دراسة تأثير بعض المبيدات الحيوية Nalco-7330 على فعالية الجراثيم المختزلة للكبريت Sulfate Reducing Bacteria مختبرياً

وجدان حسين عبدالصاحب التميمي
كلية العلوم- قسم علوم الحياة- جامعة البصرة- البصرة العراق

الخلاصة

تتضمن الدراسة الحالية عزل مزارع خليطة من الجراثيم المختزلة للكبريت من انظمة تبريد الشركة العامة للأسمدة الكيماوية الجنوبية ودراسة تأثير المبيدين (Nalco-7330 وEx – BR – STA) المستخدمين من قبل شركة الأسمدة الكيمياوية والمبيد الحيوي (Spectrus–Nx110) المجهز من الشركة نفسها والمبيد الحيوي(Chlorhexidine gluconate) المحضر مختبرياً على تلك المزارع اذ شملت الدراسة تاثيرتلك المبيدات على الجراثيم المختزلة للكبريت الهائمة والملتصقة (Sessile and planktonic bacteria). أظهرت الدراسة الحالية ان استخدام المبيدين (Nalco- 7330 و Ex – BR – STA) بالتراكيز (10-50) جزء من مليون أنهما غير مؤثران على نمو وفعالية الجراثيم الهائمة والملتصقة حتى بزيادة التركيز الى (100-500) جزء من مليون بينما أظهر المبيد الحيوي (Chlorhexidine gluconate) تأثيراً واضحاً عند تركيز (20) جزء من مليون للجراثيم الهائمة و (25) جزء من مليون للجراثيم الملتصقة في حين أظهر المبيد الحيوي (Spectrus – Nx1104) تأثيراً أعلى من بقية المبيدات الحيوية على الجراثيم المختزلة للكبريت الهائمة عند التركيز (15) جزء من مليون و (20) جزء من مليون للجراثيم الملتصقة.

المقدمة

ان الفعل غير المرئي للإحياء المجهرية الموجودة في المياه يمكن ان يؤدي الى خسائر اقتصادية كبيرة إذ أن المياه تحتوي على انواع مختلفة من الجراثيم Microflora الهوائية واللاهوائية اختيارية والإجبارية، وعادة ما تتعرض المنشآت الصناعية لمخاطر تلك الجراثيم وخصوصاً الجراثيم المختزلة للكبريت Sulfate Reducing Bacteria (SRB) المسببة لتآكل المعادن، إذ أنها تؤكسد المواد العضوية عن طريق اختزال الكبريتات (Dowling و Guezennec، 1997). تميل جراثيم المياه غالباً الى الالتصاق على السطوح، أي أنها تكون جالسة Sessile وتعيش ضمن طبقة من مادة متعددة السكريات غير الأيونية يطلق عليها Glycocalyx تكون على شكل غلاف مخاطي Slime coating يطلق عليه الغشاء الاحيائي Biofilm. أن الاستهلاك السريع للأوكسجين من قبل الجراثيم متباينة التغذية يمكن ان يوفر الظروف اللاهوائية

الملائمة لنمو الجراثيم المختزلة للكبريت (SRB) وبالتالي حصول عملية التآكل الميكروبي (Battersby وجماعته، 1985) و(Sanders،1998).

من الضروري جداً معاملة المياه المستخدمة في الصناعات وخاصة الكيميائية منها للقضاء على نمو الجراثيم عموماً والمختزلة للكبريت خصوصاً، وعادة ما تتبع الطرق الفيزيائية والكيميائية للسيطرة عليها، إلا أنها تكون محدودة لذا فان المبيدات تعد من أهم الطرق المستخدمة للسيطرة على فعالية الأحياء المجهرية في تلك الأنظمة (Mcinerney و Sublette ، 1997)، توجد أنواع عديدة من المبيدات الحيوية بعضها عضوية والأخرى غير عضوية تستخدم للقضاء على الإحياء المجهرية فمثلاً تستخدم شركة الأسمدة الكيمياوية الجنوبية المبيدين(Nalco- 7330 و STA – BR – Ex) في معالجة الجراثيم في مياه تبريد المبادلات الحرارية الحاوية على تنوع جرثومي كبير (التميمي، 2001)، وعلى الرغم من استخدام هذين المبيدين إلا ان مشاكل التآكل لا زالت قائمة لذا كان الهدف أجراء من هذه الدراسة على المبيدين أعلاه وكذلك المبيد الحيوي (Spectrus – Nx 1140) المجهز من قبل نفس الشركة والمبيد الحيوي (Chlorhexidine glucondate) المحضر مختبرياً لاختبار فعاليتها على الجراثيم المختزلة للكبريت مختبرياً.

المواد وطرائق العمل

1. جمع العينات

تم جمع العينات بأخذ (500) مل من الماء بقناني بلاستيكية نظيفة ومعقمة ملئت عن طريق الصنابير الموجودة في كل محطة، جمعت من أربع محطات لأنظمة تبريد الشركة العامة للأسمدة الكيمياوية الجنوبية في محافظة البصرة تضمنت المياه الداخلة والخارجة من برج التبريد رقم(1) و المياه الداخلة والخارجة من برج التبريد رقم(2).وبواقع ثلاث مكررات لكل موقع .

2. عزل الجراثيم المختزلة للكبريت

تم الحصول على مزارع خليطة بزرع (1) مل من العينة باستخدام وسط (API) السائل (API ,1975) المدعم بالعوامل المختزلة للأوكسجين (Sodium dithionate و L- Systein وAscorbic acid) في قناني زجاجية اغلقت بإحكام واحيط الغطاء بشريط من شمع البرافين وحضنت بالحاضنة الاعتيادية بدرجة حرارة (32)°م لمدة سبعة ايام وقد تم تحديد النمو بتحول لون الوسط إلى الاسود.

3. المبيدات الحيوية

جهزت المبيدات Nalco- 7330 و BR – Ex – STA و Spectrus Nx 1104 من قبل شركة الأسمدة الكيمياوية الجنوبية على شكل مواد سائلة بينما تم تحضير المبيد الحيوي الأخيرChlorhexidinegluconate مختبرياً في كلية العلوم قسم الكيمياء مختبر ابحاث الكيمياءالصناعية وحضر بمزج اوزان مكافئة من Hexamethylen bis-dicyandiamide و p-Chloroaniline hydrochloride وصعد المزيج ارجاعيا (Refluxing) في مذيب 2-Ethoxyethanol في درجة حرارة (135)° لمدة ساعتين (Rose وSwain،1956) بعدها تم معادلة المحلول القاعدي بواسطة إضافة حامضD-gluconic acid.

4. اختبار فعالية المبيدات الحيوية تجاه نمو الجراثيم المختزلة للكبريت الهائمة في وسط API

تم تحضير محاليل أساسية Stock solution بتركيز 1000 جزء من مليون من المبيدات الحيوية المستخدمة ومنه حضرت التراكيز (10، 15، 20، 25، 30، 35، 40، 45، 50) جزء من مليون، بإضافتها إلى وسط API السائل (API، 1975) في دوارق زجاجية سعة (250)مل ولقحت الأوساط بـ (3) مل من مزرعة خليطة منشطة من الجراثيم المختزلة للكبريت عزلت من مياه ابراج تبريد الشركة العامة للأسمدة

الكيمياوية الجنوبية وملئت الدوارقً بالوسط ازرعي تماماً واغلق باحكام واحيط الغطاء بشريط من شمع البرافين وحضنت الدوارق بدرجة حرارة (32)°م لمدة (7) أيام بالحاضنة الاعتيادية (Haterent، وجماعته، 1992) وقد استخدمت التراكيز (100، 200، 300، 400، 500) جزء من مليون مع المبيدين (Nalco- 7330 و ST – BR – Ex) وحظرت عينات سيطرة لمقارنت النتائج .

5. اختبار فعالية المبيدات الحيوية تجاه نمو الجراثيم المختزلة للكبريت الملتصقة على سطح المعدن:- (Haterent، وجماعته، 1992)

5. 1. تكوين الغشاء الاحيائي Biofilm:-

لتكوين الغشاء الاحيائي وضعت العينات المعدنية (الحديد المطاوع) في دوارق زجاجية سعة (250) مل حاوية على وسط (API) السائل ولقحت بـ(3) مل من مزرعة خليطة منشطة من الجراثيم المختزلة للكبريت وحضنت بدرجة حرارة (32) مْ بالحاضنة الأعتيادية لمدة اسبوع وهي المدة الكافية لتكوين الغشاء الاحيائي على سطح المعدن.

2.5 اختبار فعالية المبيدات الحيوية على نمو الجراثيم المختزلة للكبريت ضمن الغشاء الاحيائي

لاختبار فعالية المبيدات الحيوية على نمو الجراثيم المختزلة للكبريت ضمن طبقة الغشاء الاحيائي استخرجت العينات المعدنية المتكون فوقها الغشاء الاحيائي من الدوارق بعد أن حضنت لمدة أسبوع ثم وضعت في دوارق زجاجية حاوية على وسط (API) السائل وأضيفت تراكيز المبيدات الحيوية (10-50) جزء من مليون لكل مبيد على حدة و (10-500) جزء من مليون للمبيدين (Naclo-7330) و (STA-BR-Ex) ثم حضنت بدرجة حرارة (32)°م لمدة 24 ساعة وحضرت عينات سيطرة لمقارنة النتائج.

النتائج

1. عزل الجراثيم المختزلة للكبريت

أظهرت طريقة العزل باستخدام وسط (API) المدعم بالعوامل المختزلة للأوكسجين كفاءة عالية في عزل الجراثيم المختزلة للكبريت، إذ ظهر اللون الأسود الدال على النمو في فترة أسبوع واحد.

2. فعالية المبيدات الحيوية تجاه نمو الجراثيم المختزلة للكبريت الهائمة في وشط API

أظهرت نتائج اختبار فعالية المبيدات الحيوية تجاه نمو الجراثيم المختزلة للكبريت الهائمة في الوسط عدم وجود أي تأثير للمبيدين الحيويين (Nalco -7330) و (STA-BR-Ex) على الجراثيم المختزلة للكبريت الهائمة في الوسط وبتراكيز من (10-500) جزء من مليون وذلك بضهور اللون الأسود الدال على نمو الجراثيم بينما أظهر المبيد الحيوي Chlorhexidin gluconate فعالية على نمو الجراثيم الهائمة عند التركيز (20) جزء من مليون في حين أظهر المبيد الحيوي (Spectrus –NX 1104) تأثير أعلى من بقية المبيدات الحيوية عند التركيز (15) جزء من مليون وكما مبين في الجدول (1) و (2).

3. فعالية المبيدات الحيوية تجاه الجراثيم المختزلة للكبريت الملتصقة على سطح المعدن

بينت نتائج هذا الاختبار عدم وجود أي تأثير للمبيدين (Nalco-7330) و(STA-BR-E) على الجراثيم المختزلة للكبريت الملتصقة على سطح المعدن عند تركيز (10-500) جزء من مليون في حين أظهر المبيد الحيوي (Chlorhexidin gluconate) تأثير عند التراكيز (25) جزء من مليون أما المبيد الحيوي (Spectrus–Nx1104) فقد أظهر تأثير عند التركيز (20) جزء من مليون وكما مبين في جدول (3).

جدول (1) تأثير المبيدات الحيوية على نمو الجراثيم المختزلة للكبريت الهائمة في وسط API

المبيد الحيوي	تراكيز المبيدات الحيوية PPM							MBC
	10	15	20	25	30	40	50	
Nalco- 7330	+	+	+	+	+	+	+	
Control	+	+	+	+	+	+	+	
SRA-BR-Ex	+	+	+	+	+	+	+	
Control	+	+	+	+	+	+	+	
Chlorhexidine gluconate	+	+	–	–	–	–	–	20
Control	+	+	+	+	+	+	+	
Spectrus- NX 1104	+	–	–	–	–	–	–	15
Control	+	+	+	+	+	+	+	

MBC Minimum Bacteriocide Concentration
\+ ظهور نمو Sulfate Reducing Bacteria
_ عدم ظهور نمو Sulfate Reducing Bacteria

جدول (2) تأثير المبيدين NalCo 7330 و STA-BR-EX على نمو الجراثيم المختزلة للكبريت الهائمة في وسط API

المبيد الحيوي	تراكيز المبيدات الحيوية PPM						MBC
	50	100	200	300	400	500	
Nalco- 7330	+	+	+	+	+	+	>500
Control	+	+	+	+	+	+	
STA-BR-Ex	+	+	+	+	+	+	>500
Control	+	+	+	+	+	+	

جدول (3) تأثير المبيدات الحيوية على نمو الجراثيم المختزلة للكبريت الملتصقة على سطح المعدن

المبيد الحيوي	تراكيز المبيدات الحيوية PPM									MBC
	10	20	25	50	100	200	300	400	500	
Nalco -7330	+	+	+	+	+	+	+	+	+	> 500
Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
SRA-BR-Ex	+	+	+	+	+	+	+	+	+	> 500
Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Chlorhexidine gluconate	+	+	–	–	–	–	–	–	–	25
Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Spectrus- NX 1104	+	–	–	–	–	–	–	–	–	20
Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

المناقشة

اظهرت نتائج عزل الجراثيم المختزلة للكبريت ظهور النمو خلال اسبوع واحد وقد درس تاثير المبيدات الحيوية على المزارع الخليطة وليس النقية لان انظمة التبريد تحتوي على تنوع جرثومي كبير اذ تم عزل عدة انواع منها (التميمي، 2001) وان تواجد هذه الجراثيم يعيق استخدام المبيدات الحيوية نظرا لانها تكون الغشاء لاحيائي كما إن دراسة تأثير المبيدات على المزارع النقية يكون غير مجدي وقد اجريت هذه الدراسة لمعرفة مدى فعالية المبيد الحيوي على الجراثيم المختزلة للكبريت اذا اظهر فعالية تجاه المزارع النقية، يتم دراسة تأثيره على المزارع الخليطة التي تسبب الضرر الاكبر في تاكل المعدن في انظمة تبريد المياه (Harternet ،وجماعته، 1992).

اظهرت نتائج اختبار تأثير المبيدات الحيوية ان اختيار تأثير المبيدين Nalco-7330 و STA-BR-Ex اللذان يستخدمان من قبل شركة الأسمدة الكيمياوية عدم تأثيرهما على الجراثيم المختزلة للكبريتات بتراكيز عالية بلغت (500) جزء من مليون وعلى الرغم من ان المبيد الحيوي (Nalco7330) مكون من خليط من عدة مركبات (5-chloro-2methy و 4-isothia-zolin-3-on

و 4-iso thiozolin-3one) ويذكر انه مبيد واسع المدى Broad spectrum يستخدم للسيطرة على النمو المايكروبي إلا أنه قد يكون غير مخصص لمعالجة نمو الجراثيم المختزلة للكبريت التي تكون طبقة سميكة من الغشاء الاحيائي وتكون عدة أنواع من نواتج التآكل خصوصاً كبريتيد الحديدوز FeS الذي يتحد مع المواد العضوية ليكون مواد عالية الزوجة (Battrsby، 1985) في حين ان المبيد الحيوي (STA-BR-Ex) الذي يتكون من البرومين الثابت Stable Bromine فيستخدم للسيطرة على الانسداد الحيوي خصوصاً في ابراج التبريد كما انه يخترق النمو المايكروبي اختراق كامل ولم يذكر أنه يستخدم ضد الجراثيم المختزلة للكبريت كما أنه أظهر عدم فعالية بتراكيز عالية بلغت (500) جزء من مليون وهذا يجعله مكلف أقتصادياً .

(وقد ننصح الشركة بعدم استخدام هذين المبيدين في معالجة نمو الجراثيم المختزلة للكبريت بعد إجراء الاختبار لهما إذ ان نمو الجراثيم كان مستمراً وواضحاً عند استخدام هذين المبيدين كما ان النتائج المختبرية أكدت هذه الحقيقة مما دعى الشركة إلى إيقاف أستيراد هذه المبيدات) أما بالنسبة للمبيد (Spectrus NX 1104) فهو يستخدم للسيطرة على الفعاليات البايلوجية في أنظمة مياه التبريد والمبادلات الحرارية ويتكون من مركبات قاتلة حيوياً Biocidal compoundes تعمل سوية لتعطي مركب واسع المدى في السيطرة على الأحياء المجهرية، ويستعمل هذا المبيد في مقاومة النمو المايكروبي المقاوم لاستخدام نوع واحد من المبيدات وهذا يتفق مع ما جاء به (Haterent، وجماعته، 1992) إذ ذكر ان المبيدات التي تتكون من خلط عدة مركبات تكون أكثر فعالية من غيرها ويسيطر هذا المبيد على التجمعات المايكروبية في انظمة مياه التبريد كما أنه يقلل من تكون الغشاء الاحيائي في الأنظمة التي يحدث فيها الانسداد الحيوي والتأثيرات التآكلية للمعادن الناتجة عن نمو الأحياء المجهرية وهذا قد يعطيه فعالية عالية لمنع نمو الجراثيم المختزلة للكبريت وقد اثبت بالتجارب المختبرية أنه فعال بتركيز (15) جزء من مليون للجراثيم الهائمة و(20) جزء من مليون للجراثيم الملتصقة. أما المبيد الحيوي (Chlorhexidine gluconate) فأنه يستخدم كمبيد حيوي لكل من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام ويكون له تأثير أكبر على الجراثيم السالبة لصبغة كرام.

المصادر العربية:

التميمي، وجدان حسين (2001). عزل وتشخيص بعض الجراثيم المختزلة للكبريت من انظمة تبريد الشركة

العامة للاسمدة الكيمياوية الجنوبية ودراست تاثيرها التاكلي على المعادن مختبريا. رسالة ماجستير-كلية العلوم-جامعة البصرة.

المصادر الأجنبية:

API (1975). American Petroleum Institute Recommended practice for biological analysis of subsurface injection water. Cited by: Bell, R. G. and Lim, C. (1981). Corrosion of mild and stainless steel by four tropical. *Desulforibrio desulfuricans* strin. J. Cand microbiol. 27: 242-245.

Battersby, N. S., stewart, D. J. and Sharma, A. P. (1985).Microbiological problems in offshore oil and industries. Appl. Bacterial. 52: 227-235.

Dowling, N. J. E. and Guezennec, A. J. (1997). Microbiologically in fluenced corrosion in: Hurst, C. J.; Kundsen G. R.; Mcinerncy, M. J.; Stetzenbach,L. D. and Walter, M. V. (ed.): Manual of environmental microbiology. ASM press. Washington, D.C., PP. 482-855.

Mcinerney, M. J., and Sublette, K. L. (1997). Petroleum microbiology: Bifouling, souring and improved oil recovery. In: Hurst, C. J.; Kundsen, G.R. Mcinerney, M.J.; Stetzenbach, L.D. and Walter, M. W. (ed.) Manual of environmental microbiology. ASM Press. Washington, D.C. PP: 600-607.

Harternet, C.; Magot, M. and Crolet, J. L. (1992).Selection of biocides on sessile sulfate reducing bacterial. European Federation of Corrosion (EFC). 92: 1-11.

Rose L. and Swain G.,C.A. V,50:1082h.1956.

Sanders, P. E. (1998). Monitoring and control of sessile microbes: Cost effective ways to reduce microbial corrosion. In: Sequeira, C. A. C. and Tiller, A. K. (ed.). Microbial Corrosion Eleservier Applied. Science, London and New York. PP: 191-223.

Study of effect some biocides on the activity of Sulfate Reducing Bacteria in vitro

Wijdan H. Al-Tamimi
College of Science –Department of Biology
University of Basrah - Basrah – Iraq

Abstract

The present study was include isolate mix of Sulfate Reducing Bacteria from cooling system of general state of fertilizers company southern region (GSFC) and study the effect of four biocides (Naclo-7330 and STA-BR-Ex) which was used by fertilizer company and the biocide (Spectrus-NX 1104) which was prepared by the company and the (Chlorhexidine glconate) which was prepare in laboratory on this bacteria.

Also the present study include the effect of these biocides towards the planktonic and sessile Sulfate Reducing Bacteria. The result showed that the tow biocides (Naclo-7330 and STA-BR-Ex) had no effect on the planktonic and sessile Sulfate Reducing Bacteria in the concentration (10-50) ppm and (100- 500) ppm , while the biocide (Chlorhexidine glconate) showed clearly effect in concentration (20) ppm on the planktonic and (25) ppm on the sessile Sulfate Reducing Bacteria , while biocide (Spectrus-NX 1104) showed highly effect than the other biocide at the concentration (15) ppm on the planktonic Sulfate Reducing Bacteria and (20) ppm on the sessile Sulfate Reducing Bacteria.