

دانشگاه صنعتی خواجه نصیرالدین طوسی
دانشکده مهندسی عمران

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد مهندسی عمران گرایش خاک و پی

عنوان:

پاکسازی بیولوژیکی خاک‌های آلوده به گازوئیل با استفاده از روش
افزایش زیستی

استاد راهنما:

جناب آقای دکتر حسن قاسم‌زاده

دانشجو:

علی اکبر غلامی

۹۱۰۶۶۸۴

شهریور ۱۳۹۴



تقدیم به:

پدر و مادر مهربانم که موفقیت امروز من،

حاصل تلاش و پشتیبانی همیشگی آنهاست

با تشکر و قدردانی:

۱- استاد ارجمند جناب آقای دکتر قاسم‌زاده که در تمامی مراحل انجام و تدوین پایان‌نامه از راهنمایی‌ها و تجربیات علمی و مساعدت ایشان بهره‌مند گشته و نصایح ایشان همواره فرا راه دانش‌اندوزی من بوده است.

۲- مسئول محترم آزمایشگاه محیط زیست جناب خانم ذاتعلی جهت همکاری و مساعدت بی‌دریغشان

۳- مسئول محترم آزمایشگاه مکانیک خاک جناب آقای منافی جهت همکاری و مساعدت بی‌دریغشان

و تمامی کسانی که مرا در انجام این پایان‌نامه یاری نموده‌اند.

چکیده

امروزه آلودگی خاک به انواع مواد نفتی از جمله معضلاتی است که محیط زیست انسان و سایر موجودات زنده وابسته به خاک را با خطر جدی مواجه نموده است. پاکسازی این آلاینده در خاک به دلیل سمی و شیمیایی بودن از اهمیت بسزایی برخوردار است.

موضوع اصلی پیگیری شده در این پایان نامه بررسی روش افزایش زیستی به کمک باکتری سودوموناس آئروجینوزا به عنوان یکی از روش های بیولوژیکی جهت پاکسازی خاک از گازوئیل بوده است. جهت انجام این تحقیق از خاک ماسه ای که به صورت مصنوعی به گازوئیل آلوده شد، مورد استفاده قرار گرفته است. میزان غلظت گازوئیل در خاک ها به ترتیب ۴۷۵۰ ppm، ۹۵۰۰ ppm، ۱۴۰۰۰ ppm و ۲۸۰۰۰ ppm آلوده شد. سپس به خاک های آلوده شده، باکتری و مواد معدنی اضافه شد و هر ۵ روز یکبار به مدت ۳۰ روز، میزان پاکسازی هر کدام از خاک ها اندازه گیری شد. مقدار pH در طول آزمایش به علت رشد بهتر باکتری ها تقریباً برابر ۷ در حالت خنثی نگه داشته شد. مقدار پاکسازی خاک ها در پایان ۳۰ روز به ترتیب ۷۳٪، ۷۱٪، ۶۱٪ و ۴۴٪ به دست آمد. در انتها به دو خاک با غلظت ۲۸۰۰۰ ppm، سورفکتانت SDS با غلظت ۰/۸۴ گرم بر لیتر و گوارگام با غلظت ۰/۶۷ گرم بر لیتر همراه با باکتری و مواد معدنی اضافه شد و همانند قبل میزان پاکسازی طی مدت ۳۰ روز، مورد بررسی قرار گرفت. میزان پاکسازی به ترتیب برای سورفکتانت SDS و گوارگام برابر ۵۰٪ و ۵۸٪ به دست آمد.

واژه های کلیدی: افزایش زیستی، تحریک زیستی، سورفکتانت، گازوئیل، میکروارگانیسم، پاکسازی خاک

فهرست مطالب:

فصل اول

۱-۱- پیشگفتار	۱
۲-۱- طرح مسأله	۵
۳-۱- هدف تحقیق	۶
۴-۱- روش تحقیق	۶
۵-۱- ساختار پایاننامه	۶
۲- فصل دوم	۷
۲-۱- مقدمه	۷
۲-۱-۱- منشاء هیدروکربن‌های نفتی	۸
۲-۲- هیدروکربن‌های نفتی	۸
۲-۲-۱- تعریف کل هیدروکربن‌های نفتی (TPH)	۸
۲-۲-۲- شیمی هیدروکربن‌های نفتی	۹
۲-۲-۳- گازوئیل:	۱۲
۲-۳- میکروبیولوژی نفت، از آغاز تا امروز	۱۵
۲-۴- باکتریهای خاک	۱۸
۲-۵- سورفاکتانتها	۲۷
۲-۵-۱- سورفاکتانت‌های مصنوعی	۲۸
۲-۵-۲- سورفاکتانت‌های زیستی	۳۰
۲-۶- چگونگی جداسازی و انتخاب میکروارگانیسم‌های بومی	۵۲
۲-۶-۱- مراحل کلی جداسازی میکروارگانیسم‌های بومی	۵۲
۲-۶-۲- جداسازی و انتخاب میکروارگانیسم‌های مولد سورفاکتانت زیستی	۵۴
۲-۷- صمغ گوار:	۵۵
۲-۸- روش‌های پاک‌سازی بیولوژیکی:	۵۶

۵۶.....	۲-۸-۱- مبانی زیست‌درمانی:
۵۹.....	۲-۸-۲- انواع روشهای بیولوژیکی:
۶۵.....	۲-۸-۳- مزیت‌های روش درمان بیولوژیکی:
۶۶.....	۲-۸-۴- مقایسه اقتصادی روش درمان بیولوژیکی با سایر روش‌های پاک‌سازی:
۶۷.....	۲-۹- مروری بر فعالیتهای پیشین:
۸۱.....	۳- فصل سوم.....
۸۱.....	۳-۱- مقدمه.....
۸۲.....	۳-۲- وسایل مورد نیاز.....
۸۲.....	۳-۳- خاک مصرفی:
۸۲.....	۳-۳-۱- آزمایش دانه‌بندی خاک با الک.....
۸۳.....	۳-۴- باکتری مصرفی:
۸۴.....	۳-۵- سورفاکتانت مورد استفاده:
۸۵.....	۳-۶- آماده‌سازی خاک:
۸۶.....	۳-۶-۱- اضافه کردن گازوئیل به خاک:
۸۶.....	۳-۶-۲- اضافه کردن مواد معدنی و آب به خاک:
۸۷.....	۳-۶-۳- کشت باکتری.....
۸۸.....	۳-۶-۴- اضافه کردن میکروارگانیزمها به خاک.....
۸۹.....	۳-۶-۵- ثابت نگه داشتن رطوبت خاک هر ظرف:
۸۹.....	۳-۶-۶- نگه داشتن pH خاک هر ظرف در حالت خنثی:
۸۹.....	۳-۷- روش استخراج و اندازه‌گیری گازوئیل از خاک:
۸۹.....	۳-۷-۱- روش استخراج گازوئیل از خاک:
۹۱.....	۳-۷-۲- به دست آوردن منحنی کالیبراسیون خطی:
۹۳.....	۳-۸- جمع بندی:
۹۴.....	۴- فصل چهارم.....
۹۴.....	۴-۱- مقدمه.....

۹۵	۲-۴- منحنی دانه‌بندی خاک:
۹۵	۳-۴- نمودار کالیبراسیون خاکی:
۹۷	۴-۴- نتایج مربوط به حذف گازوئیل از خاک توسط میکروآرگانیزم:
۹۷	۵-۴- نتایج مربوط به حذف گازوئیل از خاک توسط باکتری در حضور سورفکتانت SDS و صمغ گوار:
۱۰۳	۴-۶- نتایج فصل:
۱۰۴	۵- فصل پنجم
۱۰۴	۵-۱- مقدمه
۱۰۵	۵-۲- نتیجه‌گیری
۱۰۶	۵-۳- پیشنهادات
۱۰۷	۶- مراجع و منابع

فهرست اشکال

- شکل ۱-۲: الگوی پایه آروماتیک‌ها ۱۱
- شکل ۲-۲: نمونه‌ای از ساختار هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای ۱۲
- شکل ۳-۲: گونه‌های از سودوموناس آیروجینوزا بر روی محیط آگار [۱۸] ۲۶
- شکل ۴-۲: نمایی کلی از انواع سورفکتانت [۲۱] ۲۸
- شکل ۵-۲: ساختار مولکولی سورفکتانت SDS [۲۰] ۲۹
- شکل ۶-۲: تشکیل مایسل کروی در محلول‌های آبی [۳۳] ۳۸
- شکل ۷-۲: گیاه گوار [۴۶] ۵۵
- شکل ۸-۲: پاکسازی با استفاده از روش کمپوست (مکزیک) ۶۱
- شکل ۱-۳: موقعیت جغرافیایی خاک آلوده محتوی باکتری سودوموناس آیروجینوزا پروژه محمد قیومی [۵۵] ۸۴
- شکل ۲-۳: کپسول محتوی باکتری ۸۴
- شکل ۳-۳: سورفکتانت SDS و GUAR GUM مورد استفاده ۸۵
- شکل ۴-۳: باکتریهای تزریق شده به لوله‌های حاوی نوترینت براث ۸۸
- شکل ۵-۳: خاکهای حاوی باکتری و مواد معدنی ۸۹
- شکل ۶-۳: دستگاه لرزاننده و سانتریفیوژ مورد استفاده (آزمایشگاه محیط زیست دانشگاه خواجه نصیر) ۹۱
- شکل ۷-۳: دستگاه اسپکتروفتومتر (آزمایشگاه محط زیست دانشگاه شریف) ۹۳

فهرست جداول

جدول ۱-۲: تنوع میکروبی گروهای اصلی خاک.....	۱۹
جدول ۳-۲: انواع سورفکتانت‌های زیستی و میکروارگانیسمهای تولیدکننده آنها [۲۴].....	۳۱
جدول ۴-۲: تقسیم‌بندی سورفکتانت‌های زیستی براساس وزن مولکولی آنها [۲۳].....	۳۲
جدول ۲-۲: کشش بین سطحی چند ماده مختلف در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد [۱۲].....	۳۷
جدول ۵-۲: تاثیر شرایط محیطی روی تولید سورفکتانت زیستی از طریق کاهش کشش سطحی [۳۸].....	۴۹
جدول ۶-۲: مقایسه اقتصادی درمان بیولوژیکی با سایر روشهای پاکسازی.....	۶۷
جدول ۷-۲: گونههای مختلف باکتری کنسرسيوم ۱ TOTD [۵۰].....	۷۱
جدول ۸-۲: گونههای مختلف باکتری در طول ۱۸۲ روز [۵۲].....	۷۵
جدول ۹-۲: میزان درصد جداسازی به صورت استاتیکی [۵۳].....	۸۰
جدول ۱۰-۲: میزان درصد جداسازی به صورت جنبشی [۵۳].....	۸۰
جدول ۱-۳: مواد معدنی مورد استفاده.....	۸۷
جدول ۲-۳: مقادیر گازوئیل اضافه شده برای به دست آوردن نمودار کالیبراسیون.....	۹۲
جدول ۱-۴: مقدار حذف گازوئیل طی دوره ۳۰ روزه به وسیله باکتری سودوموناس آئروجینوزا.....	۱۰۳
جدول ۲-۴: مقدار حذف گازوئیل در غلظت ۲۸۰۰۰ PPM طی دوره ۳۰ روزه.....	۱۰۴
جدول ۱-۶: جدول اعداد اسپکتروفتومتر برای تعیین نقطه صفر و کالیبراسیون خاکی.....	۱۰۵
جدول ۲-۶: اعداد اسپکتروفتومتر برای تستهای حذف آلاینده توسط باکتری.....	۱۰۵
جدول ۳-۶: مقدار غلظت آلاینده در ۱۵ میلی لیتر حلال استخراج شده که هزار مرتبه رقیق شده است (PPM)	
.....	۱۰۶
جدول ۴-۶: جدول مقدار گازوئیل خالص هر ظرف در تستهای مختلف انجام شده (MG).....	۱۰۶
جدول ۵-۶: جدول مقدار غلظت گازوئیل خالص هر ظرف در تستهای انجام شده (PPM).....	۱۰۷
جدول ۶-۶: اعداد نشان داده شده توسط اسپکتروفتومتر.....	۱۰۷
جدول ۷-۶: جدول غلظت آلاینده در ۱۵ میلی لیتر حلال استخراج شده که هزار مرتبه رقیق شده است (PPM)	
.....	۱۰۷
جدول ۸-۶: جدول مقدار گازوئیل خالص هر ظرف در تستهای مختلف انجام شده (MG).....	۱۰۸
جدول ۹-۶: جدول مقدار غلظت گازوئیل خالص هر ظرف در تستهای انجام شده (PPM).....	۱۰۸

فهرست نمودارها:

- نمودار ۱-۲: ارتباط بین خواص فیزیکی و غلظت سورفکتانت [۳۲]..... ۳۸
- نمودار ۲-۲: تأثیر نوع و غلظت منبع کربن روی تولید را منولیبید به وسیله سودوموناس آئروجینوزا ۴ [۳۹]..... ۴۶
- نمودار ۳-۲: تأثیر منبع نیتروژن بر تولید رامنولیبید (ستون توپر) و میزان توده زیستی آزاد شده (ستون تو خالی) [۲۵]..... ۴۸
- نمودار ۴-۲: تأثیر زمان گرمخانه‌گذاری روی رشد باکتری سودوموناس آئروجینوزا ۴ (دایره تو خالی)، کشش سطحی (مثلث توپر) و فعالیت امولسیفیکاسیون رامنولیبید تولیدی (ستون‌ها) [۴۲]..... ۵۰
- نمودار ۱-۴: منحنی دانه‌بندی ذرات خاک..... ۹۵
- نمودار ۲-۴: نمودار کالیبراسیون خاکی..... ۹۶
- نمودار ۳-۴: حذف گازوئیل از خاک با غلظت ۴۷۵۰ PPM توسط سودوموناس آئروجینوزا..... ۹۷
- نمودار ۴-۴: حذف گازوئیل از خاک در غلظت ۹۵۰۰ PPM توسط سودوموناس آئروجینوزا..... ۹۷
- نمودار ۵-۴: حذف گازوئیل از خاک در غلظت ۱۴۰۰۰ PPM توسط سودوموناس آئروجینوزا..... ۹۸
- نمودار ۶-۴: حذف گازوئیل از خاک در غلظت ۲۸۰۰۰ PPM توسط سودوموناس آئروجینوزا..... ۹۸
- نمودار ۷-۴: مقایسه حذف گازوئیل در غلظت‌های مختلف توسط سودوموناس آئروجینوزا..... ۹۹
- نمودار ۸-۴: درصد حذف گازوئیل در غلظت‌های مختلف..... ۱۰۰
- نمودار ۹-۴: حذف گازوئیل از خاک در غلظت ۲۸۰۰۰ PPM توسط باکتری سودوموناس آئروجینوزا و گوار گام..... ۱۰۱
- نمودار ۱۰-۴: حذف گازوئیل از خاک در غلظت ۲۸۰۰۰ PPM توسط باکتری سودوموناس آئروجینوزا و سورفکتانت SDS..... ۱۰۱
- نمودار ۱۱-۴: مقایسه حذف گازوئیل در غلظت ۲۸۰۰۰ PPM همراه با سورفکتانت SDS و صمغ گوار..... ۱۰۲
- نمودار ۱۲-۴: درصد حذف گازوئیل در حضور صمغ گوار و سورفکتانت SDS..... ۱۰۳

فصل اول

مقدمه

۱-۱- پیش‌گفتار

توسعه صنعتی و کشاورزی اگرچه ظاهراً نشانه بهبود سطح زندگی انسان است، ره‌آورد دیگر آن آلودگی محیط زیست، تخریب مزارع، منابع آب و آلودگی هوا است. اگر این وضعیت ادامه داشته باشد و بر میزان آلودگی‌ها، کنترلی وجود نداشته باشد انسان خود قربانی آن خواهد بود.

امروزه آلودگی خاک با فراورده‌های نفتی به دلیل نشت مخازن سوخت و خطر انتقال از مهم‌ترین مشکلات زیست‌محیطی است، زیرا علاوه بر خطر انتقال به زنجیره غذایی امکان آلوده‌سازی منابع آب زیرزمینی نیز وجود دارد [۱].

محیط زیست تشکیل یافته از آب، هوا و خاک است. و آلودگی آب و هوا شاید به خاطر خطرات محسوس خود بیشتر از خاک مورد توجه قرار گیرد؛ بیماری‌های متعدد و مرگ و میرهای مختلف که در اثر آلودگی آب و هوا در طول تاریخ اتفاق افتاده، باعث حساسیت بیشتر جامعه بشری به این دو عنصر زیست‌محیطی گردیده است با این حال خاک به عنوان یک عنصر اساسی برای زندگی و تولید مواد غذایی برای جانداران دارای اهمیت فوق‌العاده‌ای است [۲].

در کشور نفت‌خیزی چون ایران آلودگی خاک با ترکیبات نفتی موضوع جدیدالوقوعی نیست. این مسئله از بدو شناسایی و استحصال نفت وجود داشته تا جایی که انباشتگی این آلودگی در اثر مرور زمان مشکلات حادی را در زمان حاضر به دنبال داشته و زنگ خطری جدی را از نظر سلامتی افراد و جوامع در مناطق آلوده به صدا درآورده است [۳].

آلاینده‌های نفتی زیادی امروزه در محیط زیست به وسیله صنایع نفتی و شیمیایی تولید و جزء مهم‌ترین آلوده‌سازهای محیط محسوب می‌شوند. نشت ترکیبات نفتی تحت تأثیر نیروهای کاپیلاری و ثقلی، منجر به حرکت عمودی در خاک‌های غیر اشباع شده و خلل و فرج خاک را پر می‌کند. آلودگی خاک ناشی از نشت تانک‌های ذخیره مواد نفتی و اثرات نامطلوب آن، از مشکلات عمده‌ای است که امروزه مهندسان محیط زیست با آن درگیر هستند، زیرا منابع ذخیره در اکثر نقاط توزیع شده‌اند [۱].

استفاده از محصولات نفتی سبک همچون گازوئیل در سراسر جهان رایج است و به تبع آن آلودگی ناشی از این محصولات در خاک‌ها و آب‌های زیرزمینی در حال گسترش است. طراحی‌های بهتر و وضع قوانین محدود برای مخازن زیرزمینی می‌تواند باعث کاهش این نوع آلودگی شود، اما مکان‌های آلوده‌ای وجود دارد که باید پاک‌سازی شوند [۴].

براساس آماری که تا سال ۸۳ اعلام گردیده است، کشور ایران با توجه به دارا بودن ۸/۵۸٪ از منابع نفتی جهان، تولیدات پتروشیمی حدود ۳۰ میلیون تن در سال، دارا بودن مقام دوم ذخایر گازی جهان، وجود بیش از ۲۵۰۰۰ کیلومتر خطوط انتقال نفت و گاز، دارا بودن بیش از ۱۳۰۰ ایستگاه انتقال سوخت‌گیری و ۱۰۰۰۰ تانکر حمل نفت و فراورده‌های نفتی، بسیار در معرض آلوده شدن خاک به فراورده‌های نفتی قرار دارد [۱].

از آنجایی که بعضی از مناطق کشورمان به عنوان مثال مناطق جنوبی ایران و تهران جزء مناطق نفت‌خیز هستند و همین امر این مناطق را با مشکل آلودگی خاک مواجه نموده است، ضرورت تحقیقات در این زمینه و استخدام تکنولوژی‌های مرتبط با پاک‌سازی خاک‌ها علی‌رغم کارهای اندکی که در این زمینه انجام شده است مورد توجه مسئولین و محققین قرار گرفته است. به عنوان مثال ۱۲ هزار درخت ۱۵ ساله در اطراف پالایشگاه اصفهان در منطقه بختیار دشت به دلیل آلوده شدن چاه‌های آب منطقه به نفت خشک شده و قطع گردیده‌اند. همچنین به گفته رئیس کمیته محیط زیست

شورای شهر تهران، با توجه به وجود پالایشگاه نفت تهران سال‌هاست که آب و خاک مناطق جنوبی شهر، آلوده به مواد نفتی است.

در کشور ما به دلیل نفت خیز بودن و مصرف بالای مواد نفتی، آلودگی خاک به مواد نفتی معضلات اساسی است. استان اصفهان، جنوب تهران، عسلویه بوشهر، زمین‌های اطراف مس سرچشمه، استان سیستان و بلوچستان و مناطق زیادی از خوزستان به ترتیب بالاترین میزان آلودگی خاک را دارند. از مهم‌ترین دلایل آلودگی نفتی در ایران بمباران‌های دوران جنگ را می‌توان نام برد. در طول ۸ سال جنگ تحمیلی پالایشگاه‌های تهران، تبریز، آبادان، شیراز، خارک و بسیاری از چاه‌های نفت مورد بمباران قرار گرفتند. مقدار زیادی از مواد نفتی به دلیل تخریب مخازن این پالایشگاه‌ها وارد محیط شده‌اند. به دنبال آن ذخیره‌سازی برخی فرآورده‌های نفتی در حوضچه‌های پالایشگاه نیز منجر به آلودگی خاک و محیط زیست اطراف پالایشگاه گردید. حوادث طبیعی و فعالیت‌های صنعتی نیز باعث ایجاد آلودگی نفتی در خاک شده است. برای نمونه به ذکر چند مثال پرداخته می‌شود:

یکی از عمیق‌ترین و بیشترین آلودگی‌های خاکی در منطقه جنوب تهران انبار نفت ری است، که باعث مهاجرت تعداد زیادی از روستاییان گردیده است.

پالایشگاه تهران علاوه بر این که نفت خام را پالایش می‌کند، همانند یک میدان نفتی تولید نفت هم دارد. حجم آلودگی‌های نفتی در خاک‌های جنوب تهران حداقل ۴۰ هزار و حداکثر ۵۷۵ هزار متر مکعب است. در حین عملیاتی شدن پالایشگاه تهران باید سیستم‌هایی برای کنترل نشت در نظر می‌گرفتند. اما آمریکایی‌ها که پالایشگاه را پایه‌گذاری کردند چنین سیستم‌هایی را در نظر نگرفتند. این آلودگی‌ها در زمان بمباران جنگ تحمیلی تشدید شد.

آلودگی خاک به ترکیبات در منطقه عظیم آباد (جنوب پالایشگاه تهران) در اثر نشت احتمالی ترکیبات نفتی از مخازن زیرزمینی و یا لوله‌های انتقال فرسوده و نیز زواید ناشی از پالایش نفت خام رخ داده است، که نمونه بارز آن را می‌توان در آب نهرهای جاری منطقه و خاک‌های اطراف، به وضوح می‌توان مشاهده نمود.

در دی ماه ۱۳۸۸ در اثر نشت یک چاه نفت در منطقه مارون خوزستان حدود ۲۰ هزار بشکه نفت وارد منطقه و ۱۰۰ هکتار زمین را آلوده کرد. همچنین ضایعات تولید شده در اکتشافات نفتی به دو

فاز مایعات (آب تولید شده و نفت) و جامدات (گل و کنده‌های حفاری) تقسیم می‌شوند که این ضایعات آلوده به مواد نفتی در گودال‌های خاکی یا دریاها رها می‌شوند [۵].

از جمله آلاینده‌های نفتی که به وفور در خاک مشاهده شده است؛ می‌توان به گازوئیل اشاره نمود. گازوئیل پس از این که وارد خاک می‌شود با آب و هوا برای جایگزینی در حفره‌ها به رقابت می‌پردازد. در ناحیه غیر اشباع خاک، انتقال و مهاجرت آلاینده‌ها به لایه‌های زیرین بر اساس نیروی مکش و همچنین نیروی گرانش صورت می‌پذیرد. بین ناحیه اشباع و غیراشباع، یک ناحیه نوسانی وجود دارد که در این ناحیه سطح آب، مرز ساکن ندارد و به صورت دوره‌ای نوسان می‌کند. در اثر نوسان آب و حرکت عمودی آن، توده‌ی هیدروکربن موجود در فضای حفره‌های خاک یا هیدروکربن‌های جذب شده بر روی سطح ذرات خاک، جدا می‌شوند و وارد آب می‌گردند. در نتیجه آلاینده‌ها از خاک به آلاینده‌های زیرزمینی انتقال می‌یابند. همچنین این آلودگی‌ها به هنگام بارش باران و جاری شدن روان‌آب به درون رودخانه‌ها و سدها نفوذ کرده و آب‌های سطحی را نیز آلوده می‌کنند. باید در نظر داشت که آلودگی تمایل به داشتن زمان ماندگاری طولانی‌تری در خاک نسبت به آب و هوا دارد و از خاک به عنوان فیلتری جهت ته‌نشین شدن استفاده می‌کند تا به سرعت در آن جمع شده و به کندی تجزیه شوند.

در سال‌های اخیر روش‌های پاک‌سازی متعددی ابداع شده که از لحاظ نوع فرایند به چهار دسته کلی بیولوژیکی^۱، شیمیایی^۲، فیزیکی^۳ و فیزیکی-شیمیایی تقسیم شده و از جهت طریقه اجرا در دو دسته خارج از محل آلوده^۴ و در محل آلوده^۵ طبقه‌بندی می‌گردد.

^۱ Biological method

^۲ Chemical method

^۳ Physical method

^۴ Ex-situ method

^۵ In-situ method

در این پایان نامه از میان فرایندهای موجود جهت پاکسازی خاکهای آلوده که در بالا به آنها اشاره شد، روش بیولوژیکی، افزایش زیستی جهت پاکسازی خاک ماسه‌ای، که به صورت مصنوعی به گازوئیل آلوده شده است مورد بررسی قرار گرفته است.

۱-۲- طرح مسأله

رفع آلودگی با روش‌های مختلف قابل انجام است که شامل روش‌های شیمیایی، فیزیکی و زیستی هستند. یکی از راه‌های ارزان و مقرون به صرفه، استفاده از ریزموجودات در جهت حذف یا کاهش آلودگی نفتی است.

تاریخچه این روش در ایران سابقه چندانی ندارد. این تحقیق برای بررسی عملکرد این روش با استفاده از افزایش زیستی باکتری به عنوان یک روش جهت پاکسازی خاکهای آلوده به آلاینده‌های نفتی انجام شده است.

برخی از ریزموجودات نیز دارای توانایی حذف ترکیبات نفتی هستند. این دسته از موجودات می‌توانند ترکیبات نفتی را تجزیه و آلودگی خاک را تا حد زیادی کاهش دهند. خاک دارای طیف گسترده‌ای از این دسته ریزموجودات تجزیه‌کننده آلاینده‌های هیدروکربنی است که از مهم‌ترین آنها می‌توان به انواع باکتری‌های سودوموناس، رودوکوکوس و نوکاردیا اشاره نمود.

این ریزموجودات می‌توانند ترکیبات نفتی را تجزیه کرده و در نهایت از آن به عنوان منبع انرژی و مواد اولیه برای تکثیر و رشد خود استفاده نمایند. از تجزیه این مواد در حضور اکسیژن، موادی مثل آب و گاز دی‌اکسیدکربن تولید می‌شود. همچنین از شکستن ناقص آنها ممکن است اسیدهای چرب یا الکل‌هایی با انتهای هیدروکربنی کوتاه ایجاد شود که این ترکیبات نیز مورد حمله باکتری‌های دیگر قرار گرفته و نهایتاً به آب و دی‌اکسیدکربن تجزیه می‌شوند، بنابراین معمولاً ترکیبات نهایی ناشی از تجزیه آنها برای محیط زیست بی‌خطر هستند.

۱-۳- هدف تحقیق

هدف این تحقیق پاک‌سازی خاک آلوده به گازوئیل با استفاده از باکتری سودوموناس آئروجینوزا در غلظت‌های مختلف آلودگی است و در ادامه تأثیر همزمان صمغ گوار به همراه باکتری و سورفکتانت SDS به همراه باکتری بررسی شود.

۱-۴- روش تحقیق

پاک‌سازی خاک آلوده به گازوئیل در این تحقیق به وسیله افزایش زیستی باکتری سودوموناس آیرجینوزا در آلودگی‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی میزان حذف گازوئیل، به وسیله n هگزان، گازوئیل موجود در خاک استخراج شد سپس به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر و نمودار کالیبراسیون، درصد حذف گازوئیل به دست آمد.

۱-۵- ساختار پایان‌نامه

این پایان‌نامه در ۵ فصل جهت نیل به اهداف بیان شده، تهیه و تنظیم شده است. همان‌طور که در فصل اول مشاهده کردید مقدمه‌ای در مورد پاک‌سازی خاک و ضرورت پرداخت به این موضوع بیان شده و سپس به صورت اجمالی با چگونگی تحقیق و ساختار پایان‌نامه اشاره شده است. در فصل دوم به بیان مبانی تئوری از قبیل انواع هیدروکربن‌ها و بررسی باکتری‌های مختلف و سورفکتانت‌های زیستی تولید شده به وسیله آن‌ها پرداخته شده است. در ادامه به بیان انواع روش‌های پاک‌سازی زیستی و کارهای صورت گرفته مبادرت نموده‌ایم. در فصل سوم به روش تحقیق و مواد مورد استفاده پرداخته شده است. در فصل چهارم معطوف به مشاهده نتایج به دست آمده و بررسی نتایج حاصله پرداخته شده و در نهایت در فصل پنجم به نتیجه‌گیری از آزمایش‌های انجام شده پرداخته و در انتها جهت پیشرفت و چگونگی عملکرد بهتر روش پاک‌سازی زیستی پیشنهاداتی ارائه شده است.

فصل دوم

مبانی تئوری و مروری بر فعالیتهای پیشین

۲-۱- مقدمه

برای بررسی هر پدیده، نیاز به شناخت مفاهیم پایه و کلیاتی بوده که زمینه‌ی درک موضوع را ساده‌تر و کامل‌تر فراهم می‌کند. در این بخش، به شرح مختصری از تعاریف و کلیات مورد نیاز برای آشنایی با موضوع پاک‌سازی خاک آلوده به فرآورده‌های نفتی به روش زیستی با افزایش و تحریک زیستی، اشاره شده است. بدین منظور، در ابتدا به اجمال، به معرفی هیدروکربن‌های نفتی به عنوان یکی از خطرناک‌ترین آلاینده‌های خاک اشاره گردیده است. به دنبال آن به معرفی انواع باکتری و سورفکتانت-های تولید شده به وسیله آن‌ها پرداخته شده است. در ادامه روش‌های مختلف پاک‌سازی زیستی خاک آلوده و مزایا و معایب آن، به طور خلاصه بیان شده است. در انتها به بیان فعالیتهای پیشین که در این زمینه انجام شده، پرداخته شده است.

۲-۱- منشاء هیدروکربنهای نفتی

هیدروکربنها با منشاء زیستی، به دست آمده از ذخایر موجود در طبیعت هستند که طی میلیونها سال از طریق فشار و حرارت به وجود آمدهاند. طبیعت آنها وابسته به منشاء زیستی ماده و عوامل زمینشناسی به وجود آورنده آنها است، اغلب این ترکیبات، به طور مثال نفت، خاصیت بسیار ضعیفی برای حلالیت در آب دارند و اغلب با فلزات سنگین نیکل، وانادیم و آهن به نسبتهای مختلف همراهند.

این ترکیبات همچنین در اثر رخدادهای طبیعی مانند فعالیتهای آتشفشانی، آتشسوزی جنگلها و برخی از آنها نیز در اثر فعالیت بشر همچون سوزاندن سوخت و نشت ترکیبات نفتی تولید می شوند. این امر موجب افزایش غلظت این آلایندهها در طی ۱۰۰-۱۵۰ سال اخیر بوده است [۶].

۲-۲- هیدروکربنهای نفتی

از آلایندههای آلی متداولی که در خاکها انباشته می گردند می توان به آفتکشها، مواد پلاستیکی، سوختها، حلالها و هیدروکربنهای نفتی اشاره نمود. هیدروکربنهای نفتی منبع عظیم انرژی برای استفاده آدمی هستند و بدون آنها استمرار حیات و زیست امروزی تقریباً غیر ممکن است، به ویژه که از آنها به عنوان سوخت فسیلی استفاده می شود. این مواد در دامنههای متنوعی از آلکانهای زنجیری اشباع شده تا ترکیبات آروماتیک چند حلقه ای و پیچیده طبقه بندی می گردند [۷].

۲-۲-۱- تعریف کل هیدروکربنهای نفتی (TPH)^۱

کل هیدروکربنهای نفتی (TPH) از مهم ترین گروههای آلایندههای پایدار در محیط زیست هستند که وجود برخی ترکیبات سمی با قابلیت سرطانزایی و ایجاد تغییرات موتاژنتیکی در آنها، نگرانیهای بسیاری را در خصوص رها شدن آنها در محیط ایجاد کرده است [۸].

^۱ - Total Petroleum Hydrocarbon

هیدروکربن‌های بسیاری در نفت وجود دارند که جداسازی و اندازه‌گیری تک‌تک آن‌ها ممکن نیست بنابراین اندازه‌گیری کل هیدروکربن‌های نفتی مفیدتر خواهد بود. TPH ترکیبی مختلف از تمام مواد شیمیایی است که تقریباً تمامی آن‌ها از هیدروژن و کربن تشکیل یافته‌اند. به همین دلیل به آن‌ها هیدروکربن گفته می‌شود. در حقیقت TPH ها یک کمیت ناخالص بوده که شامل ترکیبات مختلف با وزن مولکولی و سمیت متفاوت هستند و مقدار آن معرف مخلوطی از هیدروکربن‌های موجود در نفت است. به این ترتیب یک فرآورده نفتی تنها یک ترکیب منفرد نبوده، بلکه مخلوط پیچیده‌ای است که شامل بیش از ۲۵۰ هیدروکربن باشد. برخی از موادی که TPH ها شامل آن‌ها می‌شوند عبارتند از: هگزان، سوخت جت، مواد معدنی، تولوئن، نفتالین، فلورن، گازوئیل و بنزین و بسیاری از مواد دیگر [۷].

۲-۲-۲- شیمی هیدروکربن‌های نفتی

هیدروکربن‌های نفتی و محصولات تصفیه شده آن از یک مخلوط بسیار پیچیده به وجود می‌آیند. اگرچه آن‌ها تنها دارای دو عنصر اصلی هیدروژن و کربن هستند؛ لیکن ساختارهای آن می‌تواند تعداد زیادی آرایش داشته باشند. اتم‌های کربن می‌توانند با چهار اتم مختلف کربن یا هیدروژن پیوند دهند؛ در حالی که اتم‌های هیدروژن تنها با یک اتم کربن قادر به پیوند هستند.

چنانچه اتم‌های کربن با یکدیگر پیوند دهند ساختاری به نام کربن مستحکم^۱ را تشکیل می‌دهند. استفاده از تعداد یکسان اتم‌ها می‌تواند آرایش‌های متفاوتی از آن‌ها را به وجود آورد. هر آرایش اتمی ترکیب آلی منحصر به فردی را تشکیل می‌دهد.

هر ترکیب آلی خصوصیات شیمیایی منحصر به فرد خود را دارد لذا تعداد زیاد ترکیبات موجود در نفت خام، ایجاد گروه‌بندی ترکیبات آلی را ضروری می‌سازد.

یکی از روش‌های گروه‌بندی هیدروکربن‌ها، تعداد اتم‌های کربنی در یک ترکیب است. برای مثال همه هیدروکربن‌هایی که دارای چهار اتم کربن می‌باشد با C_4 معرفی می‌گردد. بدین ترتیب ترکیبات C_4

^۱ carbon back bone

رایج در محصولات نفتی شامل بوتان، ایزوبوتان، ۱-بوتن، ۲-بوتن و ایزو بوتیلن است. در این مثال در C_4 تعداد ۵ ترکیب مختلف است در حالی که C_{10} دارای ۴۷۰ نوع از ترکیبات خاص را می‌توان اشاره نمود [۹].

ترکیبات C_1 تا C_4 در دمای معمولی به صورت گازی هستند. این ترکیبات به عنوان سوخت و همچنین در تولید مواد شیمیایی خاص همچون پلاستیک‌ها یا مواد پلیمری استفاده می‌شوند. ترکیبات C_5 تا C_{12} مایعاتی هستند که به سهولت در اثر گرم شدن تبدیل به گاز می‌شوند؛ از این ترکیبات به عنوان سوخت و حلال‌های تمیزکننده استفاده می‌شوند. ترکیبات از C_{13} تا C_{17} به طور عمومی به صورت مایع می‌باشند و به عنوان سوخت و مواد روغنی استفاده می‌شوند. ترکیبات بیش از C_{17} معمولاً به صورت جامد هستند و به عنوان روغن‌ها، سوخت‌های سنگین و همچنین پوشش‌هایی از قبیل قیر و آسفالت استفاده می‌شوند. هیدروکربن‌های جامد به طور معمول دارای انسجام و به حالت موم وجود دارند. این قبیل جامدها اغلب هنگامی که در معرض گرما قرار می‌گیرند در حلال‌ها حل یا جاری می‌شوند [۹].

دومین گروه‌بندی اصلی براساس واکنش‌پذیری ترکیبات هیدروکربن هستند. واکنش‌پذیری این ترکیبات براساس ساختار مولکولی یا آرایش اتم‌های کربن و هیدروژن هستند. از ماهیت کربن مستحکم و تعداد اتم‌های هیدروژن چسبیده به آن می‌توان خصوصیات شیمیایی این ترکیبات را تعیین کرد. در تقسیم‌بندی اصلی هیدروکربن‌هایی که در محصولات نفتی پیدا می‌شوند می‌توان آلکان‌ها، آلکن‌ها و آروماتیک‌ها را نام برد [۸].

۲-۲-۱- آلکان‌ها

آلکان‌ها از موارد اصلی نفت خام و بیشتر محصولات نفتی به‌شمار می‌روند، همچنین آلکان‌ها به هیدروکربن‌های اشباع شده معروف هستند. اتم‌های کربن موجود در کربن مستحکم که به یکدیگر متصل شده‌اند زنجیره‌های خطی (آلکان‌های شاخه‌ای)، دایره‌ای (آلکان‌های دایره‌ای) یا مخلوطی از هردو را تشکیل می‌دهند.

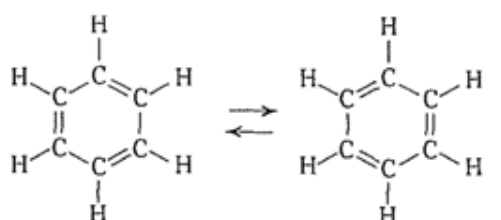
آلکان‌ها به دلیل اشباع شدن از اتم‌های هیدروژن از دیگر هیدروکربن‌ها متمایز می‌گردند. بنابراین اتم‌های هیدروژن اضافی را نمی‌توان به این هیدروکربن، بدون تخریب کربن مستحکم اضافه کرد.

۲-۲-۲-۲- آلکن‌ها

دومین گروه اصلی هیدروکربن‌های نفتی آلکن‌ها هستند. آلکن‌ها به آلفین‌ها^۱ نیز معروف هستند. این ترکیبات معمولاً در نفت خام یافت نمی‌شوند؛ اما فرآورده عمل پالایش هستند. تمایز بین آلکن‌ها با آلکان‌ها در تعداد اتم هیدروژن است؛ به این صورت که آلکن‌ها دو اتم هیدروژن کمتر از آلکان‌ها دارا هستند. بنابراین آلکن‌ها دارای پیوند دوگانه کربن-کربن هستند. شیمی آلکن‌ها معمولاً کم اهمیت برای فراورده‌های نفتی است [۱۰].

۲-۲-۲-۳- آروماتیک‌ها

سومین نوع اساسی هیدروکربن‌های یافت شده در فراورده‌های نفتی آروماتیک‌ها هستند. هیدروکربن‌های آروماتیک به طور معمول مطابق با شکل (۲-۱) دارای شش عضو حلقه کربن می‌باشند. شش عضو حلقه دارای سه پیوند دوگانه کربن-کربن هستند. این آرایش سه پیوند دوگانه در شش عضو حلقه، نشان‌دهنده شیمی خاص این ترکیبات است. همین موضوع باعث رفتار خیلی متفاوت این هیدروکربن با دیگر هیدروکربن‌ها را باعث می‌شود [۸].



شکل ۲-۱: الگوی پایه آروماتیک‌ها

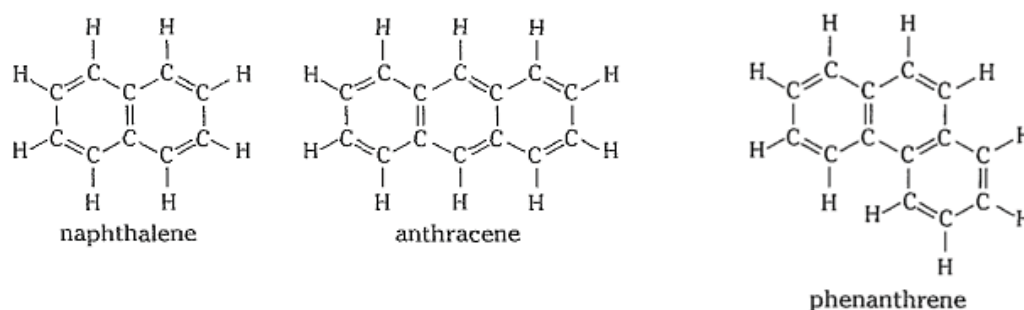
۲-۲-۲-۴- هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAH^۲)

شیوه دیگر جایگزین شدن اتم‌های هیدروژن با آروماتیک‌ها است. نمونه‌ای از این جانشینی حالتی است که حلقه آروماتیک دوم با دو اتم هیدروژن هم‌جوار جایگزین شود که در این حالت

^۱ - olfins

^۲ - Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

آروماتیک‌های چند هسته‌ای فشرده به وجود می‌آید. به عنوان مثال یک سری از این ترکیبات را در شکل (۲-۲) مشاهده می‌کنید [۸]:



شکل ۲-۲: نمونه‌ای از ساختار هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای

۲-۲-۳- گازوئیل:

یکی از ترکیبات TPHها، گازوئیل است که باتوجه به آسیب‌های زیست‌محیطی آن، بر هم زدن اکوسیستم خاک و احتمال آلوده کردن سفره‌های آب زیرزمینی در زمره مهم‌ترین آلاینده‌ها به شمار می‌رود.

گازوئیل یکی از مشتقات نفتی است که از تقطیر نفت خام به دست می‌آید. این برش معمولاً بی‌رنگ یا زرد کم‌رنگ و شفاف است. نقطه جوش آن در محدوده ۳۸۵-۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بوده و بخارات قابل اشتعال در دمای بالای ۵۶ درجه سانتی‌گراد دارد. دامنه طول زنجیره هیدروکربنی گازوئیل در محدوده C_{10} تا C_{32} قرار دارد و چگالی آن ۰/۸۵ است. گازوئیل حاوی ۷۵٪ هیدروکربن‌های اشباع و ۲۵٪ هیدروکربن‌های آروماتیک هستند [۷].

عمده ترکیبات آروماتیک موجود در گازوئیل، شامل ترکیبات PAHها نظیر نفتالن، آنتراسن، فنانترن، پیرن، فلورانتن و ترکیبات PAH دیگر هستند. البته ترکیبات مونو آروماتیک نیز به میزان جزئی در گازوئیل یافت می‌گردند [۲].

پس از سوختن گازوئیل، حداکثر مقدار ۰/۰۱ درصد وزنی آن به صورت خاکستر به جای می‌ماند. این خاکستر مربوط به مواد معدنی موجود در گازوئیل بوده و اغلب در آن موادی از قبیل کلسیم، آهن،

سدیم، سیلیسیوم و وانادیوم یافت می‌شود. نسبت درصد گوگرد در گازوئیل از ۰/۴۵ تا ۰/۵۵ درصد وزنی تغییر می‌نماید. نوع گازوئیل به وسیله عدد ستان^۱ مشخص می‌گردد. اندازه‌گیری عدد ستان در موتور دیزل مخصوص که با سرعت ۹۰۰ دور در دقیقه می‌چرخد به کمک دو هیدروکربن زیر به عنوان استاندارد انجام می‌گیرد:

- ستان نرمال یعنی هگزادکان ($C_{16}H_{34}$) که به آن اندیس ستان ۱۰۰ نسبت داده‌اند و یک ماده قابل احتراق در موتورهای دیزل است.
- آلفامتیل نفتالین ($C_{10}H_{18}$) که خیلی کم اکسید شونده است و به سختی شعله‌ور می‌گردد که اندیس ستان آن را معادل صفر در نظر گرفته‌اند [۲].

هرچه هیدروکربن‌های نفتی سبک‌تر و قابلیت تبخیر آن‌ها بیشتر باشد، دمای خوداشتعالی بالاتری دارند، بدین سبب برش‌های میان تقطیر با قابلیت تبخیر کمتر و دمای پایین‌تر خوداشتعالی، برای کاربرد در موتورهای دیزلی از سوخت‌های سبک‌تری مانند نفت سفید یا بنزین مناسب‌تر هستند. با توجه به ترکیبات گازوئیل که عمدتاً از هیدروکربن‌های نسبتاً سنگین با محدوده جوش تا ۳۶۰ درجه سانتی‌گراد تشکیل شده است، تبخیر این فرآورده و نیز فشار بخار آن نسبتاً پایین و در امر پراکنش آلودگی قابل اغماض است. به طور کلی گازوئیل نسبت به بنزین چگال‌تر بوده و فراریت، حلالیت و قابلیت انتقال آنت کمتر است [۲].

۲-۳-۱- کاربردهای فرآورده گازوئیل

از گازوئیل در پالایشگاه‌ها به عنوان ماده اولیه برای تهیه بسیاری از فرآورده‌های نفتی استفاده می‌شود. از هیدروکربن‌های گازوئیل می‌توان برش‌هایی با چگالی و نقاط جوش‌های متفاوت تهیه نمود که اغلب

^۱ Cetan number

به عنوان حلال مورد استفاده قرار می‌گیرند، به عنوان مثال وایت اسپریت که یک حلال سنگین بوده و به عنوان حلال رنگ‌های نقاشی و ورنی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، از گازوئیل استخراج می‌گردد. از مصارف عمده گازوئیل می‌توان به سوزاندن گازوئیل جهت روشنایی در انواع مشعل‌های خانگی و صنعتی و گرمایش و همچنین استفاده به عنوان سوخت جت در موتورهای درون‌سوز دیزلی اشاره نمود. گاهی نیز از گازوئیل برای شستشوی قطعات و لوازم ماشین‌آلات استفاده می‌گردد [۲].

۲-۲-۳-۲- اثرات زیست‌محیطی فرآورده گازوئیل

در دنیا میلیون‌ها نفر در صنعت نفت و سوخت‌رسانی مشغول فعالیت هستند که بسیاری از این افراد در تماس مستقیم با فرآورده‌های نفتی از جمله گازوئیل هستند. سوخت گازوئیلی زمانی که وارد محیط خاک می‌شود، در آن گسترش یافته و در آن تراوش می‌کند ولی انتقال آن در مقطع عمودی خاک محدود است. در شرایط طبیعی سوخت گازوئیلی در خاک سطحی غنی از مواد آلی، جذب گردیده و همین امر مانع انتقال رو به پایین آن به قسمت‌های عمقی‌تر می‌شود. که این امر ناشی از خصوصیات آب‌گریزی آن است. و در نتیجه گازوئیل در سطح خاک و درون منطقه ریشه‌ای (ریزوسفر) باقی می‌ماند. این ویژگی‌ها سبب می‌شود تا گازوئیل به عنوان گزینه‌ای مناسب برای گیاه‌پالایی و به عنوان آلاینده‌ای که در سطح خاک و در ریزوسفر بیشتر گونه‌های گیاهی نگه داشته می‌شود، انتخاب گردد [۲].

ترکیبات آروماتیک از مهم‌ترین آلاینده‌های محیط زیست بوده که با تجمع در محیط به عنوان عاملی مهم در تخریب محیط زیست عمل می‌کنند. سرعت ورود هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای به بدن تحت تاثیر حضور ترکیباتی است که شخص به طور همزمان در معرض آن‌ها قرار می‌گیرد. جذب PAHها در اثر خوردن معمولاً کند است. ترکیبات آروماتیک چند حلقه‌ای می‌توانند در همه بافت‌های دارای چربی وارد شوند. این ترکیبات تمایل زیادی به ذخیره شدن در کلیه و کبد دارند، ولی مقادیر کمی از آن‌ها در طحال و غده آدرنال نیز ذخیره می‌گردد. این ترکیبات در بافت‌های بدن به ترکیباتی که برخی کم‌خطرتر و بعضی مضرتر از هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای اولیه هستند، تبدیل می‌شوند. مطالعات انجام شده روی حیوانات بیانگر این امر است که PAHها تمایل به اقامت طولانی مدت در بافت‌های مختلف ندارند و بیش‌تر این ترکیبات پس از چند روز از طریق مدفوع و