

## بررسی کارایی گیاه پالایی در حذف هیدروکربن های نفتی از خاک رسی\_سیلتی با استفاده از آروپوس لیترا لیس

سید نادعلی علوی بختیاروند<sup>۱</sup>، مهدی احمدی مقدم<sup>۲</sup>، ایمان پارسه<sup>۳</sup>، نعمت اله جعفرزاده<sup>۴</sup>، مهرانگیز چهارزی<sup>۵</sup>، مصطفی چرم<sup>۶</sup>

دریافت: ۹۲/۰۲/۲۳ پذیرش: ۹۲/۰۵/۱۸

### چکیده

**زمینه و هدف:** خاک آلوده به هیدروکربن های نفتی (TPH) یک تهدید اساسی برای سلامت انسان بشمار می رود. گیاه پالایی، شامل استفاده از گیاه جهت پالایش خاک های آلوده، یک روش مؤثر و مقرون به صرفه جهت کاهش آلودگی خاک است. هدف این مطالعه بررسی اثر گیاه و مواد مغذی بر حذف TPH از خاک است.

**روش بررسی:** ابتدا با جمع آوری خاک از عمق ۳۰-۰ سانتی متری، تیمارهایی با غلظت آلودگی ۱ و ۲/۵ درصد وزنی\_وزنی آلودگی تهیه گردید. سپس گلدان های آزمایشی به مدت شش ماه جهت تعیین میزان TPH، جمعیت باکتریایی هتروتروفیک، و زیست توده خشک گیاهی مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایش تعیین TPH باقیمانده از طریق دستگاه GC و آزمایش تعیین جمعیت میکروبی به روش شمارش بشقابی هتروتروفیک صورت گرفت. جهت تحلیل داده ها و رسم نمودار به ترتیب از نرم افزار SPSS ۱۷ و Excel استفاده گردید.

**یافته ها:** طبق نتایج حاصله میانگین حذف TPH در خاک کشت شده با گیاه (۲۸/۴۲ درصد) به طور معنی داری ( $p < ۰/۰۵$ ) بیشتر از حذف TPH در خاک بدون گیاه (۱۲/۲ درصد) بود. همچنین، میانگین درصد حذف TPH در خاک دریافت کننده مواد مغذی و خاک بدون مواد مغذی به ترتیب ۳۵/۵ و ۱۷/۷ درصد بود.

**نتیجه گیری:** بطور کلی درصد بالای رس و شوری خاک مورد مطالعه در مقایسه با دیگر مطالعات صورت گرفته، تا حدودی بر کارایی گیاه پالایی اثر منفی بر جای گذاشت. ولی، با توجه به درصد رس و شوری بالای خاک مورد مطالعه، کارایی گیاه پالایی نسبتاً مطلوب بود.

**واژگان کلیدی:** گیاه پالایی، آروپوس، TPH، ریزوسفر

۱- دکتری بهداشت محیط، استادیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز

۲- دکتری بهداشت محیط، استادیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز

۳- (نویسنده مسئول): دانشجوی دکتری مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان iparseh97@gmail.com

۴- دکتری بهداشت محیط، دانشیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز

۵- دکترای فیزیولوژی و اصلاح گل و گیاهان زینتی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه چمران، اهواز

۶- دکترای مهندسی کشاورزی-علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه چمران، اهواز

یکی از مهم‌ترین گروه‌های آلاینده‌های آلی محیطی هیدروکربن‌های نفتی هستند، که اغلب از طریق صنایع نفت و گاز وارد محیط‌زیست می‌شوند. این دسته از ترکیبات TPH (Total Petroleum Hydrocarbon، TPH) ترکیبی از هیدروکربن‌های آلیفاتیک، آروماتیک، هتروسیکلیک و آسفالتن‌ها است، که به چهار بخش تقسیم می‌شود: بخش ۱ (۶C تا ۱۰C)، بخش ۲ (۱۰C تا ۱۶C)، بخش ۳ (۱۶C تا ۳۳C)، و بخش ۴ (۳۴C تا ۵۰C). بخش ۱ و ۲ ترکیباتی فرار و نیمه فرار هستند در حالی که بخش ۳ و ۴ ترکیباتی هیدروفوبیک، مقاوم و سرطان‌زا هستند (۱). هیدروکربن‌های نفتی در زمره آلاینده‌های خطرناک مقاوم هستند، و شامل ترکیباتی بوده که به صورت زیستی در زنجیره غذایی تجمع پیدا می‌کنند و سمیت حادی دارند، و بعضی از آنها مانند بنزن و بنزو (a) پیرن جهش‌زا و سرطان‌زا هستند. این ترکیبات اثرات سوئی بر محصولات کشاورزی، آب‌های سطحی، آب‌های زیرزمینی و کیفیت خاک اراضی دارند، بنابراین ورود آنها به زنجیره غذایی از طریق آب، هوا و خاک آلوده به شدت سلامت انسان را تهدید می‌کنند و باید زایدات حاصله از فعالیت‌های مربوط به صنعت نفت، قبل از دفع به محیط مورد تصفیه قرار گیرند (۲و۳).

روش‌های متنوعی جهت پاک‌سازی خاک‌های آلوده وجود دارد که انتخاب و استفاده یک روش به عوامل متعددی از جمله قوانین سخت‌گیرانه موجود، هزینه، نوع آلودگی، غلظت آلودگی و غیره بستگی دارد. به طور کلی روش‌های پاک‌سازی خاک‌های آلوده به سه طبقه فیزیکی (مانند استخراج بخارات آلاینده از خاک)، شیمیایی (مانند شستشوی خاک)، و زیستی (مانند گیاه‌پالایی) تقسیم می‌شوند که گاه ممکن است ترکیبی از این روش‌ها بکار گرفته شود (۴و۵). گیاه‌پالایی روشی مناسب جهت پاک‌سازی محیط از آلاینده است. گیاه‌پالایی (Phytoremediation) واژه جامعی است که از سال ۱۹۹۱ برای استفاده از گیاه جهت کاهش میزان، تحرک، و سمیت آلاینده از خاک، آب زیرزمینی و یا دیگر محیط‌های آلوده استفاده شده است (۶). این روش یک روش نویدبخش در حذف آلاینده‌ها از خاک است که به دلیل ارزانی و ایمنی بیشتر محیط، نسبت به سایر روش‌های

متداول فیزیکی-شیمیایی تصفیه خاک ارجحیت دارد (۷). در این روش گیاه با استفاده از مکانیسم‌های پاک‌سازی متنوعی در ناحیه ریشه گیاه و یا درون خود گیاه نظیر تثبیت گیاهی (Phytostabilization)، استخراج گیاهی (Phytoextraction)، تبخیر گیاهی (Phytovolatilization)، تجزیه ریزوسفری (Rhizodegradation)، ریزوفیلتراسیون (Rhizofiltration)، تجزیه گیاهی (Phytodegradation) و کنترل هیدرولیکی، آلاینده‌ها را از آب و خاک حذف می‌کند (۸ و ۹). تاکنون مطالعاتی در زمینه گیاه‌پالایی در نقاط مختلف دنیا صورت گرفته است ولی وجه تمایز عمده این مطالعه با سایر مطالعات، نامناسب بودن شرایط خاک مورد مطالعه جهت رشد گیاه و میکروب است که نهایتاً بر کارایی گیاه‌پالایی اثر منفی بر جای می‌گذارد. Hutchinson و همکاران (۲۰۰۰) طی مطالعه ای بر روی گیاه‌پالایی رسوبات آغشته به هیدروکربن‌های نفتی به میزان ۳۵ g/kg soil توسط گیاه Tall fescue میزان حذف TPH در تیمارهای کشت شده با گیاه و بدون گیاه را به ترتیب ۳۵ و ۱۸ درصد گزارش کردند (۱۰). Vouillamoz و همکاران (۲۰۰۱) طی یک مطالعه گلخانه‌ای دریافتند که وجود کمپوست در خاک آلوده به ترکیبات نفتی که با گیاه Ryegrass کشت داده شده بود سبب بهبود تجزیه هیدروکربن‌های نفتی کل (TPHs) می‌شود (۱۱). نتایج مطالعه Abedi - Koupai و همکاران (۲۰۰۷) در ایران در بررسی بر روی اثرات جمعیت میکروبی روی گیاه‌پالایی خاک آلوده به ترکیبات نفتی با استفاده از گیاهان بومی Agropyron، Tall fescue، Lolium، و Puniccellia distance به مدت ۹۰ روز نشان داد که گیاهان مورد مطالعه جهت گیاه‌پالایی خاک‌های دارای سطح آلودگی نسبتاً پایین مناسب هستند (۱۲).

بطور کلی گیاهان مختلفی وجود دارند که می‌توانند عمل گیاه‌پالایی در خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی را انجام دهند ولی نتیجه بررسی‌های انجام شده در دنیا نشان می‌دهد که گونه‌های چمنی و لگومی به دلیل سیستم ریشه‌ای-افشان برای انجام عمل گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی مناسب هستند (۱۳و۱۴). به همین دلیل در این مطالعه از گونه چمنی آلوپوس لیترالیس یا چمن شور ساحلی (Aeluropus)

هماهنگی پرسنل شرکت نفت از یک مکان غیرآلوده جمع آوری شد، بنابراین TPH خاک قبل از آلوده سازی مصنوعی اندازه گیری نشد. مشخصات خاک مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است.

#### - مواد شیمیایی مورد استفاده

نفت خام مورد استفاده در این مطالعه شامل نفت مخازن آسماری (با دانسیته  $860 \text{ g/L}$  و API معادل  $32/47$ ) و نفت مخازن بنگستان (با دانسیته  $900 \text{ g/L}$  و API معادل  $24/15$ ) حاصله از میدان نفتی اهواز بود که با هماهنگی مسئولان شرکت مناطق نفت خیز جنوب از کارخانه نمکزدایی اهواز ۲ دریافت گردید. استون و محیط کشت R2A (ساخت شرکت مرک آلمان) نیز در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت.

#### - گیاه

به دلیل خاصیت تنش‌زای محل‌های آلوده، گیاه انتخابی باید توان تحمل شرایط نامناسب را داشته باشد. در این مطالعه، پس از بررسی سوابق تحقیقات انجام شده در کشور و جهان،

(littoralis) استفاده شده است که شرایط اشاره شده در بالا را دارا هست؛ بعلاوه این گیاه بومی استان خوزستان است و می‌توان با مشکلات کمتری نسبت به گونه‌های غیربومی، نتایج حاصل از این مطالعه در مقیاس عملی و صحرایی بکار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

##### - خاک

در این مطالعه کاربردی مداخله‌ای بررسی تغییرات TPH باقی‌مانده خاک طی فرآیند گیاه پالایی به مدت ۶ ماه تعیین گردید. ابتدا خاک مورد استفاده، از محدوده واحد نمکزدایی اهواز ۲ (واقع در حومه شهر اهواز- ناحیه صنعتی کارون) و با توجه به عمق معمول مؤثر در فرایند گیاه پالایی، از عمق  $0-30 \text{ cm}$  سطح خاک تهیه و جمع‌آوری گردید. سپس مشخصات فیزیکی-شیمیایی آن با استفاده از روش‌های استاندارد خاک شناسی تعیین شد. از آنجایی که خاک مورد مطالعه با

جدول ۱- مشخصات فیزیکی-شیمیایی خاک مورد مطالعه

پارامتر	روش اندازه‌گیری	میزان اندازه‌گیری شده
pH	دوغاب خاک با دستگاه pH متر دیجیتالی	۷/۵۱
EC (dS/m)	با استفاده از دستگاه EC-متر (از عصاره اشباع)	۱۴/۵
درصد رطوبت اشباع	کاهش وزن در دمای $110^{\circ}\text{C}$	۴۳/۱۳
سدیم (meq/L)	فلیم فتومتر	۱۰۴/۹
پتاسیم (meq/L)	فلیم فتومتر	۱۲/۱
کلسیم (meq/L)	تیتراسیون با EDTA	۴۹
منیزیم (meq/L)	تیتراسیون با EDTA	۲۶/۵
مواد آلی (درصد)	والکلی- بلاک	۷/۷۴
سولفات (meq/L)	روش استون از عصاره اشباع	۲۱/۵
فسفر (mg/kg)	روش بی‌کربنات سدیم، اولسن	۵/۶۱
بافت	هیدرومتری	رسی- لومی- سیلتی
رس (درصد)	"	۳۵
لای (درصد)	"	۴۷
شن (درصد)	"	۱۸
آهک (درصد)	"	۴۱

سپس تعداد ۲۰ بذر از گیاه آلوپوس در گلدان ها (به غیر از تیمارهای شاهد) اضافه گردید که بعد از ۱۵ روز به تعداد ۱۰ جوانه در هر گلدان کاهش داده شدند. گلدان های آزمایشی به مدت ۶ ماه در یک محیط کنترل شده شرایط محیطی جهت بررسی توان آلوپوس در حذف آلاینده، و همچنین بررسی تغییرات جمعیت میکروبی خاک شاهد و خاک ریزوسفری مورد آزمایش قرار گرفتند.

منبع نور برای گیاهان، نور طبیعی خورشید بود که برای جلوگیری از تابش شدید نور خورشید در تابستان از حصیرهای مناسب جهت کاهش شدت تابش نیز استفاده گردید. دما و رطوبت نیز با تهیه ۳ دستگاه کولر گازی و یک دستگاه کولر آبی به ترتیب در  $25 \pm 2$  °C و  $55 \pm 10$  درصد کنترل گردید. با توجه به کیفیت و ساختمان و بافت خاک مورد مطالعه، آبیاری به صورت ۲ تا ۳ بار در هفته در ۷۰ درصد ظرفیت نگهداری آب (FC) خاک صورت گرفت. کود معدنی تجاری شامل اوره (۴۶٪ نیتروژن)، سولفات پتاسیم (۶۰٪ پتاس) و دی سولفات آمونیم (۴۶٪ فسفر، ۱۸٪ نیتروژن) پس از حل کردن در آب به تیمارهای دریافت کننده مواد مغذی اضافه گردید. جدول ۴ میزان مواد مغذی اضافه شده را نشان می دهد.

#### - نام گذاری تیمارها

در این مطالعه نام گذاری تیمارها به شکل قراردادی (OR-) +  
X, N% صورت گرفت. ۳ جزء این نام گذاری عبارتند از: ۱- (+) که نشان دهنده افزودن، و (-) یعنی عدم افزودن نوترینت است، ۲- (X)، که نشان دهنده نوع گیاه است، و ۳- N%، که نشان دهنده درصد آلودگی خاک است.

بازدیدهای میدانی از مناطق آلوده مناطق نفت خیز جنوب توسط مشاورین گیاه شناسی، خاک شناسی و محیط زیست بعمل آمد و در نهایت گیاه بومی آلوپوس جهت پالایش هیدروکربن های نفتی در مقیاس گلخانه ای انتخاب شد.

#### - طرح آزمایش

خاک های جمع آوری شده از اطراف واحد نمک زدایی ۲ اهواز در هوای آزاد به صورت لایه های نازکی در آورده شدند و به خوبی کوبیده شدند به طوری که قطر ذرات تا ۳ mm و کاهش یافت؛ سپس جهت آلوده سازی با نفت خام با غلظت های ۱ و ۲/۵ درصد وزنی-وزنی به سالن کارگاه و پایلوت دانشکده بهداشت انتقال داده شدند. برای این کار ابتدا خاک به ۲ قسمت مساوی هر کدام به وزن ۱۲۰ kg تقسیم و به صورت لایه های نازکی پهن گردید. سپس نفت خام با نسبت ۱ به ۳ در استون درجه استاندارد شرکت Merck حل گردید و به شکل اسپری به خاک اضافه شد. میزان نفت خام و استون مورد استفاده با نسبت ۱ به ۳ (نفت خام به استون) جهت تهیه ۲ سطح مختلف آلودگی، در جدول ۲ آورده شده است.

میزان TPH خاک آلوده به نفت خام با غلظت های ۱ و ۲/۵ درصد وزنی-وزنی پس از یک دوره یک ماهه انکوباته در دمای اتاق به ترتیب ۰/۸۶ درصد وزنی-وزنی و ۱/۹ درصد وزنی-وزنی گزارش شد و این میزان به عنوان میزان TPH اولیه در نظر گرفته شد.

پس از آلوده سازی، میزان ۳ kg خاک آلوده شده در هر یک از گلدان های آزمایشی (۲۰ cm ارتفاع، ۲۰ cm قطر) اضافه گردید. سپس تیمارهایی مطابق جدول ۳ در سه تکرار تهیه شد و گلدان های آزمایشی هر ۳ روز به طور تصادفی جابجا می شدند.

جدول ۲- نفت خام و استون مورد استفاده جهت تهیه تیمارهای آلوده

درصد وزنی-وزنی آلودگی	نسبت نفت به استون	استون مورد نیاز (L)	نفت خام مورد نیاز (L)
۱	۱ به ۳	۴/۶۵	آسماری ۰/۶۹۷
			بنگستان ۰/۶۶۶
۲/۵	۱ به ۳	۱۰/۲۳	آسماری ۱/۷۴۴
			بنگستان ۱/۶۶۶

## - نمونه گیری از گیاه

در پایان مطالعه (۱۸۰ روز بعد از کشت گیاهان)، گیاهان به آرامی از خاک جدا شدند و پس از جداسازی ریشه از اندام هوایی، هر یک از این اجرام به طور جداگانه بوسیله شیر آب مورد شستشو قرار گرفتند.

## - روش های تحلیلی و تعیین کمی

## ۱- غلظت هیدروکربن های نفتی کل (TPH)

برای اندازه گیری غلظت هیدروکربن های نفتی کل از کروماتوگراف گازی شرکت Agilent که مجهز به آشکارساز FID بود استفاده گردید. تعیین غلظت هیدروکربن های نفتی کل بر اساس روش UNEP/IOC/IAEA سازمان محیط زیست آمریکا انجام شد. در این روش جهت تعیین غلظت هیدروکربن های نفتی کل خاک، ابتدا ۱۰g از نمونه در عصاره گیر سوکسله با ۲۵۰ mL از مخلوط هگزان و دی کلرومتان (۵۰:۵۰) مورد استخراج قرار گرفت. سپس ۱ μL از عصاره بدست آمده بوسیله دستگاه گاز کروماتوگراف Agilent ۶۸۹۰N مجهز به دتکتور یونیزاسیون شعله ای (FID) و ستون موئینه B-۵ (طول: ۳۰ m، قطر: ۰/۳۲ mm، ضخامت فیلم: ۰/۲۵ μm)، مورد اندازه گیری و تعیین میزان قرار گرفت. جداسازی مطابق برنامه زیر صورت گرفت:

جدول ۳- تعداد کل تیمارها

تکرار	مواد مغذی	گیاه	درصد آلودگی
۳	+	آلروپوس	۱
۳	-	شاهد	
۳	+	آلروپوس	۲/۵
۳	-	شاهد	
۳	-	شاهد	

## - نمونه برداری

## - نمونه برداری از خاک

نمونه برداری با استفاده از اسپاتول های استریل در روزهای ۹۰ و ۱۸۰ صورت گرفت، و نمونه ها خاک پس از یکنواخت سازی و خشک شدن در هوای آزاد از الکهای ۲ mm عبور داده شدند و تا زمان آنالیز نهایی در دمای ۴ °C نگهداری شدند. در شروع مطالعه و قبل از توزین خاک از هر دو بسته خاک ۶ نمونه (از هر بسته خاک ۳ نمونه) گرفته شد و در روزهای ۹۰ و ۱۸۰ از هر گلدان یک نمونه گرفته شد. نمونه های خاک در اعماق نزدیک ریشه گیاه، و در تیمارهای شاهد در اعماق معادل صورت پذیرفت.

جدول ۴- میزان مواد مغذی اضافه شده به خاک آزمایشی (g/pot یا گرم در گلدان)

سولفات پتاسیم	دی فسفات آمونیوم	ازت
۰/۵۲۳ (در شروع مطالعه)	۰/۶۸۲ (در شروع مطالعه)	۰/۴۱۵ (در شروع مطالعه)
۰/۳۴۱ (۳۰ روز بعد از کشت گیاه)	۰/۳۴۱ (۳۰ روز بعد از کشت گیاه)	۰/۳۴۱ (۳۰ روز بعد از کشت گیاه)
۰/۳۴۱ (۶۰ روز بعد از کشت گیاه)	۰/۳۴۱ (۶۰ روز بعد از کشت گیاه)	۰/۳۴۱ (۶۰ روز بعد از کشت گیاه)

## - تعداد باکتری های هتروتروفیک

جهت تعیین جمعیت باکتری های هتروتروفیک خاک تیمارهای مختلف از روش شمارش بشقابی هتروتروفیک (HPC)، استفاده شد. جهت شمارش جمعیت باکتریایی هتروتروفیک نمونه سوسپانسیون خاک (که از حل کردن ۱g خاک در ۱۰۰ mL آب مقطر تهیه شده بود)، یکسری رقت (۱۰<sup>-۱</sup> تا ۱۰<sup>-۵</sup>) تهیه شد و از هر رقت میزان ۱mL نمونه درون پتری دیش استریل ریخته شد و سپس محیط کشت آماده شده RYA به آن اضافه

دمای اولیه آن ۶۰ °C (به مدت ۲ min) بود، و با میزان ۷ °C/min ۲۹۰ °C افزایش یافت (دمای نهایی) و به مدت ۵ min در این دما نگه داشته شد؛ نیتروژن به عنوان گاز حامل (۱ mL/min) و گاز جبرانی (۴۰ mL/min) مورد استفاده قرار گرفت. ۱ μL از عصاره در حالت splitless به دستگاه تزریق شد. سیستم تزریق در دمای ۲۵۰ °C و دتکتور در دمای ۳۰۰ °C نگه داشته شدند.

### یافته‌ها

- میزان TPH و جمعیت میکروبی اولیه در شروع مطالعه  
میزان TPH (بر حسب درصد وزنی-وزنی) و جمعیت میکروبی خاک آلوده به نفت خام (بر حسب کلنی در گرم یا CFU/g) در شروع مطالعه، در جدول ۵ آورده شده است. همانطور که مشاهده می شود میزان TPH اندازه گیری شده در ابتدای مطالعه کمتر از میزان غلظت آلوده سازی در شروع دوره انکوباته است که بدلیل فرارسازی بخشی از ترکیبات نفتی در طول دوره یکماهه انکوباته است.

- تغییرات جمعیت میکروبی طی فرایند گیاه پالایی  
در شکل ۱ جمعیت میکروبی تیمارهای مختلف در پایان ماه سوم و در شکل ۲ در پایان ماه ششم نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می گردد با گذشت زمان، جمعیت میکروبی در طی فرایند گیاه پالایی به دلیل ترشحات ریشه

گردید. برای هر نمونه در هر رقت ۳ تکرار منظور گردید. سپس این پتری‌دیش‌ها به مدت ۲-۳ روز در دمای ۳۵ °C انکوباته شدند. جهت شمارش کلنی‌های باکتری تشکیل شده بر روی پتری‌دیش‌ها بعد از دوره انکوباسیون، از دستگاه کلنی-کانتر استفاده شد.

### - تعیین زیست توده خشک گیاهی

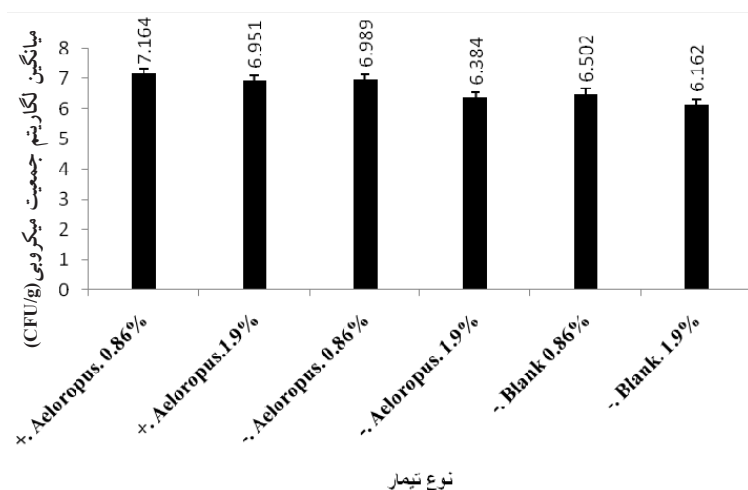
اندام ریشه و هوایی گیاه به طور جداگانه، در دمای ۸۰ °C به مدت ۴۸ h خشک شدند، و وزن آنها بوسیله ترازوی دیجیتالی مشخص گردید (۱۵).

### - تحلیل آماری

جهت تحلیل آماری از SPSS ۱۷ و جهت رسم نمودار از نرم افزار EXCEL استفاده گردید. سطح معناداری معادل  $p < 0/05$  بود. جهت بررسی اختلاف میانگین‌ها در تیمارهای مختلف از آزمون آماری analysis of variance Independent Samples Test (ANOVA)، و همچنین استفاده گردید.

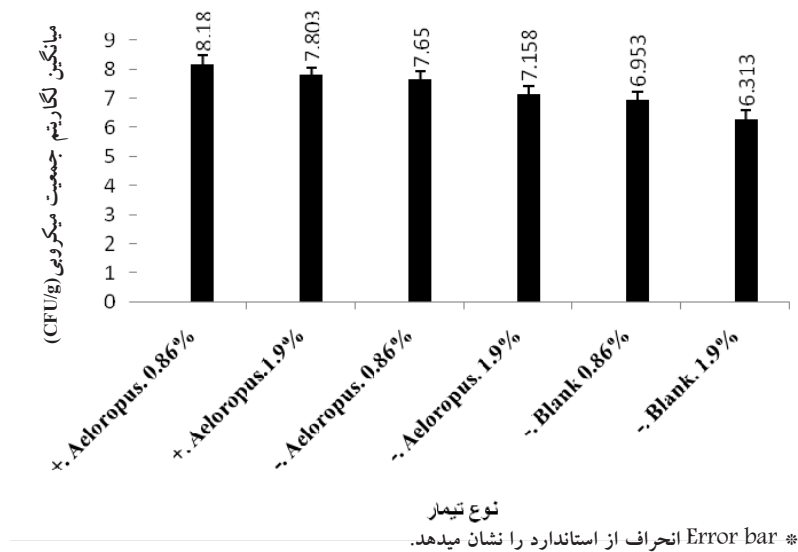
جدول ۵- میانگین میزان TPH و جمعیت میکروبی اولیه در شروع مطالعه

درصد وزنی-وزنی آلودگی در لگاریتم جمعیت میکروبی هتروترفیک (CFU/g)	درصد وزنی-وزنی آلودگی واقعی در شروع مطالعه	درصد وزنی-وزنی آلودگی مصنوعی
۳/۵۱	۰/۸۶	۱
۳/۴۱	۱/۹	۲/۵



\* Error bar انحراف از استاندارد را نشان میدهد.

شکل ۱- جمعیت میکروبی تیمارهای مختلف در ماه سوم

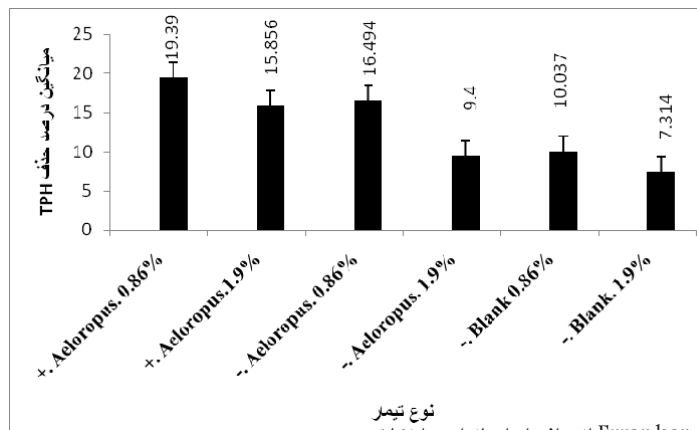


شکل ۲- جمعیت میکروبی تیمارهای مختلف در ماه ششم

#### میزان حذف TPH طی فرایند گیاه پالایی

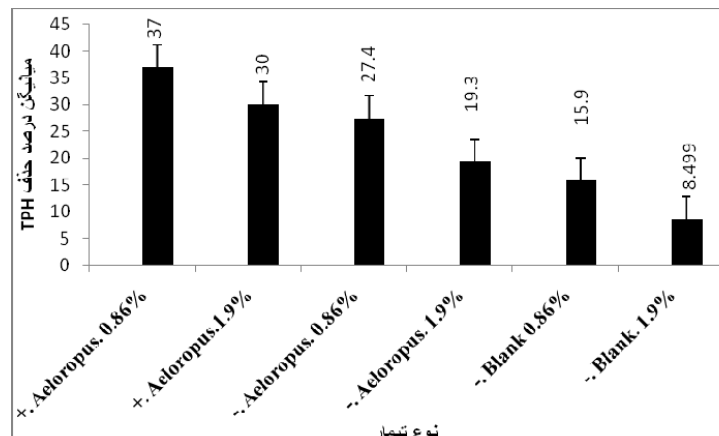
میزان TPH باقیمانده خاک در ناحیه ریشه و همچنین در تیمارهای بدون گیاه علاوه بر اینکه در شروع مطالعه اندازه-گیری گردید، در طی فرایند گیاه پالایی و در ماه‌های سوم و ششم نیز اندازه‌گیری شد و نتایج بصورت درصد حذف TPH محاسبه و گزارش گردید. میزان درصد حذف TPH در پایان ماه سوم در شکل ۳ و در پایان ماه ششم در شکل ۴ نشان داده شده است. طبق آنالیز آماری صورت گرفته (Independent Samples Test)، میانگین درصد حذف TPH در پایان ماه سوم ( $p=0/009$ ) و پایان ماه ششم ( $p=0/002$ ) در تیمارهای کشت شده با گیاه بطور معنی داری بیشتر از تیمارهای بدون گیاه بود. همچنین میانگین درصد حذف TPH در پایان ماه سوم ( $p=0/006$ ) و پایان ماه ششم ( $p=0/034$ ) در تیمارهای دریافت کننده مواد مغذی بطور معنی داری بیشتر از تیمارهای بدون دریافت مواد مغذی بود. بیشترین و کمترین میزان حذف TPH در پایان ماه سوم به ترتیب مربوط به تیمارهای +. Aeloropus, 0.86% و -. Blank, 1.9% بود که به ترتیب معادل ۶/۱۶۴ و ۶/۱۶۲ بر حسب log CFU/g بود. در پایان ماه ششم نیز بیشترین و کمترین جمعیت میکروبی بترتیب مربوط به تیمارهای +. Aeloropus, 0.86% و -. Blank, 1.9% بود که به ترتیب معادل ۸/۱۸۲ و ۶/۳۱۳ بر حسب log CFU/g بود.

و سازگار شدن میکروب‌ها با محیط آلوده، بیشتر می‌شود. هر چه جمعیت میکروبی بیشتر باشد، به دلیل بهبود مکانیسم تجزیه ریزوسفری، عمل گیاه پالایی و حذف آلاینده می‌تواند به طور مؤثرتری صورت گیرد. طبق آنالیز آماری صورت گرفته (One-way ANOVA)، میانگین جمعیت میکروبی در پایان ماه سوم ( $p=0/011$ ) و پایان ماه ششم ( $p=0$ ) در تیمارهای کشت شده با گیاه بطور معنی داری بیشتر از تیمارهای بدون گیاه بود. همچنین طبق آنالیز آماری صورت گرفته میانگین جمعیت میکروبی در پایان ماه سوم ( $p=0/01$ ) و پایان ماه ششم ( $p=0/002$ ) در تیمارهای دریافت کننده مواد مغذی بطور معنی داری بیشتر از تیمارهای بدون دریافت مواد مغذی بود. بیشترین و کمترین جمعیت میکروبی در پایان ماه سوم بترتیب مربوط به تیمارهای +. Aeloropus, 0.86% و -. Blank, 1.9% بود که به ترتیب معادل ۶/۱۶۴ و ۶/۱۶۲ بر حسب log CFU/g بود. در پایان ماه ششم نیز بیشترین و کمترین جمعیت میکروبی بترتیب مربوط به تیمارهای +. Aeloropus, 0.86% و -. Blank, 1.9% بود که به ترتیب معادل ۸/۱۸۲ و ۶/۳۱۳ بر حسب log CFU/g بود.



نوع تیمار  
\* Error bar انحراف از استاندارد را نشان میدهد.

شکل ۳- میانگین درصد حذف TPH در پایان ماه سوم Error bar انحراف از استاندارد را نشان میدهد.



نوع تیمار  
\* Error bar انحراف از استاندارد را نشان میدهد.

شکل ۴- میانگین درصد حذف TPH در پایان ماه ششم Error bar انحراف از استاندارد را نشان میدهد.

در پایان مطالعه در تیمارهای آلوده به غلظت ۰/۸۶ درصد وزنی-وزنی و دریافت کننده مواد مغذی بود که به ترتیب ۰/۳۳۲ g/pot و ۰/۰۷۵ g/pot بود. میانگین زیست توده خشک اندام هوایی و ریشه گیاه آروپوس در پایان مطالعه در جدول آورده شده است.

#### زیست توده خشک گیاهی

با توجه به اینکه یکی از مکانیسم های مؤثر گیاه پالایی در حذف آلاینده استخراج گیاهی است، جرم زیست توده گیاه می تواند در کارایی گیاه پالایی مؤثر واقع گردد. در این مطالعه بیشترین میانگین زیست توده خشک اندام هوایی و ریشه گیاه

جدول ۶- میانگین زیست توده خشک اندام هوایی و ریشه گیاه آروپوس (g/pot)

جرم اندام ریشه ای	جرم اندام هوایی	دریافت مواد مغذی	میزان درصد وزنی-وزنی آلودگی
۰/۰۷۵	۰/۳۳۳	+	۰/۸۶
۰/۰۴۹	۰/۰۷۵	-	
۰/۰۶۴	۰/۲۵	+	۱/۹
۰/۰۳۲	۰/۰۶۴	-	

۱۱ درصد رس بود، دریافتند که پس از ۱۸ هفته، کاهش پیرن در تیمارهای کشت شده با گیاه *Lulium multiforum* و تیمارهای بدون گیاه به ترتیب ۶۸-۵۹ درصد و ۱۹-۱۳ درصد بود (۲۰).

اکثر مطالعات گیاه پالایی در خاک مناسب جهت رشد گیاه صورت گرفته است. خاک مورد استفاده در این مطالعه از نوع رسی لومی بوده و دارای شوری زیادی برابر  $14/5 \text{ dS/m}$  بود که علی‌رغم مقاومت این گونه گیاهی به شوری، باعث ایجاد محدودیت‌های شدید در رشد گیاهان شده است. طی بررسی متونی که در زمینه گیاه پالایی صورت گرفت، در هیچ‌کدام از مطالعات گزارش شده در سطح دنیا در زمینه گیاه پالایی خاک‌های آلوده، خاکی با این درجه شوری گزارش نشده است لذا این ویژگی باعث شده است که کارایی و راندمان حذف آلاینده در این مطالعه در مقایسه با برخی موارد پائین‌تر باشد.

## بحث

نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که میانگین حذف TPH و همچنین جمعیت میکروبی در تیمارهای کشت شده با گیاه به طور معنی داری بیشتر از تیمارهای بدون کشت گیاه است؛ این امر بدلیل آن است که ریشه گیاهان با ترشح ترکیبات آلی مانند گلوکز، آنزیم، و کربوهیدرات‌های پیچیده، منبعی مناسب از کربن و انرژی را برای میکروارگانیسم‌های ناحیه ریشه فراهم می‌سازد و بدین طریق تجزیه ترکیبات نفتی بهبود می‌یابد (۱۶). همچنین در ناحیه ریشه به دلیل بهبود انتقال اکسیژن و در نتیجه تحریک جمعیت میکروبی در قسمت ریزوسفر، آلاینده کمتری قابل اندازه‌گیری است (۱۷). کمترین میزان حذف TPH در پایان مطالعه مربوط به تیمار شاهد آلوده شده به غلظت  $1/9$  درصد بود، که دلیل این امر را می‌توان به نبودن ریزوسفر گیاهی جهت پالایش آلودگی و همچنین اثر سمی غلظت بالای آلودگی (در مقایسه با تیمار شاهد آلوده به  $0/86$  درصد) مرتبط دانست. از طرفی طبق نتایج حاصله، بیشترین میزان حذف TPH در تیمارهای با غلظت آلودگی  $0/86$  درصد، کشت شده با گیاه و دریافت کننده مواد مغذی مشاهده گردید (۳۷ درصد)؛ دلیل این امر را می‌توان به بیشتر بودن جرم زیست توده و همچنین جمعیت میکروبی (که هر دو عامل سبب بهبود کارایی گیاه پالایی می‌شوند) در این تیمارها ربط داد (۱۷ و ۱۸).

مطالعات زیادی در زمینه گیاه پالایی در سطح دنیا صورت گرفته است. در مطالعه *valeria* و همکاران (۲۰۱۳) بر روی گیاه پالایی خاک آلوده به پیرن با استفاده از ۳ گونه گیاهی مختلف (*Medicago sativa*, *Brassica napus*، *Lolium perenne*) مشخص شد متوسط میزان حذف پیرن در خاک کشت شده با گیاهان ۳۰ درصد درحالی‌که در خاک شاهد (بدون گیاه) فقط ۱۸ درصد بود (۱۷). *Kechavarzi* و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه‌ای با کاربرد گیاه *Perennial Lolium perenne ryegrass* (L. Perene) در خاک آلوده به گازوئیل به میزان  $25 \text{ mg/kg}$  حاوی ۷۲ درصد شن، ۱۶ درصد سیلت و ۱۲ درصد رس و با کاربرد مواد مغذی حذف TPH را در محدوده ۸۴-۸۱ درصد گزارش نمودند (۱۹). *Khan* و همکاران (۲۰۰۹) طی مطالعه‌ای بر روی گیاه پالایی خاک آلوده به پیرن که دارای  $42/5$  درصد شن، و

## نتیجه گیری

هرچند درصد حذف آلاینده توسط گیاه در مقایسه با سایر مطالعات انجام شده در این زمینه، نسبتاً پایین بود ولی به طور کلی با توجه به درصد رس و شوری نسبتاً بالا، می توان درصد حذف آلاینده توسط گیاه را نسبتاً مطلوب ارزیابی کرد. همچنین با توجه به سنگینی بافت و شوری بالای خاک مورد مطالعه، می توان پیشنهاد کرد که از طریق افزودن باگاس و یا کمپوست شرایط رشد گیاه و در نتیجه میکروب ها را در خاک آلوده فراهم ساخت تا از این طریق بازدهی گیاه پالایی بهبود یابد.

## تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه با عنوان «بررسی کارایی روش گیاه پالایی (phytoremediation) در مقیاس گلخانه ای برای حذف TPH از خاک های آلوده به نفت خام» در مقطع کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط در سال ۱۳۹۰ و شماره ثبت ۱۰۵/ک.ب.م است که با حمایت شرکت مناطق نفت خیز جنوب، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی جندی شاپور اهواز، مرکز تحقیقات کشاورزی استان خوزستان اجرا شده است.

منابع:

1. Langbehn A, Steinhart H. Biodegradation studies of hydrocarbons in soils by analyzing metabolites formed. *Chemosphere*. 1995;30(5):855-68.
2. Wang J, Xu HK, Guo SH. Isolation and characteristics of a microbial consortium for effectively degrading phenanthrene. *Petroleum Science Journal*. 2007;4(3):68-75.
3. Joner EJ, Hirmann D, Szolar OH, Todorovic D, Leyval C, Loibner AP. Priming effects on PAH degradation and ecotoxicity during a phytoremediation experiment. *Environmental Pollution*. 2004;128(3):429-35.
4. Nathanail CP, Bardos RP. Reclamation of Contaminated Land. UK: John Wiley & Sons; 2004.
5. Sharma H, Reedy K. *Geoenvironmental Engineering*. 3th ed. Canada: John Wiley & Sons; 2004.
6. Etim EE. Phytoremediation and its mechanisms: A review. *International Journal of Environment and Bioenergy*. 2012;2(3):120-36.
7. Ali T, Mahmood S, Khan MY, Aslam A, Hussain MB, Asghar HN, et al. Phytoremediation of cadmium contaminated soil by auxin assisted bacterial inoculation. *Asian Journal of Agriculture and Biology*. 2013;1(2):79-84.
8. Cherian S, Oliveira MM. Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities. *Environmental Science & Technology*. 2005;39(24):9377-90.
9. Ma X, Burken J. Modeling of TCE diffusion to the atmosphere and distribution in plant stems. *Environmental Science & Technology*. 2004;38(17):4580-86.
10. Hutchinson SL, Schwab A, Banks M. Phytoremediation of aged petroleum sludge: effect of irrigation techniques and scheduling. *Journal of Environmental Quality*. 2000;30(5):1516-22.
11. Vouillamoz J, Milke M. Effect of compost in phytoremediation of diesel-contaminated soils. *Water Science & Technology*. 2001;43(2):291-95.
12. Abedi-Koupai J, Ezzatian R, Vossoughi-Shavari M, Yaghmaei S, Borghei M. The effects of microbial population on phytoremediation of petroleum contaminated soils using tall fescue. *International Journal of Agriculture and Biology*. 2007;9:242-46.
13. Kaimi E, Mukaidani T, Tamaki M. Screening of twelve plant species for phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil. *Plant production science*. 2007;10(2):211-18.
14. Anderson TA, Guthrie EA, Walton BT. Bioremediation in the rhizosphere. *Environmental Science & Technology*. 1993;27(13):2630-36.
15. Nichols T, Wolf D, Rogers H, Beyrouty C, Reynolds C. Rhizosphere microbial populations in contaminated soils. *Water, Air, and Soil Pollution*. 1997;95(1-4):165-78.
16. Shim H, Chauhan S, Ryoo D, Bowers K, Thomas SM, Burken JG, et al. Rhizosphere competitiveness of trichloroethylene-degrading, poplar-colonizing recombinant bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000;66(11):4673-78.
17. D'Orazio V, Ghanem A, Senesi N. Phytoremediation of pyrene contaminated soils by different plant species. *CLEAN-Soil, Air, Water*. 2013;41(4):377-82.
18. Dushenkov S, Kapulnik Y, Blaylock M, Sorochisky B, Raskin I, Ensley B. Phytoremediation: A novel approach to an old problem. *Studies in Environmental Science*. 1997;66:563-72.
19. Kechavarzi C, Pettersson K, Leeds-Harrison P, Ritchie L, Ledin S. Root establishment of perennial ryegrass (*L. perenne*) in diesel contaminated subsurface soil layers. *Environmental pollution*. 2007;145(1):68-74.
20. Khan S, Hesham AE-L, Qing G, Shuang L, He J. Biodegradation of pyrene and catabolic genes in contaminated soils cultivated with *Lolium multiflorum* L. *Journal of Soils and Sediments*. 2009;9(5):482-91.

## **Assessment of Phytoremediation Efficiency on reducing oil hydrocarbons from clay-silt soil using *Aeluropus littoralis***

<sup>1</sup>Seyed Nadali Alavi Bakhtiarvand, <sup>2</sup>Mahdi Ahmadimoghadam, <sup>3\*</sup>Iman Parseh, <sup>4</sup>Nemaollah Jafarzadeh, <sup>5</sup> Mehrangiz Chehrizi, <sup>6</sup> Mostafa Chorom

<sup>1</sup>Department of Environmental Health, Faculty of Health, Jundishapour University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

<sup>2</sup>Department of Environmental Health, Faculty of Health, Jundishapour University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

<sup>3</sup> Department of Environmental Health, Faculty of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

<sup>4</sup> Department of Environmental Health, Faculty of Health, Jundishapour University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

<sup>5</sup> Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.

<sup>6</sup> Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.

13 May 2013

9 August 2013

### **ABSTRACT**

**Background and Objectives:** Soil polluted with total petroleum hydrocarbon (TPHs) is a great threat to human health. Phytoremediation, the use of vegetation for treatment of contaminated soils, is an attractive and cost-effective alternative to reduce pollutant from soil. This paper evaluates the effects of the plant and nutrients on the removal of TPHs from soil.

**Material and methods:** Soils were collected at depth of 0-30 cm, and then polluted with 1 and 2.5 % w/w of crude oil. After preparing the experimental pots, Rhizosphere microbial number, plant biomass, and residual TPHs were determined. TPHs and heterotrophic bacterial number were measured by GC and HPC method respectively. Data were analyzed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS 17 for Windows) software and Excel.

**Results:** It was found that the average percent of TPH removal in planted soil (28.42%) was higher than that in unplanted soil (12.2%) ( $p < 0.05$ ). Moreover, the average percent of TPH removal in treatments received nutrient and free nutrient treatments was 35.5 and 17.7% respectively.

**Conclusion:** Generally compared with the other studies, high clay and salinity of the experimental soil had a negative effect on phytoremediation efficiency. Finally, regarding to the high clay and salinity of the experimental soil, the phytoremediation efficiency was relatively desirable.

**Key words:** Phytoremediation, Aeluropus, Rhizosphere, TPH

---

\*Corresponding Author: [iparseh97@gmail.com](mailto:iparseh97@gmail.com)

Tel: +98 9178436525