

Research Article

Agricultural Engineering., 45(4) (2023) 409-423  
DOI: 10.22055/AGEN.2023.42909.1653

ISSN (E): 2588-526X

ISSN (P): 2588-5944

## Changes in The Hydrocarbon Pollution Rate of Soil Containing Biochar Modifier (Case Study: Soil Around Shiraz Refinery)

M. Hashemi Tazangi<sup>1</sup>, S. Ebrahimi<sup>2\*</sup>, R. Ghorbani Nasrabadi<sup>3</sup>, S.A. Movaheddi Naeeni<sup>4</sup>

1. MSc Graduate of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
2. Associate Professor, Department of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
3. Associate Professor, Department of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan.
4. Associate Professor, Gorgan, Department of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.

Received: 29 January 2023

Accepted: 20 March 2023

---

### Abstract

**Introduction:** Background and objectives: Hydrocarbons derived from petroleum and gas have gained increased attention as the most important fossil resources of energy as well as crude material for petrochemical industries. However, environmental issues such as pollution due to extraction, exploitation and transportation of these materials has raised concerns as an environmental warning. In recent years, utilization of biochar (via biomass burning) has been regarded as a soil refiner to reduce or eliminate pollution, especially in in situ studies. Biochar is a product rich in carbon, which is produced during the pyrolysis of various types of woods, fertilizers, leaves, straws as well as agricultural wastes under abiotic conditions. It seems that biochar can be suggested as a suitable compound to manage biomass wastes as well as to enhance soil fertility. Thus, kinetic behavior of biochar in reduction of gasoil pollution of soil, its changes of this pollutant over time and changes in the microbial activity in this time period were investigated.

**Materials and methods:** The soil polluted with gasoil was collected from the vicinity of the gasoil tanker located in Shiraz refinery. The soil had been polluted for years due to the leakage of gasoil. Then, after the measurement of the initial total petroleum hydrocarbon content and physical and chemical properties (soil texture via hydrometry, electrical conductivity in the saturated paste, available phosphorous using the Olsen method, total nitrogen using the Kjeldahl method, pH of soil in the saturated paste, soil carbon using the Walkley and Black method) of the polluted soil, 700 gram soil samples containing wheat straw biochar at one and two mm sizes and 20, 40, 60, 80 and 100 g kg<sup>-1</sup> weight doses were prepared as split-split-plot experiment based on a completely randomized design with three replicates. The samples were then rested in a 50% constant humidity for four weeks at 28 ± 2 °C, and were aerated two times a week. Finally, the results of the changes in the total petroleum hydrocarbon and microbial activity over time were recorded. A three-parameter sigmoidal function was fitted to the data related to the total petroleum hydrocarbon and microbial activity over time. Analysis of variance was carried out using the SAS software v. 9.0. The least significant difference method (LSD) was used to compare the means. The changes in the



total petroleum hydrocarbons and microbial activity were analyzed using the SigmaPlot software v. 12.5. Microsoft Excel v. 2013 and SigmaPlot v. 12.5 were used to draw the figures.

**Results:** According to the results of the present study, the application of biochar had a significant effect on the reduction of gasoil pollution of the soil. The results related to determination of the kinetic model for the reduction of pollution during the biochar application process showed that the kinetic of reduction in total petroleum hydrocarbon was of first order equation; so that in the first 28 days of the experiment, the rate of total petroleum hydrocarbon degradation was increasing, whereas it decreased 35 days after the beginning of the experiment. Biodegradation constant (k) was higher for the soil treated with the refiner and these soils had a lower half-life compared with the polluted control. The rate of reduction in half-life and Biodegradation constant rate increased with increasing refiner weight. On the contrary, half-life increased and Biodegradation constant decreased with increasing refiner size. The results indicated a significant difference in the traits as a result of applying various sizes and weights of refiner. Weekly monitoring of the pollution degradation and bioremediation performance in all refiner sizes and weights showed that the lowest time to 50% pollutant removal was obtained in 100g kg<sup>-1</sup> and 1 mm size treatment. Investigation of the respiration under the mentioned conditions showed that the lower sizes and higher weights of biochar led to improved hydrocarbon degradation. Also, according to the results, biological efficiency (E%) of biochar was calculated 40.05 at the end of the 60 day period.

**Conclusion:** According to the present study, biochar refiner has a great potential for utilization as a cheap and relatively new strategy to eradicate or reduce soil hydrocarbon pollution. This method is compatible with the in situ bioremediation in the soils polluted with petroleum and other petroleum derivate compounds, due to being less costly and posing less hydrocarbon threat to the environment. It is also a suitable tool to devise bioremediation strategies.

**Keywords:** *Biochar, gasoil pollution, kinetic model, soil*

## تغییرات نرخ آلاینده گازوئیلی خاک حاوی اصلاحگر بیوجار (مطالعه موردی: خاک اطراف پالایشگاه شیراز)

میناهاشمی تزنگی<sup>۱</sup>، سهیلا ابراهیمی<sup>۲\*</sup>، رضا قربانی نصر آبادی<sup>۳</sup> و سید علیرضا موحدی<sup>۴</sup>

- ۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران
- ۲- دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران
- ۳- دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران
- ۴- دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران

### چکیده

در سال‌های اخیر بیوجار برای کاهش یا از بین بردن آلودگی بعنوان اصلاحگر خاک بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در این راستا رفتار سینتیکی بیوجار در کاهش آلاینده گازوئیل خاک، تغییرات این آلاینده با زمان و تغییرات فعالیت میکروبی در یک دوره زمانی ۶۰ روزه مورد بررسی قرار گرفت. خاک آلوده به گازوئیل از اطراف مخزن گازوئیل مستقر در پالایشگاه شیراز جمع‌آوری و پس از سنجش میزان هیدروکربن نفتی کل (TPH) اولیه و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک آلوده، نمونه‌های خاک ۷۰۰ گرمی حاوی بیوجار کاه و کلش گندم آماده شده و بیوجار در اندازه‌های یک و دو میلی‌متر و مقدار وزنی ۱۰۰-۸۰-۶۰-۴۰-۲۰ گرم بر کیلوگرم بصورت کورت‌های دوبار خرد شده در زمان بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شده- است. نتایج مربوط به تعیین مدل سینتیک کاهش آلودگی در طی این فرآیند نشان داد که سینتیک کاهش TPH، از نوع معادله درجه اول بود؛ به طوری که در ۲۸ روز اول آزمایش، سرعت تجزیه TPH بصورت افزایشی بود، و پس از ۳۵ روز از شروع آزمایش، سرعت تجزیه ترکیبات آلاینده کاهش یافت. ثابت تجزیه زیستی (k) برای خاک تیمارشده با اصلاحگر بالاتر بود و زمان نیمه عمر کمتری نسبت به خاک آلوده شاهد داشت. با افزایش وزن اصلاحگر نیمه عمر کاهش و سرعت ثابت تجزیه در تیمار وزن ۱۰۰ گرم و اندازه ۱ میلیمتری افزایش یافت. برعکس، با افزایش اندازه ذرات اصلاحگر، نیمه عمر افزایش و ثابت تجزیه کاهش یافت. اصلاحگر بیوجار بعنوان استراتژی ارزان و نسبتاً جدید برای پاکسازی یا کاهش آلاینده‌های هیدروکربنی خاک، می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

### تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۰۹

پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۱۲/۲۹

### کلمات کلیدی:

آلودگی گازوئیلی،

بیوجار،

خاک،

مدل سینتیکی

\* عهده دار مکاتبات

Email: sohebrahimi@gmail.com

### مقدمه

آلودگی خاک با هیدروکربن‌های نفتی یک مشکل جدی زیست‌محیطی است و در طی استخراج، حمل و نقل، پالایش یا ذخیره نفت، استفاده از فرآورده‌های نفتی و یا حوادث نشت نفت از خطوط لوله و چاه‌های نفتی و روش‌های غلط دفع زباله‌های نفتی در سراسر جهان ایجاد می‌شود (۹ و ۲۶) و موجب اثرات زیست‌محیطی جدی می‌گردد (۷).

اخیرا استفاده از مواد اصلاحگر با ذخیره مغذی مناسب سبب بهبود تحریک بیولوژیکی مورد توجه قرار گرفته که خود می‌تواند شرایط تجزیه نفت در خاک را تسریع بخشد (۱۹). بیوجار محصولی غنی از کربن می‌باشد که طی تجزیه حرارتی زیست-توده‌های مانند انواع چوب‌ها، کودها، برگ‌ها، کاه و کلش و همچنین پسماندهای کشاورزی در شرایط بی‌هوازی یا کم-هوازی که به آن گرماکافت (پیرولیز) می‌گویند، تولید می‌گردد. بدین سان در پژوهش‌های متعددی کاربرد اصلاحگر بیوجار در پالایش آلاینده‌های هیدروکربنی مورد بررسی قرار گرفت (۲۹)، (۲۵ و ۱۷). بیوجار به دلیل دارا بودن منافذ بزرگ، سطح ویژه، گروه‌های عاملی موثر قادر است ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی زیست بوم مانند ساختار، ظرفیت نگهداشت آب، ظرفیت تبادل کاتیونی و ذخیره مواد مغذی خاک را بهبود بخشد. بنظر می‌رسد بیوجار علاوه بر حاصلخیزی خاک و بهبود جذب و نگهداشت آلاینده‌های آلی می‌تواند به عنوان وسیله‌ای برای مدیریت ضایعات زیست‌توده پیشنهاد شود (۲۰). محققین دریافته‌اند بیوجار می‌تواند سبب از بین رفتن آلودگی‌های خاک شده و در برنامه‌های پاکسازی خاک بصورت کاربردی مورد توجه قرار گیرد (۱۱).

در این راستا، هدف از این پژوهش، امکان‌سنجی کاربرد بیوجار در کاهش آلودگی هیدروکربنی خاک، تعیین مدل سنتتیک کاهش آلودگی با زمان در طی فرآیند اعمال اصلاحگر مذکور، بررسی کمی و چگونگی تاثیر اندازه بیوجار اضافه شده بر نرخ کاهش آلودگی هیدروکربنی و در نهایت سنجش تاثیر اندازه دانه‌بندی مختلف بیوجار بر کاهش آلاینده هیدروکربنی بود.

### مواد و روش‌ها

خاک مورد آزمایش از یک مکان آلوده گازوئیلی اطراف پالایشگاه شیراز جمع‌آوری شد که این آلودگی از نشت تدریجی چندین ساله گازوئیلی عارض شده بود. نمونه‌های خاک بصورت مرکب جمع‌آوری و برای اندازه‌گیری برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. به منظور تهیه بیوجار، کاه و کلش گندم از یک مزرعه کشاورزی جمع‌آوری شد.

### مشخصات خاک

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمون، شامل بافت خاک به روش هیدرومتری، هدایت الکتریکی در عصاره گل اشباع، فسفر قابل جذب به روش اولسن (۲۱)، نیتروژن کل به روش کجدال، pH خاک در گل اشباع با pH متر، میزان کربن خاک به روش والکی بلک (۲۸)، تعیین شدند (جدول ۱).

### آماده‌سازی بیوجار

در تهیه استاندارد بیوجار، کاه و کلش گندم در آون ۱۱۰ درجه، ۳ ساعت خشک شده، سپس به مدت ۵ ساعت در کوره ۷۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفته و در دمای اتاق سرد شدند (۲۴). مشخصات بیوجار تولیدی (۱۷) در جدول ۲ نشان داده شده است.

### طرح آزمایش

نمونه‌های خاک ۱ کیلوگرمی توزین و به گلدانهای پلاستیکی منتقل شده، سپس بیوجاردر مقادیر ۰-۲۰-۴۰-۶۰-۸۰-۱۰۰ گرم بر کیلوگرم در دو اندازه ۱ و ۲ میلی‌متر به سیستم خاک اضافه شد. میزان رطوبت با افزودن آب مقطر، نزدیک به ۷۰ درصد رطوبت مزرعه و در دمای اتاق ( $28 \pm 2$ ) درجه سانتی-گراد تنظیم شد. دو دور هوادهی در هفته در نظر گرفته شد و رطوبت به وسیله توزین گلدان‌ها و اضافه کردن آب در حد ظرفیت زراعی حفظ شد. هر ۷ روز برای اندازه‌گیری میزان هیدروکربن‌های نفتی نمونه خاک از عمق ۸ سانتی‌متری خاک از گلدانی با ارتفاع ۱۷ و قطر دهانه ۱۸/۵ برداشت شد و میزان کل آلاینده هیدروکربنی خاک به روش وزنی (۲۱) سنجیده شد.

جدول (۱) برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک آلوده به گازوئیل  
Table (1) Some physical and chemical properties of the gasoil-polluted soil

مقدار Value	واحد Unit	ویژگی خاک Soil properties
4.78	dS m <sup>-1</sup>	EC هدایت الکتریکی
7.2	-	pH واکنش خاک
1.30	%	OC کربن آلی
0.21	%	TN نیتروژن کل
8.86	mg kg <sup>-1</sup>	P فسفر قابل جذب
Loamy Sand	-	Tex بافت خاک
6.1	%	Clay رس
7.5	%	Silt سیلت
86.4	%	Sand شن
6.84	%	Fc ظرفیت مزرعه ای

جدول (۲) مشخصات بیوجار کاه و کلش گندم مورد استفاده  
Table (2) Properties of the used wheat straw biochar

مقدار Value	واحد Unit	ویژگی بیوجار Biochar properties
17.7	dS m <sup>-1</sup>	EC هدایت الکتریکی
10.7	-	pH واکنش خاک
44.51	%	OC کربن آلی

اولیه هر تیمار مقایسه و درصد تغییرات هر تیمار مشخص شد.

سپس درصد تجزیه (D) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{رابطه ۱:} \quad \times 100$$

$$D = \frac{TPH_i - TPH_r}{TPH_i}$$

که در آن  $TPH_i$  و  $TPH_r$  غلظت اولیه باقی مانده TPH می‌باشند (۱۰).

#### اندازه‌گیری تنفس میکروبی (MR<sup>۲</sup>)

تنفس میکروبی با استفاده از روش آندرسون (۲۷) و در بازه‌های زمانی ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۶۰ روز پایش شد. در این

#### تعیین هیدروکربن‌های نفتی کل خاک (TPH)

روش تعیین مقدار هیدروکربن نفتی براساس روش استاندارد آژانس حفاظت محیط‌زیست آمریکا (EPA 4113/1) انجام گرفت (۱۴ و ۱۲). در این روش با استفاده از حلال دی‌کلرومتان، نفت موجود در خاک استخراج و به فاز مایع انتقال و با تبخیر حلال رویی، وزن باقیمانده به عنوان TPH بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک گزارش می‌گردد. در این پژوهش، میزان هیدروکربن نمونه‌های خاک استخراج، با مقدار

### تخمین زمان نیمه عمر اصلاح بیولوژیکی

نیمه عمر بیولوژیکی زمان مصرف یک ماده، برای از دست دادن نصف مقدار آن است. مدت زمان نیمه عمر زدایی (t1/2) با استفاده از معادله زیر محاسبه می شود (۳۱).  
رابطه ۴:

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k}$$

که در آن K ثابت سرعت تجزیه بیولوژیکی بر حسب (day<sup>-1</sup>) است. مدل نیمه عمر بر این فرض است که میزان تجزیه زیستی از هیدروکربن ها با حجم هیدروکربن های موجود در خاک همبستگی مثبت دارد (۳۰). پژوهش پیش رو در قالب کرت های دوبار خرد شده در زمان با سه تکرار انجام شد. تجزیه واریانس داده ها با استفاده از نرم افزار SAS v.9.0 و مقایسه میانگین ها با روش حداقل اختلاف معنی دار (LSD) انجام شد.

### نتایج و بحث

#### حذف کل هیدروکربن های نفتی

نتایج تجزیه واریانس نشان داده شده در جدول ۳، اثر ساده وزن بیوچار و کربن فعال، بر روی تغییرات هیدروکربن های نفتی اثر معنی داری در سطح ۰/۰۱ داشت. اثر ساده اندازه بر کاهش هیدروکربن های نفتی معنی دار نشد ولی اثر ساده زمان بر تجزیه هیدروکربن های نفتی در سطح ۰/۰۱ معنی دار شد. اثر متقابل اندازه × وزن در سطح ۰/۰۵ معنی دار شد همچنین اثر متقابل زمان × وزن در سطح احتمال ۰/۰۵ اثر معنی داری را نشان داد ولی اثر متقابل زمان × اندازه و همچنین اثر زمان × اندازه × وزن معنی دار نشد.

نتایج سطوح تجزیه زیستی در خاک اصلاح شده با بیوچار با اندازه ذرات و وزن های مختلف در شکل ۱ (a) و (b) نشان داده شده است. شکل (a) نشانگر اثر بیوچار را به صورت تابعی از زمان برای وزن ۱۰۰-۸۰-۶۰-۴۰-۲۰-۰ گرم بیوچار بر کیلوگرم خاک می باشد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد کاربرد بیوچار در طول فرایند اصلاح، اثر معنی داری در سطح پنج درصد (P<0.05) بر تجزیه نفت داشت. تخریب

روش، در یک ظرف پلاستیکی، مقدار ۱۰ میلی لیتر سود (NaOH) ۰٫۵ نرمال روی سطح خاک برای جذب و جمع آوری دی اکسید کربن CO<sub>2</sub> ناشی از تنفس میکروبی قرار گرفت. ظروف حاوی خاک را در انکوباتور در دمای ۱۵ ± ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده و پس از یک هفته سود را برداشته و با اسید کلریدریک ۰٫۱ نرمال، سود باقی مانده تیترا شد. چهار ظرف بدون خاک ولی حاوی NaOH سودم به عنوان شاهد نیز لحاظ گردید تا CO<sub>2</sub> جذب شده از فضای آزمایش یا آب مقطر مورد استفاده توسط سود از کل CO<sub>2</sub> کسر و میزان CO<sub>2</sub> واقعی متصاعد شده از خاک به دست آید. مقدار کربن متصاعد شده از تنفس میکروبی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$\text{رابطه ۲: } \text{CO}_2 - C = ((B-S) / W) \times N \times E \times 1000$$

که در آن CO<sub>2</sub>-C میزان کربن متصاعد شده ناشی از تنفس بر حسب میلی گرم کربن بر کیلوگرم، B میلی لیتر اسید مصرفی در نمونه شاهد، S میلی لیتر اسید مصرفی در نمونه خاک، N نرمالیت اسید مصرفی، E وزن اکی والان، W وزن خاک آون خشک می باشد.

#### سیتیک اصلاح بیولوژیکی: اطلاعات مربوط به سیتیک

اصلاح بیولوژیکی خاک از اهمیت زیادی برخوردار است، زیرا غلظت آلودگی باقی مانده در هر زمان را مشخص می کند و امکان محاسبه زمان لازم به منظور پالایش خاک وجود دارد. اصلاح بیولوژیکی نفت خام معمولاً به وسیله سیتیک درجه اول توضیح داده می شود. این معادله در فرمول زیر آمده است:

$$\text{رابطه ۳: } Ct = C_0 e^{-kt}$$

که در آن C<sub>0</sub> میزان TPH اولیه در خاک شاهد بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم و Ct میزان TPH باقی مانده (روز) و t زمان (روز) محاسبه غلظت TPH در زمان بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم. K ثابت تجزیه زیستی بر حسب (day<sup>-1</sup>) و t زمان بر حسب روز می باشد (۳۱ و ۱۰).

شکل (۱b) اثر متقابل مقادیر و اندازه ذرات بیوچار (۱-۲ میلی‌متر) بر تجزیه زیستی TPH را نشان می‌دهد. اثر عامل اندازه ذرات بیوچار نیز بر تجزیه نفت در سطح پنج درصد ( $P < 0.05$ ) معنی‌دار شده است. نمودار (b) نشان می‌دهد که تجزیه هیدروکربن‌های نفتی در خاک آلوده با افزایش وزن و کاهش اندازه ذرات بیوچار افزایش می‌یابد، به طوری که وزن ۲۰ گرم بیوچار بر کیلوگرم خاک تاثیر معنی‌داری در تجزیه هیدروکربن‌ها نداشته ولی با افزایش وزن بیوچار و در اندازه کوچکتر روند کاهش TPH بیشتر بود. حداکثر تجزیه نفت و کاهش آلاینده در سطح ۱۰۰ گرم بر کیلوگرم بیوچار در اندازه ۱ میلی‌متر مشاهده شد. بدین معنی که درصد تجزیه TPH برای خاک آلوده با اندازه ذرات کوچکتر بیوچار نسبتاً بالاتر بود.

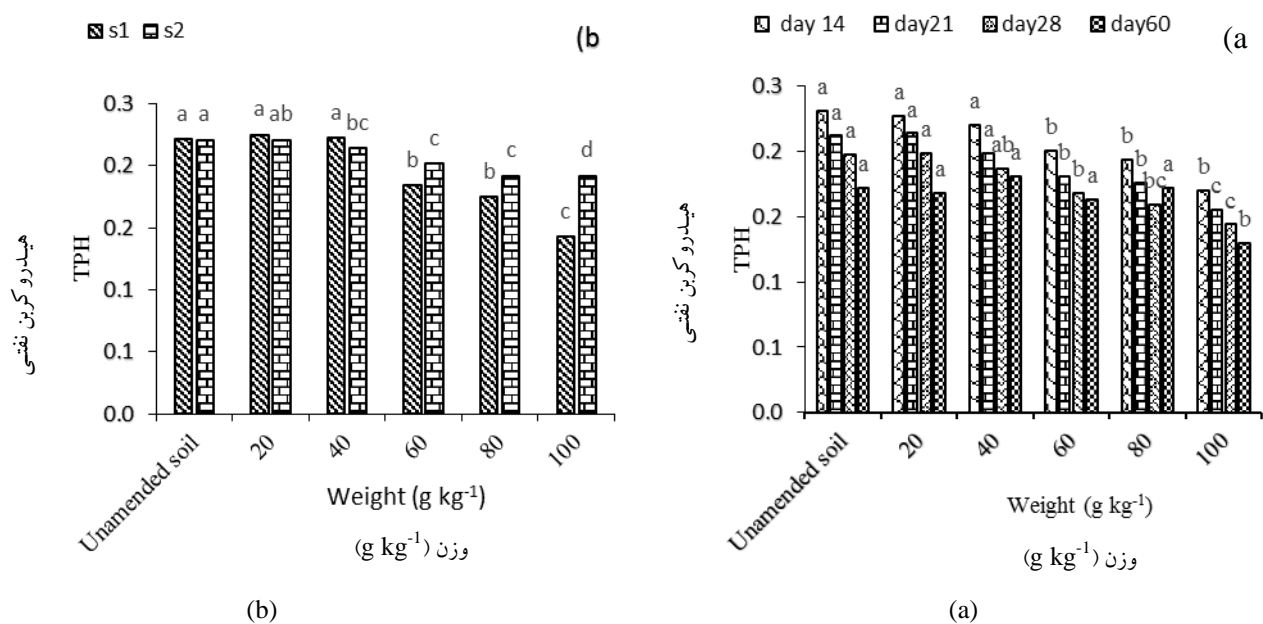
هیدروکربن‌های نفتی در طی هفته اول در تمام سطح تیمار شروع و تا ۶۰ روز به آرامی ادامه داشت است. با افزایش وزن ذرات بیوچار به کار برده شده میزان حذف TPH افزایش یافت که در این میان وزن ۱۰۰ گرم بر کیلوگرم بیوچار، حداکثر مقدار حذف TPH که از ۰/۱۸۱ (روز ۷) به ۰/۱۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک (روز ۲۸) و تیمار کنترل، حداقل مقدار حذف TPH که از ۰/۲۹۳ (روز ۷) به ۰/۱۷۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم (روز ۲۸) را به خود اختصاص دادند. با گذشت زمان، میزان حذف TPH افزایش یافت به طوری که در ۲۸ روز، بیشترین میزان کاهش TPH در وزن ۱۰۰ گرم بیوچار بر کیلوگرم رخ داد. این مشاهدات نشان می‌دهد که تخریب هیدروکربن‌های نفتی در خاک آلوده به گازوئیل با استفاده از وزن‌های مختلف بیوچار با افزایش وزن، افزایش می‌یابد.

جدول (۳) نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای بیوچار بر TPH  
Table (3) Analysis of variance for the effect of biochar treatments on TPH

میانگین مربعات TPH	درجه آزادی	منبع تغییر
۰/۰۱۹۳**	۵	وزن
۰/۰۰۰۸	۱۲	خطای ۱
۰/۰۰۰۶ <sup>ns</sup>	۱	اندازه
۰/۰۰۲۲*	۵	اندازه × وزن
۰/۰۰۰۵	۱۲	خطای ۲
۰/۰۳۷۶**	۴	زمان
۰/۰۰۱۰*	۲۰	زمان × وزن
۰/۰۰۰۵ <sup>ns</sup>	۴	زمان × اندازه
۰/۰۰۰۴ <sup>ns</sup>	۲۰	زمان × اندازه × وزن
۰/۰۰۰۵	۹۶	خطای اصلی
---	۱۷۹	کل
۱۱/۳۹	---	ضریب تغییرات (%)

ns، \* و \*\*: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در  $p < 0.05$  و  $p < 0.01$

ns, \* and \*\*: non-significant, and significant at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$



شکل (۱) مقایسه میانگین اثر متقابل زمان در وزن بیوچار (الف) و وزن در اندازه بیوچار (ب) بر تجزیه زیستی TPH در خاک. S1: اندازه ۱ میلی‌متر؛ S2: اندازه ۲ میلی‌متر. حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در  $p < 0.05$  می‌باشد.  
**Figure (1) Comparison of means for the interaction of time  $\times$  biochar weight (a) and biochar weight  $\times$  size on TPH biodegradation in soil. S1: 1 mm size; S2: 2 mm size. Similar letters denote non-significance at  $p < 0.05$ .**

### تنفس میکروبی

نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای بیوچار بر تنفس میکروبی نشان داد که اثرات ساده وزن، اندازه و زمان در  $p < 0.01$  بر تنفس میکروبی معنی‌دار بود. همچنین از بین اثرات متقابل، فقط اثر اندازه در وزن بیوچار و زمان در وزن بیوچار اثر معنی‌داری بر تنفس میکروبی داشتند (جدول ۴). شکل ۲ فعالیت ریزموجودات تجزیه‌کننده هیدروکربن در خاک آلوده به گازوئیل که با اندازه و وزن مختلف بیوچار را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود فعالیت میکروبی از روز ۰ تا ۲۸ روز روند افزایشی داشته است. مشاهده کردند که جمعیت هیدروکربن باکتری‌های تخریب‌کننده به سرعت در تمام خاک‌ها در سراسر خاک افزایش می‌یابد (۱۵). با در نظر گرفتن تجزیه هوای آلاینده‌گی، با هوادهی می‌توان شرایط تجزیه هیدروکربن‌های نفتی را برای فعالیت ریزموجودات خاک فراهم کرد.

به طور کلی از شکل (a) و (b) می‌توان نتیجه گرفت اصلاح خاک با بیوچار، تجزیه زیستی هیدروکربن‌های نفتی را در مقایسه با خاک شاهد (بدون اصلاح) افزایش می‌دهد. این نتایج با استفاده از بیوچار در تجزیه زیستی هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (۳)، هیدروکربن‌های فرار (۲)، کل هیدروکربن‌های نفتی (۲۵)، فنانترون (۲۰)، ۲، ۶-دی کلروفنل (۱) مطابقت داشت. این مشاهدات می‌تواند باعث افزایش جذب آلاینده‌های آلی توسط بیوچار باشد که سبب بهبود ساختمان خاک، غلظت اکسیژن و ظرفیت نگهداری آب (بعنوان پارامترهای ضروری برای افزایش فعالیت میکروبی خاک، نقل و انتقال و تجزیه بیولوژیکی آلاینده و در نتیجه حذف هیدروکربن‌ها و کاهش TPH) باشد، به طوری که آلاینده‌های آلی جذب شده بوسیله بیوچار در واحد جرم می‌تواند ۱۰ تا ۱۰۰۰ برابر بیشتر از سایر انواع مواد ارگانیک در خاک باشد (۱۸، ۶ و ۲۲).



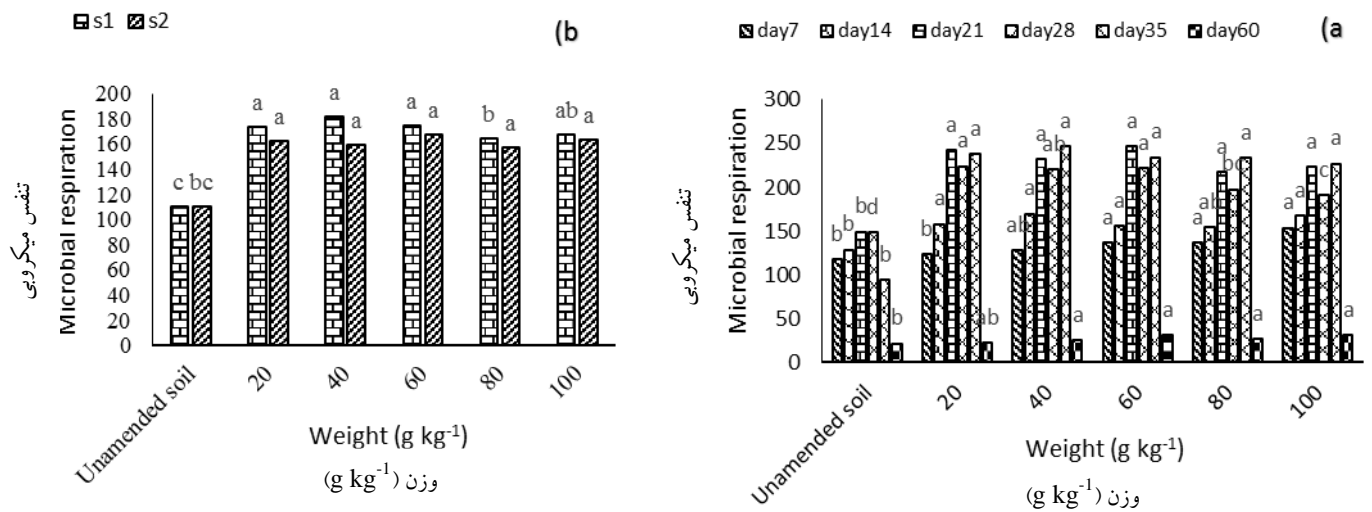
جدول (۴) نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای بیوجار بر تنفس میکروبی

Table (4) Analysis of variance for the effect of biochar treatments on microbial respiration

میانگین مربعات	درجه آزادی	منبع تغییر
تنفس میکروبی		
۲۰۱۴۶/۹۳**	۵	وزن
۳۷۴/۶۱	۱۲	خطای ۱
۳۸۹۳/۱۷**	۱	اندازه
۵۲۶/۲۱*	۵	اندازه × وزن
۱۶۰/۰۸	۱۲	خطای ۲
۱۸۹۵۶۲/۶۷**	۴	زمان
۳۰۶۵/۵۲**	۲۰	زمان × وزن
۴۵۴/۱۹ <sup>ns</sup>	۴	زمان × اندازه
۶۳۴/۳۳ <sup>ns</sup>	۲۰	زمان × اندازه × وزن
۵۱۳/۰۱	۹۶	خطای اصلی
----	۱۷۹	کل
۱۴/۳۶	---	ضریب تغییرات (%)

ns, \* و \*\*: به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در  $p < 0.05$  و  $p < 0.01$

ns, \* and \*\*: non-significant, and significant at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$



شکل (۲) مقایسه میانگین اثر متقابل زمان در وزن بیوجار (الف) و وزن در اندازه بیوجار (ب) بر تنفس میکروبی. S1: اندازه ۱ میلی‌متر؛ S2: اندازه ۲ میلی‌متر. حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در  $p < 0.05$  می‌باشد.

Figure (2) Comparison of means for the interaction of time × biochar weight (a) and biochar weight × size on microbial respiration. S1: 1 mm size; S2: 2 mm size. Similar letters denote non-significance at  $p < 0.05$ .

داد که ریز موجودات خاک دارای اصلاحگر بیوجار، فعالیت میکروبی بیشتری نسبت به خاک شاهد دارد که در پی آن باعث افزایش جمعیت میکروبی خاک می‌شود. نتایج مشابهی توسط سایر محققین گزارش شده است (۲۲، ۵ و ۲۷). بیوجار

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اعمال بیوجار در طول فرایند اصلاح اثر معنی داری بر تجزیه آلودگی داشت. همان گونه که در شکل (2-a) مشخص شده است فعالیت میکروبی از روز ۰ تا ۲۸ روز روند افزایشی داشته است. این نتایج نشان

تجزیه‌زیستی  $k$  ( $0.151 \text{ day}^{-1}$ ) دارای نیمه عمر (days)  $45/90$  ( $t_{1/2}$ ) بود. میزان ثابت تجزیه‌زیستی در خاک شاهد (بدون اصلاحگر)  $k$  ( $0.088 \text{ day}^{-1}$ ) و دارای نیمه عمر ( $t_{1/2}$  78/76 days) است. این مشاهدات نشان می‌دهد که میزان نیمه عمر با افزایش وزن اصلاحگرهای مورد استفاده و همچنین در اندازه ذرات کوچکتر کاهش می‌یابد.

مقادیر نرخ تجزیه هفتگی برای اصلاحگر در هر اندازه در جدول (۶) ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود در همه تیمارها، در ۵ بازه زمانی، مقدار کل هیدروکربن‌های نفتی (TPH) کاهش یافتند که در این میان در اندازه‌ی کوچکتر وزن ۱۰۰ گرم بر کیلوگرم بیوجار حداکثر سرعت تجزیه در بازه زمانی ۷/۰۴ روز و بعد از آن، وزن ۸۰ گرم بر کیلوگرم بیوجار در روز ۹/۱۲ روز و تیمار کنترل حداقل سرعت تجزیه در ۳۶ روز به خود اختصاص دادند.

#### اثر بخشی عامل اصلاحگر

تجزیه و تحلیل ANOVA برای مقایسه کارایی بیوجار در جدول 6 ارائه شد. نتایج نشان داد بیوجار تاثیر آماری معنی‌داری بر تجزیه زیستی گازوئیل داشت و در خاک شاهد هیچ اثر بخشی از کاهش TPH مشاهده نشد و بیوجار تاثیر زیادی بر اثر

بخشی کاهش آلودگی دارد. در این بخش، اثر بخشی اصلاحگر مورد آزمایش از طریق ارزیابی خاک اصلاح نشده و خاک اصلاح شده در پایان ۶۰ روز با سنجش میزان بهره‌وری زیستی (E%) و با استفاده از معادله زیر محاسبه شد (27,31):

$$\text{رابطه ۵} = \frac{\%TPH(s) - \%TPH(v)}{\%TPH(s)} \times 100\%$$

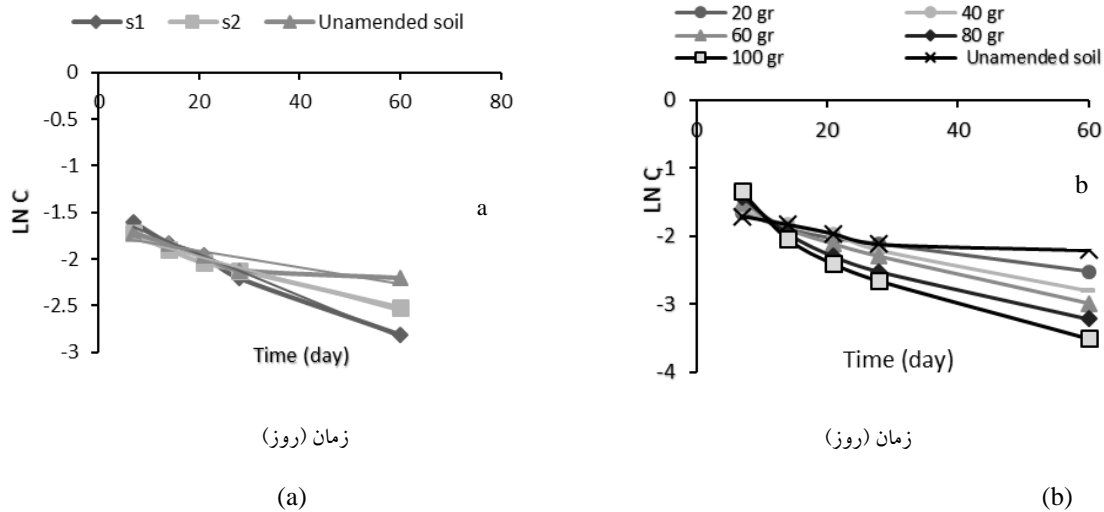
که در آن  $\%TPH_s$  درصد حذف هیدروکربن در خاک اصلاح شده و  $\%TPH_v$  درصد حذف نفت در خاک شاهد می‌باشد. نتایج اثر بخشی میزان بهره‌وری زیستی (E%) در جدول ۷ نشان داده شده است.

سبب افزایش فعالیت میکروبی می‌شود که با تغییر اندازه ذرات کوچکتر بیوجار و وزن بالاتر دیده می‌شود. این مساله ممکن است به دلیل وجود، فضاهای خالی و سطح ویژه بیوجار (مکانی مناسب برای ریزموجودات)، افزایش در دسترس بودن مواد مغذی موجود در خاک (تسهیل رشد میکروبی، تولید مثل و متابولیسم ریزموجودات)، بهبود هوادهی توسط بیوجار و افزایش تعداد ریزموجودات باشد (۲۷، ۸ و ۲) که سبب رشد میکروبی بالاتر ریزموجودات تجزیه‌گر هیدروکربن و افزایش تخریب آنها (برای استفاده برای کربن و انرژی) می‌شود (۴).

#### بررسی سینتیک تجزیه زیستی و نیمه‌عمر

با توجه به زمانبر بودن فرآیند پاکسازی خاک، استفاده از مدل‌های مناسب برای شبیه‌سازی فرآیند و همچنین محاسبه زمان لازم به منظور پالایش خاک و رسیدن به حد مطلوب آن ضروری است. به همین منظور معادله سینتیک درجه اول (رابطه ۳) برای داده‌های تجزیه زیستی (شکل ۳) به منظور تعیین میزان تجزیه بیولوژیکی TPH در روش‌های مختلف اصلاح مورد استفاده قرار گرفت.

مقادیر ثابت سرعت تجزیه (K)، نیمه عمر ( $t_{1/2}$ ) در جدول (۳) ارائه شده است (31). نتایج جدول (۵) نشان می‌دهد که اصلاحگر بیوجار با اندازه ۱/۰۰ میلی‌متر بالاترین ثابت تجزیه زیستی  $k$  ( $0.223 \text{ day}^{-1}$ ) و دارای نیمه عمر ( $t_{1/2}$  31/08 days) کمتر از اندازه ۲/۰۰ میلی‌متر با  $k$  ( $0.145$ ) و نیمه عمر ( $t_{1/2}$  47/8 days) است. همچنین وزن‌های مختلف اصلاحگر بیوجار با بالاترین میزان تجزیه‌زیستی به ترتیب برابر است با وزن ۱۰۰ گرم بیوجار با ثابت تجزیه-زیستی  $k$  ( $0.369 \text{ day}^{-1}$ ) دارای نیمه عمر ( $t_{1/2}$  18/7 days)، کمتر از وزن ۸۰ گرم بیوجار با ثابت تجزیه زیستی  $k$  ( $0.309$ ) دارای نیمه عمر ( $t_{1/2}$  22/43 days)، کمتر از وزن ۶۰ گرم بیوجار با ثابت تجزیه‌زیستی  $k$  ( $0.262 \text{ day}^{-1}$ ) دارای نیمه عمر ( $t_{1/2}$  26/4 days)، کمتر از وزن ۴۰ گرم بیوجار با ثابت تجزیه زیستی  $k$  ( $0.223 \text{ day}^{-1}$ ) دارای نیمه عمر ( $t_{1/2}$  31/08 days)، کمتر از وزن ۲۰ گرم بیوجار با ثابت



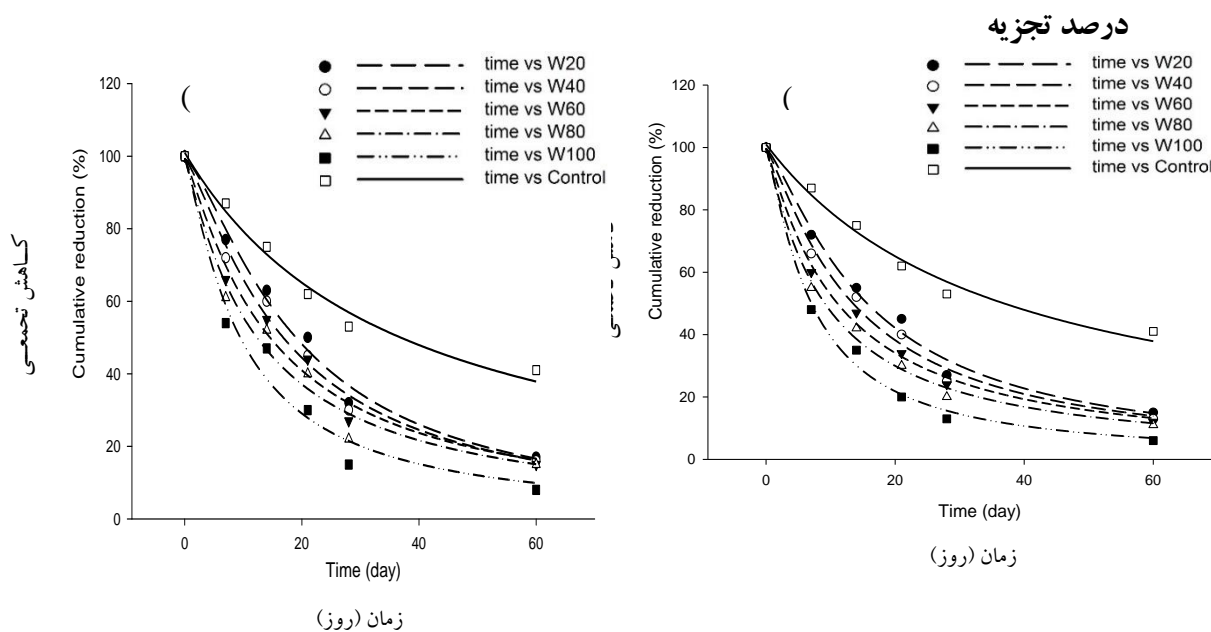
شکل (۳) a. مدل سینتیک درجه اول داده‌های تجزیه زیستی TPH تحت تاثیر اندازه‌های مختلف ذرات بیوجار b. مدل سینتیک درجه اول داده‌های تجزیه زیستی TPH تحت تاثیر وزن‌های مختلف ذرات بیوجار. S1: اندازه ۱ میلی‌متر؛ S2: اندازه ۲ میلی‌متر

Figure (3) First order kinetic model for TPH data as affected a) various sizes of biochar, b) various weights of biochar. S1: 1 mm size; S2: 2 mm size

جدول (۵) معادله سینتیک درجه اول با تعیین ضریب همبستگی ( $R^2$ ) و نتایج ثابت تجزیه بیولوژیکی تحت تاثیر بیوجار

Table (5) First order kinetic function, results of degradation constant (K) and half-life ( $t_{1/2}$ ) as affected by biochar.  $R^2$  represents coefficient of determination.

تیمار Treatment	معادله سینتیک درجه اول First order kinetic equation	k (day <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	عمر نیمه $t_{1/2}$ (days)
اندازه ذرات				
Particle size				
1 mm	C=-0.0223t+1.5062	0.0223	0.988	31.0
2 mm	C=-0.0145t+1.6817	0.0145	0.974	47.8
وزن ذرات				
Particle weight				
20 g	C=-0.0151t+1.6550	0.0151	0.954	45.9
40 g	C=-0.0223t+1.5062	0.0223	0.988	31.0
60 g	C=-0.0262t+1.4840	0.0262	0.963	26.4
80 g	C=-0.0309t+1.4839	0.0309	0.914	22.4
100 g	C=-0.0369t+1.4318	0.0369	0.911	18.7
شاهد				
Control	C=-0.0088t+1.7392	0.0088	0.804	78.7



شکل (۴) درصد تجزیه TPH در سایز یک میلی متری بیوجار b. درصد تجزیه TPH در سایز دو میلی متری بیوجار  
Figure (4) TPH degradation percentage in a) 1.00 mm and b) 2.00 mm biochar size

جدول (۶) برآورد پارامترهای حاصل از برازش مدل سیگنوییدی سه پارامتره لگ لجستیک به داده های تجزیه TPH در تیمار بیوجار. اعداد داخل پرانتز بیانگر خطای معیار می باشند

Table (6) Estimation of parameters obtained from fitting of three parameters log-logistic sigmoidal function to TPH degradation data in biochar treatment. Values in parentheses represent standard error.

اندازه (mm) Size (mm)	وزن ( $g\ kg^{-1}$ ) Wight ( $g\ kg^{-1}$ )	حداکثر مقدار (%) Maximum value (%)	شیب در X50 Slope at X50	روز تا ۵۰% کاهش (x50) Days to 50% reduction (x50)	$R^2$
1	20	99.55 (4.03)	1.31(0.16)	15.76(1.55)	0.98
	40	99.47 (3.90)	1.22 (0.15)	13.58 (1.38)	0.99
	60	99.68 (2.93)	1.12 (0.10)	11.11 (0.96)	0.99
	80	99.80 (2.92)	1.08 (0.11)	9.12 (0.88)	0.99
	100	99.83 (3.47)	1.22 (0.15)	7.04 (0.83)	0.98
	شاهد Control		100.99 (3.54)	1.01 (0.13)	36.15 (4.10)
2	20	99.21 (3.99)	1.41 (0.17)	19.19 (1.76)	0.98
	40	99.25 (4.05)	1.30 (0.16)	16.99 (1.68)	0.98
	60	99.30 (5.00)	1.16 (0.18)	14.72 (1.99)	0.98
	80	99.49 (6.07)	1.10 (0.22)	12.43 (2.20)	0.97
	100	99.39 (6.96)	1.20 (0.28)	9.57 (1.95)	0.97
	شاهد Control		100.99(3.54)	1.01 (0.13)	36.15 (4.10)

جدول (۷) درصد تجزیه و بهره‌وری زیستی عوامل اصلاحگر در پایان دوره  
 Table (7) Degradation percentage and efficiency at the end of the period

تیمار بهبود خاک Amended-soil treatment	TPH میانگین تجزیه TPH degradation (mean)(%)	E (%)
بیوچار Biochar	65.33	40.05
خاک شاهد (تجزیه طبیعی) Unamended soil (natural degradation)	38.88	-

### نتیجه‌گیری

اصلاحگر بیوچار بین ۰/۰۰۶ و ۰/۰۱ (day-1) و برای خاک شاهد (بدون اصلاحگر) برابر با ۰/۰۰۴۸ بوده است. زمان نیمه عمر (t1/2) برای خاک شاهد بدون اصلاحگر بیوچار برابر با ۱۴۴/۴۰ روز بود. که مدت زمان نیمه عمر برای بیوچار بین ۱۱۵/۵۲ و ۶۹/۳۱ روز کاهش یافت. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از SAS به منظور تعیین اثر معنی دار بودن عوامل اصلاح شده بر محتوای هیدروکربنی کل خاک نشان داد که تجزیه بیولوژیکی در خاک به وسیله بیوچار به عنوان عوامل اصلاح شده موثر بوده. به طوری که میزان اثربخشی اصلاحگر (E%) و مقادیر ثابت تجزیه (K) و عملکرد بیولوژیکی بیوچار خوب بوده است. اصلاح خاک با بیوچار این پتانسیل را دارد که به یک استراتژی ارزان و نسبتاً جدید برای کاهش خطر آلودگی ترکیبات آلی مورد استفاده قرار گیرد. روش پیشنهاد شده در اینجا می‌تواند مناسب با زیست پالایی خاک‌ها آلوده به نفت خام و سایر ترکیبات نفت سبک به دلیل هزینه‌های مناسب و خطر زیست محیطی کمتر ناشی از زیان‌های هیدروکربن‌ها باشد. با این وجود، این یافته‌ها نشان دهنده یک قاعده کلی نیست رویکردی که اینجا استفاده می‌شود می‌تواند یک ابزار پیشنهادی مناسب در طراحی استراتژی‌های اصلاح بیولوژیکی خاک مورد توجه قرار گیرد.

اصلاح زیستی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی می‌تواند روشی موثر و سازگار با محیط زیست برای حل مشکلات آلودگی خاک باشد. در مطالعه حاضر، اصلاح زیستی خاک آلوده به گازوئیل در راستای بررسی امکان سنجی کاربرد بیوچار در کاهش آلودگی گازیلی خاک و بررسی کمی چگونگی تاثیر مقدار و اندازه بیوچار اعمال شده بر نرخ کاهش آلودگی، انجام گرفت. نتایج نشان داد، استفاد از بیوچار سبب بهبود تجزیه بیولوژیکی در خاک آلوده شده است، به طوری که در پایان دوره ۶۰ روزه، در اندازه‌ی کوچکترین ذرات (بیوچار ۱ میلی‌متر) و تیمار ۱۰۰ گرم بر کیلوگرم بیوچار حداکثر پدیده ۵۰ درصد کاهش هیدروکربن‌ها در بازه زمانی ۷ روز به خود اختصاص دادند. نتایج داده‌های آزمایشی تعیین مدل سنتتیک کاهش آلودگی با زمان در طی فرآیند اعمال اصلاحگرهای مذکور، نشان داد سنتتیک کاهش TPH، تابع معادله درجه اول است. به طوری که در ۲۸ روز اول آزمایش، سرعت تجزیه TPH بصورت افزایشی بود، ولی پس از ۳۵ روز از آزمایش، شتاب تجزیه ترکیبات آلاینده کاهش یافت. بنظر می‌رسد، چندین فاکتور از جمله کاهش قابلیت دسترسی زیستی، افزایش سمیت متابولیت‌های ناشی از تجزیه، افزایش ترکیبات مقاوم در برابر تجزیه زیستی در این امر دخیل بوده است. ثابت تجزیه زیستی (K) برای

## References

1. Agarry, S. E., Aremu, M.O. and Aworanti, O. A. 2013. Biodegradation of 2, 6-dichlorophenol wastewater in soil column reactor in the presence of pineapple peels-derived activated carbon, palm kernel oil and inorganic fertilizer. *Journal of Environmental Protection*, 4(6): 537.
2. Bushnaf, K. M., Mangse, G., Meynet, P., Davenport, R. J., Cirpka, O. A. and Werner, D. 2017. Mechanisms of distinct activated carbon and biochar amendment effects on petroleum vapour biofiltration in soil. *Environmental Science: Processes and Impacts*, 19: 1260-1269.
3. Bushnaf, K. M., Puricelli, S., Saponaro, S. and Werner, D. 2011. Effect of biochar on the fate of volatile petroleum hydrocarbons in an aerobic sandy soil. *Journal of Contaminant Hydrology*, 126: 208–215.
4. Cao, Y., Yang, B., Song, Z., Wang, H., He, F. and Han, X. 2016. Wheat straw biochar amendments on the removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 130: 248-255.
5. Chan, K. Y., and Xu, Z. 2012. Biochar: nutrient properties and their enhancement. In: Lehmann, J., Joseph, S. (Eds.) *Biochar for Environmental Management*. Routledge, pp. 99-116.
6. Chen, B., and Yuan, M. 2011. Enhanced sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons by soil amended with biochar. *Journal of Soils and Sediments*, 11(1): 62-71.
7. David, T. T., Otilio, A. S., Blanca, R. R. P. and Martha, G. C. 2017. Phylogeny and polycyclic aromatic hydrocarbons degradation potential of bacteria isolated from crude oilcontaminated site. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 52(9): 897-904.
8. Ebrahimi, S. 2009. Spatial-temporal variability of hydrocarbon pollutants and chemical solvents behavior in soil porous media. Ph.D. Thesis. Tarbiat Modares University, 150p.
9. Ebrahimi, S., Shayegan, J., Malakouti, M. J., Akbari, A., and Atashjameh, A. 2010. Hydrocarbon pollution emission in soil around sarkoun refinery. *Journal of Water and Soil Conservation*. 4: 101–124.
10. Ebrahimi, S., Shayegan, J., Malakouti, M., and Akbari, A. 2011. 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 (57): 9-26 (In Persian).
11. Egene, C. E., Van Poucke, R., Ok, Y. S., Meers, E. and Tack, F. M. G. 2018. Impact of organic amendments (biochar, compost and peat) on Cd and Zn mobility and solubility in contaminated soil of the Campine region after three years. *Science of the Total Environment*, 626: 195-202.
12. Environmental Protection Agency, U. S. 1986. Test method for evaluating solid waste, SW-846, third ed (p. 1A). Washington: U.S. EPA.
13. Fallah, M., Ebrahimi, S. and Shabanpour, M. 2013. Hydrocarbon pollution emission in the pilot and pulse condition in saturated porous media of soil. *Journal of Water and Soil Conservation*, 20(3): 227-240.
14. Fazlali, S., Ebrahimi, S., Zakerinia, M, and Movahedi Naeini, S. A. 2015. Monitoring of the Transfer of Kerosene and Water through the Light Soil Contains Montmorillonite Nanoclay. *Journal of Soil and Water Resources Conservation*, 5(1): 55-66.
15. Karimpoor, R., Ebrahimi, S., Malekzadeh, E., & Hassanpour-bourkheili, S. (2022). Bioremediation of total petroleum hydrocarbons in oil sludge-polluted soil using active carbon remediator. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19(8), 7649-7660.
16. Kong, L., Gao, Y., Zhou, Q., Zhao, X. and Sun, Z. 2018. Biochar accelerates PAHs biodegradation in petroleum-polluted soil by biostimulation strategy. *Journal of Hazardous Materials*. 343, 276–284.

17. International Biochar Initiative (2015) Standardized product definition and product testing guidelines for biochar that is used in soil.
18. Lehmann, J., Rillig, M. C., Thies, J., Masiello, C. A., Hockaday, W. C. and Crowley, D. 2011. Biochar effects on soil biota—a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(9): 1812-1836.
19. Liao, C., Xu, W., Lu, G., Deng, F., Liang, X., Guo, C. and Dang, Z. 2016. Biosurfactant-enhanced phytoremediation of soils contaminated by crude oil using maize (*Zea mays* L.). *Ecological Engineering*, 92: 10-17.
20. Marchal, G., Smith, K. E., Rein, A., Winding, A., de Jonge, L. W., Trapp, S. and Karlson, U. G. 2013. Impact of activated carbon, biochar and compost on the desorption and mineralization of phenanthrene in soil. *Environmental Pollution*, 181: 200-210.
21. Marquez-Rocha F.J., Hernandez-Rodriguez, V.Z. and Teresa Lamela, M.A. 2000. Biodegradation of diesel oil in soil by microbial consortium. *Water, Air and Soil Pollution*, 128: 313-320.
22. Meynet, P., Moliterni, E., Davenport, R. J., Sloan, W. T., Camacho, J. V. and Werner, D. 2014. Predicting the effects of biochar on volatile petroleum hydrocarbon biodegradation and emanation from soil: a bacterial community finger-print analysis inferred modelling approach. *Soil Biology and Biochemistry*, 68: 20-30.
23. Olsen, S.R. and Sommer, L.E. 1982. Phosphorus. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds.), *Methods of Soil Analysis*. Agronomy vol. 9 (Part II). Am. Soc. Agron., S.S.S. Am. Madison. WI, pp. 403-430.
24. Osuji, L. C., Egbuson, E. J. and Ojinnaka, C. M. 2005. Chemical reclamation of crude-oil-inundated soils from Niger Delta, Nigeria. *Chemistry and Ecology*, 21(1): 1-10.
25. Qin, G., Gong, D. and Fan, M.-Y. 2013. Bioremediation of petroleum-contaminated soil by biostimulation amended with biochar. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 85: 150-155.
26. Sun, J., Pan, L., Tsang, D. C., Zhan, Y., Zhu, L. and Li, X. 2018. Organic contamination and remediation in the agricultural soils of China: a critical review. *Science of the Total Environment*, 615: 724-740.
27. Tazangi, M.H., Ebrahimi, S., Nasrabadi, R.G. and Naeni, S.A.M. 2020. Kinetic Monitoring of Bioremediators for Biodegradation of Gasoil-Polluted Soil. *Water, Air and Soil Pollution*, 231: 418.
28. Walkley, A., and Black, I. A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil science*, 37(1): 29-38.
29. Ye, S., Zeng, G., Wu, H., Liang, J., Zhang, C., Dai, J., Xiong, W., Song, B., Wu, S. and Yu, J. 2019. The effects of activated biochar addition on remediation efficiency of cocomposting with contaminated wetland soil. *Resources, Conservation and Recycling*, 140: 278-285.
30. Yeung, P. Y., Johnson, R. L. and Xu, J. G. 1997. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in soil as affected by heating and forced aeration. *Journal of Environmental Quality*, 26(6): 1511-1516.
31. Zahed, M.A., Abdul Aziz H., Isa M.H., Mohajeri L., Mohajeri S. and Kutty S.R.M. 2011. Kinetic modeling and half-life study on bioremediation of crude oil dispersed by Corexit 9500. *Journal of Hazardous Materials*, 185: 1027-1031.