Ass. Univ. Bull. Environ. Res. Vol. 14 No. 1, March 2011

#
AUCES

معالجة مياه الصرف الصناعي من التلوث البكتيري باستخدام مستخلص الطحالب الكحولي

أحمد عيدان الحسيني، زينة محمد مهدي، أنعام نوري علي، عذراء عبد السادة

مركز بحوث ومختبرات المياه – قسم التقنيات الإحيائية دائرة بحوث وتكنولوجيا البيئة ومعالجة المياه– وزارة العلوم والتكنولوجيا – العراق

الملخـــص :

اختبر تأثير المستخلص الكحولي لطحلبي *Nostoc linkia* و *Chara* sp على نمو بكتيريا *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من المياه الملوثة تحت ظروف مختبريه 37°م، وخلال فترة معاملة 72 ساعة لكلا الطحلبين. أظهر مستخلص طحلب *Nostoc linkia* كفاءة عالية في خفض الأعداد البكتيرية بتركيز 1 ملغم/لتر بنسبة إزالة 98.9% لبكتريا *Escherichia coli* و94.6% لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa*. أما مستخلص طحلب *Chara* sp بتركيز 1 ملغم/لتر فقد خفض الأعداد البكتيرية بنسبة إزالة 87% لبكتريا *Escherichia coli* و 87% لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa*، مع وجود فروق معنوية لتركيزي 0.75 و 1 ملغم/لتر لكلا مستخلص الطحلبين. انخفض العدد الكلي للبكتريا عند استخدام تركيز 1 ملغم/لتر من مستخلصي الطحلبين، وبنسبة إزالة 90.8%، 82.4% على التوالي بعد 24 ساعة من المعاملة.

المقدمة :

يمثل الماء أحد الأبعاد الإستراتيجية المهمة في صنع الحياة بشتى أشكالها ويضمن ديمومتها وعليه فإن الاهتمام بالموارد المائية يعد أمراً حيوياً لتغطية وتامين متطلبات الاستخدامات المدنية والزراعية والصناعية والاستخدامات الأخرى. تتعرض المياه وخصوصاً السطحية منها إلى أخطار التلوث بالكثير من المسببات المرضية كالبكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام، وكذلك الفيروسات عند رميها إلى المياه السطحية بدون معالجة مناسبة إذ تعمل هذه الملوثات على تغيير الصفات الصحية للمياه وتجعلها غير صالحة للاستهلاك البشري أو الحيواني، وقد تزايد طلب مواد معقمة بديلة طبيعية للمياه عن المعقمات الكيميائية الحالية، والتي أدت إلى الاستخدامات الواسعة لها ولفترات طويلة إلى ظهور سلالات بكتيرية مقاومة لها إضافة إلى تأثيراتها الجانبية[1]. تعتبر الطحالب من الكائنات المجهرية ذات الكفاءة العالية في أنتاج مجموعة من المضادات الحيوية ذات التأثير المباشر على إزالة الكثير من البكتريا المرضية مثل *Pseudomonas* المقاومة للمضادات الحيوية، إذ تنتج الطحالب نوعين من المركبات الفعالة الموجودة داخل خلاياها والتي تدعى بالـ Intracellular

Products أو خارج خلاياها فتسمى Extracellular Products. تستخلص المواد الداخل خلوية الفعالة بإتباع الطرائق المختلفة وباستخدام المذيبات المتنوعة التي قد تكون منفردة أو بشكل خليط من المذيبات أو سلسلة متتالية من المذيبات مثل: الأسيتون والميثانول والايثانول والهكسان وكلوريد المثلين والايثر البترولي وغيرها. وقد يستخدم الماء في عمليات الاستخلاص أيضاً، وتكون المركبات الفعالة المتواجدة في الطحالب بشكل عام عبارة عن أحماض أمينية وأحماض دهنية ذات سلسلة طويلة من ذرات الكربون المرتبطة مع بعضها البعض بروابط تساهمية والتي تستخلص بالايثانول، وتكون مستخلصات الطحالب ذات طبيعة مختلفة بحسب اختلاف تركيبها الكيماوي من أحماض أمينية ودهنية إذ ينتج طحلب *Prototheca* حامض Lactic acids مع كميات قليلة من حامض Succinic acids و طحلب *Chlorella* له القدرة على إنتاج حامض Lactic acids و Acetic acids، وينتج طحلبي *Chlorella* ، *Anabaena* كميات من الأحماض الأمينية والببتيدات (Peptides و Amino acids)، ويعتبر مركب الكلورلين Chlorellin المنتج من طحلب *Chlorella* أول تسجيل للمواد المضادة للبكتريا من الطحالب الذي يتكون من عدد من الأحماض الدهنية غير المشبعة والمكون من: 77.35% كربون، 11.6% هيدروجين، 10.99% أوكسجين[2]، ويعتقد أن هذا المركب يتكون كناتج لتفاعلات وسطية داخل الخلية وهو منشط لبعض الأحياء المجهرية في التراكيز المنخفضة، ولكنه مثبط في التراكيز العالية، أما الديوتومات تحتوي على نسبة غير قليلة من الأحماض الدهنية الأساسية Essential Fatty Acid (EFA) وخصوصاً غير المشبعة منها مثل: Arachidonic acid و Linolenic acid و Linoleic acid و Eicosapentaenoic acid[3].

تهدف الدراسة الحالية إلى خفض الأعداد البكتيرية للنوعين *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* من مياه الصرف الصناعي باستخدام المستخلص الكحولي لطحلبي *Nostoc linkia* و *Chara* sp

المواد وطرائق العمل:

أ- عزل وتشخيص الطحالب :

تم الحصول على عزلات الطحالب المعزولة والمنقاة من بنك الطحالب في وحدة زراعة الطحالب في مركز بحوث ومختبرات المياه قسم التقنيات الإحيائية دائرة بحوث وتكنولوجيا البيئة ومعالجة المياه- وزارة العلوم والتكنولوجيا.

ب- إكثار وتجفيف عزلة الطحالب:

تنمى الطحالب في مزارع كبيرة الحجم للحصول على كتلة حيوية أكبر باستخدام المزارع الثابتة Batch cultuer. ويمتاز هذا النوع من المزارع بكونه غير متجدد وذي حجم ثابت[4]، كما يأتي :-

1- يتم تحضير عدد من المزارع الصغيرة بحجم 10 مل لاستخدامها كلقاح ابتدائي للمزارع الأكبر حجماً.

2-التدرج في زيادة حجم المزرعة ابتداء من 10، 100، 200 مل.

3-يحضر وسط زراعي بحجم 2، 8 لتر في أوعية زجاجية شفافة مغلقة بسداد قطني، ويضاف إليها اللقاح، وتزود المزرعة بالهواء (100 لتر/دقيقة) من خلال إمرار أنبوب مطاطي ينتهي بحجر فقاعات Air stone لتزويد المزرعة بالهواء مخلوطا مع CO_2 بنسبة 1- 2% وتحضن المزرعة في غرفة الزرع.

4-يتم حصاد المزرعة بعد 8-9 أيام، ويتم فصل الخلايا الملتصقة على الجدار والقاع بإمرار تيار هوائي قوي على جدران الحاوية الزجاجية.

5-ترسب المزرعة بوساطة نابذ مركزي Centrfug بسرعة 3000 دورة/دقيقة، ولمدة 5 دقائق، ويجمع الراسب في جفنة خزفية، ويجفف باستخدام الفرن الكهربائي بدرجة

50°م لمدة 48 ساعة. ويوضع بعدها مجفف الطحالب في قنينة زجاجية وتحفظ في 4°م لحين الاستخدام.

جـ - استخلاص المواد الفعالة من الطحالب:

تتبع الطريقة الموضحة من قبل لاستخلاص المواد الفعالة من الطحالب[3]، وكما يأتي:-

1- إذابة 250 ملغم من مجفف الطحلب في 10 مل من الايثانول 95% ثم يرج المذيب لمدة 30-60 دقيقة باستخدام حاضنة هزازة بدرجة حرارة 25°م، وبسرعة 70 دورة/دقيقة.

2- ينبذ المستخلص مركزياً بسرعة 6000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة للتخلص من البقايا الخلوية، ويوضع الراشح في أنبوبة نظيفة، ويعاد نبذه بسرعة 6000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق.

3- تكرر عملية استخلاص مجفف الطحلب ثلاث مرات بنفس الطريقة لاستخلاص معظم مكونات الطحلب.

4- يجمع المستخلص الكحولي النهائي، ويتم التخلص من الكحول بتبخيره بدرجة حرارة الغرفة لنحصل بعدها على راسب أخضر غامق.

5- يضاف 2 مل من الماء المقطر إلى الراسب، ويرج جيداً ثم يضاف بعدها 5 مل من كلوريد المثلين ويرج جيداً للحصول على طبقتين يتم فصلهما باستخدام قمع الفصل. يجمع الجزء العضوي ويتم تركيزه بدرجة حرارة الغرفة للحصول على المستخلص.

د- عزل وتشخيص وتنمية العزلات البكتيرية:

تم عزل *Escherichia coli* من مياه التصريف النهائي لمحطة الرستمية لمعالجة مياه الصرف الصحي في بغداد وحسب الطرق القياسية[5]، وعزلت بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* من مياه المجاري وحسب طريقة[6]. ونميت العزلات البكتيرية على وسط Nutrient agar، واخذ 1 لوب من العزلة النقية إلى دوراق زجاجية معقمة حاوية على وسطNutrient broth، وحضنت في 37°م لإكثار الأعداد البكتيرية وتكوين العالق البكتيري.

هـ - تحضير العالق البكتيري وتراكيز المستخلص:

اخذ 1 مليلتر من العالق البكتيري ولكل من العزلات البكتيرية المعزولة *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa,* ، ووضع في دورق زجاجي معقم سعة 100 مليلتر حاوي على تراكيز مختلفة من مستخلص الطحالب (0.25، 0.50، 0.75، 1 ملغم/لتر) المحضرة من التركيز الأساسي بواسطة طريقة التخافيف ثم أكمل الحجم إلى 100 مليلتر بمياه الصرف الصحي المعقمة وبواقع ثلاث مكررات لكل عزلة بكتيرية إضافة إلى معاملة السيطرة الخالي من مستخلص الطحالب، وحضنت الدوارق في 37°م، ولفترة 72 ساعة[7].

و- حساب العدد الكلي للبكتريا **TBC**:

أضيف واحد مليلتر من عينة الصرف الصحي غير المعقمة للتراكيز المحضرة أعلاه والمخففة، وصبت في أطباق زجاجية معقمة، وبحجم 20 مل لكل طبق بالوسط Nutrient agar، حضنت الأطباق لمدة 24 ساعة بحرارة 37°م بعدها حسب العدد الكلي للبكتريا باستخدام المعادلة الآتية وحسب طريقة[8].

العدد الكلي للبكتريا **TBC** = عدد المستعمرات البكتيرية في الطبق الواحد × معكوس التخفيف.

ز-حساب عدد الخلايا البكترية:

حسبت أعداد الخلايا البكتيرية في 1 مليلتر من العالق البكتيري باستخدام طريقة Hemocytometer (counting chamber) بعد 24، 48، 72 ساعة من المعاملة باستخدام المعادلة:

عدد البكتيريا (خلية/مليلتر) = عدد الخلايا في
4 مربعات × 10
نسبة الخفض = A/B– A × 100 حيث
A = عدد البكتريا قبل المعاملة.
B = عدد البكتريا بعد المعاملة.

ح- التحليل الإحصائي للبيانات:

تم استخدام تحليل التباين (ANOVA) للنتائج لمعرفة معنوية تأثير المعاملات المختلفة، واختبرت معنوية الفروق بين المعاملات بمقارنتها مع معاملة السيطرة (الضابطة) باستخدام اختبار دنكن multiple range test Duncan's [10].

النتائج والمناقشة:

1- اختبار كفاءة مستخلص طحلب ***Nostoc linkia*** في خفض البكتريا ***Escherichia coli***:

انخفضت أعداد بكتريا *Escherichia coli* المعاملة بتراكيز مختلفة من مستخلص طحلب *Nostoc linkia* (0.25، 0.50، 0.75، 1 ملغم/لتر)، وخلال ثلاثة أيام من المعاملة حيث يبين الجدول (1) أن تركيز 1 ملغم/لتر كان أكثر التراكيز تأثيراً على أعداد خلايا البكتريا حيث انخفضت من 463 خلية/مليلتر إلى 14، 46، 5 خلية/مليلتر بعد 24، 48، 72 ساعة على التوالي من المعاملة، يلي ذلك التركيز 0.75 ملغم/لتر حيث انخفضت الخلايا البكتيرية من 388 خلية/مليلتر إلى 150، 113، 80 خلية/مليلتر بعد 24، 48، 72 ساعة على التوالي، أما تركيز 0.5 ملغم/لتر فقد سجل انخفاض في عدد الخلايا من 406 خلية/مليلتر إلى 218، 194، 178 خلية/مليلتر بعد 24، 48، 72 ساعة على التوالي، وتركيز 0.25 ملغم/لتر كان أقل التراكيز تأثيراً حيث انخفض عدد الخلايا من 453 خلية/مليلتر إلى 300، 225، 215 خلية/مليلتر بعد 24، 48، 72 ساعة على التوالي. بلغت أعلى نسبة إزالة لتركيز 1 ملغم/لتر 75.3% بعد 24 ساعة من المعاملة، وأقل نسبة إزالة سجلها التركيز 0.25 ملغم/لتر حيث بلغت 33.73، 50.3، 52.5% بعد 24، 48، 72 ساعة على التوالي الشكل (1).

وتشير التحليلات الإحصائية بعدم وجود فروق معنوية في أعداد البكتريا قبل وبعد المعاملة بالتركيزين 0.25، 0.5 ملغم/لتر من مستخلص طحلب *Nostoc linkia*، في حين سجل التركيزان الأخيران 0.75، 1 ملغم/لتر من مستخلص الطحلب فروق عالية المعنوية (P<0.01) في أعداد البكتريا عند مقارنتها مع السيطرة. وانخفضت أعداد بكتريا *Escherichia coli* المعاملة بتراكيز المستخلص الكحولي 0.75، 1 ملغم/لتر بنسبة إزالة بلغت 70.8%، 90% على التوالي بعد 48 من بدء التجربة للمياه الملوثة. كذلك خفضت البكتريا إلى 98.9% بعد 72 ساعة لتركيز 1 ملغم/لتر، يعزى التأثير التثبيطي لإعداد البكتريا إلى تأثير الأحماض الدهنية المتواجدة في مستخلص الطحلب الذي يسبب امتزاز على سطح الخلية البكتيرية وتغيرات في جدار الخلية البكتيرية مما يؤدي إلى تحلل نهائي للخلية البكتيرية[20]، في خفض بكتريا *Bacillus subtilis* براشح طحلب *Oscillatoria* sp بتركيز 1 ملغم/مليلتر بقطر تثبيط مقداره 12 ملم، وبنسبة إزالة 85% بعد 24 ساعة من بدء التجربة، كما أكد[12] أن للمستخلص الكحولي فعالية تثبيطية في كل من البكتريا *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus*. ويطابق دراسة[13] بخفض بكتريا *Escherichia coli* بنسبة إزالة 60%، 75%، 95% خلال 24، 48، 72 ساعة بمستخلص طحلب *Aphanocapsa* sp لعينة مياه الصرف الصحي، كما ينتج طحلب *Fischerella ambigna* مواداً خارج خلوية تتضمن البروتينات والدهون والأحماض العضوية والأحماض الدهنية التي تؤثر على البكتريا

Pseudomonas aeruginosa و *Staphylococcus aureus* و *E.coli* و *Salmonella typhi*.

2– اختبار كفاءة مستخلص طحلب ***Nostoc linkia*** في خفض البكتريا ***Pseudomonas aeruginosa***

يوضح جدول (2) خفض أعداد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* المعاملة بتراكيز مختلفة (0.25، 0.50، 0.75، 1 ملغم/لتر) من مستخلص طحلب *Nostoc linkia* الكحولي.

انخفضت أعداد خلايا بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* بعد 24 ساعة من معاملتها بتراكيز المستخلص الكحولي (0.25، 0.5، 0.75، 1 ملغم/لتر) للـ *Nostoc linkia* إلى 314، 226، 158، 100 خلية/مليلتر على التوالي، مقارنة بعدد الخلايا البكتيرية قبل المعاملة 320 خلية/مليلتر، واستمر انخفاض الخلايا البكتيرية إلى 289، 211، 106، 46 خلية/مليلتر بعد 48 ساعة، وبعد 72 ساعة وصلت أعداد الخلايا البكتيرية إلى 255، 192، 93، 21 خلية/مليلتر، أظهر المستخلص الكحولي لطحلب *Nostoc linkia* كفاءة في خفض أعداد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* وبنسب خفض 58.2%، 74.7% بعد 24 ساعة من معاملتها بالتركيزين 0.75، 1 ملغم/لتر، وبنسبة 94.6% لتركيز 1 ملغم/لتر بعد 72 ساعة من بدء التجربة الشكل (2). أظهرت التراكيز المرتفعة من المستخلص وجود فروق عالية المعنوية ($P<0.01$) لأيام المعاملة عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة.

يعود قدرة الطحالب على خفض الأعداد البكتيرية إلى تأثير الأحماض الدهنية على نمو الأحياء المجهرية، التي لها القدرة على تغيير نفاذية الخلية وتتفاعل الأحماض الدهنية مع بروتينات الغشاء مسببة تشوهاً في تركيب وفعالية الغشاء[14]. تتوافق هذه الدراسة مع دراسة[15] حيث بينت الدراسة إزالة بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* بمستخلص طحلب *Sargassum vulgare* بعد 48 ساعة من المعاملة وبنسبة إزالة 66.5%. يرجع هذا لاحتواء المستخلص الطحلبي على الأحماض الدهنية المسببة لتثبيط عملية اخذ الأوكسجين، وبالتالي تقليل أنتاج مركبات الطاقة ATP، ومن ثم موت الخلية فضلا عن تثبيط تصنيع البروتين والأحماض النووية التي تحتاجها الخلية بصورة أساسية أو تثبيط تصنيع الغشاء البلازمي. كما تطابقت الدراسة مع الدراسة التي أجراها[16] بالمزرعة السائلة لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa*، وبإزالة مقدارها 38.6% بعد 24 ساعة من بدء التجربة بتركيز 0.5 ملغم/لتر من مستخلص كحولي للطحلب الأخضر المزرق *Lyngbya majuscula* و*Spirulina platensis* لاحتواء الأخير على 62% حامض Oleic، 91% حامض Linoleic، 75% حامض Linolenic من وزنها الجاف. حيث تعمل هذه الأحماض تأثيراً تضادياً تجاه البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام، وضد الفطر *Candida albicans* [17]. تعود كفاءة مستخلص طحلب *Nostoc linkia* في خفض أعداد البكتريا يعود لاحتوائه على حامض 2,4-dichlorophyen-oxyacetic acid الذي يعمل مع أنزيم النتروجنيز المتواجد في الحويصلة المغايرة للطحلب في إذابة الجدار الخارجي للبكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام حيث يحتوي الحامض على سلسلة طويلة من الكربون مما مكنه من السيطرة على تثبيط خلايا البكتريا كذلك له القدرة على السيطرة في نمو الطحالب بحالة غياب النتروجين في المحيط البيئي[18].

3- اختبار كفاءة مستخلص طحلب ***Chara* sp** في خفض بكتريا ***Escherichia coli***:

يوضح الجدول (3) معاملة بكتريا *Escherichia coli* بتراكيز مختلفة (0.25، 0.50، 0.75، 1 ملغم/لتر) من مستخلص طحلب *Chara* sp حيث انخفضت أعدادها من 440 خلية/مليلتر إلى 303، 246، 210، 186 خلية/مليلتر بعد 24 ساعة على التوالي كذلك تواصل انخفاض أعداد الخلايا البكتيرية إلى 286، 166، 143، 120 خلية/مليلتر على التوالي بعد 48 ساعة من المعاملة بنفس المستخلص، واستمر الانخفاض للخلايا، ولمدة 72 ساعة ليصل إلى 271، 110، 88، 84 خلية/مليلتر على

التوالي. سجلت جميع التراكيز فروق معنوية وعالية المعنوية في أعداد الخلايا البكتيرية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة ولأيام المعاملة 24، 48، 72 ساعة.

يوضح الشكل (3) نسب الإزالة اليومية للبكتريا حيث بلغت 57.5%، 63.6% لتركيزي 0.75، 1 ملغم/لتر على التوالي بعد 24 ساعة من بدء التجربة، وبعد 48 ساعة من المعاملة استمر انخفاض عدد البكتريا حيث كانت نسب الإزالة اليومية لها 60.2%، 71.1%، 76.5% للتراكيز 0.50، 0.75، 1 ملغم/لتر من مستخلص طحلب *Chara* sp على التوالي، كذلك خفض مستخلص طحلب *Chara* sp للتراكيز 0.5، 0.75، 1 ملغم/لتر البكتريا بعد 72 ساعة بنسب إزالة مقدارها 73.6%، 83.8%، 87% على التوالي.

أكدت دراسة[19] انخفاض بكتريا *Escherichia coli* بتركيز 2 ملغم/لتر من مستخلص طحلب *Cladophare* بنسبة إزالة مقدارها 56% بعد 48 ساعة من الدراسة. بينت دراسة[20] قدرة مستخلص الطحلب *Spyridia filamentosa* (1.5 ملغم/لتر) على خفض عدد بكتريا *Escherichia coli* من المزرعة السائلة، وبنسبة إزالة مقدارها 90% بعد 72 ساعة. يعود قدرة الطحالب على خفض البكتريا من خلال مواد عديدة تفرزها كالـ Terpenoids و Amino acids و Phenolic compounds و Ketones و Fatty acids و Phlorotannins والتي تكون ذات تأثير مثبط وقاتل للبكتريا *Escherichia coli* [21].

4– اختبار كفاءة مستخلص طحلب ***Chara*** **sp** في خفض البكتريا ***Pseudomonas aeruginosa*** :

يوضح الجدول (4) انخفاض أعداد الخلايا البكتيرية بمستخلص *Chara* sp الكحولي وبتراكيز (0.25، 0.50، 0.75، 1 ملغم/لتر) حيث انخفضت أعداد البكتريا من 387 خلية/مليلتر قبل المعاملة إلى 290، 246، 206، 136 خلية/مليلتر على التوالي بعد 24 ساعة من التجربة وبعد 48 ساعة وصل الانخفاض إلى 283، 170، 150، 100 خلية/مليلتر على التوالي، في حين وصل الانخفاض للأعداد البكتيرية بعد 72 ساعة من التجربة إلى 276، 126، 110، 63 خلية/مليلتر على التوالي مع وجود فروق معنوية لتركيز 0.50، 0.75، 1 ملغم/لتر بين السيطرة ويومي المعاملة 24، 48 ساعة، كذلك وجود فروق معنوية بين تركيز 0.25 ملغم/لتر ليوم المعاملة بعد 72 ساعة، وبقية التراكيز عند 24، 48 ساعة من المعاملة. ويبين الشكل (4) انخفاض أعداد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* بمستخلص طحلب *Chara* sp الكحولي وبتركيزي 0.75، 1 ملغم/لتر بعد 24 ساعة بنسب إزالة 43.7%، 72% على التوالي، وبعد 48 ساعة انخفضت الأعداد البكتيرية أعلاه إلى 56.7%، 59%، 79.4% بتركيز 0.50، 0.75، 1 ملغم/لتر على التوالي، واستمر الانخفاض للبكتريا عند معاملتها بمستخلص طحلب *Chara* sp، وبعد 72 ساعة من المعاملة وبنسب إزالة بلغت 67.9%، 69.9%، 87% لتراكيز 0.5، 0.75، 1 ملغم/لتر على التوالي. وهذا يطابق دراسة[22] بإزالة بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* بنسبة 69.8% خلال 48 ساعة بتركيز 1.5 ملغم/لتر من مستخلص طحلب *Sctospiphon lomentaria* الكحولي.

وبدراسة[23] خفضت البكتريا بمستخلص طحلب *Chlorella minutissima* بنسبة إزالة 99.9% بعد 24 ساعة بتركيز 100 ملغم/لتر من المستخلص يعود هذا الانخفاض إلى احتواء المستخلص على مادة Chlorine، والتي تسبب إذابة الجدار الخارجي للخلية البكتيرية وخروج المادة الحية. كذلك خفض مستخلص الطحلب الأخير وبتركيز 0.4 ملغم/لتر خلال 24 ساعة 35% من أعداد البكتريا. تتطابق هذه الدراسة مع دراسة[24] باستخدام المستخلص الكحولي لطحلب *Schizochytrium limacinum* وبتركيز 0.9 ملغم/لتر في خفض بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*، وبنسبة إزالة بلغت 43%، خلال 48 ساعة ويعود هذا لاحتواء المستخلص على ثلاثة أحماض دهنية.

5- تأثير مستخلص طحلب طحلب ***Nostoc linkia*** على العدد الكلي للبكتريا:

انخفض العدد الكلي للبكتريا من مياه الصرف الصحي بمستخلص طحلب *Nostoc linkia* بتراكيز 0.52، 0.50، 0.75، 1 ملغم/لتر، إذ وصل عدد الخلايا البكتيرية إلى (520، 485، 374، 63) ×10^7 مستعمرة/مليلتر على التوالي بعد 24 ساعة من المعاملة، ويوضح الشكل (5) ذلك مقارنة بقبل المعاملة الذي وصلت عدد البكتريا فيه بعد 24 ساعة إلى 2874 ×10^7 مستعمرة/مليلتر، انخفضت أعداد البكتريا الكلي بعد 24 ساعة من التجربة بتركيز 1 ملغم/لتر كنسبة إزالة يومية إلى 90.8%. تطابق هذه الدراسة مع الدراسة التي أجراها[25] بمعالجة بركة السباحة الملوثة بالبكتيرياً بكثافة مقدارها 10^8 خلية/مليلتر بمادة Chlorine المستخلصة من طحلب *Chlorella pyrenoidosa* بتركيز 0.5 ملغم/لتر مع تركيز 0.4 ملغم/لتر من مادة NH^{-4} N^{+2} بزمن يتراوح بين 40−55 دقيقة. خفض مستخلص طحلب *Nostoc linkia* البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام، كما أكدت ذالك دراسة[26] بخفض العدد الكلي للبكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام بمستخلص كحولي للطحالب البحرية.

6– تأثير مستخلص طحلب ***Chara* sp** على العدد الكلي للبكتريا:

يوضح الشكل (6) خفض العدد الكلي للبكتريا في عينة مياه الصرف الصحي بمستخلص طحلب *Chara* sp الكحولي بتراكيزه المختلفة 0.25، 0.5، 0.75، 1 ملغم/لتر إلى (633، 540، 471، 374) ×10^7 مستعمرة/مليلتر على التوالي بعد 24 ساعة من بدء المعاملة مقارنة بقبل المعاملة 2136 × 10^7 مستعمرة/مليلتر، كانت نسبة إزالة البكتيرية 82.4% عند معاملتها بتركيز 1 ملغم/لترمن مستخلص طحلب *Chara* sp بعد 24 ساعة من التجربة، كما أستطاع مستخلص الطحلب الأخضر *Chlorella minutissima* بإزالة 15% من العدد الكلي للبكتريا لعينه مياه الصرف الصحي بعد ساعة من بدء التجربة، لاحتواء المستخلص على نسبة عالية من حامض Palmitic [16]. كما أشار[22] بدراسته خفض العدد الكلي للبكتريا بمستخلص طحلب البني *Scytospiphon lomentaria* وخلال 24 ساعة وبنسبة إزالة مقدارها 69.8%.

الاستنتاجات:

1- خفض الأعداد البكتيرية بمستخلص طحلب *Nostoc linkia* أسرع وأفضل من مستخلص طحلب sp *Chara*.

2- أثبتت الدراسة خفض عدد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* بمستخلص طحلب sp *Chara* بعد 72 ساعة بنسبة إزالة مقدارها 87% بتركيز 1 ملغم/لتر.

المراجـــــــــع:

1-Cervenka, L.; Peskova, I.; Foltynova, E.; Pejchalova, M.; Brozkova, I. and Vytrasova, J. (2006): Inhibitory effect of some spices and herbs extracts against *Aerobacter butzleri, A. cryaerophilus* and *A. akirrowii.* Current microbial. 53: 435-439.

2-Kim, P.; Dong, J. and Lee, C. G. (2006): Influence of extracellular products from H. P. on growth and bacteriocin production by three species of Lactobacillus. Microbiol. Biotechnol. 16(6): 849-854.

3-Naviner, M.; Berge, J. B.; Durand, P. and Le Bris, H. (1999): Antibacteril activity of the marine diatom *Skeletonema costatum* against aquacultural Pathogens. Aquaculture. 174: 15-24.

4- Eppley, R.W. (1977): The growth and culture of diatoms. In: The Biology of Diatoms (ed. by Werner, D.) Botanical Monographs. Univ. Calif. Press, Berkeley, pp. 25-65.

5-APHA (2005): Standard method for the examination of water and wastewater, 20th ed. American public Health Association, American water works Association and water pollution control federal, Washington, D.C.

6-Prescott, L. M.; Harly, J. P. and Klien, D. A. (2002): Microbiological. 5th ed- London. MC Graw Hill companies.

7-Motamedi, H.; Safary, A.; Maleki S. and Seyyednejad, S. M. (2009): Ziziphus spina-christi, a native plant from Khuzestan, Iran, as a potential source for discovery new antimicrobial agents. Asian J. Plant Sci., 8: 187-190.

8-الحديثي،هديل توفيق (1983): أساسيات علم البكتريا، كلية العلوم- جامعة البصرة، مطبعة جامعة البصرة. ص53.

9-Dahiru, D. and Obidoa, O. (2007): Pretreatment of albino rats with aqueous leaf extract of ziziphus mouritiana protect against alcohol-induced liver damage. Nigeria. Journal of pharmacentical research. 6 (2): 705-710.

10- العقيلي، صالح رشيد والشايب، محمد سامر (1998): استخدام البرنامج الإحصائي spps. مطبوعات جامعة بغداد. دار الشرق للطباعة. صفحة 358.

11- صادق، إيمان محمد (2009): تقييم فعالية منتجات بعض الطحالب الخارج خلوية Extracellular Products ضد الأحياء المجهرية الممرضة - رسالة ماجستير- كلية العلوم للبنات- قسم علوم الحياة - بيئة - جامعة بغداد.

12- الزبيدي، لبيب أحمد كاظم (2005): الفعالية التثبيطية لمستخلصات نبات القرفة (الدارسين) ضد بعض الأحياء الدقيقة لاستخدامها في حفظ اللحم المفروم - رسالة ماجستير - معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الإحيائية للدراسات العليا - جامعة بغداد

13-Shyam Kumar1, R. Thajuddin, N. and Venkateswari, C. (2010): Antibacterial activity of cyanolichen and symbiotic cyanobacteria against some selected

20-Taskin, E.; Caki, Z. and Oztukand, M. (2010): Assessment of in vitro antitumoral and antimicrobial activities of marine algae harvested from the eastern mediterranean Sea. African journal of Bi; Gomez G. A.; Lavelli, L. and Ribera, M. A. (2007): Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. Sci. Mar. 71: 101-113.

21-Xu, N.; Fan, X.; Yan, X. and Tseng, C.K. (2004): Screening marine algae from China for their antitumor activities. J. Appl. Phycol. 16: 451-456.

22-Dobrestsor, S.V. and P.Y. Qian, (2002): Effect of bacteria associated with the green alga Ulva reticulate on marine micro- and macrofouling. Biofoulin g. 18: 802-806.

23-1Zhiyou, W. (2008): Use of Biodiesel-Derived Crude Glycerol for the Production of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids by the Microalga *Schizochytrium limacinum*. Master of Science In Biological Systems Engineering.

24-Patra, J. K.; Rath, S. K.; JENA, K.; Rathod, V. K. and Thatoi, H. (2008): Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of Seaweed (Sargassum sp.) Extract: A Study on Inhibition of Glutathione-S-Transferase Activity. Turk J Biol. 32: 119-125

25-Abd- Elnaby, H. (2010): Bacteria–Algae lnteraction in Abu-Qir marine Ecosystem and Some Applied Aspects of Algae Extracts. Journal of Appilied Sciences Research. 6(4): 345-357.

microorganisms. African Journal of Microbiology Research. 4(13): 1408-1411.

14-Mundt, S.: Kreitlow, S. and Jansen, R. (2003): Fatty acids with antibacterial activity from the cyanobacterium Oscillatoria redekei HUB 051. J. Appl. Phycol. 15: 263-267.

15-Abd El Mageid, M. M.; Salama, N. A.; Saleh, M. A. M. and Abo Taleb, H. M. (2009): Antioxidant and antimicrobial characteristics of red and brown algae extracts. Conference on Recent Technologies in Agriculture.

16-Deepa K.; Shaneen, M. and Singh J. (2006): Modulation of unsaturated fatty acids content in algae *Spirulina platensis* and *Chlorella minutissima* in response to herbicide SAN 9785. Electronic Journal of Biotechnology ISSN. 9(4): 0717-3458 by Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

17.Katircioglu, H.; Beyatli, Y.; Aslim, B.; Yükse kdag, Z. and Atici, T. (2006): Screening for Antimicrobial Agent Production of Some Microalgae in Freshwater. The Internet J. of Microbiology Volume 2, Number 2.

18-Tiwari, D. N. Pandey, A. K. and Mshra, A. K. (2007): Action of 2,4-dichlorophen-oxyacetic acid and rifampicin on heterocyst differentiation in the blue-green alga, *Nostoc linckia. J. Biosci.* 3(1): 33-39.

19-Whitman, R. L.; Shively, D. A.; Pawlik, H.; Nevers, M. B. and Byappanahalli, M. N. (2003): Occurrence of *Escherichia coli* and Enterococci in *Cladophora* (Chlorophyta) in Nearshore Water and Beach Sand of Lake Michigan. Applied and Environmental Microbiology. 69(8): 4714-4719.

Ass. Univ. Bull. Environ. Res. Vol. 14 No. 1, March 2011

TREATMENT OF INDUSTRIAL WASTE WATER FROM BACTERIAL CONTAMINATION BY USING ETHANOLIC ALGAE EXTRACT

Ahmed Aidan Al-Hussieny; Zena M. Mahdi; Inaam, N. Ali and Athraa abed Alsada

Center or Department Water research and Directorate of water Treatment Technology and Ministry of Science & Technology

The effect of the ethanolic extract of two algae *Nostoc linkia* and *Chara* sp has been tested on the growth of bacteria *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* which was isolated from contaminated water under laboratory conditions of 37°C and treatment period of 72 hour for two algae. The extract of *Nostoc linkia* showed high efficiency in reducing the bacterial number at concentration 1 mg/l at removal rates 98.9% for *Escherichia coli* and 94.6% for *Pseudomonas aeruginosa*. Algaeal extract of *Chara* sp at concentration 1 mg/l *caused* a reduction in bacterial numbers at a removal rate of 87% for *Escherichia coli* and 87% for *Pseudomonas aeruginosa* with a significant differences at concentrations of 0.75 and 1 mg/l for two algael extract. Total bacterial number is reduced by concentration of 1 mg/l for two algael extract *Nostoc linkia* and *Chara* sp. at removal rates 90.8% and 82.4 respectively after 24 hour of treatment.