

The Effects of Phytoremediation and Bioremediation on Removal and Transfer of Oil Compounds in A Crude Oil Contaminated Soil

AKBAR NEMATI^{1*}, AHMAD GOLCHIN¹, AKBAR GHAVIDEL²

1. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran.

2. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran.

(Received: Aug. 18, 2020- Revised: Dec. 16, 2020- Accepted: Dec. 19, 2020)

ABSTRACT

Crude oil is one of the most important sources of energy and its large scale production, transmission, consumption and disposal, making it one of the most important and common types of environmental pollution in the worldwide. In order to investigate the effects of phytoremediation and bioremediation on translocation of Total Petroleum Hydrocarbons (TPHs) in crude oil contaminated soil, a factorial experiment based on completely randomized design with three replications was conducted. Three rates of crude oil contamination; 0 (C₀), 2 (C₁) and 4% w/w (C₂) and four remediation treatments; *Lolium perenne* (T₁), *Pseudomonas putida*+*Phanerochaete chrysosporium* (T₂), *Lolium perenne*+*Pseudomonas putida*+ *Phanerochaete chrysosporium* (T₃) and control (T₀) were applied. At the end of experiment, TPHs concentrations in different depths of soil column (5, 15, 25, 35 and 45 cm depths) were measured. The results showed that the different remediation treatments decreased the TPHs concentration in the root zone and T₃ treatment decreased the concentration of TPHs both in C₁ and C₂ contamination rates by 34 and 59%, respectively. Oil compounds were also observed in the uncontaminated sub layers which indicated oil compounds transported from upper layer to lower layers. The lowest TPHs translocation to sub layers in the soil columns observed in T₃ remediation treatment and the highest amount of TPHs translocation to sub layers observed in T₂ remediation treatment. Generally, remediation treatments in oil contaminated soil degrade and decrease oil compounds especially in root zone but cannot prevent oil compounds movement and translocation to sub layers. Consequently, oil compounds may enter to groundwater.

Keywords: Soil Pollution, Total Petroleum Hydrocarbons, Soil Column, Contaminants Translocation, Soil Remediation.

اثرات گیاه‌پالایی و زیست‌پالایی بر حذف و انتقال هیدروکربن‌های نفتی در یک خاک آلوده به نفت خام

اکبر نعمتی^{۱*}، احمد گلچین^۱، اکبر قویدل^۲

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۲. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۲۸ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۹/۲۶ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۹/۹/۲۹)

چکیده

نفت خام یکی از مهم‌ترین منابع انرژی است که تولید، انتقال، مصرف و دفع آن در مقیاس گسترده، آن را به یکی از مهم‌ترین و رایج‌ترین انواع آلودگی محیط‌زیست در سراسر جهان تبدیل کرده است. به‌منظور مطالعه تاثیر گیاه‌پالایی و زیست‌پالایی بر شستشوی ترکیبات نفتی در خاک آلوده به نفت خام یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار طراحی و اجرا شد. فاکتورهای مورد مطالعه شامل سطوح آلودگی خاک با نفت خام شامل صفر (C₀)، ۲ درصد نفت خام (C₁) و ۴ درصد نفت خام (C₂) و تیمارهای پالایشی شامل کاشت گیاه چمن *Lolium perenne* (T₁)، باکتری *Pseudomonas Putida* + قارچ *Phanerochaete Chrysosporium* (T₂)، کاشت چمن + باکتری *Pseudomonas Putida* + قارچ *Phanerochaete Chrysosporium* (T₃)، و بدون تیمار پالایشی (T₀) بودند. بعد از اتمام آزمایش، کل هیدروکربن‌های نفتی (TPHs) Total Petroleum Hydrocarbons در عمق‌های مختلف ستون خاک (۵، ۱۵، ۲۵، ۳۵ و ۴۵ سانتی‌متر) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد تیمارهای پالایشی غلظت کل ترکیبات نفتی را در منطقه ریشه کاهش دادند و تیمار T₃ پالایشی غلظت کل ترکیبات نفتی را در هر دو سطح آلودگی نفت خام C₁ و C₂ به ترتیب ۳۴ و ۵۹ درصد کاهش داد. ترکیبات نفتی همچنین در عمق‌های غیر آلوده مشاهده شدند که نشان دهنده حرکت ترکیبات نفتی از لایه‌های بالایی به لایه‌های پایینی بود. کمترین میزان انتقال ترکیبات نفتی به عمق‌های پایینی ستون خاک در تیمار T₃ پالایشی و بیشترین میزان انتقال ترکیبات نفتی در تیمار T₂ پالایشی مشاهده شد. به‌طور کلی تیمارهای پالایشی در خاک‌های آلوده به مواد نفتی، به‌ویژه در منطقه ریشه ترکیبات نفتی را تجزیه کرده ولی نمی‌توانند از حرکت ترکیبات نفتی و انتقال آن‌ها به لایه‌های پایین‌تر جلوگیری کنند. تا حدی که امکان وارد شدن این ترکیبات به داخل آب‌های زیر زمینی هم وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی خاک، کل هیدروکربن‌های نفتی، ستون خاک، انتقال آلاینده‌ها، پالایش خاک

مقدمه

زمانی که هیدروکربن‌های نفتی در خاک رها می‌شوند، تک تک ترکیبات نفتی بر اساس ویژگی‌های منحصر به فرد فیزیکوشیمیایی، از مخلوط جدا شده و بسته به ویژگی‌های شیمیایی و زمین‌شناسی منطقه، از میان خاک حرکت کرده و وارد آب‌های زیرزمینی می‌شوند (Roy et al., 2013). بنابراین برای مدیریت موثر آلودگی هیدروکربن‌های نفتی، ضروری است که اطلاعات کاملی از سرنوشت آن‌ها در طبیعت وجود داشته باشد. (Walker, 2006). سرنوشت و رفتار ترکیبات نفتی در خاک بوسیله فاکتورهای متعددی شامل ویژگی‌های خاک (از جمله بافت خاک، مقدار آهک و مواد آلی خاک)، ویژگی‌های شیمیایی ترکیبات نفتی و فاکتورهای محیطی مثل دما و بارندگی، تعیین می‌شود (Asghar et al., 2016).

زمانی که مواد نفتی در داخل خاک رها می‌شوند، اغلب هیدروکربن‌های سبک دچار فرآیندهای تبخیر، اکسیداسیون،

هیدروکربن‌های نفتی مهم‌ترین منابع آلودگی محیط زیست در مقیاس جهانی هستند (Jung et al., 2017). در طول مراحل تولید و انتقال نفت خام، نشت مواد نفتی می‌تواند منجر به آلودگی خاک با هیدروکربن‌های نفتی شود (Farrow et al., 2016). حضور هیدروکربن‌های نفتی در خاک به دلیل سمیت آن‌ها بر فرآیندهای زیستی که توسط ریزجانداران خاک صورت می‌گیرد اثر منفی دارد و می‌تواند تاثیرات مخربی بر کیفیت خاک بگذارد. همچنین این ترکیبات می‌توانند بر ویژگی‌های شیمیایی خاک نیز اثرات منفی داشته باشند (Roy et al., 2013). هیدروکربن‌های نفتی شامل ترکیبات پیچیده‌ای هستند که تمام این ترکیبات به یک اندازه تخریب و تجزیه نمی‌شوند (Boll et al., 2015). میزان تخریب هیدروکربن‌های نفتی بستگی به غلظت و ساختار شیمیایی آن‌ها دارد (Khan et al., 2015).

حد واسط در طول فرآیندهای زیست‌پالایی می‌باشد. Hubálek *et al.* (2006) با بررسی سمیت‌زایی خاک آلوده به هیدروکربن‌های نفتی در طول زیست‌پالایی، بیشترین سمیت را در دوره اول زیست‌پالایی گزارش کردند. همچنین این محققین اثرات سمیت را در طول کل دوره فرآیند زیست‌پالایی مشاهده کردند. Soleimani *et al.* (2013) با بررسی انتقال هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای در ستون خاک گزارش کردند هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای بسته به ساختار و حلالیت‌شان توانایی حرکت و انتقال در ستون خاک را داشته و همچنین پتانسیل بالایی برای آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی دارند. در مطالعه‌ای دیگر Al-Mutairi *et al.* (2008) خطرات زیست محیطی خاک آلوده به هیدروکربن‌های نفتی را بررسی کرده و گزارش کردند که هیدروکربن‌های محلول در آب می‌توانند از خاک‌های پالایش شده شسته شوند.

اغلب مطالعات پیشین انجام شده در زمینه پالایش نفت خام سنگین، معمولاً بر روی میزان کارایی روش‌های پالایشی در رفع آلودگی نفت خام در مناطق آلوده بوده است (Kiamarsi *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2014; Kuo *et al.*, 2019) و یا بر اثرات منفی ترکیبات نفتی بر جمعیت میکروبی و گیاهان تمرکز داشته است (Roy *et al.*, 2013; Merkl *et al.*, 2005). در بیشتر مطالعات مرتبط، امکان شستشو و انتقال ترکیبات نفتی در طول فرآیند پالایش بررسی نشده است. بنابراین اطلاعات کمی در این زمینه وجود داشته و میزان انتقال آلاینده‌های نفتی در خاک بخوبی مشخص نشده است. این مطالعه با هدف تعیین میزان حذف ترکیبات نفتی در اثر فرآیندهای پالایشی و همچنین بررسی میزان انتقال نفت خام در طی اعمال روش‌های پالایشی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثرات گیاه‌پالایی و زیست‌پالایی بر شستشو و انتقال ترکیبات نفتی در یک خاک آلوده به نفت خام یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، در سه تکرار به اجرا درآمد. فاکتورهای مورد مطالعه شامل تیمارهای پالایشی (T₁): کاشت گیاه چمن *Lolium perenne* (T₂): تلقیح باکتری *Pseudomonas Putida* + تلقیح قارچ *Phanerochaete Chryso sporium* (T₃): کاشت چمن + تلقیح باکتری *Pseudomonas Putida* + تلقیح قارچ *Phanerochaete Chryso sporium* و (T₀): بدون تیمار پالایشی (شاهد) و سطوح غلظت نفت خام شامل: صفر (C₀), ۲ درصد نفت خام (C₁) و ۴

انحلال و تغییر شکل زیستی می‌شوند (Riccardi *et al.*, 2008). روش‌های مختلفی برای پاک‌سازی آلاینده‌های نفتی از جمله سوزاندن، افزایش تهویه و جذب دمایی^۱، رسوب دادن و زیست-پالایی گزارش شده است (Prince, 2014). در بین این روش‌ها، پالایش زیستی یک روش برجسته و سازگار با محیط زیست است که در آن روش، پالایش آلودگی توسط ریزجانداران زنده انجام می‌شود (Yang *et al.*, 2009; Milić *et al.*, 2009). پالایش خاک‌های آلوده به مواد نفتی همواره یکی از مهم‌ترین موضوعات تحقیقات محیط زیست بوده و روش‌های زیست‌پالایی متعددی به منظور پالایش نفت و مشتقات آن توسعه و ارتقا یافته‌اند (Zhang *et al.*, 2010). با این حال در طی فرآیندهای زیست‌پالایی ممکن است تغییراتی در زیست فراهمی عناصر ایجاد شده و همچنین متابولیت‌های سمی واسطه‌ای ایجاد شوند که سبب خطرات زیست محیطی می‌شوند (Jin *et al.*, 2012).

تحقیقات در زمینه تجزیه زیستی هیدروکربن‌های نفتی، اثبات کرده است که باکتری‌ها و قارچ‌ها دارای پتانسیل لازم برای تجزیه این ترکیبات می‌باشند (Juhász and Naidu, 2000). باکتری‌های تجزیه‌گر مانند سودوموناس به دلیل داشتن اندازه کوچک و سطح ویژه بالا دارای قدرت جذب سطحی هیدروکربن‌ها هستند که این ویژگی به آن‌ها امکان تماس فیزیکی مناسب با هیدروکربن‌ها را می‌دهد. همچنین باکتری‌ها با داشتن سطح سلولی آب‌گریز که برای اتصال بهینه به آلاینده‌ها موثر است، می‌توانند ترکیبات سنگین را به ذرات ریز تبدیل کرده و به عنوان منبع کربن از آن استفاده کنند (Yuste *et al.*, 2000). قارچ‌ها نیز میکروارگانیسم‌های توانمندی در تجزیه هیدروکربن‌های نفتی می‌باشند که علت این توانمندی بالا، ترشح آنزیم‌های خارج سلولی از قبیل لاکاز، لیگنیناز، پراکسیداز، منگنز پراکسیداز، مونواکسیژناز و همچنین دی‌اکسیژنازها است (Mouhamadou *et al.*, 2013). همچنین قارچ *Phanerochaete chryso sporium* به دلیل توانایی تولید آنزیم‌های لیگنیناز، رشد سریع و کاربرد آسان در حین کشت، بعنوان مدل در زمینه پالایش هیدروکربن‌های نفتی شناخته شده است (Asamudo *et al.*, 2004).

Shen *et al.* (2016) با توجه به نتایج آنالیز سنجش زیستی نمونه‌ها در بررسی سمیت‌زایی خاک آلوده به نفت در طول پالایش زیستی، گزارش کردند که اثرات سمیت در طول فرآیند زیست-پالایی مشاهده و بالاترین میزان سمیت‌زایی در ابتدای دوره زیست‌پالایی مشاهده شد. تحقیقات بیشتر مشخص کرد که سمیت‌زایی اغلب در اثر تجزیه ناقص نفت خام یا تشکیل ترکیبات

درصد نفت خام (C₂) بودند.

برای کشت گیاه، یک نمونه خاک غیر آلوده به ترکیبات نفتی از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری مزرعه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی تهیه و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. آزمایش در ستون‌هایی از جنس P.V.C با طول ۵۰ سانتی‌متر و قطر ۲۰ سانتی‌متری انجام شد (شکل ۱). در ته ستون خاک یک صفحه استیل متخلخل قرار داده شد و سپس ۲۵ سانتی‌متر پایینی ستون خاک با خاک غیر آلوده و ۲۵ سانتی‌متر بالایی ستون خاک، با خاک آلوده به نفت خام پر شد. برای آماده سازی خاک آلوده، نمونه‌های خاک به طور مصنوعی با نفت خام (از پالایشگاه نفت تبریز) آلوده شدند (جدول ۱). بدین صورت که ابتدا وزن ترکیبات نفتی مورد نیاز برای آلوده ساختن خاک بر اساس سطح آلودگی و وزن خاک ۲۵ سانتی‌متری بالایی ستون‌ها (۱۱ کیلوگرم) محاسبه و سپس با توجه به دانسیته نفت خام (0.9 g/cm^3)، حجم مقدار نفت خام مورد نیاز برای آلوده سازی محاسبه و به خاک اضافه شد. مقدار نفت خام لازم برای آلوده‌سازی ابتدا با ۱۰٪ از وزن خاک ۲۵ سانتی‌متری بالایی هرستون خاک، مخلوط و سپس این مقدار با بقیه خاک لایه ۲۵ سانتی‌متری بالایی، به‌طور کامل مخلوط شد. خاک‌های آلوده به نفت خام برای رسیدن به تعادل به مدت یک ماه نگهداری شدند.

باکتری *Pseudomonas Putida* و قارچ *Phanerochaete Chryso sporium* مورد استفاده در تحقیق به ترتیب با شماره PTCC ۱۶۹۴ و ۱۵۵۷، از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند. در این مطالعه از محیط کشت PDA^۱، برای رشد قارچ استفاده شد. برای تکثیر و دستیابی به حداکثر رشد قارچ *Phanerochaete Chryso sporium*، از محیط کشت مایع حاوی پنج گرم پپتون (عصاره مخمر به عنوان منبع نیتروژن)، ۱۰ گرم گلوکز (به عنوان منبع کربن)، و مواد معدنی جهت رشد قارچ شامل ۰/۵ گرم $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۱ گرم NH_4Cl ، ۰/۵ گرم KH_2PO_4 ، ۰/۰۵ گرم $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۱ گرم $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ و ۲ گرم K_2HPO_4 . به ازای یک لیتر استفاده شد. این محیط کشت به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر در ارلن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته و دهانه ارلن‌ها توسط پنبه و فویل آلومینیومی پوشانده و استریل شدند (Sharari, 2009). جهت تلقیح بذر چمن با بکتری در نمونه‌های دارای تلقیح، ۱۰ میلی‌لیتر از کشت خالص باکتری رشد کرده در محیط کشت نوترینت برآث^۲ که حاوی ۱۰^۸ سلول باکتری زنده و فعال بود، استفاده شد. همچنین در عمق سه سانتی‌متری از سطح هر ستون خاک، ۲۰ میلی‌لیتر مایع

حاوی اسپوره‌های قارچ *Phanerochaete Chryso sporium* اضافه و سپس بذرهای در ستون‌های خاک کاشته شدند.

بذر چمن (*Lolium perenne*) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. قبل از تلقیح، بذر به مدت ۳۰ ثانیه با الک ۹۶ درصد و سپس به مدت ۲ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد ضدعفونی سطحی شده و با آب مقطر استریل نیز ۷ تا ۸ مرتبه شستشو داده شدند (García-Sánchez et al., 2012). بعد از اعمال تیمارها، نمونه‌های خاک داخل ستون‌ها منتقل و کشت گیاه در تیمارهای T₁ و T₃ انجام شد. ستون‌های خاک در شرایط مشابه مزرعه^۲ با دمای (۲ ± ۲ °C) با طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت به مدت چهار ماه نگه داشته شدند. در طول دوره آزمایش آبیاری ستون‌های خاک هر دو روز یکبار و به مقدار حدوداً ۵۰۰ میلی‌لیتر برای هر ستون و بر اساس تفاوت رطوبت ستون خاک با میزان رطوبت حد ظرفیت مزرعه نمونه‌ها، انجام شد.

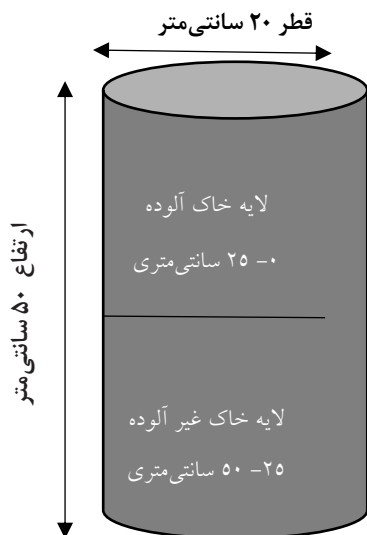
پس از اتمام دوره رشد، ستون خاک به پنج عمق (۵، ۱۵، ۲۵، ۳۵ و ۴۵ سانتی‌متری) تقسیم و از تمام عمق‌ها نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌های خاک تا زمان انجام آنالیز در یخچال و در دمای ۴°C نگهداری شدند. برای آنالیز مقدار نفت خام باقی‌مانده به روش EPA، از هگزان نرمال به عنوان حلال برای استخراج آلاینده نفت خام استفاده شد. پس از تبخیر هگزان نرمال، مقدار باقی‌مانده نفت خام بر اساس توزین اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که به ازاء هر ۱۰ گرم خاک برداشت شده، ۵۰ میلی‌لیتر هگزان نرمال به آن اضافه و به مدت ۲ ساعت با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه هم‌زده و سپس درون لوله‌های سانتریفیوژ ریخته شد. نمونه‌ها درون دستگاه سانتریفیوژ، به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه (rpm)، قرار داده شد. پس از تبخیر هگزان نرمال در نمونه‌های سانتریفیوژ شده، وزن ترکیبات نفتی باقی‌مانده در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (US EPA, 2001). میزان ترکیبات نفتی در لایه آلوده بالایی به صورت میانگین در نظر گرفته شد و اختلاف میزان ترکیبات نفتی در عمق‌های غیر آلوده پایینی با میانگین بدست آمده از لایه آلوده بالایی، به عنوان میزان انتقال ترکیبات نفتی در نظر گرفته شد. در این تحقیق به دلیل اینکه همه ترکیبات و محتوای نفتی حائز اهمیت بوده است بنابراین روش EPA برای اندازه‌گیری کل ترکیبات نفتی بکار رفته است.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.2 و برای ترسیم نمودار از نرم افزار Excel استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح

احتمال ۱ درصد صورت گرفت.

جدول ۱- برخی خصوصیات نفت خام اولیه مورد استفاده در آزمایش

میزان آهن	میزان مرکاپتان	میزان آسفالتن	H ₂ S	گرانروی سینماتیک (20 °C)	میزان نمک	فشار بخار	میزان آب	میزان نیتروژن
mg/kg	ppm	درصد وزنی	ppm	mm ² /s	PTB	psi	درصد حجمی	درصد وزنی
۱	۹۰	۳/۶	۱۵۳	۱۹/۴۲	۱۳	۷/۷۰	<۰/۰۲۵	۰/۲



شکل ۱- طرح کلی ستون خاک دولایه شامل لایه خاک آلوده و غیر آلوده

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس ترکیبات نفتی باقی مانده و انتقال آن‌ها نشان داد که اثر تیمارهای پالایشی و سطوح غلظت نفت خام بر روی پارامترهای اندازه‌گیری شده در سطح یک درصد معنی‌دار بود. اثرات متقابل تیمارهای پالایشی و غلظت نفت خام بر میزان انتقال ترکیبات نفتی معنی‌دار بود (جدول ۳).

نتایج اندازه‌گیری برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد مطالعه از جمله pH، هدایت الکتریکی (EC)، درصد ذرات و بافت خاک، میزان مواد آلی و آهک خاک در جدول (۲) آورده شده است.

جدول ۲- برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

بافت خاک	شن	سیلت	رس	مواد آلی	رطوبت ظرفیت مزرعه	pH	EC	آهک
	٪	٪	٪	٪	٪		dSm ⁻¹	g 100g ⁻¹
لوم شنی	۶۵/۳	۱۳/۱	۲۱/۶	۰/۷۸	۱۶/۵	۷/۶	۲/۵	۱۱/۲

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده و متقابل روش‌های پالایشی و غلظت نفت خام

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
		انتقال ترکیبات نفتی
تیمارهای پالایشی	۳	۱۴/۴۴**
غلظت نفت خام	۲	۳۲/۲۸**
تیمارهای پالایشی * نفت خام	۶	ns۳/۶۴
خطا	۲۴	۰/۵۷

** و * بترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و ns عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

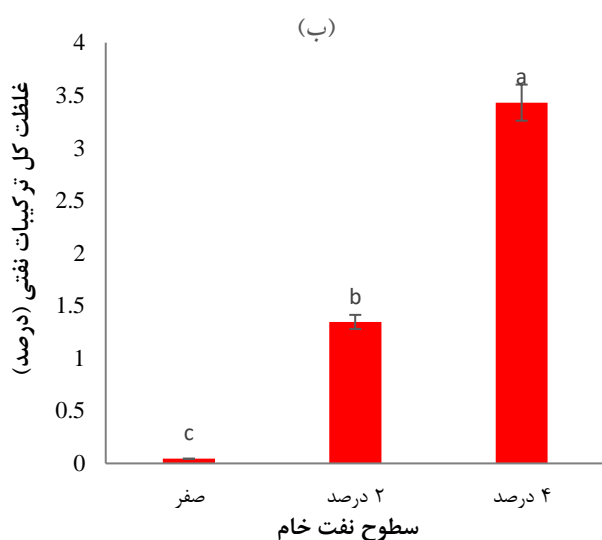
میزان حذف ترکیبات نفتی در عمق ۱۵ سانتی متری نتایج نشان داد کاربرد تیمارهای پالایشی نقش مؤثری بر تجزیه و تخریب آلاینده‌های نفتی در خاک دارا می‌باشد. در این راستا، تاثیر تیمارهای پالایشی بر میزان کاهش غلظت کل

هیدروکربن‌های نفتی^۱ TPHs در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). میزان ترکیبات نفتی باقی مانده در عمق ۱۵ سانتی متری (ناحیه اطراف ریشه) در طی فرآیندهای پالایشی در شکل (۲) نشان داده شده است. بیشترین غلظت کل ترکیبات

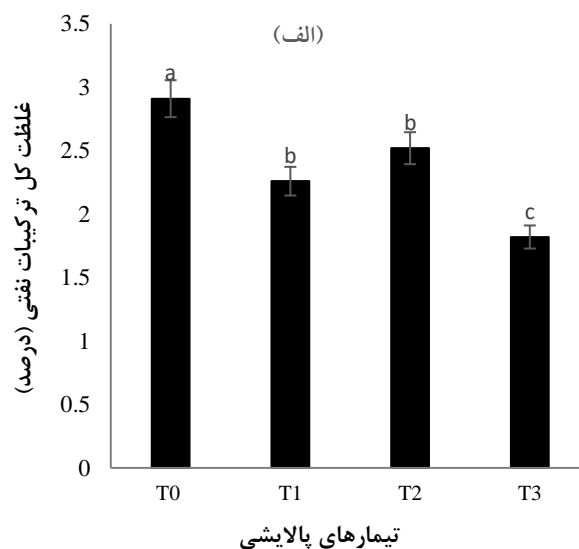
گیاه است.

تاثیر سطوح مختلف نفت خام بر غلظت کل ترکیبات نفتی خاک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳) به-طوری که با افزایش سطوح نفت خام میزان ترکیبات نفتی باقی‌مانده در خاک افزایش یافت. بیشترین میزان ترکیبات نفتی باقی‌مانده در سطح نفت خام ۴ درصد (C₂) و کمترین میزان ترکیبات نفتی باقی‌مانده در سطح صفر (C₀) نفت خام مشاهده شد (شکل ۲ ب).

در سطح C₁ آلودگی نفت خام، فرآیندهای پالایشی، تاثیر بیشتری در حذف نفت خام داشته‌اند. در طرف مقابل غلظت بالای آلاینده‌ها در سطح C₂ نفت خام، سبب ایجاد سمیت برای گیاهان و ریزجانداران شده و نهایتاً سبب نابودی آنها می‌شود. بنابراین در خاک‌های با غلظت بالای هیدروکربن‌های نفتی، کارایی فرآیندهای پالایشی کاهش می‌یابد.



نفتی (TPHs) در تیمار T₀ و پایین‌ترین غلظت TPHs در تیمار T₃ پالایشی مشاهده شد که ۱/۸۲ درصد بدست آمد (شکل ۲ الف). کاربرد تیمارهای پالایشی سبب تجزیه بخشی از ترکیبات نفتی شد و تیمار T₃ دارای نقش بیشتری در کاهش و حذف آلاینده‌های نفتی خاک بود که می‌تواند بیانگر نقش با اهمیت گیاه چمن به دلیل سیستم توسعه و تراکم ریشه آن باشد. *White et al.* (2006) بیان کردند رشد بالای ریشه، سطوح میکروبی و غلظت آلاینده‌های نفتی در خاک، از مهم‌ترین فاکتورهایی می‌باشند که میزان تخریب ترکیبات نفتی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. *Iraji et al.* (2015) با بررسی تغییرات غلظت هیدروکربن‌های نفتی در اعماق مختلف خاک آلوده بعد از فرآیند گیاه‌پالایی بیان کردند که بیشترین درصد کاهش نفت در عمق توسعه ریشه که دارای بیشترین تراکم ریشه بود، مشاهده شد. *Tang et al.* (2012) نیز نشان دادند که در محدوده ریشه جمعیت میکروارگانیزم‌ها چندین برابر بیشتر از خاک بدون حضور ریشه



شکل ۲- اثرات تیمارهای پالایشی (الف) و سطوح نفت خام (ب) بر غلظت کل ترکیبات نفتی

ریشه شده است. در واقع فرآیندها و مکانیسم‌های مختلفی در ناحیه اطراف ریشه گیاهان اتفاق می‌افتد که باعث می‌شوند ریشه‌ها محیط ایده‌آلی برای تخریب هیدروکربن‌های نفتی فراهم کنند. همچنین رشد و توسعه ریشه‌ها به خاک‌های عمیق‌تر باعث افزایش تبادل آب و هوای خاک شده که منجر به بهبود ویژگی‌های فیزیکی و زیستی خاک می‌شود (*Kuo et al., 2014*; *Wang et al., 2011*).

همچنین ریشه‌ها بوسیله کاهش سطح و حجم میکروپوره‌های خاک سبب افزایش دسترسی زیستی ریزجانداران به هیدروکربن‌های نفتی می‌شوند. علاوه بر آن آزاد سازی ترکیبات

بررسی درصد حذف نفت خام از خاک مشخص کرد که تیمار T₃ دارای بیشترین نقش موثر در پالایش نفت خام در خاک بود. به طوری که در سطح C₁ آلودگی نفت خام حضور تیمار T₃ غلظت کل ترکیبات نفتی را ۵۹ درصد کاهش داد (شکل ۳). همچنین در سطح C₂ آلودگی نفت خام، تیمار پالایشی T₃ نقش بسیار موثری در پالایش نفت خام ایفا کرده و ۴۵ درصد کاهش در غلظت نفت خام توسط این تیمار پالایشی مشاهده شد (شکل ۳). بنظر می‌رسد تیمار (T₃) به دلیل حضور جمعیت و فعالیت میکروبی بیشتر و همچنین حضور گیاه پالاینده همراه با تلقیح میکروبی، باعث تخریب بالاتر آلاینده نفت خام در محیط اطراف

تا حدی غلظت TPHs را کاهش دادند ولی در مابقی لایه‌های آلوده ستون خاک، میزان TPHs افزایش یافت. علاوه بر این در تمام اعماق مورد مطالعه، تیمار پالایشی T₃ که حاوی گیاه چمن به همراه باکتری و قارچ بود، دارای کمترین غلظت ترکیبات نفتی و تیمار T₀، دارای بیشترین میزان ترکیبات نفتی بود که حاکی از تجزیه بیشتر ترکیبات نفتی در تیمار T₃ می‌باشد (شکل ۴).

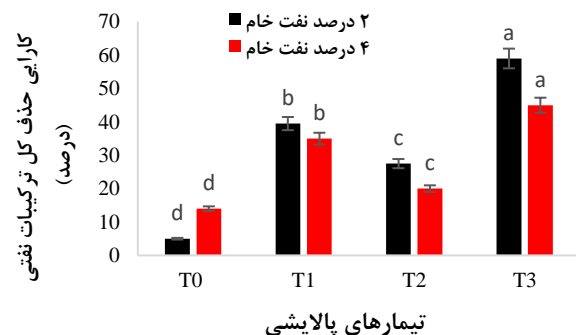
از عمق ۲۵ سانتی‌متر به پایین‌تر میزان ترکیبات نفتی با عمق کاهش یافته است. همین روال در غلظت بالاتر مواد نفتی در خاک (۴ درصد) هم دیده می‌شود ولی کاهش غلظت ترکیبات نفتی در عمق ۱۵ سانتی‌متری کمتر می‌باشد. میزان TPHs در عمق‌های زیر ۲۵ سانتی‌متر (لایه خاک غیر آلوده) نشان دهنده شستشو و انتقال ترکیبات نفتی به لایه‌های پایین‌تر ستون خاک بود. (Teng et al., 2013) با بررسی توزیع کل هیدروکربن‌های نفتی در خاک و آب‌های زیرزمینی، مشاهده کردند که هیدروکربن‌های نفتی در اثر شستشو به عمق‌های پایین‌تر انتقال یافتند بدین ترتیب که غلظت TPHs در عمق ۰-۱۵ سانتی‌متری برابر $0.63 \text{ (mg.g}^{-1}\text{)}$ ، در عمق ۴۰-۵۵ سانتی‌متری برابر $0.29 \text{ (mg.g}^{-1}\text{)}$ ، در عمق ۱۱۰-۱۱۵ برابر $0.36 \text{ (mg.g}^{-1}\text{)}$ ، در عمق ۵۰۰-۵۱۵ برابر $0.26 \text{ (mg.g}^{-1}\text{)}$ بود. این محققین بیان کردند خاک‌های آلوده به مواد نفتی می‌توانند منجر به آلودگی سفره‌های آب شوند. همچنین این محققین اشاره کردند که نشت از چاه‌های نفتی ممکن است تا حد زیادی مسئول آلودگی خاک و سفره‌های آب باشد. (Iraji Asiabadi et al., 2015) نیز با بررسی تغییرات غلظت هیدروکربن‌ها در اعماق مختلف خاک، گزارش کردند با افزایش عمق غلظت هیدروکربن‌های نفتی افزایش یافت.

بنظر می‌رسد تاثیر کمتر تیمارهای پالایشی بر میزان حذف ترکیبات نفتی در عمق ۲۵ سانتی‌متری، می‌تواند به دلیل کمبود اکسیژن برای باکتری‌ها و قارچ‌ها و بنابراین فعالیت میکروبی کمتر در عمق‌های پایین‌تر باشد. (Boopathy 2004) بیان کرد که اولین مرحله متابولیسم هیدروکربن‌های نفتی به وسیله باکتری‌ها و قارچ‌های هوازی است. بنابراین، کاهش اکسیژن در لایه‌های پایین‌تر سبب تجزیه آهسته‌تر هیدروکربن‌های نفتی و در نتیجه افزایش نفت در عمق می‌شود.

در هر دو سطح آلودگی نفت خام (C₁ و C₂)، در بین تیمارهای پالایشی، بیشترین میزان انتقال TPHs به لایه‌های پایین‌تر (عمق‌های ۳۵ و ۴۵ سانتی‌متری) در تیمار T₂ پالایشی مشاهده شد که با میزان انتقال توسط تیمار شاهد T₀ (بدون گیاه و تلقیح) در سطح احتمال یک درصد، تفاوت معنی‌دار نداشت که نشان دهنده تجزیه کمتر ترکیبات نفتی در تیمار T₂ بود (شکل ۴). از طرف دیگر در بین همه تیمارهای پالایشی کمترین میزان

آلی مانند آمینواسیدها، قندها، آنزیم‌ها، اسیدهای آلی و کربوهیدرات‌ها از ریشه‌ها سبب افزایش جمعیت و فعالیت میکروبی می‌شوند (Van Hecke et al., 2005). Shen et al. (2016) در تحقیقی از گیاهان و تعدادی از باکتری‌های تجزیه کننده نفت استفاده و گزارش کردند که غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی در خاک در مدت ۴۰ روز پس از زیست‌پالایی، به میزان ۶۴/۴ درصد کاهش یافت. (Moubasher et al., 2015) نیز گیاه پالایی خاک‌های آلوده به نفت خام را همراه با کاربرد باکتری *Bassia scoparia*، بررسی و گزارش کردند پس از پنج ماه گیاه پالایی، میزان هیدروکربن‌های نفتی به طور معنی‌داری کاهش یافت و همچنین متوسط میزان تخریب هیدروکربن‌های نفتی ۳۱/۲ درصد بود.

از طرف دیگر مطالعات بسیاری نشان دادند که ارتباط مستقیمی بین افزایش تجزیه هیدروکربن‌های نفتی و جمعیت میکروبی در خاک آلوده زیر کشت نسبت به خاک کشت نشده وجود دارد. چراکه ریشه‌های گیاهان محیط مناسبتری برای فعالیت و توسعه جمعیت میکروبی فراهم می‌کنند و جمعیت میکروبی بزرگتری به خصوص در محدوده ریشه آن‌ها به وجود می‌آید که منجر به تجزیه و تخریب بیشتر ترکیبات نفتی در این محدوده می‌شود (Moreira et al., 2011; Tang et al., 2012).



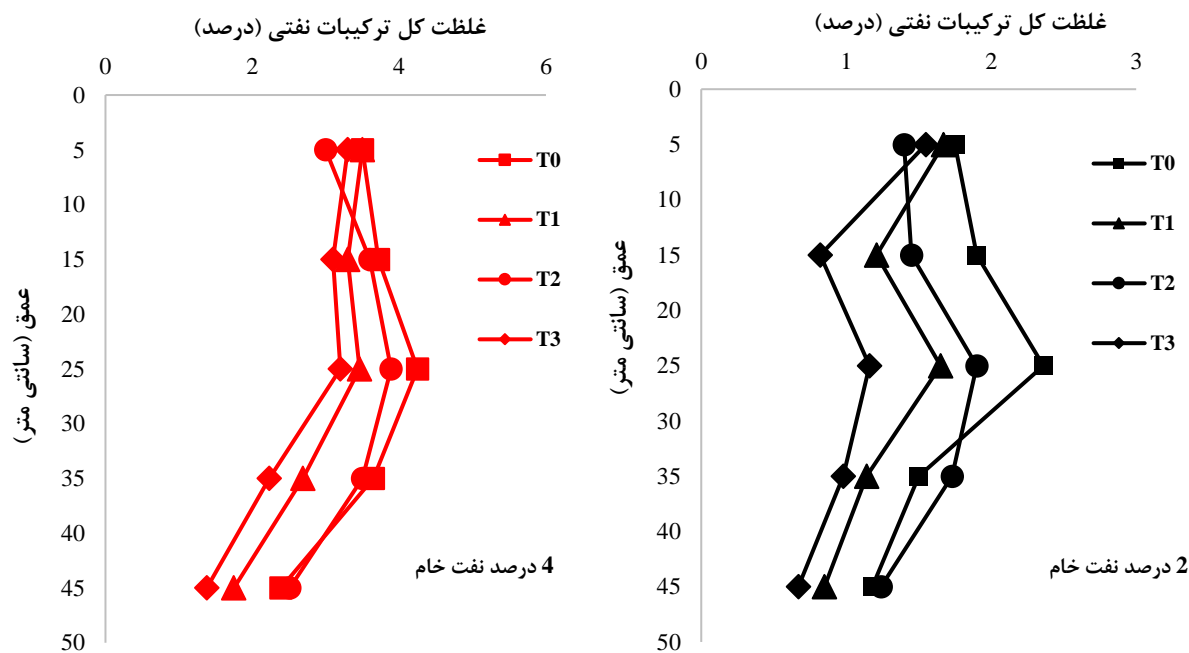
شکل ۳- مقایسه کارایی حذف کل ترکیبات نفتی تحت تاثیر تیمارهای پالایشی و غلظت نفت خام

میزان انتقال ترکیبات نفتی در ستون خاک

نتایج نشان داد که اثر تیمارهای پالایشی و غلظت نفت خام در خاک بر میزان انتقال ترکیبات نفتی در ستون خاک، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقادیر کل ترکیبات نفتی در عمق‌های مختلف بعد از فرآیندهای پالایشی در شکل (۴) نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که در لایه آلوده ستون خاک (۰-۲۵ سانتی‌متری) میزان ترکیبات نفتی از سطح به عمق ۱۵ سانتی‌متری کاهش یافته و از عمق ۱۵ سانتی‌متری به ۲۵ سانتی‌متری مجدداً افزایش یافته و به همان اندازه سطح خاک رسیده است. به طور کلی در ناحیه ریشه، تیمارهای پالایشی

باشد. بنابراین تخریب بیشتر ترکیبات نفتی با حلالیت بالا، منجر به افزایش حرکت و انتقال ترکیبات نفتی به لایه‌های پایین‌تر می‌شود. از طرفی غلظت بیشتر آلاینده‌های نفتی در خاک در سطح غلظت نفت خام بالاتر (C₂)، سبب تامین مقدار بالاتر سوبسترای لازم برای فعالیت ریزجانداران خاک می‌شود که منجر به تخریب بیشتر ترکیبات نفتی شده است. (Polyak *et al.* (2018). در بررسی تاثیر روش‌های مختلف پالایشی در خاک آلوده به نفت بیان کردند که بالاترین میزان فعالیت‌های زیستی در زمانی که غلظت هیدروکربن‌ها در بیشترین میزان قرار داشت مشاهده شد. آن‌ها بیان کردند که غلظت بالای هیدروکربن‌ها باعث تحریک بالای فعالیت میکروبی می‌شود.

TPHs در عمق ۵ سانتی‌متری سطحی ستون خاک، در تیمار پالایشی T₂ مشاهده شد. این مشاهده می‌تواند به دلیل حضور کافی اکسیژن در سطح خاک و فعالیت بالاتر باکتری‌ها و قارچ‌ها باشد زیرا این میکروارگانیسم‌ها هوای می‌باشند. دلیل دیگر برای این مشاهده می‌تواند بخار شدن برخی ترکیبات هیدروکربنی نفتی از سطح خاک باشد. البته بخار از سطح خاک در تیمارهای دیگر نیز سبب کاهش میزان TPHs در عمق ۵ سانتی‌متری بالایی ستون خاک شد. (Coulon *et al.* (2010). بیان کردند که بخش‌های سبک‌تر به‌ویژه بخش‌های آلیفاتیک بر اثر تغییر درجه حرارت و حرکت افقی هوا، بصورت بخار از خاک خارج می‌شوند. انتقال بیشتر ترکیبات نفتی در سطح آلودگی C₂ می‌تواند در اثر غلظت بالاتر نفت خام و تخریب بیشتر آلاینده‌های نفتی



شکل ۴- تغییرات غلظت TPHs در عمق‌های مختلف ستون خاک

واکنش بین ترکیبات نفتی و ذرات رس سبب جذب ترکیبات نفتی در سطح ذرات رس شده و انتقال ترکیبات نفتی کاهش می‌یابد. از طرف دیگر با توجه به نوع بافت خاک میزان نفوذپذیری خاک متفاوت بوده و بسته به میزان نفوذپذیری، حرکت آب و ترکیبات نفتی شسته شده درون آن، در داخل خاک کندتر یا سریع‌تر خواهد شد (Jarvis, 2007). با توجه به بافت سبک خاک مورد مطالعه (جدول ۲)، بنظر می‌رسد نفوذپذیری بالای خاک بر تحرک و انتقال مواد نفتی شسته شده توسط آب تاثیرگذار بوده است. مطالعات انجام شده توسط Urum *et al.* (2004) نشان می‌دهد که در شرایط یکسان، شستشو و انتقال ترکیبات نفتی در خاک-

(Soleimani *et al.* (2013) بیان کردند که دو پارامتر بر تحرک هیدروکربن‌های نفتی در پروفیل خاک تاثیرگذار هستند که شامل خصوصیات ترکیبات نفتی و ویژگی‌های فیزیکی خاک می‌باشند. حلالیت هیدروکربن‌های نفتی با افزایش تعداد حلقه‌ها کاهش می‌یابد در حالی که آب‌گریزی آن‌ها افزایش می‌یابد. همچنین این محققین گزارش کردند شستشوی ترکیبات هیدروکربنی با افزایش حلالیت آن‌ها در آب افزایش می‌یابد. بنابراین حلالیت بالای برخی ترکیبات سبب افزایش تحرک آن‌ها در پروفیل خاک و احتمالاً آلوده‌سازی منابع آبی می‌شود. خصوصیات فیزیکی خاک از جمله بافت خاک نیز از پارامترهای مهم تاثیرگذار بر میزان انتقال ترکیبات نفتی می‌باشد.

و بنابراین سبب افزایش خطرات محیط زیستی می‌شود.

نتیجه‌گیری

وجود مقادیر TPHs در عمق‌های پایین لایه غیر آلوده ستون خاک، نشان داد که ترکیبات نفتی می‌توانند در داخل خاک حرکت کرده و به لایه‌های پایین‌تر خاک انتقال یابند. بنابراین ترکیبات هیدروکربنی نفتی تحت تاثیر روش‌های مختلف پالایشی دارای پتانسیل انتقال در داخل پروفیل خاک می‌باشند و این پتانسیل شستشو و انتقال ترکیبات نفتی خطری برای اکوسیستم و چرخه غذایی می‌باشد.

تیمار پالایشی T₂ در هر دو سطح آلودگی نفت خام، باعث انتقال بیشتر ترکیبات نفتی به عمق‌های پایین‌تر شد. در مقابل کمترین میزان انتقال ترکیبات نفتی از تیمار پالایشی T₃ که داری باکتری و قارچ به همراه گیاه چمن بود، بدست آمد. بنابراین بنظر می‌رسد حضور ریزجانداران و فعالیت میکروبی همراه با گیاهان پالاینده سبب تجزیه و حذف بیشتر ترکیبات نفتی از خاک شده و همچنین منجر به انتقال کمتر ترکیبات نفتی به لایه‌های پایین‌تر می‌شود. بنابراین می‌توان گفت تیمار پالایشی ترکیبی (گیاه + میکروبی) در میان سایر تیمارهای پالایشی برای پالایش آلودگی نفت خام خاک مناسبتر است.

بنابراین پیشنهاد می‌شود بمنظور کاهش و جلوگیری از حرکت مواد نفتی در خاک از روش‌های آبیاری کم مصرف کننده آب و یا فرآیندهای تحکیم کننده پروفیل خاک استفاده شود.

"هیچ‌گونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد"

REFERENCES

- Al-Mutairi, N., Bufarsan, A. and Al-Rukaibi, F. (2008). Ecorisk evaluation and treatability potential of soils contaminated with petroleum hydrocarbon-based fuels. *Chemosphere*, 74(1): 142–148.
- Asamudo, N., Daba, A. and Ezeronye, O. (2004). Bioremediation of textile effluent using *Phanerochaete chrysosporium*. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 4: 21-39.
- Asghar, H. N., Rafique, H.M.Z., Zahir, A., Khan, M.Y., Akhtar, M.J. Naveed, M. and Saleem, M. (2016). Petroleum hydrocarbons-contaminated soils: Remediation approaches. in: Hakeem, R.K., Akhtar, J., Sabir, M. (Eds.). *Soil Science: Agricultural and Environmental Perspectives*. Springer International Publishing, Cham, pp. 105-129.
- Boopathy, R. (2004). Anaerobic biodegradation of no 2 diesel fuel in soil: a soil column study. *Bioresource Technology*, 94: 143-151.
- Boll, E.S., Nejrup, J., Jensen, J.K. and Christensen, J.H. (2015). Chemical fingerprinting of hydrocarbon-contamination in soil. *Environmental Science: Processes and Impacts*. 17: 606-618.
- Coulon, F., Whelan, M.J.G., Paton, I., Semple, K.T., Villa, R. and Pollard, S.J.T. (2010). Multimedia fate of petroleum hydrocarbons in the soil: Oil matrix of constructed biopiles. *Chemosphere*, 81: 1454–1462.
- Farrow, K., Brinson, A., Wallmo, K. and Lew, D. K. (2016). Environmental attitudes in the aftermath of the Gulf oil spill. *Ocean Coastal Management*, 119: 128–134.
- García-Sánchez, M., Garrido, I.I.D., Casimiro, J., Casero, P.J., Espinosa, F., GarcíaRomera, I. and Aranda, E. (2012). Defence response of tomato seedlings to oxidative stress induced by phenolic compounds from dry olive mill residue. *Chemosphere*, 89: 708–716.
- Hubálek, T., Vosáhlová, S., Matějů, V., Kováčová, N. and Novotný, Č. (2006). Ecotoxicity monitoring of hydrocarbon-contaminated soil during

های آلوده به میزان آلودگی پائین و بافت سبک نسبت به خاک- های دارای آلودگی بالاتر و بافت سنگین، بیشتر انجام می‌گیرد. همچنین خصوصیات خاک مانند مواد آلی نیز می‌تواند بر سرنوشت و میزان انتقال ترکیبات نفتی تاثیر گذار باشد. ساختمان خاک ممکن است در اثر مواد آلی خاک تغییر یافته و تغییرات ذرات کلوئیدی بر جریان آب ماکروپورها در خاک تاثیر گذاشته و باعث ارتقای آن بشود. در آزمایشات طولانی مدت مواد آلی می- تواند بر درجات تخریب و میزان جذب آلاینده‌های آلی متحرک تاثیر گذار باشد. از طرف دیگر برخی ترکیبات مواد آلی دارای بار بوده و می‌توانند ترکیبات تخریب شده مواد نفتی را در سطح خود جذب و از انتقال آن‌ها جلوگیری نمایند (Jarvis, 2007). با توجه به این‌که اغلب خاک‌های ایران و همچنین خاک مورد مطالعه در آزمایش (جدول ۲)، از نظر میزان مواد آلی فقیر محسوب شده و دارای مواد آلی کمی هستند لذا این مسأله می‌تواند بر انتقال بیشتر ترکیبات نفتی تخریب شده در داخل خاک تاثیر گذار باشد. Luo *et al.* (2013) بیان کردند که فرضیه تاثیر معنی‌دار مواد آلی خاک بر تحرک و انتقال ترکیبات هیدروکربنی حلقوی ثابت شده است. همچنین این محققین بیان کردند که مواد آهکی در خاک بر اساس مقدار، ظرفیت جذب و انتقال می‌توانند اثرات متفاوتی بر انتقال هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای نفتی داشته باشند. یکی دیگر از عوامل انتقال هیدروکربن‌های نفتی در ستون خاک، شستشوی حاصل از آب آبیاری می‌باشد که سبب تحرک و انتقال ترکیبات نفتی به لایه‌های پایین‌تر می‌شود. Zhao *et al.* (2017) گزارش کردند که آبیاری غرقابی مرسوم سبب نفوذ بیشتر ترکیبات چند حلقه‌ای نفتی در داخل جریان آب درون خاک شده

- bioremediation: a case study. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 52(1): 1–7.
- Iraji Asiabadi, F., Mir Bagheri, A., Najafi, P. Moattar, F. (2015). Investigation of changes in petroleum hydrocarbon concentrations in different contaminated soil depths after the phytoremediation process. Iranian Natural Resources, 68(3): 363-372. (In Farsi)
- Jarvis, N.J. (2007). A review of nonequilibrium water flow and solute transport in soil macropores: principles, controlling factors and consequences for water quality. European Journal of Soil Science, 58: 523–546.
- Jin, H. M., Kim, J.M., Lee, H.J., Madsen, E.L. and Jeon, C.O. (2012). Alteromonas as a key agent of polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation in crude oil-contaminated coastal sediment. Environmental Science Technology, 46: 7731–7740.
- Juhasz, A.L. and Naidu, R. (2000). Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: A review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. International Biodeterioration and Biodegradation, 45: 57-88.
- Jung, D., Kim, J.A., Park, M.S., Yim, U.H. and Choi, K. (2017). Human health and ecological assessment programs for Hebei Spirit oil spill accident of 2007: status, lessons, and future challenges. Chemosphere, 173: 180–189.
- Kiamarsi, Z., Soleimani, M., Nezami, A. and Kafi, M. (2019). Biodegradation of n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons using novel indigenous bacteria isolated from contaminated soils, International Journal of Environmental Science and Technology, 16(11): 6805-6816.
- Khan, S. R., Nirmal Kumar, J.I. and Nirmal Kumar, R. (2015). Enzymatic evaluation during biodegradation of kerosene and diesel by locally isolated fungi from petroleum- contaminated soils of Western India, 24: 514-525.
- Kuo, H.C., Juang, D.F., Yang, L., Kuo, W.C. and Wu, Y.M. (2014). Phytoremediation of soil contaminated by heavy oil with plants colonized by mycorrhizal fungi. International Journal of Environmental Science Technology, 11: 1661–1668.
- Luo, X., Zheng, B., Wu, Y., Lin, Z., Han, F., Zhang, W. and Wang, X. (2013). Impact of carbonaceous materials in soil on the transport of soil-bound PAHs during rainfall-runoff events. Environmental Pollution, 182: 233-241.
- Merkl, N., Schultze-Kraft, R. and Infante, C. (2005). Phytoremediation in the tropics-influence of heavy crude oil on root morphological characteristics of graminoids Environmental Pollution, 138: 86–91.
- Milić, J. S., Beškoski, V.P., Ilić, M.V., Ali, S.A.M., Gojgić-Cvijović, G.Đ. and Vrvic, M.M. (2009). Bioremediation of soil heavily contaminated with crude oil and its products: composition of the microbial consortium. Journal of Serbian Chemical Society, 74: 455–460.
- Moreira, I.T.A., Oliveira, O.M.C., Triguís, J.A., Santos, A.M.P., Queiroz, A.F.S., Martins, C.M.S., Silva, C.S. and Jesus, R.S. (2011). Phytoremediation using Rizophora mangle L. in mangrove sediments contaminated by persistent total petroleum hydrocarbons (TPH's). Microchemical Journal, 99: 376–382.
- Moubasher, H.A., Hegazi, A.K., Mohamed, N.H., Mostafa, Y.M., Kabil, H.F. and Hamed, A.A. (2015). Phytoremediation of soil polluted with crude petroleum oil using Bassia scoparia and its rhizosphere microorganisms. International Biodeterioration Biodegradation, 98: 113–120.
- Mouhamadou, B., Faure, M., Sage, L., Marçais, J., Souard, F. and Geremia, R.A. (2013). Potential of autochthonous fungal strains isolated from contaminated soils for degradation of polychlorinated biphenyls. Fungal Biology, 117: 268-74.
- Polyak, Y.M., Bakina, L.G., Chugunova, M.V., Mayachkina, N.V., Gerasimov, A.O. and Bure, V.M. (2018). Effect of remediation strategies on biological activity of oil-contaminated soil - A field study. International Biodeterioration and Biodegradation, 126: 57–68.
- Prince, R.C. (2014). Crude oil releases to the environment: natural fate and remediation options. In: Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.09112-0>.
- Riccardi, C., Di Filippo, P., Pomata, D., Inconato, F., Di Basilio, M., Papini, M.P. and Spicaglia, S. (2008). Characterization and distribution of petroleum hydrocarbons and heavy metals in groundwater from three Italian tank farms. Science of the Total Environment, 393: 50-63.
- Roy, A.S., Yenn, R., Singh, A.K., Boruah, H.P.D., Saikia, N. and Deka, M. (2013). Bioremediation of crude oil contaminated tea plantation soil using two Pseudomonas aeruginosa strains AS 03 and NA 108. African Journal of Biotechnology, 12: 2600-2610.
- Sharari, M. (2009). Study of Bioremediation effect of Phanerochaete chrysosporium on effluent of bagasse preparation stage. A thesis submitted.
- Shen, W., Zhu, N., Cui, J., Wang, H., Dang, Z., Wu, P. and Shi, C. (2016). Ecotoxicity monitoring and bioindicator screening of oil-contaminated soil during bioremediation. Ecotoxicology and Environmental Safety, 124: 120–128.
- Soleimani, M., Afyuni, M. and Charkhabi, A.H. (2013). Transport of polycyclic aromatic hydrocarbons in a calcareous wetland soil. Caspian Journal of Environmental Sciences, 11(2): 131-140.
- Tang, J., Lu, X., Sun, Q. and Zhu, W. (2012). Aging effect of petroleum hydrocarbons in soil under different attenuation conditions. Agriculture Ecosystems and Environment, 149: 109-117.
- Teng, Y., Feng, D., Song, L., Wang, J. and Li, J. (2013).

- Total petroleum hydrocarbon distribution in soils and groundwater in Songyuan oilfield, Northeast China. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185: 11.9559–9569.
- US EPA. (2001). Guideline for the bioremediation of marine shorelines and fresh water wetland. Office of research and development, US Environmental Protection Agency.
- Urum, K., Pekdemir, T. Çopur, M. (2004). “Surfactants treatment of crude oil contaminated soils”, *Journal of Colloid and Interface Science*, 276: 456-464.
- Van Hecke, M.M., Treonis, A.M. and Kaufman, J.R. (2005). How does the fungal endophyte *Neotyphodium coenophialum* affect tall fescue (*Festuca arundinacea*) rhizodeposition and soil microorganisms? *Plant Soil*, 275: 101–109.
- Walker, C.H. (2006). *Principles of Ecotoxicology*. CRC, Taylor and Francis, Boca Raton, U.S.A.
- Wang, Z., Xu, Y., Zhao, J., Li, F., Gao, D. and Xing, B. (2011). Remediation of petroleum contaminated soils through composting and rhizosphere degradation. *Journal of Hazardous Materials*, 190: 677–685.
- White, P. M., Wolf, D.C., Thoma, G.J. and Reynolds, C.M. (2006). Phytoremediation of alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in a crude oil-contaminated soil. *Water Air Soil Pollution*, 169: 207-220.
- Yang, S. Z., Jin, H.J., Wei, Z., He, R.X., Ji, Y.J., Li, X.M. and Yu, S.P. (2009). Bioremediation of oil spills in cold environments: a review. *Pedosphere*, 19: 371–381.
- Yu, S., Tang, Y., Wu, X. and Wu, X. (2011). Succession of bacterial community along with the removal of heavy crude oil pollutants by multiple biostimulation treatments in the Yellow River Delta, China. *Journal of Environmental Science*, 23: 1533–1543.
- Yuste, L., Corbella, M.E., Turiegano, M.J, Karlson, U., Puyet, A. and Rojo, F. (2000). Characterization of bacterial strains able to grow on high molecular mass residues from crude oil processing. *FEMS Microbiology Ecology*, 32(1): 69-75.
- Zhang, Z., Zhou, Q., Peng, S. and Cai, Z. (2010). Remediation of petroleum contaminated soils by joint action of *Pharbitis nil L.* and its microbial community. *Science of the Total Environment*, 408: 5600–5605.
- Zhao, Z., Xia, L., Jiang, X. and Gao, Y. (2017). Effects of water-saving irrigation on the residues and risk of polycyclic aromatic hydrocarbon in paddy field. *Science of the Total Environment*, 15:736-745.