

استفاده از نانوذرات پراکسید کلسیم در حذف نفتالین از آب زیرزمینی: بررسی تأثیر دما و pH بر بازدهی حذف

فاطمه غلامی¹، محمود شوندی²، سیدمحمد مهدی دستغیب³، محمد علی آموزگار^{4*}

- 1- دانش آموخته دکتری، گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
- 2- استادیار، گروه اکولوژی و کنترل آلودگی محیطی، پژوهشکده محیط زیست و بیوتکنولوژی، پژوهشگاه صنعت نفت، تهران، ایران
- 3- استادیار، گروه میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی، پژوهشکده محیط زیست و بیوتکنولوژی، پژوهشگاه صنعت نفت، تهران، ایران
- 4- استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، خیابان انقلاب تهران، ایران

پذیرش: 1399/8/6

دریافت: 1398/6/13

*نویسنده مسئول: صندوق پستی 14155-6455: amoozegar@ut.ac.ir

چکیده:

یکی از روش‌های نوین پاکسازی آبهای زیرزمینی آلوده به ترکیبات نفتی، استفاده از ترکیبات آزادکننده اکسیژن است. این ترکیبات می‌توانند با آزادکردن رادیکال‌های آزاد، آلاینده را به صورت شیمیایی تخریب کنند یا با اکسیژن‌رسانی به بستر آب زیرزمینی، ضمن تحریک میکروارگانیسم‌های بومی، به حذف زیستی آلاینده منجر شوند. در این پژوهش، جهت تأمین اکسیژن مورد نیاز برای رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌های ساکن آب زیرزمینی نانوذرات پراکسید کلسیم (CaO_2) در آزمایش‌های ناپوسته به کار برده و تأثیر عوامل مختلف همچون میزان نانوذرات در آب، دما و pH بر عملکرد نانوذرات در حذف آلاینده مدل (نفتالین) در غلظت اولیه 20 ppm مطالعه شد. نتایج نشان داد که در حضور 400 mg/L از نانوذرات CaO_2 و در دمای $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ و pH اولیه خنثی، جمعیت میکروبی آب زیرزمینی به بالاترین حد خود رسید و با حفظ شرایط خنثی یا جلوگیری از افزایش یا کاهش شدید pH، 100% نفتالین محلول، پس از بیست روز، کامل حذف شد. همچنین، نفتالین در pHهای 3، 7/4 و 12 و دمای $15 \pm 0.5^\circ\text{C}$ به ترتیب در روزهای 2، 20 و 30 کاملاً از نمونه‌ها حذف شد که این امر نشان‌دهنده غالب و سریع بودن واکنش اکسیداسیون شیمیایی در شرایط اسیدی است. در دماهای $15 \pm 0.5^\circ\text{C}$ و $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ نیز آلاینده در روزهای 20 و 15 از آب زیرزمینی کاملاً حذف شد. در عین حال، با کاهش دما به 4°C به علت افت فعالیت میکروبی و سرعت واکنش‌های شیمیایی، فقط 75% از آلاینده طی 30 روز بررسی حذف شد.

کلید واژگان: آلودگی نفتی، آب زیرزمینی، نفتالین؛ نانوذرات آزادکننده اکسیژن، پاکسازی زیستی، CaO_2 .

مقدمه

به‌رغم تأمین درصد بالایی از آب مورد نیاز انسان‌ها از منابع زیرزمینی، متأسفانه غلظت آلاینده‌های آلی مانند هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای¹ (PAH) در این منابع در حال افزایش است [1, 2].

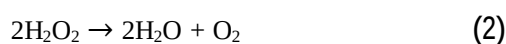
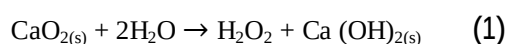
ترکیبات PAH، یکی از آلاینده‌های اصلی آبهای زیرزمینی، خاک و رسوبات در آمریکا و اروپا محسوب می‌شود [3-5]. این ترکیبات طی مطالعات متعدد به‌عنوان عوامل جهش‌زا و سرطان‌زا معرفی شده‌اند [6, 7]. ترکیبات PAH می‌توانند طی فعالیت‌های طبیعی یا مصنوعی وارد طبیعت شوند و به علت آب‌گریزی و حلالیت بسیار کمی که در آب دارند می‌توانند در محیط باقی بمانند. بخش عمده آلودگی‌های محیطی چون نتیجه فعالیت‌ها و دستکاری‌های بشر در محیط زیست است، پژوهش‌های پاکسازی آلودگی‌ها بر این بخش متمرکز است [8, 9].

ازجمله آلاینده‌های چندحلقه‌ای در محیط زیست، نفتالین است که به دلیل حلالیت بالاتر در آب اهمیت بیشتری از سایر ترکیبات گروه خود دارد. برای حذف این آلاینده از آبهای زیرزمینی روش‌های فیزیکی (جذب سطحی توسط ترکیبات مختلفی چون کربن فعال و زئولیت) [10]، شیمیایی (اکسیداسیون شیمیایی، کاتالستی و فتوکاتالستی) [1, 11] و زیستی (حذف زیستی، تجزیه زیستی و گیاه‌پالایی) [12, 13] مختلفی ارائه شده است که هرکدام مزایا و معایب خاص خود را دارند [1, 14, 15].

در سال‌های اخیر، به استفاده از روش‌های زیستی به دلیل هزینه پایین، کنترل ساده، امکان حذف تقریباً کامل و تشکیل‌نشدن ترکیبات مضر ثانویه، بیش از پیش توجه شده است [1, 16-18].

متأسفانه میزان پایین اکسیژن محلول در آبهای زیرزمینی عامل محدودکننده برای حذف هوازی آلاینده‌ها محسوب می‌شود. ازجمله راهکارهای مقرون به صرفه استفاده از ترکیبات آزادکننده اکسیژن (ORCs)² است. در این بین، به پراکسید کلسیم به علت پایداری بیشتر در اکسیژن‌رسانی، بیش از ترکیبات ORC دیگر توجه شده است [19-22]. از دیگر ترکیبات مورد استفاده در این حوزه می‌توان به پراکسید منیزیم اشاره کرد [23, 24].

واکنش پراکسید کلسیم با آب طبق واکنش 1 صورت می‌گیرد که طی این واکنش H_2O_2 به‌عنوان محصول تولید می‌شود. پراکسید هیدروژن ترکیبی ناپایدار است و به آب و اکسیژن تبدیل می‌شود (معادله 2) [25].



به علت تجزیه سریع H_2O_2 در آب، امکان استفاده از آن به‌عنوان یک ترکیب آزادکننده اکسیژن وجود ندارد، چراکه باید پیوسته به محیط آبی تزریق شود. به‌این‌ترتیب، با استفاده از پراکسید کلسیم می‌توان سرعت این تجزیه را کنترل کرد [26, 27]. از زمان ظهور این ترکیبات در سال 1995 تاکنون، بیش از ده هزار منطقه آلوده به هیدروکربن‌های نفتی به لحاظ زیستی پاکسازی شده است. در پژوهشی که السادیگ³ و همکاران در سال 2009 انجام دادند، ORC به‌عنوان گزینه‌ای مناسب برای تحریک زیستی و حذف آلاینده‌ها از آب زیرزمینی و همچنین بدون آثار جانبی بر محیط زیست معرفی شد [25, 28].

ازجمله مطالعات انجام‌شده در این زمینه می‌توان به پژوهش مکی⁴ و همکاران اشاره کرد. این گروه نقش

2. Oxygen-releasing compound

3. Elsadig

4. Mackay

1. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon

اکسیژن در تجزیه زیستی MTBE را بررسی کرد [29].
 یه¹ و همکاران نیز در سال 2010 به منظور ایجاد شرایط
 هوازی در راستای حذف زیستی بنزن از آب‌های
 زیرزمینی از پراکسید کلسیم تجاری استفاده کردند [30].
 دیاگو² و همکاران درباره تأثیر استفاده هم‌زمان از
 ORC تجاری و تلقیح میکروبی را در حذف گازوئیل از
 آب‌های آلوده مطالعه کردند. بررسی‌ها نشان داد، ایجاد
 شرایط هوازی به تحریک رشد میکروارگانیسم‌های
 بومی و در نتیجه پاکسازی آب منجر شد [31]. آنچه در
 پژوهش‌های دیگر کمتر به آن پرداخته شده، تأثیر
 مقادیر مختلف ترکیبات آزادکننده اکسیژن، اسیدیت و
 دمای محیط بر میزان حذف آلاینده است که در این
 پژوهش به آن پرداخته شده است.

آلودگی آب‌های زیرزمینی یکی از معضلاتی است که
 بی‌توجهی به آن عواقب ناخوشایندی برای کشور به
 دنبال خواهد داشت. با توجه به اینکه تاکنون هیچ
 روش عملیاتی و مقرون‌به‌صرفه‌ای در کشور برای
 پاکسازی آلودگی آب‌های زیرزمینی ارائه نشده است،
 استفاده از ترکیبات آزادکننده اکسیژن (ORC) در
 چاه‌های تزریق می‌تواند در این زمینه راهگشا باشد. در
 عین حال، با کاهش اندازه ذرات آزادکننده اکسیژن،
 میزان قدرت نفوذ آنها به بستر متخلخل آب زیرزمینی
 افزایش و در نتیجه تعداد چاه‌های مورد نیاز جهت
 تزریق این ترکیبات به بستر آب زیرزمینی کاهش
 می‌یابد. همچنین به و همکاران با بررسی روش‌های
 سنتز پراکسید کلسیم به این نتیجه رسیدند که نانوذرات
 پراکسید کلسیم در افزایش میزان اکسیژن موفق‌تر از
 ذرات بزرگ‌تر پراکسید کلسیم هستند، بنابراین، این
 گروه استفاده از نانوذرات پراکسید کلسیم را در
 پاکسازی زیستی پیشنهاد کردند [32].

در این پژوهش، پس از سنتز نانوذرات پراکسید
 کلسیم، به منظور تأیید صحت سنتز و همچنین بررسی
 ساختار آن از پراش اشعه ایکس و مطالعات
 میکروسکوپی بهره گرفته شد. سپس برای اولین بار
 امکان استفاده از این نانوذرات سنتز شده در حذف
 آلاینده مدل (نفتالین) بررسی شد. در ادامه، عملکرد این
 نانوذرات در شرایط مختلف محیطی، تأثیر عوامل دما و
 pH به کمک آزمایش‌های ناپیوسته مطالعه و بررسی
 شد. طی مطالعات، میزان اکسیژن محلول، اسیدیت،
 غلظت نفتالین و جمعیت میکروبی قابل کشت، مرتب
 اندازه‌گیری شد. نتایج این پژوهش می‌تواند با ارائه
 روشی اقتصادی و اجرایی، گامی مؤثر در زمینه رفع
 مشکل آلودگی آب‌های زیرزمینی به PAHها بردارد.

2- مواد و روش‌ها

2-1 ترکیبات شیمیایی مورد استفاده

سولفات کلسیم و نفتالین ($\leq 99\%$) از شرکت سیگما و
 هیدروکسید سدیم، سولفات آهن، پراکسید هیدروژن
 (30%) و محیط کشت R2A-آگار از شرکت مرک تهیه
 شدند.

2-2 آب زیرزمینی

برای بررسی قابلیت حذف آلودگی توسط
 میکروارگانیسم‌های بومی موجود در آب زیرزمینی، از آب
 چاه با عمق 100m واقع در تهران، منطقه دهکده المپیک
 استفاده شد. نمونه‌های آب پس از تهیه در ظروف استریل
 به آزمایشگاه منتقل و آزمایش شدند.

2-3 ماسه و رسوبات بستر آب زیرزمینی

برای شبیه‌سازی محیط متخلخل بستر آب زیرزمینی و
 استفاده از آن در آزمایش‌های ناپیوسته³ و برای رفع

1. Yeh
 2. Daghigho

3. batch

برای حذف آلودگی‌های میکروبی ایجاد شده طی مراحل آماده‌سازی، ماسه‌ها به مدت یک ساعت در دمای 121°C اتوکلاو شدند. مشخصات فیزیکی- شیمیایی آب زیرزمینی مورد استفاده در جدول 1 ارائه شده است.

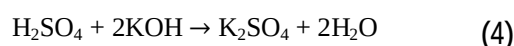
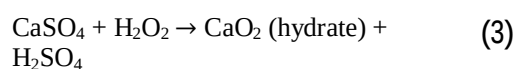
آلودگی هیدروکربنی آب در شرایط آزمایشگاهی، از ماسه حاصل از حفاری در این منطقه استفاده شد. ماسه و سنگریزه‌ها از عمق 100 متری زمین (لایه آبدۀ) برداشته و پس از شستشو، برای رسیدن به اندازه مشخص (1-2 mm) سرنند شدند و بعد از خشک‌کردن در دمای $15 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ نگهداری شدند.

جدول 1 مشخصات فیزیکی - شیمیایی آب زیرزمینی

مشخصه	میزان اندازه‌گیری شده	مشخصه	میزان اندازه‌گیری شده
SO_4^{-}	40 mg/L	Ca^{2+}	6/8 mg/L
CaCO_3	184 mg/L	Mg^{2+}	7/8 mg/L
MgCO_3	28 mg/L	Na^{+}	27 mg/L
Cl^{-}	54 mg/L	EC	560 $\mu\text{mohs/cm}$
Mn	<0/05 mg/L	1°TDS	294 mg/L
Zn	0/5 mg/L	pH	7/5
NO_3^{-}	45 mg/L	رنگ	<5 TCU
NO_2^{-}	0/2 mg/L	کدورت	4 NTU
Fe (total)	<0/05 mg/L	بار میکروبی اولیه	$10^{3,5}$ CFU/mL

4-2 سنتز نانوذرات پراکسید کلسیم

برای دستیابی به نانوذرات پراکسید کلسیم با خلوص و پایداری بالا، از روش مثمري و همکاران استفاده شد [33]. در این روش، طبق معادله واکنش 3 و 4، سولفات کلسیم و پراکسید هیدروژن استفاده شد. برای جلوگیری از اسیدی شدن محیط با اسید سولفوریک تولیدشده، هیدروکسید پتاسیم به کار برده شد (4).



برای سنتز این نانوذرات، در دمای $10 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ، 50mL آب دوبار یونیزه شده¹ و 20mL از محلول 1 M پتاسیم هیدروکسید (که از قبل تهیه شده بود) به بشر 250mL افزوده و مخلوط شد، سپس 5g سولفات کلسیم به 50mL پراکسید هیدروژن (30%) افزوده شد. پس از پراکنده شدن کامل ذرات سولفات کلسیم در آب با هم زدن به مدت دو ساعت هم زده شد. سپس رسوبات به وسیله سانتریفیوژ جدا شدند. رسوب حاصل دوبار با آب مقطر شستشو داده شد. پس از شستشو، نمونه به مدت دو ساعت تحت خلاء در دسیکاتور در دمای 80°C خشک شد. برای تعیین ساختار نانوذرات حاصل شده در فرایند سنتز، از پراش اشعه ایکس² (XRD) استفاده شد (شکل 1). برای بررسی ریخت شناسی نانوذرات سنتز شده از FESEM³ استفاده شد که نتیجه آن در شکل 2 نشان داده شده است. دستگاه های مورد استفاده برای اجرای آنالیزهای XRD

و FESEM به ترتیب عبارت بودند از: فیلیپس PW1729 و FESEM (Mira- 3TESCAN).

5-2 اندازه گیری DO و pH

تعیین میزان غلظت اکسیژن محلول (DO) و pH نمونه ها با استفاده از دستگاه مولتی متر HACH HQ40d انجام شد. تعیین غلظت اکسیژن محلول در لوله آزمایش به روش استاندارد EPA 888- 05 انجام گرفت.

6-2 بررسی جمعیت میکروبی

برای بررسی تغییرات فراوانی جمعیت میکروبی موجود در هریک از نمونه ها، از روش شمارش کلنی⁴ استفاده شد. پس از رقت سازی متوالی⁵، از هریک از رقت های مختلف از نمونه مورد بررسی، 1ml به پلیت های حاوی R2A آگاری که با دمای $45 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ذوب شده بود، منتقل و همگن شد. پس از جامد شدن R2A آگار موجود در پلیت ها، تمامی پلیت ها در دمای $15 \pm 0.5^\circ\text{C}$ گرما داده شدند. پس از بیست روز، تعداد میکروارگانیسم های هر پلیت به وسیله دستگاه شمارش کلنی تعیین شدند.

7-2 اندازه گیری غلظت آلاینده

برای اندازه گیری غلظت نفتالین از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا⁶ (HPLC) استفاده شد. طول و قطر ستون کروماتوگرافی مورد استفاده به ترتیب 150 و 4/6mm بود و حاوی سیلیکاژل باند شده با اوکتادسیل⁷ (C18) بود (ZORBAX SB-C18). اندازه گیری غلظت نفتالین در شدت جریان 1mL/min و به مدت 10 دقیقه با فاز متحرک به نسبت 65 به 35 از استونیتریل به آب استفاده شد. طیف خروجی در طول موج 254nm ثبت شد.

4. Colony count (pour plate method)

5. Serial dilution

6. High performance liquid chromatography

7. Octadecyl group bonded

1. deionized water

2. x-ray diffraction

3. Field Emission Scanning Electron Microscopy

8-2 بررسی عملکرد نانوذرات در حذف نفتالین در آزمایش‌های ناپیوسته¹

جهت بررسی عملکرد نانوذرات سنتز شده، از آزمایش‌های ناپیوسته استفاده شد. برای جلوگیری از تبخیر و خروج نفتالین از فاز آب به فاز هوا از ویال‌های² 100 mL استریل استفاده شد که فاقد فضای خالی بالاسری³ بودند. به منظور شبیه‌سازی شرایط واقعی بستر آب زیرزمینی مورد بررسی، ویال‌ها با ماسه تهیه شده از بستر آب زیرزمینی پر شدند. نفتالین از جمله ترکیباتی است که میزان حلالیت آن در آب وابسته به دما است و در دمای $15 \pm 0,5^\circ\text{C}$ بیشترین میزان حل شده 20ppm است، به همین دلیل، غلظت نفتالین در تمامی آزمایش‌ها 20ppm در نظر گرفته شد. به این ترتیب، در حجم 100mL آب زیرزمینی به میزان 30g ماسه افزوده شد.

نمونه‌برداری در فواصل زمانی 0، 2، 5، 10، 15، 20، 25 و 30 روز پس از تزریق ORC انجام شد. شایان ذکر است که جهت اطمینان از تکرارپذیری کار، برای هریک از روزهای نمونه‌برداری، ویالی جداگانه در نظر گرفته شد. به این ترتیب، در ابتدا اثر استفاده از غلظت‌های مختلف از نانوذرات بر میزان حذف نفتالین و سپس تأثیر دما و pH بر حذف آلاینده (از بستر آب شبیه‌سازی شده) بررسی و در هریک از نمونه‌ها pH، DO، غلظت نفتالین و همچنین فراوانی جمعیت میکروبی اندازه‌گیری شد.

1-8-2 بررسی اثر غلظت نانوذرات بر حذف نفتالین

در این بخش برای بررسی اثر میزان نانوذرات پراکسید کلسیم بر حذف آلاینده، غلظت‌های 0، 100، 200، 400 و 800mg/L در دمای $15 \pm 0,5^\circ\text{C}$ استفاده شدند.

2-8-2 بررسی تأثیر pH بر حذف نفتالین از آب زیرزمینی

از جمله شرایط محیطی که می‌تواند بر عملکرد نانوذرات پراکسید کلسیم در آب مؤثر باشد، pH است. به همین دلیل، اثر pHهای اولیه مختلف، اسیدی (pH3)، خنثی (pH7/4) و بازی (pH12) که با محلول NaOH و HCl (1 M) تنظیم شدند، در دمای $15 \pm 0,5^\circ\text{C}$ و در غلظت 20mg/L از نفتالین مطالعه شدند.

3-8-2 بررسی اثر دما بر بازدهی حذف آلاینده

در راستای تعیین اثر دماهای مختلف بر بازدهی نانوذرات پراکسید کلسیم در پاکسازی نفتالین از آب زیرزمینی، تأثیر دماهای 4، 15 و $30 \pm 0,5^\circ\text{C}$ بر عملکرد CaO_2 در pH 7/4 بررسی شد.

3- نتایج و بحث

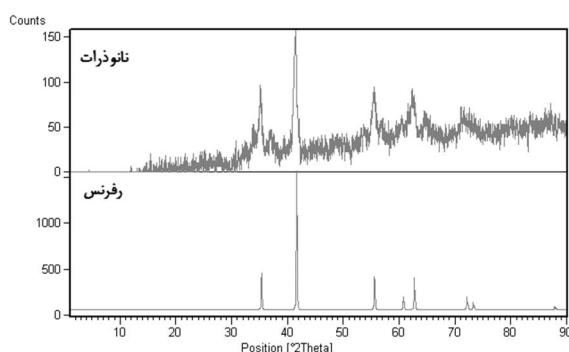
1-3 بررسی عملکرد نانوذرات پراکسید کلسیم در

آزمایش‌های ناپیوسته

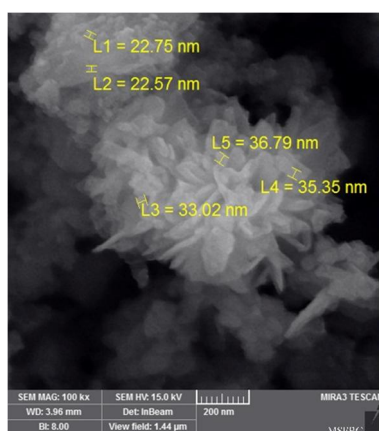
1-1-3 بررسی تأثیر غلظت نانوذرات

پس از سنتز نانوذره، در ابتدا صحت و اندازه و ساختار نانوذره ساخته شده توسط آنالیزهای پراش پرتوایکس و FESEM بررسی شد که نتایج آن در شکل‌های 1 و 2 آورده شده است. همان‌طور که از نتایج مشخص می‌شود پیک‌های مربوط به نانوذره سنتز شده با نمونه استاندارد پراکسید کلسیم کاملاً مطابقت دارد.

1. Batch
2. Vial
3. Head Space



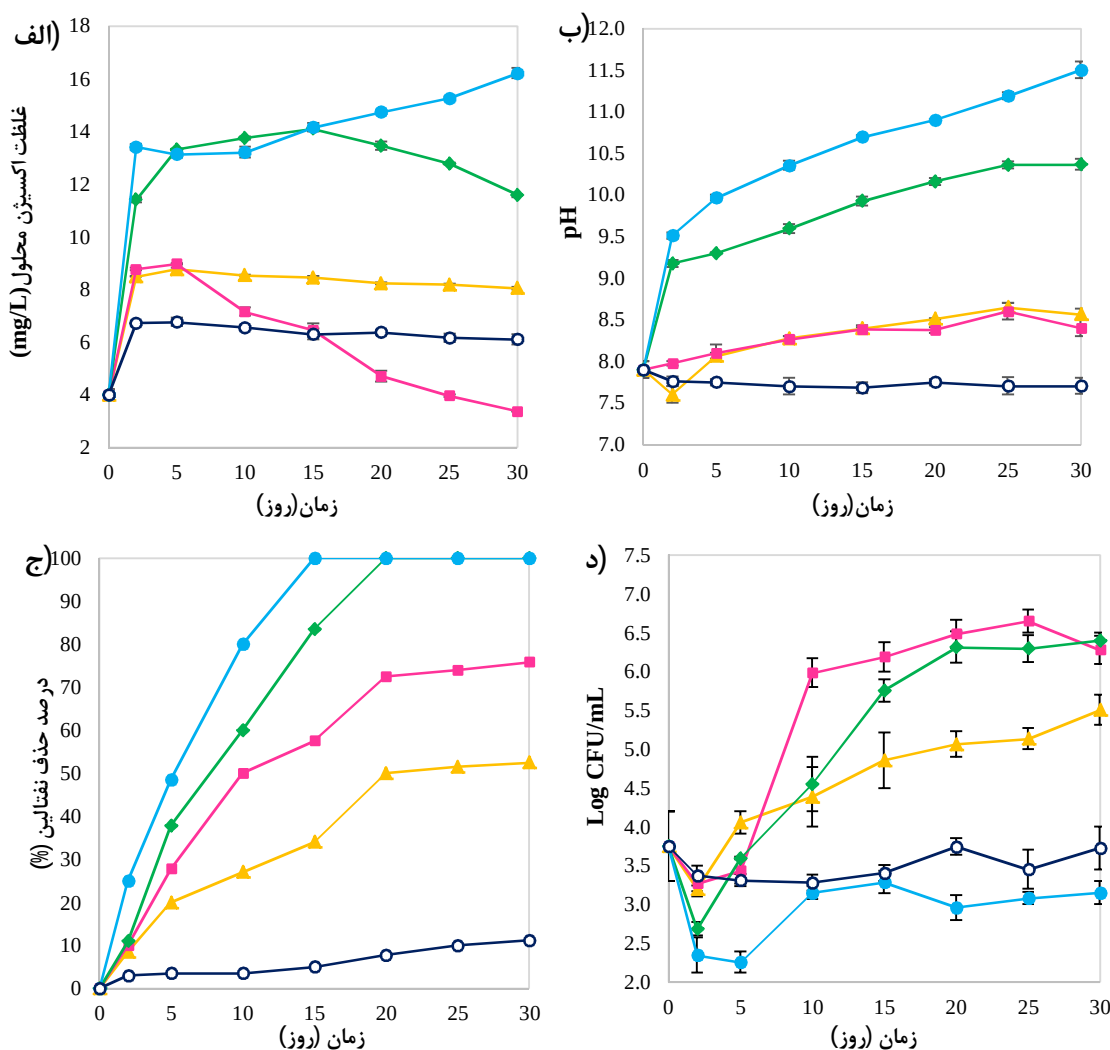
شکل 1 نتیجه به دست آمده از آنالیز پراش اشعه ایکس



شکل 2 نتیجه FESEM سطح نانوذرات پراکسید کلسیم

با توجه به شکل 3، تزریق غلظت 100mg/L از نانوذرات به آب زیرزمینی هرچند در ابتدا قابلیت مناسبی در حذف نفتالین نشان داد، به دلیل پایین بودن محتوای CaO_2 ، میزان اکسیژن محلول از ابتدا روندی کاهشی پیدا کرد و در نهایت طی 30 روز 50/52% از نفتالین اولیه حذف شد.

برای بررسی عملکرد نانوذرات سنتز شده در حذف آلاینده نفتالین از آب زیرزمینی از آزمایش های ناپیوسته استفاده شد. همان طور که پیش تر مطرح شد، افزایش جمعیت میکروبی عاملی مؤثر بر حذف آلاینده از آب زیرزمینی به شمار می آید. از طرفی، غلظت های بالای نانوذرات CaO_2 موجب می شود در آزمایش های ناپیوسته شرایط برای میکروارگانیسم ها تغییر کند و نامطلوب شود.



شکل 3 بررسی غلظت‌های مختلف از CaO_2 در آب زیرزمینی. الف- تغییرات غلظت اکسیژن محلول. ب- تغییرات pH. ج- درصد حذف نفتالین در نمونه‌ها. د- تغییرات جمعیت میکروبی در نمونه‌های آب زیرزمینی.

100 mg/L (▲), 200 mg/L (■), 400 mg/L (◆), 800 mg/L (●) of nanoparticles and the blank sample (○).

نمونه حاوی 400mg/L از CaO_2 ، قابلیت مناسبی در افزایش غلظت اکسیژن محلول نشان داد، اما میزان pH نمونه را به حدی تغییر داد که در ابتدا تعداد جمعیت میکروبی به شدت کاهش یافت. در ادامه، جمعیت میکروبی با سازگاری با محیط جدید، شروع به رشد و فعالیت کرد و تا روز بیستم به جمعیت موجود در غلظت 200mg/L از CaO_2 رسید. همگام با افزایش جمعیت میکروبی، درصد حذف آلاینده نیز افزایش یافت. رشد

نمونه حاوی 200mg/L از نانوذرات، پس از 5 روز از زمان تزریق، با رشد لگاریتمی میکروارگانیسم‌ها مواجه شد که این امر به کاهش غلظت اکسیژن محلول و نهایتاً کاهش سرعت حذف نفتالین از محیط انجامید. در حضور 200mg/L از نانوذرات CaO_2 ، 75/85٪ از نفتالین طی 30 روز حذف شد. با افزایش میزان نانوذرات پراکسید کلسیم در محیط، با توجه به قلیایی شدن محیط، فقط گونه‌های تحمل‌کننده، شرایط قلیایی قابلیت رشد و فعالیت را داشتند.

جمعیتی در این غلظت تا زمانی که میکروارگانیسم قابلیت تحمل این شرایط قلیایی را داشته باشد، پیش خواهد رفت و پس از آن، رو به کاهش خواهد گذاشت. به این ترتیب، پس از گذشت بیست روز از شروع آزمایش، آلاینده نفتالین به طور کامل در حضور 400mg/L از نانوذرات حذف شد. در مقادیر بالاتر از 400mg/L نیز شرایط کاملاً مهارکننده رشد میکروبی بود، به طوری که فراوانی جمعیت میکروبی قابل کشت افت کرد.

در بررسی تأثیر مقدار پراکسید کلسیم در حذف نفتالین مشخص شد که در غلظت 100ppm از این ORC فقط 52/5% نفتالین طی سی روز حذف خواهد شد. با افزایش میزان پراکسید کلسیم به کار رفته، علاوه بر افزایش مقدار اکسیژن محلول، جمعیت میکروبی نیز افزایش یافت. درواقع، فعالیت هم‌زمان میکروارگانیسم‌ها و رادیکال‌های اکسیژن‌دار به حذف موفق آلاینده منجر شد. نکته درخور توجه، حساسیت جمعیت میکروبی به رادیکال‌های حاصل از واکنش پراکسید کلسیم و آب و همچنین pH بالای محیط است. به طوری که در غلظت 800ppm جمعیت میکروبی کاهش زیادی را نشان داد.

کیان و همکاران نیز نشان دادند افزایش مقدار پراکسید کلسیم به کار رفته، به علت افزایش بیش از حد pH و همچنین تولید رادیکال‌های هیدروکسیل، می‌تواند باعث کاهش بسیار زیاد رشد میکروبی شود [34]. مطالعاتی که مکی و همکاران و همچنین گروه تحقیقاتی یه در سال 2010 انجام دادند ارتباط مستقیم ایجاد شرایط هوازی و افزایش حذف آلاینده را نشان داد [29, 30]. در این پژوهش نیز این مطلب تأیید شد. بنابراین، استفاده از غلظت‌های بالای CaO_2 جهت حذف آلاینده در شرایطی که تنوع جمعیتی بستر منطقه مورد مطالعه پایین باشد، توصیه نمی‌شود، زیرا در صورت نبود میکروارگانیسم‌های

قلیادوست یا تحمل‌کننده شرایط قلیایی، حذف توسط میکروارگانیسم‌ها کاهش خواهد یافت.

به طور کلی از نتایج به دست آمده می‌توان استنباط کرد که حفظ غلظت اکسیژن محلول در آب زیرزمینی در بالاتر از 9 mg/L در صورت جلوگیری از افزایش pH به بالاتر از 9، بهترین شرایط برای رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها است. از این اطلاعات می‌توان در مرحله بعد در بررسی عملکرد نانوذرات در جریان پیوسته و مقیاس بالاتر استفاده کرد.

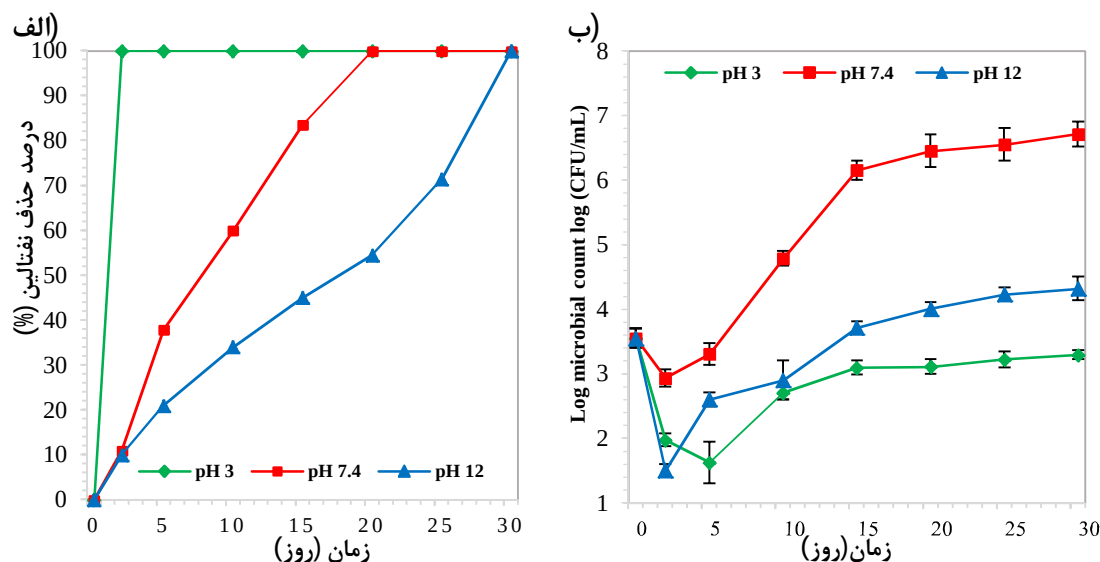
2-2-3 بررسی تأثیر pH بر عملکرد نانوذرات

از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر عملکرد نانوذرات CaO_2 ، pH است که می‌تواند بر سازوکار تجزیه این ترکیبات در آب مؤثر باشد. شکل 4 اثر pH بر بازدهی حذف نفتالین و نیز میزان جمعیت میکروبی موجود در نمونه‌ها را نشان می‌دهد. همان‌طور که از شکل 4-الف مشخص است، با کاهش pH اولیه آب زیرزمینی به 3، تجزیه نانوذرات تسریع و تولید پراکسید هیدروژن افزایش یافت که به دنبال آن آلاینده به طور کامل طی دو روز حذف شد. این امر در جمعیت میکروبی نیز تأثیر خود را به خوبی نشان داد، به گونه‌ای که با افزایش غلظت پراکسید هیدروژن در آب، جمعیت میکروبی نسبت به دو نمونه دیگر کاهش داشت.

در pH خنثی نیز شرایط به نحوی پیش رفت که آلاینده طی بیست روز حذف شد و جمعیت میکروبی نیز به علت مناسب بودن شرایط محیطی برای رشد و تکثیر، افزایش نشان داد. این افزایش به نحوی بود که تا روز 15ام، جمعیت میکروبی به بیش از 10^6 CFU/mL رسید. در عین حال با تغییر pH اولیه محلول به 12، شرایط به نحوی پیش رفت که بازدهی حذف نفتالین از آب زیرزمینی در روز 30 به 100% رسید. با این افزایش pH،

استفاده کنند و در نهایت نیز جمعیت آنها در پایان آزمایش به حدود $2/1 \times 10^4$ CFU/mL رسید.

روند تجزیه‌ای پراکسید کلسیم در آب به سمت تولید بیشتر اکسیژن پیش رفت، درحالی‌که با نامناسب شدن شرایط محیطی جهت فعالیت میکروبی، میکروارگانیسم‌ها قادر نبودند از این اکسیژن مازاد جهت حذف آلاینده



شکل 4 بررسی اثر pH اولیه بر عملکرد CaO_2 در آب زیر زمینی، الف - درصد حذف نفتالین در نمونه‌ها، ب - تغییرات جمعیت میکروبی در نمونه‌های آب زیرزمینی

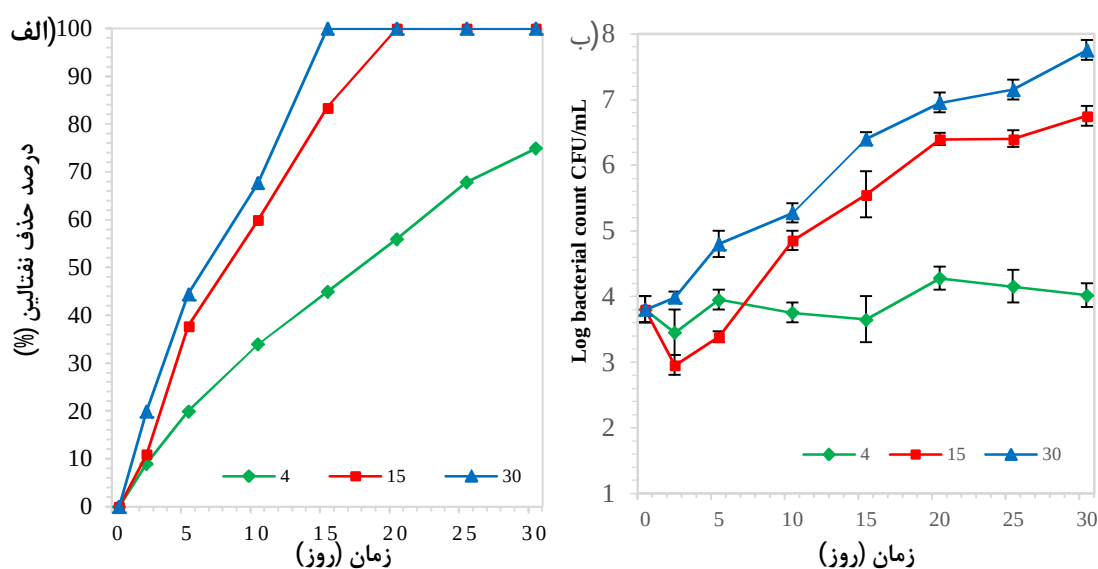
با توجه به pH اولیه آب زیرزمینی که در محدوده 7 تا 8 بود نیز انتظار می‌رفت جمعیت میکروبی در شرایط اسیدی یا قلیایی کاهش یابد، دربارہ تجزیه میکروبی نفتالین در شرایط اسیدی و قلیایی مطالعات اندکی انجام شده است. استاپلتون و همکارانش، تجزیه زیستی ترکیبات پلی‌آروماتیک توسط کنسرسيوم قارچ و باکتری را در خاک‌های اسیدی (pH 2) بررسی کردند [36]. بامفورت و همکارانش نیز نشان دادند که برخی از جدایه‌های محیطی *Pseudomonas sp.* ضمن استفاده از نفتالین به‌عنوان تنها منبع کربن، قادر بودند طی 24 ساعت pH را از 9 به 6/5 کاهش دهند [8]. این نتایج نشان داد میکروارگانیسم‌ها نه تنها در یک محیط آلوده قادرند زندگی کنند، بلکه قادرند ترکیبات چندحلقه‌ای را نیز در شرایط بحرانی (شرایط اسیدی یا قلیایی) متابولیزه کنند.

وانگ و همکاران در سال 2016 با بررسی اثر pH بر میزان توانایی تولید اکسیژن از پراکسید کلسیم نشان دادند که در pH بالاتر، میزان تولید اکسیژن افزایش می‌یابد [35]. نتایج این بررسی نیز با یافته‌های پژوهش مذکور مطابقت داشت، به‌طوری‌که با اسیدی‌شدن محیط سرعت حذف ده برابر افزایش یافت که این امر از افزایش فعالیت تجزیه پراکسید کلسیم و تولید رادیکال آزاد حکایت می‌کرد. با مقایسه جمعیت‌های میکروبی، کاهش سهم زیستی قابل درک بود. مطابق نتایج این پژوهش، pH خنثی به عنوان شرایط بهینه برای فعالیت میکروبی گزارش شد. در این حالت، علاوه بر تأثیر اکسیداسیون‌های شیمیایی، اکسیژن حاصل به تحریک رشد میکروبی منجر شد و طی بیست روز حذف کامل رخ داد. با افزایش pH به مقادیر بالاتر، رشد میکروبی کاهش نشان داد که در نتیجه آن، بازدهی حذف افت کرد.

3-2-3 بررسی تأثیر دما بر عملکرد نانوذرات

دما نیز همچون pH از جمله عوامل بسیار مؤثر بر بازدهی حذف آلاینده‌های هیدروکربنی از آب زیرزمینی در نظر گرفته می‌شود. با توجه به شرایط مختلف آب‌های زیرزمینی، با تغییر عمق آب زیرزمینی و نیز منطقه مورد بررسی، دمای آب کاملاً متفاوت بوده و در محدوده °C $30 \pm 0,5$ - 4 است. به همین ترتیب، برای تعیین اثر دمای آب بر فرایند پاکسازی به روش زیستی و با استفاده از نانوذرات پراکسید کلسیم، دماهای 4، 15 و °C $30 \pm 0,5$ در این پژوهش بررسی شد (شکل 5).

نتایج نشان داد که با افزایش دما، شرایط برای رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها مساعدتر شد. به این ترتیب، حذف آلاینده نیز تسریع و نهایتاً در دمای °C $30 \pm 0,5$ نفتالین طی 15 روز، کاملاً از آب زیرزمینی حذف شد. این مدت جمعیت میکروبی نیز به حدود 10^7 CFU/mL افزایش یافت. این در حالی بود که در دمای °C $15 \pm 0,5$ حذف 100 درصدی آلاینده پس از 20 روز اتفاق افتاد. اما با کاهش دما به °C $4 \pm 0,5$ ، جمعیت میکروبی رشد کمتری یافت و فقط 75% از آلودگی قابلیت حذف را تا انتهای آزمایش داشت.



شکل 5 بررسی اثر دما بر عملکرد CaO_2 در آب زیر زمینی. الف- درصد حذف نفتالین در نمونه‌ها. ب- تغییرات جمعیت میکروبی در نمونه‌های آب زیرزمینی

هرچند که بیشتر مطالعات بر دمای مزوفیل تکیه می‌کنند، برخی از میکروارگانیسم‌ها برای متابولیسم کردن ترکیبات چندحلقه‌ای به دماهای بحرانی (اکس‌تریم) سازگار شده‌اند. برای مثال، تجزیه نفتالین و فنانترون در ترکیب نفت خام در آب دریا در دمای حدود صفر درجه سانتی گراد نیز گزارش شده است [8].

وانگ و همکاران اثر دما بر واکنش پراکسید کلسیم و آب را بررسی کردند. آنها دریافتند با افزایش دما، سرعت واکنش‌ها افزایش یافت، اما تولید اکسیژن به این تغییر

دما از جمله عوامل مهم و مؤثر بر توانایی تجزیه زیستی آلاینده‌ها است. بیشتر مناطق آلوده در تمام فصول در معرض دمای بهینه برای حذف زیستی قرار ندارند. با افزایش دما، حلالیت آلاینده افزایش می‌یابد که این امر باعث خواهد شد دسترسی زیستی افزایش یابد. اما باید توجه کرد که با افزایش دما میزان حلالیت اکسیژن نیز افت خواهد کرد که این امر تجزیه هوازی را تحت تأثیر قرار خواهد داد. به نظر می‌رسد تجزیه ترکیبات چندحلقه‌ای در طیفی گسترده از دماها رخ می‌دهد،

حساس تر بود [35]. در این پژوهش نیز اثر سه دمای مختلف بر واکنش بررسی شد. در دمای پایین رشد میکروبی بسیار کمی مشاهده شد و درواقع حذف بیشتر در اثر اکسیداسیون های شیمیایی رخ داد، اما در دماهای بالاتر، ضمن افزایش جمعیت میکروبی، مدت زمان تجزیه کاهش یافت. درواقع در دمای 30°C ، به علت افزایش اکسیژن و همچنین دمای مطلوب تر، حذف زیستی شدت گرفت. همچنین، افزایش دما علاوه بر تحریک میکروارگانیسم ها جهت رشد هر چه بیشتر، به تجزیه سریع تر نانوذرات نیز کمک کرد.

نتیجه گیری

در این پژوهش، پس از سنتز نانوذرات CaO_2 ، عملکرد این ترکیبات در حذف آلاینده مدل (نفتالین) بررسی شد. با توجه به نتایج به دست آمده مشخص شد که استفاده از 100 mg/L از پراکسید کلسیم، قابلیت بهبود شرایط رشد میکروبی و نیز حذف آلاینده را ندارد. همچنین نتایج آزمایش های ناپیوسته حاکی از این امر بود که غلظت 200 mg/L از نانوذرات، عملکرد مناسبی در حذف نفتالین طی 30 روز بررسی دارد، اما به علت کاهش DO آب، به مرور از سرعت رشد جمعیت کاسته شد. این در حالی بود که استفاده از 400 mg/L نانوذرات در آزمایش ناپیوسته، به بهبود شرایط محیطی به نحوی که میکروارگانیسم ها قابلیت رشد مناسب را داشته باشند منجر شد. در انتهای آزمایش (روز 30 ام)، میزان حذف نفتالین در نمونه حاوی 100 mg/L از نانوذرات 52/5%، در نمونه با 200 mg/L از نانوذرات، 75/85% و در نمونه های حاوی 400 و 800 mg/L نانوذرات 100% حذف مشاهده شد. نتایج به دست آمده نشان داد که بین میزان جمعیت میکروبی و حذف آلاینده رابطه کاملاً مستقیمی وجود دارد. به طور کلی از نتایج به دست آمده می توان دریافت که حفظ غلظت اکسیژن در بستر در بالاتر از 9 mg/L و نیز جلوگیری از افزایش pH به بالاتر از 9، مناسب ترین شرایط جهت رشد

و فعالیت میکروارگانیسم ها و حذف زیستی آلاینده از آب زیرزمینی است. در عین حال با بررسی اثر pH و نیز دما بر بازدهی حذف و میزان جمعیت میکروبی آب زیرزمینی در آزمایش های ناپیوسته مشخص شد که کاهش pH به حدود 3 می تواند موجب تسریع تجزیه پراکسید کلسیم و نیز اکسیداسیون سریع آلاینده به صورت شیمیایی شود و در عین حال عاملی مهارکننده جهت رشد میکروارگانیسم ها باشد. تغییرات دمایی نیز تأثیری بسیار مهم بر عملکرد نانوذرات نشان داد. به این ترتیب که در دماهای بالاتر، جمعیت میکروبی رشد بهتری نشان داد و به حذف مناسب آلاینده منجر شد. در عین حال با کاهش دما، رشد میکروبی نسبتاً مهار شد و عمده حذف آلاینده به صورت شیمیایی صورت پذیرفت. حذف کامل آلاینده در pH های 3، 7/4 و 12 به ترتیب در روزهای 2، 20 و 30 صورت گرفت. همچنین نفتالین در دماهای 15 و 30°C ± 0.5 به ترتیب در روزهای 15 و 20، کامل از آب زیرزمینی حذف شد. در عین حال با کاهش دما بازدهی حذف آلودگی در روز 30 به 75% رسید. در این پژوهش، بررسی های دقیق در زمینه عوامل مؤثر بر نحوه عملکرد نانوذرات پراکسید کلسیم در آب زیرزمینی در زمینه پاکسازی آلاینده چندحلقه ای نفتالین صورت پذیرفت که به دستیابی به اطلاعاتی کاربردی در این امر منجر شد. پیشنهاد این پژوهش جهت ارزیابی کارایی نانوذرات پراکسید کلسیم در شرایط بهینه، بررسی عملکرد آنها در سامانه دیواره واکنشگر تراوا¹ (PRB) است.

منابع

1. Thiruvengkatachari, R., S. Vigneswaran, and R. Naidu, Permeable reactive barrier for groundwater remediation. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2008. 14(2): p. 145-156.
2. Ferreira, L., et al., Preliminary testing and design of permeable bioreactive barrier for phenanthrene degradation by *Pseudomonas*

1 Permeable reactive barrier

Future perspectives. *Environmental Pollution*, 2020. 259: p. 113694.

14. Peluffo, M., et al., Strategies for oxidation of PAHs in aged contaminated soil by batch reactors. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2018. 151: p. 76-82.

15. Andrade, L.N., et al., Performance of different oxidants in the presence of oxisol: Remediation of groundwater contaminated by gasoline/ethanol blend. *Chemical Engineering Journal*, 2017. 308: p. 428-437.

16. Yang, X., et al., Enhanced phenanthrene degradation in river sediments using a combination of biochar and nitrate. *Science of The Total Environment*, 2018. 619: p. 600-605.

17. Villaverde, J., et al., Combined use of microbial consortia isolated from different agricultural soils and cyclodextrin as a bioremediation technique for herbicide contaminated soils. *Chemosphere*, 2018. 193: p. 118-125.

18. Ławniczak, Ł., et al., Microbial degradation of hydrocarbons—Basic principles for bioremediation: A review. *Molecules*, 2020. 25(4): p. 856.

19. Chevalier, L. and C.D. McCann, Feasibility of calcium peroxide as an oxygen releasing compound in treatment walls. *International Journal of Environment and Waste Management*, 2008. 2(3): p. 245-256.

20. Xue, Y., et al., Simultaneous removal of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene (BTEX) by CaO₂ based Fenton system: Enhanced degradation by chelating agents. *Chemical Engineering Journal*, 2018. 331: p. 255-264.

21. Lu, S., X. Zhang, and Y. Xue, Application of calcium peroxide in water and soil treatment: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 2017.

22. Mosmeri, H., et al., Bioremediation of benzene-contaminated groundwater by calcium peroxide (CaO₂) nanoparticles: Continuous-flow and biodiversity studies. *Journal of hazardous materials*, 2019. 371: p. 183-190.

23. Gholami, F., et al., Application of encapsulated magnesium peroxide (MgO₂) nanoparticles in permeable reactive barrier (PRB) for naphthalene and toluene bioremediation from groundwater. *Science of The Total Environment*, 2019. 655: p. 633-640.

24. Mosmeri, H., et al., Controlled-release oxygen nanocomposite for bioremediation of benzene contaminated groundwater, in *New Polymer*

stutzeriCECT 930 immobilized in hydrogel matrices. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2015. 90(3): p. 500-506.

3. Bedessem, M.E., N.G. Swoboda-Colberg, and P.J.S. Colberg, Naphthalene mineralization coupled to sulfate reduction in aquifer-derived enrichments. *FEMS Microbiology Letters*, 1997. 152(2): p. 213-218.

4. Majone, M., et al., In situ groundwater and sediment bioremediation: barriers and perspectives at European contaminated sites. *New biotechnology*, 2015. 32(1): p. 133-146.

5. Jones, M.D., et al., Stable-isotope probing of the polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterial guild in a contaminated soil. *Environ Microbiol*, 2011. 13(10): p. 2623-32.

6. Höckenreiner, M., H. Neugebauer, and L. Elango, Ex situ bioremediation method for the treatment of groundwater contaminated with PAHs. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2015. 12(1): p. 285-296.

7. Rajasekhar, B., I.M. Nambi, and S.K. Govindarajan, Human health risk assessment of ground water contaminated with petroleum PAHs using Monte Carlo simulations: A case study of an Indian metropolitan city. *Journal of environmental management*, 2018. 205: p. 183-191.

8. Bamforth, S.M. and I. Singleton, Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2005. 80(7): p. 723-736.

9. Adekunle, A.S., et al., Determination of polycyclic aromatic hydrocarbon levels of groundwater in Ife north local government area of Osun state, Nigeria. *Toxicol Rep*, 2017. 4: p. 39-48.

10. Malima, N.M., et al., Development of cost-effective and eco-friendly adsorbent by direct physical activation of Tanzanian Malangali kaolinite for efficient removal of heavy metals. *Materials Today: Proceedings*, 2020.

11. Hou, X., et al., Persulfate activation induced by ascorbic acid for efficient organic pollutants oxidation. *Chemical Engineering Journal*, 2020. 382: p. 122355.

12. Singh, S., et al., Current advancement and future prospect of biosorbents for bioremediation. *Science of The Total Environment*, 2020. 709: p. 135895.

13. Al-Thani, R. and B. Yasseen, Phytoremediation of polluted soils and waters by native Qatari plants:

- community distribution and removal efficiencies. *J Hazard Mater*, 2010. 178(1-3): p. 74-80.
31. Daghighi, M., et al., Hydrocarbon degrading microbial communities in bench scale aerobic biobarriers for gasoline contaminated groundwater treatment. *Chemosphere*, 2015. 130: p. 34-9.
32. Yeh, C.S., et al., Synthesis and characterization of stabilized oxygen-releasing CaO₂ nanoparticles for bioremediation. *Journal of environmental management*, 2018. 212: p. 17-22.
33. Mosmeri, H., et al., Benzene-contaminated groundwater remediation using calcium peroxide nanoparticles: synthesis and process optimization. *Environmental monitoring and assessment*, 2017. 189(9): p. 452.
34. Qian, Y., et al., Performance and properties of nanoscale calcium peroxide for toluene removal. *Chemosphere*, 2013. 91(5): p. 717-723.
35. Wang, H., et al., Properties of calcium peroxide for release of hydrogen peroxide and oxygen: A kinetics study. *Chemical Engineering Journal*, 2016. 303: p. 450-457.
36. Stapleton, R.D., et al., Biodegradation of aromatic hydrocarbons in an extremely acidic environment. *Applied and environmental microbiology*, 1998. 64(11): p. 4180-4184.
- Nanocomposites for Environmental Remediation. 2018, Elsevier. p. 601-622.
25. Northup, A. and D. Cassidy, Calcium peroxide (CaO₂) for use in modified Fenton chemistry. *Journal of Hazardous Materials*, 2008. 152(3): p. 1164-1170.
26. Pardieck, D.L., E.J. Bouwer, and A.T. Stone, Hydrogen peroxide use to increase oxidant capacity for in situ bioremediation of contaminated soils and aquifers: A review. *Journal of Contaminant Hydrology*, 1992. 9(3): p. 221-242.
27. Xin, B.P., et al., Bioaugmented remediation of high concentration BTEX-contaminated groundwater by permeable reactive barrier with immobilized bead. *J Hazard Mater*, 2013. 244-245: p. 765-72.
28. Abdallah, E., A.A. Goncalves, and G.A. Gagnon, Oxygen release compound as a chemical treatment for nutrient rich estuary sediments and water. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, 2009. 44(7): p. 707-13.
29. Mackay, D., et al., In situ treatment of MTBE-contaminated groundwater at two sites in California. *IAHS PUBLICATION*, 2002: p. 333-340.
30. Yeh, C.H., C.W. Lin, and C.H. Wu, A permeable reactive barrier for the bioremediation of BTEX-contaminated groundwater: Microbial

Application of calcium peroxide (CaO_2) nanoparticles in naphthalene remediation from Groundwater: study the effect of temperature and pH on remediation efficiency

Fatemeh Gholami¹, Mahmoud Shavandi², Seyed Mohammad Mehdi Dastgheib³,
Mohammad Ali Amoozegar^{4,*}

1. PhD graduate, Department of Microbiology, Faculty of Biology, University of Tehran, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Ecology and Environmental Pollution Control Research Group, Research Institute of Petroleum Industry, Tehran, Iran
3. Assistant Professor, Microbiology and Biotechnology Group, Environment and Biotechnology Research Division, Research Institute of Petroleum Industry, Tehran, Iran
4. Professor, Department of Microbiology, Faculty of Biology, University of Tehran, Tehran, Iran

Accepted: 2020/10/27

Received: 2019/9/4

*Corresponding author: amoozegar@ut.ac.ir

Abstract:

Application of oxygen releasing compounds (ORCs) is considered as a novel method in petroleum hydrocarbon remediation from groundwater. ORCs destroy chemically the contaminant releasing free radicals, or they biologically remove the pollution by biostimulation of the groundwater native microorganisms aerobically. In the present study, calcium peroxide (CaO_2) nanoparticles were applied to supply the required oxygen for growth and activity of the native microorganisms to consume naphthalene (20 ppm) as a carbon source. Additionally, the effect of CaO_2 content, temperature and pH on the performance of nanoparticles were investigated in the naphthalene removal. The results indicated that the microbial population was sharply increased in the presence of 400 mg/L of nanoparticles and at 30°C and the contaminant was completely removed after 20 days at neutral pH. Furthermore, naphthalene was 100% remediated from groundwater at pH 3, 7.4 and 12 after 2, 20 and 30 days, respectively. This proved the acceleration of chemical oxidation under the acidic condition. At 15 and 30 ± 0.5 °C the contaminant was removed from the media within 15 and 20 days respectively. Meanwhile, only 75% of contaminant was remediated from groundwater within 30 days at 4 ± 0.5°C which was due to the reduction in the biological activity and the chemical reaction rate.

Keywords: petroleum contaminant, groundwater, naphthalene, nanoparticles of oxygen releasing, bioremediation, CaO_2