

بررسی راندمان حذف بیولوژیک گازوئیل در خاک، بوسیله دو گونه باکتری بومی خاکهای آلوود جنوب پالایشگاه تهران

سمیه ناجی راد، حسینعلی علیخانی، محمد رضا حسنی نژاد فراهانی، غلامرضا ثوابقی و اکبر قویدل
دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران، کارشناس ارشد پژوهشگاه صنعت نفت
(ریاست واحد پژوهش آلوودگی محیط)، استادیار و دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران.
Naji.rad@gmail.com

مقدمه

آلوودگی نفتی یکی از معمولی ترین و شایع ترین نوع از آلوودگیها، هم در اکوسیستم خشکی و هم در اکوسیستم آبی است [۸]. مطالعات انجام شده، نشان می‌دهد که فعالیتهای صنعتی انسان، تنها عامل آلوودگی محیط زیست به ترکیبات سمی و خطرناک به وسیله این دسته از آلاینده‌ها می‌باشد [۲]. شایان ذکر است که تجمع این ترکیبات شیمیایی در محیط زیست، تهدیدی جدی برای سلامت انسان، موجودات و اکوسیستم‌های زنده است [۵]. در حال حاضر، "پاکسازی میکروبی" یا "زیست پالایی"، یکی از فن آوریهای رایج در اصلاح و مداوای خاکهای آلوود به هیدروکربنها نفتی است. "زیست پالایی" روشی است که از توانایی ارگانیسم‌های زنده جهت افزایش میزان و سرعت تخریب آلاینده‌ها استفاده می‌کند و یک ابزار مهم جهت کاهش آلوودگیهای محیط زیست می‌باشد [۴ و ۶].

هدف از این تحقیق، بررسی قابلیت اصلاح و پاکسازی بیولوژیکی دو گونه باکتری بومی جداسازی شده از خاکهای آلوود نفتی و برآورد راندمان حذف بیولوژیک آنها می‌باشد و گازوئیل به عنوان آلاینده هیدروکربنی انتخاب گردید.

مواد و روشها

مراحل انجام این تحقیق به صورت زیر است:

جداسازی و خالص سازی باکتریهای بومی جهت درمان بیولوژیکی خاک آلوود به آلاینده هیدروکربنی، ارزیابی کارایی آنها در مصرف و تجزیه آلاینده مورد نظر (گازوئیل) و انتخاب سویه‌های برتر؛ ابتدا با توجه به مشاهداتی که در بازدید از مناطق آلوود جنوب پالایشگاه تهران به عمل آمد، ۶ نمونه خاک از نقاطی که ظاهرا دارای آلوودگی نفتی بسیار بالایی بودند، انتخاب گردید. سپس در طی سه مرحله آزمون رشد، دو گونه باکتری *BJ.1* و *BM.1* به عنوان برترین گونه‌های تجزیه‌کننده گازوئیل در خاکهای آلوود جنوب پالایشگاه تهران، اعلام شدند و برخی تست‌های بیولوژیکی جهت تعیین مشخصات ماکروسکوپی و میکروسکوپی آنها انجام پذیرفت.

تهیه و آماده سازی خاک مورد استفاده در آزمایش: بدین منظور، خاکی با بافت لومی رسی شنی، انتخاب شد. سپس، یکسری آزمایشات و اندازه‌گیری‌ها جهت تعیین برخی ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی خاک مورد نظر (تعیین *pH*, *EC*, درصد مواد آلی خاک، درصد کربن آلی خاک، رطوبت ظرفیت زراعی، درصد نیتروژن کلال، درصد فسفر قابل جذب و توزیع دانه بندی خاک) انجام گرفت. تمامی این آزمایشات بر اساس روش‌های استاندارد انجام پذیرفتند [۶]. بر اساس استانداردهای تعیین شده برای نسبت *P:N:C*:*N:P:C* در خاک، جهت رشد بهینه باکتریها در عملیات زیست-پالایی (۱۰۰:۱۰:۱)، میزان کمبود این عناصر در خاک مورد نظر برآورد و توسط افزودن دی پتاسیم هیدروژن فسفات (K_2HPO_4) و آمونیوم نیترات (NH_4NO_3) جبران گردید [۹].

اندازه‌گیری میزان حذف بیولوژیک گازوئیل در خاک، بوسیله دو گونه باکتری برتر: در این مرحله، ۶۰ گرم از خاک مورد نظر توزین و در ظروف پلاستیکی ریخته شد. سپس بوسیله گازوئیل (به میزان ۴٪ وزنی) آلوود گردید. نهایتاً بسترهای توسط ۱۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریهای جداسازی و خالص سازی شده از مرحله اول، با جمعیت 3×10^9 *Bacterial number/ml* تلقیح شدند و رطوبت بسترهای به ۶۰٪ درصد ظرفیت نگهداری آب (WHC) رسانیده و در تمام مدت زمان آزمایش، در همین رطوبت حفظ شد. واحدهای آزمایشی به مدت ۴۵ روز در رنج دمایی 27 ± 2 درجه سانتیگراد قرار داده شدند و روزانه دو فاکتور رطوبت و تهویه در آنها کنترل گردید. پس از طی مدت زمان ۴۵

روز، میزان گازوئیل باقیمانده در واحدهای آزمایشی به روش "EPA 413.1" اندازه‌گیری شد [۹]. در این تحقیق، از "هگزان نرمال" به عنوان حلال استخراج کننده گازوئیل، استفاده گردید. این آزمایش با ۲ تیمار باکتری، ۱ تیمار مخلوط دو باکتری و ۱ تیمار شاهد، در ۳ تکرار و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی (CRD) انجام شد.

نتایج و بحث

بین داده‌های آزمایش، از نظر میزان گازوئیل باقیمانده، تفاوت معنی داری (در سطح احتمال ۱۰٪) وجود دارد. مقایسه میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان می‌دهد بین تیمار BJ.1، تیمار BM.1 و تیمار مخلوط این دو، با تیمار شاهد اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۱۰٪ وجود دارد، ولی بین این سه تیمار، اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵٪ وجود ندارد. یعنی کارایی هر دو باکتری BJ.1 و BM.1 به تنها یی و نیز مخلوط دو باکتری در مصرف و کاهش گازوئیل، تقریباً یکسان است. میزان کاهش گازوئیل، در واقع در اثر میزان مصرف باکتری‌ها از گازوئیل به عنوان منبع کربنی برای رشد آنهاست. نتایج حاصل از آزمایش نشان می‌دهد که با توجه به شرایط محیطی ذکر شده (دماي 27 ± 2 درجه سانتیگراد، رطوبت ۶۰٪ درصد ظرفیت نگهداری آب و نیز تهویه روزانه)، گونه‌های باکتریایی BM.1، BJ.1 و مخلوط دو باکتری توانسته‌اند پس از گذشت مدت زمان ۴۵ روز، به ترتیب ۷۷/۵۸، ۷۸/۳۶ و ۷۸/۸۷ درصد از گازوئیل را تجزیه و حذف نماید که با توجه به زمان عملکرد، مقدار رضایت بخشی به نظر می‌رسد. مشابه نتایج بدست آمده در این تحقیق در مورد تجزیه و حذف آلاینده‌های هیدروکربنی توسط گونه‌های باکتریایی، در تحقیقات Salanitro, Fargusen & Xu و Obbard بدست آمده است [۱۰، ۷ و ۳].

امید است با ابداع و به کار گیری روش‌های نوین جهت جداسازی و خالص سازی باکتریهای بومی تجزیه کننده هیدروکربنها نفتی و نیز روش‌های دستگاهی مناسب تر، اندازه‌گیری میزان مواد نفتی باقیمانده در خاک نیز راحت و دقیق تر انجام پذیرد و لذا بتوانیم گامی در جهت پیشرفت تکنیک "زیست پالایی" در کشور برداریم.

منابع

- [1] Autry, A. R., Ellis, G. M. (1991). Environmental progress. Page: 318
- [2] Elmendorf, D. L., C.E. Haith, G.S. Douglas, R. C. Prince. 1994. Relative rates of biodegradation of substituted polycyclic Aromatic hydrocarbon. In: Hinchee, R. E., lesson, A., Semprini, L., Ooong, S. K. (Eds.), Bioremediation of chlorinated and polycyclic Aromatic Hydrocarbon Compounds. Lewis, Boca Raton, FL, pp. 188-202.
- [3] Ferguson, S. H., Peter, D.Franzmann, Andrew, T.Revill, IanSnape, John, L.Rayner.2003. The effects of nitrogen and water on mineralization of hydrocarbons in diesel-contaminated terrestrial Antarctic soils. Cold Regions Science and Technology 37.197–212.(www.elsevier.com/locate/coldregions).
- [4] Kalyuzhnyi, S. V. 2000. Vestink Moskovskogo Universitets. Khimiya. 41. (6, Supp.). P. 15.
- [5] Mirsal Ibrahim, A. (2004). Soil pollution: origin, monitoring and remediation, 1st Ed., Springer, Germany.
- [6] Page., A. L., R. H. Miller., D. R. Keeney. 1982. Method of soil analysis (part 2: chemical & microbiological properties). American society of Agronomy, Inc. Soil science society of America, Inc.
- [7] Salanitro, J.P.2001,Bioremediation of petroleum hydrocarbon in soil.Advances in Agronomy.Volum 72,pages :53-105.
- [8] Schaefer, Maike, Søren, O.Petersen, Juliane, Filser. 2005. Effects of *Lumbricus terrestris*, *Allolobophora chlorotica* and *Eisenia Fetida* on microbial community dynamics in oil-contaminated soil. *SoilBiology&Biochemistry*37. 2065–2076.(www.elsevier.com/locate/soilbio).
- [9] USEPA. 2001. Guideline for the bioremediation of marine shorelines and fresh water wetland. Office of research and development, US Environmental Protection Agency.
- [10] Xu, Ran, Jeffrey P, Obbard. 2003. Effect of nutrient amendments on indigenous hydrocarbon biodegradation in oil-contaminated beach sediments. Journal Of Environmental Quality. Volume 32, Issue 4 , Pages 1234-1243. ISSN:0047-2425.