فصلنامه علوم محیطی، دوره نوزدهم، شماره ۳، پائیز ۱۴۰۰

۲۳۷-۲۵۲

اندازه گیری میزان ماده آلوده کننده پلی کلرو بی فنیل ها (PCBs) در خاک منطقه طالقان و بررسی وجود عوامل بیولوژیک حذف کننده PCBs در این نمونه ها

علیرضا ذاکری[۱*]، نسترن اکبریان [۱] و کمند هدایت [۲]

[۱] گروه علوم زیستی، دانشکده مهندسی مواد وعلوم میان رشته ای، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران
[۲] گروه تحقیقات و توسعه ، بیوتکنولوژی دارویی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۰۸

ذاکری، ع.، ن. اکبریان و ک. هدایت. ۱۴۰۰. اندازه‌گیری میزان ماده آلوده کننده پلی کلرو بی‌فنیل‌ها (PCBs) در خاک منطقه طالقان و بررسی وجود عامل‌های بیولوژیک حذف کننده PCBs در این نمونه‌ها. فصلنامه علوم محیطی. ۱۹(۳): ۲۳۷-۲۵۲.

سابقه و هدف: هدف از مطالعه حاضر، اندازه‌گیری غلظت پلی کلرو بی‌فنیل‌ها[۱]در خاک اطراف ترانس‌های برق در منطقه طالقان کرج، و شناسایی و استخراج باکتری‌های تجزیه کننده پلی کلرو بی‌فنیل‌ها جهت حذف بیولوژیکی در محیط زیست بود.

موادو روش‌ها: برای این منظور، نمونه‌گیری از خاک اطراف ترانس‌های برق تعداد ۵ ایستگاه در نقاط مختلفی که با استفاده از دستگاه GPS تعیین شده بود، انجام گرفت. نمونه‌برداری خاک از عمق ۲۰ سانتی متری در شرایط استریل و در ظروف شیشه‌ای صورت گرفت. تعداد ۵ نمونه مورد بررسی قرار گرفت که از بین این ۵ نمونه تنها ۲ نمونه از نظر آلودگی با ترکیب‌های PCBs مثبت بودند و کاوش میکروبی در این دو نمونه انجام شد. دو نمونه موردنظر که از لحاظ ترکیب‌های PCBs مثبت گزارش شدند هم به‌صورت مستقیم و هم به‌صورت رقیق شده کشت داده شدند. جهت شناسایی و تعیین باکتری‌های تجزیه کننده ترکیب‌های پلی کلرو بی‌فنیل‌ها از محیط‌های کشت LB Broth، محیط‌های بلاد آگار و مک کانکی استفاده گردید.

نتایج و بحث: از نمونه‌های مورد بررسی در یکی از نمونه‌های مورد نظر میزان این ترکیب‌ها برابر ۳ قسمت در میلیون بود و در نمونه دوم میزان ترکیب‌ها PCBs ۰/۰۲ قسمت در میلیون بود. در نمونه‌های T1 و T2 که به‌صورت مستقیم کشت داده شدند، باسیل‌های گرم منفی رشد کرده و قابل مشاهده بودند. در نمونه T1 رقیق شده هیچ باکتری رشد نکرد از طرفی در نمونه T2 رقیق شده کوکسی رشد و قابل مشاهده بود. نمونه T2 رقیق شده که حاوی کوکوس بود بنفش شده و گرم مثبت می‌باشد. در واقع نمونه‌های T1و T2 مستقیم حاوی باسیل رشته و در پاسخ به رنگ آمیزی گرم به رنگ قرمز صورتی درآمد (گرم منفی).

نتیجه گیری: استفاده از باکتری‌های بیان شده جهت حذف ترکیب‌های PCBs یکی از راه‌های مفید کاهش آلودگی در این مکان‌ها، با کمترین اثر مخرب بر محیط زیست و در عین حال سودآورترین بخش‌های صنعت می‌باشد.

* Corresponding Author: *Email Address*. zakeri@sru.ac.ir
http://dx.doi.org/10.52547/envs.2021.36246

واژه‌های کلیدی: پلی کلرو بی‌فنیل‌ها، خاک، باسیل‌های گرم منفی، محیط کشت

مقدمه

رویکرد جدید به محیط زیست در قرن حاضر، در نظر گرفتن آن به‌عنوان بخشی از سرمایه ملی کشورها است و در نتیجه لزوم حفظ آن با استفاده از فناوری‌های زیستی و بیولوژیکی از مهمترین دغدغه‌های بشر در قرن حاضر محسوب می‌شود (Abdi *et al.*, 2011).

در دهه‌های اخیر با افزایش جمعیت و گسترش صنایع، مواد شیمیایی مختلفی به محیط زیست راه یافته‌اند و سبب آلودگی آن و آسیب به زندگی انسانی و اکوسیستم شده‌اند. این مواد شیمیایی که بیشتر خطرناک هم هستند، تنوع و کاربرد گسترده‌ای در بخش‌های گوناگون مانند صنعت و کشاورزی دارند و منجر به پدید آمدن مسئله‌های محیط زیستی زیادی در ارتباط با منابع آب و خاک در جهان شده‌اند و اهمیت این مسئله با توجه به کمبود و محدودیت منابع آبی سطحی و زیرزمینی دو چندان شده است. با توجه به اثرهای سوء و مضر تولیدات صنایع و همچنین صنعتی شدن بیش از پیش کشورهای در حال توسعه، پیدا کردن راه حل جهت کنترل آلودگی ها همراه با توسعه صنعتی و حفظ محیط زیست، امری ضروری است.

بی‌فنیل‌های پلی کلرینه شده از جمله ترکیب‌های شیمیایی خطرناک مورد مصرف صنایع هستند که بسیار پایدار بوده و مقاوم به تجزیه می‌باشند. این مواد به‌دلیل سمیت شان و تجمع آن‌ها در بافت‌های چربی موجودات زنده، سبب بروز اثرهای سوء در انسان از جمله سرطان، ناهنجاری‌های ژنتیکی در کودکان تازه متولد شده و از بین رفتن سلول‌های عصبی، خشک شدن جداره عروق، تومورهای کبدی و تیروئیدی و ضعف سیستم ایمنی در بدن انسان می‌شوند (Chilum and Rice, 2013).

بی‌فنیل‌های پلی کلرینه شده که دراصطلاح آن‌ها را PCBs می‌نامند، ترکیب‌های معطر کلرداری با فرمول شیمیایی عمومی $C_{12}H_{(10-n)}\ CL_n$ می‌باشند که از یک هسته بی‌فنیل به‌همراه یک بخش آلی ده اتم کلر تشکیل شده‌اند. به‌واسطه درجات متفاوت کلردار شدن و الگوهای متفاوت جانشینی اتم کلر در مولکول‌های PCBs، ۲۰۹ جنس از آن‌ها شناسایی شده است و همچنین سمیت و پایداری آن‌ها به اثبات رسیده است. دوام این ترکیب‌ها با افزایش تعداد کلر، افزایش می‌یابد (Campanella *et al.*, 2002). این ترکیب‌ها به حالت‌های مایع و جامد وجود دارند که به رنگ زرد کم رنگ و به‌صورت چسبنده ظاهر می‌شوند و بوی آروماتیکی ملایمی دارند. اگر چه این ترکیب‌ها دارای ۲۰۹ جنس می‌باشند، تنها ۱۵۰ عنصر برای مصرف‌های تجاری استفاده می‌شوند. ترکیب‌های تجاری حاوی PCBs با نام‌های تجاری آروکلور (امریکا)، کلوفن (آلمان)، کانکلور (ژاپن)، ساوتول (روسیه) و پیرالن ن (فرانسه) قابل شناسایی هستند (Teymouri *et al.*, 2012).

اولین PCBs در سال ۱۸۶۷ توسط گریف با حرارت دادن املاح نمک و کربنات سدیم سنتز شده است. تولید تجاری PCBs در سطح وسیع آمریکا، بین سال‌های ۱۹۲۹ تا ۱۹۷۶ صورت گرفت (Borazjani *et al.*, 2005).

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی PCBs که شامل مقاومت بالا به حرارت و عدم اشتعال پذیری آن‌هاست، سبب شده که این ترکیب‌ها به‌صورت گسترده تا سال‌های دهه ۱۹۸۰ به‌عنوان روان سازنده در ترانسفورماتورها و نرم کننده و مایع عایق در صنعت و همچنین در تهیه چسب، عایق، رنگ، حلال جوهر و پلاستیک مورد استفاده قرار گیرند. به‌طور خاص این مواد به‌دلیل خواص ویژه‌ای که از خود نشان داده‌اند، سال‌های متمادی به روغن‌های پایه نفتی افزوده می‌شدند تا خواص آن را بهبود بخشد. این روغن‌ها که بیشتر با نام روغن آسکارل شناخته می‌شوند، به‌عنوان مایع خنک کننده و عایق در تجهیزات الکتریکی از قبیل ترانسفورماتور، خازن و سایر تجهیزات کاربرد وسیعی دارند (Valizade., 2014).

استفاده کارخانجات محلی و دفع نادرست این ترکیب‌ها منجر به آلودگی محیط زیست شده که این ترکیب‌ها پس از ورود به آب، به مقدار جزئی حل می‌گردند و قسمت بیشتر آن وارد موجودات زنده آبزی می‌شود و بخش دیگر این مواد سمی در بستر رسوب می‌کنند. یکی از فرایندهای اصلی تغییر شکل بیولوژیکی این ترکیب‌ها جداسازی کلرهای آن‌ها می‌باشد که این امر ابتدا در رسوبات بی-هوازی رخ می‌دهد. تبخیر و گرد و غبار ناشی از خاک‌های آلوده می‌تواند PCBs را وارد هوا کرده و از این طریق آلودگی‌های هوای محیط را هم سبب گردند. این ترکیب‌ها به‌دلیل زمان نیمه عمر طولانی که دارند تا مدت زیادی در محیط باقی می مانند. از طرفی دیگر، به‌دلیل خاصیت آب گریزی این ترکیب‌ها، تجمع این ترکیب‌ها در گیاهان افزایش می‌یابد و در نهایت از طریق زنجیره غذایی در بدن انسان و به‌طور معمول در بافت‌های چربی ذخیره می‌شوند (Tanabe *et al*,. 2004).

روش‌های بسیاری برای کاهش و یا حذف PCBs از محیط وجود دارد، نظیر روش‌های شیمیایی و حرارتی که بیشتر این روش‌ها هزینه بر هستند و موجب آسیب رساندن مجدد به محیط می‌شوند. روش‌هایی همچون خاک برداری از منطقه‌های آلوده، سوزاندن و دفع زباله‌ها از جمله این روش‌ها می‌باشند که در بیشتر موارد به‌دلیل وسیع بودن طیف آلودگی، غیرقابل اجرا هستند (Campanella *et al.*, 2002).

به‌واسطه نگرانی‌های ناشی از اثرهای ناخوشایند ترکیب-های PCB روی محیط زیست، تولید، استفاده و واردات آن در برخی کشورها ممنوع و کاربردهای الکتریکی آن‌ها به مرور قطع شده و الزامات سختی برای بکارگیری، ذخیره و دفع آن مشخص گردیده است تا جایی که معاهده شیمیایی آلاینده‌های آلی پایدار ترکیب‌های PCB را به-عنوان ماده شیمیایی اولویت‌دار برای حذف تدریجی تا سال ۲۰۲۵ اعلام کرده است (Wu *et al.*, 2005). هم اکنون امحای بی‌فنیل‌های چند کلره به‌عنوان یکی از چالش‌های محیط زیست کشور مطرح می‌باشد. مشکل اصلی در مورد این مواد تولید دیاکسین سمی به مقدار زیاد و دی بنزوفوران بویژه در مواقعی است که مقداری از مواد می‌سوزد. روش‌هایی از قبیل تصفیه فاضلاب‌های صنعتی، فرایندهای فیزیک و شیمیایی مانند سوزاندن، تجزیه نوری، هالوژن زدایی احیایی در حضور فلزها یا بازهای قوی برای ترکیب‌های PCB بویژه زمانی که همراه با آلاینده دیگری مانند روغن هستند، مناسب نمی‌باشد (Gioia *et al.*, 2006). فرایندهای بیولوژیک (گیاه پالایی)، بیوتکنولوژی و استفاده از میکروارگانیسم‌ها نیز روش مناسبی برای حذف آلودگی این ترکیب‌ها می‌باشد (Sobiecka *et al.*, 2009). اگرچه گیاه پالایی (جذب مستقیم توسط گیاه و متابولیسم آن) به‌عنوان روش مناسب و با بازدهی بالایی برای کاهش خطرهای مواد شیمیایی نظیر آلاینده‌های آلی و غیرآلی ایجاد شده است، اما محدودیت‌های جدی در کاربرد مقیاس وسیع آن وجود دارد. بنابراین ایده گیاهان تراریخته حاوی ژن‌های باکتریایی دخیل در تجزیه مواد شیمیایی ایجاد شد.

تجزیه میکروبی PCBs نیز به‌عنوان یکی از روش‌های مقرون به صرفه و کارامد برای حذف این آلاینده‌ها از محیط مورد توجه قرار گرفته است (Jia *et al.*, 2008). از دیگر روش‌های ترکیبی معدوم سازی این ترکیب‌ها می‌توان به استفاده از اشعه UV به‌همراه تجزیه بیولوژیکی توسط میکروارگانیسم‌ها اشاره نمود. طی این فرایند که شامل ۲ روز تابش اشعه UV و ۴ روز واکنش میکروارگانیسم‌ها می‌باشد، غلظت PCBS در روغن آلوده به حدود ۳ قسمت در میلیون کاهش یافته است (Wong and Wong, 2006). برای تخریب ترکیب‌های PCB می‌توان به شکستن مولکول‌های آن مبادرت کرد (Vasilyeva *et al.*, 2009). در خلال تجزیه زیستی، ترکیب شیمیایی برای تبدیل زیستی به‌عنوان سوبسترا بکار برده می‌شود. اگر ارگانیسم‌ها ژن‌های لازم را داشته باشند، حضور سوبسترا تحت شرایط مساعد محیط زیستی سبب تحریک تولید آنزیم‌های مناسب خواهد شد.

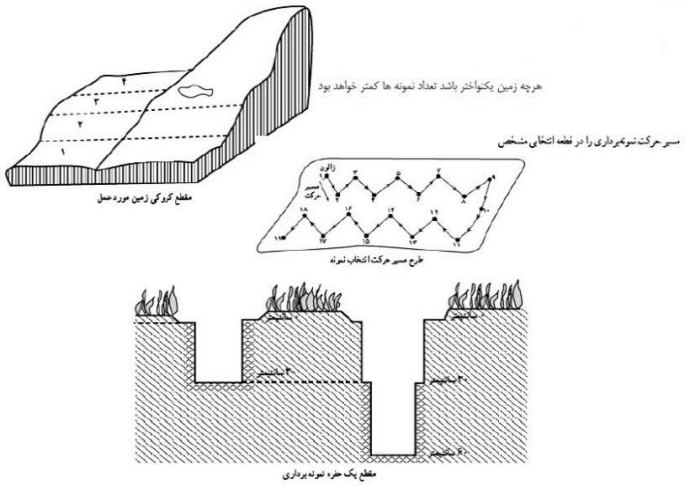
در پژوهش حاضر نیز کاوش برای یافتن میکروب‌های تجزیه کننده ترکیب‌های PCBs در نمونه‌های مثبت از نظر آلودگی انجام شد و هدف یافتن جواب این مسئله که کدام باکتری‌ها در محیط آلوده به PCBs وجود دارند و با این استدلال که این باکتری‌ها به‌منظور بقا از PCBs به‌عنوان منبع کربنی استفاده می‌کنند، می‌توان نتیجه گرفت که این باکتری‌ها قادر به حذف PCBs می‌باشند.

با توجه به مطالعات صورت گرفته امکان آلوده بودن محیط زیست به این آلاینده در اطراف ترانس‌های برق به‌دلیل نشت روغن، زیاد می‌باشد بنابراین مطالعه حاضر در خاک اطراف ترانس‌های برق در منطقه طالقان کرج صورت گرفت. این ترانس‌ها در اطراف رودخانه قرار دارند که خطر انتقال این الاینده را به آب شرب استان تهران و استان البرز بیشتر می‌کند.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

در اطراف سدی که به‌عنوان تأمین کننده آب شرب تهران و کرج در منطقه طالقان قرار دارد تعداد زیادی ترانس‌های برق سیستم گسترده توزیع نیروی برق منطقه‌ای نصب شده است که این مسئله امکان ورود آلودگی به آب از طریق این ترانس‌ها را بیشتر کرده است به همین دلیل اطراف ترانس‌های برق در منطقه طالقان جهت نمونه برداری مد نظر قرار گرفت. برای این منظور از خاک اطراف ترانس‌های برق تعداد ۵ ایستگاه در نقاط مختلف مشخص و با استفاده از دستگاه GPS علامت گذاری گردید. سپس نمونه برداری خاک از عمق ۲۰ سانتی متری در شرایط استریل و در ظروف شیشه‌ای صورت گرفته و به آزمایشگاه منتقل گردیدند. در شکل ۱ مراحل یک عملیات نمونه برداری خاک استاندارد نشان داده شده است.



شکل ۱- عملیات نمونه برداری خاک و مقطع حفره نمونه‌برداری

Fig. 1- Soil sampling operation and cross- section of the sampling cavity

اندازه‌گیری ترکیب‌های PCBs

به‌طور کلی ۴ روش عمده و متفاوت اندازه‌گیری PCBs در روغن ترانسفورماتور وجود دارد. اولین روش، یک روش شیمیایی است که تخمین نهایی به‌صورت رنگ سنجی صورت می‌گیرد. دومین روش، اندازه گیری الکترومتری است، سومین روش فلورسانس اشعه X و چهارمین روش GC است که تفکیک قابل قبولی ارائه می‌دهد.

در مطالعه حاضر جهت اندازه‌گیری ترکیب‌های PCB ازدستگاهGC-MS با برند Agilent و مدل: GC7890-MS5975، کشور سازنده آمریکا استفاده شد. در این دستگاه، از گاز نیتروژن خشک فشرده شده به‌عنوان گاز تمیزکننده استفاده شد، که به‌وسیله یک کمپرسور هوا به داخل دستگاه با شدت جریان ۳۰ ml/min تزریق می‌شود. گاز حامل گاز هلیم با فشار ۱psi و سرعت ۴۰ cm/s است.

درجه حرارت اولیه آون در ۷۵ درجه سانتیگراد برای مدت دو دقیقه تنظیم شده و با نرخ 15° C/min تا ۱۵۰ درجه سانتیگراد زیاد گردیده و بلافاصله تا ۲۹۰ درجه سانتیگراد با نرخ ۲/۵ C/min افزایش یافت. تمام تجهیزات توسط هگزان شسته و برای تمیزکردن سرنگ تزریق از هگزان استفاده شد.

جداسازی باکتری‌ها

برای شناسایی و تعیین باکتری‌های تجزیه کننده ترکیب-های پلی کلرو بی‌فنیل‌ها از محیط‌های کشت LB Broth، محیط‌های بلاد آگار و مک کانکی استفاده گردید که همگی از شرکت Merck آلمان تهیه شدند. نمک‌های معدنی و ترکیب‌های شیمیایی دیگر با درجه خلوص بالا نیز از شرکت Merck آلمان تهیه شدند.

برای کشت و جداسازی باکتری‌های موجود در خاک در ابتدا مقدار ۵ گرم محیط کشت LB Broth در ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. مقدار ۵۰ میلی لیتر محیط ساخته شده به داخل ۴ ارلن ریخته شد سپس به یکی از ارلن‌ها ۰/۷۵گرم آگار اضافه گردید تا محیط کشت جامد تهیه شود. هر چهار محلول به‌همراه ۲۰ میلی لیتر آب مقطر داخل اتوکلاو در دمای ۱۲۱درجه سانتی گراد به مدت ۱۵دقیقه در اتوکلاو قرار داده شدند. مایع ارلنی که محتوی اگار بود داخل چند پلیت ریخته و پس از سرد شدن و بستن در پلیت‌ها با کمک پارافین داخل یخچال قرار داده شدند. ۰/۵ گرم خاک از هر نمونه در ۱۰ میلی لیتر محیط کشت به‌صورت مستقیم ریخته شد. در مرحله بعد ۱ گرم خاک از هر نمونه در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته و خوب تکان داده شد. سپس ۰/۱ میلی لیتر از محلول رویی برداشته و در ۱۰ میلی لیتر محیط کشت مایع وارد گردید. نمونه‌ها به‌مدت ۲ روز در دمای ۳۰ درجه با دور شیکر ۱۵۰ rpm در شیکر انکوباتور قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها از داخل دستگاه برداشته، در محیط کشت-های جامد مجزا کشت داده و در داخل انکوباتور دمای ۳۰ درجه به‌مدت یک هفته قرار داده شدند. در نهایت به جهت رنگ آمیزی (به شیوه رنگ آمیزی گرم) و شناسایی باکتری‌ها از آن‌ها لام نیز تهیه شد. نمونه‌های مورد نظر روی لام برده و به روش گرم رنگ آمیزی شدند.

از میان پنج نمونه‌ای که از نظر وجود PCBs بررسی شده بودند، دو نمونه از نظر آلودگی با ترکیب‌های PCBs مثبت بودند که با شماره‌های T1 و T2مشخص و برای آن‌ها به-صورت مستقیم و رقیق شده کشت انجام گردید.

از نمونه T2، ۳ تک کلون برداشته (C1,C2,C3) و روی لام‌های مجزا رنگ آمیزی گرم انجام شد. از تک کلون-های C1 و C2 و C3 روی محیط کشت جدید کشت داده شد تا خالص‌سازی انجام گیرد. نمونه‌های مستقیمC2 و C3 و رقیق شده C2 در محیط‌های بلاد آگار و مک کانکی که محیط‌های کشت افتراقی هستند، کشت داده شدند.

نتایج و بحث

در پژوهش حاضر با توجه اثرهای خطر ناک ناشی از آلودگی PCBs (پلی کلرو بی‌فنیل) در محیط زیست و انسان، کاوش برای یافتن میکروب‌های تجزیه کننده ترکیب‌های PCBs در نمونه‌های مثبت از نظر آلودگی انجام شد و با این استدلال که این باکتری‌ها از PCBs به‌عنوان منبع کربنی استفاده نموده و زنده مانده است، پس این باکتری‌ها قادر به حذف PCBs می‌باشند.

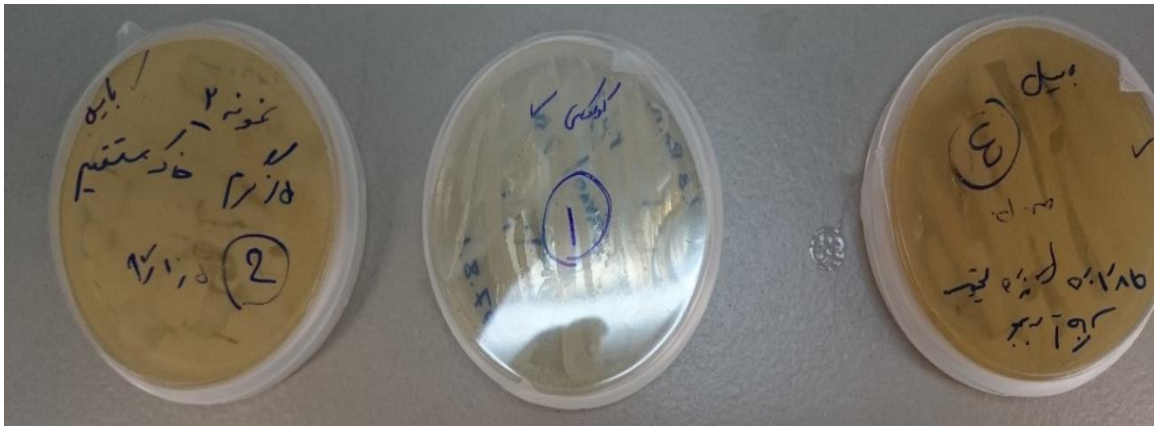
از بین ۵ نمونه‌ای که در اطراف ترانس‌های برق گرفته شد، تعداد دو نمونه (T1,T2) از نظر آلودگی با ترکیب-های PCB مثبت مشاهده شد. نتایج حاصل از اندازه-گیری ترکیب‌های PCB براساس قسمت در میلیون که از محلول استخراج شده از خاک اندازه‌گیری شد، در جدول ۱ نشان داده شده است. لازم به بیان است که این مقادیر بر پایه استاندارد اندازه‌گیری سم‌های دفع آفت‌های ارگانوهالید و بی‌فنیل‌های پلی کلرینه در آب توسط کروماتوگرافی گازی و در شرایط نرمال محاسبه شده‌اند.

جدول ۱- میزان کل ترکیب‌های PCBs در نمونه‌های خاک
Table 1. Total amount of PCBs compounds in soil samples

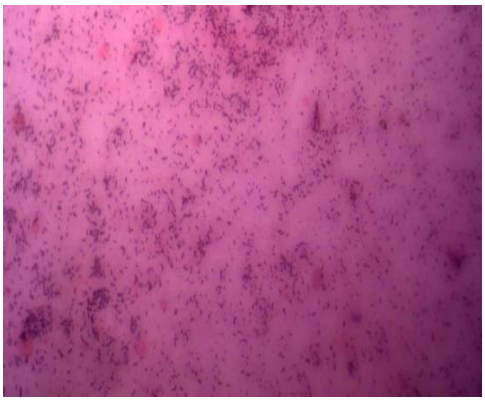
ردیف Row	کد نمونه Sample code	کل ترکیب‌ها PCBs (ppm) Total PCBs content (ppm)
1	T1	3
2	T2	<0/02
3	T3	N
4	T4	N
5	T5	N

در یکی از نمونه‌های مورد نظر(T1)، میزان این ترکیب‌ها بیشتر و برابر۳ppm بود و در نمونه دوم (T2) میزان ترکیب-های PCB کمتر از۰/۰۲ ppm اندازه‌گیری شده است. به-منظور صحت نتایج از هر نمونه ۲ تکرار در نظر گرفته و میانگین آن‌ها به‌عنوان عدد اصلی ترکیب‌های PCB در خاک گزارش گردیده است.

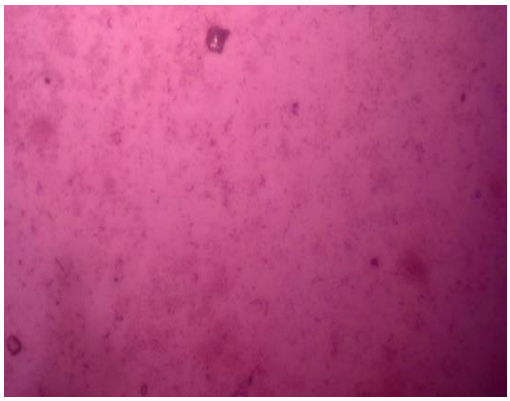
نمونه‌های مورد نظر روی لام برده و به روش گرم رنگ آمیزی شدند. همانطور که پیشتر نیز بیان شد از نمونه-های T1 و T2که از نظر آلودگی با ترکیب‌های PCBs مثبت بودند، به‌صورت مستقیم و رقیق شده، کشت انجام گردید (شکل ۲). در نمونه‌های T1 و T2 که به‌صورت مستقیم کشت داده شدند، باسیل‌های گرم منفی رشد کرده و قابل مشاهده بودند. نمونه رقیق شده T1 رشد باکتری ملاحظه نشد، در حالیکه در نمونه T2 رقیق شده کوکسی رشد کرد. (این نتایج با کشت در محیط‌های بلاد آگار و مک کانکی نیز تأیید گردیدند (این دو محیط کشت محیط‌های کشت افتراقی برای باکتری‌های گرم منفی و لاکتوز منفی می-باشند.) و چون لام بنفش شد، بنابراین کوکوس‌ها از نوع گرم مثبت بودند. در واقع نمونه T2 مستقیم حاوی باسیل رشته‌ای و در پاسخ به رنگ آمیزی گرم به رنگ قرمز صورتی درآمد (گرم منفی) (شکل‌های ۳ تا ۵).



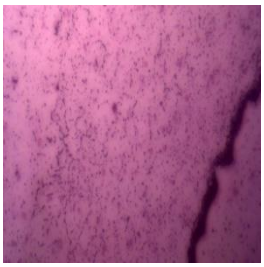
شکل۲- باکتری‌های کشت داده شده
Fig. 2- Cultured bacteria



شکل ۳- نمونه خاک مستقیم T1
Fig. 3- T1 direct soil sample

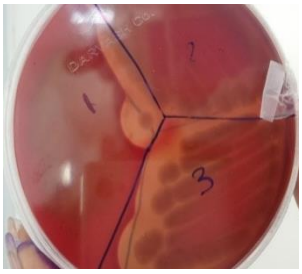


شکل ۴- نمونه خاک مستقیم T2
Fig. 4- T2 direct soil sample

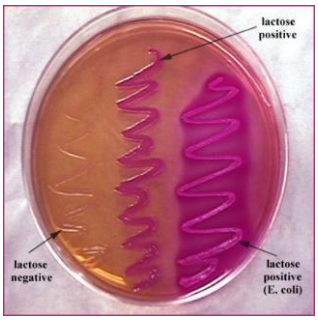


شکل ۵- نمونه خاک رقیق شده T2
Fig. 5- T2 diluted soil sample

از نمونه T2 مستقیم، ۳ تک کلون برداشت روی لام‌های مجزا رنگ آمیزی گرم انجام شد. از تک کلون‌های C1 و C2 و C3 روی محیط کشت جدید کشت داده شد تا خالص‌سازی انجام گیرد.از نمونه‌های C2 و C3 و نمونه رقیق شده T2 در محیط‌های بلاد آگار و مک کانکی که محیط‌های کشت افتراقی هستند، کشت داده شدند. نمونه‌های C2 و C3 که باسیل‌های گرم منفی بودند، در محیط کشت بلاد آگار محیط را بی رنگ کرده (شکل ۶) و همچنین در اطراف منطقه رشد پیگمان‌های سبز مشاهده شد (شکل ۷).



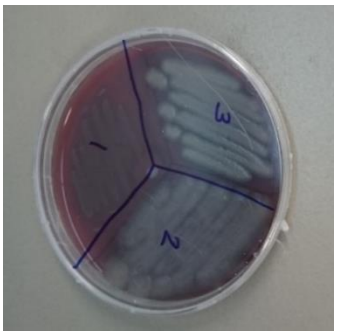
شکل ۶- توانایی بی رنگ کردن محیط



برای هر سه باکتری موجود روی محیط‌های کشت C1, C2 و T2 رقیق شده رنگ آمیزی گرم انجام گرفت و نتایج به‌دست آمده از هر شش لام مشابه نتایج قبلی بود یعنی در نمونه‌های C1و C2 محیط کشت حاوی باسیل گرم منفی، و در پاسخ به رنگ آمیزی گرم در زیر میکروسکوپ به رنگ قرمز صورتی مشاهده شد و نمونه T2 رقیق شده حاوی کوکسی‌های بنفش رنگ و گرم مثبت می‌باشند (شکل ۹ تا ۱۱). در شکل ۱۲ و ۱۳ کشت باسیل‌های C1

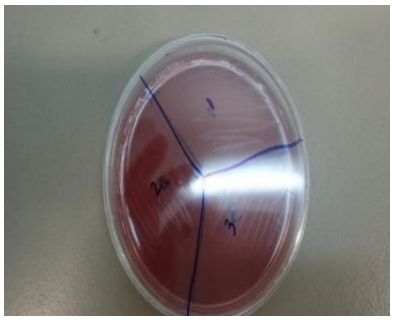
Fig. 6- Ability to decolorized the culture medium

درنمونه T2 رقیق شده کوکسی گرم مثبت در محیط بلاد آگار رشد کرد ولی توانایی بی رنگ کردن محیط کشت را نداشت. (شکل ۶). در واقع باکتری‌های غیر تخمیری توانایی بی رنگ کردن محیط بلاد آگار را دارند. براساس تحقیق‌های انجام گرفته باسیل‌های گرم منفی غیر تخمیری توانایی تجزیه PCBsها را دارند (Furukawa K and Fujihara H ,2008). همچنین لازم به بیان است که باکتری‌هایی که همولیز بتا دارند توانایی بی رنگ کردن محیط بلاد آگار را دارند.



شکل ۷- رشد پیگمان‌های سبز
Fig. 7- Growth of green pigments

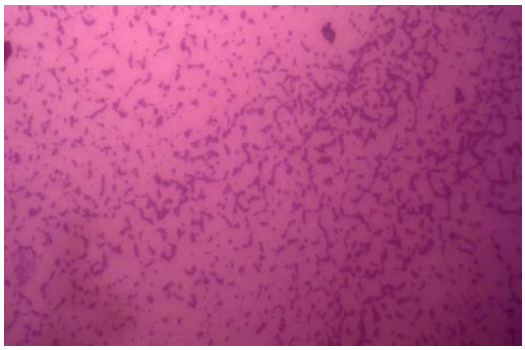
هر سه نمونه ,C3 C2 و T2 رقیق شده در محیط کشت مک کانکی نیز کشت داده شدند، باکتری‌های لاکتوز منفی کلنی‌های بی رنگ ایجاد می‌کنند که هرسه نوع باکتری کلنی‌های بی رنگ ایجاد کردند (شکل ۸).



شکل ۸- کلنی‌های بی رنگ
Fig. 8- Colorless colonies

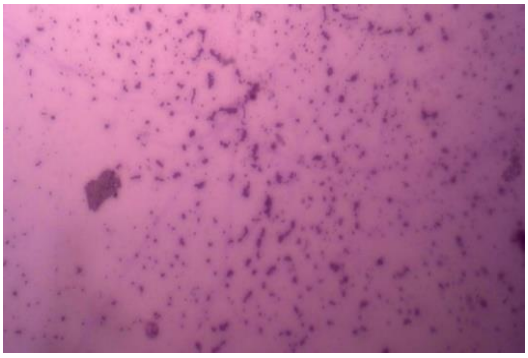
و C2 در محیط بلاد آگار و در شکل‌های ۱۴ و ۱۵ در محیط مک کانکی ارائه شده است.

با استناد بر داده‌های حاصل از این پژوهش، نتیجه می‌گیریم که بقای باکتری‌های باسیل گرم منفی و کوکسی گرم مثبت در نمونه‌های خاک با آلودگی PCBs نشان از توانایی این باکتری‌ها در استفاده از ترکیب‌های PCBs به‌عنوان منبع کربنی دارد که آن‌ها را به‌عنوان گزینه‌ای جهت حذف آلودگی‌های PCBs از محیط زیست مطرح می‌سازد.



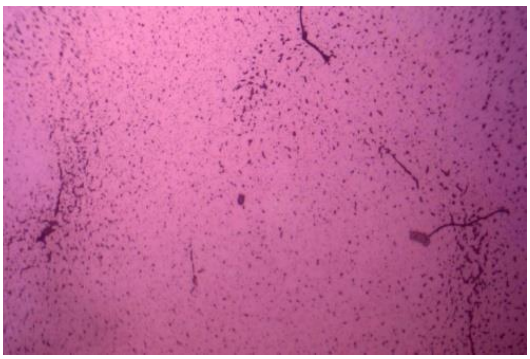
شکل ۹- تک کلون نمونه C1 به رنگ بنفش (نمونه T2 رقیق شده)

Fig. 9- A single colony of sample C1 in purple



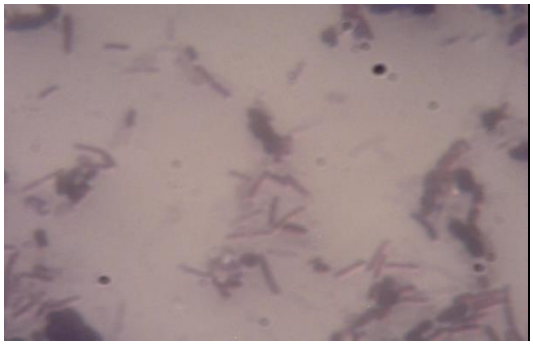
شکل ۱۰- تک کلون نمونه C2 به رنگ بنفش (نمونه T2 رقیق شده)

Fig. 10- A single colony of sample C2 in purple



شکل ۱۱- تک کلون نمونهC3 به رنگ بنفش (نمونه T2 رقیق شده)

Fig. 11- A single colony of sample C3 in purple

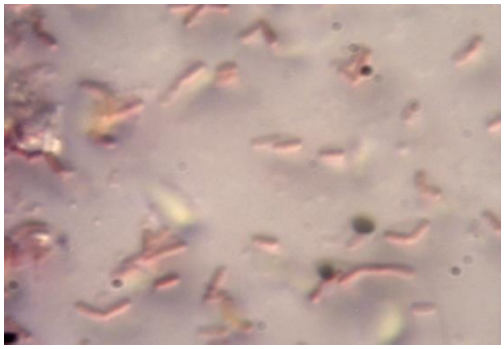


شکل ۱۲- باسیل نمونه مستقیم T1 در محیط بلاد آگار

Fig. 12- T1 direct *bacillus* sample in the blood agar medium

شکل ۱۳- باسیل مستقیم T2 در محیط بلاد آگار

Fig. 13- T2 direct *bacillus* sample in the blood agar medium



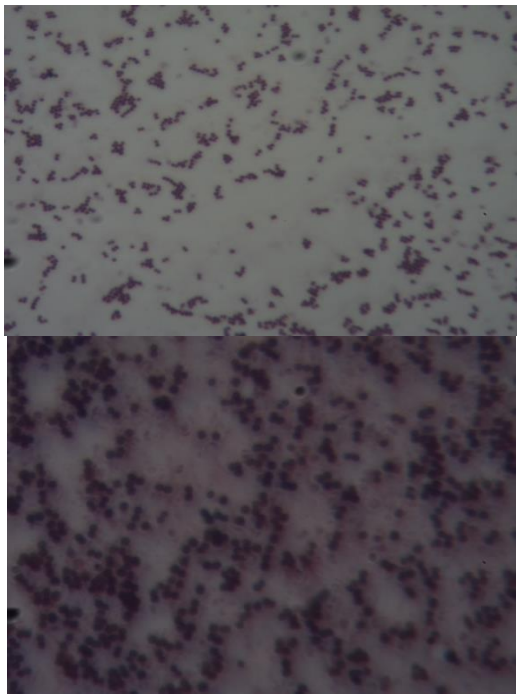
شکل ۱۴- باسیل مستقیم T1 در محیط مک کانکی

Fig. 14- T1 direct *bacillus* sample in the MacConkey medium

شکل ۱۵- باسیل مستقیم T2 در محیط مک کانکی

Fig. 15- T2 direct *bacillus* sample in the MacConkey medium

تصاویر کشت مربوط به کوکسی نمونه T2رقیق شده که در محیط بلاد آگار و مک کانکی کشت شدند نیز در شکل۱۶ نشان داده شده است.



شکل ۱۶. کوکسی نمونه T2 رقیق شده در محیط مک کانکی (تصویر بالا) و بلاد آگار (تصویر پایین)

Fig. 16- T2 diluted sample coccus in the MacConkey medium

تحقیق‌های Furukawa and Fujihara (2008) تجزیه میکروبی PCBs را بررسی و تعداد محدودی از باکتری‌های تجزیه کننده آن‌ها را شناسایی کردند. میکروارگانیسم-هایی شناسایی شده قادر بودند PCBs را تحت شرایط هوازی تجزیه کنند و یا حداقل به ترکیب‌های دارای کلر کمتر تبدیل کنند. بیشتر این ارگانیسم‌ها باکتری‌های گرم منفی نظیر سودوموناس‌ها، اسفینگوموناس، آکروموباکتر، آلکالیجن، کوماموناس و رالستونیا و یا گرم مثبت مانند کورینه باکتریوم، رودوکوکوس و باسیلوس‌ها هستند. در مطالعات دیگر توانایی تجزیه ترکیب‌های PCB توسط باکتری‌های مختلف نشان داده شده است. Komancova *et al.* (2008) عنوان کردند که بعد از سه هفته تجزیه بیولوژیکی، ۵۲ تا ۹۹ درصد از PCBs اصلی تجزیه شدند. در مطالعه حاضر سویه‌های جدا و شناسایی شده در محل های با آلودگی PCBs با یافته‌های نتایج ذکر شده در مطالعات قبلی مطابقت داشته و می‌توان به‌طور احتمالی نتیجه گرفت که این باکتری‌ها PCBs را به‌عنوان منبع کربنی استفاده کرده‌اند و تجزیه بیولوژیکی انجام شده است (بویژه در ارتباط با نمونه‌هایی که میزان PCBs آنها کمتر بود اما باکتری های تجزیه کننده PCBs درشان شناسایی شده بود). بنابراین یافته های این مطالعه از این نظر با مطالعات بالا مطابقت دارد.

میکروارگانیسم‌ها به دو روش، PCBs را تجزیه می‌کنند یا به‌شکل هوازی توسط میکرارگانیسم‌های هوازی یا به‌شکل هالوژن زدایی احیایی توسط میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی (Adrian *et al.*, 2009). میکروارگانیسم که می‌توانند ترکیب‌های با کلر پایین را به‌صورت هوازی تجزیه کنند، از طریق مسیر ۳,۲ -دی اکسیژناز وارد عمل می‌شوند و ترکیب‌های PCBs را به اسید کلروبنزوئیک تبدیل می-کنند (Fagervold *et al.*, 2007). با اندازه‌گیری اسید کلروبنزوئیک در محیط رشد، این میکروارگانیسم‌ها قابل شناسایی هستند. هنگامی که بی‌فنیل توسط باکتری‌ها استفاده می‌شود، محصول زرد رنگی که یک حلقه آن در موقعیت متا شکسته شده است، تولید می‌کنند. این مورد در بیشتر باکتری‌های مطالعه شده بویژه گونه‌های سودوموناس مشاهده شده است (Borja *et al.*, 2005). لازم به بیان است که باکتری‌های هوازی تجزیه کننده بی‌فنیل به سختی به PCBs دارای کلر بالا حمله می-نمایند، این در حالی است که PCBs دارای کلر کمتر را راحت‌تر تجزیه می‌نمایند. به‌عنوان یک تئوری، تجزیه بیولوژیکی PCBs باید به تولید دی اکسید کربن، آب و کلر منجر شود که فرایند بیان شده شامل حذف کلر از حلقه بی‌فنیل و در پی آن شکست حلقه و اکسیداسیون ترکیب‌های به‌دست آمده می‌باشد (Nwinyi, 2010). Steliga *et al.* (2020) با استفاده از باکتری‌های *Mycobacterium Frederiksbergense* و *Rhodococcus IN306* و*Rhodococcus Erythropolice IN129* توانست

میزان آلودگی PCBs نمونه خاک را ظرف ۶ ماه تا ۸۵ درصد کاهش دهد.

Liang *et al*. (2014) حذف ترکیب‌های بی‌فنیل پرکلرینه توسط زنوورانس LB400 (*Burkholderia xenovorans LB400*) را مطالعه کردند. بیشترین حذف کل PCB در خاک تحت پوشش گیاهی با استفاده از حذف بیولوژیکی LB400 مشاهده شد و حضور سلولزی سبب تداوم زنده ماندن LB400 در خاک گردید. در پایان عنوان کردند که استفاده ترکیبی از گیاهان دارویی و زیست شناختی می‌تواند یک استراتژی کارآمد و پایدار برای از بین بردن ترکیب‌های PCB بازدارنده و کاهش آلودگی PCB باشد.

در مطالعه دیگری نیز Singh *et al*. (2021) نشان دادند که باکتری *LB400* قادر به حذف ۷۶ درصد از ترکیب‌های PCBs به‌صورت محلول (و نه به صورت رسوب) در طی ۷ روز می‌باشد.

Murínová *et al*. (2014) نیز گزارش کردند که در بین چهار جدایه *Alcaligenes xylosoxidans*، *Pseudomonas stutzeri*، *Ochrobactrum anthropic* و *Pseudomonas veronii*، جدایه *Alcaligenes xylosoxidans* عملکرد بهتری در حذف ترکیب‌های PCB در خاک را دارد. teymouri *et al*.(2012) گونه‌های میکروبی هوازی تجزیه کننده بی‌فنیل‌های چند کلره را شناسایی نمودند. تعیین توالی ژنی باکتری‌های جداسازی شده نشان داد که گونه‌های *Rhodococcus*، *Pseudomonas*، *Pseudoxanthomonas*، *Agromyces* و *Brevibacillus* باکتری‌های غالب تجزیه کننده ترکیب‌ها هستند. در واقع ترکیب‌های PCBs با وجود دارا بودن ویژگی‌های پایداری شیمیایی و سمیت می‌توانند توسط بعضی از میکروارگانیسم‌ها تحت شرایط هوازی یا بی‌هوازی تجزیه شوند و یا همانطور که پیشتر نیز عنوان گردید، حداقل به ترکیب‌های دارای کلر کمتر تبدیل گردند.

Khalid *et al* . (2020) در یک مقاله مروری عنوان کرد که از بین باکتری‌های بی‌هوازی *Dehalobacter* و *Desulfitobacterium* و از بین باکتری‌های هوازی *Burkholderia*، *Achromobacter*، *Comamonas*، *Ralstonia*، باسیلوس و سودوموناس بیشترین توانایی تجزیه PCBs را دارند .

Abdi *et al*. (2011) زیست تجزیه پذیری پلی کلرید بی‌فنیل در کشت مخلوط سه باکتری سودوموناس آئروژینوزا، پانتوآ اگلومرنس و آلکالیجنس لوتوس را بررسی نمودند. بررسی کمی نمودارهای کروماتوگرافی نشان داده است که کشت مخلوط سه باکتری سودوموناس آئروژینو، پانتوآ اگلومرنس و آلکالیجنس لوتوس توانایی کاهش حلقه بی‌فنیل به اسیدهای آلی و دی اکسید کربن را داراست. همچنین در بررسی این محققان تغییرات pH و دانسیته نوری در طول این فرایند تخریب، به‌ترتیب بین ۶/۸۹ تا ۷/۳۴ و ۱۰۲ تا ۷۵۴ نوسان داشته است. دانستن تراکم کلونیزاسیون، به‌عنوان نمونه تعداد سلول‌ها، برای ارزیابی قابلیت تجمع و عملکرد میکروارگانیسم‌ها بسیار مهم است (Rhodes *et al*., 2007).

Singh *et al*. (2020) نشان داد که باکتری‌های *Alcaligenes* sp.، *Tistrella* sp. و *Bacillus amyloliquefaciens* می‌توانند بین۳۱ تا ۳۴ درصد ترکیب‌های PCBs دی کلرونیه، ۲۲ تا ۲۸ درصد ترکیب‌های تری کلرونیه، ۱۰ تا ۲۰ درصد ترکیب‌های ترا کلرینه، ۶ تا ۸ درصد ترکیب‌های هگزا کلرینه و ۴ تا ۵ درصد ترکیب‌های هپتا کلرینه را طی مدت ۳۰ روز کاهش دهند.

پیشتر تصور بر این بود که سویه‌های جدا شده با قدرت حذف، دارای یک سری ژن‌های منفرد هستند و تنها محصول‌های ژن مربوطه، مسئول تجزیه ترکیب‌های PCB می‌باشند. اما اکنون مشخص شده است که میکروارگانیسم‌های مختلفی دارای مسیرهای متابولیکی یا ایزوآنزیم‌های چندگانه برای متابولیسم ترکیب‌های PCB می‌باشند که رودوکوکوس از جمله این ارگانیسم‌ها

است (Pieper, 2005). جنس سودوموناس از معمول باکتری‌هایی است که در بیشتر گزارش‌های مربوط به تجزیهٔ زیستی وجود دارد (Tekorienė, 2008). این باکتری‌ها در حضور اکسیژن (به‌عنوان پذیرنده الکترونی) و از راه‌های بیوشیمیایی تجزیهٔ هوازی، مواد آلی را تجزیه می‌کنند. چرخهٔ تنفسی این باکتری‌ها شامل سیتوکروم-های مختلف و انواع گوناگون اکسیدازهای انتقالی متصل به اکسیژن است (Minoui *et al.*, 2008).

فرایند بیولوژیکی سم زدایی اهمیت بهبود زیستی را در جلوگیری از سمیت ژنتیکی و قابل انتقال، تأکید می‌کند. در این پژوهش نیز حضور PCBs در نمونه‌های خاک اطراف ترانس توسط GC-Mass در دو نمونه از پنج نمونه اثبات و اندازه‌گیری شد و نمونه‌های مثبت از نظر وجود باکتری‌های مقاوم به PCBs به‌صورت مستقیم و رقیق شده کشت داده شدند. مشابه با آنچه در تحقیق‌های پیشین به‌دست آمده است، نتایج گویای حضور باکتری-های باسیل گرم منفی و کوکسی گرم مثبت مقاوم به PCBs می‌باشد که به‌عنوان گزینه‌ای جهت حذف بیولوژیک PCBs می‌توانند مطرح شوند.

نتیجه‌گیری

یکی از مشکل‌های امروزی بشر که همگام با پیشرفت صنایع رخ داده است، آلودگی محیط زیست با انواع ترکیب‌های شیمیایی می‌باشد. یک دسته از این ترکیب-های آلاینده، پلی کلرو بی‌فنیل‌ها هستند که به‌دلیل خاصیت مقاومت بالا به حرارت در صنایع مختلف بویژه به‌عنوان عایق و روان کننده در ترانسفورماتورهای برق استفاده می‌شوند. این ترکیب‌ها از راه آب و خاک و هوا وارد بدن موجودات زنده شده و به‌دلیل حلالیت بالا در چربی در بافت‌های بدن ذخیره می‌شوند و موجبات بیماری‌های بسیاری از جمله سرطان‌ها را فراهم می‌کنند. بنابراین حذف آن‌ها از طبیعت در اولویت محیط زیست بسیاری از کشورها قرار گرفته است.

یکی از راه‌های حذف این ترکیب‌ها کمک گرفتن از باکتری‌های تجزیه کننده PCB است.

در این مطالعه به‌منظور اندازه‌گیری ترکیبات پلی کلرو بی‌فنیل نمونه برداری از خاک اطراف ترانس‌های برق منطقه طالقان انجام گرفت.

از ۵ نمونه جمع آوری شده دو نمونه از نظر آلودگی PCB مثبت بودند. در ادامه با بررسی کشت مستقیم و رقیق شده از این نمونه‌ها وجود باکتری‌های تجزیه کننده ترکیب‌های PCB شامل باکتری‌های باسیل گرم منفی لاکتوز منفی و کوکوس تأیید گردید و بنابراین در این مطالعه باکتری‌های بومی تکامل یافته‌ای در محیط به-دست آمد که می‌تواند این ماده خطرناک را از طبیعت پاک سازی نماید. شناسایی دقیق سویه باکتریایی مورد نظر نیازمند استخراج DNA باکتری و تکثیر و تعیین توالی ژنی آن‌ها و همچنین آنالیز فیلوژنی می‌باشد.

پی‌نوشت

[1]Polychlorinated biphenyls (PCBs)

منابع

Adrian, L., Dudková, V., Demnerová, K. and Bedard, D.L., 2009 "*Dehalococcoides"* sp. strain CBDB1 extensively dechlorinates the commercial polychlorinated biphenyl mixture Aroclor 1260.Applied and Environmental Microbiology.75, 4516–4524.

Borazjani, H., Wiltcher, D. and Diehl, S., 2005. Bioremediation of polychlorinated biphenyl and

Abdi, N., Shoja AlSadaty, S.A. and Hatamian Zaremi, A.S., 2011. Investigation of biodegrrability of biphenyl polychloride in mixed culture of three bacteria Pseudomonas aeruginosa (AS-56), Pantua agglomeration (AS-22) and Lotus alkaligens (B-7). In 7th Biotechnology Conference of the Islamic Republic of Iran. 21th – 24th September, Tehran, Iran.

petroleum contaminated soil. Proceedings of Environmental Science and Technology Journal. 11,502-507.

Borja, J., Taleon, D.M., Auresenia, J. and Gallardo, S., 2005. Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. Process Biochemistry Journal. 40, 1999-2013.

Campanella, B.F., Bock, C. and Schröder, P., 2002. Phytoremediation to increase the degradation of PCBs and PCDD/Fs. Environmental Science and Pollution Research. 9, 73–85.

Chilom, G. and Rice, J.A., 2013. Organic pollutants in the environment. Major Reference Works Journal. 2, 587-596.

Bako C.M., Mattes T.E., Marek R.F., Hornbuckle K.C. and Schnoor J.L., 2021. Biodegradation of PCB congeners by Paraburkholderia xenovorans LB400 in presence and absence of sediment during lab bioreactor experiments. Environmental Pollution. 271,106821.

Fagervold, S.K., May, H.D. and Sowers, K.R., 2007. Microbial reductive dechlorination of Aroclor 1260 in Baltimore harbor sediment microcosms is catalyzed by three phylotypes within the phylum Chloroflexi. Applied and Environmental Microbiology. 73, 3009–3018.

Furukawa, K., 2000. Biochemical and genetic bases of microbial degradation of polychlorinated biphenyls (PCBs). General and Applied Microbiology Journal. 46, 283-96.

Furukawa, K. and Fujihara, H., 2008. Microbial degradation of polychlorinated biphenyls: biochemical and molecular features. Bioscience Bioengineering Journal. 105, 433-49.

Gioia, D.D., Bertin, L., Zanaroli, G., Marchetti, L and Fava, F., 2006. Polychlorinated biphenyl degradation in aqueous wastes by employing continuous fixed-bed bioreactors. Process Biochemistry Journal. 41, 935-40.

Jia, L.Y., Zheng, A., Xu, L., Huang, X.D., Zhang, Q. and Yang, F.L., 2009. Isolation and characterization of comprehensive polychlorinated biphenyl degrading bacterium, Enterobacter sp. LY402. Microbiology Biotechnology Journal. 18, 952-7.

Khalid, F., Hashmi, M.Z., Jamil, N., Qadir, A. And Ishtiagh Ali, M., 2021. Microbial and enzymatic degradation of PCBs from e-waste-contaminated sites: a review. Environmental Science and Pollution Research. 28, 10474–10487

Komancova, M., Jurcova, I., Kochankova, L. and Burkhard, J., 2003. Metabolic pathways of polychlorinated biphenyls degradation by Pseudomonas sp. 2. Chemosphere Journal. 50, 537-43.

Liang, y., Meggo, R., Hu, D., Schnoor, J.L. and Mattes, T.E., 2014. Enhanced polychlorinated biphenyl removal in a switchgrass rhizosphere by bioaugmentation with *Burkholderia xenovorans LB400*, Ecological Engineering Journal. 71, 215–222.

Minoui, S., Tehrani, D.M. and Ahmadi, S., 2008. Effect of heavy crude oil on the pattern of respiratory chain of *Pseudomonas* sp. Terrestrial and Aquatic Environmental Toxicology Journal. 2, 34-37.

Murínová, S., Dercová, K. and Dudásová, H., 2014. Degradation of polychlorinated biphenyls (PCBs) by four bacterial isolates obtained from the PCB-contaminated soil and PCB-contaminated sediment. International Biodeterioration and Biodegradation. 91, 52-59.

Nwinyi, O., 2010. Degradation of Askarel (PCB

Blend) by indigenous aerobic bacteria isolates from dumpsites in Ore. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 8, 3938-48.

Singh, N.S., Sarkar, B., Mukherjee, I., Shukla, L. and Varghese, E., 2020. Degradation of polychlorinated biphenyls (pcbs) using bacteria isolated from paint scrapes. Pesticide Research Journal. 32, 236-247.

Sobiecka, E., Cedzynska, K., Bielski, C. and Antizar-Ladislao, B., 2009. Biological treatment of transformer oil using commercial mixtures of microorganisms. International Biodeterioration and Biodegradation Journal. 63, 328-33.

Steliga T., Wojtowicz K., Kapusta P. and Brzeszcz J., 2020. Assessment of biodegradation efficiency of polychlorinated biphenyls (PCBs) and petroleum hydrocarbons (TPH) in soil using three individual bacterial strains and their mixed culture. Molecules. 25,709.

Tanabe, S., Falandysz, J., Higaki, T., Kannan, K. and Tatsukawa, R., 1993. Polychlorinated biphenyl and organochlorine insecticide residues in human adipose tissue in Poland. Environmental Pollution Journal. 79, 45-49.

Tekoriene, R., 2008. Distribution of the genus *Pseudomonas* bacteria in oil-polluted soil, water, polymeric materials, plant remnants and food products. Ekologija Journal. 54, 143–148.

Teymouri, B., Nabavi, S.M.B., Safaeyan, S.H. and Khatami, S.H., 2012. Determining level of PCBs in skin and muscle tissue of Cyprinus Caripio and Esoxlucius in Anzali wetland (Abkenar). Iranian Science Journal. 21- 23.30.
Valizade, I., 2014. Proper environmental management before disposal of oil contaminated waste of Ascarel transformers PCBs. First National Conference on Environmental Health, Health and Sustainable Environment. 10th- 1313 September, Hamedan, Iran.

Vasilyeva, G.K., Strijakova, E.R., Nikolaeva S.N., Lebedev A.T. and Shea P.J., 2009. Dynamics of PCB removal and detoxification in historically contaminated soils amended with activated carbon. Environmental Pollution Journal. 158, 770–777.

Wong, K.H. and Wong, P.K., 2006. Degradation of polychlorinated Biphenyls by UV Catalyzed Photolysis. Human and Ecological Risk Assessment Journal. 12, 259-269

Wu, W., Xu, J., Zhao, H., Zhang, Q. and Liao, S., 2005. A practical approach to the degradation of polychlorinated biphenyls in transformer oil. Chemosphere Journal. 60, 944–950

Environmental Sciences Vol.19 / No.3 / Autumn 2021

237-252

Measurement of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the soil samples of Taleghan region and investigation of the presence of biological agents capable of removing PCBs

Alireza Zakeri [1*], Nastaran Akbarian [1]and Kamand Hedayat [2]

[1] Biology Science Department, Material Engineering and Interdisciplinary science faculty, Shahid Rajaee Teacher Training University, Tehran, Iran
[2] Research and Development Department, Pharmaceutical Biotechnology Faculty, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Received: 2020.10.23 Accepted: 2021.04.28

Zakeri, A., Akbarian, N. and Hedayat, K., 2021. Measurement of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the soil samples of Taleghan region and investigation of the presence of biological agents capable of removing PCBs. Environmental Sciences. 19(3): 237-252.

Introduction: In the recent decades with the increase of population and the expansion of industries, various chemicals have entered the environment and polluted the ecosystem and PCBs are one of these life threatening contaminants. Microbial degradation of PCBs has been considered as one of the cost effective and efficient methods to the remove these contaminants from the environment. The aim of the present study was to measure the concentration of poly- chlorobiphenyls (PCBs) in the soil around power transformers in Taleghan region of Karaj. We also aimed to identify and extract bacteria that degrade PCBs to be used as biological removal in the environment.

Material and methods: For this purpose, soil samplings were done at five stations in different places around power transformers. Samplings were performed in a depth of 20 cm in sterile conditions and samples were kept in glass containers. LB broth Blood Agar and McConkey culture media were used to identify and determine the bacteria degrading PCBs.

Results and discussion: Five samples were examined, only two of which were positive for PCBs contamination. Microbial exploration was performed in these two samples. In one of the samples, the amount of PCBs was 3 ppm, while in the second sample, the total amount of PCBs was estimated to be less than 0.02 ppm. These two samples were cultured both directly and diluted. In samples 1 and 2, which were cultured

[*] Corresponding Author: *Email Address.* zakeri@sru.ac.ir
http://dx.doi.org/10.52547/envs.2021.36246

directly, gram-negative bacilli grew. In diluted sample 1, no bacteria grew, while in diluted sample 2, cocci were grown and in gram coloring, it turned purple so it was gram-positive. Direct samples 1 and 2 contained bacilli and turned red (gram-negative) in response to gram coloring.

Conclusion: The use of these bacteria to remove the compounds of PCBs is one of the useful ways to reduce pollution in these places, with the least harmful effects on the environment and at the same time the most profitable sectors of the industry.

Keywords: Poly- chlorobiphenyls, Soil, Negative Bacillus, Culture media