



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحيا



ة

دراسة قابلية بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* على تحلل النفط الخام المعزولة من مياه ورسوبيات نهر دجلة

رسالة مقدمة

الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير

في

علوم الحياة – الأحياء المجهرية

من قبل

رقية عبد الحسن عباس

بكالوريوس علوم الحياة / كلية التربية / جامعة ديالى ٢٠٠٧ – ٢٠٠٨

بإشراف

أ.م. د غالب ادريس عطية

أ.د. عدنان نعمة عبد الرضا

٢٠١٧م

١٤٣٨هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿قُلْ أَرَأَيْتُمْ إِنْ أَصْبَحَ مَاؤُكُمْ غَوْرًا
فَمَنْ يَأْتِيكُمْ بِمَاءٍ مَّعِينٍ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة الملك

الاية (30)

اقرار المشرفين على الرسالة

نشهد ان اعداد هذه الرسالة قد جرى تحت اشرافنا في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم
الصرفة / جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / الاحياء
المجهرية

التوقيع

المشرف : د. عدنان نعمة عبد الرضا المشرف : د. غالب ادريس عطية

اللقب العلمي : أستاذ اللقب العلمي : أستاذ مساعد

التقنيات الاحيائية /كلية بلاد الرافدين الجامعة كلية التربية /جامعة ديالى

التاريخ / / 2017 التاريخ / / 2017

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصيات المتوافرة نرشح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع : د. عمار أحمد سلطان

اللقب العلمي : أستاذ مساعد

رئيس لجنة الدراسات العليا -رئيس قسم علوم الحياة

التاريخ / / 2017

اقرار الخبير اللغوي

اشهد إن هذه الرسالة الموسومة بـ(دراسة قابلية بكتريا *Pseudomonas Aeruginosa* على تحليل النفط الخام المعزول من مياه ورسوبيات نهر دجلة) المقدمة من طالبة الماجستير(رقية عبد الحسن عباس) قسم علوم الحياة/الأحياء المجهرية . قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وصحح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة .

التوقيع:

الاسم:

المرتبة العلمية:

التاريخ : / / ٢٠١٧

اقرار الخبير العلمي

اشهد ان هذه الرسالة الموسومة ب(دراسة قابلية بكتريا *Pseudomonas Aeruginosa* على تحلل النفط الخام المعزول من مياه ورسوبيات نهر دجلة) من الطالبة (رقيه عبد الحسن عباس) قسم علوم الحياة /الاحياء المجهرية . تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك اصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة .

التوقيع:

الاسم:

المرتبة العلمية:

التاريخ : / / ٢٠١٧

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

الدراسات العليا

قرار لجنة المناقشة

نشهد باننا أعضاء لجنة التقييم والمناقشة قد اطلعنا على هذه الرسالة وناقشنا الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ 2017/5/25 وانها جديرة لنيل شهادة الماجستير في اختصاص علوم الحياة / الأحياء المجهرية بدرجة ()

توقيع

توقيع

رئيس لجنة المناقشة

عضو لجنة المناقشة

الاسم : د. عباس عبود فرحان

الاسم : د. حميد مجيد جاسم

المرتبة العلمية : استاذ

المرتبة العلمية: استاذ

التوقيع

التوقيع

عضو لجنة المناقشة

عضو لجنة المناقشة (المشرف)

الاسم : أنيس عبد الله كاظم

الاسم : عدنان نعمة عبد الرضا

المرتبة العلمية : استاذ

المرتبة العلمية : أستاذ

التوقيع

التوقيع

عضو لجنة المناقشة (المشرف):

الاسم : د. غالب ادريس عطية

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التوقيع

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

عميد كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع

الاسم : أ.د. غالب ادريس عطية

الأهداء

ألهي لا يطيب الليل إلا بشكرك ولا يطيب النهار إلا بطاعتك .. ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك . ولا تطيب ال آخرة إلا بعفوك .

الله جلّ جلاله

الى من بلغ الرسالة وادى الامانة .. ونصح الامة .. الى نبي الرحمة ونور العالمين ..

سيدنا محمد صلى الله عليه واله وسلم

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار .. إلى من علمني العطاء بدون انتظار .. إلى من أحمل اسمه بكل افتخار .. كم رجوت من الله أن يمد في عمرك لترى ثمارا قد حان قطافها بعد طول انتظار وستبقى كلماتك نجوى اهتدي بها اليوم وفي الغد والى الأبد ..

والدي العزيز

الى من كلل العرق جبينها وشفقت الأيام يديها الى التي نذرت عمرها في اداء رسالة صنعتها من اوراق الصبر وطرزتها في ظلام الدهر

الى أمي الحبيبة زهرة الحياة ونورها

إلى .. رفيق دربي ، إلى من سار معي نحو الحلم خطوة .. بخطوة

بذرناها معا وزرعناها معا

زوجي الغالي كابتن احمد

إلى احبتي وأطفالي ورياحيني

فاطمة، نور، عبدالله

إلى من اشد بهم ازري .. وبهم أقوى وعليهم اعتمد

اخوتي (علي ، هاشم)

إلى شمس العلم المضيئة على مرّ الزمان ..

أساتذتي

شكر و عرفان

الحمد لله رب العالمين ، والصلاة والسلام على خاتم الأنبياء والمرسلين سيدنا
وحبيبنا محمد صلى الله عليه وآله وسلم

أما بعد

وأنا استهل رسالتي فلا يسعني إلا أن أقدم شكري و عرفاني الى أستاذي الفاضلين
المشرفين الأستاذ الدكتور عدنان نعمة عبد الرضا،و الأستاذ المساعد الدكتور غالب
إدريس عطية لاقتراحهما مشروع البحث ، ومتابعتهما المستمرة ، وتوجيهاتهما
السديدة لي طوال مدة البحث متمنية من الله العلي القدير أن يحفظهما ويجزيهما خيرا

.

كما أتوجه بخالص شكري وتقديري وامتناني إلى جميع العاملين في شعبة الدراسات
العليا وعلى رأسهم الأستاذ الدكتور نجم عبد الله على متابعته الحثيثة لطلبة
الماجستير .وأوجه تقديري و عرفاني إلى أساتذة قسم علوم الحياة وجميع العاملين
والمنتسبين فيه ، وفي مقدمتهم رئيس القسم الأستاذ المساعد الدكتور "عمار احمد
سلطان" متمنية من الله أن يوفقهم لمزيد من العطاء

كما أوجه شكري الجزيل إلى زملائي العاملين في مختبر الدراسات العليا متمنيةمن
الله أن يوفقهم جميعا لما يحبه ويرضاه.

رقية

الخلاصة

تناولت الدراسة الحالية الظروف البيئية التي تؤثر على تحليل النفط الخام في المياه والرسوبيات في المحطات الثلاث الأولى قرية السندية، والسعدية، وقرية زنبور على طول نهر دجلة (شمال غرب ديالى) ، للفترة ما بين (5-2015) و(10-2016) وتم جمع 192 عينة من المياه والرواسب ، التي تمثل المحطات قيد الدراسة.

وجد من خلال النتائج والعوامل اللاحيوية أن مواصفات الماء المستخدم في المناطق الثلاث من درجة الحرارة (15-33) م°، و درجة الأس الهيدروجيني (5-9.3)، والملوحة-0.5 (0.7)غم/لتر، BOD(5-17) جزء بالمليون ، و COD (12-22) جزء بالمليون ، و-0.4 NH₃(0.77) ، SO₄ (82-98) ، الزنك(0.2-0.95) ، و NH₄ (2.1-4.9) جزء بالمليون ، أن نتائج قيم العوامل اللاأحيائية هو مشجع لتحلل النفط الخام في البيئات تحت الدراسة.

شخصت 82 عزلة بكتيرية (حسب موسوعة (Steel،Cowan،2004))، وجدت أن جنس *Pseudomonas* هي السائدة. لوحظ بعد إجراء الاختبارات البايوكيميائية على هذه العزلات أن نوع (*P.aeruginosa*، 55%، *P.florescence*، 20%، *P.putida*، 7%) .

لهذا تعتبر هذه السلالة هي السائدة في عينات المياه والرسوبيات في المحطات تحت الدراسة ، وقد تم اختيارها لدراسة قدرتها على تحليل أو إستهلاك النفط الخام (المعالجة البيولوجية). وجدت من خلال التجارب المختبرية أن أفضل حالة لتحليل النفط الخام هو عند (pH(7-8 ، nm (0.660-0.666). وجد من خلال متابعة التحلل الحيوي باستخدام المجهر الضوئي إن بكتريا *P.aeruginosa* لديها القدرة على إفراز مادة الاستحلاب وتشتيت النفط الطافي خلال الـ 24 ساعة الأولى، وتحت كل الظروف المختبرية ، تم متابعة استهلاك مركبات النفط الخام باستخدام ، طريقة الوزنية (68.84%). تحت ظروف النمو NH₄NO₃ 0.8 ملغرام / 100مل، والاستحلاب (92.3%) تحت ظروف النمو NH₄NO₃, KH₂PO₄ . (0.8) ملغم / 100ملوحة FT-IR ، لوحظ إن CH₂، CH، C-C ومجموعات الكربونيل C-O (تحت نفس الظروف) والأشعة فوق البنفسجية حيث الكثافة البصرية (OD) nm 0.666=، عند إستخدام GC-MS وجد ان اغلب المركبات الأليفاتية قد استهلكت

(Ttradecane, Hexadecane, Undecane, Heptadecane.....) خلال الـ 24 ساعة الأولى من النمو مقارنة مع العينة القياسية، ويمكن إختصار الوقت من خلال دعمها بالمغذيات باقل وقت وإتباع ظروف نمو من أس هيدروجيني (7-8) ودرجة حرارة 37م°، إما المركبات الاروماتية(2-Methyloctacosan, Tetracosan, 3-5-Dipiperonylidene-1-prpoyl-4-piperidon) بدأت تستهلك بعد 48 ساعة من النمو ، ولكن مركبات ال PAHs بحاجة إلى مزيد من الوقت ودعمها بالمغذيات

الصفحة	الموضوع	التسلسل
	الفصل الأول :المقدمة	
1	المقدمة	1
2		
2	الفصل الثاني :استعراض المراجع	
3	Crude oil النفط الخام	2-1
3	Crude oil composition مكونات النفط الخام	2-2
3	Saturated Hydrocarbon الهيدروكربونات المشبعة	1-2-2
3	Aromatic Hydrocarbon الهيدروكربونات الاروماتية	2-2-2
4	Irienes Hydrocarbon الهيدروكربونات الراتنجية	3-2-2
4	Asphaltens Hydrocarbon الهيدروكربونات الاسفلتية	4-2-2
5	oil spill التسرب النفطي	3-2
6	the fate of oil spill in equose ecosystem مصير النفط في البيئة المائية	4-2
7	oil spill equeous التلوث النفطي	5-2
9	العوامل المؤثرة على سرعة تحلل النفط في البيئة المائية	6-2
9	Abiotic Factors عوامل غير احيائية	6-2-1
9	Biotic Factor العوامل ألاحائية	6-2-2
9	Temperture درجة الحرارة	1-6-2-
		1

15	الطرق الميكانيكيةMechanic Method	7-2-3
15	الطرائق البايولوجية Biological Methods	-7-2٤
16	الحواجز	1-3-7-2
17	Absorption استخدام المواد الماصة	2-3-7-2
17	Oil Skimmers قاشطات الزيت	3-3-7-2
17	عمل لاشئ	4-3-7-2
17	Photoremediation المعالجة الضوئية	4-7-2
18	Bioremediation المعالجة الحيوية	5-7-2
20	Pathways in cell of(ODB)Oil degradation bacteria مسارات أيض الهيدروكربونات في الخلية البكتيرية	8-2
20	aerobic degradation التحلل الحيوي للهيدروكربونات بوجود الأوكسجين hydrocarbons	1-8-2
22	anaerobic degradation التحلل الحيوي للهيدروكربونات بعدم وجود الأوكسجين (لا هوائي) degradation of hydrocarbons	2-8-2
23	Oil degradation bacteria (ODB) الأحياء المجهرية المحللة للنفط الخام	9-2
24	Mechanisim of degradation ميكانيكية تحلل الهيدروكربونات (الأيض). hydrocarbon(metabolisem	10-2
25	Emulsifiction الاستحلاب	11-2
27	قياس سرعة استهلاك النفط الخام بواسطة البكتريا المحللة للنفط الخام	12-2
27	الطرق الوزنية	1-12-2
27	الطرق الكروموتوغرافية الغازي الكتلي	2-12-2
27	Emulsiphication طريقة تقدير المستحلب	3-12-2
28	FTIR مطياف الأشعة تحت الحمراء	4-12-2
28	التحليل الطيفي بالأشعة فوق البنفسجية	5-12-2

28	المواد وطرائق العمل material and methods	3
28	المواد	1-3
28	الأجهزة و الادوات المستخدمة	1-1-3
٢٩	المواد الكيميائية والحياتية	2-1-3
30	الأوساط الزراعية	3-1-3
30	الايوساط الزراعية التي أستخدمت في عزل وتشخيص البكتريا	1-3-1-3
30	تحضير الوسط الزراعي السائل الخاص بدراسة سرعة تحليل البكتريا للنفط الخام	2-3-1-3
30	الوسط الزراعي السائل الخاص بتنمية ودراسة سرعة تحليل البكتريا للنفط الخام	3-3-1-3
31	الوسط الزراعي الصلب الخاص بعزل البكتريا المحللة للنفط	4-3-1-3
32	تعقيم الأوساط الزراعية والمواد الأخرى	2-3
31	Dry Heat sterilization التعقيم بالحرارة الجافة	1-2-3
32	Filter Sterilization التعقيم بالترشيح	2-2-3
32	Catalase Reagent كاشف الكاتاليز	1-2-2-3
32	Oxidase Reagent كاشف الاوكسيديز	2-2-2-3
٣٢	Kovac s reagent كاشف كوفاكس	٣-٢-٢-٣
33	methyl red reagent تحضير كاشف المثيل الأحمر	4-2-2-3
33	Culture media تحضير الأوساط الزراعية	3-3
33	Nutrient agar وسط الأكار المغذي	1-3-3
34	MacConkey Agar وسط آكار الماكونكي	3-3-2
33	Agar Urea base وسط آكار اليوريا	3-3-3
33	Methyl red وسط احمر المثيل	4-3-3
34	pepton water وسط ماء الببتون	5-3-3
34	Motility Medium وسط الحركة	6-3-3

34	Gelatin hydrolysis media وسط تحلل الجيلاتين	7-3-3
34	Mannitol Salt وسط أكار المانيتول	8-3-3
34	king A medium agar:وسط	9-3-3
35	King B medium agar وسط	10-3-3
35	Citrate Utilization وسط استهلاك السترات	11-3-3
35	أوساط حفظ وإدامة العزلات البكتيرية	12-3-3
35	Short-tiem Preservation الحفظ قصير الأمد	1-12-3-3
35	Short time preservation حفظ متوسط الأمد	2-12-3-3
35	long time preservation الحفظ طويل الامد	3-12-3-3
36	مخطط مصير البقعة النفطية	4-3
36	قياس العوامل غير الحيوية	5-3
37	جمع العينات	6-3
38	عد وعزل وتشخيص البكتريا المحللة للنفط الخام في المياه والرسوبيات	7-3
38	عينات المياه	1-7-3
40	Sedement زرع عينة الرسوبيات)	2-7-3
40	الاختبارات البايوكيميائية الخاصة بتشخيص البكتريا المحللة للنفط الخام	8-3
40	Catalyse test اختبار انتاج الكاتاليز	1-8-3
41	اختبار انزيم ألاوكسيديز	2-8-3
41	Indole test اختبار الاندول	3-7-3
41	Sugare)Glucose (Sucrose,Maltose اختبار تخمر السكريات	4-8-3
41	Mannitol salt agar اختبار النمو في وسط أكار المانيتول الملحي	:5-8-3
41	Methyl red test اختبار المثيل الاحمر	6-8-3
42	Gelatin hydrolysis اختبار تحلل الجيلاتين	7 -8-3
42	Motility test اختبار الحركة	8-8-3

42	م ^{42°} اختبار النمو عند درجة حرارة	9-8-3
42	A(King اختبار النمو على وسط)	10-8-3
43	B(King اختبار النمو على وسط)	11-8-3
43		12 -7-3

43	Citrate utilization اختبار استهلاك السترات	13-7-3
----	--	--------

٤٤	اختبار تحلل اليوريا	8-3
46		9-3
46	الأس الهيدروجيني	1-9-3
46	المغذيات	2-9-3
47	مضاعفة المغذيات	3-9-3
47	اليوريا	4-9-3
47	تركيز النفط الخام	5-9-3
48	قياس سرعة تحلل النفط الخام باستخدام الطريقة الوزنية	10-3
48	FTIR قياس سرعة التحلل بطريقة قياس مجاميع الكربونائل باستخدام	11-3
49	GCMS قياس سرعة التحلل بجهاز	12-3
49	Biosurfactant قياس سرعة التحلل باستخدام طريقة تقدير	13-3
49	اختبار التكسير الحيوي باستخدام المجهر	14-3
٥٠	اختبار التحلل الحيوي باستخدام أطباق بتري	15-3
50	Macfarland standard محلول ثابت العكورة القياسي	16-3

الفصل الرابع النتائج والمناقشة

52	تقدير العوامل غير الأحيائية	4-1
55	تقدير المعادن النزرة والمغذيات في المياه	4-2

57	عزل وتشخيص البكتريا المحللة للنفط الخام :	3-4
59	دراسة تأثير العوامل البيئية على سرعة تحليل النفط الخام بواسطة بكتريا	4-4
٦٢	Nutrientالمغذيات.	2-4-4
64	مضاعفة المغذيات	3-4-4
67	Ureaاليوريا:	4-4-4
69	تركيز النفط الخام	5-4-4
٧٠	باستخدام الطرق الكيميائية غير المتخصصة الطريقة الوزنية	5-4
74	Emulsification E24الاستحلاب	6-4
79	FTIR:(التحليل بأشعة تحت الحمراء)	7-4
81	GCMSالتحليل بجهاز	8-4
85	مشاهدة التحلل الحيوي في اطباق بتري	9-4
80	شاهدة التحلل الحيوي تحت المجهر	10-4
88	المعالجة الحيوية باستخدام التهوية (النظام المستمر)	11-4

الاستنتاجات والتوصيات

89	الاستنتاجات
89	التوصيات

المصادر

٩٠	المصادر العربية
٩٠	المصادر الاجنبية

الملاحق

التسلسل	العنوان	الصفحة
1ملحق	(كونترول) عينة نفط خام	108
2ملحق	pH.8 أيام (7 عينة نفط خام معالج في مزرعة بكتيرية لمدة	120
3ملحق	pH7 يوم 23 لعينة نفط خام معالج بمزرعة عمرها GCMS التحليل المختبري بجهاز	128
4ملحق	مضاف لها pH8 لعينة رسوبيات ذات الGCMS يبين الفحص المختبري بجهاز ال ايام.7) وعمر المزرعة 0.8 المغذيات المضاعفة من النترات والفوسفات بنسبة)	130
5ملحق	مضاف لها pH8 أيام 7 لعينة نفط خام معالج لمدة GCMS التحليل المختبري بجهاز 0.8 مغذيات فوسفات	133
6ملحق	غرام 2 أيام مضاف لها يوريا 7 لعينة نفط خام معالج لمدة GCMS التحليل المختبري بهاز 7pH	135
7ملحق	أيام وبتركيز 7 لعينة نفط خام معالج لمدة GCMS التحليل المختبري بجهاز مايكروليتر 500	139
8ملحق	ايام 7 لعينة نفط خام معالج بمزرعة بكتيرية عمرها GCMS التحليل المختبري بجهاز pH7 مايكروليتر و100 تركيز	146

قائمة الأشكال

التسلسل	العنوان	الصفحة
1-2	مصير البقعة النفطية المتسربة في المياه	٧
2-2	درجة الحرارة القصوى لسرعة التحلل الحيوي للهيدروكربونات في بيئة التربة والمياه المالحة والعذبة	9
2-3	طريقة حرق النفط الخام في المياه	15
2-4	التحلل الحيوي الهوائي للهيدروكربونات (النفط الخام)	20
5-2	التحلل الحيوي اللاهوائي للهيدروكربونات (النفط الخام)	21
1-3	مصير البقعة النفطية	36

- 2-3 ٣٩ خطوات تحليل عينات المياه والرسوبيات
- 3-3 44 استخلاص النفط بعد عملية تحلله بواسطة البكتريا المحللة للنفط وكذلك باستخدام عزلات مختارة ضمن الدراسة
- 1-4 ٦٠ معبرا عنها بمقدار الامتصاص على *P.aeruginosa* كثافة نمو بكتريا نانوميتر بعد التنمية على الوسط الغذائي عند مستويات 600 الطول الموجي (وعند درجة حرارة نمو 4,5,7,8,10مختلفة من الأس الهيدروجيني) م°) لمدة ٧٢ ساعة مختلفة 37)
- 2-4 63 معبرا عنها بمقدار الامتصاص على الطول الموجي *P.aeruginosa* كثافة نمو بكتريا نانوميتر بعد التنمية في الوسط الغذائي (نترات الأمونيوم ، وفوسفات البوتاسيوم 600 ساعة 72م°) لمدة 37مل وعند درجة حرارة نمو (100 ملغم/0.4)) بقيمة
- 3-4 66 معبرا عنها بمقدار الامتصاص على الطول *P. aeruginosa* كثافة نمو بكتريا نانوميتر بعد التنمية في الوسط الغذائي (نترات الأمونيوم ، فوسفات 600الموجي ساعة 72 م° لمدة 37الصوديوم ، وفوسفات البوتاسيوم) بدرجة حرارة
- 4-4 68 معبرا عنها بمقدار الامتصاص على الطول الموجي *P. aeruginosa* كثافة نمو بكتريا م°) 37 نانوميتر بعد التنمية في الوسط الغذائي (اليوريا) وعند درجة حرارة نمو (600 ساعة 72لمدة
- 5-4 ٧٠ عند احجام مختلفة من النفط الخام *Pseudomonas aeruginosa* كثافة نمو بكتريا 72م°) لمدة 37 مايكروليتر وعند درجة حرارة نمو (100,200,500,700,1000) ساعة
- 6-4 ٧٣ بعد التنمية في *P.aeruginosa* النسبة المئوية لتحلل النفط الخام بواسطة بكتريا (ملغم / 0.8الوسط الغذائي) نترات الامونيوم و فوسفات البوتاسيوم) عند قيمة (مل بالطريقة الوزنية .100
- 7-4 ٧٣ عند مستويات مختلفة *P.aeruginosa* النسبة المئوية لتحلل النفط الخام بواسطة بكتريا (pH من 4,5,7,8,10)

- 8-4 عند اضافة مستويات مختلفة من المغذيات *P. aeruginosa* فعالية الاستحلاب لبكتريا (ساعة 120 ، 48 ، 24م° خلال 37 (الفوسفات والنترات)في درجة حرارة 76
- 9-4 pH) عند اضافة مستويات مختلفة من *P. aeruginosa* فعالية الاستحلاب لبكتريا (ساعة 120 ، 48 ، 24) خلال 4,5,7,8,10 76
- 10-4 طيف امتصاص الأشعة تحت الحمراء لـنفط خام منشأة الراشدية الحاوي على والمستخلص من وسط الأملاح 7 مايكروليتر نفط خام وأس هيدروجيني 2% م° (حيث اظهرت نتيجة اطياف 37 أيام ودرجة حرارة 7 المعدنية وفترة حضن أيام من الحضن مقارنة 7 بعد *P.aeruginosa* تحليل النفط الخام بفعل بكتريا مع عينة السيطرة 79
- 11-4 *Pseudomonas* لعينات النفط المعالجة بواسطة بكتريا GCMS يمثل التحليل بجهاز أيام 7 لمدة *aeruginosa* 84
- 12-4 عينة نفط خام غير معالجة (كنترول) 87
- 13-4 ساعة 24 عينة نفط خام معالجة لمدة 87
- 14-4 ساعة 48 عينة نفط خام معالجة لمدة 87
- 15-4 ساعة 72 عينة نفط خام معالجة لمدة 87
- 16-4 جهاز المعالجة الحيوية باستخدام نضام التهوية المستمر 89

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	التسلسل
28	أهم الأجهزة والمستلزمات المختبرية التي استخدمت في الدراسة	1-3
29	المواد الكيميائية والأملاح المعدنية التي استخدمت في تحضير الأوساط الزرعية قيد الدراسة على أساس اللتر الواحد	2-3
30	الأوساط الزرعية التي استخدمت في عزل وتشخيص البكتريا	3-3
31	المواد الداخلة في تركيب الوسط السائل الخاص بدراسة سرعة تحلل النفط الخام	4-3

بواسطة البكتريا

37	عدد عينات الرسوبيات والمياه المأخوذة من المحطات الثلاث	5-3
53	العوامل غير الأحيائية التي تم دراستها في المحطات الثلاث	1-4
		xvii
56	تركيز المعادن المنزرة مقدرة بوحدة جزء بالمليون	2-4
58	الفحوصات البايوكيميائية والزرعية المجهرية التي أجريت على العزلات قيد الدراسة	3-4
59	عدد ونسبة العزلات بحسب نوع العينة (الرسوبيات والمياه)	4-4
59	معبرا عنها بمقدار الامتصاص على الطول <i>P.aeruginosa</i> كثافة نمو بكتريا نانوميتر بعد التنمية على الوسط الغذائي عند مستويات مختلفة 600 الموجي م° (لمدة 37) وعند درجة حرارة نمو (4,5,7,8,10) من الأس الهيدروجيني (ساعة 72	5-4
٦٢	معبرا عنها بمقدار الامتصاص على الطول الموجي <i>P.aeruginosa</i> كثافة نمو بكتريا نانوميتر بعد التنمية في الوسط الغذائي على الفوسفات و النترات بدرجة حرارة 600 ساعة 72م° لمدة 37	6-4
٦٥	معبرا عنها بمقدار الامتصاص على الطول <i>P.aeruginos</i> كثافة نمو بكتريا نانوميتر بعد التنمية في الوسط الغذائي (نترات الأمونيوم ، 600 الموجي فوسفات الصوديوم ، ، وفوسفات البوتاسيوم) وعند درجة حرارة نمو ساعة 72 م°) لمدة 37	7-4
67	معبرا عنها بمقدار <i>P. aeruginos</i> بكتريا <i>P.aeruginos</i> كثافة نمو بكتريا نانوميتر بعد التنمية في الوسط الغذائي (اليوريا 600 الأمتصاص على الطول الموجي ساعة 72م°) لمدة 37) وعند درجة حرارة نمو (	8-4
70	معبرا عنها بمقدار الأمتصاص على الطول الموجي <i>P.aeruginos</i> كثافة نمو بكتريا ، 700، 500، 200، 100 نانوميتر عند أحجام مختلفة من النفط الخام (600	9-4

ساعة 72م°) لمدة 37مايكروليتر وعند درجة حرارة نمو (1000)

10-4	بالطريقة الوزنية <i>P. aurginosa</i> النسبة المئوية لتحلل النفط الخام بواسطة بكتريا	72
١١-٤	فعالية الاستحلاب للعزلة البكتيرية خلال (١٢٠-٤٨-٢٤) ساعة عاى التوالي	75
١٢-٤	يمثل المركبات الكيميائية التي استهلكت بالكامل والمركبات التي استهلكت غالبية أيام 7 خلال مدة حضن <i>Pseudomonas aeruginosa</i> عناصرها بواسطة بكتريا	48

قائمة المختصرات الواردة في الرسالة

1	أدينوسين ثلاثي الفوسفات ATP
2	مطياف الاشعة مرئي فوق بنفسجي UV VISIBLE SPECTROPHOTOMETER
3	التحليل الحيوي للنفط الخام BIODEGRADATION
4	التحفيز الحيوي Biostimulation
5	التراكم أو التعزيز الحيوي Bioaugmentation
6	الكثافة البصرية OD)(OPTICAL DENSITY
7	المتطلب الحيوي للأوكسجين BOD)Biological Oxygen Demand(
8	المتطلب الكيميائي للأوكسجين (COD)Chemical Oxygen Demand
9	المعالجة الحيوية BIOREMEDIATION
10	المعالجة الضوئية PHOTOREMEDIATION
11	الهيدروكربونات غير المتفرعة Aliphatic

Uric acid	حامض اليوريك	12
PAHs	سلاسل هيدروكربونية متعددة الحلقات	13
BIOSURFACTANT	مواد حيوية تقلل الشد السطحي	14
Emulsification E24	ساعة 24 الاستحلاب خلال	15
ODB)Oil Degradation Bacteria(	البكتريا المحللة للنفط الخام	16

المقدمة Introduction

يعرف التلوث على أنه كل تغير كمي أو كيميائي في مكونات البيئة الحية وغير الحية لا تستطيع الأنظمة البيئية على إستيعابها دون أن يختل إترانه (الصابريني والحمد، 1994) تمثل قضية التلوث البيئي بؤرة إهتمام دول العالم المختلفة فلم تعد مشكلة خاصة ، ويمكن أنتقاله بالماء والهواء ، كما يكون له تأثيره على الكرة الأرضية كلها (المسيب ، 2005). لقد أكد الإسلام على حماية البيئة ومنع التلوث وأسبابه وعالج مشكلة التلوث البيئي بأن وضع لها العديد من الأسس العلمية الصحيحة التي تسهم بشكل رئيسي في الحد منها لصالح الإنسان ، وهذا يتمثل في قول الله عزَّوجلَّ "وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا"، (الصابريني والحمد ، 1994) .

يعتبر التلوث النفطي من أهم أسباب التلوث البيئي إذ تتعرض العناصر البيئية إلى إختلال شديد في توازنها نتيجة الاستخدام المستمر للنفط ومشتقاته ، (Rehman وآخرون ، 2002). ويتكون النفط من خليط من المركبات الهيدروكربونية المعقدة ، بالإضافة إلى مركبات نتروجينية وكبريتية وأوكسجين وبعض المركبات المعدنية (Zhu وآخرون ، 2001) .

كما تجب الإشارة إلى إن تلوث البيئة بالمخلفات الهائلة من زيوت التشحيم الخفيفة والثقيلة وزيوت محركات العربات والمركبات المختلفة والتي تضاف يوميا إلى التربة والماء والأرض ، والتلوث بالنفط أمتد ليشمل الأراضي الزراعية والشواطئ البحرية (krewski وآخرون ، 2000).

من أهم المشكلات التي تواجه المهتمين بالبيئة هو تلوث النفط ويصعب السيطرة عليه سواء في البحار أو في المحيطات أو على الشواطئ ، وذلك لأن النفط يكون مع الماء بقعة متماسكة تحملها التيارات البحرية والهواء بسهولة الى مساحات أكبر وبذلك ينتشر التلوث وقد كشفت العديد من الأبحاث والدراسات مدى الضرر الذي يلحق بالبيئة والكائنات المائية نتيجة تلوث مياه البحار والمحيطات والشواطئ بالنفط. (Chu وآخرون ، 2008) .

عندما يتسرب النفط الخام إلى البيئة المائية فإنه يتبعثر ويتشتت في البيئة المائية بمرور الوقت ، يحدث هذا السلوك نتيجة عدد من العمليات الفيزيائية والكيميائية التي تغير من تركيب النفط الخام المنسكب ، لذلك من الضروري احتواء هذا الانسكاب بأسرع وقت ممكن من أجل تقليل الضرر عن الأحياء المائية والمصادر الطبيعية ، وذلك باتباع طرق مختلفة في الإزالة منها ميكانيكية ، كالجرافات والقاشطات لتقليل مساحة بقعة الزيت المنتشرة ، أو إستعمال طريقة

الشفط أو الأمتصاص (بواسطة أجهزة خاصة) أو إستخدام الحواجز الطافية ، لحجز البقع الزيتية ، وكذلك إستخدام الطرق الكيميائية ، كالمشتتات الكيميائية (يتم رش أنواع معينة من المذيبات أو المنظفات الصناعية والمساحيق عالية الكثافة) ، أو الحرق في المنطقة المحددة بالتلوث (Dave و Ghaly، 2011).

إن تلك الطرق غير كفوءة ، لأنها لا تزيل النفط بشكل تام ، لذلك لابد من إستغلال الأحياء المجهرية في تلك البيئات وخصوصا بعض أنواع البكتريا التي لها القدرة على استغلال النفط الخام ومشتقاته كمصدر للطاقة ، ويطلق على تلك العملية بالمعالجة الحيوية Bioremediation ، والتي تتميز بالأزالة التامة لتلك الملوثات ، نتيجة تحول تلك المركبات إلى ماء وثاني أكسيد الكربون ولاتوجد أضرار بيئية عند استخدامها وسهلة التداول ورخيصة الثمن (Antonions ، 2012) ، لذلك جاء الهدف من دراستنا الحالية لأجل التالي :

- ١- عزل البكتريا المحللة للهيدروكربونات من المياه والرسوبيات .
- ٢- تعيين الظروف المثلى للاختزال الحيوي للمركبات الهيدروكربونية .
- ٣- التحري عن التحلل الحيوي للهيدروكربونات ونواتج التحلل آليا .

2-استعراض المراجع Literature review

1-2:النفط الخام (Crude oil)

النفط الخام هو أحد موارد الطاقة الأكثر أهمية في العالم ، ويستخدم النفط الخام في العديد من الصناعات منها تكريرية وبتروكيماوية ،حيث تم تكرير النفط الخام خلال العمليات التكنولوجية المختلفة في الصناعات الاستهلاكية كالكازولين ،وزيوت البارافين ومواد التشحيم والبولميرات ،كما تستخدم مشتقاته في العديد من العمليات الكيميائية الأخرى.

((Borkowski و Wolick ، 2012 A)).

يسمى النفط الخام (crude oil) بالبتترول (Petroleum) وهي كلمة لاتينية إنكليزية مكونة من مقطعين ، هما الزيت والصخر ولهذا يدعى بزييت الصخور أو الزيت الصخري . أما كلمة النفط فهي عربية الأصل والبتترول هو التسمية العامة لمزيج عدد هائل من المواد الكيميائية الطبيعية التي تعرف بالهيدروكربونات Hydrocarbons . إن هذه المواد مركبة من تجمع ذرات الكربون وذرات الهيدروجين في جزيئات مختلفة الحجم ،والترتيب ، والنسبة (Margesine وآخرون ، 2007). وتختلط بهما عناصر أخرى مثل الكبريت والأملاح والماء وشوائب أخرى.

البتترول سائل معدني متواجد في باطن الأرض ويختلف لونه بين اللون الأسود الداكن ، وهو ذو رائحة كبريتية متميزة . فأن كل تركيبة مختلفة الخصائص تميزها عن شقيقتها وبينما تتفق هذه المواد جميعها في قابليتها على الاشتعال مما يجعل منها وقودا مناسباً ، فإنها تختلف في قابليتها المادية فبعضها يكون غاز ، وبعضها سائل والبعض الآخر صلب أو شبه صلب ، وينشأ عن إختلاط الألاف من هذه المركبات المختلفة وينتج عن تمازجها مع بعضها سائل أسود اللون يميل إلى الإخضرار ، لزج القوام ومتجانس ، ذو رائحة نفاذة ولكنها مقبولة ، هذا السائل يعرف بإسم البترول. (Rogers و mrshallal ، 2003).

2-2: مكونات النفط الخام :

يتركب النفط الخام من أربع مجاميع هيدروكربونية (Zhان وآخرون 2001)

1-2-2:الهيدروكربونات المشبعة Saturated Hydrocarbon

هي الألكانات الطبيعية وهي سلسلة مفتوحة من الهيدروكربونات المشبعة (هيدروكربونات Aliphatic) ، تكون ذرات الكربون مرتبطة مع بعضها البعض بالروابط أو الأواصر التساهمية الوحيدة حيث قسمت إلى (الألكانات والاليفات) حيث يحتوي على عدد من ذرات الكربون حوالي 40 ذره وتسمى البارافين أو الألكان

،إنتمتلك الصيغة الكيميائية (C_nH_{2n+n}) ،ولاتملك أواصر عديدة من ذرات الكربون ومثالها الميثان والايثان حيث تملك سلسله مستقيمة .ويشير التعبير الطبيعي للألكان إلى مركبات ليست ذات سلسله متفرعة لذرات الكربون،وتعتمد الخصائص الفيزيائية علىالوزن الجزيئي وشكل المركبات(Cao وآخرون، 2009).

2-2-2:الهيدروكربونات الأروماتية(Aromatic Hydrocarbon)

وتدعى بالنفثينات أو الالكانات الحلقية المشبعة لكن نهاية السلسلة إنظمت إلى الشكل الحلقي المشبع،وتتكون من هيدروكربونات ذات حلقات أحادية والتي تحتوي على حلقه واحده على الأقل من benzoid في تركيبها ومثال ذلك البنزين (toluene و xylens) أو متعدد الحلقات العطرية poly Aromatic hydrocarbons (PAHs) ومثال ذلك النفثالين والأنثراسين إذ تحتوي على حلقتين عطريتين أوأكثر وهي مشبعة (Cao وآخرون، 2009).ذرتان من الهيدروجين قد اوزيلت لتعطي الشكل العام (C_nH_{2n}) (Solomon, 1994).

3-2-2: الهيدروكربونات الراتنجية (Hydrocarbonrienes)

هي هيدروكربونات تحتوي على تركيب قطبي وهناك نتروجين وكبريت وأوكسجين في تراكييها مثلمركبات (pyridines و thiophenes) ذات الوزن الجزيئي العالي نسبيا وحلقية، تستند على حلقات البنزين مع قلة الأواصر الرنينية.(Cao وآخرون، 2009).

2-2-4:-الهيدروكربونات الاسفلتية(Asphaltenes Hydrocarbon)

تتمثل بالمركبات ذات الوزن الجزيئي العالي التي لها قابلية الذوبان في المذيبات العطرية ، وعديمة الذوبان في مذيبات اللألكان وتحتوي هيدروكربونات عطرية مع مركبات أليفاتية ، بالإضافة إلى سلاسل الالكان تحتوي على سلاسل جانبية وعناصر لا عضوية مثل النتروجين والكبريت والأوكسجين .(Zhu واخرون، 2001).

3-2:التسرب النفطي Oil spill

تمثل كل المركبات الهيدروكربونية من نפט خام ومنتجاته التي ترمى في البيئة المائية وكذلك ما يلقي من مخلفات المصانع والبيوت ومحطات معالجة الفضلات وقد يكون التسرب طبيعي مما يشكل عبأ على البيئة وكما هو موضح في المخطط التالي شكل رقم (3-1)، الذي يمثل مصير بقعة نفطية تسربت إلى بيئة مائية

4-2: مصير النفط في البيئة المائية The Fate of Oil Spill in aqueous ecosystem

بمجرد إنسكاب النفط يبدأ هذا النفط على الفور في الانتشار فوق سطح الماء وتعتمد السرعة التي يحدث فيها إلى حد كبير على لزوجة النفط، وحجم البقعة النفطية المنسكبة. فأنواع النفط منخفضة اللزوجة تنتشر أكثر من الأنواع عالية اللزوجة.، وتنتشر أنواع النفط السائل في البداية كبقعة نفطية مترابطة ولكنها سرعان ما تبدأ في التفكك (Cappello وآخرون، 2004).

إن أنواع النفط عالية اللزوجة تتحلل إلى مجموعة من البقع تتحرك بعيدا عن بعضها البعض ويتأثر معدل إنتشارها بالأمواج والاضطرابات المائية والتيارات المد والجزر والتيارات المياه. (Kock، 2011).

تتباين أنواع النفط الخام من المصادر المختلفة تباينا كبيرا في خصائصها الفيزيائية والكيميائية ، حيث تحتوي أنواع النفط الخفيفة والثقيلة على نسب متباينة من الخصائص منها الفيزيائية ، والتي تؤثر على سلوك وثبات النفط المنسكب في المياه ، ومن الخصائص الفيزيائية الوزن النوعي ، واللزوجة ، وجميعها تعتمد على التركيب الكيميائي ، مثل نسبة المكونات المتطايرة ومحتوى المكونات الأسفلتية والراتنجية والشموع . (OPF، 2011).

تؤثر الحرارة على معدل سرعة تبخر المكونات الأكثر تطايرا ويعتمد هذا على إرتفاع الحرارة وسرعة الرياح ، إذ تتبخر مكونات النفط التي تقل نقطة غليانها عن 20 م° خلال فترة 24 ساعة الأولى . (Papadimitrakis وآخرون، 2006). ويؤثر معدل الانتشار الأولي للنفط على معدل التبخر لأنه كلما زادت مساحة السطح زادت سرعة تبخر المكونات الخفيفة (Low molecular weight) (L.M.W)، كما تزيد حركة المياه ، وسرعة الرياح العالية ، ودرجات الحرارة من سرعة التبخر ، وتزداد كثافة ولزوجة بقايا النفط بعد التبخر .

(Wilson وآخرون ، 2002) كما هو موضح في الشكل رقم (3-1).

تمتص أنواع عديدة من النفط الماء وتتحول إلى مستحلب من الماء في النفط ويمكن إن يزيد ذلك من حجم المواد الملوثة . ويعتمد معدل ومدى ذوبان النفط على تركيبه ، وإنتشاره ، ودرجة حرارة المياه ، ودرجة تشبته في المياه . (Cao وآخرون، 2009).

إن المكونات الثقيلة للنفط الخام تكون غير قابلة للذوبان في المياه في حين أن المركبات الأخف ، وبخاصة الهيدروكربونات الأروماتية مثل البنزين ذات قابلية محدودة للذوبان ، لذلك لا تسهم الأذابة للمركبات الهيدروكربونية في إزالة النفط من سطح المياه. (Semple وآخرون، 2003).

يمكن أن تتفاعل الهيدروكربونات مع الأوكسجين ، مما يؤدي إلى نواتج قابلة للذوبان ، أو أنواع ثابتة من القطران ، ويساعد ضوء الشمس الشديد على التأكسد ، وحتى في ضوء الشمس الشديد لا تتحلل طبقة النفط الإبيطيء . وتميل الطبقات الكثيفة من أنواع النفط عالية اللزوجة أو مستحلبات المياه في النفط إلى التأكسد لتصبح رواسب ثابتة بدلا من مجرد التحلل ، وذلك نظرا لتكوين المركبات ذات الوزن الجزيئي الأعلى والتي تخلق طبقة سطحية واقية (Douben، 2003).

يمكن أن تتفاعل المشتتات Dispersion وهي مواد كيميائية مع جزيئات الرواسب والمواد العضوية المعلقة في العمود المائي حتى تصبح القطرات أكثر كثافة بما يكفي لهبوطها في قاع المياه، وعادة ما تكون المناطق الساحلية الضحلة محملة بالمواد الصلبة المعلقة التي يمكن أن تتحد مع قطرات النفط مما يعطيها ظرفا مناسباً لترسيبها .

(Miller و Olejnik ، 2001)

إن معظم أنواع النفط لها أوزان نوعية منخفضة بما يكفي لبقائها طافية ما لم تتفاعل مع مواد أكثر كثافة وتلتصق بها . ولكن بعض أنواع النفط الخام ومعظم أنواع الوقود الثقيل ومستحلبات الماء في النفط لها أوزان نوعية قريبة من الوزن النوعي لمياه البحر ، ولذا يمكن أن يؤدي إلى هبوطها إلى القاع . ومن هنا يأتي دور البكتريا التي تملك قدرة على تحلل الهيدروكربونات من خلال استغلال الهيدروكربونات كمصدر للطاقة لها حيث تفرز الأنزيمات المختلفة والتي تملك خاصية ((Surface Active Agent) أي المواد التي تقلل الشد السطحي وتكوين المستحلب

(Singh و Ward 2004).

5-2 : التلوث النفطي Oil pollution

تسرب مركبات هيدروكربونية مصدرها النفط الخام إلى عناصر البيئة ، والتي تشمل الهواء ، والماء ، والتربة مما يسبب تغيرا في وجود هذه العناصر . ويؤدي تلوث المياه العذبة ومياه البحار بالنفط إلى مجموعة كوارث حقيقية في غاية الخطورة فمنها ما يمكن ملاحظته وحصره والسيطرة عليه منذ بداية التلوث وخلال عدة أيام من انسكاب البقعة النفطية ، والى شهور ومنها لايمكن حصره والسيطرة عليه لأن آثاره الخطيرة لا تظهر إلا بعد عدة سنوات ولايمكن السيطرة عليها(Wake و 2005).

إنوجود الحلقات الاروماتية المتعددة مثل مركبات Poly Aromatic Hydrocarbons (PAHs) في التربة والماء تشكل أكبر الملوثات البيئية وتعتبر ال (PAHs)

من المركبات صعبة التحلل في الطبيعة لشدة تعقيد مركباتها .إن الطرق الفيزيائية والكيميائية والأكسدة الضوئية والأكسدة الكيميائية والتعزيز الحيوي Bioaccumulation عمليات تعجل من التخلص وإزالة مركبات ال(PAHs).وتعد تلك الطرق غير آمنة ومكلفة مقارنة مع المعالجة الحيوية . (Dasgupta وآخرون 2013).

يتوزع ضرر التلوث بالنفط على كافة أشكال الحياة "الأنسان والكائنات الحية البحرية والبرية والطيور والنباتات " ويؤدي بالنهاية إلى موت وإنقراض الملايين من الكائنات الحية البحرية ومن كافة الأنواع ، بالإضافة الى تأثيرها الأكثر ضررا ، وهو الوصول إلى غذاء الأنسان ، حيث تتجمع وتخزن مركبات النفط في الكائنات الحية البحرية من الأسماك وغيرها . وتصلنا نحن البشر عبر السلسلة الغذائية عندما يأكلها الانسان(Zhu وآخرون 2010)



شكل (1-2) البقعة النفطية المتسربة في المياه(Zhu وآخرون 2010)

يتميز النفط الخام بقدرته العالية على التفاعل والانتشار بعدة أشكال للوصول إلى الهواء ، التربة ، وإلى المياه العذبة البحار ، ويعتمد ذلك على العوامل الحيوية ، والفيزيائية ومنها الانتشار، حيث ينتشر في المياه بسرعة والانجراف بسبب الأمواج إلى مسافات بعيدة مما يشكل تهديدا أكبر لتلوث المياه ، والتبخر بالحرارة المرتفعة وتلويث الهواء الجوي ، والتفكك وتشكله على شكل

مستحلب (خليط ماء ونفط)، وذوبانه في المياه وترسبه وهو يعد بحد ذاته مشكلة بيئية.(2003.Venosa,Zhu).

2-6:العوامل المؤثرة على سرعة تحلل النفط في البيئة المائية

يمكن تقسيم تلك العوامل الى

2-6-1- عوامل غير أحيائية Abiotic Factors

2-6-2- عوامل أحيائية Biotic Factors: تمثل المجتمع الميكروبي Microbial Community

1- العوامل غير الأحيائية وتشمل :

2-6-1-1: درجة الحرارة: Temperature

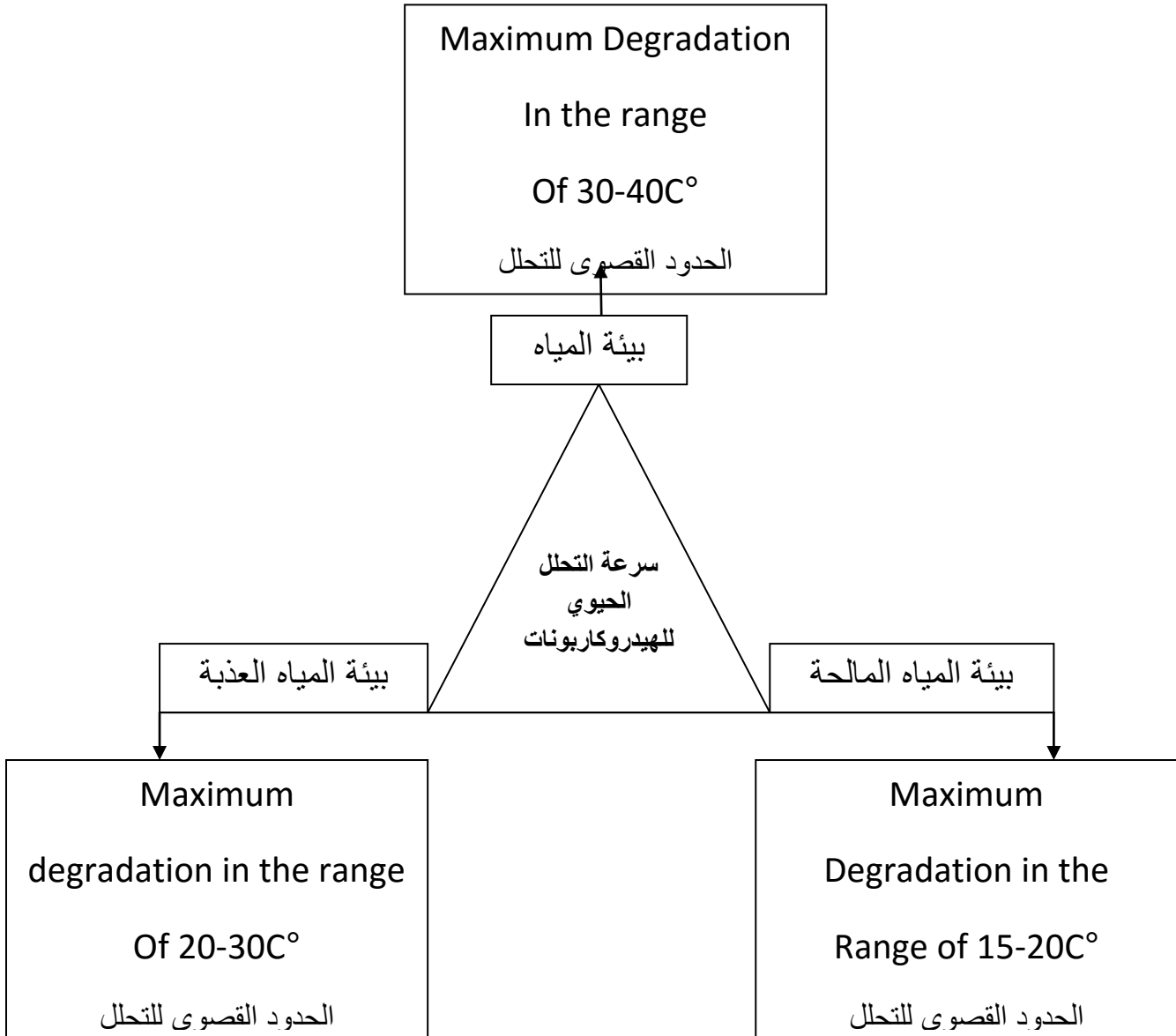
لدرجة الحرارة تأثير كبير على الخصائص الفيزيائية للنفط مثل اللزوجة والشد السطحي Surface tension والكثافة التي لها علاقة انتقالية في البيئة المائية وعلى قابليتها على التحلل الحيوي ضمن البيئة ، وكذلك تأثير الحرارة على فعالية ونشاط استجابة المجتمع المايكروبي للنفط ففي درجات الحرارة المنخفضة وزيادة لزوجة النفط ، وتزداد سمية المركبات ذات الوزن الجزيئي المنخفض Low molecular Weight (L.M.W) فينخفض تبخرها ولهذا تنخفض سرعة التحلل الحيوي لسميتها ، بعض المواد الهيدروكربونية أكثر ذوبانية في المياه الباردة مثال ذلك الألكينات قصيرة السلسلة Short chain alkane وبعض المركبات العطرية Aromat ذات الوزن الجزيئي الواطئ (L.M.W)، وتبطىء عملية التحلل الحيوي .

النفط الثقيل Heavier oil ، مثل الزيوت المكررة او المستحلبة منها ربما تتفرق وتكون كرات قيرية tar balls أو تتفاعل مع الصخور أو الجسم المائي .

وجد أن أعلى معدل تحلل اللاحيائي يحصل في التربة عند درجة حرارة 30-40م° وفي البيئات المائية العذبة م 20-30 fresh water م° وفي البيئات البحرية 15-20م° . (Myers و Montrogomery, 2002).

عموما هذا الارتفاع في درجة الحرارة ينعكس مضاعفا على النشاط الأنزيمي للبكتريا المحللة للهيدروكربونات ، ويزيد قابلية الأحياء على التكيف Adaptation على تلك البيئات الملوثة بالنفط .

تؤثر ايجابياً ارتفاع درجة الحرارة على الخواص البايوكيميائية للنفط مثل نفاذ الأوكسجين ،ان زيادة درجة الحرارة تقلل الشد السطحي بين النفط والماء liquids surface tension ، لذا سرعة انتشار النفط الخام في البيئات المائية الدافئة أكثر مقارنة بالبيئات الباردة وينعكس هذا على المساحة السطحية للنفط المتاحة للتفاعل مع المايكروب (Schinner,Margesin، 2001،



شكل (2-2) درجة الحرارة القصوى لسرعة التحلل الحيوي للهيدروكربونات في بيئة التربة والمياه المالحة والعذبة (Das و Chandran، 2011)

تؤثر درجة الحرارة على التفاعلات الأنزيمية ففي الدرجات الحرارية المنخفضة تصبح
الفعاليات الأنزيمية بطيئة (Prescott-Harley و Klein، 1995)، وتزداد تلك الفعاليات مع
ارتفاع درجة الحرارة الى الحدود القصوى وتتوقف أيضا الفعاليات بسبب مسخ بروتينات
الأنزيمات Protein denature وكذلك ويصاحبها توقف عمليات النقل في الخلايا البكتيرية
Transport carries. وبما أن عملية تحليل الهيدروكربونات النفطية عملية تنشطها الكثير من
الانزيمات ، لذلك فإن معدل تحليلها تحكمها معادلة أرينيوس Arrheions equation.

(1995،Cooks)

Nutrients

2-1-6-2- المغذيات

أكثر الكائنات الحية الدقيقة تستخدم المركبات الهيدروكربونية لأنتاج الكتلة الحيوية"
Biomass " خلال المعالجة الحيوية Bioremediation (Mahmoud وآخرون ، 2009) .
إن مستوى المغذيات في المياه تكون محدودة مما تؤثر على سرعة المعالجة الحيوية في تلك
البيئات ، ولهذا لابد من إضافة مصادر فسفورية و نيتروجينية على شكل مخصبات (Fertilizer
(تعمل على تعجيل أو الاسراع " Biostimulation" في تحليل الهيدروكربونات)
Philp وآخرون ، 2005) .

وجد أكثر الباحثين إن نسبة الكربون إلى النتروجين (C : N) حيث تبلغ 60 : 1 N
C ونسبة الكربون الى الفسفور (C : P) تصل 800 : 1 تمثل أكثر الظروف المناسبة لتحليل
النفط الخام والزيوت التشحيم (Kvicala ، 2001)

تلعب المغذيات مثل عنصري النتروجين ، والفوسفات دور كبير جدا في نجاح المعالجة
الحيوية لأزالة التلوث بالمركبات الهيدروكربونية من البيئة بشكل كفوء ، تتواجد هذه
العناصر في الطبيعة لكن بكميات محدودة ، قد توقف عملية المعالجة الحيوية إذا لم تتواجد تلك
العناصر.(Kim وآخرون ، 2005).

إن البكتريا المحللة للهيدروكربونات تملك قدرة لأستخدام الكربون كمصدر للطاقة و تستخدم
النتروجين في تخليق الجدران الخلوية ، والحوامض النووية ، والبروتينات ، أما الفوسفات
فتستخدمها في تخليق الدهون المفسفرة ، والأحماض النووية ، و مركبات الطاقة الضرورية
التمثلة بمركبات أدينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP).(Darvishi وآخرون ، 2011).

يؤدي عدم توافر المغذيات بالكميات المطلوبة إلى تباطؤ معدل التحلل الحيوي بشكل
كبير، وعلى الرغم من إن النفط الخام غني بالكربون والذي تحتاجه الكائنات المجهرية كمصدر

للطاقة ، لكن فيه قلة المعادن المغذية الضرورية التي تدعم نمو الأحياء المجهرية.(Okpokwasilia وChikere، 2003)

إن المخصبات الطبيعية مثل اليوريا تعتبر مصدر رئيسي للنيتروجين، ويعد حامض اليوريك uric acid المنتج من نفايات الطيور والحيوانات الأخرى والذي له قابلية الذوبان في المياه ذا أهمية كمصدر للنيتروجين إذ يعمل على زيادة التحفيز الحيوي لتحلل مركبات النفط الخام الملوثة للبيئة. (Head وآخرون ، 2006).

ذكر (Atlas و Cerniglia، 1995) إن الحاجة إلى المغذيات (فوسفات ونترات) يتزايد بشكل كبير عند تسرب البقعة النفطية في مياه البحر، بسبب المستوى المنخفض من المغذيات في مياه البحر .

تحتوي المياه العذبة ومياه الأهوار على نسبة عالية من النباتات المائية وهذه النباتات تستغل المغذيات الموجودة في المياه لنموها ، لذلك يعد إضافة المغذيات عند حدوث تسرب للنفط الخام ضروري جدا ، لزيادة حث البكتريا على المعالجة الحيوية ، من جانب آخر ، فإن زيادة تركيز المغذيات بشكل مفرط يؤدي إلى تثبيط المعالجة الحيوية بتأثيره على نمو الأحياء المحللة للهيدروكربونات.(Modi وAfuwale، 2012)

3-1-6-2- الأس الهيدروجيني pH:

إن البكتريا التي لها قدرة على القيام بالمعالجة الحيوية للنفط الخام تكون حساسة جدا عند ارتفاع قيمة الأس الهيدروجيني pH، وتكون محبة للأس الهيدروجيني الأمثل الطبيعي pH (7) (Sathishkumar وآخرون. 2008).

ذكر (Atlas و Bartha، 1992) إن الأحياء المحللة للنفط تعيش بشكل مثالي عند الأس الهيدروجيني مابين (6.5_8.5) . وتتناقص قدرتها بشكل سلبي في الوسط الذي يكون اسه الهيدروجيني حامضي أو قاعدي لان نشاط الأنزيمات ينخفض عند المستوى الحامضي أو القاعدي لـ pH وهذا يؤثر على نشاط الأحياء ونشاط إنزيماتها وفعاليتها في تحلل الهيدروكربونات، وبالتالي يؤثر على نسبة المعالجة الحيوية . تصبح التربة والمياه الجوفية أكثر حامضية عند تلوثها بالهيدروكربونات (Rahman وآخرون ، 2002)

4-1-6-2:الأوكسجين oxygen

يعد الأوكسجين احد أهم العناصر الضرورية لبقاء للأحياء المجهرية ، لأنه ضروري في توليد الطاقة الحيوية التي تحتاجها الكائنات الحية في البيئة الهوائية ، تستعمل الكائنات المجهرية الأوكسجين كمستقبل لزوج الألكترون النهائي وإنتاج الطاقة (Eriksson وآخرون ، 2006) إذ

تستخدمه في دمج الأنزيمات للبدء بمهاجمة المركبات الهيدروكربونية ، ويعد ضروري جدا لعملية التحلل الأولي للهايدروكربونات والتفاعلات اللاحقة التي تليها والتي تتطلب مساهمة مباشرة من الأوكسجين.(Darvish وآخرون، 2011).

يزداد التحلل الحيوي Biodegradation للمركبات الهيدروكربونية عند توفر الأوكسجين لأنه يزداد تأييض الحلقات الاروماتية للهيدروكربونات بزيادة نشاط إنزيمات Oxygenase في كسر الأواصر بين الجزيئات مما يسهل دخول المواد إلى تفاعلات الأكسدة الإضافية لاستهلاك الحلقات الاروماتية بواسطة البكتيريا والفطريات .(Arulazhagan وآخرون، 2010،

تعد وفرة الأوكسجين من العوامل المحددة للمعالجة الحيوية بشكل كفوء في البيئة الملوثة، ويتباطئ معدل التحلل الحيوي في البقعة المنسكبة في الموقع الذي يحتوي على مستوى منخفض من الأوكسجين، مما يعني ذلك ان وجود تركيز منخفض من الأوكسجين يعد عامل محدد للمعالجة الحيوية. (VanHamm وآخرون ، 2003)

يحدث التحلل اللاهوائي للهيدروكربونات بغياب الأوكسجين ، وكذلك يحدث لكن بنسبة قليلة في الطرق الكيميائية المختلفة . إن التحلل الحيوي اللاهوائي يتطلب مقدار اوطاء من الأوكسجين مما في التحلل الحيوي الهوائي ، (Chaillan وآخرون ، 2004) ، يتوفر الأوكسجين بشكل عام تحت سطح الشواطئ حيث تساعد حركة الأمواج على التهوية وبذلك تزداد المعالجة الحيوية للبقعة المنسكبة في الشواطئ. أما عندما يكون النفط الخام غارق في المناطق الأكثر عمقا من الشواطئ ومغطى بالرواسب فيأخذ وقت طويل في عملية التحلل الحيوي ، لأن الأوكسجين أقل وفرة حيث يصبح معدل التحلل الحيوي منخفض (Husein وآخرون 2012) .

المتطلب الحيوي للأوكسجين (Biological Oxygen Demand (BOD

يستعمل هذا العامل لتقدير كمية الفضلات العضوية في عينة المياه من خلال قياس كمية الأوكسجين اللازمة لتحليل المواد العضوية بواسطة البكتيريا إذ تتأكسد المواد العضوية إلى ثاني أوكسيد الكربون والماء (Arulazhagan وVasudevan، 2009)

المتطلب الكيميائي للأوكسجين (Chemical Oxygen Demand (COD

يعرف هذا العامل بأنه كمية الأوكسجين اللازمة لأتمام الأكسدة الكيميائية للمواد القابلة على التأكسد الكيميائي في المياه أي أن هذا العامل يقيس كمية المواد القابلة للتأكسد كيميائيا وتكون قيمه أعلى من قيم المتطلب الحيوي للأوكسجين بسبب الأكسدة

التامة للمواد العضوية الذائبة وغير الذائبة حيويًا في حين يتم أكسدها بطريقة كيميائية وهناك بعض المواد العضوية قد تكون مقاومة للتأكسد أو التحلل حتى عند استعمال الطريقة الكيميائية (Guo وآخرون 2005).

5-1-6-2: الملوحة Salinity

هناك دراسات قليلة والتي تعاملت مع تأثيرات الملوحة على المعالجة الحيوية المايكروبية للهيدروكربونات، حيث أظهرت بأن هناك ارتباطات مابين الملوحة ونسبة التمعدين (mineralization) أي تحويل المركبات العضوية مثل الهيدروكربونية إلى مركبات غير عضوية مثل الماء و CO_2 ، فمثلا عند زيادة ملوحة الوسط فإن النمو البكتيري والتحلل الحيوي ينقصان بسرعة لان الملوحة لها تأثير مضاد على نمو الأحياء البكتيرية (Soltani وآخرون 2010)، إن تأثير الملوحة على المعالجة الحيوية للنفط الخام حدد في البيئات البحرية، وتصبح التربة والمياه الجوفية أكثر حامضية عند تلوثها بالهيدروكربونات. على أي حال فإن الملوحة سوف تؤدي إلى نقصان النسبة الأيضية المايكروبية وبتناقص نشاط الأحياء في إفرازها للإنزيمات يتناقص معها معدل المعالجة الحيوية بشكل طردي. (Darvishi وآخرون 2011).

تقل المعالجة الحيوية عند ارتفاع نسبة الملوحة في البيئة لتأثيرها على نمو الأحياء لكون الأحياء المحللة للنفط تفضل البيئة الوسطية وغالبية البكتيريا غير متطبعة على البيئات عالية الملوحة، وتسبب زيادة الملوحة إلى التقليل من ذوبانية الهيدروكربونات في المياه. (Chikere وآخرون 2009).

2-6-2- العوامل الأحيائية Biotic Factor

إن بعض الأحياء المجهرية كالبكتيريا والاعفان والطحالب لها القدرة على تحلل المركبات الهيدروكربونية النفطية واستخدامها كمصادر طاقة خلال النمو. وقد حدد أكثر من 100 نوع تمثل 30 جنس مايكروبي قادر على الأفادة من النفط. وتتنوع على نطاق واسع في التربة والمياه سواء المالحة أو العذبة. وجود هذه المجاميع المايكروبية يعتمد على نسبة التلوث وتكراره عبر الزمن (التلوث المزمن) Cronic Pollution، فكلما كانت المنطقة أكثر تعرضا للتلوث بالنفط كانت هناك مجاميع مايكروبية متواجدة في تلك البيئات (Zhnanag وآخرون 2003) إن تحليل معقد النفط يحتاج إلى مجموعة من المايكروبات متعاونة فيما بينها وتكون تلك العملية أسرع مما لو كان مايكروب واحد يقوم لوحده بتلك العملية الأيضية

(AL-Bader وآخرون، 2013)، أهم أنواع البكتيريا التي تأيض الهيدروكربونات النفط الخام هي

Achromobacter, Acinetobacter, Arthrobacter, Bacillus, Flavobacterium, Nocardia, Pseudomonas (Wang وآخرون، 2010).

7-2: طرائق التخلص من البقعة النفطية المنسكبة

تترك حوادث انسكاب الزيوت كميات هائلة من المخلفات ، وكذلك كميات كبيرة من الزيوت مختلطة بالماء، فيجب مراعاة تجميعها أولاً بأول وتوفير المرامد المؤقتة والمعدات اللازمة ليتم التخلص منها بصورة سليمة بيئياً. (Arzayus وآخرون، 2001،

هناك عدة طرائق للتخلص من البقعة النفطية المنسكبة منها

1-7-2: الطرائق الكيميائية Chemical Method

المشتتات. Dispersants.

الحرق Burning

2-7-2: الطرائق الميكانيكية Mechanical Methods:

• الحواجز. Booms.

المواد الممدصة Sorbents

3-7-2: الطرائق البايولوجية Biological Methods:

• المعالجة الحيوية Bioremediation

1-7-2: الطرائق الكيميائية Chemical Method المشتتات Dispersants

وهي عملية رش بقعة الزيت بمواد كيميائية تسمى المشتتات (Dispersants) مثل المنظفات حيث تعمل تلك المواد إلى تفكيك النفط العائم إلى قطيرات صغيرة ، ومن ثم تحيط هذه المشتتات بالزيت وتستقر تحت الماء، وبذلك تساهم بعدم بقاء النفط طافياً على السطح، وتستخدم هذه الطريقة لتقليل الأضرار البيئية ويعتمد استخدامها على أماكن معينة وليس دائماً إن هذه الطريقة هي ليست الحل المثالي للمشكلة لان تحول النفط الطافي إلى قطيرات مترسبة إلى القاع وبقاء هذه المركبات السامة يتسبب بموت الأحياء المائية (Zhu وآخرون 2001)

2: الحرق Burning

الهدف من حرق الزيت هو إزالة بقعة الزيت من سطح الماء، ويتم ذلك بتجميع بقعة الزيت وإحاطتها بحواجز مقاومة للحريق ، ومن ثم إحراق البقعة في مكانها. وتخضع عملية الحرق لإجراءات وقائية لتحديد فاعلية استخدامها، وعادة ما تكون هذه العملية آخر حلول المكافحة وبعد موافقة الجهات المختصة متمثلة بمصلحة الأرصاد وحماية البيئة. إن طرق حرق النفط يمكن أن تزيل حوالي ٩٨% من النفط الطافي على سطح المياه، وعند استخدام هذه الطريقة يجب أن يكون الحد الأدنى لسمك الطبقة النفطية الطافية حوالي ثلاث ملمترات. (LU وآخرون، 2003). كما هو موضح في الشكل رقم ((2-3)) تبين طريقة حرق النفط الخام في المياه.



شكل (2-3) عملية حرق النفط في المياه (Lu وآخرون ، 2003)

3-7-2: الطرق الميكانيكية Mechanical Methods

1-3-7-2: الحواجز Boomsoil

تتكون الحواجز العائمة من ثلاثة أجزاء:

1- freeboard: أو الجزء البارز الذي يرتفع فوق الماء ويظهر على سطح المياه ليمنع النفط الخام من الانتشار.

2- skirt: الجزء الغاطس وهو تركيب تحت سطح المياه ليمنع النفط من التسرب من تحت الحاجز.

3- الجزء الثالث : هو سلسلة او سلك قوي يثبت الحاجز وجميع الأجزاء موضوعة حول بقعة الزيت حتى تحيط بها، لحماية مأخذ المياه، ومنع النفط من الانتشار أكثر كعمل حاجز حول السفن، وتغيير اتجاه النفط المنسكب بعيداً عن المناطق الحساسة كالشواطئ، وتجميع النفط المنسكب للمساعدة في عملية القشط .

2-3-7-2: استخدام المواد الماصة Absorbants

وهي عبارة عن مواد تقوم بامتصاص النفط الخام وهي تشبه المناشف الورقية مصنوعة من القطن ، وتستعمل لامتصاص النفط الخام من السطح أو حتى من على الصخور أو من على الشاطئ اللذان يصحان مكسوان بالنفط الخام المتسرب تعمل تلك المواد على امتصاص النفط المتشكل بطبقة تكسو سطح المياه حيث تعد هذه الطريقة سهلة في إزالة النفط الخام من على سطح الماء وليست هذه الطريقة الحل المثالي لأزالة التلوث لأنه عند امتصاص هذه المادة النفط الخام المنسكب قد تصبح هي أثقل من النفط وتغرق مما تسبب موت الأحياء التي تعيش هناك.

(Masson وآخرون، 2002)

3-3-7-2: قاشطات الزيت Oil Skimmers

وهي طرق تقليدية تستعمل كأداة في التخلص من البقعة النفطية ، والقشط يتضمن مراكب مع مضخات تجمع النفط في خزانات ، حيث تعمل على تجمع النفط وتتأثر البيئة بهذه الطرق بأقل ما يمكن أن يكون ، وان هذه الطريقة مسيطر عليها وهي مكلفة جدا . إن نجاح عملية القشط يعتمد على نوع وسمك البقعة النفطية وكميتها في الماء والموقع والظروف الحيوية.

(Dave و Ghaly، 2011)

4-3-7-2: عمل لاشي:

من الأفضل في بعض حالات التسرب النفطي عمل لاشي، وترك الزيت يتحلل طبيعياً بواسطة حركة الأمواج أو بواسطة المد والجزر. و تتبع هذه الطريقة بعد دراسة آثار الزيت المنسكب والمنطقة المتواجد فيها ومدى جدوى عمليات المكافحة ويتم على ضوء ذلك التقرير من قبل الجهة المختصة متمثلة بمصلحة الأرصاد وحماية البيئة عن كيفية المكافحة او ترك الزيت ليتحلل طبيعياً (Aghalino و Eyinla، 2009).

4-7-2: المعالجة الضوئية Photoremediation

أن استخدام الأحياء النباتية لازالة التلوث والمعادن السامة من التربة يعرف بمصطلح photoremediation ، حيث تستطيع النباتات المائية والأرضية استخدام عمليات المعالجة

الضوئية في ظروف نوعية خاصة عند التلوث بالهيدروكربونات (Nedunuri وآخرون 2000)، إن تراكم الهيدروكربونات والمواد الكيميائية الملوثة يؤدي إلى إعاقة نمو النباتات وموتها ويهدد الزراعة بشكل عام ، بما ينتج عنه من تغير في خصائص التربة وتصبح غير صالحة للزراعة ويؤثر ذلك على الغطاء النباتي ، وكذلك عند تلوث المياه يؤثر ذلك على الانسان والحيوانات من خلال تراكم المواد السامة في الأحياء المائية كالأسماك لتصل تلك المواد السامة إلى الانسان عبر السلسلة الغذائية . وتحصل المعالجة الضوئية حيثما يحصل تلوث عضوي مثل النفط الخام ، أو تلوث كيميائي مثل التلوث بالمواد الكيميائية السامة ، أو المبيدات ، أو تحصل في البيئة الملوثة بشكل دائم ، (Farrell وآخرون ، 2000)

الهدف الرئيسي من المعالجة الضوئية هو تحويل الهيدروكربونات السامة إلى مواد غير ضارة للبيئة ، حيث تؤدي النباتات وظيفة تنظيف التربة والمياه من المواد الكيميائية والهيدروكربونات الخطرة على البيئة بتأييدها الجزيئات المختلفة في أنسجتها بمعنى إنها تعيد المركبات الضارة إلى التربة ، (Marchiol وآخرون، 2007). إذ زرعت في مختلف المناطق التي تعاني تلوث مزمن بعض النباتات التي بإمكانها إزالة التلوث من الأماكن الضحلة الملوثة بالمواد العضوية ، والتي اختبرت قابليتها في المعالجة الضوئية للتلوث بالهيدروكربونات وأثبتت قدرتها على معالجة بشكل جيد ، ومن هذه النباتات نبات القنب والألب والخردل ، وتتميز هذه النباتات بالنمو والازدهار في البيئة التي ليست مثالية لنمو النباتات الأخرى ، و تمتلك صفة عدم التأثر بالتلوث بسبب احتوائها على بروتين ناقل موجود في أغشية خلاياها يمنع دخول المواد الملوثة السامة إلى الخلايا النباتية وتحتوي أيضا على فجوات متقلصة تخلص النبات من المواد الضارة ، حيث يستعمل النبات آليات تكيفية مختلفة ومعقدة في تجميع تلك المركبات من البيئة وإدخالها إلى النبات وتأيينها (Meagher، 2000)

تتميز المعالجة الضوئية بقلّة كلفتها وقدرتها على تخفيض ترشح المواد السامة إلى التربة وهي طريقة نافعة في إزالة المواد الضارة ، وتحدث فقط في المناطق السطحية والمناطق بعمق جذور النباتات . (Reichenauer و Germida ، 2008)

5-7-2: المعالجة الحيوية : Bioremediation

تعد مشكلة التلوث بالنفط الخام ومنتجاته أزلية منذ اكتشاف النفط الأحفوري ، وقد وجد المجتمع البكتيري في تلك البيئات متطبع " Adaptation " جينيا على تأييض الهيدروكربونات وتحليلها (Biodegradation) كمصدر للطاقة والنمو وبالتالي ازالة تأثيرها الضار على الأحياء المائية وسكان الأرض ، استغلت تلك الفعاليات الطبيعية وذات السرعة المتغيرة والمرتبطة بالظروف الأحيائية (Biotic factors) واللاأحيائية (Abiotic factors) والتي يطلق عليها بالمعالجة الأحيائية (Bioremediation) يمكن اعتبارها استراتيجية لتطبيق مختلف الطرق لزيادة معدل عمليات التحلل الحيوي . ويعتمد نجاح المعالجة الحيوية في مدى قدرتها على تحسين مختلف الظروف الفيزيائية والكيميائية والبايولوجية للبيئة الملوثة بالهيدروكربونات . تعمل المعالجة الحيوية بشكل جيد في المياه المفتوحة الواسعة والتي تغطي بالنفط عند هبوب الرياح ، وتعتمد على نوع النفط الخام كأن يكن نفط خام خفيف والذي يتكسر بصورة أسرع من النفط الخام الثقيل . Texas (2001).

إن من أهم متطلبات المعالجة الحيوية تواجد الأحياء المجهرية المحللة للنفط ، وملائمة القدرة الأيضية لها على تحلل النفط الخام، اذا تواجدت تلك الأحياء مع معدل مثالي للنمو يصبح التحلل الحيوي للهيدروكربونات ثابت مع ضمان تواجد تركيز من المغذيات الضرورية بشكل كافي مع الأوكسجين و أس هيدروجيني (pH 5-9) (Atlas و Bartha, 1992).

إن التربة الملوثة بالهيدروكربونات من نوع alkanes , benzene, methyl PAHs تصبح تربة غير صالحة لنمو الأحياء ، وتعتبر المركبات الهيدروكربونية سامة و تصنف كموا مسرطنة لأنها من السهولة أن تتسرب إلى السلسلة الغذائية ويصعب تحليلها وإزالتها من البيئة وفي النهاية فان هذا التلوث يستطيع أن يتسرب إلى النظام البيئي المائي والجوفي . (Hazen وآخرون، 2010)

أن مكافحة التلوث النفطي باستخدام طرق الحرق والدفن مكلفة ومحرمة وخصوصا عندما تكون كمية التلوث كبيرة ، ومن هنا جاءت المعالجة الحيوية كحل بديل عن طرق المعالجة الفيزيائية، والكيميائية المكلفة وغير الكفوءة في إزالة التلوث بشكل نهائي ، لأنها تقنية معالجة للمواقع الملوثة ، والخيار الذي يعرض إمكانية تحطيم الملوثات وتحللها إلى مواد أبسط لينتج عنها الماء وثنائي أوكسيد الكربون ، من خلال حث الأحياء المجهرية المتوطنة بالمغذيات اللازمة والعوامل المحددة للنمو بما يلائم نشاط إنزيماتها للقيام بعملية التحلل الحيوي وإزالة التلوث . (McKew وآخرون، 2007).

يمكن تسريع ازالة الملوثات النفطية بدعم المعالجة الحيوية الطبيعية بما تحتاجه البكتيريا من مصادر الفسفور والنروجين ويطلق على تلك العملية Biostimulation ، وعند استغلال البكتيريا الأصلية من موقعها (indigenous) إلى مواقع أخرى تعرضت للتلوث تسمى بطريقة التعزيز الحيوي Bioaugmentation (Dillile و Dillile ، 2000). أما عملية التحلل الحيوي فيطلق عليها Biodegradation وهي عملية التي من خلالها تستخدم الكائنات الحية الدقيقة المواد الكيميائية العضوية وتحولها الى مواد أبسط وغير خطيرة من خلال مسارات الأيض (Margesin و Schinner، 2001). وهذه العملية لها دور كبير في تخفيف أثار النفط الخام ومنتجاته المتسربة إلى البيئة المائية. أن معدل التحلل الحيوي يعتمد على عدد من العوامل الأحيائية Biotic factors وغير الأحيائية Abiotic factor . فتشمل العوامل غير الأحيائية درجة الحرارة والأس الهيدروجيني والمغذيات وبعض المعادن التي تساعد على زيادة النشاط الأنزيمي للمجتمع البكتيري في سرعة استهلاك الملوثات (Ulas، 2013).

8-2: مسارات أيض الهيدروكربونات في الخلية البكتيرية Pathways in cell of ODB

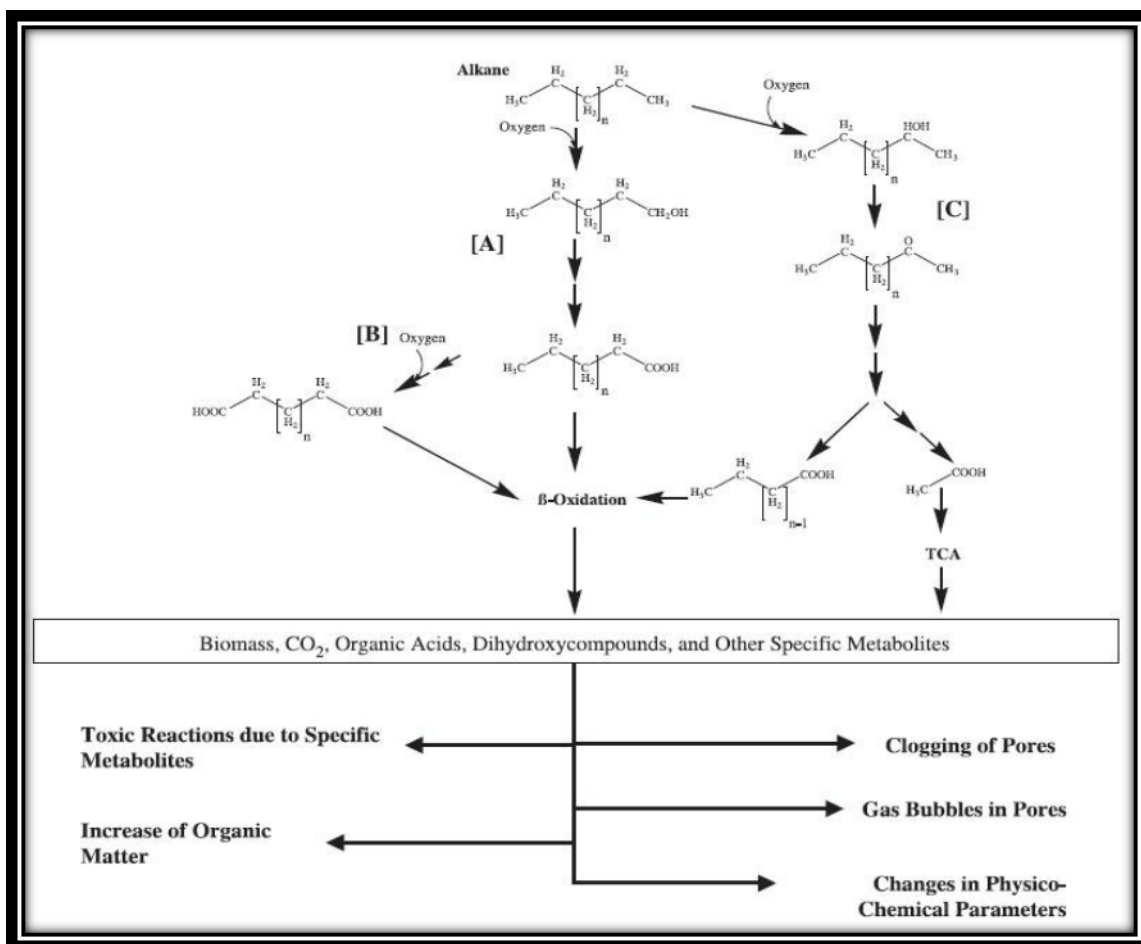
1-8-2: التحلل الحيوي للهيدروكربونات بوجود الأوكسجين aerobic degradation of hydrocarbons

عرفت التفاعلات الأساسية الهوائية للمركبات الهيدروكربونية منذ عقود عديدة ، و تعد عملية تحلل الهيدروكربونات بشكل أكثر كفاءة في ظروف الأوكسجين لأنها تستطيع تحلل الكثير من الحلقات الأروماتية المتعددة مقارنة مع الظروف الخالية من الأوكسجين ، وهي ذات تأثير كبير في إزالة التلوث من البيئة . (Khan و Srujana، 2012)

تستخدم الأحياء المجهرية الأوكسجين كمستقبل نهائي لزوج الألكترونات ، ويعمل إنزيم Oxygenase على تسهيل دخول الأوكسجين ثنائي الذرة إلى المركبات لأكسدتها ، تحتاج البكتيريا إلى الأوكسجين في الظروف الهوائية لتحلل جزيئات الهيدروكربونات. (Kumar وآخرون ، 2011). تستطيع البكتيريا والفطريات والطحالب المتألفة مع بعضها استهلاك المركبات ذات ثلاث حلقات أو أقل. أما المركبات التي تحوي على أكثر من 4 حلقات مثل النفثالين و Fluoranthene، Acenaphthene، Chrysene، Pyrene، Anthracene فتستطيع مجموعة قليلة من الأحياء استهلاكها ولكن هناك بعض المركبات المعقدة مثل Benzo, pyrene قد لا توجد أحياء تستطيع تفكيكها. (Kalaivani و Latha، 2012).

إن الخطوة الرئيسية الأولية لبداية عملية تحلل النفط الخام هو بأضافة ذرة أوكسجين أو ذرتين أوكسجين إلى نهاية سلسلة الألكان ،أو تضاف إلى المركبات غير المشبعة مثل مركبات الهيدروكربونات الاروماتية متعددة الحلقات وتحولها إلى الألكان أو إلى الفينول . حيث تصبح الهيدروكربونات أكثر ذوبانية عند إضافة ذرتي الأوكسجين لها ، وتقوم الأحياء المجهرية بتحويل مركبات النفط إلى كحولات والتي تتحول إلى الديهايدات ثم إلى حوامض عضوية Fatty acids وصولا إلى مرحلة الأكسدة - بتا (β - oxidation) لينتج وحدتين من Acetyl Co A والدخول إلى دورة الحوامض ثلاثية الكربوكسيل المتمثلة ب TCA cycle. وتتم هذه العملية بواسطة مكونات مرتبطة بالأغشية وأخرى ذائبة في السائتوبلازم ومنها إنزيمات Monooxygenases المرتبطة بالغشاء الخلوي والمكونات الذائبة مثل Rubredoxin . وتستمر العملية حتى نهاية التفاعل. لينتج غاز CO₂ والماء وكتلة حيوية.(Panda وآخرون 2013)

هناك إنزيمات مختلفة والتي تعرف بقدرتها على أداء الهجوم الأولى على الهيدروكربونات ومن هذه انزيمات التي تفرزها بكتريا *Pseudomonas* هي AlkB Hydroxylases والذي يؤثر على مركبات C5-C16 alkanes ,fatty acid,alkylbenzenes وAntai و Ijah (2003) والمخطط التالي يبين التحلل الهوائي للنفط الخام .



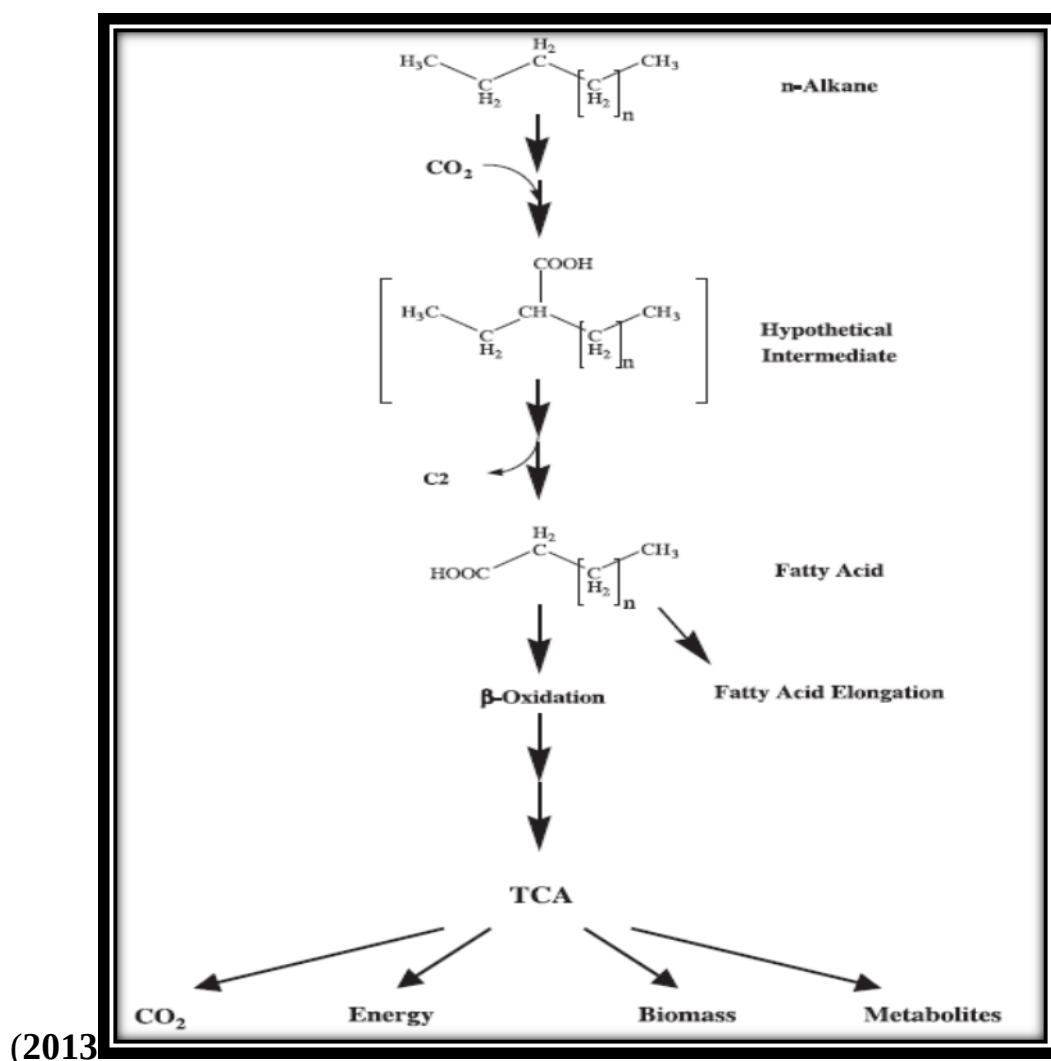
شكل (4-2) التحلل الحيوي للهيدروكربونات (النفط الخام)

(1995، Cerniglia و atlas)

2-8-2: التحلل الحيوي للهيدروكربونات (لاهوائيا) anaerobic degradation of hydrocarbons

لعدة عقود افترض أن الهيدروكربونات تتحلل تحت وجود الأوكسجين فقط ، وما كان واقع هو إنتحلل الهيدروكربونات لاهوائيا غير شائع طبيعيا لأنها اقل بكثير من التحلل الهوائي ، عند غياب الأوكسجين في الظروف اللاهوائية يكون مستقبل الألكترون النهائي هو الكبريت أو النترات وفي النهاية يتأيخ إلى الميثان حيث تتمثل العملية بتحول حامض البايروفيك إلى لاكتيت بدلا من دخول البايروفيك الى دورة كريس لينتهي إلى انتاج طاقة قليلة، و H_2O و CO_2 .

(Saxena وآخرون ،



شكل (5-2) التحلل الحيوي اللاهوائي للهيدروكربونات

(النفط الخام)(Attiogbe وآخرون ، 2007)

تحتاج البكتريا اللاهوائية إلى كميات ضئيلة من الأوكسجين لأتمام عملية الأكسدة اللاهوائية للهيدروكربونات. إن البكتريا المختزلة للكبريت والمختزلة للنترات والمختزلة للحديد قادرة على تحليل مركبات الهكساديكان لاهوائيا. وتتواجد في الطبقة الجوفية من باطن الأرض وفي النظام البيئي المائي العذب و المالح وكلها قادرة على تأييض الهيدروكربونات لاهوائيا. والشكل رقم (6-2) يبين التحلل اللاهوائي للنفط الخام .

9-2: الأحياء المجهرية المحللة للنفط (ODB) OIL DEGRADATION BACTERIA

إن البكتيريا المحللة للنفط مجموعة كبيرة من الأجناس والأنواع لها القدرة على استغلال النفط الخام ومركباته كمصدر للطاقة والانقسام ، تعيش متطبعة على المركبات العضوية الهيدروكربونية في البيئات التي تتعرض باستمرار للتلوث بالنفط الخام ومنتجاته ، كمياء الأنهار والبحار والمحيطات والأراضي الزراعية وغير الزراعية . استغلت هذه الصفة في استغلال تلك المجاميع البكتيرية في معالجة البيئات الملوثة بالهيدروكربونات ، من أهم تلك الأجناس البكتيرية ، هي الأجناس *Pseudomonas* .SPP ، إلي تعتبر أكثر الأجناس المستهلكة للهيدروكربونات النفطية (Paisse وآخرون 2010).

كذلك لها مدى واسع في استهلاك المركبات الاليفاتية والعطرية (الاروماتية) ذات الحلقة الواحدة والمتعددة الحلقات وذلك لامتلاكها آليات متنوعة لاستهلاك هذا المدى الواسع من المركبات الهيدروكربونية. (Roling وآخرون ، 2004)

أن بكتيريا *Pseudomonas* هوائية سالبة لصبغة كرام تعود إلى عائلة *Psedomonaceae* يحتوي على 191 صف وتظهر الأجناس بالتنوع الأيضي وان أفضل نوع مدروس هو *Pseudomonas aeruginosa* في دوره كمسبب مرضي وانتهازي للإنسان. تعد بكتيريا *Pseudomonas* هي من أكثر الأنواع الجرثومية قد صنفت أوليا نهاية القرن التاسع عشر ، عندما ميزت أولا من قبل العالم والتر الذي شاهدها وميز خصائصها على إنها قضيبيية الشكل ، متحركة هوائية ، لها سوط قطبي وسالبة لصبغة كرام ، ولا تحتوي على الألبواغ ، وموجبة لاختبار *catalase ,oxidase* .حيث إن بعض أعضاء الجنس قادرة على تأييض التلوث الكيميائي في البيئة ، ، أما بكتيريا *Pseudomona Putida* فلها القدرة على تخفيض المذيبات العضوية (Oilver وآخرون. 2000)

عزلت البكتيريا المحللة للنفط الخام لأول مرة منذ مضي قرن تقريبا (Mathew و Hopani ، 2015) ودرجت في المراجعات الأخيرة حوالي 79 نوع من البكتيريا المختلفة التي يمكنها أن تستخدم الهيدروكربونات كمصدر للطاقة، لها، و وجد بأن تسعة أنواع من بكتيريا الـ *Cyanobacterialgehnera* و 103 من فطر *fungallgenerall* و 14 نوع من طحالب *algea genera* والتي تعرف بقدرتها على التحلل الحيوي ، وتحويل مركبات الهيدروكربونات المعقدة إلى مركبات أبسط

(Phillips وآخرون، 2000). وبصورة عامة فإن الأحياء المستهلكة لمركبات النفط لها ميزات عامة التي تؤخذ بنظر الاعتبار عند الاختيار ومنها :

- أن تكون مقاومة للمذيبات العضوية.
- أن تكون محبة للحرارة وأنزيماتها ثابتة بالحرارة.
- كما تتحمل تراكيز واطئة من الأوكسجين، ولها القدرة على تحليل الهيدروكربونات في البيئات الطبيعية. (Alariya وآخرون ، 2013).

إن مجاميع البكتريا المحللة للنفط الخام متباينة حسب البيئة التي تتواجد فيها ، (سواء كانت بيئة بحرية أو عذبة) ، فمتى ما تعرضت للتلوث المتكرر ، أصبحت لها قدرة على التطبع في تلك البيئات ، هذا ما يحصل في السواحل والموانئ التي تتعرض للتلوث المزمن ، إذ تمثل تلك المجاميع البكتيرية في البيئات قليلة التلوث 1% أما في البيئات التي تتعرض للتلوث المتكرر 10% أو أكثر . وهناك الكثير من السلالات التي لها قدرة على التحلل الحيوي لكنها غير مشخصة (Emtiazi، 2005).

الأجناس البكتيرية الأكثر استخداما في المعالجة الحيوية

Microbulbifor, Alcanioorax, Marinobacter, pseudomonas

, Sphingomonas groups , Micrococcus, Cellulomonas, Dietzia and

Gordonia . (2003.Bartha)

إن البكتريا المتباينة تعيش في البيئة المائية وغالبا ما تعزل كمحللة لمركبات الألكان أو بعض المركبات الاروماتية مثل naphthalene و Toluene والعديد منها التي تعيش في المياه قادرة على تحليل الهيدروكربونات والتي عزلت حديثا منها *Staphylococcus* *Micrococcus* المحللة للNaphthalene (Melcher وآخرون، 2002). أما بكتريا *Sphingomonas* فهي تستطيع تحليل مركب 2-methylphenanthrene ، وبكتريا *Geobacillus* تحليل الalkane (Zhng وآخرون، 2003).

10-2: ميكانيكية تحليل الهيدروكربونات (الأيض). Mechanisim of degradation hydrocarbon(metabolism)

النفط الخام مركب معقد يتكون من مركبات الألكان، والمركبات الأروماتية، والمركبات الراتنجية، والمركبات الاسفلتية ، وهي مرتبة حسب تعقيد جزيئاتها ، حيث تتمكن البكتريا من تحطيم هذه المركبات الهيدروكربونية حسب

تسلسلها وبساطتها إبتداءً من مركبات الألكان البسيطة التي تملك سلسلة غير متفرعة من الهيدروكربونات، ثم الألكانات المتفرعة ،و المركبات الاروماتية الأقل تعقيد والتي تملك من حلقة إلى ثلاث حلقات من البنزين .أما المركبات الاكثر تعقيدا مثل Poly Aromatic Hydrocarbons (PAHs) فهي لا تتحلل بسهولة وربما تستمر لبعض الوقت .(Adeyemi2004)،

إن المركبات ذات الوزن الجزيئي العالي مثل المركبات الحلقية والأسفلات aromatic,resins,asphaltsens بطيئة التحلل لكبر وزنها الجزيئي وشدة تعقيدها ويدعى هذا النوع بالنفط الخام الثقيل ويتميز بقلة الذوبانية ، وبطيء تحله ،وقلة انتشاره على سطح الماء وهذا يسبب محدودية في عملية تحلله من قبل الأحياء المحللة للنفط الخام(EyinlaوAghalino،2009)

يؤدي استمرار بقاء هذه المركبات الهيدروكربونية المعقدة في البيئة إلى إنتاج سموم تؤثر على الأحياء في التربة والمياه ، وعلى سبيل المثال مركبات phenol , hydroquinonel تعد هذه المركبات ناتج رئيسي عند أكسدة الـ benzene ويتميز hydroquinonel بتأثيره السام عند تجمعهم وتراكمهم بتركيز عالية حيث يشبط عمليات استهلاك النفط الخام حيويًا من خلال تأثيره على نمو الأحياء المحللة .(Akan وآخرون ،2009)، كما أن محدودية المكان المتلوث مثل البحيرات الصغيرة يؤثر سلبًا في انتشار الهيدروكربونات ذات التركيز العالي في مدى واسع مما يسبب بطيء شديد في المعالجة الحيوية.أما النفط الذي يملك مركبات ذات وزن جزيئي منخفض يدعى بالنفط الخام الخفيف ،وهو أسرع تحللاً وأكثر ذوباناً من النفط الخام الثقيل .(Antai وIjah،2003)

11-2: الاستحلاب Emulsification:

إن تسرب النفط الخام إلى البيئات المختلفة ، يولد مشاكل عديدة،(Plaza وآخرون ،2008)، بسبب تركيبه الكيميائي وصفاته الفيزيائية ، يعتبر مركب غير ذائب في الماء ، سام لتلك البيئات ، ولهذا السبب تسارع الباحثون والمهتمون في المحافظة على البيئة من التلوث ، لأيجاد طريقة سريعة لتقليل فترة بقاء النفط الخام على سطح الماء وذلك للاستفادة من بعض منتجات البكتريا الأيضية خلال نموها في البيئات الملوثة بالنفط ومنتجاته والتي تعتبر النفط الخام مصدر للطاقة ، أن مثل هذه المركبات يطلق عليها مركبات تقليل الشد السطحي الحيوي Biosurfactant والتي تعرف على إنها مركبات كيميائية تخلق بواسطة بعض الأحياء كالبكتريا التي تنتج مركبات ذات سطوح نشطة Surfa active لها صفة amphiphilic

تتركب من جزئين أحدهما كاره للماء hydrophobic وآخر محب للماء hydrophilic ، تفرز من قبل البكتريا خارج الخلية extracellularaly ، إن تلك الصفة تمنحها أن تتزاحم بين طوري الماء والنفط الخام ، مما تقلل المسافة بينهما (أي تقليل الشد السطحي بينهما reduce surface and interfacial at the surface and interface (Jacobucci وآخرون، 2001)

معظم مركبات الشد السطحي الحيوي غير ايونية (anione) أو محايدة neutral ومحببة للماء hydrophilics وتكون على صيغة كاربوهدرات ، أو أحماض أمينية أو مجاميع فوسفات أو مركبات أخرى . أما الجزء الآخر من تركيبها الكاره للماء عبارة عن أحماض دهنية طويلة السلسلة . هذه المركبات تقلل الشد السطحي لخليط الماء والنفط ، وقد تم الاستفادة من هذه الصفة في عملية استخراج النفط الخام enhancing oil recovery بسبب هذه الخاصية لمركبات الشد السطحي الحيوية Biosurfactants Solubilice الهيدروكاربونات في الماء مما تحسن من عملية استحلابه emulsification وتسرع من تحلله Biodegradation وإزالة تأثيره السام من البيئة (Oliveira وآخرون ، 2006). ويمكن تلخيص عملية إنتاج مركب تقليل السطح الحيوي بواسطة البكتريا وتكوين مستحلب النفط في الماء في المخطط رقم (1-2). (Menezes وآخرون، 2005)

أهم أنواع مركبات تقليل الشد السطحي الحيوي التي تنتجها بعض أنواع البكتريا glycolipid, lipopeptide, phospholipids, neutrallipidorfattyacid, polymericbiosurfactans (Abalos وآخرون، 2004)

تنتج هذه المركبات خلال نمو البكتريا في بيئة الماء مع مركب آخر كالنفط (مركب غير ذائب) ، عندما تنمو البكتريا على تلك المركبات يعني إنها تستغلها كمصادر للكربون والطاقة (Menezes وآخرون، 2005) ، وسوف تنتشر خلايا البكتريا على سطح تلك المركبات العضوية (النفط الخام) منتجة مادة تقليل الشد السطحي الحيوي مسببة في تحويل خليط الزيت أو النفط مع الماء إلى مستحلب وبالتالي تقلل من انتشاره على سطح الماء وينعكس ذلك على تقليلسمية المركبات النفطية (Douben 2003). (،

وجد أن بعض المجاميع البكتيرية تنتج مركبات تقلل الشد السطحي مثل rhanolipids كبتريا *Pseudomonas*SP وكذلك بعض الخمائر تنتج Sophorolipids مثل

Torulopsis SP (De-souza وآخرون. 2003)

12-2: قياس سرعة أستهلاك النفط الخام بواسطة البكتريا المحللة للنفط الخام .

هناك عدة طرق لقياس المنتجات الأيضية للبكتريا المستهلكة للنفط الخام منها :

1-12-2 الطرق الوزنية :

استخدمت حسب طريقة (Rahmam ، وآخرون ، 2003)

$$\text{نسبة التحلل الحيوي} = \frac{\text{وزن النفط بعد التحلل الحيوي}}{\text{وزن النفط قبل التحلل الحيوي}} \times 100$$

2-12-2: الطرق الكروماتوغرافية GCMS Chromatographic Methods

تستعمل الطرق الكروماتوغرافية في تقدير نواتج الأيض لبعض أنواع البكتريا المحللة للهيدروكربونات النفطية كما ونوعا ومنها أجهزة التحليل الكروماتوغرافي الغازي الكتلي GCMS (Shariati وآخرون ، 2003) هو المنهج التحليلي الذي يجمع بين خصائص الغاز اللوني Chromotography والطيفي لتحديد المواد المختلفة ضمن عينة الاختبار (wimslow وآخرون ، 2000) للكشف عن عينة العقار drug أو المركبات العضوية كالنفط والبروتينات بما فيها الأحماض الأمينية ، وكذلك للكشف عن وسائل الغش في الأغذية وتحديد طزاجتها وخصوصا المعلبة منها وأنواع المخدرات سواء خلال المطارات كمواهب مهربة أو تحديد نسبة تعاطيها للأشخاص . أن عملية فصل المواد بعضها عن بعض يعتمد على مبدأ الوزن الجزيئي للمركبات فالمركب ذو الوزن الأقل هو الذي يظهر في البدء ومن ثم تظهر تباعا بقية المركبات الأخرى أستعمل هذا الجهاز لتحديد كمية ونوعية المركبات الهيدروكارونية المتبقية بعد التحلل الحيوي للنفط الخام مقارنة العينة القياسية التي لم يحصل فيها أي تغير في تركيبها.

(Cameotra و Singh , 2008)

3-12-2: طريقة تقدير المستحلب Emulsification Methods

تستعمل طرق عديدة لمتابعة ذوبان الهيدروكاربونات النفطية في الماء والتي تعتبر نقطة ايجابية وبداية عمل صحية للتخلص من البقعة النفطية المتسربة إلى البيئة ، إذ تتفاعل الهيدروكاربونات مع مادة الأستحلاب سواء كانت حيوية Biosurfactan وغير حية

كالمشتتات Dispersant

4-12-2: مطياف الأشعة تحت الحمراء FTIR

يستند التحليل على مبدأ أن مناطق مختلفة من منتصف تحت الأشعة الحمراء يتم امتصاصها عن طريق روابط كيميائية مختلفة مثل NH و CH و C= داخل تركيب النفط المعرض للتحلل الحيوي وعينة السيطرة ، وكل طيف Spectrum يعطي معلومات عن الحالة البايوكيميائية للعينة التي تتعرض للتحلل الحيوي مقارنة بالعينة غير المعرضة . يستند FTIR في تحليله للمركبات العضوية على مبدأ أن الجزيئات الحيوية المختلفة في العينة سوف تمتص الكمية في مناطق مختلفة من منتصف الأشعة تحت الحمراء وهذا يسمح للإستنتاج من "البصمة الكيميائية الحيوية " وقد تظهر هذه البصمات في كثير من الدراسات للتعبير عن سلوك المركبات العضوية كالنفط الخام المعرض للتأبيض بواسطة البكتريا المحللة للنفط وحساب المجاميع الفعالة الممثلة على قمم Peak الطيف مثل مجموعة NH و CH و C=.

5-12-2: التحليل الطيفي بالأشعة فوق البنفسجية UV Visible Spectrophotometer

هذه العملية تستخدم لتحديد المركبات الناتجة من عملية تأبيض الهيدروكربونات النفطية عن طريق الأمتصاص الذري حيث لبعض ذرات تلك المركبات أو أيوناتها القدرة على الأمتصاص والأشعاع أو انبعاث الضوء المسلط عليها ، ويبدو أن الأشعة فوق البنفسجية القدرة على التعرف على تلك المجاميع من كمية الاشعاع المنبعث والممتص منها بعد تسليطه عليها.

3- المواد وطرائق العمل material and methods

1-3 المواد

1-1-3- استعملت الأجهزة والأدوات المبينة في الجدول (1-3)

الجدول (1-3) أهم الأجهزة والمستلزمات المختبرية التي استخدمت في الدراسة

الشركة المصنعة والمنشأ	الأجهزة والمستلزمات المختبرية
Shimadzu Japan	١. جهاز كروماتوگرافي الغازي الكتلي (GCMS) Gas chromatograph-mass
Shimadzu(Japan)	٢. الأشعة تحت الحمراء FTIR Fourier Transform Infrared Spectroscopy
Walk lab (Denemark)	٣. مقياس الأس الهيدروجيني pH meter
Sartorius(Germany)	٤. ميزان حساس Sensitive balance
Qean(Egypt)	٥. ثلاجة Refrigerator
Butchi	٦. جهاز تقطير الماء water distillation
Shimadzu(Japan)	٧. مطياف الامتصاص الذري Atomic absorption spectrophotometer
Aurora (japan)	٨. مطياف الأشعة فوق البنفسجية UV Spectrophotometer
Oxi top (Germany)	٩. جهاز قياس المتطلب الحيوي (BOD) meter Biological oxygen demand
Al 125 (Germany)	١٠. جهاز قياس المتطلب الكيميائي الأوكسجين (COD) Chemical oxygen demand
Kehang (china)	١١. جهاز قياس درجة الحرارة والرطوبة Humidity and temperature
Qingdao Huany (Germany)	١٢. جهاز هزاز كهربائي Vortex
Jeiotech(korea)	١٣. حاضنة هزازة shaker incubator
Memmert (germeny)	١٤. حاضنة هوائية Incubator

Gallenkamp(Germany)	حمام مائي هزاز Shaker water bath	١٥.
Memmert (Germany)	فرن كهربائي oven	١٦.
Band	ماصات pipettes	١٧.
Band	ماصات دقيقة micropipetes	١٨.
Olympus(Japan)	مجهر ضوئي light microscop	١٩.
Gallenkamp	مرشحات دقيقة Millipore ذو قطر 0.45mm	٢٠.
	أطباق بتري petredish	٢١.
	ملقط	٢٢.
Hirayama(Japan)	المؤعدة Autoclave	٢٣.
Afma	أنابيب اختبار زجاجية Glass tube	٢٤.
	ناشر	٢٥.
	ناقل بكتريا loop	٢٦.

2-1-3 استعملت المواد الكيميائية المبينة بالجدول (2-3)

جدول (2-3) المواد الكيميائية والأملاح المعدنية التي استخدمت في تحضير الأوساط الزرعية قيد

الدراسة على أساس اللتر الواحد (Sorkhoh و 1990)

المادة	g/L
-1 K ₂ SO ₄	0.17
-2 Na ₂ HPO ₄	0.85
-3 KH ₂ PO ₄	0.56
-4 MgSO ₄ .7H ₂ O	0.37
-5 NaNO ₃	0.0007

0.0004	CaCl ₂ .6H ₂ O	-6
2.5 ML	fe.EDTA	-7
1.0	Trace element	-8
2.08	EDTA	-9
1.76	ZnSO ₄ .7H ₂ O	-10
0.56	MnSO ₄ .4H ₂ O	-11
1.0	H ₃ PO ₄	-12
0.34	CuSO ₄ .5.H ₂ O	-13
0.664	Na ₂ MgSO ₄ .2H ₂ O	-14
0.4	KI	-15
0.004	feSO ₄ .7H ₂ O	-16
0.004	NiCl ₆ H ₂ O	17

Merck	المادة	
Mark (Germany)	NH ₄ NO ₃	-1
BDH(UK)	KH ₂ PO ₄	-2
BDH(UK)	NaOH	-3
BDH(UK)	HCL	-4
BDH(UK)	Phenolphthaline indicater	-5
BDH(UK)	Na ₂ SO ₄	-6
USA	N-HEXANE	-7
BDH(UK)	NH ₂ HPO ₄	-8

3-1-3 الأوساط الزراعية

3-1-3-1: استعملت في هذه الدراسة الأوساط المبينة في الجدول (3-3) :

جدول (3-3) الأوساط الزراعية التي استخدمت في عزل وتشخيص البكتريا

المنشأ	الوسط الزراعي
BDH(UK)	Agar Agar -1
Germany	Agar urea base -2
Himedia(india)	MacConkey agar-3
Himedia(india)	Nutrient agar -4
Lab(uk)	Nutrient broth -5
Germany	King A -6
Germany	King B -7
Germany	Manitol salt media -8

2-3-1-3: تحضير الوسط الزراعي السائل الخاص بدراسة سرعة تحليل البكتريا للنفط الخام .

الوسط الزراعي السائل لعزل البكتريا المحللة للنفط من المواد المذكورة في الفقرة (2-1-3) على أساس لتر ماء مقطر ثم ضبط الأس الهيدروجيني على 7.5 PH ، ووزعت الكمية على (10) دوارق سعة (250) مل ، يحتوي الواحد منها على (100) مل وسط سائل ، وعقمت الدوارق بالمؤصدة على حرارة (121) م° وضغط 15 انج²/سم² لمدة ربع ساعة ، عند إنتهاء التعقيم بردت الدوارق وأضيف إليها (200) مايكروليتر نفط خام معقم ومجوى (Sorkhok ، 1995) .

3-3-1-3: الوسط الزراعي السائل الخاص بتنمية ودراسة سرعة تحليل البكتريا للنفط الخام

يتكون الوسط الزراعي السائل من المواد المذكورة في الجدول (4-3) والمدعم بالنفط الخام المعقم والمجوى weathering بحدود (200) مايكروليتر / (100) مل وسط سائل .

جدول(3-4) المواد الداخلة في تركيب الوسط السائل الخاص بدراسة سرعة تحليل النفط الخام بواسطة البكتريا .(Margesin وآخرون ، 2007)

المادة	الكمية غرام / لتر
-1 NH_4NO_3	0.4
-2 K_2HPO_4	0.4
-3 Urea	5
-4 KH_2PO_4	0.4

4-3-1-3: الوسط الزراعي الصلب الخاص بعزل البكتريا المحللة للنفط

إن مكونات الوسط ، كما ذكرت في فقرة (3-1-2) فقط أضيف لها الأكر (15) غرام / لتر عقم بالمؤصدة وبرد الى درجة حرارة 45 م° وأضيف اليه 1% نفط خام معقم ، ثم صب في أطباق بتري معقمة ، أستخدم الوسط لعزل وتنمية البكتريا المحللة للنفط من المياه والرسوبيات.

2-3 : تعقيم الأوساط الزراعية والمواد الأخرى Sterilization methods

استخدمت مختلف الطرائق بالمختبر للتعقيم (بحسب طبيعة المواد المراد تعقيمها) كما ورد في (Cowan وSteel، 2004)

لقد عقت كافة الأوساط الزراعية المختلفة السائلة والصلبة والمحاليل الأخرى عدا تلك التي احتوت على السكريات والمواد الأخرى التي تتلف بالحرارة العالية بالمؤصدة Autoclave بدرجة حرارة (121)م° وتحت ضغط (15) باوند / انج² لمدة (15) دقيقة وكما عقت جميع الأدوات المستخدمة في مجال زرع البكتريا والتي لا تتحمل التعقيم الجاف .

1-2-3: التعقيم بالحرارة الجافة Dry Heat Sterilization

عقت الأدوات والأطباق الزجاجية التي استخدمت في تحضير الأوساط الزراعية والمحاليل داخل المختبر في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة (180)م° ولمدة ساعتين بينما الأدوات التي استخدمت في نقل العينات و عقت باللهب المباشر حتى الاحمرار (Cowan و steel، 2004).

2-2-3: التعقيم بالترشيح Filter Sterilization

عقمت السكريات واليوريا وكذلك عينات النفط المستخلصة لغرض فحصها بجهاز الـ (GCMS) بطريقة الترشيح باستخدام ورق ترشيح معقم ذي قطر (0.45) مايكروميتر.

1-2-2-3: كاشف الكاتاليز Catalase Reagent

حضر الكاشف من مزج (١) مل من بيروكسيد الهيدروجين المركز (30 %) مع (9) مل ماء مقطر للحصول على تركيز (3%) بيروكسيد الهيدروجين ، وحفظ بالثلاجة في عبوة داكنة استعمل للكشف عن قابلية العزلات البكتيرية قيد الدراسة على إنتاج إنزيم الكاتاليز

(Cowan و Steel، 2004)

2-2-2-3: كاشف الاوكسيديز Oxidase Reagent

حضر أنيا عند الاستخدام وذلك بإذابة (1) غم من مادة Tetramethyl — Phenylenediaminedihydrochloride في (90) مل من الماء المقطر المعقم ومن ثم أكمل الحجم إلى (100) مل واستخدم للكشف عن إنتاج إنزيم الأوكسيديز من قبل البكتيريا (Cowan و Steel، 2004).

3-2-2-3: كاشف كوفاكس Kovac s reagent

حضر من إذابة (10) غم من مادة paradimethyl amino benzaldehyde في (50) مل من الكحول الأيزوميلي (Isoamy lalchol) ثم أضيف له (50) مل من حامض الهيدروكلوريك وحفظ في الثلاجة بدرجة حرارة (4) مئوية لحين الاستعمال ، استعمل للكشف عن قابلية العزلات البكتيرية على إنتاج حلقة الأندول (Cowan و Steel، 2004)

4-2-2-3: تحضير كاشف المثيل الأحمر methyl red reagent

حضر بإذابة (0.1) غم من أحمر المثيل في (300) مل من الكحول الميثيلي بتركيز (95%) وأكمل الحجم إلى (400) مل بأضافة (100) مل من الماء المقطر (Cowan و Stee، 2004).

3-3: تحضير الأوساط الزرعوية Culture media

حضرت الأوساط الزرعوية حسب تعليمات الشركة المصنعة والمثبتة على العلب وضبطت الأس الهيدروجيني إلى (7) ثم عقم الوسط بالمؤسدة autoclave ، وبعد صبها في أطباق ،

حضنت الأطباق في حاضنة هوائية عند درجة حرارة (37)م° ولمدة (24)ساعة للتأكد من عدم تلوثها ، ثم تحفظ في الثلاجة بدرجة حرارة (4) م° لحين الاستعمال ، فيما تم تحضير بعض الأوساط التركيبية ، وفقا لما جاء في (Cowan و Steel ، 2004)

1-3-3: وسط الأكار المغذي Nutrient agar

حضر الوسط بحسب تعليمات الشركة المصنعة ، وبعدها عقم الوسط بالمؤصدة Autoclave ثم برد الى درجة (45)م° وبعدها صب في الأطباق المعقمة ، يستعمل هذا الوسط لتنمية وحفظ العزلات البكتيرية .

2-3-3: وسط آكار الماكونكي MacConkey Agar

حضر بحسب تعليمات الشركة المصنعة ، وعقم بالمؤصدة وترك ليبرد إلى درجة (45) مئوي وبعدها تم صبه في أطباق بتري معقمة ونظيفة ، يستعمل وسط آكار الماكونكي لعزل وتشخيص الجراثيم السالبة الصبغة كرام ، اذ يحتوي الوسط على أملاح الصفراء التي تثبط الجراثيم الموجبة لصبغة كرام .

3-3-3: وسط آكار اليوريا Agar Urea base

حضر بحسب تعليمات الشركة المصنعة ، وعقم بالمؤصدة Autoclave وترك الوسط ليبرد الى درجة حرارة (45)م° ثم صب الوسط في أنابيب نظيفة ومعقمة ، يستعمل هذا الوسط للكشف عن قابلية العزلات البكتيرية على إنتاج إنزيم اليوريز Urease . اليوريا ، عقت بالترشيح .

4-3-3: وسط احمر المثيل Methyl red

حضر باذابة أحمر المثيل باضافة (5) غرام من الببتون (pepton) ، و (5)غرام من فوسفات البوتاسيوم أحادية الهيدروجين (K_2HPO_4) ، وتضاف (1000)مل ماء مقطر وبعد ضبط الأس الهيدروجيني PH7.5 ، يوزع الوسط في أنابيب اختبار نظيفة ومعقمة بالمؤصدة Autoclave وبعد التعقيم أضيف (20%) من الكلوكوز المعقم بالترشيح إلى وسط المثيل المعقم تمت إضافة (0.25)غم من الكلوكوز لكل (5) مل من الوسط .(Cowan و Steel،2004).

5-2-3: وسط ماء البيبتون pepton water

حضر باذابة (2) غرام من مادة كلوريد الصوديوم NaCl في (100) مل من الماء المقطر المعقم الذي عقم بالمؤصدة Autoclave بعد ضبط الأس الهيدروجيني إلى (7) ، يستعمل هذا الوسط في التحري عن إنتاج الأندول (Cowan و Steel ، 200) .

6-3-3: وسط الحركة Motility Medium

حضر الوسط باذابة (10) غرام من البيبتون و (5) غرام من كلوريد الصوديوم و (5) غرام من مادة آكار في (1) لتر من الماء المقطر ، ثم عقم بالمؤصدة ، بعد ضبط الأس الهيدروجيني عند (7.5) (Cowan و Steel ، 2004) .

7-3-3: وسط تحلل الجيلاتين Gelatin hydrolysis media

حضر باضافة (4) غرامات جيلاتين ، (1000) مل آكار مغذي Nutrient agar ، في (50) مل ماء مقطر ، ثم تذويب الجيلاتين بالماء بعدها يضاف الآكار المغذي الذائب الى المزيج وبعدها تم ضبط الأس الهيدروجيني الى (7) ثم وزع الوسط في أنابيب اختبار نظيفة ومعقمة بالمؤصدة (Cowan و Steel ، 2004) .

8-3-3: وسط آكار المانيتول Mannitol Salt

حضر حسب تعليمات الشركة المصنعة ، ثم عقم بالمؤصدة وبعدها وزع في الأطباق ، أستخدم كوسط أنتقائي لاحتوائه على نسبة عالية من الأملاح التي تثبط نمو العديد من البكتريا الأخرى .

9-3-3: وسط king A medium agar

حضر بحسب التعليمات من الشركة المصنعة وعقم بالمؤصدة ، وبعدها وزع في أطباق معقمة وحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال إذ يستعمل هذا الوسط لغرض تشخيص بكتريا *Pseudomonas .aeruginosa* ..

King B medium agar وسط 10-3-3

حضر بحسب التعليمات من الشركة المصنعة وعقم بالؤصدة ، وبعدها وزع في أطباق معقمة ، وحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال . حيث يستعمل هذا الوسط لغرض تشخيص بكتريا *Pseudomonas Florescence*.

Citrate Utilization وسط استهلاك السترات 11-3-3

حضر هذا الوسط حسب تعليمات الشركة المصنعة ، وعقم بعدها بالمؤصدة Autoclave ، وبعد تبريده صب في أنابيب اختبار نظيفة ومعقمة ، يستخدم هذا الوسط لمعرفة قابلية البكتريا على استهلاك السترات بوصفه مصدرا رئيسا للكربون .

12-3-3:أوساط حفظ وإدامة العزلات البكتيرية

Short-time Preservation الحفظ قصير الأمد 1-12-3-3

زرعت العزلات الجرثومية في أطباق بعد تشخيصها على وسط ماكونكي آكار ووسط الأكار المغذي وبطريقة التخطيط وبعدها حضنت عند درجة حرارة 37مئوي ولمدة 24 ساعة ثم لفت الأطباق بشريط parafilm بصورة محكمة وحفظت في الثلاجة عند 4 درجة حرارة مئوي لمدة إسبوع (Steel و Cowan ، 2004).

2-12-3-3:حفظ متوسط الأمد

حفظت العزلات الجرثومية في وسط الاكار المغذي المائل Nutrient agar slant المحضر في أنابيب زجاجية معقمة Slant وحضنت عند درجة حرارة 37 مئوي لمدة 24 ساعة ثم نقلت بعدها إلى الثلاجة في درجة حرارة 4 مئوي ولمدة تتراوح بين 3-1 أشهر مع مراعات إدامة العزلات دوريا كل شهر وإعادة زرعها لتشخيصها طيلة فترة الدراسة.

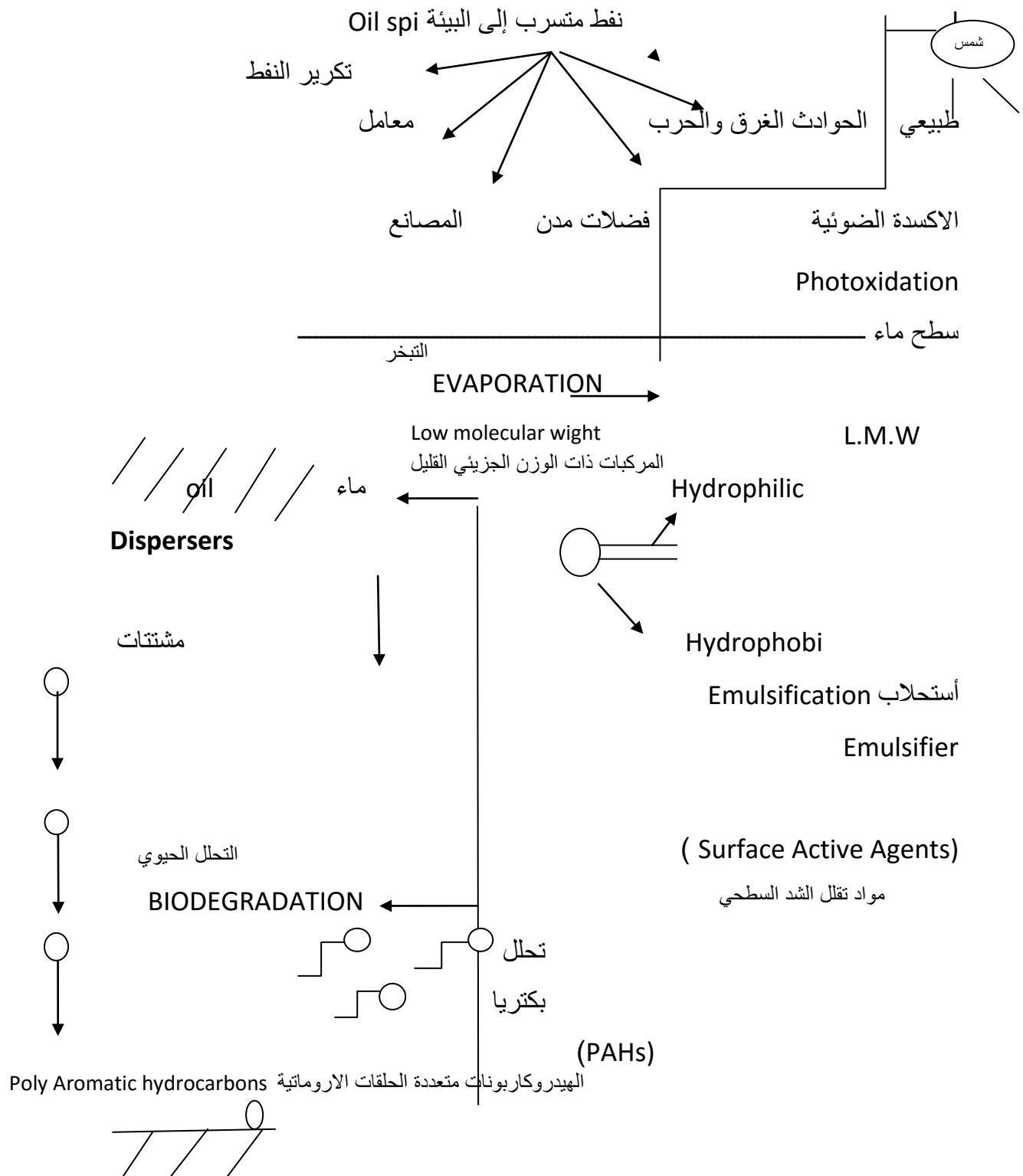
(Steel و Cowan، 2004).

3-12-3-3:الحفظ طويل الأمد long time preservation

لقت العزلات البكتيرية في وسط المرق المغذي ، وحضنت بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة ، وبعدها حفظت باضافة الكليسرول بتركيز 20% إلى الوسط وتحفظ بدرجة حرارة 20-م. (Steel و Cowan، 2004).

شكل (١-٣) مصير البقعة النفطية مصير بقعة نفطية

Fate of oil spill



4-3: قياس العوامل غير الحيوية:

تم في هذه الدراسة قياس العوامل غير الحيوية كدرجة حرارة الماء والأس الهيدروجيني الـ pH والملوحة مباشرة، أما المتطلب الحيوي Demand(BOD) Biological Oxygen Demand (COD) chemical oxygen Demand تم قياسها في المختبر لعينات المياه باستخدام جهاز BOD meter Oxi Top وCOD Meter al 125 حسب (Atlas، 1991) أما العناصر المعدنية مثل (ZN) تم قياسها باستخدام جهاز امتصاص الطيف الذري ATOMIC absorption Spectrometer .

6-3: جمع العينات :

تم جمع 96 عينة رسوبيات و96 عينة مياه للفترة الممتدة بين 5-10-2015 إلى 10-5-2016 لثلاث محطات السـنـدية (32 عينة رسوبيات و32 عينة مياه) والمحطة الثانية قرية السعدية والمحطة الثالثة قرية زنبور جمع من كلا المحطتين نفس القدر من المياه والرسوبيات .

جدول (5-3) عدد عينات الرسوبيات والمياه من المحطات الثلاث .

المحطات	عدد العينات
المحطة رقم 1	الرسوبيات 32 المياه 32
المحطة رقم 2	الرسوبيات 32 المياه 32
المحطة رقم 3	الرسوبيات 32 المياه 32
المجموع الكلي للعينات	الرسوبيات 96 المياه 96

وكانت المسافة بين محطة وأخرى 5 كيلومتر . تم سحب عينات المياه بعمق 20 سم ، باستخدام عبوات بلاستيكية معقمة بحجم 5 لتر وبمعدل مكررين ، أما عينات الرسوبيات أخذت من نفس المحطات ومن موقع قريب للشاطئ ، باستعمال قناني زجاجية معقمة سعة لتر ، نقلت العينات إلى المختبر باستعمال حاوية مبردة (5م°) .

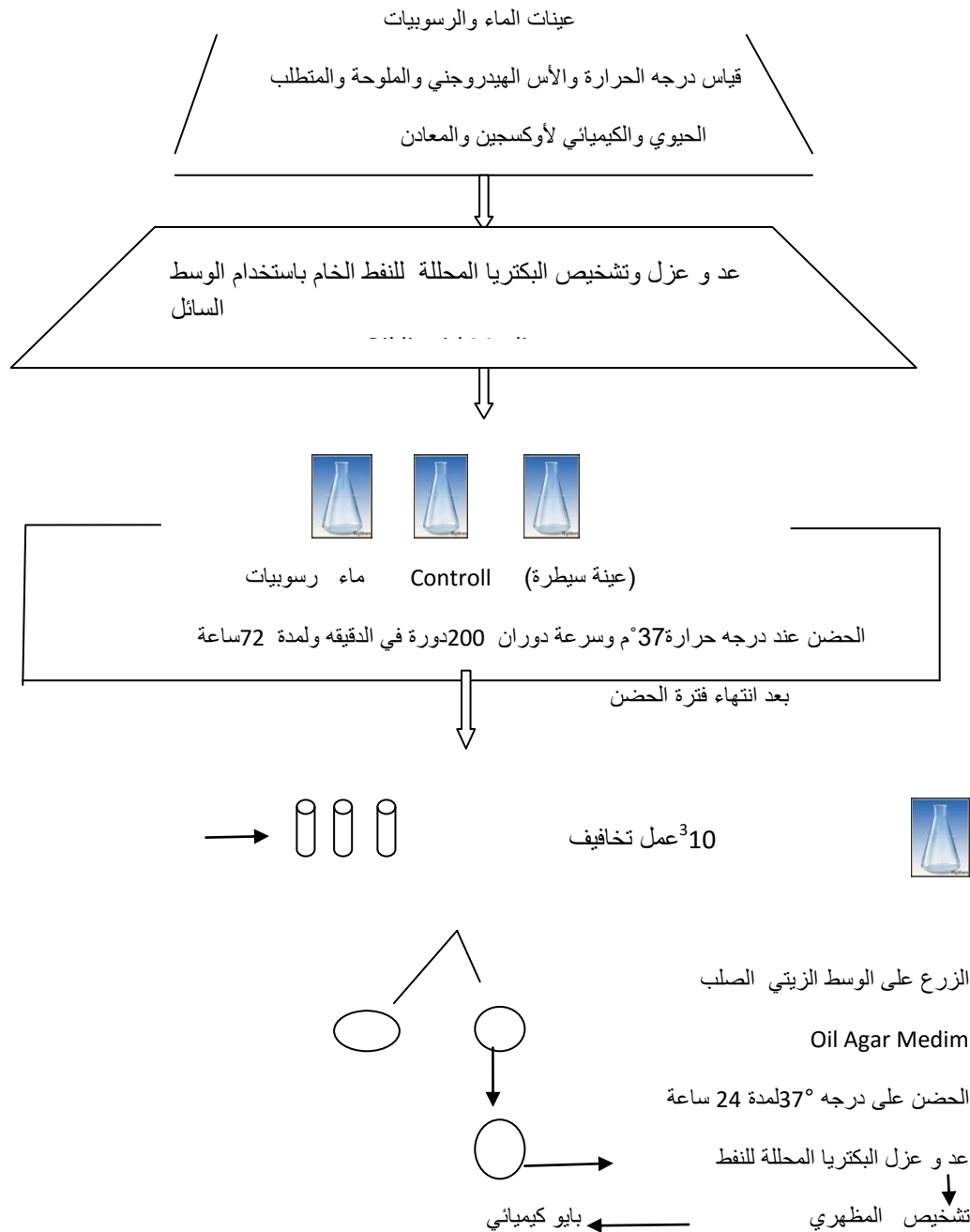
وأثناء جمع العينات تم قياس درجة حرارة المياه والأس الهيدروجيني (pH) والملوحة أما بقية الفحوصات تم أجرائها داخل المختبر مثل BOD (المتطلب الحيوي للأوكسجين) Biological Oxygen demand و COD (المتطلب الكيميائي للأوكسجين) Chemical Oxygen demand (1991.Atlas). والعامل اللاحيائي ونشاط البكتريا المحللة للنفط أتبعَت الخطوات المبينة في المخطط (1-3).

7-3: عد وعزل وتشخيص البكتريا المحللة للنفط الخام في المياه والرسوبيات

1-7-3: عينات المياه:

تم أخذ 1 مل من عينة المياه ولقح في دورق سعة (250) مل يحوي على (100) مل وسط أملاح معدنية جدول (2-3) مضاف لها نفط خام معقم بحجم (200) مايكروليتر ، وحضنت العينات في درجة حرارة (37)°م في حاضنة هزازة دوارة بسرعة (200) دورة / دقيقة ولمدة (7) أيام وفي نفس الوقت حضنت دوارق تحتوي فقط وسط زرع مع نفس الكمية من النفط الخام دون تلقيحها بعينة المياه وذلك لاستخدامها كعينة قياسية (مقارنة) ، وبعد إنتهاء فترة الحضانة ، أخذ (1) مل من المزرعة السائلة وأجري له عدة تخافيف بالمحلول الفسيولوجي 10³ وتم أخذ 0.5 مل من التخفيف المختار وزرع على طبق بتري يحتوي على النفط الخام الصلب وحضنت الأطباق في حاضنة هوائية على درجة 37°م ولمدة 24 ساعة ، وبعدها اختبرت مستعمرات من البكتريا وأعيد زرعها بطريقة التخطيط على الطبق (وسط الأكار) الذي يحوي النفط الخام الصلب ، باستعمال الناقل المعقم (Loop) ، وحضنت أيضا بدرجة حرارة 37 °م ولمدة 24 ساعة ، للتأكد من نقاوتها وللحصول على مستعمرات منفردة ، أجري بعدها عدد من الفحوصات التشخيصية المظهرية والكيموحيوية للبكتريا المعزولة (2012 Williams و padmapriya). كما هو مبين في المخطط (٢-3)

المخطط (2-3) خطوات تحليل عينات المياه والرسوبيات



2-7-3: زرع عينة الرسوبيات (Sedement)

تم أخذ 1 غرام من عينة الرسوبيات (Sedement) ووضعت في إنبوب إختبار يحتوي على 10 مل محلول فسيولوجي معقم ومزج جيدا بواسطة جهاز (Vortex) لمدة نصف دقيقة وترك لمدة دقيقتين لكي تترسب الشوائب ، وتم أخذ 1 مل من الرائق بواسطة ماصة معقمة

ولفتح في دورق سعة 250 مل يحوي على 100 مل وسط أملاح معدنية فقرة (2-1-3) مضاف لها نפט خام معقم بحجم (200) مايكروليتر ، وحضنت العينات في حاضنة هزازة دوارة بسرعة 200 rpm ولمدة 7 أيام وفي نفس الوقت حضنت دوارق تحتوي فقط وسط زرع مع نفس الكمية من النفط الخام دون تلقيحها بالرسوبيات وذلك لاستخدامها كعينة قياسية (مقارنة) ، وبعد إنتهاء فترة الحضانة ، أخذ 1 مل من المزرعة السائلة واجري له عدة تخفيف وتم أخذ 0.5 مل من التخفيف المختار وزرع على طبق بتري يحتوي على النفط الخام الصلب المحضر حسب فقرة (3-1-5) وحضنت الأطباق في حاضنة هوائية على درجة 37°م ولمدة 24 ساعة ، ثم تم حساب مستعمرات البكتريا المحللة للنفط الخام واختيرت مستعمرات من البكتريا وأعيد زرعها بطريقة التخطيط على الطبق الذي يحوي النفط الخام الصلب ، بأستعمال الناقل المعقم (Loop) ، وحضنت أيضا بدرجة حرارة 37°م ولمدة 24 ساعة ، للتأكد من نقاوتها وللحصول على مستعمرات منفردة ، أجري بعدها عدد من الفحوصات التشخيصية المظهرية والكيموحيوية للبكتريا المعزولة (padmapriya و 2012.williams).

8-3:الأختبارات البايوكيميائية الخاصة بتشخيص البكتريا المحللة للنفط الخام :

1-8-3:اختبار انتاج الكاتاليز Catalase test

يستخدم هذا الاختبار للكشف عن قدرة البكتريا على انتاج إنزيم الكاتاليز، الذي يحلل بيروكسيد الهيدروجين إلى الماء ويتحرر غاز الأوكسجين بشكل فقاعات هوائية ، حيث ينقل مزروع بكتيري من وسط الأكار المغذي بعمر 18-24 ساعة للعزلة قيد الدراسة ، بواسطة أعواد خشبية معقمة ووضع على شريحة زجاجية ، أضيفت إليها بضع قطرات من محلول بيروكسيد الهيدروجين 3%(كاشف الكاتاليز)المحضر بحسب الفقرة (3-2-2-1)تعد النتيجة موجبة عند تكون فقاعات هوائية بسرعة وبشكل مستمر (Cowan و Steel، 2004)

2-8-3:أختبار انزيم الأوكسيديز

بواسطة اعواد خشبية معقمة نقلت مستعمرة من العزلة البكتيرية قيد الدراسة إلى ورقة الترشيح المتشبعة بالكاشف المحضر ، تعد النتيجة موجبة عند ظهور اللون البنفسجي خلال (10)ثواني من ملامسة الخلايا البكتيرية لكاشف الأوكسيديز، على الورقة استخدم هذا الاختبار للكشف عن قدرة البكتريا على إنتاج إنزيم الستروكروما وكسيديز (Cytochrome Oxidase) ، إذ يعتمد هذا الاختبار إفراز الجراثيم لأنزيم الأوكسيديز

الذي يحفز نقل الالكترونات من الجزء المانح لها في الجراثيم الى العامل المختزل وهو الكاشف
Tetra-methyl-P-Phenylene-diaminedihydrochloride
(Cowan و tell، 2004) .

3-8-3: اختبار الأندول Indole test

لحق وسط ماء الببتون السائل المحضر، بمزروع العزلة البكتيرية قيد الدراسة ثم حضن الوسط بدرجة 37 °م لمدة 24 ساعة ، ثم أضيف خمس قطرات من كاشف كوفاكس (Kovac s reagent) على السطح الداخلي للأنبوبة الاختبار ، تعد النتيجة موجبة عند ظهور حلقة حمراء خلال ثواني من اضافة الكاشف ، استخدم هذا الوسط للكشف عن وجود الأندول ، الذي يعد احد نواتج أيض الحامض الأميني التربتوفان نتيجة لامتلاك البكتريا لانزيم التربتوفانيز Treptophanase . (Cowan و Steell ، 2004).

3-8-4: اختبار تخمر السكريات (Glucose , Sucrose , Maltose)

استعمل هذا الاختبار في تشخيص البكتريا التي لها القدرة على تخمير السكريات ، اذ استعملت محاليل المحضرة مسبقا وهي 10مل (Glucose , Sucrose , Maltose) وضع كل محلول في انبوبة زجاجية معقمة ، ثم لقحت الأنابيب بالبكتريا وحضنت بدرجة حرارة 37 °م لمدة (24) ساعة ، لوحظ التخمر الحاصل في الأنابيب خلال تغير لون الكاشف (phenol red) في الوسط الحامضي من اللون الأصفر إلى الأحمر ، وهذا دليل على قدرة البكتريا على تخمير السكريات ، وقد استعمل هذا الاختبار لتشخيص البكتريا السالبة لصبغة كرام ومعرفة قدرتها على تأبيض تلك السكريات ، (Cowan و Steel، 2004).

3-7-5: اختبار النمو في وسط أكار المانيتول الملحي Mannitol salt agar

خطط وسط أكار المانيتول الملحي المحضر في فقرة (3-8-3) ، حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 °م لمدة 24-48 ساعة ، النتيجة موجبة عند ظهور هالة صفراء حول النمو البكتيري وهذا يدل على قابلية البكتريا على تخمير سكر المانيتول في حين عدت النتيجة سالبة عند ظهور نمو جرثومي دون تغير لون الوسط ويعد وسط Mannitol salt agar وسطا تشخيصيا وانتخابيا Selective media

3-7-6: اختبار الميثيل الاحمر Methyl red test

لقح المرق المحضر بمزروع العزلة البكتيرية قيد الدراسة ، وحضن بدرجة حرارة 37م° لمدة 48-72 ساعة ، ثم أضيف خمس قطرات من كاشف احمر المثيل أيضا،تعد النتيجة موجبة عند تغير اللون إلى الأحمر ، يستخدم هذا الاختبار للكشف عن قدرة البكتريا على تخمير سكر الكلوكوز ومن ثم تراكم الأحماض العضوية في الوسط الذي يؤدي إلى خفض الأس الهيدروجيني للوسط ويستدل على تكوين الحامض باستعمال كاشف المثيل الأحمر.(CowanSteel 2004)

7-7-3:اختبار تحلل الجيلاتين Gelatin hydrolysis

زرعت الأنابيب الحاوية على وسط آكار الجيلاتين Gelatin hydrolysis المحضر حسب الفقرة (3-3-3) ، بالزرع البكتيري بطريق الطعن ، ثم تحضن بدرجة حرارة 37م° لمدة ثلاثة أسابيع ثم التحري عن تميع الجيلاتين بوضع أنابيب الوسط الملقح والمحضنة سابقا في الثلاجة بدرجة 4 م° لمدة ربع ساعة ، إن حدوث التميع يشير إلى فعالية إنزيم الجيلاتين ، اجري هذا الاختبار لمعرفة احتواء البكتريا على إنزيم Gelatinase الذي يحلل الجيلاتين (Cowan وSteel، 2004)

8-7-3:اختبار الحركة Motility test

لقح وسط اختبار الحركة المحضر بمستعمرات فتية عمرها 24 ساعة من العزلات الجرثومية بطريقة الطعن بالاستعمال الأبرة Needle وحضنت الأنابيب الملقحة بالحاضنة الهوائية . الدليل على ايجابية الاختبار هو حصول تضبضب حول منطقة الطعن في الوسط (Cowan وSteel، 2004)

9-7-3:اختبار النمو على وسط King (A)

خطط وسط King A المحضر مسبقا وحضنت الأطباق بدرجة 37م° لمدة 24-48 ساعة حيث يعد هذا الوسط الزراعي من الأوساط التفرقية المهمة لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* . استعمل هذا الوسط لغرض تشخيص وإظهار الصبغة المنتجة من قبل *Pseudomonas aeruginosa*.

10-7-3:اختبار النمو على وسط King (B)

خطط وسط King B المحضر سابقا وحضنت الأطباق بدرجة 37م° لمدة 24-48 ساعة ، إذ يعد هذا الوسط الزراعي من الأوساط التفريقية والمهمة لبكتريا *florecentage Pseudomonas* .

11-7-3: اختبار تحلل اليوريا

لقت الأنابيب الحاوية على الوسط الزراعي المائل Urea agar base المحضر سابقا بالعزلات البكتيرية وحضنت بعدها بدرجة حرارة 37م° لمدة 5 أيام ان تغير لون الوسط من الأصفر إلى الوردي هو دليل على ايجابية الاختبار ، اجري هذا الاختبار لمعرفة احتواء البكتريا على إنزيم Urease الذي يحلل اليوريا إلى أمونيا وثاني أكسيد الكربون مؤديا بذلك إلى رفع قيمة الأس الهيدروجيني للوسط وبالتالي تغير لون الكاشف Phenol red (Cowan و Steel، 2004).

12-7-3: اختبار استهلاك السترات Citrate utilization

لقت الأنابيب الحاوية على الوسط الزراعي المائل Simmon Citate agar بالعزلات البكتيرية وحضنت بدرجة حرارة 37م° لمدة 7 أيام .يعتبر تغير الوسط من اللون الأخضر إلى اللون الأزرق هو دليل على ايجابية الاختبار، اجري هذا الاختبار لمعرفة أن البكتريا لها القابلية على استهلاك سترات الصوديوم بوصفه مصدرا وحيدا للكربون. (Cowan و steel، 2004).

13-7-3 اختبار النمو عند درجة حرارة 42 م°

لقح وسط اختبار الحركة المحضر لمستعمرات فتية عمرها 24 ساعة من العزلات الجرثومية بطريقة الطعن باستعمال الأبر (Needle) وحضنت الأنابيب الملقحة بالحاضنة الهوائية عند درجة حرارة 42 م° . الدليل على ايجابية الاختبار هو حصول عكورة في الوسط (Cowan و Steel، 2004)

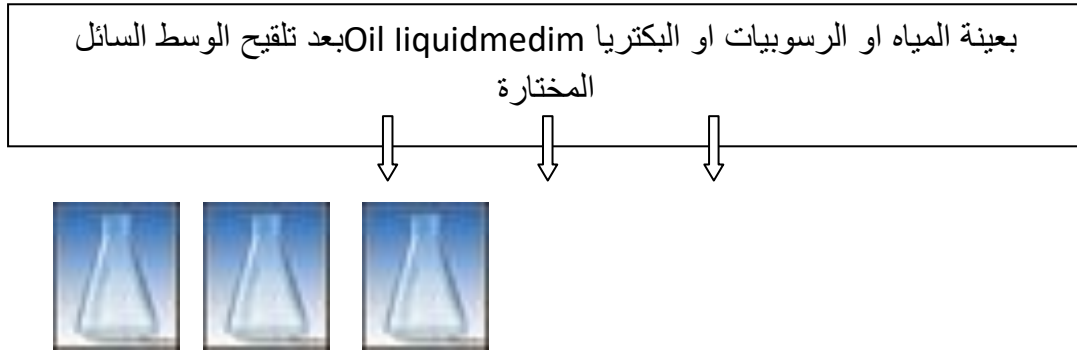
8-3: اختبار سرعة النمو وتحليل للنقط الخام للعتز السائدة تحت الدراسة في المياه والرسوبيات

بعد انتهاء كل فترة حضن ثلاثة أيام محددة في تلك الدراسة يرفع من الحاضنة دورقان ملقحان بعينة المياه وأخرى ملقحة بالرسوبيات ودورقين غير ملقحين تمثلا عينة السيطرة

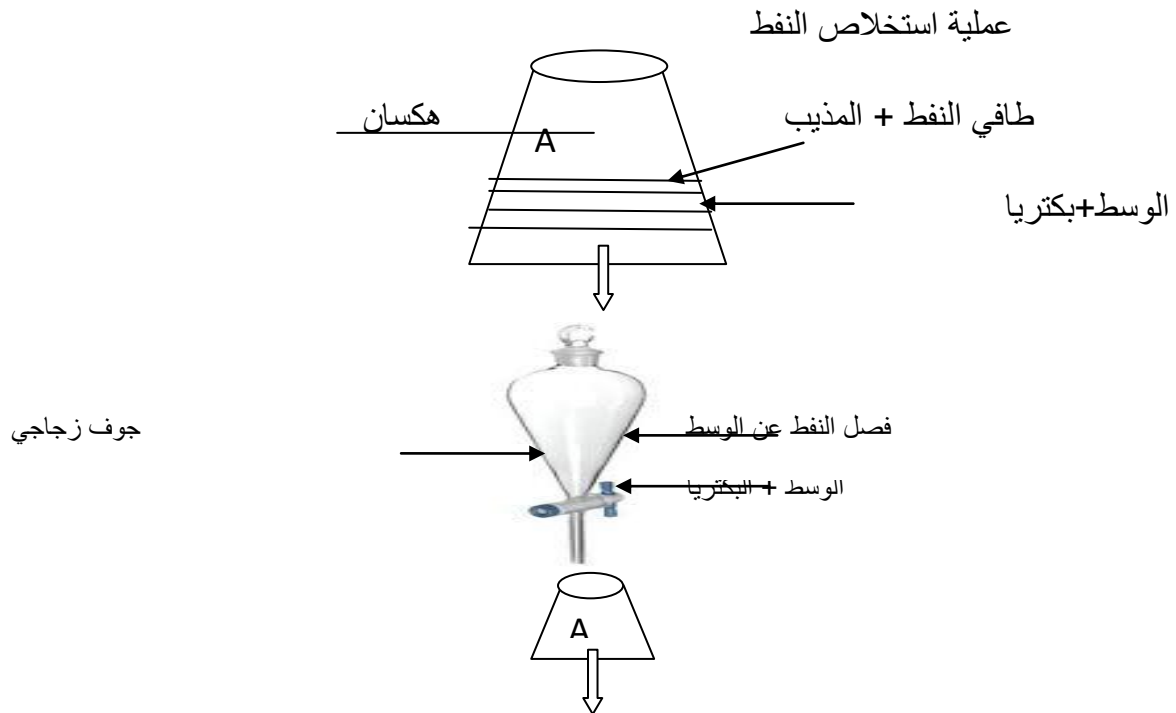
Control . وبنفس الوقت تم إجراء فحص قدرة العزل السائدة على تحليل النفط الخام (الفحص المجهرى لتغير طافي النفط). في بداية العمل لابد من تسجيل الملاحظات على كل ورق رفع من الحاضنة ، من هذه الملاحظات العكورة ، شكل طافي النفط وغيرها من الملاحظات. (الفحص المجهرى لتغير طافي النفط) ، يتم فصل النفط الخام عن سائل الزرع حسب طريقة (Adebusoye وآخرون ، 2007)، وذلك بإضافة (20) مل من مذيب الهكسان في الدورق ، مع تحريك الدورق والمذيب بعد ذلك يوضع المزيج في قمع الفصل Separatory Funnel ، يوضع في نهاية القمع صوف زجاجي لمنع مرور عالق البكتريا الى النفط المستخلص .

يرج المزيج عدة مرات مع ضمان فتح السدادة السفلى لخروج الغازات ، بعدها يوضع القمع على حامل ويترك فترة 15 دقيقة لغرض فصل طبقة النفط التي تشكل الجزء العلوي من المزيج والسفلى تمثل الوسط الزرعى الخالي من النفط الخام . تفتح السدادة للتخلص من الوسط السائل ، ثم يجمع النفط الخام مع ضمان خلوه من أي سائل ماء أو غيره ، وللتأكد من خلوه من الماء يمرر عبر عمود يحتوي على كبريتات الصوديوم النظيفة ثم يرشح الناتج عبر مرشح قياس (0.45) مايكروميتر. بعد إنتهاء العملية يركز النفط الخام للتخلص من المذيب باستعمال طريقة المبخر الدوار Rotary evaporator على درجة 67 م° ، ينقل المستخلص النفطي في قناني محسوبة الوزن ويغلق بأحكام كما هو مبين في المخطط (3-3) :

شكل (٣-٣) عملية استخلاص النفط الخام من السائل الزرعي

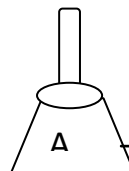


يتم الحضان عند درجة حرارة ٣٧°م ولمدة ٧٢ ساعة وعلى سرعة دوران ٢٠٠ دورة بالدقيقة



يمر صافي النفط مع المذيب عبر عمود مملوء بكبريتات الصوديوم لازالة أي قطرات ماء أو

رطوبة



يوزن النفط المتبقي

بإستخدام المتبخر الدوار

يبخر المذيب

طبقت نفس هذه الطريقة على عزلات تم اختيارها في هذه الدراسة لنفس الغرض

9-3: قياس سرعة التحلل بطريقة مطيافية الاشعة المرئية – فوق البنفسجية – UV

Visible-Spectrophotometer .

يستخدم هذا الجهاز لتحديد المركبات الناتجة من عملية تأبيض الهيدروكربونات النفطية عن طريق الامتصاص الذري حيث ان لبعض ذرات تلك المركبات أو ايوناتها القدرة على الامتصاص و الاشعاع absorption أو انبعاث الضوء المسلط عليها . ويبدو ان للأشعة فوق البنفسجية القدرة على التعرف على تلك الأيونات أو المجاميع الذرية من كمية الاشعاع المنبعث منها بعد تسليطه عليها .

1-9-3: الأس الهيدروجيني pH:

لقت خمسة دوارق سعة 250 مل تحوي 100 مل من وسط الأملاح المعدنية المحضرة مسبقا بحسب فقرة (2-1-3) ذات pH مختلف (4,5,7,8,10) بمل واحد من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* عددها $10^8 \times 2$ حسب طريقة ماكفرلاند في عد الخلايا ، ونفط خام 200 مايكروليتر وحضنت الدوارق بحاضنة هوائية وفي نفس الوقت حضن دورق يحوي فقط وسط زرعي مع نفس الكمية من النفط الخام دون تلقيحها بالبكتريا يمثل عينة قياسية control ، حضنت جميع الدوارق عند درجة حرارة 37 م° لمدة (1,2,3) أيام ، وتم حساب سرعة النمو معبر عنها بالكثافة النوعية لكل يوم بجهاز UV Visible Spectrophotometer وعند طول موجي 600 نانوميتر. (Seo واخرون ، 2009)

2-9-3: المغذيات Nutrient

لقت ثمانية دوارق سعة 250 مل تحوي 100 مل من وسط الأملاح المعدنية المحضرة مسبقا بحسب فقرة (2-1-3) واضيف لها المغذيات من الفوسفات والنترات المحضرة بحسب فقرة (3-3-1-3) بمل واحد من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* عددها $10^8 \times 2$ حسب طريقة ماكفرلاند في عد الخلايا ، ونفط خام 200 مايكروليتر وحضنت الدوارق بحاضنة هوائية وفي نفس الوقت حضن دورق يحوي فقط وسط زرعي مع نفس الكمية من النفط الخام دون تلقيحها بالبكتريا يمثل عينة قياسية control ، حضنت جميع الدوارق عند درجة حرارة 37 م° لمدة (1,2,3) أيام ، وتم حساب سرعة النمو معبر عنها بالكثافة النوعية لكل يوم بجهاز UV Visible Spectrophotometer وعند طول موجي 600 نانوميتر. (Bento واخرون ، 2005).

3-8-3 : مضاعفة المغذيات

لقت عشرة دوارق سعة 250 مل تحوي 100 مل من وسط الأملاح المعدنية المحضرة مسبقا بحسب فقرة (2-1-3) يحوي مغذيات مضاعفة الكمية (0.8,1.6,3,2) غم من الفوسفات والنترات المحضرة بحسب فقرة (3-3-1-3) بمل واحد من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* عددها $10^8 \times 2$ حسب طريقة ماكفرلاند في عد الخلايا ، ونفط خام 200 مايكروليتر وحضنت الدوارق بحاضنة هوائية وفي نفس الوقت حضن دوارق يحوي فقط وسط زرع مع نفس الكمية من النفط الخام دون تلقيحها بالبكتريا يمثل عينة قياسية control ، حضنت جميع الدوارق عند درجة حرارة 37م° لمدة (1,2,3) أيام ، وتم حساب سرعة النمو معبر عنها بالكثافة النوعية لكل يوم بجهاز UV Visible Spectrophotometer وعند طول موجي 600 نانوميتر.

4-8-3: اليوريا Urea

لقت أربعة دوارق سعة 250 مل تحوي 100 مل من وسط الأملاح المعدنية المحضرة مسبقا بحسب فقرة (2-1-3) يحوي يوريا urea بكمية (1,2,3,5) غم محضرة حسب فقرة (3-3-1-3) بمل واحد من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* عددها $10^8 \times 2$ حسب طريقة ماكفرلاند في عد الخلايا ، ونفط خام 200 مايكروليتر وحضنت الدوارق بحاضنة هوائية وفي نفس الوقت حضن دوارق يحوي فقط وسط زرع مع نفس الكمية من النفط الخام دون تلقيحها بالبكتريا يمثل عينة قياسية control ، حضنت جميع الدوارق عند درجة حرارة 37م° لمدة (1,2,3) أيام ، وتم حساب سرعة النمو معبر عنها بالكثافة النوعية لكل يوم بجهاز UV Visible Spectrophotometer وعند طول موجي 600 نانوميتر.

(Pelletier وآخرون ، 2004)

5-8-3 : تركيز النفط الخام Oil Concentration

لقت خمسة دوارق سعة 250 مل تحوي 100 مل من وسط الأملاح المعدنية المحضرة مسبقا بحسب فقرة (2-1-3) بمل واحد من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* عددها $10^8 \times 2$ حسب طريقة ماكفرلاند في عد الخلايا ، وأضيف نفط خام بالتراكيز التالية (100,200,500,700,1000) مايكروليتر وحضنت الدوارق بحاضنة هوائية وفي نفس الوقت حضن دوارق يحوي فقط وسط زرع مع 200 مايكروليتر نفط خام دون تلقيحها بالبكتريا يمثل عينة قياسية control ، حضنت جميع الدوارق عند درجة حرارة 37م° لمدة

(1,2,3) أيام ، وتم حساب سرعة النمو معبر عنها بالكثافة النوعية لكل يوم بجهاز UV Visible Spectrophotometer وعند طول موجي 600 نانوميتر.

(Patowary وآخرون ، 2016)

10-3: قياس سرعة تحليل النفط الخام باستخدام الطريقة الوزنية :

بعد التخلص من المذيب باستخدام طريقة التبخير الدوار Rotary evaporation يؤخذ المستخلص ويوضع في فرن على درجة حرارة 25 م° لمدة 4 ساعات حتى إزالة كل المذيب أن وجد ، توزن القنينة المحتوية على المستخلص النفطي والمحسوبة الوزن مسبقا ، وحسبت النسبة المئوية للتحلل بحسب المعادلة أدناه :

$$1...نسبة التحلل الحيوي = \frac{\text{وزن النفط بعد التحلل الحيوي}}{\text{وزن النفط قبل التحلل الحيوي}} \times 100 \text{ (Lin و Gandesh ، 2009)}$$

11-3: قياس سرعة التحلل بطريقة قياس مجاميع الكربوناييل باستخدام FTIR.

تمت قراءة طيف الأشعة تحت الحمراء للعينات المحللة بفعل العزلات المستخدمة في هذه الدراسة لنتف خام (الراشدية) باستخدام جهاز الأشعة تحت الحمراء Fourier Transform Infrared حيث تم أخذ قطرة من كل عينة المعالجة (النفط الخام) ووضعت في خلية الجهاز الزجاجية(Potassium bromide) وتم معايرة الجهاز باستخدام مادة متعددة الستايرين (Polysyrene)وسمك 0.1 ملم من العينة اضافة الى عينة المقارنة (الكونترول) للنتف الخام وتمت القياسات بعد أن تم أعداد الجهاز على مدى من الأرقام تبين النسبة المئوية للنفوذية %T على المحور العمودي وبمدى من (40-Zero) والعدد الموجي على المحور الأفقي وب مدى 1/CM4000-400 (Dahlin وآخرون ، 1994) استخدم في دراسة الحالية نتف خام نوع خفيف مجهز من الشركة العامة للمنتجات النفطية (الراشدية) مواصفاته اللزوجة : (0.8) نيوتن/ متر مربع (باسكال .ثانية) ، الكثافة : (850) غم/سم³

تمت هذه التحليلات في مختبرات قسم الكيمياء ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة ديالى وسجلت النتائج .

11-3: قياس الاختزال الحيوي بطريقة GCMS :

لتحليل الكروموتوكرافي الغازي الكتلي (GCMS) وقياس كمية الكتلة المفقودة للنتف الخام المعالج باستخدام جهاز GCMS لشركة شيماتزو اليابانية SHIMADZU QP2010 المجهز

بعمود HB-5 عمود (25*0.32m*0.25um)م GC، ، وقطر 0.25 ملمتر استعملت هذه الظروف للتعرف وقياس مركبات ال PAH. مرتبط بكاشف التأين اللهب (FID) والذي يستخدم لمراقبة مكونات الهيدروكربونات في الوسط عند الظروف التالية استعمل الهليوم عالي النقاوة كغاز ناقل مع تدفق كلي بلغ 9 مليلتر بالدقيقة وفي عمود الكولوم 1.30 مليلتر بالثانية ، ومعدل الانفصال كان 3.0 كل 4 دقائق ، وبلغت حرارة الفرن البدائية عند 80c° حتى تصل تدريجيا الى 280c° لكل 5c° درجة في الدقيقة وبلغت حرارة الحقن 260c° ودرجة حرارة خط النقل 300c° على التوالي ، وكانت درجة حرارة مصدر الايون 250c° ، ان استخدام الايون كان لقياس مركبات الهيدروكربونات المتعددة الحلقات PAHs والتعرف على مركباتها من خلال تحليلها بجهاز ال GCMS.

(Winslow وآخرون، 2000)

3-12: قياس سرعة التحلل باستخدام طريقة تقدير Biosurfactant.

استخدمت طريقة (Iqbal وآخرون، 1995)

- 1- أضيف 4 مل من مزرعة بكتيرية مختارة تحت الدراسة عمرها 48 ساعة من الحضان
- 2- أضيف 6 مل من الهيدروكربونات (النفط الخام) المعقم .
- 3- تمزج الخطوة (1) و (2) ببعضها في أنابيب زجاجية نظيفة ومعقمة سعة 20 مل .
- 4- تمزج باستخدام جهاز (vortex) بالسرعة القصوى لمدة دقيقتين وتترك الأنابيب لمدة 24 ساعة .

$$E24 = 100 * \frac{H_{emulsification}}{H_{total}}$$

5- يحسب الاستحلاب حسب المعادلة التالية

تمثل E24 النسبة المئوية للاستحلاب خلال 24 ساعة Hemulsification تمثل ارتفاع طبقة النفط Htotal تمثل ارتفاع الكلي للعمود النفط مع سائل الوسط الزراعي (الاملاح المعدنية) المحتوي بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* من خلال قياس الطبقة العليا المتكونة للنفط مقسمة على الارتفاع الكلي للعمود السائل*100 (cooper و Goldenberg، 1999). وتم حساب النسبة المئوية للنفط المستهلك خلال 24 و 48 و 120 ساعة .

9-3: اختبار التكسير الحيوي باستخدام المجهر

تم تحضير وسط من الأملاح المعدنية كما هو موضح في فقرة (3-1-2) ، في ورق سعته 250 مل حاوي على كمية من النفط الخام نسبة 2% .حسب طريقة ماكفرلاند ، إذ لقت ١ مل من مزرعة بكتيرية مكسرة للنفط ومشخصة سابقا وحضنت في حاضنة هزازة عند درجة حرارة 37 م° وسرعة دوران 200 دورة / دقيقة لمدة 72 ساعة واخذت قطرة من النفط بعد 24 ساعة ووضعت على شريحة زجاجية وتم فحصها تحت المجهر بقوة (20*40) شكل القطرة المكسرة بعد الزرع ، وتكررت العملية بعد 48 ساعة و72 ساعة ، ومشاهدة التغيرات التي تحدث لطافي النفط الخام من تكسير القطيرة ودراسة المجاميع البكتيرية المتحركة حول القطرة المتكسرة ، أجريت نفس التجربة على قطرة نفط غير معرضة للتكسير الحيوي لكي يقارن بين قطرات النفط الخام المعالجة وغير المعالجة (Witholt و اخرون ، 1990) .

10-3: اختبار التحليل الحيوي باستخدام أطباق بئري .

تم تحضير 500 مل من وسط الأملاح المعدنية وأضيف لها مادة agar-agar بوزن 7.5 غم ، وتم تعقيمها في المؤصدة وصبت في أطباق ومعقمة وبعدها أضيف لها النفط الخام المعقم بوزن 10% وأضيف لها البكتريا المعزولة والمشخصة مسبقا وحضنت بعدها في حاضنة هوائية لمدة سبعة أيام لمشاهدة التكسير الحيوي الذي حدث بفعل نمو البكتريا واستهلاكها للهيدروكربونات (Herman واخرون.1997) .

11-3: طريقة ماكفرلاند في عد الخلايا البكتيرية (Tripathi و Srivastava ، 2011)

محلول ثابت العكرة القياسي Macfarland standard

استعمل المحلول ماكفرلاند Macfarland standard ، لمعايرة عدد الخلايا البكتيرية ، وتم اعداد مقياس ماكفرلاند وذلك بخلط كميات من كلوريد الباريوم (Barium Chloride) وحمض الكبريتيك (Sulfuric acid) مما يؤدي الى تكوين راسب من كبريتات الباريوم يعكر المحلول ، يوجد معايير عدة لمقياس ماكفرلاند والشائع هو 0.5 وهو يعطي عددا تقريبا للخلايا 10^8 /مل عند طول موجي 625nm ، ويتم تحضيره بخلط 0.5 مل من 0.048 مولاري من ثنائي كلوريد الباريوم (Barium Chloride dihydrate) مع 9.95 مل من 0.18 مولاري حامض الكبريتيك (H_2SO_4) ويجب أن تكون الامتصاصية من (0.10-0.08)

1-4:تقدير العوامل غير الأحيائية

تم في هذه الدراسة تقدير العوامل غير الأحيائية في مياه المحطات الثلاثة رقم (1)السندية، رقم (2)السعدية ، رقم (3) زنبور وكما مبين في الجدول رقم (1-4) إن القيم في الجدول (1-4) تمثل معدل ثلاث قراءات ، إذ يلاحظ ان كلا من الأس الهيدروجيني ودرجة الحرارة والملوحة في مياه دجلة وبالذات في منطقة الدراسة تقع تحت المدى الملائم لنشاط البكتريا المحللة للنفط الخام (Fscundo وآخرون،2001)،في دراسة قام بها العديد من الباحثين وجد أن هناك علاقة بين تطبع المجاميع البكتيرية على البيئات الملوثة بالنفط والظروف البيئية (Ogbonna، 2008)، إذ وجد أن درجات الحرارة المنخفضة(الواطنة) تعطل من عملية تحليل النفط الخام وبالتالي تبقى تلك البيئات ملوثة لسنوات عديدة (Seagren وBekes،2010)، كما أكد(Boopathy،2000)أن معظم البكتريا المحللة للنفط تحتاج درجات حرارة تتراوح بين (-20) 40 وهذا يتفق مع دراستنا ، إذ تقع بيئة المنطقة التي تم تقدير العوامل غير الأحيائية فيها ضمن ذلك المدى.

أما قياس المتطلب الكيميائي للأوكسجين (COD)والمطلب الأحيائي للأوكسجين(BOD) هو الآخر له أهمية كعامل مؤثر في سرعة تحليل النفط في البيئة ، كون معظم المجاميع البكتيرية المحللة للنفط الخام هوائية وتحتاج الى الأوكسجين في تأييض تلك المركبات (Adeyemi،2004).

تعد درجة الحرارة عامل مؤثر على عملية المعالجة الحيوية بتأثيرها على نشاط البكتريا المحللة للنفط و على الحالة الفيزيائية للنفط الخام من كثافة ولزوجة (Rahman، وآخرون 2003)

تشير نتائج دراسة الحالية إلى أن معدل درجات حرارة المياه في منطقة الدراسة كانت في المحطات الأولى تتراوح بين (33-15)م° على طول فترة الدراسة والمحطة الثانية تراوحت معدلات درجات حرارة المياه فيها بين (31-15)م° والمحطة الثالثة تراوحت معدل درجات حرارة المياه فيها بين (32-15) على طول الفترة الدراسية تشير النتائج

الى ان درجات الحرارة كانت هي الدرجة المثلى الأكثر ملائمة تحلل الألكانات الاعتيادية للنفط الخام (Wilson وآخرون ،2002).

جدول (1-4) العوامل غير الاحيائية في المحطات قيد الدراسة بحسب الاشهر

أسم المحطة	العامل غير الاحيائي	القيمة حسب الأشهر		
		تشرين الاول	كانون الثاني	نيسان
محطة السندية	درجة الحرارة.درجة مئوية	28	15	33
	الأس الهيدروجيني	7.7	6.7	7.7
	الملوحة.ملغم	0.7	0.5	0.6
	BOD.جزء بالمليون	13	10	13
	COD.جزء بالمليون	17	18	14
محطة السعدية	درجة الحرارة	27	15	31
	الأس الهيدروجيني	6.7	5.9	6.3
	الملوحة	0.6	0.6	0.5
	BOD	11	10	11
	COD	16	12	15
محطة زنبور	درجة الحرارة	27	15	32
	الأس الهيدروجيني	5.9	6.2	8.3
	الملوحة	0.7	0.5	0.6
	BOD	5	11	13
	COD	12	22	20

حيث تكون فعالية البكتريا في التحلل الحيوي للنفط الخام أكثر نشاطا عند درجة حرارة (20م°) وذلك لان الحدود القصوى لسرعة التحلل الحيوي للهيدروكربونات في بيئة المياه العذبة تتراوح بين (20-30) م° ويزداد معدل التحلل الحيوي عند ارتفاع درجات الحرارة لأنها تؤثر على التفاعلات الأنزيمية وتزداد تلك الفعاليات مع ارتفاع درجات الحرارة وتنخفض مع انخفاض درجات الحرارة وهذا يتوافق مع ما جاء به (Philp وآخرون، 2005) وأشارت دراسة أخرى قام بها (Cretney، 2002) إلى أن ارتفاع درجات الحرارة ينعكس مضاعفا على نشاط الأنزيمات للبكتريا المحللة للنفط الخام ويزيد من قابلية البكتريا على التطبع على العيش في البيئات الملوثة بالنفط الخام وتؤثر أيضا على الخواص البايوكيميائية للنفط الخام وبالتالي تزيد من ذوبان الهيدروكربونات في المياه ويزداد تحللها.

يعد الأس الهيدروجيني من الخصائص المهمة لأنه يؤثر على نشاط الأنزيمات وفعالية البكتريا بشكل عام وبالتالي يؤثر على عملية المعالجة الحيوية

(Mukherjee وBordoloi، 2011)

بينت نتائج دراسة الحالية إلى أن معدل قيم الأس الهيدروجيني في المحطات الثلاث ضمن الدراسة تراوحت بين (7.7) لشهر تشرين الأول و(6.7) عند شهر كانون الثاني ثم ارتفع إلى (7.7) عند شهر نيسان في المحطة الأولى أما المحطة الثانية فقد تراوحت معدلات قيم الأس الهيدروجيني بين (6.7) لشهر تشرين الأول و (5.9) لشهر كانون الثاني وسجلت أعلى قيمة لها خلال شهر نيسان حيث بلغت (6.3). أما المحطة الثالثة فكان معدل قيم الأس الهيدروجيني (5.9) لشهر تشرين الأول و(6.2) لشهر كانون الثاني و(8.3) لشهر نيسان كما في الجدول رقم (4-1) أن هذه المستويات من الأس الهيدروجيني الطبيعية والقريبة من الأس الهيدروجيني المعتدل لمياه المنطقة تحت الدراسة هي ملائمة لعيش البكتريا المختلطة التغذية والبكتريا المتطبعة على البيئة الملوثة لكون غالبية البكتريا هي محبة للعيش في البيئة المعتدلة الأس الهيدروجيني مما يجعلها

أكثر ملائمة لنشاطها في هذه البيئة وهذا يتفق مع ما جاء به (Sarkar وآخرون 2013)

أظهرت نتائج دراسة الحالية أن ملوحة نهر دجلة تراوحت بين (0.5 - 0.7) ملغم /لتر لشهر تشرين الأول وكانون الثاني ونيسان في المحطة الأولى وتراوحت نسبة الملوحة بين (0.5 - 0.6) ملغم /لتر لشهر تشرين الأول ، كانون الأول ، نيسان على التوالي للمحطة الثانية ، وتراوحت أيضا بين (0.5 - 0.7) ملغم /لتر لشهر تشرين الأول ، وكانون الثاني و نيسان ، على التوالي للمحطة الثالثة ، ان التغيرات في نسبة الملوحة للمواقع الثلاثة يرجع بسببه أن مياه النهر في فصل الخريف تتحدر أكثرها من السدود حيث تسبب ارتفاع بسيط في نسبة الملوحة ، أما في الفصل البارد فتساقط الأمطار يسبب تخفيف نسبة الملوحة الى (0.5) ملغم /لتر ان هذه النسبة من الملوحة تعتبر ملائمة لنمو البكتريا المحللة للنفط الخام لكون غالبية البكتريا محبة للملوحة المتوسطة ، إذ تعد زيادة ملوحة المياه مؤثر سلبي على نمو البكتريا وبالتالي يخفض من عملية التحلل الحيوي للنفط الخام حيث يتناقص معدل نمو البكتريا، وغالبية البكتريا غير متطبعة على البيئات عالية الملوحة وهذا يتفق مع ما توصل اليه (Zhu و Venosa، 2003) الذي أكد ازدياد فعالية البكتريا المحللة للنفط مع قلة تركيز الملوحة .

اظهرت نتائج COD و BOD أن المؤشرين يدلان على كمية الفضلات الموجودة فكلما زادت كمية الفضلات كان الاستهلاك أكثر مما يقلل بالتالي من كمية الأوكسجين المتبقي أظهرت نتائج الدراسة الحالية الى ارتفاع قيم BOD في المحطات الثلاث حيث تراوح معدل قيم BOD بين (10-13) في المحطة الأولى وتراوحت قيم BOD بين (10-11) للمحطة الثانية وفي المحطة الثالثة تراوحت بين (5-13) وهذا لارتفاع لقيم BOD لمياه المنطقة تحت الدراسة بسبب ارتفاع درجات الحرارة مما يزيد من نشاط الاحياء المحللة للمركبات العضوية وبالتالي يزداد استهلاك الأوكسجين اما قيم COD فشهدت ارتفاعا أكثر من معدل قيم BOD في جميع المحطات حيث تراوحت قيم COD بين (14-18) في المحطة الأولى وبلغت معدل قيم COD بين (12-16) في المحطة الثانية أما في المحطة الثالثة فبلغت قيمتها (12-22) ويرجع سبب الارتفاع في قيم COD الى الأكسدة التامة للمواد العضوية وغير العضوية. (Genovese وآخرون ، 2014).

2-4:تقدير المعادن النزرة والمغذيات في المياه:

تم تقدير المغذيات كالنترات و النتريت و الأمونيا في المحطات الثلاث تحت الدراسة للمياه وكانت النتائج تشير إلى أن نسبة المغذيات في مياه دجلة لها علاقة بفعالية البكتريا المحللة للنفط وكما مبين في الجدول (2-4).

من خلال الدراسة الحالية تبين ان الفاعلية الأيضية للبكتريا تتأثر بالعوامل البيئية من حرارة وأس هيدروجيني ومغذيات كما في جدول رقم (1-4) (2-4) هناك علاقة تربط البكتريا مختلطة التغذية التي تعيش بالرسوبيات ب SO_4, NH_3, NH_4 ، هناك ارتباطات ايجابية مع زيادة درجات الحرارة والأس الهيدروجيني والمغذيات من الفوسفات و النترات، يكون نشاط البكتريا في الموسم الدافئ أكثر فاعلية وزيادة أعدادها بسبب ملائمة درجات الحرارة لفاعلية ونشاط الأنزيمات وكذلك وجود المغذيات من الفوسفات و النترات في المياه والرسوبيات يحفزها على النمو وإتمام عملية التحلل الحيوي وهو يتفق مع ما جاء به (Dasgupta وآخرون 2013)

جدول (2-4) تركيز المعادن النزرة والمغذيات مقدرة بوحدة جزء بالمليون

المحطات	المعادن النزرة والمغذيات	تركيز المغذيات جزء من مليون		
		شهر تشرين الأول	شهر كانون الثاني	شهر نيسان
1	NH_3	0.6	0.4	0.8
	SO_4	83	82	86
	PO_4	4.0	3.5	4.4
	ZINC	0.73	0.68	0.9 5
	NH_4	0.60	0.58	0.8 2
	ZINC	0.8	0.5	0.6
	SO_4	95	94	97

0.8	0.5	0.6	PO ₄	2
0.77	0.58	0.66	NH ₃	
4.9	4.4	4.9	NH ₄	
0.5	0.2	0.3	ZINC	
95	90	98	SO ₄	
1.8	1.5	1.6	PO ₄	3
0.6 0	0.3 8	0.5 1	NH ₃	
2.5	2.1	2.3	NH ₄	

أظهرت نتائج الدراسة الحالية الى توافر المغذيات من الفوسفات و النترات في جميع المحطات تحت الدراسة بكميات تلائم احتياج البكتريا لنموها ونشاطها وهذا يعطينا فكرة وافية عن توفر املاح النتروجين والفسفور . إذ تراوحت تراكيز النترات (0.4- 0.8) (ppm) لشهر تشرين الأول ، وكانون الثاني وشهر نيسان للمحطة الأولى ، و (0.58 - 0.77) لشهر تشرين الاول وكانون الثاني ونيسان للمحطة الثانية ، و (0.51- 0.83) (ppm) لشهر تشرين الاول وكانون الثاني ونيسان ، للمحطة الثالثة ، وبلغت تراكيز الأمونيا (0.58 - 0.82) (ppm) لشهر تشرين الأول وكانون الثاني ونيسان للمحطة الأولى ، وبلغت تراكيز الامونيا (4.4-4.9) (ppm) لشهر تشرين الاول وكانون الثاني ونيسان للمحطة الثانية ، وبلغت تراكيز الامونيا (2.1- 2.5) (ppm) لشهر تشرين الاول كانون الثاني ، نيسان ، وبلغت تراكيز الفوسفات (4.4-3.5) (ppm) لشهر تشرين الاول وكانون الثاني ونيسان ، المحطة الاولى ، وبلغت تراكيز الفوسفات (0.5-0.8) (ppm) لشهر تشرين الاول وكانون الثاني ونيسان ، المحطة الثانية ، وبلغت تراكيز الفوسفات (1.5-1.8) (ppm) لشهر تشرين الاول وكانون الثاني ونيسان ، المحطة الثالثة ، وأن هذه التراكيز تمكن البكتريا من القيام بفعاليتها بصورة اعتيادية في البيئة ، ان العديد من الدراسات التي تعنى بآزالة التلوث النفطي بالطرق البايولوجية تؤكد على اضافة المغذيات النتروجينية والفسفورية

الى المناطق الواقع فيها التسرب النفطي لرفع مستويات المغذيات في هذه المناطق بسبب استهلاكها السريع من قبل الأحياء المجهرية خلال فترة تعرض البيئة للتلوث والذي يؤدي الى اختلال التوازن الطبيعي للبيئة وهذا يتفق مع ما أشار اليه (Hernandez، 2008)

3-4: عزل وتشخيص البكتريا المحللة للنفط الخام :

تم في الدراسة الحالية عزل (82) عذلة من مجموع عينات الماء والرسوبيات والبالغة (32) عينة ماء و(32) عينة رسوبيات . للمحطة الواحدة وكما مبينة في الجدول رقم (3-1) شخصت تلك العزلات وفقا للـ (Cowan و Steel، 2004) كما مبين في الجدول (3-4). من حيث حجم المستعمرة ولونها وحافتها ولزوجتها وقطرها وارتفاعها وشفافيتها ومن ثم صبغت العزلات المختارة عشوائيا بصبغة كرام وكانت البكتريا السائدة سالبة الصبغة ، عصوية الشكل ،تميزت مستعمراتها بانتاج رائحة مميزة تدل على إنها من العصويات الكاذبة *Pseudomonas* وعند إجراء الأختبارات البايوكيميائية عليها، حسب جدول رقم (3-4)

أكدت دراسات سابقة قام بها (Beckes و Seagren، 2010) أن البكتريا الموجودة في الرسوبيات لها قدرة وكفاءة على استخدام الكربون الموجود في النفط كمصدر طاقة لها ، أما البكتريا الموجودة في الماء والتي تبدي تحلا ضعيفا للنفط والتي تشير الى أنها لا تملك الأنزيمات القادرة على المعالجة الحيوية للنفط الخام وليس هو المصدر الوحيد للطاقة لها . (Brooijmans وآخرون، 2009) .

جدول (3-4) الفحوصات البايوكيميائية والزرعية المجهرية التي أجريت على العزلات قيد الدراسة وحسب (Cowan و Steel ، 2004) .

الفحوصات	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.florescence</i>	<i>P.putida</i>
Colony color	Green	Green	Green
Shape	Rod	Rod	Rod
Gram stain	—	—	—
Motility	+	+	+
Indole production	—	—	—
Methyl red	—	—	—
Urease test	+	+	+
Oxidase test	+	+	+
Catalase test	+	+	+
Gelatinase test	+	+	—
Growth at 37°C	+	+	+
Growth at 42°C	+	—	—
Manitol	+	+	—
Growth in MacConkey agar	+	+	+
Glucose	+	+	+
Sucrose	+	+	+
Citrate	+	+	+
King A	+	—	—
King B	—	+	—

وجد أن نسبة *Pseudomonas aeruginosa* 55% و *Pseudomonas florescence* 20% وأخيرا *Pseudomonas Putid* 7% وتم حساب العينات المأخوذة من المحطات الثلاث حسب الجدول (4-4).

جدول (4-4) عدد ونسبة العزلات حسب نوع العينة (الرسوبيات والمياه)

العدد	رسوبيات	العدد		اسم البكتريا
		مياه		
67	55	العدد	العدد	P.aeruginosa
		68.2	40	
24.4	20	22.7	15	P.florescence
8.5	7	9	5	P.putida
99.9	82	99.9	60 %	المجموع

4-4:دراسة تأثير العوامل البيئية على سرعة تحليل النفط الخام بواسطة بكتريا

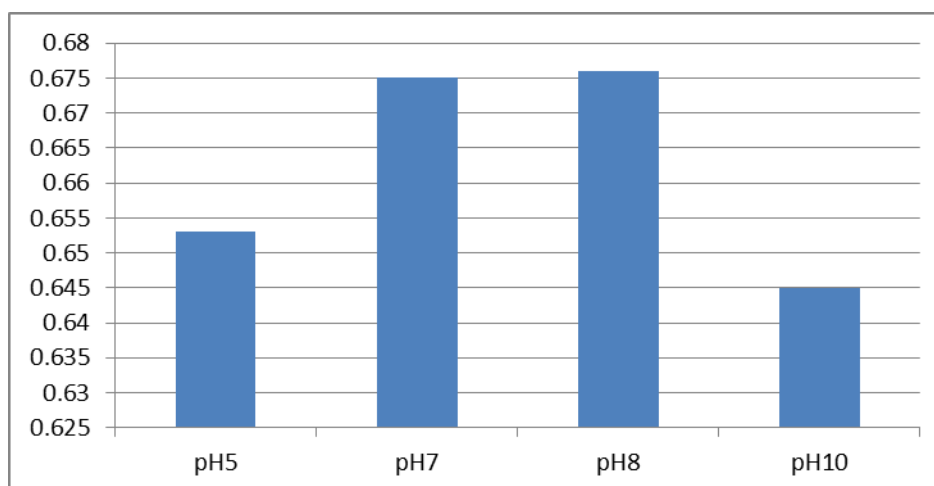
Pseudomonas aeruginosa

1-4-4 دراسة تأثير الأس الهيدروجيني (pH).

يعد الوسط الزراعي من الخصائص المهمة لنمو الأحياء المحللة للنفط الخام حيث يؤثر على معدل النمو. تم في الدراسة الحالية دراسة الأس الهيدروجيني الأمثل لنمو بكتريا *P.aeruginosa* وأظهرت نتائج الأس الهيدروجيني (4,5,7,8,10) وتم قياس النمو بعد 24,48,72 ساعة. تم قياس نمو الأحياء المحللة للنفط متمثلا بالكثافة النوعية ((OD)Optical density بواسطة جهاز UV Visipile Spectrophotometer عند 600 نانوميتر أظهرت النتائج كما في جدول (5-4)

الجدول (4-5) كثافة نمو بكتريا *P.aeruginosa* معبرا عنها بمقدار الامتصاص على الطول الموجي 600 نانومتر بعد التنمية على الوسط الغذائي عند مستويات مختلفة من الأس الهيدروجيني (4,5,7,8,10) وعند درجة حرارة نمو (37م°) لمدة 72 ساعة

وقت الحضن (ساعة)	الأس الهيدروجيني pH				
	4	5	7	8	10
	الفعالية (الكثافة النوعية)				
24	0.641	0.651	0.660	0.666	0.634
48	0.663	0.653	0.675	0.676	0.645
72	0.605	0.630	0.642	0.642	0.620



الكثافة البصرية

الاس الهيدروجيني

شكل (4-1) كثافة نمو بكتريا *P.aeruginosa* معبرا عنها بمقدار الامتصاص على الطول الموجي 600 نانومتر بعد التنمية على الوسط الغذائي عند مستويات مختلفة

من الأس الهيدروجيني (4,5,7,8,10) وعند درجة حرارة نمو (37م°) لمدة 72 ساعة مختلفة

تم في هذه التجربة تثبيت كافة الظروف فيما عدا تغير الزمن والأس الهيدروجيني pH. كما مبين في الشكل (4-1) والجدول (4-5) أظهرت النتائج إن الأس الهيدروجيني الأمثل لنمو بكتريا *P.aeruginosa* هو الطبيعي المتعادل الذي يتراوح ما بين (7-8) pH حيث ظهرت أعلى كثافة نوعية بلغت عند الأس الهيدروجيني (٧)

(0.660) وعند الأس الهيدروجيني 8(0.666) في أول 24 ساعة من النمو وازدادت الكثافة النوعية في اليوم الثاني بسبب مرور البكتريا في طور الأسى وكذلك لتطبع البكتريا على الوسط حيث تزداد أعدادها مع ملائمة الوسط لها حيث ساعدت هذه القيمة إلى الوصول إلى أعلى مستوى للنمو كما سجل (Jain وآخرون، 2010) عند دراسة تأثير تغيرات الأس الهيدروجيني على نمو البكتريا المحللة للنفط ارتفاع الكثافة النوعية للبكتريا عند الأس الهيدروجيني الطبيعي أو القريب من الطبيعي لها ولفاعلية الأنزيمات بينما انخفضت الكثافة النوعية بعد مرور 72 ساعة من الحضان ويرجع سبب الانخفاض إلى تناقص فعالية البكتريا ونشاط الأنزيمات في الوسط بسبب عدة عوامل منها تناقص المغذيات واستهلاكها للالكانات الاعتيادية من قبل البكتريا وكذلك نواتج الأيض سببت حدوث وسط حامضي خفض من فاعلية البكتريا وكبح نشاط الأنزيمات. وهذا يتفق مع ما جاء به (Adeyemi وآخرون، 2004)

تتفق هذه النتيجة مع ما جاء به (Das وChandran، 2011) والذين أكدوا في دراستهم أن الأس الهيدروجيني الأمثل لنمو بكتريا *P.aeruginosa* هو الطبيعي الذي يتراوح ما بين (7-8) pH

إن رفع مستوى الأس الهيدروجيني إلى pH (4) كون وسط حامضي غير ملائم لنمو الأحياء المحللة للنفط الخام، وهذا بدوره أدى إلى تناقص نمو الأحياء المحللة للنفط وتناقص إفراز الأنزيمات المحللة للهيدروكربونات Biosurfactan، ولذلك أصبحت الكثافة النوعية منخفضة بنسبة 0.641 عند pH (4) في اليوم الأول وازدادت الكثافة النوعية في اليوم الثاني بلغت

(0.663) ثم تباطأت بعدها في اليوم الثالث وبقيت نسبة الكثافة النوعية منخفضة مقارنة مع معدل الكثافة النوعية عند المستوى الـ pH القريب من الأس الهيدروجيني الطبيعي

أظهرت نتائج خفض قيم الأس الهيدروجيني pH الى (5) زيادة في الكثافة النوعية بشكل أكثر بقليل في اليوم الأول بلغت (0.651) والثالث بلغت (0.630) وهذا يدل على إن البكتريا بدأت تتطبع على الوسط وازداد نموها قليلا وبذلك ازدادت للكثافة النوعية للأحياء النامية في الوسط الزراعي. وهذا يتفق مع ما أشار اليه (Ajoku وOduola، 2013) إلى ازدياد الكثافة النوعية عند خفض مستوى الأس الهيدروجيني واقترابه من الأس الهيدروجيني الطبيعي. أما في الوسط القاعدي فقد انخفضت معدل الكثافة النوعية فيه مقارنة مع معدل الكثافة النوعية في الوسط الطبيعي لذلك لا يعتبر وسط ملائم لنمو وزيادة الكثافة النوعية للأحياء المحللة للنفط حيث ان الكثافة النوعية عند pH (10) في اليوم الأول بلغت 0.634 وفي اليوم الثاني بلغت 0.645 وهذه النسبة تعد منخفضة مقارنة مع الكثافة النوعية عند الأس الهيدروجيني الطبيعي لذلك لا يعتبر مثالي لنشاط الأنزيمات وهذا يتفق مع ما توصل إليه (Xia وآخرون. 2012).

2-2-4: المغذيات. Nutrients

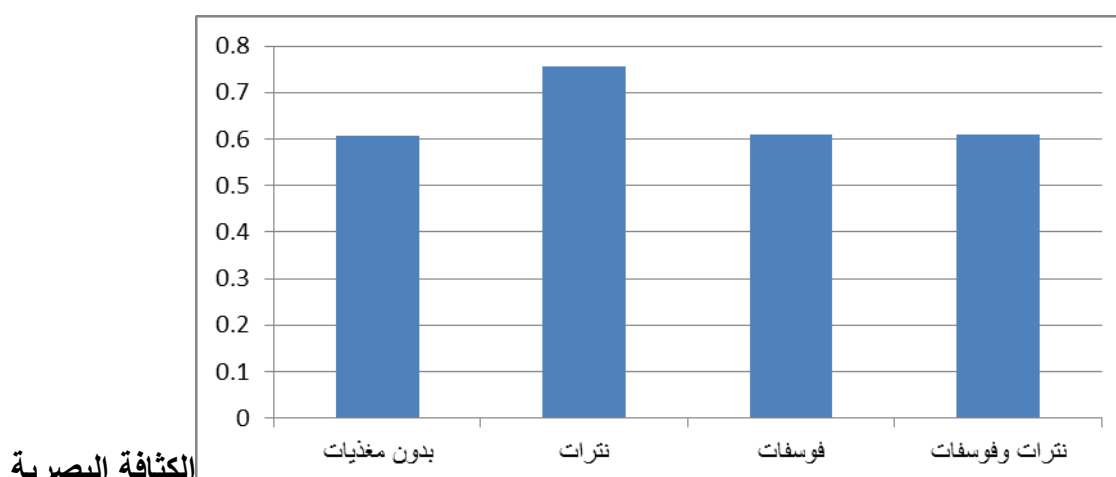
يعتبر الفسفور والنيتروجين من العناصر المهمة والضرورية في بناء الكتلة الحية حيث يدخل الفسفور في بناء الجدار الخلوي ومصدر رئيسي في مركبات الطاقة المتمثلة ATP أما النيتروجين فيدخل في بناء البروتين و العضيات الخلوية (Rezende وآخرون. 2012).

أستخدم في دراسة الحالية عدد من المغذيات لمعرفة مدى تأثيرها على نمو الأحياء المحللة للنفط الخام ومن هذه المغذيات الفوسفات و النترات (Sorkhoh وآخرون. 1990). كما مبينة في الجدول (6-4)

الجدول رقم (6-4) كثافة نمو بكتريا *P.aeruginosa* معبرا عنها بمقدار الامتصاص على الطول الموجي 600 نانوميتر بعد التنمية في الوسط الغذائي على الفوسفات و النترات بدرجة حرارة 37°م لمدة 72 ساعة

وقت الحضانة	الكثافة النوعية			
	بدون مغذيات	نترات	فوسفات	نترات ونترات
24 ساعة	0.367	0.386	0.393	0.382
48 ساعة	0.609	0.757	0.611	0.611
72 ساعة	0.605	0.616	0.620	0.600

تم قياس نمو الأحياء المحللة للنفط متمثلاً بالكثافة النوعية (OD) باستخدام جهاز Visipile Spectrophotometer (بواسطة جهاز UV عند 600 نانومتر) وحسب الشكل رقم (2-4).



المغذيات

شكل (2-4) كثافة نمو بكتريا *P.aeruginosa* معبرا عنها بمقدار الامتصاص على الطول الموجي 60 نانومتر بعد التنمية في الوسط الغذائي (نترات الأمونيوم ، وفوسفات البوتاسيوم) بقيمة (0.4) ملغم/100مل وعند درجة حرارة نمو (37°م) لمدة 72 ساعة

توافقت نتائج دراسة الحالية مع نتائج (Atlas و Bartha, 2006)، الذين أشاروا إلى أهمية استعمال المغذيات كمحفزات لزيادة نمو البكتيريا المحللة للنفط الخام، لأنها ضرورية في بناء العضيات الحية للخلية البكتيرية.

أظهرت نتيجة إضافة نترات الأمونيا بقيمة (0.4) ملغم / 100 مل إلى الوسط الزراعي إلى زيادة الكثافة النوعية للأحياء المحللة للنفط الخام بشكل ملحوظ في اليوم الأول بقيمة 0.386 مقارنة مع العينات التي لم يضاف لها مغذيات وازدادت الكثافة النوعية للأحياء بعد 48 ساعة بسبب مرورها بطور النمو الأسّي، ثم انخفضت الكثافة النوعية في اليوم الثالث بسبب كبح نشاط الانزيمات واستهلاك البكتيريا لمصادر الطاقة من الالكانات الاعتيادية ذات الوزن الجزيئي الخفيف وزيادة معدل الأس الهيدروجيني الناتج من أيض الخلايا البكتيرية وتحرر CO_2 إلى الوسط. وهذا يتفق مع ما جاء به (Atlas و Bartha, 2006).

تشير نتائج الدراسة الحالية إلى زيادة الكثافة النوعية للبكتيريا المحللة للنفط الخام عند إضافة الفوسفات بقيمة (0.4) ملغم / 100 مل إلى الوسط الزراعي بمعدل أكثر حيث وصلت إلى 0.393 بعد 24 ساعة من الحضان ثم ازدادت بعد 48 ساعة إلى 0.611 وهذا يؤكد زيادة نشاط فعالية البكتيريا عند إضافة مركبات الفوسفات لها واستغلالها كخزين للطاقة على شكل مركبات ATP وكذلك لبناء الجدران الخلوية وهذا يتفق مع ما أشار إليه (Sang وآخرون, 2007)

أما عند دمج المغذيات النترات والفوسفات بقيمة (0.4) ملغم / 100 مل سوية بنفس الكمية وإضافتها إلى الوسط ازدادت الكثافة النوعية مقارنة مع العينات التي لم يضاف لها مغذيات إلى الوسط بشكل واضح إذ بلغت (0.382) خلال 24 ساعة بينما ظهر فرق معنوي بسيط مقارنة مع إضافة الفوسفات و النترات بشكل منفرد بعد 48 ساعة بلغت (0.611) وهذا يدل على أن الأحياء تتأثر بوجود المغذيات وتستغلها في بناء عضياتها الخلوية وزيادة أعدادها وبالتالي زيادة نشاطها في طرح الأنزيمات المحللة للنفط الخام. وهذا يتفق مع دراسات سابقة قام بها (Sang وآخرون, 2007) حيث أشاروا إلى زيادة الكثافة النوعية للبكتيريا المحللة للنفط الخام عند إضافة المغذيات إلى الوسط الزراعي بسبب زيادة حث البكتيريا المحللة للنفط الخام على النمو وبالتالي زيادة في استهلاك الهيدروكربونات كمصدر للطاقة وزيادة افراز الأنزيمات التي تقلل

من الشد السطحي وتسهل ذوبان الهيدروكربونات في الماء (الاستحلاب) مما يزيد من امكانية استهلاكها من قبل البكتريا .

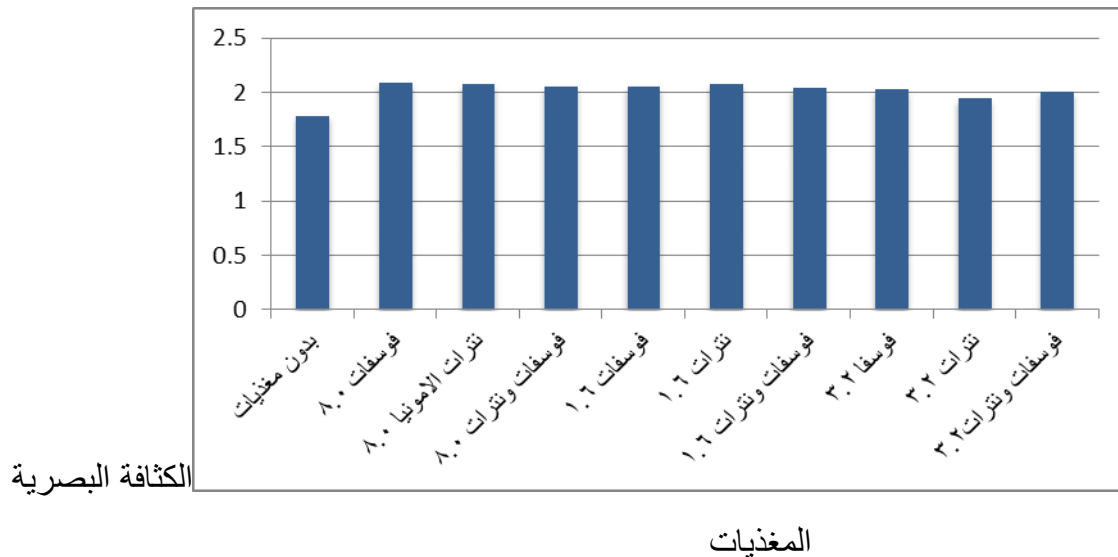
3-4-4: مضاعفة المغذيات :

تم مضاعفة كمية المغذيات من الفوسفات و النترات عدة مرات لمعرفة مدى تأثيرها على زيادة نمو الأحياء المحللة للهيدروكربونات وزيادة عملية التحلل الحيوي حيث تضاعفت النسبة كالآتي .(0.8ملغم، 1.6غم، 3.2غم) لكل 100مل لكلا الفوسفات و النترات حسب الجدول رقم (7-4)

كما هو موضح في الجدول (7-4) والشكل (3-4) أظهرت نتائج دراسة الحالية ارتفاع معدل الكثافة النوعية للبكتريا النامية عند إضافة الفوسفات ، بقيمة (0.8)ملغم /100مل إلى 0.706 بعد 24ساعة من الحضانة ، وارتفعت بعد 48 ساعة حيث بلغت 0.711 ثم انخفضت الكثافة النوعية بعد 72ساعة حيث بلغت 0.673، ويعزى هذا الانخفاض إلى انخفاض نشاط الأنزيمات بسبب التغيرات الفيزيائية والكيميائية للوسط من ارتفاع في معدل الأس الهيدروجيني نتيجة ايض البكتريا وكذلك استهلاك المواد الغذائية مما أدى إلى كبح نشاطها . أن هذه الكمية من الفوسفات أسهمت في زيادة الكثافة النوعية بشكل ملحوظ مقارنة مع العينات التي لم يضاف لها مغذيات، كما أن معدل الكثافة النوعية شهد ارتفاعا أيضا عند اضافة النترات بقيمة 0.8 ملغم / 100مل الي الوسط حيث بلغت الزيادة 0.698 بعد 24ساعة ،أي أن هنالك فرق معنوي بالارتفاع مقارنة مع العينات التي لم يضاف لها مغذيات وبعد 48ساعة بلغت 0.670، وظهر هنالك ارتفاع في الكثافة النوعية عند خلط المغذيات من الفوسفات و النترات بقيمة (0.8)ملغم لكلاهما معا مقارنة مع العينات التي لم يضاف لها المغذيات حيث بلغت 0.690 في اليوم الاول و(0.663) في اليوم الثاني

جدول (7-4) كثافة نمو بكتريا *P.aeruginosa* معبرا عنها بمقدار الامتصاص على الطول الموجي 600 نانوميتر بعد التنمية في الوسط الغذائي (نترات الأمونيوم ، فوسفات الصوديوم ، ، وفوسفات البوتاسيوم) وعند درجة حرارة نمو (37م°) لمدة 72 ساعة

نترات	فوسفات	فوسفات	نترات	الفوسفات	بدون مغذيات	مدة الحضانة
(1.6)	ونترات	فوسفات	الامونيا	ت		
	(8.0)		(8.0)	(8.0)		
(1.6)						
الفعالية الكثافة النوعية						
0.691	0.689	0.690	0.698	0.706	0.570	24 ساعة
0.675	0.653	0.663	0.676	0.711	0.609	48 ساعة
0.709	0.708	0.699	0.695	0.673	0.605	72 ساعة
التكملة						
فوسفات ونترات	نترات	فوسفات	فوسفات	فوسفات ونترات	مدة الحضانة	
(3.2)	(3.2)	(3.2)	(3.2)	(1.6)		
الفعالية الكثافة النوعية						
0.675	0.693	0.678	0.687	24 ساعة		
0.668	0.680	0.679	0.684	48 ساعة		
0.660	0.656	0.666	0.672	72 ساعة		



شكل (3-4) كثافة نمو بكتريا *P. aeruginosa* معبرا عنها بمقدار الأمتصاص على طول الموجي 600 نانومتر بعد التتمية في الوسط الغذائي (نترات الأمونيوم ، فوسفات الصوديوم ، وفوسفات البوتاسيوم) بدرجة حرارة 37 م° لمدة 72 ساعة

وهذا يتفق مع (Patowary وآخرون 2014) حيث أشاروا في دراستهم إلى أن زيادة كمية المغذيات من الفوسفات والنترات تساهم في حث البكتريا على النمو وإفراز الأنزيمات التي تقلل من الشد السطحي بين النفط والماء لتزيد من ذوبان الهيدروكربونات مما تزيد من مساحة السطح المعرض للأستهلاك من قبل البكتريا

تم ملاحظة ارتفاع بطيء بالكثافة النوعية عند مضاعفة كمية الفوسفات والنترات بنسبة عند (1.6)غم/100مل و(3.6)غم/100مل بفرق معنوي بسيط مقارنة مع المغذيات بقيمة (0.8) ملغم-100مل وهو ما يتفق مع ما جاء به (Okrentngba وEzeronge 2003) حيث أشاروا إلى أن الكثافة البصرية تتباطئ مع ازدياد المغذيات بكميات عالية . كما أشار (Ghazali وآخرون 2004) إلى التأثير الايجابي للمغذيات في زيادة الكثافة النوعية للأحياء المحللة للهيدروكربونات لأنها تساهم في نمو البكتريا كمصدر للطاقة مما يزيد من نشاطها لإفراز الأنزيمات وزيادة كفاءتها في إزالة التلوث .

ويتفق مع (Juliane و Schaefer, 2007). الذين اشار الى ان ازدياد الكثافة النوعية للأحياء المحللة للنفط يزيد من قابليتها على إفراز الأنزيمات المحللة للهيدروكربونات واستهلاك الكربون كمصدر للطاقة والتخلص من التلوث أشار (Coulon وآخرون, 2005) الى ان هناك قيمة موجبة ودليل على كفاءة إضافة المغذيات في إزالة التلوث بعملية المعالجة الحيوية وان وفرة المغذيات يعد عامل محفز لزيادة المعالجة الحيوية حيث أظهرت التجربة زيادة في استهلاك الهيدروكربونات عند مضاعفة كمية المغذيات ويتفق أيضا مع (Juliane و Schaefer, 2007) حيث استخدموا مركبات الفوسفات و النتترات كمغذيات واقترحوا ان المركبات الملحية الذائبة تزيد من معدل التحلل الحيوي لمركبات ال-PAHs. لكن عند مضاعفة كمية المغذيات أكبر يؤدي الى تناقص أعداد الأحياء المجهرية بسبب تراكم المغذيات والذي يؤثر سلبا على نمو البكتريا

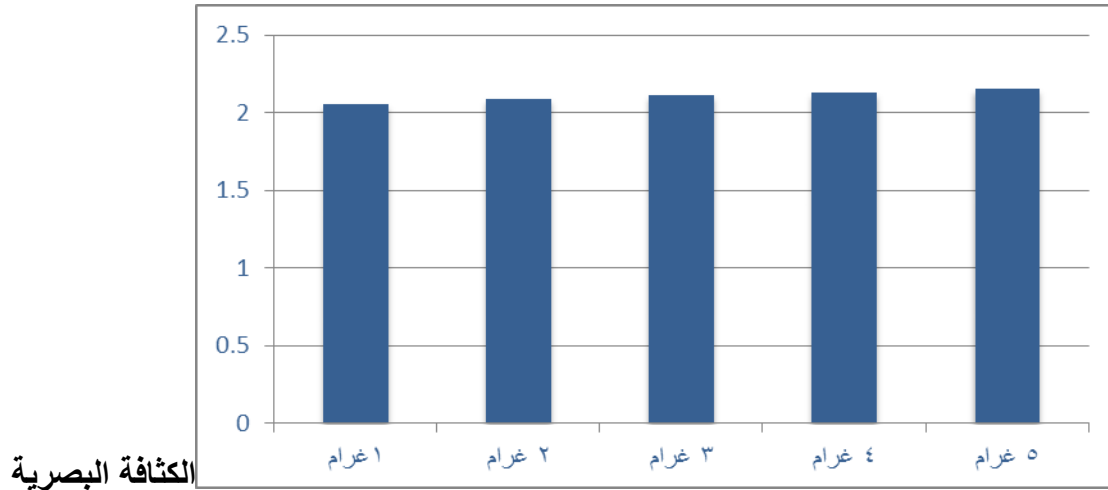
4-4-4 اليوريا: Urea

تحتاج البكتريا إلى العديد من المغذيات لنموها والحفاظ على إستمراريتها. وفي دراسة الحالية استخدمنا عدة مركبات لأملاح النتروجين كمغذيات حيث ساهمت في زيادة الكثافة البصرية للبكتريا المحللة للنفط الخام ومنها اليوريا كمصدر للنتروجين الذي يدخل في تركيب العديد من العضيات الحية للخلية البكتيرية. وظهرت النتائج حسب الجدول رقم (4-8)

جدول (4-8) كثافة نمو بكتريا *P.aeruginosa* بكتريا *P. aeruginosa* معبرا عنها بمقدار الأمتصاص على الطول الموجي 600 نانوميتر بعد التنمية في الوسط الغذائي (اليوريا) وعند درجة حرارة نمو (37م°) لمدة 72 ساعة

بدون مغذيات فترة الحضانة	1 غرام	2 غرام	3 غرام	5 غرام
	100/مل	100/مل	100/مل	100/مل
الفعالية الكثافة النوعية				
24 ساعة	0.695	0.708	0.711	0.717
				0.725

48 ساعة	0.689	0.704	0.724	0.721	0.735
72 ساعة	0.668	0.676	0.676	0.688	0.690



اليوريا بالغرام

شكل (4-4) كثافة نموبكتريا *P. aeruginosa* معبرا عنها بمقدار الامتصاص على الطول الموجي 600 نانومتر بعد التنمية في الوسط الغذائي (اليوريا) وعند درجة حرارة نمو (37م°) لمدة 72 ساعة

أظهرت نتائج دراسة الحالية كما هو واضح في الشكل (4-4) زيادة في الكثافة النوعية للبكتريا المحللة للنفط الخام عند إضافة اليوريا بقيمة (1)غم/100مل بعد مرور 24 ساعة من الحضانة مقارنة مع العينة التي لم يضاف لها مغذيات وسرعان ما ازدادت الكثافة البصرية عد 48 ساعة حي بلغت 0.704 بسبب تطبعها على الوسط تباطأت الكثافة النوعية بعد 72 ساعة من الحضانة إذ بلغت 0.676 بسبب التغيرات الفيزيائية التي حدثت للوسط من ارتفاع معدل الأس الهيدروجيني الناتج من أيض البكتريا والذي سبب كبح لنشاك الأنزيمات وفعاليتها في الوسط وكذلك استهلاك المواد الغذائية المتمثلة بالألكانات البسيطة للنفط الخام وهذا يتفق مع ما جاء به (Shults وآخرون 2001).

يتفق أيضا مع (Omry وآخرون. 2003). إذ أشاروا إلى استخدام اليوريا التي تعتبر كمصدر للنتروجين للبكتيريا المستهلكة للنفط الخام في تحفيز زيادة نموها لزيادة كمية النفط المستهلكة .

أما عند زيادة كمية اليوريا الى (3)، (2) غم / 100 مل فقد ظهر ارتفاع في معدل الكثافة النوعية لكن ليس بفرق معنوي كبير في أول 24 ساعة مقارنة مع العينات التي لم يضاف لها مغذيات. بينما أرتفع معدل الكثافة النوعية بعد 48 ساعة ويعزى هذا الارتفاع بسبب طور النمو الأسّي و انقسام الخلايا .

أما عند إضافة 5 غرام / 100 مل من اليوريا فقد ظهر ارتفاع في معدل الكثافة النوعية خلال 24 ساعة من الحضان بلغت 0.725 مقارنة مع العينة التي لم يضاف لها اليوريا كمغذيات بسبب تطبع البكتيريا على الوسط الغذائي. ثم ازدادت خلال 48 ساعة حيث وصلت الكثافة النوعية الى 0.735. بسبب النمو والانقسام وانخفضت الكثافة النوعية عد 72 ساعة بسبب التغيرات الفيزيائية والكيميائية للوسط

تبين من النتائج أن بكتيريا *P.aeruginosa* قد أعطت أعلى نمو بدلالة الكثافة البصرية عند اضافة (5) غم / 100 مل (0.725) حسب جدول رقم (4-8) وتعزى الزيادة في الكثافة النوعية الى وجود اليوريا في الوسط التي حفزت البكتيريا على النمو باعتبارها مصدرا للنتروجين الذي تحتاجه البكتيريا للنمو . تستهلك بكتيريا *P. aeruginosa* الهيدروكربونات البسيطة كمصدر للطاقة أولا ثم المركبات الأصعب تركيبا مثل المركبات الهيدروكربونية متعددة الحلقات PAHs. ويتم ذلك بفعل الأنزيمات التي تمتلكها البكتيريا ،اذ ان بكتيريا *P.aeruginosa* هي سالبة لصبغة كرام ويتميز غلافها بأحتوائه على الدهون التي تمكنها من الحصول على أكبر كمية من المركبات الهيدروكربونية من البيئة ثم أكسدها واستغلالها مصدر للكربون (Chikere وOkpokwasili، 2003)

كما اشار (Ramazzina وآخرون، 2006) هناك الكثير من البكتيريا التي تعيش في وسط ال Uric acid والنفط الخام والتي تستخدم اليوريا كمصدر للنتروجين والنفط الخام كمصدر للكربون

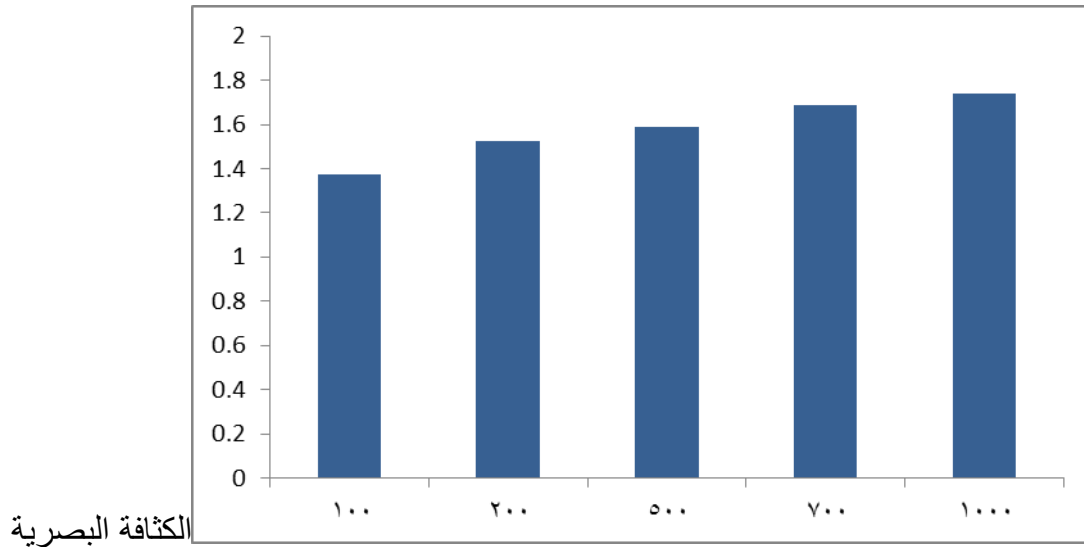
5-4-4: تركيز النفط الخام Oil Concentration

تعتبر بكتريا *P. aeruginosa* من اكفأ انواع البكتريا التي تستغل الكربون كمصدر للطاقة لقابليتها العالية على استهلاكه بسبب افرازها للأنزيمات التي تقلل الشد السطحي لتزيد من ذوبان الهيدروكربونات لتزيد من المساحة المعرضة للاستهلاك من قبل البكتريا (Patowary، وآخرون، 2016)

أظهرت نتائج دراسة الحالية حسب الجدول رقم (9-4) والشكل رقم (5-4)

جدول (9-4) كثافة نمو بكتريا *P.aeruginosa* معبرا عنها بمقدار الأمتصاص على الطول الموجي 600 نانوميتر عند أحجام مختلفة من النفط الخام (100, 200, 500, 700, 1000 مايكروليتر وعند درجة حرارة نمو (37°م) لمدة 72 ساعة

الوقت	تركيز النفط الخام مقدرة بالمليكروليتر				
الحضن	100	200	500	700	1000
	الكثافة النوعية				
24 ساعة	0.616	0.606	0.605	0.618	0.638
48 ساعة	0.497	0.516	0.521	0.557	0.572
72 ساعة	0.258	0.404	0.464	0.511	0.528



تركيز النفط الخام

شكل (5-4) كثافة نمو بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* عند احجام مختلفة من النفط الخام (100,200,500,700,1000) مايكروليتر وعند درجة حرارة نمو (37م°) لمدة 72 ساعة

تم في داسة الحالية دراسة الظروف المثلى لنمو لبكتريا *P.aeruginosa* في احجام مختلفة من النفط الخام بتثبيت الظروف التالية من اس هيدروجيني طبيعي (7) والزمن ثلاث ايام حيث ظهرت نتيجة أعلى معدل للكثافة النوعية عند (1000)مل حيث بلغت (0.638) بعد 24 ساعة بينما كانت الكثافة النوعية منخفضة مع انخفاض تركيز النفط الخام حيث بلغت (0.708) عند حجم (100)مل وسرعان ما ارتفعت الكثافة النوعية بعد 48 ساعة بسبب نمو البكتريا وتطبعها على الوسط وكذلك استغلال الهيدروكربونات كمصدر للكربون وتتفق هذه النتائج مع (Vijay وآخرون.2014) اشار الى ان الزيادة في تركيز النفط الخام يزيد من الكثافة النوعية للبكتريا المحللة للنفط ، كما ان لبكتريا.

P.aeruginosa قدرة عالية على تخفيض واستهلاك الهيدروكربونات ، و لا تتفق هذه النتيجة مع (Sathishkumar وآخرون، 2008).الذين اشاروا الى انخفاض الكثافة البصرية مع زيادة تركيز النفط الخام

5-4 : استخدام الطرق الكيميائية غير المتخصصة (الطريقة الوزنية)

إن تفكك هيدروكربونات النفط الخام وتحللها تعد ذات فائدة عظيمة لتحويلها الى أصناف أخرى أقل سمية وأقل خطرا على البيئة. (XU، 2001) وتتوقف قابلية التحلل الحيوي على المادة الهيدروكربونية الخاضعة للتحلل وعلى نشاط المجتمع البكتيري (Hamme وآخرون، 2000).

تم من خلال دراسة الحالية قياس معدل تحلل النفط الخام باستخدام الطريقة الوزنية وذلك عن طريق قياس الفرق وزن كمية النفط الخام المضاف الى الوسط الزراعي المستخدم قبل وبعد تنمية العزلة البكتيرية المستخدمة في الدراسة حسب طريقة (Lin و Gandesh، 2009) حيث تم قياس النسبة المئوية لمعدل تحلل النفط الخام بفعل بكتريا *P. aeruginosa* ودراسة تأثير إضافة المغذيات من الفوسفات و النترات بقيمة (0.8) ملغم /مل لتحفيزها على استهلاك النفط الخام وكذلك استخدام أس هيدروجيني يتراوح بين (4,5,7,8,10).

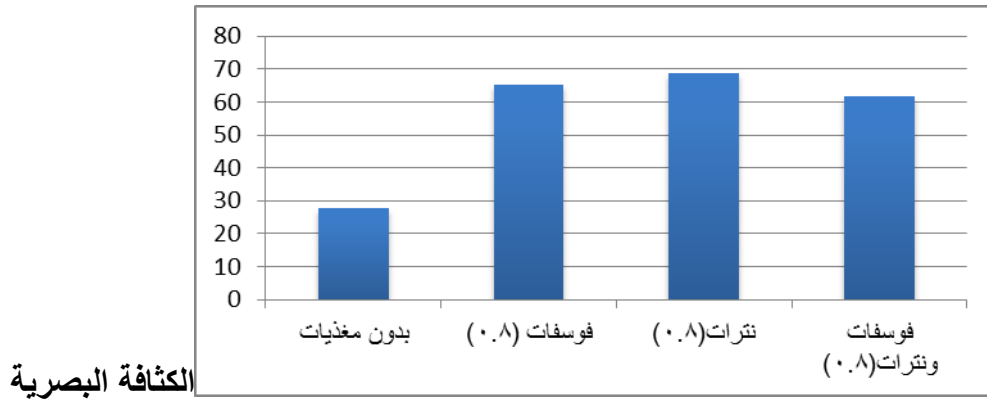
بينت نتائج الطريقة الوزنية Gravimetric method والمدرجة في الجدول رقم (4-10)

جدول (4-10) النسبة المئوية لتحلل النفط الخام بواسطة بكتريا *P. aeruginosa* بالطريقة الوزنية

العينات	وزن النفط الخام غير المعالج (غم)	وزن النفط الخام المتبقي غير المحلل (غم)	وزن النفط الخام المتحلل بفعل العزلة البكتيرية (غم)	النسبة المئوية لتحلل النفط الخام %
بدون مغذيات	0.8462	0.6 112	0.235	27.7712
فوسفات (0.8)	0.8462	0.2940	0.6525	65.2564
ملغم/100مل				
نترات (0.8)	0.8462	0.2636	0.5826	68.8489
ملغم/100مل				

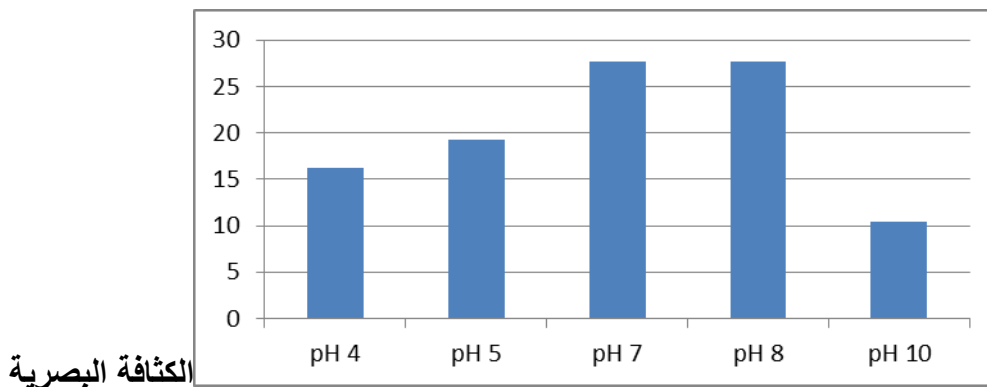
61.5220	0.5 206	0.3256	0.8462	فوسفات ونترات(0.8) ملغم/100مل
16.2727	0.13 77	0.7 085	0.8462	pH 4
19.28	0.1632	0.68 30	0.8462	pH 5
27.7357	0.2 347	0.6 115	0.8462	pH 7
27.6530	0.234	0.6 122	0.8462	pH 8
10.4230	0.0882	0.7 580	0.8462	pH 10

أن أفضل تحليل للنفط الخام كان عند إضافة المغذيات حيث حدث استهلاك للهيدروكربونات بنسبة 68.8489% عند إضافة النترات بقيمة (0.8) ملغم / 100 مل و 65.2564% عند إضافة الفوسفات بقيمة (0.8) ملغم / 100 مل وعند خلط الفوسفات و النترات معا بنفس القيمة (0.8) ملغم / 100 مل استهلك النفط الخام بنسبة 61.5220% وهذا يدل على ان المغذيات حفزت البكتريا على النمو وإفراز المادة (الأنزيمات) التي تقلل الشد السطحي من خلال تحويل خليط الزيت أو النفط مع الماء الى مستحلب لكي تسهل ذوبان الهيدروكربونات التي تستغلها البكتريا كمصدر للطاقة لها ويتوافق مع ما جاء به (Malik وآخرون. 2012) الذين أشاروا الى ضرورة استخدام المغذيات لزيادة تحفيز البكتريا على استهلاك الهيدروكربونات. حيث أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان الفوسفات حثت البكتريا على النمو بصورة اسرع من النترات مما ادى الى استهلاك الهيدروكربونات أكثر كما هو موضح في الشكل رقم (4-6).



المغذيات

شكل (4-6) النسبة المئوية لتحلل النفط الخام بواسطة بكتريا *P.aeruginosa* بعد التنمية في الوسط الغذائي (نترات الامونيوم و فوسفات البوتاسيوم) عند قيمة (0.8) ملغم / 100مل بالطريقة الوزنية .



الاس الهيدروجيني

شكل (4-7) النسبة المئوية لتحلل النفط الخام بواسطة بكتريا *P.aeruginosa* عند مستويات مختلفة من الـ pH (4,5,7,8,10)

كما أشارت دراسة أخرى لـ (Seo وآخرون 2009) إلى ارتفاع النسبة المئوية لاستهلاك الهيدروكربونات عند إضافة المحفزات لها حيث أثبتت عزلات *P. aeruginosa* إلى استهلاك الهيدروكربونات بكفاءة عالية وعند إضافة المغذيات لها تزداد استهلاك الهيدروكربونات

يعد عامل الأس الهيدروجيني من العوامل المهمة بتأثيره على فعالية الأحياء المحللة للنفط ، الارتفاع أو الانخفاض في معدلات الأس الهيدروجيني يؤثر في المعالجة الحيوية وبالتالي على كمية النفط المستهلكة (Mishra وآخرون، 2001). وظهر نتائج استخدام اس هيدروجيني pH(4) كما في الشكل (4-7) الى انخفاض النسبة المئوية لاستهلاك الهيدروكربونات الى 16.2727 % بسبب حامضية الوسط الغير ملائم لنمو البكتريا المحللة للنفط وهذا يتفق مع (Ahmed, Malik، 2012) حيث أشار إلى إن انخفاض الأس الهيدروجيني pH يسبب انخفاض في استهلاك الهيدروكربونات لأنه يعد وسط حامضي غير ملائم مما يؤدي الى كبح عمل الأنزيمات وبالتالي يخفض من فعاليتها .بينما يحصل استهلاك للنفط بنسبة أعلى عند الأس الهيدروجيني الطبيعي والقريب من الطبيعي . وظهرت نتيجة استخدام اس هيدروجيني قاعدي pH(10) الى انخفاض في النسبة المئوية لاستهلاك الهيدروكربونات بسبب قاعدية الوسط التي تعد وسط غير ملائم لنشاط البكتريا وفعالية الأنزيمات أيضا .

6-4: الاستحلاب Emulsification E24.

إن معدلات التحليل الحيوي للنفط الخام يعتمد على نوع النفط والمركبات الداخلة في تركيبه ، إضافة إلى نوع البكتريا وكذلك المواد المضافة لتعزيز التحلل كمصادر النتروجين والفسفور التي تزيد من قدرة البكتريا في إفراز مواد الاستحلاب (Biosurfactant) وتقلل الشد السطحي وتزيد ذوبان النفط الخام في الوسط، وهذا ما لوحظ بشكل واضح في نتائج الدراسة الحالية والتي استخدم فيها بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* والمبينة في الجدول رقم (4-11)

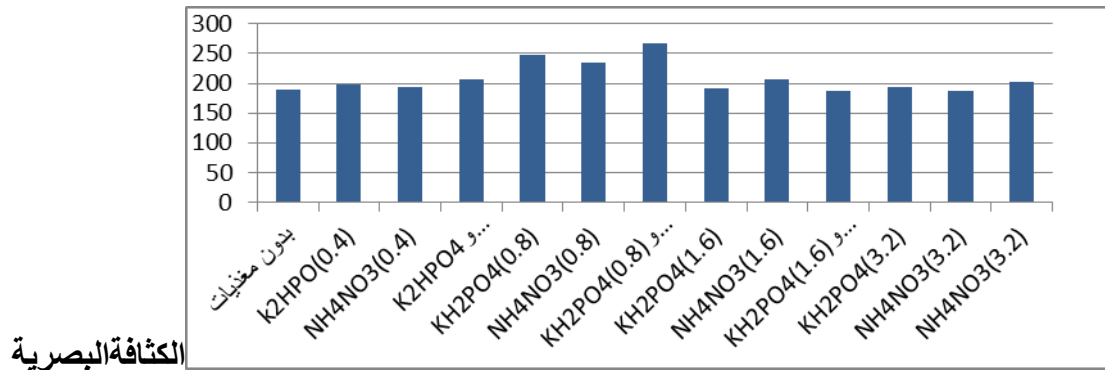
(Gandesh و lin، 2009)

أظهرت نتائج الاستحلاب لنمو البكتريا المحللة للنفط الخام خلال (24,48,120) ساعة على التوالي وكما في الجدول رقم (4-11)

جدول (4-11) فعالية الاستحلاب للعزلة البكتيرية خلال (24,48,120) ساعة على التوالي

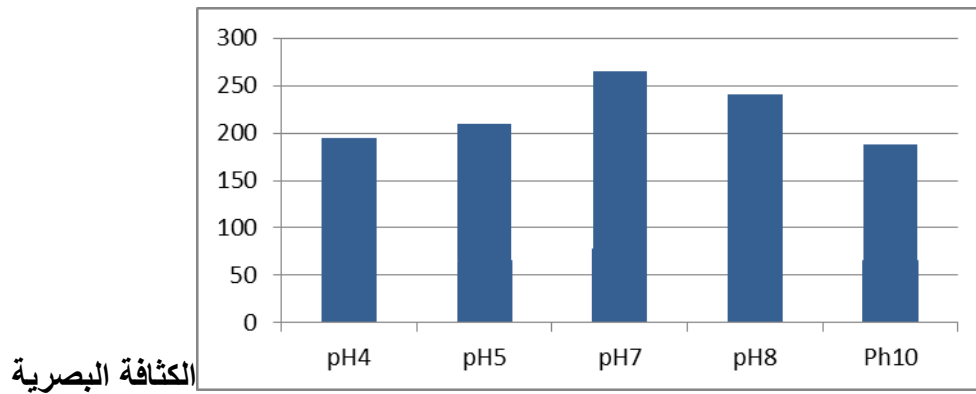
النسبة المئوية للاستحلاب عند E.24% ساعة	النسبة المئوية للاستحلاب خلال % E48 ساعة	النسبة المئوية للاستحلاب خلال E.120 % ساعة	العينات
62.2	64.3	63.33	بدون مغذيات
65.9	67.2	64.1	K ₂ HPO ₄ (0.4)
64	66.4	63.2	NH ₄ NO ₃ (0.4)
70.4	71.1	65.7	K ₂ HPO ₄ NH ₄ NO ₃ (0.4)
88.3	90.1	69.49	KH ₂ PO ₄ (0.8)
84.4	85.1	64.51	NH ₄ NO ₃ (0.8)
92.3	93.2	81.48	NH ₄ NO ₃ (0.8)
63.9	66.1	61.01	KH ₂ PO ₄ (1.6)
68.2	71	66.66	NH ₄ NO ₃ (1.6)
62.7	63.4	61.81	KH ₂ PO ₄ (1.6) NH ₄ NO ₃ (1.6)
64.4	67.1	62.06	KH ₂ PO ₄ (3.2)
63.3	65.3	57.89	NH ₄ NO ₃ (3.2)
68.3	70.2	63.79	KH ₂ PO ₄ (3.2) NH ₄ NO ₃ (3.2)
65	65.7	63.79	pH(4)
70.9	73.1	66.12	pH(5)
88.7	98.5	77.58	pH(7)
80	91.7	69.49	pH(8)
60	62.4	64.91	pH(10)

وكما موضح في الشكل رقم (8-4)



المغذيات

شكل (8-4) فعالية الاستحلاب لبكتريا *P. aeruginosa* عند اضافة مستويات مختلفة من المغذيات (الفوسفات والنترات) في درجة حرارة 37 °م خلال (24 ، 48 ، 120) ساعة.



الاس الهيدروجيني

شكل (9-4) فعالية الاستحلاب لبكتريا *P. aeruginosa* عند اضافة مستويات مختلفة من pH (4,5,7,8,10) خلال (24 ، 48 ، 120) ساعة.

أشار (Vikram وJahangeer, 2003) إلى إن بكتريا *P. aeruginosa* تفرز مواد سكريات شحمية (glycolipid) تزيد من ذوبان المواد الهيدروكاربونية وبالتالي تزيد المساحة السطحية المعرضة للتحلل الحيوي بواسطة البكتريا

أظهرت نتائج الدراسة الحالية إن النسبة المئوية للاستحلاب للعينة التي لم يضاف لها مغذيات 62.20 خلال 24 ساعة من الحضانة ، بينما ظهر ارتفاع في النسبة المئوية للاستحلاب عند إضافة الفوسفات بقيمة (0.4) ملغم (65.9) بينما وصلت النسبة المئوية للاستحلاب إلى 64% عند إضافة النترات بقيمة (0.4) ملغم كمصدر للنيتروجين أما عند خلط المغذيات من الفوسفات و النترات بنفس الكمية (0.4) ملغم ازدادت النسبة المئوية لتصل إلى 70.4 بعد 24 ساعة حضانة هذا يدل على تأثير البكتيريا بوجود المغذيات في الوسط لحثها وتحفيزها لزيادة إفراز المواد التي تقلل من الشد السطحي (Biosurfactant) وهذا يتفق مع ما جاء به (Jacobucci وآخرون 2001).

أشار (Pornsunthorntawe و آخرون 2008) إلى ارتفاع النسب المئوية للاستحلاب زيادة كمية المغذيات المضافة من النترات والفوسفات إلى الوسط الحاوي على البكتيريا المحللة للنفط الخام وهو يتفق مع ما توصلت له الدراسة الحالية حيث شهد ارتفاع في النسبة المئوية للاستحلاب عند مضاعفة الكمية من الفوسفات بقيمة (0.8) ملغم إلى 88.3 أما عند إضافة النترات بقيمة (0.8) ملغم ارتفعت إلى 84.4 وعند مزج الفوسفات و النترات لنفس الكمية 0.8 ملغم ارتفعت النسبة المئوية للاستحلاب لتصل إلى أعلى مستوى لها 92.3 خلال 24 ساعة ثم ازدادت النسبة أكثر بعد 48 ساعة بسبب الطور الاسي الذي تمر به البكتيريا ثم انخفضت نسبة الاستحلاب بعد مضي 120 ساعة بسبب انخفاض فاعلية الأنزيمات ونشاطها التي تأثرت بنواتج أيض البكتيريا التي سببت ارتفاع الأس الهيدروجيني للوسط إضافة إلى استهلاك المغذيات وانخفاض نسبة الأوكسجين بسبب أكسدة الهيدروكربونات. وهذا يتفق مع (Yang, 2011). أما عند مضاعفة المغذيات أكثر لوحظ أن نسبة الاستحلاب ارتفعت بنسبة لم تكن بفرق معنوي عالي

أظهرت نتيجة زيادة كمية المغذيات من الفوسفات والنترات بقيمة (1.6-3.2) غم 100 مل إلى انخفاض النسبة المئوية للاستحلاب كانت عليا مقارنة مع كمية المغذيات بقيمة (0.8) حيث ظهرت 63.9 عند إضافة الفوسفات بقيمة 1.6 غم و 68.2 عند إضافة النترات بقيمة 1.6 ملغم 100 مل وعند خلط الفوسفات و النترات بنفس الكمية انخفضت إلى 62.7 في 24 ساعة ثم ازدادت بعد مرور 48 ساعة بسبب نشاط فعالية البكتيريا والأنزيمات في الوسط وتطبعها في الوسط وهذا

يدل على تأثر البكتريا بمضاعفة المغذيات في الوسط إذ حفزها على النمو ، أما عند مضاعفة كمية المغذيات (الفوسفات و النترات بنسبة (3.2) غم / 100مل يكن هناك فرق معنوي عالي

تستغل البكتريا الفوسفات كمصدر لإنتاج مركبات الطاقة المتمثلة بمركب ATP وكذا لبناء الجدار الخلوي أما أملاح النتروجين فهي مصدر مهم للنتروجين الذي يعد ذا أهمية في بناء عضيات الخلية البكتيرية لذلك تحت المغذيات البكتريا على النمو وإنتاج المواد خارج خلوية (Biosurfactant) التي تقلل من المسافة بين النفط والماء لتقلل شد السطحي وتزيد من ذوبان الهيدروكربونات وبالتالي يزيد استهلاكها من قبل البكتريا باعتبارها مصدر للطاقة

(2007, Funhoff, vanBeilen)

أشار (Zhejiang وآخرون, 2005) إلى ارتفاع النسب المئوية للاستحلاب عند اضافة المغذيات وتشهد ارتفاع أكثر عند زيادة المغذيات وسرعان ما تكبح هذه الزيادة نشاط البكتريا وفعالية عمل الأنزيمات عند مضاعفتها بكميات كبيرة .

يؤثر معدل الأس الهيدروجيني الطبيعي على فعالية الايض الغذائي والنظام الأنزيمي للبكتريا (Eriksson وآخرون. 2006)

أظهرت نتائج الدراسة الحالية إلى ارتفاع النسب المئوية للاستحلاب عند الأس الهيدروجيني الطبيعي 7 و القريب من الطبيعي 8 حيث ظهرت النسبة المئوية 88.7 و 80 على التوالي بعد مدة حضن 24 ساعة وسرعان ما ازدادت النسبة بعد 48 ساعة حيث بلغت 91.7 عند الاس الهيدروجيني 7 بلغت 98,5 ثم انخفضت بعد 120 ساعة

تباينت نتائج النسبة المئوية للاستحلاب في الأوساط ذات الأس الهيدروجيني المختلف حيث شهدت انخفاض في النسبة المئوية للاستحلاب عند الأس الهيدروجيني 4 و 5 مقارنة مع النسبة المئوية للاستحلاب عند 7-8 pH أما في الوسط القاعدي فان النسبة المئوية للاستحلاب ايضا منخفضة بشكل واضح مقارنة مع النسبة المئوية عند الاس الهيدروجيني 7 بسبب عدم ملائمة الوسط الحامضي والقاعدي لنشاط وفعالية الأنزيمات التي تقلل الشد السطحي وتخفض ذوبان

الهيدروكربونات ويقلل من نشاط البكتيريا المحللة للنفط الخام وهذا يتفق مع ما توصل اليه (Schaefer وJuliane، 2007)

7-4: التحليل بالأشعة تحت الحمراء (FTIR)

Fourier Transform infrared spectrophotometer

خلال عملية التأكسد البكتيري يتعرض النفط الخام لعمليات تبيض بواسطة البكتيريا ، منتج عدد من المركبات الكربونيل (C=O) مثل الاسترات والكيونات والاحماض الكربوكسيلية ، وهذه المركبات ممكن تقديرها باستخدام جهاز (FTIR).

تم قياس تحلل النفط الخام قبل وبعد المعالجة الحيوية بواسطة جهاز FTIR لتمييز الأواصر الماصة قبل وبعد المعالجة بواسطة بكتيريا *P. aeruginosa* كما هو مبين في الشكل رقم (9-4)

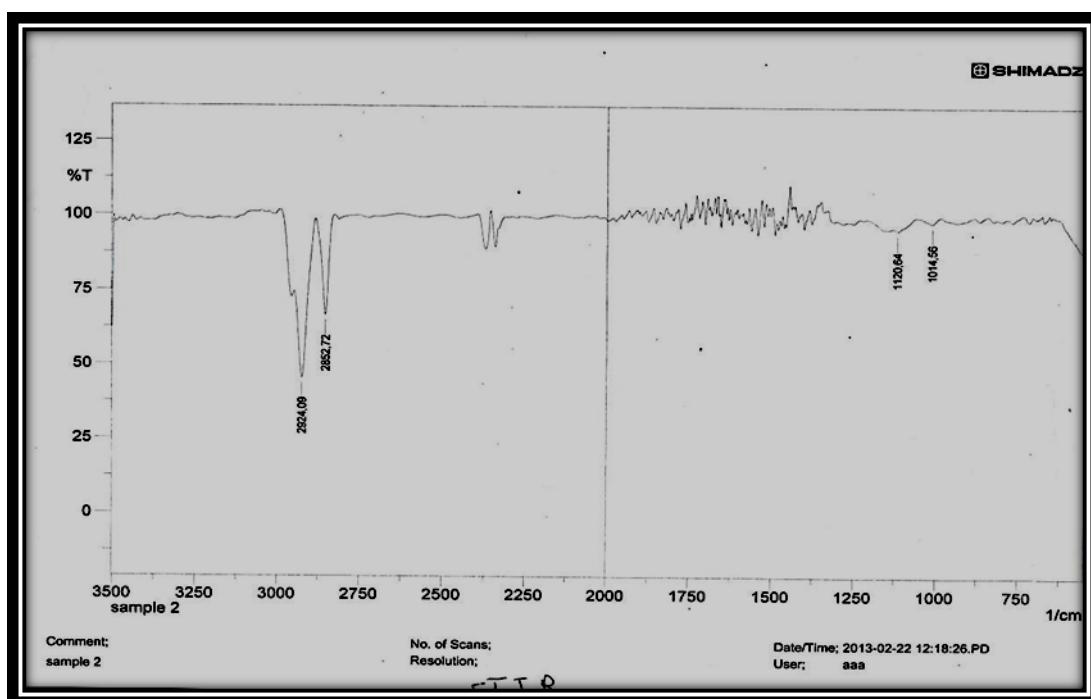
أظهرت النتائج ان هناك انعكاسات واضحة في طيف هذه الأشعة

أظهرت نتائج الدراسة الحالية للعينة القياسية من النفط الخام التي ظهرت فيها المجاميع الـ (CH₂) (Aliphatic) و (C-H) aromatic ومجاميع الكربوكسيل C=O انحنائي عند 1700 CM⁻¹ و 1300-3000 وان C-H و C-C امتدت من 2852-2924 لمركبات الالكانات الاليفاتية والمشبعة والتي ظهرت بتكرار اقل، أما المأثر الثاني فهي الاهتزازات الانحنائية أي تغير مواقع الأواصر وليس اختفائها لذا لا يظهر تغير واضح في التحاليل. أشار (RABUS ، 2005) إلى أهمية استخدام هذه التقنية للتأكد من تحلل النفط الخام. أن حدوث التغيرات في مواقع الذرات والأواصر يشير الى دور العزلة البكتيرية في تحلل النفط الخام (STROUD وآخرون 2007) ويعزى ذلك إلى إن المركبات النفطية ذات الأوزان الجزيئية العالية الموجودة أصلا في النماذج النفطية قيد الدراسة الكارهة للماء Hydrophobic قد تحولت إلى مركبات من الأصناف نفسها لكن بأوزان جزيئية واطنة ذوات صفات أكثر الفة للماء Hydrophilic وبذلك يمكن الاستفادة من النتائج المستحصلة بهذه التقنية والتي هي بالأساس تستخدم لتشخيص المجاميع الفعالة مثل مجموعة الكربونيل أو مجموعة النتريل أو الكربوكسيل (العبيدي، 2003)

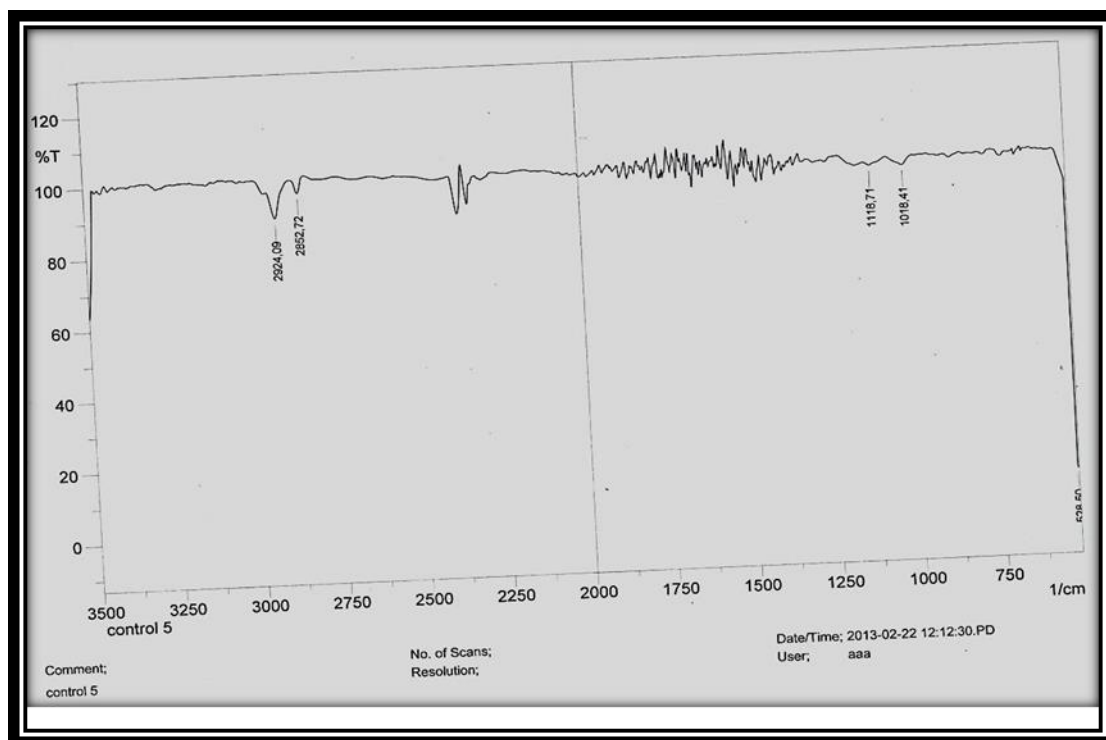
أشارت دراسات عديدة الى اعتماد طريقة الأشعة تحت الحمراء للتأكد من تحلل مكونات النفط الخام مختبريا في البيئة الملوثة (العبيدي واخرون، 2003) إن طيف الأواصر الكيميائية في النفط الخام المتحلل بفعل العزلة البكتيرية يظهر بنسب مختلفة وهو يعكس التأثير الطفيف الذي يحدث في الأواصر الكيميائية

الشكل (4-10): طيف امتصاص الأشعة تحت الحمراء لـ **نفت خام منشأة الراشدية** الحاوي على 2% مايكروليترونفط خام وأس هيدروجيني 7 والمستخلص من وسط الأملاح المعدنية وفترة حضن 7 أيام ودرجة حرارة 37م° (حيث اظهرت نتيجة اطياف تحليل النفط الخام بفعل بكتريا *P.aeruginosa* بعد 7 أيام من الحضن مقارنة مع عينة السيطرة

A عينة السيطرة



B عينة معالجة



8-4 : التحلل بجهاز GCMS

أشارت العديد من الدراسات الى استخدام تقنية جهاز GCMS لتوضيح التحلل الحاصل في النفط الخام (Chukwudi و Anyanwu، 2001) وهذه التقنية هي من الطرق المتخصصة التي يستدل من خلالها على نوع المركب المتحلل وكذلك وزنه الجزيئي .

نتائج تحليل نفط خام (الراشدية) باستخدام جهاز GCMS والمستخلص من وسط الأملاح المعدنية الحاوي على 2% نفط خام وأس هيدروجيني 7 و المحضن لمدة 7 أيام بدرجة حرارة 37°م وحسب الحروف

A : عينة رسوبيات (pH) (8) مع اضافة فوسفات 0.8 ملغم/100 مل ، مدة الحضان 7 ايام رقم (5) في الملحقات

B : عينة رسوبيات (pH) 8 ، مدة الحضان 7 ايام . رقم (2) في الملحقات

C : عينة نفط خام ذات (pH) 7 و تركيز نفط 100 مايكروليتر ، مدة الحضان 7 ايام رقم (8) في الملحقات

D : عينة نفط خام ذات (pH) 7 وتركيز نفط 500 مايكروليتر ، مدة الحضان 7 ايام .رقم (7) في الملحقات

E : عينة رسوبيات (pH) 7. وتركيز نفط خام 200 مايكروليتر. رقم (3) في الملحقات

F : عينة رسوبيات (pH) 7 ، وفوسفات بقيمة (0.8) ملغ / 100مل . رقم (4) بالمحقات

G : عينة رسوبيات مضاف لها مغذيات (نترات الامونيا) بقيمة (0.8) ذات pH7 مدة حضان 7 ايام .

H : نفط خام (كونترول) . رقم (1) في الملحقات

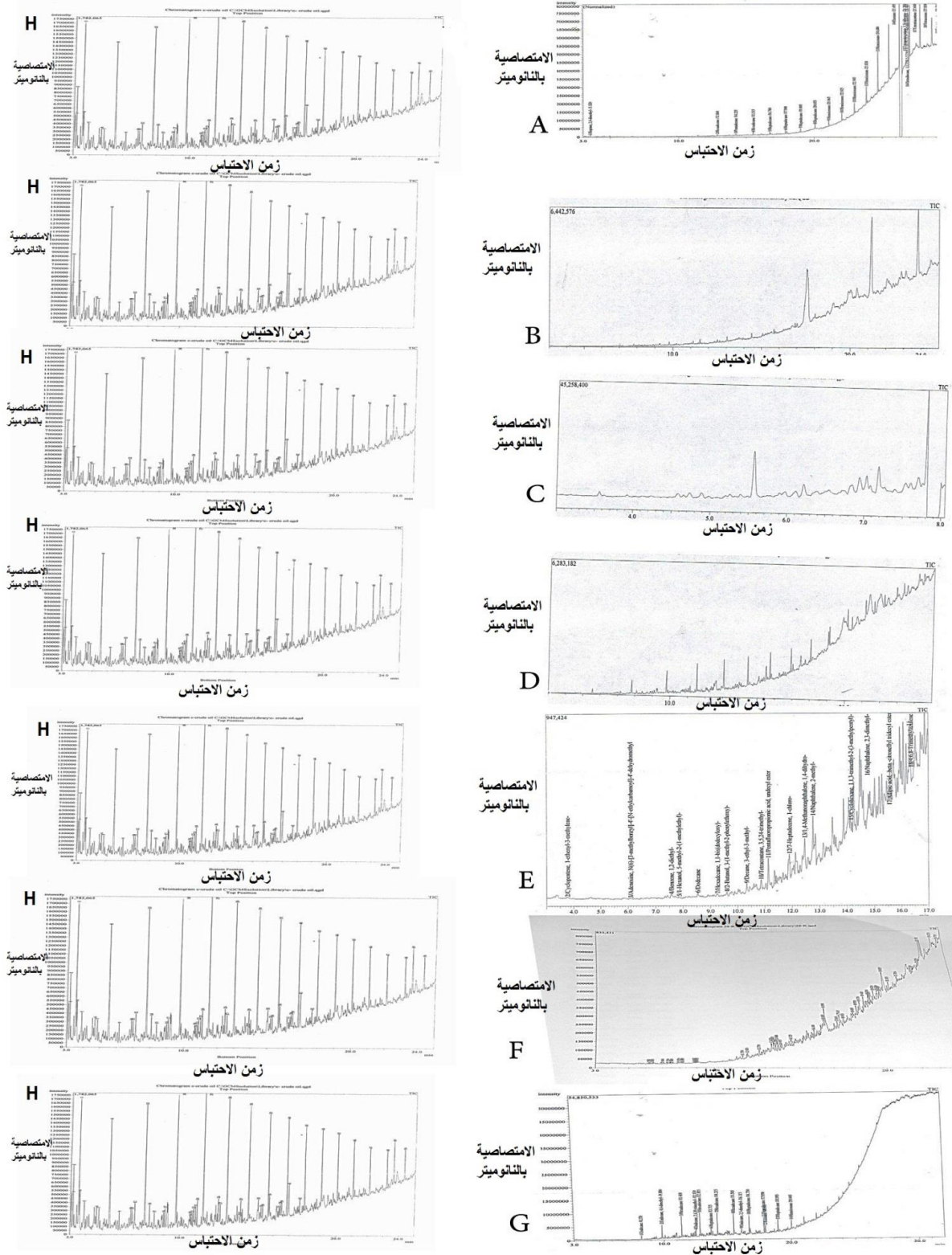
شكل رقم(4-11) يمثل التحليل بجهاز GCMS لعينات النفط المعالجة بواسطة بكتريا

P. aeruginosa لمدة 7 ايام

أظهرت النتائج انخفاض واضح في غالبية مركبات النفط مثل مركبات الالكانات الأعتيادية ذات الوزن الجزيئي الخفيف وان اغلب المركبات قد اختفت بعد المعالجة ببكتريا ال*P.aeruginosa* لمدة حضان 7 أيام. كما هو واضح في الشكل رقم (4-11) حيث تمثل القمم في عينة السيطرة الوزن الجزيئي للمركبات الهيدروكاربونية قبل تأييضها من قبل البكتريا حيث اظهرت نتيجة التحليل بجهاز GCMS ان حوالي 65% من مركبات الهيدروكاربونات قد اختفت بفعل العزلة البكتيرية عند إضافة المغذيات من النترات والفوسفات بقيمة 0.8 ملغم كما هو مبين في الشكل(4-11) أما القمم التي ظهرت في تحليل العينات بعد المعالجة فتظهر الاوزان الجزيئية للمركبات التي بقيت و لم تتحلل وهذا يتفق ما جاء به (Sarma و آخرون ، 2004) اشاروا الى ان المغذيات تلعب دور في حث المعالجة الحيوية لاستهلاك الهيدروكاربونات بنسبة عالية .

كما اظهرت النتائج الدراسة الحالية كفاءة بكتريا ال*P.aeruginosa* في تحلل النفط الخام في الظروف المثلى للنمو من pH طبيعي ودرجة حرارة 37م° حيث اظهرت تطبعا في البيئة الملوثة بالهيدروكاربونات وهذا يتفق ما جاء به (Maneerat و آخرون (2007)

شكل (٤-١١) نتائج تحليل النفط الخام (عينة السيطرة (H) و العينات المعالجة باستعمال البكتريا المحللة للنفط (A , B , C , D , F , H) وذلك باستخدام GC-MSS .



بينما حصل تحليل للنפט الخام بنسبة 25% للعينات التي لم يضاف لها مغذيات مقارنة مع عينة النפט الخام والجدول (4-11) يبين المركبات التي استهلك بالكامل والمركبات التي استهلك غالبيتها خلال 7 أيام .

اظهرت النتيجة ان العديد من مركبات الهيدروكربونات قد استهلكت بالكامل بينما تحولت المركبات الحلقية الأروماتية الى مركبات اقل وزن جزيئي مما يجعلها أقل سمية في البيئة وهذا يتفق مع (Emtiaz, وآخرون, 2009) بينما أكدت دراسة أخرى قام بها (Sonawdekar, 2012) أن المركبات ذات الوزن الجزيئي الخفيف تتحلل بنسبة 100% بواسطة بكتريا *P.aeruginosa* لكونها تمتلك كفاءة عالية في تحمل البيئة الملوثة بالهيدروكربونات وتمتلك اليات مختلفة في استهلاك الألكانات الاعتيادية .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية تلاشي معظم المركبات ذات الوزن الجزيئي المنخفض مثل Tetradeane, Dodeane 3-Methyl Trideane, 6- Methyl, Undecane 1-, Undecane,2,5-dimethyl, Decane 3,8-dimethyl Decanol,2-octyl, Undecane 3-methyl أما بقية المركبات نتيجة استهلاكها من قبل البكتريا المحللة للنפט قيد الدراسة وأصبحت اقل سمية للبيئة وهذا يتفق مع ما جاء به (Latha و Kalaivani, 2012)

جدول (4-12) يمثل المركبات الكيميائية التي استهلكت بالكامل والمركبات التي استهلكت غالبية عناصرها بواسطة بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* خلال مدة حضن 7 أيام

الوزن الجزيئي	الصيغة الكيميائية	اسم المركب الكيميائي
198	$C_{14}H_{30}$	Tetradeane
268	$C_{19}H_{40}$	Pentadeane,2,6,10,14-tetramethyl
296	$C_{21}H_{44}$	Eicosane,10-methyl
226	$C_{16}H_{34}$	Heptadeane

Hexadecane	$C_{16}H_{34}$	226
Dodecane 3-Methyl	$C_{13}H_{28}$	184
Tridecane, 6- Methyl	$C_{14}H_{30}$	198
Undecan,3,6-dimethyl	$C_{13}H_{28}$	148
Nonane,5-butyl	$C_{13}H_{28}$	184
Undecane	$C_{13}H_{28}$	184
Octane ,2,4,6-trimethyl	$C_{11}H_{24}$	156
Heneicosane	$C_{21}H_{44}$	269
Tetracosane	$C_{24}H_{50}$	269
Hepadecane ,3-Methyl	$C_{18}H_{38}$	254
Heptadecane ,2-Methyl	$C_{18}H_{38}$	254
Undecane,2,5-dimethyl	$C_{13}H_{28}$	148
Decane ,3,8-dimethyl	$C_{12}H_{26}$	170
Benzene,(2,3-dimethydecyl)	$C_{15}H_{14}S$	226
Tetradecan ,3, methy	$C_{15}H_{32}$	212

9-4: متابعة التحلل الحيوي في اطباق بيري :

أظهرت النتيجة ظهور مستعمرات بكتيرية نامية في الطبق الذي يحوي نפט خام بمقدار 100 مايكروليتر . ان وجود البكتريا دليل على تحليلها للنפט الخام واستخدامه مصدر طاقة لها بالاضافة الى حدوث تغيرات في لون النفط الخام المعالج بالبكتريا النامية في الطبق . ويرجع السبب الى كفاءة بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في تحليلها للنפט الخام وإفرازها

الانزيمات القادرة على زيادة ذوبان الهيدروكربونات مما يسهل استهلاكها من قبل البكتيريا وهذا يتفق مع ما جاء به Tripathi وSrivastava (2011)

10-4: التحلل الحيوي تحت المجهر.

تعد البكتيريا من أهم الكائنات الدقيقة التي لها القدرة على أكسدة أو تحلل المركبات النفطية وهذه الكائنات واسعة الانتشار في البيئات المائية (Jahangeer وVikram، 2013)

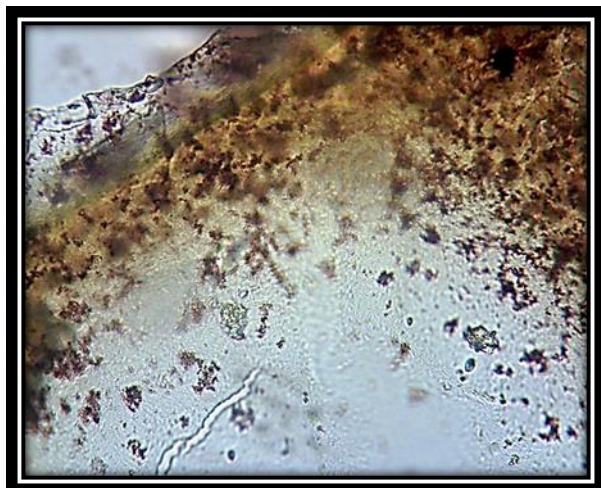
أظهرت نتائج الدراسة الحالية التغيرات الفيزيائية والكيميائية التي حصلت على النفط الخام عند معالجته ببكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* حيث ظهرت قطرة النفط تحت المجهر بعد مدة حضان 24 ساعة تحيطها تكتلات البكتيريا المحللة للنفط الخام وهي ملتصقة بها ومتحركة كما مبينة في الشكل رقم (4-12)

تستطيع البكتيريا المؤكسدة للمركبات الهيدروكربونية الموجودة في النفط أن تهاجم قطرات الزيت في البقع النفطية حيث تتكاثر أعدادها حول هذه القطيرات ، وتقوم البكتيريا بتحليل الغشاء الفاصل بين قطرات المركبات الهيدروكربونية والماء ، ولذلك فإنه كلما ازداد تحول المركبات النفطية إلى قطيرات دقيقة جدا في المياه ازداد السطح المعرض لعملية التحلل البايولوجي وهذا النتيجة تتوافق مع ما أشار إليه

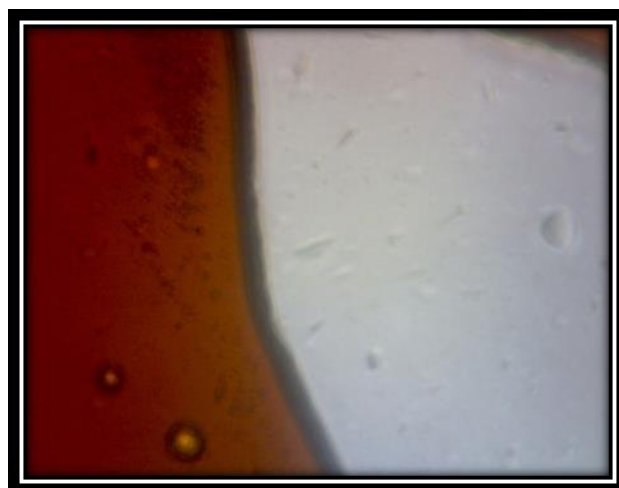
(Mesta وPineda، 2001) حيث أشاروا الى ان زيادة أفراس الأنزيمات المحللة للنفط الخام يزيد من ذوبان الهيدروكربونات مما يزيد من السطح المعرض لعملية التحلل البايولوجي

إن مركبات النفط الخام قد تحولت الى جزيئات غير متماسكة بفعل العزلة البكتيرية المستخدمة في تحلل النفط الخام وأصبح طافيا فوق لوسط الزرعي وعند تحريك قطرات النفط الخام تمتزج بتجانس مع الوسط الزرعي حيث كان هذا فعل قوة عوامل الاستحلاب Emulsification Power التي كانت عاملا آخر لتحليل المركبات النفطية فضلا عن العزلات البكتيرية التي كان لها الدور أساسي في التحليل الحيوي للنفط الخام كما هو مبين في الصورة رقم (4-13) التي تمثل شكل قطرة النفط المعالجة لمدة 48 ساعة إذ يلاحظ انفصال وتحرر جزيئات النفط الخام وهذا يتفق مع ما جاء به (Behrend وSchubert، 2000) وتتميز الطبقة المستحلبة بألوان مختلفة ولزوجة عالية أكثر من النفط الخام الذي تكونت منه.

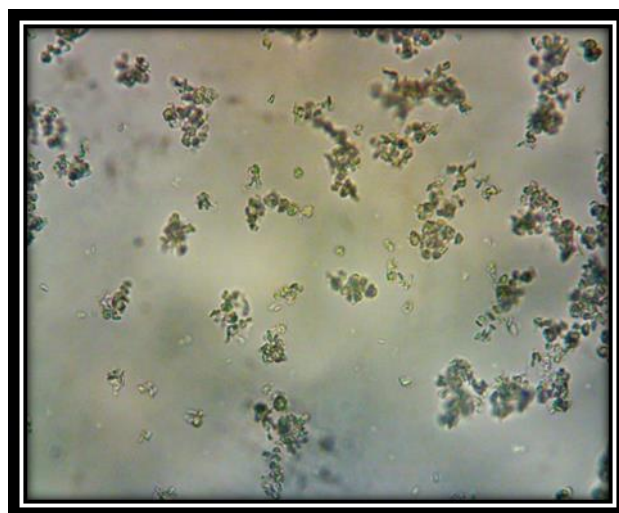
تؤدي عوامل الاستحلاب التي تفرزها البكتريا الى زيادة امتزاج المركبات النفطية مع الماء وذوبانها وزيادة استغلال البكتريا للمركبات الهيدروكاربونية كمصادر للطاقة وبالتالي تستهلك وتختفي اغلب مركبات النفط ذات السلاسل الخفيفة (Okoh, 2003) والصورة رقم (4-14) توضح شكل النفط المعالج بعد 72 ساعة من الحضان. لاحظ الصور المشار لها (4-13) (4-14) (4-15) مقارنة مع شكل العينة القياسية الغير معالجة رقم (4-12)



الصورة (4-13) قطرة نفط خام معالجة لمدة ٢٤ ساعة



شكل (4-12) قطرة نفط خام غير معالجة (عينة السيطرة)



الصورة (4-14) قطرة نفط خام معالجة لمدة 48 ساعة

لصورة (4-15) قطرة نفط خام معالجة لمدة 72 ساعة

11-4: المعالجة الحيوية باستخدام التهوية (النظام المستمر)

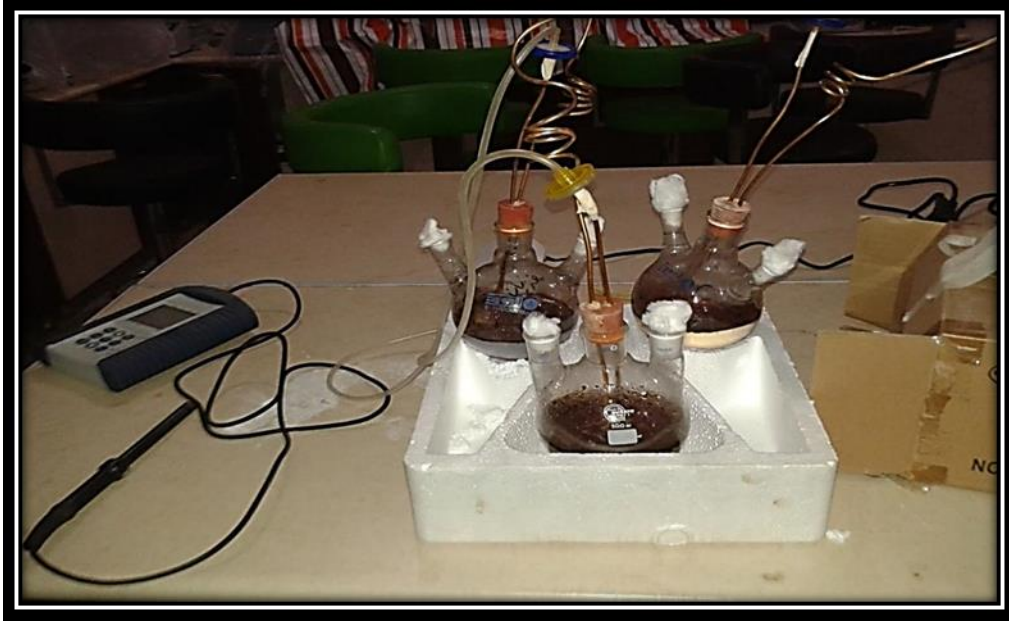
تم تصميم وحدة معالجة مستمرة بواسطة جهاز تم تصميمه مختبريا مكون من ثلاث دوارق اضيف لها نفط خام 5 مل ، الدورق الأول اضيف له وسط زرعى وأضيف 1 مل من بكتريا *P.aeruginosa* حسب طريقة ما كفرلاند والثاني كذلك مع اضافة مغذيات (فوسفات و نترات) بكمية 0.8 ملغم والثالث لم يضاف له بكتريا عينة قياسية (كونترول) كما في الشكل رقم (4-15)

تم تثبيت الظروف المثلى لنمو لبكتريا *P.aeruginosa* من أس هيدروجيني طبيعي (7) ودرجة الحرارة 37 م° وتم تحفيز المعالجة الحيوية بشكل مستمر من خلال تمرير الأوكسجين اليها باستمرار بواسطة محرك للهواء .وكذلك تم ربطها بجهاز لقياس الأس الهيدروجيني لتسجيل التغيرات الاس الهيدروجيني التي تحدث للوسط عند نمو البكتريا لمدة سبع أيام

كانت جميع الدوارق موصولة بأنابيب تنتهي بمرشحات Milipor تمنع دخول البكتريا ا ل تمنع حدوث التلوث وتنتهي بأنبوب يصل إلى محرك الهواء ليغذي الدوارق الثلاثة بالأوكسجين

أظهرت النتيجة التجربة تحول النفط الطافي الى قطيرات صغيرة طافية تحت السطح بعد 18 ساعة من النمو في الدورق المحتوي على مغذيات وهذا يدل على تطبع البكتريا على الوسط وأفرزت الأنزيمات المقللة للشد السطحي وبالتالي تحول النفط من شكله الطافي فوق الوسط الى قطيرات متحركة ، كما ساعدت المغذيات على تحفيز وحث البكتريا على التحليل ، ساعد تدفق الأوكسجين بشكل مستمر وبكميات كافية البكتريا على أكسدة المركبات العضوية كما ظهر اختفاء لمعظم كمية النفط بعد 48 ساعة بشكل واضح في الدورق المحتوي مغذيات مقارنة مع الذي لا يحتوي على مغذيات

أظهرت النتيجة ان تثبيت الظروف المثلى للنمو من اس هيدروجيني وأوكسجين ومغذيات اضافة الى وجود بكتريا لها قدرة على تحليل الهيدروكربونات يمكن التخلص من الهيدروكربونات بزمان قياسي.



صورة (4-16) الجهاز المستخدم في المعالجة الحيوية باستخدام التهوية النظام المستمر

الاستنتاجات Conclusion

- ١- ان البكتريا المحلل للنفط الخام والسائدة في بيئة المياه العذبة هي من نوع سالبة لصبغة كرام ، وبعد تشخيصها وجد انها من نوع (*Pseudomonas*).
- ٢- التركيز المثالي للنفط الخام (1000) مايكرو ليتر / ١٠٠ مل ، المستهلك بواسطة البكتريا (*P. aeruginosa*) .
- ٣- ان افضل وسط تم فيه تحلل النفط الخام بواسطة البكتريا (*Pseudomonas*) هو وسط الاملاح المعدنية .
- ٤- ان اضافة المغذيات ، ساهم بتحلل اسرع للنفط (النترات و الفوسفات 0.8) ملغم / 100 مل ، وكذلك اليوريا (5غم / 100 مل) وعند (٧ - ٨ pH) .
- ٥- وجد من خلال التجارب المختبرية قدرة بكتريا (*Pseudomonas*) على ازالة الملوثات الهيدروكربونية .

التوصيات Recommendation

- ١- اجراء دراسات وراثية للعزل ذات القدرة على تحليل النفط الخام لمعرفة خصائصها التشخيصية واستخدامها الامن في حالة حصول تلوث نفطي في اي مكان سواء في المياه او التربة
- ٢- اجراء مقارنة بين العتر البكتيرية المحللة للنفط الخام المعزولة من البيئات المائية والتراب ومقارنتها جينياً بمثيلاتها المسببة للأمراض .

المصادر العربية

الصابريني محمد السعيد، والحمد، رشيد حمد، 1994. الانسان والبيئة (التربية البيئية).

ص ١٠٤ - ١٠٥ .

المسيب أسعد عياش، 2005 . أساليب الحماية من تسربات النفط في المنشآت النفطية للحد

من التلوث البيئي (دراسة حالة شركة أراوكو السعودية) رسالة ماجستير / جامعة

نايف للعربية للعلوم الأمنية كلية الدراسات العليا . قسم العلوم الشرطية . تخصص

حماية مدنية .

العبيدي ، أياد محمد، ٢٠٠٣ . دراسة الترددي الحيوي وطيف الاشعة تحت الحمراء لنماذج لنتف

خام كركوك المعامل بالسيانوبكتريا المثبتة للنترجين . مجلة تكريت للعلوم الصرفة

،المجلد ٩ ،العدد ١ ،مجلة علمية تصدرها كلية العلوم،جامعة تكريت ،صلاح الدين،

العراق،ص٥٣ - ٦٦

حدادي نور الهدى ومزوار اليمان (2013).الصناعة النفطية البحرية وأثرها على البيئة ،دراسة

حالة أزمة خليج المكسيك . كلية العلوم الاقتصادية والتجارية وعلوم التيسير / قسم العلوم

الاقتصادي ،مذكرة مكملة لنيل شهادة اليسانس في العلوم الاقتصادية . جامعة قاصدي

مرباح .ورقلة

المصادر الانكليزية

Ábalos, A; Viñas, M; Sabaté, J; Manresa, M. A. and Solanas, AM.
(2004). Enhanced biodegradation of Casablanca crude oil by a
microbial consortium in presence of a rhamnolipid produced by
*Pseudomonas aeruginosa*AT10, *Biodegradation*, 15:249–260.

Abbas, O.; Rebufa, C.; Dupuy, N.; Permanyer, A. and Kister, J. (2008).
Assessing petroleum oils biodegradation by chemometric analysis
of spectroscopic data. *Talanta-Oxford then Amsterdam*, 75, 4;
pp857-871.

Adebusoye, S.A.; Ilori, M.O.; Amund, O.O., Teniola, O.D. and Olatope, S.O.
(2007). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons in a
polluted tropical stream. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23:1149-
1159.

Adeyemi, O.T.(2004). Oil exploration and environmental degradation: The
Nigerian Experience, *Environmental Informatic Archives*, 2: 389-
93.

- Afuwale** , C. and Modi, H. A.(**2012**). Study of bacterial diversity of crude oil degrading bacteria isolated from crude oil contaminated sites. *Life sciences Leaflets*, 6: 13-23.
- Aghalino**, S. O. and Eyinla, B.(2009). Oil exploration and marine pollution: Evidence from the Niger Delta, *Nigeria . Journal of Human Ecology*, Vol. 28 (3), 82-177.
- Ajoku**, G. A. O. and Oduola, M. K.(2013). Kinetic model of pH effect on bioremediation of crude petroleum contaminated soil. *American Journal of Chemical Engineering*, 1(1): 6-10.
- Akan**, J.C; Ogugbaja, V.O; Abdulrahmen, F.I.and Ayodele, J.T. (2009). Pollution Levels in Effluent Samples from Tanneries and Textile of Kano Industrial Areas, Nigeria; *Global Journal of Pure and Applied Sciences* ,15(3) : 343-352.
- Alariya**, S.S.; Sethi,S. ; Gupta,S. and Lal Gupta .B. (2013). Amylase activity of a starch degrading bacteria isolated from soil. *Applied Science Research*, Vol. 5 (1):15-24.
- Al-Bader** ,D.; Eliyas ,M.; Rayan, R.; Radwan ,S .(2013) *Subsurface associations of Acaryochloris-related picocyanobacteria with oil-utilizing bacteria in the Arabian Gulf water body: promising consortia in oil sediment bioremediation. Microb Ecol* 65: 555-565.
- Antonions** , G.F.(2012).on-arm bioremediation of dimethazone and trifluralin residues in run off water from an agricultural field ,*Journal of Environmental science and Health* , part B,47(7):pp608-621.
- Arulazhagan** , P.; Vasudean ,N and Yeom, I. T. (2010). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon by a halotolerant bacterial consortium isolated from marine environment. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 7: 4.
- Arulazhagan**, P. and Vasudevan, N. (2009). Role of a moderately halophilic bacterial consortium in the biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. *Marine Pollution Bulletin*, 58(2), pp: 256-262.
- Arzayus**, K.M.; Dickhut,R.M. and Canuel E.A.(2001). Fate of atmospherically deposited polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Chesapeake Bay. *Environ. Sci. Technol* ,35: 2178-2183.

- Atlas, R.M. and Bartha, R. (2006).** "Fate and effects of polluting petroleum in the marine environment". *Residue Rev.* ,49 (1) :49-83.
- Atlas, R.M. and Cerniglia, C.E.(1995).**Bioremediation of petroleum pollutants-diversity and environmental aspects of hydrocarbon biodegradation. *Bioscience*, 45: 332-338.
- Atlas,R.m.andBartha, R.(1992A).**hydrocarbons degradation and oil spill bioremediation .In K.c. marshall(ed).*Advances in microbial Ecology* . vol .R.plenum press, n y , pp 287-338.
- Atlas.R.m.(1991)** . microbial hydrocarbon degradation bioremediation of oil spill .*J.chem.technol .Biotechnol.*52:149-156.
- Attigbo, F.K; Glover-Amengor, M.and Nyadziehe, K.T.(2007).** Correlating biochemical and chemical oxygen demand of effluents—a case study of selected industries in Kumasi, *Ghana. W. Afr. J. Appl. Ecol.* 11: 110–118.
- Bartha, H. J.(2003)** .the influence of cyanobacteria on oil polluted intertidal soil at the sandipersion Gulf shores. *Marine pollutionBulletin*,46 1245-52.
- Becker,J.G. and Seagren , E.A.(2010).**Bioremediation of Hazardous organics . In mitchell,R. and Gugj. Environmental microbiology ; 2ed .wileg –Blackwell , *John wiley&sonsoinc.* USA.
- Behrend, O. and Schubert, K.A.H., (2000).** Influence of Continuous Phase Viscosity on Emulsification by Ultrasound in Ultrasonics Sonochemistry. *Hielscher-Ultrasound Technology*, Vol. 7, pp. 77-85.
- Bento, F.M.; Camargo,F.A.O.; Okeke ,B.C., and Frankenberger ,W.T. (2005).** Comparative bioremediation of soil contaminated with diesel oil by natural attenuation biostimulation and bioaugmentation. *Bioresour.Technol.* 96, 1049– 1055.
- Bhat, M. M.; Shankar S.; Shikha, M. Yunus and Shukla, R. N. (2011).** Biodegradation of Crude Oil by Individual Bacterial Strains and a Biological Treatment of Hydrocarbon Compounds in Oil Refinery Wastewater. *Iraqi J. Biotech.*
- Boopathy, R. (2000).** Factors limiting bioremediation technologies. Brisbane, Toronto, Singapore : *John Wiley and Sons Inc. 5th edition*.pp.52-66.

- CaO** , B; nagarajan, K.and lob, K-c.(2009).biodegradation for biomolecular approachese Applied microbiology and biotechnology 85(2):207-228.
- Cameotra** ,S. S. and Singh ,P. (2008) —Bioremediation of oil sludge using crude biosurfactants, *InternationalB iodeterioration and Biodegradation*, vol. 62, no. 3, pp. 274–280.
- Cappello**, S ; Gabriella, G.andVivia, B.(2004). Crude oil-induced structural shift of coastal bacterial communities of rod bay and characterization of cultured cold-adapted hydrocarbon clastic bacteria. *FEMSMicrobiology Ecology*, 49 : 419–432.
- Chaillan**, F; Fleche, A. L; Bury, E; Phantavong, Y; Grimont, P; Saliot, A. and Oudot, J. (2004). Identification and biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degrading micro- organisms. *Research in Microbiology* 155: 587-595.
- Chikere**, B.O. and Okpokwasili, G.C. (2003). Enhancement of Biodegradation of Petrochemicals by Nutrient Supplementation. *Nig. J. Microbiol.*,17(2): 130- 135.
- Chu**, P. C; Williams, C. L; Haege, S. D. R. and Ward, M. (2008). Environmental impact on chemical spill in the northern Persian Gulf. Seventh International Symposium on Environmental Problems in Coastal Regions, 149-159. USA.
- Coulon**, F.; Pelletier, E.; Gourhant, L. and Delille, D. (2005). Effects of nutrient and temperature on degradation of petroleum hydrocarbons in contaminated sub-Antarctic soil. *Chemosphere*:58: 1439-1448.
- Cowan** and steel .(2004). Manual for the Identification of medical Bacteria , 3 Edition.
- Cretney**, W; Yunker, M. and Yeats, P.(2002). Biogeochemical Benchmarks for Source Identification of Contaminants from an Off shore Oil and Gas Industry. *Canadian Science Advisory Secretariat Research Document*. pp.1-17
- Darvishi**, P.; Mowlab, D.; Ayatollahic, S. and Niazi, A. (2011). Biodegradation of heavy crude oil in wastewater by an efficientstrain, ERCPPI-1. *Desalination and Water Treatment*, 28(1-3),pp: 46-54.

- Das, N. and Chandran, P. (2011).** Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: *An overview International*,4: 810-824.
- Das,N. and Chandran ,P.(2011).**Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants :*an overview . Biotechnology Research International ,* pp:13.
- Dasgupta.D ; Chosh, R. and . sengupta I. K. (2013).** "Biofilm.Mediated enhanced crude oil degradation by Newly isolated *Pseudomonas* species,"*ISRN Biotechnology,. Article*, 13 pages.
- Dave, D.and Ghaly,A.E.(2011).**Remedation Technologies for marian oil spill : A. ***Critical Review and comparative Analysis American Journal of Environmental sciences*** 7 (5),: 423-440. Science publications .Canada.
- Delille,D.;** Coulon, F. and Pelletier ,E.(2004) "Effects of temperature warming during a bioremediation study of natural and nutrient-amended hydrocarbon-contaminated sub-Antarctic soils," **Cold Regions Science and Technology**, vol. 40, no. 1-2, pp. 61–70.
- De-souza , T . J .;** marjan ,D .; Piter , D.; Teris , A.V. and Jos M.R.(2003). Biochemical , genetic , and Zoosporicidal properties of cyclic lipopeptide surfactants produced by *pseudomonas fluorescens* APPI.**Env.microbiol .**,69(12),: 7161-7172.
- Delille , D. and Delille , B.(2000).** Field observation on the variability of crude oil impact on indigenous hydrocarbon degrading bacteria from sub Antrarctic intertidal sediment . **marine Environ. Research .** 49: 403-417.
- Douben, Peter ,E. T. (2003).** PAHs: An Eco toxicological perspective .West Sussex, **England. John Wiley and Sons.:** 79-84.
- Emtiazi, G.;** Hassan shahian, M.and Gobang, N.(2005) . Devlopment of a microtiter plate method for determination of phenol utilization , biofilm formation and respiratory activity by environmental bacteria Isolates.**International Biodeterioration & Biodegradation**;56 231-235.
- Emtiazi, G;saleh ,T;HassanShahian, (2009).**The effect of Bacterial glutathione S-transferase on morpholine degradation. **Biotechnology Journal ;** 4, 202-205

- Eriksson, S.;** Hallbeck, L.; Ankner, T.; Abrahamsson, K. & Sjoling, A. (2006). Indicators of petroleum hydrocarbon biodegradation in anaerobic granitic groundwater. *Geomicrobiology Journal*, 23(1), 45-58
- Facundo, I.M.;** Vanessa, H. and Terasa . M. L.(2001)Biodegradation of diesel oil in by amicrobial consortium. *Water , Air and soil pollution* 128:313 – 320.
- Farrel,R.E.;** frick, C.M.and Germida,J.J. (2000)."phytopet:A database of plants that play a role in the phytoremediation of petroleum hydrocarbons. Pages 29-40 in proceeding of the second phytoremediation Technical seminar, *Environment Canada ,OttawaFate Of Marin Oil Spills*, 2: 1-12.
- Franken berger, W. T.** (2005). Diversity of biosurfactant producing microorganism isolated from soils contaminated ,G. (1990) Bioconversions of aliphatic compounds by *Pseudomonas oleovorans* in multiphase.
- Gandesh,A.;**Lin,j.(2009).Diesel degradation and Biosurfactant production by Gram- Positive isolats .*African journal of Biotechnology*, 8(21),pp.5847-5854.
- Genovese,M.;** Crisafi,F.; Denaro,R.; Cappello,S.; Russo,D.; Calogero,R.; etal. (2014). Effective bioremediation strategyforrapidin situ clean upof anoxicmarine sedimentsinmesocosmoilspill simulation. *Front.Microbiol.* 5:162.
- Ghazali,F.M.;** Rahman,R.N.Z.A.; Salleh,A.B.; and Basri,M.(2004). Biodegradation of hydrocarbonsins oil by microbialconsortium. *Int. Biodeterior.Biodegradation* 54, 61–67.
- Guo, C.L.;** Zhou,H.W.; Wong,Y.S. andTam,N.F.Y.(2005). Isolation ofPAH-degrading bacteria fromman grove sediment sandtheir biodegradationpotential. *Mar.Pollut.Bull.* 51, 1054–1061.
- Hamme, J.D.V.;** Odumera, J.A. and Ward, O.P.(2000). Community Dynamics of a Mixed – Bacterial Culture Growing on Petroleum Hydrocarbons in Batch Culture. *Can. J.Microbiol.* Vol. 46, pp.441.
- Hazen, T. C. ;** Dubinsky, E. A. ; DeSantis, T. Z. and Andersen, G. L. (2010). Deep-Sea Oil Plume Enriches Indigenous Oil-Degrading

Bacteria. *Science express* .; 330(6001):204-208. USA.

Head, I. M.; Jones, D. M. and Roling, W. F. M. (2006). Marine microorganisms make a meal of oil. *Nature Reviews Microbiology* 4: 173-182

Hernandez,J.P.; de-Bashan,L.E.; Rodriguez,D.J.; Rodriguez,Y. and Bashan,Y. (2008).Growth promotion of the fresh water microalga *Chlorellavulgaris* by the nitrogen-fixing, plant growth-promoting bacterium *Bacillus pumilus* from arid zone soils. *Eur. J. Soil Biol.* 45, 88–93.

Husein, H. A.; AL-Jumaily, E. F. and AL-Dulaimy, A. K. (2012). Biological Treatment of Hydrocarbon Compounds in Oil Refinery Wastewater. *Iraqi J. Biotech.* 11 (1):77-89. **IRAQ Ijah**,U.J.J.; and Antai, S.P.(2003). Removal of Nigerian light crude oil in soil over a 12-month period. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 51, 93–99.

Iqbal.S; Khalid, Z.m. and malik, K.A. (1995). Enhanced Biodegradation and emulsification of crude oil and hyper production of biosurfactant by a gamma ray-induced mutant; 21:176-179..

ITOPF. (2011). The International Tanker Owners Pollution Federation. *Fate Of Marine Oil Spills*, 2: 1-12.

Jacobucci, D.F.C.; Vasconcelos ,C.K.; Matsunra ,A.B.; Falconi , F ,A. and Durrant , L . R.(2001). Degradation of Diesel oil by Biosurfactant –producing bacterial strains . *contaminated soil sediment and water* , 8 (1), 31-34

Jahangeer and Vikram Kumar.(2013). An Overview on Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants . *International Journal of Engineering and Technical Research (IJETR) ISSN: Volume-1, Issue-8 , 2321-0869.*

Jain, P.K.; Gupta, V.K.; Pathak, H.; Lowry, M. and Jarail, D.P. (2010). Characterization of 2T engine oil degrading indigenous bacteria, isolated from high altitude (Mussoorie), India. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(8), pp: 1419-1426.

Kim, S.; Choi, D.H.; Sim, D.S. and Oh ,Y. (2005). Evaluation of bioremediation effectiveness on crude oil-contaminated sand. *Chemosph*, 59: 845- 852.

- Kock**, E.(2011).Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Arthrobacter* Sp .UG50 isolated from petroleum refinery wastes.Doctoralthesis.Guelph, **Ontario, Canada**, : 13-20.
- Krewski** , D.;shyder , R.; Beatty,D .; Gran Ville , G., Meek , Bi. And Sonawane, B. (2000). Assessing the health, risk of benzene : Areport on the benzene state of the science workshops . **Journal of toxicology ang Environment Healthy** , 61 , 307-338.
- Kumar**, A.; Munjal, A. and Sawhney, R.(2011). Crude oil PAH constitution, degradation pathway and associated bioremediation microflora: an overview. **Int J Environ Sci.**, 1(7):1420–39.
- Kvicala** , J.L.(2001).The effect of temperature on the rate and extent of crude oil biodegradation in a soil Slurry .A thesis submitted to the faculty of graduate studies in partial fulfilment of the requirement for degree of master of science . Dep. Of civll Engineering , Calgary , **Alberta,Canada**
- Latha**, R. and Kalaivani, R. (2012).Bacterial degradation of crude oil by gravimetric analysis. **Advances in Applied Science Research**, 3: 2789-2795.
- Lu**, X. X. ; Zhang, X.; Li, G. H. and Zhang. W. H. J. (2003). Environ. Sci. Health, Part A: **Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.** 38, 483.
- Mahmoud**, H.M.; Al-Hasan, R.H.; Sorkhoh, N.A; Eliyas ,M. and Radwan, S.S. (2009). Attenuation of oil pollutants in the Arabian Gulf water by bacteria naturallyassociated with live fish. **Int Biodeter Biodegr** 63: 615-620.
- Malik** ,Z.A. and Ahmed,S.(2012).Degradation of petroleum hydrocarbons by oil field isolated bacterial consortium. **Afr.J.Biotechnol.** 11, 650–658.
- Maneerat**. S; Dikit ,P.andSongklanakarin, J.(2007) **Sci. Technol**, 29(3): 769-779
- Marchiol**, L.; Fellet, G.; Perosa, D.;andZerbi, G. (2007), "Removalof trace metals by Sorghum bicolor and Helianthus annuus in a site polluted by industrialwastes: A fieldexperience", **Plant Physiology andBiochemistry**, 45 (5): 379–387 .

- Margesin**, R.; Hämmerle, M. and Tscherko, D.(2007). Microbial activityand community composition during bioremediation of diesel-oil-contaminated soil: effects of hydrocarbon concentration, fertilizers, and incubation time. ***Microbial Ecology***,. 53: 259–269.
- Margesin** , R. and Schinner , f . (2001)."Biodegradation and Bioremedaiti Of hydrocarbon in extreme environments . "***Appliedmicrobiology and Biotechnology*** " 56(5-6):650-663.
- Marshall** , A. G. and Rogers, R. P .(2003). Petroleomics The-Next grandchallenge For chemical analysis . ***Analytical chemistry. Research*** ;37:53-59.
- Masson** ,L; Tabashnik, B. E ; Mazza , (2002).Mutagenic analysis of a conserved region of domain III in the Cry1actoxin of *Bacillus thuringiensis*,” *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 68, no. 1, pp. 194–200.
- Mathew**, S. and Hobani ,Y. H.(2015). A new method for detection of oildegrading genes in *Pseudomonas aeruginosa* based ontransformation and PCR Hybridization. ***International Journalfor Biotechnology and Molecular Biology Research***, 6 (1): 1-6
- McKew**, B.A.; Coulon, F.; Yakimov, M.M.; Denaro, R.; Genovese, M.; Smith, C.J.;Osborn, A.M.; Timmis, K.N. and McGenity, T.J.(2007). Efficacy of intervention strategies for bioremediation of crude oil in marine systems and effects on indigenous hydrocarbonoclastic bacteria. ***Environ Microbiol***, 9: 1562-157.
- Meagher**, R.B. (2000), "Phytoremediation of toxic elemental and organi pollutants", ***Current Opinion in Plant Biology***, 3(2): 153–162
- Melcher**, R.J.; Apitz, S.E . and Hemmingsen , B.B. (2002). Impact of irradiationand poly cyclic aromatic hydrocarbon spiking on microbial population inmarine sediment for future aging andBiodegradation studies Applied ***Environment microbiology***; 68 .2858-2868
- Menezes**, F.; deOliveira-Camargo, F. A.; Okeke, B. C. and Frankenberger, W. T. (2005). Diversity of biosurfactant producing microorganism isolated from soils contaminated with diesel oil.***Microbiol . Res.***, 160, 249- [255](#).

- Michel, J.** (2011). 1991 Gulf war oil spill. Fingas M (ed), ***Oil Spill Science and Technology. Elsevier***, USA, p. 1127-1132
- Miller, J.S.; and Olejnik. D.** (2001). Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. ***Water Res.***, 35: 233-243.
- Mishra, S.; yot, J.J; kuhad, R.C. and Lal, B.** (2001). In situ Bioremediation potential of an oily sludge –degrading bacteria consortium. ***current microbial***. 43:328-335.
- Mukherjee, A.K.; and Bordoloi, N.K.** (2011). Bioremediation and reclamation of soil contaminated with petroleum oil hydrocarbons by exogenously seeded bacterial consortium: a pilot-scale study. ***Environ. Sci. Pollut. Res.*** 18, 471–478
- Myers, R. H. and Montgomery, D. C.** (2002). Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments. 2nd Edition. Canada: ***John Wiley & Sons***
- Nedunuri, K.V.; Govundaraju, R.; Banks, M.K.; Schwab, A.P. and chen, Z.** (2000). Evaluation of phytoremediation for field scale degradation of total petroleum hydrocarbons. ***J. Environ. Eng.*** 126:483-490.
- Ogbonna, D.N.** (2008). Seasonal dynamics of microbial population and physicochemical characteristics of water body receiving industrial pollutants in port Harcourt. ***Nigeria Agriculture and Biology Journal of north America*** . (2):45-54.
- Okerentugba, P.O. and Ezeronye, O.U.** (2003). Petroleum degrading potentials of single and mixed microbial cultures isolated from rivers and refinery effluent in Nigeria. ***African J. Biotechnology***. 2(9): 288 – 292.
- Okoh, A.I.** (2003). Biodegradation of Bonny Light Crude Oil in Soil Microcosm by Some Bacterial Strains Isolated from Crude Oil Flow Stations Saver Pits in Nigeria. ***African. Journal of Biotechnology***. Vol. 2, pp.104 – 108.
- Oliveira, F.J.S.; et al.** (2006) "Biosurfactants production by *Pseudomonas aeruginosa* FR using palm oil", ***Appl. Biochemistry and Biotechnology***, 131:727-737

- Oliver, A. R.; Canton, P.; Campo, F.; Baquero, and Blazques, J. (2000).** high frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. *Science* 288:1251-1254.
- Omery, Koren.; Vishnia, Knezevic.; Eliory, ZIRON and Engene, Rosenberg. (2003).** Petroleum pollution Bioremediation using water –insoluble uric acid as the nitrogen source. *69(10):6337-63.*
- Oyeleke, S.B. and manga S.B. (2008).** Essential of laboratory practical first edition. Best publisher, minna, niger state, Nigeria, pp. 36-63
- Padmapriya, S.K.S. and Rajeswari, T. (2012).** Isolation and screening of biosurfactants produced by *Pseudomonas aeruginosa* from oil spilled soils. ***International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives***, 3(2), pp: 321-325.
- Paisse, S. M.; Goni-Urriza, F.; Coulon, and Duran, R. (2010).** How a bacterial community originating from a contaminated coastal sediment responds to an oil input. ***Microb. Ecol.*** 60:394–405.
- Panda, S. K; Kar, R. N. and Panda, C. R. (2013).** Isolation and identification of petroleum hydrocarbon degrading microorganisms from oil contaminated environment. ***International J. Environ. Scie.***, 3(5): 0976 – 4402.
- Papadimitrakis, J.; Psaltaki, M.; Christolis, M. and Markatos, N. C. (2006).** Stimulating the fate of an oil spill near coastal zones: The case of a spill (from a power plant) at the Greek island of Lesbos, ***Environmental Modelling & Software***, 21, pp:170-177.
- Patowary, K.; Saikia, R.R.; Kalita, M.C. and Deka, S. (2014).** Degradation of polyaromatic hydrocarbon employing biosurfactant-producing *Bacillus pumilus* KS2. ***Ann. Microbiol.*** 65, 225–234.
- Pelletier, E.; Delille, D. and Delille, B. (2004).** crude oil bioremediation in sub-Antarctic intertidal sediments: chemistry and toxicity of oiled residues. ***Marine Environmental Research***, Vol. 57, No.4, PP.311-327.
- Phillips, T.M.; Liu, D.; Seech, A.G.; Lee, H. and Trevors, J.T. (2000)** monitoring Bioremediation in creosote-contaminated soils using

- chemical Analysis and toxicity tests. *J. Ind microbial Biotechnol* . , 24,132.
- Philp**, C.J.; Bamforth ,S.M.;Singleton, I.; Atlas, R.M. (2005). Environmental pollution and restoration: A role for bioremediation. *Washington DC, ASM Press* 1-48.
- Pineda-Flores**, G. and Mesta-Howard, A.M.(2001). Petroleum Asphaltenes: Generated Problematic and Possible Biodegradation Mechanisms. *Microbiologia. Review Article*. Vol. 43, pp.143 – 150.
- Plaza**, G. A.; Lukasik, K.; Wypych, J.; Nat cz-Jawecki, G.; Berry, C. and Brigmon, R. L. (2008). Biodegradation of Crude Oil and Distillation Products by Biosurfactant-Producing Bacteria. *Polish J. of Environ. Stud.*, 17(1): 87-9.
- Pornsunthorntawee** ,O.; Wongpanit, P. S.; Chavadej ,M. Abe. and Rujiravanit ,R. (2008). Structural and physicochemical characterization of crude biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* SP4 isolated from petroleum—contaminated soil, *Bioresource Technology*, vol. 99, no. 6, pp. 1589–1595.
- RABUS**, R. (2005). Biodegradation of hydrocarbons under anoxic conditions. In petroleum microbiology B. Oliver and M.Magot (eds.), *Washington, DC: ASM Press*, pp 337-356.
- Rahman** , K.S.M.; Rahman T.;Lakshmanaperumalsamy ,P. and Banat ,I.m.c. (2002). occurrence of crude oil degrading bacteria in gasoline and diesel station . *J.Basic .microbiol* ; 42:284-291.
- Rahman** ,K. S. M.; Rahman ,T. J.; Kourkoutas ,Y.; Petsas ,I.;Marchant ,R. and Banat, I. M. (2003).Enhancedbioremediation of n-alkane in petroleum sludge usingbacterial consortium amended with rhamnolipid andmicronutrients, *Bioresource Technology*, vol. 90, no. 2,pp. 159–168.
- Ramazzina** ,I; Folli, C.; Secchi, A.; Berni ,R.andPercudani, R. (2006). Completing the uric acid degradation pathway through phylogenetic comparison of whole genomes. *NatChemBiol* 2: 144–148.

- Reichenauer**, T.G.andGermida, J.J. (2008). "Phytoremediation of organiccontaminants in soil andgroundwater ".*Chemsuschem*. 1 (8-9): 708–17.
- Rezende** ,R.P.;maciel, B.M.;Dias, J.T.and souza, F.O.(2012).Microbial outlook for the Bioremediation of crude oil contaminated Environments IntroductionEnhance oilRecovery(EOR)processes and bioremediation of oil contaminated sites , **Dr. lauraRomerozeron (Ed), InTech**,pp 245-260.
- Roling**, W. F. M.; et al.(2004). Bacterial community dynamics and hydrocarbon Salot, A. and Oudot, J. (2004). Identification and biodegradationsamples,” *AnalyticaChimicaActa*, vol. 489, no.1,pp. 21–31.
- Sang-Hwan**, l.; Seokho, l.; DaeYaeon, k.; and jeong- gyu, k. (2007). Degradation characteristics of waste lubricants under different nutrient condition. *J. hazard. mater.*, **143**: 65-7.
- . Sarkar,P.; Rai,A.R. andGhosh,S.(2013).Degradationofaromaticpetroleum hydrocarbons(BTEX)byasolventtolerantbacterialconsortium. **J. Urban Environ.Eng.** 7, 274–279.
- Sarma**, P.M; Bhattacharya, D; Krishnan ,S.andLal ,B. J.(2004). *Appl. Environ. Microbiol*, 70: 3163-3166.
- Sathishkumar**, M.; Binupriya, A.; Baik, S. and Yun, S. (2008). Biodegradation of Crude Oil by Individual Bacterial Strains and a Mixed Bacterial Consortium Isolated from Hydrocarbon Contaminated Areas., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 36: 92 96.
- Saxena**, R.; Gothawal, R. and Khan, M. N. (2013). Prospective in-Silco Approach in Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon: Success so Far. *Oct. Jour. Env. Res. Vol.* 1(2), pp:137-149.
- Schaefer**, M. and Juliane, F. (2007). “The influence of earthworms and organic additives on the biodegradation of oil contaminated soil”. *Applied SoilEcology*, **36** (2) 53-62.
- Semple**, K.T.; Morris, A.W.J. and Paton, G.I. (2003). Bioavailability of hydrophobic organic contaminants in soils: fundamental concepts and techniques for analysis. *European Journal of Soil Science*, 54: 809-818.

- Seo, J.S.; Keum, Y.S. and Li, Q.X. (2009). Bacterial degradation of aromatic compounds. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 6, 278–309.
- Shariati, S.; Feizabadi, Y.; Yamini. and Bahramifar, N. (2003) "Headspace solvent microextraction and gas chromatographic determination of some polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples," *Analytica Chimica Acta*, vol. 489, no. 1, pp. 21–31.
- Singh, A. and Ward, O. P. (2004). Biodegradation and Bioremediation. Springer-**Verlag, New York**, 4: 209.
- Solomon, T. W. G. (1994). *Organic Chemistry*. New York, Chichester. Brisbane, Toronto, Singapore : **John Wiley and Sons Inc. 5th edition**. pp. 52-66.
- Soltani, S.; Mowla, D.; Vossoughi, M. and Hesampour, M. (2010). Experimental investigation of oily water treatment by membrane bioreactor, *Desalination*, 250: 598–600 11 (1): 77-89. IRAQ.
- Sonawdekar, S. (2012). Bioremediation: A boon to hydrocarbon degradation. *International Journal of Environmental Sciences*, 2(4), pp: 2408-2424.
- Sorkhoh, N.A.; Ghannoum, M.A.; Ibrahim, A.S.; Stratton, R.J. and Radwan, S.S. (1990). Crude oil and hydrocarbon rhodochrous isolated from soil and marine environments in Kuwait. *Environ. Pollut.* 65: 1-17
- Sorkhok, N.A.; Ghannoum, M.A.; Ibrahim, A.S.; Stretton, R. J. and Rad Suleimanov, A.Y. (1995). Conditions of waste fluid accumulation at petrochemical and processing enterprise prevention of their harm to water bodies. *moditsing truda promyswe N Naia Ekology ila*, 12: 31 -36.
- Srujana, K. and Khan, A.B. (2012). Isolation and Characterization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Degrading Soil Microbes from Automobile Workshop Sediments, 5(1): 74-83.
- STROUD, J.L; PATON, G.I. and SEMPLE, K.T. (2007). Microbe-aliphatic hydrocarbon interactions in soil: implications for biodegradation and bioremediation. *Journal of Applied Microbiology*, 102, 1239-1253.

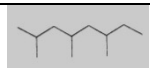
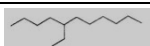
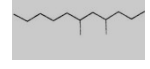
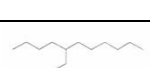
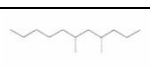
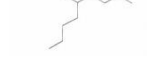
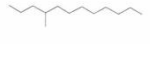
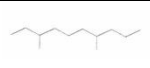
- Texas, B.**(2001). In proceeding of the fifteenth Arctic and marine oil spill program technical seminar .**canada Ottawa Canada** .
- Tripathi, A.D** and **Srivastava, S.K.**(**2011**). Novel approach for optimization of fermentative condition for Polyhydroxy- butyrate (PHB) production by *Alcaligenessp.* using Taguchi (DOE) methodology. *African Journal of Biotechnology*, 10(37), pp: 7219-7224.
- Ulas, M.**(2013). The effect of the dispersant Corexit 9500 on the biodegradation of north sea crude oil at low temperatures. Faculty of Science and Technology Department of Mathematic and natural Science , master of science Degree program, **water science and Technology University of Stavanger, Norway**.
- van Beilen, J.B. and Funhoff, E.G .**(2007). *Alkane hydroxylases involved in microbial alkane degradation. Appl Microbiol Biotechnol* 74: 13-21.
- Van Hamme, J .D .; Singh, A. and Ward , O.P.**(2003). Recent advances in petroleum microbiology microbial . **mol .Rev** . 67:503-511.
- Venosa, A. D. and Zhu, X.** (2003). Biodegradation of crude oil contaminating marine shoreline and freshwater wetlands. **Spill science and technology bulletin**,. 8, no. 2:. 163-178.
- VIJAY, K ; Simranjeets; Anum , P.R; Tikan, N; Sourav, S; Parvinder, K ; Pooja, B ; SHIVIKA D , ARJUN K , RIDHI J , JOGINDERS , SITAN –SHS, and NIRAJ U.**(2014). Bioremediation of petroleum hydrocarbons by using pseudomonas species isolated from petroleum contaminated soil . , 30 (4), 1771-1776.
- Wake, H.** (2005). Oil refineries: A review of their ecological impact on the aquatic environment, **Estuarine, Coastal and Shelf Science**,. 62:131-140.
- Wang, Q.; Zhang, S.; Li, Y. and Klassen, W.**(**2011**). Potential approaches to improving biodegradation of hydrocarbons for bioremediation of crude oil pollution. *Journal of Environmental Protection*, 2, pp: 47-55.
- Wilson, J.J.; Hatcher, J.F. and Goudey, J.S.**(2002). Exotoxicological Endpoint Contaminated Site Remediation. Hydroqual Laboratories Calgary. Ann 1st Super Sanita. Vol. 38, pp. 143–147. **Alberta, Canada** .

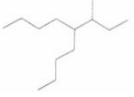
- Winslow** ,S. D. ; Prakash ,B. ; Domino ,M. M. and Pepich ,B. V. 2000 "Determination of selected semivolatile organic compounds in drinking water by solid phase extraction and capillary column gas chromatography/ mass spectrometry (GC/MS)," U.S. **Environmental Protection Agency: Method** 556, 1–49.
- Witholt.** B.; De Smet. M.; Kingma, J.; Van Neilen, ~ B.; Kok, M.; Lagevccn, R G. and Eggink, G. (1990) Bioconversions of aliphatic compounds by *Pseudomonas oleovorans* in multiphase bioreactors: background and economic potential. **T/BTECH 8**, 46-52 .
- Wolick,** D and Borkowski,A(2012)introduction to enhanced oil Recovery (EOR),Processes and Bioremediation of oil – contaminated site . university of warsaw-Poland [www.intechopen](http://www.intechopen.com) . com, PP:113-143.
- Xia,** W.Li .J.; Xia ,Y.; Song, Z.andZhond.(2012) :optimization of diesel oilBiodegradation in sea watervusing statistical experimental methodology . **water scitechnol** ,66 . 130-1309.
- Xu,** Y.(2001). Biodegradation of High Concentrations of Crude Oil in Microcosms. A thesis of M.Sc. Department of Civil and Environmental Engineering. **College of Engineering. University of Cincinnati. China.** pp. 1-207.
- Yang,** M. (2011). Measurement of Oil in Produced Water; K, Lee and Zhejiang ,J. ; Zhang ,G. L. ; Yu ,Y. T. ; Qian ,X. P. and Meng ,Q.(2005).“Biodegradation of Crude Oil by Pseudomonas aerations in thePresence of Rhamnolipids” **Univ. Sci.** 6, 725 – 730.
- Yang,** M. (2011). Measurement of Oil in Produced Water; K, Lee and Jerry M. Neff. Produced Water: Environmental Risks and Advances in Mitigation Technologies. (57-88). **Springer Science+Business Media, LLC.USA** .
- Zhejiang** ,J. ; Zhang ,G. L. ; Yu ,Y. T. ; Qian ,X. P. and Meng ,Q.(2005) . “Biodegradation of Crude Oil by Pseudomonas aerations in the Presence of Rhamnolipids” **Univ. Sci.** 6, 725 – 730.

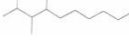
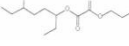
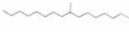
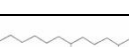
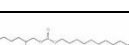
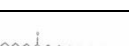
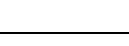
- Zhnang** ,W.Q.;Tay, J.H.;maszenan, A.M.andTay, S.T.(2003).Isolation of naphthalene _ degradation bacteria from tropical marine sediments . **water science technology**,47 303-308.
- Zhu**, M.; Wang, H.; Su,H. ; You, X. and Jin,W.(2010).Study on Oxidation effect of ozone on petrolume -based pollutants inwater. **Modern applied science** , 4(1) : 6-11
- Zhu**,X.;venose , A.D.; Suidan ,M.T.and Lee.K.(2001).Guide lines for the Bioremediation of marine shore lines and freshwater wetlands Report under a contract with office of Research and Development , **U.S.Environmental protection Agency** .

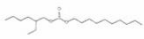
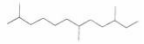
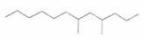
الملحقات

(كونترول) عينة نفط خام 1 ملحق رقم

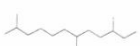
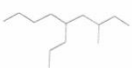
اسم المركب	الوزن الجزيئي	صيغة المركب	التركيب الجزيئي
Octane,2,4,6-2,4,6iTrimethyloctane	156	C ₁₁ H ₂₄	
Undecane,5- 5-	184	C ₁₃ H ₂₈	
Undecane,4,6-4,6-	184	C ₁₃ H ₂₈	
Decane,2,6,8-2,6,8-	184	C ₁₃ H ₂₈	
Dodecane,3-3-	184	C ₁₃ H ₂₈	
n-Undecane n-C ₁₁ H ₂₄ UN	156	C ₁₁ H ₂₄	
Octane,2,4,6-2,4,6-	156	C ₁₁ H ₂₄	
Undecan,5-ethyl5-	184	C ₁₃ H ₂₈	
Undecane,4,6-dimethyl- 4,6-Dimethylundecane	184	C ₁₃ H ₂₈	
Octane,3,5-dimethyl- 3,5-Dimethyloctane	142	C ₁₀ H ₂₂	
Nonane,5-(2-methylpropyl)- 5-Isobutylnonane	184	C ₁₃ H ₂₈	
Nonane,5-butyl- 5-Butylnonane 5-n-Butylnonan	184	C ₁₃ H ₂₈	
Dodecane,4-methyl-4 4-Methyldodecane	184	C ₁₃ H ₂₈	
Decane,3,7-dimethyl- 3,7-Dimethyldecane	170	C ₁₂ H ₂₆	

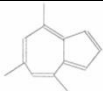
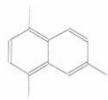
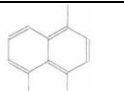
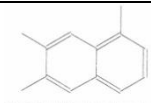
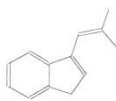
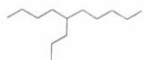
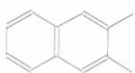
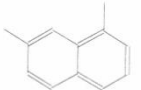
Nonane,5-(1-methylpropyl)- 45-Sec-butylnonane	184	$C_{13}H_{28}$	
Pentadecane n-pntadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Hexadecane n-Cetane n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Undecane,2-methyl- 2-Methylundecane	170	$C_{12}H_{26}$	
Eicosane,10-methyl- 10-Methyleicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Undecane,3-methyl- 3-Methylundecane 2-Ethy-decane	170	$C_{12}H_{26}$	
Decane,3,8-dimethy- 3,8-Dimethyldecane	170	$C_{12}H_{26}$	
Sulfurous acid,butyldecyl ester	278	$C_{14}H_{30}O_3S$	
Decane,2,3,5-trimethyl - 2,3,5-Trimethyldecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecane,2-methyl-6-propyl- 2-Methyl-6-propyldodecane	226	$C_{16}H_{34}$	
Undecane,4,6-dimethyl- 4,6-Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane n-Undecane Hendecane n- $C_{11}H_{24}$ Tridcane UN2330	156	$C_{11}H_{24}$	
n-Tridecane Tridcane,n-	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecane n-Dodecane Adakane12 Ba51-090453 $CH_3(CH_2)_{10}CH_3$ Bihexyl Dihexyl n-Dodecane min	170	$C_{12}H_{26}$	

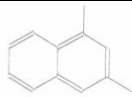
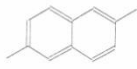
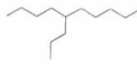
Duodcane			
Octane,3,5-dimethyl- 3,5-Dimethyloctane	142	$C_{10}H_{22}$	
Dodecane,4-methyl- 4-methyldodecane	184	$C_{13}H_{28}$	
DDecane,2,3,4-trimethyl- 2,3,4-Trimehyldecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane,2,3-dimethyl- 2,3-Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Oxalic acid,6-ethyloct-3-yl propyl ester	272	$C_{15}H_{28}O_4$	
9-methylhptadecane	254	$C_{18}H_{38}$	
Pentadecan n-Pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Undecane,2,10-dimethyl- 2,10-Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Hexadecane n-Cetane n-Hexadecane Ceane	226	$C_{16}H_{34}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Dodecane,2-methyl-6-propyl -2-Methyl-6-propyldodecane	226	$C_{16}H_{34}$	
Sulfurous acid,2-ethylhexyl undecyl ester	348	$C_{19}H_{40}O_3S$	
Sulfurous acid,2-ethylhexyl heptadecyl ester	432	$C_{25}H_{52}O_3S$	
Undecan,3,9-dimethyl- 3,9-diethyl	184	$C_{13}H_{28}$	

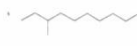
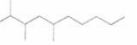
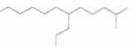
Sulfurous acid, decyl 2-ethylhexyl ester	334	$C_{18}H_{38}O_3S$	
Sulfurous acid,2-ethylhexyl hexadecyl ester	418	$C_{24}H_{50}O_3S$	
Hexadecane n-Cetane n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Pntadecane n-Pntadecane CH3(CH2)13CH3	212	$C_{15}H_{32}$	
Dodecane,2,7,10-trimethyl- 2,7,10-Trimethyldodecane	212	$C_{15}H_{32}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Dodecane n-Dodecane Adakane12 Ba51-090453 CH3(CH2)10CH3 Bihexyl Dihexyl n-Dodecane min Duodecane	170	$C_{12}H_{26}$	
Tridecane,4-methyl- 4-methyltridecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Undecane,3,8-dimethyl- 3,8-Dimthylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane,3-ethyl- Ethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecane,4,6-dimethyl- 4,6-Dimethyldodecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Tetradecane,4-methyl- 4-Methyltetradecane	212	$C_{15}H_{32}$	
Tridecane,2-methyl- 2-Methyltridecane 2-methyl-n-tridecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Hexadecane n-Cetane n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	

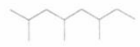
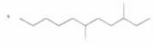
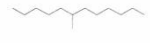
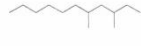
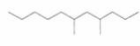
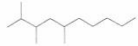
Pentadecane n-Pentadecane CH ₃ (CH ₂) ₁₃	212	C ₁₅ H ₃₂	
Tetradecane n-Tetradecane	198	C ₁₄ H ₃₀	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	C ₁₇ H ₃₆	
Decane,3,8-dimethyl- 3,8-Dimethyldecane	170	C ₁₂ H ₂₆	
Undecane,3,9-dimethyl- 3,9-Dimethylundecane	184	C ₁₃ H ₂₈	
Tridecane,3-methyl- 3-Methyltridecane Tridecane,3-methyl-	198	C ₁₄ H ₃₀	
3,5-Dimethyldodecane	198	C ₁₄ H ₃₀	
Undecane,3-methyl-3-methylundecane -Ethyl-decane	170	C ₁₂ H ₂₆	
Dodecane,2,6,10-trimethyl-farnesane farnesane 2,6,10-Trimethyldodecane	212	C ₁₅ H ₃₂	
Dodecane,2,7,10-trimethyl-2,7,10-Trimethyldodecane	212	C ₁₅ H ₃₂	
Pentadecane,2,6,10-	268	C ₁₉ H ₄₀	
Nonane,3-methyl-5-propyl-3-Methyl-5-propylnonane	184	C ₁₃ H ₂₈	
Pentadecanen-Pentadecane CH ₃ (CH ₂) ₁₃ CH ₃	212	C ₁₅ H ₃₂	
Hexadecane n-Cetane n-Hexadecane Cetan	226	C ₁₆ H ₃₄	

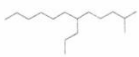
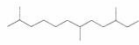
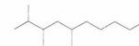
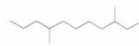
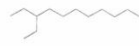
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Pentadecane	212	$C_{15}H_{32}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Dodecane,2,7,10-trimethyl- 2,7,10- Trimethyldodecane	212	$C_{15}H_{32}$	
Hexadecane n-Cetane Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Pentadecane n-Pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Dodecane,2,7,10-trimethyl-2,7,10- Trimethyldodecane	212	$C_{15}H_{32}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Heptadecane,2,6,10,15- tetramethyl-2,6,10,15- Tetramethylheptadecane	296	$C_{21}H_{44}$	
Pentadecane n-pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Nonane,3-methyl-5-propyl- 3- methyl-5-propylnonane	184	$C_{13}H_{28}$	

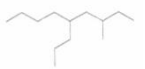
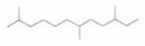
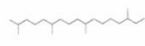
Heptane,2,4-dimethyl- 2,4-Dimethylheptane	128	C_9H_{20}	
Octane n-Octane n-C ₈ H ₁₈ Oktanen Ottani UN1262	114	C_8H_{18}	
Nonane n-Nonane shellsol140 n-C ₉ H ₂₀ UN1920	128	C_9H_{20}	
Dodecane,5-methyl- 5-Methyldodecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Hexane,2,3,trimethyl- -2,3,4-Trimethylhexane	128	C_9H_{20}	
Nonanen-Nonan Shellson140 n-C ₉ H ₂₀ UN1920	128	C_9H_{20}	
Undecane n-Undecan Hendecane n-C ₁₁ H ₂₄ UN2330	156	$C_{11}H_{24}$	
Nonane,2,5-dimethyl-2,5-Dimethylnonane	156	$C_{11}H_{24}$	
Octane,2,7-dimethyl- Diiioamyl 2,7-Dimethyloctane	142	$C_{10}H_{22}$	
Tridecane n-Tridecane Tridecane,n-	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane -Undecane Hendecane n-C ₁₁ H ₂₄	156	$C_{11}H_{24}$	
Octane,2,4,6-trimethyl -2,4,6-Trimethyloctane	156	$C_{11}H_{24}$	
Undecane,4,6-dimethyl-4,6-Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	

Decane,6-ethyl-2-methyl-6-Ethyl-2-methyldecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Octane,3,5-dimethyl-3,5-Dimethyloctane	142	$C_{10}H_{22}$	
Nonane,5-(2-methylpropyl)- 5-Isobutyrononane	184	$C_{13}H_{28}$	
Nonane,3,7-dimethyl-3,7-Dimethylnonane	156	$C_{11}H_{24}$	
Decane,3-methyl-3-Methyldecane 2-Ethylnonane	156	$C_{11}H_{24}$	
Undecane,3,4-dimethyl-3,4-Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Sulurousacid,butylnonyl ester	264	$C_{13}H_{28}O_3S$	

Undecane,3-methyl-Methylundecane 2-Ethyl-decane	170	$C_{12}H_{26}$	
Decane,3,8-dimethyl-3,8-Dimethyldecane	170	$C_{12}H_{26}$	
Sulurous acid ,butyl decyl ester	278	$C_{14}H_{30}O_3S$	
Decane,2,3,5-trimethyl-2,3,5-Trimethyldecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecane,2-methyl-6-propyl-2-Methyl-6-propyldodecane	226	$C_{16}H_{34}$	
Undecane,4,6-dimethyl-4,6-Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane n-Undecane Hendecane n-C11H24	156	$C_{11}H_{24}$	

UN2330			
Tridecane n- TridecaneTridecane,n-	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecane n-Dodecane Adakane12Ba51- 090453CH ₃ (CH ₂) ₁₀ CH ₃ BihexyDihexyl n-Dodecane minDuodecane	170	$C_{12}H_{26}$	
Octane,2,4,6-trimethyl-2,4,6- Trimethyloctane	156	$C_{11}H_{24}$	
Undecane,3,6-dimethyl-3,6- Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane,2,5-dimethyl -,2,5- Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecane,6-methyl-6- methyldodecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane,3,5-dimethyl-3,5- Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane,4,6-dimethyl-4,6- Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Pentadecane n-pentadecan CH ₃ (CH ₂) ₁₃ CH ₃	212	$C_{15}H_{32}$	
Hexadecane n-cetane\$\$n- HexadecaneCetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Decane,2,3,5-trimethyl-2,3,5- Trimethyldecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	

Dodecane,2-methyl-6-propyl- 2-methyl-6-propyldodecane	226	$C_{16}H_{34}$	
Hexadecanen-Cetane n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{32}$	
Pentadecane n-Pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Dodecane,2,7,10-trimethyl-2,7,10-Trimethyldodecane	212	$C_{15}H_{32}$	
Tetradecane n-Ttradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Decane,2,3,5-rtrimethyl-2,3,5-Trimethyldecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Tridecane,4-methyl-4-Methyltridecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Undecane,3,8-dimethyl-3,8-Dimethyundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecane,4-methyl-4-Methyldodecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane,3-ethyl-3-Ethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecane,4,6-dimethyl-4,6-Dimethyldodecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Hexadecanen-Cetane n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Heptadecane n-Heptadecane normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Pentadecane n-pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	

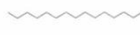
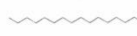
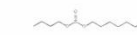
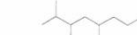
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Undecane,3,8-dimethyl-3,8-Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Nonane,3-methyl-5-propyl-3-Methyl-5-propylnonane	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecane,2,6,10-trimethyl-arnesan farnesane 2,6,10-Trimethyldodecane	212	$C_{15}H_{32}$	
Dodecane,2,7,10-trimethyl-2,7,10-Trimethyldodecane	212	$C_{15}H_{32}$	
Pentadecane,2,6,10,14-tetramethyl- Bute hydrocarbon Norphytan\$\$norphytan pristan pristan 2,6,10,14-Tetradecanepentane	268	$C_{19}H_{40}$	
Heptadecane,2,6,10,1tetradecane- 2,6,10,15-Tetradecanheptadecane	296	$C_{21}H_{44}$	
Heptadecane n-Heptadecane normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Hexadecane n-Cetane n-Hexadecane Cetan	226	$C_{16}H_{34}$	
Pentadecane n-Pentadecane CH3(CH2)3CH3	212	$C_{15}H_{32}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	

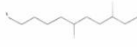
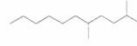
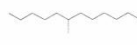
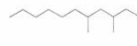
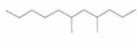
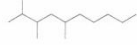
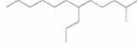
Tritetracontane	604	$C_{43}H_{88}$	
Tetratetracontane n- Tetratetracnotan	618	$C_{44}H_{90}$	
Heptacosan,1-chloro-1- Chloroheptacosane	414	$C_{27}H_{55}Cl$	
2-methyloctacosane	408	$C_{29}H_{60}$	
Hentriacontane n- Hentricontane Untriacontane	436	$C_{31}H_{64}$	
Heptadecane,3-methyl-3- Methylheptadecane Hexadecane,2-ethyl	254	$H_{18}H_{38}$	
2-methyloctacosane	408	$C_{29}H_{60}$	
Heptacosane,1-chloro-1- Chlorohptacosane	414	$C_{27}H_{55}Cl$	
Tritetacontane	604	$C_{43}H_{88}$	
Sulurous acid , butyhexadecyl ester	362	$C_{20}H_{42}O_3S$	
Heptadecane n - HeptadecaneNormal- heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Heneicosane n- HeneicosanHeneicpsan	296	$C_{21}H_{44}$	
Hexadecane n-Cetane n- Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	

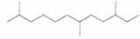
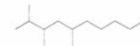
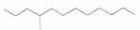
Pentadecanen-Pentadecane CH ₃ (CH ₂) ₁₃ CH ₃	212	C ₁₅ H ₃₂	
Tetradecane n-Tetradecane	198	C ₁₄ H ₃₀	
Heptadecane,2,6,10,15- tetradecane- 2,6,10,15- Tetramethylheptadecane	296	C ₂₁ H ₄₄	
2-Methyloctacosane	408	C ₂₉ H ₆₀	
Tritetracontane	604	C ₄₃ H ₈₈	
Hexadecane,2,6,10,14- tetramethyl- phytan phytan 2,6,10,14- Tetramethylhexadecane	282	C ₂₀ H ₄₂	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	C ₂₁ H ₄₄	
Hptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	C ₁₇ H ₃₆	
Hexadecane n-Cetane n- Hexadecane Cetane	226	C ₁₆ H ₃₄	
Heneicosane n-Heneicosane Henicoane	296	C ₂₁ H ₄₄	
Pentadecane n-Pentadecane CH ₃ (CH ₂) ₁₃ CH ₃	212	C ₁₅ H ₃₂	
Tetradecane n-Tetradecane	198	C ₁₄ H ₃₀	
Henicosane n-Heneicosan Heneicosane	296	C ₂₁ H ₄₄	

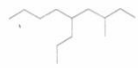
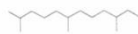
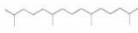
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Heptadecan,2,6,10,15- tetramethyl-2,6,10,15- Tetramethylheptadecane	296	$C_{21}H_{44}$	
Pentadecane n-Pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Eicosane n-Eicosane Icosane n-Icosane	282	$C_{20}H_{42}$	
Hexadecane n-Cetane n- HexadecaneCetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Eicosane n-icosane Icosane n-Icosane	282	$C_{20}H_{42}$	
Hexadecane n-Cetane n- Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	

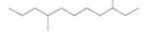
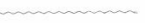
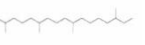
Pentadecane,8-hexyl- 8-n-Hexylpentadecane 8-Hexylpentadecane	296	$C_{21}H_{44}$	
Tetratetracontane n-Tetratetracontane	618	$C_{44}H_{90}$	
Eicosane n-Eicosane cosane nicosane	282	$C_{20}H_{42}$	
2-methyloctacosane	408	$C_{29}H_{60}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Eicosane n-Eicosane lcosane nicosane	282	$C_{20}H_{42}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Tetratriacontanen-Tetratricontane	478	$C_{34}H_{70}$	
Hexatriacontane n-Hexatriacontane	506	$C_{36}H_{74}$	
2-Methyloctacosane	408	$C_{29}H_{60}$	
Tetratetracontane n-Tetratetracontane	618	$C_{44}H_{90}$	
Heneicosane n-HeneicosaneHeneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Pentadecane,7-hexyl-8-n-Hexylpentadecane 8-Hexylpentadecane	296	$C_{21}H_{44}$	

Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Eicosane n-Eicosane n-Icosane	282	$C_{20}H_{42}$	
Octadecane,1-iodo- Octadecyl iodide tearyl iodide 1- Iodooctadecane n-Octadecyl iodide	380	$C_{18}H_{37}I$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Tetratriacontane n- Tetratriacontane	478	$C_{34}H_{70}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Undecane,3-methyl-Methylundecane 2-Ethyl-decane	170	$C_{12}H_{26}$	
Decane,3,8-dimethyl-3,8- Dimethyldecane	170	$C_{12}H_{26}$	
Sulurous acid ,butyl decyl ester	278	$C_{14}H_{30}O_3S$	
Decane,2,3,5-trimethyl-2,3,5- Trimethyldecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecane,2-methyl-6-propyl-2- Methyl-6-propyldodecane	226	$C_{16}H_{34}$	
Undecane,4,6-dimethyl-4,6- Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane n-Undecane Hendecanen- C11H24UN2330	156	$C_{11}H_{24}$	

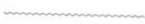
Tridecanen-Tridecane Tridecane,n-	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecanen-Dodecane Adakane12 Ba51-090453 $CH_3(CH_2)_{10}CH_3$ Bihexy Dihexyl n-Dodecane min Duodecane	170	$C_{12}H_{26}$	
Octane,2,4,6-trimethyl-2,4,6- Trimethyloctane	156	$C_{11}H_{24}$	
Undecane,3,6-dimethyl-3,6- Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane,2,5-dimethyl-2,5- Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecane,6-methyl- 6- methyldodecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane,3,5-dimethyl-3,5- Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane,4,6-dimethyl-4,6- Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Pentadecanen-pentadecan $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Hexadecanen-cetane n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Decane,2,3,5-trimethyl-2,3,5- Trimethyldecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Dodecane,2-methyl-6-propyl-2- methyl-6-propyldodecane	226	$C_{16}H_{34}$	
Hexadecane n-Cetane \$n-	226	$C_{16}H_{32}$	

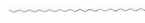
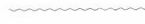
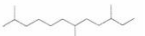
Hexadecane Cetane			
Pentadecane n-Pentadecane CH ₃ (CH ₂) ₁₃ CH ₃	212	C ₁₅ H ₃₂	
Dodecane,2,7,10-trimethyl-2,7,10- Trimethyldodecane	212	C ₁₅ H ₃₂	
Tetradecane n-Ttradecane	198	C ₁₄ H ₃₀	
Decane,2,3,5-rtimethyl-2,3,5- Trimethyldecane	184	C ₁₃ H ₂₈	
Tridecane,4-methyl-4- Methyltridecane	198	C ₁₄ H ₃₀	
Undecane,3,8-dimethyl-3,8- Dimethyundecane	184	C ₁₃ H ₂₈	
Dodecane,4-methyl-4- Methyldodecane	184	C ₁₃ H ₂₈	
Undecane,3-ethy-3-Ethylundecane	184	C ₁₃ H ₂₈	
Dodecane,4,6-dimethyl-4,6- Dimethyldodecane	198	C ₁₄ H ₃₀	
Hexadecane n-Cetanen- HexadecaneCetane	226	C ₁₆ H ₃₄	
Heptadecane n-Heptadecane normal-heptadecane	240	C ₁₇ H ₃₆	
Pentadecane n-pentadecane CH ₃ (CH ₂) ₁₃ CH ₃	212	C ₁₅ H ₃₂	
Tetradecane n-Tetradecane	198	C ₁₄ H ₃₀	
Undecane,3,8-dimethyl- 3,8- Dimethylundecane	184	C ₁₃ H ₂₈	

Nonane,3-methyl-5-propyl- 3-Methyl-5-propylnonane	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecane,2,6,10-trimethyl- arnesan farnesane 2,6,10-Trimethyldodecane	212	$C_{15}H_{32}$	
Dodecane,2,7,10-trimethyl -2,7,10-Trimethyldodecane	212	$C_{15}H_{32}$	
Pentadecane,2,6,10,14-tetramethyl- Bute hydrocarbon Norphytan\$norphytan pristan pristan 2,6,10,14-Tetradecanepentane	268	$C_{19}H_{40}$	
Heptadecane,2,6,10,1tetradecane- 2,6,10,15-Tetradecanheptadecane	296	$C_{21}H_{44}$	
Heptadecane n-Heptadecane normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Hexadecane n-Cetane n-Hexadecane Cetan	226	$C_{16}H_{34}$	
Pentadecane n-Pentadecane CH3(CH2)3CH3	212	$C_{15}H_{32}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Trittracontane	604	$C_{43}H_{88}$	
Tetratetracontane n- Tetratetracnotan	618	$C_{44}H_{90}$	
Heptacosan,1-chloro- 1- Chloroheptacosane	414	$C_{27}H_{55}Cl$	

2-methyloctacosane	408	$C_{29}H_{60}$	
Hentriacontane n-Hentricontane Untriacontane	436	$C_{31}H_{64}$	
Heptadecane,3-methyl- 3- Methylheptadecane Hexadecane,2- ethyl	254	$H_{18}H_{38}$	
2-methyloctacosane	408	$C_{29}H_{60}$	
Heptacosane,1-chloro- 1- Chlorohptacosane	414	$C_{27}H_{55}Cl$	
Tritetacontane	604	$C_{43}H_{88}$	
Sulurous acid , butyhexadecyl ester	362	$C_{20}H_{42}O_3S$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Heneicosane n-Heneicosan Heneicpsan	296	$C_{21}H_{44}$	
Hexadecane n-Cetane n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Pentadecane n- PentadecaneCH3(CH2)13CH3	212	$C_{15}H_{32}$	
Tetradecane\$\$n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Heptadecane,2,6,10,15-tetradecane- 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane	296	$C_{21}H_{44}$	
2-Methyloctacosane	408	$C_{29}H_{60}$	

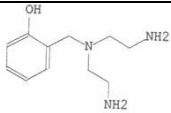
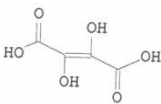
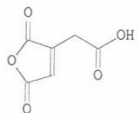
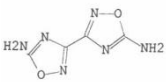
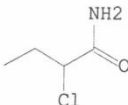
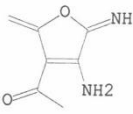
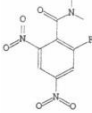
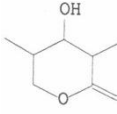
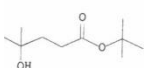
Tritetracontane	604	$C_{43}H_{88}$	
Hexadecane,2,6,10,14-tetramethyl- phytan phytan 2,6,10,14- Tetramethylhexadecane	282	$C_{20}H_{42}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal- heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Hexadecane n-Cetane n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Heneicosane –Heneicosane Henicoane	296	$C_{21}H_{44}$	
Pentadecane n-Pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Henicosane n-Heneicosan Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Heptadecan,2,6,10,15-tetramethyl- 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane	296	$C_{21}H_{44}$	
Pentadecane n-Pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	

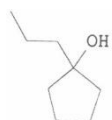
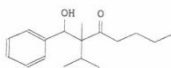
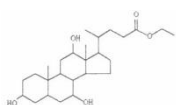
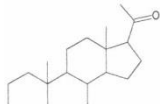
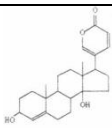
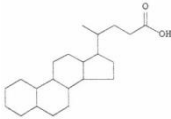
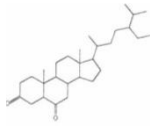
Heptadecane n-Heptadecane Nrmal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Eicosane n-Eicosane Icosane n-Icosane	282	$C_{20}H_{42}$	
Hexadecane n-Cetane n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Eicosane n-icosena\$\$\$Icosanen-Icosane	282	$C_{20}H_{42}$	
Hexadecane\$\$\$n-Cetane\$\$\$n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Pentadecane,8-hexyl- 8-n-Hexylpentadecane 8-Hexylpentadecane	296	$C_{21}H_{44}$	
Tetratetracontane n-Tetratetracontane	618	$C_{44}H_{90}$	
Eicosane n-Eicosane Icosane#nIcosane	282	$C_{20}H_{42}$	
2-methyloctacosane	408	$C_{29}H_{60}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	

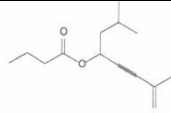
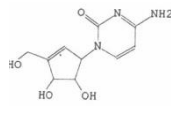
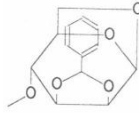
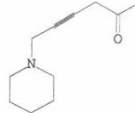
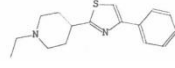
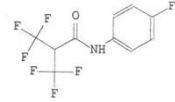
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Eicosane n-Eicosane Icosane n-Icosane	282	$C_{20}H_{42}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Tetratriacontane n-Tetratriacontane	478	$C_{34}H_{70}$	
Hexatriacontane n-Hexatriacontane	506	$C_{36}H_{74}$	
2-Methyloctacosane	408	$C_{29}H_{60}$	
Tetratetracontane n-Tetratetracontane	618	$C_{44}H_{90}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Pentadecane,7-hexyl-8-n-Hexylpentadecane 8-Hexylpentadecane	296	$C_{21}H_{44}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Eicosane n-Eicosane Icosane n-Icosane	282	$C_{20}H_{42}$	
Octadecane,1-iodo- Octadecyl iodide tearyl iodide 1-Iodo-octadecane n-Octadecyl iodide	380	$C_{18}H_{37}I$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Tetratriacontane n-Tetratriacontane	478	$C_{34}H_{70}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	

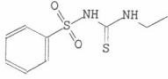
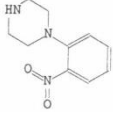
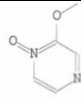
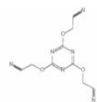
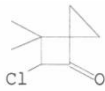
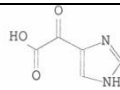
اسم المركب	الوزن الجزيئي	صيغة المركب	التركيب الجزيئي
Spirohexan -4-one ,5-chloro-6,6-dimethyl-	158	$C_8H_{11}ClO$	
Spiohexan-4-one,5,5-dimethyl	124	$C_8H_{12}O$	
Spiro{2.3}hexan-4-one,5-chloro-6-methyl	144	C_7H_9ClO	
3,3-dimethylbis (trifluoromethyl)boranemethylglycine	323	$C_{11}H_{20}BF_6NO_2$	
Gamma.-Guanidinobutyric acid Butanoic acid, 4- {(aminoiminomethyl)amino- 4- (Amino(imino)methyl)ami	145	$C_5H_{11}N_3O_2$	
Hexanal n-caroaldehyde n-hexanal caproaldehyde caproic aldehyde hexaldehyde n-C5H11CHO	100	$C_6H_{12}O$	
Alanine, n-(2-methylbutyl)-methyl2-{(2-methylbutanoyl)amino}propanoate	187	$C_9H_{17}NO_3$	
Ethanol,2-(hexylamino)- 2-(Hexylamino)ethanol	145	$C_8H_{19}NO$	

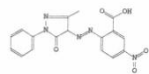
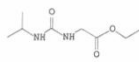
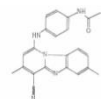
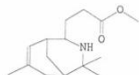
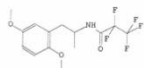
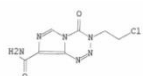
3.beta:.-Hydroxyguaia- 4(15),10(14).11(13)-trien-6,12- oilde8-(alpha.,.beta.- dihydroxybutyrate)	364	$C_{19}H_{24}O_7$	
Stigmastane-3,6-dione ,(5.alpha.)- 5.alpha.-stigmastane -3,6 –dione,(5..alpha.)- 5.alpha.,- stigmastane- 3,6- dione\$\$stigmastane-3,6-dione	428	$C_{29}H_{48}O_2$	
Geldanamycin, 18,21- didehydro-6,17-didemethoxy- 18,21-dideoxo-18,21- dihydroxy – 15-methoxy-6-METHYL-11-O- METHYL-, (6S,15R)- Geldar	560	$C_{30}H_{44}N_2O_8$	
2H-pyran,2-(7- heptadecynyloxy)tetrahdro- 2- (7-Heptadecynyloxy)tetrahydro- 2H-pyran	336	$C_{22}H_{40}O_2$	
1-Heptatriacotanol 1- Heptatriacontanol	536	$C_{37}H_{76}O$	
N-{3,5-Dinitropyridin -2- yl}proline 1-(3,5-Dinitro-2- pyridinyl1)proline	282	$C_{10}H_{10}N_4O_6$	
1-Alanine,trimethylsilyl ester	161	$C_6H_{15}NO_2Si$	
2-Methylaminomethyl-1,3- dioxolane 1,3-Dioxolan-2-yl-n- methylmthanamine	117	$C_5H_{11}NO_2$	

Benzylmine,2-hydroxy-n,n-di-{2-aminoethyl}- 2-({Bis(2-aminoethyl)amino}methyl)phenol	209	$C_{11}H_{19}N_3O$	
2-Butenedioic acid ,2,3-dihydroxy -, (E) Dihydroxyfumaric acid fumaric acid ,dihydroxy- I Acid diidrossifumarico (2E)-2,3-Dih	148	$C_4H_4O_6$	
Cis-Aconitic anhydride (z)- Aconitic anhydride 3-furanacetic acid ,2,5 –dihydro -2,5-dioxo- \$\$Aconiticanl	156	$C_6H_4O_5$	
3,3-Bis(1,2,4-oxadiazolyl)-5,5-diamine	168	$C_4H_4N_6O_2$	
2-Chlorobutyramide	121	C_4H_8ClNO	
2-Imino-3-amino-4-acetyl1-5-methylen-2,5-dihydrofuren 1-(4-Amino-5-imino-2,5-dihydro-3-furanyl)ethanon	152	$C_7H_8N_2O_2$	
Benzamide, 2-fluoro-4,6-dintro-n,n-dimethel- 2-fluoro-n,n-dimethel-4,6-dinitrobenzamide	275	$C_9H_8N_3O_5$	
Valeric acid,3,5-dihydroxy-2,4-dimthyl-,.delta-lacton	144	$C_7H_{12}O_3$	
4-Hydroxy-4-methylhex-5-enoic acid ,tert,-butylester tert-Butyl4-hydroxy-4-methyl-5-	200	$C_{11}H_{20}O_3$	

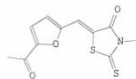
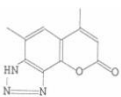
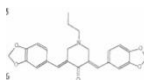
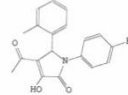
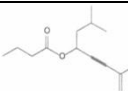
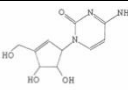
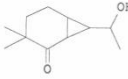
hexenoate			
1-Propyl-1-cyclopentanol Cyclopentanol,1-propyl- 1-propylcyclopentanol	128	$C_8H_{16}O$	
3-(Hydroxy-phenol-methyl)-2,3-Dimethyl-octan-4-one 3-{Hydroxy(phenyl)methyl}-4-octanon	262	$C_{17}H_{26}O_2$	
Cyclohexanol,1-ethyl- 1-Ethylhexanol 1-Ethylcyclohexanol-(1)	128	$C_8H_{16}O$	
Ethyl iso -allocholate Ethyl 3,7,12-trihydroxycholelan -24-oate	436	$C_{26}H_{44}O_5$	
PREGNAN -20-ONE,(5.ALPHA.,17.ALPHA.)-ALPHA.-Pregnan-20-one 1-pregnan-20one	302	$C_{21}H_{34}O$	
Scillarenin 3,14-Dihydroxybufa-4,20,22-trienolide	384	$C_{24}H_{32}O_4$	
Bisnorallocholanolic acid 4-Gonan-17-ylpentanoic acid	332	$C_{22}H_{36}O_2$	
3-pyridinecarboxylic acid ,2,7,10-tris(acetyloxy)-1,1a,2,3,4,6,7,10,11,11a-decahydro-1,1,3,6,9-pentamethyl-4-oxo-4a,7a,-epoxy-5H-cyclopenta	597	$C_{32}H_{39}NO_{10}$	

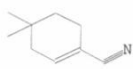
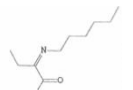
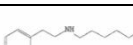
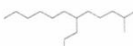
Butanoic acid ,2,7-dimethyloct-7-en-5-yn-4-yl ester	222	$C_{14}H_{22}O_2$	
Bicyclo{3.1}hexan-2-ol,2-methyl-5-(1-methylethyl),(1.alpha.,2.beta	154	$C_{10}H_{18}O$	
2(1H)-pyrimidinone,4-amio=no-1-(4,5-dihydroxy-3-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten)-1-y1)-,(1R-(1.alpha.,4-beta.,5-beta))- 1-(1R,2S,3R)	239	$C_{10}H_{13}N_3O_4$	
4-O-Methyl2,3-o-benzal-d-mannosan	264	$C_{14}H_{16}O_5$	
7-(1-Hydroxy-ethyl)-3,3-dimethyl-bicyclo{4.1.0}heptan-2-one	182	$C_{11}H_{18}O_2$	
2-Butynone,1-acety-4-{1-piperidyl}- 6-(1-piperidiny)-4-hexyn-2-one	179	$C_{11}H_{17}NO$	
1-Ethyl-4-(4-phenyl-2-thiazolyl)piperidine 1-Ethyl-4-(4-phenyl-1,3-thiazol-2-y1)piperidine	272	$C_{16}H_{20}N_2S$	
3,3,3-Trifluoro-n-(4-fluorophenyl)-2-(trifluoromethyl)propionamide 3,3,3-Trifluoro-n-(4-fluorophenyl)-2-(trifluoromethyl)propanamide	289	$C_{10}H_6F_7NO$	

Urea,1-ethyl-3-(phenylsulfonyl)- 2-thio- ((Ethylamino)carbothioyl)sulfon yl)benzene	244	$C_9H_{12}N_2O_2S_2$	
1-(20Nitrophenyl)piperazine piperazine	207	$C_{10}H_{13}N_3O_2$	
Pyrazine, methoxy-, 1-oxide 2- Methoxypyrazine 1-oxide	126	$C_5H_6N_2O_2$	
1,3,5-Triazine, 2,4,6- tris(cyanomethoxy)- 2,2,2- (1,3,5-Triazine-2,4,6- trilyl)tris(oxy)trisacetonitrile 2,4,6-Tricyanomethoxy-s- triazine	246	$C_9H_6N_6O_3$	
Spirohexan-4-one, 5-chloro-6,6- dimethyl- 5-chloro-6,6- dimethylspiro(2,3)hexane-4-on	158	$C_8H_{11}ClO$	
3-Pyridinol-1-oxide 3- Hydroxypyridine-N-oxide 3- Hydroxypyridine 1-oxide 3- PyridinolN-oxide Pyridium, 1,3- dihydroxy-1	111	$C_5H_5NO_2$	
(1H-Imidazol-4-yl)oxoacetic acid	140	$C_5H_4N_2O_2$	
Thiophene-3-ol, tetrahydro- , 1,1-dioxide Hydroxysulfolane 3- oxysulfolan Sulfolane-3-ol sulfonan-3-ol Tetrahydrothiophene	136	$C_4H_8O_3S$	
2-(4,5-Dihydro-3-methyl-5oxo-	367	$C_{17}H_{13}N_5O_5$	

phenyl-4-pyrazolyl)-5-nitrobenzoic acid 2-(E)-3Methyl-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl			
EthylN-isopropylureidoacetate Ethyl(isopropylamino)(carbonyl, amino).	188	$C_8H_{16}N_2O_3$	
Hexanal n-Carpoaldehyde n-Hexanal Caproaldehyde Caproicaldehyde capronaldehyde Hexaldehyde n-C5H11CHO	100	$C_6H_{12}O$	
1-(4-Acetamidoanilino)3,7-dimethylbenzo(4,5)imidazo(1,2-a)pyridine-4-carbonitrile n-(4-Cyano-3,7-dimethylpyrido	369	$C_{22}H_{19}N_5O$	
Prppanoic acid ,3-(4,4,7-trimethyl-3-azabicyclo(3,3,1)non-7-en-2-yl)-,methyl ester methyl3-(4,4,7-trimethyl-3-azabicyclo(3,3.1)non7-en	251	$C_{15}H_{25}NO_2$	
2,5-Dimethoxyamphetamine,pentafluoropropionate	341	$C_{14}H_{16}F_5NO_3$	
Mitozolomide Imidazo(5,1-d)-1,2,3,5-tetrazine-8-carboxamide,3-(2-chloroethyl)-3,4-dihydro-4-oxo Azolastone mitozolamide	242	$C_7H_7ClN_6O_2$	
2-Acetylpyridine4-methyl-4-benzophenethylthiosemicarbazone (1Z)-1-(2-pyridinyl)ethanoneN-	321	$C_{17}H_{20}N_4S$	

methyl-N-(2-phenyl)thiosemicarbazone			
Thiocyanic acid ,5.alpha-cholestan-3.beta.-yl ester cholestan -3-yl thiocyanate	429	$C_{28}H_{47}NS$	
Octanoic acid ,2-ethylcyclohexyl ester	254	$C_{16}H_{30}O_2$	
2-Pentenoic acid ,4,4-dimethyl-methylester methyl(2E)-4,4dimehyl-2-pentenoat	142	$C_8H_{14}O_2$	
2-(1-Chloro-2,3,3-trifluorocyclobutyl)cyclopropanecarboxylic acid methyl ester	242	$C_9H_{10}ClFO_2$	
1-Aminononadecane,N-trifluoroacetyl	379	$C_{21}H_{40}F_3NO$	
Tricyclo{5.2.1.0(2,6)}dec-8-en-3-o1,10,10-difluoro-	186	$C_{10}H_{12}F_2O$	
Octanoic Acid,2-ethylcyclohexyl ester	254	$C_{16}H_{30}O_2$	
2-Pentenoic acid,4,4-dimethyl-,methyl ester methyl(2E)-4,4-dimethyl-2-pentenoate	142	$C_8H_{14}O_2$	
2-(1-chloro-2,3,3-trifluorocyclobutyl)-cyclopropanecarboxylic acid methyl ester methyl 2-(1-chloro-2,3,3-trifluorocyclobutyl)cyclopropan	242	$C_9H_{10}ClFO_2$	

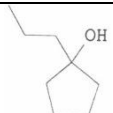
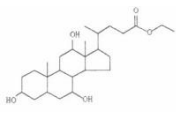
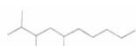
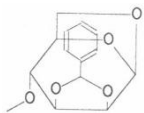
1-Aminononadecane,N-trifluoroacetyl	379	$C_{21}H_{40}F_3NO$	
Tricyclo{5,2,1,0(2,6)}dec-8-en-3-o110,10-difluoro-	186	$C_{10}H_{12}F_2O$	
Thiazolidin-4-one,5-(5-acetyl-2-furfurylideno)-3-methyl-2-thioxo- (5Z)-5-{5-Actyl-2-furyl)methylene}-3-methyl-2-thioxo-1,3-thiazolidin	267	$C_{11}H_9NO_3S_2$	
3,5-Dipiperonylidene-1-propyl-4-piperidone\$(3E,5E)\$-3,5-Bis(1,3-benzodioxol-5-ylmethylene)-1-propyl-4-piperidinone	405	$C_{24}H_{23}NO_5$	
Pyrrol-2-one,4-acetyl-1-(4-fluorophenyl)-3-hydroxy-5-o-tolyl-1,5-dihydro	325	$C_{19}H_{16}FNO_3$	
2H-pyrrol-2-one,4-acetyl-1,5-dihydro-3,hydroxyl-1-{2-(1H-imidazol-4-yl)ethyl}-5-(3-methoxyphenyl)	341	$C_{18}H_{19}N_3O_4$	
Butanoic acid,2,7-dimethyloct-7-en-5-yl-4-yl ester	222	$C_{10}H_{18}O$	
2(1H)-Pyrimidinone,4-amino-1-(4,5-dihydroxy-3-(hydroxyl)	239	$C_{10}H_{13}N_3O_4$	
4-O-Methyl-2,3-o-benzal-d-mannosan	264	$C_{14}H_{16}O_5$	
7-(1-Hydroxy-ethyl)-3,3-dimehyl-bicyclo{4.1.0}heptan-2one	182	$C_{11}H_{18}O_2$	

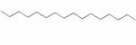
1-Adamananemethylamine, alpha.-methyl- .alpha.-methyladamantanemethylamine .alpha-methyl-1-adamantanthylamine Riman	179	$C_{12}H_{21}N$	
4,4-Dimethyl-cyclohex-1-enecarbonitrile 4,4-Dimethyl-1-cyclohexane-1-carbonnirile	135	$C_9H_{13}N$	
Butanoic acid,2-hexylimino-(2Z)-2-{(Z)-Hexylimino}butanoic acid	185	$C_{10}H_{19}NO$	
Ethanol,2-(hexylamino)- 2-(Hexylamino)ethanol	145	$C_8H_{19}NO$	
Phenethyamine,N-hexyl- n-(2-phenylethyl)-1-hxanamine	207	$C_{14}H_{23}N$	
3-Butyn-1-ol 1-Butyn-4-ol 2-Hydroxyethylacetylene 3-Butyne-1ol 3-Butynol 3-Butynyl alcohol 4-Hydroxy-1-butyne	70	C_4H_6O	
2-Butyne-1,4-diol Bis(hydroxymethyl)acetylene But-2yne-1,4-diol 1,4-Butynediol 1,4-Dihydroxy-2-butyne - Butynediol	86	$C_4H_6O_2$	
Hexanoyl chloride,2-ethyl- 2-Ethylhexanoic acid , chloride 2-Ethylhexanoyl chloride 2-Ethylcaproic acid chloride 2-Ethylcaproyl	162	$C_8H_{15}ClO$	
Spirohexan-4-one,5-chloro-6,6-dimethyl- 5-chloro-6,6-	158	$C_8H_{11}ClO$	

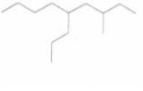
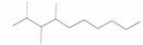
dimethylspiro{2,3}hexan-4-one			
Spiro{2,3}hexan-4-one,5-chloro-6-methyl- 5-chloro-6-methylspiro{2,3}hexan-4-one	144	C ₇ H ₉ ClO	

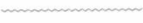
ملحق رقم(2) عينة نفط خام معالج في مزرعة بكتيرية لمدة 7 ايام (8.pH)

ملحق رقم (3) التحليل المختبري بجهاز GCMS لعينة نفط خام معالج بمزرعة عمرها 23 يوم pH

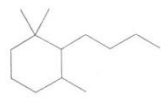
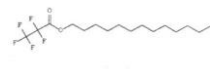
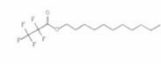
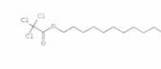
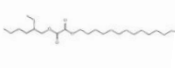
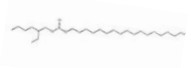
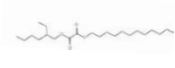
التركيب الجزيئي	الصيغة الجزيئية	الوزن الجزيئي	اسم المركب
	C ₈ H ₁₀	106	Cyclopentene,1-ethenyl-3-methylene- 3-methylene-1-vinyl-1-cyclopentene
	C ₁₆ H ₂₁ F ₃ N ₂ O ₃	346	Ethyl2-benzylamino-2-butiramido-3,3,3-trifluoropropionate Ethyl2-benzylamino)-2-(butylamino)-3,3,3-trifluoropropanoate
	C ₂₀ H ₂₃ NO ₃	325	Hexanoic acid ,2-(benzylaminocarbonyl)phenyl ester 2-{Benzylmino)carbonyl}phenyl hexanoate
	C ₁₀ H ₁₄ O	150	Benzeneethanol,alpha.,.beta.-dimethyl- 3-phenyl-2-butanol phenethyl alcohol.
	C ₈ H ₁₀	106	Benzene,1,3-dimethyl- m-Xylene m-dimethylbenzene m-xylol 1,3dimethylbenzene 2,4-xylene

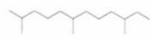
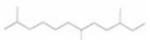
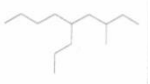
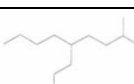
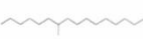
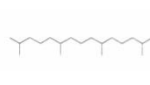
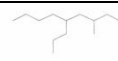
m-methyltol			
Adenosine,N(6)-{3-methylbenzyl}-4-{n-ethylcarbamoyl}-4-dehydromethyl	412	$C_{20}H_{24}N_6O_4$	
1,1-Cyclobutandicarboxamide,2-phenyl-n,n-bis(phenylethyl)-	426	$C_{28}H_{30}N_2O_2$	
Benzenethanamine,.alpha.,3,4-trimetheyl-phenethylamine,.alpha.,3,4-trimethyl- Xylopropmine 1-(3,4-dimthylphenyl)-2-aminoprol	163	$C_{11}H_{17}N$	
2,4,6,10-Tetradecapentaenoic acid,9a(acetyloxy)-1a,1b,4,4a,5,7a,7b,8,9,9a-decahydro-4a,7b-dihydroxy-3-(hydroxymethyl)-1,16,8-tetrametal	606	$C_{36}H_{46}O_8$	
1-Hexanol,5-methyl-2(1-mthylthyl)- 2-isoprppyl-5-methyl-1-hexanol	158	$C_{10}H_{22}O$	
2-undcene,2,5-dimethyl- 2,5-dimethyl-2undecene	182	$C_{13}H_{26}$	
1-Nonanol,4,8-dimethyl- 4,8-Dimethyl-1-nonanol 4,8-DimethylNonanol	172	$C_{11}H_{24}O$	
1-Decanol,2-hexyl- 2-hexyl-1-decanol 2-Hexyldecanol 2-Hexyldecyl alchhol Exxal16 Guerbet c16 Guerbethexadecanol	242	$C_{16}H_{34}O$	

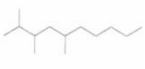
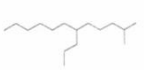
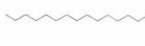
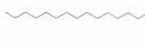
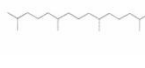
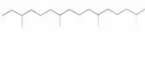
2-Isopropyl-5-methyl-1-heptanol	172	$C_{11}H_{24}O$	
Hexadecane,1,1-bis(dodecyloxy)- 1,1Bis(dodecyloxy)hexadecane	594	$C_{40}H_{82}O_2$	
Oleyl alcohol, trifluoroacetate	364	$C_{20}H_{35}F_3O_2$	
Cycloundecane,(1-methylethyl isopropylcycloundecane	196	$C_{14}H_{28}$	
9-Eicosene,(E)- (9E)-9-Icosene	280	$C_{20}H_{40}$	
Cycloeicosane Cycloicosane	280	$C_{20}H_{40}$	
2-Butanol,3-(1-methyl-2-phenyle)	208	$C_{13}H_{20}O_2$	
3,4-Dihydroxybenzyl alcohol, tris(trimethylsilyl)- ((3,4- Bis{trimethylsilyl}oxy)benzyl)oxy)t rimethyl)silan	356	$C_{16}H_{32}O_3Si_3$	
P-Trimethylsilyloxyphenyl- bis(trimethylsilyloxy)ethane 2,2,7,7-Tetramethyl-4-(4- {trimethylsilyl}oxy)phenyl)-3,6- dioxo-2,7-disilaoctane	370	$C_{17}H_{34}O_3Si_3$	
Monobenzylidene-d-glucose 2,4- o-Benzylidenehexopyranose	268	$C_{13}H_{16}O_6$	
Benzoic acid,2,3- bis{trimethylsilyl}oxy}- ,trimethylsilyl ester Trimethylsilyl2,3bis{trimethylsilyl} oxy}benzoate Benzoic acid,2,3-	370	$C_{16}H_{30}O_4Si_3$	

dihy			
Tetracontane,3,5,24-trimethyl- 3,5,24-Trimethyltetracontane	604	$C_{43}H_{88}$	
1-Decanol,2-ethyl- 2-Ethyl-1-decanol	186	$C_{12}H_{26}O$	
Heptacosane,1-chloro- 1-Chloroheptacosane	414	$C_{27}H_{55}Cl$	
Oxalic acid.isoputylhexadecyl ester	370	$C_{22}H_{42}O_4$	
Tritetracontane	604	$C_{43}H_{88}$	
Pentafluoropropionicacid,undecyl ester	318	$C_{14}H_{23}F_5O_2$	
Pentafluoropropionic acid, tridecyl ester	346	$C_{16}H_{26}F_5O_2$	
1-Octadecanesulphonyl chloride	352	$C_{18}H_{37}ClO_2S$	
Pentafluoropropionic acid, dodecyl ester Dodecyl2,2,3,3,3-pentafluoropropanoat Dodecyl pentafluoropropionate Dodecyl2,2,3,3,3	332	$C_{15}H_{25}F_5O_2$	

ملحق رقم (4) يبين الفحص المختبري بجهاز ال GCMS لعينة رسوبيات ذات pH 8) مضاف لها المغذيات المضاعفة من النترات والفوسفات بنسبة (0.8) وعمر المزرعة 7 ايام.

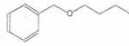
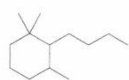
التركيب الجزيئي	الصيغة الكيميائية	الوزن الجزيئي	اسم المركب
	C ₁₃ H ₂₆	180	Cyclohexane
	C ₁₆ H ₂₇ F ₅ O ₂	346	Pentafluoropropionic acid, tridecyl ester
	C ₁₄ H ₂₃ F ₅ O ₂	318	Pentafluoropropionic acid, undecyl ester
	C ₁₃ H ₂₃ Cl ₃ O ₂	316	Trichloroacetic acid, undecyl ester Undecyltrichloroacetate
	C ₁₈ H ₃₁ F ₅ O ₂	374	Pentafluoropropionic acid, pentadecyl ester
	C ₂₅ H ₅₂ O ₃ S	432	Sulfurous acid, 2-ethylhexyl heptadecyl ester
	C ₂₄ H ₄₆ O ₄	398	Oxalic acid, 2-ethylhexyl tetradecyl ester
	C ₂₆ H ₅₄ O ₃ S	446	Sulfurous acid, 2-ethylhexyl octadecyl ester
	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	370	Oxalic acid, dodecyl 2-ethylhexyl ester
	C ₂₈ H ₅₄ O ₄	454	Oxalic acid, 2-ethylhexyl octadecyl ester
	C ₁₅ H ₃₂	212	Dodecan, 2,6,10-trimethyl -farnesan farnesane 2,6,10- Trimethyldodecane

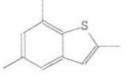
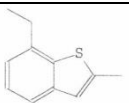
			
Dodecane,2,7,10-trimethyl- 2,7,10-trimethyldodecane	212	$C_{15}H_{32}$	
Nonane,3-methyl-5-propyl- 3- Methyl-5-propylnonan	184	$C_{13}H_{28}$	
Pentadecane,2,6,10,14-tetramethyl- Bute hydrocarbon norphytan norphytan pristane 2,6,10,14-tetramethylpentadecane	268	$C_{19}H_{40}$	
Nonane,2-methyl-5-propyl -2- Methyl-5-propylnonane	184	$C_{13}H_{28}$	
Hexadecane,7-methyl- 7- methylhexadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Heptadecane,2,6,10,15-tetramethyl- 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane	296	$C_{21}H_{44}$	
Pentadecane,2,6,10,14-tetramethyl- Bute hydrocarbon norphytan norphytan pristan pristan 2,6,10,14-Tetramethylpentadecane	268	$C_{19}H_{40}$	
Nonane,3-methyl-5-propyl- 3-methyl- 5-propylnonane	184	$C_{13}H_{28}$	
Heptadecane n-Heptadecane normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Pentadecane,2,6,10-trimethyl- 2,6,10-Trimethylpentadecane Nor- pristane	254	$C_{18}H_{38}$	

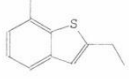
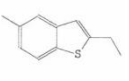
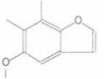
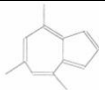
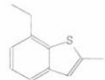
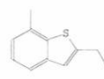
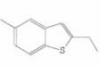
Decane,2,3,5-trimethyl- 2,3,5-Trimthyldecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Pentadecane n-pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Hexadecane n-Cetane n-Hexadecane cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Heptadecane n-Heptadecane normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Pentadecane,2,6,10,14-tetramethyl- Bute hydrocarbon norphytan Norphytan PRISTAN Pristane 2,6,10,14-Tetramethylpentadecan	268	$C_{19}H_{40}$	
Hexadecane,2,6,10,14-tetramethyl- phytan phytan 2,6,10,14-Tetramethylhexadecan	282	$C_{20}H_{42}$	
Heptadecane,2,6,10,15-tetramethyl 2,6,10,14-Tetramethylheptadecane	296	$C_{21}H_{44}$	
Sulfurous acid,2-ethylhexyloctadecyl ester	446	$C_{26}H_{54}O_3S$	
2-Methyloctacosane	408	$C_{29}H_{60}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Hexadecane,2,6,10,14-tetramethyl- phytan phytan 2,6,10,14- Tetramethylhexadecane	282	$C_{20}H_{42}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Heptadecane,2,6,10,15-tetramethyl-	296	$C_{21}H_{44}$	

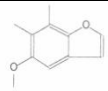
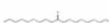
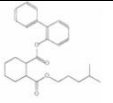
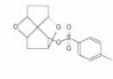
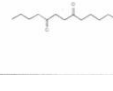
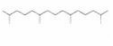
Eicosane n-Eicosane Icosane n-Icosane	282	$C_{20}H_{42}$	
---------------------------------------	-----	----------------	---

ملحق (5) التحليل المختبري بجهاز GCMS لعينة نفط خام معالج لمدة 7 أيام و 8Ph. مضاف لها مغذيات فوسفات 0.8

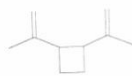
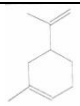
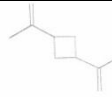
التركيب الجزيئي	الصيغة الكيميائية	الوزن الجزيئي	اسم المركب
	C_7H_8	92	Toluene
	C_7H_8	92	Siro{2,4}hepta-4,6-diene spiro{2,4}hepta-4,6-diene
	C_7H_8	92	1,3,5-Cycloheptatriene Tropilidene cyclohepta-1,3,5-triene cycloheptatriene Tropilidin
	C_7H_8	92	Cyclobutene,2-propenylidene- (3E)-3-(2-propenylidene)-1-cyclobutene
	$C_{11}H_{16}O$	164	Benzene,(butoxymethyl)- Ether,benzyl butyl Benzyl butyl ether Benzyln- buty e ther n-Butylbenzyl ether ,benzyl
	$C_{14}H_{23}F_5O_2$	318	Pentafluoropropionic acid ,undecyl ester
	$C_{13}H_{26}$	182	Cyclohexane,2-buty-1,1,3-trimethyl- 2-Butyl-1,1,3-trimethylcyclohexan 1,1,Trimethyl-2-butyl-cyclohexane
	$C_{18}H_{35}Cl$	286	1-Chloro-9-octadecane (9Z)-1-chloro-9-octadecane
	$C_{15}H_{25}F_5O_2$	332	Pentafluoropropionic acid ,dodecyl ester Dodecyl2,2,3,3,3-pentafluoropropanoat

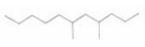
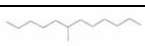
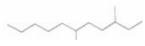
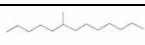
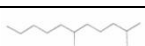
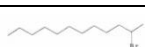
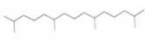
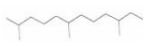
Dodecypentafluoropropionate Dodecy			
Pentafluoropropionic acid ,tridecyl ester	346	$C_{16}H_{275}O_2$	
Benzo{b}thiophene,2,5,7-trimethyl- 2,5,7-Trimethyl-benzothiophene Benzothiophene,2,5,7-trimethyl	176	$C_{11}H_{12}S$	
Benzo{b}thiophene,7-ethyl-2-methyl- 7-Ethyl-2-methyl-1-benzothiophene	176	$C_{11}H_{12}S$	

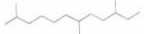
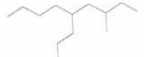
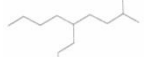
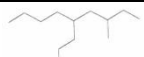
Benzo{b}thiophene,2-ethyl-7-methyl- 2-ethyl- 7-methyl-1-benzothiophene	176	$C_{11}H_{12}S$	
Benzo{b}thiophene,2-ethyl-5-methyl- 2-Ethyl- 5-methyl-1-benzothiophene	176	$C_{11}H_{12}S$	
Benzofuran,5-methoxy-6,7-dimethyl- 5- methoxy-6,7-dimethylbenzofuran 6,7- Dimethyl-5-methoxybenzofuran 5-methoxy	176	$C_{11}H_{12}O_2$	
4,6,8-Ttimethylazulen Azulene,4,6,8- trimethyl- 2,4,6-Trimethylbicyclo(5.3.0)deca- 2,4,6,8,10-pentaene 4,6,8-Trimethylazule	170	$C_{13}H_{14}$	
Naphthalene,1,4,6,-trimethyl- 1,4,6- trimethylnaphthalne	170	$C_{13}H_{14}$	
Naphthalene,1,4,5-trimethyl- 1,4,5- Trimethylnaphthalene	170	$C_{13}H_{14}$	
3-(2-methyl-propenyl)-1H-indene 3-(2-methyl- 1-propenyl)-1H-indene	170	$C_{13}H_{14}$	

Naphthalene,1,6,7-trimethyl- Naphthalene,2,3,5-trimethyl- 1,6,7- Trimethylnaphthalne 2,3,5- Trimethylnaphthalene	170	$C_{13}H_{14}$	
10-Nonadecanone Di-n-nonyl ketone Dinonylketon	282	$C_{19}H_{38}O$	
3-(2-Methyl-propenyl)-1H-indene 3-(2-methyl- 1-propenyl)-1H-indene	170	$C_{13}H_{14}$	
1,2-Cyclohexanedicarboxylic acid,2-biphenyl isohexylester	408	$C_{26}H_{32}O_4$	
Toluene-4-sulfonic acid ,2,7- dioxatricyclo{4,3,1.0(3,8)}dec-10-yl ester	310	$C_{15}H_{18}O_5S$	
5,8-Tridecadione 5,8-Tridecanedione	212	$C_{13}H_{24}O_2$	
Hexadecane,2,6,10,14-tetramethyl-phytan phytane 2,6,10,14-Tetramethylhexadecane	282	$C_{20}H_{42}$	
Pentadecane,2,6,10,1tetramethyl- Bute hydrocarbon nonphytan nonphytan pristan pristan 2,6,10,1tetramethyl	268	$C_{19}H_{40}$	
Heneicosane n-Heneicosane n-Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Heptadecane,2,6,10,15-tetramethyl- 2,6,10,15-TetC ramethylheptadecane	296	$C_{21}H_{44}$	
Hexadecane,2,6,10-trimethyl- 2,6,10- Trimethylhexadecane	268	$C_{19}H_{40}$	

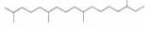
ملحق رقم (6) التحليل المختبري بجهاز GCMS لعينة نفط خام معالج لمدة 7 ايام مضاف لها يوريا
2 غرام pH 7

التركيب الجزيئي	الصيغة الكيميائية	الوزن الجزيئي	اسم المركب
	$C_{10}H_{16}$	136	D-Limonene Cyclohexane,1-methyl-4-(1-methylethenyl)-,(R) - p-Mentha-1,8-diene,(R) -(+)- (+)-(R) -Limonene\$(+)-(4R) -Limonen
	$C_{10}H_{16}$	136	Cyclobutane,1,2-bis(1-methylethenyl)-,trans- 1,2-Diisopropenylcyclobutane
	$C_{10}H_{16}$	136	Cyclohexan,1-methyl-5-(1-methylethenyl)-,(R)- m-Mentha-6,8-diene,(R) -(+)-m-Mentha-1(6),8-diene(+)- (+)Sylvestrene D-syl
	$C_{10}H_{16}$	136	Cyclobutane,1,3-diisopropenyl-,trans 1,3Diisopropenylcyclobutane
	$C_{10}H_{16}$	136	Cyclohexane,1-methyl-4-(1-methylethenyl)-,(s)- p-Mentha-1,8-diene,(s)-(-)- (-)-Limonene L-Limonene Limonene 4-Isoprop
	$C_{12}H_{26}$	170	Dodecane n-Dodecane Adakane12 Ba51-090453 CH3(CH2)10CH3 Bihexyl Dihexyl n-Dodecane min Duodecane
	$C_{11}H_{24}$	156	Undecane n-Undecane Hendecane n-C11H24 UN2330
	$C_{18}H_{38}$	254	Pentadecane,2,6,10-trimethyl- 2,6,10-

Trimethylpentadecane Nor-pristane			
Tridecane n-Tridecane Tridecane,n-	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane,4,6-dimethyl- 4,6-Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane,2,5-dimethyl- 2,5-Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecan,6-methyl -6-Methyldodecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane,3,6-dimethyl- 3,6-Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Tridecane,6-methyl- 6-Methyltridecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Undecane,2,6-dimethyl- 2,6-Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
2-Bromo dodecane Dodecane,2-bromo-	248	$C_{12}H_{25}Br$	
Pentadecane n-Pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Dodecane n-Dodecane Adakane Ba51-090435 $CH_3(CH_2)_{10}CH_3$ Bihexyl Dihexyl n-Dodecane min Duodecane	170	$C_{12}H_{26}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Hexadecane n-Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Pentadecane,2,6,10,14-tetramethyl	268	$C_{19}H_{40}$	
Dodecane,2,6,10-trimethyl- farnesan farnesane 2,6,10-Trimethyldodecane	212	$C_{15}H_{32}$	

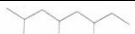
Hexadecane,2,6,10,14-tetramethyl- Phytan Phytan 2,6,10,14- Tetramethylhexadecane	282	$C_{20}H_{42}$	
Dodecane,2,7,10-trimethyl- 2,7,10- Trimethyldodecane	212	$C_{15}H_{32}$	
Nonane,3-methyl-5-propyl- 3-Methyl-5- propylnonane	184	$C_{13}H_{28}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Hexadecane -Cetane n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Pentadecane n-Pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Pentadecane,7-methyl -7- Methylpentadecane	226	$C_{16}H_{34}$	
Nonane,2-methyl-5-propyl- 2-methyl-5- propylnonane	184	$C_{13}H_{28}$	
Pentadecane n-Pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Hexadecane n-Cetane n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal- heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Nonane,3-methyl-5-propyl- 3-Methyl-5- propylnonane	184	$C_{13}H_{28}$	
Pentadecane n-Pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal- heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	

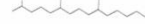
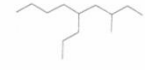
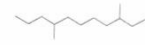
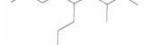
Hexadecane n-Cetane n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Heptadecane,2,6,10,15-tetramethyl- 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane	296	$C_{21}H_{44}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal- heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Hexadecane n-Cetane n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Pentadecane n-Pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Undecane,2,5-dimethyl- 2,5- Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane,3,6-dimethyl- 3,6- Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecane,6-methyl -6-Methyldodecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane,2,6-dimethyl- 2,6- Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
5-ethyldecane Decane,5-ethyl	170	$C_{12}H_{26}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal- heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	

Hexadecan n-Cetane n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Pentadecane n-Pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Pentadecane,2,6,10,14-tetramethyl- Bute hydrocarbon norphytane norphytane pristan pristane 2,6,10,14- Tetramethylpentane	268	$C_{19}H_{40}$	
Hexadecane,2,6,10,14-tetramethyl- phytane phytane 2,6,10,14- Tetramethylhexadecane	268	$C_{19}H_{40}$	
7-Methyl-octadecane	282	$C_{20}H_{42}$	
Dodecane,2,7,10-trimethyl- 2,7,10- Trimethyldodecane	268	$C_{19}H_{40}$	
2-Methylhexadecane	380	$C_{27}H_{56}$	
Eicosane n-Eicosane Icosane n-Icosane	282	$C_{20}H_{42}$	
Tetratetracontane n-Tetratetracontane	618	$C_{44}H_{90}$	
Heptadecane,3-methyl -3- Methylheptadecane Hexadecane,2- ethyl	254	$C_{18}H_{38}$	
Heptadecane,1-chloro 1- Chloroheptadecane	414	$C_{27}H_{55}Cl$	
2-Methyloctacosane	408	$C_{29}H_{60}$	
Tetratetracontane n-Tetratetracontan	618	$C_{44}H_{90}$	
Tritetracontane	604	$C_{43}H_{88}$	
Heptadecane,2,6,10,15-tetramethyl- 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane	296	$C_{21}H_{44}$	

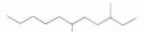
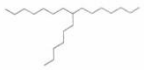
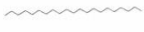
Heptadecane,1-chloro- 1-Chloroheptadecane	414	$C_{27}H_{55}Cl$	
Eicosane n-Eicosane Icosane n-Icosane	282	$C_{20}H_{42}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Hexadecane,2,6,10,14-tetramethyl- Phytane phytane 2,6,10,10-Tetramethylhexadecane	282	$C_{20}H_{42}$	
Squalane Tetracosane,2,6,10,15,19,23-hexamethyl- Cosbiol Dodecahydrosqualene Perhydrosqualene Robane Spinacane	422	$C_{30}H_{62}$	
Hexatriacontane n-Hexatriacontane	506	$C_{36}H_{74}$	
Tetratriacontane n-Tetratriacontane	478	$C_{34}H_{70}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Triacosane n-Triacosane	422	$C_{30}H_{62}$	
Tetratetracontane n-Tetratetracontane	618	$C_{44}H_{90}$	

ملحق رقم (7) التحليل المختبري بجهاز GCMS لعينة نفط خام معالج لمدة 7 ايام وبتركيز 500 مايكروليتر

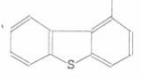
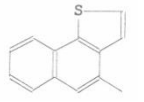
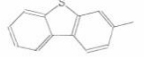
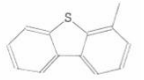
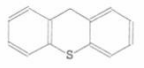
اسم المركب	الوزن الجزيئي	الصيغة الجزيئية	التركيب الجزيئي
Undecane n-Undecane Henedacane n-C ₁₁ H ₂₄ UN2330	156	C ₁₁ H ₂₄	
Undecane,5-ethyl- 5- Ethylundecane	184	C ₁₃ H ₂₈	
Octane,2,4,6-trimethyl- 2,4,6- Trimethyloctane	156	C ₁₁ H ₂₄	
Tridecane n-Tridecane Tridecan,n-	184	C ₁₃ H ₂₈	
Octane,3,5-dimethyl- 3,5- Dimethyloctane	142	C ₁₀ H ₂₂	
Undecane n-Undecane Henedecane n-C ₁₁ H ₂₄ UN2330	156	C ₁₁ H ₂₄	
Dodecane n-Dodecane Adakane12 Ba51-090453 CH ₃ (CH ₂) ₁₀ CH ₃ Bihexyl Dihexyl n-Dodecane min Duodecane	170	C ₁₂ H ₂₆	
Tridecane n-Tridecane Tridecane,n-	184	C ₁₃ H ₂₈	
Pentadecane,2,6,10-trimethyl- 2,6,10-Trimethylpentadecane Nor- pristane	254	C ₁₈ H ₃₈	
Undecane,4,6-dimethyl- 4,6- Dimethylundecane	184	C ₁₃ H ₂₈	
Hexadecane n-Cetane n- Hexadecane Cetane\$\$	226	C ₁₆ H ₃₄	

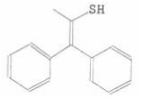
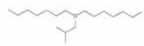
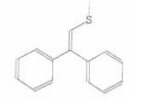
Pentadecane n-Pentadecane CH ₃ (CH ₂) ₁₃ CH ₃	212	C ₁₅ H ₃₂	
Tetradecane n-Tetradecane	198	C ₁₄ H ₃₀	
Pentadecane,2,6,10-trimethyl- 2,6,10- Trimethylpentadecane#\$\$\$Nor- pristane	254	C ₁₈ H ₃₈	
Dodecane n-Dodecane Adakane12 Ba51-090453 CH ₃ (CH ₂) ₁₀ CH ₃ Bi-hexyl Di-hexyl n-Dodecane min Duodecan	170	C ₁₂ H ₂₆	
Heptadecane,2,6,10,15- tetramethyl- 2,6,10,15- Tetramethylheptadecane	296	C ₂₁ H ₄₄	
Nonane,3-methyl-5-propyl- 3- Methyl-5	184	C ₁₃ H ₂₈	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	C ₁₇ H ₃₆	
Undecane3,8-dimethyl- 3,8- Dimethylundecane	184	C ₁₃ H ₂₈	
Pentadecane,2,6,10,14- tetramethyl- Bute hydrocarbon Norphytan Norphytane Pristane pristane 2,6,10,14- Tetramethylpentadecane	268	C ₁₉ H ₄₀	
Hexadecane n-Cetane n- Hexadecane Cetane	226	C ₁₆ H ₃₄	
Pentadecane n-Pentadecane CH ₃ (CH ₂) ₁₃	212	C ₁₅ H ₃₂	

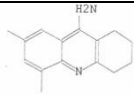
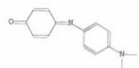
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Dodecane,2,7,10-trimethyl- 2,7,10- Trimethyldodecane	212	$C_{15}H_{32}$	
Heptadecane,3-methyl- 3- Methylheptadecane\$Hexadecane ,2-ethyl	254	$C_{18}H_{38}$	
Tetradecane,2-methyl- 2-Methyl- 2-Methyltetradecane	212	$C_{15}H_{32}$	
Pentadecane,3-methyl- 3- Methylpentadecane\$	226	$C_{16}H_{34}$	
Eicosane,10-methyl - 10methylicosane 10- methyleicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Tetradecane n-Tetradecane	338	$C_{24}H_{50}$	
Hexadecane n-Cetane n- Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Pentadecane n-Pentadecane CH3(CH2)13CH3	212	$C_{15}H_{32}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Heptadecane,2,6,10,15- tetramethyl- ,2,6,10,15-	296	$C_{21}H_{44}$	

Tetramethylheptadecane			
Undecane,3,6-dimethyl- 3,6-Dimethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Undecane,2,5-dimethyl- 2,5-Dimethyl	184	$C_{13}H_{28}$	
Pentadecane,2,6,10-trimethyl- 2,6,10-Trimethylpentadecane Norpristane	254	$C_{18}H_{38}$	
Dodecane,2,5-dimethyl- 2,5-Dimethyldodecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Dodecane,6-methyl- 6-Methyldodecane	184	$C_{13}H_{28}$	
2-Methyloctacosane	408	$C_{29}H_{60}$	
Heptadecane,2,6,10,15-tetramethyl- 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane	296	$C_{21}H_{44}$	
Heptadecane,2-methyl- 2-Methylheptadecane	254	$C_{18}H_{38}$	
Heptadecane,3-methyl- 3-Methylheptadecane nHexadecane,2-ethyl	254	$C_{18}H_{38}$	
Pentadecane,8-hexyl- 8-n-Hexylpentadecane 8-Hexylpentadecane	296	$C_{21}H_{44}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	

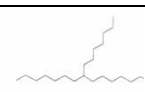
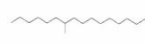
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	C ₂₁ H ₄₄	
Hexadecane n-Cetane n- Hexadecane Cetane	226	C ₁₆ H ₃₄	
Pentadecane n-Pentadecane CH ₃ (CH ₂) ₁₃ CH ₃	212	C ₁₅ H ₃₂	
Tetracosane n-Tetracosane	338	C ₂₄ H ₅₀	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	C ₂₁ H ₄₄	
Heptadecane,2,6,10,15- tetramethyl- 2,6,10,15- Tetramethylheptadecane n- Tetramethylheptadecane	296	C ₂₁ H ₄₄	
Hexadecan,2,6,10,14-tetramethyl phytan phytan 2,6,10,14- Tetramethylhexadecane	282	C ₂₀ H ₄₂	
Pentadecane,2,6,10,14- tetramethyl Bute hydrocarbon norphytan norphytan pristan pristan 2,6,10,14- Tetramethylpentadecane	268	C ₁₉ H ₄₀	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	C ₁₇ H ₃₆	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	C ₁₇ H ₃₆	

Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Hexadecane -Cetane n- Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Pentadecane n-Pntadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
4-Methylnaphtho{1,2-b}thiophene	198	$C_{13}H_{10}S$	
Dibenzothiophene,3-methyl- 3- Methyldibenzo{b,d}thiophene 3- Methyldihenzothiophene	198	$C_{13}H_{10}S$	
Dibenzothiophene,4-methyl- 4- methyldibenzothiophene 4- Methyldibenzo{b,d}thiophene	198	$C_{13}H_{10}S$	
Dibenzothiophene,4-methyl- 4- Methyldibenzothiophene 4- methyldibenzo{b,d}thiophene	198	$C_{13}H_{10}S$	
1-Methyldibenzothiophene Dibenzo{b}thiophene,1-methyl Dibenzothiophene,1-methyl	198	$C_{13}H_{10}S$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	

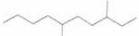
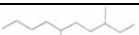
Tetracosane n-Ttracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-hptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
2-methyloctacosane	408	$C_{29}H_{60}$	
Eicosane n-Eicosane Icosane n-Icosane	282	$C_{20}H_{42}$	
Heptadecane n-Heptadecane normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Hexadecane n-Cetane n-Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Pentadecane n-Pentadecane $CH_3(CH_2)_{13}CH_3$	212	$C_{15}H_{32}$	
Heneicosane n-Henicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Propene-2-thiol,1,1-diphenyl- 1,1-Diphenyl-1-propene-2-thiol	226	$C_{15}H_{14}S$	
Diheptylisobutylamine	269	$C_{18}H_{39}N$	
Benzene,1,1- {(methylthio)thenylidene}bis- {2-methylsulanyl)-1-phenylvinyl}	226	$C_{15}H_{14}S$	

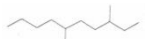
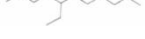
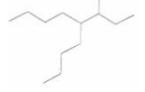
Acridin-9-amine,1,2,3,4-tetrahydro-5,7-dimethyl-	226	$C_{15}H_{18}N_2$	
N,N-Dimethylindoaniline phenol blue 2,5-Cyclohexadin-1-one,4-{{4-(dimethylamino)phenyl}imino}-Indoan	226		
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Heptadecane n-Heptadecane normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
2-methyloctacosane	408	$C_{29}H_{60}$	
Eicosane n-Eicosane Icosane n-Icosane	282	$C_{20}H_{42}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Heptadecane n-Heptadecane Normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Eicosane n-Eicosane Icosane n-Icosane	282	$C_{20}H_{42}$	
Tetratetracontane n-Tetratetracontane	618	$C_{44}H_{90}$	
Tetracosane n-Tetracosane	338	$C_{24}H_{50}$	

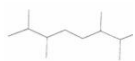
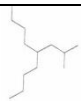
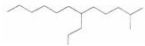
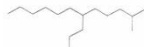
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Heptadecane n-Heptadecane normal-heptadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Eicosane n-Eicosane Icosane n- Icosane	282	$C_{20}H_{42}$	
Tetratetracontane n- Tetratetracontane	618	$C_{44}H_{90}$	
Tetracosane n-Tetracosane	336	$C_{24}H_{50}$	
Heneicosane n-Heneicosane Heneicosane	296	$C_{21}H_{44}$	
Eicosane n-Eicosane Icosane n- Icosane	282	$C_{20}H_{42}$	
Tetratriacontane n- Tetratriacontane	478	$C_{34}H_{70}$	
Tetratetracontane n- Tetratetracontane	618	$C_{44}H_{90}$	
Tetratetracontane n- Tetratetracontane	618	$C_{44}H_{90}$	
2-methylhexacosane	380	$C_{27}H_{56}$	
Hexatriacontane n- Hexatriacontane	506	$C_{36}H_{74}$	
2-methyloctacosane	408	$C_{29}H_{60}$	
Heptadecane,2-methyl- 2- Methylheptadecane	254	$C_{18}H_{38}$	

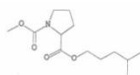
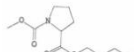
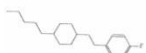
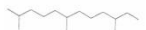
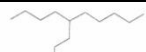
Heptadecane,3-methyl- 3- Methylheptadecane Hexadecane,2-ethyl	254	$C_{18}H_{38}$	
Pentadecane,8-heptyl- 8- Heptylpentadecane	310	$C_{22}H_{46}$	
Hexadecane,7-methyl- 7- Methylhexadecane	240	$C_{17}H_{36}$	
Hexadecan,1-iodo-	352	$C_{16}H_{33}I$	
5-Ethyl-5-methylnonadecane	310	$C_{22}H_{46}$	

ملحق رقم (8) التحليل المخبري بجهاز GCMS لعينة نפט خام معالج بمزرعة بكتيرية عمرها 7 ايام تركيز 100 مايكروليتر pH7

اسم المركب	الوزن الجزيئي	الصيغة الكيميائية	التركيب الجزيئي
Dodecane n-Dodecane Adakane12 Ba51-090453 CH ₃ (CH ₂) ₁₀ CH ₃ Bihexyl Dihexyl n-Dodecane min Duodecane	170	C ₁₂ H ₂₆	
Decane n-Decane n-C ₁₀ H ₂₂ UN2247	142	C ₁₀ H ₂₂	
Undecane n-Undecane Hendecane n-C ₁₁ H ₂₄ UN2330	156	C ₁₁ H ₂₄	
Decane,3,6-dimethyl- 3,6-Dimethyldecane	170	C ₁₂ H ₂₆	
Pentadecane n-pentadecane CH ₃ (CH ₂) ₁₃ CH ₃	212	C ₁₅ H ₃₂	
Dodecane n-Dodecane Adakane12 Ba51-090453 CH ₃ (CH ₂) ₁₀ CH ₃ Bihexyl Dihexyl n-Dodecane min Duodecane	170	C ₁₂ H ₂₆	
Decane n-Decane n-C ₁₀ H UN2247	142	C ₁₀ H ₂₂	
Undecane n-Undecan Hendecane n-C ₁₁ H ₂₄ UN2330	156	C ₁₁ H ₂₄	
Decane,3,6-dimethyl- 3,6-Dimethyldecane	170	C ₁₂ H ₂₆	
Pentadecane n-Pentadecane CH ₃ (CH ₂) ₁₃ CH ₃	212	C ₁₅ H ₃₂	

Dodecane n-Dodecane	170	$C_{12}H_{26}$	
Decane n-Decane n-C ₁₀ H ₂₂ UN2247	142	$C_{10}H_{22}$	
Undecane n-Undecane Hendecane n-C ₁₁ H ₂₄ UN2330	156	$C_{11}H_{24}$	
Decane,3,6-dimethyl- 3,6-Dimethyldecane	170	$C_{12}H_{26}$	
Pentadecane n-Pentadecane CH ₃ (CH ₂) ₁₃ CH ₃	212	$C_{15}H_{32}$	
Undecane n-Undecane Hendecane n-C ₁₁ H ₂₄ UN2330	156	$C_{11}H_{24}$	
Dodecane n-Dodecane Adakane12 Ba51-099453 CH ₃ (CH ₂) ₁₀ CH ₃ Bihexyl Dihexyl n-Dodcane min Duodecane	170	$C_{12}H_{26}$	
Octane,3,5-dimethyl- 3,5-Dimethyloctan	142	$C_{10}H_{22}$	
Undecane,5-ethyl- 5-Ethylundecane	184	$C_{13}H_{28}$	
Tridecane n-Tridecane Tridecane,n-	184	$C_{13}H_{28}$	
Nonane,5-butyl- 5-Butylnonane 5-n- Butylnonane	184	$C_{13}H_{28}$	
Nonane,5-(2-methylpropyl)- 5- Isobutylnonane	184	$C_{13}H_{28}$	
Nonane,5-(1-methylpropyl)- 5-Sec- butylnonane	184	$C_{13}H_{28}$	
Dodecane,4-methyl- 4-Methyldodecane	184	$C_{13}H_{28}$	

Octane,2,3,6,7-tetramethyl- 2,3,6,7-Tetramethyloctane	170	$C_{12}H_{26}$	
Nonane,5-(2-methylpropyl)- 5-Isobutylnonane	170	170	
Octadecane,1-chloro-	184	$C_{13}H_{28}$	
Hexadecane,1-chloro- Cetyl chloride Hexadecane chloride 1-Chlorohexadecane n-Hexadecyl chloride Palmityl chloride	288	$C_{18}H_{37}Cl$	
Hexadecane,1-chloro- -Cetyl chloride Hexadecyl chloride 1-Chlorohexadecane n-Hexadecyl chloride\$ \$ Palmityl chloride	260	$C_{16}H_{33}Cl$	
Heptacosane,1-chloro- 1-Chloroheptacosane	414	$C_{27}H_{55}Cl$	
Behenyl chloride -Chlorodocosane Docosane,1-chloro-	344	$C_{22}H_{45}Cl$	
Undecane,3-methyl- 3-Methylundecane 2-Ethyl-decane	170	$C_{12}H_{26}$	
Decane,3,8-dimethyl -3,8-Dimethyldecane	170	$C_{12}H_{26}$	
9-methylheptadecane	254	$C_{18}H_{38}$	
Dodecane,2-methyl-6-propyl- 2-Methyl-6-propyldodecane	226	$C_{16}H_{34}$	
Decane,2,3,5-trimethyl- 2,3,5-Trimethyldecane	184	$C_{13}H_{28}$	

1-Proline,N-methoxycarbonyl- isohexyl ester	257	$C_{13}H_{23}NO_4$	
Azulene Bicyclo{5.3.0}decapentaene Cyclopentacycloheptane Azunamic Bicyclo(5.3.0)-1,3,5,7,9- decapentaene Bicyclo(0.3.)	128	$C_{10}H_8$	
Naphthallene Albocarbon Dezodorator Dezodorator Moth flakes Naphthalin	128	$C_{10}H_8$	
1-Proline,N-methoxycarbonyl	243	$C_{12}H_{21}NO_4$	
Benzene,1,2-diluoro-4-{4- pentylcyclohexyl}ethyl}- 1,2-Diluoro- 4-{2-(4- pntylcyclohexyl)ethyl}benzene	294	$C_{19}H_{28}F_2$	
Dodecane n-Dodecane Adakane12 Ba51-090453 CH ₃ (CH ₂) ₁₀ CH ₃ Biethyl Diethyl n-Dodecane min Duodecane	170	$C_{12}H_{26}$	
Tetradecane n-Tetradecane	198	$C_{14}H_{30}$	
Pentadecane n-Pentadecane CH ₃ (CH ₂) ₁₃ CH ₃	212	$C_{15}H_{32}$	
Hexadecane n-Cetane n- Hexadecane Cetane	226	$C_{16}H_{34}$	
Decane,5-propyl- 5-Propyldecane	184	$C_{13}H_{28}$	

Summary:

The present study addressed the study of environmental conditions affecting the decomposition of crude oil in the water and sediment in the village for the first three stations and Sindeah village, Saadia , and third Zانبور village and along the Tigris River (north-west of Diyala), for the period between 5.10.2015 and 10-5- 2016. It was collected 192 samples of water and sediment, representing the stations under study.

It was found by the results of the abiotic factors that temperature (15-33°C , pH(5.9-8.3), salinity(0.5-0.7mg/l) , BOD(5-17pmm) , and COD(12-22)pmm, NH₃(0.4-0.77), SO₄(82-98), Zn(0.2-0.95), NH₄ (4.9 -2.1) values . The results of the factors is that it is encouraging for the degradation of crude oil in the environments under study .

The 82 diagnosed with bacterial isolates by Cown and Steel, 2004, it found that genus *Pseudomonas* is the dominant. After the biochemical tests on these isolates was observed that the type *P.aeruginosa*(55%), *P.florescence*(20%), *P.putida*(7%) .

Due to the predominance of the bacterial strain in the water and sediments samples , of the plants under study, it has been selected to study their ability to analyze or crude oil consumption of hydrocarbons (bioremediation). It found through laboratory experiments, that the best condition for the analysis of crude oil is (PH (7-8),(0.660-0.666). Found through follow-up analysis of crude oil bioremediation by using an optical microscope – *P.aeruginosa* that the bacteria have the ability to secrete material emulsifying and dispersing the oil afloat during the first 24 hours, and under every laboratory conditions. The results of the consumption of crude oil and compounds follow-up by using Gravimetric method (68.84% Under the growth conditions NH₄NO₃ 0.8 µg/100ml), the emulsifying(92.3% Under the growth conditions NH₄NO₃+KH₂PO₄ 0.8) and FT-IR , its observed CH₂ , CH , C-C and carbonyl groups (Under same condition), UV as the optical density (O.D.)= 0.0666 , when using GC-MS found that most aliphatic compounds(Tetradecane, Hexadecane, Undecane, Heptadecane.....) have been consumed during the 24 first hour of growth compared to the standard sample, and can shorten the time by supporting nutrient and below the growth of conditions pH 7-8 and the degree of lap 37° C, either aromatic compounds(Methyloctacosan, Tetracosan, 3-5-Dipiperonylidene-1-propyl-4-piperidone) seemed consumed after 48 hours of growth, but PAHS need more time and support nutrient.



Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research

Diyala University

College of Education for Pure Sciences



**Study of the susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*
bacteria to the decomposition of crude oil isolated from
the water and sediments of the Tigris River**

**A Thesis submitted to College of Education for Pure
Science**

**Diyala University In Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science In Biology / Microbiology**

By

Ruqeaya Abdul Hassan Abbas

Supervised by

Professor Dr. Adnan Naama Abd alreda

Assistant Professor. Galib Edrees Atea

2017 A.D

1438 A.H