حذف آلاینده‌های نفتی با استفاده از میکروارگانیسم‌ها

سحاب علی نجفی* ■ مدیریت نظارت بر تولید نفت و گاز

چکیده

در این تحقیق تجزیه زیستی هیدروکربن‌های نفتی توسط گونه‌های میکروبی موجود در خاک آلوده به مواد نفتی به‌منظور بررسی قابلیت این دسته از میکروارگانیسم‌ها در راستای حذف آلاینده‌های نفتی مورد مطالعه قرار می‌گیرد. خاک آلوده به مواد نفتی از پالایشگاه کرمانشاه جمع آوری شده و تلقیح میکروارگانیسم‌ها در سه مرحله کشت در محیط جامد، غنی‌سازی و کشت در محیط آبی انجام می‌شود. حذف هیدروکربن‌های نفتی در شرایط هوازی در یک رآکتور بیولوژیکی محتوی میکروارگانیسم‌های کشت شده انجام می‌گردد. رآکتور با ظرفیت ۳۶ لیتر به دو بخش هوازی و ته‌نشینی تقسیم شده و بر اساس سیستم لجن فعال کار می‌کند. باکتری‌های تلقیح شده که عمدتاً شامل دو گونه باسیلوس و سودوموناس هستند قادرند از هیدروکربن‌های نفتی به‌عنوان منبع کربن و انرژی استفاده کنند. همچنین تأثیر عواملی نظیر دما، PH، مواد مغذی و زمان ماند بر عملکرد رآکتور مورد بررسی قرار می‌گیرد. تجزیه زیستی هیدروکربن‌های نفتی توسط باکتری‌های تلقیح شده منجر به کاهش قابل‌ملاحظه سطح هیدروکربن‌های نفتی در پسآب خروجی می‌گردد.

واژگان کلیدی تجزیه زیستی، باسیلوس، سودوموناس، هیدروکربن‌های نفتی، آلاینده‌های نفتی

مقدمه

با افزایش حجم و تنوع آلاینده‌های زیست‌محیطی، حفظ و حراست از محیط زیست و منابع طبیعی بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است. ترکیبات هیدروکربنی موجود در نفت‌خام یکی از انواع آلاینده‌هایی هستند که به‌طور متناوب، در حجم‌های نسبتاً زیاد و از راه‌های متعدد وارد محیط زیست می‌شوند. این آلاینده‌ها عمدتاً شامل آلکان‌ها و پارافین‌های یک تا ۴۰ کربنه، سیکلوآلکان‌ها و آروماتیک‌ها هستند. آزادسازی این مواد در محیط زیست یا سوزاندن آنها بدون فرآوری، مشکلات بسیاری برای اکوسیستم ایجاد می‌کند. در سال‌های اخیر تحقیقات گسترده‌ای برای یافتن روش‌های مؤثر جهت حذف آلودگی‌های نفتی انجام شده است. یکی از این روش‌ها تجزیه بیولوژیکی[1] مواد نفتی به کمک باکتری‌هاست.

مطالعات بسیاری نشان داده که در محیط‌های آبی و خاکی، میکروارگانیسم‌ها (قارچ‌ها، باکتری‌ها و مخمرها) عوامل اصلی تجزیه مولکول‌های آلاینده از جمله هیدروکربن‌های نفتی هستند. میکروارگانیسم‌های انتخابی باید قادر به پذیرش هیدروکربن‌ها به‌عنوان سوبسترا (مادهٔ اولیه) باشند. این میکروارگانیسم‌ها باید توانایی سنتز آنزیم‌هایی با قدرت تسریع واکنش هضمی هیدروکربن‌ها را داشته باشند و علاوه بر این فرآورده‌های ایجاد شده توسط آنها برای محیط زیست مضر نباشد. با این وجود هیچ میکروارگانیسمی به‌تنهایی قادر به تجزیهٔ کامل نفت‌خام نیست[۶و۵].

تجزیهٔ نفت‌خام شامل یک‌سری واکنش‌های زنجیره‌ای و رویه جلو است که در آنها میکروارگانیسم‌های اختصاصی، حمله اولیه را به ترکیبات نفتی انجام می‌دهند. این فرآیند منجر به تولید ترکیبات حد واسط شده که در نتیجه به مصرف دستهٔ دیگری از میکروارگانیسم‌ها خواهند رسید. میکروارگانیسم‌های بومی منطقه[2] یا به اختصار IMOهای موجود در خاک‌ها و آب‌های زیرزمینی مناطق نفتی که به مرور زمان به این شرایط سخت عادت کرده‌اند می‌توانند از کربن موجود در آلاینده‌ها به‌عنوان منبع انرژی استفاده کرده و رشد کنند. این میکروب‌ها آلاینده‌های نفتی را به محصولات نهایی (دی‌اکسیدکربن و آب) تبدیل

*نویسندهٔ عهده‌دار مکاتبات (sahab.alinajafi@yahoo.com)

می‌کنند. با وجود تحقیقات بسیار در زمینه تصفیه بیولوژیکی و نتایج خوبِ حاصل شده، ضروری است به‌منظور افزایش بازده تصفیه، عوامل بسیاری از جمله غلظت بیوماس[3] یا زیست‌توده، تنوع میکروارگانیسم‌های موجود در آب و خاک، نرخ رشد باکتری‌ها[4]، ماهیت و غلظت آلاینده‌ها، ساختار شیمیایی ترکیبات آلی موجود در آلاینده‌ها، سمّی بودن آلاینده‌ها و حضور مواد مغذی موجود در محیط برای رشد میکروارگانیسم‌ها بررسی و بهینه شوند[۱]. هدف این مطالعه، طراحی و ارزیابی یک سیستم زیست‌پالایی جهت کاهش و حذف آلاینده‌های هیدروکربنی با استفاده از میکروارگانیسم‌های موجود در خاک آلوده است.

۱- مواد و روش‌ها

۱-۱- کشت میکروارگانیسم‌ها

به‌منظور کشت میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های نفتی، در این مطالعه از نمونهٔ خاک آلوده به نفت‌خام موجود در پالایشگاه کرمانشاه استفاده شده است. نوع و میزان هیدروکربن‌های موجود در نفت‌خام مطابق جدول-۱ است.

جدول ۱ | هیدروکربن‌های موجود در برش نفت‌خام در دمای ۶۵°C-۱۵

هیدروکربن	درصد در برش	درصد در مخلوط
۱ بوتان	۰/۱	ناچیز
نرمال بوتان	۱/۵	۰/۰۷
۱ پنتان	۱۷/۵	۰/۷۹
نرمال پنتان	۲۷/۲	۱/۲۳
۲و۲ دی‌متیل بوتان	۱	۰/۰۵
۲و۳ دی‌متیل بوتان	۳/۹	۰/۱۸
۲ متیل پنتان	۱۷/۶	۰/۸
۳ متیل پنتان	۱۰/۲	۰/۴۶
نرمال هگزان	۱۶/۳	۰/۷۴
۲و۴ دی‌متیل پنتان + متیل سیکلو پنتان	۲/۴	۰/۱۱
بنزن	۱/۲	۰/۰۵
سیکلو هگزان	۰/۳	۰/۰۱
ترکیبات سنگین	۰/۸	۰/۰۴
مجموع	۱۰۰	۴/۵۳

میکروارگانیسم‌های کشت‌شده می‌توانند از نفت به‌عنوان منبع کربن و انرژی استفاده کرده و هیدروکربن‌های نفتی را به ترکیباتی ساده‌تر و کم‌خطرتر تبدیل کنند. از طرفی با توجه به اینکه میکروب‌های کشت‌شده، از خاک آلوده به مواد نفتی گرفته شده‌اند می‌توان انتظار داشت که این دسته از میکروب‌ها به شرایط آلوده عادت کرده و روی محیط انتخابی رشد کنند. این مورد از مزایای روش حاضر به‌شمار می‌آید.

فرآیند کشت در دو مرحله کشت در محیط جامد و کشت در محیط مایع صورت می‌پذیرد. میکروارگانیسم‌های کشت‌شده از جنس باکتری‌های باسیلوس[5] و سودوموناس[6] انتخاب شده‌اند. شناسایی و افتراق این باکتری‌ها با استفاده از محیط کشت بلادآگار[7] و در مؤسسه انستیتو پاستور ایران صورت گرفته است (شکل‌های-۱و۲).

فرآیند کشت میکروارگانیسم‌ها به‌اختصار عبارتند از:

- ساخت محیط کشت (برای کشت باکتری‌ها از محیط کشت براث[8] ساخت شرکت شارلو[9] استفاده شده است. مشخصات این محیط که شامل مواد مغذی لازم برای رشد میکروارگانیسم‌ها بوده در جدول-۲ ارائه شده است)
- اتوکلاو[10] یا استریل کردن محیط کشت
- افزودن خاک آلوده به مواد نفتی به محیط کشت به‌عنوان ماده اولیه یا سوبسترا
- انکوباسیون[11]
- غنی‌سازی[12]

۱-۲- تجزیه هیدروکربن‌های نفتی

به‌منظور تجزیه هیدروکربن‌های نفتی از یک رآکتور بیولوژیکی استفاده می‌شود (شکل-۳). رآکتور با پسآب مصنوعی (مخلوط آب و نفت‌خام) پر شده و میکروارگانیسم‌های کشت‌شده در مرحله قبل به محتویات رآکتور اضافه می‌شود. رآکتور مورد استفاده شامل دو بخش مخزن هوادهی[13] و مخزن ته‌نشینی[14] می‌باشد. این دو بخش از طریق یک دیوارک[15] که از کف رآکتور فاصله دارد از هم جدا می‌شوند. بدین ترتیب سیال از طریق این فضای آزاد قادر است بین دو تانک جریان پیدا کند. جنس رآکتور از ورقه‌های پلکسی گلاس[16] به ضخامت ۵ میلی‌متر بوده و ابعاد رآکتور به‌گونه‌ای است که حجم عملیاتی آن حدود ۳۶ لیتر است. تانک هوادهی مجهز به یک پمپ هواست که اکسیژن مورد نیاز میکروارگانیسم‌ها را فراهم می‌کند. هوا از طریق افشانه‌ها به‌صورت حباب درون تانک هوادهی پخش می‌شود. حباب‌های آزاد شده علاوه بر اینکه اکسیژن مورد نیاز باکتری‌ها را فراهم می‌کنند باعث تلاطم[17] در سیستم و مخلوط‌شدن محتویات تانک هوادهی می‌شوند. در واقع این حباب‌ها نقش همزن را نیز بازی می‌کنند.

با پر شدن رآکتور از سیال و شروع به کار پمپ هوادهی، سیال از قسمت فوقانی دیوارک به تانک ته‌نشینی سرریز شده و دوباره از قسمت انتهایی دیوارک که آزاد است به تانک هوادهی مکیده می‌شود. به این ترتیب امکان گردش سیال (سیرکولاسیون[18]) به‌وجود خواهد آمد. پس از گذشت مدت

شکل ۱ | کلونی‌های باسیلوس در محیط بلادآگار

شکل ۲ | کلونی‌های سودوموناس در محیط بلادآگار

زمان مناسب، باکتری‌های موجود در رآکتور تکثیر شده و به‌همراه مواد حاصل از تجزیه هیدروکربن‌ها (زیست‌توده) توده‌ای لجنی ایجاد می‌کنند که در اصطلاح مهندسی لجن فعال[۱۹] نامیده می‌شود.

به‌منظور بررسی کارایی رآکتور، در زمان‌های متناوب نمونه گیری از محتویات آن انجام شده و نمونه‌ها جهت سنجش میزان کل هیدروکربن نفتی یا TPH[۲۰] آزمایش می‌شوند. برای سنجش سطح TPH از حلال بنزین سبک یا هگزان استفاده کرده و طی عملیات استخراج مایع-مایع، هیدروکربن‌های موجود در نمونه‌ها استخراج شده و با استفاده از روش‌های وزن‌سنجی، سطح هیدروکربن‌های نفتی را از طریق تغییر وزن حلال اندازه‌گیری می‌کنند. با توجه به اختلاف سطح اولیه و نهایی TPH می‌توان کارایی رآکتور را محاسبه کرد.

۲- نتایج و بحث

۲-۱- اثر زمانِ ماند HRT[۲۱]

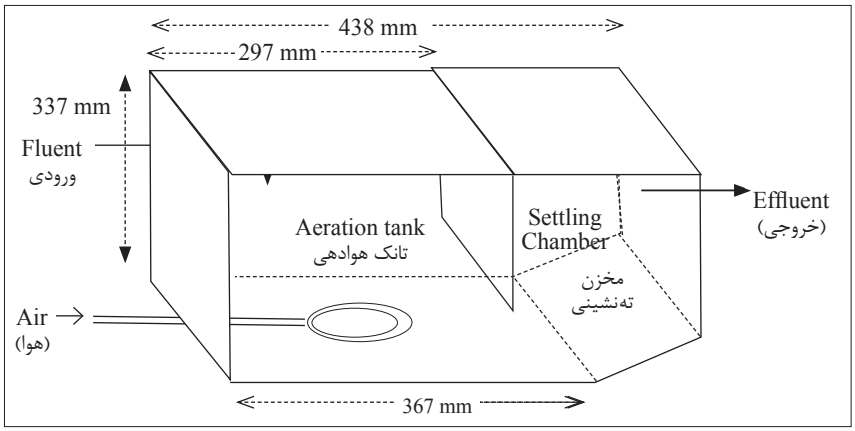
نتایج حاصل نشان داد که میکروارگانیسم‌ها طی پنج روز سطح TPH را از مقدار اولیه ۸۳ppm به مقدار نهایی ۳۰ppm کاهش دادند که این امر نشان‌دهنده کارایی ۶۳ درصدی باکتری‌ها در زمینه حذف و تصفیه هیدروکربن‌های نفتی است. همچنین نتایج آزمایش دیگری با شرایط عملیاتی مشابه نشان داد که سطح TPH طی ده روز از ۱۳۸ppm به مقدار نهایی ۷ppm کاهش یافت که این امر نشان‌دهنده کارایی ۹۴ درصدی باکتری‌ها در حذف هیدروکربن‌هاست. نکته قابل توجه اینکه با افزایش زمانِ ماند هیدرولیکی سیستم، با وجود افزایش غلظت اولیه نفت‌خام، درصد بسیار بیشتری از ترکیبات نفتی قابل تجزیه هستند. این نتایج نشان می‌دهد که زمانِ ماند نقش بسیار مؤثری بر کارایی فرآیند داشته و به بهبود عملکرد سیستم کمک می‌کند. در رآکتورهای ناپیوسته[۲۲]، زمانِ ماند معادل زمانی است که محتویات رآکتور درون آن باقی می‌مانند. اما در رآکتورهای پیوسته، زمانِ ماند از تقسیم حجم رآکتور بر نرخ حجمی ورودی به آن محاسبه می‌شود.

اغلب میکروارگانیسم‌ها جهت سازگاری با شرایط جدید نیازمند زمان هستند و تا قبل از رسیدن به شرایط پایدار در وضعیت گذار قرار داشته و پس از عبور از شرایط گذار، هیدروکربن‌ها را با شدت ثابت هضم خواهند کرد. در زمان‌های ماند زیاد، دوره گذار به‌اتمام رسیده و میکروارگانیسم‌ها به تخریب هیدروکربن‌ها خواهند پرداخت. در صورتی که در زمان‌های ماندِ کوتاه، این دوره تکمیل نشده و کارایی آن چندان زیاد نخواهد بود.

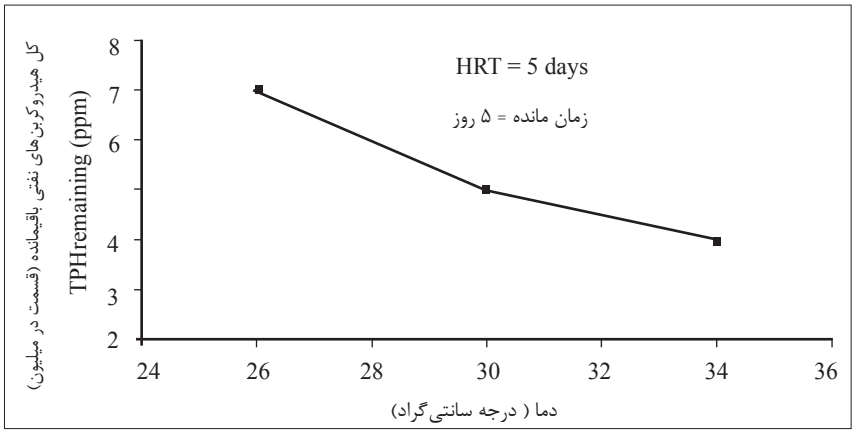
هرچه زمانِ ماند افزایش یابد، جمعیت میکروبی سیستم بیشتر خواهد شد که این امر منجر به افزایش حجم آنزیم سنتز و کارایی سیستم می‌گردد. افزایش زمانِ ماند سبب می‌شود تا میکروب‌ها فرصت بیشتری جهت تلقیح و عادت‌کردن به آلایندگی پیدا کرده و بتوانند درصد بیشتری از ترکیبات را تخریب کنند.

نکته دیگر در این زمینه غلظت زیست‌توده در سیستم است که با افزایش زمانِ ماند افزایش می‌یابد. لجن تولیدی در سیستم مثل یک لایه محافظ، میکروارگانیسم‌ها را در برابر اثر منفی آلایندگی‌ها محافظت کرده و موجب افزایش مقاومت آن خواهد شد. این مورد به‌ویژه در سیستم‌هایی که با مواد سمّی از جمله ترکیبات فنولیک سروکار داریم از اهمیت بیشتری برخوردار است [۴].

از سوی دیگر افزایش بیش از اندازهٔ زمانِ ماند هیدرولیکی باعث می‌شود در اثر کاهش



شکل ۳ | شماتیک سامانه زیست‌پالایی (رآکتور بیولوژیکی)



شکل ۴ | اثر دما بر عملکرد رآکتور در حضور مواد مغذی

جدول ۲ | مشخصات محیط کشت براث

کمیت	مقدار
Casein Peptone (g/l)	۱۰
Yeast Extract (g/l)	۵
PH	۷/۲(±۰/۲)

قابل‌ملاحظه سطح TPH، میکروارگانیسم‌ها جهت بقای خود وارد فاز تنفس خودتخریبی گردند. بنابراین در سیستم‌های بیولوژیکی رسیدن به کارایی ۱۰۰ درصد از طریق افزایش زمانِ ماند، غیرممکن است.

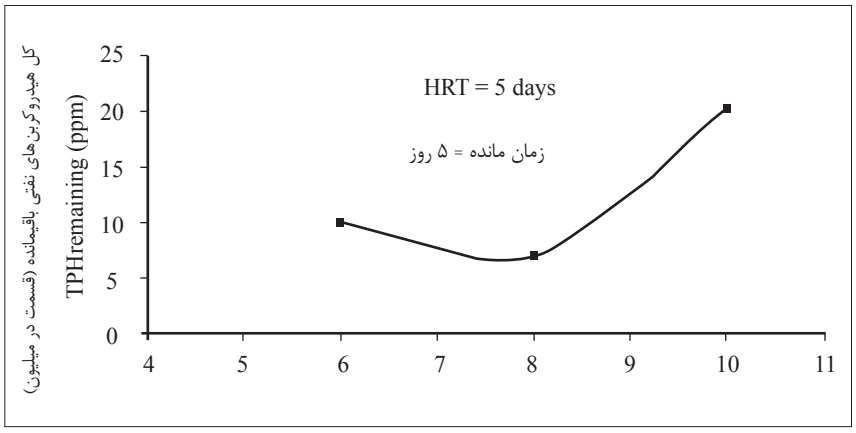
۲-۲-اثر دما

نتایج آزمایش‌های دمایی در حضور مواد مغذی نشان داده که افزایش دما تا حدودی موجب بهبود عملکرد سیستم می‌شود. افزایش دما موجب افزایش انحلال‌پذیری آلاینده‌ها و در نتیجه افزایش در دسترس‌بودن ماده اولیه[۲۳]- آلاینده - برای میکروارگانیسم خواهد شد (شکل-۴).

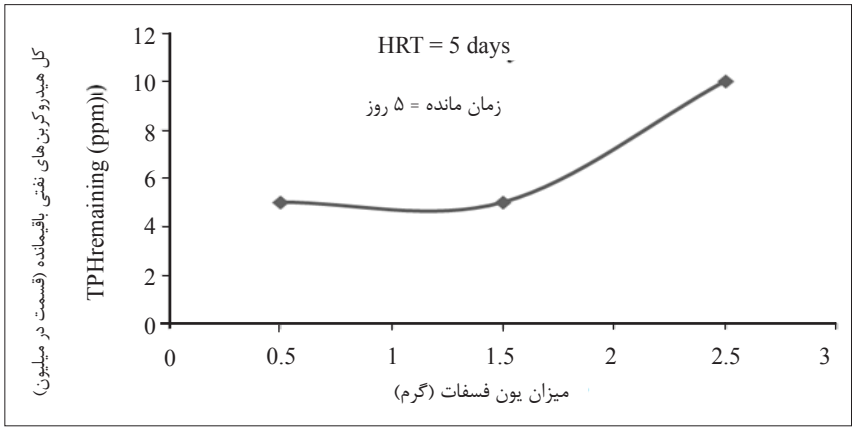
برخی میکروارگانیسم‌ها در دمای زیاد عملکرد آنزیمی بهتری خواهند داشت که در اصطلاح گرمادوست[۲۴] گفته می‌شوند. باکتری‌های به‌کار رفته در این آزمایش نیز جزء میکروارگانیسم‌هایی هستند که افزایش دما تأثیر مطلوبی بر عملکرد آنها دارد.

۲-۳-اثر PH

یکی از عوامل مؤثر بر فرآیندهای زیستی (بیولوژیکی)، PH محیط است. طبق بررسی‌های انجام شده و همچنین شرایط عملیاتی در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی می‌توان نتیجه گرفت که بهترین PH محیط، همان شرایط خنثی است که معمولاً PH برابر ۷ تا ۸ می‌باشد. اغلب باکتری‌ها و قارچ‌ها در PH نزدیک به خنثی رشد می‌کنند. افزایش PH از مقدار خنثی باعث افت قابل‌توجه تجزیه هیدروکربن‌های خاک شده و در بعضی مواقع، PH اسیدی باعث توقف تجزیه بیولوژیکی نیز می‌گردد [۳و۲]. نتایج نشان می‌دهد که رآکتور در حالت خنثی، بیشترین کارایی را خواهد داشت و تغییر PH از حالت خنثی تأثیری منفی بر عملکرد آن دارد (شکل-۵).



شکل ۵ | اثر PH بر عملکرد رآکتور در حضور مواد مغذی



شکل ۶ | اثر یون فسفات بر عملکرد رآکتور در حضور مواد مغذی

۲-۴-اثر نمک‌های فلزی

نمک فسفات پتاسیم به محتویات رآکتور اضافه شد. نتایج حاکی از آنست که افزایش میزان نمک فلزی موجب کاهش بازده رآکتور می‌گردد (شکل-۶) که دلیل این امر خاصیت بازدارندگی ناشی از مصرف آسان یون فسفات توسط میکروارگانیسم‌هاست. میکروارگانیسم‌ها عموماً انرژی مورد نیاز خود را از سوبسترا یا ماده اولیه‌ای که از لحاظ ساختار شیمیایی ساده‌تر است تأمین می‌کنند. یون فسفات از نظر ساختار شیمیایی نسبت به هیدروکربن‌های نفتی بسیار ساده‌تر است و بنابراین به‌راحتی توسط میکروارگانیسم‌ها به‌مصرف می‌رسد. در حالی که هیدروکربن‌های نفتی به‌دلیل ساختار پیچیده‌ای که دارند سخت‌تر تجزیه می‌شوند. دیگر علت کاهش بازده رآکتور در حضور یون فسفات ممکن است میل ترکیبی آن با آنزیم‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های نفتی باشد. در این حالت آنزیم‌های سنتز شده به‌جای تجزیه نفت، با یون فسفات واکنش داده، غلظت این یون را در سیستم کاهش می‌دهند و تأثیری منفی بر کارایی رآکتور خواهند داشت. همچنین با افزودن نمک، یون مثبت فلزی که به‌طور ناخواسته به سیستم تحمیل گردیده، توسط اکسیژن محلول در سیستم اکسیده شده و سبب کاهش سطح اکسیژن محلول یا DO[۲۵] خواهد شد که این امر تأثیری منفی بر رشد میکروارگانیسم‌ها دارد.

۲-۵-اثر افزودن مواد مغذی

نتایج حاصل از آزمایش‌های بالا در حضور مواد مغذی نشان از کارایی خوب رآکتور (با وجود تغییر عواملی نظیر دما و PH) دارد. افزودن محیط کشت که سرشار از مواد مغذی است سبب دریافت انرژی زیادی توسط میکروارگانیسم خواهد شد. با توجه به اینکه میکروارگانیسم‌ها جهت تکثیر نیاز به دریافت انرژی دارند افزودن

محیط کشت غنی‌شده سبب افزایش لگاریتمی جمعیت میکروبی و در نتیجه افزایش حجم آنزیم سنتز و در نهایت افزایش کارایی سیستم می‌شود. نکته دیگر در مورد مواد مغذی و اثر آنها بر رشد میکروارگانیسم‌ها نسبت کربن به نیتروژن به فسفر[26] است. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد میکروارگانیسم‌ها در نسبت‌های بهینه، بهترین شرایط رشد را خواهند داشت. توماس[27] و همکاران نسبت بهینه کربن به نیتروژن به فسفر برای رشد مطلوب میکروارگانیسم‌ها را C:N:P=۱۲۰:۱۰:۱ بیان کرده‌اند [۷]. با توجه به استفاده از نفت‌خام در آزمایش‌ها این نسبت به‌دلیل تحمیل درصد زیادی کربن به سیستم از حالت بهینه خارج می‌شود. بنابراین افزودن مواد مغذی باعث نزدیکی این نسبت به حالت بهینه خواهد شد.

از سوی دیگر محیط کشت استفاده شده در این آزمایش بر آب‌گریزیِ نفت‌خام تأثیرگذار است. با توجه به اینکه نفت‌خام ترکیب آب‌گریزی بوده و از آب سبک‌تر است تمایل دارد همواره روی سطح آب قرار گیرد. این موضوع باعث خارج‌شدن هیدروکربن‌ها از جریان سیال و در نتیجه کاهش در دسترس‌بودن آن به‌عنوان سوبسترا خواهد شد. افزودن محیط کشت، آب‌گریزی نفت را کاهش داده و باعث پخش شدن بهتر آن در فضای رآکتور می‌گردد. نکته بسیار مهم دیگر در مورد مواد مغذی آنست که همواره افزودن این مواد موجب بهبود شرایط عملیاتی و افزایش بازده سیستم نخواهد شد. برخی مواد مغذی از جمله اوره باید در حد متعادل اضافه شوند؛ چراکه اوره اضافی طی فرآیند نیتریفیکاسیون یا شوره‌گذاری به آمونیوم تبدیل می‌شود که برای میکروارگانیسم‌ها بسیار سمی بوده و نتایج کاملاً معکوسی به‌همراه خواهد داشت.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه برخی از عوامل مؤثر بر عملکرد یک سیستم بیولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع نتایج تمامی آزمایش‌ها بیانگر عملکرد خوب و کارایی مناسب رآکتور است. با این حال باید توجه داشت که نتایج حاصل، بر اساس فعالیت‌های آزمایشگاهی بوده و طبعاً طراحی و به‌کارگیری سیستم‌های تصفیه زیستی یا بیولوژیکی در صنعت، تابع عوامل دیگری نیز خواهد بود. به‌ویژه آنکه پسآب به‌کار رفته به‌صورت مصنوعی تولید شده و از نظر خواص شیمیایی با پسآب‌های صنعتی متفاوت است. برخی دیگر از عواملی که باید مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرند عبارتند از:

- خواص خاک مورد استفاده
- نوع میکروارگانیسم مورد استفاده (قارچ، باکتری و....)
- نوع آلایندگی
- اثر یون‌های فلزی.

پانویس‌ها

1. Biodegradation
2. Indigenous Micro Organisms
3. Biomass
4. Growth Rate
5. Gram positive sporulated bacillus
6. Pseudomonas
7. Blood agar
8. Broth
9. Scharlau
10. Autoclave
11. Incubation
12. Enrichment
13. Aeration tank
14. Sedimentation tank
15. Baffle
16. Plexiglas
17. turbolence
18. Circulation
19. Active sludge
20. Total Petroleum Hydrocarbon
21. Hydraulic Residence Time
22. Batch
23. Bioavailability
24. Thermophilic
25. Dissolved Oxygen
26. C:N:P ratio
27. Thomas

منابع

[1] Caperlli, S.M., Busalmen, J. P., (2001), "Hydrocarbon Bioremediation Of A Mineral-Base Contaminated Waste From Crude Oil By Indigenous Bacteria , International Bioremediation & Biodegradation , 47 , 233-238.

[2] Alinajafi S, Rahimpour F (2009).TPH Bioremediation By Microbial Consortium Isolated From Oil Contaminated Soil", 6th International Chemical Engineering Congress & Exhibition.

[3] Alinajafi S, Rahimpour,F (2008), "Bioremediation Of Oil Contaminated Refinery Wastewater" , International Conference On Environment.

[4] Uysal A, Turkman A (2007). Biodegradation Of 4-Cp In An Activated Sludge Reactor: Effect Of Biosurfactant And The Sludge Age. Journal Of Hazardous Material, 21: 71-76.

[5] Yang L, Chen L. S, Li C.F (2000). Biological Cleanup Of Oil Spill On Sandy Beaches By Land Farming Techniques. Water Studies, 8:165-175.

[6] Shape I, Rayner J. L (2005). Investigation Of Evaporation Anbiodegradation Of Feul Spills In Antractia. Environmental International, 26: 233-240.

[7] Thomas, J.M., Ward, C.H., Raymond, R.L., Wilson, J.T., Loehr, R.C.)1992), Bioremediation Encyclopedia Of Microbiology, 1: 369-385.