

تأثیر بهسازهای نیتروژنی غیرآلی بر حذف زیستی آلاینده‌های هیدرو کربنی از خاک آلوده گازوئیلی

رضا تقدیسی^۱، سهیلا ابراهیمی^{۲*}، رضا قربانی نصرآبادی^۲، فرهاد خرمالی^۳

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۳- استاد گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

ایمیل نویسنده مسئول: sohebrahimi@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۲۰

چکیده

استفاده از بهسازهای مواد مغذی یکی از رویکردهای کاهش آلاینده‌های نفتی در خاک محسوب می‌گردد که با فراهم‌سازی نوترینت‌های اصلی برای میکروارگانیسم‌ها، امکان تسریع تجزیه زیستی این ترکیبات را میسر می‌سازد. در مطالعه حاضر به ارزیابی تأثیر بهسازهای نیتروژنی غیرآلی بر حذف زیستی آلاینده‌های هیدروکربنی ناشی از آلودگی گازوئیلی در خاک پرداخته شد. بدین منظور تأثیر اضافه کردن سه منبع نیتروژنی غیرآلی شامل کودهای NPK، اوره و NH_4SO_4 به خاک آلوده گازوئیلی در سطوح غلظت اولیه ۰، ۵ و ۱۰٪ در طول یک دوره سه ماهه مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر کل محتوای هیدروکربن‌های نفتی (TPH)، درصد تجزیه (%D) و مقادیر تنفس میکروبی ($\text{CO}_2\text{-C}$) به صورت هفتگی اندازه‌گیری شد. همچنین جهت محاسبه ثابت تجزیه زیستی (K)، نیمه عمر ($t_{1/2}$) و ضریب همبستگی (R^2) برای داده‌های مربوط به غلظت TPH از مدل‌های سینتیک درجه اول و دوم استفاده گردید. استفاده از کودهای غیرآلی نیتروژنی منجر به کاهش معنی‌دار ($p < 0.05$) سطوح TPH در مقایسه با وضعیت شاهد در خاک-های آلوده گردید. در میان بهسازهای نیتروژنی، بالاترین درصد تجزیه زیستی متعلق به اوره و پس از آن NPK و NH_4SO_4 بود. سطوح تنفس میکروبی نیز در شرایط استفاده از بهسازهای نیتروژنی و به طور مشخص کود اوره، افزایش قابل توجهی را در طول ۶ هفته آغازین دوره آزمایشی نشان داد. مدل سینتیک درجه اول از برازش و دقت بیشتری در مقایسه با مدل درجه دوم برخوردار بود. در تمامی تیمارهای آزمایشی بیشترین مقادیر K و کمترین میزان نیمه عمر ($t_{1/2}$) برای کود اوره و در غلظت اولیه آلودگی گازوئیلی ۰٪ به دست آمد و کمترین میزان K و بیشترین نیمه‌عمر متعلق به وضعیت شاهد و غلظت اولیه ۱۰٪ از آلاینده گازوئیلی بود. یافته‌های این مطالعه نشان داد که استفاده از بهسازهای غیرآلی نیتروژنی می‌تواند تا حد زیادی به شکلی کاربردی به کاهش سطوح آلودگی گازوئیلی و ماندگاری کمتر آنها در محیط خاک منتج گردد.

کلمات کلیدی

"تجزیه زیستی"، "تنفس میکروبی"، "گازوئیل"، "مدلسازی سینتیک"، "نیتروژن غیرآلی"

۱- مقدمه

طول بیانجامد (Gallego et al., ۲۰۰۱). گازوئیل نسبت به بنزین از چگالی بیشتری برخوردار بوده و فراریت، حلالیت و قابلیت انتقال آن نیز به مراتب کمتر است (Ebrahimi, ۲۰۰۹; Fazlali et al., ۲۰۱۵). این مخلوط هیدروکربنی یکی از پرمصرف‌ترین و کاربردی-ترین فرآورده‌های نفتی در ایران و سایر نقاط جهان به حساب می‌آید و موارد آلودگی محیطی بسیاری را نیز سبب شده است (Fallah et al., ۲۰۱۵). از این جهت، مدیریت مناسب و کاهش بار آلودگی این ماده در محیط زیست و به طور خاص در خاک، در سال‌های گذشته توجه زیادی را به خود جلب کرده است. روش‌های متعددی جهت کاهش بار آلودگی محصولات نفتی در محیط‌زیست توسعه پیدا کرده است. زیست‌پالایی^۱ (یا اصلاح زیستی) یکی از مهمترین روش‌های حذف آلاینده‌های هیدروکربنی از خاک است که در آن عمدتاً از نقش میکروارگانیسم‌ها در مصرف مواد هیدروکربنی به عنوان منبع انرژی (Pedro et al., ۲۰۰۶) و تجزیه این ترکیبات و نهایتاً سمیت‌زدایی و تبدیل آنها به ترکیباتی با سطح خطر کمتر، استفاده می‌شود (Atlas and Bartha, ۲۰۰۱; Collin, ۲۰۰۱; Espinoza and

نفت و محصولات مشتق شده از آن مهمترین منابع تأمین انرژی برای صنعت و زندگی روزمره انسان محسوب می‌شوند (Abbasian et al., ۲۰۱۶). ورود تصادفی این محصولات در طول فرآیندهای استخراج، ذخیره‌سازی، پالایش و انتقال آنها به محیط‌زیست با تغییراتی در ویژگی‌هایی خاک و آب همراه است (Hussain and Gondal, ۲۰۰۸; Ebrahimi et al., ۲۰۱۱; Chien, ۲۰۱۲) که در بلندمدت به تضعیف فرآیند تجزیه طبیعی این ترکیبات و تجمع شکل‌های پایدار آنها در محیط می‌انجامد و می‌تواند عوارض نامطلوبی را در محیط فیزیکی و موجودات ساکن در آن به دنبال داشته باشد (Zhou et al., ۲۰۱۱; Huang et al., ۲۰۱۶). به همین دلیل، آزادشدن، نشست و پخش و ترابری هیدروکربن‌های نفتی در محیط زیست به یکی از بحران‌های آلودگی در سراسر جهان تبدیل شده است. گازوئیل یا نفت دیزل، یکی از فرآورده‌های مهم نفتی است که موجب آلودگی آب و خاک می‌گردد. گازوئیل به عنوان یک برش نفتی نسبتاً سنگین، مخلوطی از هیدروکربن‌های مختلف از نوع پارافین‌ها، ترکیبات آروماتیک، سیکلوآروماتیک و ترکیبات چندحلقه‌ای است که ممکن است تجزیه آن به طور طبیعی در خاک چندین سال به

^۱ Bioremediation

نوتریتی نیتروزنی به عنوان یکی از عوامل اثرگذار بر فرآیند اصلاح زیستی پیشنهاد شده است (Toffoletto et al., ۲۰۰۵). طولانی-بودن فرآیند اصلاح زیستی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی سبب شده است تا از رویکردهای مدلسازی جهت شبیه‌سازی این فرآیند و برآورد زمان لازم جهت اصلاح آلودگی خاک و رسیدن به شرایط مناسب از نظر آلودگی استفاده گردد. در این راستا، تجزیه و تحلیل سینتیک زیست-پالایی بخش مهمی از مطالعات انجام شده در این زمینه را به خود اختصاص داده است (Nabgan et al., ۲۰۱۶; Sharma and Shane, ۲۰۱۶; Yuan et al., ۲۰۱۷; Guo et al., ۲۰۱۸; Doustaky et al., ۲۰۲۲) که بر ارائه الگوهای کاربردی مربوط به حذف هیدروکربن‌ها از محیط‌های آلوده متمرکز بوده‌اند. مدلسازی سینتیک به طور معمول با استفاده از مدل‌های درجه اول و دوم جهت ارزیابی نرخ‌های تجزیه زیستی مبتنی بر حذف هیدروکربن‌های نفتی در طول زمان در سیستم-های مورد بررسی صورت می‌گیرد (Yeung et al., ۱۹۹۷; Namkoong et al., ۲۰۰۲; Sarkar et al., ۲۰۰۵; Adesodun and Mbagwu, ۲۰۰۸; Chemlal et al., ۲۰۱۶; Nwankwegu et al., ۲۰۱۳) و برآوردهایی از ثابت تجزیه زیستی (K)، ضرایب همبستگی (R^2) و نیمه‌عمر تجزیه ($t_{1/2}$) بر اساس یک رویکرد محاسباتی به دست می‌آیند (Yuan et al., ۲۰۱۸; Safdari et al., ۲۰۱۷) که در پیش‌بینی سطوح باقیمانده مواد آلاینده و زمان موردنیاز جهت اصلاح سیستم‌های آلوده‌شده بسیار ارزشمند و کاربردی می‌باشند. هدف از انجام مطالعه حاضر پایش تأثیر استفاده از منابع نیتروزنی غیرآلی در اصلاح زیستی خاک آلوده به گازوئیل بوده است. بدین منظور از کودهای غیرآلی نیتروزنی شامل NPK، کود اوره و آمونیوم سولفات (NH_4SO_4) به عنوان بهسازهای نیتروزنی غیرآلی استفاده شد. همچنین، تأثیر سطوح مختلف غلظت اولیه آلاینده گازوئیلی (۰، ۵ و ۱۰٪) نیز بر روند تجزیه زیستی این آلاینده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. مدلسازی سینتیک نیز به عنوان بخشی از ارزیابی زیست‌پالایی ناشی از تأثیر بهسازهای نیتروزنی غیرآلی انجام گرفت.

۲- روش انجام تحقیق

• خاک

نمونه خاک مورد بررسی در این مطالعه از نوع لسی از اراضی شهرستان گرگان در استان گلستان از عمق صفر تا ۲۰ cm برداشت گردید. نمونه خاک به دست آمده در ادامه در معرض هوا خشک شده و از الک با مش ۲ mm عبور داده شد. مهمترین مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک با استفاده از روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد، از جمله بافت خاک (به روش هیدرومتری)، اسیدیته خاک در گل اشباع توسط دستگاه pH متر، هدایت الکتریکی در عصاره اشباع خاک با استفاده از

(Dendooven, ۲۰۰۳; Doustaky et al., ۲۰۱۳). فناوری اصلاح زیستی، یک روش غیرتهاجمی و از نظر اقتصادی مقرون‌به-صرفه تلقی می‌گردد (April et al., ۲۰۰۰; Ulrici, ۲۰۰۰). باکتری‌ها شناخته‌شده‌ترین عوامل زیستی در تجزیه مواد نفتی هستند و به عنوان اولین تجزیه‌کنندگان تراوشات نفتی در محیط زیست قلمداد می‌شوند (Rahman et al., ۲۰۰۳; Brooijmans et al., ۲۰۰۹). با این حال، عملکرد مطلوب آنها در کاهش بار آلودگی نفتی خاک مستلزم آن است که مواد مغذی نظیر نیترژن و فسفر و دیگر ریزمغذی‌ها در محیط آلوده وجود داشته باشند (Seklemova et al., ۲۰۰۱). عدم توازن بین اجزای نوتریتی خاک و ورودی‌های پیوسته مواد آلی ناشی از منبع آلوده‌کننده نفتی می‌تواند فعالیت باکتریایی در فرآیند تجزیه هیدروکربن‌ها را با مشکل مواجه سازد (Wang et al., ۲۰۱۰). از این جهت، در فرآیندی با عنوان تحریک زیستی^۱ با اضافه نمودن منابع نوتریتی موردنیاز (به ویژه نیترژن و فسفر) به خاک، رشد و ازدیاد باکتری‌های موجود تسهیل می‌گردد تا مصرف ماده آلی ناشی از آلودگی نیز افزایش یابد (Pankrantz, ۲۰۰۱) و در نهایت کاهش سطح آلودگی اتفاق بیفتد (Karamalidis et al., ۲۰۱۳; Dadrassnia and Agamuthu, ۲۰۱۰). مطالعات متعدد انجام شده نقش کلیدی افزایش مکمل‌های نوتریتی را در تحریک اصلاح زیستی از طریق افزایش بیومس میکروبی مورد توجه قرار داده‌اند (Sanchez et al., ۲۰۰۰; Duncan et al., ۲۰۰۳; Maki et al., ۲۰۰۳). ورود آلاینده‌های هیدروکربنی نفتی به محیط خاک، به سبب برهم‌زدن تعادل نسبت‌های نوتریتی و به طور خاص C/N، موجب نامناسب‌شدن شرایط برای رشد میکروارگانیسم‌ها می‌گردد و از این طریق فرآیند زیست‌پالایی نیز به شکل نامطلوبی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Molina-Barahona et al., ۲۰۰۴; Sarkar et al., ۲۰۰۵; Khosravinodeh et al., ۲۰۱۳). در چنین شرایطی، با تأمین مواد مغذی از طریق کوددهی و بهینه‌سازی شرایط رشد این موجودات، امکان تعدیل این نسبت‌های نامتعادل وجود خواهد داشت (Lee and Ward, ۲۰۰۵). نیترژن کل، دومین عامل مهم اثرگذار بر توزیع و فعالیت باکتریایی در خاک است که تا حد زیادی بر نرخ‌های تجزیه آلاینده‌های هیدروکربنی اثرگذار می‌باشد (Wang et al., ۲۰۱۸) و شرایط محدودیت این عنصر عموماً در نتیجه بروز آبخوبی، فرآیندهای فرسایشی و دنیتریفیکاسیون در محیط‌های خاکی اتفاق می‌افتد (Brook et al., ۲۰۰۱). مطالعات متعددی به بررسی سهم اثر N بر اصلاح زیستی خاک‌های آلوده پرداخته‌اند (Brook et al., ۲۰۰۱; Gallego et al., ۲۰۰۱; Walecka-Hutchison and Walworth, ۲۰۰۶) و اضافه کردن منابع

^۱ Biostimulaton

دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی، درصد کربن آلی به روش والکلی و بلک اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد بررسی.

پارامتر	واحد	مقدار
هدایت الکتریکی (EC)	dS/m^{-1}	۲۲/۲
اسیدیته (pH)	-	۷/۱۲
کربن آلی (OC)	%	۰/۱۸۶
شن (sand)	%	۲۱/۹۸
سیلت (silt)	%	۵۳/۲۴
رس (Clay)	%	۲۴/۷۸
کربنات کلسیم (CaCO_3)	%	۱۷/۳۲
کلاس بافتی (Tex)	-	Silty loam

• آلودگی گازوئیلی

جهت اعمال آلودگی گازوئیلی در خاک‌های مورد بررسی، سه سطح آلودگی صفر، ۵ و ۱۰٪ به عنوان سطوح آلودگی گازوئیلی اولیه، با توجه به معیار ارائه شده در ارتباط با سطح ۳٪ آلودگی گازوئیلی به عنوان حداقل آلودگی زیان‌آور محیط‌زیستی (Meegoda and Ratnaweera, ۱۹۹۵) در نظر گرفته شد. با محاسبه وزن آلاینده گازوئیلی، این ماده روی توده خاک برداشت شده در یک ظرف مخصوص افشاندن شد و همزمان عمل اختلاط آنها نیز صورت گرفت. مخلوط به دست آمده جهت انجام واکنش‌های شیمیایی بین خاک و آلاینده به مدت یک ماه نگهداری گردید (Nwankwegu et al., ۲۰۱۸). در طول این دوره، رطوبت خاک در سطح ۶۰٪FC ثابت حفظ شد. در پایان این دوره و پیش از اعمال تیمارهای بهسازهای نیتروژنی غیرآلی، مجموع هیدروکربن‌های نفتی (TPH) و تنفس میکروبی خاک آلوده اندازه‌گیری گردید. در مرحله بعد، نمونه‌های خاک تفکیک‌شده جهت اعمال تیمارهای بهسازهای نیتروژنی به ظروف مشخص انتقال یافتند. در مجموع سه تیمار بهساز نیتروژن غیرآلی شامل کود NPK، اوره (Urea) و آمونیوم‌سولفات (NH_4SO_4) مورد استفاده قرار گرفتند که اثربخشی کلی آنها در تحریک و تشدید فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک در زیست‌پالایی آلودگی‌های نفتی در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. پس از انتقال خاک‌های آلوده به ظروف تیماردهی (مقدار ۳ کیلوگرم خاک در هر ظرف)، مقدار ۸۰ گرم از هر یک بهسازها به طور مجزا در تیمارها مورد استفاده قرار گرفت. دو دور هوادهی به صورت هفتگی در تیمارهای آزمایشی اعمال شد و اندازه‌گیری‌های غلظت TPH و تنفس میکروبی به صورت هفتگی برای مدت ۳ ماه انجام گرفت.

• تعیین مقدار هیدروکربن‌های نفتی

مقدار کل هیدروکربن‌های نفتی (TPH) به صورت هفتگی در طول دوره آزمایشی اندازه‌گیری شد. بدین منظور در ابتدا نمونه خاک از عمق ۱۰ سانتی‌متری ظرف‌های تیمار برداشت گردید. اندازه‌گیری TPH با استفاده از روش استاندارد آژانس حفاظت محیط‌زیست ایالات متحده (EPA ۴۱۱۳، ۱) انجام شد (Hutchinson et al., ۲۰۰۱). در این روش، دو گرم خاک با ۱۰ ml دی‌کلرومتان مخلوط شده و سپس برای مدت ۳ دقیقه جهت جداسازی محتوای نفتی باقیمانده در خاک توسط حلال، اختلاط این نمونه انجام می‌شود. در ادامه، مخلوط به دست آمده برای مدت ۱۰ دقیقه در تعداد دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ می‌شود. مایع به دست آمده برای مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شده و در نهایت وزن مواد باقیمانده در محفظه به عنوان مقدار TPH بر حسب mg/kg اندازه‌گیری می‌شود. در پایان، جهت مقایسه مقادیر باقیمانده با سطوح اولیه، درصد تجزیه (%D) با استفاده از فرمول (۱) محاسبه گردید:

$$\%D = \frac{TPH_i - TPH_f}{TPH_i} \times 100 \quad (1)$$

که در آن TPH_i و TPH_f مقادیر اولیه و باقیمانده TPH در نمونه‌های خاک هستند.

تنفس میکروبی

جهت اندازه‌گیری تنفس میکروبی از روش Anderson (۱۹۸۲) استفاده شد و مقادیر تنفس میکروبی به صورت هفتگی اندازه‌گیری گردید. در این روش، ۱۰ ml از ۰/۵ N NaOH روی سطح نمونه خاک برداشت شده در یک محفظه پلاستیکی با حجم ۲۰ ml ریخته شده تا CO_2 متصاعد شده در نتیجه فرآیند تنفس میکروبی در آن تجمع یابد. محفظه‌های حاوی خاک در دمای 25°C در انکوباتور نگهداری شده و پس از گذشت یک هفته، NaOH موجود برداشت شده تا با استفاده از ۰/۱ N HCL تیتراسیون گردد. همزمان، از ۳ محفظه حاوی NaOH به عنوان وضعیت شاهد (بدون خاک) جهت کم کردن CO_2 جذب شده در آنها استفاده شد. در پایان میزان کربن متصاعد شده از تنفس میکروبی ($\text{CO}_2\text{-C}$) با استفاده از رابطه (۲) محاسبه گردید:

$$\text{CO}_2\text{-C} = ((B - S) \times N \times E \times 1000) / W \quad (2)$$

که در آن $\text{CO}_2\text{-C}$ ، میزان کربن متصاعد شده ناشی از تنفس میکروبی بر حسب mg C/kg soil ، B، حجم اسید مورد استفاده در نمونه شاهد (بدون خاک) بر حسب ml، S، حجم اسید مصرفی برای نمونه خاک بر حسب ml، N، نرمالیت اسید، E، وزن اکی والان، W، وزن خشک نمونه خاک و ۱۰۰۰، ضریب تبدیل گرم به کیلوگرم خاک است.

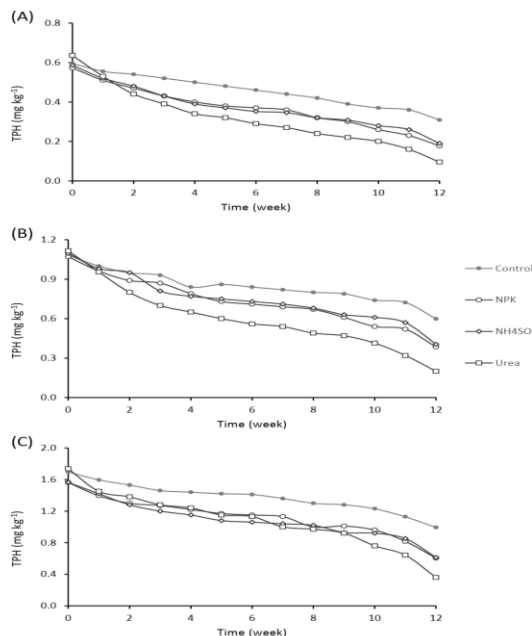
• ارزیابی سینتیکی

مجموعه تجزیه و تحلیل‌های آماری در نرم‌افزار R (version ۴.۱.۲) انجام شد و رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

۳- نتایج و بحث

تجزیه زیستی کل هیدروکربن‌های نفتی (TPH)

نتایج مربوط به تجزیه زیستی کل هیدروکربن‌های نفتی و روند تغییرات آن در تیمارهای مختلف بهسازی نیتروژن غیرآلی و غلظت‌های اولیه آلاینده گازوئیلی در شکل ۱ نشان داده شده است. تفاوت‌های معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی در ارتباط با حذف TPH مشاهده شد. در تمامی سطوح غلظت اولیه آلودگی گازوئیلی (۰، ۵ و ۱۰٪) الگوی مشابهی از تأثیر بهسازی نیتروژنی بر روند و سطوح حذف TPH مشاهده گردید. در تمامی سطوح غلظتی، کمترین حذف TPH در کل دوره سه ماهه، مربوط به تیمار شاهد (بدون بهسازی نیتروژنی) بود و بیشترین سطوح حذف TPH نیز در تیمار بهسازی کود اوره به دست آمد. مقادیر اندازه‌گیری شده TPH در تیمارهای NPK و NH_4SO_4 نیز در تمامی سطوح غلظت اولیه، سطوح و روندهای تقریباً یکسان و مشابهی را نشان داد. روند تغییرات کاهش TPH در تیمار غلظت ۰٪ آلودگی اولیه (شکل ۱-A)، تقریباً روندهایی با شیب نسبتاً ثابت را در تمام طول دوره مطالعاتی نشان داد، در حالی که برای سطوح غلظت اولیه ۵ و ۱۰٪ (شکل ۱-B و C)، میزان حذف TPH در بازه‌های زمانی ۰ تا هفته سوم و هفته هفتم تا دوازدهم، نرخ کاهش TPH بیشتر بوده و این وضعیت برای تیمار بهسازی کود اوره در مقایسه با دیگر منابع نیتروژنی از شدت بیشتری برخوردار بود.



شکل ۱. تغییرات غلظت کل هیدروکربن نفتی (TPH) در طول دوره آزمایشی ۳ ماهه در خاک‌های آلوده‌شده با گازوئیل در سطوح غلظت اولیه (۰٪: A؛ ۵٪: B؛ ۱۰٪: C) تحت تأثیر بهسازی نیتروژنی غیرآلی (Urea، NPK) و NH_4SO_4 و شرایط شاهد (Control).

اصلاح زیستی نفت خام معمولاً به وسیله مدل‌های سینتیک درجه اول و دوم توضیح داده می‌شود. معادله سینتیک درجه اول به صورت رابطه (۳) بیان می‌گردد (Agarry et al., ۲۰۱۳):

$$C_t = C_0 e^{-Kt} \quad (3)$$

که در آن C_0 میزان TPH خاک آلوده شاهد بدون عامل بهسازی بر حسب mg/kg و C_t میزان TPH باقیمانده در خاک آلوده همراه با بهسازی بر حسب mg/kg ، t زمان بر حسب تعداد روز و K ثابت تجزیه زیستی بر حسب day^{-1} است.

نیمه‌عمر زیستی ($t_{1/2}$)، زمان مصرف یک ماده برای از دست دادن نصف مقدار آن، در مدل سینتیک درجه اول با استفاده از رابطه (۴) محاسبه گردید:

$$t_{(1/2)} = \frac{0.6931}{K} \quad (4)$$

معادله سینتیک درجه دوم به صورت روابط (۵) و (۶) تعریف می‌گردد:

$$\frac{dC}{dt} = K C_t^2 \quad (5)$$

$$\frac{1}{C_t} = Kt + \frac{1}{C_0} \quad (6)$$

که در آن C_0 ، میزان TPH خاک آلوده شاهد بدون بهسازی بر حسب mg/kg و C_t میزان TPH باقیمانده در خاک آلوده همراه با بهسازی بر حسب mg/kg ، t زمان بر حسب روز و K ثابت تجزیه زیستی بر حسب day^{-1} است.

در این مدل نیمه-عمر زیستی با استفاده از رابطه (۷) محاسبه می‌گردد:

$$t_{(1/2)} = \frac{1}{K C_0} \quad (7)$$

• تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی تأثیر اثرات تیمارهای بهسازی نیتروژنی غیرآلی و تأثیر غلظت آلودگی گازوئیلی اولیه بر تغییرات TPH و تنفس میکروبی، از تجزیه واریانس دوطرفه (two-way ANOVA) استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk بررسی شد و در صورت نیاز به منظور نرمال‌سازی داده‌ها از تغییرشکل داده استفاده گردید. جهت مقایسه میانگین‌ها بین تیمارهای آزمایشی، از آزمون Tukey-HSD در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ استفاده شد.

دارای اهمیت است نسبت C/N حاصل در محیط خاک می‌باشد که تحت تیمارهای کودی مختلف متغیر خواهد بود (Riser-Roberts, ۲۰۱۱; Ebrahimi et al., ۱۹۹۸). بر این اساس، همواره استفاده از کودهای حاوی آمونیوم منجر به افزایش بیشتر فرآیند تجزیه زیستی نخواهد شد و در برخی مطالعات، اثرات منفی استفاده از منابع آمونیومی بر تجزیه هیدروکربن‌های نفتی مورد اشاره قرار گرفته است (Carmichael and Pfander, ۱۹۹۷; Oudot et al., ۲۰۰۵; Chaineau et al., ۱۹۹۸). این در حالی است که تأثیرات استفاده از اوره و کودهای نیتراته بر دینامیک کربن خاک بر اساس مطالعات مختلف متغیر بوده و در شرایط مختلف می‌تواند سطوح متفاوتی از تجزیه زیستی آلاینده‌های نفتی را به همراه داشته باشد (Fogg, ۱۹۸۸; van Vuuren and van der Eerden, ۱۹۹۲; Matus, ۱۹۹۴; Hassink, ۱۹۹۵; Ebrahimi et al., ۲۰۲۲). نرخ‌های تجزیه زیستی در تیمارهای بهساز نیتروژنی یکسان، با افزایش غلظت اولیه آلودگی گازیولی در خاک کاهش یافته بود. چنین شرایطی ممکن است ناشی از عدم تناسب سطوح کودی مورد استفاده در برابر تفاوت بین سطوح اولیه آلودگی گازیولی بوده باشد به شکلی که نسبت‌های C/N شکل گرفته در خاک با افزایش مقدار بیشتر کربن، به میزان کافی تسهیل عملکرد زیستی را در کاهش مقدار TPH موجود نداشته و از این جهت، عملکرد تجزیه‌ای باکتری‌های خاک در سطوح کمتر آلاینده ورودی، با توجه به منبع نیتروژنی در دسترس، بالاتر بوده است. الگوهای به دست آمده از روندهای تغییر غلظت TPH در طول زمان نشان داد در شرایطی که سطوح بالاتری از آلاینده‌های هیدروکربنی در خاک وجود داشته باشد، استفاده از بهسازهای نیتروژنی غیرآلی می‌تواند بازده حذف زیستی این ترکیبات را به طور مشخص در هفته‌های آغازین پس از افزودن این منابع به خاک آلوده، به شکل قابل توجهی ارتقا دهد. مقدار تسهیل تجزیه زیستی TPH در استفاده از کود اوره به مراتب بیشتر از NPK و NH₄SO₄ بوده است. مقایسه این روندهای افزایشی آغازین در استفاده از منابع نیتروژنی با وضعیت شاهد به شکل واضح‌تری تأثیر مشهود اعمال کوددهی نیتروژنی را نمایان می‌سازد؛ زیرا در تیمار شاهد روندهای تدریجی کاهش سطوح TPH مشاهده گردید. در بیشتر مطالعات انجام شده، دو فاز مشخص در روند تجزیه زیستی آلاینده‌های نفتی خاک مورد اشاره قرار گرفته است که فاز اول آن شامل افزایش سریع آغازین تجزیه آلاینده‌ها در مدت چندین هفته و در ادامه، در فاز دوم، رسیدن به یک سطح پایدار نسبت بدون نوسان در ادامه دوره آزمایش بوده است (Nocentini et al., ۲۰۰۰; Margesin and Schinner, ۲۰۰۱; Sang-Hwan et al., ۲۰۰۸). بروز چنین روندی از تغییرات نرخ تجزیه زیستی، به تغییر در پروفیل انواع مختلف ترکیبات موجود در هیدروکربن‌های نفتی نسبت داده شده است به طوری که در زمان‌های اولیه دوره اصلاح زیستی، هیدروکربن‌های با قابلیت تجزیه سریع بیشتر

مقایسات میانگین نسبت تجزیه (%D) مجموع هیدروکربن‌های نفتی در کل دوره آزمایشی نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار استفاده از بهسازهای نیتروژنی غیرآلی بود (جدول ۲). استفاده از کود اوره منتج به بالاترین سطوح تجزیه زیستی بین ۷۹/۳۱٪ در تیمار غلظت ۱۰٪ آلودگی اولیه تا ۸۵/۰۰٪ در تیمار غلظتی ۰٪ گردید. در مقابل در تیمارهای شاهد (فاقد بهساز نیتروژنی) کمترین مقادیر نسبت تجزیه (%D) به دست آمد (۴۱/۳۵٪ در سطح غلظت ۱۰٪ تا ۴۸/۰۸٪ در سطح غلظت اولیه ۰٪). جدول ۱. مقادیر محاسبه‌شده نسبت تجزیه (%D) کل هیدروکربن‌های نفتی در خاک‌های آلوده‌شده با گازوئیل در سطوح آغازین ۰٪، ۵٪ و ۱۰٪ تحت تأثیر بهسازهای نیتروژنی غیرآلی (NPK، Urea، NH₄SO₄) و شرایط شاهد (Control).

%TPH	تیمار بهساز			
	NPK	Urea	NH ₄ SO ₄	Control
۰	۶۹/۰۰ b	۸۵/۰۰ a	۶۷/۵۱ b	۴۸/۰۸ c
۵٪	۶۴/۱۱ b	۸۲/۰۹ a	۶۲/۰۲ b	۴۴/۷۰ c
۱۰٪	۶۱/۳۶ b	۷۹/۳۱ a	۶۰/۸۴ b	۴۱/۳۵ c

حروف یکسان نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارهای بهساز نیتروژنی در هر سطر می‌باشد.

در مطالعه حاضر، تأثیر اضافه‌کردن بهسازهای نیتروژنی غیرآلی بر روند تجزیه هیدروکربن‌های نفتی (TPH) ناشی از آلودگی گازیولی در سطوح مختلف غلظتی، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که استفاده از کود اوره در مقایسه با سایر منابع نیتروژنی (NPK و NH₄SO₄) و همچنین عدم استفاده از بهساز در خاک آلوده منجر به سطوح تجزیه زیستی بالاتر TPH شده است. این وضعیت به طور مشخص در مقایسه مقادیر نسبت تجزیه (%D) بین تیمارهای آزمایشی مشهود بود. مصرف کودهای نیتروژنی در شکل‌ها و غلظت‌های مناسب در خاک‌های آلوده به مواد نفتی می‌تواند سبب کاهش اثرات نامطلوب این آلاینده‌ها بر فعالیت ریزجانداران خاک شود. هر چند به طور کلی نیتروژن در اشکال نیترات و آمونیوم در غلظت‌های مناسب سبب افزایش فعالیت میکروبی می‌شوند، اما بر اساس مطالعات صورت گرفته، آمونیوم و سایر شکل‌های احیایی نیتروژن نسبت به نیترات بیشتر مورد ترجیح میکروارگانیسم‌های خاک هستند (Paul and Clark, ۱۹۹۹; Jackson and Pardue, ۱۹۹۶). گزارش شده است که در شرایط استفاده از غلظت‌های یکسان آمونیوم و نیترات، تسهیل فرآیند تجزیه زیستی TPH تحت تأثیر آمونیوم بیشتر از نیترات خواهد بود (Jin and Fallgren, ۲۰۰۷) و زمان‌های ماندگاری ترکیبات هیدروکربنی نیز تحت تأثیر استفاده از آمونیوم، کوتاه‌تر خواهد بود (Shewfelt et al., ۲۰۰۵). این نتایج گزارش شده همسو با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر نیست. به طور مشخص، دسترسی زیستی به نوترینت‌ها تنها عامل هدایت‌کننده تجزیه TPH در خاک-های آلوده به شما نمی‌رود و صرف‌نظر از غلظت عامل نیتروژنی، آنچه

تحریک زیستی فعالیت باکتریایی در خاک‌های آلوده به گازوئیل شده است. سطوح ارتقایافته تنفس میکروبی علی‌رغم اندکی تفاوت در روندهای افزایشی، در مجموع افزایش قابل توجه فعالیت باکتریایی را در طول شش هفته آغازین دوره آزمایشی نشان داده و در ادامه روندی تقریباً ثابت از نظر نرخ تنفس را به همراه داشته است. روندهای مشاهده‌شده تا حد زیادی منطبق و همسو با نتایج مربوط به تجزیه زیستی TPH در تیمارهای آزمایشی می‌باشد. به عبارت دیگر، همبستگی قابل قبولی بین میزان CO_2-C تنفسی باکتریایی و تجزیه TPH در خاکهای تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی وجود داشته است. مطالعات متعددی ارتقای فعالیت میکروبی و CO_2-C به عنوان شاخصی از آن را تحت تأثیر بهسازهای اصلاحی آلودگی گزارش داده‌اند (Ting et al., ۱۹۹۹; Vasudevan and Rajaram, ۲۰۰۱; Singh et al., ۲۰۰۹; Rhodes et al., ۲۰۱۰; Li et al., ۲۰۱۹). الگوی تغییرات CO_2-C به دست آمده در مطالعه حاضر در دیگر تحقیقات انجام‌شده نیز مورد اشاره قرار گرفته و روند افزایشی مذکور در زمان‌های آغازین به وجود نسبت بالای ترکیبات آلی با تجزیه آسان و همچنین سطوح بالاتر نوترینت‌های حاصل از اعمال تیمارهای بهساز نسبت داده شده است به طوری که با فاصله گرفتن از زمان‌های آغازین اعمال تیمارها، در نتیجه مصرف باکتریایی و رشد جمعیتی آنها، ظرفیت نوترینتی خاک ضعیف شده و در مقابل ترکیبات آلی مقاوم به تجزیه در خاک انباشته می‌شوند که در مجموع سبب کاهش چشم‌گیر رشد جمعیتی و فعالیت باکتریایی می‌گردد (Rhodes et al., ۲۰۱۰; Seyed Alikhani et al., ۲۰۱۱; Li et al., ۲۰۱۹).

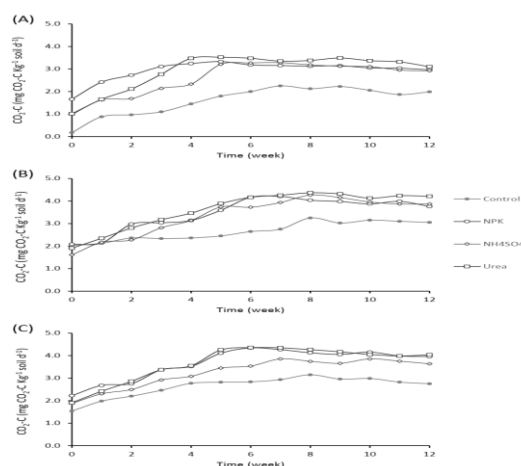
تجزیه و تحلیل سینتیک

نتایج به دست آمده از برازش مدل‌های سینتیکی درجه اول و دوم به داده‌های حاصل از استفاده از بهسازهای نیتروژنی غیرآلی در سطوح غلظت آلودگی اولیه متفاوت در جدول ۳ نشان داده شده است. در میان تیمارهای منابع نیتروژنی به دست آمده بالاترین مقادیر ثابت تجزیه زیستی (K) در تمامی غلظت‌های اولیه آلودگی گازوئیلی به تیمار استفاده از کود اوره تعلق داشت و کمترین مقادیر K نیز در خاک‌های آلوده شاهد (بدون استفاده از بهسازهای نیتروژنی) به دست آمد. همچنین، برای تمامی تیمارهای بهساز مورد استفاده و همچنین در شرایط شاهد، مقادیر ثابت تجزیه با افزایش غلظت آلودگی اولیه کاهش یافت. در مجموع کمترین مقدار K در خاک آلوده شاهد با مقدار غلظت اولیه ۱۰٪ در استفاده از مدل‌های درجه اول (0.364 day^{-1}) و دوم (0.258 day^{-1}) به دست آمد و بیشترین مقدار K نیز به ترتیب در مدل‌های درجه اول و دوم معادل (0.1321 day^{-1}) و (0.4374 day^{-1}) در شرایط استفاده از کود اوره در غلظت ۰٪ آلودگی گازوئیلی بود. در مقابل، مقادیر محاسباتی مربوط به نیمه‌عمر برای مدل‌های درجه

مورد استفاده میکروارگانیزم‌های خاک قرار می‌گیرند و به تدریج در طول زمان از مقدار آنها کاسته شده و انباشتگی ترکیبات با مقاومت بیشتر در خاک اتفاق می‌افتد و در مجموع نرخ تجزیه زیستی کاهش می‌یابد (Nocentini et al., ۲۰۰۰; Tajik, ۲۰۰۴; Sang- Hwan et al., ۲۰۲۰; Tazangi et al., ۲۰۰۸; Karimpoor et al., ۲۰۲۲).

تنفس میکروبی

روندهای تغییرات سطوح تنفس میکروبی (CO_2-C) اندازه‌گیری شده در تیمارهای آزمایشی در طول دوره مطالعاتی در شکل ۲ نشان داده شده است. نوع تیمار بهسازهای نیتروژنی غیرآلی و همچنین سطح آلودگی اولیه دارای تأثیرات معنی‌داری ($p < 0.05$) بر نرخ تنفس میکروبی تیمارهای آزمایشی بودند. در تمامی سطوح غلظت اولیه آلودگی گازوئیلی، منابع نیتروژنی NPK و Urea بیشترین افزایش تنفس میکروبی را نشان دادند (NPK: $2/93$ تا $3/66 \text{ mg C/kg soil}$; Urea: $2/83$ تا $3/66 \text{ mg C/kg soil}$) در حالی که کمترین سطوح اندازه‌گیری شده متعلق به تیمار شاهد (بدون بهساز) بود ($1/61 \text{ mg C/kg soil}$). همچنین، از نظر سطح آلودگی گازوئیلی اولیه، در تمامی تیمارها، سطوح تنفس میکروبی در سطوح غلظت ۵ و ۱۰٪ تا حدودی بیشتر از سطح آلودگی ۰٪ بود. بیشترین مقادیر افزایش تنفس میکروبی در تیمارهای تحت تأثیر بهسازهای نیتروژنی، در طول دوره زمانی بین هفته اول و هفته پنجم تا ششم اتفاق افتاد و پس از آن نرخ تنفس در سطح تقریباً ثابتی باقی ماند، در حالی که در تیمار شاهد، افزایش نرخ تنفس در روندی آرام‌تر اتفاق افتاد و سطوح حداکثر در فاصله هفته‌های هفتم و هشتم به دست آمد. شکل ۲. سطوح تنفس میکروبی (CO_2-C) اندازه‌گیری شده در طول دوره آزمایشی ۳ ماهه در خاک‌های آلوده‌شده با گازوئیل در سطوح غلظت اولیه (A: ۵٪; B: ۱۰٪; C: ۰٪) تحت تأثیر بهسازهای نیتروژنی غیرآلی (NPK, Urea) و $(NH_4)_2SO_4$ و شرایط شاهد (Control). تجزیه و تحلیل مقادیر اندازه‌گیری شده تنفس میکروبی (CO_2-C) نشان داد که اعمال تیمارهای بهسازهای نیتروژنی منتج به



۲۰۲۱، Hashemi Tazangi et al., ۲۰۱۶). در تطابق با داده‌های حاصل از تجزیه زیستی و تنفس میکروبی، بیشترین ثابت‌های تجزیه زیستی (K) برای تیمارهای بهساز نیتروژنی اوره به دست آمد و متقابلاً کمترین زمان نیمه عمر (t_{1/2}) نیز در وضعیت شاهد یعنی خاک-های آلوده بدون بهساز محاسبه گردید. لازم به ذکر است، مقادیر محاسباتی K و t_{1/2} بر اساس خروجی‌های مدل درجه اول، در مقایسه با مدل درجه دوم در تیمارهای یکسان به ترتیب بیشتر و کمتر بوده است. ثابت‌های نرخ تجزیه (K) بیان‌کننده اثرات نسبی تیمارهای مختلف آزمایشی بر تجزیه TPH می‌باشند (Singh et al., ۲۰۲۳ Hashemi Tazangi et al., ۲۰۰۹). ترتیب نرخ تجزیه زیستی (K) برای تیمارهای مختلف بهسازهای نیتروژنی به صورت Urea > NPK > NH₄SO₄ > control بوده است. همچنین، تغییرات مقادیر نیمه عمر محاسباتی TPH بر اساس مدل درجه اول (که از عملکرد مناسب‌تری برخوردار بود) برای تیمارهای آزمایشی بهسازهای نیتروژنی در مقایسه با نیمه عمر TPH در شرایط شاهد، در کمترین و بیشترین سطح آلودگی آغازین گازوئیل برای Urea، NPK و NH₄SO₄ به ترتیب بین ۳۳/۸٪ تا ۳۹/۴٪، ۵۴/۶٪ تا ۶۱/۳٪ و ۵۵/۳٪ تا ۵۷/۷٪ متغیر بوده است. این وضعیت به خوبی نشان‌دهنده تأثیر قابل توجه منابع نیتروژنی غیرآلی در کاهش ماندگاری آلاینده‌های آلی گازوئیلی در محیط خاک می‌باشد.

اول و دوم نیز روندهایی معکوس اما در تیمارهای یکسان، در ارتباط با K را نشان دادند به طوری که کمترین مقادیر نیمه‌عمر (t_{1/2}) در تیمار استفاده از کود اوره و کمترین غلظت اولیه آلودگی گازوئیلی (۰٪) (مدل درجه اول: (days) ۵/۲۵؛ مدل درجه دوم: (days) ۳/۸۴) و بیشترین مقدار نیمه عمر نیز در تیمار شاهد و بیشترین غلظت آلودگی گازوئیلی (۱۰٪) (مدل درجه اول: (days) ۱۹/۴؛ مدل درجه دوم: (days) ۲۲/۸۶) به دست آمد. مقادیر ضریب همبستگی محاسبه شده بین داده‌های واقعی و پیش‌بینی شده مدل نیز به طور کلی نشان‌دهنده برازش دقیق‌تر مدل درجه اول با داشتن مقادیر بیشتر R² در مقایسه با مدل درجه دوم بود. ارزیابی مدل‌سازی سینتیک تجزیه زیستی TPH در تیمارهای آزمایشی تحت تأثیر بهسازهای نیتروژنی غیرآلی در مطالعه حاضر با استفاده از مدل‌های سینتیک درجه اول و دوم انجام گرفت. یافته‌های حاصل از این مدل‌ها نشان داد که در مجموع، مدل سینتیک درجه اول از عملکرد مناسب‌تری و دقت بیشتری در برازش داده‌های اندازه‌گیری شده، برخوردار بوده است. این در حالی است که بر اساس مقادیر ضریب همبستگی محاسباتی (R²)، عملکرد مدل درجه دوم نیز چشمگیر بوده، اما در مقایسه با مدل درجه اول تا حدودی ضعیف‌تر بوده است. بیشتر بودن مقدار ضریب همبستگی (نزدیک به ۱) بیانگر قابلیت توصیفی بالاتر مدل و دقت بیشتر آن در ارتباط با پیش‌بینی داده‌های آزمایشی است (Sarkar et al., ۲۰۰۵). در مطالعات پیشین، قابلیت بالاتر مدل سینتیک درجه اول در مقایسه با عملکرد مدل درجه دوم گزارش شده است (Adensodun, ۲۰۰۸; Nwankwegu et al., ۲۰۰۸).

جدول ۳. نتایج ثابت تجزیه زیستی (K)، ضریب همبستگی (R²) و نیمه‌عمر (t_{1/2}) مربوط به مدل‌های سینتیک درجه اول و دوم برای فرآیند زیست‌بالایی هیدروکربن‌های ناشی از آلودگی گازوئیلی در غلظت‌های اولیه متفاوت (۰، ۵٪ و ۱۰٪) تحت تأثیر بهسازهای نیتروژنی غیرآلی (Urea، NPK) و NH₄SO₄ و شرایط شاهد (Control).

تیمار بهساز	%TPH	مدل سینتیک درجه اول			مدل سینتیک درجه دوم		
		k (day ⁻¹)	t _{1/2} (days)	R ²	k (day ⁻¹)	t _{1/2} (days)	R ²
NPK	۰	۰/۰۸۱۸	۸/۴۷	۰/۹۶۴	۰/۲۲۲۶	۷/۵۵	۰/۹۱۹
	۵٪	۰/۰۷۰۳	۹/۸۵	۰/۹۶۱	۰/۰۹۵۴	۹/۶۸	۰/۹۳۲
	۱۰٪	۰/۰۵۹۳	۱۱/۶۸	۰/۹۰۲	۰/۰۵۲۸	۱۱/۱۷	۰/۸۶۵
Urea	۰	۰/۱۳۲۱	۵/۲۵	۰/۹۱۷	۰/۴۳۷۴	۳/۸۴	۰/۹۲۳
	۵٪	۰/۱۱۵۹	۵/۹۸	۰/۹۴۶	۰/۲۰۰۲	۴/۶۲	۰/۹۱۵
	۱۰٪	۰/۰۹۲۱	۷/۵۲	۰/۹۰۶	۰/۰۹۴۱	۶/۲۷	۰/۷۷۸
NH ₄ SO ₄	۰	۰/۰۸۰۸	۸/۵۷	۰/۹۵۸	۰/۲۰۹۶	۸/۰۲	۰/۹۶۲
	۵٪	۰/۰۶۷۵	۱۰/۲۷	۰/۹۴۴	۰/۰۸۷۶	۱۰/۵۵	۰/۹۲۲
	۱۰٪	۰/۰۶۳	۱۱/۰۰	۰/۹۱۰	۰/۰۵۵۹	۱۰/۵۵	۰/۹۲۳
Control	۰	۰/۰۴۷۴	۱۵/۴۹	۰/۹۶۴	۰/۱۰۱۷	۱۶/۵۲	۰/۹۵۳
	۵٪	۰/۰۴۱۶	۱۶/۶۶	۰/۹۰۱	۰/۰۴۷۲	۱۹/۵۸	۰/۹۱۵
	۱۰٪	۰/۰۳۶۴	۱۹/۰۴	۰/۹۳۱	۰/۰۲۵۸	۲۲/۸۶	۰/۹۱۸

نتیجه تحریک فعالیت میکروبی در سیستم خاک‌های آلوده شده است. در این راستا، در بین انواع مختلف بهسازهای مورد بررسی شامل اوره، NPK و NH₄SO₄، بیشترین مطلوبیت و کارایی عملکردی در کاهش بار آلودگی متعلق به کود اوره بوده است. همچنین، مدل‌سازی

۴- نتیجه‌گیری

مجموعه نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که استفاده از انواع مختلف منابع نیتروژنی غیرآلی به عنوان بهسازهای خاک در اصلاح زیستی آلودگی گازوئیلی منتج به بهبود فرآیند تجزیه زیستی در

سینتتیک انجام شده نیز تا حد زیادی نشان دهنده قابلیت توصیفی بالاتر مدل‌های درجه اول در پیش‌بینی رفتار آلاینده‌های هیدروکربنی نفتی و دقت بیشتر در پیش‌بینی سطوح آنها در مقایسه با مدل درجه دوم بود.

منابع

- Abbasian, F., Lockington, R., Megharaj, M. and Naidu, R., ۲۰۱۶. The biodiversity changes in the microbial population of soils contaminated with crude oil. *Current microbiology*, ۷۲, pp. ۶۶۳-۶۷۰.
- Abd, R.R.N.Z., Mohamad, G.F., Bakar, S.A. and Mahiran, B., ۲۰۰۶. Biodegradation of hydrocarbon contamination by immobilized bacterial cells. *Journal of Microbiology*, ۴۴(۳), pp. ۳۵۴-۳۵۹.
- Adesodun, J.K. and Mbagwu, J.S.C., ۲۰۰۸. Biodegradation of waste-lubricating petroleum oil in a tropical alfisol as mediated by animal droppings. *Bioresource technology*, ۹۹(۱۳), pp. ۵۶۵۹-۵۶۶۵.
- Adesodun, J.K. and Mbagwu, J.S.C., ۲۰۰۸. Biodegradation of waste-lubricating petroleum oil in a tropical alfisol as mediated by animal droppings. *Bioresource technology*, ۹۹(۱۳), pp. ۵۶۵۹-۵۶۶۵.
- Agarry, S.E., Aremu, M.O. and Aworanti, O.A., ۲۰۱۳. Biodegradation of ۲, ۶-dichlorophenol wastewater in soil column reactor in the presence of pineapple peels-derived activated carbon, palm kernel oil and inorganic fertilizer.
- Anderson, J.P.E., Page, A.L., Miller, R.H., and Keeney, D.R. ۱۹۸۲. Soil Respiration. P ۸۳۱-۸۷۱. In: A.L. Page (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part ۲, ۲nd Edition*, ASA and SSSA, Madison.
- April, T.M., Foght, J.M. and Currah, R.S., ۱۹۹۹. Hydrocarbon-degrading filamentous fungi isolated from flare pit soils in northern and western Canada. *Canadian journal of microbiology*, ۴۶(۱), pp. ۳۸-۴۹.
- Atlas, R.M. and Bartha, R., ۱۹۹۳. Hydrocarbon biodegradation and oil spill bioremediation. In *Advances in microbial ecology* (pp. ۲۸۷-۳۳۸). Boston, MA: Springer US.
- Brooijmans, R.J., Pastink, M.I. and Siezen, R.J., ۲۰۰۹. Hydrocarbon-degrading bacteria: the oil-spill clean-up crew. *Microbial biotechnology*, ۲(۶), p. ۵۸۷.
- Brook, T.R., Stiver, W.H. and Zytner, R.G., ۲۰۰۱. Biodegradation of diesel fuel in soil under various nitrogen addition regimes. *Soil & Sediment Contamination*, ۱۰(۵), p. ۵۳۹.
- Carmichael, L.M. and Pfaender, F.K., ۱۹۹۷. The effect of inorganic and organic supplements on the microbial degradation of phenanthrene and pyrene in soils. *Biodegradation*, ۸, pp. ۱-۱۳.
- Chaineau, C.H., Rougeux, G., Yepremian, C. and Oudot, J., ۲۰۰۵. Effects of nutrient concentration on the biodegradation of crude oil and associated microbial populations in the soil. *Soil biology and biochemistry*, ۳۷(۸), pp. ۱۴۹۰-۱۴۹۷.
- Chemlal, R., Abdi, N., Lounici, H., Drouiche, N., Pauss, A. and Mameri, N., ۲۰۱۳. Modeling and qualitative study of diesel biodegradation using biopile process in sandy soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, ۷۸, pp. ۴۳-۴۸.
- Chien, Y.C., ۲۰۱۲. Field study of in situ remediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil on site using microwave energy. *Journal of Hazardous Materials*, ۱۹۹, pp. ۴۵۷-۴۶۱.
- Collin, P.H., ۲۰۰۱. *Dictionary of Ecology and the Environment*, fourth ed. Peter Collin Publishing, London.
- Dadrastia, A., & Agamuthu, P., ۲۰۱۳. Dynamics of diesel fuel degradation in contaminated soil using organic wastes. *International Journal of Environmental Science and Technology*, ۱۰, pp. ۷۶۹-۷۷۸.
- Doustaky, M, Ebrahimi, S, Movahedi Naeini, S.A.R & Olamaei, M. ۲۰۱۳. Optimization of petroleum hydrocarbon biodegradation by indigenous and non-indigenous microorganisms. *Journal of Water and Soil Conservation*, ۲۰(۴), ۱۶۵-۱۸۱.
- Doustaky, M., Ebrahimi, S., Movahedi Naeini, A. R., & Olamaei, M., ۲۰۲۲. Monitoring TPH biodegradation in soil around Ray oil refinery by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation treatments. *Journal of Soil Science Society of Iran*, 1(۱), ۵۷-۷۲. doi: ۱۰.۴۷۱۷۶/jsssi.۰۱,۰۱,۱۰۱۰.
- Duncan, K., Jennings, E., Buck, P., Wells, H., Kolhatkar, R., Sublette, K., Potter, W.T. and Todd, T., ۲۰۰۳. Multi-species ecotoxicity assessment of petroleum-contaminated soil. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, ۱۲(۲), pp. ۱۸۱-۲۰۶.

- Ebrahimi, S. ۲۰۰۹. *Spatial-temporal variability of hydrocarbon pollutants and chemical solvents behavior in soil porous media* (Doctoral dissertation, Phd Thesis. Tarbiyat Modares University, p ۱۵۰).
- Ebrahimi, S. ۲۰۰۹. *Spatial-temporal variability of hydrocarbon pollutants and chemical solvents behavior in soil porous media* (Doctoral dissertation, PhD Thesis. Tarbiat Modares University, ۱۵۰ p. (In Persian)
- Ebrahimi, S., Shayegan, J., Malakouti, M. J., Bybordi, M., & Ghodousi, J., ۲۰۲۲. Assessing of some important gas condensate pollution factors along horizontal and vertical soil contamination gradients (Sarkhun's gas refinery, Bandar Abbas). *Journal of Soil Science Society of Iran*, 1(۱), ۹۷-۱۱۲.
- Ebrahimi, S., Shayegan, J., Malakouti, M., & Akbari, A. ۲۰۱۱. Availability and potential value of hydrocarbon contamination in soil and groundwater in surrounding area around Iran antibiotic factory, sari, mazandaran province. *Electronic Journal of Soil Management and Sustainable Production*, ۱: ۶۳-۸۰.
- Ebrahimi, S., Shayegan, J., Malakouti, M., & Akbari, A., ۲۰۱۱. Environmental evaluation and assessment of some important factors of oil contamination in soil around sarkhoun gas refinery of Bandar Abbas. *Journal of Environmental studies*, 37(۵۷), ۹-۲۶.
- Fallah, M., Shabanpor, M., & Ebrahimi, S., ۲۰۱۵. Evaluation of petroleum impacts on some properties of loamy sand soil with the main focus on hydraulic properties. *Environmental Earth Sciences*, 74, ۴۷۵۱-۴۷۶۲.
- Fallah, M., Shabanpor, M., Zakerinia, M. and Ebrahimi, S., ۲۰۱۵. Risk assessment of gas oil and kerosene contamination on some properties of silty clay soil. *Environmental monitoring and assessment*, ۱۸۷, pp.۱-۱۳.
- Fazlali, S., Ebrahimi, S., Zakerinia, M., & Movahedi Naeini, S. A., ۲۰۱۵. Monitoring of the Transfer of Kerosene and Water through the Light Soil Contains Montmorillonite Nanoclay. *Journal of Water and Soil Resources Conservation*, 5(۱), ۵۵-۶۶.
- Fogg, K., ۱۹۸۸. The effect of added nitrogen on the rate of organic matter decomposition. *Biol Rev*, ۶۳, pp.۴۳۳-۴۷۲.
- Gallego, J.L., Loreda, J., Llamas, J.F., Vázquez, F. and Sánchez, J., ۲۰۰۱. Bioremediation of diesel-contaminated soils: evaluation of potential in situ techniques by study of bacterial degradation. *Biodegradation*, ۱۲, pp.۳۲۵-۳۳۵.
- Guo, W., Wu, G., Xu, T., Li, X., Ren, X. and Hao, Y., ۲۰۱۸. Numerical modelling of temporal and spatial patterns of petroleum hydrocarbons concentration in the Bohai Sea. *Marine pollution bulletin*, ۱۲۷, pp.۲۵۱-۲۶۳.
- Hashemi Tazangi, M., Ebrahimi, S., Ghorbani Nasrabadi, R., & Movaheddi Naeeni, S. A., ۲۰۲۱. Assessment of TPH attenuation during remediation of gasoil-contaminated Soil using active carbon modifier in pilot study. *Journal of Water and Soil Conservation*, 28(۱), ۱۸۳-۲۰۰.
- Hashemi Tazangi, M., Ebrahimi, S., Ghorbani Nasrabadi, R., & Movaheddi Naeeni, S. A., ۲۰۲۳. Changes in The Hydrocarbon Pollution Rate of Soil Containing Biochar Modifier (Case Study: Soil Around Shiraz Refinery). *Journal of Agricultural Engineering Soil Science and Agricultural Mechanization (Scientific Journal of Agriculture)*, 45(۴).
- Hassink, J., ۱۹۹۵. Organic matter dynamics and N mineralization in grassland soils. PhD thesis. Wageningen Agricultural University. The Netherlands. pp:۲۵۰
- Huang, J.H., Shi, Y.H., Zeng, G.M., Gu, Y.L., Chen, G.Q., Shi, L.X., Hu, Y., Tang, S., Zhou, J.X., ۲۰۱۶. Acyl-homoserine lactone-based quorum sensing and quorum quenching hold promise to determine the performance of biological wastewater treatments: an overview. *Chemosphere* ۱۵۷, ۱۳۷-۱۵۱
- Hussain, T. and Gondal, M.A., ۲۰۰۸. Monitoring and assessment of toxic metals in Gulf War oil spill contaminated soil using laser-induced breakdown spectroscopy. *Environmental monitoring and assessment*, ۱۳۶, pp.۳۹۱-۳۹۹.
- Hutchinson, S.L., Banks, M.K. and Schwab, A.P., ۲۰۰۱. Phytoremediation of aged petroleum sludge: effect of inorganic fertilizer. *Journal of environmental quality*, ۳۰(۲), pp.۳۹۵-۴۰۳.
- Jackson, W.A. and Pardue, J.H., ۱۹۹۹. Potential for enhancement of biodegradation of crude oil in Louisiana salt marshes using nutrient amendments. *Water, Air, and Soil Pollution*, ۱۰۹, pp.۳۴۳-۳۵۵.
- Jin, S. and Fallgren, P.H., ۲۰۰۷. Site-specific limitations of using urea as a nitrogen source in biodegradation of petroleum wastes in soil. *Soil & Sediment Contamination*, ۱۶(۵), pp.۴۹۷-۵۰۵.

- Karamalidis, A.K., Evangelou, A.C., Karabika, E., Koukkou, A.I., Drainas, C. and Voudrias, E.A., ۲۰۱۰. Laboratory scale bioremediation of petroleum-contaminated soil by indigenous microorganisms and added *Pseudomonas aeruginosa* strain Spet. *Bioresource technology*, ۱۰۱(۱۶), pp.۶۵۴۵-۶۵۵۲.
- Karimpoor, R., Ebrahimi, S., Malekzadeh, E., & Hassanpour-bourkheili, S., ۲۰۲۲. Bioremediation of total petroleum hydrocarbons in oil sludge-polluted soil using active carbon remediator. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19(۸), ۷۶۴۹-۷۶۶۰.
- Khosravinodeh, M., Abbaspour, A., Ebrahimi, S.S. & Asghari, H.R., ۲۰۱۳. Phytoremediation of a fuel oil -contaminated soil using alfalfa and grass with *pseudomonas putida* bacterium. *Journal of Water and Soil Conservation*, ۲۰, ۲۱۹-۲۳۴.
- Kim, S.J., Choi, D.H., Sim, D.S. & Oh, Y.S., ۲۰۰۵. Evaluation of bioremediation effectiveness on crude oil-contaminated sand. *Chemosphere*, ۵۹(۶), pp.۸۴۵-۸۵۲.
- Lee, M.D. and Ward, C.H., ۱۹۸۵. Biological methods for the restoration of contaminated aquifers. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, ۴(۶), pp.۷۴۳-۷۵۰.
- Lee, S.H., Oh, B.I. and Kim, J.G., ۲۰۰۸. Effect of various amendments on heavy mineral oil bioremediation and soil microbial activity. *Bioresource technology*, ۹۹(۷), pp.۲۵۷۸-۲۵۸۷.
- Li, Z., Wang, L., Li, Y., Feng, Y. and Feng, W., ۲۰۱۹. Carbon-based functional nanomaterials: Preparation, properties and applications. *Composites Science and Technology*, ۱۷۹, pp.۱۰-۴۰.
- Maki, H., Hirayama, N., Hiwatari, T., Kohata, K., Uchiyama, H., Watanabe, M., Yamasaki, F. and Furuki, M., ۲۰۰۲. Crude oil bioremediation field experiment in the Sea of Japan. *Marine Pollution Bulletin*, ۴۷(۱-۶), pp.۷۴-۷۷.
- Margesin, R. and Schinner, F., ۲۰۰۱. Bioremediation (natural attenuation and biostimulation) of diesel-oil-contaminated soil in an alpine glacier skiing area. *Applied and environmental microbiology*, ۶۷(۷), pp.۳۱۲۷-۳۱۳۳.
- Matus, F.J., ۱۹۹۴. Crop residue decomposition, residual soil organic matter and nitrogen mineralization in arable soils with contrasting textures. Wageningen University and Research.
- Meegoda, N.J. and Ratnaweera, P., ۱۹۹۵. Treatment of oil-contaminated soils for identification and classification. *Geotechnical Testing Journal*, ۱۸(۱), pp.۴۱-۴۹.
- Molina-Barahona, L., Rodriguez-Vázquez, R., Hernández-Velasco, M., Vega-Jarquín, C., Zapata-Pérez, O., Mendoza-Cantú, A. and Albores, A., ۲۰۰۴. Diesel removal from contaminated soils by biostimulation and supplementation with crop residues. *Applied Soil Ecology*, ۲۷(۲), pp.۱۶۵-۱۷۵.
- Nabgan, W., Mat, R., Abdullah, T.A.T., Nabgan, B., Gambo, Y. and Zakaria, Z.Y., ۲۰۱۶. Development of a kinetic model for hydrogen production from phenol over Ni-Co/ZrO₂ catalyst. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, ۴(۴), pp.۴۴۴۴-۴۴۵۲.
- Namkoong, W., Hwang, E.Y., Park, J.S. and Choi, J.Y., ۲۰۰۲. Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environmental pollution*, ۱۱۹(۱), pp.۲۳-۳۱.
- Nocentini, M., Pinelli, D. and Fava, F., ۲۰۰۰. Bioremediation of a soil contaminated by hydrocarbon mixtures: the residual concentration problem. *Chemosphere*, ۴۱(۸), pp.۱۱۱۵-۱۱۲۳.
- Nwankwegu, A.S., Li, Y., Jiang, L., Lai, Q., Shenglin, W., Jin, W. and Acharya, K., ۲۰۱۸. Kinetic modelling of total petroleum hydrocarbon in spent lubricating petroleum oil impacted soil under different treatments. *Environmental technology*.
- Nwankwegu, A.S., Onwosi, C.O., Orji, M.U., Anaukwu, C.G., Okafor, U.C., Azi, F. and Martins, P.E., ۲۰۱۶. Reclamation of DPK hydrocarbon polluted agricultural soil using a selected bulking agent. *Journal of environmental management*, ۱۷۲, pp.۱۳۶-۱۴۲.
- Olsen, S. R., & Sommer, L. E., ۱۹۸۲. Phosphorus. In A. L. Page, R. H. Miller, & D. R. Keeney (Eds.), *Methods of soil analysis. Agronomy vol. 9 (Part II)* (pp. ۴۰۳-۴۳۰). American Society of Agronomy and Soil Science.
- Onwosi, C.O., Nwankwegu, A.S., Enebechi, C.K., Odimba, J.N., Nwuche, C.O. and Igbokwe, V.C., ۲۰۱۸. Bioremediation of Soil Contaminated with Diesel Using Inorganic Nitrogen Sources: Incorporating n th-Order Algorithm in the Evaluation of Process Kinetics. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, ۲۷(۱), pp.۶۰-۷۸.
- Oudot, J., Merlin, F.X. and Pinvidic, P., ۱۹۹۸. Weathering rates of oil components in a bioremediation experiment in estuarine sediments. *Marine Environmental Research*, ۴۵(۲), pp.۱۱۳-۱۲۵.
- Pankrantz, T.M., ۲۰۰۱. *Environmental Engineering Dictionary and Directory*. CRC Press, Boca Raton, FL

- Paul, E.A., and Clark, F.E. ۱۹۹۶. Soil microb. biochem. ۲nd ed. Academic. New York. pp: ۳۴۰
- Pedro, J. et al, ۲۰۰۶. Bioremediation and Natural Attenuation. John Wiley & Sons Inc,
- Qixing, Z., Zhang, C., Zhineng, Z. and Weitao, L., ۲۰۱۱. Ecological remediation of hydrocarbon contaminated soils with weed plant. Journal of Resources and Ecology, ۲(۲), pp.۹۷-۱۰۰.
- Rhodes, A.H., McAllister, L.E., Chen, R. and Semple, K.T., ۲۰۱۰. Impact of activated charcoal on the mineralisation of ^{14}C -phenanthrene in soils. Chemosphere, ۷۹(۴), pp.۴۶۳-۴۶۹.
- Riser-Roberts, E., ۱۹۹۸. Remediation of Petroleum Contaminated Soil: Biological, Physical, and Chemical Processes. CRC Press LLC, Boca Raton, FL.
- Rivera-Espinoza, Y. and Dendooven, L., ۲۰۰۴. Dynamics of carbon, nitrogen and hydrocarbons in diesel-contaminated soil amended with biosolids and maize. Chemosphere, ۵۴(۳), pp.۳۷۹-۳۸۶.
- Safdari, M.S., Kariminia, H.R., Rahmati, M., Fazlollahi, F., Polasko, A., Mahendra, S., Wilding, W.V. and Fletcher, T.H., ۲۰۱۸. Development of bioreactors for comparative study of natural attenuation, biostimulation, and bioaugmentation of petroleum-hydrocarbon contaminated soil. Journal of Hazardous Materials, ۳۴۲, pp.۲۷۰-۲۷۸.
- Sanchez, M.A., Campbell, L.M., Brinker, F.A. and Owens, D., ۲۰۰۰. Attenuation the Natural Way A former wood-preserving site offers a case study for evaluating the potential of monitored natural attenuation. Industrial Wastewater, pp.۳۷-۴۲.
- Sarkar, D., Ferguson, M., Datta, R. and Birnbaum, S., ۲۰۰۵. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. Environmental pollution, ۱۳۶(۱), pp.۱۸۷-۱۹۰.
- Seklemova, E., Pavlova, A. and Kovacheva, K., ۲۰۰۱. Biostimulation-based bioremediation of diesel fuel: field demonstration. Biodegradation, ۱۲(۵), pp.۳۱۱-۳۱۶.
- Seyed Alikhani, S., Shorafa, M., Tavassoli, A., & Ebrahimi, S., ۲۰۱۱. The Effect of Plants' Growth at Different Densities on Soil Petroleum Hydrocarbons Remediation. *Water and Soil*, 25(۵), doi: ۱۰.۲۲۰۶۷/jsw.v۰i۰۰.۱۱۲۰۴.
- Sharma, M. and Shane, M., ۲۰۱۶. Hydrocarbon-water adsorption and simulation of catalyzed hydrocarbon traps. Catalysis Today, ۲۶۷, pp.۸۲-۹۲.
- Singh, A., Kuhad, R.C., Ward, O.P., ۲۰۰۹. Advances in Applied Bioremediation. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Tajik, M., ۲۰۰۴. Assessment of geoenvironmental effect of petroleum pollution on coastal sediments of Bushehr province. Iran.M.Sc. Thesis, Tarbiat Modares university, Tehran-Iran pp:۹۷
- Tazangi, M. H., Ebrahimi, S., Nasrabadi, R. G., & Naeeni, S. A. M., ۲۰۲۰. Kinetic monitoring of bioremediators for biodegradation of gasoil-polluted soil. *Water, Air, & Soil Pollution*, 231, ۱-۱۳.
- Ting, Y.P., Hu, H.L. and Tan, H.M., ۱۹۹۹. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in soil microcosms. Resource and Environmental Biotechnology, ۲(۳), pp.۱۹۷-۲۱۸.
- Toffoletto, L., Deschenes, L., & Samson, R., ۲۰۰۵. LCA of ex-situ bioremediation of diesel-contaminated Soil. *International Journal of LCA*, 10, ۴۰۶-۴۱۶
- Toffoletto, L., Deschenes, L., & Samson, R., ۲۰۰۵. LCA of ex-situ bioremediation of diesel-contaminated Soil. *International Journal of LCA*, 10, ۴۰۶-۴۱۶
- Ulrici, W., ۲۰۰۰. Contaminant soil areas, different countries and contaminant monitoring of contaminants, in Environmental Process II. Soil Decontamination Biotechnology, H. J. Rehm and G. Reed, Eds., vol. ۱۱, pp. ۵-۴۲.
- Van Vuuren, M.M.I. and Van der Eerden, L.J., ۱۹۹۲. Effects of three rates of atmospheric nitrogen deposition enriched with ^{15}N on litter decomposition in a heathland. Soil Biology and Biochemistry, ۲۴(۶), pp.۵۲۷-۵۳۲.
- Vasudevan, N. and Rajaram, P., ۲۰۰۱. Bioremediation of oil sludge-contaminated soil. Environment International, ۲۶(۵-۶), pp.۴۰۹-۴۱۱.
- Walecka-Hutchison, C.M. and Walworth, J.L., ۲۰۰۶. Assessment of C: N ratios and water potential for nitrogen optimization in diesel bioremediation. Bioremediation journal, ۱۰(۱-۲), pp.۲۵-۳۵.
- Walkley, A. and Black, I.A., ۱۹۳۴. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil science, ۳۷(۱), pp.۲۹-۳۸.
- Wang, H., Yang, X., He, L., Lu, K., Müller, K., McGrouther, K., et al., ۲۰۱۸. Using biochar for remediation of contaminated soils. In Y. Luo & C. Tu (Eds.), *Twenty years of research and development on soil pollution and remediation in China* (pp. ۷۶۳-۷۸۳). Singapore: Springer

- Wang, X., Feng, J. and Zhao, J., ۲۰۱۰. Effects of crude oil residuals on soil chemical properties in oil sites, Momoge Wetland, China. Environmental monitoring and assessment, ۱۶۱, pp.۲۷۱-۲۸۰.
- Yeung, P.Y., Johnson, R.L. and Xu, J.G., ۱۹۹۷. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in soil as affected by heating and forced aeration (Vol. ۲۶, No. ۶, pp. ۱۵۱۱-۱۵۱۶). American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America.
- Yuan, W., Li, Y., Dagaut, P., Wang, Y., Wang, Z. and Qi, F., ۲۰۱۷. A comprehensive experimental and kinetic modeling study of n-propylbenzene combustion. Combustion and Flame, ۱۸۶, pp.۱۷۸-۱۹۲.

The influence of inorganic nitrogen modifiers on bioremediation of hydrocarbon pollutants in a diesel-contaminated soil

Reza Taghdisi^۱; Soheila Ebrahimi^{۲*}; Reza Ghorbani Nasrabadi^۳; Farhad Khormali^۳

^۱ PhD Student, Department of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

^۲ Associate Professor of Soil Science, Department of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

^۳ Professor of Soil Science, Department of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

* corresponding author email: sohebrahimi@gmail.com

Abstract

Introduction

Diesel is one of the important petroleum products widely used in Iran and other parts of the world. Its release into the environment can cause an imbalance of nutrient levels, especially carbon/nitrogen (C/N) ratios in soils, which is unfavourable for microorganisms' growth. This condition negatively impacts the bioremediation of hydrocarbon pollutants (Molina-Barahona et al., ۲۰۰۴; Sarkar et al., ۲۰۰۵; Khosravinodeh et al., ۲۰۱۳). However, in such conditions in contaminated soil systems, by providing nutrients through fertilization and optimizing the growth conditions of these organisms, it will be possible to adjust these imbalanced ratios (Lee and Ward, ۱۹۸۵; Kim et al., ۲۰۰۵). Using nutrient modifiers is one of the main methods to reduce petroleum pollutants in contaminated soils, accelerating these compounds' biodegradation by providing critical nutrients for microorganisms. Total nitrogen is the second most influencing factor affecting the distribution and activity of bacteria in soil which mainly affects biodegradation rates of hydrocarbon pollutants (Wang et al., ۲۰۱۸). Many studies have investigated the effect of nitrogen on the biological remediation of contaminated soils (Brook et al., ۲۰۰۱; Gallego et al., ۲۰۰۱; Walecka-Hutchison and Walworth, ۲۰۰۶), and nutritional supplementation of contaminated soils using inorganic N sources is proposed as an effective method in bioremediation process (Toffoletto et al., ۲۰۰۵). Kinetics analysis of biodegradation reactions has a crucial role in determining the fate of petroleum hydrocarbons in polluted soils (Nabgan et al., ۲۰۱۶; Sharma and Shane, ۲۰۱۶; Yuan et al., ۲۰۱۷; Guo et al., ۲۰۱۸; Safdari et al., ۲۰۱۸; Doustaky et al., ۲۰۲۲) which is based on providing practical trends of hydrocarbon elimination from the contaminated environments. Kinetic modelling is usually performed using first- and second-order models to evaluate the biodegradation rates of total petroleum hydrocarbons (TPH) over time (Yeung et al., ۱۹۹۷; Namkoong et al., ۲۰۰۲; Sarkar et al., ۲۰۰۵; Adesodun and Mbagwu, ۲۰۰۸; Chemlal et al., ۲۰۱۳; Nwankwegu et al., ۲۰۱۶). Based on a computational approach, this modelling analysis can provide estimations of biodegradation constant (K), half-life values ($t_{1/2}$) and correlation coefficients (R^2) for pollutant removal trends (Yuan et al., ۲۰۱۷; Safdari et al., ۲۰۱۸). These valuable indices could be used practically in predicting residual levels of hydrocarbons and the time required for their removal from contaminated soil systems. The present study aimed to evaluate the effects of different inorganic nitrogenous modifiers on the bio-elimination of hydrocarbon pollutants in diesel-contaminated soil. Three inorganic nitrogen sources, including NPK, Urea, and NH_4SO_4 , were used as soil modifiers at different initial diesel contamination levels of ۰, ۵ and ۱۰% during three months. Also, kinetic modelling was applied as an essential part of the bioremediation process assessment due to the addition of nitrogen modifiers.

Methodology

The uncontaminated soil was sampled in farmlands (depth = ۰ - ۲۰ cm) of Gorgan City, Golestan Province, north of Iran. Three initial gasoil concentrations (۰, ۵ and ۱۰٪) were considered as pollution levels, and initial pollution was applied through complete mixing. The resulting soil mixtures were incubated for one month before N modifier applications (Nwankwegu et al., ۲۰۱۸; Onwosi et al., ۲۰۱۸). The soil moisture was held at ۶۰٪ FC during this period. Inorganic nitrogen modifiers were applied to the contaminated soils as ۸۰ gr N modifiers per ۳ kg soil in each treatment. Total petroleum hydrocarbon (TPH) content, degradation ratio (%D) and microbial respiration (CO_۲-C) values were weekly measured for three months. TPH measurements were done using the standard methods of the United States Environmental Protection Agency (EPA ۴۱۱۳,۱) (Hutchinson et al., ۲۰۰۱). Degradation ratio (%D) was calculated using the following equation:

$$\%D = \frac{TPH_i - TPH_r}{TPH_i} \times 100$$

Where TPH_i and TPH_r were initial and residual levels of TPH in soil samples, respectively. The Anderson (۱۹۸۲) method was used to determine the microbial respiration (CO_۲-C). Kinetic modelling analysis was done using the first- and second-order models (Agarry et al., ۲۰۱۳). Also, degradation constant (K), half-life (t_{۱/۲}) and correlation coefficient (R^۲) values for TPH data were calculated using these kinetic models. Two-way analysis of variance (ANOVA) was used to evaluate the effects of different nitrogen modifiers and the initial contamination level on TPH and CO_۲-C. The normality of experimental data was checked using the Shapiro-Wilk test, and if necessary, data transformation was applied to normalize the data. The Comparison of means for experimental treatments was conducted using the Tukey-HSD test at a significance level of ۰,۰۵. Statistical analysis was performed using R (version ۴,۱,۲).

Conclusion

The results showed that using inorganic nitrogen modifiers led to significant ($p < ۰,۰۵$) reductions in TPH concentrations in the contaminated soils compared with the control condition. A similar trend was observed for decreasing TPH concentrations in all N modifiers with all initial gasoil concentrations (۰, ۵ and ۱۰٪). Among nitrogen modifiers, the highest degradation ratio belonged to Urea, followed by NPK and NH_۴SO_۴. The lowest elimination of TPHs in all initial concentration treatments was found in the control (i.e. no modifier application) condition, and the highest TPH decrease belonged to the Urea application condition. Using Urea fertilizer led to the highest biodegradation ranging from ۷۹,۳۱٪ (۱۰٪ initial concentration) to ۸۵,۰۰٪ (۰٪ initial concentration). The levels of natural degradation of TPHs in the control conditions varied between ۴۱,۳۵ to ۴۸,۰۸٪ for ۱۰٪ and ۵٪ initial gasoil concentrations, respectively. Microbial respiration (CO_۲-C) levels were significantly ($p < ۰,۰۵$) elevated during the first six weeks of the experimental period due to the effects of nitrogen sources. Using Urea and NPK nitrogen sources had the highest microbial respiration levels (NPK: ۲,۹۳ - ۳,۶۶ mg C/kg soil; Urea: ۲,۸۳ - ۳,۶۶ mg C/kg soil) while the lowest levels were obtained with the control condition (۱,۶۱ - ۲,۶۶ mg C/kg soil). The microbial respiration levels were higher at ۵ and ۱۰٪ initial gasoil concentrations compared to the ۰٪ level. The first-order kinetic model had better fits and higher predictive performance than the second-order model for the obtained data. Considering all modifier treatments, the biodegradation constant (K) scores decreased with increasing initial pollution concentrations. The highest K values were calculated for Urea application with ۵٪ pollution concentration (first-order: ۰,۱۳۲۱ day^{-۱}; second-order: ۰,۴۳۷۴ day^{-۱}), and the lowest K values were obtained for the control condition at ۱۰٪ pollution level (first-order: ۰,۰۳۶۴ day^{-۱}; second-order: ۰,۰۲۵۸ day^{-۱}). Conversely, the lowest half-life (t_{۱/۲}) scores were obtained using Urea at ۵٪ gasoil pollution (first-order: ۵,۲۵ days; second-order: ۳,۸۴ days), and the highest

scores were calculated with no application of N modifiers (control condition) at the highest initial gasoil concentration (۱۰٪) (first-order: ۱۹,۴ days; second-order: ۲۲,۸۶ days).

The findings of the present study indicated that using different inorganic nitrogen sources (NPK, Urea and NH_4SO_4) as soil modifiers in the bioremediation of diesel contamination in soils improved biodegradation efficiency by stimulating microbial activity and metabolism in the contaminated soils. Among nitrogen sources, the highest practical improvement of pollutant removal was obtained with Urea. Also, kinetic modelling showed better performance of the first-order model in predicting the fate of petroleum hydrocarbons than the second-order model. It could be said that using inorganic nitrogen sources could practically result in reductions in diesel contamination levels and their persistence in the soil environment.

Keywords

Biodegradation; Diesel; Inorganic nitrogen; Kinetic modelling; Microbial respiration