ORIGINAL ARTICLE

Removal of Total Petroleum Hydrocarbons Using Vetiveria Zizanioides and Microbial Population Changes in Soil Contaminated with Oil in Ahvaz

Masoumeh Kardani[1],
Afshin Takdastan[2]

[1] MSc Student in Envionmental Pollution, Khuzestan Science and Research Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran
[2] Associate Professor, Department of Environmental Health, Environmental Technologies Research Center, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

(Received June 13, 2015 Accepted September 28, 2015)

Abstract

Background and purpose: Petroleum hydrocarbons are one of the most common persistent organic pollutants in the environment. Phytoremediation is a new technology in which the resistant plants are used to remove or reduce organic and mineral contamination and hazardous environmental substances. The purpose of this study was to evaluate the effect of *Vetiveria Zizanioides* plants on total petroleum hydrocarbons (TPH) removal in soil contaminated by oil in different concentrations of oil pollution in Khuzestan industrial area.

Materials and methods: The soil samples were collected from the areas around Ahvaz oil field and were contaminated by oil in different concentrations (5%, 7%, and 10 % w/w). TPH measurement was done (and repeated twice) during four months in five retention time. Determination of TPH concentration in GC was performed using FID detector.

Results: According to the results, the best efficiency of *Vetiveria Zizanioides* in removal of TPH was found in treatment with 5% oil pollution (91%) during 120 days. Most changes in microbial population occurred in 7% oil pollution (106 × 9.78 CFU/g) in 120 days.

Conclusion: *Vetiveria Zizanioides* showed to be highly capable of removing TPH from contaminated soil.

Keywords: *Vetiveria Zizanioides*, oil pollution, petroleum hydrocarbons

J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(131): 87-97 (Persian).

Archive of SID

www.SID.ir

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و پنجم شماره ۱۳۱ آذر سال ۱۳۹۴ (۹۷-۸۷)

حذف کل هیدروکربن های نفتی با استفاده از گیاه وتیور و تغییرات جمعیت میکروبی در خاک های آلوده به نفت در منطقه اهواز

معصومه کردانی[۱]
افشین تکدستان[۲]

چکیده

سابقه و هدف: هیدروکربن‌های نفتی یکی از متداول‌ترین گروه‌های آلاینده‌های آلی پایدار در محیط می‌باشند. گیاه‌پالایی فن‌آوری جدیدی است که در آن از گیاهان مقاوم برای حذف یا کاهش غلظت آلاینده‌های آلی و معدنی و ترکیبات خطرناک از محیط زیست استفاده می‌شود. هدف این مطالعه بررسی اثر گیاه وتیور بر حذف TPH از خاک آلوده به نفت در غلظت‌های مختلف آلودگی نفتی در ناحیه صنعتی خوزستان بود.

مواد و روش‌ها: ابتدا خاک‌ها از اطراف میدان نفتی اهواز جمع‌آوری و با غلظت‌های ۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد وزنی نفت آلوده شدند. میزان TPH در طی چهار ماه با دو تکرار و در پنج زمان ماند اندازه‌گیری شد. جهت تعیین میزان غلظت TPH باقی‌مانده از دستگاه GC با دتکتور FID استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج حاصله نشان داد که بهترین راندمان حذف TPH در تیمار ۵ درصد آلودگی نفتی به میزان ۹۱ درصد توسط گیاه وتیور و در زمان ۱۲۰ روز حاصل گردید. بیش‌ترین تغییرات جمعیت میکروبی در تیمار ۷ درصد به میزان $۹/۷۸ \times ۱۰^{۶}$ CFU/g در مدت زمان ۱۲۰ روز بوده است.

استنتاج: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که گیاه وتیور توانایی بالایی در حذف آلودگی‌های نفتی از خاک آلوده را داراست.

واژه های کلیدی: وتیور *(Vetiveria Zizanioides)*، آلودگی نفتی، هیدروکربن های نفتی

مقدمه

امروزه به دلیل استفاده زیاد از ترکیبات نفتی در سراسر جهان، آلودگی ناشی از این ترکیبات در سطح جهانی بسیار گسترده است(۱). تاکنون بیش از ۳۶۰۰۰۰۰ حلقه چاه به وسیله شرکت‌های نفتی در سراسر جهان حفر شده است. فقط در آمریکا در حدود ۶۰۰۰ حلقه چاه تولید نفت وجود دارد تعداد چاه‌های نفتی در اروپای غربی تقریباً ۶۰۰۰ حلقه و تعداد حوضه‌های نفت و گاز شناخته شده جهان بیش از ۲۲۰۰۰ حوضه می‌باشد و میدان نفتی اهواز نیز دارای ۴۶۴ حلقه چاه نفت است(۳،۲). خاک به عنوان اصلی آلودگی‌های موجود در جهان عمل می‌کند(۴). تحقیقات در زمینه کاربرد گیاهان و درختان در پاک‌سازی خاک‌های آلوده به ترکیبات مختلف آلی و معدنی و فلزات سنگین در چند سال اخیر اهمیت زیادی یافته است(۸-۵). هیدروکربن‌های نفتی یکی از متداول‌ترین

مولف مسئول: افشین تکدستان– اهواز: دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، گروه مهندسی بهداشت محیط E-mail: afshin_ir@yahoo.com
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد آلودگی های محیط زیست، پردیس علوم و تحقیقات خوزستان، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
۲. دانشیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات فناوری های زیست محیطی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۴/۳/۲۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۴/۴/۸ تاریخ تصویب : ۱۳۹۴/۷/۶

Archive of SID
www.SID.ir

گروه‌های آلاینده‌های آلی (TPHs) پایدار در محیط می‌باشند(۹). به‌طورکلی تجمع آلاینده‌ها در خاک می‌تواند اثرات مخربی بر محیط و سلامت انسان داشته باشد. آلاینده‌های موجود در خاک می‌توانند وارد زنجیره غذایی شده و سلامت حیوان و انسان را با خطر جدی مواجه سازند(۱۰). روش‌های فیزیکی و شیمیایی متعددی برای مقابله با آلودگی‌های نفتی در خاک وجود دارد که بسیاری از آن‌ها به سبب هزینه بالا و اثرات جانبی مضر کم‌تر استفاده می‌شوند(۱۱). اصلاح بیولوژیکی نوعی تکنولوژی تصفیه است که از فعالیت بیولوژیکی موجودات زنده برای کاهش غلظت یا سم‌زدایی از آلاینده‌ها از جمله هیدروکربن‌های نفتی استفاده می‌کند(۱۲). سیستم زمین- گیاه در مقایسه با دیگر روش‌های تکمیلی در مکان‌هایی که زمین به اندازه کافی در دسترس باشد به دلیل کارایی بالا، هزینه کم و عدم نیاز به نیروی متخصص از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بنابراین، در سال‌های اخیر به روش‌های زیستی نظیر گیاه پالایی توجه بیش‌تری شده است(۴). گیاه پالایی فن‌آوری جدید و نوظهوری است که در آن از گیاهان مقاوم برای حذف یا کاهش غلظت آلاینده‌های آلی و معدنی و ترکیبات خطرناک از محیط زیست استفاده می‌شود(۱۱). زیست پالایی گیاهی یک فن‌آوری نسبتاً جدید، مؤثر و دوستدار محیط زیست می‌باشد که توانایی آن در حذف بسیاری از آلاینده‌ها به ویژه ترکیبات نفتی به اثبات رسیده است.

زیست پالایی یک روش اقتصادی برای مدیریت مواد زاید به ویژه مقادیر مازاد هیدروکربن‌های نفتی، هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای، مواد منفجره، مواد آلی و مواد مغذی می‌باشد. مواد زایدی که به‌طور بالقوه با استفاده از زیست پالایی قابل مدیریت می‌باشند بسیار متنوع هستند که از آن جمله می‌توان به فلزات، رادیونوکلایدها، نمک‌ها، مواد مغذی و مواد آلی اشاره کرد زیست پالایی گیاهی می‌تواند ابزاری قوی در مدیریت مواد زاید نفتی باشد(۱۳). نکته مهم برای موفقیت‌آمیز بودن پالایش خاک‌های آلوده به نفت به روش گیاه پالایی، انتخاب گیاهان مناسب با قابلیت رشد و سازگار شدن با محیط آلوده است. این گیاهان باید نسبت به آلودگی موجود در منطقه مقاوم بوده، حداکثر جوانه‌زنی، رشد و توسعه و سطح ویژه ریشه را داشته باشند(۱۴). گیاهان قادرند از طریق رهاسازی عناصر غذایی و ترشح ترکیبات مختلف از جمله اسیدهای آلی و ترکیبات قندی در خاک و نیز انتقال اکسیژن به ناحیه ریشه خود موجب تحریک و افزایش فعالیت جمعیت میکروبی تخریب‌کننده آلاینده‌های نفتی شوند(۱۵). در بسیاری از موارد حتی حضور فیزیکی گیاه می‌تواند شرایط خاک را بهبود بخشد. گیاه با افزایش استحکام خاکدانه‌ها و بهبود ساختمان خاک و هم‌چنین تغییر در هیدرولوژی خاک از طریق افزایش ظرفیت نگهداری آب و جلوگیری از فرسایش، این کار را انجام می‌دهد(۱۷،۱۶). هرچند گیاه پالایی آلاینده‌ها دارای مکانیزم پیچیده‌ای است، ولی در کل باعث کاهش ترکیبات آلی قابل دسترس می‌شود(۱۹،۱۸). به‌طور کلی، چمن‌ها و علف‌های یک ساله جهت حذف ترکیبات نفتی در بسیاری از مطالعات مورد استفاده قرار گرفته‌اند. علی‌رغم مطالعات نسبتاً وسیع انجام گرفته در خصوص زیست پالایی گیاهیِ خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی در دنیا، مطالعات بسیار محدود و پراکنده‌ای در این خصوص در ایران صورت گرفته است(۲۰).

شهریاری و همکاران (۱۳۸۰) مطالعه‌ای روی مخلوط گیاه فسکیو بر خاک آلوده در غلظت‌های مختلف نفت خام (۱۰-۷-۵-۳-۱ درصد) به مدت ۱۲۰ روز داشتند که بیش‌ترین درصد کاهش در نمونه ۱ درصد آلودگی نفتی و به میزان ۳۶/۷ درصد گزارش شد(۲۱). Escalante-Espinosa و همکاران (۲۰۰۵) مطالعه‌ای روی گیاه Cyperus laxusدر حذف TPH داشتند که نتایج آن نشان داد که این‌گونه گیاهی قادر است در خاک‌هایی که غلظت TPH حتی ۲۰۰g/kg است، رشد کند. در مطالعه فوق غلظت TPH تا ۹۰ درصد در شرایط آزمایشگاهی کاهش یافت(۲۲).

Archive of SID
www.SID.ir

Haung و همکاران (۲۰۰۵) مطالعه‌ای روی بازده حذف TPHs از خاک توسط ترکیب روش زیست پالایی گیاهی با برخی اقدامات مکانیکی کشاورزی داشتند. همچنین در آزمایشی دیگر که برروی ذرت و Elephant grass در مدت دو هفته داشتند، آن‌ها توانستند غلظت کل هیدروکربن‌ها را به ترتیب ۷۷/۵ درصد و ۸۳ درصد کاهش دهند(۲۳). دریابیگی زند و همکاران (۱۳۹۰) به بررسی توان پنج‌گونه گیاهی مختلف در حذف ترکیبات نفتی از خاک‌های بسیار آلوده با غلظت TPH بیش از ۵۰۰۰۰ mg/kg پرداخته و دریافتند که گیاه کتان بیش‌ترین درصد حذف TPH را با ۸۷/۶۳ درصد داشته است(۲۴). پارسه و همکاران (۱۳۹۱) از گیاه سورگوم برای حذف آلودگی نفتی با غلظت ۲/۵۸ درصد استفاده کردند که پس از سه ماه میزان کاهش TPH بیست درصد اعلام گردید(۲۰). Basumatary و همکاران (۲۰۱۲) مطالعه با دو نوع گیاه جگن را به مدت ۳۶۰ روز به انجام رساندند که درصد کاهش TPH در نمونه با کود C.Odoratus هفتاد و هشت درصد بود(۲۵). در مطالعه Udo-Inyang و همکاران (۲۰۱۳) در غلظت های ۵ و ۱۰ درصد آلودگی نفتی، درصد کاهش TPH در آفتابگردان ۲۵/۵۹ درصد و در وتیور ۴۱ درصد گزارش شد(۲۶).

Godwin و همکاران (۲۰۱۴) کدو تنبل را به مدت ۱۸ هفته و در ۴ غلظت آلودگی آنالیز کردند که نتایج نشان داد بیش‌ترین درصد کاهش TPH در غلظت ۱/۵۹ درصد و به میزان ۹۴/۳۸ درصد بوده است(۲۷). در مطالعه حاضر به منظور گیاه پالایی از گیاه وتیور استفاده شد. وتیور *(Vetiveria zizanioides)* یکی از گیاهان مورد استفاده در گیاه پالایی در برخی از کشورهای جهان است که در آنالیزها نشان داده است از پتانسیل بسیار بالایی جهت جذب آلودگی‌ها برخوردار بوده و دارای ویژگی‌های مطلوب مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و اکولوژیکی جهت کشت و توسعه می‌باشد. گیاه وتیور ساقه و ریزوم ندارد و سیستم ریشه آن گسترده و ریز است و به همین علت می‌تواند بسیار سریع رشد کند. این سیستم ریشه باعث می‌شود که گیاه وتیور بسیار به خشکی مقاوم باشد(۲۸). در این مطالعه کاربردی میزان حذف کل هیدروکربن‌های نفتی از خاک آلوده به نفت با کمک گیاه وتیور در طی ۴ ماه مورد بررسی قرار گرفت. خاک مورد مطالعه از اطراف چاه‌های نفت حفاری شده میدان نفتی اهواز جمع‌آوری و سپس با غلظت‌های معین آلوده و توزین گردید و پارامترهای TPH، pH، EC ،جامدات آلی و جمعیت باکتری‌های هتروتروف خاک طی ۴ ماه در ۳ غلظت ۵، ۷ و ۱۰ درصد آلودگی نفتی مورد آنالیز قرار گرفتند.

مواد و روش ها

روش آلوده سازی مصنوعی خاک

خاک‌های جمع‌آوری شده از اطراف میدان نفتی اهواز به خوبی کوبیده و به صورت لایه نازکی پهن گردید. سپس نفت خام با نسبت ۱ به ۳ در استون حل شده و به شکل اسپری به خاک اضافه شد. گلدان ها با ۳۰ سانتی متر از خاک آلوده شده با غلظت های مختلف نفت پر گردید. وزن خاک هر گلدان ۷ کیلوگرم بود و جهت کاشت گیاه آماده گردید. در این مطالعه دو نوع تیمار در سه غلظت تهیه شد که شامل تیمار گیاه‌دار با ۵ درصد آلودگی نفتی، تیمار بدون گیاه با ۵ درصد آلودگی (تیمار شاهد)، تیمار گیاه دار با ۷ درصد آلودگی، تیمار بدون گیاه با ۷ درصد آلودگی (تیمار شاهد)، تیمار گیاه دار با ۱۰ درصد آلودگی، و تیمار بدون گیاه با ۱۰ درصد آلودگی (تیمار شاهد) بود. از هر تیمار دو تکرار تهیه گردید. در کل با توجه به دو تکرار بودن، ۱۲ حالت (۳ حالت تیمار با گیاه و ۳ حالت تیمار بدون گیاه با دو تکرار) در این تحقیق جهت آنالیز بر روی نمونه‌ها صورت گرفته است.

عملیات نمونه برداری و هضم نمونه ها

این مطالعه در پنج زمان ماند (۱۵-۳۰-۶۰-۹۰-۱۲۰

Archive of SID

www.SID.ir

روز) مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام آنالیزها از هر یک از گلدان‌ها مقداری خاک برداشت شده و در کیسه زیپ دار نگه‌داری و سپس جهت آنالیز به آزمایشگاه انتقال داده شد.

سنجش TPH

برای اندازه‌گیری غلظت هیدروکربن‌های نفتی کل از کروماتوگراف گازی شرکت Agilent که مجهز به آشکارساز FID بود استفاده گردید. حد آشکارسازی (Detection limit) دستگاه 1ppm و درصد بازیابی آن نیز بین ۶۴ تا ۷۰ درصد بود. تعیین غلظت هیدروکربن‌های نفتی کل براساس روش UNEP سازمان محیط زیست آمریکا انجام شد. در این روش جهت تعیین غلظت هیدروکربن های نفتی کل خاک، ابتدا ۱۰ گرم از نمونه در عصاره گیر سوکسله با ۲۵۰ میلی لیتر از مخلوط هگزان و دی کرومتان ۵۰:۵۰ مورد استخراج قرار گرفت. سپس ۱ میکرولیتر از عصاره به دست آمده به وسیله دستگاه گاز کروماتوگراف Agilent6890Ng مجهز به دتکتور یونیزاسیون شعله‌ای FID و ستون مویینه B-5 مورد اندازه گیری و تعیین میزان قرار گرفت(۲۹).

شمارش تعداد باکتری های هتروتروف

جهت تعیین جمعیت میکروبی خاک تیمارهای مختلف از روش شمارش بشقابی باکتری‌های هتروترفیت (HPC) استفاده شد. به منظور شمارش کلنی‌های باکتری تشکیل شده بر روی پتری دیش‌ها بعد از دوره انکوباسیون، از دستگاه کلنی کانتر استفاده گردید. جمعیت میکروبی با مقیاس CFU/g بیان شده است(۳۰).

روش تعیین کل جامدات فرار

از وزن سنجی برای تعیین کل جامدات فرار نمونه خاک براساس روش EPA ۱۶۸۴ استفاده شد(۲۴).

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

جهت بررسی اختلاف میانگین‌ها در تیمارهای مختلف از نسخه ۱۷ نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری ANOVA استفاده گردید و سطح معنی‌داری معادل $p< ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. نرم‌افزار Excel نیز برای رسم نمودار مورد استفاده قرار گرفت.

یافته ها

مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه در جدول شماره ۱ آورده شده است.

در جدول شماره ۱ می‌توان مشاهده کرد که خاک مورد استفاده دارای ۵۰ درصد تخلخل و هم‌چنین بافت شنی لومی بوده که درصد شن آن ۸۰/۲ درصد گزارش شد. خاک مورد مطالعه با غلظت‌های ۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد وزنی وزنی آلوده و میزان TPH خاک در شروع کار تعیین گردید که در جدول شماره ۲ آورده شده است.

جدول شماره ۱: نتایج آنالیز خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

ردیف	مشخصه	روش اندازه گیری	مقدار
۱	pH	دوغاب خاک با دستگاه pH متر	۷/۲۷
۲	EC (ds/m)	دوغاب خاک با استفاده از EC متر	۸/۵۰
۳	N%	کجلدال	۰/۰۸۷
۴	P (mg/kg)	اولسن	۳/۶۲
۵	بافت	هیدرومتری	sandy Loamy
۶	درصد رس	هیدرومتری	۹
۷	درصد شن	هیدرومتری	۸۰/۲
۸	درصد سیلت	هیدرومتری	۱۰/۸
۹	درصد تخلخل	وزن مخصوص ظاهری	۵۰
۱۰	درصد جامدات معدنی	گراویمتری (وزن سنجی)	۹۲/۴۴
۱۱	درصد جامدات آلی	گراویمتری (وزن سنجی)	۷/۶۰
۱۲	درصد رطوبت	گراویمتری (وزن سنجی)	۲/۰۱۵

جدول شماره ۲: غلظت های سنجش شده آلودگی نفتی در خاک مورد بررسی در زمان کاشت گیاه

درصد آلودگی ایجاد شده به صورت مصنوعی (غلظت اولیه)	میزان آلودگی اندازه گیری شده در شروع کار با دستگاه GC (mg/kg)
۵ درصد	۴۹۵۹۹/۰۳
۷ درصد	۶۸۷۴۸/۳۴
۱۰ درصد	۹۹۵۴۸/۲۷

میزان TPH حذف شده در طی فرایند گیاه پالایی

میزان تغییرات حذف TPH در تیمارهای با گیاه و تیمارهای شاهد در غلظت‌های مختلف (۵ درصد، ۷ درصد

Archive of SID
www.SID.ir

و ۱۰درصد) بررسی شد. شد. با توجه به جدول ۳ بهترین بهترین راندمان حذف TPH در تمام غلظت‌ها در زمان ۱۲۰ روز و در تیمارهای با گیاه در غلظت‌های ۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد آلودگی نفتی درصد حذف TPH اندازه گیری شده به ترتیب ۹۱ درصد، ۸۶/۴ درصد و۸۰/۳ درصد بود. هم‌چنین کم‌ترین میزان حذف TPH در تمامی غلظت‌های تیمارهای شاهد و در ۱۵ روز مشاهده شد که در غلظت‌های ۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد آلودگی نفتی درصد حذف TPH اندازه‌گیری شده به ترتیب ۲۵/۸ درصد، ۱۷/۵ درصد و ۸/۲ درصد بود.

تغییرات pH طی فرایند گیاه پالایی

تغییرات pH طی فرایند گیاه پالایی در طی ۴ ماه در ۳ غلظت (۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد) آلوگی نفتی مورد سنجش قرار گرفت. با توجه به جدول شماره ۴ می توان مشاهده کرد که میزان pH در طول فرایند گیاه پالایی افزایش داشته و تیمارهای شاهد تغییرات pH بیش‌تری نسبت به تیمارهای با گیاه داشته اند. بیش‌ترین تغییرات pH در تمام تیمارها در روز ۱۲۰ بوده و بیش‌ترین تغییرات در سه غلظت ۵ درصد، ۷ درصد و درصد آلودگی نفتی در تیمارهای شاهد و به ترتیب ۹/۶۸ درصد، ۱۰/۳۳ درصد و ۹/۸۰ درصد بوده است.

تغییرات EC طی فرایند گیاه پالایی

میزان تغییرات EC در طی ۴ ماه مورد سنجش قرار گرفت. در طی فرایند گیاه پالایی میزان EC کاهش داشته و این کاهش در تیمارهای با گیاه بیش‌تر از تیمارهای شاهد بوده است. با توجه به جدول ۵ می توان مشاهده نمود که بیشترین تغییرات EC تیمارهای با گیاه در غلظت‌های ۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد به ترتیب ۲/۶۳، ۲/۷۶ و ۲/۸۰ ds/m در روز ۱۲۰ بود. در تیمار با گیاه ۱۰ درصد آلودگی نفتی بیش‌ترین درصد کاهش EC و به میزان ۷۴/۳۱٪ مشاهده گردید.

جدول شماره ۳: میزان تغییرات حذف TPH در تیمارهای با گیاه و شاهد در طی ۴ ماه برحسب mg/kg

درصد آلودگی	تیمارهای با گیاه			تیمارهای شاهد		
زمان	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد
۰	۴۹۵۹۹/۰۳	۶۸۷۴۸/۳۴	۹۹۵۴۸/۲۷	۴۹۵۹۹/۰۳	۶۸۷۴۸/۳۴	۹۹۵۴۸/۲۷
۱۵ روز	۳۰۷۵۱/۴۸	۴۵۷۱۷/۷۶	۷۱۶۷۴/۸۱	۳۶۸۰۲/۴۹	۵۹۶۷۱/۸۲	۹۱۳۸۵/۳۲
۳۰ روز	۲۵۰۴۷/۵۰	۳۸۰۸۶/۶۱	۶۳۲۱۳/۲۸	۳۵۷۱۱/۳۱	۵۳۴۱۷/۴۷	۸۸۲۹۹/۳۲
۶۰ روز	۱۱۷۵۵/۵۹	۲۰۴۱۸/۳۲	۴۰۶۱۵/۷۳	۳۰۶۵۲/۲۱	۴۴۷۵۵/۱۷	۷۱۶۷۴/۷۶
۹۰ روز	۹۵۴۲/۹۱	۱۷۳۳۸/۴۶	۳۰۴۸۱/۷۲	۲۱۵۷۵/۵۸	۳۸۷۰۵/۳۲	۶۷۶۹۲/۸۳
۱۲۰ روز	۴۴۶۳/۹۲	۹۳۴۹/۷۸	۱۹۶۱۱/۵۰	۱۹۳۴۳/۶۳	۳۵۰۶۱/۶۶	۶۳۰۱۴/۰۶

جدول شماره ۴: میزان تغییرات pH در تیمارهای با گیاه و شاهد در طی ۴ ماه

درصد آلودگی	تیمارهای با گیاه			تیمارهای شاهد		
زمان	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد
۰	۶/۴۰	۶/۴۸	۶/۶۳	۶/۴۰	۶/۴۸	۶/۶۳
۱۵ روز	۶/۴۶	۶/۵۶	۶/۷۳	۶/۴۶	۶/۵۶	۶/۷۳
۳۰ روز	۶/۴۲	۶/۷۴	۶/۸۹	۶/۶۸	۶/۸۹	۶/۹۲
۶۰ روز	۶/۶۴	۶/۸۲	۶/۹۲	۶/۸۲	۶/۹۷	۷/۰۹
۹۰ روز	۶/۸۱	۶/۸۹	۶/۹۶	۶/۹۸	۷/۱۰	۷/۱۵
۱۲۰ روز	۶/۸۸	۶/۹۵	۷/۰۲	۷/۰۲	۷/۱۵	۷/۲۸

جدول شماره ۵: میزان تغییرات EC در تیمارهای با گیاه و شاهد در طی ۴ ماه برحسب dS/m

درصد آلودگی	تیمارهای با گیاه			تیمارهای شاهد		
زمان	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد
۰	۹/۹۱	۱۰/۴۹	۱۰/۹۰	۹/۹۱	۱۰/۴۹	۱۰/۹۰
۱۵ روز	۶/۴۹	۶/۵۲	۶/۷۱	۹/۹۶	۱۰/۲۶	۱۰/۵۹
۳۰ روز	۳/۴۷	۳/۷۰	۳/۵۸	۸/۵۵	۸/۸۶	۹/۳۴
۶۰ روز	۲/۹۷	۳	۳/۴۶	۶/۲۸	۷/۷۰	۸/۰۵
۹۰ روز	۲/۸۲	۲/۹۵	۲/۹۸	۵/۷۲	۶/۲۷	۷/۸۷
۱۲۰ روز	۲/۶۳	۲/۷۶	۲/۸۰	۵/۰۱	۶/۰۳	۷/۴۲

تغییرات جمعیت فعالیت میکروبی طی فرایند گیاه پالایی

میزان جمعیت میکروبی هتروتروف خاک مورد مطالعه در دو زمان روز اول و روز ۱۲۰ شمارش شد. در طی ۱۲۰ روز میزان جمعیت میکروبی خاک افزایش داشته و این افزایش در تیمارهای با گیاه بیش‌تر از تیمارهای شاهد بوده است. با توجه به جدول ۶ میزان جمعیت میکروبی هتروترف خاک در غلظت‌های ۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد آلودگی نفتی در تیمارهای با گیاه به ترتیب CFU/g $۹/۶۴\times۱۰^{۶}$، $۹/۷۸\times۱۰^{۶}$ و $۸/۳۱\times۱۰^{۶}$ بوده که تیمار ۷ درصد آلودگی نفتی بیش‌ترین افزایش تعداد جمعیت میکروبی را داشته است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۶: میزان تغییرات تعداد باکتری های هتروتروف اولیه و ثانویه در تیمارهای با گیاه و شاهد برحسب CFU/g

درصد آلودگی	تیمارهای با گیاه			تیمارهای شاهد		
زمان	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد
۰ روز	۲/۸۱×۱۰^۶	۲/۹۱×۱۰^۶	۲/۳۸×۱۰^۶	۲/۸۱×۱۰^۶	۲/۹۱×۱۰^۶	۲/۳۸×۱۰^۶
۱۲۰ روز	۹/۶۴×۱۰^۶	۹/۷۸۱×۱۰^۶	۸/۳۱۸×۱۰^۶	۸/۱۰۱×۱۰^۶	۸/۱۹۲×۱۰^۶	۶/۹۵۱×۱۰^۶

میزان تغییرات جامدات آلی در طی فرایند گیاه پالایی

میزان تغییرات جامدات آلی طی ۴ ماه گیاه پالایی مورد سنجش قرار گرفت. بیش‌ترین درصد کاهش در تمام غلظت‌ها در زمان ۱۲۰ روز و در تیمارهای با گیاه مشاهده گردید که در جدول ۷ می توان مشاهده نمود در غلظت ۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد آلودگی نفتی درصد کاهش اندازه‌گیری شده به ترتیب ۶۵/۴۹ درصد، ۶۶/۴۰ درصد و ۶۶/۴۱ درصد بوده است. تیمار با ۱۰ درصد آلودگی نفتی نیز بیش‌ترین کاهش جامدات الی را به خود اختصاص داد.

جدول شماره ۷. میزان درصد تغییرات جامدات آلی در تیمارهای با گیاه و شاهد در طی ۴ ماه

درصد آلودگی	تیمارهای با گیاه			تیمارهای شاهد		
زمان	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد
۰	۱۴/۷۵	۱۵/۳۰	۱۶/۰۲	۱۴/۷۵	۱۵/۳۰	۱۶/۰۲
۱۵ روز	۱۳/۸۹	۱۴/۹۶	۱۵/۹۸	۱۲/۹۵	۱۳/۱	۱۳/۲۱
۳۰ روز	۱۱/۹۵	۱۲/۲۳	۱۲/۵۶	۱۲/۰۵	۱۲/۳	۱۲/۴۳
۶۰ روز	۷/۶۴	۷/۷۳	۹/۵۶	۹/۸	۱۰/۷۷	۱۱/۷۷
۹۰ روز	۷/۲۱	۷/۰۱	۸	۹/۰۴	۹/۳۶	۱۰/۱۱
۱۲۰ روز	۵/۰۹	۵/۱۴	۵/۳۸	۸/۴۸	۸/۷۷	۸/۹۴

بحث

کارایی فرآیند گیاه پالایی مانند اکثر فرآیندهای بیولوژیکی به عوامل محیطی متعددی بستگی دارد که از مهم‌ترین این عوامل می توان به مواد آلی، مواد سمی، رطوبت، دما، ظرفیت تبادل یونی، نوع بافت خاک و *pH* اشاره کرد که بر کارایی فرایند گیاه پالایی و نفوذپذیری خاک تاثیرگذار هستند(۲۵). هرچند که عوامل زیاد و بعضاً ناشناخته‌ای ممکن است در کارایی فرآیند گیاه پالایی تأثیرگذار باشند، در این مطالعه سعی شد حتی‌الامکان شرایط محیطی مانند نور، دما و رطوبت برای همه تیمارها یکسان حفظ شود. طبق نتایج حاصله بیش‌تر بودن جمعیت میکروبی و هم‌چنین حذف TPH در تیمارهای کشت شده با گیاه نسبت به تیمارهای شاهد می‌تواند به دلیل تولید و تکثیر ریشه گیاه و فراهم آوردن ماتریکس رشد و هم‌چنین افزایش ترشحات ریشه گیاه و در نتیجه تحریک جمعیت میکروبی تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های نفتی باشد. ریشه گیاهان با ترشح ترکیبات آلی مانند گلوکز، آنزیم‌ها و کربوهیدرات‌های پیچیده منبعی مناسب از کربن و انرژی را برای میکروارگانیسم‌های ناحیه ریشه فراهم می‌سازند ترشحات ریشه سبب شل شدگی خاک و در نتیجه انتقال اکسیژن به قسمت‌های عمیق‌تر خاک می‌شود که خود سبب بهبود رشد گیاه و میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده آلاینده‌ها می‌شود(۳۳). تاکنون مطالعات زیادی در زمینه گیاه پالایی با گیاه وتیور در سراسر دنیا صورت گرفته که در شرایط، غلظت‌ها و زمان‌های ماند مختلف بوده است. Udo-Inyang و همکاران تحقیقی روی آفتابگردان و وتیور گراس برای حذف هیدروکربن‌های نفتی در دو غلظت ۵ و ۱۰ درصد آلودگی نفتی انجام دادند که درصد کاهش TPH در آفتابگردان ۲۵/۵۹ درصد و در وتیور ۴۱ درصد بود(۲۶). Godwin و همکاران مطالعه‌ای بر روی کدو تنبل به مدت ۱۸ هفته و در ۴ غلظت آلودگی نفتی انجام دادند که بیش‌ترین درصد کاهش TPH در غلظت ۱/۵۹ درصد به میزان ۹۴/۳۸ درصد بود(۲۷). Janngam و همکاران برای اصلاح خاک آلوده به تریکلرواتیلن از گیاه وتیور استفاده کردند و بیش‌ترین درصد کاهش تریکلرواتیلن در آلودگی با نسبت ۱:۱، ۷۱ درصد و بیش‌ترین کاهش تریکلرواتیلن در آلودگی با نسبت ۱:۳، ۴۱ درصد به دست آمد(۳۴). دریابیگی زند و همکاران به بررسی توان پنج‌گونه گیاهی مختلف در حذف ترکیبات نفتی از خاک‌های بسیار آلوده با غلظت TPH بیش از ۵۰۰۰۰ mg/kg پرداختند. نتایج نشان داد که گیاه کتان بیش‌ترین درصد حذف TPH (به میزان ۸۷/۶۳ درصد) را داشته است(۲۰). در مطالعه حاضر بهترین

Archive of SID
www.SID.ir

راندمان حذف TPH در غلظت ۵ درصد آلودگی نفتی و در زمان ۱۲۰ روز به میزان ۹۱ درصد بود و کم‌ترین درصد حذف مربوط به تیمار شاهد با ۱۰ درصد آلودگی نفتی و در زمان ۱۵ روز به میزان ۸/۲ درصد بود. تیمارهای ۵، ۷ و ۱۰ درصد آلودگی نفتی با زمان همبستگی مثبت در سطح ۰/۰۱ داشتند. با توجه به نتایج به دست آمده در غلظت ۷ درصد و ۱۰ درصد آلودگی نفتی میزان راندمان حذف TPH به نسبت ۵ درصد آلودگی نفتی کاسته شده است. این امر به علت وجود آلودگی زیاد و ایجاد حالت بازدارندگی رشد فعالیت گیاه و باکتری‌ها بوده است اما با این حال در همه تیمارهای با گیاه در تمام غلظت‌های آلودگی نفتی میزان حذف TPH بالاتر از نمونه‌های شاهد بود که این نشان می‌دهد گیاه وتیور توانایی گیاه پالایی خاک‌های آلوده به نفت را داراست. هم‌چنین این بررسی نشان از اختلاف معنی‌دار ($p< ۰/۰۵$) بین تیمارهای با گیاه و شاهد در میزان حذف TPH و در زمان ۴ ماه دارد. با توجه به این‌که بیش‌ترین کاهش جامدات آلی مربوط به تیمار با گیاه ۱۰ درصد آلودگی در ۱۲۰ روز و به میزان ۶۶/۴۱ درصد بود می‌توان نتیجه گرفت که جامدات آلی به عنوان منبع کربن جهت میکروارگانیسم‌های موجود در ریزوسفر خاک مورد استفاده قرار می‌گیرند و این امر به مرور زمان باعث تجزیه شدن و کاهش میزان آن‌ها می‌گردد. درصد جامدات آلی خاک تمام تیمارها با زمان همبستگی منفی در سطح ۰/۰۱ داشتند. هم‌چنین بررسی‌ها نشان داد که تیمارهای ۵ و ۷ درصد در روزهای ۶۰،۹۰ و ۱۲۰ دارای اختلاف معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) با شاهد بودند و تیمار ۱۰ درصد در روزهای ۹۰ و ۱۲۰ دارای اختلاف معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) با شاهد بود. علاوه بر این، افزایش تعداد باکتری‌های هتروتروف در دوره ۱۲۰ روزه به این علت بود که مواد آلی موجود در خاک همراه با هیدروکربن‌ها به عنوان یک منبع غذایی برای باکتری‌ها به شمار می‌رفت و افزایش تعداد باکتری‌های هتروتروف در تیمارهای با گیاه بیش‌تر از تیمارهای شاهد بود. تعداد باکتری های هتروتروف در تیمارهای با ۱۰ درصد آلودگی نفتی نسبت به تیمارهای دیگر کاهش داشته و این به علت وجود آلودگی زیاد و ایجاد حالت بازدارندگی برای رشد باکتری‌ها بوده است. هم‌چنین بررسی ها نشان می دهد که تمام تیمارها در روزهای ۱۵ و ۱۲۰ با یکدیگر دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($p < ۰/۰۵$) و در زمان ۱۲۰ روز نیز با شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند ($p>۰/۰۵$). میکروارگانیسم‌ها و گیاهان علاوه بر آب و رطوبت به مواد معدنی و مواد مغذی نیاز دارند و با رشد میکروارگانیسم ها و افزایش تعداد آن ها میزان مصرف مواد معدنی در خاک افزایش یافته و لذا EC کاهش می‌یابد. EC شاخص میزان مواد معدنی در خاک است و به همین دلیل هر چه مصرف گیاه و باکتری بیش‌تر شود مواد معدنی کم‌تر می‌شود. در نتیجه با گذشت زمان EC کاهش می‌یابد و این کاهش در تیمارهای با گیاه بیش‌تر از تیمارهای بدون گیاه (شاهد) بود. تمام تیمارها با زمان همبستگی منفی در سطح ۰/۰۱ داشتند. هم‌چنین بررسی‌ها نشان می‌دهد که تیمارهای ۵ و۷ درصد در ۶۰،۹۰،۱۲۰ و ۳۰ روز فاقد اختلاف معنی دار بودند ($p > ۰/۰۵$) و در روزهای صفر و ۱۵ با یکدیگر و با ۱۲۰،۹۰،۶۰ و ۳۰ روز اختلاف معنی‌دار داشتند ($p<۰/۰۵$). تیمار ۱۰ درصد در ۹۰ و ۱۲۰ روز با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند و در روزهای ۳۰ و ۶۰ با یکدیگر فاقد اختلاف معنی‌دار بودند ($۰/۰۵ < p$). تیمار اصلی در تمامی درصدها و در تمامی روزها به جز صفر با تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بود ($۰/۰۵ >p$). با گذشت زمان pH افزایش پیدا می‌کند که به دلیل آمونیفیکاسیون است. با افزایش گاز آمونیاک و یون آمونیوم میزان pH رفته رفته افزایش می‌یابد و چون مصرف یون آمونیوم توسط گیاه صورت می‌گیرد علاوه بر میکروارگانیسم‌ها، گیاهان هم یون آمونیوم را به عنوان منبع ازت استفاده می‌کنند. لذا افزایش pH در نمونه‌های با گیاه کم‌تر از نمونه‌های شاهد بود که به دلیل مصرف نشدن و باقی ماندن یون آمونیوم در تیمارهای

Archive of SID

www.SID.ir

شاهد بوده است. تمام تیمارها با زمان همبستگی مثبت در سطح ۰/۰۱ داشتند. هم‌چنین بررسی‌ها نشان می‌دهد که بین هیچ یک از تیمارها و روزها در تیمار اصلی و شاهد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($p > ۰/۰۵$). با توجه به نتایج به دست آمده در همه تیمارهای با گیاه در تمام غلظت های آلودگی میزان حذف TPH بالاتر از نمونه‌های شاهد بود. این نشان از این دارد که گیاه وتیور با توجه به آلودگی‌های موجود توانایی زنده ماندن و گیاه پالایی خاک‌های آلوده به نفت را داراست. مواد آلی موجود در خاک همراه با هیدروکربن‌ها به عنوان منبع غذایی برای باکتری‌ها بوده است. در نتیجه میزان جامدات آلی در خاک در طی فرایند گیاه پالایی کاهش یافته است. هم‌چنین تعداد باکتری‌های هتروتروف در خاک تیمارهای با گیاه در طی فرایند گیاه پالایی بیش‌تر از تیمارهای شاهد بود.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از شرکت ملی حفاری ایران به دلیل حمایت مالی این تحقیق مراتب تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. Collins CD. Implementing Phytoremediation of Petroleum Hydrocarbons. Methods in Biotechnology. In: Willey N, Editor. Phytoremediation: Methods and Reviews. London, UK: Springer; 2006. p. 99-100.
2. Rezaee MR. Petrolum. In: Petrolum geology. 2nd ed. Tehran: Farhikhtegan Alavi; 2005 (Persian).
3. Najafi Asfad M, Darabinia M. Evaluation of Oil Pollution Process despite International Conventions for its Prevention and Removing. J Mazandaran Univ Med Sci 2012; 22(Supple1): 94-101 (Persian).
4. Torabi Far M, Jaafarzadeh N, Takdastan A, Jafarnejadi A.R, Afshar A.M. Performance of a land treatment system and vetiver plant for advanced treatment of ahvazwest Municipal wastewater treatment plant effluent. Quartely Journal of Sabzevar University of Medical Sciences. Winter 2013-2014; 20(4): 511-520 (Persian).
5. Amouei AI, Mahvi AH, Naddafi K. Effect of chemical additives on the availability of heavy metals (Pb, Cd, Zn) in soil. J Babol University of Medical Sciences 2005; 7(4): 26-31(Persian).
6. Ebbs SD, Lasat MM, Brady DJ, Cornish J, Gordon R, Kochian L. Phytoextraction of cadmium and zinc from a contaminated site. J Environ Qual 1997; 26(5): 1424-1430.
7. Salt DE, Blaylock MJ, Kumar N, Dushenkov V, Ensley BD, Chet II, et al. Phytoremediation: A novel strategy for the Removal of Toxic Metals from the Environment Using Plants. Biotech 1995; 13(5): 468-474.
8. Amouei A, mahvi AH, nadafi K, fahimi H, mesghinia A, naseri S. Study optimum operating conditions in the phytoremediation of soil contaminated with lead and cadmium by native plants in Iran. J kordestan Univ Med Sci 2012; 17(4): 93-102. (Persian).
9. Huang XD, El-Alawi Y, Gurska J, Glick BR, Greenberg BM. A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (TPHs) from soils. Microchemical Journal 2005; 81, 139-147.
10. Khan AG.Khan AG. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 2005; 18(4): 355-364.

Archive of SID
www.SID.ir

11. Pulford ID, Watson C. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees--a review. Environ Int 2003; 29(4): 529-540.
12. Takdastan A, Torabifar M, Jaafarzadeh Jaafarzadeh N, Jafarnejadi A, Ahmadi Engali K. Investigation of TC and TSS Removal Efficiencies at Ahvaz West WTP Effluent Using the Land-plant Treatment Process. Journal of Water and Waste Water 2015; 26(5): 99-105.
13. McCutcheon SC, Schnoor JL. Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants, 1st ed. New Jersey, USA: John Wiley & Sons; 2003.
14. Adam G, Duncan H. Influence of diesel fuel on seed germination. Environ Pollut 2002; 120(2): 363-370.
15. Li CH, Ma BL, Zhang TQ. Soil bulk density effects on soil microbial population and enzyme activities during the growth of maize (*Zea Mays* L.) planted in large pots under field exposure. Canadian Journal of Soil Science 2002; 82(2): 147-154.
16. Zohrehvand F, Takdastan, A, Jaafarzadeh N, Ramezani Z, Ahmadi angali K, Gharibi H, et al. Assessment of Lead Contamination in Vegetables, Irrigation Water and Soil in Farmlands Irrigated by Surface Water in Ahvaz. J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(118):225-230.
17. Rouyanian Firouz Z, Takdastan A, Jaafarzadeh Haghighifard N, Sayyad GA. Feasibility of Land Treatment that Removal of Nitrogen and Phosphor of Chonaibeh Waste Water Treatment Plant (Ahwaz). Asian Journal of Research in Chemistry 2011; 4(4): 597-601.
18. Frick C, Germida J, Farrell R. Assessment of phytoremediation as an in-situ technique for cleaning oil-contaminated sites. In: technical seminar on chemical spills conferance, Environment Canada 1999, 105a-124a.
19. Cluis C. Junk-greedy Greens: Phytoremediation as a new option for soil decontamination. Bio Teach J 2004; 2: 61-67.
20. Daryabeygi zand A, Nabi bidhendi GR, Mehrdadi N, Shirdem R. The ability of different plant species in removing composition oil from soil and effects of oil pollution on the growth of this species. Journal of Environmental Science and Technology 2010; 12(4); 41-57 (Persian).
21. Shahriari MH, Savaghebi-Firrozabadi GR, Minai-Tehrani D, Padidaran M. The Effect of Mixed Plants Alfalfa (*Medicago sativa)* and Fescue (*Festuca arundinacea)* on the Phytoremediation of Light Crude Oil in Soil. Environmental Sciences 2006; 13: 33-40 (Persian).
22. Escalante-Espinosa E, Gallegos-Martınez ME, Favela-Torres E, Gutierrez-Rojas M. Improvement of the hydrocarbon phytoremediation rate by Cyperus laxus Lam. inoculated with a microbial consortium in a model system. Chemosphere 2005; 59(3): 405-413.
23. Ayotamuno JM, Kogbara RB, Egwuenum PN. Comparison of corn and elephant grass in the phytoremediation of a petroleum hydrocarbon- contaminated agricultural soil in Port Harcourt, Nigeria. Journal of Food, Agriculture, & Environment 2006; 4(3&4): 218-222.
24. Alavi Bakhtiarvand SN, Parseh I, Ahmadimoghadam M, Jafarzadeh N. Greenhouse assessment of phytoremedition efficiency for petroleum contaminated in Clay and Saline Soils. J Health Syst Res 2013; 8(7): 1272-1279 (Persian).

Archive of SID

www.SID.ir

25. Basumatary B, saikia R, Bordoloi S, Chandra Das H, Prasad Sarma H. Assessment of potential plant species for phytoremediation of hydrocarbon-contaminated areas of upper Assam, India. Journal of Chemical Technology and Biotechnology 2012; 87(9): 1329-1334.
26. Charles UIU, Edem D, Nkereruwem JM. Application of Phyto-Remediation (Sunflower and Vetiver Grass) on Crude Oil Spilled Soil Cultivated to Jute Mallow (*Corchorus Olitorius* L.). Resources and Environment 2013; 3(6): 169-175.
27. Akpan GU, usuah PE. Phytoremediation of Diesel Oil Polluted Soil by Fluted Pumpkin (*Telfairia Occidentalis Hook F.*) in Uyo, Niger Delta Region, Nigeria. Journal of Environment and Earth Science 2014; 4(1): 6-15.
28. Truong P, Tan van T, Pinners E. Vetiver system applications Technical Reference, 2nd ed. Thailand: CreateSpace Independent Publishing Platform, 2008.
29. EPA. Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) as Gasoline and Diesel SW-846 Method 8015B. Revision 2, December, 1996.
30. WHO. Guidelines for Drinking-water Quality, vol. 1, Recommendations. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 1993.
31. U.S. EPA. Office of Water Office of Science and Technology Engineering and Analysis Division (4303) 1200 Pennsylvania Ave. NW Washington, DC 20460 .Method 1684 Total, Fixed, and Volatile Solids in Water, Solids, and Biosolids. EPA-821-R-01-015 January 2001.
32. Longley K. The Feasibility of poplars for phytoremediation of TCE contaminated groundwater: A Cost-Effective and Natural Alternative Means of Groundwater Treatment. [Thesis]. Master of Environmental Studies The Evergreen State College. June 2007; 70-100.
33. Shim H, Chauhan S, Ryoo D, Bowers K, Thomas SM, Canada KA, Burken JG, Wood TK. Rhizosphere competitiveness of trichloroethylene- degrading poplar-colonizing recombinant bacteria. Appl Environ Microbiol 2000; 66(11): 4673–4678.
34. Janngam J, Anurakpongsatorn P, Satapanajaru T, Techapinyawat S. Phyoremediation: vetiver Grass in Remediation of soil contaminated with trichloroethylene science journal ubon ratchathani university 2010; 1(2): 52-57.

Archive of SID
www.SID.ir