

# زیست سالم‌سازی خاک آلوده به هیدروکربن نفتی نرمال - هگزادکان در فاز دوغابی و بررسی پارامترهای مؤثر

پژوهش‌نفت

سال هجدهم  
شماره ۵۸  
صفحه ۱۰-۳، ۱۳۸۷

علی پرتوی‌نیا و فرشته نعیم‌پور\*

دانشگاه علم و صنعت ایران، دانشکده مهندسی شیمی

fnaeim@iust.ac.ir

سطحی به‌عنوان معیاری از وجود بیوسورفکتانت نیز در این تحقیق اندازه‌گیری شد و مقادیر ۲۹ تا  $60 \text{ mN.m}^{-1}$  در شرایط مختلف به‌دست آمدند.

واژه‌های کلیدی: زیست سالم‌سازی، خاک آلوده، کائولن، نرمال-هگزادکان

## مقدمه

آلودگی محیط زیست به دلیل فعالیت‌های انسانی و صنعتی مشکلات جدی را در سراسر دنیا ایجاد کرده است. اختراع موتورهای سوخت داخلی و نیاز گسترده آن‌ها به نفت خام و محصولات جانبی آن موجب رشد قابل توجه صنعت نفت، پتروشیمی و صنایع جانبی آن که به تولید، انتقال، توزیع و انبار کردن روز افزون این مواد منتهی شده است، هیدروکربن‌های نفتی را در ردیف گسترده‌ترین آلاینده‌های محیط قرار می‌دهد [۱ و ۲]. هیدروکربن‌های خطی شامل آلکان‌ها، آلکن‌ها و آلکین‌ها هستند که در این میان آلکان‌های با طول متوسط از مهم‌ترین آلاینده‌های موجود در خاک هستند [۳]. از طرفی تولیدات نفتی مانند سوخت دیزل، نفت سنگین و پسماندهای تقطیر از آلاینده‌های متداول خاک‌های آلوده هستند [۴]. در گذشته بیشتر از روش‌های فیزیکی و شیمیایی مانند استخراج با

## چکیده

خاک‌های آلوده به آلاینده‌های آلی یکی از معضلات محیط‌زیست‌اند. زیست سالم‌سازی یک روش ساده و اقتصادی برای تصفیه خاک‌های آلوده به این آلاینده‌هاست. هدف از این تحقیق بررسی زیست تخریب‌پذیری هگزادکان با یک باکتری جداسازی شده، برای کاهش مقدار کربن خاک رسی آلوده، است. برای این منظور از یک سیستم مدل، شامل خاک رسی کائولن با اندازه مش ۱۰۰ و نرمال-هگزادکان، به ترتیب به عنوان خاک مدل و منبع آلوده‌کننده معادل با سوخت دیزل، استفاده شده است. خاک آلوده به هگزادکان، به عنوان تنها منبع کربنی باکتری، ۲۰ روز در فاز دوغابی در کشت‌های لرزان (دور ۲۰۰ rpm و دمای  $30^\circ\text{C}$ ) گرمخانه گذاری گردیده است. تجزیه هگزادکان در شرایط مختلف غلظت هگزادکان (۱۰۰۰۰ و ۳۰۰۰۰ rpm)، نسبت خاک به آب (۰/۲ و ۰/۳۳)، مقدار مایه تلقیح (۵ و ۱۰ درصد) و pH اولیه محیط (۵/۵ و ۷) بررسی شد. هگزادکان در فاز خاک، بر مبنای اندازه‌گیری مقدار کل کربن آلی (TOC)، تجزیه شد. در شرایط مختلف، ۱۰ تا ۷۰ درصد کاهش در TOC مشاهده شد که نتایج توانایی بالای این باکتری را در تجزیه زیستی هگزادکان جذب شده در خاک نشان می‌دهند. حضور بیوسورفکتانت‌ها در محیط‌های حاوی مواد آلی می‌تواند موجب افزایش حلالیت این مواد شود، کشش

در محل آلودگی انجام می‌شود در حالی که در روش‌های غیردرجا ابتدا خاک آلوده به مکان دیگری منتقل و سپس فرایند زیست سالم‌سازی آن انجام می‌شود. هر یک از این روش‌ها مزایا و معایب خاص خود را دارند [۹].

تکنولوژی درمان بیولوژیکی یا زیست سالم‌سازی خاک‌های آلوده، در دو فاز جامد و فاز دوغابی انجام می‌شود. به دلیل افزایش انتقال جرم به خاطر تماس بیشتر سطح خاک و آب در فاز دوغابی، این فاز بیشترین مقدار تجزیه را دارد [۱۰].

تاکنون زیست سالم‌سازی خاک‌های آلوده از نوع رسی، که جایگاه ویژه‌ای دارند، کمتر بررسی شده است. در این تحقیق، هدف بررسی زیست سالم‌سازی خاک آلوده به هگزادکان با یک گونه باکتری جدا شده از خاک‌های آلوده به نفت در فاز دوغابی است. برای این منظور از یک سیستم مدل، شامل خاک رسی کائولن با مش ۱۰۰ و نرمال هگزادکان به ترتیب به عنوان خاک مدل و منبع آلوده‌کننده معادل با سوخت دیزل، استفاده شده است.

### مواد و روش‌ها

#### آماده کردن ماتریس خاک آلوده

در این تحقیق از یک نوع خاک رسی با نام کائولن استفاده شد. علاوه بر ریزدانه بودن، واجدبی خودبه‌خودی ترکیبات نفتی از این خاک بسیار پایین است. از سوی دیگر به دلیل فقدان مواد آلی در این خاک، مقایسه و اندازه‌گیری غلظت آلاینده و بررسی اثر مواد آلی بر فرایند در شرایطی کنترل شده انجام می‌شود. خاک با نام تجاری کائولن سوپر درجه یک از نوع SZWNK 1 (با مشخصات جدول ۱) در شرکت صنایع خاک چینی ایران تهیه شده است.

برای داشتن دانه بندی مشخص و یکنواخت خاک با مش ۱۰۰ و نرمال-هگزادکان (Merck) (با مشخصات جدول ۲) به عنوان جایگزین سوخت دیزل به عنوان آلاینده خاک با غلظت ۱۰۰۰۰ و ۳۰۰۰۰ ppm انتخاب و به آن افزوده شد.

برای آلوده کردن مصنوعی ۱۰۰ گرم ماتریس خاک به

حلال، افزودن اکسیدکننده‌های شیمیایی و شستشوی خاک‌ها برای پاک‌سازی خاک‌های آلوده استفاده می‌شد. در سال ۲۰۰۱ آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا (EPA) شستشوی خاک را تکنولوژی سالم کردن خاک‌های آلوده به نفت شناخت. شستشوی خاک از سایر روش‌های سالم‌سازی خاک مانند زیست سالم سازی، سالم سازی شیمیایی و احتراق سریع تر است [۵] اما می‌تواند برای حذف ترکیبات نفتی از ذرات بزرگ خاک مانند ماسه و شن استفاده شود و برای ذرات ریز مانند سیلت (قطر ذرات ۵ تا ۷۵ میکرون) و رس (قطر ذرات کمتر از ۵ میکرون) کمتر استفاده می‌شود که دلیل آن نیز متمرکز شدن ترکیبات نفتی بر سطح ذرات ریز به دلیل مساحت سطح ویژه بالای آنهاست، لذا خاک‌های رسی به فرایندهای بیشتری برای پاک‌سازی نیاز دارند [۶ و ۷].

در مجموع، روش‌های پاک‌سازی حرارتی، فیزیکی و شیمیایی آلاینده‌های نفتی به دلیل خواصی مانند پایین بودن حلالیت، غیرقطبی بودن و هیدروفوب بودن همواره با مشکلاتی مواجه بوده‌اند. از طرفی با توجه به اینکه ذرات رسی ۲۰ تا ۵۰ درصد عمده خاک‌های آلوده را تشکیل می‌دهند و پاک‌سازی آن‌ها با روش‌های فیزیکی و شیمیایی به راحتی ممکن نیست، نقش فرایندهای زیست سالم‌سازی در حذف آلاینده‌های موجود در خاک‌های ریز آشکار می‌شود [۸].

امروزه زیست سالم‌سازی که در آن از میکروارگانیسم زنده برای تجزیه بیولوژیکی آلاینده‌های آلی و سالم کردن محیط استفاده می‌شود یکی از تکنیک‌های بسیار کارآمد تصفیه خاک‌های آلوده به ترکیبات شیمیایی است. از مزایای این روش، به نسبت دیگر روش‌های سالم‌سازی، می‌توان ساده بودن تکنولوژی، امکان استفاده هم‌زمان با سایر روش‌های فیزیکی و شیمیایی، پایین بودن هزینه‌های جاری اولیه، امکان تخریب کامل آلاینده‌ها و عدم نیاز به تجهیزات تخصصی را نام برد. زیست سالم‌سازی شاخه جدیدی از تکنولوژی است که برای کاهش غلظت آلاینده‌ها در آب‌های زیرزمینی و خاک استفاده می‌شود. فرایندهای زیست سالم سازی خاک می‌توانند درجا<sup>۱</sup> و غیر درجا<sup>۲</sup> انجام شوند. در روش‌های درجا، فرایند زیست سالم سازی

1. In Situ  
2. Ex Situ

جدول ۱- آنالیز شیمیایی خاک کائولن از نوع SZWNK 1

SO <sub>4</sub>	K <sub>2</sub> O	Na <sub>2</sub> O	MgO	CaO	TiO <sub>2</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	SiO <sub>2</sub>	L.O.I <sup>1</sup>	ترکیبات شیمیایی
-	۰/۴۰	۰/۳۰	۰/۶۰	۱/۲-۱/۵	۰/۰۴	۰/۴۵-۰/۶۵	۲۴-۲۵	۶۱-۶۲	۹/۵-۱۰	درصد

جدول ۲- مشخصات نرمال- هگزادکان استفاده شده

مشخصات ظاهری	نقطه جوش	نقطه انجماد	دانسیته	نقطه اشتعال	دمای خوداشتعالی
مایع بیرنگ	۲۸۷ °C	۱۸ °C	۰/۷۷۳	۱۳۵ °C	۲۰۱ °C

شده و کلیه مراحل در شرایط استریل و در زیر هود بیولوژیک انجام می‌شوند.

#### محیط کشت

ترکیب محیط کشت نمک‌های معدنی (MSM) آزمایش‌ها در جدول ۳ آمده است. هر یک از محلول‌ها جداگانه ساخته و در اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد و فشار ۱/۲ بار ۲۰ دقیقه استریل شد.

تمام مواد آزمایش‌ها محصول شرکت مرک و با خلوص بالا هستند. این مواد به فاز خاک که هگزادکان به عنوان تنها منبع کربن و انرژی روی آن جذب شده است، پیش از تلقیح افزوده شدند.

#### بررسی زیست سالم‌سازی خاک آلوده

در بحث زیست سالم‌سازی خاک‌ها، عوامل فیزیکی و شیمیایی مانند خصوصیات خاک، مواد غذایی، دما، pH، میزان آلاینده، رطوبت، نسبت خاک به آب و میکروارگانیسم مناسب تأثیر گذارند [۱۰ و ۱۱].

توانایی باکتری قبلاً در فاز مایع با محیط کشت فوق، حاوی هگزادکان به عنوان تنها منبع کربن، و انرژی در دور rpm ۲۰۰ و دمای ۳۰ درجه سانتیگراد بررسی شد. رشد مشاهده شده، توانایی باکتری را در تجزیه زیستی نرمال- هگزادکان در این شرایط نشان می‌دهد؛ لذا، با توجه به تحقیق قبلی، برای بررسی زیست سالم‌سازی خاک آلوده،

آلاینده‌گی ۱۰۰۰۰ و ۳۰۰۰۰ ppm، ابتدا ۱/۳ و ۳/۹ میلی‌لیتر نرمال- هگزادکان (دانسیته ۰/۷۷) در ۸۰ میلی‌لیتر هگزادکان حل شده و این محلول در حالت اختلاط کامل، به خاک افزوده شد. پس از تبخیر حلال خاک با غلظت‌های مطلوب و همگن به دست می‌آید. زمان تماس آلاینده با شبکه خاک یک هفته در نظر گرفته شد.

#### آماده کردن باکتری و مایه تلقیح

در این تحقیق باکتری از خاک آلوده به نفت با میکروسکوپ به شکل باسیل دیده و پس از تثبیت و رنگ‌آمیزی گرم از نوع گرم منفی شناخته شد. برای تقویت و استفاده از باکتری، ابتدا یک لوپ از باکتری با سوزن تلقیح برداشته و روی پلیت نیوترینت آگار کشت خطی و ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتیگراد نگه داشته شد. سپس یک لوپ از این زیرکشت برداشته و به ارلن ۲۵۰ سی‌سی شامل ۵۰ سی‌سی محلول آبگوشت مغذی (NB) اضافه و ۱۲ ساعت (تا زمان رسیدن به ابتدای فاز ایستایی که باکتری در اوج فعالیت خود است) در شیکر- گرمخانه نگه داشته شد. سپس این محلول با دور ۴۰۰۰ و دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شد و باکتری‌های ته‌نشین شده از آن جدا شدند. برای جلوگیری از شکست سلولی محلول در یک محلول نمکی (۸/۵ g/l NaCl) تارسیدن به دانسیته نوری ۱ در طول موج ۶۰۰ نانومتر شناور شد. دانسیته نوری یکسان برای تثبیت جمعیت باکتریایی انتخاب

جدول ۳- ترکیب نمک‌های موجود در محیط کشت نمک‌های معدنی

MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	CaCl <sub>2</sub>	FeCl <sub>3</sub>	MgSO <sub>4</sub>	NaCl	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	NH <sub>4</sub> Cl	ماده
۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۳	۰/۵	۲/۵	۴	غلظت در محیط کشت (g/lit)

1. Loss of Weight on Ignition

را درون ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتر ریخته و برای آزمایش‌های مختلف به ترتیب ۳ و ۵ برابر از محیط نمکی خاک را به آن اضافه کردند و حجم کاری هر یک از ارلن‌ها را با دو غلظت ۲/۵ و ۵ میلی‌لیتر مایه تلقیح به ۵۰ میلی‌لیتر رساندند. pH محیط نمکی MSM در ابتدا ۴/۰ اندازه‌گیری و برای تنظیم pH در شرایط ۵/۵ و ۷ از سود یک نرمال استریل استفاده شد. سپس ارلن‌ها در شیکر با دور ۲۰۰ rpm و دمای ۳۰ درجه سانتیگراد ۲۰ روز گرمخانه‌گذاری شدند.

نتایج با نرم افزار Design-Expert 7 تجزیه و تحلیل گردید و درصد کاهش کربن آلی TOC به عنوان تابع هدف در نظر گرفته شد.

### روش‌های آنالیز

در پایان دوره آزمایش، فاز مایع و فاز جامد دوغاب با سانتریفوژ با دور ۴۰۰۰ rpm جدا شدند. فاز مایع برای اندازه‌گیری کشتش سطحی و مشاهده کیفی و فاز جامد پس از خشک شدن در دمای محیط برای اندازه‌گیری میزان کل کربن آلی (TOC) استفاده شد.

### اندازه‌گیری مقدار کل کربن آلی (TOC)

در این تحقیق فاز جامد پس از جدا شدن از فاز مایع و خشک شدن برای اندازه‌گیری مقدار کل کربن آلی (TOC) استفاده شد. هگزادکان در فاز خاک بر مبنای اندازه‌گیری میزان کل کربن آلی (TOC) تجزیه شده است. اساس این اندازه‌گیری تیتراسیون بر مبنای روش Walkley-Black است که برای تعیین مقدار کل کربن آلی خاک استفاده می‌شود. در این روش از محلول دی‌کرومات پتاسیم به عنوان یک اکسیدکننده قوی و اسید سولفوریک غلیظ استفاده شد. محلول ۰/۵ مولار  $Fe^{+2}$  و معرف فروبین به ترتیب به عنوان تیتراکننده و شناساگر استفاده شدند. رنگ اولیه محلول زرد-نارنجی تا سبز تیره، بسته به مقدار کرومات واکنش نداده است که با انجام تیتراسیون در نقطه پایانی به خاکستری تیره و بلافاصله به قرمز تبدیل می‌شود. درصد کربن که به راحتی اکسید شده مطابق رابطه زیر محاسبه می‌شود:

$$\%C = \frac{(B-S) \times 0.5 \times 12 \times 100}{\text{مقدار خاک} \times 4000} \quad (1)$$

عوامل دما، دور همزن و ترکیب محیط کشت ثابت در نظر گرفته شد و چهار متغیر غلظت نرمال-هگزادکان، میزان خاک به آب، درصد مایه تلقیح و pH هر کدام در دو سطح بررسی شدند.

### طراحی و تحلیل آزمایش‌ها

هدف از طراحی آزمایش‌ها، بررسی اثر چهار پارامتر غلظت هگزادکان (A)، نسبت خاک به آب (B)، درصد مایه تلقیح (C) و pH محیط کشت (D) در تجزیه زیستی هگزادکان بوده است که برای این منظور طرح فاکتوریل کامل در دو سطح انتخاب شد. بر این مبنای  $2^4 = 16$  آزمایش برای بررسی تجزیه زیستی هگزادکان انجام شد (جدول ۴).

تمام آزمایش‌ها در فاز دوغابی در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری با حجم کاری ۵۰ میلی‌لیتر در دور ۲۰۰ rpm و دمای ۳۰ درجه سانتیگراد ۲۰ روز بررسی شدند. مقدار مشخصی از خاک آلوده به نرمال-هگزادکان استریل شده

جدول ۴- شرایط آزمایش برای زیست‌سالم‌سازی در فاز دوغابی

آزمایش	غلظت هگزادکان (ppm)	نسبت خاک به آب	درصد مایه تلقیح	pH
۱	۱۰۰۰۰	۰/۳۳	۵	۵/۵
۲	۱۰۰۰۰	۰/۳۳	۵	۷
۳	۱۰۰۰۰	۰/۳۳	۱۰	۵/۵
۴	۱۰۰۰۰	۰/۳۳	۱۰	۷
۵	۱۰۰۰۰	۰/۲	۵	۵/۵
۶	۱۰۰۰۰	۰/۲	۵	۷
۷	۱۰۰۰۰	۰/۲	۱۰	۵/۵
۸	۱۰۰۰۰	۰/۲	۱۰	۷
۹	۳۰۰۰۰	۰/۳۳	۵	۵/۵
۱۰	۳۰۰۰۰	۰/۳۳	۵	۷
۱۱	۳۰۰۰۰	۰/۳۳	۱۰	۵/۵
۱۲	۳۰۰۰۰	۰/۳۳	۱۰	۷
۱۳	۳۰۰۰۰	۰/۲	۵	۵/۵
۱۴	۳۰۰۰۰	۰/۲	۵	۷
۱۵	۳۰۰۰۰	۰/۲	۱۰	۵/۵
۱۶	۳۰۰۰۰	۰/۲	۱۰	۷

نمونه‌های آلوده به ۱۰۰۰۰ و ۳۰۰۰۰ ppm هگزادکان، با توجه به فرمول ۱ و ۲ در ابتدا، به ترتیب ۰/۸۴ و ۲/۵۴ اندازه گرفته شد. مقدار کل کربن آلی (TOC) در هر آزمایش نیز پس از ۲۰ روز به دست آمد (جدول ۵).

جدول ۵- درصد کاهش TOC خاک در فاز دوغابی

آزمایش	درصد کاهش TOC
۱	۳۹/۶۱
۲	۵۱/۴۶
۳	۴۵/۶۶
۴	۷۱/۱۹
۵	۲۸/۲۵
۶	۶۲/۸۳
۷	۳۴/۲
۸	۴۴/۲۰
۹	۱۷/۶۷
۱۰	۱۸/۴
۱۱	۱۹/۶۸
۱۲	۱۶/۳۳
۱۳	۱۱/۷۹
۱۴	۴۲/۵۸
۱۵	۱۳/۶۲
۱۶	۴۹/۵۵

بیشترین تجزیه زیستی در آزمایش‌های ۴ و ۶ به ترتیب ۷۱/۱۹ و ۶۲/۸۳ درصد است. برای بررسی تأثیر عوامل انتخاب شده بر مقدار زیست تخریب‌پذیری، درصد کاهش کربن آلی TOC به عنوان تابع هدف در نظر گرفته شد که آنالیز واریانس مربوطه در جدول ۶ نشان داده شده است.

جدول ۶- آنالیز واریانس مربوط به طرح فاکتوریل کامل ۲<sup>۴</sup>

Analysis of variance table						
وضعیت اثرگذاری	p-value	Value F	Mean Square	DF	Sum of Squares	Source
	Prob > F					
اثرگذار	۰/۰۰۶۱	۶/۵۳	۸۸۸/۵۹	۴	۳۵۵۴/۳۶	Model
اثرگذار	۰/۰۰۲۲	۱۵/۸۵	۲۱۵۷/۷۹	۱	۲۱۵۷/۷۹	A-HXD
	۰/۹۱۵۹	۰/۰۱۱۷	۱/۵۹	۱	۱/۵۹	B-S/W
	۰/۶۷۸۶	۰/۱۸۱	۲۴/۶۷	۱	۲۴/۶۷	C-Inoculum
اثرگذار	۰/۰۰۸۹	۱۰/۰۶۴	۱۳۷۰/۳۱	۱	۱۳۷۰/۳۱	D-pH
			۱۳۶/۱۵	۱۱	۱۴۹۷/۶۹	Residual
				۱۵	۵۰۵۲/۰۴	Cor Total

(۲) فاکتور تصحیح  $\%C \times \text{فاکتور تصحیح} = \text{TOC}$  در فرمول (۱)، B و S به ترتیب میلی‌لیتر محلول ۰/۵ مولار  $\text{Fe}^{+2}$  استفاده شده برای تیتراسیون شاهد (بدون خاک) و نمونه‌اند. برای تبدیل این عدد به کل کربن آلی (TOC) به فاکتور تصحیح نیاز است. در این تحقیق، برای محاسبه فاکتور تصحیح ابتدا خاک عاری از هرگونه کربن آلی به غلظت‌های مختلف و مشخص نرمال-هگزادکان آلوده شد و پس از محاسبه TOC با آزمایش، منحنی استاندارد بین TOC واقعی و محاسبه شده به دست آمد و فاکتور تصحیح محاسبه شد [۱۲].

#### مشاهده کیفی فاز مایع

چون هگزادکان روی سطح محیط مایع (MSM) قرار می‌گیرد و نقطه انجماد آن نیز  $18^{\circ}\text{C}$  است، مایع جدا شده از دوغاب در یخچال در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  قرار گرفت و در هیچکدام از نمونه‌ها هگزادکان در محیط مایع مشاهده نشد.

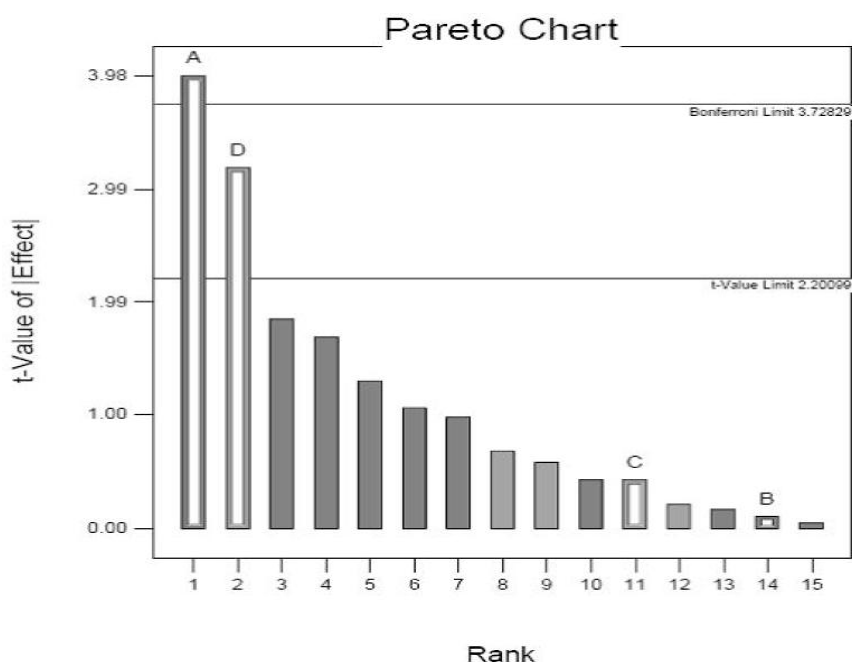
#### اندازه‌گیری کشش سطحی

کشش سطحی فاز مایع جدا شده از خاک در نمونه‌های مختلف با تینسیومتر مدل KSV Sigma 701 اندازه‌گیری شد.

#### نتایج و بحث

##### بررسی مقدار تجزیه هگزادکان در فاز خاک

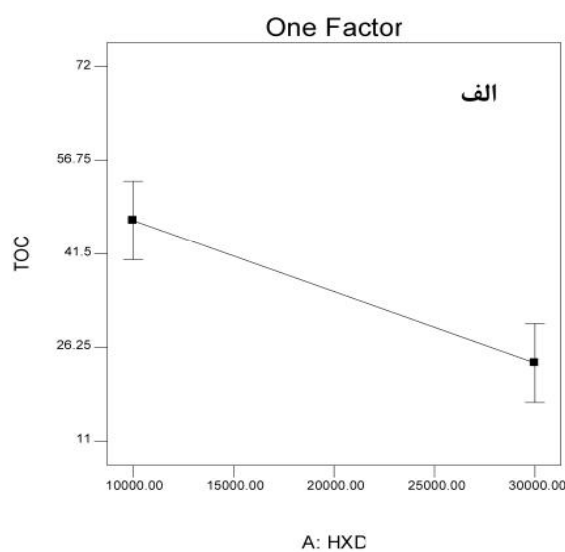
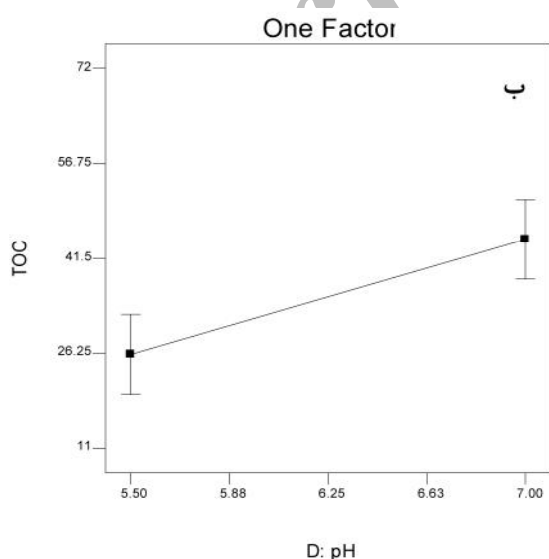
در بررسی خاک آلوده به غلظت‌های مختلف هگزادکان، فاکتور تصحیح ۱/۰۲ محاسبه شد. مقدار کل کربن آلی خاک در ابتدا و انتهای آزمایش اندازه‌گیری شد که برای



شکل ۱- نمودار پارتو مربوط به نتایج درصد کاهش TOC در شرایط دوغابی

که از خاک مشابه و نسبت‌های مختلف خاک به آب برای تجزیه و حذف نرمال دودکان استفاده کردند. طبق نتایج آنها، با افزایش مقدار خاک، حذف آلاینده در طول زمان کمتر شده اما این نسبت تأثیر بسزایی در غلظت پایانی آلاینده نداشته است. تأثیر غلظت آلاینده و pH به‌عنوان فاکتورهای مؤثر در شکل ۲ نشان داده شده است. در این شکل با افزایش غلظت هگزادکان در خاک، مقدار تجزیه کاهش یافته است.

همچنین نمودار پارتو<sup>۱</sup> مربوطه نیز برای ارزیابی معنادار بودن اثرات در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به این نمودار می‌توان نتیجه گرفت که فاکتورهای A و D بیشترین تأثیر را در تجزیه هگزادکان یا به عبارت دیگر در کاهش TOC نمونه‌ها داشته‌اند. پارامتر B کمترین تأثیر را داشته است (شکل ۱) که این نتیجه تطابق خوبی با بررسی نانو و همکارانش [۱۳] داشته



شکل ۲- بررسی تأثیر دو پارامتر (الف) غلظت آلاینده (Inoculum=۷/۵، S/W=۰/۲۷، pH=۶/۲۵) و (ب) pH (Inoculum=۷/۵، HXD=2000، S/W=۰/۲۷) بر درصد کاهش کربن آلی در فاز خاک

بر اساس نتایج، توانایی باکتری برای تولید بیوسورفکتانت در  $\text{pH}=7$  بیشتر بوده است که علت آن می‌تواند ساختار بیوسورفکتانت تولید شده به شکل مایسل باشد. این ساختار که نقش مهمی در فرایند امولسیون‌کنندگی دارد معمولاً در  $\text{pH}$  بیشتر از  $7/8$  تشکیل می‌شود.

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج، باکتری جدا شده از خاک آلوده به نفت در این تحقیق مولد مناسب بیوسورفکتانت روی منبع کربنی هگزادکان بوده است و با کاهش  $\text{TOC}$  به مقدار ۷۲ درصد، توانایی چشمگیری در تجزیه زیستی هگزادکان جذب شده در خاک مورد نظر داشته است. چون خاک مورد استفاده از نوع رسی با اندازه بسیار ریز (تشکیل دهنده قسمت اعظم خاک‌ها) و واجد بی بسیار ناچیز بوده است و پاک‌سازی فیزیکی و شیمیایی به راحتی برای آن ممکن نیست، این باکتری می‌تواند قابلیت بالا و نقش مؤثری در زیست سالم‌سازی این خاک‌ها داشته باشد. در این تحقیق ۴ فاکتور غلظت هگزادکان، نسبت خاک به آب، درصد مایه تلقیح و  $\text{pH}$  محیط کشت روی تجزیه زیستی هگزادکان با این باکتری در فاز دوغابی بررسی شده‌اند و نتایج نشان می‌دهند که غلظت هگزادکان و  $\text{pH}$  تأثیری بسیار بر تجزیه زیستی دارند و در محدوده بررسی، در غلظت  $10000 \text{ ppm}$  و  $\text{pH}=7$ ، بیشترین حذف هگزادکان با این باکتری انجام می‌شود.

سپالودا و همکارانش [۱۴] در بررسی تجزیه زیستی هگزادکان با قارچ اسپرژیلوس نایجر ATCC9642 در تخمیر حالت جامد نشان دادند که با افزایش غلظت هگزادکان، تجزیه آن کاهش یافته است. باکتری جدا شده در  $\text{pH}=7$  رشد بیشتر و در نتیجه قابلیت تجزیه بهتری از خود نشان داده است. این  $\text{pH}$  مقدار مناسب برای رشد میکروبی گزارش شده است [۱۵].

### بررسی تغییر کشش سطحی

کشش سطحی به‌عنوان معیاری از وجود بیوسورفکتانت در این تحقیق اندازه‌گیری شد (جدول ۷). نتایج این جدول نشان می‌دهند که باکتری جدا شده توانایی تولید بیوسورفکتانت و در نتیجه آن کاهش کشش سطحی را داشته است. کمترین کشش سطحی در نمونه ۴ دیده شد که بیشترین درصد تجزیه را داشت (جدول ۵). این نشان می‌دهد که تولید بیوسورفکتانت موجب سهولت مصرف مواد آب‌گریز غیرقابل امتزاج می‌شود [۱۱].

جدول ۷- نتایج مربوط به کشش سطحی

کشش سطحی (m/Nm)	آزمایش
۴۶/۳	۱
۳۷/۸	۲
۴۰	۳
۲۹/۳	۴
۵۲/۰	۵
۳۷/۷	۶
۵۴/۴	۷
۴۷/۹	۸
۵۷/۷	۹
۵۴/۲	۱۰
۵۲/۳	۱۱
۵۹/۶	۱۲
۵۳/۶	۱۳
۴۳/۸	۱۴
۴۹/۷	۱۵
۴۰/۹	۱۶

منابع

- [1] Marins Pala D., Carvalho D. & Lippel G. "A suitable model to describe bioremediation of petroleum-contaminated soil", *International Biodeterioration*, Vol. 58, pp. 254-260, 2006.
- [2] Mohan S., Ramakrishna M., Shailja S. & Sarma P. "Influence of soil-water ratio on the performance of slurry phase bioreactor treating herbicide contaminated soil", *Bioresource Technology*, Vol. 98, pp. 2584-2589, 2007.
- [3] Stroud L., Paton G. & Semple K. "Linking chemical extraction to microbial degradation of <sup>14</sup>C-hexadecane in soil", *Environmental Pollution*, In Press, 2008.
- [4] Tetsuji O. & etal. "Enhancement of biodegradation of oil adsorbed on fine soils", *Chemosphere*, Vol. 68, pp. 281-286, 2007.
- [5] Anderson R., Rasor E. & Ryn F. "Particle size separation via soil washing to obtain volume reduction", *J. Hazard. Mater.* 66, pp. 89-98, 1999, Bhadari A., Dove D.C. & Novak J.T., 1994. "Soil washing and biotreatment of petroleum-contaminated soils.", *J. Environ. Eng.*, Vol. 120, pp. 1151-1169, 1994.
- [6] Okita Y., Ito K., Suzuki S. & Kubo H. "Soil washing as an economical pre-treatment process", *Waste Manage.*, Vol. 5, pp. 79-86, 1994.
- [7] Eweis Juana B., Eragas Sarina J., Chang Daniel P.Y. & Schroeder E.D., *Bioremediation principles*, McGraw-Hill Companies, pp. 23-27, 1998.
- [8] Bhadari A., Dove D.C. & Novak J.T. "Soil washing and biotreatment of petroleum-contaminated soils", *J. Environ. Eng.*, Vol. 120, pp. 1151-1169, 1994.
- [9] Vidali M. "Bioremediation. An overview", *Pure Appl. Chem*, Vol. 73, No. 7, pp. 1163-1172, 2001.
- [10] Collina E., Bestetti Gennaro G., Franzetti P., Lasagni M., Pitea D. & Gugliers F. "Naphthalene biodegradation kinetics in an aerobic slurry-phase bioreactor", *Environment International*, Vol. 31, pp. 167-171, 2005.
- [11] Perfumo A. & Banat I.M. "Rhamnolipid production by a novel thermophilic hydrocarbon-degrading *Pseudomonas aeruginosa* AP02-1", *Applied Microbial and Cell Physiology*, Vol. 72, 2005.
- [12] Schulte E. "Recommended soil testing procedures for the northeastern united states", 2<sup>nd</sup> Ed., *Northeastern Regional Publication*, No. 493, chapter 8, pp. 52-60, 1995.
- [13] Nano G., Borroni A. & Rota R. "Combined slurry and solid-phase bioremediation of diesel contaminated soils", *Journal of Hazardous Materials B100*, pp. 79-94, 2003.
- [14] Volke-Sepúlveda T., Gutiérrez-Rojas M. & Favela-Torres E. "Biodegradation of high concentrations of hexadecane by *Aspergillus niger* in a solid-state system: Kinetic analysis", *Bioresource Technology*, Vol. 97, Issue. 14, pp. 1583-1591, 2006.
- [15] Marins Pala D., Carvalho D. & Lippel G. "Bioremediation of clay soils impacted by petroleum", *Enginharia Termica, Edicao Especial*, pp. 29-32, 2002.