بررسی تأثیر عوامل محیطی بر راندمان حذف بیولوژیکی آلاینده‌های نفتی از خاک و تعیین شرایط بهینه عملکردی

محمد رضا مسلمی[۱]، منوچهر وثوقی[۲]، علی پاک[۳]،
محمد تقی جعفر زاده[۴]

(دریافت ۸۳/۱۱/۳ پذیرش ۸٤/۹/۱)

چکیده

یکی از پیامدهای تخلیه فاضلابها و زائدات صنعتی در خاک و منابع آب، تجمع ترکیبات شیمیایی سمّی در خاک و آب زیرزمینی است. تجمع و انتقال این آلاینده ها در محیط زیست تهدیدی جدی برای سلامت انسان و محیط زیست به شمار می‌آیند. حذف بیولوژیکی، یک روش مؤثر برای مقابله با این نوع آلودگیها خصوصاً آلودگیهای ناشی از هیدروکربن‌های نفتی و همچنین یکی از امید بخش‌ترین و اطمینان پذیرترین فناوریهای پاکسازی خاک و آب آلوده به شمار می‌آید. از این رو هدف از این تحقیق، بررسی روش درمان بیولوژیکی خاکهای آلوده به آلاینده‌های هیدروکربنی نفتی و ارزیابی تأثیر شرایط و عوامل عملکردی از جمله دما، غلظت اکسیژن محلول و pH بر نرخ حذف آلاینده مورد نظر در داخل راکتور طراحی شده می‌باشد. به علت نرخ تولید و مصرف بالای گازوئیل در ایران و بسیاری از کشورهای دیگر، این برش نفتی به عنوان آلاینده اصلی انتخاب گردید. همچنین در این تحقیق از تست‌های TOC و COD به منظور اندازه‌گیری و بررسی تغییرات غلظت آلاینده در داخل راکتور استفاده شده است. نتایج به دست آمده از آزمایشها نشان می‌دهد که میکروارگانیسم‌های بومی جدا شده از خاک پس از گذشت ۳۰ روز قادرند ۵۰ الی ۸۳ درصد از آلاینده مورد نظر را بسته به شرایط عملکردی، تجزیه و حذف نمایند. در ادامه بر پایه نتایج به دست آمده، مقادیر بهینه برای پارامترهای دما، غلظت اکسیژن محلول و pH ، با توجه به مشخصات و شرایط آزمایشگاهی مورد بحث در این تحقیق، به ترتیب برابر با ۳۵ درجه سانتیگراد، ۴ میلی‌گرم در لیتر و ۷ به دست آمدند.

واژه‌های کلیدی: *خاک آلوده، هیدروکربن‌های نفتی،درمان بیولوژیکی، گازوئیل، راکتور.*

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی عمران- مهندسی محیط زیست، دانشگاه صنعتی شریف- reza_moslemi@yahoo.com
۲-استاد، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی شریف
۳- دانشیار، دانشکده مهندسی عمران، دانشگاه صنعتی شریف
۴- کارشناس ارشد شرکت ملی صنایع پتروشیمی، بخش بهداشت ایمنی و محیط زیست

The Effects of Environmental Factors on Biological Remidation of Petroleum Hydrocarbon Contaminated Soil

Mohammad reza Moslemi[1], Manouchehr Vossoughi[2], Ali Pak[3], Mohammad Taqi Jaefarzadeh[4]

Abstract

Among the consequences of discharging industrial wastes to land and water bodies, is the widespread accumulation and migration of toxic chemical mixtures in soil and groundwater resources. It is believed that the accumulation of contaminants in the environment constitutes a serious threat to ecological and human health. Bioremediation is an effective measure in dealing with such contaminations particularly those from petroleum hydrocarbon sources; moreover bioremediation is emerging as a promising technology for the treatment of soil and groundwater contamination. Therefore the goal of this study is discussing the theory and practice of biological remediation of petroleum hydrocarbon contaminated soils and assessing the effects of operational conditions and parameters such as: temperature, dissolved oxygen concentration and pH on the removal rate of the target contaminant which is handled in the designed reactor. Due to large production and consumption rate of diesel fuel in Iran and many other countries, diesel fuel has been selected as target contaminant. In this study TOC and COD testing methods have been used to measure and assess the removal rate of the contaminant in the reactor. The experimental results indicate that, considering the operational conditions the indigenous microorganisms which have been separated from the soil are able to remove 50 to 83 percent of the contaminant after 30 days. Thereafter on the base of the results and considering the laboratorial specifications and conditions applied in this project, the optimum values of temperature, dissolved oxygen concentration and pH were respectively determined as 35°C, 4mg/L and 7.

Keywords: *Contaminated Soil, Petroleum Hydrocarbons, Bioremediation, Diesel Fuel, Reactor.*

[1]- M.Sc. Student. Dept. of Civil Engineering Sharif University of Technology. reza_moslemi@yahoo.com
[2]- Professor. Dept. of Chemical Engineering, Sharif University of Technology
[3]- Assist. Prof. Dept. of Civil Engineering, Sharif University of Technology
[4]- Safety and Environmental Health Dept. NIPC

۱- مقدمه

رشد روز افزون فعالیتهای صنعتی از یک سو، و عدم رعایت الزامات زیست‌محیطی از سوی دیگر، سبب شده است تا در چند دهه اخیر مقادیر هنگفتی از آلاینده‌های هیدروکربنی به واسطه عواملی نظیر دفع و دورریز نامناسب فاضلابها و ضایعات مراکز صنعتی، پخش آلاینده توسط پالایشگاهها و نیروگاهها، نشت آلاینده از مخازن نفتی زیرزمینی و ایستگاههای سوختگیری، تصادفات تانکرها و نفتکشها و غیره، وارد محیط زیست شوند. بخشی از آلاینده‌ها، خصوصاً قسمتی که از لحاظ ساختاری شبیه به ترکیبات طبیعی هستند، سریعاً توسط میکروارگانیسم‌های موجود در آب و خاک و یا تحت تأثیر عوامل فیزیکی و بیولوژیکی تجزیه و حذف می‌شود. اما بخش عمده آن، خصوصاً قسمتی که دارای ساختارهای جدید وکمیاب[1] می‌باشد، به کندی تجزیه می‌گردد و در نتیجه در محیط زیست باقی‌مانده و تجمع می‌نماید. تجمع این ترکیبات شیمیایی در داخل محیط زیست، تهدیدی جدی برای سلامت انسان، محیط زیست و موجودات و اکوسیستم‌های زنده است [۱].

از طرف دیگر با توجه به محدود بودن منابع خاک و آب زیرزمینی، آلودگی خاک یکی از مهمترین معضلات زیست‌محیطی کشور است. و درصورتی که خاک آلوده پاکسازی و تصفیه نشود و آلاینده‌های موجود، حذف و یا تجزیه نشوند، آلاینده‌ها به تدریج در عمق خاک نفوذ کرده و علاوه بر آلودگی خاک باعث آلودگی سفره‌های آب زیرزمینی که یکی از مهم‌ترین منابع تأمین آب در بسیاری از کشورهای جهان از جمله ایران می‌باشد، می‌گردد. بدین ترتیب یکی از مهم‌ترین چالشهایی که در برابر سازمانهای محیط زیست در اقصی نقاط دنیا قرار دارد، مبارزه با آلودگی منابع خاک از یک طرف و احیاء و پاکسازی مکانهای آلوده شده از طرف دیگر است.

فرآیندهای فیزیکی و شیمیایی بسیاری برای آلودگی زدایی جزئی یا کامل از مکانهای آلوده به کار می‌روند. اما متأسفانه روشهای موجود و مرسوم برای آلودگی زدایی از خاکها و سایت‌های آلوده هریک دارای مشکلاتی می‌باشند که استفاده از آن روشها را محدود به شرایط خاصی می‌نماید. در حال حاضر، امید بخش‌ترین روش مواجهه با محیط زیست آلوده شده، به خدمت گرفتن قدرت کاتابولیک[2] موجودات زنده است. روشهای بیولوژیکی، بسیاری اوقات راهکارهای آسان، دائمی، ارزان، مؤثر و غیر آلاینده را برای پالایش و آلودگی‌زدایی از محلهای آلوده فراهم می‌آورند. این روشها در شرایط زیست محیطی متنوع و برای تعداد قابل توجهی از آلاینده‌ها قابل استفاده هستند. البته عوامل محدود کننده متعددی نیز روش حذف بیولوژیکی آلاینده‌ها توسط میکروارگانیسم‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند و کارآیی این روش را قدری محدود می‌سازند. برخی عوامل محدود کننده عبارت‌اند از: غلظت آلاینده، دسترسی به مواد آلاینده، شرایط مناسب برای بقاء و رشد میکروارگانیسم از جمله pH مناسب، دمای مناسب، رطوبت مناسب، اکسیژن کافی، مواد غذایی مناسب و عدم وجود مواد سمّی و کشنده میکروارگانیسم‌ها.

با این وجود روشها و فرآیندهای بیولوژیکی حذف آلاینده‌ها به علت توانایی حذف کامل آلاینده‌های آلی و سمّی و تبدیل آنها به ترکیبات معدنی غیر سمّی، بی ضرر و سازگار با محیط زیست مانند دی اکسید کربن و آب و همچنین هزینه‌های کمتر، بسیار مورد توجه هستند. درحالی که روشهای فیزیکی و شیمیایی تنها قادرند آلاینده را به یک ترکیب بی ضررتر تبدیل نمایند و لازم است ماده حاصله مجدداً تصفیه گردد و یا در محلهای مناسب دفن شود [۲ و ۳].

هدف از انجام این تحقیق بررسی قابلیت میکروارگانیسم‌های بومی جدا شده از خاک، در تصفیه و پاکسازی بیولوژیکی خاک آلوده به آلاینده‌های هیدروکربنی و بررسی راندمان حذف و همچنین تأثیر شرایط محیطی مختلف از جمله: دما، pH و غلظت اکسیژن محلول بر نرخ تجزیه آلاینده به منظور تعیین شرایط بهینه عملکردی می‌باشد.

گازوئیل یکی از پر مصرف‌ترین و پر کاربردترین محصولات نفتی در ایران و بسیاری از کشورهای جهان است. حجم قابل توجهی از گازوئیل در مخازن زمینی و ایستگاههای سوخت نگهداری می‌شود که در اثر نشت از این مخازن، می‌تواند خاک و آب زیرزمینی مجاور را به شدت آلوده نماید. از طرف دیگر، گازوئیل در بسیاری از نقاط جهان به عنوان منبع تولید انرژی گرمایی برای مصارف صنعتی مختلف مطرح می‌باشد و روزانه حجم قابل توجهی از آن توسط تانکرها و وسائط نقلیه سنگین جا به جا و منتقل می‌گردد. بنابراین در صورت وقوع حوادث جاده‌ای، می‌تواند به عنوان یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های منابع خاکی مطرح باشد. از این رو در این تحقیق ، گازوئیل به عنوان آلاینده هیدروکربنی انتخاب گردید.

۲- مواد و روشها

۲-۱- مراحل انجام کار

مراحل انجام این تحقیق را می‌توان در عناوین زیر خلاصه کرد:

[1] Xenobiotics
[2] Catabolic

۱- جداسازی میکروارگانیسم‌های بومی جهت درمان بیولوژیکی خاک آلوده به آلاینده هیدروکربنی، ارزیابی قابلیت آنها در حذف آلاینده مورد نظر و انتخاب سویه برتر.

۲- طراحی و ساخت راکتورهای مناسب و بررسی راندمان پالایش خاک آلوده با توجه به عوامل و شرایط محیطی در راکتورهای ساخته شده.

۳- ارائه شرایط بهینه عملکردی جهت درمان بیولوژیکی خاک آلوده با توجه به شرایط و مشخصات آزمایشگاهی مورد استفاده.

در ادامه، مواد، تجهیزات و روشهای لازم برای انجام آزمایشهای لازم و دست یافتن به اهداف فوق معرفی می‌شود.

۲-۲- جداسازی و خالص‌سازی میکروارگانیسم‌های بومی

در ابتدای کار دو نمونه خاک از پالایشگاه تهران تهیه شد. نمونه اول از لجنهای پایین مخزن شماره ۲۰۰۳ که مخزن نگهداری نفت خام ارسالی از چاههای اهواز- آسماری بود برداشته شد. نمونه دیگر از خاکهایی که به مدت طولانی در معرض نشت نفت خام از مخازن حمل و نقل قرار داشت، انتخاب شد. مراحل مختلف آزمایشها، در این قسمت را می‌توان به بخشهای زیر تقسیم بندی کرد:

مرحله اول : انتقال میکروارگانیسم‌ها به فاز آبی؛

مرحله دوم: کشت در محیط غنی شده[1]؛

مرحله سوم: انتقال میکروارگانیسم‌ها به محیط کشت اختصاصی؛

مرحله چهارم: انتقال میکروارگانیسم‌ها به محیط کشت جامد و

مرحله پنجم: خالص سازی[2].

مشخصات میکروارگانیسم‌های جدا شده از خاک در جدول ۱ ارائه شده است. در ادامه، آزمایشهایی در راکتورهای فاز دوغابی به منظور ارزیابی قابلیت میکروارگانیسم‌های جدا شده برای تجزیه و حذف آلاینده نفتی مورد نظر صورت گرفت. با توجه به نتایج به دست آمده از این آزمایشها هر دو گونه قادر به حذف آلاینده مورد نظر می‌باشند، اما از آنجا که مخلوط هر دو گونه، قابلیت بالاتری برای حذف آلاینده از خود نشان داد و از طرف دیگر استفاده از کشت مخلوط[3] در مقایسه با کشت خالص[4] قیاس واقع بینانه‌تری از آنچه در محیط زیست طبیعی صورت می‌گیرد می‌باشد، از مخلوط دو سویه جدا شده برای انجام آزمایشهای اصلی استفاده شد [۴ و ۵].

۲-۳- مواد مغذی مورد استفاده

مشخصات مواد مغذی مورد استفاده در آزمایشها به منظور تأمین عناصر موردنیاز میکروارگانیسم‌ها، در جدول ۲ آمده است [۶].

[1] Enriched Culture

[2] Screening

[3] Mixed Culture

[4] Pure Culture

جدول ۱- مشخصات سویه‌های جدا شده

نام گونه	مشخصات ماکروسکوپی	مشخصات میکروسکوپی	تست گرم	تست کاتالاز	تست اکسیداز	تست حرکت
TR1	ریز-مضرّس - شیری رنگ	باسیل- اسپوردار	مثبت	مثبت	منفی	مثبت
TR2	سوزنی شکل- مایل به زرد	کوکسی- بدون اسپور	منفی	مثبت	منفی	منفی

جدول ۲- فرمول مواد غذایی مورد استفاده در راکتور

ماده معدنی	Na_2HPO_4	NH_4Cl	$MgSO_4,7H_2O$	$FeSO_4,7H_2O$	$CaCl_2,H_2O$	$MnSO_4,H_2O$
غلظت (میلی‌گرم بر لیتر)	۹۳۱۰	۴۶۷۳	۱۰۵	۴/۲۰	۰/۲۸	۰/۱۶

۲-۴- راکتور و سیستم انتخابی

در این تحقیق، از سیستم Biopile که یکی از روشهای درمان بیولوژیکی خارج از محل[1] است، استفاده شد. راکتورهای مورد استفاده در این پروژه، نمایی واقعی از یک سیستم Biopile در مقیاس آزمایشگاهی بودند. بدین منظور از ۴ عدد راکتور ناپیوسته[2] که به صورت موازی با یکدیگر عمل می‌کردند، استفاده شد. برای ایجاد شرایط یکنواخت در ستون خاک، مایع داخل راکتور که شامل مواد مغذی و مقداری از آلاینده محلول در آب بود، توسط پمپ‌های پریستالتیک دائماً از بستر خاک عبور داده شد و در داخل راکتور به جریان در آمدند. بدین ترتیب مواد مغذی و آلاینده به نحو مناسبی در اختیار میکروارگانیسم‌ها قرار گرفت و با توجه به کوتاه بودن زمان ماند راکتورها، سیستم از لحاظ فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی نسبتاً همگن فرض شد.

راکتورها از اجزای اصلی زیر تشکیل شده بودند:

۱- بدنه شیشه‌ای راکتور؛ ۲- سنگ هوا؛
۳- شیلنگ هوا؛ ۴- مخزن توزیع؛
۵- پمپ پریستالتیک؛ ۶- بخاری؛
۷- پمپ هوا؛ ۸- شیرهای کنترل.

راکتورها به شکل مکعب مستطیل بودند و بدنه آنها از شیشه با ضخامت ۶ میلیمتر ساخته شده بود. ابعاد هریک از راکتورها ۱۵×۲۰×۲۵ سانتیمتر (عرض × طول × ارتفاع) و حجم هر راکتور ۷۵۰۰ میلی‌لیتر بود. برای هوادهی و در دسترس قرار دادن اکسیژن به منظور انجام پذیرفتن فرآیندهای بیولوژیکی دو عدد سنگ هوا به ابعاد ۲×۲×۱۹ سانتیمتر در کف هریک از راکتورها تعبیه گردید و هوا توسط پمپ هوا بطور دائمی به سیستم دمیده شد. دبی هوای ورودی به هر راکتور توسط شیر کنترل می‌شد. مایع داخل راکتورها توسط پمپ پریستالتیک در داخل راکتور به چرخش در می‌آمد. بدین ترتیب، مایع توسط شیلنگی که در کف راکتور کار گذاشته شده بود، توسط پمپ مکیده شده و داخل مخزن توزیع در بالای راکتور پمپ می‌شد. سپس از طریق مخزن توزیع، مجدداً بر روی سطح خاک توزیع می‌گردید. از مخزن توزیع برای تأمین اهدافی چون : توزیع یکنواخت مایع پمپاژ شده به سطح راکتور بر روی خاک، نمونه‌گیری برای اندازه‌گیری TOC، COD، pH،DO و سایر آزمایشها و همچنین افزودن اسید یا باز برای تنظیم pH استفاده شد. کف این مخزن ۳ سانتیمتر بالاتر از سطح راکتور قرار داشت و ابعاد آن ۱۸×۱۴ سانتیمتر و با ارتفاع ۷ سانتیمتر بود. کف مخزن سوراخهای ریزی داشت که توزیع یکنواخت مایع را بر سطح خاک داخل راکتور میسر می‌کرد. دبی جریان بازگشتی[3] برابر با ۱۱۰ میلی‌لیتر در دقیقه انتخاب گردید. با توجه به حجم کل مایع موجود در هر راکتور، معادل ۳۳۲۲ میلی‌لیتر، زمان هر دور برگشتی برابر با ۳۰ دقیقه بود (جدول ۳) . با توجه به کوتاه بودن زمان برگشتی و گردش دائمی مایع در داخل راکتور، مایع موجود در سیستم از لحاظ خصوصیات فیزیکی و شیمیایی همگن فرض شد و برای اندازه‌گیری pH و DO نیازی به نمونه‌گیری از نقاط مختلف راکتور نبود.

به منظور جلوگیری از مسدود شدن منافذ سنگهای هوای تعبیه شده در کف راکتورها، و همچنین کمک به توزیع هوا در ستون خاک، تا ارتفاع ۵ سانتیمتر از کف راکتور با دانه‌های شن که قطر آنها بین ۹/۵ میلیمتر (الک شماره $\frac{3''}{8}$) و ۱۲/۵ میلیمتر (الک شماره $\frac{1''}{2}$) بود، پر شد. اطراف شیلنگ خروجی مخزن نیز توسط خاکدانه‌هایی که قطر آنها در محدوده ۰/۴۲۵ میلیمتر (الک شماره ۴۰) و ۰/۱۵۰ میلیمتر (الک شماره ۱۰۰) بود، پر شد تا همانند یک فیلتر از خروج ذرات ریز خاک در اثر مکش پمپ جلوگیری شود؛ زیرا در صورت ورود ریزدانه‌ها به مخزن توزیع، سوراخهای موجود در کف مخزن مسدود شده و توزیع یکنواخت صورت نمی‌پذیرفت. به منظور تنظیم دمای داخل راکتور در محدوده ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتیگراد از بخاری مخصوص آکواریوم که به طور قائم در داخل خاک قرار می‌گیرد، استفاده شد. دمای بخاریها توسط یک المنت قابل تنظیم بود. در نهایت حجم باقیمانده در داخل راکتورها، توسط خاک آغشته به آلاینده تا ارتفاع ۱۸ سانتیمتر پر شد. شکل ۱ راکتور ساخته شده و اجزای آن را نمایش می‌دهد.

۲-۵- تهیه و آماده سازی خاک مورد استفاده در آزمایش

خاک مورد نظر، از آزمایشگاه مکانیک خاک دانشکده عمران دانشگاه صنعتی شریف تهیه شد. با توجه به اینکه هوادهی در داخل خاک صورت می‌گیرد و همچنین آب و مواد مغذی دائماً از داخل خاک عبور می‌نمایند، دانه‌بندی خاک باید به نوعی باشد که هوا و آب بتوانند جریان پیدا کنند. برای فراهم آوردن این ویژگی، خاکی با دانه‌بندی مناسب با استفاده از الک‌های استاندارد تهیه شد. دانه‌بندی خاک مورد استفاده در آزمایشها براساس استاندارد ASTM E-11 انجام شد [۷]. خاک مزبور بر اساس طبقه‌بندی USDA در گروه ماسه‌ای[4] قرار می‌گیرد. منحنی دانه‌بندی و مشخصات فیزیکی خاک مورد استفاده به ترتیب در شکل ۲ و جدول ۴ ارائه شده است.

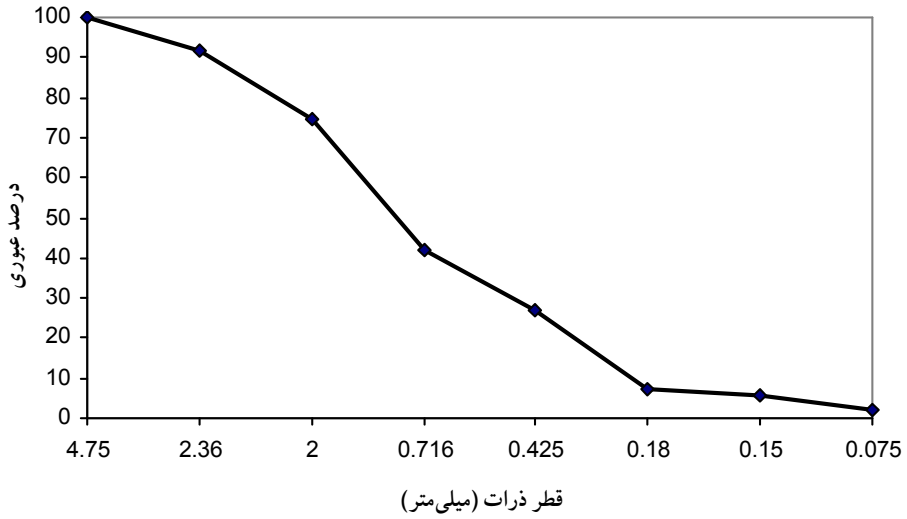
[1] Ex- Situ
[2] Batch
[3] Recycle
[4] Sandy

به منظور بررسی دقیق فرآیند احیای بیولوژیکی برای پاکسازی خاک آلوده به آلاینده‌های هیدروکربنی (گازوئیل) و کاهش خطای آزمایش، لازم است حتی‌الامکان از خاکی با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی ثابت و همگن استفاده شود. بدین منظور پس از دانه‌بندی، خاک مورد نظر دو بار با آب مقطر شستشو داده شد و سپس به مدت ۵ ساعت در دمای ۲۰۰ درجه سانتیگراد خشک شد تا ذرات زائد و ترکیبات آلی که در میان توده خاک وجود دارند، حذف شوند اندازه‌گیریها و آزمایشهایی که با استفاده از تست COD انجام گرفت، نشان می‌دهد تقریباً کل کربن آلی موجود در خاک مورد استفاده بدین ترتیب حذف می‌شود.

جدول ۳- پارامترهای فیزیکی ثابت مربوط به راکتورها

پارامتر	مقدار
حجم خاک آلوده	۵۴۰۰ سانتیمتر مکعب
وزن خشک خاک آلوده	۸۳۷۰ گرم
ارتفاع مایع داخل مخزن توزیع	۳ سانتیمتر
حجم مایع داخل مخزن توزیع	۷۵۶ میلی‌لیتر
درصد اشباع خاک	۸۰
حجم مایع داخل راکتور	۲۲۶۳ میلی‌لیتر
درصد حجمی تلقیح میکربی	۱۰
حجم تلقیح میکربی	۳۰۲ میلی‌لیتر
حجم کل مایع مورد نیاز	۳۳۲۲ میلی‌لیتر
دبی جریان بازگشتی	۱۱۰ میلی‌لیتر بر دقیقه
زمان هر دور برگشتی	۳۰ دقیقه
زمان ماند	۳۰ روز

شکل ۱- راکتور مورد استفاده



شکل ۲- منحنی دانه بندی خاک مورد استفاده

۲-۶- روشهای اندازه‌گیری و دستگاهها و لوازم مورد نیاز

کلیه اندازه‌گیریها و روشهای آزمایشگاهی برطبق استانداردهای بین المللی انجام گرفت و دستگاههای زیر بدین منظور مورد استفاده قرار گرفتند[۷ و ۸] .

۱- اندازه‌گیری DO؛ ۲- اندازه گیری pH؛
۳- تست TOC؛ ۴- تست COD؛
۵- اندازه‌گیری OD؛ ۶- اندازه گیری غلظت سلولی؛

به منظور اندازه‌گیری DO و همچنین pH از دستگاه Lutron-Intelligent Meter–YK– 2001 DO که از دقت و قابلیت بالایی برخوردار است، استفاده شد. در این تحقیق از دستگاه TOC Analyzer – CA10 جهت اندازه‌گیری TOC استفاده شد. یکی از روشهای بررسی میزان و روند رشد میکروارگانیسم‌ها، اندازه‌گیری روند تغییرات دانسیته نوری[1] یا OD با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر است. با افزایش غلظت سلولی در داخل محیط کشت، درصد جذب نور نیز افزایش می‌یابد و بدین ترتیب مقدار نور جذب شده به نوعی معرف غلظت سلولی در داخل محیط است. در این تحقیق از دستگاه اسپکتروفتومتر Varian Techtron –Model 635 استفاده شد که پس از سعی و خطا به منظور به دست آوردن طول موج بهینه، طول موج دستگاه روی ۵۵۰ نانومتر تنظیم شد. همچنین برای اندازه‌گیری غلظت سلولی از دستگاه میلی‌پور[2] و صافیهای غشایی[3] که به علت قطر بسیار کم منافذ (۰/۲ µm) قادر به فیلتر نمودن میکروارگانیسم‌ها می‌باشند، استفاده شد. وزن خالص خشک باقیمانده روی صافی، معرف جرم سلولی موجود در حجم معینی از محیط کشت می‌باشد [۹].

۳- نتایج

از جمله عوامل محیطی که تأثیر آنها بر فرآیند درمان بیولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت عبارت‌اند از:

۱- دمای راکتور؛
۲- pH راکتور؛ و
۳- غلظت اکسیژن محلول در داخل سیستم.

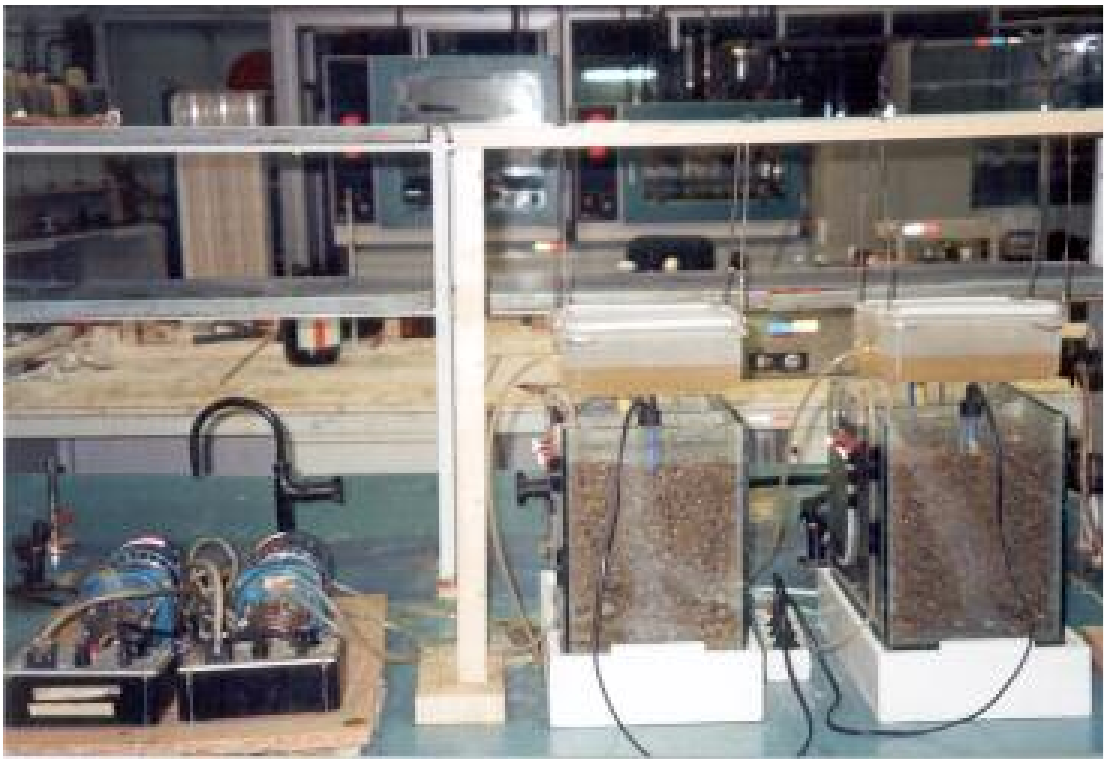
شکل ۳ ، راکتور راه‌اندازی شده را نشان می‌دهد. پارامترهای فیزیکی ثابت در راکتورها مطابق جدول ۳ می‌باشد و مشخصات و ترکیبات داخل راکتورها در جدول ۵ ارائه شده است .

[1] Optical Density

[2] Millipore
[3] Membrane

جدول ۴- مشخصات فیزیکی خاک مورد استفاده

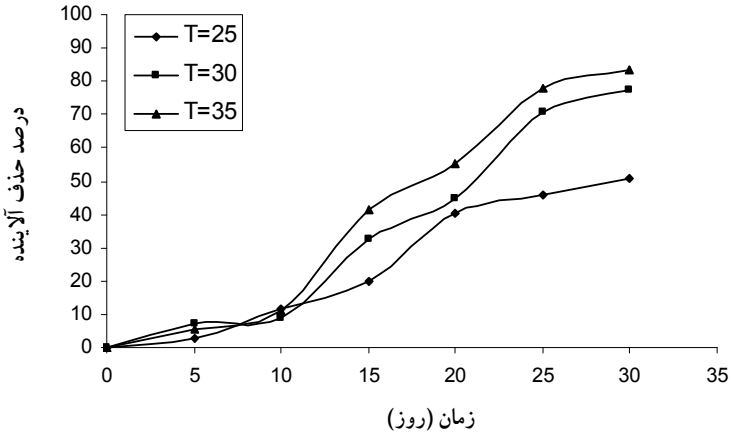
e	n	ρ_d (گرم بر سانتی‌متر مکعب)	G_s	D_{10} (میلی‌متر)	D_{30} (میلی‌متر)	D_{60} (میلی‌متر)	C_u	C_c
۰/۶۷	۰/۴	۱/۵۵	۲/۵۸۹	۰/۲۱۲	۰/۴۸۷	۰/۴۲۱	۶/۷	۰/۷۹



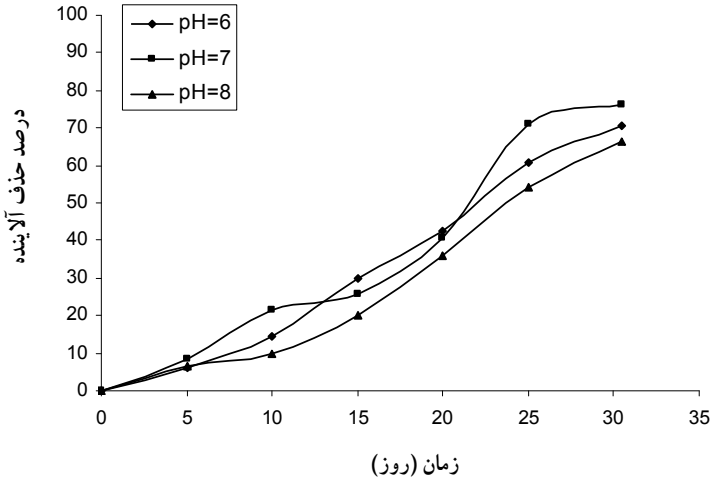
شکل ۳- راکتور راه‌اندازی شده

جدول ۵- مشخصات و ترکیبات داخل راکتورها

متغیر	شماره راکتور	وزن خاک (گرم)	حجم مواد مغذی (میلی‌لیتر)	غلظت گازوئیل (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)	تلقیح میکربی	دما (درجه سانتی‌گراد)	pH اولیه	اکسیژن محلول (میلی‌گرم بر لیتر)
	۱	۸۳۷۰	۳۰۲۰	۳۰۰۰	Mix	۲۵	۸	۴
دما	۲	۸۳۷۰	۳۰۲۰	۳۰۰۰	Mix	۳۰	۸	۴
	۳	۸۳۷۰	۳۰۲۰	۳۰۰۰	Mix	۳۵	۸	۴
	۴	۸۳۷۰	۳۰۲۰	۳۰۰۰	Mix	۳۰	ثابت = ۶	۴
pH	۵	۸۳۷۰	۳۰۲۰	۳۰۰۰	Mix	۳۰	ثابت = ۷	۴
	۶	۸۳۷۰	۳۰۲۰	۳۰۰۰	Mix	۳۰	ثابت = ۸	۴
	۷	۸۳۷۰	۳۰۲۰	۳۰۰۰	Mix	۳۰	۸	۲
DO	۸	۸۳۷۰	۳۰۲۰	۳۰۰۰	Mix	۳۰	۸	۴
	۹	۸۳۷۰	۳۰۲۰	۳۰۰۰	Mix	۳۰	۸	۶



شکل ۴- تأثیر دما بر درصد حذف الاینده برحسب زمان- راکتور های ۱ تا ۳



شکل ۵- تأثیر pH بر درصد حذف آلاینده برحسب زمان- راکتورهای ۴ تا ۶

شکلهای ۴، ۵ و ۶ به ترتیب تأثیر پارامترهای دما، pH و غلظت اکسیژن محلول بر درصد حذف آلاینده از خاک را، براساس نتایج به دست آمده از آزمایشهای TOC نشان می‌دهند. به منظور اطمینان از نتایج به دست آمده از آزمایشهای TOC، روند حذف آلاینده توسط آزمایشهای COD نیز مورد بررسی قرار گرفت که از ذکر نتایج آن صرفنظر شده است[۱۰]. جدول ۶، مقادیر بهینه پارامترهای دما، pH و اکسیژن محلول را شامل می‌شود که براساس آزمایشها و نتایج حاصله از بخشهای قبل به دست آمده‌اند. این مقادیر، شرایط لازم برای عملکرد بهینه فرآیند احیای بیولوژیکی خاک در شرایط آزمایشگاهی- که ذکرشان رفت- می‌باشد.

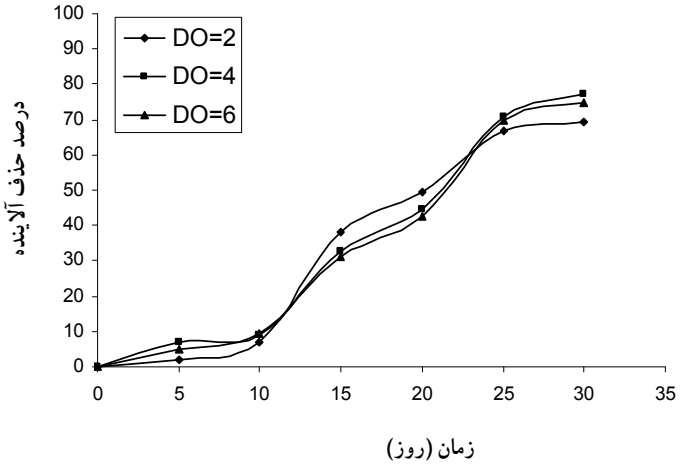
۴- نتیجه گیری

۱- در ابتدای راه اندازی راکتور، نرخ تجزیه و حذف آلاینده کند است (به علت کم بودن غلظت میکروارگانیسم و فاز تأخیری میکروارگانیسم‌ها، ناشی از عدم سازگاری با محیط رشد جدید).

۲- پس از حدود ۱۰ روز (بسته به شرایط آزمایش) نرخ حذف آلاینده افزایش می‌یابد. در این زمان، براساس اندازه‌گیریهای انجام یافته، میکروارگانیسم‌ها وارد فاز لگاریتمی رشد خود شده‌اند.

۳- پس از حدود ۲۵ روز به علت کاهش غلظت برخی از عناصر مورد نیاز برای رشد سلولی و یا رقابت میان میکروارگانیسم‌ها و ضعیف شدن آنها، نرخ حذف به تدریج کاهش می‌یابد و میکروارگانیسم‌ها وارد فاز مرگ خود می‌شوند. نتایج حاصل از اندازه گیریهای غلظت سلولی و همچنین دانسیته نوری نیز این موضوع را تأیید می‌کند.

۴- با توجه به نتایج آزمایشها، با توجه به شرایط محیطی، میکروارگانیسم‌های جدا شده، پس از ۳۰ روز قادرند بین ۵۰ تا ۸۳ درصد آلاینده مورد نظر را تجزیه و حذف نمایند که با توجه به زمان عملکرد آن (۳۰ روز) مقدار رضایت بخشی به نظر می‌رسد.



شکل ۶- تاثیر DO بر درصد حذف آلاینده برحسب زمان – رآکتور های ۷ تا ۹

جدول ۶- مقادیر بهینه پارامترهای مختلف

پارامتر	مقدار
دما (درجه سانتی‌گراد)	۳۵
pH	۷
اکسیژن محلول (میلی‌گرم بر لیتر)	۴

۵- نتایج مطلوب حاصل از آزمایشها، نشان می‌دهد با استفاده از امکانات آزمایشگاهی موجود در داخل کشور و میکروارگانیسم‌های بومی، امکان تصفیه بیولوژیکی خاکهای آلوده به هیدروکربن‌های نفتی، در داخل کشور بدون نیاز به وارد کردن گونه‌های خالص شدهٔ میکروارگانیسم‌ها از سایر کشورها وجود دارد.

۵- تشکر و قدردانی

این پروژه تحقیقاتی با حمایت مالی شرکت ملی صنایع پتروشیمی ایران (بخش ایمنی و محیط زیست) به انجام رسیده است که بدین وسیله از مسئولین محترم این شرکت تشکر و قدردانی می‌شود.

۶- مراجع

1- Mirsal Ibrahim, A. (2004). *Soil pollution: origin, monitoring and remediation*, 1st Ed., Springer, Germany.
2- Barry King, R.B., and Long, G.M. (1992). *Practical environmental bioremediation*, 2nd Ed., Lewis Publishers, USA.
3- Mattney Cole, G. (1994). *Assessment and remediation of petroleum contaminated sites*, 1st Ed., Lewis Publishers, USA.
4- Daphne, K., Chakrabarty, A., and Omenn, G. S. (1989). *Biotechnology and biodegradation*, *advanced in applied biotechnology series*, Volume4, 1st Ed., Gulf Publishing Company, USA.
5-Schepart, B. S. (1995). *Bioremediation of pollutants in soil and water*, 1st Ed., ASTM Publication, USA.
6-Rivera-Espinoza, Y., and Dendooven, L.(2004). "Dynamics of Carbon, Nitrogen and Hydrocarbons in Diesel-Contaminated Soil Amended with Biosolids and Maize. " *J. Chemosphere,* 54(3), 379-386.
7- U. S. EPA. (1997). *Recent developments for in situ treatment of metal contaminated soils*, 1st Ed., Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, D.C., USA.
8- WPCF (1995). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 19th Ed., APHA/AWWA/WPCF, Washington D.C., USA.
9- Hinchee, R. E., and Alleman, B. C. (1994). *Hydrocarbon bioremediation,* 1st Ed., Lewis Publishers, USA.
10- Delille, D., Coulon, F., and Pelletier, E. (2004). "Effects of Temperature Warming During a Bioremediation Study of Natural and Nutrient-Amended Hydrocarbon-Contaminated Sub-Antarctic Soils. " *J. Cold Regions Science and Technology*, 40(1-2), 61-70.