دراسة كفاءة بعض الفطريات البازيدية في المعالجة الحيوية للمياه الملوثة بالمخلفات النفطية في شركة المصافي الشمالية/ بيجي

1 – اختزال الهيدروكربونات والفينولات الكلية

عبير رؤوف محمود القيسي ، طالب عويد الخزرجي

قسم علوم الحياة ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

تم عزل وتشخيص 8 نوع تعود الى 11 جنس من الفطريات البازيدية المكونة للاجسام الثمرية شملت *Pleurotus ostreatus* و *Polyporus,* و *A grocybe aegerita* و *Agaricus campestres* و *Phellinus* و *Coprinus cinereus* و *Coprinus comatus* و *Trametes versicolour* و *Ganoderma liucidium* و *Ganoderma.* و *Pisolithus tinctorius* توزعت على اربعة رتب وسبعة عوائل. انتخبت ثلاثة انواع من هذه الفطريات وتداخلاتها لدراسة التحلل الحيوي للهايدروكربونات النفطية والفينولات الكلية اعتمادا على نجاح نموها في وسط مخلفات المياه النفطية في التجارب الاولية . واعطى الفطر *Phellinus* sp. منفرداً اعلى تحلل للهيدروكربونات الكلية اذ بلغت 26 و 20 و 12 جزء بالمليون في مياه مخلفات مصافي الشمال وصلاح الدين والدهون مقارنة بقيمها 173 و 43 و52 جزء بالمليون قبل المعاملة بنسب اختزال 85 و 53 و 76% ، على التوالي ، بينما سجل الفطر *P.ostreatus* اعلى تحلل للهايدروكربونات النفطية في وجدة المعالجة للشركة اذ بلغ 19 جزء بالمليون (بنسبة اختزال 62%) مقارنة بـ 50 جزء بالمليون قبل المعاملة.اما تحلل الفينولات الكلية فقد اظهر الفطر *P.ostreatus* اعلى اختزالا في مصفى الشمال وصلاح الدين والدهون ووحدة المعالجة النهائية اذ بلغت 0.07 و 0.67 و 0.03 و 0.0جزء بالمليون مقارنة بقيمها قبل المعاملة بالفطر اذ بلغت 2.4 و 1.5 و 1.4 و 0.38 جزء بالمليون محققة نسب اختزال 97 و 55 و 97 و 100% ، على التعاقب، فضلا عن تسجيل مديات مختلفة من اختزال الهيدروكربونات الكلية والفينولات الكلية عن المعاملة بتداخلات هذه الفطريات.

المقدمة

تعد صناعة النفط من الصناعات الاستراتيجية المهمة في العالم اذ يعتمد الاقتصاد العالمي على تلك الصناعة وطالما استمرت هذه الصناعة استمر معها طرح كميات كبيرة من ملوثاته اذ يعد النفط من اكثر الملوثات خطورة و يسبب اضرارا بيئية عديدة [1] ، تقدر كميات النفط التي تلوث المياه نتيجة لعمليات نقل النفط الخام وحدها حوالي 2 مليون طن سنويا ، اما كميات النفط التي تلوث المياه نتيجة لاستخدامات الانسان فتقدر باكثر من عشرة ملايين طن سنويا فضلا عن الكميات التي تلقى نتيجة لعمليات التنقيب واستخراج النفط [2] اكد دليل الصحة البيئي الامريكي لسنة 2012 [3] ان التعرض لنسب تلوث في الهواء والماءادى الى مشاكل صحية خطيرة ، وسجل هذا الدليل مجموعة من الامراض التي قد تحصل اذ ما تعرض الانسان الى الملوثات النفطية او مشتقاته، مشاكل الجهاز الهضمي (مثل التقيؤ والقرحة و سرطان المعدة) والجلطات القلبية وتضرر الكبد والكلية ونخاع العظم فضلا عن مشاكل الجهاز العصبي.

ان مشكلة تلوث المياه الناتجة من صناعة النفط في العراق تكمن في عاملين الاول هو عدم كفاءة المعالجات التي تجرى في المصافي ، فقد اوضحت دراسة سابقة [4] التي اجريت على مخلفات المياه الصناعية في شركة مصافي الشمال/ بيجي والمطروحة في منطقة البوجواري (المنطقة الاولى التي تتلقى فيها المياه المطروحة من المصفى) بعد معالجتها في المصفى نفسه اذ ان هناك العديد من الملوثات (منها الهايدروكاربونات و العناصر الثقيلة) ضمن المحددات البيئية المسموح بها في تلك المنطقة الا ان البعض الاخر كان فوق الحدود المسموح به عالميا مثل عناصر السيانيد والخارصين والكروميوم والفينولات والدهون، اما العامل الثاني هو طرح المياه في النهر المعد للاستخدام المباشرمن قبل الانسان في حين تطرح معظم الدول المنتجة للنفط مخلفات مياه المصافي الى البحار .

نتيجة لتلك الاضرار فقد اعتمدت عدة طرائق للتخلص من تاثير تلك الملوثات او خفضها ومنها المعالجات الفيزيائية والكيميائية والاحيائية، وركزت الابحاث على المعالجة الاحيائية لمميزاتها من حيث كلفتها الواطئة وفعاليتها في ازالة الملوثات سواء كانت هيدروكربونات حلقية او اليفاتية او مركبات فينولية او العناصر الثقيلة [5] ومن المميزات الاخرى للطرق الاحيائية هو ذلك التنوع في الاحياء المحللة او المختزلة لتلك الملوثات ولتنوع اليات هذه الاحياء فقد استغلت البكتريا والفطريات والطحالب والنباتات الراقية في تلك المعالجات بشكل واسع عالميا .

تمتاز الفطريات البازيدية بالاخص فطريات العفن الابيض white rot fungi بتحملها لمستويات عالية من الملوثات الكيميائية وخصوصا مركبات الفينولية اذ وصل تحمل الفطر *Pleurotus florida* لمديات من الفينول تصل الى 200-400 جزء بالمليون [6] عند توفر النايتروجين بكمية كافية في الوسط ، اختبر [7] التحلل الحيوي لنوعين من PHAs (nitrobenzene وanthracene) بواسطة فطريات العفن الابيض البازيدية *Trametes trogii* ووجدوا ان هذه

الفطريات تتحمل مستويات عالية جدا لهذه المركبات يصل الى (500-250) جزء بالمليون وانها قادرة على تابيض 90-95 % من التراكيز العالية للـ nitrobenzene وanthracene على التعاقب في الطور الابتدائي لنمو هذه الفطريات و 100 % خلال الطور الثانوي من النمو ووجدوا ان فعالية كل من الانزيمين Laccase و Mn-dependent peroxidase تتضاعف خلال الطورين في المستزرعات الفطرية .

اما على المستوى المحلي هناك العديد من البحوث فقد استخدمت البكتريا [8]الفطريات الناقصة واللاقحية [9] والسيانوبكتريا [10] و النباتات الراقية [11] والنباتات الواطئة [12]، ونتيجة لعدم وجود دراسة سابقة في العراق لاستغلال الفطريات البازيدية لا سيما العراهين الفطرية في معالجة المياه الملوثة بالنفط ، فقد هدفت الدراسة الى :

1. عزل وتشخيص الفطريات البازيدية في بعض المواقع من محافظة صلاح الدين.
2. اختبارقابلية هذه الفطريات في تحليل المركبات الفينولية و الهيدروكربونات النفطية في عدة محطات في مصفى الشمال/ بيجي.

المواد وطرائق العمل

موقع الدراسة

انجزت هذه الدراسة على مخلفات المياه الصناعية لمصافي شركة الشمال / بيجي والتي شملت مصفى الدهون وصلاح الدين والشمال قبل المعالجة ومخلفات المياه بعد المعالجة من وحدة المعالجة في شركة المصافي المذكورة ، فضلا عن اجراء المعاملات الفطرية على هذه المياه مقارنة بمياه نهر دجلة من منطقة الفتحة الواقعة قبل الشركة كعينة ضابطة.

الاوساط الزرعية

استخدم وسط البطاطا دكستروز اكار المجهز من شركة Tulip Diagnostic (p) LTD. الهندية في عزل وحفظ الفطريات، تمت اذابة 49 غرام من الوسط في 1000 مل من الماء المقطر وعقم بالموصدة بدرجة حرارة 121° م وضغط 15باوند/انج²، حسب تعليمات الشركة المجهزة.

الوسط الزرعي السائل لمخلفات المياه الصناعية

استخدمت مكونات الوسط السائل نفسها في تحضير الوسط الزرعي السائل لمخلفات المياه الصناعية (مستخلص 200غم بطاطا +20غم دكستروز بحجم 200 مل) وبعد ان عقمت بالموصدة بدرجة حرارة 121° م وضغط 15 باوند/انج² و لمدة 20 دقيقة ، اكمل الحجم الى لتر واحد وذلك باضافة مياه المخلفات الصناعية لكل موقع من مواقع مصفى ، فضلا عن استخدام ماء النهر الجاري من موقع ما قبل شركة المصافي، وزع هذا الوسط على دوارق زجاجية بواقع 100 مل لكل دورق.

عزل وتشخيص الفطريات

جمعت الفطريات البازيدية خلال الفترة من 1-12-2011 الى 1-5-2012 من مناطق مختلفة من محافظة صلاح الدين (جدول 1)، حفظت في حاويات بلاستك نظيفة وتم اخذ الصفات المظهرية للاجسام الثمرية لاغراض التشخيص وشملت هذه الصفات كل من شكل الجسم الثمري وحجمه ولونه وابعاد كل من القبعة والساق ان وجدت ووجود او عدم وجود كل من الحلقة و اللفافة والحراشف و الغلاصم و وطريقة التحام الغلاصم مع الساق اسفل القبعة و والطبعة البوغية فضلا عن شكل ولون الابواغ وابعادها ،اعتمدت المفاتيح التصنيفية المتوفرة [13 ، 14 ، 15] في تصنيف الفطريات على مستوى الجنس/ النوع.

اختبار قابلية الفطريات في الازالة الحيوية Bioremedation للمركبات الهيدروكاربونية والفينولات الكلية

تلقيح الاوساط الزرعية

تتميز الفطريات البازيدية بعدم تكوينها الابواغ في وسط PDA المائل . لذا تم نقل جزء من المستعمرة الفطرية بحجم 2×2 سم² ولقح الوسط السائل لمخلفات المياه الصناعية (المياه بتركيز 50 % – بعد معايرة افضل نمو عند هذا التركيز) وحضنت بدرجة حرارة 25 ± 2°م لمدة 20يوم . وبعد انتهاء مدة التحضين رشحت المزارع الفطرية النامية في الوسط السائل بواسطة ورق الترشيح (Wattman No.1) تم نبذ الراشح بجهاز الطرد المركزي نوع (Electro) بسرعة 1000 دورة بالدقيقة ولمدة عشر دقائق ، وجمع الراشح بقناني زجاجية معقمة وتم اجراء الفحوصات المطلوبة من كل تجربة .

جمعت الكتلة الحيوية للمستعمرات الفطرية النامية على الوسط السائل في كل تجربة في طبق زجاجي معقم واخذ الوزن الطري لها ثم جففت بالسرعة الممكنة لتقليل التغيرات البايولوجية والكيمياوية الى اقصى حد ممكن ، وجففت العينات بالهواء الحار بدرجة 60° م بالفرن الكهربائي نوع (Memmert)وبعد انتهاء عملية التجفيف، اخذ الوزن الجاف لكل عينة وعبر عن النمو الفطري لكل نوع بالوزن الجاف (ملغ/100مل وسط).

تقدير الهيدروكربونات الكلية

استخدم جهاز Horiba موديل OCMA-350 oil concentration monitoring analyzer (امريكي المنشاء)وحسب طريقة (EPA (418-1) Environmental Protection Agency) [16] في تقدير الهيدروكاربونات الكلية في نماذج المياه ، اذ حمض نموذج المياه باضافة 2-3 قطرة من حامض الهيدروكلوريك المركز ، اخذ 10 مل من النموذج المحمض ووضع في قمع فصل سعة 500 مل واضيف اليه 10مل من الهكسان مع اضافة قطرة من دليل فينول المثيل البرتقالي مع الرج الجيد لقمع الفصل لمدة دقيقتين ثم يترك ليستقر لمدة دقيقتين ثم تسحب الطبقة السفلى ثم يضاف اليها 1 غم من كبريتات الصوديوم للتخلص من الرطوبة ، رشحت العينة باستخدام ورق الترشيح (Wattman no. 1) ثم جمع الراشح في خلية الجهاز وقرأت النتيجة مقدرة بجزء بالمليون.

تقدير الفينولات الكلية

اولا. تحضير العينة (التقطير) :

اجريت عملية التقطير باستخدام جهاز Hach distillation (امريكي المنشأ) [17] مع الخطوات التالية :

1- وضع في دورق جهاز التقطير سعة 500 مل 300 مل العينة

2- اضيف 1 مل من دليل المثيل البرتقالي Methyl orange في دورق التقطير .

3- تشغيل جهاز الخلط مع اضافة 10 % من محلول حامض الفوسفوريك بشكل قطرات حتى يتغير لون الدليل من الاصفر الى البرتقالي (pH 4) لازالة تاثير مركبات الكبريت .

4- اضيف محتويات الكاشف Copper sulfate powder pillow المجهز من الشركة المصنعة.

5-تبداء عملية التقطير و جمع 275 مل من ناتج التقطير في دورق زجاجي.

6- اضيف 25 مل من الماء المقطر منزوع الايونات .D.D.W الى المخلفات في دورق التقطير و اكملت عملية التقطير.

7- جمع حجم 300 مل من العينة . وبعدها اصبحت العينة جاهزة لتقدير الفينولات.

ثانيا. تقدير الفينولات:

اعتمدت الطريقة 4-Aminoantipyrine method في تقدير الفينولات [17] ، اذ تم وضع 300مل من الماء المقطر منزو ع الايونات في اسطوانة زجاجية مدرجة سعة 500 مل ، ثم وضع الماء في قمع الفصل سعة 500مل (الكفيء) ،ووضع 300 مل من العينة في قمع فصل ثاني (العينة) و اضيف 5مل من المحلول المنظم Hardness buffer لكل من القمعين مع الرج الجيد ،تضاف محتويات الكاشف الاول القياسي phenol reagent powder pillow الى كل من القمعين مع المزج للاذابة ، ثم تضاف محتويات الكاشف الثاني القياسي phenol 2 reagent powder pillow الى كل منهما مع المزج .يلي ذلك اضافة 30 مل من الكلوروفورم الى كل من القمعين مع الرج بقوة لمدة 30 ثانية يترك حتى يستقر الكلوروفورم اسفل القمع ،(تصبح طبقة الكلوروفورم صفراء اللون اذا احتوت على الفينول) .ترشح طبقة الكلوروفورم خلال سدادة من القطن والتخلص من الماء اذا وجد والشوائب ايضا .يكون الحجم النهائي لمستخلص الكلوروفورم حوالي 25 مل ، تجمع طبقة الكلوروفوم في خليتين نظيفتين (الكفيء والعينة) ،وتترك لتستقر ، يصفر الجهاز بالكفيء ثم توضع العينة لتظهر القراءة ب mg Phenol/L .

قدرت نسبة الاختزال لكل من الهايدروكربونات والفينولات كما يلي:

قيمة السيطرة – قيمة العينة / قيمة السيطرة × 100

النتائج والمناقشة

تم عزل وتشخيص 8 نو اع تعود الى 11 جنسا من الفطريات البازيدية المكونة للاجسام الثمرية و يبين الجدول (1) الانواع الفطرية المشخصة ومواقع وبيئة جمعها والرتب والعوائل العائدة لها.

جدول (1) الانواع الفطرية المشخصة

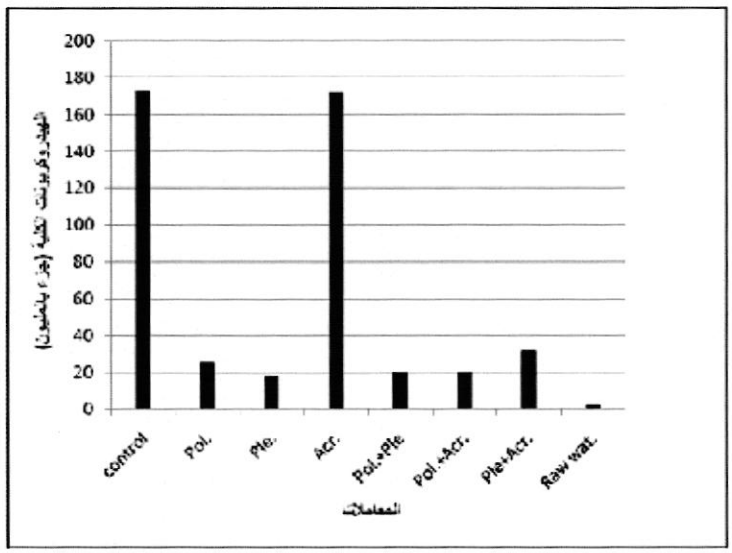
الفطريات المعزولة	الموقع	بيئة الفطر	الرتبة	العائلة
Pleurotus ostreatus	قرية سمرة،ناحية العلم	ك اشجار البياض الحية *Populus* sp.	Agaricales	Pleurotaceae
Polyporus sp,	ناحية العلم ،قضاء بلد	ا جذوع اشجار البياض الميتة *Populus* sp.	Polyporales	Polyporaceae
Agrocybe aegerita	ناحية العلم	قرب جذوع اشجار البياض الحية *Populus* sp.	Agaricales	Strophariaceae
Agaricus campestres	منطقة الجزيرة،ناحية العلم قضاء بلد، ناحية المعتصم(سامراء)	اراضي الحقول الزراعية الغنية بالمخلفات الزراعية والحيوانية	Agaricales	Agaricaceae
Phellinus sp.	قضاء بلد	جذوع اشجار الحمضيات Citrus sp.	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae
Coprinus cinereus	مركز تكريت(الجامعة)	حقول مزرعة انتاج الفطر الغذائي/ قسم الوقاية /كلية الزراعة	Agaricales	Agaricaceae
Coprinus comatus	ناحية العلم	اراضي الحقول الزراعية	Agaricales	Agaricaceae
Trametes versicolour	قرية سمرة ،ناحية المعتصم (سامراء)	جذوع اشجار الحمضيات Citrus sp.	Polyporales	Polyporaceae
Ganoderma liucidium	ناحية العلم،قضاء بلد، قرية سمرة	جذوع اشجار حية وميتة للحمضيات والبياض	Polyporales	Ganodermataceae
Ganoderma sp.	ناحية المعتصم (سامراء)، قضاء بلد	جذوع اشجار البياض الميتة.*Populus* sp	Polyporales	Ganodermataceae
Pisolithus tinctorius	تكريت (الجامعة)،قضاء بلد،ناحية العلم، ناحية المعتصم(سامراء)	مصاحب لاشجارالبوكالبتوس *Eucalyptus* ssp.في الترب الفقيرة والجافة	Boletales	Sclerodermataceae

ويبين الجدول نفسه (1) ان الفطريات البازيدية المعزولة كانت ضمن اربع رتب شملت Agaricales و Hymenochaetales و Polyporales و Boletales توزعت على 7 عوائل شملت Pleurotaceae و Polyporaceae و Strophariaceae و Agaricaceae و Hymenochaetaceae و Ganodermataceae و Sclerodermataceae ، ضمن الصف Agaricomycetes تحت قسم الفطريات البازيدية Basidiomycota ضمن المملكة الفطرية .

انتخبت ثلاثة انواع من هذه الفطريات وتداخلاتها لدراسة التحلل الحيوي للهايدروكربونات النفطية والفينولات الكلية اعتمادا على نجاح نموها في وسط مخلفات المياه النفطية في التجارب الاولية من هذه الدراسة.

يبين الشكل (1) تاثير الفطريات النامية على الوسط السائل لمخلفات المياه الصناعية قبل المعالجة inlet waste water لمصفى الشمال في تحلل الهايدروكاربونات النفطية الكلية (TPH)، ابدى الفطرين *P.ostreatus* و *Phellinus sp.* اعلى اختزال بتركيز TPH اذ بلغ 18 و26جزء بالمليون ، على التعاقب ، في حين لم يؤثر الفطر *A. aegerita*على تركيزها اذ بلغ 172 جزء بالمليون ، مقارنة بنسبتها قبل الزراعة البالغة 173 جزء بالمليون

ابدت التداخلات بين الفطريات بكل انواعها *Phellinus sp* × *P.ostreatus* و *A. aegerita*×*P.ostreatus* و *Phellinus* sp × *A. aegerita* اختزالا في تركيز الهايدروكاربونات الكلية قدره 20 و20 و 32 جزء بالمليون ، على التعاقب ، مقارنة بنسبتها قبل الزراعة التي بلغت 173 جزء بالمليون .نستنتج من هذا الشكل ان الفطر *P.ostreatus* كان افضل نوع فطري في اختزاله اعلى نسبة من الهايدروكاربونات النفطية الكلية اذ بلغت 89 %عند تنميته منفرداً في حين كانت نتيجة التداخلات الفطرية افضل من تاثير الفطريات النامية بصورة منفردة لكل انواع التداخلات اذ بلغت نسبة الاختزال المئوية لها من 81 % الى 88 % .

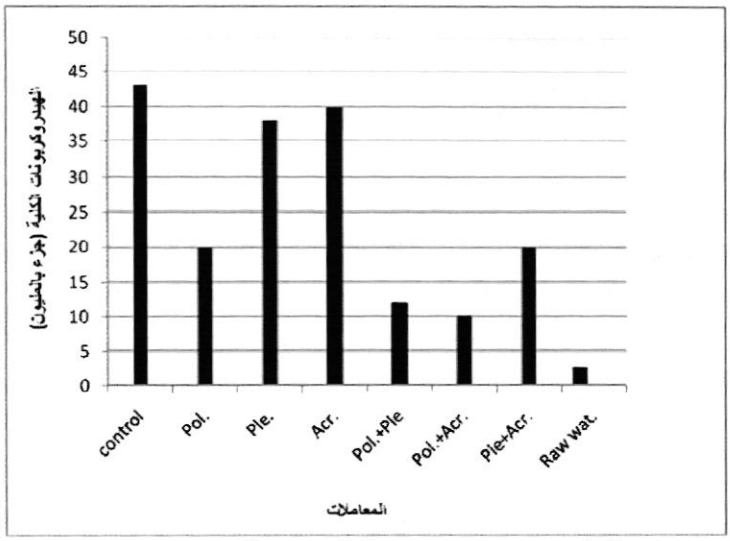


شكل (1) تاثير الفطريات المزروعة في مخلفات المياه الصناعية قبل المعالجة لمصفى الشمال في الهيدروكربونات الكلية.
(Pol.= *Phellinus sp.* , Ple.= *P.ostreatus* , Acr.= *A. aegerita*, Raw Wat.=Raw Water)

اما تركيز الهايدروكاربونات النفطية الكلية في مخلفات المياه الصناعية قبل المعالجة لمصفى صلاح الدين الشكل (2) فقد اظهر الفطر *Phellinus* sp. تفوق ملحوظ على الفطرين *P.ostreatus* و *A. aegerita*باختزاله اعلى نسبة من TPH اذ بلغت 20 جزء بالمليون (نسبة الاختزال 53 %) ، يليه الفطرين *P.ostreatus* و *A. aegerita* اذ بلغ تركيز الهايدروكاربونات النفطية الكلية في كل منهما 38 و40 جزء بالمليون مقارنة مع نسبتها في مخلفات المياه الصناعية قبل زراعتها بالفطريات 43 جزء بالمليون .

سجل التداخل بين الفطرين *Phellinus* sp. × *A. aegerita* ادنى تركيز للـ TPH قدره 10 جزء بالمليون وبنسبة اختزال 76%، يليه التداخل بين الفطرين *Phellinus* sp. ×*P.ostreatus* الذي سجل تركيز 12 جزء بالمليون ونسبة اختزال 72% ، كما وبلغ تركيز الهايدروكربونات 20 جزء بالمليون وبنسبة اختزال 53 % نتيجة التداخل بين الفطرين *P.ostreatus* و *A. aegerita* .

يستنتج من الشكل (2) ان تاثير التداخلات بين الفطريات الناميه على وسط مخلفات المياه الصناعية في اختزال الهايدروكاربونات النفطية الكلية كان افضل من تاثير كل فطر لوحده .



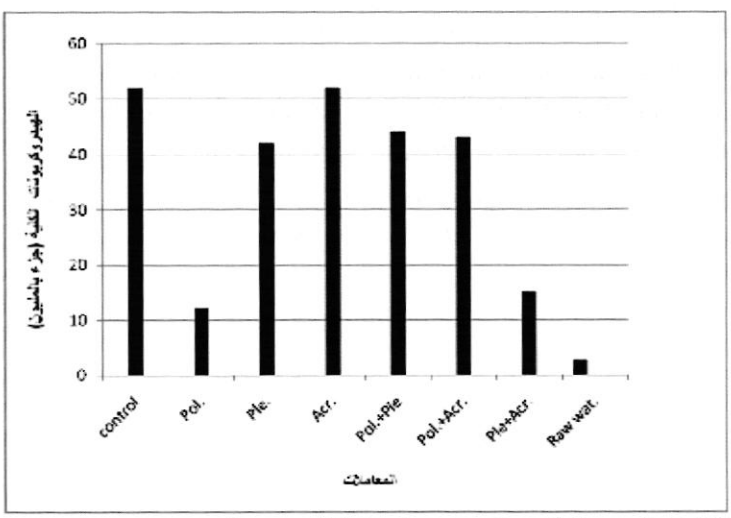
شكل (2) تاثير الفطريات المزروعة في مخلفات المياه الصناعية قبل المعالجة لمصفى صلاح الدين في الهيدروكربونات الكلية.
(Pol.= *Phellinus sp.* , Ple.= *P.ostreatus* , Acr.= *A. aegerita*, Raw Wat.=Raw Water)

يوضح الشكل (3) تاثير الفطريات النامية على وسط مخلفات المياه الصناعية قبل المعالجة inlet waste water لمصفى الدهون في تحلل الهايدروكاربونات النفطية الكلية (TPH) ،ويظهر الشكل تفوق الفطر *Phellinus sp* على الفطرين *A. aegerita* و *P.ostreatus* في تحليله لاكبر نسبة من TPH ،اذ سجل اقل تركيز قدره 12 جزء بالمليون وبنسبة اختزال 76 % مقارنة بـ 52 جزء بالمليون في مخلفات المياه الصناعية قبل زراعتها بالفطريات. يليه الفطر *P.ostreatus* الذي اختزل الهايدروكاربونات الكلية الى 42 جزء بالمليون وبنسبة اختزال 19 %،اما الفطر *A. aegerita* فلم يبدي اي اختزال لل TPH اذ سجل تركيز 52جزءبالمليون.

ابدى التداخل بين الفطرين ،P.ostreatus و *A. aegerita* افضل اختزال للهايدروكاربونات النفطية الكلية اذ بلغت 15جزء بالمليون وبنسبة اختزال 71 % وتفوق بذلك على نوعي التداخلات بين الفطرين *Phellinus* sp. و *P.ostreatus* و الفطرين *Phellinus* sp و *A. aegerita*

اذ بلغ تركيز TPH فيهما 44 و43 جزء بالمليون ،على التعاقب .

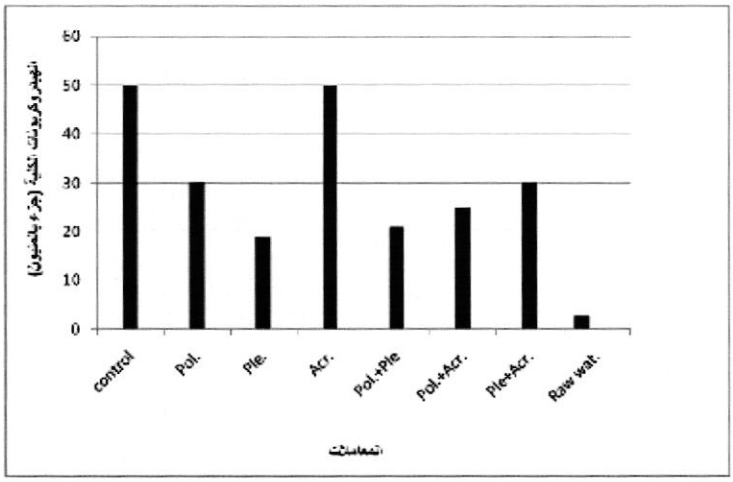
يستنتج من الشكل (3) ان تاثير الفطريات النامية بصورة مفردة كان افضل من تاثير التداخلات بينها لكل من الفطرين *Phellinus sp.* و *P.ostreatus* وربما تفسير هذه النتيجة الى ظاهرة التضاد التي تحدث بين الفطريات النامية مع بعضها مما يثبط من نشاطها الحيوي فالعزلة الاقوى يتاثر نشاطها او تقل قابليتها بالتحلل الحيوي ، كما ان الفطر الذي ينمو اسرع وبكثافة عالية قد يؤثر على نمو الفطريات الاخرى اذ يحدث تنافس على مصادر الطاقة (الغذاء) مما يؤدى الى اضعاف النشاط الانزيمي لبعض الانواع وهذا ما اشارت له العديد من الدراسات التي وجد فيها ان المزيج الفطري لم يحسن كثيرا من عملية التحلل الحيوي للنفط الخام (18، 19).



شكل (3) تاثير الفطريات المزروعة في مخلفات المياه الصناعية قبل المعالجة لمصفى الدهون في الهيدروكربونات الكلية.
(Pol.= *Phellinus sp.* , Ple.= *P.ostreatus* , Acr.= *A. aegerita*, Raw Wat.=Raw Water)

يبين الشكل (4) تاثير الفطريات النامية على المياه العادمة الخارجة من وحدة المعالجة الرئيسية في شركة مصافي الشمال /بيجي في تحلل الهايدروكاربونات النفطية الكلية ويظهر الشكل تفوق الفطر *P.ostreatus* على كل من الفطرين *Phellinus sp.* و *A. aegerita* اذ بلغت 19 جزء بالمليون وبنسبة اختزال 62 %' بينما سجل الفطر *Phellinus sp.* تركيز 30 جزء بالمليون والفطر *A. aegerita* سجل 50 جزء بالمليون لـ TPH مقارنة مع تركيزها في المياه العادمة قبل زراعتها بالفطريات الذي بلغ 50 جزء بالمليون .

اظهر التداخل بين الفطرين *Phellinus* sp ×*P.ostreatus* اقصى اختزال لتركيز الهايدروكاربونات الكلية اذ بلغ 21 جزء بالمليون وبنسبة اختزال 58 % ويليه كل من نوعي التداخلات *Phellinus* sp. × *A. aegerita* و*A. aegerita* ×*P.ostreatus* اذ سجلا تراكيز 25 و30 جزء بالمليون ،على التعاقب ، كما وكان تاثير كل من الفطرين *Phellinus sp.* و *A. aegerita* بالتداخلات افضل منها عند زراعة كل فطر لوحده على هذا النوع من مخلفات المياه الصناعية في تحلل الهايدروكاربونات النفطية الكلية.



شكل (4)تاثير الفطريات المزروعة في تر اكيز مختلفة من مخلفات المياه الصناعية المعالجة والخارجة من مصفى شركة الشمال /بيجي في الهيدروكربونات الكلية.

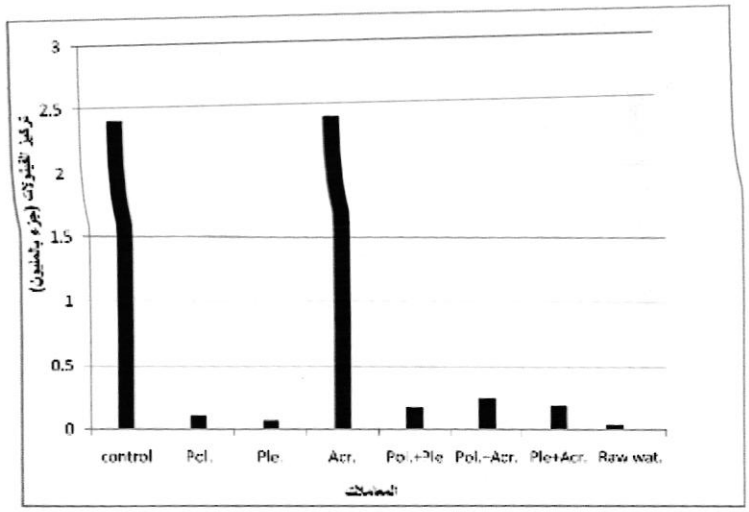
(Pol.= *Phellinus sp.* , Ple.= *P.ostreatus* , Acr.= *A. aegerita*, Raw Wat.=Raw Water)

التحلل الحيوي للفينولات الكلية

يبين الشكل (5) تاثير بعض الفطريات البازيدية الكبيرة المنماة على وسط مخلفات المياه الصناعية قبل المعالجة لمصفى الشمال في تحليل المركبات الفينول الكلية. يظهر الشكل تفوق الفطر *P.ostreatus* للاختزاله اعلى نسبة من المركبات الفينولية اذ بلغ 0.07 جزء بالمليون وبنسبة اختزال 97 % ، مقارنة مع تركيزه في مخلفات المياه قبل زراعتها بالفطريات 2.4 جزء بالمليون ، يليه الفطر *Phellinus* sp. الذي اختزل الفينول الى 0.11 جزء بالمليون وبنسبة اختزال 95 % ،اما الفطر *A. aegerita* فلم يبدي اي اختزال في تركيز الفينول. ابدى التداخل بين الفطرين *Phellinus* sp. × *P.ostreatus* و *P.ostreatus* × *A. aegerita* اعلى اختزال اذ بلغ تركيز الفينول 0.18 و0.19 جزء بالمليون ، على التعاقب ، وبنسبة اختزال 92 % لكل منهما ويليهما التداخل بين الفطرين*Phellinus* sp. × *A. aegerita* الذي سجل 0.25 جزء بالمليون وبنسبة اختزال 89 % مقارنة بالسيطرة 2.4 جزء بالمليون .

تشير النتائج من الشكل (5) ان تاثير الفطرين *Phellinus* sp. و *P.ostreatus* بصورة منفردة في تحليل المركبات الفينولية كان افضل من تاثيرهما في التداخلات على الرغم من معنوية اختزال انواع التداخلات بينهما.اما الفطر *A. aegerita* فقد كان تاثيره بالتداخلات افضل منه في حالة الفطر منفردا وقد يرجع السبب الى حالة تازر بين هذا الفطرمع الفطريات الاخرى عند زراعتها معا على الوسط .

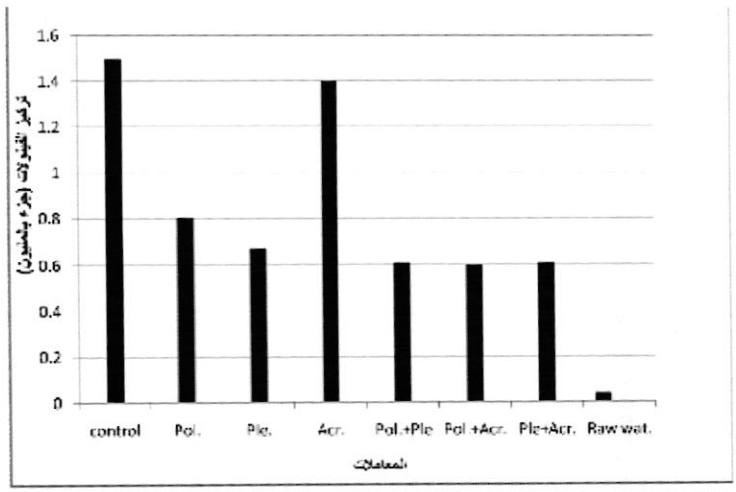
ISSN:1813 – 1662



شكل (5) تاثير الفطريات المزروعة في مخلفات المياه الصناعية المعالجة لمصفى الشمال في تركيز الفينولات الكلية.
(Pol.= *Phellinus sp.* , Ple.= *P.ostreatus* , Acr.= *A. aegerita*, Raw Wat.=Raw Water)

يوضح الشكل (6) تاثير الفطريات النامية على وسط مخلفات المياه الصناعية قبل المعالجة لمصفى صلاح الدين في تحليل المركبات الفينولية . يظهر هذا الشكل تفوق الفطر *P.ostreatus* في خفض تركيز الفينول بنسبة اختزال 55% اذ بلغ 0.67 جزء بالمليون ، ويليه كل من الفطر *Phellinus* sp. الذي سجل 0. 8 جزء بالمليون بينما لم يكن للفطر *A. aegerita* بنفس الكفاءة اذ سجل تركيز 1.4 جزء بالمليون مقارنة مع تركيز الفينول بالمياه الملوثة قبل زراعتها بالفطريات 1.5 جزء بالمليون .

تفوقت التداخلات بين الفطريات بكل انواعها وبشكل ملحوظ في اختزال المركبات الفينولية عنها في تاثير كل فطر لوحده اذ بلغ تركيز الفينولات الى 0.6 جزء بالمليون وبنسبة اختزال 60 %.

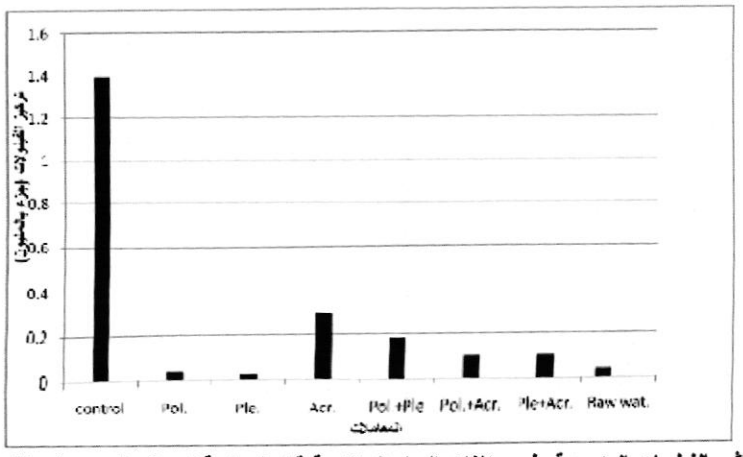


شكل (6) تاثير الفطريات المزروعة في تراكيز مختلفة من مخلفات المياه الصناعية قبل المعالجة لمصفى صلاح الدين.
(Pol.= *Phellinus sp.* , Ple.= *P.ostreatus* , Acr.= *A. aegerita*, Raw Wat.=Raw Water)

من الشكل (7) يلاحظ تفوق الفطرين *P.ostreatus* و *Phellinus* sp. من خلال تحليلهما اكبر نسبة من مركبات الفينول في مخلفات المياه الصناعية قبل المعالجة لمصفى الدهون اذ بلغ تركيزه 0.03 و0.04 جزء بالمليون ،على التعاقب، وبنسبة اختزال 97 %، يليهما الفطر *A. aegerita* الذي سجل تركيز الفينول 0.3 جزء بالمليون ونسبة اختزال 78 % مقارنة بقيمته بالمياه قبل زراعتها بالفطريات 1.4 جزء بالمليون.

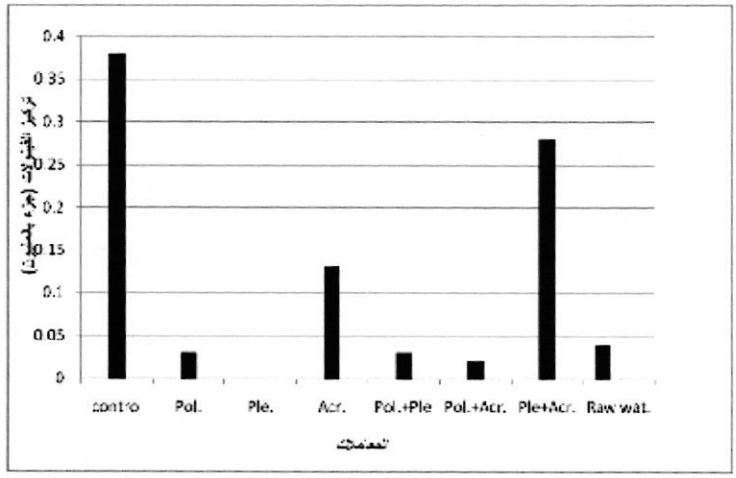
كما وتقاربت نسب اختزال التداخلات بين الفطريات المختبرة للفينول اذ سجلت كل انواع التداخل قيم متقاربة لتركيز الفينول بلغت 0.1 و0.1 و0.18 جزء بالمليون لكل من *A. aegerita*×*P.ostreatus* و *Phellinus* sp. × *A. aegerita* و *Phellinus sp.* × *P.ostreatus* ،على التعاقب، مقارنة بالسيطرة 1.4 جزء بالمليون .

يتبين من هذا الشكل (7) ان تاثير الفطرين *P.ostreatus* و *Phellinus sp* في اختزال الفينول عند تنميتها بصورة منفردة كان افضل من تداخلهما مع بعضهما ومع الفطر *A. aegerita* ، بعكس الفطر الاخير الذي كانت نتيجة تداخله مع الفطرين السابقين افضل منه منفردا.



شكل (7) تاثير الفطريات المزروعة في مخلفات المياه الصناعية قبل المعالجة لمصفى الدهون في الفينولات الكلية.
(Pol.= *Phellinus sp.* , Ple.= *P.ostreatus* , Acr.= *A. aegerita*, Raw Wat.=Raw Water)

عند زراعة (معاملة) المياه العادمة الخارجة من شركة مصافي الشمال \ بيجي بالفطريات المدروسة الشكل (8) ابدى الفطر *P.ostreatus* افضل اختزال لمركبات الفينول اذ سجل تركيز 0.0 جزء بالمليون ونسبة اختزال 100 % ويليه الفطر *Phellinus* sp الذي سجل تركيز 0.03 جزء بالمليون ونسبة اختزال للفينول بلغت 92 % ومن ثم الفطر *A. aegerita* الذي سجل تركيز 0.13 جزء بالمليون ونسبة اختزال 65 % مقارنة بقيمته في المياه قبل الزراعة 0.38 جزء بالمليون ، كما و ابدى التداخل بين الفطرين *Phellinus* sp. × *A. aegerita* على اختزال للفينول بلغ 0.02 جزء بالمليون ونسبة 94 % ويليه التداخل بين الفطرين *Phellinus* sp. × *P.ostreatus* الذي سجل تركيز 0.03 جزء بالمليون ونسبة اختزال 92 % ، اما التداخل بين الفطرين × *A. aegerita* *P.ostreatus* فقد بلغ التركيز 0.28 جزء بالمليون ونسبة اختزال 26 % اذ كانت اقل كفاءة من تاثير نوعي التداخلات الاخرى . تشير نتائج الشكل (8) ان تاثير الفطرين *P.ostreatus* و *Phellinus* sp. النامية بصورة منفردة في تحليل مركبات الفينول في المياه العادمة لمصافي شركة الشمال / بيجي افضل من التداخلات بين الفطريات المدروسة ، واعطت تراكيز للفينول اقل من المحدد العالمي المسموح به للمياه العادمة 0.05 جزء بالمليون ، افضل من المعالجة البكتيرية المعتمدة بالشركة التي كانت نتيجتها 0.38 جزء بالمليون وهذا يوكد كفاءة الفطريات وتفوقها في التحلل الحيوي للفينول على البكتريا .



شكل (8) تاثير الفطريات المزروعة في مخلفات المياه الصناعية المعالجة والخارجة من مصفى شركة الشمال /بيجي في تركيز الفينولات الكلية
(Pol.= *Phellinus sp.* , Ple.= *P.ostreatus* , Acr.= *A. aegerita*, Raw Wat.=Raw Water)

من خلال نتائج الدراسة التي تشير الى اختزال المركبات الهيدروكربونية و الفينولية بفعل الانواع الفطرية المدروسة وخاصة الفطرين *P.ostreatus* و *Phellinus* مما يتميز ان به من خصائص منها تحملهما مستويات عالية مهذه المركبات كما اشار اليه (6) و امتلاكه مجموعة الانزيمات المسؤولة عن التحلل اذ سجلت فعالية لهذه لانزيمات في مختلف انواع الفطريات البازيدية عموما وخاصة الفطر *P.ostreatus* .واتفقت النتائج مع العديد من الدراسات السابقة منها [20، 21] الذي سجل قدرة هذا الفطر على تكسير مركب الفينانثرين بنسبة 94 % عند حضنه لمدة 11 يوم واثبت ايضا قدرته على تكسير المركبات الاروماتية العديدة وتحويلها الى CO2

مثل الكاتيكول والبنزوبايرين والفينانثرين والبايرين و [22] الذي سجل قدرة هذه الفطريات على تكسير المركبات الحلقية المتعددة PAHs و نتائج [23].

اهم هذه الانزيمات انزيم الايكييز الذي يستطيع تكسير المركبات الهيدروكربونية و الفينولية وتحويلها الى مركبات اقل تعقيدا و تحرير الكاربون منها لاستخدامه كمصدر للبناء الحيوي والطاقة مما يفسر عملية اختزال تركيزه بالوسط وزيادة الكتلة الحيوية للفطريات النامية علية وان حقيقة هذا الاختزال قد يعزى الى كفاءة ليس انزيم الايكييز فقط وانما عدد متنوع من الانزيمات الخارج خلوية التي تحتويها هذه الفطريات مثل Ligninase (Lip) و Manganeadependenes peroxidase (MnP) و Versatile peroxidase(VP) اضافة الى Laccase ،التي يمكن ان تزداد بفعل زيادة المركبات الاروماتية الموجودة في الوسط النامية عليه هذه الفطريات .تتفق هذه النتيجة مع نتائج [24] الذي سجل زيادة انتاج انزيم الايكييز مع زيادة المدعمات الفينولية للوسط . ان تباين اختزال الهيدروكربونات الكلية بتباين الفطريات قد يعزى الى التركيب الوراثي الخاص بكل نوع من الفطريات قيد الدراسة الذي يعد المسؤول الاول لتباين نسب اختزال هذه المركبات عند زراعة الفطريات بصورة متداخلة مع بعضها البعض ادى الى تحسين ادائها التحللي احيانا وعكس النتيجة في بعض الحالات ،ذلك يرجع الى حالات التازرو التضاد التي تحصل عند مداخلة الفطريات مع بعضها، الذي يؤدي الى افراز بعض المواد الوسطية من قبل بعض انواع الفطريات اما تكبح الفطر المقابل لها على وسط النمو او تزيد من فعاليته وفي هذه الدراسة تم اختبار تداخل الفطريات المدروسة على وسط PDA وتحديد اي الفطريات هو التغلب (الاقوى) ونوع التداخل الحاصل بينها وكانت النتيجة ان الفطر *Phellinus sp* كان هو المتغلب على كل من الفطرين *P.ostreatus* و *A. aegerita* باعلى حالات التضاد (over lapping) ومن ثم الفطر *P.ostreatus* الذي تغلب على الفطر *A. aegerita* (over lapping) وهذا ما ظهر جليا عند زراعتهم على وسط مخلفات المياه الصناعية اذ تم الغاء دور الفطر الاخير وما يعزز ذلك المحتوى الانزيمي لهذه الفطريات .

كما يمكن ان يفسر التباين في اختلاف سلوك هذه الفطريات في تحللها للمركبات الهيدروكربونية الى اختلاف نوع مخلفات المياه الصناعية (قبل العالجة)من حيث التركيب الكيميائي اثر بشكل واضح على نتيجة التحلل اذ تميز مصفى الدهون بنوعية من المياه تلائم نمو الفطريات قيد الدراسة اكثر من بقية المصافي حيث اعطت هذه الفطريات وبكل انواعها النامية بصورة منفردة والمتداخلة نسب اختزال عالية . تليها المياه العادمة (المعالجة).

المصادر

1. White, L. (1999). New Directions in Marine Pollution Control , Paper presented at Shipping in the New Millenium , Brisbane, Australia.

2 . رمضان ،عمرموسى و خالد احمد الغنام و، احمدعبدالكريم ذنون (1991) الكيمياء الصناعية والتلوث الصناعي . دارابن الاثيرللنشر ، جامعة الموصل.

3. AGEH (A community Guide to Environmental Health) (2012).

4. Kharnoob H.H.,AL-Jubory M. and Kalahf, M.I. (2011) Environment and Health Assessment for Refineries Company Baiji- (Iraq).Tikrit Journal of Pure Science.16(4):147-150.

5. Kang S.Y.; Lee, J.V. and Kim,K.W.(2005).Metal removal from wastewater by bacterial sorption kinetics and competition studies ,Enviov ,J.Technol .26(6):615-624.

6. Ranjini,R. and T. Padmavathin (2012) Phenol tolerance of *Pleurotus florida* under varying condition of nitrogen sufficiency .European J. of Experim. Biol. 2 (1):75-82.

7. Levin L, Viale A, Forchiassin A. (2003). Degradation of organic pollutants by the white rot basidiomycete Trametes trogii. International Biodeterioration & Biodegradation 52(1):1-5.

8. الجبوري،ياسين عويد وسمي (2005) التحلل الحيوي لانواع من النفط الخام بفعل الجراثيم المعزولة من ترب مصافي العراق الشمالية .اطروحة دكتوراه ، كلية التربية ،جامعة تكريت.

9. نجم، مصطفى عبد الوهاب (2008) عزل وتصنيف الفطريات من رسوبيات اهوار جنوب العراق ودراسة قابليتها على تكسير النفط الخام مختبريا .اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة البصرة

10. الجبوري، محمود خلف صالح (2004) دوربعض اجناس السيانوبكتريا في التحلل الحيوي لبعض المركبات النفطية .رسالة ماجستير، كلية التربية ،جامعة تكريت

11. الجرجري، شامل نايف ابراهيم علي (2013) دراسة تاثير المخلفات النفطية على بعض النباتات النامية في محافظتي كركوك وصلاح الدين.ر سالة ماجستير ، كليةالتربية ، جامعة تكريت.

12. عبدالقادر ، رشدي صباح عبد (2013) دراسة تاثيرالمياه العادمة لشركة مصافي الشمال _يبجي في بعض انواع النباتات الواطئة . اطروحة دكتوراه ، كلية التربية ، جامعة تكريت

13. Hard,M.E.(1961)The mushroom edible and otherwise. Hafner publishing company. New york.pp. 609.

14. Phillips, R. (1981) .Mushroom edible and otherwise. Hafner Publishing company .New york.

15.Pegler. D. N. (2000). Taxanomy, nomenclature and description of Armelaria. In" Armillria root rot: Biology and control of honey fungus" ed. R. T. V. Fox. Andover U. K. Intercept Ltd. pp.81-93.

16. Horiba instruction manual (1995), Oil content analyzer OCMA-350,code:1042118100/Japan.

17. Hach(2003) Water Analysis Handbook Hach chemical company ,Loveland, Colorado.USA.

fluoranthene and dibenzeothiophene by the white rot Fungus *Pleurotus ostreatus* .Appl. Env. Microbiol, 62: 2554-2559
22. Clemente, A.R.; Anazawa, T. A. and Durrant, L.R. (2001). Biodegradion of polycyclic aromatic hydrocarbons by soil Fungi .Braz. J. Microbiol., 32:1-9.
23. Suthersan, S.S.(1999) Insitu bioremediation In: Remediation engineering design concepts "Ed. Sutha S. Suthersan, Boca Raton :CR Cpress LLC.
24. Novotny C, Erbanova P, Sasek V, Kubatova A, Cajthaml T, Lang E, Krahl J, Zadrazil F. (1999). Extracellular oxidative enzyme production and PAH removal in soil by exploratory mycelium of white rot fungi. Biodegradation 10(3):159-68.
18. April, T.M.; Foght, J.M. and Currah, R.S. (2000). Hydrocarbon degrading filamentous fungi isolated from flarepit soil in northen and western Canada. Can. J. Microbiol. 46:38-49
19. Okerentugba, P. and Ezeronye, O. (2003). Petroleum degrading potentials of single and mixed microbial cultures isolated from rivers and refinery effluent in Nigeria. AFri .J.Biotechnol.,2:288-292.
20. Bezalel. L. Hadar, Y. and Cerniglia ,C.E.(1996a) Mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbon by the white rot Fungus *Pleurotus ostreatus* .Appl. Env. Microbiol.62:292-295.
21. Bezalel,L.; Hader, Y.; Peter, P.E.; Freeman, J.P. and Cernigilia, C.E.(1996b).Initial oxidation products in the metabolism of pyrene, an thracene,

Study the efficiency of some Basiomycetes in bioremediation of polluted water by petroleum wastes of North refineries in Baji / Salah aldin governorate.
1- Reduction of Total hydrocarbons and Phenoles

Abier Raof Mahmoud Al-qissi , Talib O. Al-Khesraji
Biology Departement , Education College of Pure Science , Tikrit University, Tikrit , Iraq

Absract
Eleven species of basidiomycetes fungi producing of fruit bodies including *Pleurotus ostreatus, Polyporus sp, Agrocybe aegerita ,Agaricus campestres Phellinus sp. Coprinus cinereus ,Coprinus comatus, Trametes versicolour Ganoderma liucidium, Ganoderma sp. and Pisolithus tinctorius* distributed on four orders and seven families. Three species from this fungi and their interactions were selected for study of bioremediation on total petroleum hydrocarbons TPH and total phenols depend on their successful growth on petroleum wastes medium. *Phellinus* sp. alone showed maximum TPH degradation resulting in 26 , 20 and 12 ppm in waste water of North, Salh aldin and Oil refineries compared to 173,43 and 52 ppm in untreated waste water, with reduction ratio of 85,53 and 76%, respectively. while *P.ostreatus* showed maximum TPH degradation outlet unit resulting in 19 ppm with reduction ratio 62% compared to 50 ppm before the treatment. *P.ostreatus* showed also maximum total phenols degradation in waste water of North, salah aldin ,Oil and outlet unit resulting in 0.07 , 0.67 ,0.03 and 0.0 ppm compared to 2.4 , 1.5 , 1.4 and 0.38 ppm in untreated waste water with reduction ratio of 97 , 55,97 and 100% , respectively, in addition to various ranges of TPH and phenols degradation were recorded in various fungal interactions.