مجله مهندسی بهداشت محیط، پاییز ۱۳۹۸، سال ۷، شماره ۱: ۵۳-۶۸

زیست پالایی خاک های آلوده به گازوئیل در بیوراکتور حاوی لجن فعال خام و ورمی کمپوست

بهناز عبداللهی نژاد[۱و۲]، مهدی فرزادکیا[۱و۲*]، احمد جنیدی جعفری[۱و۲]، علی اسرافیلی دیزجی[۱و۲]

۱. گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۲. مرکز تحقیقات تکنولوژی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۱۱/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۲٤

چکیده

سابقه و هدف: امروزه آلودگی خاک به مواد نفتی (Total petroleum hydrocarbons) (TPH) از مشکلات عمده‌ای است که محیط زیست‌انسان و سایر موجودات زنده را با خطر جدی مواجه نموده است. یکی از بهترین و قابل اعتماد ترین روش‌های زیست‌پالایی، استفاده از کرم‌های خاکی است که به روش کرم‌پالایی مشهور است. هدف از این مطالعه تعیین قابلیت زیست‌پالایی خاک آلوده به گازوئیل در بیورأکتورهای حاوی کرم خاکی ایزنیا فتیدا با مخلوط کمپوست و لجن فعال خام می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی به منظور تعیین کارایی زیست‌پالایی در حذف گازوییل، از خاک آلوده، کمپوست گاوی و لجن فاضلاب شهری با نسبت های وزنی ۱: ۰/۳۵: ۰/۲۵ استفاده شد. فرآیند زیست‌پالایی در ٦ راکتور با غلظت‌های مختلف گازوئیل (۱۰ و ۳۰ گرم بر کیلوگرم خاک)، تعداد کرم‌های خاکی ایزنیافتیدا (۱۰ و ۲۰ عدد) در دمای محیط به مدت ۹۰ روز انجام شد. علاوه بر این، از دو راکتور بدون اضافه کردن کرم‌خاکی به منظور مقایسه عملکرد زیست‌پالایی گازوئیل با استفاده از کرم خاکی ایزنیافتیدا استفاده گردید. میزان تجزیه‌پذیری هیدروکربن‌های نفتی TPH با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی مجهز به اشکار ساز شعله‌ای (GC-FID) مورد سنجش قرار گرفت. نتایج حاصل ازمطالعه حاضر با استفاده از نرم‌افزار Minitab نسخه ۱۷ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می‌دهد که بیشترین راندمان حذف هیدروکربن‌های سبک حدود ۱۰۰ درصد در بازه زمانی ۹۰ روز در راکتور شماره ۳ با اختلاف معناداری ($P<0.05$) نسبت به دیگر رأکتورها اتفاق افتاده است. این درحالیست که راندمان حذف هیدروکربن‌های متوسط در بیشتر راکتورها حدود ۷۰ درصد مشاهده گردید. بیشترین راندمان حذف هیدروکربن‌های سنگین (٦۸ درصد) در رأکتور شماره ٤ با مشخصات نمونه خاک آلوده شده با گازوئیل ۱۰ گرم بر کیلوگرم خاک و ۲۰ عدد کرم خاکی ایزنیافتیدا، با اختلاف معناداری ($P<0.05$) نسبت به دیگر رأکتورها مشاهده گردید.

استنتاج: براساس نتایج مطالعه حاضر، تجزیه‌پذیری هیدروکربن‌های نفتی به طور قابل ملاحظه‌ای با اضافه کردن مواد اصلاح‌کننده آلی و افزایش تعداد کرم‌های خاکی افزایش یافته است.

کلمات کلیدی: زیست‌پالایی، کرم خاکی ایزنیافتیدا، لجن فعال، ورمی کمپوست، هیدروکربن های نفتی

* **نویسنده مسئول:** گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
ایمیل: m_farzadkia@yahoo.com - تلفن تماس: ۰۹۱۲-۲۵۸۸۶۷۷

مقدمه

آلودگی خاک به عنوان یکی از معضلات زیست‌محیطی عمده در دنیا شناخته شده است. آلودگی خاک عبارت است از حضور، پخش یا افزودن یک یا چند ماده خارجی به خاک به مقدار و مدتی که کیفیت فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی آن را به طوری که برای انسان یا سایر موجودات زنده یا گیاهان و یا آثار و ابنیه زیان آور باشد، تغییر دهد. رشد و توسعه صنایع و فعالیت‌های انسانی باعث به وجود آمدن آلودگی‌های گوناگونی در خاک شده است که در صورت رسیدن به آب‌های زیرزمینی می‌توانند بسیار مضر باشند [۱].

متداولترین آلاینده‌های نفتی در خاک شامل نفت، گازوئیل، حلال‌های کلردار، هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه ای (PAH_S)، ترکیبات بنزن، تولوئن، اتیل بنزن، زایلن (BTEX) ، و غیره می‌باشند [۲،۳]. از جمله علل آلودگی نفتی، تصادف تانکرهای نفت، بمباران، پخش مواد نفتی و مشتقات آن و برخی فعالیت‌های بی‌ملاحظه انسان و غیره می باشد [۳] .

کشور ایران به عنوان یکی از بزرگ‌ترین کشورهای نفت-خیز و صادرکننده نفت خام در دنیا بشمار می‌آید. ایران باتوجه به دارا بودن ۸/۵۸ درصد ازمنابع نفتی جهان، تولیدات پتروشیمی حدود ۳۵ میلیون تن درسال و دارا بودن مقام دوم در ذخایر گازی جهان، شدیداً درمعرض آلودگی خاک و آبهای سطحی و زیرزمینی می باشد [۳].

از میان ترکیبات نفتی، گازوئیل به عنوان یکی از پرمصرف‌ترین و کاربردی‌ترین محصولات نفتی در دنیا و بخصوص در ایران مطرح شده است، که به علت کاربرد فراوان یکی از علل عمده آلودگی خاک در ایران می‌باشد. به طورعمده دلایل اصلی آلودگی خاک به ترکیبات نفتی را می توان به نشت مخازن ذخیره، لوله های انتقال، حوضچه های تبخیر، وقوع سوانح در حمل و نقل و پوسیدگی تانکهای پمپ بنزین نسبت داد [۴]. نشت ترکیبات نفتی تحت تأثیر نیروهای کاپیلاری و ثقلی منجر به حرکت عمودی در خاک های غیراشباع شده و خلل و فرج خاک را پر می‌کند [۵]. گازوئیل یک ترکیب نفتی با وزن متوسط است که نقطه جوش آن بین ۱۷۵ تا ۳۵۵ درجه سلسیوس است و بیش از ۲۰۰ ترکیب هیدروکربنی نفتی با محدوده وزنی آلکان‌های $C_{10} - C_{28}$ تشکیل شده است که معمولاً شامل ۳۰٪ آلکان، ۴۵٪ سیکلوآلکان و ۲۴٪ ترکیبات آروماتیک می باشد [۶] .

سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا (US.EPA) چندین روش از جمله شیمیایی، فیزیکی، بیولوژیکی و حرارتی برای پاکسازی خاکهای آلوده به هیدروکربن‌های نفتی ارائه کرده است [۷]. روش های فیزیکی مانند هوادهی، حفر و کندن و جابجایی، پخش، شستشوو دفن کردن جهت حذف آلودگی از مناطق با وسعت نسبتاً کم کاربرد دارند و برای مساحت‌های زیاد نظیر خاک های آلوده به مواد صنعتی و مواد نفتی و نظایر آن بسیار پر هزینه می‌باشند [۸]. به علاوه این روش ها مخل شرایط طبیعی محیط بوده و استفاده از آنها به تنهایی بسیار پرهزینه، دارای عوارض و بعضاً غیر کارآمد است [۹]. روش‌های شیمیایی که بر پایه اکسید شدن شیمیایی آلاینده استوار است [۱۰]. در این روش از مواد اکسید کننده‌ای نظیر کلرین، هیپو کلرید، پر منگنات، اکسیژن(O_2)، ازن(O_3) پراکسیدهیدروژن(H_2O_2)، پراکسیدهای آلی، فنتون ($H_2O_2+Fe^{+2}$) پرمنگنات پتاسیم، پرسولفات، و رادیکالهایی چون آلکوکسی(RO)، پراکسی(RO_2) و هیدروکسیل(HO) و غیره جهت تجزیه آلاینده‌های آلی استفاده می‌گردد. استفاده از ترکیبات کلر دار در این روش به نوبه خود می‌تواند منجر به ایجاد محصولات جانبی خطرناک گردد [۱۱،۱۲]. این روش‌ها پرهزینه و گران بوده و معمولاً برای خاک‌هایی که آلودگی شدیدی دارند، پیشنهاد شده است [۱۳].

در این میان روش زیست پالایی بدلیل کارایی و استفاده مکرر در خاک در دهه اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته و ضرورت انجام پژوهش در این زمینه هنگامی روشن‌تر می‌گردد که به اهمیت خاک به عنوان یک پایگاه زیستی

* **نویسنده مسئول:** گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
ایمیل: m_farzadkia@yahoo.com - تلفن تماس: ۰۹۱۲-۲۵۸۸۶۷۷

باارزش که می تواند از آلودگی آب‌های زیرزمینی جلوگیری نماید پی برد [۱۳].

زیست‌پالایی خاکهای آلوده با استفاده از کرم های خاکی از روش‌های سازگار با محیط زیست می باشد. کرم‌های خاکی حذف آلاینده ها از خاک را تسهیل می‌کنند و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک را با بهبود هوادهی تغییر می‌دهند و شرایطی را ایجاد می‌کنند که آلاینده در دسترس میکروارگانیسم ها قرار گیرد. ازکرم‌های خاکی بعنوان شاخص نشان‌دهنده آلودگی خاک استفاده می شود. در این مطالعه از کرم خاکی ایزنیا فتیدا (*E. fetida*) که یک گونه مناسب برای شرایط ایران بوده و در اکثر مناطق کشور وجود دارد، استفاده شده است .

حسینعلی اصغرنیا ایمنی سال ۱۳۹۳، در تحقیقی که تحت عنوان بررسی کارآیی فرآیند تلفیقی تجمع زیستی و زیست‌افزایی در حذف فنانترن و پایرن از خاک آلوده توسط کرم خاکی ایزنیا فتیدا (*Eisenia fetida*) انجام دادند به این نتیجه رسیدند که تلفیق کرم خاکی و زیست افزایی عملکرد حذف آلاینده‌ها را با ($P<0.05$)افزایش داد و این نشان می‌دهد که کرم خاکی می تواند علاوه بر تجمع زیستی آلاینده در بدن خود، باعث افزایش دسترسی پذیری زیستی فنانترن و پایرن شده است [۱۴].

در سال ۲۰۱۶ ، Chachina و همکاران در تحقیقی که با عنوان زیست‌پالایی خاک‌های آلوده به نفت و دیزل توسط کرم ایزنیافتیدا انجام دادند، گزارش کردند که خاک آلوده با غلظت ۲۰ تا ۶۰ گرم بر کیلوگرم آلاینده نفتی بعد از ۲۲ هفته در حضور کرم‌ها و آماده سازی زیستی، حدود ۹۹٪ کاهش یافت و در خاک آلوده به دیزل با غلظت ۴۰ گرم بر کیلوگرم در حضور کرم خاکی و آماده سازی میکروبی بعد از ۱۴ روز حدود ۳۰٪ از گونه های کرم به دلیل سمیت با سوخت دیزل از بین رفتند [۱۵].

Sutton و همکارانش مطالعه‌ای روی تاثیر کربن آلی و مواد مغذی در زیست-پالایی خاک‌های آلوده به سوخت دیزل، طی ۱۸۷ روز انکوباسیون انجام دادند که نتایج نشان دهنده‌ی عمده حذف در ۵۰ روز نخست رخ داد [۱۶].

Margesin مشاهده کرد که تحریک بیولوژیکی خاک‌های آلوده به نفت، با مواد غذایی معدنی مانند کود شیمیایی حاوی NPK باعث افزایش تجزیه زیستی و تجزیه هیدروکربن‌ها به میزان ۵۳-۲۷ درصد می‌شود [۱۷].

Dendooven و همکاران در سال ۲۰۱۱ در تحقیقی با عنوان خصوصیات کرم‌های خاکی ایزنیا فتیدا در خاک‌های آلوده به PAH_s با لجن فاضلاب یا ورمی کمپوست، درطول دوره ۷۰ روز به این نتیجه رسیدند که وجود لجن فاضلاب برای تشکیل کوکون (تخم کرم خاکی) ضروری و لازم است [۱۸]. از آنجایی که مطالعات محدودی در ایران و جهان بر روی زیست‌پالایی خاک آلوده با انواع اصلاح کننده ها مانند ورمی کمپوست و لجن فعال خام و میکروارگانیسم ها و غیره صورت گرفته است [۱۹]. مطالعه حاضر با هدف تعیین راندمان حذف گازوئیل از خاک توسط کرم خاکی ایزنیا فتیدا همراه با مخلوط ورمی کمپوست و لجن فعال خام،با روش زیست پالایی که به دلیل کم هرینه بودن و دوست دار محیط زیست بودن انجام گردیده است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق یک مطالعه تجربی و بنیادی-کاربردی بوده و با هدف تعیین میزان زیست پالایی خاک آلوده به گازوئیل در بیوراکتور حاوی کرم خاکی ایزنیافتیدا با مخلوط ورمی کمپوست و لجن فعال خام طراحی و اجرا گردید.

مراحل اجرایی پژوهش

مرحله آلوده سازی خاک به گازوئیل

شستشوی خاک : خاک مورد نیاز شامل، رس و ماسه با نسبت به ترتیب ۲۵٪ و ۷۵٪ وزنی به صورت سینتتیک با

گازوئیل در غلظت های (۱۰ و ۳۰ گرم بر کیلوگرم خاک) آلوده شده است.

خاک‌های تهیه شده پس از دو بار استریلیزاسیون با الک ۲ میلی‌متری غربال شده و با غلظت‌های ۱۰ و ۳۰ گرم گازوئیل بر کیلوگرم خاک بصورت مصنوعی آلوده شده است. ابتدا مقادیر ذکر شده از گازوئیل وزن شده و با مقداری استون مخلوط گردیده شد و سپس ترکیب مذکور به خاک‌های استریل شده به راکتورها اضافه گردید و محتوا جهت کارایی بیشتر به طور کامل مخلوط گردید. این کار به مدت ۷ روز تا زمان تبخیر کامل استون از خاک تکرار شده است [۳].

تهیه لجن

لجن بیولوژیکی خام از لجن برگشتی فرآیند کانال اکسیداسیون تصفیه خانه فاضلاب جنوب تهران نمونه برداری گردید و به آزمایشگاه منتقل شد و در یخچال در دمای ٤ درجه سانتی گراد نگهداری شد. آزمایشات مربوط به آنالیز کیفی لجن فعال خام انجام شد که در جدول شماره ۱ ارائه شده است. تمامی آزمایشات مربوط به آنالیز خصوصیات کیفی لجن بر اساس کتاب روش‌های استاندارد برای انجام آزمایشات آب و فاضلاب انجام گردید.

تهیه کمپوست

کمپوست مورد استفاده در این مطالعه از سایت کمپوست گاوی شهر هشتگرد خریداری شد. مشخصات مربوط به کمپوست در جدول شماره۱ ارائه شده است.

تهیه کرم خاکی

کرم‌های خاکی مورد استفاده در این تحقیق ایزنیافتیدا بوده که از شاخه کرم‌های حلقوی، خانواده لومبریسیده، جنس ایزنیا و گونه فتیدا می باشد و از سایت ورمی کمپوست گاوی هشتگرد تهیه گردید.

طراحی آزمایش

تعداد آزمایشات با استفاده از روش one factor at the time تعیین شد، که با در نظر گرفتن یک نوع کرم خاکی در دو سطح تعداد در خاک (۱۰ و ۲۰ عدد در هر کیلوگرم خاک)، در دو غلظت از گازوئیل (۱۰ و ۳۰ گرم در کیلوگرم خاک) و افزودن نسبت مخلوط لجن و ورمی کمپوست به خاک با ۳ بارتکرار و در نظر گرفتن شاهد (۲راکتور بدون کرم با دو غلظت گازوئیل)، دوره نمونه برداری در کل ۹۰ روز و آنالیز ها به صورت ۱۵ و ۳۰ روزه انجام شد. ، تست های مورد بررسی رطوبت، pH،VS ، TPH، C، TKN و TP می باشد.

جدول ۱: مشخصات بیولوژیکی ورمی کمپوست و لجن فعال مورد استفاده

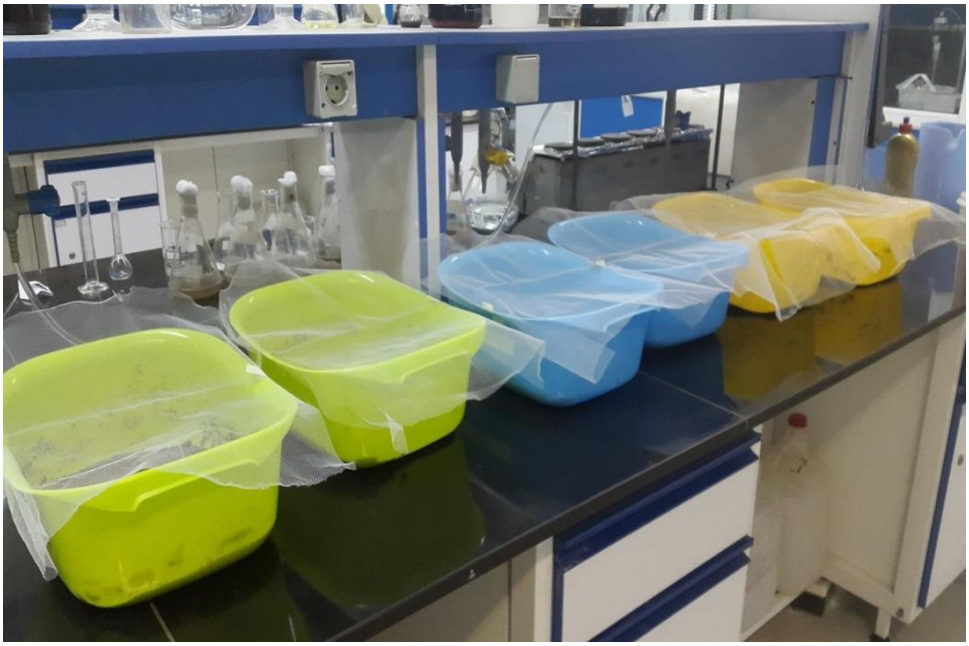
مشخصات کمپوست		مشخصات لجن فعال خام	
ویژگی	مقدار	ویژگی	مقدار
pH	۷/۷۸	pH	۷/۵۹
C/N [۲۰]	٤۲/۵۳	C/N	۲٦/۳٦
TS (درصد وزنی)	۲۹/۹۹	TS (درصد وزنی)	۲/۹۵
VS (درصد وزنی)	۱۵/۵۵	VS (درصد وزنی)	۷۹/۱۸
رطوبت (٪)	۷۰	رطوبت (٪)	۹۷/۰۵

جدول ۲: مشخصات راکتورها

راکتورها	غلظت گازوئیل(g/Kg)	تعداد کرم خاکی
۱	۱۰	۰
۲	۳۰	۰
۳	۳۰	۲۰
٤	۱۰	۲۰
٥	۳۰	۱۰
٦	۱۰	۱۰

راه اندازی راکتورها

پس از انجام مراحل آماده‌سازی، تعداد ٦ ظرف مکعب مستطیلی به طول:۲۱/۵ سانتی متر عرض: ١٤/٥ سانتی متر و ارتفاع: ۹/۵سانتی متر آماده شد در شکل شماره ۱ نشان داده شده است. به هر راکتور مقدار یک کیلوگرم خاک آلوده شده با گازوئیل و ورمی کمپوست و لجن فعال خام با نسبت‌های ۱ : ۰/۳۵ : ۰/۲۵ (شکل ۲) اضافه شد.



شکل ۱: آماده سازی راکتورها جهت انجام فرایند زیست پالایی

شکل ۲: محتویات داخل راکتورها شامل: خاک آلوده به گازوئیل+ورمی کمپوست+لجن فعال خام +کرم خاکی ایزنیافتیدا

استخراج گازوئیل از خاک

سنجش گازوئیل موجود در خاک بر اساس روش 3550B USEPA تعیین شد [۲۱]. در این روش مقدار ۲ گرم خاک جهت جداسازی ذرات درشت، توسط الک ۲mm غربال گردید و با ۲ گرم سولفات سدیم بدون آب مخلوط شد تا رطوبت خاک توسط سولفات سدیم گرفته شود [۳]. سپس ۵ میلی لیتر استون و ۵ میلی لیتر ان–هگزان به آن اضافه گردید و با استفاده از دستگاه اولتراسونیک عمل استخراج آلاینده از خاک به داخل حلال (استون)صورت گرفت. خاک به مدت ۲ دقیقه در معرض امواج اولتراسونیک قرار می گیرد تا بدین وسیله عمل شکستن صورت گیرد و گازوئیل از خاک وارد حلال شود. همچنین برای افزایش زمان تماس، نمونه به مدت یک ساعت روی شیکر در ۲۰۰ دور در دقیقه هم زده شد. پس از آن نمونه ها را در حالت سکون قرارداده تا بصورت خاک ته نشین شود و مایع رویی را با فیلتر تفلونی ۰/۲۲ میکرون صاف گردید.

سنجش کل هیدروکربن های نفتی (TPH_s)

برای اندازه‌گیری هیدروکربن‌های نفتی کل، روش‌های مختلفی وجود دارد. در این تحقیق برای اندازه‌گیری TPH از دستگاه گازکروماتوگراف (GC) مجهز به آشکارساز شعله‌ای (FID) استفاده گردید.

جهت سنجش میزان گازوئیل از دستگاه کروماتوگرافی (GC-FID , CP 9001) ساخت کشور هلند با ستون گازکروماتوگرافی HP_5 استفاده شد. دماهای دتکتور و انژکتور به ترتیب روی ۲۷۰ و ۲۵۰ درجه سلسیوس تنظیم گردید. دمای ستون به مدت ۱ دقیقه روی ۵۰ درجه سلسیوس نگه داشته شد. سپس به میزان ۵ درجه سلسیوس بر دقیقه افزایش داده شد تا به ۲۸۰ درجه سلسیوس برسد. میزان توقف دما در ۲۸۰ درجه ی سلسیوس نیز ۳ دقیقه تنظیم گردید.

آنالیزهای رطوبت (Humidity)، جامدات فرار(VS) ، (pH) ، مواد آلی کل(TOC) ، نیتروژن کل (TN)، فسفر کل (TP)

آنالیزهای فوق جهت بررسی شرایط زیستی داخل راکتورها به دلیل وجود موجود زنده (کرم خاکی) انجام شد که تمامی نمونه ها با روش های استاندارد متد اندازه گیری شده است [۲۲،۲۳]. برای سنجش مقدار رطوبت، ابتدا نمونه‌ها در داخل بوته چینی توزین شده، قرارگرفتند و سپس در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس برای مدت ۲٤ ساعت در اون قرارگرفت و پس از توزین ثانویه، رطوبت محاسبه شد. سپس به منظور سنجش جامدات فرار (VS) و خاکستر، خاک خشک شده در کوره مافلر به مدت ۲ ساعت در ۵۵۰ درجه سیلیسوس حرارت داده شد و دوباره توزین شد وبر اساس روش گراویمتری مورد سنج شقرار گرفت. برای محاسبه نیتروژن کجلدال کل به این ترتیب عمل شد: در مرحله اول، هضم نمونه با اسید سولفوریک غلیظ و پس از آن در مرحله دوم تقطیر، صورت گرفت. مجموع فسفر (TP) نیز توسط هضم اسید و پس از آن با استفاده از روش اولسن ، برآورد شده است [۲٤].

جدول ۳: آزمایشات شیمیایی ورمی کمپوست و لجن فعال مورد استفاده

نام آزمایش	واحد	روش آزمایش	شماره آزمایش	مرجع
VS	درصد وزنی	وزن سنجی	2540G	۲۵
TN	درصد TS	کجدال	4500_N_{org}B	۲۶
TP	درصد	روش اولسن	۱۰۷۱۶	۲۷

تجزیه و تحلیل داده‌ها

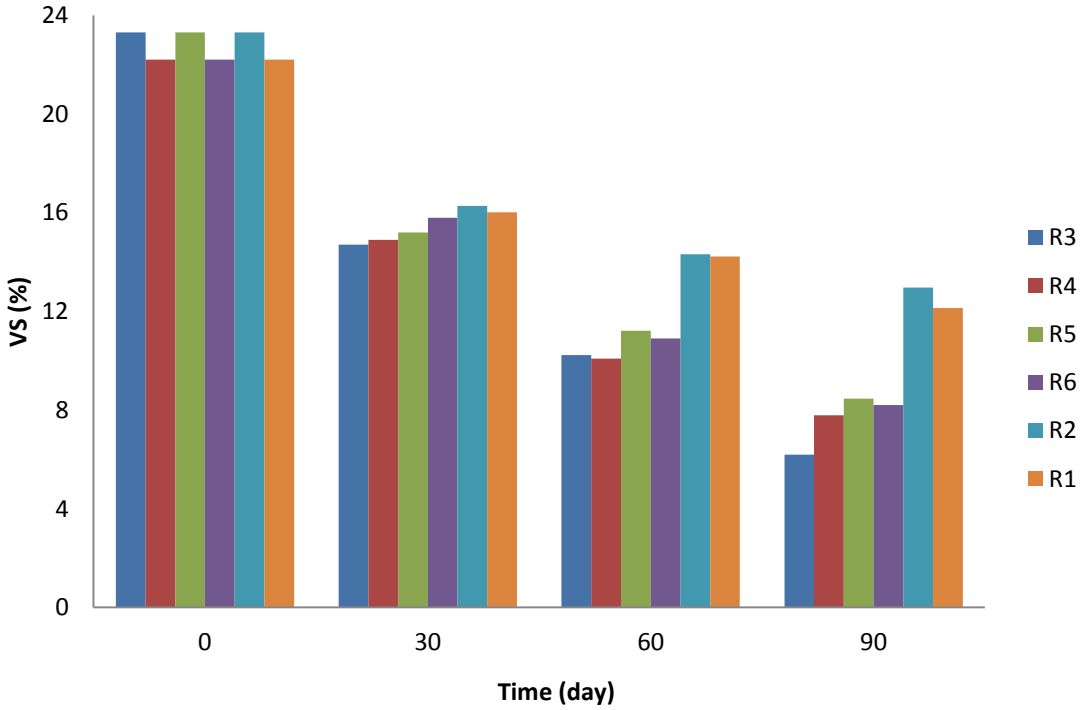
برای تجزیه و تحلیل‌داده‌ها و روند تغییرات فاکتورهای موثر: رطوبت (Humidity)، جامدات فرار(VS) ، (pH) ، مواد آلی کل(TOC) ، نیتروژن کل (TN)، فسفر کل (TP) از نرم‌افزارهای Excel 2016 و Minitab 17 استفاده گردید. از آنالیز آماری One-way Anova به منظور مقایسه راندمان حذف هیدروکربن های سبک، متوسط و سنگین در راکتورهای مختلف مورد استفاده قرارگرفت. در این مطالعه $p< ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

نتایج مربوط به روند تغییرات پارامترهای موثر

روند تغییرات VS در طی فرایند زیست پالایی

VS به عنوان پارامتر مهم جهت معدنی‌سازی، تجزیه و رسیدگی کمپوست مطرح می‌باشد [۲۸].

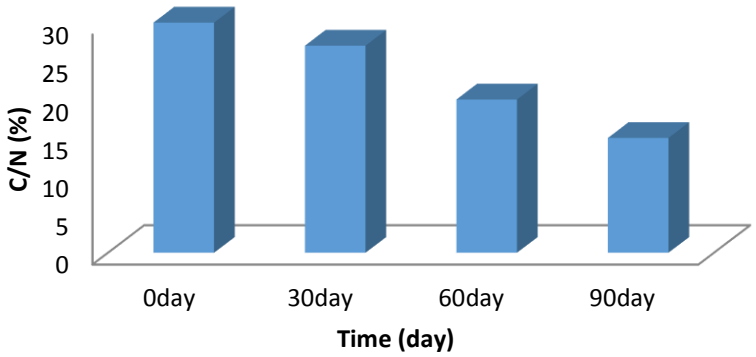


شکل ۳: روند تغییرات VS در راکتورهای مختلف طی فرآیند کمپوست (۹۰ روز)

نتایج مربوط به C / N / P در حالت های مختلف طراحی آزمایش

جدول٤: مقادیر C / N / P در طی بازه زمانی ۹۰ روزه در راکتورها

زمان (روز)	صفر	۳۰	٦۰	۹۰
C	۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۸۰
N	٦/٦٦	۵/۳۵	۵	٤/٤
P	۳	۲/۳	۱	۰/٤
C/N	۳۲-۳۰	۲۸-۲۵	۲۱-۱۹	۱۸-۱۵



شکل ٤: روند تغییرات C / N در راکتورهای مختلف طی فرآیند کمپوست (۹۰ روز)

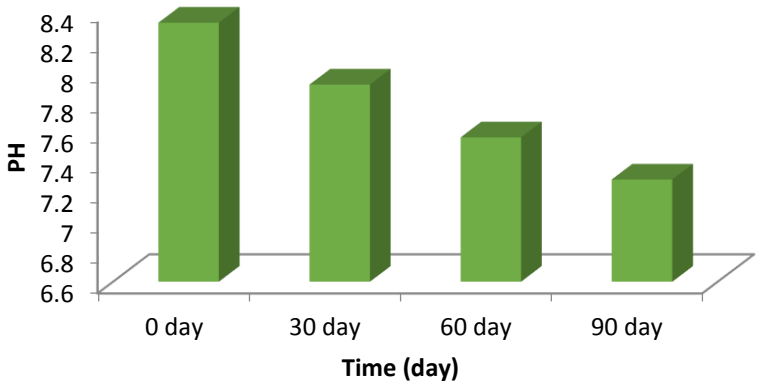
نسبت های C / N / P مطابق با جدول شماره ٤در تمامی راکتورها تنظیم شد. به طوری که رفته رفته در طول دوره با معدنی سازی مواد آلی توسط کرم های خاکی و میکروارگانیسم ها این مقادیر کاهش پیدا کرده و به سمت تثبیت کربن، نیتروژن و فسفر در پایان دوره ۹۰ روز انجام شده است [۲۹]. همانطور که در جدول ٤ نشان داده شده است، مقدار TPدر طول زمان در تمام راکتورها کاهش یافته است [۳۰].

روند تغییرات pH در طی فرایند زیست پالایی

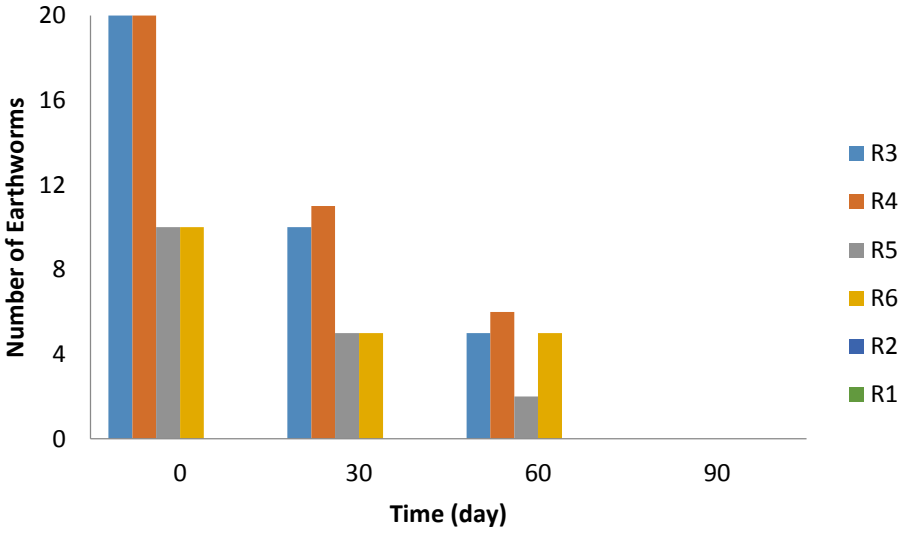
یکی از پارامترهای مهم تأثیرگذار بر فرآیندهای کرم پالایی شناخته شده است. دامنه pH قابل قبول و مناسب برای کرم-های خاکی و فعالیت میکروارگانیسم‌ها ۸/۵-۵/۵ می باشد، اگرچه pH بهینه خنثی و در حدود خنثی است [۳۱].

روند تغییرات رطوبت در طی فرایند زیست پالایی

رطوبت مورد نیاز برای زیستن کرم های خاکی در راکتورها تأمین شده است. در طی دوره ۹۰ روزه با اسپری کردن آب مقطر رطوبت تنظیم شده است. کرم ها از طریق نفوذ اکسیژن هوا یا آب از پوست مرطوب آن ها به داخل مویرگ های خونی، تنفس می کنند. در صورتیکه پوست کرم ها خشک شود، کرم ها خفه می شوند.



شکل ۵: روند تغییرات pH در راکتورهای مختلف طی فرآیند کمپوست (۹۰ روز)



شکل ۶: تعداد کرم خاکی در حالت‌های مختلف طراحی آزمایش در راکتورها در مدت زمان ۹۰ روز

تعداد کرم‌های خاکی و تأثیر آن‌ها

رأکتور شماره ۱ و ۲ شاهدان بدون کرم می باشند. در رأکتور شماره ۳ و ٤ ، ۲۰ عدد کرم خاکی ایزنیافتیدا وجود داشته است و در رأکتور شماره ۵ و ٦ ، ۱۰ عدد کرم خاکی حضور داشتند.

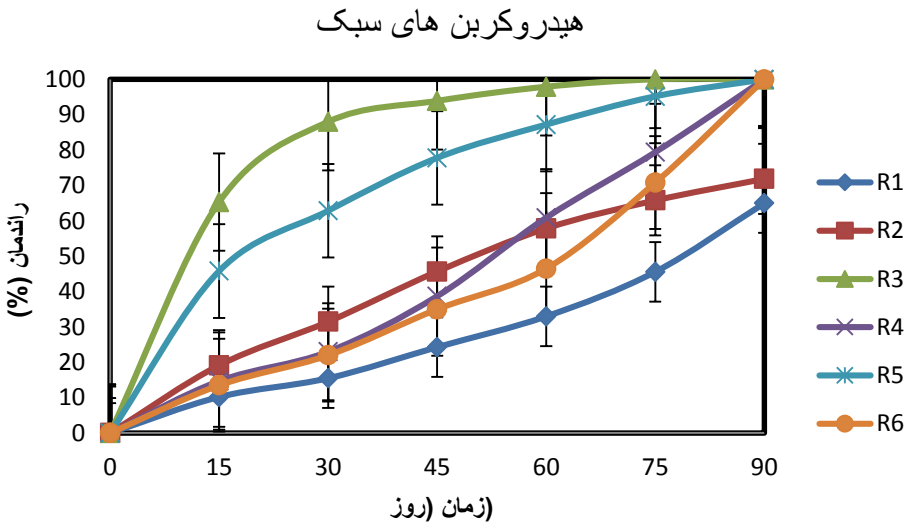
نتایج مربوط به درصد حذف گازوئیل در حالتهای مختلف طراحی آزمایش

جهت تحلیل و بررسی تاثیر زیست پالایی بر حذف TPH، داده های حاصل از راندمان حذف کل هیدروکربن های نفتی در راکتور های مختلف به سه گروه سبک، متوسط و سنگین تقسیم بندی شده است. آلاینده مورد مطالعه گازوئیل با محدوده هیدروکربن های C_{10} تا C_{24} می باشد.

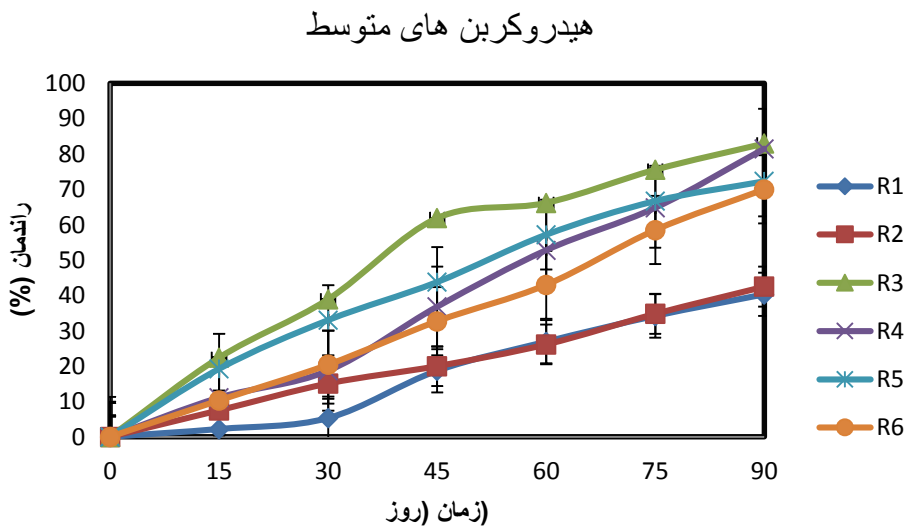
نتایج حاصل از آزمون آماری One-way ANOVA نشان

می دهد که میانگین میزان حذف TPH_1 (هیدروکربن های سبک) در حدود ۱۰۰ درصد در رأکتور شماره ٤ با مشخصات نمونه خاک آلوده شده با گازوئیل ۳۰ گرم در کیلوگرم خاک + ۲۰ عدد کرم خاکی ایزنیافتیدا، با اختلاف معناداری ۵٪ نسبت به دیگر رأکتورها بیشتر می باشد و مابقی رأکتورها با فاصله اطمینان ۹۵٪ در یک گروه قرار گرفته است.

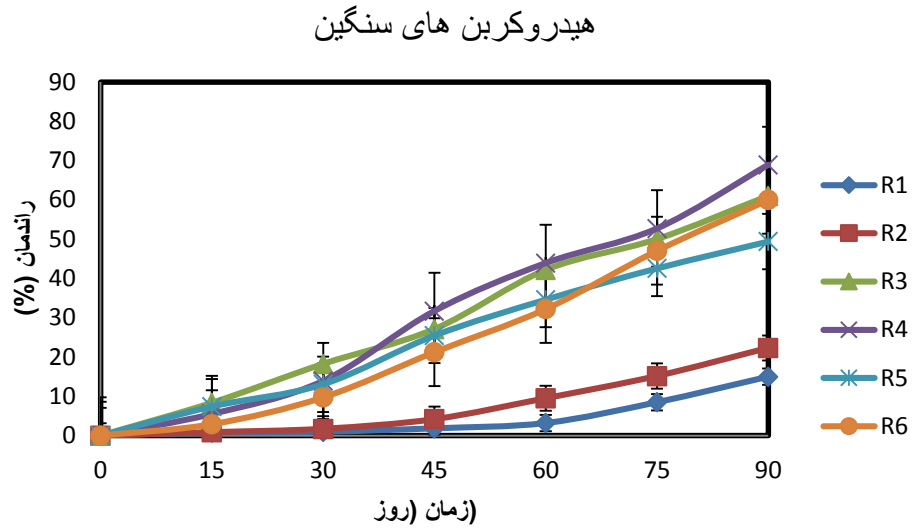
میزان راندمان حذف هیدروکربن‌های متوسط در راکتورهای شش گانه در شکل شماره ۸ ارائه شده است. نتایج حاصل از آزمون آماری One-way ANOVA نشان می دهد که میانگین میزان حذف TPH_2 (هیدروکربن های متوسط) در تمامی رأکتورها با فاصله اطمینان ۹۵٪ و سطح معناداری ۵٪ با همدیگر برابر می‌باشند.



شکل ۷: راندمان حذف هیدروکربن‌های سبک در راکتورهای مختلف در مدت زمان ۹۰ روز



شکل ۸: راندمان حذف هیدروکربن‌های متوسط در راکتورهای مختلف در مدت زمان ۹۰ روز



شکل ۹: راندمان حذف هیدروکربن‌های سنگین در راکتورهای مختلف در مدت زمان ۹۰ روز

نتایج حاصل از آزمون آماری One-way ANOVA نشان می دهد که میانگین میزان حذف TPH_3 (هیدروکربن های سنگین) در رأکتور شماره ٤ با مشخصات نمونه خاک آلوده شده با گازوئیل ۱۰ گرم در کیلوگرم خاک + ۲۰ عدد کرم خاکی ایزنیافتیدا، با اختلاف معناداری ۵٪ نسبت به دیگر رأکتورها بیشتر می باشد و مابقی رأکتورها با فاصله اطمینان ۹۵٪ در یک گروه قرار گرفته است.

بحث

کاهش بیشتر جامدات فرار در راکتورهای با تعداد کرم خاکی بیشتر، مثل راکتور شماره ۳ و راکتور شماره ٤ نشان دهنده فعالیت کرم ایزنیا فتیدا و فعالیت میکروبی لجن در این راکتور می باشد. در راکتورهای شماره ۱ و ۲ این روند کاهشی باشیب بسیار کمتری رخ داده که می توان به عدم حضور کرم ایزنیافتیدا در این دو راکتور که راکتورهای شاهد هستند نسبت داد. در تمامی راکتورها در طول زمان روند کاهش VS مشاهده شده است، که در اکثر مقالات همین روند صادق است [۲۸].

با توجه محتویات راکتورها که شامل کرم خاکی، لجن فاضلاب و و می کمپوست می باشد نسبت C/N نیز در ابتدا زیاد بوده و در پایان ۹۰ روز به کمترین حد خود رسیده است که این روند در مطالعات دیگر مانند Singh J و همکاران هم به این صورت گزارش شده است [۳۲].

Gogoi و همکاران در مطالعه زیست-پالایی خاک‌های آلوده به نفت خام در محل ریزش نفت مشاهده کردند که؛ هوادهی، کاربرد کودهای دارای نیتروژن، فسفر و تلقیح میکروبی، باعث تجزیه ۷۵ درصدی نفت خام می‌شود [۳۳].

میزان حذف بیشتر آلاینده ها با گذشت زمان به دلایل مختلفی ممکن است اتفاق بیفتد از جمله می توان به فرصت زمانی بیشتر کرم های خاکی و سایر میکروارگانیسم ها، تبخیر سطحی بیشتر و تجزیه طبیعی اشاره نمود. مطالعه Hernández-Castellanos و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی حذف بنزو آلفا پایرن از خاک آلوده توسط کرم خاکی (*Pontoscolex corethrurus*) مؤید این موضوع است [۳٤].

در این مطالعه در تمامی راکتورها با توجه به یکسان بودن مواد بستر راکتور و اختلاف در میزان غلظت گازوئیل و تعداد

کرم ها و اینکه pH گازوئیل هم در محدوده قلیایی حدود (۸/۱۵) قرار گرفته شده، بنابراینpH راکتورها در ابتدا از محدوده قلیایی ۸/۲ – ۸/٤ شروع شده و رفته رفته طی مدت زمان فرآیند به محدوده خنثی ۷–۷/۲ نزدیک شده است، که این روند کاهشی را میتوان به دلیل معدنی شدن ازت و فسفر به نیتریت یا نیترات و فسفات نسبت داد [۳۵].

شرایط محیطی مناسب برای رشد کرم ها عبارتند از: دمای ۲۰ درجه سلسیوس، رطوبت ۷۰–٦٥ درصد و pH بهینه در حد خنثی تا کمی اسیدی است.که در مطالعات گوناگون مثل Jorge Domínguez1 با توجه به حضور کرم خاکی درصد رطوبت رعایت شده است [۳٦].

طبق مطالعه Irizar **و همکاران** در صورتی که ماده آلی در خاک کم باشد، کرم های خاکی قادر به هضم خاک نبوده، در نتیجه سمیت فلز کادمیوم در آن ها افزایش یافته و باعث مرگ و میر و اختلال در تولیدمثل آن ها شده است [۳۷] . مطالعه **حق پرست و همکاران** هم نشان دهنده این امر بود که ماده آلی به منزله انرژی برای کرم های خاکی ایزنیافتیدا می باشد و درصد زنده مانی آن ها را افزایش داده است [۳۸]. کرم های خاکی مقدار TOC ، کربن آلی ، VS و نسبت C/N در لجن را کاهش می دهند [۳۹] . در آلودگی های با غلظت بالای هیدروکربن های نفتی، جمعیت باکتری ها کاهش می یابد و زیست پالایی خاک اتفاق نمی افتد. برای ارتقاء کارآمدی زیست پالایی خاک می توان به کاربرد کرم خاکی در خاک های آلوده با روش کرم پالایی اشاره کرد [۱۵]. کرم های خاکی از ترکیبات لجن براحتی تغذیه می کنند و به سرعت آن ها را به ورمی کمپوست تبدیل می کنند و حتی پاتوژن ها را تا حد ایمن کاهش می دهند و فلزات سنگین را هضم می کنند [٤۰].

با افزایش وزن مولکولی هیدروکربن‌ها مقدار حذف آلاینده ها کاهش می یابد که دلیل این امر می‌تواند بدلیل پایداری بالای هیدورکربن‌های سنگین‌تر و حجیم‌تر در برابر تغییرات شدید فیزیکی–شیمیایی نسبت به هیدروکربن‌های سبکتر باشد. و البته این روند نزولی، در اوزان مولکولی بالاتر بیشتر نمود پیدا می‌کند و باعث اختلاف شدیدتر درصد حذف بین آلاینده‌های نفتی می‌گردد [٤۱].

این یافته ها با نتایج Taccari و همکاران [٤۱] روی زیست پالایی خاک‌های آلوده به سوخت دیزل که سرعت تجزیه هیدروکربن‌های با وزن مولکولی سبک تر (C_{12}>) را در مقایسه با هیدروکربن‌های با وزن مولکولی بالاتر (C_{12}>) بیشتر گزارش کردند.

از آنجایی که وجود کرم های خاکی دارای پتانسیل بسیار بالایی در حذف هیدروکربن های مقاوم به تجزیه مانند پایرن و بسیاری از مواد شیمیایی دیگر از خاک آلوده هستند [٤۲]. بیشترین درصد حذف متعلق به راکتور دارای بیشترین تعداد کرم خاکی است که در مطالعه ای تاثیر کرم خاکی ایزنیا فتیدا (*E. fetida*) را در افزایش حذف PAHs از خاک مورد بررسی قرار داد [٤۳]. Contreras-Ramosدرصد حذف ۳ ترکیب فنانترن، آنتراسن و بنزو آلفا پایرن از خاک آلوده را بدون استفاده از کرم خاکی به ترتیب ۷۷٪، ۲۳٪ و ۱۳٪ و با استفاده از کرم خاکی ۱۰۰٪، ۵۱٪ و ٤۷ ٪ گزارش نموده است [٤۳]. Andersen و همکاران (۱۹۷۹) بیان داشتند که کود حیوانی بعنوان ماده غذایی کرم خاکی بوده و اضافه نمودن آنها به خاک باعث افزایش بیومس کرم خاکی می گردد [٤٤]. تمامی این اصلاح کننده ها باعث افزایش راندمان حذف گازوئیل از خاک شده اند.

نتیجه‌گیری

زیست پالایی خاکهای آلوده از روش‌های نوین و سازگار با محیط زیست است که با روش های مختلفی می تواند بکار برده شود. استفاده از کرم‌های خاکی و میکروارگانیسم‌های موجود در لجن فعال و ورمی کمپوست یکی از روش‌های زیست پالایی خاک های آلوده شناخته شده است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان می دهد که کرم خاکی ایزنیافتیدا

که یک گونه مناسب برای شرایط ایران است و در اکثر مناطق کشور وجود دارد، با تغذیه از خاک آلوده و تسریع در روند تجزیه زیستی توسط باکتریها عملکرد مطلوبی در حذف گازوئیل از خاک آلوده نشان داده است. نتایج نشان می دهد که بیشترین راندمان حذف هیدروکربن های سبک با میزان حدود ۱۰۰ درصد در بازه زمانی ۹۰ روز در راکتور شماره ۳ با اختلاف معناداری ($P<0.05$) به دیگر رأکتورها می باشد، در هیدروکربن های متوسط راندمان حذف در بیشتر راکتورها حدود ۷۰ درصد مشاهده شده و هیدروکربن های سنگین بیشترین راندمان حذف با میزان ٦٨ درصد در رأکتور شماره ٤ با مشخصات نمونه خاک آلوده شده با گازوئیل ۱۰ گرم در کیلوگرم خاک + ۲۰ عدد کرم خاکی ایزنیافتیدا، با اختلاف معناداری ۵٪ نسبت به دیگر رأکتورها مشاهده شده است که تجزیه پذیری هیدروکربن های نفتی به طور قابل ملاحظه ای با مواد اصلاح کننده آلی و افزایش تعداد کرم های خاکی افزایش یافته است. مطالعه حاضر استفاده از کرم خاکی ایزنیا فتیدا (*E.fetida*) به همراه ورمی کمپوست، لجن فعال خام را بعنوان یک روش جامع ، نوآورانه و دوستدار محیط زیست برای تجزیه هیدروکربن های نفتی از خاک معرفی کرده است.

تشکر و سپاسگزاری

مقاله حاضر حاصل بخشی از پایان نامه قطع کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط مصوب دانشگاه علوم پزشکی ایران با کد طرح ٤٦٦٨ می باشد. بدین وسیله از حوزه معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی ایران به جهت حمایت از این طرح، تشکر و قدردانی به عمل می آید.

References

1. Chen M, Xu P, Zeng G, et al. Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: applications, microbes and future research needs. Biotechnol Adv 2015;33(6): 745-55.
2. Das N, Chandran P. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. Biotechnol Res Int 2011;2011.
3. Momeni M, Farzadkia M, Esrafili A, Kermani M. Bioremediation of Soils Contaminated with Diesel Using Bio-stimulation Method in the Bioreactors of Vermicompost and Activated Sludge. J Mazandaran Univ Med Sci 2018;27(158): 179-92 [In Persian].
4. Margesin R, Schinner F. Bioremediation (natural attenuation and biostimulation) of diesel-oil-contaminated soil in an alpine glacier skiing area. Appl Environ Microbiol 2001;67(7): 3127-33.
5. Cole GM. Assessment and remediation of petroleum contaminated sites: Routledge; 2018.
6. Todd GD, Chessin RL, Colman J. Toxicological profile for total petroleum hydrocarbons (TPH). 1999.
7. Cookson Jr JT. Bioremediation engineering: Design and application: McGraw-Hill, Inc.; 1995.
8. Safari M, Ahmady-Asbchin S, Soltani N. The potential of cyanobacterium Schizothrix vaginata ISC108 in biodegradation of crude oil. Iran JEnviron Health Sci Eng74-363:(3) 7;2014 [In Persian].
9. Shukla KP, Singh NK, Sharma S. Bioremediation: developments, current practices and perspectives. Genet Eng Biotechnol J 2010.
10. Chen J, Wong M, Wong YS, Tam NF. Multi-factors on biodegradation kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by Sphingomonas sp. a bacterial strain isolated from mangrove sediment. Mar Pollut Bull 2008;57(6-12): 695-702.
11. Gan S, Lau E, Ng H. Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). J Hazard Mater 2009;172(2-3): 532-49.
12. Lundstedt S, Haglund P, Öberg L. Degradation and formation of polycyclic aromatic compounds during bioslurry treatment of an aged gasworks soil. Environmental Toxicology and Chemistry An International Journal 2003;22(7): 141-203.
13. Chen M, Xu P, Zeng G, et al. Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: Applications, microbes and future research needs. Biotechnol Adv 2015;(336,Part 1): 745-55.
14. Asgharnia H. Investigation of the efficiency of the combined process of bio-stimulation and bio-accumulation in removal of phenanthrene and pyrene from soil contaminated by Eisenia Feotida earthworm. Iran university of medical science 2014;PhD thesis 2014: [In Persian].

15. Chachina S, Voronkova N, Baklanova O. Biological remediation of the petroleum and diesel contaminated soil with earthworms Eisenia fetida. Procedia Eng 2016;152: 122-33.

16. Sutton NB, Grotenhuis T, Rijnaarts HH. Impact of organic carbon and nutrients mobilized during chemical oxidation on subsequent bioremediation of a diesel-contaminated soil. Chemosphere 2014;97: 64-70.

17. Margesin R. Potential of cold-adapted microorganisms for bioremediation of oil-polluted Alpine soils. Int Biodeterior Biodegradation 2000;46(1): 3-10.

18. Dendooven L, Alvarez-Bernal D, Contreras-Ramos SM. Earthworms, a means to accelerate removal of hydrocarbons (PAHs) from soil? A mini-review. Pedobiologia 2011;54: S187-S92.

19. Momeni M. Comparison of Bioremediations of soil Contaminated gasoline by Biostimulation in bioreactors , Raw Active Sludge and Vermicompost Compound mixture of activated sludge and vermicompost. Iran university of medical science ,Ms thesis 2018: [In Persian].

20. Skubal L. Environmental Sampling and Analysis: Lab Manual. Environ Prog Sustain Energy 1999;18(1): S10.

21. Sheng-wang P, Shi-qiang W, Xin Y, Sheng-xian C. The removal and remediation of phenanthrene and pyrene in soil by mixed cropping of alfalfa and rape. Agric Sci Chin 2008;7(11): 1355-64.

22. Federation WE, Association APH. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association : Washington, DC, USA 2005.

23. Council UC. Test methods for the examination of composting and compost. Rokonkoma: Council UC 2002.

24. Faithfull NT. Methods in agricultural chemical analysis: a practical handbook: Cabi; 2002.

25. Cho JK, Park SC, Chang HN. Biochemical methane potential and solid state anaerobic digestion of Korean food wastes. Bioresour Technol 1995;52(3): 245-53.

26. Frederickson J, Butt KR, Morris RM, Daniel C. Combining vermiculture with traditional green waste composting systems. Soil Biol Biochem 1997;29(3-4): 725-30.

27. Ndegwa P, Thompson S, Das K. Effects of stocking density and feeding rate on vermicomposting of biosolids. Bioresour Technol 2000;71(1): 5-12.

28. Hait S, Tare V. Optimizing vermistabilization of waste activated sludge using vermicompost as bulking material. Waste Manage (Oxford) 2011;31(3): 502-11.

29. Malińska K, Zabochnicka-Świątek M, Cáceres R, Marfà O. The effect of precomposted sewage sludge mixture amended with biochar on the growth and reproduction of Eisenia fetida during laboratory vermicomposting. Ecol Eng 2016;90: 35-41.

30. Tiquia S, Tam N, Hodgkiss I. Changes in chemical properties during composting of spent pig litter at different moisture contents. Agric Ecosyst Environ 1998;67(1): 79-89.

31. Yadav A, Garg V. Industrial wastes and sludges management by vermicomposting. Rev Environ Sci Bio Journal 2011;10(3): 243-76.

32. Singh J, Kaur A. Vermicompost as a strong buffer and natural adsorbent for reducing transition metals, BOD, COD from industrial effluent. Ecol Eng 2015;74: 13-9.

33. Gogoi B, Dutta N, Goswami P, Mohan TK. A case study of bioremediation of petroleum-hydrocarbon contaminated soil at a crude oil spill site. Adv Environ Res 2003;7(4): 767-82.

34. Hernández-Castellanos B, Ortíz-Ceballos A, Martínez-Hernández S, et al. Removal of benzo (a) pyrene from soil using an endogeic earthworm Pontoscolex corethrurus Appl Soil Ecol 2013;70: 62-9.

35. Kaushik P, Garg V. Dynamics of biological and chemical parameters during vermicomposting of solid textile mill sludge mixed with cow dung and agricultural residues. Bioresour Technol 2004;94(2): 203-9.

36. Domínguez J, Edwards CA, Webster M. Vermicomposting of sewage sludge: effect of bulking materials on the growth and reproduction of the earthworm Eisenia andrei. Pedobiologia 2000;44(1): 24-32.

37. Irizar A, Rodriguez M, Izquierdo A, et al. Effects of soil organic matter content on cadmium toxicity in Eisenia fetida: implications for the use of biomarkers and standard toxicity tests. Arch Environ Contam Toxicol 2015;68(1): 181-92.

38. Jenabi, Haghparast R, Golchin A, Kahneh E. Effect of different cadmium concentrations on growth of eisenia fetida in a calcareous soil. 2013: [In Persian].

39. Sinha RK, Herat S, Bharambe G, Brahambhatt A. Vermistabilization of sewage sludge (biosolids) by earthworms: converting a potential biohazard destined for landfill disposal into a pathogen-free, nutritive and safe biofertilizer for farms. Waste Manag Res 2010;28(10): 872-81.

40. Singh R, Embrandiri A, Ibrahim M, Esa N. Management of biomass residues generated from palm oil mill: Vermicomposting a sustainable option. Resources, Conservation and Recycling 2011;55(4): 423-34.

41. Taccari M, Milanovic V, Comitini F, et al. Effects of biostimulation and bioaugmentation on diesel removal and bacterial community. Int Biodeterior Biodegradation 2012;66(1): 39-46.

42. Sinha RK, Valani D, Sinha S, et al. Bioremediation of contaminated sites: a low-cost nature's biotechnology for environmental clean up by versatile microbes, plants & earthworms. Waste Manag Res 2009: 978-1.

43. Contreras-Ramos SM, Alvarez-Bernal D, Dendooven L. Eisenia fetida increased removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil. Environ Pollut 2006;141(3): 396-401.

44. Andersen C. The influence of farmyard manure and slurry on the earthworm population (Lumbricidae(in arable soil. Soil Biology as Related to Land Use Practices EPA, Washington, DC 1980: 325-35.

Journal of Environmental Health Engineering, November 2019; Vol. 7, No. 1: 53-68

Bioremediation of Soils Contaminated with Gasoline in Bioreactors Containing Earthworms Eisenia Fetida and Mixture of Vermicompost and Raw Activated Sludge

Behnaz Abdollahinejad[1,2] , Mahdi Farzadkia[1,2]*, Ahmad Jonidi Jafari[1,2] , Ali Esrafili[1,2]

[1] Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[2] Research Center for Environmental Health Technology, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**** E-mail: m_farzadkia@yahoo.com***

Received: 27 Jan 2019 ; Accepted: 14 May 2019

ABSTRACT

Background and Aims: Nowadays, soil pollution with total petroleum hydrocarbons (TPH) is one of the major environmental issues caused serious problems to human and other living organisms. One of the best and most reliable methods of bioremediation is the use of earthworms known as vermin-remediation. In this study, bioremediation of gasoline-contaminated soil using Eisenia Fetida, the mixture of activated sludge and compost was evaluated.

Materials and Methods: In order to determine the efficiency of bioremediation to removal gasoline from contaminated soil, cow compost and urban sewage sludge with a weight ratio of 1: 0.35:0.25, was used. Experiments were carried out in 6 reactors with different concentrations of diesel (10 and 30 g / kg soil), a different number of Eisenia Fetida earthworm (10 and 20) at ambient temperature during 90 days. To compare the performance of biodegradation of gasoline using Eisenia Fetida earthworm, two control reactors that contained only contaminated soil with two ratios of gasoline, vermicompost and activated sludge, were used. The (TPH) decomposition rate was measured by GC-FID. Results of this study were analyzed by Minitab version 17 software.

Results: Results indicated reactor No.3 has the best removal efficiency of light hydrocarbons during 90 days. the removal efficiency of average hydrocarbons was 70% and heavy hydrocarbons with the highest removal efficiency of 68% in reactor No. 4 with characteristics Soil polluted with 10 g / kg of soil + 20 number of Eisenia Fetida, With a significant difference of other reactors.

Conclusion: Based on the results of this study, the degradability of hydrocarbons has increased significantly with the addition of organic modifying materials and the increase in the number of earthworms.

Keywords: Bioremediation, Total petroleum hydrocarbons, Eisenia Fetida earthworm, Vermicompost, Activated sludge