

An Experimental Evaluation of Biodegradation Gasoline

Mohammad Amin Amini Rad¹, Hassan Amini Rad^{2*} , Daryoush Yousefi Kebria²

1. M. SC. Graduated, Environment group. Faculty of civil and environmental Eng., Noshirvani University of technology, Babol, Iran.
2. Associate professor, Environment Group., Faculty of civil and environmental Eng., Noshirvani University of technology, Babol, Iran.

Abstract

Produced water, which is commonly generated during oil and gas extraction processes, is considered one of the most significant and environmentally challenging byproducts in the petroleum industry. This wastewater typically contains a complex mixture of organic and inorganic pollutants, including high concentrations of dissolved salts, heavy metals, and various hydrocarbons. Due to its large volume, persistent contaminants, and potential environmental risks, effective and sustainable treatment of produced water has become a serious concern for both industry and environmental regulatory agencies. High salinity and the presence of recalcitrant compounds such as diesel fuel further complicate conventional treatment processes and reduce the efficiency of physical or chemical methods. One important feature of this bacterial strain is that at moderate to high salinity levels, it adapts to hypersaline environments by producing proline instead of glutamate and glutamine. Proline, known as a compatible solute, has stronger osmotic properties than glutamate and helps maintain intracellular water balance without damaging proteins or cellular structures, thereby supporting cell survival in high-salinity conditions. In this study, a biological method was experimentally evaluated for the treatment of synthetic produced water contaminated with diesel. The bacterial strain used, *Halobacillus halophilus*, is a halophilic microorganism known for its high tolerance to elevated salt concentrations, making it a suitable candidate for treating hypersaline wastewater. Biodegradation of diesel is particularly challenging due to its hydrophobic nature and complex hydrocarbon structure, which makes it poorly soluble in water and resistant to microbial attack. To overcome these challenges, modifications were applied to the experimental design. To improve microbial growth and enhance metabolic activity, nutrient supplementation with nitrogen (N) and phosphorus (P) was performed. Additionally, emulsifying agents, including Tween 80 and Span 60, were added to increase the bioavailability of diesel by dispersing it into fine droplets in the aqueous phase. A synthetic wastewater containing diesel was prepared based on a carbon/nitrogen/phosphorus (C: N: P) ratio of 110:5:2, which is reported in the literature as optimal for bacterial growth and hydrocarbon biodegradation. The effects of varying diesel concentrations (50 and 100 mg/L) and salinity levels (6, 13, and 35 g/L NaCl) on biodegradation efficiency were investigated under constant temperature and pH conditions. Since high salinity interferes with Chemical Oxygen Demand (COD) testing, Biological Oxygen Demand (BOD) was used as a more accurate indicator for assessing organic pollutant degradation. The BOD values for 50 mg/L diesel at salinities of 6, 13, and 35 g/L were measured as 1500, 1700, and 1800 mg/L, respectively. For 100 mg/L diesel, these values were 2000, 2100, and 1600 mg/L, respectively. These results indicate that the biodegradation efficiency of *H. halophilus* depends on salinity, with optimal performance observed at moderate salinity levels. Interestingly, at 50 mg/L diesel, the reaction rate constant increased with salinity, while at 100 mg/L, biodegradation efficiency decreased at the highest salinity level (35 g/L). These findings suggest that lower salinity (6 g/L) reduces microbial metabolic activity compared to higher levels (13 and 35 g/L), likely due to the halophilic nature of the bacterial strain. This study highlights the critical role of optimizing environmental conditions to ensure effective bioremediation of saline hydrocarbon-contaminated wastewater by *Halobacillus halophilus*.

Review History

Received: Jun 30, 2025

Revised: Sep 16, 2025

Accepted: Dec 10, 2025

Keywords

Produced water

Salinity

BOD

Biodegradation

Halobacillus halophilus

* Corresponding Author Email: h.a.rad@nit.ac.ir - ORCID: 0000-0001-7983-1568

ارزیابی تجربی تجزیه زیستی گازوئیل

محمد امین امینی‌راد^۱، حسن امینی‌راد^{۲*}، داریوش یوسفی کبری^۲

۱. کارشناسی ارشد مهندسی عمران-محیط زیست، دانشکده عمران، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، بابل، ایران.

۲. دانشیار گروه محیط زیست، دانشکده عمران، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، بابل، ایران.

چکیده

تاریخچه داوری

آب همراه نفتی به عنوان یکی از مهم‌ترین جریان‌های پساب در صنعت نفت و گاز، به دلیل دارا بودن آلاینده‌های آلی و معدنی و همچنین شوری زیاد، چالش‌های جدی زیست‌محیطی ایجاد می‌کند. در این تحقیق توانایی سویه باکتری هالوباسیل هالوفیلوس با ویژگی تحمل شوری بالا در فرایندهای زیستی تجزیه مواد آلاینده نفتی به صورت تجربی مورد ارزیابی قرار گرفت. گازوئیل به دلیل سخت‌تجزیه‌پذیری زیستی و به عنوان یکی از آلاینده‌های نفتی، به عنوان آلاینده هدف انتخاب شد. از مواد مغذی (P و N) در محیط رشد و از امولسیفایر Tween ۸۰ و Span ۶۰ استفاده شد. در این ارزیابی، تاثیر غلظت‌های مختلف گازوئیل (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و شوری (۶، ۱۳ و ۳۵ گرم بر لیتر) بر تجزیه زیستی گازوئیل در شرایط دما و pH ثابت مورد بررسی آزمایشگاهی قرار گرفت. مقادیر BOD در شوری‌های ۶، ۱۳ و ۳۵ گرم بر لیتر و در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر گازوئیل، به ترتیب ۱۵۰۰، ۱۷۰۰ و ۱۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و همچنین، در پساب حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر گازوئیل، مقادیر BOD در همین شوری‌ها به ترتیب ۲۰۰۰، ۲۱۰۰ و ۱۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد. آنالیز نتایج فوق می‌توان مشاهده نمود که سویه انتخابی در حذف گازوئیل وابسته به میزان شوری می‌باشد. ضریب ثابت واکنش در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر گازوئیل با افزایش شوری روند افزایشی نشان داد، اما در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و با افزایش شوری تا ۳۵ گرم بر لیتر، کاهش یافت. همچنین تاثیر شوری بر متابولیسم و مکانیسم تجزیه پساب در شوری ۶ گرم در لیتر کاهش چشمگیری نسبت به شوری ۱۳ و ۳۵ گرم در لیتر مشاهده شد.

کلمات کلیدی

آب همراه نفتی

شوری

فرایند زیستی

هالوباسیل هالوفیلوس

گازوئیل

BOD

۱- مقدمه

زیستی تقسیم کرد. تاکنون تحقیقات گسترده‌ای در زمینه به‌کارگیری و بهینه‌سازی این روش‌ها با هدف افزایش کارایی تصفیه و کاهش آثار زیست‌محیطی انجام شده است. در روش‌های فیزیکی تصفیه، ترکیبات آلی محلول در آب همراه نفتی (و در برخی موارد فلزات سنگین) از طریق جذب سطحی روی سطوح متخلخل موادی مانند کربن فعال، ارگانوکلایها، کوپلیمرها، ژئولیت‌ها و رزین‌ها حذف می‌شوند [2]. کربن فعال پس از اشباع معمولاً با استفاده از فرایند

یکی از منابع آلاینده‌ای که در صنعت نفت و گاز تولید می‌شود، آب همراه نفتی است. در صورت عدم تصفیه مناسب، این پساب می‌تواند مشکلات زیست‌محیطی قابل توجهی ایجاد کند [1]. برای تصفیه آب همراه نفتی، روش‌های متعددی به کار گرفته شده است که هر یک دارای ویژگی‌ها و مزایای خاص خود هستند. این روش‌ها را می‌توان به طور کلی به سه دسته فیزیکی، شیمیایی و

* رایانامه نویسنده مسئول: h.a.rad@nit.ac.ir - ORCID: 0000-0001-7983-1568

کپی‌رایت © ۲۰۲۶، انتشارات دانشگاه تربیت مدرس (TMU Press). این مقاله به صورت دسترسی آزاد منتشر شده و تحت مجوز بین‌المللی Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 قرار دارد (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>). بر اساس این مجوز، شما می‌توانید این مطلب را در هر قالب و رسانه‌ای کپی، بازنشر و بازآفرینی کنید و یا آن را ویرایش و بازسازی نمایید، به شرط آنکه نام نویسنده را ذکر کرده و از آن برای مقاصد غیرتجاری استفاده کنید.



اکسیداسیون حرارتی در حضور هوای مرطوب بازسازی می‌شود [2].

کربن فعال قادر است ترکیبات^۱ BTEX محلول در آب را حذف کند، در حالی که ارگانوکلی توانایی جذب و حذف هیدروکربن‌های آزاد و نامحلول را دارد. این هیدروکربن‌ها بخشی از ترکیباتی هستند که به صورت محلول نیز وجود دارند و در اندازه‌گیری شاخص‌های کل هیدروکربن‌های نفتی (TPH) و روغن و گریس (O&G) نقش دارند [3]. ارگانوکلی از طریق ترکیب خاک رس مونتموریلونیت سدیم با نمک‌های آمونیوم چهارتایی تولید می‌شود [3]. هنگامی که ارگانوکلی همراه با کربن فعال به کار گرفته می‌شود، غلظت هیدروکربن‌ها تا سطح استانداردهای کیفیت آب کاهش می‌یابد [4]. از آنجایی که میکروارگانیسم‌ها توانایی استفاده از گازوییل را به عنوان منبع کربن دارند، می‌توانند به طور گسترده به عنوان عامل زیست‌پالایی مورد استفاده قرار گیرند.

تاکنون بیش از ۳۰ گونه باکتری گزارش شده‌اند که قادرند گازوییل را به طور کامل تجزیه کرده و آن را به ترکیبات غیرخطرناک CO_2 و H_2O تبدیل کنند [5]. روند تخریب گازوییل توسط باکتری‌ها جداسازی شده از محیط الوده نفتی می‌تواند منجر به افزایش راندمان حذف به دلیل فراهم بودن شرایط رشد عنوان نمود [6]. پارامترها مهم در فرایند تجزیه مانند نوع میکروارگانیسم، قابلیت حل‌الیت نمودن گازوییل، pH، دما، در دسترس بودن اکسیژن، در دسترس بودن مواد مغذی و سطح شوری، برای دستیابی به کارایی حذف بالا بسیار مفید خواهد بود [5]. در روش‌های زیستی از میکروارگانیسم‌های هوازی و بی‌هوازی آب همراه نفتی مورد استفاده قرار می‌کنند [7]. در فرآیندهای تصفیه هوازی، محققان از روش‌ها و سیستم‌های مختلفی مانند لجن فعال، فیلترهای جریان، راکتورهای ناپیوسته متوالی (SBRs)، راکتورهای کیموستات (Chemostat)، فیلترهای هوادهی زیستی (BAF)، لاگون‌ها و تالاب‌های تصفیه‌ای استفاده کرده‌اند [8].

در تحقیقات انجام شده از چهار منبع برای رشد زیست توده استفاده شده است [9]. باکتری‌ها را می‌توان از محیط‌های طبیعی، مکان‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی، منابع تجاری (بانک‌های میکروارگانیسم)، منابع ویژه و همچنین از لجن فاضلاب سازگار شده در فرآیندهای تصفیه زیستی جداسازی و مورد مطالعه

قرار داد [10].

با استفاده از یک جداکننده روغن به عنوان پیش‌تصفیه در فرآیند لجن فعال متعارف، برای تجزیه آلاینده‌های هیدروکربنی در واحد تصفیه لجن فعال، میزان حذف هیدروکربن‌های نفتی (TPH) تا ۹۸-۹۹٪، با زمان ماند سلولی ۲۰ روز، به دست آمد [11]. بررسی کارایی حذف COD در سیستم SBR حاوی میکروارگانیسم‌های سازگار شده، با استفاده از درصدهای مختلف فاضلاب ترکیبی انجام شد [12]. در مخلوط‌های فاضلاب با نسبت‌های ۳۵ و ۴۵ (حجمی/حجمی) درصد، بازده حذف اکسیژن‌خواهی شیمیایی (COD^2) در بازه‌ای بین ۳۰٪ تا ۵۰٪ قرار گرفت [13].

تأثیر میزان حذف TOC^3 در فرایند SBR بالاتر از فیلتر جریان یا کیموستات بود اما عملکرد مداوم SBR می‌تواند منجر به از دست دادن زیست توده شود [9]. از سطوح زیستی چرخان (RBC) برای تصفیه پساب آب همراه نفتی استفاده شد [14]. در این مطالعه، از میکروارگانیسم‌های موجود در تانک هوادهی فاضلاب شهری برای رشد بایوفیلم روی سطح دیسک‌های زیستی چرخان (RBC) استفاده شد [15]. شرایط شوری در سیستم پایین بود که این موضوع منجر به بهره‌وری بالا در فرآیند تصفیه شد. میزان حذف BOD در واحدهای تولیدی روغن و گریس، به ترتیب ۹۴ و ۷۴ درصد با استفاده از زیست توده حاصل از فاضلاب شهری به دست آمد [16]. زیرا غلظت بالای کلرید سدیم باعث استرس محیطی، آثار تخریبی میکروبی و از دست دادن زیست توده می‌شود [17]. در مخزن هوادهی تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شور، رشد میکروارگانیسم‌های میله‌ای بر جامعه میکروبی تسلط دارند [18]. علاوه بر تخریب سلولی، کاهش باکتری‌های رشته‌ای می‌تواند بر فرایند لخته‌سازی باکتری‌ها تأثیر بگذارد و موجب افزایش جامدات معلق یا افزایش کدورت پساب خروجی را در تصفیه زیستی فاضلاب شور افزایش دهد و همچنین با توجه به عدم لخته‌سازی مناسب، تشکیل لخته‌های سوزنی شکل و در نهایت منجر به عدم ته‌نشینی مناسب می‌شود [19].

در مطالعه دیگری، استفاده از میکروارگانیسم‌های تجاری گروه B350M و B350 نوع باکتری‌ها که در حامل‌های پلی‌آمونیاکوم

² Chemical Oxygen Demand

³ Total Organic Carbon

¹ Benzene, Toluene, Ethylbenzene, Xylenes

می‌شود) برای تجزیه زیستی گازوییل از ۱۵:۳ تا ۱۰:۱ تا ۱۲۰:۱. گزارش داد که نسبت مطلوب N/P در فرآیند تخریب هیدروکربن‌ها از ۲,۴ تا ۱۰ بود [29].

در این تحقیق علی‌رغم مطالعات انجام شده در خصوص تصفیه زیستی پساب حاوی گازوییل به روش‌های متعارف، محدودیت عملکرد تجزیه گازوییل در شوری‌های مختلف با استفاده از باکتری‌های متعارف عملکرد مناسبی گزارش نشده است. در این بررسی تجربی از باکتری هالوباسیل هالوفیلوس تجاری بدلیل داشتن قابلیت تحمل شوری بالا مورد استفاده قرار گرفت [30]. همچنین در این پژوهش، میزان اکسیژن‌خواهی پساب حاوی غلظت‌های مختلف گازوییل در شرایط شوری متفاوت تعیین شد. علاوه بر این، ضریب ثابت واکنش مربوط به حذف غلظت‌های مختلف گازوییل در سطوح مختلف شوری مشخص شد. در نهایت، توانایی این سویه در حذف گازوییل در شوری‌های گوناگون مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

در این تحقیق تجربی پارامترها کیفی تاثیرگذار در فرایند تجزیه زیستی گازوئیل مانند سویه باکتری، نوع امولسیفایر، pH دما، اکسیژن محلول و سطح شوری در این تحقیق تجربی مورد تحقیق قرار گرفت.

۲-۱- سویه باکتری

در این تحقیق، باکتری هالوباسیلوس هالوفیلوس (*Halobacillus halophilus*) از بانک ذخایر ژنتیکی ایران (شرکت زیست کاوش ایرانیان) به صورت کشت فعال خریداری شد و به صورت تدریجی و پلکانی با محیط حاوی گازوئیل سازگارسازی شد. این سویه برای سازگاری در محیط‌های فوق شور شروع به تولید پرولین به جای گلوتامات و گلوتامین می‌کند که این پرولین تولید شده خواص اسمزی بیشتری نسبت به گلوتامات داشته (همچنین به آن اصطلاحاً یک سازگارساز compatible solute گفته می‌شود) به علت آنکه بدون آسیب رساندن به پروتئین‌ها و ساختارهای سلولی، به حفظ آب داخل سلول کمک می‌کند [31].

یک باکتری هالوفیل، گرم‌مثبت و اسپورساز با توانایی رشد در شرایط شور و دمایی گسترده، قادر است هیدروکربن‌ها را به عنوان

الحاقی را بررسی کرد، در این مطالعه دویو راکتور هواهی BAF مورد بررسی قرار گرفت [20]. نتایج نشان داد که در زمان ماند هیدرولیکی ۴ ساعت و بار حجمی ۱/۰۷ کیلوگرم COD/متر مکعب (روز) می‌تواند به ترتیب ۷۸ و ۹۴ درصد TOC و هیدروکربن‌های نفتی را بدون حضور شوری حذف کند [21]. باکتری‌های جدا شده از مناطق آلوده به گازوئیل دارای متابولیسم متفاوتی هستند که می‌تواند آنها را در تخریب گازوئیل موثرتر کند [9]. همچنین از روش‌های طبیعی مانند یک لاگون دو مرحله‌ای که به صورت سری که مخزن اصلی برای اکسید کردن روغن معلق و ترکیبات آلی محلول بود و لاگون دوم برای اکسید کردن ترکیبات آمونیاک محلول طراحی شده بود [5] با این حال، از اکسیداسیون زیستی یک مرحله‌ای برای حذف آمونیاک و فنول‌ها از پساب استفاده شد [22]. اگرچه راندمان حذف در لاگون در مقایسه با وتلند زیر سطحی بالا بوده ولی وابستگی آن به دما احتمال الودگی آب‌های زیر زمینی در شرایط خاص مورد بهره برداری می‌شود [23]. یکی دیگر از روش‌های طبیعی استفاده از گیاهان می‌باشند مانند فناوری بستر نی (REED BED) با استفاده از یک گیاه برای زیست پالایی فاضلاب می‌تواند هیدروکربن‌ها و فلزات سنگین را حذف کنند [24]. یک بستر ۸۰۰ متر مربعی شامل نی با گیاه *Phragmites australis* برای تصفیه ۲۰ متر مکعب در روز پس آب همراه نفتی استفاده شد، نتایج نشان داد که بیش از ۹۸ درصد هیدروکربن‌ها حذف شدند [25]. تصفیه زیستی در حل مشکلات ناشی از تخلیه گازوییل راه حل مناسبتری از روش‌های فیزیکی و شیمیایی است [26]. به دلیل دوستدار محیط زیست، هزینه و انرژی کم برای اصلاح محیط آلوده به گازوئیل بکار گرفته می‌شود، روش زیستی می‌تواند در مناطق آلوده بزرگ، خاک‌های آلوده هیدروکربن‌ها و نشت نفت در اقیانوس استفاده شود [27].

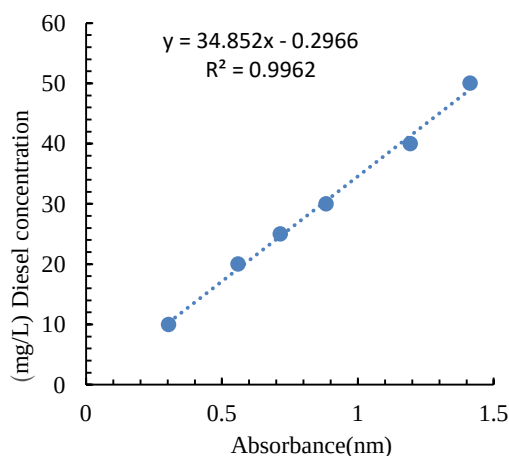
از آنجایی که ساختار گازوییل به تنهایی شرایط رشد باکتری‌ها را فراهم نمی‌کند پس در دسترس قرار دادن مواد مغذی، شرایط تجزیه زیستی ترکیبات نفتی را امکان پذیر می‌سازد پس در فرایند تجزیه زیستی به منابع نیتروژنی، ترکیبات فسفری و در نهایت به ریزمغذی‌های معمول در فاضلاب شهری نیاز است [۲۸]. ترکیب بهینه مواد مغذی ضروری (معمولاً به عنوان نسبت C:N:P نامیده

شد تا دقت نتایج تضمین شود. در مرحله دوم، محلولی از دی کلرومتان و گازوئیل آماده شد. این محلول به طور مناسب رقیق شد تا بتوان با اسپکتروفتومتر آن را اندازه گیری کرد. نمونه در کووت های دستگاه قرار گرفت و آزمایش آغاز شد. در طول آزمایش، مشاهده شد که طول موج ۲۳۴ نانومتر بیشترین میزان جذب را دارد. این نقطه بیشینه نشان می دهد که گازوئیل در این طول موج بیشترین جذب را دارد و از این طریق می توان غلظت گازوئیل را با دقت تعیین کرد. پس از تعیین طول موج، منحنی استاندارد غلظت گازوئیل در دی کلرومتان تهیه شد. محلول هایی با غلظت های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی گرم بر لیتر گازوئیل ساخته شده و میزان جذب نور آنها با اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. سپس نمودار آن رسم شد. در شکل (۱) غلظت گازوئیل و عدد جذب نشان داده شده است که از طریق آن می توان غلظت گازوئیل را محاسبه کرد.

جدول ۱. مشخصات محیط کشت باکتری (مارین براث)

Table 1- Characteristics of the bacterial culture medium (marine broth)

Material name	Amount	Material name	Amount
Sodium fluoride	2.4 mg	Yeast extract	0.55 g
Sodium chloride	29.45g	Ferric iron	1 g
Boric acid	22 mg	Magnesium chloride	0.1 g
Potassium bromide	0.08 g	Calcium chloride	5.9 g
Peptone	5 g	Sodium bicarbonate	0.16 g
Ammonium nitrate	1.6 mg	Sodium silicate	34 mg
Disodium phosphate	8 mg	Potassium chloride	4 mg
Sodium sulfate	3.24 g		



شکل ۱. نمودار استاندارد گازوئیل

Fig. 1. Gasoline standard chart

منبع کربن مصرف کند. به دلیل این ویژگی، این میکروارگانیسم ها گزینه ای امیدبخش برای زیست پالایی پساب ها و محیط های فوق شور آلوده ترکیبات نفتی محسوب می شوند. محیط کشت مورد استفاده برای رشد این سویه از باکتری محیط کشت پودری مارین براث دارای جرم مولی (37.4 g/mol) از سایت بانک ذخایر ژنتیکی ایران خریداری شد که مشخصات آن به شرح جدول (۱) است.

۲-۲- محیط کشت و تلقیح باکتری

محیط کشت استفاده شده برای رشد این سویه مارین براث (Marine Broth 2216) می باشد که نسبت C:N:P برای این محیط کشت تقریباً ۱۰۰:۱۰:۱ است که با نسبت استوکیومتری مورد نیاز برای رشد میکروبی سازگار می باشد. برای تهیه محیط کشت مایع، مقدار ۳۷/۴ گرم پودر مارین براث در یک لیتر آب مقطر حل و محلول حاصل در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد روی همزن مغناطیسی هم زده شد تا به خوبی یکنواخت شود. سپس محیط کشت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵-۲۰ دقیقه در اتوکلاو استریل شد. پس از سرد شدن، در شرایط استریل زیر هود لامینار، حدود یک سوم حجم ارلن ۲۵۰ میلی لیتری با محیط کشت پر شد. برای تلقیح، لوپ تلقیح پس از استریل شدن روی شعله، باکتری را از پلیت کشت فعال برداشت و به درون محیط مایع منتقل کرد. این عمل چند مرتبه تکرار شد تا انتقال کافی باکتری به محیط کشت مایع انجام گیرد. کلیه مراحل تحت شرایط استریل انجام شد. به مجموع این فرایندها تلقیح گفته می شود.

۲-۳- منحنی استاندارد گازوئیل

برای رسم منحنی استاندارد، ابتدا یک نمونه خالص از دی کلرومتان آماده شد تا به عنوان مرجع برای اندازه گیری طیفی استفاده شود. در مرحله اول، دستگاه اسپکتروفتومتر تنظیم شد تا طیف خوانی انجام شود. این دستگاه قادر است میزان نوری را که از نمونه عبور می کند در بازه طول موج ۲۰۰ تا ۳۰۰ نانومتر اندازه گیری کند. منحنی ای که دستگاه رسم می کند، نشان دهنده جذب نور در طول موج های مختلف است و معمولاً یک نقطه بیشینه دارد که بیشترین جذب را در یک طول موج خاص نشان می دهد. قبل از شروع آزمایش، میزان جذب دستگاه به صفر تنظیم

۳۵ گرم در لیتر نمک بر تجزیه‌پذیری زیستی گازوئیل در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌ها در دمای محیط 25°C انجام گرفت.

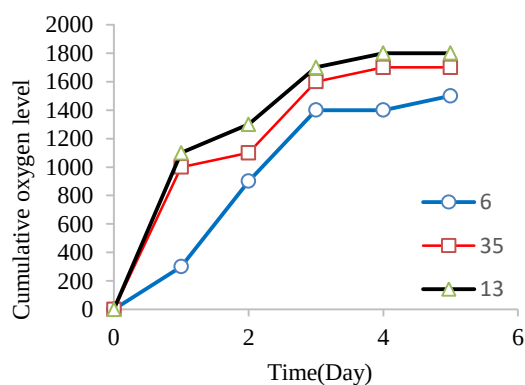
۳- نتایج و بحث

در این تحقیق تاثیر میزان شوری بر تجزیه زیستی گازوئیل مورد ارزیابی تجربی قرار گرفت. شکل (۳) راندمان حذف گازوئیل ۵۰ میلی گرم در لیتر در شوری‌های مختلف گازوئیل در غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر و شوری‌های ۶، ۱۳، ۳۵ گرم در لیتر توسط باکتری هالوباسیل هالوفیلوس را نشان می‌دهد. از این شکل می‌توان مشاهده نمود که راندمان حذف گازوئیل در شوری ۶ گرم در لیتر کمتر از ۱۳ و ۳۵ گرم در لیتر است.



شکل ۲. تصویر راکتور مورد استفاده

Fig. 2. The Used Reactor



شکل ۳. راندمان حذف گازوئیل ۵۰ میلی گرم در لیتر در شوری‌های مختلف

Fig. 3. Diesel removal efficiency of 50 mg/L in different salinities

۲-۴- تهیه امولسیون پایدار گازوئیل در آب و چگونگی ترکیب

با محیط کشت

برای تهیه امولسیون پایدار گازوئیل در آب، از دو نوع امولسیفایرهای شامل تویین ۸۰ و اسپن ۶۰ استفاده شد. ابتدا مقدار ۰,۲ گرم تویین ۸۰ در ۲۵۰ میلی لیتر آب، و همزمان ۰,۲ گرم اسپن ۶۰ در ۲۵۰ میلی لیتر گازوئیل حل شد، این دو محلول به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد تحت هم‌زدن مداوم قرار گرفتند تا انحلال کامل امولسیفایرها در فازهای مربوطه انجام شود. پس از آماده‌سازی محلول‌های اولیه، امولسیون‌هایی با غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر تهیه شدند. در ادامه، برای شبیه‌سازی شرایط آب همراه نفتی، بخشی از منبع کربنی موجود در محیط کشت مارین براث به صورت مرحله‌ای حذف شد و به جای آن، از امولسیون حاوی گازوئیل به عنوان منبع کربن جایگزین استفاده شد. در نهایت، با ترکیب این امولسیون با محیط کشت، نمونه‌هایی از آب همراه مصنوعی (Synthetic Produced Water) تهیه شد.

۲-۵- سازگار سازی باکتری

به طور کلی برای اینکه یک باکتری یک ماده جدید را به عنوان منبع اصلی خود مصرف کند یک دوره زمانی چند هفته‌ای به طول می‌انجامد به این دوره زمانی سازگار سازی می‌گویند. برای سازگاری باکتری با مواد غذایی جدید در چندین دوره ۷ روزه امولسیون گازوئیل به تدریج جایگزین بخشی از منبع کربنی محیط کشت شد، این روند ادامه پیدا می‌کند تا رشد زیست توده در راکتور افزایش یابد. میزان رشد باکتری هالوباسیل هالوفیلوس را می‌توان به مصرف منبع کربنی موجود در گازوئیل مرتبط دانست که این افزایش زیست توده با روش‌های چگالی نوری و شمارش باکتری تایید شد.

۲-۶- حذف زیستی گازوئیل در غلظت‌های مختلف

در این تحقیق برای ارزیابی میزان حذف پساب مصنوعی حاوی غلظت‌های مختلف گازوئیل از یک راکتور ناپیوسته به حجم ۳۰۰ میلی لیتر استفاده شد. برای تامین اکسیژن مورد نیاز و تاثیر آن بر فرایند تجزیه آب فراوری شده از پمپ هوادهی استفاده شد تا کمترین میزان اکسیژن محلول ۲ میلی گرم در لیتر تامین شود (شکل ۲). فرایند زیستی در شرایط شوری‌های متفاوت با مقادیر ۶، ۱۳ و

می شود که در شوری های بالا (۱۳ و ۳۵ گرم بر لیتر) منحنی های مصرف اکسیژن تقریباً رفتاری مشابه دارند. این شباهت می تواند نشان دهنده عملکرد مشابه باکتری ها در این دو سطح شوری باشد که بیانگر سازگاری زیستی آن ها با شرایط فوق شور است از سوی دیگر، در شوری ۶ گرم بر لیتر، مصرف اکسیژن نسبت به زمانی که غلظت گازوئیل ۵۰ میلی گرم بر لیتر بوده افزایش قابل توجهی داشته است، این رشد می تواند ناشی از بهبود شرایط محیطی برای رشد باکتری در حضور غلظت بالاتر گازوئیل باشد. افزایش منابع کربنی می تواند منجر به افزایش نرخ اکسیداسیون و تولید بیشتر زیست توده شود، همچنین، افزایش غلظت گازوئیل تا ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر ممکن است نسبت عناصر C/N/P را در محیط کشت بهینه کرده باشد؛ موضوعی که می تواند نقش مؤثری در افزایش نرخ متابولیسم و رشد باکتری ایفا کند. در شکل (۴) همچنین می توان تاثیر همزمان شوری و غلظت گازوئیل بر میزان اکسیژن خواهی پساب حاوی گازوئیل را مورد توجه قرار داد. در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر میزان اکسیژن خواهی در شوری ۱۳ گرم در لیتر بیشتر از ۳۵ گرم بود. برای بدست آوردن ضریب ثابت واکنش از روش های مختلفی می توان بدست آورد. در این تحقیق از داده های آزمون BOD با استفاده از روابط توماس به دست آمد.

ضریب ثابت واکنش تعیین کننده سرعت واکنش مصرف میزان مواد غذایی موجود در فاضلاب می باشد هرچه این ضریب بزرگتر تجزیه پذیری بالاتر و از طرفی می تواند تعیین کننده میزان هوادهی و زمان ماند در تانک هوادهی باشد. برای بدست آوردن دو پارامتر ضریب ثابت واکنش و BOD نهایی از رابطه توماس به شرح زیر استفاده شد:

$$\left(\frac{t}{y}\right)^{\frac{1}{3}} = kl_0 - \frac{k_0^{\frac{2}{3}}}{6 * l_0^{\frac{1}{3}}} * t \quad (1)$$

t = زمان بر حسب روز

y = میزان BOD بر حسب میلیگرم بر لیتر

k = ضریب ثابت واکنش بر روز

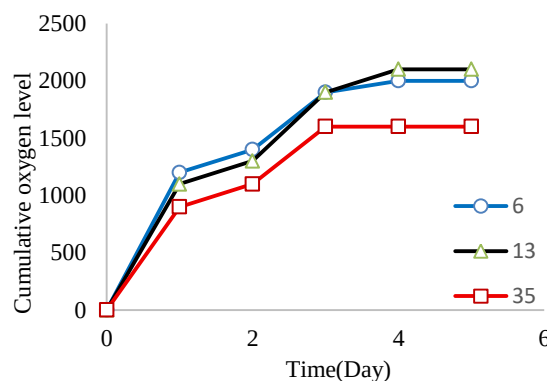
l_0 = BOD نهایی میلی گرم در لیتر

چنانچه معادله توماس را به شکل معادله یک خط رسم شود

می توان مقادیر ضریب K و BOD نهایی را محاسبه نمود.

$$Y = a + bx \quad (2)$$

$$bx + a = \left(\frac{t}{y}\right)^{\frac{1}{3}} \quad (3)$$



شکل ۴. کارایی حذف گازوئیل (۱۰۰ میلی گرم در لیتر) در شوری های مختلف

Fig. 4. Diesel removal efficiency of 100 mg/L in different salinities

مطابق با نتایج ارائه شده در شکل (۳)، در شوری های ۱۳ و ۳۵ گرم بر لیتر منجر به افزایش چشمگیر مصرف اکسیژن در بازه زمانی ۰ تا ۱ روز شد. به گونه ای که میزان اکسیژن مصرفی در این شوری، تقریباً سه برابر بیشتر از مقدار مصرفی در شوری ۶ گرم بر لیتر می باشد. این افزایش می تواند ناشی از سازگاری بهتر و فعالیت زیستی بالاتر باکتری ها در محیط های با شوری بالا باشد. یا بخش مواد با تجزیه پذیری بالا ابتدا مصرف شده یا با توجه به ماهیت هالوفیل (نمک دوست) بودن سویه مورد استفاده *Halobacillus halophilus*، این رفتار کاملاً قابل انتظار است. در پایان روز پنجم، میزان اکسیژن مصرف شده در شوری ۳۵ گرم بر لیتر حدود ۳۰۰ میلی گرم بیشتر از شوری ۶ گرم بر لیتر گزارش شده است. این موضوع حاکی از اکسیداسیون مؤثرتر ترکیبات آلی و تجزیه بیشتر گازوئیل در شرایط شوری بالاست. با این حال، میزان BOD در شوری ۳۵ گرم بر لیتر نسبت به شوری ۱۳ گرم بر لیتر در پایان دوره، کاهش حدود ۵،۵ درصدی را نشان می دهد که بیانگر کاهش نسبی کارایی در بلندمدت است. همچنین نتایج نشان می دهند که منحنی مصرف اکسیژن در شوری ۱۳ گرم بر لیتر در بیشتر زمان آزمایش بالاتر از سایر شوری ها قرار دارد. بنابراین، می توان نتیجه گرفت که تجزیه زیستی پساب حاوی گازوئیل در این سطح از شوری بهینه تر انجام گرفته و شرایط محیطی برای رشد و فعالیت باکتریایی در این شوری مناسب تر بوده است.

بر اساس نمودار ارائه شده در شکل (۴)، که نمایانگر روند مصرف اکسیژن در سه سطح شوری ۶، ۱۳ و ۳۵ گرم بر لیتر در حضور غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر گازوئیل است، مشاهده

میزان فشار اسمتیک باکتری هالوباسیل هالوفیلوس افزایش یافته و باعث کاهش رشد میکرواورگانیزم می شود. [31]

با توجه به شکل (۶) می توان افزایش ضریب ثابت واکنش را با افزایش شوری مشاهده نمود اگرچه منحنی بدست آمده نشان می دهد که با افزایش شوری ضریب ثابت واکنش افزایش می یابد. ولی مطالعات نشان می دهد با افزایش شوری فشار اسمتیک بین سلولی مانع رشد و نمو باکتری ها شده و عملاً نرخ تجزیه باید کاهش پیدا کند، چنانچه شوری با غلظت ۲۵ گرم در لیتر هم مورد آزمایش قرار می گرفت ممکن بود نرخ ثابت واکنش از شوری ۳۵ بالاتر رود.

۳-۱- راندمان حذف گازوئیل

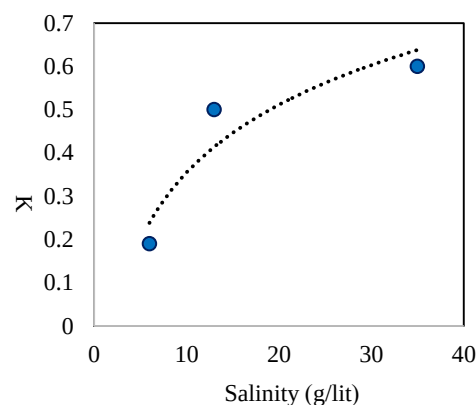
در شوری های ۶، ۱۳، ۳۵ گرم در لیتر و همچنین غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر گازوئیل که همراه تلقیح باکتری بودند، نمونه های COD گرفته شد که نتایج آن به شرح زیر است:

با توجه به ساختار گازوئیل، تجزیه شیمیایی آن امکان پذیر است و تنها با افزودن مواد مغذی مانند نیتروژن و فسفر، تجزیه بیولوژیکی آن میسر شد. برای وقوع تجزیه بیولوژیکی، نسبت BOD₅/COD باید در محدوده مناسب باشد. بر اساس جدول (۲) و نتایج آزمایش های BOD، میزان بیودگرایدیلیتی گازوئیل توسط سویه میکروبی مورد استفاده با توجه به نسبت BOD₅/COD تقریباً ۰.۵ به دست آمد، که نشان دهنده قابلیت تخریب متوسط این سوخت توسط میکرواورگانیزم ها است.

۳-۲- تاثیر شوری بر آزمایش COD

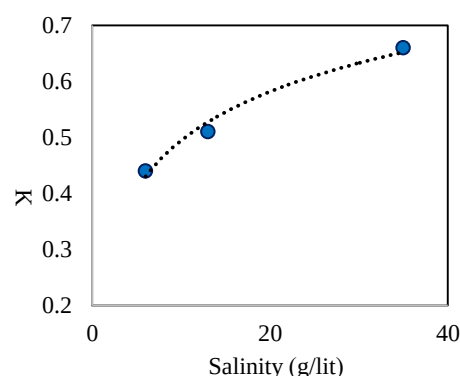
از آزمایش COD برای تعیین میزان الودگی پساب مصنوعی با غلظت مواد مغذی و گازوئیل مشابه استفاده شد قبل از اندازه گیری مقدار COD گازوئیل سهم COD را بودن توین ۸۰ آزمایش شد که نتایج این آزمایش نشان داد که سهم COD این امولسیفایر بسیار ناچیز بود و این نتایج بر اساس برگه ایمنی ماده (SDS) مربوط به توین ۸۰ از شرکت Sigma-Aldrich با شماره محصول P8074، تایید شد.

جدول (۲) نمونه های COD در شوری ها و غلظت های متفاوت را نشان می دهد. افزایش مقادیر COD در غلظت ثابت ۵۰ میلی گرم در لیتر با افزایش شوری میزان COD پساب نیز افزایش می یابد. در غلظت ثابت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر در شوری های مختلف ۱۳، ۶ و



شکل ۵. اثر شوری بر ثابت واکنش (100 میلی گرم/لیتر گازوئیل)

Fig. 5. Salinity effect on reaction constant (50 mg/L diesel)



شکل ۶. اثر شوری بر ثابت واکنش (100 میلی گرم/لیتر گازوئیل)

Fig. 6. Salinity effect on reaction constant (100 mg/L diesel)

جدول ۲. نمونه های COD در شوری ها و غلظت های متفاوت

Table 2. COD samples in different salinities and concentrations

Row	Salinity (mg/L)	Diesel fuel (mg/L)	COD (mg/l)
1	6	50	3038
2	13	50	3100
3	35	50	3750
4	6	100	4000
5	13	100	4100
6	35	100	5150

با توجه به شکل (۵) میتوان به این نتیجه رسید که با بالا رفتن غلظت شوری ضریب ثابت واکنش افزایش می یابد و این بدان معنا می باشد که تجزیه پذیری افزایش یافته است چرا با توجه به نتایج موجود در شوری های ۱۳ و ۳۵ نرخ واکنش به دلیل ویژگی نمک دوست بودن یا تحمل در شوری های بالای باکتری ضریب ثابت واکنش نسبت به شوری ۶ افزایش یافته ولی بین شوری ۱۳ و ۳۵ تفاوت انچنانی دیده نمی شود، این اختلاف کم بین ضریب واکنش ۱۳ و ۳۵ می تواند به این دلیل باشد که در شوری های بالا

گرم در لیتر با شوری‌های مختلف به صورت خطی و توانی به ترتیب افزایش می‌یابد. این ویژگی در سیستم‌های تصفیه خانه‌های فاضلاب متعارف با افزایش شوری میزان ضریب ثابت واکنش کاهش و در نهایت راندمان تجزیه کاهش می‌یابد در این بررسی تجربی در شرایط غلظت بالا کلرید سدیم که منجر به زوال سلولی و عدم لخته سازی و کاهش رشد شده، در این سویه مشاهده نشد.

قدردانی

نویسندگان از حمایت معنوی دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، گروه مهندسی عمران محیط زیست، دانشکده مهندسی عمران تشکر می‌کنند.

تعارض منافع

هیچ تعارض منافعی برای نویسندگان این مقاله در انتشار آن وجود ندارد.

سهم نویسندگان

سهم هر سه نویسنده برابر است یعنی برابر با ۳۳/۳ درصد است.

منابع مالی

در این تحقیق، از امکانات دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل کمک گرفته شد و از منابع مالی استفاده نشده است.

بیانیه هوش مصنوعی

در این تحقیق از هیچ گونه از ابزارهای هوش مصنوعی استفاده نشده است.

۳۵ میلی گرم در لیتر میزان COD افزایش یافت. دلیل افزایش مقدار COD را به وجود کلر که یک اکسید کننده قوی است در پساب شور نسبت داد. برای تحلیل آماری داده‌ها، هر آزمایش در سه تکرار انجام شد. به منظور بررسی معنی‌داری اختلاف میان نتایج راندمان حذف، از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه با سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. نتایج نشان داد که اختلاف بین تیمارهای مختلف از نظر نرخ تجزیه گازوئیل معنی‌دار است ($p < 0.05$).

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش تجزیه زیستی ترکیبات نفتی به صورت تجربی مورد ارزیابی تجربی قرار گرفت. با توجه به آنالیز نتایج، می‌توان مشاهده نمود که گازوئیل به عنوان منبع کربن مصرف شد و برمبنای ویژگی سویه هالوباسیلوس هالوفیلوس و عملکرد آن در میزان مختلف شوری می‌تواند بر عملکرد و رشد و نمو و آنزیم‌های موثر در فرایند و روند تجزیه هیدروکربن‌های نفتی به وسیله سویه تجاری باکتری مذکور تاثیر مستقیم دارد.

با توجه به نتایج بدست آمده میزان تجزیه هیدروکربن‌های نفتی در شوری ۱۳ گرم در لیتر به بیشترین میزان رسید. در محیط‌های فوق شور (شوری بالاتر از ۳۵ گرم در لیتر) تجزیه به طور موثر انجام نشد و ویژگی‌های خاص باکتری مذکور عامل افزایش عملکرد سویه در شوری‌های بالا در نظر گرفته شد، زیرا فشار اسمزی زیاد می‌تواند رشد سایر میکروارگانیسم‌ها را محدود کند. در نتیجه راندمان حذف در محدوده شوری ۱۳ گرم در لیتر بهترین میزان حذف گازوئیل در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر، بدست آمد. از بررسی نتایج بدست آمده از ضرایب ثابت واکنش در شرایط آزمایشگاهی در غلظت ثابت گازوئیل ۵۰ و ۱۰۰ میلی

References

- [1] He, Y. and Jiang, Z.-W., 2008. Technology review: Treating oilfield wastewater. *Filtration & Separation*, 45(5), pp.14-16.
- [2] Campos, J.C., Borges, R.M.H., Oliveira Filho, A.M., Nobrega, R. and Sant'Anna, G.L., 2002. Oilfield wastewater treatment by combined microfiltration and biological processes. *Water Research*, 36(1), pp.95-104.
- [3] Doyle, D.H. and Brown, A.B., 2000. Produced Water Treatment and Hydrocarbon Removal with Organoclay. In: *SPE Annual Technical Conference and Exhibition*. Dallas, Texas, 1-4 October 2000. Society of Petroleum Engineers. doi: 10.2118/63100-MS
- [4] Wolfe, T.A., Demirel, T. and Baumann, E.R., 1985. Interaction of Aliphatic Amines with Montmorillonite to Enhance Adsorption of Organic Pollutants. *Clays and Clay Minerals*, 33(4), pp.301-311. doi: 10.1348/CCMN.1985.0330404
- [5] Karagiannis, I.C. and Soldatos, G., 2008. Water desalination cost literature: review and assessment. *Desalination*, 223(1-3), pp.448-456. doi: 10.1016/j.desal.2007.02.071
- [6] Seyed Sabour, S.M. and Ghorashi, B., 2024. A comprehensive review of major water desalination techniques and mineral extraction from saline water. *Separation and Purification Technology*, 349, p.127913.

- [7] Samal, K., Geed, S.R. and Mohanty, K., 2022. Hybrid biological processes for the treatment of oily wastewater. In: P. Das, S. Manna and J.K. Pandey, eds. *Advances in Oil-Water Separation*. Elsevier. pp.423-435.
- [8] Kato, S. and Kansha, Y., 2024. Comprehensive review of industrial wastewater treatment techniques. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(39), pp.51064-51097.
- [9] Fakhru'l-Razi, A., Pendashteh, A., Abdullah, L.C., Biak, D.R.A., Madaeni, S.S. and Abidin, Z.Z., 2009. Review of technologies for oil and gas produced water treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 170(2), pp.530-551.
- [10] Cavone, C., et al., 2025. Natural Hydrocarbon-Contaminated Springs as a Reservoir of Microorganisms Useful for Bioremediation: Isolation and Multilevel Analysis of Hydrocarbonoclastic Bacteria from the Agri Valley (Southern Italy). *Sustainability*, 17(7), p.3083.
- [11] Tellez, G.T., Nirmalakhandan, N. and Gardea-Torresdey, J.L., 2002. Performance evaluation of an activated sludge system for removing petroleum hydrocarbons from oilfield produced water. *Advances in Environmental Research*, 6(4), pp.455-470.
- [12] Zheng, J., et al., 2016. Offshore produced water management: A review of current practice and challenges in harsh/Arctic environments. *Marine Pollution Bulletin*, 104(1), pp.7-19.
- [13] Freire, D.D., Cammarota, M.C. and Sant'Anna, G.L., 2001. Biological treatment of oil field wastewater in a sequencing batch reactor. *Environmental Technology*, 22(10), pp.1125-1135.
- [14] Ghalekhondabi, V., Fazlali, A. and Fallah, B., 2021. Performance analysis of four-stage rotating biological contactor in nitrification and COD removal from petroleum refinery wastewater. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 159, p.108214.
- [15] Safa, M., Alemzadeh, I. and Vossoughi, M., 2014. Biodegradability of oily wastewater using rotating biological contactor combined with an external membrane. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 12(1), p.117.
- [16] Palmer, L.L., Beyer, A.H. and Stock, J., 1981. Biological Oxidation of Dissolved Compounds in Oilfield Produced Water by a Field Pilot Biodisk. *Journal of Petroleum Technology*, 33(6), pp.1136-1140.
- [17] Tellez, G.T. and Nirmalakhandan, N., 1992. Bioreclamation of Oilfield Produced Wastewaters: Characterization and Feasibility Study. In: J.P. Ray and F.R. Engelhardt, eds. *Produced Water: Technological/Environmental Issues and Solutions*. Boston, MA: Springer US. pp.523-533.
- [18] Ng, H., Ong, S.-L. and Ng, J., 2005. Effects of Sodium Chloride on the Performance of a Sequencing Batch Reactor. *Journal of Environmental Engineering*, 131(12), pp.1659-1667.
- [19] Kargi, F. and Dincer, A.R., 1996. Effect of salt concentration on biological treatment of saline wastewater by fed-batch operation. *Enzyme and Microbial Technology*, 19(7), pp.529-537.
- [20] Kunjiraman, S., et al., 2024. Immobilized microbial consortia: An eco-friendly and sustainable solution for aquaculture waste management. *The Microbe*, 4, p.100100.
- [21] Zhao, X., et al., 2006. Oil field wastewater treatment in Biological Aerated Filter by immobilized microorganisms. *Process Biochemistry*, 41(7), pp.1475-1483.
- [22] Yamagishi, T., et al., 2001. Simultaneous removal of phenol and ammonia by an activated sludge process with cross-flow filtration. *Water Research*, 35(13), pp.3089-3096.
- [23] Fakhru'l-Razi, A., Pendashteh, A., Abdullah, L.C., Biak, D.R.A., Madaeni, S.S. and Abidin, Z.Z., 2009. Review of technologies for oil and gas produced water treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 170(2), pp.530-551.
- [24] Mahruki, A., Alloway, B. and Patzelt, H., 2006. *The Use of Reed-Bed Technology for Treating Oil-Production Waters in the Sultanate of Oman*. Vol. 2. Technical Report.
- [25] Gurden, C. and Cramwinckel, J., 2000. Application of Reedbed Technology in Production Water Management. In: *SPE International Conference on Health, Safety and Environment in Oil and Gas Exploration and Production*. Stavanger, Norway, 26-28 June 2000. Society of Petroleum Engineers.
- [26] Chen, Y., Lin, J. and Chen, Z., 2017. Remediation of water contaminated with diesel oil using a coupled process: Biological degradation followed by heterogeneous Fenton-like oxidation. *Chemosphere*, 183, pp.286-293.
- [27] Azubuike, C.C., Chikere, C.B. and Okpokwasili, G.C., 2016. Bioremediation techniques-classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(11), p.180.
- [28] Imron, M.F., et al., 2020. Future challenges in diesel biodegradation by bacteria isolates: A review. *Journal of Cleaner Production*, 251, p.119716.
- [29] Goyal, A., et al., 2014. Flax and flaxseed oil: an ancient medicine & modern functional food. *Journal of Food Science and Technology*, 51(9), pp.1633-1653.
- [30] Kargi, F. and Dinçer, A., 2000. Use of Halophilic Bacteria in Biological Treatment of Saline Wastewater by Fed-Batch Operation. *Water Environment*

Research, 72(2), pp.170-174.

[31] Saum, S.H. and Müller, V., 2008. Regulation of

osmoadaptation in the moderate halophile *Halobacillus halophilus*: chloride, glutamate and switching osmolyte strategies. *Saline Systems*, 4, p.4.

چگونه به این مقاله ارجاع دهیم؟

Amini Rad, M.A., Amini Rad, H. and Yousefi Kebria, D., 2026. An Experimental Evaluation of Biodegradation Gasoline. *Modares Civil Engineering journal*, 26(4), pp.35-45.

