسیلازها و دهیدروژنازها هستند که برای هر دو مسیر هوازی و بی‌هوازی تخریب میکروبی آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی متداول هستند (نئو و همکاران، ۲۰۲۰).

- **تجزیهٔ هوازی**

حملهٔ اولیه داخل سلولی هیدروکربن آلی یک فرآیند اکسیداتیو است. فعال‌سازی و ترکیب اکسیژن واکنش اصلی آنزیمی است که توسط اکسیژنازها و پراکسیدازها کاتالیز می‌شود (عباسیان و همکاران، ۲۰۱۵). مونوکسیژنازها یک اتم اکسیژن را به زیرلایه منتقل می‌کنند و اتم اکسیژن دیگر را از آب کم می‌کنند. حلالیت پایین و ظرفیت جذب بالای هیدروکربن‌های پلی‌آروماتیک اغلب تاثیر زیادی بر تجزیهٔ بیولوژیکی دارد. دی اکسیژنازها هر دو اتم اکسیژن مولکولی (O_2) را در محصولات واکنش ترکیب می‌کنند (آلگ بلی[1] و همکاران، ۲۰۱۷). ۲۰۱۷). میزان حساسیت هیدروکربن‌های نفتی نسبت به حمله میکروبی متفاوت هستند و معمولاً به ترتیب کاهش حساسیت بدین صورت رتبه‌بندی شده‌اند: n-آلکان‌ها، آلکان‌های شاخه‌ای، مواد معطر با وزن مولکولی کم، آلکان‌های حلقوی (چاندرا[2] و همکاران، ۲۰۱۳). یعنی به طور کلی، زنجیره‌های جانبی آلکیل سیکلوآلکان تخریب را ساده‌تر می‌کنند.

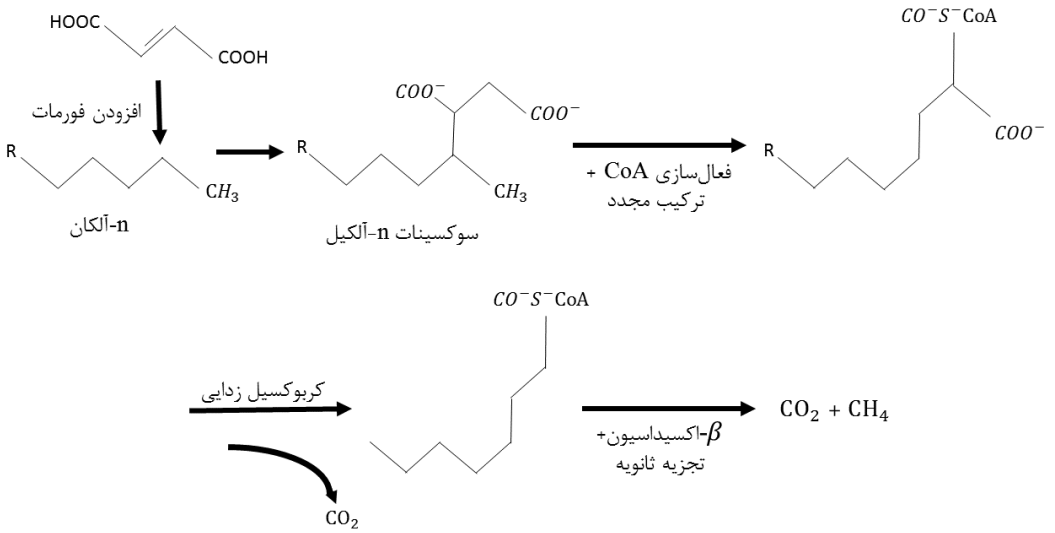
هیدروکربن‌های آروماتیک کمتر از هیدروکربن‌های اشباع قابل تجزیهٔ زیستی هستند (چِنگ و همکاران، ۲۰۱۸). در صورت باقی‌ماندن هیدروکربن‌های آروماتیک پس از مرحله تجزیهٔ اکسیژنولیک، ساختار حلقهٔ میانی دیول توسط اکسیژنازهای اینترادیول یا اکسترادیول تجزیه می‌شود. حلقهٔ بنزن توسط میکروب‌ها از طریق مسیرهای مختلف توسط دو آنزیم اصلی مونوکسیژناز یا دیوکسیژناز شکافته می‌شود و حملهٔ اول آنزیمی توسط فنول مونوکسیژناز انجام می‌شود و کاتکول را تشکیل می‌دهند. سپس کاتکول را می‌توان از طریق تجزیهٔ ارتو یا تجزیه از طریق آنزیم‌های مناسب تخریب کرد که محصول این تجزیه در پی واکنش‌های متوالی منجر به تشکیل واسطه‌های چرخهٔ تری‌کربوکسیلیک اسید[3] می‌شود و این به معنا تجزیه بیش از ۹۰ درصدی هیدروکربن‌های آروماتیک است (شِن[4] و همکاران، ۲۰۱۹؛ تائو[5] تائو[5] و همکاران، ۲۰۲۰).

- **تجزیهٔ بی هوازی**

تجزیهٔ بی‌هوازی هیدروکربن‌ها می‌تواند از طریق دو فرآیند رخ دهد، راه اول از طریق اتصال اجزا اکسیداسیون (مثلاً یک هیدروکربن) برای تنفس با کاهش یک گیرنده الکترون بدون اکسیژن می‌باشد (به عنوان مثال، سولفات یا نیترات) و راه دوم انجام فرآیند تخمیر است (وارت‌ول[6] و همکاران، ۲۰۲۱).

اولین باکتری بی‌هوازی که نشان داده شده است قادر به استفاده از n-آلکان‌ها در شرایط کاملاً بی‌اکسیژن است، یک باکتری کاهندهٔ سولفات بود گرچه تخریب بی‌هوازی بسیار گسترده است و در شرایط کمبود نیترات، آهن، منگنز و سولفات و همچنین شرایط متان‌زایی گزارش شده است (مکن استاک[7] و همکاران، ۲۰۱۱). فعال‌سازی اولیهٔ هیدروکربن‌ها برای تجزیهٔ بیولوژیکی بی‌هوازی مرحله‌ای اساسی است و همان‌طور که در شکل ۴ قابل مشاهده است، چهار واکنش کلی آنزیمی در آن شرکت دارند که عبارتند از: ۱) افزودن فومارات، توسط آنزیم رادیکال گلیسیل برای تولید سوکسینات‌های جایگزین معطر (کالان[8] و همکاران، ۲۰۱۳)، ۲) متیلاسیون مواد آروماتیک جایگزین نشده، ۳) هیدروکسیلاسیون یک جایگزین آلکیل از طریق دهیدروژناز و ۴) کربوکسیلاسیون مستقیم (توماسی[9] و همکاران، ۲۰۱۹). این واکنش‌های فعال‌سازی در مسیرهایی تغذیه می‌شوند که منجر به اشباع حلقه واکنش، انجام واکنش اکسیداسیون و یا شکاف حلقه و تولید متابولیت‌های مرکزی مانند بنزوئیل-کوآ می‌شوند که در نهایت با زیست توده، ترکیب یا کاملا اکسید می‌شوند و در شرایط ذکر شده تا چهار برابر بیشتر از روش‌های متداول آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی را تخریب و به مواد زیست تجزیه‌پذیر تبدیل می‌کنند.

[1] Alegbeleye
[2] Chandra
[3] Tricarboxylic acid
[4] Shen, Y.
[5] Tao
[6] Wartell
[7] Meckenstock
[8] Callaghan
[9] Tommasi



شکل ۴- نمونه‌ای از مسیر تجزیهٔ بی‌هوازی آلکان (وارت‌ول و همکاران، ۲۰۲۱)

در تخریب بی‌هوازی آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی، میکروارگانیسم‌ها از گیرنده‌های جایگزین الکترون مانند سولفات، نیترات، آهن (III)، منگنز (II) یا دی‌اکسیدکربن استفاده می‌کنند (ویلکس[1] و همکاران، ۲۰۱۶؛ مکن استاک و همکاران، ۲۰۱۶). برخی از باکتری‌های اختیاری مثل سودوموناس‌ها[2] و باکتری‌های دسته‌ی کلاستیریدیا[3] اغلب عملکرد متنوعی دارند و قادر به تخریب بسیاری از انواع هیدروکربن‌ها در شرایط مختلف هستند. با این حال، آلکان‌های شاخه دار و بیشتر هیدروکربن‌های پلی‌آروماتیک با وزن مولکولی بالا هنوز یک مانع آشکار برای تبدیل و تجزیه هستند (وارت‌ول و همکاران، ۲۰۲۱).

- **عوامل موثر بر تجزیهٔ بیولوژیکی آلاینده‌های هیدروکربنی**

عوامل موثر در تخریب زیستی آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی میکروارگانیسم‌ها به محیط رشد بسیار حساس هستند و به تغییرات محیط پیرامونی آنها واکنش می‌دهند (پارک[4] و همکاران، ۲۰۱۴). میزان تخریب زیستی تحت تأثیر عوامل زیادی قرار دارد که عبارتند از: الف) مشخصات آلاینده‌ها، میزان دسترسی، نوع و طول هیدروکربن‌ها، پراکندگی در فاز آبی و فرّار شدن (چاندرا و همکاران، ۲۰۱۳)؛ ب) میکروارگانیسم‌ها، مسیرهای متابولیک سلولی و تغییرات ساختاری اجزا در حوزه‌های پلیمری خارج سلولی پیچیده؛ ج) شرایط محیطی مانند pH، دما، مقدار آب، میزان شوری، در میزان دسترسی اکسیژن و عوامل تغذیه‌ای مانند کربن و نیتروژن و سایر مواد مغذی (مکن استاک و همکاران، ۲۰۱۶) و د) خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مانند ظرفیت نگهداری آب، رطوبت، نوع بافت، pH و غیره (یوان[5] و همکاران، ۲۰۱۹). میزان تجزیهٔ بیولوژیکی هیدروکربن‌ها در خاک‌های آلوده وابسته به شرایط محیطی مطلوب برای تحریک فعالیّت تجزیهٔ زیستی است و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و فراهمی زیستی آلاینده‌های هیدروکاربن نقش بسیار مهمی در یک تخریب زیستی موفق دارد. میزان تخریب یک ترکیب معین در آلاینده‌های هیدروکربنی مختلف توسط موجودات زنده بیشتر به فراهمی زیستی آن ذره یا ترکیب وابسته است و ساختار شیمیای آن نقش اندکی را ایفا می‌کند (وایخوم و همکاران، ۲۰۲۰؛ ورجانی و همکاران، ۲۰۱۷). محصولات مختلفی از جمله گازها، فاکتورهای بیوسیم، بیوپلیمرها، حل‌کننده‌ها و اسیدها نیز توسط میکروارگانیسم‌های تخریب‌کنندهٔ آلاینده‌های هیدروکربن تولید می‌شوند که پالایش زیستی را تقویت و بازیافت نفت و درنتیجه میزان پاک‌سازی محیط را افزایش می‌دهند (اوسایی و همکاران، ۲۰۲۰؛ بهتاچاریا[6] و همکاران، ۲۰۱۹).

- **عوامل موثر بر تخریب زیستی و میکروبی**

دما در پالایش زیستی نقش حیاتی دارد و بر وضعیت فیزیکی هیدروکربن‌های موجود در سایت آلوده و نیز میکروب‌های مصرف‌کننده آنها تأثیر می‌گذارد (اوسایی و همکاران، ۲۰۲۰). از سایر عوامل موثر بر سرعت رشد میکروبی می‌توان حلالیت گاز، قالب[7] خاک، متابولیسم

[1] Wilkes
[2] Pseudomonas
[3] Clostridia
[4] Park
[5] Yuan
[6] Bhattacharya
[7] Matrix

میکروب‌ها، وضعیت فیزیکی و شیمیایی آلاینده‌ها را نام برد. افزایش دما باعث افزایش حلالیت آلاینده‌های آبگریز، کاهش گرانروی، افزایش انتشار و انتقال n-آلکان‌های زنجیره بلند از فاز جامد به فاز مایع می‌شود. در دمای پایین گرانروی نفت افزایش می‌یابد، فراریت آلکان‌های کوتاه زنجیر سمی کاهش می‌یابد و حلالیت در آب آن‌ها کاهش می‌یابد که باعث تاخیر در شروع تخریب زیستی می‌شود زیرا آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی با کاهش نفوذپذیری هوا در خاک، رشد میکروب‌ها را محدود می‌کنند (آدلی[1] و همکاران، ۲۰۱۸). اکسیژن به عنوان گیرنده الکترون عمل می‌کند و فعالیّت میکروارگانیسم‌ها را افزایش می‌دهد و در نتیجه روند تجزیهٔ بیولوژیکی هوازی را افزایش می‌دهد. آلاینده‌ها در اعماق دریا و اقیانوس‌ها بسیار آهسته تخریب می‌شوند، زیرا بخش غیرقابل کنترل نفت می‌تواند برای سال‌ها یا حتی دهه‌ها باقی بماند. با افزایش غلظت نفت میزان تاخیر کاهش می‌یابد، در حالی که حداکثر نرخ تخریب و میزان تجمع مواد معدنی افزایش می‌یابد (اوسایی و همکاران، ۲۰۲۰؛ حوسین[2] و همکاران، ۲۰۱۸). همان‌طور که در بخش قبلی میزان حساسیت هیدروکربن‌های نفتی نسبت به حمله میکروبی بیان شد، تجزیه‌پذیری هیدروکربن‌های نفتی نیز به ترکیب آنها وابسته است. ترتیب تجزیهٔ بیولوژیکی هیدروکربن‌ها را می‌توان به صورت زیر دسته‌بندی کرد: آلکان‌های خطی، آلکان‌های شاخه‌ای، آروماتیک‌های آلکیل با وزن مولکولی کم، مونو آروماتیک، آلکان‌های حلقوی، پلی آروماتیک و آسفالتین‌ها (وایخوم و همکاران، ۲۰۲۰). از آنجا که تجزیهٔ بیولوژیکی ذاتاً تحت تأثیر ترکیب‌ها آلاینده است، به طور معمول میزان تجزیهٔ بیولوژیکی با کاهش وزن مولکولی و پیچیدگی ساختار شیمیایی هیدروکربن افزایش می‌یابد (نزیلا[3] و همکاران، ۲۰۱۸).

- **جامعهٔ میکروبی و بستر مناسب آن**

گروه‌های اصلی جوامع میکروبی از باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها، پروتوزوآها و ویروس‌ها تشکیل شده‌اند (توکلی، ۱۳۹۹) که در تصفیهٔ زیستی آلاینده‌های هیدروکربن استفاده می‌شوند. نوع و غلظت منبع کربن و نیتروژن مورد استفاده در محیط کشت، برای رشد میکروبی نقش حیاتی دارد. میکروارگانیسم‌ها برای ترکیب در زیست توده به نیتروژن و فسفر نیاز دارند پس در دسترس بودن این عناصر غذایی در همان منطقه هیدروکربن‌ها بسیار مهم است (محمدکاظمی[4] و همکاران، ۲۰۱۵) هیدروکربن‌های نفتی حاوی مقادیر کمی از برخی عناصر غذایی مانند نیتروژن و فسفر مورد نیاز برای رشد میکروبی هستند. باوجود این می‌توان از اوره، فسفات، کودهای نیتروژن، فسفر و پتاسیم[5]، نمک‌های آمونیوم و فسفات برای تنظیم نسبت‌های کربن، نیتروژن، فسفر و پتاسیم[6] استفاده کرد (بِسکوسکی[7] و همکاران، ۲۰۱۱). نیترات به عنوان بهترین منبع نیتروژن برای رشد و تولید ماده فعال سطحی زیستی توسط میکروارگانیسم‌ها گزارش شده است. سایت آلوده به نفت خام حاوی نتیروژن، رشد میکروبی مناسبی داشته و میزان تخریب هیدروکربن‌ها با کاهش فاز تأخیر رشد میکروبی و حفظ جمعیّت بالای میکروب‌ها همراه است. همین‌طور، نشان داده شده است که مقادیر زیاد نیتروژن در خاک باعث فعالیّت میکروبی می‌شود و حفظ سطح نیتروژن ۱۸۰۰ میلی‌گرم نیتروژن بر یک کیلوگرم آب منجر به تخریب بهینه آلاینده‌های هیدروکربن می‌شود. غلظت بیش از حد مواد مغذی به ویژه غلظت بالای سطح نیتروژن-فسفر-پتاسیم فعالیّت تجزیهٔ بیولوژیکی آلاینده‌های هیدروکربنی را مهار می‌کند (دَس و همکاران، ۲۰۱۱؛ اوگبونا[8] و همکاران، ۲۰۱۸). بسترهای انتقال آلاینده‌های هیدروکربنی به سلول‌های میکروبی شامل الف) تعامل سلول‌های میکروبی با آلاینده‌های هیدروکربنی محلول در فاز آبی، ب) تماس مستقیم سلول‌ها با هیدروکربن‌ها و ج) تعامل سلول‌ها با ذرات هیدروکربن بسیار کوچکتر از خود؛ که نسبت به نوع محیط آلودگی و رویکرد تجزیهٔ بیولوژیکی بسیار حائز اهمیّت است (تروسکویچ[9] و همکاران، ۲۰۱۹).

نتیجه‌گیری

آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی آلاینده‌های پراهمیّتی هستند زیرا به دلیل واکنش کم در برابر تخریب، مقاوم هستند و بدلیل خاصیّت آب‌گریزی خود، قبل از تخریب توسط میکروب‌ها، نیاز به انحلال دارند. این آلاینده‌های آلی‌پایدار، تهدیدی جدی برای سلامت انسان و محیط زیست هستند. تجزیهٔ بیولوژیکی نقش مهمی در کاهش اثر هیدروکربن‌های نفتی در محیط‌های آلوده دارد. زیست پالایی به عنوان یک گزینهٔ کارآمد، اقتصادی و متنوع برای مقابلهٔ فیزیکی و شیمیایی معرفی شده است که در پژوهش حاضر، تخریب میکروبی به عنوان

[1] Adeleye
[2] Hussain
[3] Nzila
[4] Mohammadkazemi
[5] Nitrogen, Phosphorus and Potassium (N-P-K)
[6] Carbon, Nitrogen, Phosphorus and Potassium (C-N-P-K)
[7] Beškoski
[8] Ogbonna
[9] Truskewycz

یک روش رایج و موثر در این زمینه، مورد واکاوی دقیق و جامع قرار گرفت. معمولاً دو روش برای دسترسی باکتری‌ها به آلاینده‌های هیدروکربنی نفت به عنوان بستر مورد استفاده قرار می‌گیرد که روش اول جذب سطحی در اثر تماس مستقیم سلول با هیدروکربن و روش دوم پیوستن ماده فعال سطحی زیستی با واسطه تماس سلول با هیدروکربن‌های نامیزه شده است. تجزیهٔ بیولوزیکی این آلاینده‌ها می‌تواند با استفاده از میکروارگانیسم‌های اولئوفیلیک به صورت جداگانه یا کنسرسیوم میکروارگانیسم‌ها برای کنترل محیط آلودگی انجام شود. مسیرهای کاتابولیک دخیل در تجزیه بیولوژیکی (هوازی/ بی هوازی) راهی برای طراحی راهبردهای کارآمد برای پالایش زیستی آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی تحت تأثیر محیط‌ها هستند (شکل ۲).

گروه‌های اصلی جوامع میکروبی از باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها، پروتوزوآها و ویروس‌ها تشکیل شده‌اند که در تصفیهٔ زیستی آلاینده‌های هیدروکربن استفاده می‌شوند. بررسی تجزیهٔ بیولوژیکی و به خصوص تجزیه هوازی و بی هوازی نشان داد که تأمین مواد مغذی لازم و گیرنده‌های الکترون با تعادل کنسرسیوم مناسب سویه‌های باکتریایی می‌تواند راه را برای یافتن روش‌های افزایش پتانسیل تجزیهٔ بیولوژیکی هموار کند و گزارش شده است که نوع و غلظت منبع کربن و نیتروژن مورد استفاده در محیط کشت برای رشد میکروبی نقش حیاتی دارد. میکروارگانیسم‌ها برای ترکیب در زیست توده به نیتروژن و فسفر نیاز دارند، در دسترس بودن این عناصر غذایی در همان منطقه وجود هیدروکربن‌ها بسیار مهم است. افزودن میکروارگانیسم‌های تولید کننده ماده فعال سطحی زیستی می‌تواند عدم سهولت دسترسی به هیدروکربن‌ها که به دلیل عدم حلالیّت آلاینده‌ها با مشکل مواجه بودند را برطرف کند. همچنین نشان‌داده شد که بی‌حرکتی سلول‌های میکروبی، تعداد باکتری‌ها در طول دوره کمون و ثبات سلول‌های میکروبی را در شرایط مختلف محیطی و در نتیجه تجزیهٔ بیولوژیکی آلاینده‌های هیدروکربن‌های نفتی را افزایش می‌دهد. در نهایت اگرچه مسیرهای تجزیهٔ بیولوژیکی بسیاری از آلاینده‌های هیدروکربنی و میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن از گروه‌های مختلف شناسایی شده و نحوهٔ تخریب میکروبی آن آلودگی‌ها مشخص است، امّا هنوز آلودگی محیط زیست از طریق این ترکیب‌ها برای محققان و پژوهشگران یک مسئلهٔ جهانی است.

منابع

استوار، فریبا؛ حسن زاده، مرضیه (۱۳۹۹). مروری بر رنگینه‌های صنعتی پرکاربرد و روشهای حذف آنها از آب و فاضلاب، پژوهش و فناوری محیط زیست، ۷(۵)، ۲۹-۳۷.

تن زاده، جینا؛ شارقی‌فر، مائده؛ پناهنده، محمد (۱۳۹۵). استفاده از میکروارگانیسمها در پاکسازی زیستی فلزات سنگین موجود در خاک، پژوهش و فناوری محیط زیست، ۱(۱)، ۱-۶.

توکلی، محدثه (۱۳۹۹). ارزیابی جاذبهای طبیعی در تصفیه آب و فاضلاب، پژوهش و فناوری محیط زیست، ۷(۵)، ۳۹-۵۴.

جلیل زاده،هامون؛ پارسا، مهران؛ گلریز ارم ساداتی، محمدرضا (۱۳۹۶). مروری بر آلودگی‌های نفتی در دریای خزر، پژوهش و فناوری محیط زیست، ۳(۲)، ۳۳-۳۹.

Abatenh, E., Gizaw, B., Tsegaye, Z., & Wassie, M. (2017). The role of microorganisms in bioremediation A review. Open Journal of Environmental Biology, 2(1), 038-046.

Abbasian, F., Lockington, R., Mallavarapu, M., & Naidu, R. (2015). A comprehensive review of aliphatic hydrocarbon biodegradation by bacteria. Applied biochemistry and biotechnology, 176(3), 670-699. https://doi.org/10.1007/s12010-015-1603-5

Adeleye, A., Nkereuwem, M., Omokhudu, G., Amoo, A., Shiaka, G., & Yerima, M. (2018). Effect of microorganisms in the bioremediation of spent engine oil and petroleum related environmental pollution. Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 22(2), 157–167-157–167. https://doi.org/10.4314/jasem.v22i2.1

Agbaji, J. E., Nwaichi, E. O., & Abu, G. O. (2021). Attenuation of petroleum hydrocarbon fractions using rhizobacterial isolates possessing alkB, C23O, and nahR genes for degradation of n-alkane and aromatics. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 1-16. https://doi.org/10.1080/10934529.2021.1913013

Al-Hawash, A. B., Dragh, M. A., Li, S., Alhujaily, A., Abbood, H. A., Zhang, X., & Ma, F. (2018). Principles of microbial degradation of petroleum hydrocarbons in the environment. The Egyptian Journal of Aquatic Research, 44(2), 71-76. https://doi.org/10.1016/j.ejar.2018.06.001

Alegbeleye, O. O., Opeolu, B. O., & Jackson, V. A. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons: a critical review of environmental occurrence and bioremediation. Environmental management, 60(4), 758-783. https://doi.org/10.1007/s00267-017-0896-2

Amodu, O. S., Ojumu, T. V., & Ntwampe, S. K. O. (2013). Bioavailability of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons using renewable resources. Environmental Biotechnology-New Approaches and Prospective Applications, 171. https://dx.doi.org/10.5772/54727

Beškoski, V. P., Gojgić-Cvijović, G., Milić, J., Ilić, M., Miletić, S., Šolević, T., & Vrvić, M. M. (2011). Ex situ bioremediation of a soil contaminated by mazut (heavy residual fuel oil)–A field experiment. Chemosphere, 83(1), 34-40. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.01.020

Bhattacharya, M., Guchhait, S., Biswas, D., & Singh, R. (2019). Evaluation of a microbial consortium for crude oil spill bioremediation and its potential uses in enhanced oil recovery. Biocatalysis and agricultural biotechnology, 18, 101034. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101034

Brzeszcz, J., & Kaszycki, P. (2018). Aerobic bacteria degrading both n-alkanes and aromatic hydrocarbons: an undervalued strategy for metabolic diversity and flexibility. Biodegradation, 29(4), 359-407. https://doi.org/10.1007/s10532-018-9837-x

Callaghan, A. V .(2013). Metabolomic investigations of anaerobic hydrocarbon-impacted environments. Current Opinion in biotechnology, 24(3), 506-515. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.08.012

Câmara, J., Sousa, M., Neto, E. B., & Oliveira, M. (2019). Application of rhamnolipid biosurfactant produced by Pseudomonas aeruginosa in microbial-enhanced oil recovery (MEOR). Journal of Petroleum Exploration and Production Technology, 9(3), 2333-2341. https://doi.org/10.1007/s13202-019-0633-x

Cameotra, S. S., & Makkar, R. S. (2010). Biosurfactant-enhanced bioremediation of hydrophobic pollutants. Pure and Applied Chemistry, 82(1), 97-116. https://doi.org/10.1351/PAC-CON-09-02-10

Chandra, S., Sharma, R., Singh, K., & Sharma, A. (2013). Application of bioremediation technology in the environment contaminated with petroleum hydrocarbon. Annals of microbiology, 63(2), 417-431. https://doi.org/10.1007/s13213-012-0543-3

Cheng, X., Hou, D., Mao, R., & Xu, C. (2018). Severe biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in reservoired crude oils from the Miaoxi Depression, Bohai Bay Basin. Fuel, 211, 859-867. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.09.040

Cui, J., Chen, H., Sun, M., & Wen, J. (2020). Comparison of bacterial community structure and function under different petroleum hydrocarbon degradation conditions. Bioprocess and biosystems engineering, 43(2), 303-313. https://doi.org/10.1007/s00449-019-02227-1

Das, N., & Chandran, P. (2011). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. Biotechnology research international, 2011. https://doi:10.4061/2011/941810

Felix, A. K. N., Martins, J. J., Almeida, J. G. L., Giro, M. E. A., Cavalcante, K. F., Melo, V. M. M., . . . de Santiago Aguiar, R. S. (2019). Purification and characterization of a biosurfactant produced by Bacillus subtilis in cashew apple juice and its application in the remediation of oil-contaminated soil. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 175, 256-263. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.11.062

Fuentes, S., Méndez, V., Aguila, P., & Seeger, M. (2014). Bioremediation of petroleum hydrocarbons: catabolic genes, microbial communities, and applications. Applied microbiology and biotechnology, 98(11), 4781-4794. https://doi.org/10.1007/s00253-014-5684-9

Ghosal, D., Ghosh, S., Dutta, T. K., & Ahn, Y. (2016). Current state of knowledge in microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. Frontiers in microbiology, 7, 1369. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01369

Hall, J., Matos, S., & Bachor, V. (2019). From green technology development to green innovation: inducing regulatory adoption of pathogen detection technology for sustainable forestry. Small Business Economics, 52(4), 877-889. https://doi.org/10.1007/s11187-017-9940-0

Hassanshahian, M., Amirinejad, N., & Behzadi, M. A. (2020). Crude oil pollution and biodegradation at the Persian Gulf: A comprehensive and review study. Journal of Environmental Health Science and Engineering, 18(2), 1415-1435. https://doi.org/10.1007/s40201-020-00557-x

Hussain, I., Puschenreiter, M., Gerhard, S., Schöftner, P., Yousaf, S., Wang, A., . . . Reichenauer, T. G. (2018). Rhizoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils: improvement opportunities and field applications. Environmental and Experimental Botany, 147, 202-219. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.12.016

Kamal, M. S., Razzak, S. A., & Hossain ,M. M. (2016). Catalytic oxidation of volatile organic compounds (VOCs)–A review. Atmospheric Environment, 140, 117-134. https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.05.031

Karlapudi, A. P., Venkateswarulu, T., Tammineedi, J., Kanumuri, L., Ravuru, B. K., ramu Dirisala, V., & Kodali, V. P. (2018). Role of biosurfactants in bioremediation of oil pollution-a review. Petroleum, 4(3), 241-249. https://doi.org/10.1016/j.petlm.2018.03.007

Kertesz, M. A., Kawasaki, A., & Stolz, A. (2019). Aerobic hydrocarbon-degrading alphaproteobacteria: Sphingomonadales. Taxonomy, genomics and ecophysiology of hydrocarbon-degrading microbes, 105-124. https://doi.org/10.1007/978-3-030-14796-9_9

Li, X., Li, H., & Qu, C. (2019). A review of the mechanism of microbial degradation of petroleum pollution. Paper presented at the IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. https://doi.org/10.1088/1757-899X/484/1/012060

Liu, X., Li, Z., Zhang, C., Tan, X., Yang, X., Wan, C., & Lee, D. J. (2020). Enhancement of anaerobic degradation of petroleum hydrocarbons by electron intermediate: Performance and mechanism. Bioresource technology, 295, 122305. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122305

Meckenstock, R. U., Boll, M., Mouttaki, H., Koelschbach, J. S., Tarouco, P. C., Weyrauch, P., . . . Himmelberg, A. M. (2016). Anaerobic degradation of benzene and polycyclic aromatic hydrocarbons. Journal of molecular microbiology and biotechnology, 26(1-3), 92-118. https://doi.org/10.1159/000441358

Meckenstock, R. U. & ,Mouttaki, H. (2011). Anaerobic degradation of non-substituted aromatic hydrocarbons. Current Opinion in biotechnology, 22(3), 406-414. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.02.009

Megharaj, M., Ramakrishnan, B., Venkateswarlu, K., Sethunathan, N., & Naidu, R. (2011). Bioremediation approaches for organic pollutants: a critical perspective. Environment international, 37(8), 1362-1375. https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.06.003

Mohammadi, L., Rahdar, A., Bazrafshan, E., Dahmardeh, H., Susan, M., Hasan, A. B., & Kyzas, G. Z. (2020). Petroleum hydrocarbon removal from wastewaters: A review .Processes, 8(4), 447. https://doi.org/10.3390/pr8040447

Mohammadkazemi, F., Azin, M., & Ashori, A. (2015). Production of bacterial cellulose using different carbon sources and culture media. Carbohydrate polymers, 117, 518-523. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.008

Niu, J., Liu, Q., Lv, J., & Peng, B. (2020). Review on microbial enhanced oil recovery: Mechanisms, modeling and field trials. Journal of Petroleum Science and Engineering, 192, 107350. https://doi.org/10.1016/j.petrol.2020.107350

Nzila, A. (2018). Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons under anaerobic conditions: Overview of studies, proposed pathways and future perspectives. Environmental Pollution, 239, 788-802. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.04.074

Obayori, O. S., & Salam, L. B. (2010). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons: role of plasmids. Scientific Research and Essays, 5(25), 4093-4106. https://doi.org/10.5897/SRE.9000022

Ogbonna, D. N. (2018). Application of biological methods in the remediation of oil polluted environment in Nigeria. Journal of Advances in Biology & Biotechnology, 1-10. https://doi.org/10.9734/JABB/2018/41036

Olanrewaju, B. T., & Olubusoye, O. E. (2020). Reduction of Petroleum Consumption. https://doi.org/10.1007/978-3-319-71057-0_26-1

Ossai, I. C., Ahmed, A., Hassan, A., & Hamid, F. S. (2020). Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review. Environmental Technology & Innovation, 17, 100526. https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100526

Park, S., Hong, J., Choi, S., Kim, H., Park, W., Han, S., . . . Ahn, Y. (2014). Detection of microorganisms using terahertz metamaterials. Scientific reports, 4(1), 1-7. https://doi.org/10.1038/srep04988

Pinheiro Pires, A. P., Arauzo, J., Fonts, I., Domine, M. E., Fernández Arroyo, A., Garcia-Perez, M. E., . . . Garcia-Perez, M. (2019). Challenges and opportunities for bio-oil refining: A review. Energy & Fuels, 33(6), 4683-4720. https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.9b00039

Pinto, A., Lopes, M., Dordio, A., & Castanheiro, J. (2021). Microbe and Plant-Assisted Remediation of Organic Xenobiotics. Handbook of Assisted and Amendment: Enhanced Sustainable Remediation Technology, 437-475. https://doi.org/10.1002/9781119670391.ch22

Robson, W. J., Sutton, P. A., McCormack, P., Chilcott, N. P., & Rowland, S. J. (2017). Class type separation of the polar and apolar components of petroleum. Analytical chemistry, 89(5), 2919-2927. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b04202

Ron, E. Z., & Rosenberg, E. (2014). Enhanced bioremediation of oil spills in the sea. Current Opinion in biotechnology, 27, 191-194. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.02.004

Sachsenhofer, R., Bechtel, A., Gratzer, R., Enukidze, O., Janiashvili, A., Nachtmann, W., . . . Yukler, M. (2021). Petroleum systems in the Rioni and Kura Basins of Georgia. Journal of Petroleum Geology, 44(3), 287-316.

https://doi.org/10.1111/jpg.12794
Safdel, M., Anbaz, M. A., Daryasafar, A., & Jamialahmadi, M. (2017). Microbial enhanced oil recovery, a critical review on worldwide implemented field trials in different countries. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 74, 159-172. https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.02.045
Sarsaiya, S., Awasthi, S. K., Jain, A., Mishra, S., Jia, Q., Shu, F., . . . Awasthi, M. K. (2019). Recent Developments in the Treatment of Petroleum Hydrocarbon and Oily Sludge from the Petroleum Industry. Biological Processing of Solid Waste, 277. https://doi.org/10.1201/b22333
Sharma, B., & Shukla, P. (2020). Futuristic avenues of metabolic engineering techniques in bioremediation. Biotechnology and Applied Biochemistry. https://doi.org/10.1002/bab.2080
Shen, T., Pi, Y., Bao, M., Xu, N., Li, Y., & Lu, J. (2015). Biodegradation of different petroleum hydrocarbons by free and immobilized microbial consortia. Environmental Science: Processes & Impacts, 17(12), 2022-2033. https://doi.org/10.1039/C5EM00318K
Shen, Y., Li, J., He, F., Zhu, J., Han, Q., Zhan, X., & Xing, B. (2019). Phenanthrene-triggered tricarboxylic acid cycle response in wheat leaf. Science of the Total Environment, 665, 107-112. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.119
Souza, E. C., Vessoni-Penna, T. C., & de Souza Oliveira, R. P. (2014). Biosurfactant-enhanced hydrocarbon bioremediation: An overview. International Biodeterioration & Biodegradation, 89, 88-94. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.01.007
Tao, W., Lin, J., Wang, W., Huang ,H., & Li, S. (2020). Biodegradation of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons by the thermophilic bioemulsifier-producing Aeribacillus pallidus strain SL-1. Ecotoxicology and environmental safety, 189, 109994. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109994
Tommasi, I. C. (2019). Carboxylation of hydroxyaromatic compounds with HCO3− by enzyme catalysis: recent advances open the perspective for valorization of lignin-derived aromatics. Catalysts, 9(1), 37. https://doi.org/10.3390/catal9010037
Tong, K., Zhang, Y., Liu, G., Ye, Z., & Chu, P. K. (2013). Treatment of heavy oil wastewater by a conventional activated sludge process coupled with an immobilized biological filter. International Biodeterioration & Biodegradation, 84, 65-71. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.06.002
Truskewycz, A., Gundry, T. D., Khudur, L. S., Kolobaric, A., Taha, M., Aburto-Medina, A., . . . Shahsavari, E. (2019). Petroleum hydrocarbon contamination in terrestrial ecosystems—fate and microbial responses. Molecules, 24(18), 3400. https://doi.org/10.3390/molecules24183400
Ukhurebor, K. E., Athar, H., Adetunji, C. O., Aigbe, U. O., Onyancha, R. B., & Abifarin, O. (2021). Environmental implications of petroleum spillages in the Niger Delta region of Nigeria: A review. Journal of Environmental Management, 293, 112872. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112872
Unimke, A., Mmuoegbulam, O., & Anika, O. (2018). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: realities, challenges and prospects. Biotechnology Journal International, 1-10. https://doi.org/10.9734/BJI/2018/43957
Varjani, S. J. (2017). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. Bioresource technology, 223, 277-286. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.037
Varjani, S. J., & Upasani, V. N. (2017). A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. International Biodeterioration & Biodegradation, 120, 71-83. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.02.006
Waikhom, D., Ngasotter, S., Soniya Devi, L., Devi, S., & Singh, A. S. (2020). Role of Microbes in Petroleum Hydrocarbon Degradation in the Aquatic Environment: A Review. Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci, 9, 2990-2903. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.905.342
Wang, D. ,Lin, J., Lin, J., Wang, W., & Li, S. (2019). Biodegradation of petroleum hydrocarbons by Bacillus subtilis BL-27, a strain with weak hydrophobicity. Molecules, 24(17), 3021. https://doi.org/10.3390/molecules24173021
Wartell, B., Boufadel, M., & Rodriguez-Freire, L. (2021). An effort to understand and improve the anaerobic biodegradation of petroleum hydrocarbons: A literature review. International Biodeterioration & Biodegradation, 157, 105156. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2020.105156
Wilkes, H., Buckel, W., Golding, B. T., & Rabus, R. (2016). Metabolism of hydrocarbons in n-alkane-utilizing anaerobic bacteria. Journal of molecular microbiology and biotechnology, 26(1-3), 138-151.

https://doi.org/10.1159/000442160
Xu, D., Zhang, K., Li, B.-G., Mbadinga, S. M., Zhou, L., Liu, J.-F., . . . Mu, B.-Z. (2019). Simulation of in situ oil reservoir conditions in a laboratory bioreactor testing for methanogenic conversion of crude oil and analysis of the microbial community. International Biodeterioration & Biodegradation, 136, 24-33. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.10.007
Xu, X., Liu, W., Tian, S., Wang, W., Qi, Q., Jiang, P., . . . Yu, H. (2018). Petroleum hydrocarbon-degrading bacteria for the remediation of oil pollution under aerobic conditions: a perspective analysis. Frontiers in microbiology, 9, 2885. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02885
Yuan, P., Wang, J., Pan, Y., Shen, B., & Wu, C. (2019). Review of biochar for the management of contaminated soil: Preparation, application and prospect. Science of the Total Environment, 659, 473-490. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.400
Zhang, J., Gao, H., & Xue, Q. (2020). Potential applications of microbial enhanced oil recovery to heavy oil. Critical reviews in biotechnology, 40(4), 459-474. https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1739618