



علوم محیطی

علوم محیطی ۱۰، زمستان ۱۳۸۴

ENVIRONMENTAL SCIENCES 10, Winter 2006

۷۱-۸۲

## مطالعه تجزیه زیستی نفت خام سنگین در خاک با مقیاس پایلوت

داریوش مینایی تهرانی

دکترای بیوشیمی، استادیار دانشکده علوم، دانشگاه شهید بهشتی

علی حرفت منش

کارشناس ارشد بخش میکروبیولوژی آب و پساب، پژوهشکده حفاظت صنعتی و محیط زیست، پژوهشگاه صنعت نفت

فرود آذری دهکردی

دکترای محیط زیست، استادیار دانشکده محیط زیست، دانشگاه تهران

### Biodegradation of Heavy Crude Oil in Soil in a Pilot Scale

Dariush Minai-Tehrani, Ph.D.

Assistant Professor, Faculty of Science, Shahid Beheshti University.

Ali Herfatmanesh, M.Sc.

Water and Wastewater Department, Industrial Protection and Environment Section (Microbiology), Petroleum Industry Research Institute.

Forood Azari-Dehkordi, Ph.D.

Assistant Professor, Faculty of Environment, Tehran University

#### Abstract

In oil producing countries, crude oil is one of the most important pollutants of the soil and water. Spillage of crude oil into the soil can be damaging to the environment. Various microorganisms are able to use some fractions of crude oil as their sole carbon source and transform them into non-toxic compounds. In this research, the biodegradation of heavy crude oil in soil under different conditions was studied over a 12-month period in a pilot scale. Cement units with dimensions of  $1 \times 2 \times 0.7$  meters were made and crude oil was added to the soil in a final concentration of 2% (v/w) (20000 ppm). The effect of certain nutrients such as inorganic phosphate and nitrate fertilizers, animal manure and wood shavings on the biodegradation of crude oil was studied. Our results showed that the greatest oil reduction (65%) occurred in the unit which included both the inorganic fertilizers and the wood shavings. In the unit that received animal manure, the reduction of crude oil was 60% and the unit that received only inorganic fertilizers the reduction was 55%. In the unit to which no nutrient was added the reduction was 50%. Our results suggest that the addition of both wood shavings and chemical fertilizer or the addition of animal manure can increase the biodegradation of crude oil in soil.

**Keywords:** Biodegradation, Crude oil, Microorganisms, Nutrients, Soil.

#### چکیده

در کشورهای تولید کننده نفت، این ماده به عنوان یکی از مهم‌ترین آلوده کننده‌های محیط زیست به شمار می‌رود. رها شدن نفت در آب و خاک می‌تواند سبب آسیب به موجودات زنده شود. یکی از راه‌های مناسب جهت کاهش آلودگی نفتی از خاک، زیست‌درمانی می‌باشد. برخی از میکروارگانیسم‌ها قادرند از بعضی ترکیبات موجود در نفت به عنوان ماده غذایی استفاده کرده و آن‌را تبدیل به مواد ساده‌تر مثل آب و دی‌اکسید کربن نمایند. در این تحقیق چگونگی تخریب زیستی نفت خام در خاک با مقیاس نیمه صنعتی (پایلوت) مطالعه شد. قطعه زمین‌هایی به ابعاد  $2 \times 1$  متر و ارتفاع ۷۰ سانتی‌متر از سیمان تهیه شد و خاک آلوده به نفت خام سنگین (v/w) ۲ درصد (۲۰۰۰۰ ppm) در حدود ۰/۸ متر مکعب به هر خانه اضافه شد و مواد افزودنی از قبیل کود شیمیایی فسفات و نترات، کود حیوانی و تراشه چوب به خانه‌های مختلف اضافه شد و روند تخریب زیستی نفت در هر خانه در مدت ۱۲ ماه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین کاهش به میزان ۶۵ درصد در زمینی که به آن کود شیمیایی و هم‌زمان تراشه چوب داده شده بود دیده شد. در زمینی که به آن کود حیوانی اضافه شده بود مقدار کاهش در حدود ۶۰ درصد و در زمینی که در آن فقط از کود شیمیایی استفاده شده بود، کاهش نفت در حدود ۵۵ درصد بود. در نهایت در زمینی که در آن هیچ‌گونه از فاکتورهای مواد افزودنی اعمال نشده بود میزان کاهش در حدود ۵۰ درصد بود. به این ترتیب مشاهدات ما نشان داد که استفاده هم‌زمان از تراشه چوب و کود شیمیایی و یا استفاده از کود حیوانی در خاک می‌تواند، راندمان تخریب زیستی نفت را بالا ببرد.

**کلیدواژه‌ها:** تخریب زیستی، نفت خام، میکروارگانیسم، مواد افزودنی، خاک.

## مقدمه

نفت یکی از مهم ترین موادی است که امروزه به عنوان ماده تامین کننده انرژی استفاده می شود. از این ماده نه تنها به عنوان انرژی بلکه به عنوان ماده اولیه ساخت بسیاری از مواد مورد استفاده بشر نیز استفاده می شود.

متاسفانه در کشورهای تولید کننده نفت، این ماده به عنوان یکی از بزرگترین آلوده کننده های محیط زیست به شمار می رود. رها شدن نفت در خاک و آب به هنگام استخراج، حمل و پالایش سبب آسیب جدی به اکوسیستم ها و محیط زیست می شود. در نفت ترکیباتی وجود دارد که برای انسان و موجودات خطرناک بوده و می تواند سبب مرگ در موجودات و یا ایجاد آسیب های جدی مثل سرطان در انسان شود (Armstrong, 2004; Gibbs, 1997; Hammond, 1976). ترکیبات موجود در نفت خام را می توان به چهار برش اصلی تقسیم نمود که شامل: ۱- هیدروکربن های اشباع ۲- هیدروکربن های آروماتیک ۳- رزینها ۴- آسفالتین است (Leahy, 1990; Colwell, 1977). برخی از میکروارگانیسم ها قادرند از بعضی از ترکیبات موجود در نفت به عنوان ماده غذایی استفاده کرده و سبب تجزیه زیستی آنها شده و آنها را تبدیل به مواد کوچکتر مثل آب و دی اکسید کربن کنند (Leahy, 1990; Atlas, 1981). برشهای هیدروکربنی اشباع اولین موادی هستند که مورد تجزیه زیستی قرار می گیرند (Atlas, 1981; Jobson, 1972; Walker, 1976). بعضی از برش های آروماتیک نیز می توانند توسط میکروارگانیسم ها تجزیه شوند (Cerniglia, 1984; Cerniglia, 1992; Shuttleworth, 1995; Johnsen, 2005). ولی رزینها و آسفالتین به خاطر پیچیدگی که در ساختمان آنها وجود دارد ممکن است تجزیه نشده و یا به مقدار اندک بوسیله کومتابولیسیم تجزیه شوند. تجزیه زیستی نفت خام در خاک در مقیاس آزمایشگاهی، پایلوت و میدانی مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعات نشان داده است که عواملی در تجزیه زیستی نفت خام

موثرند که می توان به دما، میزان اکسیژن، رطوبت و مواد افزودنی اشاره نمود (Leahy, 1990). همچنین اضافه کردن باکتری های تجزیه کننده نفت به خاک آلوده در مقیاس آزمایشگاهی موثر بوده (Hozumi, 2000; Aldrett, 1997) ولی در مقیاس پایلوت و میدانی تاثیر زیادی در حذف آلودگی های نفتی نداشته است (Goldstein, 1987).

برای کاهش میزان آلودگی نفتی در مقیاس پایلوت و آزمایشگاهی از روش های مختلفی استفاده می شود که در یکی از موثرترین آنها برای هوادهی به بخش های مختلف خاک، با وسایل مختلف خاک را زیر و رو کرده تا اکسیژن کافی در اختیار میکروارگانیسم ها قرار بگیرد. همچنین اضافه کردن مواد افزودنی مثل نمک های فسفات و نیترات می تواند در افزایش تجزیه زیستی نفت در مقیاس آزمایشگاه، پایلوت و میدانی بسیار مهم باشد (Radwan, 2000; Radwan, 1995).

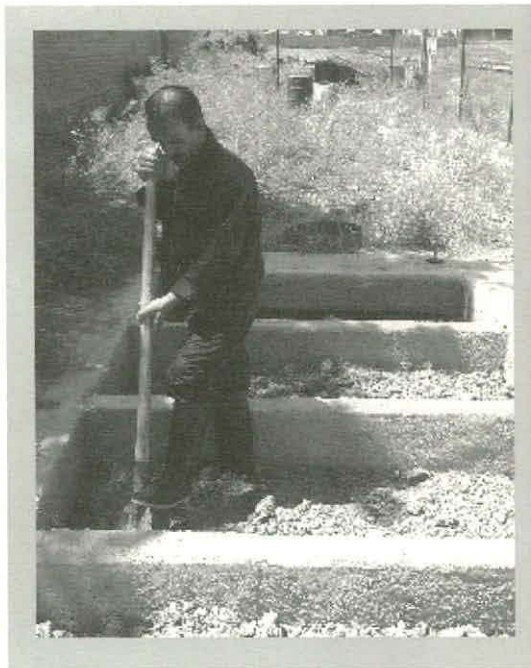
در مطالعه ای که انجام شد و برای اولین بار در ایران در مقیاس پایلوت انجام گرفت، تاثیر افزودنی های مختلف از جمله کودهای شیمیایی، کود حیوانی و تراشه چوب در کاهش زیستی نفت خام در خاک در طول ۱۲ ماه مورد مطالعه قرار گرفت.

## مواد و روش ها

### آماده سازی زمین

قطعات زمین (خانه) به ابعاد ۱×۲ متر و به ارتفاع ۷۰ سانتی متر از سیمان آماده گشت. یک خروجی آب سراسری برای زمین ها در نظر گرفته شد که به یک چاهک ختم می شد. توسط این خروجی آب اضافه که در اثر بارندگی شدید در خاک جمع می شد، به طرف چاهک راهنمایی شده و دوباره این آب به خانه ها بازگردانده می شد. به هر خانه ها مقدار ۰/۸ متر مکعب خاک اضافه شد. خاک خشک به میزان (v/w) ۲ درصد (۲۰۰۰۰ ppm) به نفت خام سنگین (API=۲۰) آلوده شد به طوریکه با مخلوط کردن مناسب نفت و خاک خشک، مخلوطی یکنواخت از خاک آلوده تهیه گشت.

سپس در هر زمین شرایط مختلفی اعمال شد. در نمونه‌ای که به عنوان شاهد خشک نامگذاری شد. هیچ گونه مواد افزودنی اضافه نشد و فقط خاک به نفت خام آلوده گشت. این خاک در زیر یک سقف محافظ قرار داشت تا از دسترسی آب باران دور باشد و هر یک روز در میان زیر و رو می‌شد تا هوادهی به خاک انجام شود زمینی که به عنوان شاهد مرطوب مشخص شد، فاقد مواد افزودنی بود و تنها تفاوت آن با زمین شاهد خشک در این بود که این زمین در معرض آب باران قرار داشت و در آن هوادهی انجام نمی‌شد. زمین‌های دیگر که با شماره ۱ تا ۴ مشخص شدند، هر یک روز در میان آبیاری شده و خاک آنها با بیل زیر و رو می‌شد. در زمین شماره ۱ هیچ گونه مواد افزودنی اضافه نشد. در زمین شماره ۲ به مقدار (w/w) ۵ درصد کود حیوانی اضافه شد. به زمین شماره ۳ کود شیمیایی فسفات و نیترا تبه میزان ۲۰۰ میلی گرم نیترا ت و ۵۰ میلی گرم فسفات به ازای هر گرم آلودگی هیدروکربنی اضافه شد (Rosenberg, 1996). در زمین شماره ۴ علاوه بر شرایط زمین ۳، به مقدار ۱۰ درصد تراشه چوب نیز اضافه شد. از خاک هر زمین حدود ۱۰۰ گرم نمونه برداشت شد و به عنوان زمان صفر یا شروع در فریزر ۲۰- نگاهداری شد و هر دو ماه یکبار این نمونه برداری تکرار و نمونه‌ها در فریزر ۲۰- نگاهداری شدند.



شکل ۱- نمایی از زمینهای عملیاتی که توسط زیر و رو کردن خاک با بیل عمل هوادهی به بخشهای مختلف خاک انجام شد.

### آنالیز خاک

خاک کشاورزی از اطراف پژوهشگاه صنعت نفت تهیه شد. نوع خاک در بخش خاک پژوهشگاه صنعت نفت مورد آنالیز قرار گرفت و بافت آن به صورت زیر

### تعیین عوامل اصلی خاک

برای تعیین PH خاک مقدار ۱ گرم خاک از زمین برداشت شد و به آن ۵ میلی لیتر آب مقطر افزوده شد، مخلوط به خوبی تکان داده شد و سپس برای مدتی بی حرکت گذاشته شد تا خاک آن رسوب کند، سپس محلول رویی برای تعیین مقدار PH در نظر گرفته شد (Tan, 1996). PH خاک در حدود ۷/۴ تعیین گشت. برای تعیین مقدار آبی که بایستی به زمین داده شود، ابتدا ظرفیت نگاهداری آب در خاک اندازه گیری شد

توسط اسپکترو فتومتر اندازه گیری شد و با نمونه‌های زمان صفر مقایسه گردید.

### تعیین تعداد کل باکتری‌های خاک

برای تعیین تعداد کل باکتری‌ها در خاک از روش pure-plate استفاده گردید. مقدار ۱ گرم خاک در لوله آزمایش که حاوی ۹ میلی لیتر محلول استریل کلرید سدیم ۹ گرم در لیتر ریخته شد و مخلوط به شدت تکان داده شد و از آن رقت‌های سریال تهیه گردید و سپس از سریال‌های رقیق شده به محیط جامد غنی (نوترینت آگار) انتقال داده شد و پس از ۴۸ ساعت، کولونی‌ها بوجود آمده شمارش شدند.

### نتایج

#### شمارش تعداد باکتری‌ها

شمارش تعداد باکتری‌ها در ماه‌های دوم، ششم و دهم انجام شد (جدول ۱). این جدول نشان می‌دهد که در زمین‌هایی که در آنها هم عمل آبیاری و هم هوادهی انجام شده است یعنی زمین ۱ تا ۴، افزایش تعداد باکتری دیده می‌شود حال آنکه در زمین کنترل مرطوب این افزایش کمتر بوده و در زمین کنترل خشک هیچ‌گونه افزایشی به چشم نمی‌خورد. همچنین در زمین‌های که در آنها کود شیمیایی و حیوانی بکار رفته بود یعنی زمین‌های ۲، ۳ و ۴ افزایش تعداد باکتری بیشتر بود. عملیات کار بروی زمین‌ها از ماه آبان آغاز شد و تا دوازده ماه ادامه یافت. بنابراین شمارش تعداد باکتری‌ها در ماه‌های دی، اردیبهشت و شهریور انجام شد. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود در ماه دوم که دی ماه می‌باشد تعداد باکتری‌ها در تمام نمونه‌ها نسبت به ماه‌های اردیبهشت و شهریور (ماه ششم و دهم) کمتر می‌باشد. همچنین تفاوت زیادی بین تعداد باکتری‌ها در ماه‌های ششم و دهم نسبت به هم دیده نمی‌شود.

مشخص شد. ماسه ۱۲ درصد، شن ۳۸ درصد و رس ۶۰ درصد و مقدار مواد آلی ۳/۴ درصد، فسفات ۰/۱۸۶ درصد و نترات در حد نشانه (trace) مشخص شد.

### تعیین مقدار رطوبت خاک

برای تعیین مقدار رطوبت خاک، مقدار ۱ گرم خاک در ظرف شیشه‌ای ریخته شد و اجازه داده شد تا در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت آب موجود در خاک کاملاً تبخیر شود. سپس خاک دوباره وزن شد و مقدار رطوبت آن از تفاوت وزن خاک مرطوب و خشک به صورت درصد مشخص شد.

### استخراج نفت از خاک

استخراج نفت از خاک طبق روش Marquez-Rocha و با کمی تغییرات انجام شد. مقدار ۲ گرم خاک آلوده وزن شد و به آن حدود ۱۰ میلی لیتر دی کلرو متان اضافه شد. مخلوط به شدت و برای مدت ۳۰ دقیقه تکان داده شد. سپس مخلوط در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد تا خاک آن رسوب نماید. محلول روایی از خاک جدا شد و در ظرف شیشه‌ای که از قبل دقیقاً وزن شده بود ریخته شد. مرحله فوق دوباره تکرار شد. سپس اجازه داده شد که حلال دی کلرو متان برای مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه تبخیر شده و باقیمانده دوباره وزن شد. این وزن مقدار نفت موجود در خاک را مشخص می‌کرد. عمل فوق برای خاک‌هایی که هر دو ماه یکبار از زمین‌ها جمع می‌شد انجام شد و کاهش وزن با زمان صفر هر زمین مقایسه شد.

### تعیین مقدار رنگ نمونه

از مخلوط استخراج شده حلال و نفتی که در مرحله بالا ذکر شد، مقدار ۳ میلی‌لیتر برداشت شد و رنگ آن

جدول ۱- شمارش تعداد کولونی باکتریها در زمینهای عملیاتی (CFU/g soil).

زمان (ماه)	ماه شروع (آبان)	ماه دوم (دی)	ماه ششم (اردیبهشت)	ماه دهم (شهریور)
کنترل خشک	$27 \times 10^3$	$20 \times 10^3$	$14 \times 10^3$	$16 \times 10^3$
کنترل مرطوب	$27 \times 10^3$	$1,5 \times 10^5$	$4 \times 10^6$	$5,5 \times 10^6$
زمین ۱	$27 \times 10^3$	$9 \times 10^5$	$13 \times 10^6$	$20 \times 10^6$
زمین ۲	$27 \times 10^3$	$6,7 \times 10^5$	$18 \times 10^7$	$25 \times 10^7$
زمین ۳	$27 \times 10^3$	$9 \times 10^5$	$17 \times 10^7$	$14 \times 10^7$
زمین ۴	$27 \times 10^3$	$5 \times 10^6$	$20 \times 10^7$	$28 \times 10^7$

### مطالعه کاهش نفت در نمونه‌های پایلوتی

#### نمونه شاهد خشک

در این نمونه که به دور از بارندگی و در زیر یک سقف ولی در هوای آزاد نگاهداری می‌شد و خاک آن نیز هوادهی می‌شد، روند کاهش مواد نفتی در پایان دوازده ماه در شکل ۲ نشان داده شده است. این نمونه به این دلیل طراحی شد که تنها اثر تبخیر بر کاهش مواد نفتی در اثر هم خوردن خاک مطالعه شود، بدون آنکه عواملی مثل رطوبت و افزونی‌های دیگر در این کاهش نقش داشته باشند.

همان‌طوریکه از این شکل مشخص است در حدود ۲۸ درصد از مواد نفتی در طول ۱۲ ماه حذف شده است. روند کاهش رنگ (که با کاهش جذب همراه است) چندان تغییری نداشته و بعد از ۱۲ ماه تغییر زیادی نسبت به زمان شروع دیده نشد.

#### زمین شاهد مرطوب

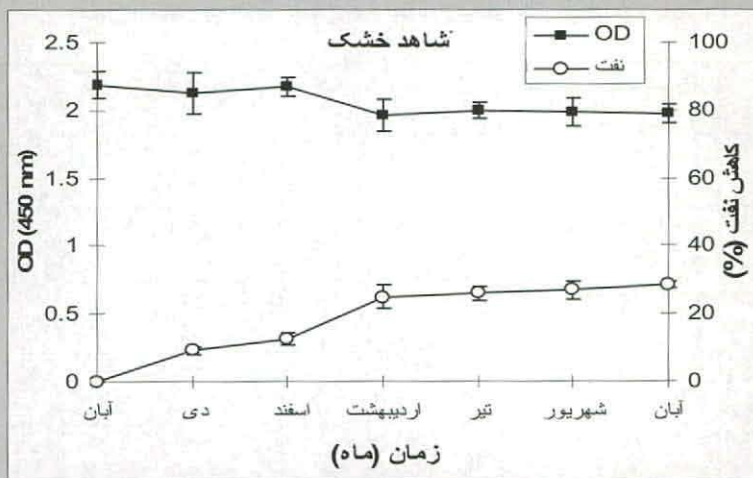
این زمین در فضای باز و بدون پوشش بود و از آب باران تغذیه می‌شد. در این زمین کاهش نفت در حضور رطوبت بررسی می‌شد بدون آنکه عوامل هوادهی در آن

دخاله کند. میزان کاهش نفت در این زمین کمی بیش از نمونه قبل بود، به‌طوریکه کاهشی در حدود ۳۰ درصد را نشان می‌داد (شکل ۳). همچنین میزان تغییرات رنگ نیز با کاهش نفت همخوانی داشت و تغییرات رنگ نمونه‌های آلوده بیش از زمین شاهد خشک بود.

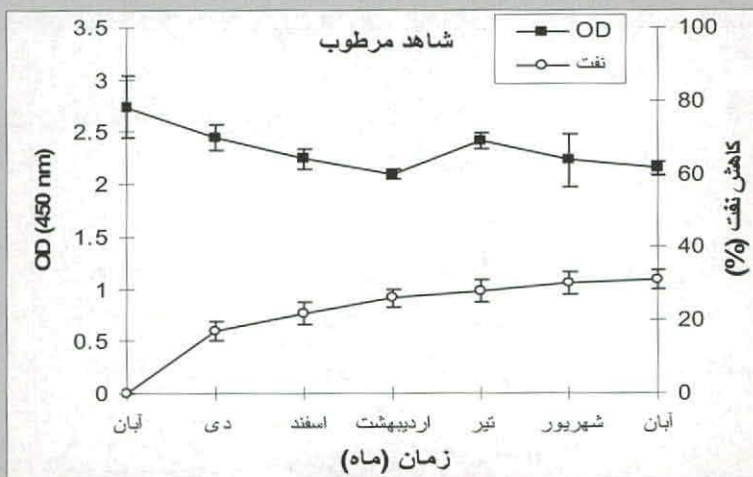
#### زمین شماره ۱

در این زمین فقط از خاک آلوده به نفت استفاده شد، بدون آنکه به آن تراشه چوب، کود حیوانی و یا کود شیمیایی اضافه شود. همچنین این زمین هر یک‌روز در میان آبیاری و هوادهی شد. همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، میزان کاهش نفت در این زمین در حدود ۵۱ درصد بود. همچنین کاهش رنگ نیز در نمونه‌ها به چشم خورده و با کاهش نفت در این نمونه مطابقت داشت.

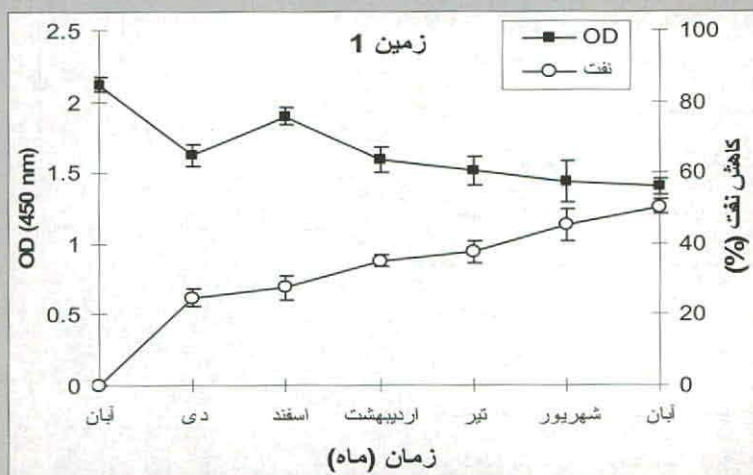
مشکلی که در این زمین به چشم می‌خورد، گلوله شدن خاک مرطوب بود که مانع از ییل خوردن و هوادهی مناسب می‌شد. بنابراین هر بار نیروی زیادی صرف خرد کردن و از بین بردن گلوله‌های گلی می‌شد.



شکل ۲- میزان کاهش نفت در زمین شاهد خشک



شکل ۳- روند کاهش میزان نفت در زمین شاهد مرطوب



شکل ۴- میزان کاهش مقدار نفت در زمین ۱

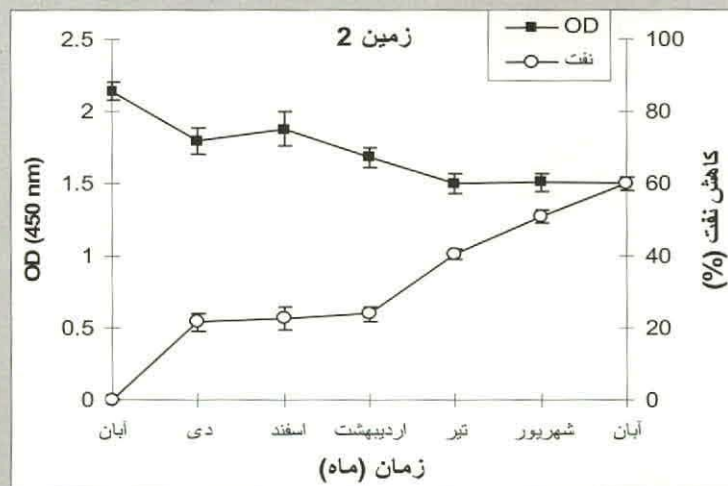
## زمین شماره ۲

در زمین شماره ۲ که به آن کود حیوانی اضافه شده بود. کود حیوانی می‌توانست عناصر مورد نیاز برای تکثیر باکتری‌ها و افزایش جمعیت آنها در خاک را سبب شود. این زمین در تمام طول آزمایش هوادهی و آبیاری شد. میزان کاهش نفت نسبت به زمان شروع در این زمین در طول ۱۲ ماه، در حدود ۶۰ درصد محاسبه شد (شکل ۵). این شکل نشان می‌دهد که طی ماه‌های زمستان و اوایل بهار روند کاهش نفت کندتر از ماه‌های گرم تابستان و اوایل پاییز بوده است. روند کاهش رنگ

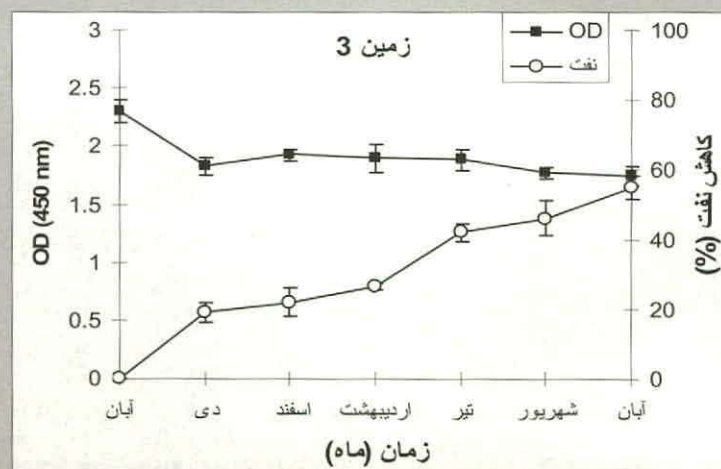
خاک، ناشی از آلودگی نیز هم‌زمان با کاهش نفت دیده شد. در این زمین پدیده گلوله شدن خاک که در زمین شماره ۱ به چشم می‌خورد بسیار کم دیده شد.

## زمین شماره ۳

در این زمین از کود شیمیایی فسفات و نیترا ته به عنوان مکمل و مواد افزودنی استفاده شد. این زمین نیز در طول آزمایش هوادهی و آبیاری شد. میزان کاهش نفت در این زمین نسبت به زمان شروع در حدود ۵۵ درصد محاسبه شد (شکل ۶). این کاهش نسبت به زمین ۲ کمتر بود.



شکل ۵- روند کاهش نفت در زمین شماره ۲. در این زمین از کود حیوانی به عنوان مکمل استفاده شد.



شکل ۶- روند کاهش نفت در زمین ۳. در این زمین از کود شیمیایی به عنوان مکمل استفاده شد.

کاهش میزان رنگ آلودگی با کاهش میزان نفت هم‌خوانی داشت. همچنین روند کاهش در زمستان کندتر از فصول گرم و معتدل بود. در این زمین نیز مثل زمین شماره ۱ پدیده گلوله شدن خاک مشاهده شد.

#### زمین شماره ۴

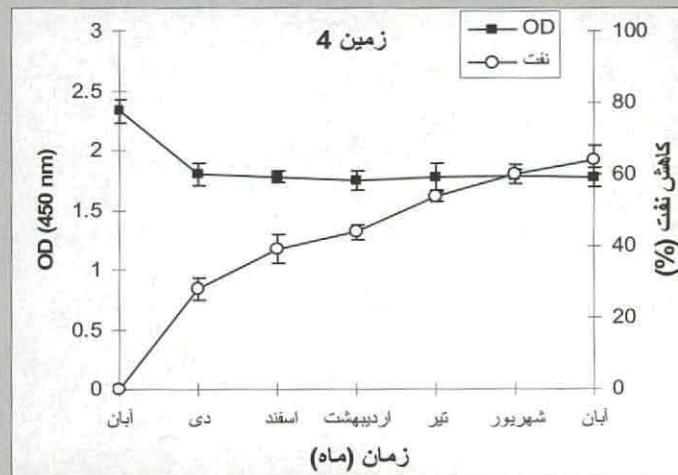
به خاک آلوده در این زمین، هم‌زمان کود شیمیایی و تراشه چوب اضافه شد. این زمین در طول آزمایش، هوادهی و آبیاری شد. میزان کاهش نفت در این خاک نسبت به زمان شروع در حدود ۶۵ درصد بود. میزان

کاهش در این زمین از بقیه زمین‌ها بیشتر بود و میزان کاهش رنگ نیز در نمونه با کاهش آلودگی نفتی هماهنگ بود (شکل ۷). در این زمین پدیده گلوله شدن خاک خیلی کم مشاهده شد.

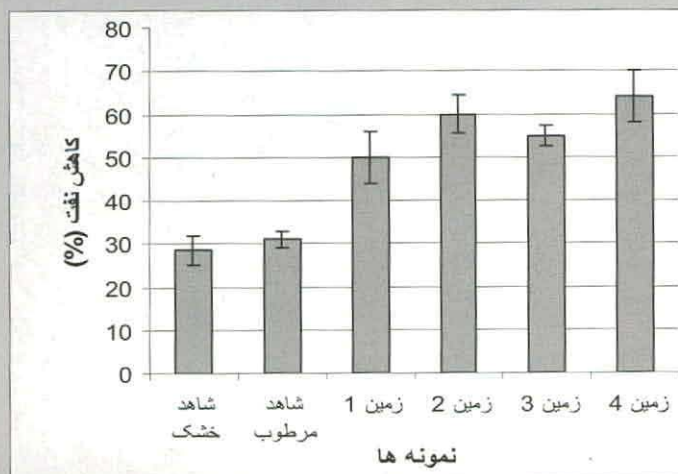
همانطور که از شکل ۸ مشخص است، پس از ۱۲ ماه عملیات بروی زمین‌ها بیشترین کاهش مربوط به زمین شماره ۴ و سپس زمین شماره ۲ بوده است. بایستی توجه داشت که کمترین کاهش در زمین شماره ۱ دیده شد.

#### بحث

مقایسه تعداد باکتری‌ها در نمونه‌ها نشان می‌دهد که



شکل ۷- روند کاهش نفت در زمین ۴. در این زمین از کود شیمیایی و تراشه چوب استفاده شد.



شکل ۸- مقایسه مقدار کاهش نفت در زمینها بعد از ۱۲ ماه



هوادهی مناسب، تامین رطوبت خاک و اضافه کردن کودهای شیمیایی و حیوانی در افزایش تعداد باکتری‌ها موثر بوده که این افزایش می‌توانست در تجزیه زیستی نفت در خاک با اهمیت باشد. در ماه‌های سرد سال یعنی زمستان، تعداد باکتری‌ها در زمین‌ها کمتر از تعداد آنها در فصول معتدل و گرم بود. همچنین روند کاهش نفت نیز در ماه‌های سرد کمتر از ماه‌های گرم بود. مطالعه روند کاهش مقدار نفت در زمین‌ها، نشان می‌دهد که در زمین‌های کنترل خشک و مرطوب، کاهش مقدار نفت تفاوت زیادی با هم نمی‌کرد. در حالیکه در نمونه‌های هوادهی شده که آبیاری نیز می‌شدند (زمین‌های ۱ تا ۴)، مقدار کاهش بیشتری نسبت به کنترل‌ها دیده شد. دو عامل اصلی در کاهش هیدروکربن‌های نفتی در خاک را می‌توان هوازدهی (تبخیر و یا تاثیر نور) و تجزیه زیستی دانست (Nicodem, 1997).

عامل تبخیر را می‌توان در نمونه شاهد خشک مشاهده کرد زیرا این نمونه در طول آزمایش کاملاً از آب دور بود و تعداد باکتری‌ها در آن نسبت به نمونه‌های دیگر کمتر بود در نتیجه عامل تخریب زیستی در آن به حداقل رسیده است، بنابراین مهم‌ترین عامل کاهش را در این نمونه می‌توان تبخیر مواد نفتی دانست. در زمین‌های ۱ تا ۴ که هم آبیاری و هم هوادهی شده بودند، هر دو عامل تبخیر و تخریب زیستی در روند کاهش موثر بوده است. مقایسه این زمین‌ها نشان داد که بیشترین کاهش در زمین شماره ۴ دیده شد که در آن کود شیمیایی و تراشه چوب به کار رفته بود. حضور کود شیمیایی می‌توانست با در اختیار قرار دادن عناصر لازم برای رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها، سبب بالا بردن تعداد آنها در خاک شده در حالیکه تراشه چوب سبب پوک شدن خاک می‌شد و از گلوله شدن خاک جلوگیری می‌کرد. گلوله شدن خاک می‌تواند مانع از رسیدن هوای مناسب به قسمت‌های داخلی خاک در گلوله شود، هوادهی و

حضور اکسیژن در خاک عامل مهمی در تجزیه زیستی نفت به شمار می‌آید (Atlas, 1981; Cerniglia, 1992). همچنین تراشه چوب می‌توانست رطوبت را در خود حفظ کرده و از خشک شدن سریع خاک در فصول گرم ممانعت کند و رطوبت لازم را برای فعالیت میکروارگانیسم‌ها تامین کند. در زمین شماره ۲ که از کود حیوانی استفاده شد، پدیده گلوله شدن خاک کمتر به چشم خورد زیرا ماهیت و شکل فیزیکی کود حیوانی تا اندازه‌ای شبیه به تراشه چوب بود بنابراین حضور آن توانسته بود سبب پوک شدن خاک شده و همچنین مانع از گلوله شدن خاک مرطوب شود. از طرف دیگر وجود کود حیوانی در زمین سبب بالا رفتن تعداد باکتری‌ها و در نتیجه افزایش تخریب زیستی نفت شده بود. پدیده گلوله شدن خاک به مقدار زیاد در زمین‌های شماره ۱ و ۳ مشاهده شد. مقایسه کاهش نفت در زمین ۱ و ۳ که تنها تفاوت آنها فقط حضور کود شیمیایی در زمین شماره ۳ بود، نشان داد که در زمین شماره ۳ میزان کاهش فقط ۵ درصد بیش از زمین شماره ۱ بوده است. این مطلب نشان می‌دهد که افزودن کود شیمیایی به تنهایی در زمین، نتوانسته تاثیر زیادی در کاهش نفت داشته باشد. بعضی گزارشات نیز صحبت از عدم تاثیر افزودنی‌های فسفات و نیتراژ در روند کاهش نفت کرده‌اند (Seklemova, 2001). آلودگی خاک بوسیله نفت خام سبب تغییر رنگ خاک می‌شود. میزان تغییر رنگ خاک به درصد آلودگی و غلظت آن ارتباط دارد، در این آزمایشات مشاهده شد که به تدریج میزان رنگ خاک آلوده به نفت خام سنگین یا گذشت زمان کاهش یافته که این کاهش رنگ به موازات کاهش مقدار نفت در خاک بوده است. چون در صد مهمی از رنگ موجود در نفت مربوط به حضور رزین‌ها و آسفالتین می‌باشد، بنابراین می‌توان کاسته شدن میزان رنگ نمونه‌های نفت استخراج شده از خاک را دلیلی بر کاهش مقدار رزین‌ها و آسفالتین

- to polycyclic aromatic hydrocarbons: A review and Meta-analysis. *Environ Health Perspectives*, 112: 970-978.
- Atlas, R.M. (1981). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiol Rev.*, 45: 180-209.
- Cerniglia, C.E. (1992). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation*, 3: 351-368.
- Cerniglia, C.E. (1984). Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Adv. Appl. Microbiol.*, 30, 31-70.
- Colwell, R.R., J.D. Walker (1977). Ecological aspects of microbial degradation of petroleum in the marine environment. *Crit. Rev. Microbiol.*, 5:423-445.
- Gibbs, G.W. (1997). Estimating residential polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) related lung cancer risk using occupational data. *Ann. Occup. Hyg.*, 41: 49-53.
- Goldstein, R.M., L.M. Mallory, and M. Alexander (1985). Reasons for possible failure of inoculation to enhance biodegradation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 50: 977-983.
- Hammond, E.C., I.J. Selikoff, P.L. Lawther, and H. Seidman (1976). Inhalation of benzpyrene and cancer in man. *Ann NY Acad Sci.*, 271: 116-124.
- Hozumi, T., H. Tsutumi, and M. Kono (2000). Bioremediation on the shore after an oil spill from Nakhodka in the Sea of Japan. I. Chemistry and characteristics of heavy oil loaded on the Nakhodka and biodegradation tests on oil by a bioremediation agent with microbial culture in the laboratory. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 533-552.
- Jobson, A., F.D. Cook, and D.W.S. Westlake (1972). Microbial utilization of crude oil. *App. Microbiol.* 23: 1082- 1089.
- Johnsen, A.R., L.Y. Wick, and H. Harms (2005). Principles of microbial PAH-degradation in soil. *Environ. Pollut.*, 133: 71-84.
- Leahy, J.G., R.R. Colwell (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol. Rev.*, 54: 305-315.
- Marquez-Rocha F.J., V.Z. Hernandez-Rodriguez and M.A. Teresa Lamela (2000). Biodegradation of diesel oil in soil by microbial consortium. *Water, Air, Soil Pollut.*, 128: 313-320.

دانست که یا در اثر هوازدگی و یا در اثر تخریب زیستی کاهش یافته‌اند. تقریباً در تمامی نمونه‌ها کاهش مقدار رنگ با کاهش نفت خام هماهنگ بود که می‌توان این‌طور پیشنهاد کرد که همزمان با ترکیبات اشباع و آروماتیک که بیشتر مورد تجزیه زیستی قرار می‌گیرند، رزین‌ها و آسفالتین نیز کاهش نشان داده‌اند.

### پیشنهادات

با توجه به یافته‌های فوق که قابل تعمیم به مقیاس میدانی می‌باشد، پیشنهاد می‌شود که برای بالا بردن راندمان زیست‌درمانی نفت در خاک از عواملی مثل کود حیوانی و کود شیمیایی که سبب افزایش تعداد باکتری‌های خاک می‌شود و همچنین از مواد پوک کننده خاک مثل تراشه چوب استفاده شود. همچنین هوادهی مناسب و رطوبت کافی می‌تواند در تخریب زیستی نفت بسیار با اهمیت باشند.

### تشکر و قدردانی

هزینه این تحقیق توسط شرکت ملی نفت ایران تامین شد. این تحقیق بخشی از طرح جامع "مطالعات زیست محیطی ناشی از عملیات نفت" بوده است که در پژوهشگاه صنعت نفت انجام شد. بدین وسیله از آقای محمد رضا حسنی نژاد فرهانی مسئول طرح و آقای مهندس علی وکیلی رئیس پژوهشگاه صنعت نفت تشکر می‌شود. همچنین از آقای فرهاد بابا زاده به خاطر همکاری ایشان در انجام این تحقیق سپاسگزاریم.

### منابع

- Aldrett, S., J.S. Bonner and T.J. McDonalds (1997). Degradation of crude oil enhanced by commercial microbial cultures. *Proceedings of 1997 International Oil Spill Conference*. American Petroleum Institute, Washington DC p: 995-996.
- Armstrong, B., E. Hutchinson, J. Unwin, and T. Fletcher (2004). Lung cancer risk after exposure

- Nicodem, D.E., M.C. Fernandes, C.L.B. Guedes, and R.J. Correa (1997). Photochemical processes and the environmental impact of petroleum spills. *Biogeochemistry*, 39: 121-138.
- Radwans, S., Al-Mailem D., I. El-Nemr, and S. Salamah (2000). Enhanced remediation of hydrocarbon contaminated desert soil fertilized with organic carbons. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 46: 129-132.
- Radwan S.S., N.A. Sorkhoh, and F. Fardoun, R.H. Al-Hasan (1995). Soil management enhancing hydrocarbon biodegradation in polluted Kuwaiti desert. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 44: 265-270.
- Rosenberg, E., and E.Z. Ron (1996). Bioremediation of petroleum contamination. In R.L. Crawford and D.L. Crawford (Eds) *Bioremediation principles and applications*. Cambridge Univ Press, UK, 100-124.
- Seklemova, E., A. Pavlova and K. Kovacheva (2001). Biostimulation-based bioremediation of diesel fuel: field demonstration. *Biodegradation* 12: 311-316.
- Shuttleworth, K.L., and C.E. Cerniglia (1995). *Environmental aspects of PAHs biodegradation*. 54: 291-302.
- Tan, K.H. (1996). *Soil sampling, preparation, and analysis*. Marcel Dekker, NY.
- Walker, J.D., R.R. Colwell and L. Petrakis (1976). Biodegradation rates of components of petroleum. *Can. J. Microbiol.*, 22: 1209- 1213.





علوم محیطی

علوم محیطی ۱۰، زمستان ۱۳۸۴  
ENVIRONMENTAL SCIENCES 10, Winter 2006

## CONTENTS

- **Environmental Vulnerability Strategies Policies related to development projects in Albroz Environmental areas** ..... 1  
*Mohammad Hossein Sharifzadegan, Hamid Fathi*
  
- **Inter-Population Morphological Diversity in *Chalcalburnus chalcoides* (Gueldenstaedt, 1772) in Haraz and Gzafrud Rivers** ..... 21  
*Hossein Rahmani, Bahram Hassanzadeh Kiabi*
  
- **Composition and Species Diversity of Vertebrates in Ardabil Province** ..... 35  
*Elham Sheikh Jabbary, Hosein Sheikh Jabbary*
  
- **Methanogenic Life under Extreme Conditions in an Oil Reservoir** ..... 51  
*M. Sadat Tabatabaee, M. Mazaheri Assadi*
  
- **Study of Effects of Environmental Factors on Biodegradation of Crude Oil, by Pars Q2, an Extreme Halophilic Archea Bacterium and Gravimetric Determination of Used Crude Oil by this Bacterium under Optimal Conditions** ..... 59  
*Gholamhossein Ebrahimpour, Jamshid Fooladi, Atousa Ferdousi*
  
- **Biodegradation of Heavy Crude Oil in Soil in a Pilot Scale** ..... 71  
*Dariush Minai-Tehrani, Ali Herfatmanesh, Forood Azari-Dehkordi*
  
- **Recoynition of arbuscular - mycorriza fungi (AMF) and root colonization peroeantage in Kharturan biospher reserve** ..... 83  
*Farah Karimi, Somayeh Zangeneh, Morteza Yousefzadi, Hasan Zarre Mayvan, Ph. D.*

## For Authors

**Aims and Scope:** This international journal is created to encourage the exchange of theoretical and applied research as well as policy options on the environment. Contributions are invited on topics related to environmental and resource economics, environmental law, biodiversity and ecosystem management, agriculture and the environment, planning and design of the environment. Special issues on particular topics will be published from time to time.

**Audience:** The intent of this journal is to serve natural and applied scientists, students, planners, policy-makers, administrators and all other groups concerned with the environment.

**Manuscript Submission:** Authors should send the final, revised version of their articles in English to the Editor-in-chief, in both hard copy and electronic file. The electronic version on diskette or CD must match the hardcopy exactly. The name of the author(s) should appear at the first page, giving the present position of the author(s), a full address, phone number, fax number and current email address. The articles (around 5000 words in length) should be typed, double-spaced on one side of A4 size paper. Papers should be structured into headed sections, for example as follows: Title page, Abstract (not exceeding 200 words), Keywords (3-5), Introduction, Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, Notes and References. Each section should be identified by the main heading. Other sub-headings within the main headings should be limited. Please use endnotes rather than footnotes. Scripts and disks will not normally be returned unless special arrangements have been made.

**Manuscript Review:** After manuscripts are submitted, they are first screened for basic format and completeness, to ensure that the manuscript guidelines have been adequately followed. Following this, the manuscripts are evaluated by the Editor-in-Chief to confirm that the paper fits the scope of the journal, adequately addresses questions and literature relevant to the field of Environmental Sciences. Furthermore, that the manuscript's subject is in proper form and represents a quality sufficient to be further considered for review. Three reviewers will review each paper. The Editor-in-Chief, at his discretion, will convey referees' comments. The recommendation may be for i) minor revision, ii) major revision, or iii) rejection.

**Copyright and Offprint:** Articles submitted for publication should not be under consideration for publication elsewhere. Papers accepted become the copyright of the Journal. Ten off prints of each paper are supplied free together with three copies of the issue in which the paper appeared.

**References:** References should be indicated in the typescript by giving the author's name, with the year of publication and page numbers, in parentheses. If several papers by the same author and from the same year are cited, a, b, c, etc. should be appeared after the year of publication. The references should be listed in full at the end of the paper in the following standard forms,

References to books: author's or editor's name (year of publication). *title*. place of publication: publisher.

References to articles in an edited collection: author's name (year of publication). article title. editor's name. *title of collection*. place of publication: publisher.

References to articles in conference proceedings: author's name (year of publication). article title. editor's name (if any). *title of proceedings*. place and date of conference and/or organization from which the proceedings can be obtained. place of publication: publisher. first and last page numbers.

References to articles in periodicals: author's name (year of publication). article *title*. *full title of periodical*, volume number (issue number where appropriate): first and last page numbers.

References to technical reports or doctoral dissertations: author's name (year of publication). *title of report or dissertation*. location of institution: institution.

**Tables and Illustrations:** Tables should be typed with the approximate position in the text indicated. Submit your graphs, maps, line drawings and photographs with captions as hardcopy printouts and in an electronic format. This helps us to reproduce your work to the best possible standards, ensuring accuracy, clarity and a high level of detail. Consider the page format of the journal when designing the illustrations and mark their appropriate positions in the article.

**Book Reviews:** The review section carries reviews of books and is intended to promote discussion of a topical area. The length of reviews varies considerably but tend to be in the region of 1000-1500 words. Reviewers are encouraged to ensure that the context and significance of the publication in question compared with other works on the subject is explained.

**Proofs:** One set of page proofs will be sent to the corresponding author, to be checked for typesetting/editing and should be returned to the editorial office by the deadline indicated. Where major developments have taken place to incorporate postscripts, authors should discuss this with the editor at the time.

**Authority and responsibilities:** The Editor and the Publisher accept no responsibility for opinions and statements of authors.



Publisher	Environmental Sciences Research Institute (ESRI) · Shahid Beheshti University
Managing Editor	Houman Liaghati (Ph.D. in Agriculture) <i>Assistant Professor, Shahid Beheshti University</i>
Editor-in-Chief	Masoud Sheidai (Ph.D. in Plant Cytogenetic) <i>Professor, Shahid Beheshti University</i>
Assistant Editor	Faraham Ahmadzadeh (M.Sc. in Zoology) <i>Instructor, Shahid Beheshti University</i>

#### Editorial Board

Ardeshir Amir-Arjomand (Ph.D. in Law)  
*Associate professor, Shahid Beheshti University*

Habib Bagheri (Ph.D. in Analytical Chemistry)  
*Professor, Sharif University of Technology*

Janet Blake (Ph.D. in International Law)  
*Assistant Professor, Shahid Beheshti University*

Bagher Zahabioun (Ph.D. in Water & Hydrology)  
*Assistant Professor, Iran University of Science and Technology*

Hossein Riahi (Ph.D. in Mycology)  
*Professor, Shahid Beheshti University*

Eskandar Zand (Ph.D. in Crop Physiology)  
*Assistant Professor, Plant Protection Research Institute*

Mohammad Soltanieh (Ph.D. in Chemical Engineering)  
*Professor, Sharif University of Technology*

Gholamali Sharzei (Ph.D. in Economics)  
*Associate Professor, Tehran University*

Masoud Sheidai (Ph.D. in Plant Cytogenetic)  
*Professor, Shahid Beheshti University*

Seyyed Hassan Sadough Venini (Ph.D. in Morphology)  
*Associate Professor, Shahid Beheshti University*

Mozaffar Sarrafi (Ph.D. in City and Regional Planning)  
*Associate Professor, Shahid Beheshti University*

Asghar Abdoli (Ph.D. in Ecology)  
*Assistant Professor, Shahid Beheshti University*

Ali Ghafari (Ph.D. in Architecture and Urbanism)  
*Professor, Shahid Beheshti University*

Alireza Koucheki (Ph.D. in Agriculture)  
*Professor, Ferdowsi University of Mashhad*

Bahram Hassanzadeh Kiabi (Ph.D. in Wildlife Ecology)  
*Associate professor, Shahid Beheshti University*

Hossein Ganjidoust (Ph.D. in Environmental Engineering)  
*Associate professor, Tarbiat Modares University*

Dariush Mazaheri, (Ph.D. in Agriculture)  
*Professor, Tehran University*

Ghorban Normohammadi (Ph.D. in Agriculture)  
*Professor, Shahid Chamran University*

English Text Editor	Janet Blake
Calligraphy	Yadollah Kaboly Khansary
Print	Safar Mamizad
Layout	Samira Dehghan
Cover Design	Majid Dehghan
Editorial Assistants	Niloofar Farighi, Majid Zohari, Mohammad Abdi

Please submit article for publication to the Editor-in-Chief, in both hard copy and electronic file, by mail and email to the given addresses.



ENVIRONMENTAL SCIENCES  
Quarterly Scientific Research Journal of  
Environmental Sciences Research Institute  
Vol. 3 / No. 10 / Winter 2006

ISSN 1735-1324



Address: Environmental Sciences  
Research Institute (ESRI)  
Shahid Beheshti University  
Evin, Tehran-Iran  
Tel: 0098 21 2243 1971  
Fax: 0098 21 2243 1973  
Email: ESQ-ESRI@sbu.ac.ir



ENVIRONMENTAL SCIENCES RESEARCH INSTITUTE  
SHAHID BEHESHTI UNIVERSITY

# ENVIRONMENTAL SCIENCES

V o l . 3 / N o . 10 / W i n t e r 2 0 0 6

- **Environmental Vulnerability Strategies Policies related to development projects in Albroz Environmental areas**  
Mohammad Hossein Sharifzadegan, Hamid Fathi
- **Inter-Population Morphological Diversity in *Chalcalburnus chalcoides* (Gueldenstaedt, 1772) in Haraz and Gzafrud Rivers**  
Hossein Rahmani, Bahram Hassanzadeh Kiabi
- **Composition and Species Diversity of Vertebrates in Ardabil Province**  
Elham Sheikh Jabbary, Hosein Sheikh Jabbary
- **Methanogenic Life under Extreme Conditions in an Oil Reservoir**  
M. Sadat Tabatabaee, M. Mazaheri Assadi
- **Study of Effects of Environmental Factors on Biodegradation of Crude Oil, by Pars Q2, an Extreme Halophilic Archea Bacterium and Gravimetric Determination of Used Crude Oil by this Bacterium under Optimal Conditions**  
Gholamhossein Ebrahimpour, Jamshid Fooladi, Atousa Ferdousi
- **Biodegradation of Heavy Crude Oil in Soil in a Pilot Scale**  
Dariush Minai-Tehrani, Ali Herfatmanesh, Forood Azari-Dehkordi
- **Recognition of arbuscular - mycorriza fungi (AMF) and root colonization percentage in Kharturan biosphere reserve**  
Farah Karimi, Somayeh Zangeneh, Morteza Yousefzadi, Hasan Zarre Mayvan