

# تأثیر گیاه پالایی و زیست افزایی بر حذف فنانتین و پایرن از خاک آلوده

محمد مهدی بانسی<sup>۱</sup>، روشنگ رضایی کلانتری<sup>۲\*</sup>، احمد جنیدی جعفری<sup>۳</sup>،

سیمین ناصری<sup>۴</sup>، نعمت ا... جعفرزاده<sup>۵</sup>، عماد دهقانی فرد<sup>۶</sup>

<sup>۱</sup> گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

<sup>۲</sup> گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

<sup>۳</sup> گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

<sup>۴</sup> گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران

<sup>۵</sup> گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۷/۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۹/۲۶

## چکیده

در این تحقیق، کارایی گیاه پالایی خاکهای آلوده به فنانتین و پایرن و همچنین تأثیر زیست افزایی و سورفاکتانت غیر یونی Tween80 بر کارایی آن توسط دو گیاه سورگوم و اسپرس مورد بررسی قرار گرفت.

خاکهای جمع آوری شده از مراتع استان کهگیلویه و بویراحمد در ایران، با غلظت های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک خشک از فنانتین و پایرن به صورت مجزا و ترکیبی (۹ سطح) آلوده شده، و در هر گلدان ۱/۵ کیلوگرم خاک ریخته شد و در حالات مختلف طبیعی، زیست افزایی و سورفاکتانت به صورت مجزا و ترکیبی (۱۲ حالت) که مجموعاً ۱۰۸ حالت می گردید با سه تکرار (۳۲۴ گلدان) به مدت ۱۲۰ روز، در شرایط مشابه فیلد قرار گرفت. در پایان، مقدار فنانتین و پایرن خاک با HPLC تعیین مقدار و درصد حذف مشخص گردید. جمعیت میکروبی خاک و ریزوسفر نیز شمارش گردید.

نتایج نشان داد که هر دو گیاه به طور چشمگیری باعث بهبود حذف فنانتین و پایرن از خاک می گردند. زیست افزایی و سورفاکتانت غیر یونی Tween80 نیز باعث افزایش راندمان حذف گردیدند. در حالت ترکیبی گیاه، زیست افزایی و سورفاکتانت حذف به طور قابل توجهی افزایش نشان داد؛ به طوری که حذف ۹۹/۴٪ و ۹۸٪ با اسپرس و ۹۶/۵٪ و ۹۹٪ با سورگوم، به ترتیب برای فنانتین و پایرن به دست آمد.

این تحقیق نشان داد که هر دو گیاه سورگوم و اسپرس، دارای عملکرد مناسبی در فرآیند گیاه پالایی خاکهای آلوده به فنانتین و پایرن می باشند و افزایش سورفاکتانت و زیست افزایی، کارایی فرآیند گیاه پالایی را تا نزدیک به حذف کامل فنانتین و پایرن از خاک، بهبود می دهد.

**کلمات کلیدی:** گیاه پالایی، زیست افزایی، فنانتین، پایرن، گیاه سورگوم و اسپرس، خاکهای آلوده

\* گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران  
ایمیل: rezaei.r@iums.ac.ir - شماره تماس: ۰۲۱-۸۸۶۰۷۹۴۶

## مقدمه

هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای (PAHs) یک گروه از آلودگی های آلی پایدار هستند که دارای دو یا چند حلقه بنزنی هستند. این ترکیبات در اثر سوختن ناقص یا پیرولیز مواد آلی تولید می گردند.<sup>۱</sup> PAHs آبریز بوده و با سرعت جذب مواد می گردند، بنابراین به طور گسترده ای در خاک، رسوبات و مواد دارای چربی یافت می شوند.<sup>۱،۲</sup> برخی از این ترکیبات به عنوان مواد جهش زا، سرطان زا و تراتوژنیک شناخته شده اند. در چند دهه اخیر، روش های گوناگونی برای حذف آنها از خاک های آلوده پیشنهاد شده که شامل روش های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی می گردد.<sup>۱</sup> گیاه پالایی و زیست افزایی، از روش های حذف بیولوژیکی در محل می باشند که هم از نظر هزینه و هم از نظر زیست محیطی دارای مقبولیت می باشند.<sup>۳،۴</sup> گیاه پالایی، استفاده از گیاهان برای حذف آلودگی های خاک، رسوبات و آبهای سطحی و زیر زمینی می باشد که در طی دهه گذشته توسعه یافته است.<sup>۵،۶</sup> آلایندگی های آلی مثل هیدروکربن های نفتی، هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای (PAHs)، حلال های آلی و حشره کش ها که با خاک ترکیب شده اند، می توانند به وسیله گیاه دریافت شده و به شکل غیر سمی منتقل یا ذخیره شوند. همچنین افزایش جمعیت و فعالیت میکروبی در ریزوسفر گیاه، باعث تجزیه آلایندگی های آلی می گردد؛<sup>۷</sup> چون گیاه باعث تهیه منابع انرژی کربن و نیتروژن به وسیله ترشحات ریشه و سلول های ریزی می گردد که بصورت ترشحات آلی محلول آزاد شده و ممکن است حدود ۲۰-۱۰ درصد از محصولات فتوسنتز سالیانه گیاه را شامل شود.<sup>۸</sup> همچنین استفاده از گیاه، باعث بهبود ساختار خاک و افزایش هوادهی و رطوبت گردیده، ترشحات ریشه دارای آنزیم هایی است که می تواند در تجزیه PAHs مشارکت کنند و گیاه باعث انتقال فیزیکی ترکیبات آلی به داخل بافت و سپس معدنی سازی آنها می گردد.<sup>۹</sup>

برای حذف بهتر PAHs چند عامل مهم باید در نظر گرفته

شود. گیاهان بومی منطقه استفاده شوند که شرایط خاک و آب و هوا را تحمل نمایند و نیاز به مراقبت کمی داشته باشند، مثل کوددهی، تا هزینه ها کاهش یابد. در خاکهای با مواد غذایی کم، رشد نمایند که تحقیقات استفاده از بقولات (legumes) را به علت خاصیت تثبیت نیتروژن، ارجح می دانند. همچنین گیاهان باید دارای سطح بالایی از ریشه باشند.<sup>۹</sup>

یک گونه گندمیان (سورگوم) و یک گونه از بقولات (اسپرس) در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفته است. این گیاهان در شرایط آب و هوایی ایران به راحتی کشت شده، دارای گستره رویشی وسیعی بوده و در گستره متفاوتی از شرایط خاک و آب و هوا رشد می کنند. سورگوم دارای سیستم ریشه ای پخش شده و سطح بالایی از ریشه را ایجاد می کند و اسپرس، به علت توانایی بقولات در تثبیت ازت و عدم نیاز به نیتروژن که باعث رشد آنها در خاکهای آلوده با میزان C/N بالا می شود، انتخاب شده است. تجزیه میکروبی یکی از فرآیندهای مهم تجزیه PAHs در خاکهای آلوده می باشد.<sup>۹</sup> دو فرآیند مهم برای افزایش فعالیت میکروارگانیسم ها در فرآیند حذف بیولوژیکی عبارتند از: (۱) زیست برانگیزی که با افزودن نوترینت ها یا گیرنده های نهایی الکترون یا ترکیبی از آنها انجام می شود؛ (۲) زیست افزایی که شامل اضافه کردن گونه های میکروبی خارجی که توانایی تجزیه مواد سمی مورد نظر را دارند می باشد.<sup>۱۰</sup> در این تحقیق، با اضافه کردن مخلوط باکتریایی که از خاک های آلوده به ترکیبات نفتی جداسازی و با فنانترو و پیرن آداپته شده، به منظور افزایش توانایی حذف استفاده شده است.

افزایش حلالیت (PAHs) در سیستم خاک - آب می تواند انتقال جرم را بهبود داده و باعث افزایش دسترس پذیری ترکیبات و در نتیجه افزایش تجزیه زیستی PAHs گردد. در مطالعات متعددی از سورفاکتانتها بدین منظور استفاده شده چون سورفاکتانت های کاتیونی می تواند بر رشد میکروارگانیسم ها اثر منفی گذارد. بنابراین در اکثر مطالعات، از

## افزایش سورفاکتانت و باکتری های تجزیه کننده

ابتدا سورفاکتانت Tween80 را در آب مقطر حل کرده و سپس خاک هر گلدان را کاملاً پخش نموده و به وسیله اسپری کردن و به هم زدن، حجمی از محلول به خاک اضافه می گردید تا غلظت سورفاکتانت به  $45 \text{ mg/kg}$  خاک خشک برسد. مخلوط باکتریایی بر روی محیط کشت نوترینت آگار، کشت داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس کلنی ها در آب مقطر استریل حل شده تا  $\text{OD}=1$  حاصل شود و پس از کشت و شمارش باکتریها، حجمی از محلول به خاک اسپری گردید که به هر گرم خاک، حدود  $10^6$  باکتری اضافه شود. بلافاصله بعد از اضافه کردن باکتری، خاک ها را در گلدان ریخته و سریعاً آبیاری گردیدند.

## گیاهان

دو گیاه مورد استفاده در این تحقیق که سورگوم، از خانواده گندمیان به علت توانایی بالای آن در مطالعات متعدد گیاه پالایی به دلیل مقاومت بالا در برابر شرایط محیطی بخصوص کم آبی، سطح ریشه پخشان و گسترده و توانایی تحمل آلاینده ها، و اسپرس، به دلیل اینکه در مراتع کشور بخصوص استان وفور داشته، از خانواده لگوم ها بوده که خاصیت تثبیت ازت را دارند و نیاز به کوددهی و مراقبت کمی دارند و می تواند باعث افزایش کارایی گیاه پالایی گردد، انتخاب شده اند. بذر ضد عفونی آنها از شرکت پاکان بذر تهیه گردید.

## طراحی آزمایش

خاک های تهیه شده و غربال شده طبق جدول ۱ در ۹ غلظت جداگانه و ترکیبی از پایرن و فنانترین تهیه شد. برای هر یک از غلظت ها، ۱۲ حالت طبق جدول ۲ (طبیعی، با باکتری، سورفاکتانت، اسپرس، سورگوم) و ترکیب دو تایی (باکتری + سورفاکتانت، باکتری + سورگوم، باکتری + اسپرس، سورفاکتانت + سورگوم و سورفاکتانت + اسپرس) و ترکیب

سورفاکتانت های آنیونی و غیریونی استفاده شده است. یکی از سورفاکتانت های غیریونی، Tween 80 است که می تواند باعث افزایش پخش PAHs در سیستم خاک و آب گردد<sup>۹</sup> و به نظر می رسد که توان دسترس پذیری بیولوژیکی (Bioavailability) ترکیبات PAH را در فرآیند گیاه پالایی توام با زیست افزایی، ارتقاء دهد.

در این تحقیق تأثیر گیاه سورگوم و اسپرس، سورفاکتانت Tween 80 و باکتریهای تجزیه کننده فنانترین و پایرن، را به صورت جدا و ترکیبی، برای حذف فنانترین و پایرن در غلظت های مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش ها

### تهیه خاک آلوده به فنانترین و پایرن

خاک از مراتع شهر یاسوج در استان کهگیلویه و بویراحمد در جنوب ایران، از عمق ۱۵-۰ سانتی متری، جمع آوری گردید؛ در هوا خشک و خرد شده و با الک  $2 \text{ mm}$  غربال گردید. خاک غربال شده با فنانترین و پایرن (پایرن با خلوص ۹۶٪ فنانترین با خلوص ۹۸/۵ شرکت مرک)، در چند غلظت (از ۱۰۰۰ تا ۶۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) آلوده گردید. برای این منظور، مقدار مشخصی از فنانترین یا پایرن را در استن حل نموده و به خاک اضافه گردید و اجازه داده شد تا استن تبخیر گردد. سپس از خاک آلوده شده با فنانترین و پایرن، به نسبتی به خاک اضافه گردید که ۱۰٪ کل خاک، خاک آلوده شده باشد و به غلظت مورد نظر در آزمایش برسد (جدول ۱) و برای اطمینان از یکنواخت بودن، کاملاً مخلوط شده و با الک  $2 \text{ mm}$  غربال گردید. غلظت آلاینده، در حالات مختلف طراحی اندازه گیری و تفاوت معنی داری با غلظت مورد نظر نداشتند. ۱/۵ کیلوگرم از خاک را در گلدان به ارتفاع ۲۰ و قطر ۱۵ سانتی متر ریخته و یک هفته در دمای آزمایشگاه قرار گرفت.

سه تایی آنها (باکتری + سورفاکتانت + سورگوم و باکتری + سورفاکتانت + اسپرس) در ۱۰۸ حالت و در سه تکرار، که مجموعاً ۳۲۴ گلدان می گردید، تهیه و طراحی آزمایش توسط نرم افزار Design expert 7 و به صورت full factorial انجام پذیرفت.

در هر کدام از ۳۲۴ گلدان، ۱/۵ کیلوگرم خاک آماده شده از ۱۰۸ حالت فوق الذکر، ریخته و در هر گلدان ۶ بذر از هر گیاه با دانسیته مساوی، در عمق ۱/۵ سانتی متری خاک، کاشته شد؛ به صورت یک روز در میان به میزان ۶۰ درصد ظرفیت نگهداشت آب، با آب مقطر، آبیاری و به مدت یک هفته در آزمایشگاه نگهداری تا جوانه زنی انجام گیرد. سپس در هر گلدان، ۳ گیاه یکنواخت نگهداری و بقیه حذف شدند. گلدانها با به محل حفاظت شده مشابه فیلد منتقل گردید. گلدانها بصورت تصادفی هر سه روز یکبار، جابجا گردیدند.

## سنجش فتانترون و پایرن از خاک

برای استخراج فتانترون و پایرن از نمونه های خاک، از روش

شرح داده شده توسط PAN و دیگران و xu و همکاران Gao و همکاران استفاده گردید<sup>۳،۱۱،۱۲</sup>. خاک گلدان ها به دقت جمع آوری ، یکنواخت و با الک ۲mm غربال گردید. ۲ گرم از خاک به داخل لوله سانتریفوژ ریخته؛ با ۲ گرم  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  بی آب مخلوط گردید؛ ۱۰ میلی لیتر دی کلرومتان به آن اضافه و برای مدت یک ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد در اولتراسیونیک قرار گرفت. سپس لوله ها با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و ۳ میلی لیتر از مایع، از ژل سیلیکا، عبور داده شد. سپس ماده با محلول ۱:۱ هگزان و دی کلرومتان ترقیق گردید. نمونه های رقیق شده در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد تبخیر، و با متانول به حجم اولیه ۲mL رسانده شد. نمونه ها با فیلتر فایبر گلاس ۰/۲۲ میکرون فیلتر، و به وسیله کرماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC, CECIL 4100, USA) با ستون C18 با طول ۲۵ سانتیمتر و قطر داخلی ۴/۲ میلیمتر و دتکتور UV/Vis، فازمتحرک متانول:آب (۸۰:۲۰ v/v) با میزان جریان ۱ ml/min طول موج ۲۲۰ نانومتر، آنالیز انجام گردید.

جدول ۱: غلظت اولیه PAHs در خاک آلوده شده (mg/kg)

|              | C <sub>0</sub> | C <sub>1</sub> | C <sub>2</sub> | C <sub>3</sub> | C <sub>4</sub> | C <sub>5</sub> | C <sub>6</sub> | C <sub>7</sub> | C <sub>8</sub> |
|--------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Pyrene       | ۰              | ۱۰۰            | ۳۰۰            | ۰              | ۰              | ۱۰۰            | ۳۰۰            | ۱۰۰            | ۳۰۰            |
| Phenanthrene | ۰              | ۰              | ۰              | ۱۰۰            | ۳۰۰            | ۱۰۰            | ۱۰۰            | ۳۰۰            | ۳۰۰            |

جدول ۲: طراحی آزمایشات متغیرها و سطوح آنها

|                     | T <sub>0</sub> | T <sub>1</sub> | T <sub>2</sub> | T <sub>3</sub> | T <sub>4</sub> | T <sub>5</sub> | T <sub>6</sub> | T <sub>7</sub> | T <sub>8</sub> | T <sub>9</sub> | T <sub>10</sub> | T <sub>11</sub> |
|---------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Natural attenuation | +              |                |                |                |                |                |                |                |                |                |                 |                 |
| Bioaugmentation     |                | +              |                |                |                | +              | +              | +              |                |                | +               | +               |
| Surfactant Tween80  |                |                | +              |                |                | +              |                |                | +              | +              | +               | +               |
| Sorghum             |                |                |                | +              |                |                | +              |                |                | +              |                 | +               |
| Onobrychis S.       |                |                |                |                | +              |                |                | +              | +              |                | +               |                 |

جدول ۳: درصد حذف پایرن و فنانترو خاک در ۱۲ حالت طراحی

|             | T <sub>0</sub> | T <sub>1</sub> | T <sub>2</sub> | T <sub>3</sub> | T <sub>4</sub> | T <sub>5</sub> | T <sub>6</sub> | T <sub>7</sub> | T <sub>8</sub> | T <sub>9</sub> | T <sub>10</sub> | T <sub>11</sub> |
|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Pyrene Mean | ۳۶/۸           | ۴۴/۹           | ۴۶/۷           | ۶۰/۵           | ۶۵/۲           | ۵۷/۲           | ۷۳/۸           | ۷۴/۱           | ۸۹/۷           | ۸۲/۷           | ۹۸              | ۹۶/۵            |
| SD          | ۱/۲۵           | ۲/۹۱           | ۱/۹۲           | ۲/۹۲           | ۲/۴۳           | ۲/۴۴           | 2.59           | ۲/۱            | ۱/۶۷           | 2.05           | ۱/۶۷            | ۱/۹۸            |
| Phenan Mean | ۵۱/۲           | ۵۹/۴           | ۶۱             | ۷۴/۱           | ۷۵/۱           | ۷۱/۵           | ۸۵/۲           | ۸۵             | ۹۲/۷           | ۹۰/۳           | ۹۹/۴            | ۹۹              |
| SD          | ۲/۵۸           | ۳/۲۸           | ۱/۸۷           | ۲/۱۱           | ۲/۳۳           | ۵/۰۷           | ۲/۰۹           | ۳/۸۹           | ۲/۳۳           | ۲/۹۵           | ۰/۸۸            | ۱/۰۷            |

## شمارش میکروبی

برای سنجش باکتری های خاک، از خاک حالت های بدون گیاه و در حالات دارای گیاه از خاک ریزوسفری که خاک چسبیده به ریشه می باشد، استفاده گردید. نمونه ها تا موقع آزمایش در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. شمارش باکتری خاک با روش رقت متوالی انجام گردید.<sup>۱۳،۱۴</sup> ابتدا یک گرم از خاک با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل مخلوط گردید تا رقت  $10^{-2}$  حاصل شود؛ سپس یک میلی لیتر از آن را به ۹ میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه تا رقت های متوالی تا  $10^{-6}$  به دست آید. از سه رقت نهایی، ۱ میلی لیتر بر روی پلیت نوترینت آگار با روش pour plate کشت داده شد. پلیت ها در دمای ۳۷ درجه قرار گرفته و پس از یک روز، کلنی های باکتری شمارش و بصورت CFUg<sup>-1</sup> خاک خشک بیان گردید. برای سنجش رطوبت خاک، از هر نمونه، ۵ گرم به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه خشک گردید؛ خاک خشک شده وزن و میزان رطوبت مشخص گردید.<sup>۱۵</sup>

## نتایج و بحث

جدول ۳ میزان حذف فنانترو و پایرن را در همه حالات نشان می دهد.

اگر چه در این تحقیق، از خاک مراتع بدون سابقه آلودگی مشخص استفاده گردید؛ ولی تجزیه نسبتا قابل توجهی در مدت ۱۲۰ روز هم برای فنانترو و هم برای پایرن در حالت طبیعی انجام پذیرفت. هر چند میزان تجزیه به نوع ترکیب بستگی

داشت و فنانترو خیلی بیشتر از پایرن ( ۱/۴ برابر ) تجزیه گردید.

این نتایج با نتایج تحقیقات دیگر که در آن PAHs با وزن مولکولی بالا نسبت به PAHs با وزن مولکولی پایین، در برابر تجزیه مقاوم تر می باشند، مطابقت دارد.<sup>۱۷،۱۶،۸</sup> بالاتر بودن میزان حذف فنانترو، ناشی از فرارپذیری و قابلیت تجزیه بیولوژیکی بالاتر آن نسبت به پایرن است.<sup>۴</sup>

این میزان نسبتا بالای تجزیه، ممکن است به علت افزایش فعالیت جمعیت میکروبی خاک در اثر تامین رطوبت مناسب با آبیاری ایجاد شده باشد.

با زیست افزایی، افزایش حذف برای هر دو آلاینده مشاهده می شود، ولی این افزایش حذف برای پایرن بیشتر از فنانترو می باشد (۲۲٪ برای پایرن، ۱۶٪ برای فنانترو). در تحقیقات قبلی نیز زیست افزایی باعث افزایش حذف آلاینده ها از خاک گردیده است.<sup>۱۸-۲۲</sup>

Teng.y و همکاران گزارش کرده اند که زیست افزایی باعث افزایش ۳۲/۲٪ در متوسط حذف PAHs گردیده است که این افزایش حذف برای پایرن ۳۵/۱٪ بوده است.<sup>۲۳</sup> Mohan و همکاران نیز افزایش ۲۴٪ در حذف پایرن از خاک را با زیست افزایی گزارش نموده اند.<sup>۲۴</sup> Rodrigo و همکاران، با افزایش کنسرسیوم باکتریایی شامل پنج نوع باکتری، حذف ۹۹٪ برای فنانترو و ۹۶٪ برای پایرن را در مدت ۷۰ روز به دست آوردند.<sup>۲۵</sup> هر چند Yu و همکاران در تحقیقی به این نتیجه رسیدند که زیست افزایی، تاثیری بر حذف فنانترو و پایرن از

رسوبات آلوده نداشته، ولی زیست برانگیزی تاثیر چشمگیری داشته است.<sup>۲</sup> در تحقیق دیگر، اضافه کردن باکتری آداپته شده در مدت چهارده روز با فنانترون با غلظت ۱۰۰ و ۵۰۰ mg/kg را به ترتیب ۱۰۰٪ و ۲۵/۸٪ حذف نموده است.<sup>۲۶</sup>

افزودن سورفاکتانت Tween 80 با میزان 45mg/kg باعث افزایش ۰/۲۷ برابری حذف برای پایرن (از ۳۶/۸٪ به ۴۶/۷٪) و ۰/۱۹ برابری (از ۵۱/۲٪ به ۶۱٪) برای فنانترون گردیده است. سورفاکتانت ها به منظور افزایش میزان دسترس پذیری بیولوژیکی و تجزیه بیولوژیکی PAHs بکار می روند (P1). سورفاکتانت باعث بهبود تحرک شده و واجذب PAHs را از خاک، تسهیل می نماید که ممکن است حذف آلاینده از خاک را بهبود بخشد. مطالعات قبلی نیز تاثیر سورفاکتانت بر واجذب و افزایش حذف PAHs را تایید می نماید<sup>۲۷،۲۸</sup>. Zhou از سورفاکتانت غیریونی و آنیونی برای واجذب فنانترون از خاک استفاده نمود و به این نتیجه رسید که سورفاکتانت می تواند باعث بهبود حلالیت فنانترون در سیستم آب-خاک گردد.<sup>۲۹</sup> زیست افزایی و سورفاکتانت Tween 80، تاثیر تقریباً مشابهی بر حذف فنانترون و پایرن از خاک داشتند و تفاوت معنی داری بین آنها مشاهده نگردید ( $Pvalue < 0.05$ ).

در خاک های دارای گیاه، میزان حذف پایرن و فنانترون نسبت به خاک بدون گیاه افزایش قابل ملاحظه ای را نشان می دهد ( $Pvalue < 0.05$ ). حذف با گیاه سورگوم ۶۰/۴٪ و ۷۴/۱٪ (۶۴٪ و ۴۴/۷٪ بیشتر از کنترل) و با Onobrychis. S ۶۵/۱٪ و ۷۷/۱٪ (۷۵/۱٪ و ۴۶/۶٪ بیشتر از کنترل) به ترتیب برای پایرن و فنانترون می باشد. عملکرد گیاه Onobrychis. S نسبت به سورگوم در حذف پایرن بهتر بود ( $Pvalue < 0.05$ )، ولی در حذف فنانترون تفاوت معنی داری نداشتند و این مشخص می کند که گیاه Onobrychis. S می تواند حتی موثرتر از گیاه سورگوم در فرآیند گیاه پالایی فنانترون و پایرن از خاک عمل نماید و افزایش راندمان حذف در فرآیند گیاه پالایی برای پایرن، خیلی بیشتر از فنانترون می باشد (۷۷/۱-۶۴٪) در برابر

۴۶/۷-۴۴/۷٪). تحقیقات گذشته بر روی گیاهان مختلف کارایی بالای این فرآیند را در حذف آلاینده ها از خاک تایید می نماید<sup>۳۰،۳۱</sup>. تحقیق Hans-Holgerliste با استفاده از ۹ گیاه نشان داد که در محیط با گیاه، بیش از ۷۴٪، در حالی که در محیط بدون گیاه کمتر از ۴۰٪ از فنانترون خاک حذف شده است.<sup>۳۲</sup> Lu و همکاران نیز حذف پایرن را در خاک بدون گیاه ۵۷-۴۷٪، و در خاک با گیاه ۸۳-۷۶٪ که ۲۸٪ بالاتر از خاک بدون گیاه بود، گزارش کرده اند.<sup>۳</sup> Sans-Hwan Lee و همکاران، با چهار گونه گیاه از خانواده لگوم ها و گراس ها بیش از ۹۹٪ فنانترون و ۹۴-۷۷٪ پایرن را از خاک حذف نمودند که حذف پایرن توسط لگوم ها بیشتر از گراس ها بود، ولی برای فنانترون تفاوتی نداشتند که در این مورد، با نتیجه این تحقیق مطابقت داشت.<sup>۵</sup>

اثر گیاهان بر تجزیه آلاینده ها، ممکن است در نتیجه تاثیرهای نامشخص ریشه گیاه بر وضعیت خاک اطراف باشد. این تاثیر شامل افزایش فعالیت میکروبی ریزوسفر و آنزیم های گیاهی ناحیه ریشه است که می توانند به عنوان حد واسط تجزیه عمل نمایند.<sup>۵</sup> از آنجایی که PAHs از ترکیبات هیدروفوب بوده، آزاد شدن آنها از ترکیب خاک به فاز آبی، بسیار کند صورت می پذیرد و این باعث می شود این آلاینده ها به صورت طولانی در خاک باقی بمانند<sup>۳۳،۳۴</sup> و حذف کامل آنها از خاک، به وسیله یک فرآیند منحصر به فرد خیلی مشکل و زمان بر باشد.<sup>۳۵</sup> در این مطالعه نیز، در طول ۱۲۰ روز، با فرآیند های مختلف تنها ۶۵/۷ - ۳۶/۸٪ از پایرن و ۷۵/۱ - ۵۱/۱۸٪ از فنانترون خاک حذف گردید که نشان می دهد اگر چه این فرایندها بر افزایش حذف تاثیر چشمگیری داشته اند، ولی هنوز غلظت قابل توجهی از آلاینده ها در خاک وجود دارد. بنابراین سیستم های ترکیبی فرایندهای فوق مورد بررسی قرار گرفت. در روش سیستم های چند گانه گیاه پالایی، کارایی بالاتر در حذف فنانترون و پایرن از خاک آلوده، به خصوص در حذف پایرن، مشاهده گردید که در برخی از این

روشها کارایی تا نزدیک به حذف کامل ارتقاء یافت. در همه این روشهای ترکیبی، حذف حداقل ۷۳٪ برای پایرن و ۸۵٪ برای فنانترو حاصل گردیده است. درحالت ترکیبی زیست افزایی با سورفاکتانت، حذف فنانترو و پایرن به ترتیب ۷۱/۵٪ و ۵۷/۲٪ رسید که اختلاف معنی داری با هر دو حالت زیست افزایی (۲۰٪ و ۲۷٪ بالاتر) و سورفاکتانت (۱۷٪ و ۲۷٪ بالاتر) به تنهایی داشت. این افزایش راندمان حذف ممکن است ناشی از اثر سینرژیسم این دو فرآیند باشد که سورفاکتانت باعث افزایش دسترس پذیری بیولوژیکی آلاینده شده و باکتریهای آدبته شده، که توانایی تجزیه این آلاینده ها را دارند، با سرعت و میزان بیشتری می توانند آنها را تجزیه نمایند.

نتایج حاصله با تحقیق Chao مطابقت داشت که با اضافه کردن سورفاکتانت Brig30 و افزایش چهار نوع باکتری، بهبود قابل توجهی در تجزیه DEHP از خاک را گزارش نمود<sup>۳۶</sup>. Shin و همکاران، با بیوسورفاکتانت رامنولپید و زیست افزایی در حذف فنانترو به این نتیجه رسیدند که بیوسورفاکتانت تاثیری در حذف نداشته است<sup>۳۷</sup>.

درحالت ترکیبی زیست افزایی و گیاه سورگوم، میانگین حذف فنانترو و پایرن به حد قابل توجه ۸۵/۲٪ و ۷۳/۸٪ افزایش می یابد که نسبت به حالت گیاه سورگوم به تنهایی، به ترتیب ۱۴/۹٪ و ۲۲٪ افزایش حذف را برای فنانترو و پایرن نشان می دهد. در همین حالت ترکیبی برای گیاه *Onobrychis s*. نیز حذف تقریباً مشابهی نسبت به سورگوم مشاهده می شود (۸۵٪ و ۷۴/۱٪ به ترتیب برای فنانترو و پایرن). این حالت ترکیبی هر دو گیاه تفاوت معنی داری را نسبت به حالتها هر گیاه به تنهایی در حذف فنانترو و پایرن از خاک نشان می دهد که با نتایج مطالعات قبلی مطابقت داشت<sup>۱۹، ۳۸</sup>. Yu و همکاران، حذف فنانترو از خاک را توسط گیاه ۹۱٪ و در حالت ترکیبی گیاه و باکتری، بالای ۹۹٪ و برای پایرن توسط گیاه ۹۰٪ و در حالت ترکیبی گیاه و باکتری ۹۶٪ اعلام نمودند<sup>۳۹</sup>، هر چند Xu و همکاران، با سیستم ترکیبی گیاه و باکتری افزایشی را در

حذف فنانترو و پایرن مشاهده نکردند<sup>۱۲</sup>. افزایش راندمان حذف ممکن است در اثر تشدید فعالیت باکتریها در اثر ایجاد شرایط مساعدی باشد که در ریزوسفر گیاه ایجاد شده است. در حالت ترکیبی سورفاکتانت با گیاه، برای هر دو گیاه افزایش معنی داری در میزان حذف هر دو آلاینده مشاهده گردید. این افزایش میزان حذف برای *Onobrychis. S* ۲۲٪ و ۳۷/۵٪ و برای سورگوم ۲۱/۹٪ و ۳۷٪، به ترتیب برای فنانترو و پایرن، بالاتر از میزان حذف هر گیاه به تنهایی بود و افزایش راندمان حذف پایرن نسبت به افزایش راندمان حذف فنانترو بیش از ۶۰٪ بالاتر بود. در مطالعه Cheny و همکاران، افزودن Tween 80 در فرآیند گیاه پالایی با گیاه آگروپایرن بر حذف فنانترو بی تاثیر بود ولی حذف پایرن را ۷۹٪ - ۶۱٪ افزایش داد. Gao و دیگران، با اضافه کردن سورفاکتانت ها از جمله Tween80، افزایش چشمگیری در حذف پایرن از خاک را در فرآیند گیاه پالایی به دست آوردند. در حالت ترکیبی سه گانه گیاه، سورفاکتانت و زیست افزایی، حذف قابل توجه برای فنانترو و پایرن از خاک انجام شد. در این حالت ترکیبی برای گیاه *Onobrychis. S* ۹۹/۴٪ و ۹۸٪ و برای گیاه سورگوم ۹۸/۹٪ و ۹۶/۵٪ حذف، به ترتیب برای فنانترو و پایرن، به دست آمد.

حذف PAHs از خاک می تواند در اثر حذف غیر بیولوژیکی شامل تبخیر یا شستشو یا در اثر دریافت و تجمع گیاهی و یا تجزیه به وسیله میکروارگانیسم های خاک باشد. حذف غیر بیولوژیکی در اثر شستشو منتفی است، زیرا مقدار آب در حد ۶۰٪ ظرفیت نگه داشت آب حفظ گردید و هیچ نشتی در طول آزمایش حاصل نشد. از طرفی، چون فشار بخار این آلاینده ها پایین است ( $10^{-1}$  و  $10^{-2/5}$  atmmol برای فنانترو و پایرن)، بنابراین تبخیر از خاک بعید است. در این تحقیق، میزان PAHs در بافت گیاه تعیین مقدار نشد، ولی مطالعات قبلی نشان داده اند که دریافت/تجمع گیاهی را می توان نادیده گرفت، زیرا ضریب  $\log_{ow}$  برای فنانترو ۱۷/۴ و برای پایرن ۱۳/۵ می باشد و ترکیبات هیدروفوب با  $\log_{ow} >$

4 نمی توانند به وسیله گیاه و توسط فرآیند transpiration دریافت شوند.

تاثیر غلظتهای اولیه فنانترون و پایرن خاک بر میانگین حذف در کلیه حالات مختلف طبق جدول ۴ بود. کمترین حذف پایرن درحالتی که غلظت ترکیبی بالای فنانترون و پایرن را در خاک وجود داشت (۳۰۰ mg/kg) به میزان ۶۶/۸٪ و حداکثر حذف پایرن درحالتی بوده که غلظت اولیه آن ۱۰۰mg/kg و غلظت فنانترون صفر بوده مشاهده گردید. حداکثر حذف فنانترون به میزان ۸۱/۴٪، درحالتی که غلظت آن ۱۰۰mg/kg و بدون پایرن بوده، رخ داده و کمترین آن در حالتی است که غلظت هر دو آلاینده حداکثر (۳۰۰ mg/kg) بوده است. از نظر آماری تفاوت معنی داری در میانگین حذف در غلظت های اولیه مختلف فنانترون و پایرن مشاهده نگردید.

نتایج این مطالعه با مطالعه XU و همکاران که با چهار نوع گیاه فنانترون و پایرن را از خاک حذف نمودند، مطابقت دارد.

ولی Goa و همکاران به این نتیجه رسیدند که افزایش غلظت اولیه فنانترون باعث بهبود کارایی حذف شده، ولی افزایش غلظت اولیه پایرن کارایی حذف را کاهش می دهد. عدم تاثیر غلظت اولیه فنانترون و پایرن بر کارایی حذف، می تواند ناشی از کارایی بالای این روشها که منجر به کاهش غلظت اولیه آلاینده شده و در نتیجه تاثیر آن بر کارایی حذف را کاهش می دهد.

### جمعیت باکتریایی

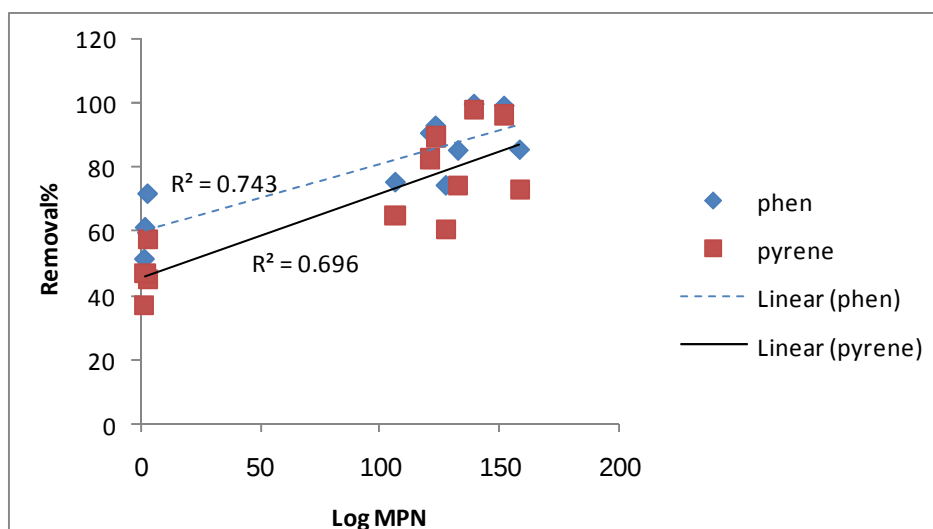
جمعیت باکتریایی در خاک های بدون گیاه و در ریزوسفر گیاهان، در پایان ۱۲۰ روز شمارش گردید. تعداد باکتری درحالات مختلف خاکهای بدون گیاه (طبیعی، زیست افزایی، سورفاکتانت و سورفاکتانت + زیست افزایی) در محدوده  $10^7$  cfu/g خاک خشک بود و در ریزوسفر، حالات مختلف با گیاه در محدوده  $10^9$  cfu/g خاک خشک بود ( نمودار ۱)

جدول ۴: درصد حذف پایرن و فنانترون در همه حالات غلظتهای اولیه آلاینده

|        |      | C <sub>0</sub> | C <sub>1</sub> | C <sub>2</sub> | C <sub>3</sub> | C <sub>4</sub> | C <sub>5</sub> | C <sub>6</sub> | C <sub>7</sub> | C <sub>8</sub> |
|--------|------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Pyrene | Mean | -              | ۷۰/۶           | ۶۷/۷           | -              | -              | ۶۹/۶           | ۶۹/۱           | ۶۹/۴           | ۶۶/۸           |
| SD     |      | -              | ۱/۹۲           | ۲/۰۳           | -              | -              | ۲/۱            | ۱/۹۵           | ۲,۰۲           | ۱/۹۹           |
| Phenan | Mean | -              | -              | -              | ۸۱/۴           | ۷۹/۲           | ۷۹/۲           | ۷۶/۹           | ۷۸,۷           | ۷۶/۶           |
| SD     |      | -              | -              | -              | ۱/۵            | ۱/۶۳           | ۱/۵۹           | ۱/۷۱           | ۱/۴۳           | ۱/۵۷           |

جدول ۵: تعداد باکتری های خاک در هر گرم خاک (درحالت های مختلف)

|         | T <sub>0</sub> | T <sub>1</sub> | T <sub>2</sub> | T <sub>3</sub> | T <sub>4</sub> | T <sub>5</sub> | T <sub>6</sub> | T <sub>7</sub> | T <sub>8</sub> | T <sub>9</sub> | T <sub>10</sub> | T <sub>11</sub> |
|---------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Log CFU | ۷/۲۷           | ۷/۴۹           | ۷/۳۳           | ۹/۱۱           | ۹/۰۳           | ۷/۵            | ۹/۲            | ۹/۱۲           | ۹/۰۹           | ۹/۰۸           | ۹/۱۴            | ۹/۱۸            |
| SD      | ۰/۴۹           | ۰/۴            | ۰/۵۳           | ۰/۱۳           | ۰/۱۸           | ۰/۳۹           | ۰/۷۸           | ۰/۱۴           | ۰/۱۵           | ۰/۱۴           | ۰/۹۳            | ۰/۱۲            |



نمودار ۱: همبستگی باکتری خاک با درصد حذف فنانترون و پایرن خاک

نشان داد ( $Pvalue < 0.01$ ). (نمودار ۱)

در گزارش Janbondhu و همکاران، تعداد باکتری در ریزوسفر، ۷/۵-۵ برابر خاک غیر ریزوسفری بوده و با افزایش غلظت پایرن تا ۱۰۰ mg/kg، باکتری افزایش و در غلظت های بالاتر تعداد باکتری کاهش داشت. در مطالعه Gao و همکاران، با افزایش غلظت فنانترون و پایرن جمعیت باکتری خاک کاهش ولی در ریزوسفر افزایش را نشان داد. در مطالعه دیگری با افزایش غلظت فنانترون و پایرن، تعداد باکتری خاک بدون گیاه، خاک با گیاه و در ریزوسفر افزایش را نشان داد. عدم تاثیر غلظت اولیه فنانترون و پایرن بر جمعیت باکتریایی خاک ممکن است ناشی از کارایی مطلوب این روشها در حذف این آلاینده ها و در نتیجه آدابت شدن جمعیت باکتریایی در دوره طولانی ۱۲۰ روزه با شرایط خاک باشد.

## نتیجه گیری

استفاده از گیاه سور گوم و *onobrychis* می تواند حذف فنانترون و پایرن را از خاک بهبود دهند و *onobrychis* در حذف پایرن، عملکردی به مراتب بهتر از سورگوم

این افزایش جمعیت باکتری، نتیجه رشد باکتریها در حضور ریشه گیاهان است. زیرا از ریشه گیاهان موادی مثل آمینواسیدها، اسیدهای آلی، آنزیم ها، قندها و ترکیبات کربوهیدرات ترشح می گردد که می توانند بعنوان منبع کربن و انرژی مورد استفاده قرار گرفته و باعث افزایش جمعیت باکتری در ریزوسفر گردند. نتایج آزمون آماری نشان می دهد که کاشت گیاه بصورت معنی داری جمعیت باکتریایی را افزایش می دهد ( $Pvalue < 0.01$ ). تعداد جمعیت باکتریایی در ریزوسفر حالات مختلف دارای گیاه اختلاف معنی داری با هم نداشت. زیست افزایی در خاک بدون گیاه، باعث افزایش جمعیت باکتریایی در سطح معنی داری گردیده ( $Pvalue < 0.05$ ) ولی در خاک با گیاه، این اختلاف معنی دار نبود. سورفاکتانت Tween80 چه در خاک بدون گیاه و چه در خاک دارای گیاه بر جمعیت باکتری تاثیر قابل ملاحظه ای نداشت.

غلظت اولیه فنانترون و پایرن نیز تاثیر معنی داری بر جمعیت باکتریایی نداشت. تعداد جمعیت باکتریایی خاک، با میزان حذف فنانترون و پایرن از خاک، به طور معنی داری همبستگی

دسترس پذیری بیولوژیکی آلاینده های خاک می گردد. آزمون همبستگی نشان داد که راندمان حذف پایرن و فنانترن رابطه معنی داری با جمعیت میکروبی خاک دارند. نتیجتاً اینکه، عملکرد زیست افزایی و Tween80 می تواند باعث بهبود کارایی گیاه پالایی در حذف فنانترن و پایرن از خاک آلوده گردد. تحقیقات بیشتر در مورد کارایی سایر گیاهان بومی و همچنین مسیر تجزیه PAHs و مشخص کردن مقدار دریافت یا تجمع گیاه برای آینده توصیه می گردد.

دارد. استفاده از سیستم های ترکیبی گیاه پالایی (multi – technique – phytoremediation) باعث بهبود فرآیند حذف می گردد. افزایش باکتری یا Tween80، می تواند کارایی فرآیند گیاه پالایی را برای حذف فنانترن و پایرن بهبود دهد. همچنین استفاده توأم از باکتری و سورفاکتانت Tween80 در فرآیند گیاه پالایی، می تواند حذف را بطور قابل ملاحظه ای تا نزدیک به حذف کامل ارتقاء دهد. تاثیر مثبت Tween80، ناشی از توانایی محلول سازی و واجذب آن است که باعث بهبود

## منابع

1. Zhang J, Yin R, Lin X, Liu W, Chen R. Interactive Effect of Biosurfactant and microorganism to Enhanced Phytoremediation for Removal of Aged Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from contaminated soils. *J Health Sci* 2010;56(3): 257-66.
2. Yu KSH, Wong AHY, Yau KKY, Wong YS, Tam NFY. Natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation on biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mangrove sediments. *Mar Pollut Bull* 2005;51:1071-7.
3. Sheng-wang PAN, Shi-qiang WEI, Xin Y, Sheng-xian CAO. The removal and remediation of phenanthrene and pyrene in soil by mixed cropping of alfalfa and rape. *Agri Sci China* 2008;7(11):1355-64.
4. Yu XZ, Wu SC, Wu FY, Wong MH. Enhanced dissipation of PAHs from using mycorrhizal ryegrass and PAH-degrading bacteria. *J Hazard Mater* 2010; ACCEPTED.
5. Lee S-H, Lee W-S, Lee C-H, Kim J-G. Degradation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere of grasses and legumes. *J Hazard Mater* 2008;153(1-2): 892-8.
6. Zhang Z, Zhou Q, Peng S, Cai Z. Remediation of petroleum contaminated soils by joint action of *Pharbitis nil* L. and its microbial community. *Sci Total Environ* 2010;408: 5600-5.
7. Kirk JL, Klironomos JN, Lee H, Trevors JT. The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil. *Environ Pollut* 2005;133: 455-65.
8. Lu S, Teng Y, Wang J, Sun Z. Enhancement of pyrene removed from contaminated soils by *Bidensmaximowicziana*. *Chemosphere* 2010;81(5): 645-50.
9. Cheng KY, Lai KM, Wong JWC. Effects of pig manure compost and nonionic-surfactant Tween 80 on phenanthrene and pyrene removal from soil vegetated with *Agropyronelongatum*. *Chemosphere* 2008;73(5): 791-7.
10. Hamdi H, Benzarti S, Manusadžianas L, Aoyama I, Jedidi N. Bioaugmentation and biostimulation effects on PAH dissipation and soil ecotoxicity under controlled conditions. *Soil Bio Biochem* 2007;39: 1926-35.
11. Gao Y, Zhu L. Plant uptake, accumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils. *Chemosphere* 2004;55(9): 1169-78.
12. Xu SY, Chen YX, Wu WX, Wang KX, Lin Q, Liang XQ. Enhanced dissipation of phenanthrene and pyrene in spiked soils by combined plants cultivation. *Sci Total Environ* 2006;363(1-3): 206-15.
13. Euliss K, Ho C-h, Schwab AP, Rock S, Banks MK. Greenhouse and field assessment of phytoremediation for petroleum contaminants in a riparian zone. *Bioresour Technol* 2008;99: 1961-71.
14. pedologyNio. Method of studying on soil Microbiology. Chinese Academy of Science: Science Press; 1985.
15. Kaimi E, Mukaidani T, Miyoshi S, Tamaki M. Ryegrass enhancement of biodegradation in diesel-contaminated soil. *Environ Experiment Botany* 2006;55: 110-9.
16. Cheema SA, Khan MI, Tang X, Zhang C, Shen C, Malik Z, Ali S, Yang J, Shen K, Chen X and others. Enhancement of phenanthrene and pyrene degradation in rhizosphere of tall fescue (*Festucaarundinacea*). *J Hazard Mater* 2009;166(2-3): 1226-31.
17. Gao Y, Yu XZ, Wu SC, Cheung KC, Tam NFY, Qian PY, Wong MH. Interactions of rice (*Oryza sativa* L.) and PAH-degrading bacteria (*Acinetobacter* sp.) on enhanced dissipation of spiked phenanthrene and pyrene in waterlogged soil. *Sci Total Environ* 2006;372(1): 1-11.

18. Colombo M, Cavalca L, Bernasconi S, Andreoni V. Bioremediation of polyaromatic hydrocarbon contaminated soils by native microflora and bioaugmentation with *Sphingobiumchlorophenicum* strain C3R: A feasibility study in solid- and slurry-phase microcosms. *Int Biodeterior Biodeg* 2011;65(1): 191-7.
19. Madueño L, Coppotelli BM, Alvarez HM, Morelli IS. Isolation and characterization of indigenous soil bacteria for bioaugmentation of PAH contaminated soil of semiarid Patagonia. *Int Biodeterior Biodeg* 2011;65(2): 345-51.
20. Mrozik A, Piotrowska-Seget Z. Bioaugmentation as a strategy for cleaning up of soils contaminated with aromatic compounds. *Microbiol Res* 2010;165(5): 363-75.
21. Tahhan RA, Ammari TG, Goussous SJ, Al-Shdaifat HI. Enhancing the biodegradation of total petroleum hydrocarbons in oily sludge by a modified bioaugmentation strategy. *Int Biodeterior Biodeg* 2011;65(1): 130-4.
22. Xu Y, Lu M. Bioremediation of crude oil-contaminated soil: Comparison of different biostimulation and bioaugmentation treatments. *J Hazard Mater* 2010;183: 395-401.
23. Teng Y, Luo Y, Sun M, Liu Z, Li Z, Christie P. Effect of bioaugmentation by *Paracoccus* sp. strain HPD-2 on the soil microbial community and removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from an aged contaminated soil. *Bioresour Technol* 2010;101(10): 3437-43.
24. Venkata Mohan S, Prasanna D, Purushotham Reddy B, Sarma PN. Ex situ bioremediation of pyrene contaminated soil in bio-slurry phase reactor operated in periodic discontinuous batch mode: Influence of bioaugmentation. *Int Biodeterior Biodeg* 2008;62(2): 162-9.
25. Jacques RJS, Okeke BC, Bento FM, Teixeira AS, Peralba MCR, Camargo FAO. Microbial consortium bioaugmentation of a polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil. *Bioresour Technol* 2008;99(7): 2637-43.
26. Janbandhu A, Fulekar MH. Biodegradation of phenanthrene using adapted microbial consortium isolated from petrochemical contaminated environment. *J Hazard Mater* 2011;187: 333-40.
27. Ahn CK, Kim YM, Woo SH, Park JM. Soil washing using various nonionic surfactants and their recovery by selective adsorption with activated carbon. *J Hazard Mater* 2008;154(1-3): 153-60.
28. Zhou W, Zhu L. Efficiency of surfactant-enhanced desorption for contaminated soils depending on the component characteristics of soil-surfactant-PAHs system. *Environ Pollut* 2007;147(1): 66-73.
29. Zhou W, Zhu L. Enhanced desorption of phenanthrene from contaminated soil using anionic/nonionic mixed surfactant. *Environ Pollut* 2007;147(2): 350-7.
30. Cheema SA, Imran KHan M, SHhen C, Tang X, Farooq X. Degredation of phenanthrene and pyrene in spiked soils by single and combined plants cultivation. *J Hazard Mater* 2010;177(1-3): 384-9.
31. Phillips LA, Greerb CW, Germida JJ. Culture-based and culture-independent assessment of the impact of mixed and single plant treatments on rhizosphere microbial communities in hydrocarbon contaminated flare-pit soil. *Soil Biol Biochem* 2006;38: 2823-33.
32. Liste H-H, Alexander M. Plant-promoted pyrene degradation in soil. *Chemosphere* 2000;40(1): 7-10.
33. Cofield N, Bank MK, Schwab AP. Lability of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *Chemosphere* 2008;70: 1644-52.
34. Joner EJ, Hirmann D, Szolar OHJ, Todorovic D, Leyval C, Loibner AP. Priming effects on PAH degradation and ecotoxicity during a phytoremediation experiment. *Environ Pollut* 2004;128: 429-35.
35. Huang XD, El-Alawi Y, Penrose DM, Glick BR, Greenberg BM. A Multi-process phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils. *Environ Pollut* 2004;130(3): 465-76.
36. Chao WL, Cheng CY. Effect of introduced phthalate-degrading bacteria on the diversity of indigenous bacterial communities during di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) degradation in a soil microcosm. *Chemosphere* 2007;67(3): 482-8.
37. Shin K, Kim J, Kim K. Effect of Biosurfactant Addition on the Biodegradation of phenanthrene in soil-water system. *Environ Eng Res* 2008;13(1): 8-13.
38. Borrás E, Caminal G, Sarra M, Novotny C. Effect of soil bacteria on the ability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) removal by *trametesversicolor* and *irpexlacteus* from contaminated soil. *Soil Biol Biochem* 2010;42(12): 2087-93.
39. Gao Y-Z, Ling W-T, Zhu L-Z, Zhao B-W, Zheng Q-S. Surfactant-Enhanced Phytoremediation of Soils Contaminated with Hydrophobic Organic Contaminants: Potential and Assessment. *Pedosphere* 2007;17(4): 409-418.
40. Reilly K, Bank MK, Schwab AB. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in rhizosphere. *J Environ Qual* 1996;25: 212-9.
41. Schwarzenbach R, Gschwend P, Imboden D. Environmental organic chemistry. New York: John willy&sons; 1993.

# The Effect of Phytoremediation and Bioaugmentation on the Removal of Phenanthrene and Pyrene from Contaminated Soil

Mohammad Mehdi Baneshi<sup>1</sup>, Roshanak Rezaei Kalantary<sup>\*2</sup>, Ahmad Jonidi Jafari<sup>2</sup>,  
Simin Nasser<sup>3</sup>, Nemat Jafarzadeh<sup>4</sup>, Emad Dehghanifard<sup>5</sup>

1. Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

2. Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3. Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4. Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Jondishapour University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

5. Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Alborz University of Medical Sciences, Tehran, Iran

\*E-mail: [rezaei.r@iums.ac.ir](mailto:rezaei.r@iums.ac.ir)

Received: 29 Sep 2014 ; Accepted: 17 Dec 2014

## ABSTRACT

In this study, the efficiency of phytoremediation on soils contaminated by Phenanthrene and Pyrene as well as the impact of bioaugmentation and nonionic surfactant Tween80 on its performance was evaluated by sorghum and *Onobrychis sativa*.

Soils collected from the pastures of Kohkiluyeh and Boyerahmad province in Iran, with concentrations of 100 and 300 mg per kg of Phenanthrene and Pyrene, which were separately and combined (9 levels) contaminated, and 1.5 kg of soil was poured in each pot in different conditions of natural, bioaugmented and surfactant separately and combined (12 cases), were a total of 108 cases, with three replications (324 pot) for 120 days were considered in a similar condition to the field. At last, the concentration of Phenanthrene and Pyrene of soil samples was measured by HPLC to determine the amount and rate of removal. Also, microbial population of soil and Rhizosphere was counted.

The results showed that both plants significantly improved the removal of Phenanthrene and Pyrene from soil. Bioaugmentation and nonionic surfactant Tween80 increased the removal efficiency. In the composition of plants, bioaugmentation and the surfactant showed significant increase, so as removal of 99.4% and 98% for *Onobrychis sativa*, and 96.5% and 99% with sorghum were achieved for the Phenanthrene and Pyrene, respectively.

The study showed that both sorghum and *Onobrychis sativa* had a good performance in phytoremediation of contaminated soils by Phenanthrene and Pyrene, and addition of bioaugmentation and surfactants improved the removal of Phenanthrene and Pyrene to nearly complete.

**Keywords:** Phytoremediation, bioaugmentation, Phenanthrene, Pyrene, sorghum and *Onobrychis sativa*, contaminated soils.