مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد (17) العدد (1) – (2017)
ISSN-1813-1646

التحلل الحيوي للمخلفات النفطية بفعل بعض الانواع البكتيرية

منى علي حسين*[1] وياسين حسين عويد* وجهاد ذياب محل**

*كلية التربية للبنات / جامعة تكريت ** كلية العلوم/جامعة تكريت

الخلاصـــة

بينت النتائج قابلية العزلات البكتيرية *Pseudomonas fluorescens, .SP Aeromonas ,vulgaris Proteus ,Micrococcusluteus* على تحليل المخلف النفطي في الوسط السائل بصورة انفرادية وكذلك بالتآزر بين العزلات. اظهرت بكتريا *Pseudomonas fluorescens* القابلية العالية على تحليل المخلف النفطي أذ كانت الأفضل بين الأنواع بالفعل المنفرد أذ بلغت قدرتها 93%. كما اظهرت النتائج القابلية العالية لبكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Aeromonas SP.* بالفعل المتآزر على تحمل المخلف النفطي في الوسط السائل أذ بلغت 86% في حين اظهرت البكتريا المتآزرة *Proteus vulgaris* و *Micrococcus luteus* اقل قابلية في تحليل المخلف النفطي أذ بلغت 54%. اعتمدت الدراسة استخدام تقنية كروماتوكرافيا الغاز Chromatography– Gas وطيف الاشعة تحت الحمراء Reds-Infra كمؤشرات.

الكلمات المفتاحية :
التحلل الحيوي ، المخلفات النفطية .

للمراسلة :
منى علي حسين
كلية التربية للبنات – جامعة تكريت – **العراق** .

Biodegradation of Waste Oil By Some Bacterial Species

Muna A. Husien ; Yaseen H. Owaid and Jihad Th. Mahal
College of Education for Women – Tikrit University

ABSTRACT

The Results showed the ability of *Pseudomonas fluorescens, Aeromonas SP., Micrococcus luteus* and *Proteus vulgaris* degradation of oil residues in liquid medium in each alone or interacted. results showed high ability of *Pseudomonas fluorescens* to degradation of oil residues which was 93%, as well as the results showed high ability of synergistic bacteria *Pseudomonas fluorescens, Aeromonas SP.*, to degradation oil residues in liquid medium which reached 86%.while showed synergistic bacteria *Proteus vulgaris* and *Micrococcus luteus* less ability to decomposition oil residues which reached 54%.the conducted study depend on Gas -Chromatography and infrared spectrum as good of scientific indicator.

Key Words:
Biodegradation, Waste Oil, Bacterial Species.

Correspondence:
Muna A. Husien
College of Education for Women – Tikrit University- **IRAQ.**

المقدمة :

التكسير الحيوي والتي هي أحدى عمليات التجوية الرئيسة التي تحصل للمركبات الهيدروكربونية بعد دخولها إلى البيئة، حيث تسهم وبشكل كبير في تحليل المواد الملوثة الى مركبات أخرى. ولا تنحصر عملية التحـــلل الحيوي للمركبات الهيدروكربونية بعدد قليل من الاحياء المجهــرية، بل هنالك أعداد كبيرة قادرة على تحليل الهيدروكربونات النفطية كمصدر للكاربون والطاقة (Atlas. 1981)، ويرى البعض أن استثمار طاقة الأحياء المجهرية في قابليتها على معالجة مياه الفضلات الصناعية تعد من طرق المعالجة الأفضل نظراً لكونها لا تتطلب كلفة باهضه، إذ تعمل على ازالة التراكيز العالية من المركبات العضوية السامة. وتعتمد عملية التحلل للمواد العضوية بشكل رئيس على وجود المغذيات المتوفرة في مياه الفضلات مثل النتروجين والفسفور مما

[1] البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول

يساعد في الحفاظ على النمو، وتخفيض المحتوى الكلي للمركبات العضوية، وإمكانية استعمال المياه الناتجة عن هذا النوع من المعالجة في أغراض أخرى كعمليات الزراعة مباشرة (Cheremisinoff,2005; Blumental *et al.*,2000)، تهدف معالجة مياه الفضلات من خلال اتباع طرق المعالجة المختلفة فيزيائية، كيميائية، وحياتية اعتماداً على نوع الملوثات إلى تقليل المحتوى الكربوني العضوي الذي يشمل المركبات صعبة التكسير الحياتي، فضلاً عن المواد السامة والمسرطنة والمطفرة، والتقليل من تركيز المواد الحياتية (Biogenic) مثل الأملاح المعدنية والنتروجين والفسفور، وبالتالي تثبيط ظاهرة الإثراء الغذائي فضلاً على طرد أو تثبيط الأحياء المجهرية والطفيليات الممرضة (فهد وربيع، 2010)

اهداف الدراسة:

1- دراسة مواصفات مياه الفضلات الصناعية الصادرة عن مصافي المنطقة الشمالية / بيجي والملوثة بالمخلفات النفطية من الناحية البيئية.

2– معالجة مياه الفضلات الصناعية الحاوية على الملوثات المختلفة بطريقة فيزيائية وحيوية.

3-عزل أنواع بكتيرية لها القابلية على تحليل المخلفات النفطية وتشخيصها.

المواد وطرائق العمل :

جمع العينات :

تم جمع عينات مياه الفضلات الصناعية من محطة التجميع الرئيسية للمياه، إذ يتم ضخ المياه الصناعية الملوثة والصادرة عن الوحدات التشغيلية والإنتاجية في شركة مصفى الشمال/ بيجي، كما استخدمت قناني زجاجية سعة (250 مل) ومعقمة مسبقاً بالمؤصدة لغرض عزل الأحياء المجهرية بعد جلب العينات إلى المختبر.

العزل والتشخيص :

تم عزل البكتريا المتواجدة في المياه الصناعية بعد نقلها إلى المختبر مباشرة وذلك برج العينة عدة مرات، وفي ظروف معقمة تم إجراء سلسلة من التخافيف العشرية باستعمال المحلول الملحي الفسلجي المحضر، وذلك عن طريق اخذ 1 مل من عينة الماء إلى انبوب اختبار يحتوي على 9 مل من المحلول الملحي Normal saline للحصول على التخفيف الاول (0.1) وبعدها أخذ 1 مل من الانبوب الاول وأضيف للأنبوب الثاني للحصول على التخفيف الثاني (0.01) وهكذا تكرر العملية لحين الحصول على التركيز المطلوب. وتم اخذ 0.1 مل من التخفيف الثالث ونشر على الاطباق الحاوية على الوسط المغذي الصلب Nutrient Agar باستخدام طريقة النشر Spreading وحضنت بدرجة حرارة 37°م ولمدة 24 ساعة وبعد ظهور نمو المستعمرات تم انتقاء المستعمرات المختلفة في اللون والشكل والحجم وسجل عدد كل نوع من المستعمرات ثم تم بعدها زرع جميع العزلات المختلفة على الوسط نفسه بطريقة التخطيط Streaking method ولغرض تنقيتها والحصول على المستعمرات منفردة،

اختبار قدرة العزلات على تفكيك المخلفات الهيدروكربونية في الوسط السائل :

تم اختبار قابلية العزلات البكتيرية على تحمل المخلف النفطي في الوسط السائل باستخدام الطريقة الوزنية وذلك عن طريق قياس الفرق بين وزن كمية المخلف النفطي المضاف الى وسط الاملاح المعدنية المستخدم قبل وبعد تنمية العزلات البكتيرية المستخدمة كما وتم قياس النسبة المئوية لمعدل تحمل المخلف النفطي بفعل كل عزلة على حدة وكذلك التآزر بين العزلات الستة (Atlas and Bartha, 1972).

قياس تحلل النفط الخام باستخدام الطرق الكيميائية المتخصصة :

قياس تحلل المخلفات النفطية باستخدام كروماتوكرافيا الغاز :

تم قياس مستوى تحمل المخلفات النفطية المتحللة بفعل الانواع البكتيرية المختارة بعد مدة التحضين البالغة 28 يوماً وبدرجة حرارة 37°م باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز chromatography-Gas المجيز من قبل شركة Varian الامريكية، باستخدام عامود الفصل الكروماتوكرافي نوع 20% البالغ طولة 9 قدم وقطره 1/8 انج وتم حقن 0.1 من كل نموذج من نماذج التجربة وكانت الظروف المستخدمة لتشغيل الجهاز الاتي:

الغاز الحامل Carrier gas ← النتروجين N_2 ومعدل جريان الغاز الحامل ← 45 ملليتر/دقيقة

درجة حرارة الكاشف FID Detector ← 275 درجة مئوية زمن تحميل عمود الفصل الابتدائي Initial column Hold time ← 4 دقيقة درجة حرارة عمود الفصل النهائية الاولى Final 1 column time ← 175 درجة مئوية معدل السرعة Rate ← 7 درجة مئوية /دقيقة وقت التحليل ← 35 دقيقة درجة حرارة عمود الفصل النهائية الثانية Final 2 column time ← 190 درجة مئوية معدل السرعة Rate ← 5 درجة مئوية /دقيقة التحميل←Hold ← 20 دقيقة

تم إجراء هذه التحليلات والقياسات في مختبرات الشركة العربية للكيمياويات والمنظفات في بيجي (Hamme and ward, 2000).

قياس تحلل النفط الخام باستخدام طيف امتصاص الاشعة تحت الحمراء Infrared (IR)

تمت هذه التحليلات في مختبرات قسم الكيمياء كلية التربية، جامعة تكريت ،إذ تم قراءة طيف الأشعة تحت الحمراء للعينات المحللة بفعل البكتريا المستخدمة في الدراسة للمخلف النفطي المستخدم باستخدام الأشعة تحت الحمراء نوع Fourier Transform Infrared Spectrophotometer العلامة FTIR-8400S المجهز من شركةhimadzu Corporation اليابانية، أذ تم اخذ قطرة من كل عينة (معاملة) ووضعت في خلية الجهاز (KBr) وتم معايرة الجهاز باستخدام مادة متعددة الستايرين pIoystyerene وبسمك 0.1 ملم من كل معاملة فضلاً عن عينة المقارنة للمخلف النفطي وتمت القياسات بعد أن تم اعداد الجهاز على مدى من الارقام بين النسبة المئوية للنفوذية %Tعلى المحور العمودي، وبمدى من(Zero–40) ومقلوب الطول الموجي على المحور الافقي وبمدى400–4000 1/mc وسجلت النتائج.

النتائج والمناقشة :

اعتماداً على الفحص المجهري والاختبارات الكيموحيوية واختبارات تخمر السكريات. بعد مقارنة النتائج مع ما أشار إليه (Holt *et al*., 1994) ومع ما ذكره (Williams *et al*., 1983) تم تشخيص ستة انواع كما في الجدول (1).

الفقدان الكمي للمخلفات النفطية بالطريقة الوزنية والتحليل بكروماتوكرافيا الغاز :

درست نسبة الفقدان الكمي للمخلفات النفطية بفعل نمو عزلات البكتريا التي رشحت لكونها أفضل العزلات اعتماداً على سيادتها وقابليتها على استهلاك أكبر كمية ممكنة من المخلف النفطي ، إذ بينت النتائج التحلل الحيوي في الوسط السائل اختلافاً واضحاً في قابلية البكتريا المدروسة على تحلل المخلفات النفطية الجدول (2). اظهرت النتائج أن العزلات البكتيرية المختارة سجلت قابلية متفاوتة في تحلل المخلفات النفطية، إذ أظهرت بكتريا *Pseudomonas fluorescens* أعلى قابلية على تحلل المخلفات النفطية مقارنة بالعزلات الاخرى إذ بلغت نسبة التحلل 93.10%. وهذا يترابط مع نتائج كروماتوكرافيا الغاز فعند مقارنة نتائج كروماتوكرافيا الغاز لعينة السيطرة الشكل (1)، وجد اختفاء نسبة كبيرة من الحزم في العينة المعاملة بهذا النوع البكتيري كما في الشكل (2) التحلل الواضح للمخلفات النفطية في وسط الاختبار*Pseudomonas fluorescens* بعد 28 يوم من الحضانة بالمقارنة مع معاملة السيطرة . تؤكد العديد من الدراسات كفاءة جنس *Pseudomonas* وخاصة المجموعة المتألقة ضمن هذا

الجنس ومنها *Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas aeruginosa* في تمثل واستهلاك مختلف المركبات الهيدروكربونية الأليفاتية والأروماتية نظراً لامتلاك هذه البكتريا أنظمة أنزيمية مختلفة مثل (Monoxyganas , Dioxyganase). اضف لامتلاكها بلازميدات التفكيك الحيوي (Biodegradative Plasmids) المسؤول عن تمثيل واستهلاك الكثير من الهيدروكربونات المختلفة وكذلك قابليتها الفسلجية والوراثية جعلتها من اكثر اجناس البكتريا الواسعة الانتشار في البيئات الملوثة (Slater *et al*., 1988; Galli *et al*., 1992) تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه (Koyode – Isola *et al* .,2008) في قدرة هذا النوع من البكتريا على استهلاك المركبات الهيدروكربونية . اظهرت النتائج قابلية جنس *Aeromonas sp.* على تحليل المخلف النفطي إذ بلغت نسبة تحلل بفعل النوع البكتيري 75.75% وقد اتفقت هذه مع نتائج كروموتوكرافيا الغاز الشكل (3). اظهرت النتائج ضعف قابلية بكتريا *Micrococcuas luteus* في تحليل المخلفات النفطية في الوسط السائل، إذ بلغت نسبة تحلل المخلف النفطي بفعل هذا النوع من البكتريا 41.80% ويترابط هذا مع نتائج كروموتوكرافيا الغاز كما في الشكل (4). إذ لم يظهر اختفاء كبير للحزم في العينة المعاملة بهذا النوع البكتيري مقارنة بمعاملة السيطرة .

الجدول (1) نتائج الاختبارات الكيموحيوية للأنواع البكتيرية المعزولة

الأنواع / الاختبارات	*Pseudomonas fluorescens*	*Aeromonas sp.*	*Corynobacterium kutscheri*	*Micrococcus luteus*	*Proteus vulgaris*	*Klebsiella pneumoniae*
صبغة كرام	–	–	+	+	–	–
صبغة سبورات	–	–	–	–	–	–
انتاج صبغة King A	+	–	–	–	–	–
انتاج صبغة King B	+	–	–	–	–	–
انتاج انزيم الكتاليز	+	+	+	+	+	+
انتاج انزيم الاوكسديز	+	–	+	–	–	–
النمو في (4 مْ)	+	+	–	–	–	–
النمو في (42 مْ)	–	+	–	+	–	+
انتاج غاز H_2S	–	+	–	–	+	–
إسالة الجيلاتين	+	+	–	+	–	–
تحلل النشأ	–	–	+	–	–	+
استهلاك السترات	+	+	+	+	+	+
انتاج انزيم اليوريز	–	–	+	–	–	+
تحلل الدم	–	+	–	–	–	–
اختبار المثيل الاحمر	–	+	–	+	–	–
اختبار الفوكس بروسكور	–	–	–	–	+	+
اختبار الاندول	–	–	+	–	+	–
اختبار الحركة	+	+	–	–	+	–

وتعد *Micrococcuse luteus* من محللات المركبات الهيدروكربونية المشبعة بسرعة اكبر من تحلل المركبات الأروماتية التي تستغرق وقتاً اطول في تحللها (Ojo, 2006). يعزى انخفاض التحلل بفعل هذا النوع البكتيري إلى فقدان بعض المكونات التركيبية في جدرانها والتي هي ضرورية لعملية التلامس مع النفط (Haines *et al.*, 1996). تم اعتماد تقنية Gas-Chromotography من قبل عدد كبير من الباحثين لبيان التحلل في أجزاء النفط الخام ومشتقاته، إذ استعمل (Salam *et al* ., 2011) تقنية Gas- Chromotography لدراسة التحلل الحيوي للكيروسين والديزل والنفط الخام بفعل انواع بكتريا *Pseudomonas aergnios*a , *Pseudomonas putida* واظهرت دراستهم اختفاء الأجزاء الأليفاتية واختزال عدد كبير من الأجزاء الأروماتية، وأن اختفاء الأجزاء الأليفاتية قد يعود إلى امتلاك البكتريا الجينات اللازمة لعملية التحلل الحيوي التي قد يعود استهلاكها للبلازميدات نتيجة تعرضها لهذه الملوثات (Cowan and Starfford, 2007). بعد دراسة كفاءة العزلات البكتيرية قيد الدراسة والتي سجلت قابلية متفاوتة في تحليل المخلفات النفطية بصورة منفردة تم التعرف على قدرتها على تحليل المخلفات النفطية بصورة متآزرة إذ تم مزج الأنواع بصورة ثنائية كما تم مزج الأنواع الأربعة مع بعضها .

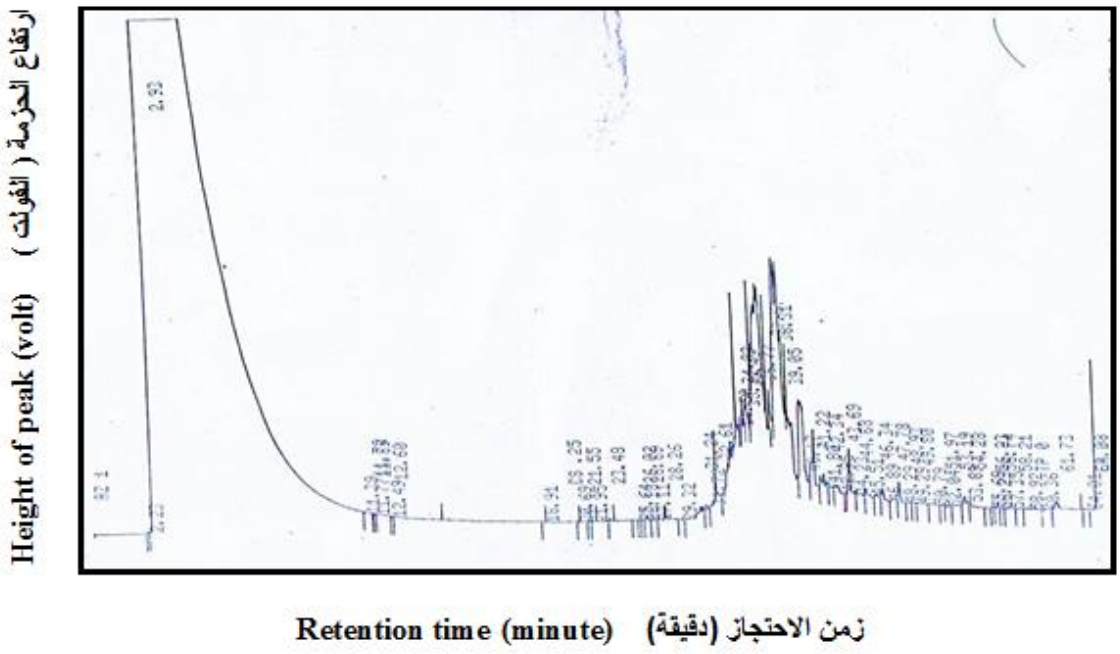
الجدول (2) النسب المئوية لتحلل المخلفات النفطية بفعل الانواع البكتيرية المختارة

البكتريا المعامل بها المخلف النفطي	وزن 1سم3 من المخلف النفطي غير المعامل	الوزن المتبقي منة من غير تحليل	الوزن المتحلل من المخلف النفطي بفعل البكتريا	النسبة المئوية لتحلل عينة المخلف النفطي
Pseudomonas fluorescens	0.8447	0.0582	0.7865	93.10
Aeromonas SP.	0.8447	0.2048	0.6399	75.75
Micrococcus luteus	0.8447	0.4917	0.3531	41.80
Proteus vulgari s	0.8447	0.4201	0.4246	50.26
P.Fluorescens sp . +Aeromonas	0.8447	0.1103	0.7344	86.94
P.fluorescens +M.luteus	0.8447	0.3514	0.4933	58.39
P.Fluorescens+P.vulgaris	0.8447	0.1509	0.6938	82.13
Aeromonas sp. +M. luteus	0.8447	0.2242	0.6205	73.45
Aeromonas sp. +P.vulgaris	0.8447	0.256	0.5887	69.69
M. luteus +P.vulgaris	0.8447	0.3885	0.4562	54
P.fluorescens+Aeromonas M.luteus+P.vulgaris sp.	0.8447	0.2727	0.572	67.71

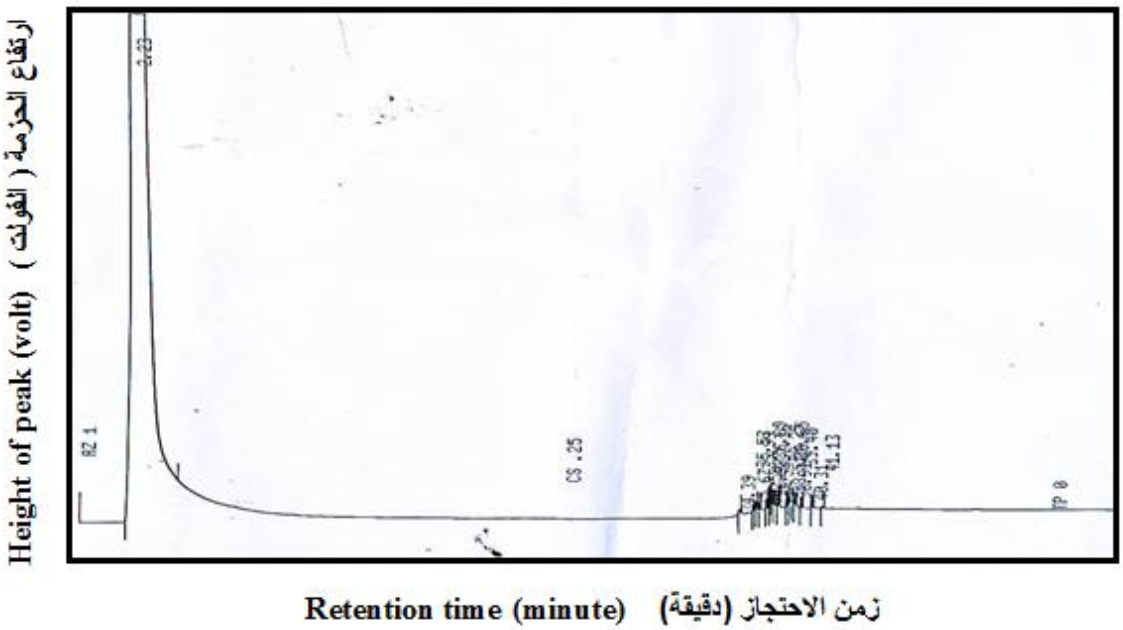
أظهرت النتائج أن التآزر بكتريا *Pseudomonus fluorescens , Aremonas sp.* ، اظهر أعلى قابلية على تحلل المخلفات النفطية في الوسط السائل أذ بلغت 86.94%. تلاه التآزر بكتريا *Pseudomonus fluorescens, Proteus vulgaris* وبلغت نسبة التحلل الحيوي 82.13%. وتؤكد نتائج كروماتوكرافيا الغاز كما يظهر في الشكلين (5) و (6) صحة النتائج لاختفاء عدد كبير من الحزم للعينات المعاملة بالانواع البكتيرية المذكورة اعلاه. تكمن الفائدة في استعمال الخليط البكتيري في تحليل مختلف المركبات السامة بدون تراكم للمركبات الوسطية السامة (Acuna-Arguelles *etal* .,2003). كما أظهرت النتائج أن

التآزر بفعل بكتريا *Pseudomonas fluoresccus, Micrococcus luteus* أظهر أقل قابلية في تحليل المخلفات النفطية في الوسط السائل خلال فترة الحضن يليه بكتريا *Micrococcus luteus, Proteus vulgaris* المتآزرة إذ بلغت نسبة التحلل الحيوي للمخلف النفطي 54% ,58.39% على التوالي، ويتفق هذا مع نتائج كروماتوكرافيا الغاز الشكل (7) و(8) في حين اظهرت النتائج قابلية متفاوتة للأنواع المتآزرة لبكتريا*Proteus vulgaris*.,*Micrococcus luteus, Aeromonas sp*

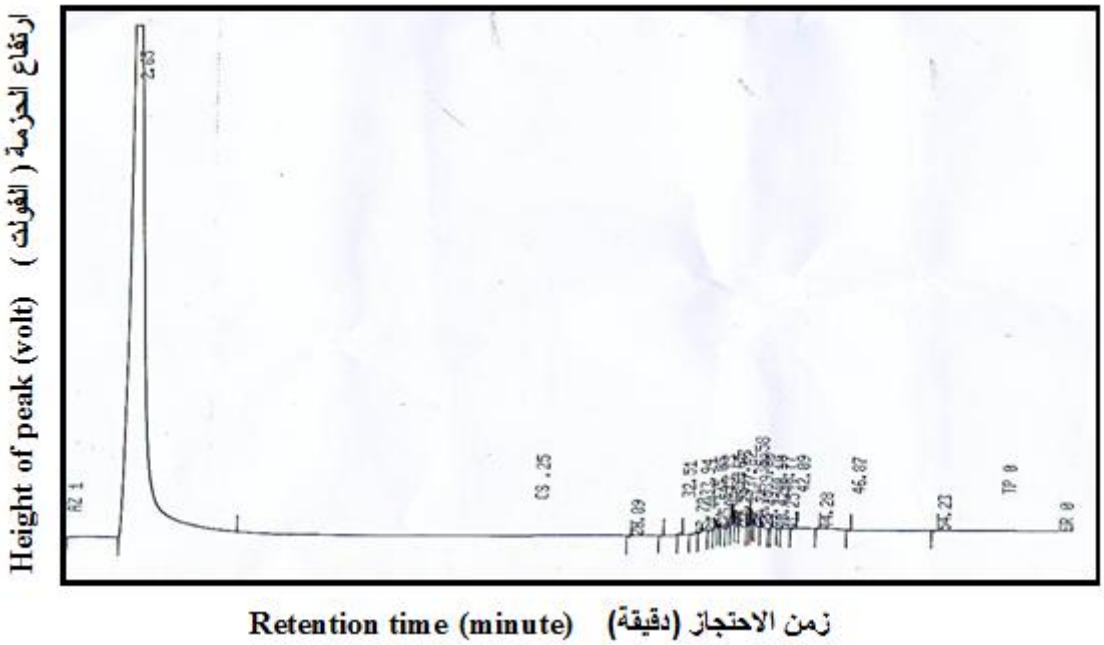
Aeromonas sp. بالفعل الثنائي، إذ بلغت نسبة التحلل الحيوي 69.69% , 73.45% على التوالي، في حين بلغت نسبة تحلل الحيوي عند مزج الانواع البكتيرية الأربعة المختارة في الدراسة *Pseudomonas fluoresccus , Aeromonas sp.*, *Proteus vulgaris , Micrococcus luteus* في تحليل المخلفات النفطية حوالي 67.71% وتظهر الأشكال (9) (10) و (11) و (12) نتائج كروماتوكرافيا الغاز والتي تبين صحة نتائج التحلل الحيوي للمخلفات النفطية بفعل الأنواع البكتيرية المتآزرة التي تدل على الاختفاء لبعض الحزم في العينات المعاملة بالأنواع البكتيرية مقارنة بمعاملة السيطرة. قد يعود سبب إضعاف قابلية بعض الأنواع المتآزرة على تحلل النفط الخام إلى ظاهرة التضاد التي تحدث بين الأنواع البكتيرية النامية مع بعضها مما يؤدي إلى إضعاف بعض الأنواع النامية وتثبيط نشاطها الحيوي او قد يحدث تنافس على مصادر الغذاء مؤديا إلى إضعاف النشاط الأنزيمي لبعض الانواع(April *et al.*, 2000).



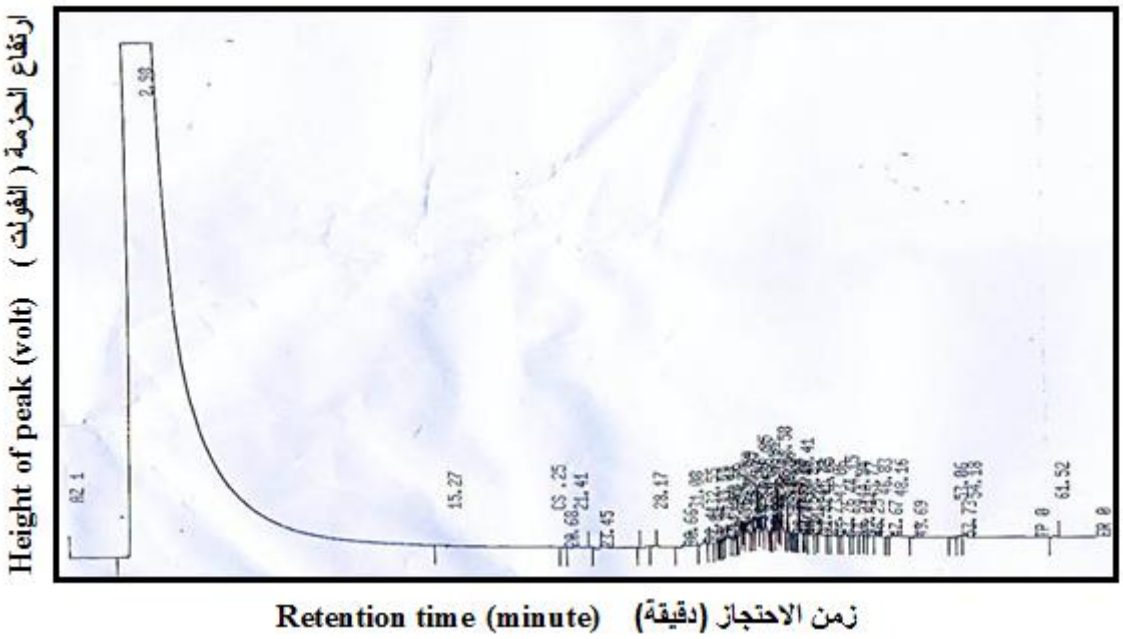
الشكل (1) نتائج تحليل المخلف النفطي باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز Gas – Chromatography المستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على 1% مخلف نفطي في أس هيدروجيني 7.2 لمدة 28 يوماً بدرجة حرارة 37 مْ



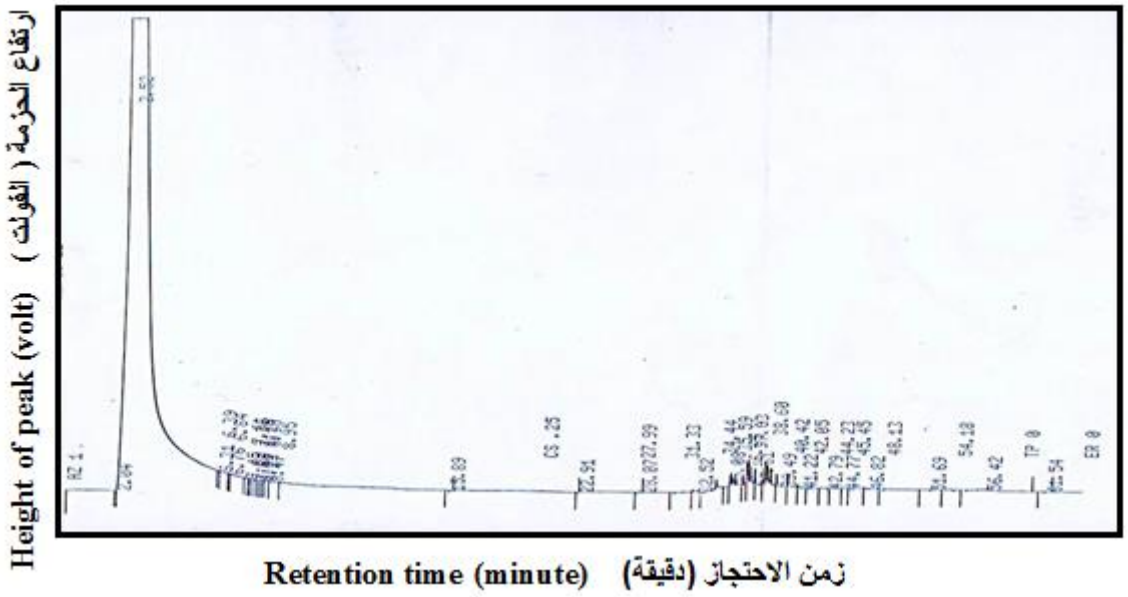
الشكل (2) نتائج تحليل المخلف النفطي باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز Gas – Chromatography المستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على 1% مخلف نفطي في أس هيدروجيني 7.2 المحلل بالفعل المنفرد لبكتريا *P. fluorescence* لمدة 28 يوماً بدرجة حرارة 37 مْ



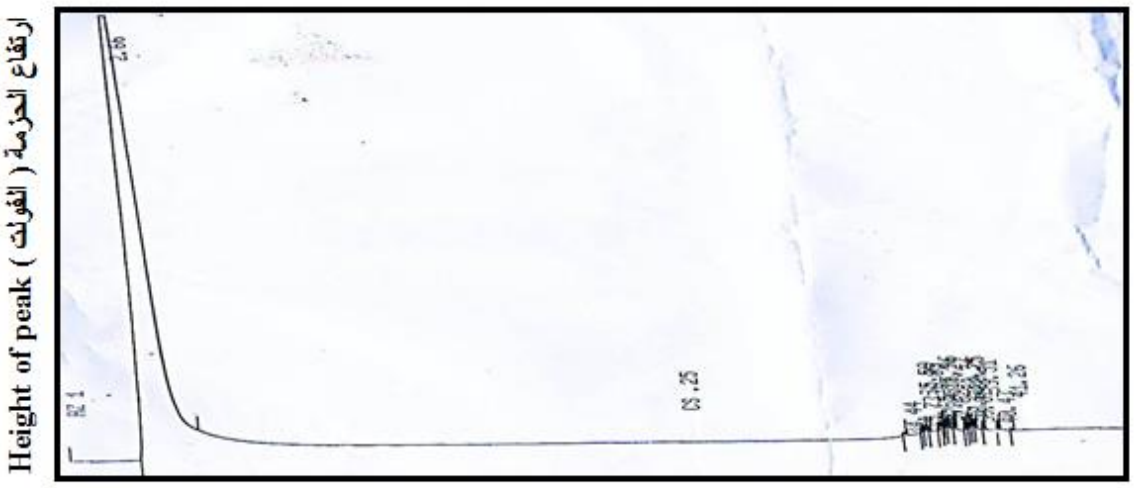
الشكل(3) نتائج تحليل المخلف النفطي باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز Gas – Chromatography المستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على 1% مخلف نفطي في أس هيدروجيني 7.2 المحلل بالفعل المنفرد لبكتريا *Aeromonas sp.* لمدة 28 يوماً بدرجة حرارة 37 مْ



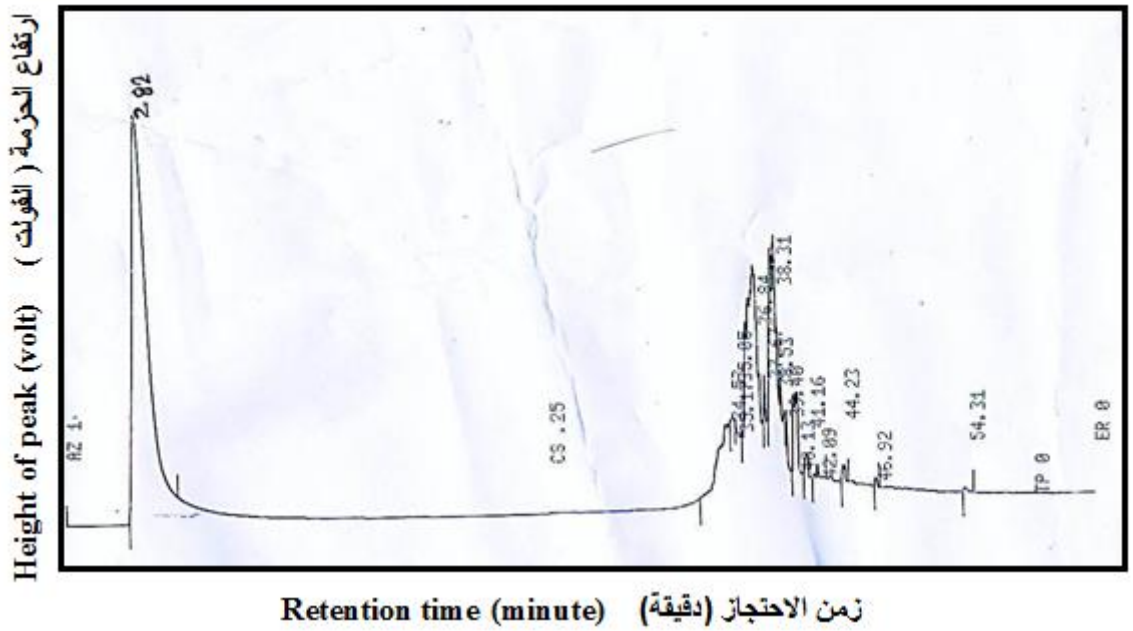
الشكل (4) نتائج تحليل المخلف النفطي باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز Gas – Chromatography المستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على 1% مخلف نفطي في أس هيدروجيني 7.2 المحلل بالفعل المنفرد لبكتريا *M. luteus* لمدة 28 يوماً بدرجة حرارة 37 مْ



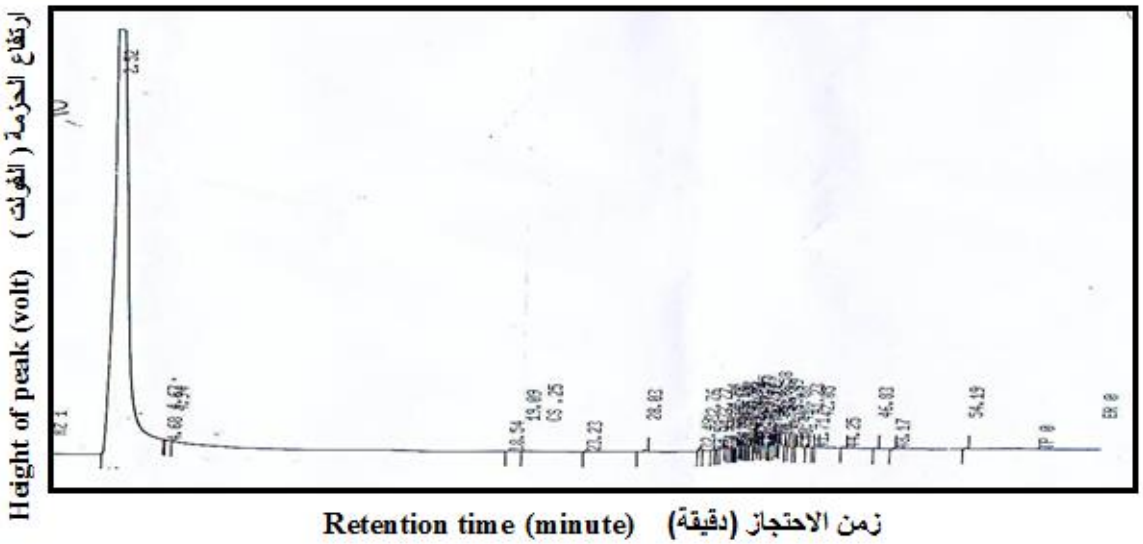
الشكل (5) نتائج تحليل المخلف النفطي باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز Gas – Chromatography المستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على 1% مخلف نفطي في أس هيدروجيني 7.2 المحلل بالفعل المنفرد لبكتريا *P. vulgaris* لمدة 28 يوماً بدرجة حرارة 37 مْ



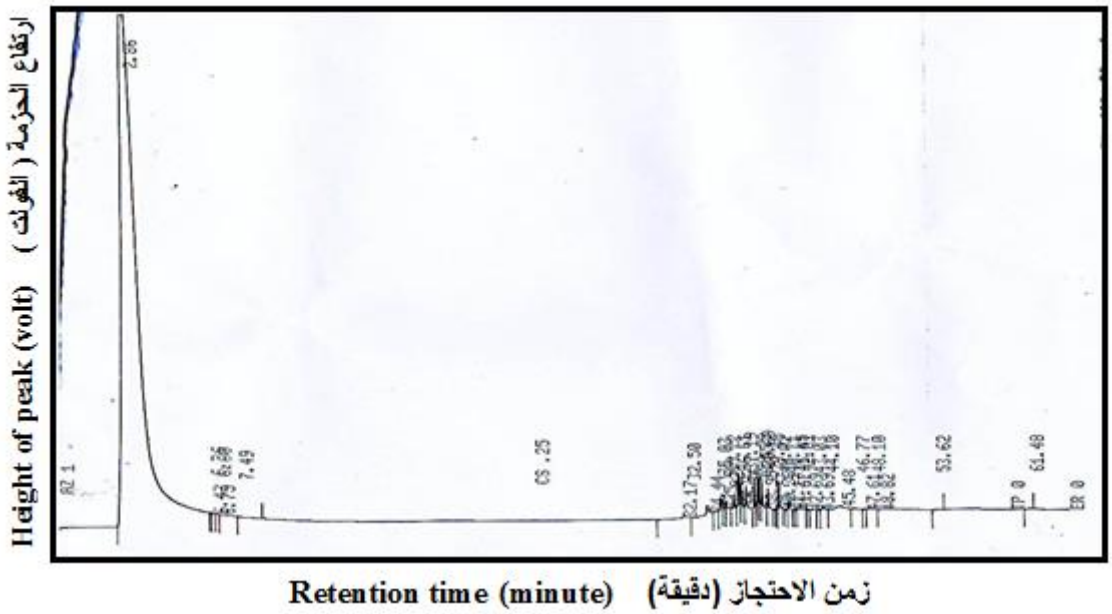
الشكل (6) نتائج تحليل المخلف النفطي باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز Gas – Chromatography المستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على 1% مخلف نفطي في أس هيدروجيني 7.2 المحلل بالفعل المتآزر لبكتريا *P. fluorescence & Aeromonas sp.* لمدة 28 يوماً بدرجة حرارة 37 مْ



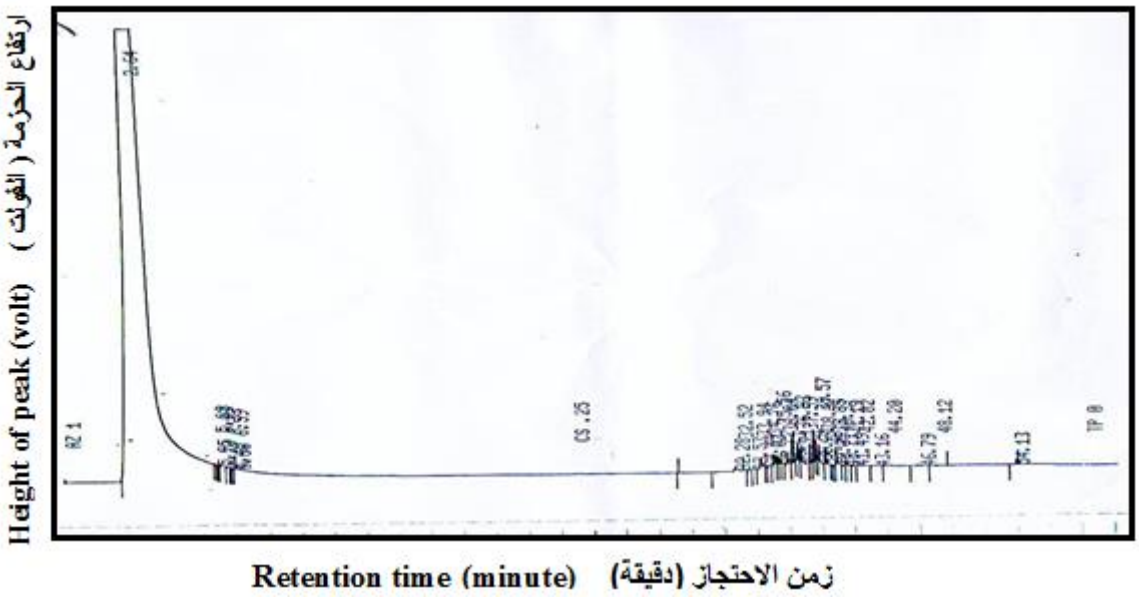
الشكل (7) نتائج تحليل المخلف النفطي باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز Gas – Chromatography المستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على 1% مخلف نفطي في أس هيدروجيني 7.2 المحلل بالفعل المتآزر لبكتريا *P. fluorescence & M. luteus* لمدة 28 يوماً بدرجة حرارة 37 مْ



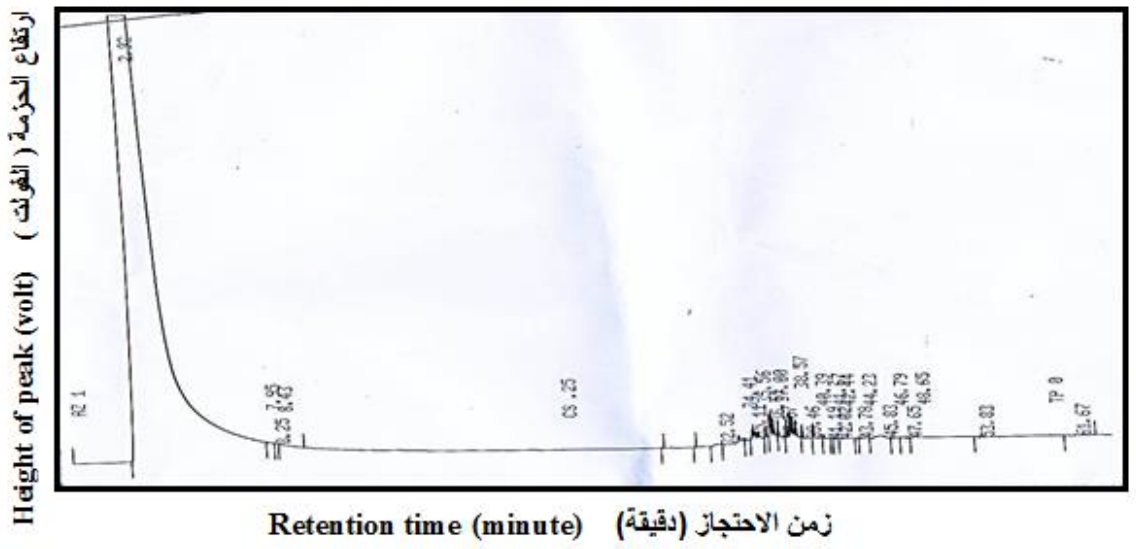
الشكل (8) حرارة نتائج تحليل المخلف النفطي باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز Gas–Chromatography المستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على 1% مخلف نفطي في أس هيدروجيني 7.2 المحلل بالفعل المتآزر لبكتريا *P. fluorescence & P. vulgaris* لمدة 28 يوماً بدرجة 37 مْ



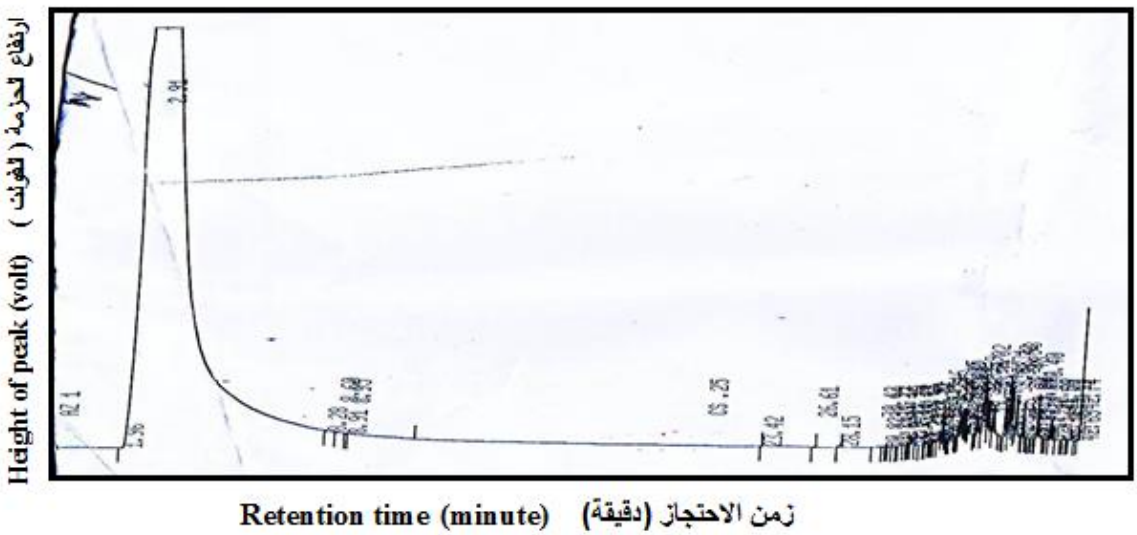
الشكل (9) نتائج تحليل المخلف النفطي باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز Gas–Chromatography المستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على 1% مخلف نفطي في أس هيدروجيني 7.2 المحلل بفعل البكتريا المتآزرة *Aeromonas sp. & Micrococcus luteus* لمدة 28 يوماً بدرجة حرارة 37 مْ.



الشكل (10) نتائج تحليل المخلف النفطي باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز Gas–Chromatography المستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على 1% مخلف نفطي في أس هيدروجيني 7.2 المحلل بفعل البكتريا المتآزرة *P. vulgaris* & *Aeromonas sp.* لمدة 28 يوماً بدرجة حرارة 37 مْ



الشكل (11) نتائج تحليل المخلف النفطي باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز Gas–Chromatography المستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على 1% مخلف نفطي في أس هيدروجيني 7.2 المحلل بفعل التآزر الثنائي لبكتريا *P. vulgaris* & *M. luteus* لمدة 28 يوماً بدرجة حرارة 37مْ



الشكل (12) نتائج تحليل المخلف النفطي باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز Gas–Chromatography المستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على 1% مخلف نفطي في أس هيدروجيني 7.2 المحلل بفعل التآزر الرباعي لبكتريا *Aeromonas sp.& P. fluorescence & P. vulgaris & M. luteus* لمدة 28 يوماً بدرجة حرارة 37مْ

طيف الاشعة تحت الحمراء Infra- Red

تم استخدام تقنية IR (طيف الاشعة تحت الحمراء) لتحديد الأواصر المختلفة في المركبات إذ تبين أن التأثير الذي يحدث في الأواصر الكيميائية Chemical bounds سواء الاهتزازات الامتطاطية Stretching vibration للآصرة C-H ذات الظهور المتكرر والآصرة C-C التي تظهر بتكرار اقل ، إذ تظهر هذه الأواصر في مدى يتراوح بين 1300-4000 . اما التأثير الثاني فهي الاهتزازات الانحنائية Bending vibration اي تغير مواقع الأواصر فقط وليس اختفائها، وقد أعطت جميع نماذج المخلف النفطي حزم امتصاص متشابهة وهذا يدل على كون المجاميع والأواصر المكونة للمركبات متشابهة .

أكدت العديد من الدراسات على استعمال هذه التقنية في دراسة تحلل النفط الخام (الجبوري ،2005 ، الأسدي ، 2000 ، الجبوري ، 2004). كما أشار (Ojo, 2006). ظهور حزم عديدة للهيدروكربونات الأروماتية والفينولات للنفط الخام المعامل بـ *Bacillus megaterium, Micrococcuas luteus* باستخدام هذه التقنية التي توضح مدى تحلل المركبات النفطية بالفعل البكتيري ، لوحظ عدم وجود تغير واضح في مواقع الامتصاص للأواصر وتبين ان هناك اختلاف في شدة الحزم وعدم وجود تغير رئيس في الشكل العام للأطياف، عدم وجود اختلافات في الاطياف الخاصة بالتحلل باستخدام هذه التقنية، ومن المعلوم أنه تم تحليل كافة العينات المحللة بفعل البكتريا في هذه الدراسة والبالغة 11 نموذجاً فضلاً عن عينة مقارنة كما موضح في الجدول (3).

جدول (3) حزم امتصاص الاشعة تحت الحمراء(cm^{-1}) للعينات المستخدمة

sample	NH	CH	CH	SH	C=C	C-C	C-Cl
Control	3261	3035	2925	2729	1595	1000	746
Pseudomonas fluorescent	3209	3068	2923	2651	1631	1118	756
M. luteus & P. vulgaris	3317	3111	2921	2852	1631	995	748
micrococcus luteus	3166	3058	2925	2592	1629	1027	756
P. fluorescent & M. luteus	3167	2423	2923	2723	1595	995	765

المصـــــادر :

الاسدي ، مهند جواد (2000) . "تحضير المواد الكاسرة للأستحلاب الجديدة وتقيمها لغرض استخدامها في حقول شركة نفط الجنوب" ، رسالة ماجستير ، قسم الكيمياء ، كلية العلوم – جامعة البصرة /العراق.

الجبوري ، محمود خلف (2004) . "دور بعض اجناس السيانوبكتريا في التحلل الحيوي لبعض المركبات النفطية" ، رسالة ماجستير ، كلية التربية – جامعة تكريت /العراق.

الجبوري ، ياسين حسين عويد (2005) . "التحلل الحيوي لأنواع من النفط الخام بفعل الجراثيم المعزولة من ترب مصافي العراق الشمالية" . اطروحة دكتوراة ، قسم علوم الحياة ، كلية التربية –جامعة تكريت /العراق .

فهد، حارث جبار وربيع ، عادل مشعان (2010). "التلوث المائي مصادرة – مخاطرة – معالجته "، مكتبة المجتمع العربي للنشر والتوزيع ،الطبعة الاولى.

Acuna-Arguelles,M.E.;Olguin-Lora, P and Razo-Flores, E. (2003). "Toxicity and kinetic parameters of the aerobic biodegradation of the phenol and alklphenols by mixed culture ". Biotechnol.Lett,Vol. 25,p.554-564.

April, **T.M.; Foght, J .M and Currah, R.S. (2000)."** Hydrocarbon degrading filamentous fungi isolated from flare pit soils in Notherland western Canada". Can Journal Microbial ,Vol .46, p.38-49.

Atlas ,**R.M and Bartha, R. (1972).** " Biodegradation of petroleum in sea water at low temperatures". Can Journal Microbial,Vol,18, p.18521-1855.

Atlas, **R.M .(1981).**" Microbial degradation of petroleum hydrocarbons " an environmental perspective, Microbial. Ecol,No.12,p.287-338.

Blumental , U.J; Duun can mara, D; Peasey, A;Ruiz – pqlazios,G and Stott,R.(2000)."Guidelines for the microbiological quality of treated waste water used in agriculture, Journal of the world health organization ".Vol,78,No.9,p.1104.

Cheremisinoff, P.N.(2005). " Oil spills and oily waste pollute ". Eng., Vol ,20,p.55- 88.

Cowan ,**D.A and Strafford ,W. (2007)."** Met gnomic methods for the identification of active microorganism and genes in biodegradation processes". In :Environmental microbiology.3rd ed. Asm press, American society for microbiology, USA.

Galli,E.;Silver,S and Withold ,B. (1992)." *Pseudomonas*: molecular Biology and Biotechnology ".America society for microbiology . Washington .D.C.

Haines ,J.R.;Wrenn ,B.A. ;Holder ,E.L .;Strohmeier,K.L.; Herrington ,R.T and Venosa ,A.D (1996)."Measurement of hydrocarbon degrading microbial population by a96-well plate most-probable number procedure". Journal Indus. Microbiol.Vol.16,p.36-41.

Kayode-Isola, **T.M.; Eniola, K.I.T.; Olaymi ,A.B and Igunnugbemi, O.O**.**(2008)."** Response of resident bacteria of a crude oil polluted river to diesel oil" American-Eurasian Journal of Agronomy.Vol.1,No.1.p.60-90.

Ojo ,**O.A. (2006)."** Petroleum hydrocarbon Utilization by active bacterial population from waste canal south west Nigeria". African Journal Biotechno.Vol.5,No.4.p.333-337.

Salam,**L.B.;Obayori,O.S.;Akashoro,O.S.;Okogie,G.O.(2011).** "Biodegradation of bonny light crude oil by bacteria isolated from contaminated soil". International Journal Agriculture and Biology.Vol.13,No.2.p.245-250.

Slater, J.H.; Weightman, A and Thomas ,D.J. (1988)." Plasmids in microorganism inaction cads.(Lynch ,J.M and Hobbies ,J) ". p.44-51. Black well Scientific ,Oxford.

Steve ,K.; Dennis ,S and Mary ,J .(2004)." Laboratory exercises in organismal and molecular microbiology". American society for microbiology, Washington, D.C. press.

Williams, S.T. ; Good fellow, M. ; Alderson, G.;Willington, E.M. ; Sneath, P. H. and Sackin, M. J. (1983)."Numerical classification of Streptomyces and related genera" Journal of General Microbiology , p. 1743-1813