

پاکسازی بیولوژیکی خاک‌های آلوده به اتیل بنزن، تولوئن و نفتالین

دکتر محمد رضا مهراسبی*، دکتر محمود شریعت**، دکتر بهزاد حقیقی***، مهندس داریوش رنجبر****

نویسنده‌ی مسئول: زنجان، دانشگاه علوم پزشکی، گروه بهداشت محیط
mehrasbi@yahoo.com

دریافت: ۸۴/۴/۱۲ پذیرش: ۸۴/۱۲/۹

چکیده

زمینه و هدف: هیدرورکرین‌های آروماتیکی در اثر احتراق ناقص سوخت‌های فسیلی تولید می‌شوند و پس از انتشار در اتمسفر توسط نزولات جوی خاک را آلوده می‌کنند. مطالعات بسیاری عمل بندر افسانی میکروبی را در تجزیه‌ی هیدرورکرین‌های آروماتیکی مؤثر دانسته و برخی مطالعات این عمل را در افزایش راندمان تجزیه‌ی بیولوژیکی مؤثر ندانسته‌اند. با توجه به یافته‌های متناقض، این مطالعه با هدف تعیین توانایی میکروارگانیسم‌های جداسازی شده از خاک‌های آلوده به نفت در تجزیه‌ی هیدرورکرین‌های آروماتیکی به صورت جداگانه و مخلوط در سال ۱۳۸۳ در زنجان انجام گرفت.

روش بررسی: در این تحقیق تجزیه از نفتالین، تولوئن و اتیل بنزن به عنوان ترکیبات هیدرورکرین آروماتیک شاخص استفاده شد. این مواد به عنوان تنها منبع کرین به خاک‌هایی که با جمعیت میکروبی جداسازی شده از مناطق آلوده تلقیح شده بودند، اضافه و پس از چهار ماه، آزمون شمارش میکروبی به عنوان شاخص فعالیت‌های میکروبی انجام شد. میزان حذف بیولوژیکی و غیر بیولوژیکی ترکیبات به روش گاز کروماتوگرافی تعیین و نتایج با استفاده از آزمون من ویتنی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین تعداد کلنی‌های تشکیل شده در هر گرم خاک در کشت‌هایی که از تولوئن، اتیل بنزن و نفتالین به عنوان منبع کرین در آن‌ها استفاده شده بود به ترتیب $10^{10.6}$ ، $10^{10.5}$ ، $10^{10.4}$ کلنی در هر گرم خاک بود. در کشت حاوی مخلوط این سه هیدرورکرین میانگین تعداد کلنی‌ها در هر گرم خاک $10^{10.6}$ بود. درصد حذف بیولوژیکی سه هیدرورکرین آروماتیک مورد مطالعه، وقتی به طور جداگانه در معرض میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده‌ی هیدرورکرین قرار گرفتند، به ترتیب ۵۱، ۴۵ و ۷۹ درصد برای تولوئن، اتیل بنزن و نفتالین بود و وقتی این ترکیبات به صورت مخلوط به محیط کشت اضافه شدند، بیشترین درصد حذف به ترتیب مربوط به نفتالین (۱۰/۱ درصد)، اتیل بنزن (۶۵/۷ درصد) و تولوئن (۶۳/۶ درصد) بود.

نتیجه‌گیری: با جداسازی جمعیت میکروبی از خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی و تهییه‌ی یک مایع تلقیح می‌توان هیدرورکرین‌های آروماتیک را به روش بیولوژیکی حذف نمود. از آنجا که تبخر، یک روش مناسب در حذف هیدرورکرین‌ها است، اصلاح خاک‌ها به روش هوا دهی توأم با روش تلقیح میکروبی روش‌های مناسبی جهت حذف هیدرورکرین‌های آروماتیک از محیط خاک می‌باشد.

واژگان کلیدی: هیدرورکرین‌های حلقوی، خاک، پاک‌سازی بیولوژیکی

*دکترای تخصصی بهداشت محیط، استادیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان

*دکترای تخصصی بهداشت محیط، استاد دانشگاه علوم پزشکی تهران

**دکترای تخصصی شیمی، استادیار مرکز تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان

**** فوق لیسانس بهداشت محیط، مرتبی دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

مقدمه

یکسان نیست (۶). از سویی دیگر برای اصلاح بیولوژیکی محیط‌های آلوده، عمل بذردهی میکروبی توسط وارد کردن میکروارگانیسم‌های از قبل خوداده شده به منظور اصلاح بیولوژیکی محیط‌های آلوده و خالص و افزایش سرعت بیولوژیکی این ترکیبات موجود در خاک مورد تأکید خاص قرار گرفته است (۷). مطالعات بسیاری عمل تلقیح و یا بذر افشاری میکروبی را در تجزیه مؤثر دانسته‌اند، اما مطالعات دیگری نیز این عمل را در افزایش راندمان تجزیه‌ی بیولوژیکی مؤثر ندانسته‌اند (۸ - ۱۰). با توجه به یافته‌های متناقض در این خصوص، تحقیق حاضر با هدف تعیین توانایی میکروارگانیسم‌های جدا شده از خاک‌های آلوده به نفت بر تجزیه‌ی هیدروکربن‌های آروماتیک (نفتالین، تولوئن و اتیل بنزن) به صورت جداگانه و مخلوط در سال ۱۳۸۳ در زنجان انجام گرفت که به این منظور سه هیدروکربن آروماتیک به طور جداگانه و نیز به صورت مخلوط توسط جمعیت باکتری جداسازی شده از خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی، مورد تجزیه‌ی بیولوژیکی قرار گرفته و درصد حذف بیولوژیکی آنان سنجیده شد.

روش بررسی

در این تحقیق تجربی به منظور جدا سازی میکروارگانیسم‌های خوگرفته با ترکیبات نفتی، از اطراف پمپ بنزین‌های موجود در زنجان و همچنین از اطراف مخازن مرکز تهیه و توزیع فرآورده‌های نفتی استان زنجان، مقادیری خاک برداشت شد. خاک‌ها از فواصل ۵، ۱۰ و ۲۰ متری اطراف مخازن (در هر فاصله ۳ نمونه به صورت شعاعی) برداشت شدند. عمق برداشت خاک‌ها از سطح زمین $0/5$ و یک متر بود و از هر نقطه ۵۰۰ گرم خاک برداشت شد. خاک‌ها در ظروف استریل به آزمایشگاه حمل و پس از مخلوط شدن کامل، باقی‌مانده‌های گیاهی و آشغال‌های آن جداسازی و سپس با الک ۲ میلی‌متری سرند شدند. برای جداسازی

آلودگی منابع زیست محیطی توسط هیدروکربن‌های آروماتیکی یک حلقه‌ای و چند حلقه‌ای در دهه‌های اخیر توسط محققین مورد توجه بسیار قرار گرفته است، هم‌چنین خاصیت سلطان‌زایی بعضی از ترکیبات تولید شده در انسان و میکروارگانیسم‌ها، طی فرآیند بیوترانسفورماسیون به اثبات رسیده است (۱). مشخصه‌ی بارز این ترکیبات داشتن حلقه‌ی بنزنی است. این دسته از هیدروکربن‌ها پس از نفوذ در زمین، وارد آب‌های زیر زمینی شده و از طریق آب آشامیدنی به بدن وارد می‌شوند. برخی از این مواد در طبقه‌بندی مواد سلطان‌زا، در دسته‌ی یک و برخی در گروه ۲ قرار می‌گیرند. با توجه به گسترش بیماری‌های سلطانی یکی از مهم‌ترین اقدامات مؤثر، پیشگیری از آلودگی آب، خاک و هوا توسط این ترکیبات سلطان‌زا است (۱). این ترکیبات در اثر احتراق ناقص سوخت‌های فسیلی تولید می‌شوند و پس از انتشار در اتمسفر توسط نزولات جوی خاک را آلوده می‌کنند. از سوی دیگر آلودگی‌های محیطی در اثر فعالیت‌های صنعتی نظیر فعالیت صنایع پتروشیمی، نفت و صنایع مشابه در خاک به وجود می‌آیند (۲-۳). اگر چه تجزیه‌ی بیولوژیکی یک هیدروکربن آروماتیکی به تنهایی در کشت‌های خالص باکتریایی توسط یک گونه‌ی خاص باکتری‌ها به تأیید رسیده است ولی در محیط زیست با مخلوطی از هیدروکربن‌ها مواجه هستیم که می‌باشد توسط یک جمعیت مخلوط باکتریایی مورد تجزیه قرار گیرند (۴). سرعت تجزیه‌ی بیولوژیکی بنزن و تولوئن وقتی به تنهایی مورد تجزیه‌ی بیولوژیکی قرار می‌گیرند تا دو برابر آهسته‌تر از زمانی است که این ترکیبات در مخلوط با بنزن مورد تجزیه‌ی بیولوژیکی قرار می‌گیرند (۵). بر اساس گزارش محققان سرعت تجزیه‌ی بیولوژیکی بنزن، تولوئن، اتیل بنزن، گزیلن و قتسی به طور جداگانه در معرض باکتری‌های تجزیه کننده‌ی هیدروکربن قرار می‌گیرند، نسبت به زمانی که مخلوط آن‌ها در محیط کشت قرار می‌گیرد،

اضافه شد. در هر مورد یکی از ارلن‌ها به عنوان شاهد بدون تلچیع میکروبی جهت تعیین روش‌های غیر بیولوژیکی در حذف هیدروکربن‌ها و به یک ارلن دیگر مایع تلچیع میکروبی اضافه شد. جهت جلوگیری از رشد میکروبی به ارلن‌های شاهد آزید سدیم 3 g درصد اضافه شد. ارلن‌ها در دمای آزمایشگاه ($22\pm 2^\circ\text{C}$) به مدت ۵ ماه قرار گرفتند. جهت تأمین مواد مغذی از کودهای کشاورزی (کود اوره، سوپر فسفات و سولفات پتاسیم) استفاده شد به گونه‌ای که نسبت‌های کربن به نیتروژن، نیتروژن به فسفر، فسفر به پتاسیم به ترتیب $1:10$, $1:5$, $5:1$ /تنظیم شدند (12). با توجه به جرم حجمی هیدروکربن‌ها غالباً اولیه بر مبنای $1000\text{ }\mu\text{g}$ ام تنظیم شد. در ابتدا و انتهای دوره‌ی کشت نمونه‌های خاک از ارلن جهت اندازه‌گیری باقی‌مانده‌ی هیدروکربن‌ها به روش GC-FAD (گاز کروماتوگرافی با دتکتور یونش شعله‌ای) برداشت (12) و در دمای 15°C درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شدند. هم‌چنین در طول دوره‌ی کشت جهت ارزیابی فعالیت میکروبی، 15 g نمونه در فواصل زمانی مساوی برداشت و با تکرار سه تایی تعداد کلنی‌های تشکیل شده در هر گرم و فعالیت باکتری‌های تجزیه کننده‌ی ترکیبات آروماتیک توسط شمارش باکتری‌های کشت پذیر خاک اندازه‌گیری شد. نتایج بر حسب تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم خاک ثبت شد. تکرار آزمون 3 بار بود و نتایج بر اساس میانگین تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم ثبت گردید (13).

جهت اندازه‌گیری مقادیر هیدروکربن باقی‌مانده، از دی‌کلرومتان $1:1$ به عنوان مایع استخراج استفاده شد. تعیین مقدار هیدروکربن‌ها به روش GC-FAD انجام شد. دستگاه گاز کروماتوگراف مدل Varian 3800 بود و دتکتور یونش شعله‌ای و ستون مؤینه به طول 25 m , قطر داخلی 0.25 mm میلی‌متر و ضخامت فیلم $0.25\text{ }\mu\text{m}$ میکرومتر بود. حرارت محل تزریق روی 200°C درجه‌ی سانتی‌گراد و دتکتور در 250°C

باکتری‌های خاک، 95 mL لیتر آب مقطر و 2 mL محلول توئین $80:10$ به 10 g خاک افزوده شد. سپس این محلول به مدت 25 دقیقه در یک تکان دهنده با سرعت 150 rpm دور در دقیقه در حرارت آزمایشگاه قرار گرفت ($22\pm 2^\circ\text{C}$ سانتی‌گراد) (11). 95 mL لیتر از محیط کشت نمک معدنی در یک ارلن مایر 200 mL لیتری ریخته شد و سپس $2/5$ میلی‌لیتر از محلول هیدروکربن‌های نفتی شامل اتیل بنزن، تولوئن و نفتالین به نسبت‌های $1:1:1$ به عنوان منبع کربن به محیط کشت اضافه شد. این ارلن به مدت 15 روز در دمای آزمایشگاه ($22\pm 2^\circ\text{C}$ درجه‌ی سانتی‌گراد) نگهداری و پس از گذشت 15 روز $2/5$ میلی‌لیتر از محلول موجود در این ارلن به ارلن دیگری با همان شرایط قبلی منتقل شد. این عمل در چهار دوره 15 روزه تکرار و در پایان دوره‌ی چهارم تعداد کلنی‌ها در هر گرم بر روی محیط تریپوز سوی آگار شمارش شد که برابر با 2×10^7 در هر میلی‌لیتر بود. از این مایع به عنوان مایع تلچیع جهت کشت میکرووارگانیسمی در محیط خاک برای تجزیه‌ی هیدروکربن‌های آروماتیک استفاده شد (12).

جهت کشت میکرووارگانیسم‌های تجزیه کننده‌ی هیدروکربن خاک، از یک منطقه‌ی بیابانی که به دور از هر گونه فعالیت انسانی و جاده‌های بین شهری بود، مقادیری خاک از عمق 12 متری برداشته و پس از حمل به آزمایشگاه با سرنده 200 mL میلی‌متری سرنده شدند. سپس به مدت 30 دقیقه در دمای 200°C درجه‌ی سانتی‌گراد و سپس در انکوباتور با 37°C سانتی‌گراد قرار گرفتند. این عمل سه بار تکرار شد. سپس 8 g ارلن مایر 250 mL میلی‌لیتری انتخاب و استریل شدند و به هر ارلن 200 g خاک آماده شده اضافه شد. جهت تأمین رطوبت توسط آب مقطر استریل میزان ظرفیت نگهداری آب برای تمامی نمونه‌ها 45 mL درصد تنظیم شد. به دو ارلن تولوئن (به عنوان منبع کربن) به دو ارلن اتیل بنزن، به دو ارلن نفتالین و به دو ارلن مخلوطی از این سه هیدروکربن به نسبت $1:1:1$

جدول ۲: مقادیر حذف هیدروکربن‌ها در کشت‌های بیولوژیکی و غیر بیولوژیکی، زنجان ۱۳۹۳

منبع کربن	حذف	بیولوژیکی	غیر بیولوژیکی	کل
تولوئن	۸۱	۳۰	۵۱	
اتیل بنزن	۸۲	۳۷	۴۵	
نفتالین	۸۴	۱۵	۶۹	
مخلوط:				
تولوئن	۸۸	۲۴	۶۴	
اتیل بنزن	۸۹	۲۳	۶۶	
نفتالین	۹۴	۱۴	۸۰	
کل حذف مخلوط	۸۹	۲۴	۶۵	

هم به روش‌های غیر بیولوژیکی حذف می‌شوند. بنابراین اختلاف میزان حذف هیدروکربن‌ها در ظروف نمونه و شاهد نشان دهنده‌ی میزان حذف بیولوژیکی می‌باشد (نمودار ۱). آزمون آماری اختلاف معنی داری بین میزان حذف هیدروکربن‌ها در گروه شاهد و نمونه ($P = 0.04$) نشان داد. نمودار (۱) مقادیر حذف کل و حذف بیولوژیکی هیدروکربن‌های شاخص را در کشت‌های جداگانه و کشت‌های مخلوطی نشان می‌دهد. درصد حذف



نمودار ۱: مقادیر حذف هیدروکربن‌ها به تفکیک روش حذف بیولوژیکی و غیر بیولوژیکی، زنجان ۱۳۹۳

درجه‌ی سانتی‌گراد تنظیم شد و دمای ستون از ۴۰ درجه‌ی سانتی‌گراد با زمان ماند ۳ دقیقه شروع و سپس به سرعت ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در دقیقه رسید (۱۴). داده‌ها طبقه‌بندی و جهت مقایسه‌ی میانگین‌ها از آزمون من ویتنی (ویلکاسون) استفاده شد (۱۵).

یافته‌ها

میانگین، حداکثر و حداقل تعداد کلنی‌ها در هر گرم از خاک ارلن‌ها در جدول (۱) ارایه شده است. چنان‌چه ملاحظه می‌شود بیشترین میانگین تعداد کلنی‌ها مربوط به نفتالین بوده و کمترین آن به اتیل بنزن اختصاص دارد.

جدول ۱: میانگین، حداکثر و حداقل تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم از خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌ها، زنجان ۱۳۹۳

منبع کربن	میانگین	حداکثر	حداقل	تعداد کلنی (در هر گرم خاک)
تولوئن	20×10^6	74×10^6	34×10^6	
اتیل بنزن	70×10^5	40×10^5	20×10^6	
نفتالین	41×10^6	29×10^6	58×10^6	
مخلوط	10×10^6	68×10^5	25×10^6	

هم‌چنین در این تحقیق مقادیر هیدروکربن موجود در ارلن‌ها در ابتدا و انتهای دوره‌ی کشت اندازه‌گیری شد. مقادیر حذف هیدروکربن‌ها در انواع کشت‌های بیولوژیکی و غیر بیولوژیکی در جدول (۲) ارایه شده است.

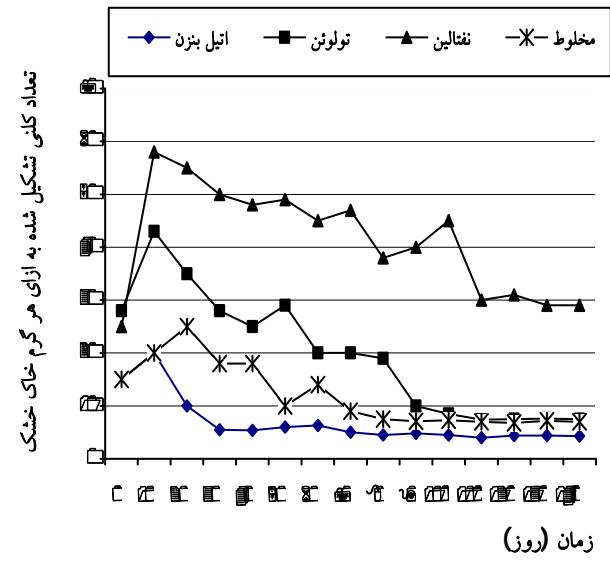
حذف هیدروکربن‌ها در ارلن‌های شاهد به روش‌های غیر بیولوژیکی صورت گرفته است زیرا ارلن‌های شاهد فاقد هرگونه رشد میکروبی بودند. روش‌های تبخیر و جذب سطحی در ذرات رس، از روش‌هایی هستند که باعث می‌شوند هیدروکربن‌ها از دسترس میکرووارگانیسم‌های خاک دور مانده و در فرآیندهای تجزیه‌ی بیولوژیکی وارد نشوند. در ارلن‌های نمونه هیدروکربن‌ها هم به روش بیولوژیکی و

شده در هر گرم خاک در کشت‌هایی که از تولوئن، اتیل بنزن و نفتالین به عنوان منبع کربن استفاده شده بود به ترتیب $19/7 \times 10^6$ ، $19/4 \times 10^5$ و $6/9 \times 10^6$ (کلنجی در هر گرم خاک) بود. در کشت حاوی مخلوط این سه هیدروکربن میانگین تعداد کلنجی‌ها در هر گرم خاک 34×10^6 بود.

بر اساس نتایج این تحقیق در هر دو مورد کشت جدآگانه و مخلوط، حذف غیر بیولوژیکی نفتالین از دو هیدروکربن دیگر کمتر است که به علت بالا بودن نقطه‌ی جوش این هیدروکربن می‌باشد، زیرا عامل اصلی در حذف غیر بیولوژیکی تبخیر می‌باشد. درصد حذف بیولوژیکی سه هیدروکربن آروماتیک مورد مطالعه وقتی به طور جدآگانه در معرض میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده‌ی هیدروکربن قرار گرفته‌اند به ترتیب برای تولوئن، اتیل بنزن و نفتالین ۱، ۴۵ و ۶۹ درصد بود. بنابراین بیشترین درصد حذف بیولوژیکی را به ترتیب نفتالین، تولوئن و اتیل بنزن داشته‌اند. در حالی که وقتی این ترکیبات به صورت مخلوط به محیط کشت اضافه شدند، بیشترین درصد حذف به ترتیب مربوط به نفتالین ($80/1$ درصد)، اتیل بنزن ($65/7$ درصد) و تولوئن ($63/6$ درصد) بود. در هردو نوع کشت، نفتالین در رتبه‌ی اول قرار دارد. این نتایج با نتایجی که محققین دیگر نیز ارائه داده‌اند قابل مقایسه است.

در مطالعه‌ای که توسط گربن (Green) و همکاران (۴) انجام شده بنزن، تولوئن، اتیل بنزن و گزیلن در حالت مخلوط و جدآگانه در معرض تجزیه‌ی بیولوژیکی قرار گرفتند. نتایج مطالعه نشان داد که در حالت مجزا تولوئن سریع‌تر از اتیل بنزن تجزیه می‌شود ولی در حالت مخلوط اتیل بنزن سرعت تجزیه‌ی بیشتری دارد. در تحقیق ما نیز مشخص شد که وقتی سه هیدروکربن اتیل بنزن، تولوئن و نفتالین در محیط موجود باشند تولوئن در حالت مجزا سریع‌تر از اتیل بنزن تجزیه می‌شود ولی در حالت مخلوط بر عکس نفتالین که یک آروماتیک چند حلقه‌ای است، خیلی سریع‌تر از ترکیبات دیگر

غیربیولوژیکی (ظروف شاهد) در حالت جدآگانه هیدروکربن‌های خالص تولوئن، اتیل بنزن و نفتالین به ترتیب $15/37$ ، $30/23$ و در کشت مخلوط درصد حذف این سه هیدروکربن به ترتیب $24/23$ و $13/6$ درصد می‌باشد. نمودار (۲) تغییرات تعداد کلنجی تشکیل شده در هر گرم خاک را در طول دوره‌ی کشت در ارلن‌های مختلف نمونه به تفکیک نوع منبع کربن نشان می‌دهد. همان گونه که مشاهده می‌شود با افزایش زمان، تعداد کلنجی‌های تشکیل شده از باکتری‌های کشت پذیر تجزیه کننده‌ی هیدروکربن، روند رو به کاهش داشته است.



نتیجه‌گیری

مهم‌ترین نتیجه حاصل از این تحقیق آن است که با جداسازی جمیعت‌های باکتریایی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی و تهیه‌ی یک مایع تلقیح می‌توان هیدروکربن‌های آروماتیک را به روش بیولوژیکی حذف نمود. از آنجا که تبخیر یک روش مناسب در حذف هیدروکربن‌ها است، اصلاح خاک به روش هواهدی تؤمن با روش تلقیح میکروبی از روش‌های مناسب جهت حذف هیدروکربن‌های آروماتیک از محیط خاک می‌باشد. درصد حذف ترکیبات آلی آروماتیک وقتی که به صورت مخلوط در خاک وجود داشته باشد در حدود ۶۵ درصد در مقایسه با تلقیح میکروبی است و سرعت تجزیه‌ی بیولوژیکی و میزان حذف هیدروکربن‌ها وقتی به صورت مخلوط در محیط وجود داشته باشند، نسبت به زمانی که به صورت انفرادی در محیط باشند تفاوت داشته و درصد حذف بالاتری دارند.

تشکر و قدردانی

به این وسیله از اعضای محترم هیات علمی گروه شیمی دانشگاه علوم پایه زنجان قدردانی می‌گردد.

تجزیه می‌شود. به طور کلی در حالتی که هیدروکربن‌ها مخلوط شده و به عنوان منبع کربن به محیط اضافه شده‌اند، درصد حذف بیولوژیکی اجرا بالاتر بوده است. البته به طور قطع نمی‌توان در مورد علت این پدیده اظهار نظر نمود، چون هر کدام از ترکیبات طی مسیر بیوشیمیایی خاص خود مورد تجزیه واقع می‌شوند. مسیرهای متابولیکی alk (برای تجزیه‌ی آلکان‌ها)، مسیر nah (برای تجزیه‌ی نفتالین) و مسیر xyl (برای تجزیه‌ی تولوئن) کاملاً شناخته شده هستند (۱۶). از طرفی در یک مخلوط میکروبی، گونه‌های مختلف از باکتری‌ها وجود دارند که هر کدام از مسیرهای متابولیکی خاص خود، ترکیبات را تجزیه می‌کنند. وجود گونه‌های خاص تجزیه کننده‌ی یک هیدروکربن خاص (در این تحقیق نفتالین) می‌تواند درصد بالایی از این ترکیب را در محیط تجزیه نماید. ولی در مورد علت تفاوت در میزان تجزیه‌ی بیولوژیکی ترکیبات، زمانی می‌توان اظهار نظر نمود که عمل تجزیه با محیط‌های باکتریایی خالص انجام شود و یا ترکیب جمیعت میکروبی کاملاً مشخص باشد. در این تحقیق مقادیر قابل توجهی از ترکیبات آلی به روش‌های غیر بیولوژیکی حذف شده‌اند که تبخیر مهم‌ترین آن‌ها است. نفتالین با توجه به نقطه‌ی جوش بالا نسبت به دو هیدروکربن دیگر کمتر به روش غیر بیولوژیکی حذف شده است.

منابع

- 1- Dipple A, Change SG, Bigger CAH. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Carcinogens*. New York: Wiley Liss Co; 1990, 109-27.
- 2- Balderian P, Wiche C, Gabriel J. Influence of cadmium and mercury and degradation of PAHs by *PLurutus ostereatus* in soil. *Appl Environ Microbiol*. 2000; 66: 2471-8.
- 3- Sims RC, Overcash MR. Fate of polycyclic aromatic compounds in soil-plant systems. *Residue Rev*. 1993; 88:1-68.
- 4- Greene EA, Kay JG, Jaber K, Lesy Stettmeier L. Composition of microbial community enriched on a mixture of aromatic hydrocarbons. *Appl Environ Microbiol*. 2000; 66: 5282-9.
- 5- Yerushalmi L, Guito EA. Kinetics of degradation of gasoline and its hydrocarbons constituents. *Appl Microbiol Biotechnol*. 1998; 49: 475-81.

- 6- Deeb RA, Alvares-cohen L. Temperature effects and substrate interactions during aerobic biotransformation of BTEX mixtures. *Biotechnol Bioengine*. 1999; 62: 526-36.
- 7- Atlas RM. *Bioremediation of Fossil Fuel Contaminated Soil*. Boston: Butterworth-heinemann; 1991, 14-32.
- 8- Brodkorb TS, Legge RL. Enhanced biodegradation of pheneteren in soil. *Appl Environ Microbiol*. 1992; 58: 3117-21.
- 9- Dott WD, Campfer FP, Schlebinger H, Strechle S. Comparison of autochthonous bacteria and respect to their effectiveness in fuel oil degradation. *J Ind Microbiol*. 1989, 4: 365-74.
- 10- Grosser RJ, Warshawsky JR. Indigenous and enhanced mineralization of pyren,benzo(a)pyrene and carbazole in soil. *Appl Environ Microbiol*. 1991; 57: 3462-9.
- 11- Margesine R, Schinner F. The impact of hydrocarbon remediation on enzyme activities and microbial properties of soil. *Acta Biotechnol*. 2000; 20: 313-33.
- 12- Alef K. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. London: Academic press; 1995, 1-220.
- 13- Jeffery A, Saitas PE. *Method NO. 1005: Total Petroleum Hydrocarbons, Revision 03* Texas: Texas Natural Resource Conservation Committee, 2001, 1-30.
- 15- سر افزار علی اکبر. آمار پژوهشی پایه و بالینی. مشهد: انتشارات دانشگاه علوم پزشکی، ۱۳۷۶، صفحات ۲۴۵ تا ۳۰۶.
- 16- Whyte LG, Bourbonniere L, Greer CW. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by Psychrotrophic Pseudomonas Strains possesing both alkane and naphthalen catabolic pathways. *Appl Environ Microbiol*. 1997; 63: 3719-37.