بررسی و مقایسه برخی راهکارهای افزایش کارایی زیست پالایی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی

محسن سلیمانی [1]، مجید فرهودی[2]، محسن حمیدپور [3]، سمیرا اکبر[2]

1- استادیار علوم خاک گروه علوم خاک دانشگاه گیلان

2 - کارشناسان ارشد بیوتکنولوژی، شهرک علمی تحقیقاتی اصفهان

3- استادیار علوم خاک گروه علوم خاک دانشگاه ولیعصر (عج) رفسنجان

آدرس پست الکترونیکی مکاتبه کننده: (soleimani57@yahoo.com)

چکیده

زیست پالایی یکی از روش‌های نوین و سازگار با محیط زیست برای حذف و یا کاهش آلودگی‌های نفتی در محیط خاک است. در این تحقیق تاثیر تلقیح باکتری‌های تجزیه کننده نفت، افزودن نیتروژن و فسفر، اضافه کردن آب اکسیژنه، سورفکتانت و ملاس نیشکر و نیز کشت گیاه در مقایسه با تیمار شاهد (افزودن آب به تنهایی به خاک) بر تجزیه هیدروکربن‌های نفتی در 3 خاک از پالایشگاه‌های تهران، اصفهان و اراک پس از گذشت 10 هفته بررسی شده است. نتایج نشان داد که بسته به نوع خاک و غلظت هیدروکربن‌های نفتی در خاک، تاثیر تیمارهای مختلف متفاوت بود. اضافه کردن باکتری‌های تجزیه کننده نفت و افزودن عناصر نیتروژن و فسفر موجب تجزیه 50 تا 60% کل هیدروکربن‌های نفتی در هر سه خاک مورد مطالعه گردید. اضافه کردن ملاس و سورفکتانت تنها در خاک اصفهان با داشتن کمترین غلظت آلاینده‌های نفتی در بین خاک‌های مورد مطالعه، در مقایسه با تیمار شاهد بر تجزیه کل هیدروکربن‌های نفتی تاثیر معنی‌دار نشان داد (30 تا 40% تجزیه). آلکان‌های با زنجیره‌ی 10 تا 25 کربن، بیشترین غلظت هیدروکربن‌های نفتی را در همه‌ی نمونه‌ها به خود اختصاص دادند. همچنین تحت تاثیر تیمارهای مختلف، بیشترین مقدار تجزیه‌ی آلکان‌های خطی نیز در این ترکیبات مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: **زیست پالایی، هیدروکربن‌های نفتی،آلودگی خاک،آلکان**

مقدمه

آلودگی خاک ناشی از فعالیت‌های تولید، توزیع و انتقال نفت و فرآورده‌های مشتق شده از آن یکی از چالش‌های زیست محیطی مهم در کشورهای تولید کننده این محصول استراتژیک است. این موضوع در چند سال اخیر در کشور مورد توجه کارشناسان، مسوولان و محققان دانشگاه و صنعت قرار گرفته است. با توجه به محدودیت‌ها و معضلات روش‌های فیزیکی و شیمیایی مرسوم برای حذف و یا کاهش غلظت آلاینده‌های نفتی در خاک، استفاده از روش‌های زیستی که با محیط زیست سازگار هستند، توصیه شده است (1).

زیست‌سالم‌سازی به طراحی فرآیندهای زیستی با استفاده از ریزسازواره‌ها جهت تجزیهٔ زیستی آلاینده های آلی گفته می‌شود (2). برخلاف برخی از روش‌ها که به‌صورت موقت مؤثرند، این روش می‌تواند یک راه‌حل دائمی برای پالایش خاکهای آلوده به هیدروکربنهای نفتی باشد. در فرآیند تجزیهٔ زیستی، آلاینده‌ها را می‌توان به‌عنوان منبع انرژی و غذا، یا سوبسترای ریزسازواره‌ها در نظرگرفت. در صورت کامل شدن این فرآیند، اکسیداسیون آلاینده منجر به تولید دی-اکسیدکربن و آب می گردد و کربن و انرژی مورد نیاز جهت رشد و تکثیر سلولی فراهم خواهد شد (3).

یکی از محدودیت‌های این روش، نیاز به زمان طولانی و عدم کارایی و یا کارایی پایین در محیط‌های با آلودگی بالاست. امروزه با تلفیق تدابیر مهندسی و زیست‌سالم‌سازی، روش‌های زیست‌سالم‌سازی مهندسی ابداع شده است تا کارایی آن افزایش یابد(2). بنابراین شناخت فرایندهای مهم و تاثیرگذار در روند تجزیه‌ی زیستی آلاینده‌های آلی ازجمله هیدروکربن‌های نفتی می تواند به کاربرد بیشتر زیست پالایی کمک شایانی نماید.
با وجود تحقیقات صورت گرفته در کشور که بیشتر بر استفاده از گیاهان و یا جمعیت باکتریایی شناسایی شده تاکید داشته‌اند(1)، تاکنون تحقیق جامعی در رابطه با شناسایی و مقایسه تاثیر عوامل مختلف افزایش دهنده تجزیه‌ی زیستی آلاینده‌های نفتی صورت نگرفته است. لذا این پژوهش با هدف شناسایی و مقایسه راهکارهای مختلف فرآیند زیست پالایی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی در مناطق مختلف کشور در مقیاس آزمایشگاهی اجرا شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری خاک از 3 نوع خاک مختلف از پالایشگاه‌های تهران، اصفهان و اراک و از عمق 0-20 سانتیمتر صورت گرفت. هر نوع خاک مخلوطی از 5 نمونه مرکب از هر منطقه بود. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه (شامل پ‌هاش، هدایت الکتریکی، مقدار عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم، درصد کربن آلی، بافت، درصد آهک در آزمایشگاه تعیین گردید. به منظور بررسی تاثیر مواد مختلف بر افزایش تجزیه‌ی هیدروکربن‌های نفتی در خاک تیمارهای زیر در نظر گرفته شد:
الف- شاهد : بدون اضافه کردن هیچ نوع افزودنی به غیر از آب و اختلاط خاک در زمان‌های مختلف که این فعالیت‌ها درتیمارهای دیگر انجام می شد.
ب- ملاس: ترکیب ملاس حاصل از فرآیند تولید شکر که از کارخانجات نیشکر خوزستان تهیه گردید. با بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف ملاس در خاک بر فعالیت باکتریهای خاک، غلظت 5% به عنوان مناسبترین غلظت انتخاب گردید.
ج- کشت گیاه: در این قسمت ابتدا آزمایش جوانه زنی گیاه فسکیوی بلند (*Festuca arundinacea*)در اتاقک رشد در دما و رطوبت کنترل شده (رطوبت ظرفیت زراعی) صورت گرفت. بذرهای گیاهان به مدت 10 هفته در خاک رشد کردند و سپس از محیط ریزوسفر نمونه‌برداری شد.
د- آب اکسیژنه: از بین غلظت‌های مختلف 0/1، 1، 2 و 5 درصد حجمی وزنی (v/m) آب اکسیژنه 3% در خاک، با توجه به تاثیر غلظت‌های مذکور بر فعالیت باکتری‌ها تیمار 0/1 % انتخاب گردید.
ه- سورفکتانت: ماده‌ی فعال کننده سطحی یا سورفکتانت انتخابی به نام Tween به میزان 5 درصد حجمی وزنی (v/m) به خاک اضافه گردید.
و- ازت و نیتروژن: میزان اضافه کردن ازت و نیتروژن به خاک با در نظر گرفتن نسبت C:N:P، 100:10:1 و با توجه به غلظت کربن، نیتروژن و فسفر اولیه در خاک محاسبه شد. نسبت مذکور به عنوان یک نسبت بهینه در اکثر آزمایش‌های تجزیه‌ی زیستی نفت معرفی شده است(4).
ز- باکتری‌های تجزیه‌کننده‌ی نفت (غنی سازی خاک با باکتری‌های تجزیه‌کننده‌ی نفت): باکتری‌های مورد استفاده که در تحقیقات قبلی در خاک‌های مورد مطالعه شناسایی و جداسازی شده بودند (4)، به نسبت برابر با هم مخلوط و به خاک اضافه گردیدند. بدین منظور پس از کشت و رشد باکتری‌ها در محیط نوترینت برات (Nutrient Broth)، در یک غلظت معین (OD=1)، سلول‌ها با سانترفیوژ (دور 5000 به مدت 10 دقیقه) رسوب داده شد. سپس رسوب‌های باکتریایی به آرامی با هم مخلوط و در آب سوسپانسیون و به خاک اضافه گردید.

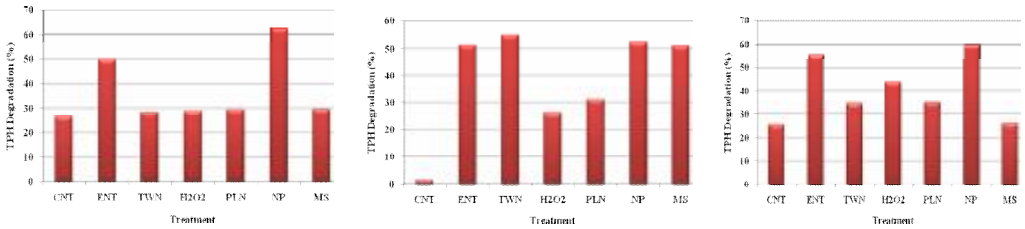
بعد از اضافه کردن ترکیبات فوق به خاک‌های مورد مطالعه، نمونه‌های 200 گرمی خاک در انکوباتور در دمای 30 درجه سانتیگراد به مدت 10 هفته نگهداری شدند. در طول این مدت، رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی حفظ شد و با هر بار اضافه کردن آب به نمونه‌ها (از جمله نمونه شاهد)، خاک به طور کامل اختلاط داده شد. پس از گذشت این زمان از خاک‌های هر تیمار نمونه‌برداری شد و تا زمان اندازه‌گیری کل هیدروکربن‌های نفتی در دمای 4 درجه سانتیگراد نگهداری شد. مقدار کل هیدروکربن‌های نفتی شامل آلکان‌های خطی با زنجیره‌های 10 تا 25 کربن، 25 تا 35 کربن و بیشتر از 35 کربن با استفاده از دستگاه GC-FID در دانشگاه کپنهاگ دانمارک اندازه گیری شد. لازم به ذکر است آلکان‌های با زنجیره کمتر از 10 کربن در خاک‌ها بسیار ناچیز بودند که در آزمایش از آنها صرفنظر شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که اضافه کردن آب به خاک و اختلاط آن(تیمار شاهد)، که نقش مهمی در تهویه خاک دارد، موجب کاهش غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی در خاکهای تهران و اراک پس از گذشت 10 هفته گردید (شکل 1). علت این امر وجود باکتری‌های بومی تجزیه کننده نفت در خاک‌های مذکور می‌تواند باشد که با فراهم شدن رطوبت و اکسیژن، فعالیت آنها افزایش یافته است. از طرفی ممکن است اختلاط خاک بر افزایش هوازدگی فیزیکی هیدروکربن‌های نفتی (تجزیه نوری و یا فرایندهای اکسیداسیون) تاثیرگذار بوده و باعث کاهش غلظت این ترکیبات شده باشد. در خاک اصفهان، تیمار شاهد تاثیر معنی‌داری بر کاهش غلظت هیدروکربن‌های نفتی نشان نداد (شکل 1). غلظت اولیه کل هیدروکربن‌های نفتی در این خاک نسبت به خاک‌های دو منطقه دیگر حدود 5 برابرکمتر بود. ممکن است نوع و غلظت اولیه ترکیبات نفتی، تجزیه‌ی زیستی و یا فیزیکی این آلاینده‌ها را تحت تاثیر قرار داده باشد. تیمارهای مختلف در هر سه نمونه خاک تاثیر متفاوتی بر تجزیه هیدروکربن‌های نفتی داشتند، ولی افزودن باکتری‌های تجزیه کننده‌ی نفت و نیز افزودن نیتروژن و فسفر به خاک در مقایسه با سایر تیمارها تاثیر بیشتری بر کاهش غلظت هیدروکربن‌ها در هر سه خاک داشت (شکل 1). با توجه به این‌که افزودن عناصر نیتروژن و فسفر به خاکهای مورد مطالعه موجب تجزیه 50 تا 60 درصدی کل هیدروکربن‌های نفتی در خاک شد، می‌توان نتیجه گرفت که پتانسیل باکتری‌های بومی در تجزیه‌ی این ترکیبات در خاک‌های مذکور بالا بوده و این ریزسازواره‌ها برای فعالیت بیشتر، نیازمند عناصر غذایی، رطوبت و اکسیژن بوده‌اند.تاثیر اضافه کردن ملاس، آب اکسیژنه، سورفکتانت و کشت گیاه بر تجزیه کل هیدروکربن‌های نفتی در خاک تهران در مقایسه با تیمار شاهد ناچیز بود. میزان تجزیه کل هیدروکربن‌های نفتی در تیمارهای مذکور حدود 30 درصد بود، در حالی‌که با اضافه کردن نیتروژن و فسفر بیش از 60 % هیدروکربن‌های نفتی در خاک تجزیه گردید. اضافه کردن باکتری‌های تجزیه‌کننده به خاک تهران، موجب تجزیه‌ی 50% کل هیدروکربن‌های نفتی پس از گذشت 10 هفته گردید (شکل 1). اضافه کردن نیتروژن و فسفر و نیز باکتری‌های تجزیه‌کننده به خاک اراک نیز نتایجی مشابه خاک تهران داشت. اضافه کردن آب اکسیژنه به خاک اراک باعث افزایش تجزیه‌ی بیش از 40 % کل هیدروکربن‌های نفتی شد، در حالی که کشت گیاه و اضافه کردن سورفکتانت موجب تجزیه‌ی حدود 33 % این ترکیبات در خاک گردید (شکل 1). اضافه کردن ملاس در مقایسه با تیمار شاهد، تاثیر معنی‌داری بر تجزیه‌ی کل هیدروکربن‌های نفتی در خاک نداشت. اضافه کردن باکتری‌های تجزیه‌کننده، نیتروژن و فسفر، سورفکتانت و ملاس به خاک اصفهان موجب افزایش تجزیه‌ی بیش از 50 % کل هیدروکربن‌های نفتی شد (شکل 1). اضافه کردن آب اکسیژنه و کشت گیاه باعث تجزیه‌ی 26 تا 31 % آلاینده‌های نفتی در خاک اصفهان گردید. با توجه به این‌که اضافه کردن ملاس و سورفکتانت به خاک اصفهان در مقایسه با خاک‌های تهران و اراک، تاثیر بیشتری در افزایش تجزیه‌ی هیدروکربن‌های نفتی در خاک نشان داد، ممکن است اضافه کردن این ترکیبات باعث افزایش زیست‌دسترس‌پذیری هیدروکربن‌های نفتی و افزایش تجزیه‌ی

زیستی آلاینده‌های مذکور در خاک شده باشد. در خاک‌های تهران و اراک به‌علت غلظت بالاتر هیدروکربن‌های نفتی، احتمالاً مقدار زیست‌دسترس‌پذیری این ترکیبات هم بیشتر بوده، لذا تاثیر اضافه کردن سورفکتانت و ملاس در این خاک‌ها بر تجزیه هیدروکربن‌ها ناچیز بوده است.

تجزیه آلکان‌های خطی در نمونه‌ها نشان داد که بیشترین بخش را آلکان‌های با زنجیره 10 تا 25 کربن (C_{10}-C_{25}) و کمترین بخش را آلکان‌های با زنجیره بزرگتر از 35 کربن (C_{35} <) به خود اختصاص داده‌اند. آلکان‌های با زنجیره کوتاهتر از 10 کربن در نمونه‌ها شناسایی نشدند. گزارش شده که آلکان‌های خطی با زنجیره کوتاه به‌ویژه آلکان‌های با زنجیره کمتر از 6 کربن به‌راحتی در محیط خاک تبخیر می‌شوند (3). با توجه به این‌که نمونه‌های خاک از سطح برداشت شد و دمای هوا در نقاط نمونه‌برداری معمولاً بالا بوده است، این احتمال وجود دارد که آلکان‌های با زنجیره کمتر از 10 کربن در معرض هوازدگی و یا تجزیه‌ی نوری قرار گرفته‌اند. نکته قابل توجه این است که در اثر تیمارهای مختلف، بیشترین میزان حذف آلکان‌ها در مورد آلکان‌های با زنجیره 10 تا 25 کربن (C_{10}-C_{25}) مشاهده شد. این ترکیبات بیشترین مقدار را در بین آلکان‌های اندازه‌گیری شده در خاک شاهد به خود اختصاص دادند. از طرفی تجزیه-ی زیستی این ترکیبات نسبت به ترکیبات با وزن مولکولی بیشتر، راحت‌تر صورت می‌گیرد و با افزایش طول زنجیره و وزن مولکولی ترکیبات، میزان تجزیه‌ی آنها کاهش می‌یابد (1) که نتایج تجزیه آلکان‌های خطی در تیمارهای مختلف، موید این مطلب است. تفاوت معنی‌داری در تجزیه‌ی آلکان‌های با زنجیره‌ی بزرگتر از 35 کربن در تیمارهای مختلف نسبت به تیمار شاهد مشاهده نشد.



A **B** **C**

شکل 1- درصد تجزیه‌ی کل هیدروکربن‌های نفتی در خاک‌های تهران (A)، اصفهان (B) و اراک (C) پس از 10 هفته در تیمارهای مختلف (CNT : شاهد، ENT : غنی‌سازی باکتریایی، TWN : سورفکتانت Tween ، H_2O_2 : آب اکسیژنه، PLN : کشت گیاه، NP : نیتروژن و فسفر، MS : ملاس)

نتیجه‌گیری

اضافه کردن باکتری‌های تجزیه‌کننده‌ی نفت و نیز افزودن نیتروژن و فسفر به خاک‌های مورد مطالعه منجر به تجزیه بیش از 50 درصد کل هیدروکربن‌های نفتی گردید. پیشنهاد می شود بر اساس نوع خاک و غلظت آلاینده‌های نفتی، راهکار مناسب زیست پالایی انتخاب شود و کارایی آن در مقیاس پایلوت نیز بررسی گردد.

قدردانی

از مسوولین محترم شرکت پالایش و پخش فرآورده‌های نفتی که بخشی از هزینه‌های این طرح را تامین نموده‌اند و نیز آقای جان کریستنسن که در اندازه‌گیری هیدروکربن‌های نفتی همکاری داشته‌اند، سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1- Soleimani M., Afyuni M., Hajabbasi MA., Nourbakhsh F., Sabzalian MR., and Christensen JH. 2010. Phytoremediation of an aged petroleum contaminated soil using endophyte infected and non-infected grasses. Chemosphere 81: 1084-1090.

2- Chen W., Bruhlman F., Richins RD., and Mulchandani A. 1999. Engineering of improved microbes and enzymes for bioremediation. Curr. Opin. Biotechnol. 10: 137-141.

3- Leahy JG., and Colwell RR. 1990. Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment. Microbial Rev. 54(9): 305-315.

4- سلیمانی م، اکبر س، میردامادیان ح، انصاری ا و حاج عباسی م ع.1386. شناسایی باکتری‌های تجزیه‌کننده‌ی آلاینده‌های نفتی در خاک و تاثیر شرایط محیطی بر فعالیت آنها، پنجمین کنگره بیوتکنولوژی ایران، تهران.