

## استفاده از میکروارگانیزمهای بومی جهت اصلاح بیولوژیکی خاکهای آلوده به گازوئیل

سمیه ناجی راد، حسینعلی علیخانی، غلامرضا ثواقبی، محمد رضا حسینی نژاد فراهانی، راحله نوابی و اکبر قوبدل

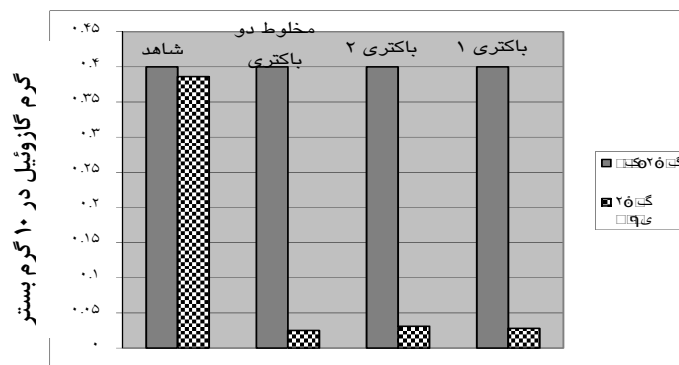
به ترتیب مدرس دانشگاه آزاد اسلامی - واحد اردبیل، استادیار و دانشیار گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران، کارشناس ارشد پژوهشگاه صنعت نفت، دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشجوی دکتری گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران.

**مقدمه:** تامین اهداف اساسی کشاورزی پایدار و امنیت غذایی یک کشور، در گرو فراهم سازی کلیه عوامل مرتبط با حاصلخیزی و سلامت خاک می باشد. افزایش روزافزون آلودگیهای نفتی در محیط زیست، نه تنها تاثیرات بسیار سوئی بر اکولوژی، که بر سلامت انسانها نیز دارد، لذا مطالعات و تحقیقات بر روی روشهای مختلف رفع آلودگی، از جمله اهداف اساسی علم و دانش در عصر حاضر است [۴]. امروزه تکنولوژی "زیست پالایی" یا به عبارتی اصلاح بیولوژیکی این نوع آلایندهها، یک راهکار مناسب نسبت به سایر روشهای فیزیکی شیمیایی پالایش می باشد [۶]. زیست پالایی، یک فرایند ترتیب یافته یا خود به خودی است که در آن، کاتالیست های بیولوژیکی، روی ترکیبات آلاینده عمل کرده و آنها را درمان می نمایند یا آلودگی محیط را از بین می برند [۲]. هدف از این تحقیق، بررسی قابلیت درمان بیولوژیکی دو گونه باکتری بومی جداسازی شده از خاکهای آلوده نفتی و برآورد راندمان زیست پالایی آنها می باشد. مطالعه موردی این تحقیق، خاکهای آلوده جنوب پالایشگاه تهران می باشد و گازوئیل به عنوان آلاینده هیدروکربنی انتخاب گردید.

**مواد و روشها:** ۱۲ ظرف پلاستیکی در ابعاد یکسان انتخاب و در آن، ۵۴۰ گرم خاک و ۶۰ گرم خاک اره (خاک + ۱۰٪ وزنی خاک اره) ریخته شد (وجود خاک اره، سبب بهبود تهویه می گردد). جهت کسب نتایج بهتر از تجزیه زیستی باکتریها، باید نسبتهای  $P:N:C$  در خاک به ترتیب برابر با ۱:۵:۱۰۰ باشد [۷]. لذا هر سه فاکتور، بر اساس روشهای استاندارد اندازه گیری [۵] و میزان کمبود آنها توسط استفاده از مواد شیمیایی از جمله  $NH_4NO_3$  و  $K_2HPO_4$  جبران شد. سپس واحدهای آزمایشی بوسیله گازوئیل (به میزان ۴٪ وزنی) آلوده گردید. نهایتا بسترها توسط ۱۱ میلی-لیتر از سوسپانسیون باکتریهای نفت خوار جداسازی و خالص سازی شده، با جمعیت  $Bacterial\ number/ml$   $3 \times 10^9$  تلقیح شدند و رطوبت بسترها 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  $27 \pm 2$  درجه سانتیگراد قرار داده شدند و روزانه دو فاکتور رطوبت و تهویه در آنها کنترل گردید. پس از طی مدت زمان مذکور، ۱۰ گرم از بسترهای واحدهای آزمایشی توزین شد و میزان گازوئیل باقیمانده در واحدهای آزمایشی به روش "EPA 413.1" و با استفاده از حلال استخراج کننده "هگزان نرمال" اندازه گیری گردید [۷]. این آزمایش با ۲ تیمار باکتری، ۱ تیمار مخلوط دو باکتری و ۱ تیمار شاهد، در ۳ تکرار و در قالب یک طرح کاملا تصادفی ( $CRD$ ) انجام پذیرفت.

**نتایج و بحث:** بین داده های آزمایشی، از نظر میزان گازوئیل باقیمانده، تفاوت معنی داری (در سطح احتمال ۰/۰۱) وجود دارد. مقایسه میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه ای دانکن نشان می دهد، بین ۲ تیمار باکتری و تیمار مخلوط دو باکتری، با تیمار شاهد اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۰/۰۱ وجود دارد، ولی بین این سه تیمار، اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۰/۰۵ وجود ندارد. یعنی کارایی هر دو باکتری به تنهایی و نیز مخلوط دو باکتری در مصرف و کاهش گازوئیل، تقریبا یکسان است. میزان کاهش گازوئیل، در واقع در اثر میزان مصرف باکتری ها از گازوئیل

به عنوان منبع کربنی برای رشد آنهاست (البته لازم به ذکر است که در تیمار شاهد نیز پس از گذشت مدت زمان مذکور، مقداری از گازوئیل کاهش یافته است که احتمالاً به علت تجزیه خودبخودی گازوئیل طی این مدت می باشد). نتایج حاصل از آزمایش نشان می دهد که با توجه به شرایط محیطی ذکر شده (دمای  $27 \pm 2$  درجه سانتیگراد، رطوبت  $60\%$  درصد ظرفیت نگهداری آب و نیز تهویه روزانه)، گونه های باکتریایی و مخلوط دو باکتری توانسته اند پس از گذشت مدت زمان ۴۵ روز، میزان آلودگی را از  $0/4$  گرم گازوئیل اولیه، به ترتیب به حدود  $0/028$ ،  $0/031$  و  $0/025$  گرم برساند (شکل ۱). بعبارتی، گونه های باکتریایی و مخلوط دو باکتری توانسته اند، به ترتیب  $92/8$ ،  $91/97$  و  $93/53$  درصد از گازوئیل را تجزیه و حذف نمایند که با توجه به زمان عملکرد، مقدار رضایت بخشی به نظر می رسد. مشابه نتایج بدست آمده در این تحقیق در مورد تجزیه و حذف آلاینده های هیدروکربنی توسط گونه های باکتریایی، در تحقیقات *Marquez-Rocha* و *Fargusen* نیز بدست آمده است. امید است با ابداع و به کار گیری روشهای نوین جهت جداسازی و خالص سازی باکتریهای بومی تجزیه کننده هیدروکربنهای نفتی و نیز روشهای دستگامی مناسب تر، اندازه گیری میزان مواد نفتی باقیمانده در خاک نیز راحت و دقیق تر انجام پذیرد و بتوانیم گامی در جهت پیشرفت تکنیک زیست پالایی در کشور برداریم.



شکل ۱: میزان کاهش گازوئیل توسط گونه های باکتریایی پس از ۴۵ روز

#### منابع:

- [1] Ferguson, S. H., Peter, D. Franzmann, Andrew, T. Revill, Ian Snape, 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](http://www.elsevier.com/locate/coldregions)).
- [2] Madsen, T., Kristensen, P., 1997. Effects of bacterial inoculation and nonionic surfactants on degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Environ Toxicol. Chem.* 16, 631-637.
- [3] Marquez-Rocha, Facundo J., Vanessa, Hernandez-Rodriguez and MA., Teresa lameila. 2000. Biodegradation of diesel oil in soil by a microbial consortium. *Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Ensenada, Mexico*
- [4] Mirsal Ibrahim, A. (2004). *Soil pollution: origin, monitoring and remediation*, 1<sup>st</sup> Ed., Springer, Germany.
- [5] 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.
- [6] Sartoros, Catherine, Laleh, Yerushalmi, Patrick, Beron, and Serge, R. Guiot. 2005. Effects of surfactant and temperature on Biotransformation kinetics of anthracene and pyrene. ([www.elsevier.com/locate/chemosphere](http://www.elsevier.com/locate/chemosphere)).
- [7] USEPA. 2001. *Guideline for the bioremediation of marine shorelines and fresh water wetland*. Office of research and development, US Environmental Protection Agency.