مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (31) العدد (3) 2009
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (31) No. (3) 2009

دراسة تفكيك المنظفات (سلفات دوديسيل الصوديوم) ميكروبيولوجياً بتراكيز ودرجات حرارة مختلفة

الدكتور مفيد ياسين*
الدكتورة ابتسام معروف**
لمى جرعا***

(تاريخ الإيداع 8 / 4 / 2009. قبل للنشر في 2009/7/19)

□ ملخّص □

يعد هذا العمل دراسة مخبرية لتقدير فعالية بعض العزلات الجرثومية المعزولة (*Salmonella enteritidis* و*Salmonella typhimurium* و*Staphylococcus epidermidis* **1** و*Staphylococcus epidermidis* **2** و*Escherichia Coli* **1** و*Escherichia Coli* 2 و*Pseudomonas aeruginosa* و*Pseudomonas* sp) على التفكك الحيوي لتراكيز مختلفة من سلفات دوديسيل الصوديوم وبدرجات حرارة مختلفة، حيث عزلت تلك الأحياء الدقيقة من مياه الصرف الصحي لمدينة اللاذقية، وتم اختبارها على أوساط مختلفة في مخابر كلية العلوم وكلية الصيدلة في جامعة تشرين.

استطاعت تلك العزلات تفكيك سلفات دوديسيل الصوديوم بشكل عام، وكانت فعالية التفكيك لهذه المادة جيدة عند التراكيز 100، 300,200 ملغ/ل، ومتوسطة الفعالية عند تراكيز 400،500، 600، 700 ملغ/ل ومنخفضاً عند التراكيز المرتفعة (800, 900, 1000) ملغ/ل، كما كان التفكيك عالياً عند درجة الحرارة 35 درجة مئوية ومنخفضة عند درجة حرارة 25 درجة مئوية في جميع التراكيز المستخدمة تقريباً.

الكلمات المفتاحية: التفكيك الحيوي، سلفات دوديسيل الصوديوم، الصرف الصحي، المواد الفعالة سطحياً.

* أستاذ مساعد – كلية الصيدلة– جامعة تشرين – اللاذقية– سورية.
** مدرسة – قسم علم الحيوان – كلية العلوم– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.
***طالبة دراسات عليا (دكتوراه)– قسم علم الحيوان– كلية العلوم– جامعة تشرين – اللاذقية– سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (31) العدد (3) 2009
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (31) No. (3) 2009

Studying the Microbial Degradation of Detergents (sodium dodecyl sulfate SDS) in Different Concentrations and Temperature Degrees

Dr. Moufid Yassine [*]
Dr. Ibtisam Maarouf **
Lama Jaraa***

(Received 8 / 4 / 2009. Accepted 19/7/2009)

□ ABSTRACT □

This work is a laboratory study to estimate the activity of some selected micro-organisms (*Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus epidermidis*1, *Staphylococcus epidermidis* 2**,** *Escherichia Coli* 1, *Escherichia Coli* 2, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Pseudomonas* sp), which can biodegrade many concentrations of sodium dodecyl sulfate SDS in different temperatures.

These microorganisms were isolated from Lattakia waste water and tested on different mediums in the laboratories of Science and Pharmacy Faculties at Tishreen University.

Generally, the isolated strains biodegraded SDS. Their efficiency was high in (100,200,300) mg\l concentrations of this Surfactant, and average in concentrations (400,500,600,700) mg\l. But with high concentrations (800, 900, 1000) mg\l, the biodegradation was low. The best temperature for degradation was 35^{o}C in all concentrations.

Key words: Biodegradation, sodium dodecyl sulfate SDS, micro-organisms, and Surfactants.

[*]**Associate professor, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
**** Assistant Prof, Faculty of Science ,Tishreen University, Lattakia, Syria.**
*****Postgraduate student, Department of Zoological, Faculty of Science , Tishreen University, Lattakia, Syria**

مقدّمة:

تلعب الأحياء بصورة عامة والأحياء الدقيقة –بصفة خاصة– الموجودة في البيئة دوراً هاماً في التفكك الحيوي Biodegradation للملوثات التي تصل إليها، وتشكل المنظفات Detergents بمكوناتها المختلفة من أهم تلك الملوثات وخاصة المواد الفعالة سطحياً Surfactants وهي الجزء الأكثر أهمية في تركيب المنظف. (Leahy.J.G & Ccolwell. R.1990, OECD SIDS.2002. Matthew, J.S & Malcolm, N.J. 2000).

تعد مادة سلفات دوديسيل الصوديوم Sodium dodecyl sulfate SDS ($NaC_{12}H_{25}SO_4$) من المكونات الأساسية الفعالة التي تدخل في تركيب المنظفات بأنواعها واستخداماتها المختلفة، ويوجد توجه نحو إنتاج مكونات نوعية للمنظفات تخفف الأثر البيئي السلبي.(Enichem Augusta Ind.2001).

تعتبر هذه المادة من المواد الفعالة سطحياً Surfactants وتعود لمجموعة خافضات التوتر السطحي الأنيونية Anionic Surfactants وهي قابلة للتفكك الحيوي من قبل أنواع مختلفة من الأحياء الدقيقة التي تقوم باستقلاب بعض المركبات الكيميائية التي يدخل في تركيبها الكبريت بأشكاله المختلفة كمصدر للطاقة مثل بعض أنواع الـ *Pseudomonas* والـ *Escherichia* نظراً لاحتوائها على المجموعات الأنزيمية اللازمة لذلك. (Jerabkova, H .et al.1999, Myers.D.2005, Marchesi,J.R.et al.1994,Schleheck,D.2003).

لقد تبين أن تركيز المواد الفعالة سطحياً في مياه الصرف يتناقص بسبب الادمصاص والتفكك الحيوي وبتناقص طول سلسلة الألكيل وهذا يعني أنه كلما كانت السلسلة أقل طولاً كلما كان التفكك الحيوي لها أكبر. (Clara.M. et al. 2007).

تؤثر الأنزيمات الموجودة عند الأحياء في عملية التفكك الحيوي للمواد الفعالة سطحياً، وقد تم اختبار عدة أنواع من المواد الفعالة سطحياً، بإضافة أنزيمين من الليباز والمستخلصين من الأحياء الدقيقة وذلك لمعرفة نسبة التفكك الحيوي التي تتعرض له وهما [Mucor miehei lipase (MML) و Candida antarctica lipase B (CALB)] حيث بلغت نسبة التفكيك 60% خلال 28 يوم وذلك بدرجة حرارة 20 درجة مئوية. (Stjerndahl M, et al. 2003. Stjerndahl, M & Holmberg, K. 2003. Lundberg D & Holmberg K.2004).

إن الأحياء الدقيقة القادرة على استخدام الكبريت كثيرة لإحتوائها على الأنزيمات المسؤولة عن ذلك، والتي تستخدم المركبات الحاوية على الكبريت كمصدر للكربون والطاقة.(Bykowski,T.et al.2002)

تعزل تلك الأحياء الدقيقة من الأوساط الطبيعية نظراً لوجودها في البيئة بشكل طبيعي وتتم التنقية مخبرياً على أوساط صنعية، تسمح بتمييزها حسب الأنزيمات التي تساعد الأحياء على القيام بعملية التفكيك الحيوي. (SCHULZ, S., et.al. 2000)

هذه الدراسة تبين أن مياه الصرف الصحي الناتجة عن الاستخدامات المختلفة في مدينة اللاذقية غنية بمختلف الملوثات خصوصاً المنظفات، فضلاً عن وجود أنواع كثيرة من الأحياء الدقيقة المفككة لها في تلك المياه.

أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية البحث في دوره المتمثل بدراسة إمكانية تخفيض التلوث الناتج عن مياه الصرف الصحي، وتتلخص أهدافه بما يلي:

- عزل بعض العزلات الجرثومية الموجودة في مياه الصرف الصحي وتنقيتها وتنميتها في أوساط سائلة صنعية.

- دراسة التفكيك الحيوي لمادة سلفات دوديسيل الصوديوم في تراكيز مختلفة وبدرجات حرارة مختلفة لما لهذه المادة من تأثيرات بيئية سلبية.

تمت الدراسة في مخابر كلية العلوم وكلية الصيدلة في جامعة تشرين من العام 2007– 2008.

طرائق البحث ومواده:

1- عينات المياه:

عزلت العينات الجرثومية خلال شهر حزيران 2007 وحتى شهر كانون الأول 2007 من مناطق الاعتيان وهي مصبات الصرف الصحيّ في مدينة اللاذقية (أفاميا والرمل الجنوبي)، واختيرت تلك المواقع لاختلاف مصادر مياه الصرف الصحي الواردة إليها، بسبب الكثافة السكانية المتغيرة فيها خلال العام، وأيضاً لتباين النشاطات المتنوعة في كل منطقة، أما عينات الدراسة الحالية فقد تم تحضيرها مخبرياً خلال شهري آب وأيلول وتشرين الأول من عام 2008.

2-الأوساط الزرعية المستخدمة والأحياء الدقيقة:

تم استخدام عدة أوساط للزراعة والعزل والتنقية منها أوساط اختيارية Selective وأخرى تفريقية (انتقائية) Differential ومغذية Enrichment وأوساط طبيعية Natural من مياه الصرف الصحيّ كما يلي:

1.2- الأوساط الطبيعية:

وهي الأوساط المأخوذة من مياه الصرف الصحي في مدينة اللاذقية والتي تم عليها العمل المخبري بدراسة وتحديد الخواص الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية لهذه المياه والتي تم عزل الأحياء الدقيقة منها.

2.2- أوساط العزل و التنقية:

تم عزل الأنواع المدروسة وتنقيتها ودراسة صفاتها المورفولوجية والفيزيولوجية على الأوساط الآتية:

- وسط EMB Agar: وهو وسط صلب يتركب من (Peptic digest to animal tissue, K_2HPO_4 ,Lactose , Sucarose ,Eosin-Y ,Methylene blue,Agar).

- وسطEndo Agar: وهو وسط صلب يتركب من (Peptic digest to animal tissue, K_2HPO_4 ,Lactose , Na_2SO_3 ,Eosin-Y ,Basic fuchin ,Agar).

- وسط MacConkey Agar/broth: وهو وسط صلب يتركب من (Peptic digest to animal tissue, Proteose peptone ,Lactose ,Bile salts ,NaCl ,Neutral red ,Agar).

- وسط B.T.B Lactose Agar: وهو وسط صلب يتركب من (Proteose peptone ,Beef extract, Lactose, Bromo thymol blue,Agar).

- وسط Brilliant Green Agar with Phosphates: وهو وسط صلب يتركب من (Peptic digest to animal tissue, Beef extract, Yeast extract, Lactose, Sucarose, Na_2HPO_4, NaH_2PO_4, Phenol red, Brilliant Green, Agar).

- وسط الزراعة لدراسة الكبريتات SO_4^{-2}: وهو وسط سائل يتركب من (LAS, K_2HPO_4, $NaNO_3$, KCl).

- وسط Nutrient Agar: وهو وسط صلب مغذي عام يتركب من (Meat extract, yeast extract ,peptone, NaCl, Agar).

3.2- الأحياء الدقيقة المعزولة:

تم عزل ستة أنواع جرثومية تعود لأربعة أجناس وتشمل: خمسة أنواع تعود إلى مجموعة غرام السالبة تضم *Salmonella enteritidis* و *Salmonella typhimurium* والـ *Pseudomonas aeruginosa* و *Pseudomonas* sp والـ *Escherichia Coli* (يشمل عزلتين هما *E.Coli*1 و *E.Coli* 2)، ونوع واحد يعود إلى مجموعة غرام الموجبة هو *Staphylococcus epidermidis* (يشمل عزلتين هما *Staphylococcus epidermidis* 1 و *Staphylococcus epidermidis* 2). (Holt, J.G.& Krieg,N.R.S .1994).

3- المواد وطرائق التحليل المستخدمة:

*** الأجهزة والأدوات المستخدمة:**

- جهاز الـ pH meter (HACH sension 3)، ميزان حرارة زئبقي، محم، حاضنة مع هزاز (INFORS)، مجاهر ضوئية، سبيكتروفوتومتر (UV-VIS Spectrophotometer)، أوتوكلاف، غرفة عزل بكتيري، زجاجيات معقمة (أنابيب اختبار، أطباق بتري، .... الخ).

*** المواد و الكواشف المستخدمة:**

المواد الكيميائية التالية: KCl (Himedia)، $NaNO_3$ (BDH)، NaOH (EKA chemicals)، HCl (Merck)، ايتانول (Merck)، غليسيرول (Merck)، سلفات دوديسيل الصوديوم (BDH)، KNO_3 (BDH)، NaCl (Himedia)، K_2HPO_4 (Himedia)، KH_2PO_4 (Himedia).

*** التحاليل المستخدمة:**

- تحديد قيمة الـ pH بوساطة جهاز الـ pH meter.

- تعداد الخلايا الجرثومية للأنواع المدروسة العد بالأطباق Standard Plate Count Method (S.P.C.M).

- تقدير تركيز الكبريتات SO_4^{-2}: باستخدام طريقة المحلول الخاص بالغليسيرول والقياس في جهاز السبيكتروفوتومتر. (Rodier J.1978)

النتائج والمناقشة:

1-عزل وتنقية السلالات المفككة للـ SDS:

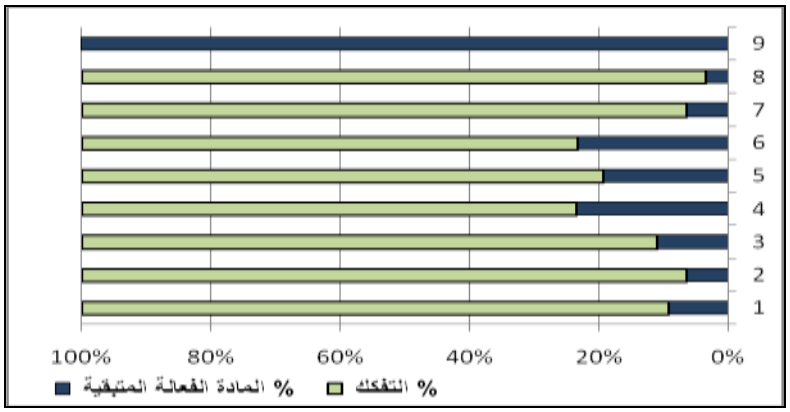
تمت عملية العزل والتنقية بزرع العينات في أطباق بتري تحوي وسطاً يتركب من (15 غ/ل) آغار و(1 غ/ل) نترات البوتاسيوم KNO_3 و(1غ/ل) كلور الصوديوم NaCl و(0.6 غ/ل) فوسفات ثنائية البوتاسيوم K_2HPO_4 و(0.6 غ/ل) فوسفات أحادية البوتاسيوم KH_2PO_4 و(1 غ/ل) سلفات دوديسيل الصوديوم SDS كمصدر وحيد للكربون والكبريت، وذلك بطريقة التخفيف بأنابيب الاختبار، ومن ثم عزلت ولعدة مرات على الوسط السابق حتى الحصول على مزارع نقية وحفظت في أطباق بتري ثم نقلت إلى أنابيب تحوي الوسط المذكور وذلك بعد التأكد منها

وتصنيفها بإجراء الاختبارات المناسبة وفق المراجع المعتمدة، وقد تم الاعتماد في قراءة نتائج التصنيف على .(Holt, J.G.& Krieg,N.R.S .1994.).HiMedia, 1998

عزلت ثماني عزلات من موقعي الدراسة (أفاميا، والرمل الجنوبي) وهي *Salmonella enteritidis* و*Salmonella typhimurium* و **1** *Staphylococcus epidermidis* و *Staphylococcus epidermidis* **2** و*Escherichia Coli*1 و *Escherichia Coli* 2 و *Pseudomonas aeruginosa* و *Pseudomonas* sp.

2. دراسة التفكيك الحيوي لتراكيز مختلفة من سلفات دوديسيل الصوديوم:

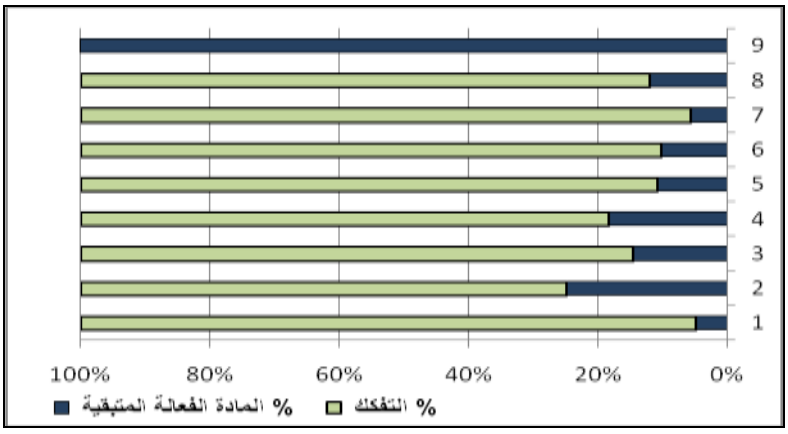
تم تحضير وسط سائل للزارعة يحتوي كل واحد ليتر على (1) غرام نترات الصوديوم $NaNO_3$ و(1) غرام فوسفات ثنائية البوتاسيوم K_2HPO_4 وتراكيز مختلفة من سلفات دوديسيل الصوديوم SDS وهي المصدر الكبريتي الوحيد في هذا الوسط وكانت التراكيز(100-200-300-400-500-600-700-800-900-1000) ملغ/لتر، ولاحقاً وزع الوسط على ثماني أرلينات تحتوي كل منها 100 مل وتم زراعة 8 مزارع جرثومية معزولة وبشكل ثلاث مكررات وكان تركيز اللقاحات الجرثومية هو (10^6X5) خلية/1مل، ووضعت الأرلينات على الهزاز (Shaker) لمدة 72 ساعة بدرجة حرارة 25 درجة مئوية فضلاً عن أرلينة تحتوي 100 مل من الوسط بدون إضافة أي جرثوم تعدّ شاهداً في كل حالة على حدا، وتم قياس تركيز الكبريتات بعد نهاية التجربة كما هو موضح بالأشكال (1)، (2)، (3)، (4)، (5)، (6)، (7)، (8)، (9)، (10):



E.Coli 1	1
E.Coli 2	2
Sal. tuphimurium	3
Sal. enteritidis	4
Sta. Epidermidis 1	5
Pseudomonas sp	6
Ps.aeruginosa	7
Sta. Epidermidis 2	8
الشاهد	9

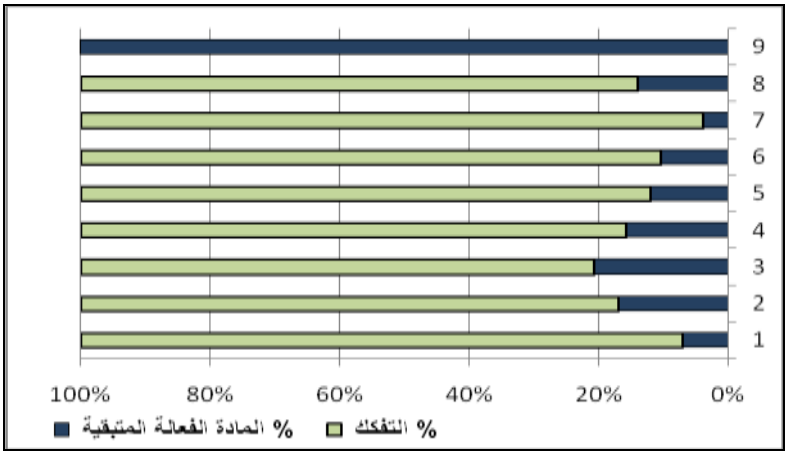
الشكل (1) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 25مئوية وتركيز100 ملغ/ل

يوضح الشكل (1) أن جميع العزلات كانت جيدة التفكيك للمادة الفعالة المدروسة عند تركيز 100 ملغ/ل وتجاوزت النسبة 70% عند جميع العزلات، وأن العزلات الأفضل تفكيكاً هي الـ 2 *Sta. epidermidis* و**2** *E.Coli* و*Ps.aeruginosa* و**1** *E. Coli* حيث بلغت نسبة التفكيك بين90– 96%.



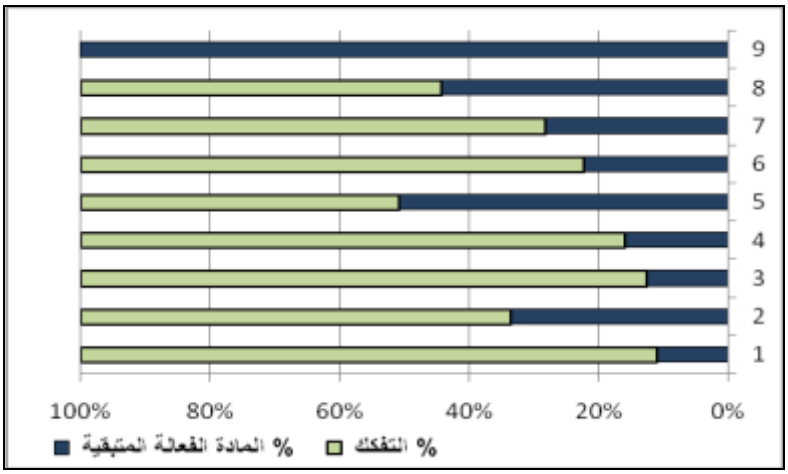
الشكل (2) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 25مئوية وتركيز200 ملغ /ل

أما في تركيز 200 ملغ/ل فقد كانت الـ **1** *E. Coli* الأفضل تفكيكاً بنسبة 95.29 %، والـ *Ps.aeruginosa* بنسبة بلغت 94.4 %، كما هو واضح في الشكل (2) فضلاً عن ذلك فقد كانت جميع العزلات جيدة التفكيك لمادة سلفات دوديسيل الصوديوم ووصلت نسبة التفكيك حتى 80% عند جميع العزلات.



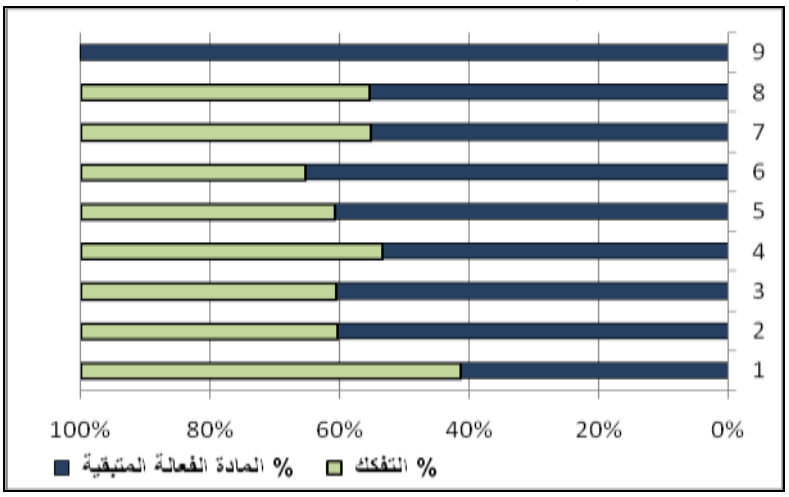
الشكل (3) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 25مئوية وتركيز300 ملغ /ل

أيضاً بوجود تركيز 300 ملغ/ل في الوسط كانت الـ **1** *E. Coli* والـ *Ps.aeruginosa* هما الأفضل تفكيكاً بنسبة (96.3% و92.96%) على الترتيب وهذا ما يوضحه الشكل (3) ولوحظ أيضاً أن جميع العزلات تفكك المادة الفعالة المدروسة بصورة جيدة وبنسبة تتجاوز 75%.



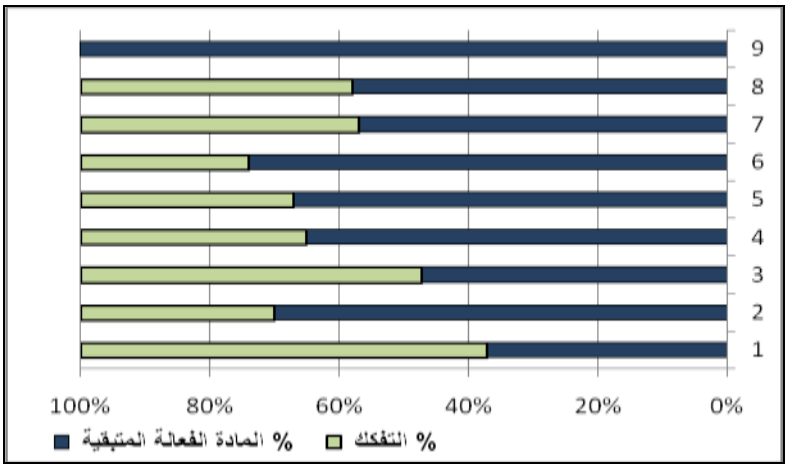
الشكل (4) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 25مئوية وتركيز 400 ملغ/ل

يوضح الشكل (4) عند تركيز 400 ملغ/ ل، أن التفكيك كان جيداً عند جميع العزلات وكانت الـ **1** *E. Coli* هي الأفضل حيث وصلت نسبة التفكيك إلى 89.12% بالإضافة للعزلة *Salmonella typhimurium* التي وصل التفكيك إلى 87.42% أما عزلتي الـ **1,2** *Sta. epidermidis* فقد كانت متوسطة التفكيك مقارنة بباقي العزلات إذ بلغت نسبة التفكيك (55.78 %و49.25%) على الترتيب.



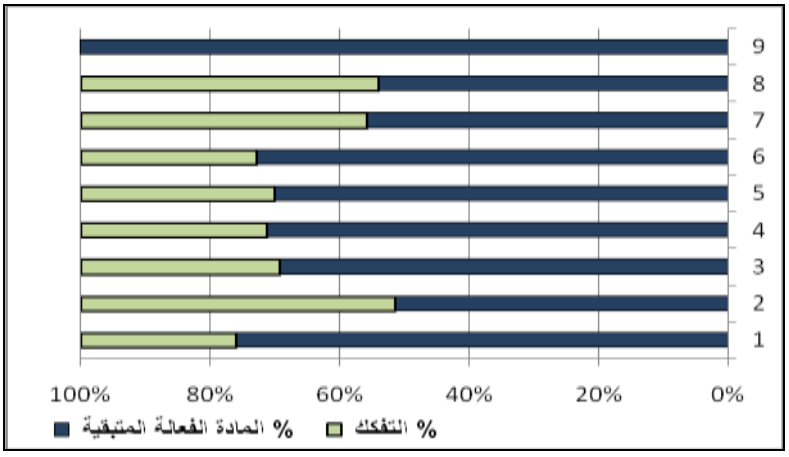
الشكل (5) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 25مئوية وتركيز 500 ملغ/ل

يلاحظ من الشكل (5) أنه قد انخفضت فعالية التفكيك عند الكائنات الدقيقة المستخدمة وذلك عند تركيز 500 ملغ/ل حيث لم تصل نسبة التفكيك إلى 60% وكانت أفضل العزلات فعالية الـ **1** *E. Coli* بنسبة 58.78% وبصورة عامة كانت العزلات متوسطة التفكيك.



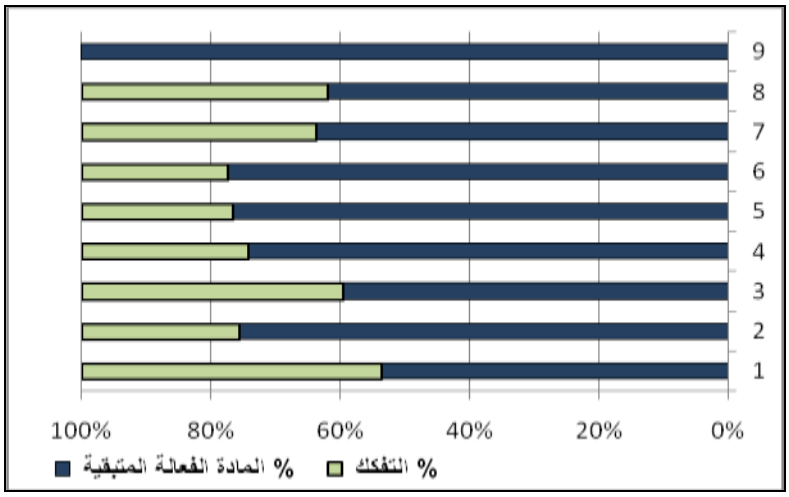
الشكل (6) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 25مئوية وتركيز600 ملغ/ل وسط

ولوحظ في الشكل (6) النتيجة نفسها التي ظهرت في الشكل (5) حيث التفكيك متوسط الفعالية وكانت عزلة الـ **1** *E. Coli* هي الأفضل، إذ وصلت نسبة التفكيك إلى 62.93% وذلك بوجود تركيز 600 ملغ/ل من مادة سلفات دوديسيل الصوديوم في الوسط.



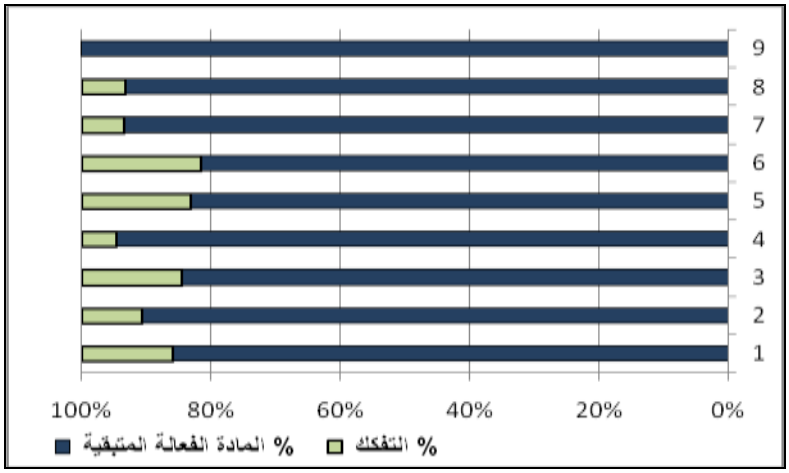
الشكل (7) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 25مئوية وتركيز700 ملغ/ل

أما الشكل (7) فإنه يوضح انخفاض فعالية التفكيك فقد أصبحت النسبة تتراوح بين ضعيفة إلى متوسطة من حيث التفكيك الحيوي لمادة سلفات دوديسيل الصوديوم الموجودة في الوسط المستخدم في الدراسة وكانت الـ *E.Coli* 2 هي الأفضل حيث وصلت نسبة التفكيك إلى 48.68% بالإضافة لعزلة ***Sta. epidermidis* 2** التي فككت بنسبة 46.02%.



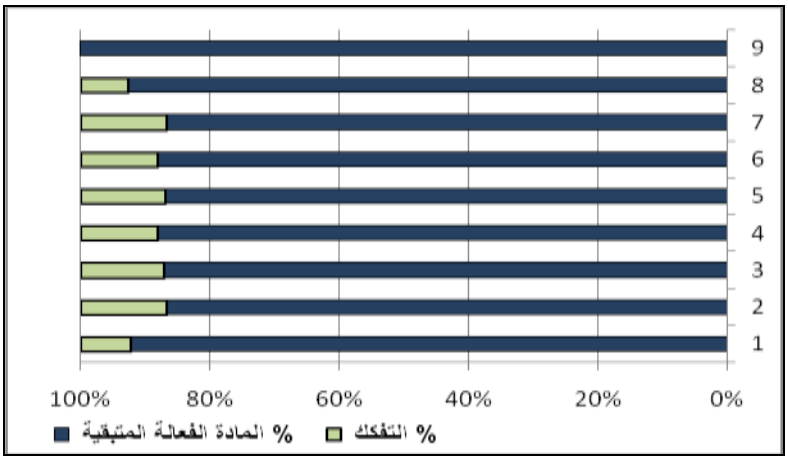
الشكل (8) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 25مئوية وتركيز 800 ملغ/ل

إن النتائج في الشكل (8) تتوافق مع النتائج في الشكل (7) حيث كان التفكيك متوسطاً إلى ضعيف الفعالية وكانت الـ **1** *E. Coli* هي الأفضل وذلك بنسبة تفكيك بلغت 46.48% وذلك بوجود تركيز 800 ملغ/ل من مادة سلفات دوديسيل الصوديوم.



الشكل (9) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 25مئوية وتركيز 900 ملغ/ل

يلاحظ من الشكل (9) أن التفكيك أصبح ضعيفاً جداً ولم تصل نسبة التفكيك إلى 20% وهذا ما لوحظ عند العزلة الأكثر تفكيكاً بين العزلات المدروسة وهي الـ *Pseudomonas* sp حيث وصلت نسبة التفكيك إلى 18.5% فقط وذلك بوجود تركيز 900 ملغ/ل من المادة الفعالة سطحياً المدروسة.

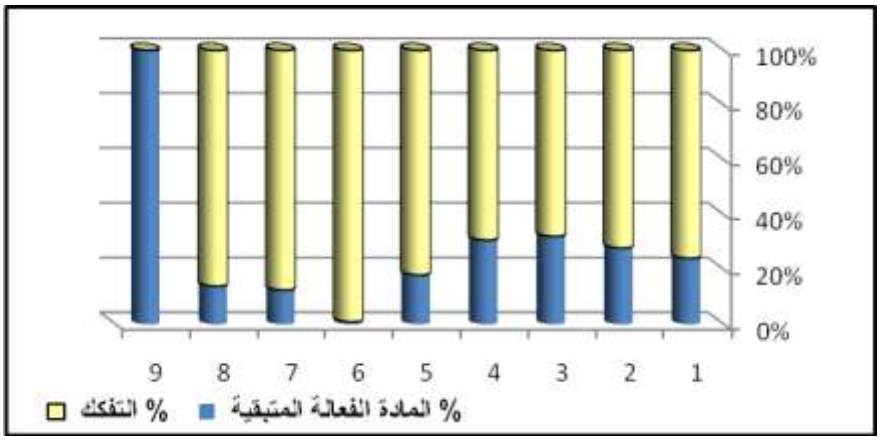


الشكل (10) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 25مئوية وتركيز 1000 ملغ/ل

يلاحظ أيضاً في الشكل (10) حالة الانخفاض الكبير في التفكيك وأن النسبة وصلت حتى 15% عند كل العزلات تقريباًُ الموجودة في الوسط المدروس وذلك بتركيز 1000 ملغ/ل.

3- دراسة تأثير درجة الحرارة على التفكك الحيوي لسلفات دوديسيل الصوديوم:

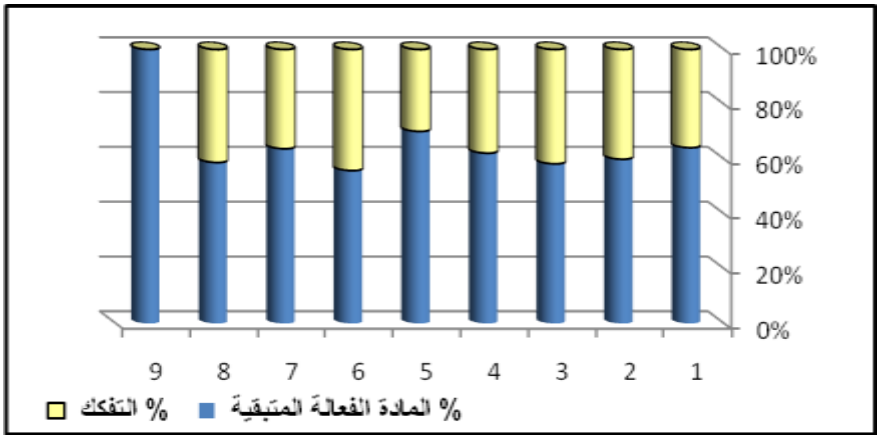
تمت الزارعة على وسط سائل يحتوي كل واحد ليتر على (1) غرام نترات الصوديوم $NaNO_3$ و(1) غرام فوسفات ثنائية البوتاسيوم K_2HPO_4 و سلفات دوديسيل الصوديوم SDS عند تركيز (500 و1000) ملغ/ل وهي المصدر الكبريتي الوحيد في هذا الوسط، ولقد اختير تركيز (500) مغ/ل نظراً لملاحظة أن تركيز المواد الفعالة سطحياً في مياه الصرف الصحي لمدينة اللاذقية تراوح بين (470- 510) ملغ/ل، أما تركيز الـ (1000) ملغ/ل فقد تم اختياره لتقدير مدى تأثير درجات الحرارة المختلفة عليه في حال تأثر التفكك مع تغيرها ووزع الوسط على ثماني أرلينات تحتوي كل منها 100 مل وتم زراعة 8 مزارع جرثومية معزولة ومنتقاة من مياه الصرف لمحافظة اللاذقية حيث تم إضافة 2 مل من الوسط الحاوي على الجراثيم إليها والذي يحتوي على (10^6X5) خلية/1مل وبشكل ثلاث مكررات، مع إضافة واحد بوصفه شاهداً في ثلاث مجموعات، وتم وضع الأرلينات على الهزاز (Shaker) لمدة 72 ساعة بدرجات حرارة مختلفة كانت (15، 25، 35) درجة مئوية، وتم قياس تركيز الكبريتات بعد نهاية التجربة كما هو موضح بالأشكال (11)، (12)، (13)، (14)، (15)، (16):



E.Coli 1	1
E.Coli 2	2
Sal. tuphimurium	3
Sal. enteritidis	4
Sta. Epidermidis 1	5
Pseudomonas sp	6
Ps.aeruginosa	7
Sta. Epidermidis 2	8
الشاهد	9

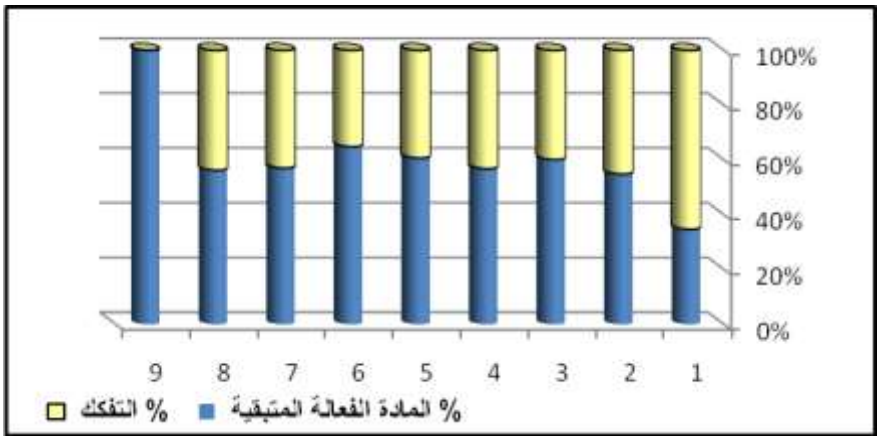
الشكل (11) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 15مئوية وتركيز500 ملغ/ل

يوضح الشكل (11) أن جميع العزلات كانت جيدة التفكيك للمادة الفعالة المدروسة عند تركيز 500 ملغ/ل ودرجة حرارة 15^{o} مئوية، وتجاوزت النسبة 65% عند جميع العزلات وكانت العزلات الأفضل تفكيكاً هي الـ *Pseudomonas*.sp بنسبة 99.04% والـ *Sta. epidermidis* $_2$ بنسبة 86.03%، أما الـ *Ps.aeruginosa* فقد بلغ التفكيك بوجودها 87.46%.



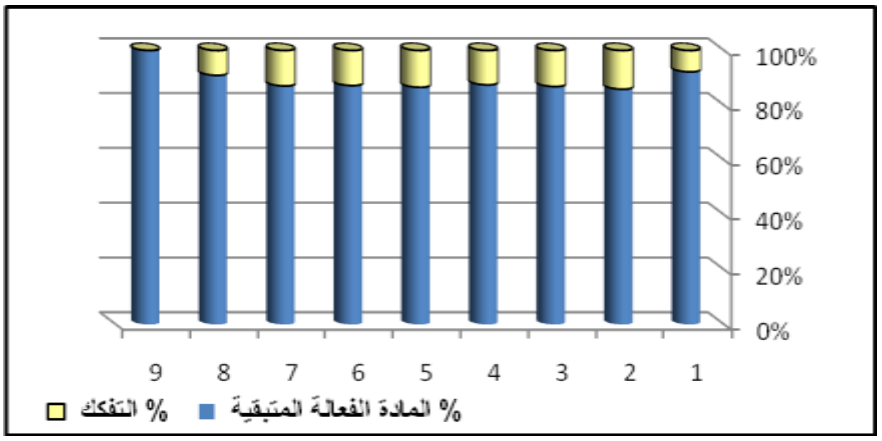
الشكل (12) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 15مئوية وتركيز1000 ملغ/ل

أما في تركيز 1000 ملغ/ل ودرجة حرارة 15 درجة مئوية فقد كانت العزلات ضعيفة إلى متوسطة بالنسبة لتفكيك الـ SDS ولم تتجاوز النسبة المئوية للتفكيك الـ 40%، كما هو واضح في الشكل (12).



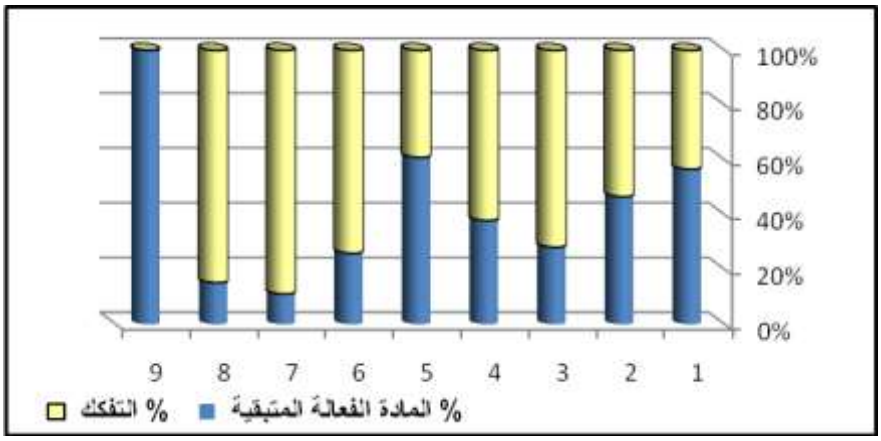
الشكل (13) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 25مئوية وتركيز 500 ملغ/ل

أيضاً بوجود تركيز 500 ملغ/ل ودرجة حرارة 25 درجة مئوية فكانت العزلات متوسطة الفعالية وكانت أفضل نتائج التفكيك عند عزلة الـ ***E. Coli 1*** بنسبة 62.22% وهذا موضح في الشكل (13).



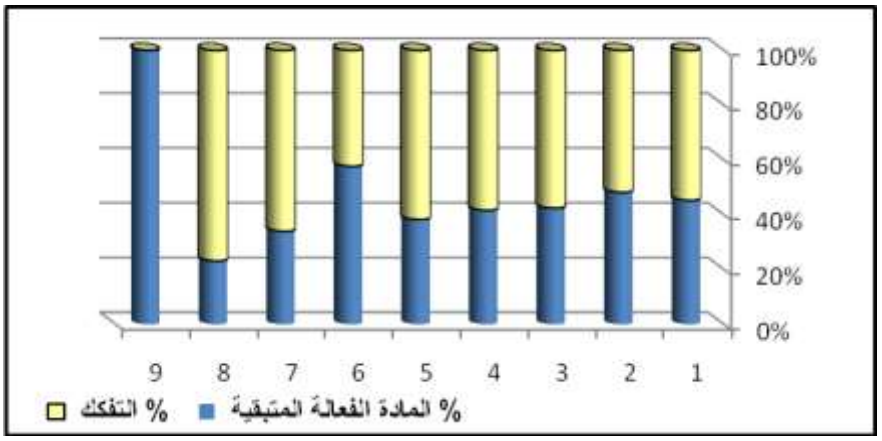
الشكل (14) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 25 مئوية وتركيز 1000 ملغ/ل

يوضح الشكل (14) أن التفكيك كان ضعيفاً بوجود تركيز 1000 ملغ/ل ودرجة حرارة 25 درجة مئوية عند جميع العزلات ولم يصل إلى 15%.



الشكل (15) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 35 مئوية وتركيز 500 ملغ/ل

يوضح الشكل (15) أن جميع العزلات كانت متوسطة إلى جيدة التفكيك للمادة الفعالة المدروسة عند تركيز 500 ملغ/ل ودرجة حرارة 35^{o} مئوية، وكانت العزلات الأفضل تفكيكاً هي الـ *Ps.aeruginosa* بنسبة 88.9% و $_{2}$ *Sta. epidermidis* بنسبة 84.74%.



الشكل (16) النسبة المئوية لتفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بتأثير الأحياء الدقيقة المستخدمة بدرجة حرارة 35مئوية وتركيز 1000 ملغ/ل

يوضح الشكل(16) أن التفكيك كان متوسطاً بوجود تركيز 1000 ملغ/ل ودرجة حرارة 35 درجة مئوية عند جميع العزلات وتراوحت النسب بين 50-77% وكانت التفكيك الأفضل عند الـ $_{2}$ *Sta. epidermidis* لتصل إلى 76.8%.

الاستنتاجات والتوصيات:

– تم عزل ثمانية عزلات جرثومية نقية من مياه الصرف الصحي وصنفت كعزلات تابعة للأنواع الآتية: *Salmonella enteritidis* و*Salmonella typhimurium* و*Staphylococcus epidermidis* و*Escherichia Coli* و*Pseudomonas aeruginosa* و*Pseudomonas* sp.

– استطاعت العزلات الجرثومية أن تفكك سلفات دوديسيل الصوديوم بنسب مختلفة حسب تراكيزها ودرجة الحرارة.

– كانت العزلات جيدة التفكيك بصورة عامة عند التراكيز (100، 200،300) ملغ/ل من المادة الفعالة سطحياً المدروسة SDS ودرجة حرارة 25 م^{O}.

– لوحظ انخفاض نسبة التفكيك مع زيادة تركيز المادة المستخدمة في الدراسة وذلك في التراكيز (400،500، 600، 700) ملغ/ل من المادة SDS وعند درجة حرارة 25 م^{O} حيث كانت النسبة متوسطة التفكك.

– تبين أن التفكك متدني في التراكيز المرتفعة من مادة SDS (800, 900, 1000) ملغ/ل ودرجة حرارة 25 م^{O} مع انخفاض بفعالية الأحياء الدقيقة المستخدمة في الدراسة.

– كانت العزلات جيدة التفكيك بصورة عامة في التراكيز المستخدمة في درجات الحرارة المختلفة التي تم حضن العينات فيها.

– كان لارتفاع درجة الحرارة (35^{O}م) أثر إيجابي على تفكيك المادة الفعالة سطحياً المستخدمة وذلك سواء عند التركيز 500 أم 1000 ملغ/ل.

– تبين النتائج قدرة الأحياء الدقيقة المستخدمة على التفكيك العالي لبعض المواد الفعالة سطحياً في التراكيز المنخفضة وفي البيئة الطبيعية وعلى التأقلم مع درجات الحرارة المختلفة والتراكيز المختلفة.

– يمكن استخدام العزلات المعزولة في تفكيك المواد الفعالة سطحياً الموجودة في المنظفات التي تصل لمياه الصرف الصحي وأيضاً في محطات المعالجة البيولوجية وفي شروط مختلفة.

المراجع:

1. BYKOWSKI,T. et al. *The switch from inorganic to organic sulphur assimilation in Escherichia coli: adenosine 5'-phosphosulphate (APS) as a signalling molecule for sulphate excess*. Molecular Microbiology. 43, 2002,1347-1358.
2. CLARA, M. et al. *Occurrence of selected surfactants in untreated and treated sewage*. Water research. 41. 2007,4339-4348.
3. ENICHEM, A. Ind. *Benzene C10-13 Alkyl derivs*. Hedset Data Sheet, CAS- 6774. 2001,74-77.
4. HIMEDIA, The HiMedia Manual for Microbiology Laboratory practice. 1998.
5. HOLT, J.G. ; Krieg, N.R.S. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Ninth Ed.*, Williams and Wilkins, Baltimore, U.S.A. 1994.
6. JERABKOVA,H.et al. *Biofilm of Pseudomonas C12B on glass support as catalytic agent for continuous SDS removal*. International Biodeterioration &Biodegradation 44, 1999,233-241.

7. LEAHY,J.G.; COLWELL, R. *Microbial degradation of hydrocarbons in the environment.* Micro-biol. Rev. 54, 1990,305-315.
8. LUNDBERG, D.; HOLMBERG,K. *NMR Studies on hydrolysis kinetics and micellar growth in solutions of surface-active betaine esters*. J Surfactants Deterg. 7. 2004,239–246.
9. MARCHESI, J.R. et al. *SDS-degrading bacteria attach to riverine sediment in response to the surfactant or its primary biodegradation product dodecan-1-ol*. Society for General Microbiology, 140, 1994,2999-3006.
10. MATTHEW, J.S; MALCOLM, N.J. *The biodegradation of surfactants in the environment*. Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Biomembr. 1508, 2000,235–251.
11. MYERS,D. *Surfactant Science and Technology Third Edition*. 2005,400.
12. OECD, S. *Benzene, C10-C16 alkyl derivatives (123-01-3, 6742-54-7, 8648-87-3, 29813 -58-7, 68442-69-3, 129813-59-8, 12813-60-1).*UNEP PUBLICATIONS. 2002
13. RODIER, J. L. *analyse de l,eau.Dunod*, Paris, France. 1978
14. SCHLEHECK, D. *Biodegradation of synthetic surfactants: linear alkyl benzene sulfonates (LAS) and related compounds*. University of Konstanz, Germany. 2003,161.
15. SCHULZ, S. et al. *Enantiomeric degradation of 2-(4- sulfophenyl)butyrate via 4-sulfocatechol in Delftia acidovorans SPB1*. Appl. Environ. Microbiol. 66, 2000,1905-1910.
16. STJERNDAHL, M.; HOLMBERG, K. *Synthesis and chemical hydrolysis of surface active esters*. J Surfactants Deterg. 6. 2003,308–311.
17. STJERNDAHL, M .et al. *Hydrolysis and biodegradation studies of surface active esters.* J. Surfactants Deterg. 6. 2003,319–324.