دوازدهمین کنگره علوم خاک ایران
تبریز، 12 الی 14 شهریور 1390
(بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک)

کاربرد کروماتوگرافی ستونی در بررسی توانایی باکتری‌های بومی خاک در زیست‌پالایی هیدروکربن‌های نفتی خاک آلوده

شیرین خادمی‌فر[1]، علیرضا جعفرنژادی[2]، غلامعباس صیاد[3]، حسین بشارتی[4]
1- دانش‌آموخته گروه خاکشناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات خوزستان 2- استادیار پژوهش مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان 3- استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه شهید چمران اهواز 4- استادیار و عضو هیئت علمی مؤسسه خاک و آب
email: shkhademifar@gmail.com

چکیده:
این پژوهش با هدف بررسی اثر باکتری‌های نفت‌خوار بر تجزیه اجزاء مختلف هیدروکربن‌های نفتی، به روش زیست‌پالایی، اجرا شد. دو نمونه خاک آلوده، همراه با افزودن باکتری و بدون باکتری در نظر گرفته شد. در بازه زمانی دو، پنج و ده هفته از افزایش باکتری، درصد آلودگی نفتی به روش سوکسیله و نوع هیدروکربن با استفاده از روش کروماتوگرافی ستونی انجام شد. نتایج نشان داد مقدار کل هیدروکربن‌های نفتی (TPH)[1] در تیمار زیست‌پالایی به میزان 16/9 درصد نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت. همچنین، از اجزاء مختلف هیدروکربن‌های نفتی، باکتری‌ها بیشتر قادر به تجزیه نرمال‌آلکان‌ها هستند.

واژه‌های کلیدی: باکتری نفت‌خوار، زیست‌پالایی،کروماتوگرافی ستونی، هیدروکربن‌های نفتی

مقدمه:
آلودگی نفتی یکی از پی‌آمدهای افزایش سریع جمعیت و فرآیند صنعتی شدن می‌باشد (رنگ‌زن، 1385). آلودگی خاک بوسیله هیدروکربن‌های نفتی به‌شکل وسیع در اطراف تأسیسات اکتشاف و پالایش و به شکل موضعی در مسیرهای انتقال این مواد در سطح مناطق نفت‌خیز قابل مشاهده است. در حال حاضر جلوگیری از گسترش این آلودگی‌ها و همچنین پاکسازی مناطق آلوده از نیازهای ضروری مناطق آلوده می‌باشد. گستره وسیعی از فناوری‌های مختلف فیزیکی، شیمیایی و زیستی به منظور اصلاح و بهسازی خاک‌های آلوده وجود دارد که هدف آنها حذف، کاهش و تثبیت آلودگی و جلوگیری از انتقال آنها به آب‌های سطحی و زیرزمینی است. از جمله این فناوری‌ها می‌توان به فرآیند زیست‌پالایی اشاره کرد. پوتین و همکاران (2004) و انتیزار و همکاران (2004) زیست‌پالایی را به عنوان یک روش با صرفه اقتصادی و مؤثر نسبت به سایر راه‌کارهای اصلاحی فیزیکی و شیمیایی معرفی کردند.
در طی سال‌ها رشد روز افزون جمعیت و به دنبال آن توسعه پالایشگاه‌ها و صنایع پتروشیمی موجب افزایش فعالیت‌های حفاری چاه‌های نفت و گاز و استخراج پی در پی نفت از استان خوزستان و انتقال آن به پالایشگاه‌ها و سپس منتقل کردن فراورده‌های

[1]- Total Petroleum Hydrocarbon

نفتی به مکان‌های مصرف گردید. از طرف دیگر عدم رعایت الزامات زیست‌محیطی از سوی دیگر و رهاسازی ضایعات هیدروکربنی در طبیعت موجب شد تا در دهه‌های اخیر مقادیر هنگفتی از آلاینده‌های هیدروکربنی وارد محیط زیست شده و

سبب ایجاد آلودگی محیط‌زیست و اکوسیستم در استان خوزستان گردیده است. در این پژوهش نیز امکان زیست‌پالایی آلاینده‌های نفتی از خاک، ارتباط ترکیبات مختلف آلاینده با میزان زیست‌پالایی و نیز اثر این فرآیند بر اجزاء مختلف ترکیبات هیدروکربنی در یک خاک آلوده به هیدروکربن‌های نفتی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

به منظور انجام این پژوهش ابتدا از خاک‌های آلوده و غیر آلوده در محل کارخانه گل روغنی حفاری واقع در 70 کیلومتری جاده اهواز- ماهشهر در استان خوزستان نمونه‌برداری صورت گرفت. سپس، نمونه‌های خاک آلوده به آزمایشگاه منتقل شده و پس از هوا خشک کردن و خرد کردن کلوخه‌ها از الک عبور داده شدند. میزان درصد آلودگی هیدروکربنی در خاک‌های آلوده و غیرآلوده با استفاده از روش سوکسیله تعیین شد (آیوتامو و همکاران، 2006). در مرحله دوم خاک آلوده و خاک غیر آلوده با نسبت‌های مشخص به گونه‌ای ترکیب شدند که خاکی با حدود 6 درصد آلودگی بدست آمد به این علت که باکتری‌ها در خاک-های با درصد آلودگی نفتی بالا قادر به فعالیت و در نتیجه پالایش مواد نفتی نیستند (لیو و همکاران، 1982). از این خاک آلوده، دو نمونه به‌منظور مطالعه کاربرد باکتری جهت زیست پالایی استفاده شد به این صورت که خاک آلوده، همراه با افزودن باکتری (باکتری استخراج شده از خاک آلوده) و بدون باکتری در نظر گرفته شد. در طول مدت آزمایش رطوبت نمونه‌ها به منظور ایجاد شرایط بهینه برای فعالیت باکتری‌ها حدود 70 درصد ظرفیت مزرعه نگه داشته شد (بسالت‌پور و همکاران، 2011). سپس در بازه‌های زمانی 2، 5 و 10 هفته پس از اعمال تیمار آزمایش‌های درصد آلودگی نفتی و کروماتوگرافی ستونی بر روی نمونه‌ها انجام شد.

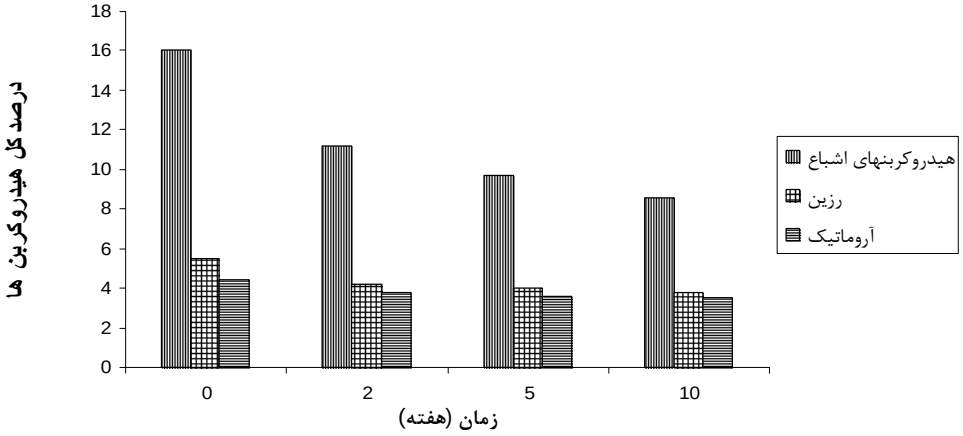
نتایج و بحث

نتایج آزمایشات انجام شده بر رروی نمونه‌ها قبل از شروع آزمایش (نمونه اولیه) و ده هفته پس از اعمال تیمارها (افزودن باکتری و شاهد) در جدول 1 نشان داده شده است. نتایج حاصل از کروماتوگرافی ستونی نشان داد که در نتیجه اضافه کردن باکتری در طی دوره آزمایش هیدروکربن‌های اشباع به میزان 29/5، آروماتیک‌ها 10/9و رزین‌ها 12 درصد کاهش یافتند. این بدان معنی است که توانایی باکتری‌ها در تجزیه هیدروکربن‌های اشباع بسیار بالاتر از دو ترکیب هیدروکربنی دیگر می‌باشد (نمودار 1).

جدول 1- نتایج تجزیه‌های نفتی

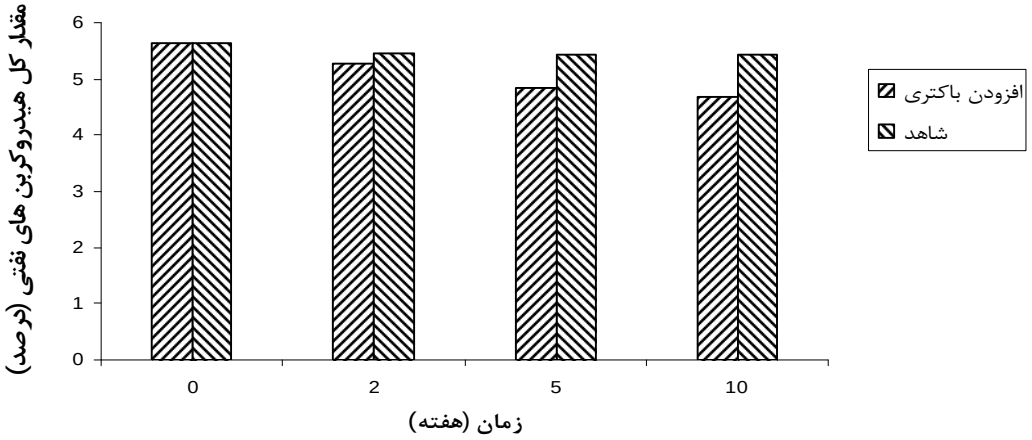
پارامتر	نمونه اولیه	افزودن باکتری	شاهد
درصد هیدروکربن‌های اشباع	16	8/6	12/1
درصد رزین‌ها	5/5	3/8	4/8
درصد آروماتیک‌ها	4/4	3/5	4
درصد آلودگی مواد نفتی	5/648	4/693	5/432

گیلر و همکاران (2002) گزارش دادند که هیدروکربن‌های اشباع نسبت به ترکیبات با زنجیره بلندتر و وزن مولکولی بیشتر سریعتر تجزیه شده و مقاومت کمتری در برابر تجزیه میکروبی دارند. کاهش آروماتیک‌ها نسبت به سه ترکیب دیگر در طی دوره آزمایش کمتر بود (نمودار 1). این کاهش در کل مدت زمان ده هفته به میزان 10/9 درصد بود که 3/8 درصد در بازه زمانی اضافه کردن پودر باکتری تا دو هفته پس از اعمال تیمار مذکور، 3/6 درصد در بازه زمانی هفته دوم تا هفته پنجم و 3/5 درصد در بازه زمانی هفته پنجم تا دهم رخ داد.



نمودار 1- بررسی تغییرات اجزاء مختلف هیدروکربن‌های نفتی در تیمار افزودن باکتری در زمان‌های مختلف

همچنین نتایج نشان داد که اضافه کردن باکتری به خاک آلوده، بیشترین اثر را در کاهش آلودگی‌های نفتی داشت که این کاهش در کل مدت زمان ده هفته به میزان 16/9 درصد بود که 6/7 درصد در بازه زمانی اضافه کردن پودر باکتری تا دو هفته پس از اعمال تیمار مذکور، 8/3 درصد بین هفته‌های دوم تا پنجم و 2/9 درصد در بازه زمانی هفته پنجم تا دهم اتفاق افتاده است (نمودار 2). گلر و همکاران (2002) مشاهده کردند مقارن با افزایش جمعیت میکروبی در خاک تجزیه نفت نیز بیشتر شده که این افزایش در طول ماه اول تیماردهی سریعتر بوده و با گذشت زمان کاهش یافت.



نمودار 2- بررسی تغییرات درصد آلودگی نفتی در تیمارهای مختلف در طول ده هفته

علت کمتر شدن شدت زیست‌پالایی بین هفته‌های پنجم تا دهم احتمالاً، کم شدن مقدار هیدروکربن‌های قابل تجزیه در خاک و در نتیجه گنجینه غذایی باکتری‌ها بوده است. همچنین این مطالعه از هفته‌ی اول دی ماه آغاز شده و تا نیمه‌ی دوم اسفند ماه ادامه داشت. دمای هوا در این بازه‌ی زمانی از 14 تا 37 درجه سانتی‌گراد تغییرات داشته است. با توجه به اینکه باکتری‌های تجزیه کننده هیدروکربن‌های نفتی بومی منطقه از جنس سودوموناس می‌باشند که دمای مناسب برای فعالیت این باکتری‌ها بین 20 تا 25 درجه سانتی‌گراد می‌باشد احتمالاً دما به عنوان عامل کاهنده فعالیت باکتری و در نتیجه کاهنده تجزیه هیدروکربن‌های نفتی عمل کرده است. کلون و همکاران (2005) در مطالعه کاربرد مواد مغذی و حرارت‌دهی در تجزیه هیدروکربن‌های نفتی در خاک‌های زیرسطحی آلوده به نفت قطب جنوب نتیجه گرفتند که با افزایش دما از 4 به 20 درجه سانتی‌گراد و به دنبال آن افزایش جمعیت میکروبی، تجزیه بیولوژیکی هیدروکربن‌ها افزایش می‌یابد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد فرآیند زیست‌پالایی می‌تواند به عنوان روشی مؤثر و در عین حال ساده، کم هزینه، اقتصادی و با حداقل خسارت به محیط زیست جهت پالایش آلاینده‌های آلی بویژه آلاینده‌های نفتی در سطح وسیع مورد توجه قرار گیرد.

منابع

1- رنگ زن، ن. 1385. بررسی نقش گیاهان در پالایش خاک‌های آلوده به گازوئیل. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید چمران اهواز.

2- Besalatpour, A., Hajabbasi, M.A., Khoshgoftarmanesh, A.H., and Dorostkar V. 2011. Landfarming process effects on some biological and chemical properties of petroleum-contaminated soils. Soil Sediment Contamin. Under press: January/February 2011 issue,vol 20, no 1.

3- Potin, O., Veignie, E., and Ran, C., 2004, Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by cladosporium sphaerospermum isolated from aged PAH contaminated soil, FEMS microbial, Ecol, 51:71-78.

4- Ayotamuno, M., J., Kogbara, R.B., Ogaji, S.O.T., and Probert, S.D. 2006. Bioremediation of a Crude _ oil Poulluted Agricultural _ Soil at Port Harcort, Nigeria. Applied Energy 85: 1249-1257.

5- Leo, R., Jastorff, B., Leo, D., 1982, Afnahme und beseithudi von use transport-und Loschunfallen im watt-srrand der kust, Froschungsoricht Teil2, Bundesministerium fur Forschung und Technologie.

6- Geller, A. Michels, J., Track, T., Gehrke, U., and Sell, D, 2002, Grundlagen derbiologischen bodensanierung, Biologigische verfahren zar Bodensansanerung, UBA, Berline.

7- Coulon, F., Pelletier, E., Gourhant, L., 2005, Effects of nutrient and temperature on degradation of petroleum hydrocarbons in contaminated sub-antarctic soil, chemosphere, 58:1439-1448.