Original Article

Isolation of biosurfactant-producing bacteria from the Caspian Sea and determination of their biosurfactant activity

Safari A[1*], Akbarzadeh-Khayavi M[2], Roayaei-Ardakani M[3], Motamedi H[3]

1- Anatomical Science Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
2- Department of Genetic, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Ahar Branch, Ahar, I. R. Iran.
3- Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I. R. Iran.

Received June 25, 2011; Accepted September 19, 2011

Abstract:

Background: Biosurfactants are unique amphipathic molecules with extensive application in removing organic and metal contaminants. The purpose of this study was to isolate the biosurfactant-producing bacteria and characterize the surface-active properties of the metabolites produced.

Materials and Methods: This study was conducted in three Caspian Sea coastal regions in Babolsar during 2007-8. In primary screening, hemolytic and emulsifying activities were performed on blood agar plates and in culture medium, respectively and then the reduction in the surface tension, as a biosurfactant-producing index, was determined quantitatively by captive drop cell instrument. The isolated strain was also investigated for its ability to use different hydrocarbon pollutants using the surface tension measurement.

Results: One out of 10 different strains exhibited high ability to produce biosurfactant. This strain called Caspian petroleum A1 (CPA1). Biochemical tests showed that CPA1 classified in aerobic gram-negative cocci, neisseriaceae family and acinetobacter genus. CPA1 utilized crude oil and gasoline, as carbon and energy sources, to reduce the surface tension of culture medium from 71 to 42 and 39 mN/m.

Conclusion: CPA1, as a biosurfactant-producer, was isolated and identified based on potential for biodegradation of hydrocarbon pollutants (e.g. crude oil, gasoline, anthracen and naphthalene).

Keywords: Isolation, Biosurfactant, Surface-tension, Caspian Sea

* **Corresponding Author.**
Email: azamsafary@yahoo.com
Tel: 0098 914 819 0030
Fax: 0098 361 555 1112

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, Winter, 2012; Vol. 15, No 4, Page 331-337

Please cite this article as: Safari A, Akbarzadeh-Khayavi M, Roayaei-Ardakani M, Motamedi H. Isolation of biosurfactant-producing bacteria from Caspian Sea and the determination of their biosurfactant activity. ***Feyz*** 2012; 15(4): 331-7.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-25]

جداسازی باکتری‌های تولیدکننده بیوسورفکتانت از اکوسیستم دریای خزر و تعیین فعالیت بیوسورفکتانتی آنها

اعظم صفری [۱*]، مصطفی اکبرزاده خیاوی [۲]، محمد رعایایی اردکانی [۳]، حسین معتمدی [۳]

خلاصه:

سابقه و هدف: بیوسورفکتانت‌ها، مولکول‌های دوگانه‌دوست منحصربه‌فردی هستند که کاربرد وسیعی در حذف آلودگی‌های آلی و فلزی محیط زیست دارند. هدف از این مطالعه جداسازی میکروارگانیسم‌های تولیدکننده بیوسورفکتانت و تعیین خواص موثر بر سطح متابولیت‌های تولید شده توسط آنها می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه بر روی ۳ منطقه ساحلی دریای خزر در بابلسر طی سال ۱۳۸٦ انجام شد. در غربال‌گری اولیه، اثبات تولید بیوسورفکتانت، به‌صورت کیفی، با مشاهده چشمی ایجاد امولسیون نفت در محیط کشت و تولید همولیز در محیط کشت آگار خون‌دار بود. در غربال‌گری ثانویه، کاهش کشش سطحی به‌عنوان معیار تولید بیوسورفکتانت، با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری کشش سطحی به‌صورت کمی تعیین شد. توانایی مصرف انواع آلاینده‌های هیدروکربنی محیط توسط سویه جدا شده با اندازه‌گیری کشش سطحی، به‌عنوان معیار تولید بیوسورفکتانت بررسی گردید.

نتایج: از ۱۰ سویه باکتریایی جدا شده یک سویه قادر به تولید بیوسورفکتانت در مقیاس بالا بود. باکتری غربال شده تحت عنوان CPA1 (Caspian Petroleum A1) نام‌گذاری گردید. بر اساس آزمون‌های بیوشیمیایی این سویه در دسته کوکسی‌های گرم منفی هوازی، خانواده نایسریاسه و جنس استنیتوباکتر طبقه‌بندی گردید. از میان ترکیبات هیدروکربنی مورد بررسی، گازوئیل و نفت خام به‌عنوان منبع کربن و انرژی توسط این سویه مورد استفاده قرار گرفته و باعث کاهش کشش سطحی محیط کشت به‌ترتیب از ۷۱ به ۳۹ و ٤۲ میلی‌نیوتن/متر شد.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه سویه CPA1 به عنوان باکتری تولیدکننده بیوسورفکتانت با قابلیت تجزیه گازوئیل، نفت خام، نفتالن و آنتراسن به‌عنوان عمده‌ترین ترکیبات هیدروکربنی آلوده کننده محیط، جداسازی و شناسایی شد.

واژگان کلیدی: جداسازی، بیوسورفکتانت، کشش سطحی، دریای خزر

فصلنامه علمی– پژوهشی فیض، دوره پانزدهم، شماره ٤، زمستان ۱۳۹۰، صفحات ۳۳۷-۳۳۱

مقدمه

بیوسورفکتانت‌ها گروهی از مولکول‌های فعال در سطح با ساختار بسیار متنوع هستند که توسط برخی از باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها تولید می‌شوند. این ترکیبات، مولکول‌هایی دوگانه‌دوست هستند که امکان تشکیل میسل در حد فاصل دو فاز با قطبیت متفاوت را دارا می‌باشند. این ویژگی آنها را قادر به کاهش کشش سطحی و بین سطحی مایعات و تشکیل میکروامولسیون کرده و در نهایت باعث انحلال هیدروکربن‌ها در آب می‌شوند [۵-۱]. از مزایای عمده بیوسورفکتانت‌ها نسبت به سورفکتانت‌های مصنوعی، قدرت تجزیه زیستی، سازگاری زیست محیطی، سمیت کمتر، چند عملکردی بودن آنها و فعالیت ثابت و پایدار تحت شرایط سخت محیطی مانند pH و دمای بسیار بالا و یا بسیار پایین، فشار بالا و درصد بالای نمک می‌باشد [۷،٦]. از دیدگاه کلینیکی، کاملا مشخص شده است که برخی بیوسورفکتانت‌ها فعالیت آنتی بیوتیکی داشته و حتی در بیماری‌زایی برخی از پاتوژن ها نقش دارند [۸]. اخیرا چندین گروه، داده‌های جالبی در مورد تاثیر بیوسورفکتانت‌ها بر رشد و بقای باکتری‌ها در محیط ارائه کرده‌اند. به‌عنوان مثال سورفاکتین تولید شده توسط *Bacillus subtilis* برای تشکیل اجسام میوه‌ای توسط این باکتری بسیار ضروری است [۹]. یکی از کاربردهای بسیار مهم بیوسورفکتانت‌ها در صنایع نفت‌خام می‌باشد. با توجه به خاصیت کاهش کشش سطحی و بین سطحی مخلوط‌های هیدروکربنی، این مواد به‌عنوان کاندیدای بالقوه‌ای برای ازدیاد برداشت نفت خام مطرح می‌باشند. از دیگر کاربردهای بیوسورفکتانت‌ها، امکان استفاده از آنها در پمپاژ و انتقال نفت (به‌خصوص نفت سنگین) در خطوط لوله از طریق کاهش ویسکوزیته نفت‌خام، پاک‌سازی لجن نفتی از مخازن ذخیره نفت و بازیافت نفت باقیمانده در آنها می‌باشد [۱۰]. از دیدگاه

[۱] دانشجوی دکتری تخصصی پژوهشی بیولوژی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

[۲] دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر

[۳] دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

***نشانی نویسنده مسوول:**

کاشان، بلوار قطب راوندی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات علوم تشریح

تلفن: ۰۹۱۴ ۸۱۹۰۰۳۰ **دورنویس:** ۰۳٦۱ ۵۵۵۱۱۱۲

پست الکترونیک: azamsafary@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۴ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۰/۶/۲۸

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-25]

زیست محیطی نیز استفاده از باکتری‌های تولید کننده بیوسورفکتانت در افزایش تجزیه‌ی میکروبی آلودگی‌های هیدروکربنی و حذف آلودگی فلزات سنگین محیط، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. دومین بازار بزرگ بیوسورفکتانت‌ها، صنایع پزشکی، غذایی و آرایشی می‌باشد. این ترکیبات در صنایع آسفالت، تیمار فلزات و استخراج سنگ معدن نیز کاربرد دارند [۱۳-۱۰]. به‌طور معمول، هیدروکربن‌های مخلوط نشدنی با آب به‌عنوان سوبسترا برای تولید بیوسورفکتانت توسط باکتری‌ها مصرف می‌شوند. بدیهی است که عملکرد بیولوژیکی ترکیبات فعال سطحی به ترکیبات هیدروکربنی وابسته است. کربوهیدرات به‌ندرت به عنوان منبع کربن و انرژی برای تولید بیوسورفکتانت مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱٤]. اطلاعات اندکی در رابطه با توزیع و پراکندگی باکتری‌های تولیدکننده بیوسورفکتانت وجود دارد. میکروارگانیسم‌های تولیدکننده بیوسورفکتانت در بیشتر محیط‌های خاکی و آبی یافت شده‌اند [۱۵]. علی‌رغم کارایی بالای بیوسورفکتانت‌های تولید شده از باکتری‌های دریایی، در حذف آلودگی‌های هیدروکربنی این محیط‌ها، مطالعات اندکی در رابطه با میکروارگانیسم‌های دریایی و بیوسورفکتانت‌های فعال در غلظت بالای نمک صورت گرفته است [۱۵]. تا این زمان تحقیقات زیادی در رابطه با جداسازی جامع و وسیع میکروارگانیسم‌های تولیدکننده بیوسورفکتانت صورت نگرفته است. بنابراین، جداسازی باکتری از محیط‌های دریایی با قابلیت تولید بیوسورفکتانت از اهمیت خاصی برخوردار است. هدف از این مطالعه جداسازی، غربال‌گری و شناسایی باکتری‌های تولیدکننده بیوسورفکتانت از اکوسیستم دریای خزر، تعیین فعالیت بیوسورفکتانتی آنها و بررسی توانایی تجزیه انواع آلاینده‌های هیدروکربنی محیط توسط سویه‌های جدا شده می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه توصیفی بر روی ۳ نمونه از آب و ۳ نمونه از رسوب، از سه منطقه مختلف ساحل بابلسر در سال ۱۳۸٦ انجام پذیرفت. نمونه‌ها درون ظروف شیشه‌ای در پیچ‌دار استریل، بر روی یخ به‌سرعت به آزمایشگاه منتقل شده و تا زمان ایزوله کردن باکتری‌ها در یخچال ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. محیط پایه معدنی شامل ۱/۹۵ گرم کلریدآمونیوم، ۰/۲٤ گرم دی‌پتاسیم هیدروژن فسفات، ۰/۰۱ گرم سولفات‌آهن (II)، ۰/۰۵ گرم کلرید پتاسیم، ۳۲ گرم کلریدسدیم و ۱ میلی‌لیتر محلول ریزمغذی‌ها در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، برای جداسازی باکتری‌های تولیدکننده بیوسورفکتانت، مورد استفاده قرار گرفت. مقادیر نامبرده دی‌پتاسیم هیدروژن فسفات (منبع فسفر) و کلریدآمنیوم (منبع نیتروژن)، بر اساس روش گیبس [۱٦] برای تجزیه یک گرم نفت خام به‌کار رفت. آب دریا، به‌همراه رسوبات آن در فلاسک‌های حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط پایه معدنی و ۱ گرم نفت خام به‌عنوان تنها منبع کربن افزوده شد و بر روی شیکر انکوباتوردار در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۵۰ دور در دقیقه هوادهی گردید. از هر فلاسک، رقت‌های 10^{-7}- 10^{-2} تهیه شده و از رقت‌های 10^{-7}، 10^{-6} و 10^{-5}، صد میکرولیتر به‌وسیله میله شیشه‌ای سرکج بر روی پلیت‌های حاوی نوترینت آگار با یک درصد نمک کشت داده شد. پلیت‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. در ادامه فرایند جداسازی، مورفولوژی تک‌تک کلونی‌های با استفاده از رنگ‌آمیزی ساده و رنگ‌آمیزی گرم معین گردیده و پس از تهیه کشت خالص از هر کلونی، تولید بیوسورفکتانت در تمامی آنها به‌روش کیفی [۱۳] بررسی شد. یکی از روش‌های اولیه برای بررسی تولید بیوسورفکتانت، لیز سلول‌های قرمز خون گوسفند است [۱۳]. همولیز سلول‌های قرمز خون در محیط آگار حاوی ۱۰-۵ درصد خون گوسفند تعیین گردید. همولیز بتا یا وجود هاله بی‌رنگ در اطراف کلونی به‌عنوان فعالیت همولیتیک مثبت در نظر گرفته شد. در تکنیک گسترش نفت، در یک پتری دیش، ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شده و به آن ۱۰۰ میکرولیتر نفت خام افزوده شد که به‌صورت لایه نازکی در سطح آب قرار گرفت. با افزودن سوسپانسیون باکتری حاوی بیوسورفکتانت، ناحیه شفافی در لایه نفتی ایجاد گردید که مؤید حضور بیوسورفکتانت در محیط بود. در آزمون تجزیه زیستی نفت خام، به فلاسک‌های حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط پایه معدنی و یک گرم نفت خام استریل، باکتری با کدورت یک مک‌فارلند افزوده و در شیکر انکوباتوردار به‌مدت ٤۸ ساعت هوادهی گردید. مشاهده چشمی ایجاد سوسپانسیون هموژن نفت در آب و مصرف نفت خام به‌عنوان تنها منبع کربن در مدت ۵ روز مورد بررسی قرار گرفت. در غربال‌گری ثانویه، کشش سطحی به‌عنوان پارامتر کمی برای بررسی حضور بیوسورفکتانت [۸] توسط دستگاه Captive Drop Cell به‌روش قطره‌ای در دانشگاه صنعت نفت اهواز اندازه‌گیری شد. این دستگاه وسیله‌ای برای اندازه‌گیری کشش سطحی و بین سطحی مایعات در شرایط دما و فشار بالای مخازن نفتی می‌باشد. تصاویر دیجیتالی به‌دست آمده از قطرات محیط کشت، به‌عنوان تصاویری برای آنالیز و محاسبه کشش سطحی انتخاب شده و توسط خود دستگاه انجام پذیرفت. هم‌چنین، در غربال‌گری ثانویه، کشش سطحی محیط کشت پایه معدنی بدون باکتری در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به‌عنوان شاهد، ۷۱ میلی‌نیوتن/متر محاسبه

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-25]

شد که نزدیک به کشش سطحی آب بود. تولید بیوسورفکتانت در حضور منابع کربنی مختلف به صورت ذیل انجام پذیرفت: سویه ایزوله شده، در فلاسک‌های حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط پایه معدنی در سه تکرار کشت داده شد. هریک از منابع کربنی نفت‌خام، گازوئیل، هگزان، سیکلوهگزان، تولوئن، آنتراسن، نفتالین و گلوکز به‌عنوان تنها منبع کربن و انرژی، به‌طور جداگانه در اختیار باکتری قرار داده شدند. توانایی تولید بیوسورفکتانت در حضور هر یک از منابع کربنی از طریق اندازه‌گیری کشش سطحی محیط‌ها و تولید بیوسورفکتانت توسط دستگاه در سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت و میانگین سه داده محاسبه گردید. خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی سویه منتخب با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی اسنات، اکسیداز، کاتالاز، اوره‌آز، سیترات، توانایی اکسیداسیون و فرمنتاسیون قند گلوکز، احیای نیترات به نیتریت و رنگ آمیزی‌های ساده، گرم، کپسول و اسپور مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین، توانایی تولید گاز سولفید هیدروژن و اندول توسط این سویه ارزیابی گردید. بهترین دمای رشد باکتری نیز بر روی محیط نوترینت آگار از طریق انکوباسیون در دماهای ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۳۷ و۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت تعیین شد.

نتایج

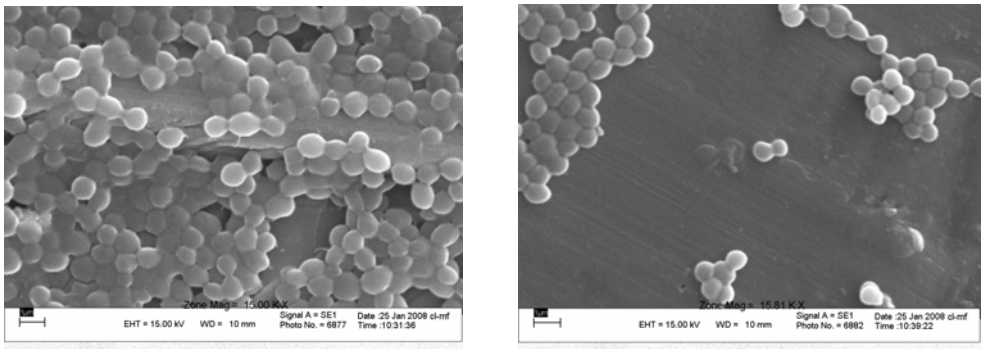
۱۰ سویه باکتریایی از دریای خزر جدا شد که ۱ سویه قادر به تولید بیوسورفکتانت به‌مقدار بالا در محیط معدنی بود. باکتری غربال شده تحت عنوان (Caspian Petroleum A1; CPA1) نام‌گذاری شد. بررسی خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی سویه CPA1 نشان داد که این باکتری کلونی‌های دایره‌ای ریز، با حاشیه صاف، اتصال سست به آگار و به رنگ کرم روشن ایجاد کرده است. این سویه به‌صورت کوکسی دوتایی، سه‌تایی، چهارتایی زنجیره‌ای و بسته‌ای، گرم منفی، هوازی اختیاری، غیرمتحرک و بدون اسپور مشاهده گردید. کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی بوده و تولید اسید و گاز از قند گلوکز مشاهده نشد. باکتری مزوفیل بوده و قادر به رشد در دمای ۳۷-۳۰ درجه سانتی‌گراد بود [۱۷]. این سویه باکتریایی در دسته باکتری‌های کوکسی گرم منفی هوازی، خانواده نایسریاسه و جنس اسنیتوباکتر طبقه‌بندی گردید. سویه CPA1 قادر بود نفت‌خام را به‌طور مؤثری در زمان کمتر، با قابلیت بیشتری مصرف کند؛ به‌طوری‌که پس از ۳ روز رشد در محیط معدنی، نفت‌خام تقریبا به طور کامل ناپدید شده و رنگ محیط کشت کاملا روشن گردید. این سویه به‌عنوان سویه منتخب برای ادامه سایر مراحل تحقیق در نظر گرفته شد. شکل شماره ۱ تصویر میکروسکوب الکترونی از سویه CPA1 را نشان می‌دهد. در غربال‌گری اولیه، ۱۰ سویه جدا شده از نظر توانایی تولید بیوسورفکتانت، به‌طور کیفی مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج در مورد سویه CPA1 مثبت ارزیابی شد (جدول شماره ۱). در روش همولیز گلبول‌های قرمز خون گوسفند در پلیت‌های حاوی آگار خون‌دار، هاله بتاهمولیز در اطراف ٤ سویه مشاهده شد. در تکنیک گسترش نفت، با افزودن محیط کشت باکتری به آن، ناحیه شفافی در سطح لایه نفتی فقط در مورد سویه CPA1 ایجاد گردید. هم‌چنین، در بررسی تجزیه زیستی نفت‌خام، نفت تلقیح شده به محیط به‌تدریج، شروع به ریز شدن کرد. ۲۸ ساعت بعد از کشت، ذرات نفت کاملا امولسیونه شده و حالت دو فازی نفت‌خام در محیط از بین رفت. این پدیده‌ها، مؤید تولید ترکیبات دوگانه‌دوست بیوسورفکتانتی توسط سویه CPA1 بود. کشش سطحی محیط معدنی حاوی سویه CPA1، ۱/۱±٤۲ میلی‌نیوتن/متر محاسبه گردید. کاهش چشم‌گیر کشش سطحی محیط کشت باکتری از ۷۱ به ٤۲ در عرض کمتر از ۳ روز، نشان‌دهنده توانایی بالای سویه CPA1 در تولید ترکیبات فعال سطحی است. مقایسه تأثیر انواع منابع هیدروکربنی بر تولید بیوسورفکتانت در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است. سویه CPA1 توانایی مصرف انواع منابع هیدروکربنی و تولید بیوسورفکتانت را دارا می‌باشد. بررسی کشش سطحی محیط معدنی نشان‌گر آن است که گازوئیل به‌عنوان منبع کربن نامحلول در آب، به‌خوبی توسط سویه CPA1 مورد استفاده قرار گرفته و مقادیر بالایی از بیوسورفکتانت در محیط تولید شده است.

بحث

در این مطالعه باکتری CPA1 با قابلیت تولید ترکیبات بیوسورفکتانتی در دوره زمانی کوتاه و توانایی مصرف گازوئیل، نفت خام، نفتالن و آنتراسن، به عنوان تنها منبع کربن و انرژی جداسازی و شناسایی شد. بیشتر باکتری‌های تولیدکننده بیوسورفکتانت از خاک‌های آلوده به فلزات سنگین و خاک‌هایی با آلودگی هیدروکربنی جدا شده‌اند. با این وجود Bodour و همکاران میکروارگانیسم‌هایی با قابلیت بالای تولید بیوسورفکتانت را از خاک‌های غیرآلوده به هیدروکربن‌های نفتی و فلزات سنگین Arid Southwestern جداسازی نموده‌اند [۸]، همان‌طور که باکتری CPA1 مورد مطالعه در این تحقیق نیز، با قابلیت بالای تولید بیوسورفکتانت از اکوسیستم غیرآلوده به ترکیبات هیدروکربنی جداسازی شده است. این گزارشات بیانگر توزیع وسیع میکروارگانیسم‌های تولیدکننده بیوسورفکتانت در انواع

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-25]

اکوسیستم‌های آبی و خاکی و حتی غیرآلوده به ترکیبات هیدروکربنی می‌باشد. طبق نظر Rheinheimer به‌دام افتادن سلول‌های باکتری درون قطرات نفت، باعث غیرفعال شدن سلول‌ها شده و بیوسورفکتانت، با امولسیونه کردن نفت‌خام در فاز آبی محیط کشت و افزایش نسبت سطح به حجم قطره‌های نفتی مانع بروز این اثرات می‌شوند [۱۸].



شکل شماره ۱- تصویر میکروسکوب الکترونی (SEM) از سویه CPA1، هر دو تصویر نشان دهنده شکل و مورفولوژی سویه جدا شده است.

جدول شماره ۱- نتایج غربال‌گری اولیه و کیفی ۱۰ سویه باکتریایی جدا شده به منظور تولید بیوسورفکتانت

سویه های جدا شده	تست تجزیه زیستی نفت خام	تست همولیز	تکنیک گسترش نفت خام
CpA1	+	+	+
CpA2	+	+	+
CpB	–	–	–*
CpC	–	–	–
CpD	–	+	–
CpE	–	–	–
CpF	–	–	–
CpG	–	+	–
CpH	–	–	–
CpL	–	–	–

*Non detectable
Cp (Caspian Petroleum)



نمودار شماره ۱- میانگین کشش سطحی محیط پایه معدنی در حضور منابع کربنی مختلف و تولید بیوسورفکتانت توسط سویه CPA1

نکته قابل توجه در مورد سویه جداسازی شده CPA1، دوره زمانی کوتاهی است که باکتری برای تجزیه ۱ گرم نفت‌خام در محیط پایه معدنی صرف می‌کند، در حالی‌که زمان انکوباسیون مطلوب برای دستیابی به باکتری‌های تولیدکننده بیوسورفکتانت در سایر مطالعات معمولا بین یک هفته الی یک ماه بوده است [۱۹،۸]. با مروری که بر منابع انجام پذیرفت تاکنون باکتری با چنین خصوصیات منحصر به فردی در ایران جداسازی و مورد شناسایی واقع نشده است. این نتیجه مشابه با نتایج منتشر شده توسط Maneerat و همکاران می‌باشد [۱۲]. در پژوهش حاضر مشاهده چشمی ایجاد امولسیون نفت‌خام در آب به‌عنوان اولین شاهد و

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-25]

فعالیت همولیتیک میکروارگانیسم به‌عنوان دومین شاهد کیفی برای تولید بیوسورفکتانت در نظر گرفته شد. Maneerat و همکاران نیز از این دو روش برای بررسی تولید بیوسورفکتانت توسط باکتری‌های ایزوله خود استفاده کردند. فعالیت همولیتیک بیوسورفکتانت‌ها، اولین بار توسط Bernheimer و Avigad در سال ۱۹۷۰ برای بیوسورفکتانت تولید شده توسط *Bacillus subtilis* گزارش شد. اختصاصی نبودن این روش، از جمله محدودیت‌های آن محسوب می‌شود، زیرا ممکن است هاله شفاف اطراف کلونی در نتیجه حضور آنزیم‌های لیتیک تولید شده توسط باکتری به‌وجود آمده باشد [۲۰]. هم‌چنان‌که در نتایج این مطالعه سویه‌های CpD و CpG همولیز مثبت بوده، اما توانایی تولید بیوسورفکتانت آنها در غربال‌گری اولیه منفی ارزیابی شد. عدم همولیز سلول‌های قرمز خون نیز می‌تواند ناشی از محدودیت انتشار سورفکتانت در محیط حاوی آگار باشد [۲۱]. به‌همین منظور در ادامه، توانایی تولید بیوسورفکتانت توسط سویه CPA1 با روش دقیق‌تر و کمی مورد بررسی قرار گرفت. باکتری با تولید بیوسورفکتانت و امولسیونه کردن نفت‌خام موجود در محیط، امکان دستیابی به منبع کربن و انرژی و در نهایت رشد خود را فراهم می‌کند و این‌طور به‌نظر می‌رسد که بیوسورفکتانت تولیدی توسط این سویه جزء متابولیت‌های اولیه باکتری بوده و هم‌زمان با ورود باکتری به فاز رشد لگاریتمی، تولید بیوسورفکتانت نیز القا شده است. تولید بسیار اندک ترکیبات بیوسورفکتانت در حضور منبع کربن گلوکز نیز می‌تواند موید این ادعا باشد که در حضور ترکیبات محلول در آب، باکتری نیازی به تولید بیوسورفکتانت در مقیاس بالا ندارد. نتایج مطالعه Haddad و همکاران با عنوان شناسایی یک سویه تولید کننده بیوسورفکتانت (*Bacillus subtilis* HOB2) مغایر با نتایج تحقیق ما می‌باشد. در این مطالعه سویه *Bacillus subtilis* HOB2 در حضور منابع کربوهیدراتی مانند گلوکز بیشترین کاهش کشش سطحی را نشان می‌دهد. این در حالی است که این سویه باکتریایی در حضور ترکیبات هیدروکربنی مانند نفت خام تولید بیوسورفکتانت کمی داشته است [۱٤].

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که سویه جدا شده پتانسیل بالایی در تولید ترکیبات فعال سطحی و تجزیه ترکیبات هیدروکربنی از جمله نفت و گازوئیل داشته و می‌تواند به‌منظور پاک‌سازی آلودگی‌های محیطی و هم‌چنین در صنایع سورفکتانت سازی مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

با تشکراز معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز و شرکت نفت مناطق نفت‌خیز جنوب که با مشاوره، حمایت مالی و در اختیار قرار دادن دستگاه‌های مورد نیاز در دانشگاه صنعت نفت، امکانات لازم جهت انجام این پروژه را فراهم کردند. هم‌چنین، از کمک‌های بی‌شائبه جناب آقای مهندس دیناروند در دانشگاه صنعت نفت اهواز و مهندس ابوالحسنی در جهاد دانشگاهی دانشگاه شهید بهشتی نهایت تشکر و امتنان به‌عمل می‌آید.

References:

[1] Jarvis FG, Johnson MJ. Glycolipids produced by Pseudomonas aeruginosa. ***J Am Oil Chem Soc*** 1949; 71: 61-4.
[2] Nitschke M, Ferraz C, Pastore GM. Selection of microorganisms for biosurfactant production using agro industrial wastes. ***Braz J Microbiol*** 2004; 35: 81-5.
[3] Cooper DG, Zajic JE. Surface-active compounds from microorganisms. ***Adv Appl Microbiol*** 1980; 26: 229-53.
[4] Fiechter A. Biosurfactants: moving towards industrial application. ***Trends Biotechnol*** 1992; 10(6): 208-17.
[5] Youssef NH, Duncan KE, Mcinerney MJ. Importance of 3-hydroxy fatty acid composition of lipopeptides for biosurfactant activity. ***Appl Environ Microbiol*** 2005; 71(12): 7690-5.
[6] Kuyukina MS, Ivshina IB, Makarov SO, Litvinenko LV, Cunningham CJ, Philp JC. Effect of biosurfactant on crude oil desorption and mobilization in a soil system. ***Environ Int*** 2005; 31(2): 155-61.
[7] Nitschke M, Pastore GM. Production and properties of a surfactant obtained from Bacillus subtilis grown on cassava wastewater. ***Bioresour Technol*** 2006; 97(2): 336-41.
[8] Bodour AA, Drees KP, Maier RM. Distribution of biosurfactant-producing bacteria in undisturbed and contaminated arid southwestern soils. ***Appl Environ Microbiol*** 2003; 69(6): 3280-7.
[9] Branda SS, Gonzalez-Pastor JE, Ben-Yehuda S, Losick R, Kolter R. Fruiting body formation by Bacillus subtilis. ***Proc Natl Acad Sci USA*** 2001; 98(20): 11621–6.
[10] Banat IM, Makkar RS, Cameotra SS. Potential commercial applications of microbial surfactants. ***Appl Microbiol Biotechnol*** 2000; 53(5): 495-508.
[11] Desai JD, Banat IM. Microbial production of biosurfactants and their commercial potential. ***Microbiol Mol Biol Rev*** 1997; 61(1): 47-64.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-25]

[12] Maneerat S. Biosurfactants from marine microorganisms. ***Somgklanakarin J Sci Technol*** 2005; 27: 1263-72.
[13] Browm MJ. Biosurfactant for cosmetic application. ***Int J Cosmet Sci*** 1991; 13(2): 61-4.
[14] Haddad NI, Wang J, Mu B. Identification of a Biosurfactant Producing Strain: Bacillus subtilis HOB2. ***Protein Pept Lett*** 2009; 16(1): 7-13.
[15] Lin SC, Minton MA, Sharma MM, Georgiou G. Structural and immunological characterization of a biosurfactant produced by Bacillus licheniformis JF-2. ***Appl Environ Microbiol*** 1994; 60(1): 31-8.
[16] Gibbs CF. Quantitative studies on marine biodegradation of oil. I. Nutrient limitation at 14 degrees C. ***Proc R Soc Lond B Biol Sci*** 1975; 188(1090): 61-82.
[17] Bergey DH, Editor. Garrity GM, Boone DR, Castenholz RW. Bergey's manual of systematic bacteriology. New York: Springer; 2001.
[18] Rheinheimer G. Mikrobiologic der gewaesser. 3. Auflage. Gustar Fischer. Verlag 1981
[19] Guerra-santos L, Kappeli O, Fiechter A. Pseudomonas aeruginosa biosurfactant production in continues culture with glucose as carbon source. ***Appl Environ Microbiol*** 1984; 48(2): 301-5.
[20] Bernheimer AW, Avigad LS. Nature and Properties of a Cytolytic Agent Produced by Bacillus subtilis. ***J Gen Microbiol*** 1970; 61(3): 361-9.
[21] Mulligan CN, Cooper DG, Neufeld RJ. Selection of microbes producing biosurfactants in media without hydrocarbons. ***J Ferment Technol*** 1984; 62: 311-4.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-25]