امل علي حسين العبيدي
Sunday, December 19, 2010
6:44 PM

مجلة أم سلمة للعلوم **مجلد 4(4)2007**

دور المزارع المفردة والمختلطة لبكتريا *Serratia ficaria , Pseudomonas aeruginosa* في استهلاك المخلفات النفطية المطروحة من مصفى الدورة

امل علي حسين العبيدي* ***شذى سلمان العزاوي*****

تاريخ قبول النشر 2007/9/11

الخلاصة

تم مقارنة قدرة المزارع البكتيرية المفردة والمختلطة على استهلاك المخلفات النفطية المطروحة من مصفى الدورة. وتبين ان المزارع المختلطة المكونة من العزلتين (AA22) *Pseudomonas aeruginosa* و(AA39)*Serratia ficaria* كانت افضل في استهلاك المخلفات مقارنة بالمزارع المفردة المكونة من كل بكتريا على حده. بلغ اعلى لوغاريتم لعدد الخلايا الحي للمزارع المختلطة 6.842 مقارنة بالمزارع المفردة (6.683 , 5.631) على التوالي في اليوم الثالث في وسط API الحاوي على مخلفات وحدة معالجة المصفى.

درس تأثير ظروف بيئية مختلفة هي التهوية (التحريك) وتركيز كلوريد الصوديوم والرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة في عملية تحلل المخلفات النفطية من قبل العزلتين كلا على حده وخليط العزلتين ، وتبين أن المزارع المتحركة أفضل من الساكنة بلغ أعلى لوغاريتم لعدد الخلايا الحية 6.021 في المزارع المتحركة. بينما في الحاضنة الساكنة بلغ أعلى لوغاريتم لعدد الخلايا الحية 5.771. واستطاعت العزلات البكتيرية النمو بتركيز كلوريد الصوديوم 5 و7%. وبينت نتائج تأثير الرقم الهيدروجيني للوسط ان الرقم الهيدروجيني 7 هو الافضل لنمو *Pseudomonas aeruginosa* و *Serratia ficaria* . وتبين ان بكتريا *Pseudomonas* وخليط العزلتين تستطيع تحمل درجات الحرارة (45 مئوية) وكان النمو عند هذه الدرجة أعلى من بقية الدرجات لبكتريا *Pseudomonas* و *Serratia* (0.352, 0.429) ولخليط العزلتين (0.436).

المقدمة:

تعد معامل تكرير المنتجات النفطية من اهم مصادر التلوث بالمواد الهيدروكربونية التي تقذفها هذه المعامل مع المياه الصناعية من وحدات تكرير النفط وهي تحتوي على الهيدروكربونات الخفيفة والثقيلة والمواد القيرية الناتجة من عمليات غسل وصيانة الوحدات الصناعية ودهون التزييت والتشحيم وخزن وتفريغ النفط الخام والمنتجات النفطية (1). وتعدالهيدروكربونات النفطية من اهم الملوثات البيئية اذ تسبب مشاكل للبيئة التي توجد فيها كونها سامة للكائنات الحية فضلا عن ان بعضها مواد مسرطنة (carcinogenic) ولها قابلية الانتقال الى السلسلة الغذائية .

ولازالة التلوث بالمركبات الهيدروكربونية هنالك العديد من طرائق المعالجة الفيزيائية والكيميائية والحيوية بما يتناسب ونوع البيئة الملوثة وتعد المعالجة الحيوية من افضل الطرائق لمعالجة الترب والمياه الملوثة بالمركبات الهيدروكاربونية والتي تتضمن استعمال الاحياء المجهرية او منتجاتها مثل المستحلبات الحيوية (Bioemulisifiers) والانزيمات لتحليل الملوثات وتقليل سميتها (2).

وقد وجد ان اكثر من 90 نوع من الاحياء المجهرية لها القدرة على اكسدة الهيدروكاربونات النفطية مثل البكتريا ومن اهمها *Pseudomonas* و*Bacillus* و *Acinetobacter* (4,3) والفطريات (5) واكثرها شيوعا الاجناس *Aspergillus* و *Penicillium* و *Verticillium* والطحالب الخضر المزرقة (7,6). ويعد جنس Candida من ابرز الخمائر التي لها القدرة على استهلاك المركبات الهيدروكاربونية (8). وتتأثر الاحياء المجهرية المحللة للهيدروكاربونات النفطية بالعديد من العوامل البيئية التي قد تزيد أو تثبط قابلية تحليلها لهذه المركبات ومن أهمها الملوحة والاوكسجين والرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة.

ان الهدف من هذا البحث هو الحصول على سلالات من البكتريا واستخدامها بشكل مفرد ومختلط في معالجة مياه المخلفات المطروحة من مصفى الدورة واستخدامها في الحوض البايولوجي ضمن وحدة معالجة مياه المخلفات التابعة للمصفى بدلا من الابتدائيات التي يتم استيرادها من خارج القطر بكلفة عالية واستخدامها في المعالجة البايولوجية لمياه المخلفات لاختزال التلوث البيئي

*الجامعة التكنولوجية/ قسم العلوم التطبيقية/ فرع التقنيات الكيميائية الاحيائية.
**جامعة بغداد/ كلية العلوم/ قسم علوم الحياة.

Unfiled Notes Page 1

الناتج عن هذه المواد بوسائل طبيعية ليس لها جوانب سلبية على الطبيعة مقارنة بالمواد الكيميائية ومعرفة بعض العوامل البيئية المؤثرة في كفاءة البكتريا في تحليل الهيدروكاربونات.

المواد وطرائق العمل

1-نماذج العزل

جمعت عينات من مياه وترب من مناطق مختلفة من مصفى الدورة (الحوض البايولوجي وحوض العزل النفطي API وتربة المصفى الملوثة بالنفط الخام).ومن اماكن تواجد مولدات الطاقة الكهربائية (Generators) ومن كراجات التصليح ومحطات تعبئة الوقود في مدينة بغداد .

2-عزل وتشخيص البكتريا المحللة للهيدروكربونات.

تم عزل البكتريا المستهلكة للهيدروكربونات النفطية باضافة 0.5غم من التربة الملوثة بالنفط الخام ومشتقاته الى 4.5 ملليلتر ماء مقطر معقم وتم مزجها جيدا ثم اخذ بوساطة عروة ناقل معقمة ونشرت على وسط الاملاح المعدنية الصلب(9،10) بعد اضافة زيت الاساس (150) اليه مصدرا وحيدا للكربون والطاقة، وحضت بدرجة حرارة 37 مئوية لمدة 7 ايام. ثم نقلت المستعمرات النامية على هذا الوسط وزرعت على وسط الاكار المغذي وبعدها تم انتقاء المستعمرات النامية وتكرر زرعها للحصول على مستعمرات نقية، كما تم نقل 1 ملليلتر من عالق التربة الى وسط الاملاح المعدنية(11) الحاوي على المصدر الكربوني (زيت الاساس 150) بنسبة 1% (حجم/حجم) وحضنت بدرجة حرارة 30 مئوية في حاضنة هزازة لمدة 5 ايام بعدها نقل جزء من المزرعة الى وسط الاكار المغذي وتم نشرها وحضنت بدرجة حرارة 37 مئوية لمدة 24 ساعة وانتخبت المستعمرات النامية وتكرر زرعها على هذا الوسط لغرض التنقية.

أما عينات المياه الملوثة فقد اخذ منها مباشرة 0.1ملليترونشرت على وسط الاملاح المعدنية الصلب الحاوي على زيت الاساس (150) مصدرا وحيدا للكاربون وتم حضنها بدرجة حرارة 37مئوية لمدة7 ايام ثم نقلت المستعمرات النامية على هذا الوسط وزرعت على وسط الاكار المغذي وبعدها تم انتقاء المستعمرات النامية وتكرر زرعها على هذا الوسط لغرض التنقية . تم تشخيص العزلات مبدئيا بأستخدام عدة فحوصات مظهرية وبايوكيميائية كما ورد في(12).

دراسة فعالية البكتريا في استهلاك المخلفات الهيدروكربونية .

استخدمت مياه المخلفات الهيدروكربونية API وسطا(بعد تعقيمها بالمؤصدة) لتنمية العزلات المنتخبة بشكل مفرد (نوع واحد) ومختلط (نوعين) وحضر نموذج السيطرة من وسط API بدون تلقيح ووضعت في حاضنة هزازة 120دورة / دقيقة بدرجة حرارة 30مئوية لمدة 9 ايام وتم حساب العدد الحي Total viable count بطريقة التخفيف وعدّ الاطباق المتكررة خلال مدد زمنية معينة (0-9) يوم وقدر تركيز الحوامض الدهنية المتحررة باستخدام طريقة التسحيح ضد محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH (0.05M) ودليل الفينولفثالين(13) .

دراسة الظروف المؤثرة في نمو البكتريا المستهلكة للهيدروكربونات .

درس تأثير بعض الظروف في نمو البكتريا في الوسط الحاوي على المخلفات النفطية API.

1-دراسة تأثير الاوكسجين في استهلاك المخلفات الهيدروكربونية .

لقح وسط API المعقم بالبكتريا وحضنت بعض النماذج في حاضنة هزازة بسرعة 120 دورة/دقيقة بدرجة 35 مئوية لمدة 6 ايام وبعضها الاخرفي حاضنة ساكنة بدرجة حرارة 35 مئوية لمدة 6 ايام وتم حساب عدد الخلايا الحي وتركيز الحموضة الناتجة .

2-دراسة تأثير تركيز كلوريد الصوديوم في نمو البكتريا.

لقح وسط المخلفات النفطية APIالحاوي على تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم NaCl(3% و 5% و7%) وزن / حجم بالبكتريا بشكل مفرد ومختلط بعد تنشيطها بزرعها في وسط المرق المغذي لمدة 18 ساعة وحضنت بحاضنة هزازة بدرجة حرارة 30 مئوي لمدة 3 ايام. بعدها تم قياس النمو بدلالة الكثافة البصرية optical (OD) density بطول موجي 540 نانوميتر.

3-دراسة تأثير الرقم الهيدروجيني في نمو البكتريا.

لقح وسط APIالمعقم والمحضر بأرقام هيدروجينية مختلفة (5و7و9و10) بجزء من المزرعة البكتيرية السائلة بصورة مفردة وخليطة وحضنت الدوارق في حاضنة هزازة بدرجة حرارة 30 مئوية لمدة 3 ايام. بعدها تم قياس الكثافة البصرية للنمو.

4-دراسة تأثير درجة الحرارة في نمو البكتريا.

Unfiled Notes Page 2

لقح وسط API المعقم بالعزلات البكتيرية المنتخبة بصورة مفردة وخليطة وحضنت الدوارق في درجات حرارية مختلفة (40و 45و 50) مئوية وبعد ثلاثة ايام تم قياس النمو بدلالة الكثافة البصرية (OD).

النتائج والمناقشة

عند تلقيح وسط الاملاح المعدنية الصلب الحاوي على المصدر الكربوني (زيت الاساس 150) بعالق التربة الملوثة بالنفط الخام ومشتقاته تبين بعد فترة الحضن وجود مناطق تحلل شفافة حول بعض المستعمرات مما يدل على استهلاك البكتريا النامية في هذه المناطق للمصدر الكربوني الموجود في الوسط.

تم الحصول على اربعين عزلة بكتيرية من نماذج العزل المختلفة احدى وثلاثون عزلة منها استطاعت النمو على وسط الاملاح المعدنية الصلب الحاوي على المصدر الكربوني (150) جدول رقم (1). لوحظ ان معظم العزلات عصوية الشكل سالبة لصبغة غرام كان عددها 37 بنسبة 87.5% بينما كانت عدد العزلات الايجابية لصبغة غرام 3 (12.5%).

بينت نتائج التشخيص والفحوصات الكيموحيوية ان 7 عزلات تعود لجنس *Pseudomonas* شخصت احداها على انها *Ps. fluorescens* اما البقية فانها تعود للنوع *Ps. aeruginosa*. و7 عزلات تعود للجنس *Serratia* تضمنت اربعة انواع *S.ficaria* و *S.marcescens* و *S.plymuthica* و *S.liquefaciens* . وهذان الجنسان (*Serratia* , *Pseudomonas*) شائعان في استغلالهما العديد من الهيدروكاربونات وانتاج المستحلبات الحيوية (Biosurfactants) (14 و15و 16)

عند تلقيح وسط المخلفات النفطية APIالسائل بالعزلات البكتيرية AA22و AA39 كلا على حده مرة وخليط العزلتين مرة اخرى ، لوحظت تغيرات مظهرية في وسط النمو بدا لونه مضببا بعد مرور يومين من الحضن مما يدل على استحلاب الزيت الموجود في الوسط شكل(1) بفعل افراز العزلات للمواد المستحلبة (emulsifiers) وهذا يدل على ان البكتريا عملت على تجزئة قطرات الزيت الموجودة في وسط المخلفات الى وحدات ابسط تركيبا(18,17).

لوحظ ازدياد عدد البكتريا مع استمرار مدة الحضن لغاية 72 ساعة ثم بدأ بالانخفاض شكل (2) و (3) وهذا دليل على ان البكتريا استطاعت الاستفادة من المصدر الهيدروكاربوني لنموها خلال هذه المدة. تستهلك البكتريا المركبات البسيطة مثل الالكانات اولا ثم الاصعب تركيبا مثل المركبات الهيدروكاربونية متعددة الحلقات (20,19). ويشير تناقص اعداد الخلايا بعد زيادتها السريعة الى نفاذ المركبات البسيطة الاستهلاك من الوسط (22,21).

يتضح من النتائج ان المزارع المختلطة أفضل في استهلاكها للمخلفات النفطية من المزارع المفردة حيث ان بكتريا *Ps. aeruginosa* معروفة في استغلالها العديد من الهيدروكاربونات مما يؤدي الى تلف المنتجات النفطية مثل الكيروسين والزيوت المعدنية الخفيفة والثقيلة وغيرها (22,15). يتميز جنس *Serratia* بقابلية جيدة في استهلاك المركبات الهيدروكاربونية لذلك فأن وجود هذين الجنسين معا في وسط يحوي على المركبات الهيدروكاربونية يؤدي الى استهلاك هذه المركبات بكفاءة اعلى وبوقت أقل مما لو كانت موجودة في الوسط بصورة مفردة.

تأثير الظروف البيئية في نمو البكتريا المستهلكة للهيدروكاربونات.

تأثير الاوكسجين في نمو البكتريا المستهلكة للهيدروكاربونات.

يعد الاوكسجين عنصرا مهما في عملية التحلل لان المسار الرئيس لاكسدة الهيدروكاربونات المشبعة والاروماتية يحتاج الى جزيئة الاوكسجين و انزيم الاوكسيجينيز oxygenase (3). ان وجود أو تجهيز حوض المخلفات النفطية بالهواء عامل مهم لنجاح عملية المعالجة وذوبانه في الوسط يحفز عمل الانزيمات البكتيرية المحللة اي ان جزيئة الهيدروكاربون تصبح جاهزة للاستهلاك من خلال عمليات الايض الخلوي ويؤدي تحريك المزارع الى توزيع جزيئات المواد الهيدروكاربونية في الوسط وزيادة نسبة الاوكسجين المذاب مما يتيح ظروفا افضل لنمو البكتريا واستهلاك هذه المواد. وهذا ما اظهرته نتائج هذه الدراسة اذ كان نمو البكتريا شكل(4) وانتاج الحوامض الدهنية شكل(5) أعلى في المزارع الموضوعة في الحاضنة الهزازة. ان التحلل الحيوي الهوائي للمركبات الاليفاتية والاروماتية يؤدي الى انتاج الماء وثاني اوكسيد الكربون والحوامض العضوية(4).

تأثير الملوحة في نمو وفعالية البكتريا المستهلكة للهيدروكاربونات.

وتعد الملوحة من المتغيرات المهمة المؤثرة في سرعة التحلل (23). لذا درس تأثير هذا العامل في نمو البكتريا وفعاليتها في تحلل الهيدروكاربونات ,

Unfiled Notes Page 3

ولوحظ ان بكتريا *Ps. aeruginosa* وخليط العزلتين استطاعت النمو بتركيز ملوحة 5% 4 . أما بكتريا *S.ficaria* فكان أفضل نمو لها بتركيز ملوحة 7% شكل (6) أذ تكون البكتريا اكثر فاعلية في البيئات ذات الملوحة العالية وان معدل التمثيل يقل بزيادة الملوحة مع توافر الاوكسجين الذائب والمغذيات الاخرى.

تأثير الرقم الهيدروجيني (PH) في نمو وفعالية البكتريا المستهلكة للهيدروكاربونات.

وجد ان اعلى نمو للخلايا البكتيرية يكون عند الرقم الهيدروجيني 7 شكل(7) وهذا يدل على ان البكتريا تفضل الاوساط المتعادلة ويكون تحللها للمواد الهيدروكاربونية أفضل (24، 25) .

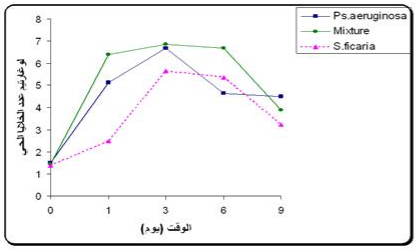
تأثير درجات الحرارة في نمو وفعالية البكتريا المستهلكة للهيدروكاربونات.

وجد ان المزرعة البكتيرية المختلطة أكثر تحملا لدرجات الحرارة العالية (45-50) مئوية شكل(8) حيث سجلت أعلى كثافة بصرية مقارنة بالعزلات المفردة. ان زيادة درجة الحرارة يؤدي الى زيادة معدلات ايض الهيدروكاربونات الى اعلى مستوى لها بسبب زيادة فعالية الانزيمات المحللة وكذلك تزداد سمية الهيدروكاربونات للغشاء بزيادة درجات الحرارة(26).

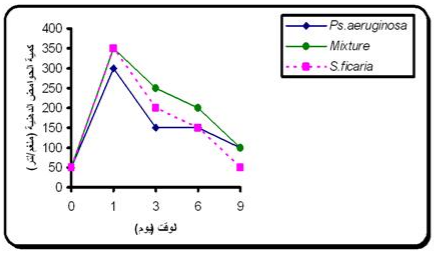
الجدول (1): توزيع العزلات البكتيرية المعزولة من مناطق بيئية مختلفة بحسب تفاعلها مع صبغة كرام، واجناسها ، واعدادها، ونسبها المئوية.

اسم الجنس	العدد	النسبة المئوية %
1- Gram negative genera	14	87.5
1.Pseudomonas spp.	7	17.5
2.Serratia spp.	7	17.5
3.Flavobacterium spp.	7	17.5
4.Citrobacter spp.	3	7.5
5.Aeromonas sp.	1	2.5
6.Burkholderia sp.	1	2.5
7.Acinetobacter sp.	1	2.5
8.Ochrobactrum sp.	1	2.5
9.Stenotrophomonas spp.	2	5.0
10.Chryseomonas spp.	3	7.5
11.Pantoea sp.	1	2.5
12.Enterobacter sp.	1	2.5
13.Bordetella sp.	1	2.5
14.Edwarsiella sp.	1	2.5
Total G^{-ve} isolates	37	92.5
2- Gram Positive genera	2	12.5
15.Bacillus sp.	1	2.5
16.Staphylococcus spp.	2	5.0
Total G^{+ve} isolates	3	7.5
All isolates	40	100

الشكل (1) : التغيرات المظهرية التي طرأت على وسط المخلفات API نتيجة نمو العزلات البكتيرية المنتخبة وإنتاجها للمواد المستحلبة1: نموذج السيطرة (غير ملقح). 2: نمو بكتريا *Ps. aeruginosa* في وسط المخلفات. *3*: نمو بكتريا *Serratia ficaria*في وسط المخلفات 4: نمو خليط العزلتين *Serratia ficaria* و *Ps. aeruginosa* في وسط المخلفات.

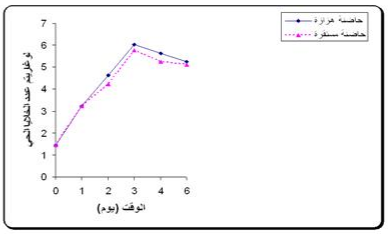


شكل (2): نمو العزلات المفردة والمختلطة في وسط المخلفات النفطية بعد حضنه بالحاضنة الهزازة بدرجة حرارة (30)م وبسرعة (120) دورة/دقيقة مدة (9) ايام

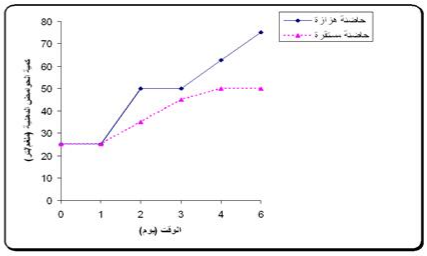


شكل(3): كمية الحوامض الدهنية المتكونة بفعل نمو العزلات المفردة والمختلطة في وسط المخلفات النفطية بعد حضنه بالحاضنة الهزازة بدرجة حرارة (30)م وبسرعة (120) دورة/دقيقة مدة (9) ايام

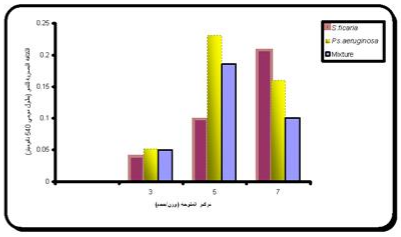
Unfiled Notes Page 4



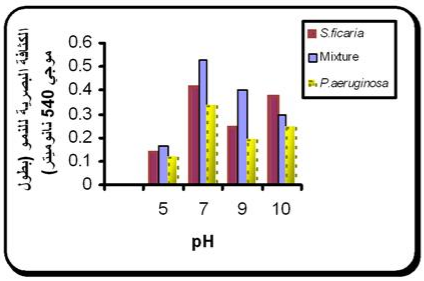
شكل(4): نمو بكتريا S.ficaria في وسط المخلفات النفطية
1 – حاضنة هزازة 120 دورة/دقيقة وبدرجة حرارة 30 مئوية لمدة(6) ايام
2– حاضنة مستقرة وبدرجة حرارة 30 مئوية لمدة (6) ايام



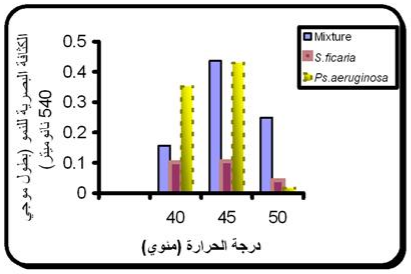
شكل(5): كمية الحوامض الدهنية المتحررة بفعل بكتريا S.ficaria عند نموها في وسط المخلفات النفطية
حاضنة هزازة 120 دورة/دقيقة وبدرجة حرارة 30 مئوية لمدة(6) ايام
حاضنة مستقرة وبدرجة حرارة 30 مئوية لمدة (6) ايام



شكل(6):نمو العزلات البكتيرية المفردة والمختلطة بتراكيز ملوحة مختلفة بعد مرور(3) ايام من الحضن بدرجة حرارة 30 مئوية في وسط المخلفات النفطية.



شكل (7):قابلية العزلات البكتيرية المفردة والمختلطة على النمو في وسط المخلفت API بأرقام هيدروجينية مختلفة عند حضنها بدرجة حرارة 30 مئوية لمدة (3) ايام .



شكل(8): نمو العزلات البكتيرية المفردة والمختلطة لدرجات الحرارة العالية عند تلقيح وسط المخلفات النفطية بها لمدة (3) ايام.

المصادر:

1. **وقائع** ندوة حماية البيئة من ملوثات الصناعةالنفطية.(1982).منظمةالاقطارالمصدرة للبترول، تونس: 12-15 ايلول.

2. **الخزعلي** ، ايمان هندي (2000) .دراسة كفاءة بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في تفكيك المخلفات الهيدروكاربونية وانتاج المستحلبات الحياتية . رسالة ماجستير .كلية العلوم .جامعة بغداد

3. **Atlas , R. M. (1981) .** Microbial degradation of petroleum hydrocarbons :an environmental perspective . Microbiol . Rev . 45 : 180-209 .

4. **Austin,B. ; Calomiris,J.J. ; Walker,J.D. & Colwell,R.R. (1977) .** Numerical taxonomy and ecology of Petroleum - Degrading Bacteria .

5. الدوسري ، مصطفى عبد الوهاب نجم (1998) .قابلية بعض الفطريات المعزولة من رسوبيات شط العرب وشمال غرب الخليج العربي على تكسير المركبات الهيدروكاربونية الاروماتية المتعددة النوى .رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة البصرة

6. العبيدي ، اياد محمدعلي فاضل (1990).تأثير النفط الخام على بعض الفعاليات الفسلجية للسيانوبكتريا المكونة للحويصلات المغايرة واثره على نمو وانبات الرز.رسالة ماجستير. كلية العلوم . جامعة بغداد .

7. الموسوي ، سمية عبد الرزاق علي (1999) قابلية الطحالب الخضر المزرقة (للسيانوبكتريا) على تكسير بعض مركبات النفط الخام مع دراسة بعض التغيرات الحاصلة لها بتأثير النفط . رسالة ماجستير . كلية التربية . جامعة البصرة .

8 .Vrdoljak,M.M. ; Marinkovic,G. ; Pavusek,I. & Johanides,V. (1992) . Periodicum Biologorum 94(3) : 169 - 177 .

9 .Herman,D.C. ; Lenhard,R.J. & Miller,R.M. (1997) . Formation and removal of hydrocarbon residual in porous media :effect of attached Environ. Sci. Technol. 31 : 1290-1294 .

10 . Walker, J.D. and R.R.Colwell.(1974). Microbial petroleum degradation : use of mixed hydrocarbon substrates. Appl. Microbiol. 27(6) : 1053-1060.

11 .Philips,U.A. and R.W. Traxler .(1963) . Microbial degradation of asphalt . Appl. Microbiol. 11 : 235-238 .

12 .Macfaddin,J.F. (2000) . Biochemical tests for identification of medical bacteria .(3rd) ed., M.G.Lawrence (ed.). Lippincott & Williams, NewYork.

13 .Annual Book of ASTM Standards . (1980) . Acidity measuring . In STM standards of water . Part 31 : 1360 - 1361 . American Soc. For testing materials , NewYork.

14. العزاوي ، شذى سلمان & النعمة ، سناء برهان الدين (2002) .ازالة الزيوت الهيدروكاربونية من المياه الملوثة بالمخلفات الصناعية بواسطة بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* وعلاقة ذلك بالطلب الحيوي للاوكسجين .مجلة ابحاث التقانة الحيوية . 4 (2) : 5-16

15 .Lee-SG ; Yoon-BD ; Park-YH & Oh-HM. (1998) . Isolation of a novel pentachlorophenol degrading bacterium , *Pseudom*onas sp. J. Appl. Microbiol. 85(1): 1-8.

16 .Williams,R.P. and Qadri,S.M.H. (1980) . The pigment of *Serratia* In the Genus *Serratia* .*P:* 31-75 (ed. Graeventz,A. & Rubin,S.J.). CRC press . Florida .

17 .Chakrabarty,A.M. (1996) . Microbial degradation of toxic chemicals : Evolutionary Insights and Practical Consideration. ASM News . Vo.62(3) : 130-137.

18 .Britton,L.N. (1984) . Microbial degradation of aliphatic hydrocarbons . In :" Microbial degradation of organic compound " . .T.Gibson , Marcel Dekker ,Inc . New York , P: 89 - 129

19 .Angelito O. Abaoag and Efren E. Bautista . Application of hydrocarbon utilising microbial inoculant on waste mangment of oil sludge Pilipinas Shell Foundation , Inc .

20 .Gunkel,W. and Dahlman,G. (1986) . Bacterial degradation of heavy fuel oil in sea water . In : Baltic sea environment proceeding . No. 22 , P : 68 - 80 .Norrkoping , Sweden .

21 .Nweke,C.O. and Okpokwasili,G.C. (2003) . Drilling fluid base oil biodegradation potential of a soil *Staphylococcus species* African J. Biotechnology . 2(9) : 293 - 295 ..

22 .Okerentugba,P.O. and Ezeronye,O.U. 2003) . Petroleum degrading potentials of single and mixed microbial cultures isolated from African J. Biotechnology. 2(9) : 288 - 292 .

23 .U.S.Congress , office of technology assessment . (1991a) . Bioremediation far marine oil spills - back ground paper Available from : U.S.Government printing office . Washington DC : OTA - RP - O - 70 .

24. العزاوي ، شذى سلمان (1982) .تأثير الاحياء المجهرية على الكونكريت الاسفلتي .رسالة ماجستير . لكلية العلوم . جامعة بغداد .

25. صيفور، محمد (2001).انتاج المستحلبات الحيوية من بكتريا *Pseudomonas sp.* . رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة بغداد .

26 .Joseph G. Leahy and Rita R. Colwell , 1990. Microbial Degradation of hydrocarbons in the environment. Microbiological Reviews, Sept. 1990, p. 305-315

Role of single and mixed culture of *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia ficaria* in utilization of petroleum wastes of Dora-refineries.

Amal A. Hussein* ***Shatha S. Hassan*****

*University of Technology/ Department of Applied science/ Biochemical Technology Branch.
**Baghdad University/Biology Department.

Abstract

The ability of single and mixed bacterial culture to utilize Dora-refineries petroleum wastes was compared. *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia ficaria* mixed culture consumed the wastes better than the single bacterial cultures. The highest log. number of viable cells in mixed culture was 6.842 , while in single bacterial cultures it was 6.683 and 5.631, respectively. after 3 days in API medium containing the refinery wastes.

The effect of some environmental conditions on the degradation of petroleum wastes was studied included aeration , NaCl concentration , pH and temperature. The growth of bacteria in the agitated culture was higher than stagnant culture the log. of cell no. was 6.021 in the first culture. The highest log. of cell no. stagnant culture was 5.771. *Pseudomonas aeruginosa* AA22 and *Serratia ficaria* AA39 were able to grow in medium containing 5 , 7 % NaCl , they favorite pH 7. The mixed culture of the two bacteria grew well of 45 ^{o}C.