# التحلل الحيوي لملوث الكيروسين بواسطة المزارع الميكروبية الوحيدة والمختلطة

**الطالب: أحمد بن فوزي نايف الحمودي**

**المشرف الرئيسي: أ.د. خالد محمد فتح الله غانم**

**المشرف المساعد: أ.د. صالح بن محمد القرني**

## المستخلص

يتكون وقود الكيروسين من خليط معقد من الهيدروكربونات (9–20 ذرة كربون). وهو ذات آثار ضارة للبيئة ويسبب بعض التأثيرات الضارة لصحة الإنسان كتهيج العينين والجلد والجهاز التنفسي وبعض التأثيرات السرطانية. والكيروسين ملوث شائع للبيئات المائية والتربة. في هذا البحث تم عزل بكتيريا وفطريات لها المقدرة على تحليل الكيروسين من المنطقة الصناعية – جنوب جدة – المملكة العربية السعودية. وقد تم عزل البكتيريا الآتية: أسينتوباكتر ، الكوليجينيس ، باسيلس ، ايشريشيا كولاي ، فلافوباكتيريم ، مايكروكوكس لوتيوس، سودوموناس ايرجينوزا ، سودوموناس فلوريسنس وكذلك الفطريات الآتية: أسبيرجيلس فلافس، أسبيرجيلس فيوميجاتس، أسبيرجلس نايجر، أسبيرجلس أستس، ألتارناريا ألتارناتا، بينسيليوم كوريلوفيلم، بينيسليوم فيلاتونم، رايزوبس رايزبوديفورميس. وكانت بكتيريا مايكروكوكس لوتيوس أكفأ البكتيريا المختبرة لتحليل 2٪ كيروسين بينما كانت سودوموناس ايرجينوزا أقل كفاءة في حين كان فطر أسبيرجيلس فلافس أكثر الفطريات كفاءة في عملية التحليل الحيوي وجاء في مرتبة أقل كفاءة فطر أسبيرجلس نايجر. كان وجود مادة التوتر السطحي (توين 80) ضروريا لزيادة كفاءة التحلل الحيوي بما يزيد عن 30٪ بكائنات التجارب. وعند دراسة أنسب أوقات التحضين للتخلص من الكيروسين أتضح أن 3 أيام تخمر كانت الأنسب للبكتيريا في حين كان التحضين لمدة 6 أيام الأفضل للفطريات لتحليل الكيروسين. تم استخدام مزارع مختلطة من البكتيريتين أو من الفطرين أو بكتيريا مع فطر وأوضحت النتائج أنه مع تقدم زمن التحضين كانت المزارع المنفردة سواء من البكتيريا أو الفطريات الأكفأ في عملية التحلل الحيوي للكيروسين. ومن ضمن ثمان أوساط غذائية كانت بيئة بوشنل هاس الأكثر ملائمة لتحليل الكيروسين بواسطة بكتيريا التجارب بينما كانت بيئة باكوسا واخرون هي الأفضل لتحليل الكيروسين بفطر أسبيرجيلس فلافس ، أسبيرجلس نايجر. تم بعد ذلك تطبيق النظام الإحصائي للتجارب المتعددة العوامل وهو مكون من تصميمين متسلسلين، بلاكيت – برمن ، بوكس – بينكن، وذلك للوصول لأنسب الظروف المزرعية لزيادة كفاءة التحلل لفطر أسبيرجيلس فلافس (أكفأ الكائنات المختبرة) لتحليل 2٪ كيروسين. أوضح تحسين الظروف المقترح من تصميم بلاكيت – برمن اختزال فترة التحضين بحوالي 14٪ والتحليل الكامل للكيروسين خلال 124 ساعة بدلا من 144 ساعة كما أوضح التصميم أن أكثر ثلاثة عوامل ذات تأثير معنوي في تحليل الكيروسين كانت كمية البيئة الغذائية/دورق ، نترات الأمونيوم ، الأس الهيدروجيني وتم بعد ذلك دراسة تلك العوامل الثلاث باستخدام طريقة الاستجابة السطحية لتصميم بوكس– بينكن الإحصائي ونتج عن ذلك تحليل كمية الكيروسين الكلية بعد 111.3 ساعة (بدلاً من 124 ساعة) من التخمر. وفي تجربة تطبيقية تم التخلص تماما من 2.5٪ كيروسين (مل/وزن) لقح به تربة خالية تماما من الهيدروكربونات عند استخدام أنسب الظروف المزرعية المتحصل عليها لفطر أسبيرجيلس فلافس.

**Biodegradation of Kerosene Pollutant by Mono and Mixed Microbial Cultures**

Ahmad Fawzi Naif Al-Homodi

**Supervised by**

Prof. Khaled Mohamed Ghanem

Prof. Saleh Mohamed Al-Garni

**Abstract**

Kerosene fuel composed of a complex mixture of hydrocarbons (9-20 carbon atoms). It has lead to hazardous effect to the environment and cause some specific harmful effects in human health such as irritation to eye, skin and respiratory system and some carcinogenic effects. It is a common pollutant to water and soil environment. In the present work, isolation of bacteria and filamentous fungi capable of kerosene biodegradation from the industrial region in south Jeddah, Saudi Arabia was conducted. The isolated bacteria were: *Acinetobacter* sp. , *Alcaligenes* sp. , *Bacillus* sp. , *Escherichia coli* , *Flavobacterium* sp. , *Micrococcus luteus* , *Pseudomonas aeruginosa* and *P.fluorescens* , while the isolated fungi were: *Alternaria alternata* , *Aspergillus flavus* , *A. fumigatus* , *A. niger* , *A. ustus* , *Penicillium corylophilum* , *P. fellutanum* and *Rhizopus rhizodopodiformis*. *M.luteus* was the most active bacteria for degradation of 2% kerosene and *P.aeruginosa* was less efficient, while *A.flavus* was the most active degrading fungus and *A. niger* was less active. The presence of surfactant (Tween 80) significantly increase the biodegradation activities by more than 30% by the test organisms. Time course biodegradation of kerosene indicated that 3 days of fermentation was efficient to degrade 90% or more of kerosene by *M.luteus* and *P.aeruginosa* , while 6 days was satisfactory for the same goal by *A.flavus* and *A.niger* . Mixed culture technique of the two bacteria or the two moulds or a bacterium and a mould indicated that at the late fermentation period mono culture of either a bacterium or a fungus is more efficient to biodegrade kerosene. Of different 8 fermentation media, Bushnell-Haas medium proved to be the most favor for the biodegradation of kerosene by the two bacteria, while Bacosa et al medium was the most efficient for kerosene degradation by *A.flavus* and *A.niger*. Statistical design of two phase multifactorial optimization (Plackett-Burman and Box-Behnken) were carried out to optimize cultural conditions to increase the efficiency of *A.flavus* (most potent tested organism) for biodegradation of 2% kerosene. The proposed Plackett-Burman optimization reduced the fermentation period by about 14% and completely biodegrade kerosene. It also indicated that the most significant three factors in the biodegradation process were volume of medium/flask, $(NH_4)NO_3$ and pH value. The investigation of these factors using Box-Behnken design (response surface methodology) resulted in 100% degradation of 2% kerosene after 111.3 h (instead of 124 h) of fermentation. In an applied trial, hydrocarbon free soil contaminated with 2.5% (v/w) kerosene become completed kerosene free when amended with *A.flavus* under the best optimized conditions.