doi.org/10.52866/esj.2020.06.16.04

المعالجة الحيوية لمركب الـ TNT في التربة الملوثة بإستعمال البكتريا المحفزة بالجزيئات النانوية

أكرم محمد عبود ، ا.م.د ليث مصلح نجيب
جامعة الانبار / كلية العلوم - قسم علوم الحياة

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لتحديد مستوى التلوث بمركبات مادة الـ TNT في بعض المناطق التي تعرضت الى العمليات العسكرية و كذلك دراسة بعض طرق المعالجة الحيوية من خلال الاكوام الحيوية. جمعت عينات التربة من مناطق مختلفة من محافظة الانبار و قدرت مركبات الـ TNT فيها باستخدام جهاز كروموتوغرافيا الغاز الكتلوي. وزعت عينات التربة الى خمسة مجاميع وعوملت بتراكيز مختلفة من الجزيئات النانوية. لقحت عينات التربة بواسطة بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* و بكتريا *Achromobacter dentrificans* و حضنت مدة ثماني أسابيع. بينت النتائج بان العزلات البكتيرية لها تأثير كبير في تفكيك مركب الـ TNT في الترب و اعطت العزلات البكتيرية اعلى قيمة في تفكيك مركب TNT عندما مزجت مع الجزيئات النانوية من خلال المعالجة بالأكوام الحيوية ، أظهرت النتائج ان للبكتريا القابلية على تحطيم هذ المركب حيث أعطت المعالجة باستخدام المزيج البكتيري المحفز بالجزيئات النانوية بتركيز 2.5 ٪ تحطم كامل لمركب الـ TNT قيد الدراسة مقارنة بالمعالجلات الأخرى قيد الدراسة .

الكلمات المفتاحية: TNT ، المعالجة النانوية ، ***Achromobacter dentrificans*** ، ***Pseudomonas aeruginosa***

Biodegradation of TNT- contaminated Soil using Bacteria treated with Nanoparticles

Akram Mohammed Abood , Laith Moslah Najeb
University of Anbar / College of Science / Department of Biology

Abstract

This study was conducted to determine the contamination level of TNT in some regions which exposed to military operations previously, and study the different ways of bioremediation through biopiles. Soil samples was collected randomly and TNT was estimated using GC-mass. Soil samples was distributed to 5 groups and treated with different concentration of nanoparticles. Soil samples was inoculated by Pseudomonas aeruginosa and Achromobacter dentrificans and incubated for 8 weeks. The results showed that bacterial isolates have a great effect in degradation of TNT in soil. The two isolates gave a high value in degradation of TNT when mix the two isolates with nanoparticles through treatment by biopiles , The results showed that the bacteria had the ability to degrade of TNT, as treatment using thebacterial mixture catalyzed with nanoparticles at a concentration of 2.5% gave complete degrade of the TNT compound under study compared to other treatments under study.

المقدمة:

تعد مادة الـTNT (Trinitrotoluene) احدى المواد المستخدمة في صناعة المتفجرات العسكرية بسبب قوته الانفجارية العالية والامان النسبي عند التعامل معه . ينتج مادة الـ TNT سنويا ما يقارب حوالي 1000000 كغم [1]. اشارت بعض الدراسات بان هناك 5000 غالون من المياه ملوثة بالـ TNT في امريكا والتي ممكن ان تطلق الى البيئة عن طريق مصنع واحد منتج لهذا المركب في يوم واحد فقط، ويوجد في الولايات المتحدة الأميركة ما يقارب 15 مليون فدان ملوث واكثر من 2000 موقع مشكوك في تلوثها بالذخائر العسكرية [2]. اشارت بعض الدراسات في بعض مواقع تصنيع وتجهيز الذخائر يكون التلوث عالي بمركب الـ TNT يصل الى 20 غم لكل 1 كغم من التربة [3] . يعد مركب الـTNT هو احد اكثر المركبات المستخدمة على نطاق واسع للاغراض المدنية والعسكرية في مختلف انحاء العالم لا سيما الدول المتطورة في التكنلوجيا و الصناعة خصوصاً امريكا وأوربا وحتى شرق آسيا [5] [4]. نتيجة لذلك فان متبقيات العمليات الصناعية من مركب الـ TNT تعتبر ملوثة للمياه و التربة على حد سواء والذي بدوره يفرض تأثيرات ضارة وكبيرة على النظم البيئية [6].

ان تُلوث الترب بالمواد الناجمة من العمليات الحربية والعسكرية وكذلك بمادة الـ TNT والتي انتشرت بشكل كبير في الآونة الاخيرة أعطت حالة غير متناسقة في التربة كمواد صلبة او مواد ذائبة في المياه الجوفية والّتي تكون سامة او ومطفرة وتشكل تهديدات للبيئة وعلى صحة الكائنات الحية لا سيما الانسان [7] .

يُعد TNT أحد أكثر المواد المتفجرة واستعمالاً في المجالات العسكرية والصناعية. وهو قيم جزئياً بسبب عدم حساسيته للصدمات والاحتكاك؛ مما يقلل خطر الانفجارات غير المقصودة، مقارنة بمتفجرات أخرى حساسة مثل النيتروغليسرين. [9] .

بين الباحث [9] ان المركبات الاروماتية تلوث ما يقارب 25 ٪ من التلوث الناتج من النشاط الصناعي في كندا لذلك اجريت الكثير من الدراسات للتخلص من تلك المولوثات واثارها. واثبت الباحث [10] ان الدراسات التي اجريت في كندا لمعرفة الملوثات وانواعها حيث اظهرت بان 60 ٪ من الملوثات هي مركبات اروماتية عطرية، تعد عمليات تقليل وإزالة TNT باستعمال التقانة الحيوية ضرورية جداً، لذلك عمل الباحثين لإيجاد الكثير من الطرق للخلاص من الاثار السمية لذلك المركب وازالة خطره على الكائنات الحية، اذ تمكن الباحثين من ايجاد طرق كيميائية كالحرق والامتزاز والاكسدة المتقدمة الا ان هذه الطرق تكون مكلفة اقتصادياً وتحتاج الى مراحل عدة في عملها، اذ تقلص استخدام هذه الطرق الكيمياوية في العقود الأخيرة لأنها في بعض الاحيان تزيد من سمية هذه المركبات بتغيير المركب من صورة الى اخرى قد تكون اكثر سمية [11] ان عمليات تحطيم المركبات الكيميائية ومن ضمنها مركب الـ TNT بوساطة عمليات التحول تكون غير صحيحة لذلك تم الاستعانة بعمليات معالجة بايولوجية اخرى مثلا الاكوام و المعالجة الحيوية والمفاعلات الحيوي والمعالجة النباتية [12] .

وجد العلماء طرق معالجة بايولوجية مختلفة في تحطيم المركبات الكيميائية السامة الامان البيئي

من اثارها السامة، وتعرف المعالجة الحيوية بانها استخدام الانظمة البايولوجية (الكائنات الدقيقة، النباتات، الانزيمات) لتحطيم الملوثات وازالتها من البيئات الملوثة، وتعد تقنية المعالجة الحيوية الاكثر فعالية وكفاءة لمعالجة الترب من المتفجرات الملوثة [13] .

دور الاحياء المجهرية في تحطيم TNT ذو أهمية كبيرة والذي تمتلك القدرة الاستثنائية باستغلال مختلف المركبات العطرية النايتروزية والمركبات الكيميائية الاخرى كمصادر طاقة تستخدمها في النمو، اذ تستطيع العيش في مختلف البيئات بسبب امتلاكها انشطة ايضية وفسيولوجية متعددة [14] أظهرت دراسة [15] ان زيادة المغذيات و كذلك مصادر الطاقة المضافة يزيد معدل التحلل البايولوجي بواسطة الاحياء الدقيقة في موقع التلوث اذ على زيادة عدد المايكروبات والتي تعمل على تحطم المركبات الكيميائية المتراكمة في ذلك الموقع مما يؤدي اليتحول تلك المركبات الكيميائية الى مواد اولية سهلة الامتصاص من قبل البكتريا التي تستخدمها كمواد اولية للطاقة المستخدمة لديمومة حياتها، و تتحول المركبات من ضمنها المركب السام الـ TNT الى كاربون و ثنائي أوكسيد الكاربون ونتروجين، اذ ان الكثير من الاحياء المجهرية عُزِلت و شُخِصت قابليتها على الاستفادة من مركب الـ TNT كمصدر وحيد للطاقة بعد تحطيمه وشملت الكثير من الاحياء المجهرية الهوائية لا سيما البكتريا و منها بكتريا الـ Pseudomonas sp. وبكتريا Bacillus sp. وبكتريا Achromobacter sp.، والبكتريا اللاهوائية وتشمل بكتريا Clostridium sp. ، [16] .

اشار [17] عند تعرض الاحياء المجهرية الى مركبات النايترو سرعان ما يبدأ الكائن المجهري بإفراز الانزيمات اللازمة في تحطيم هذا المركب الملوث مما يؤدي الى تحرر المواد النهائية لذا المركب العضوي بالإضافة الى الماء وغاز ثنائي أوكسيد الكاربون من خلال هدم جزيئة النايترو العطرية اذ ان متحرر المركب يعتبر مصدر للنيتروجين والكاربون والطاقة ويمكن ان تحدث هذه الطريقة تحت ظروف غير هوائية او هوائية بالاعتماد على نوع المايكروب.

يمثل المسار الثاني في تحطيم الـ TNT وهو المهم هو يمثل الاختزال المباشر للحلقة الاروماتية عن طريق اضافة ايون الهيدريد وتكوين هيدريد احادي وثنائي هيدريد وتكوين معقد Meisenheimer ونظراً بان كل المسارين اختزال النايترو والحلقة الاروماتية قد يتواجدان في نفس الخلية مما يودي الى حدوث تفاعلات مكثفة بين معقد الهايدريد الثاني وhydroxyl amino di nitrotoluen والذي ممكن ان يقود الى تكون diarylamins مع تحرر النتريت [18] .

عمليات المعالجة الحيوية:

1. التحطيم الحيوي Biodegradation

هي عملية تحلل المواد العضوية بواسطة الكائنات الحية المجهرية (البكتيريا الهوائية بشكل رئيسي) إلى مواد أبسط مثل الامونيا و ثاني أكسيد الكربون والماء، تتم هذه العملية بتحطيم المواد العضوية المختلفة بواسطة الاحياء المجهرية الدقيقة الى مواد ابسط مثلاً الماء و الامونيا وثاني اكسيد الكاربون [19].

اشار الباحث [20] ان عمليات التكسير الحيوي تتطلب فهم الاحياء المجهرية ودورها في انجاز هذه

الطريقة، اذ ان الاحياء المجهرية لها القابلية على تحويل المواد العضوية خلال العمليات الايضية او انزيمية واعتمادها على النمو و الايض المشترك ففي النمو الملوث العضوي يستخدم كمصدر اساس للكاربون والطاقة وينتج عنه بما يعرف بالتمعدن (يقصد به تحطيم كامل للملوثات العضوية)، اما عملية (co metabolism) انه يتحلل المركب العضوي بوجود المادة الاساس للنمو التي تستخدم كمصدر اساسي للطاقة و الكاربون.

2. الاكوام الحيوية Bio-piling

يمكن تعريف تقنية الاكوام الحيوية بانها استخدام الانظمة البايولوجة (الكائنات المجهرية، الانزيمات) لتحطيم الملوثات وازالتها من البيئات الملوث [21] .

ان تقنية الاكوام الحيوية والمعروفة ايضا باسم (Bioheaps و Biocell وBiomounds) هي عبارة عن معالجة حيوية خارج الموقع الملوث حيث تم استخدامها على مجال واسع لمعالجة الكثير من الملوثات البتروكيميائية في الترب المختلفة [22].

يتمركز محور الاكوام الحيوية على كومة من الملوثات الموجودة في التربة او الرواسب المجففة بشكل اكوام وتحفيز النشاط الحيوي للمجتمعات الميكروبية الهوائية عن طريق توفير الظروف المثلى للنمو داخل هذه الاكوام و[23]، تشمل هذه التقنية ادخال الاوكسجين من خلال توفير التهوية اللازمة لهذه العملية وتوفير الظروف الضرورية الاخرى مثل درجة الحرارة والاس الهيدروجيني وتوفير الرطوبة العالية باستمرار واضافة المغذيات الضرورية مثلاً النيتروجين والفسفور. ونتيجة لتوفر الظروف المثلى للنمو يؤدي النشاط الميكروبي المعزز الى تحطيم الملوثات العضوية [24].

الهدف من الدراسة :

1. التخلص من المركبات النيتروجينية الملوثة للترب .
2. تحديد الاجناس البكتيرية التي لها القابلية على تحطيم مركب TNT
3. جعل بيئة التربة ملائمة للزراعة .

المواد و طرائق العمل :

العزلات البكتيرية :

تم أخذ عزلات جاهزة ومشخصة تعود الى بكتريا *P. aeruginosa* وبكتريا *A. dentitrificans* من مختبرات الاحياء المجهرية في كلية العلوم جامعة الانبار، واجراء الفحوص التأكيدية لهذه العزلات والمتضمنة الفحوص البايوكيميائية وللتأكد اكثر تم استخدام جهاز Vitec الذي يعطي نتيجة دقيقة لمعرفة نوع الميكروب المستخدم قيد الدراسة . تم اختيار اربع مناطق من محافظة الانبار تعرضت الى العمليات الحربية حيث اخذت عينات عشوائية من ترب هذه المناطق وبواقع خمسة نماذج لكل منطقة ، ثم مزجت جميعا جيدا وبعد ذلك أجريت عليها عمليات الهضم البيولوجي .

هضم التربة :

تم تحديد مركبات الـ TNT في عينات التربة قبل وبعد المعالجة باستخدام جهاز GC mass و أُجريت التحاليل جميعها في مختبرات (وحدة الاتلاف والمعالجة / وزارة العلوم والتكنولوجيا/ التاجيات) اذ أُستُخرِجت مركبات الـ TNT بأخذ حوالي 2 غم من التربة قبل وبعد والمعالجة ثم تجفف العينة بدرجات حرارة تتراوح بين (35 – 40 مْ) ثم تستخلص بواسطة مادة الـ DCM (Dichloromethane) حيث يضاف 10 مل من هذه المادة الى كمية التربة ويتو تُستخلص المركبات

الكيمياوية (مركبات الخاصة بـ TNT) اذ توضع المادة في فيالات خاصة بجهاز الـ GC mass بحجم 1.5 مل ثم توضع بداخل الجهاز وتعطى القراءات بواسطة شريحة خاصة بالجهاز ، اذ حُسِبت حسب قانون و اعتمادا على المعادلة التالية:

$$C\ sample = Cst \frac{C\ st \times A\ sample}{A\ st}$$

C sample = Sample concentration

C st = primary sample c.

A sample = Pake area after treatment

A st = Peak befor treatment

تحليل TNT التربة :

لخصت طريقة العمل كالتالي :

1 – وزعت عينات التربة بعد مجانستها وخلطها جيدا باكياس من النايلون حيث وضعت 2.5 كيلوغرام من التربة في كل كيس .

2 – قسمت التجربة الى عدة مجموعات تضمن المعاملات التالية :

- المجموعة الأولى وهي مجموعة السيطرة بدون تعقيم
- المجموعة الثانية وهي مجموعة السيطرة معقمة
- المجموعة الثالثة إضافة اللقاح الى الترب المعقمة
- المجموعة الرابعة إضافة الجزيئات النانوية بتراكيز (2.5 ٪ و5 ٪ و 10 ٪) مع إضافة اللقاح الى الترب المعقمة .

3 – ثم تركت العينات لمدة 8 أسابيع في المختبر و تُقلب بصورة مستمرة باوقات مختلفة.

4 – بعد ذلك نقلت العينات الى وحدة الاتلاف والمعالجة لاجراء الفحص والكشف عن مركبات الـ TNT بجهاز الـ GC mass .

1 – تجربة الاكوام الحيوية :

صممت تجربة الاكوام الحيوية حسب التجارب السابقة كالتالي:

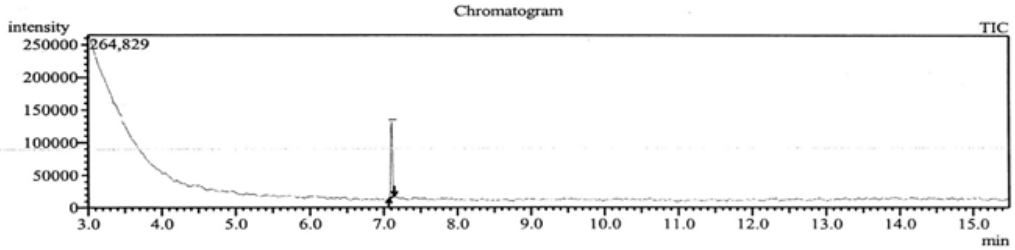
1. توضع على الأرض قطعة من الاكياس الخاصة المتحملة لدرجات الحرارة.
2. توضع طبقة من التربة الملوثة بارتفاع 80 سم وتفرش بعرض 3×2 متر.
3. توضع الانابيب البلاستيكية المثقبة بواقع انبوبين للمغذيات للاحياء المجهرية وانبوب للأوكسجين .
4. توضع طبقة ثانية من التربة بارتفاع متر.
5. توضع الانابيب أخرى فوق هذه الطبقة وتتوزع كما اشرنا في النقطة 3.
6. توضع طبقة من التربة بارتفاع متر أيضا فوق هذه الانابيب وتفرش جيدا مع مراعاة وصول المغذيات الى كافة المناطق تحت التجربة.
7. توضع آخر مرحلة من مراحل الانابيب ومن ثم تغطى بطبقة ارتفاع 30 سم.
8. تغطى الكومة بوساطة النيلون الخاص مع مراعاة تغطية الكومة من كافة الجوانب.
9. تربط الانابيب الناقلة للمواد المغذية بخزان سعته الف لتر وينظم بجهاز سريان الماء لكي يتم توزيع المغذيات بصورة مستمرة ومسيطر عليه.
10. تربط الانابيب الخاصة بدفع الاوكسجين بمضخة دفع الهواء وبفترات متقطعة وذلك لإيصال الاوكسجين لأبعد منطقة ممكنة من الكومة.

ثم تنتظر لمدة 8 الى 10 أسابيع مع التدوير بين الحين والأخر للترب ومن ثم تأخذ العينات للقياس بعد هذه الفترة.

بعد ذلك تم اجراء بعض الاختبارات على نموذج التربة والمتضمنة تحليل نواتج تحلل الـ TNT كما في الفقرة سابقاً .

النتائج والمناقشة:

جاءت نتائج هذه التجربة لبيان دور المعاملات في تقليل كمية الTNT في التربة وحسب الفقرة (2-2-8) ، حيث أظهرت نتائج تحليل جهاز GC ان لنموذج السيطرة كمية عالية من مركب الـTNT حيث بلغت (50غم / كغم) كما في الشكل البياني التالي :

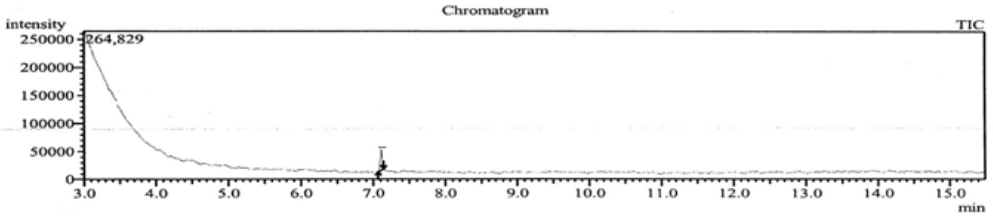


Peak Report TIC

Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	7.105	176186	100.00	115349	100.00	1.53	MI	Benzene, 1-(chloromethyl)-2-nitro-
		176186	100.00	115349	100.00			

شكل رقم (1) يبين تركيز الـ TNT قبل المعالجة

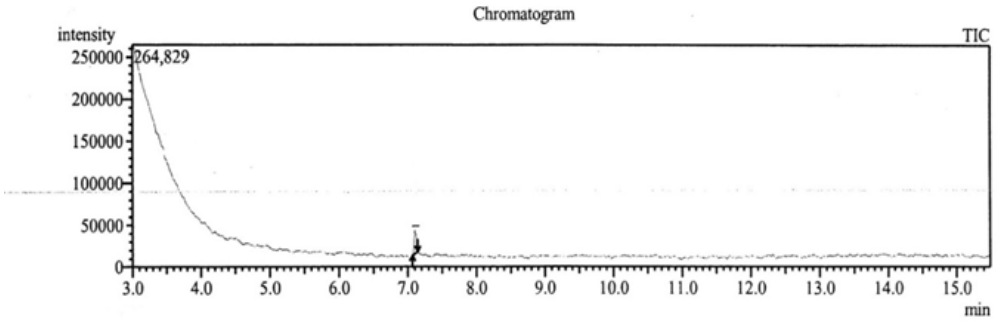
وتبين نتائج الشكلين (2) و (3) تركيز مركبات النيتروجين بعد المعالجة ببكتريا Pseudomonas وبكتريا *Achromobacter* اذ بلغ التركيز(7غم/ كغم) و(5غم / كغم) على التوالي.



Peak Report TIC

Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	7.105	56761	100.00	115349	100.00	1.53	MI	Benzene, 1-(chloromethyl)-2-nitro-
		56761	100.00	115349	100.00			

شكل رقم (2) كمية مركب الـ TNT بعد المعالجة ببكتريا *P.aerugenosa*

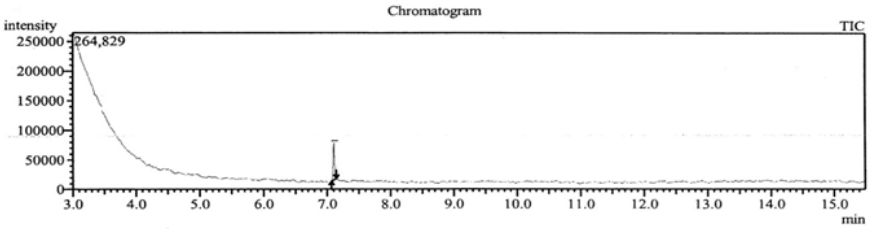


Peak Report TIC

Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	7.105	51361	100.00	115349	100.00	1.53	MI	Benzene, 1-(chloromethyl)-2-nitro-
		51361	100.00	115349	100.00			

شكل رقم (3) تركيز مركب الTNT. بعد المعالجة ببكتريا *A. denitrificans*

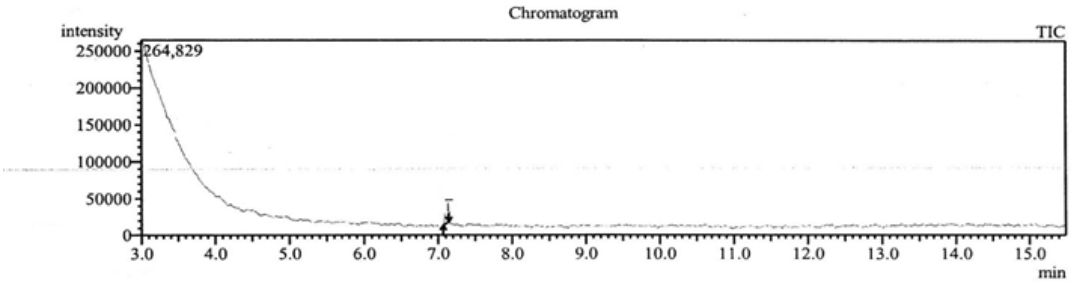
أظهر الشكلين (4) و (5) عدم قدرة المزيج للتراكيز النانوية (5 ٪ و 10 ٪)على المعالجة التامة للمركبات النيتروجينية اذ بلغ التركيز (18غم / كغم) و (12غم / كغم) تباعا.



Peak Report TIC

Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	7.105	88618	100.00	115349	100.00	1.53	MI	Benzene, 1-(chloromethyl)-2-nitro-
		88618	100.00	115349	100.00			

شكل (4) تركيز مركب الـ TNT بعد المعالجة بالمزيج المضاف اليه ٪10 نانو

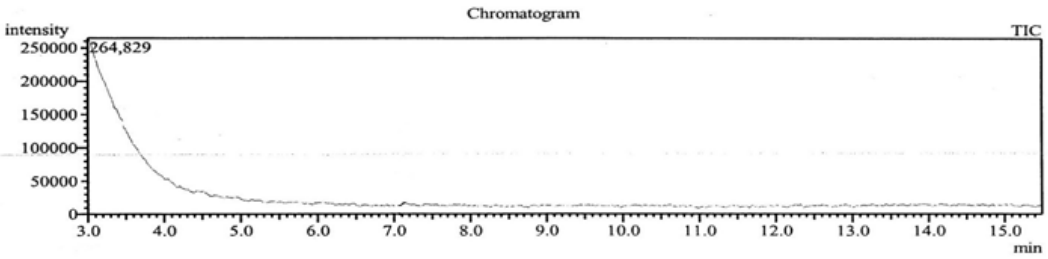


Peak Report TIC

Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	7.105	61305	100.00	115349	100.00	1.53	MI	Benzene, 1-(chloromethyl)-2-nitro-
		61305	100.00	115349	100.00			

شكل (5) تركيز مركب الـ TNT بعد المعالجة بالمزيج المضاف اليه 5 ٪ نانو.

وعند استخدام مزيج من البكتريا تحت الدراسة مع التركيز الجزيئات النانوية لكلوريد الذهب بتركيز 2.5 ٪ الذي حلل المركبات النتروجينية المدروسة بصورة كاملة، اذ بلغ التركيز (0) كما هو مبين في الشكل (6).



Peak Report TIC

Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
		0	0.00	0	0.00			

شكل (6) تركيز مركب الـ TNT بعد المعالجة بالمزيج المضاف اليه ٪2.5 نانو

تشير العديد من الأبحاث ان استخدامات البكتريا في المعالجة كان لها الدور الأساس في تحطم المركبات النيتروجينية بضمنها مركب (TNT)، اذ أوضحت دراسة [25] ان بكتريا *P. aeruginosa* لها قابلية عالية في خفض تراكيز المواد الكيمياوية الملوثة حيث اشارت نتائجه الى ان استخدام *P. aeruginosa* اعطى افضل معدلات في إزالة الملوثات الكيميائية لاسيما مركب الـ TNT حيث بلغت نسبة الازالة الحيوية 46 – 59 ٪ في زمن استبقاء 96 ساعة وذلك عند إضافة 50 ملغم من مادة الـ TNT ضمن الوسط المغذي للبكتريا حيث جاءت النتائج مطابقة لما توصل له [26] خلال دراسته على نفس المركب الكيمياوي انفا ، اذ يرتبط معدل التحطيم الحيوي لمركب الـ TNT بعلاقة طردية مع زيادة اعداد بكتريا *P. aeruginosa* النامية على الوسط وهذا يفسر نتائج دراستنا ويتوافق معها.

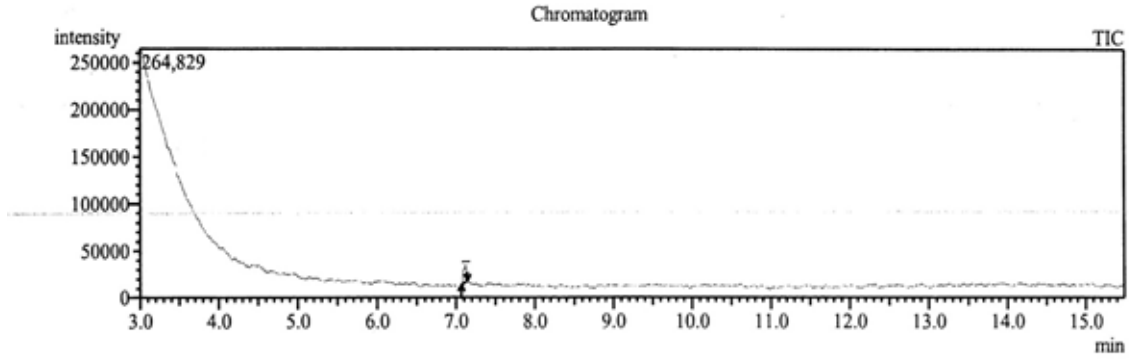
ان عمليات التحطيم أو الإزالة الحيوية للملوثات تعتمد بصورة أساسية على زمن الاستبقاء الذي يحقق تلامس المركب المحلل و البكتريا، كما اشارت التجارب البحثية السابقة بان هناك سلالات بكتيرية قليلة لها قابلية التحطيم الحيوي لمركبات مختلفة ومنا مركبات الـ TNT، اذ تستغل البكتريا المحللة نواتج التحلل المتمثلة بالكاربون لغرض قيامها بعملياتها الحيوية كمصدر للطاقة ([27]، اما المرحلة الثانية من التحلل الحيوي تنخفض معدلات الازالة الحيوية لمركب TNT ويعزى ذلك بسبب استنزاف المغذيات الموجودة في الوسط الاخر الذي يقود الى انخفاض عدد الميكروبات المحللة على أساس سمية تحول النواتج المتراكمة ([28] .

في حين أوضح الباحث [29] ان عزل البكتريا من الترب الملوثة والمتمثلة ببكتريا Pseudomonas sp. وبكتريا *Klebsella Pneumonia* ذات دور فعال في تحطيم مركبات الـ TNT قد تزيلها بشكل كامل او تحوله الى مركبات أخرى اقل سمية وهذا ما اثبتته نتائج كروموتغرافيا الغاز بعد معاملة الترب بمعاملات مختلفة بإضافة هذه البكتريا بعد تنشيطها بالمواد العضوية والمحفزات اللاعضوية .

أوضحت النتائج وجود تفاوتا في طرق المعالجة الحيوية ونوعية الاستخدام الميكروبي لتحطيم مركب الـ TNT يعزى لذلك لنوع المعالجة المستخدمة للتحطيم .

تطبيق تقنية الاكوام الحيوية:

ان نتائج الاشكال البيانية لتحليل كرموتوغرافيا الغاز قد بينت دور تقنية الاكوام الحيوية في المعالجة حيث استخدمت تقنية الاكوام الحيوية افضل المعالجات التي طبقت في المختبر، اذ استخدمت المعالجة ذات المزج بين السلالات المختلفة للبكتريا المضاف اليها جزيئات نانو تركيز بلغ (2.5 ٪) و بلغت نتيجة المعالجة بعد 60 يوم (3غم / كغم) نسبة المركبات النيتروجينية، كما مبين في شكل رقم (7) .



Peak Report TIC

Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	7.105	41361	100.00	115349	100.00	1.53	MI	Benzene, 1-(chloromethyl)-2-nitro-
		41361	100.00	115349	100.00			

شكل (7) كمية مركب الـ TNT بعد المعالجة بتقنية الاكوام الحيوية

حيث اشارت نتائج الدراسة الحالية الى الدور المهم للأحياء المجهرية والجزيئات النانوية في تحطيم المركبات النيتروجينية وبضمنها مركب الـ TNT والذي تم إزالة من الترب الملوثة باستخدام تقنية الاكوام الحيوية. اشارت أنظمة االاكوام الحيوية الأصلية إلى عدم وجود نمط معين في التنفس اليومي بل يكون معتمدا على فعل البكتريا في التحطيم وانتاج الغازات اذ عملت هذه الكائنات على معدنة الهيدروكربونات والمركبات الاخرى و نهاية تحطيم هذه المركبات الكيميائية تنتج الغازات بمستويات وتراكيز مختلفة [30] .

بينت دراسة [31] بان كمية النيتروجين قد استفذت بشكل كامل اثناء المعالجة بالاكوام الحيوية نتيجة دور الكائنات المجهرية التي تستهلك طاقة عالية لعمل النشاط الحيوي لتحلل المركبات الهيدروكربونية والمركبات الارومتية من مواقع التلوث هنا نجد ان الكائنات المجهرية قد تتوقف عن النشاط الحيوي لذلك يجب إضافة مغذيات الى الترب المتلوثة بين وقت واخر ومن الممكن في الوقت الحالي تلك الكائنات من العمل بصورة مستمرة بواسطة إضافة تراكيز من الجزيئات النانوية ولكن يجب ان لايؤثر تركيز هذه الجزيئات مع النشاط الانزيمي للبكتريا المستخدمة في التجربة [30]

اشارت دراسة [32] انه تم مراقبة الاكوام الحيوية، واثناء عمل الكائنات الدقيقة المستخدمة في تحطيم الملوثات الكيميائية المتمثلة بالمركبات العطرية و الهيدروكربون النفطي، اذ بينت الدراسة انه عند إضافة قشور جوز الهند الى تقنية الاكوام الحيوية والمغذيات يزيد نشاطات الكائنات المجهرية حيث اشارت النتائج خلال ثلاثة اشهر الى ستة اشهر بانه نسبة الملوثات انخفضت الة اكثر من 90 ٪ واتفقت نتائجنا مع نتائج هذه الدراسة.

المصادر

1. **Suja**, F., Rahim, F., Taha, M. R., Hambali, N., Razali, M. R., Khalid, A. and Hamzah, A. (2014). Effects of local microbial bioaugmentation and biostimulation on the bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in crude oil contaminated soil based on laboratory and field observations. Int. Biodeterior. Biodegradation, 90, 115-122.
2. **Montgomery**, M. T., Coffin, R. B., Boyd, T. J., Smith, J. P., Walker, S. E. and Osburn, C. L. (2011). 2,4,6-Trinitrotoluene mineralization and bacterial production rates of natural microbial assemblages from coastal sediments. Environ. Poll., 159, 3673-3680
3. **Symons**, Z. C. and Bruce, N. C. (2006). Bacterial pathways for degradation of nitroaromatics. Nat. Prod. Rep., 23, 845 - 850.
4. **Stenuit**, B. A., and Agathos, S. N. (2010). Microbial 2,4,6-trinitrotoluene degradation: Could we learn from (bio) chemistry for bioremediation and vice versa? Appl. Microbiol. Biotechnol., 88, 1043 - 1064.
5. **Ayoub**, K., van Hullebusch, E. D., Cassir, M. and Bermond, A. (2010). Application of advanced oxidation processes for TNT removal: A review. J. Hazard. Mater, 178, 10–28.
6. **Khan**, M. I., Lee, J., and Park, J. (2013). A toxicological review on potential microbial degradation intermediates of 2, 4, 6-trinitrotoluene, and its implications in bioremediation. KSCE J. Civ. Eng., 17, 1223–1231.
7. **Maeda**, T., Nagafuchi, N., Kubota, A., Kadokami, K., Ogawa, H.I. (2007). One-step isolation and identification of hydroxylamino-dinitrotoluenes, unstable products from 2,4,6-trinitrotoluene metabolites, with thin - layer chromatography and laser time-of-flight mass spectrometry. Journal of Chromatographic Science, 44, 96 - 100.
8. **Clark**, B. and Boopathy, R. (2007). Evaluation of bioremediation methods for the treatment of soil contaminated with explosives in Louisiana Army Ammunition plant, Minden, Louisiana. J. Hazard. Mater., 143, 643 - 648.
9. **Erkelens**, M., Adetutu, E. M. Taha, M. Tudararo- Aherobo, L. Antiabong, J. Provatas, A. Ball, A. S. (2012). Sustainable remediation-The application of bioremediated soil for use in the degradation of TNT chips. J. Environ. Manage., 110, 69 - 76.
10. **Sanscartier**, D., Laing, T., Reimer, K., Zeeb, B. (2009). Bioremediation of weathered petroleum hydrocarbon soil contamination in the Canadian high Arctic: laboratory and field studies. Chemosphere, 77, 1121 - 1126.

resistant Achromobacter xylosoxidans. J. Microbiol. Immunol. Infect., 42, 176 - 180.

17. **Soccol**, V. T., Correia, C. T. and Pandey, A. (2003). Bioremediation: an important alternative for soil and industrial waste cleanup. Indian Journal of Experimental Biology, 41, 1030-1045.
18. **Roy**, A. S., Baruah, R., Borah, M., Singh, A. K., Boruah, H. P. D., Saikia, N., Deka, M., Dutta, N. and Bora, T. C. (2014). Bioremediation potential of native hydrocarbon degrading bacterial strains in crude oil contaminated soil under microcosm study. Int. Biodeterior. Biodegradation, 94, 7989-.
19. **Nehrenheim**, E., Muter, O., Odlare, M., Rodriguez, A., Cepurnieks, G. and Bartkevics, V. (2013). Toxicity assessment and biodegradation potential of water-soluble sludge containing 2,4,6-trinitrotoluene. Water Science and Technology, 68(8), 1707 - 1714.
20. **Nishino**, S. F., Paoli, J. C. and Spain, J. C. (2000a). Aerobic degradation of dinitrotoluenes and pathway for bacterial degradation of 26- dinitrotoluene. Applied Environmental Microbiology, 66, 2139 - 2147.
21. **Wittich**, R. M., Ramos, J. L. and van Dillewijn, P. (2009). Microorganisms and explosives: mechanisms of nitrogen release from TNT for use as an N-source for growth. Environ. Sci. Technol., 43, 2773 - 2776.
11. **Calvo**, C., Manzanera, M., Silva-Castro, G.A., Uad, I. and Gonzales-Lopez, J. (2009). Application of bioemulsifiers in soil oil bioremediation processes. Future prospects. Sci. Total Environ., 407, 3634–3640.
12. **Yu**, M. H., Tsunoda, H. and Tsunoda, M. (2011). Environmental toxicology: biological and health effects of pollutants. CRC Press, Boca Raton, FL, pp 24 - 34.
13. **Zanaroli**, G., Toro, S. D., Todaro, D., Varese, G. C., Bertolotto, A., Fava, F. (2010). Characterization of two diesel fuel degrading microbial consortia enriched from a nonacclimated, complex source of microorganisms. Microb. Cell Factories, 9, 1459 - 1475.
14. **Walsh**, M. E., Taylor, S., Hewitt, A. D., Walsh, M. R., Ramsey, C. A. and Collins CM (2010) Field observations of the persistence of Comp B Appl Microbiol Biotechnol (2010) 88:1043–1064 1063
15. **Vanitha**, G. and Ayyasamy, P. M. (2019). Prevalence and screening of 2,4,6-Trinitrotoluene (TNT) degrading bacteria from nitroaromatics contaminated soil. Department of Microbiology, School of Biosciences, Periyar University, Salem - 636011, Tamil Nadu, India.
16. **Teng**, S. O., Ou, T. Y., Hsieh, Y. C., Lee, W. C., Lin, Y. C. and Lee, W. S. (2009). Complicated intraabdominal infection caused by extended drug

a microbial/plant combination strategy. J. Hazard Mater., 264, 430 - 438

28. **Nyanhongo**, G. S., Aichernig, N., Ortner, M. and Steiner, W. (2009). Incorporation of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) transforming bacteria into explosive formulations. J. Hazard Mater., 165, 285 - 290.
29. **Oh**, B. T., Shea, P. J., Drijber, R. A., Vasilyeva, G. k. and Sarath, G. (2003). TNT biotransformation and detoxification by a Pseudomonas aeruginosa strain. Biodegradation, 14, 309 - 319
30. **Shanmugam**, B. K. and Mahadevan, S. (2015). Metabolism and biotransformation of azo dye by bacterial consortium studied in a bioreaction calorimeter. Bioresour. Technol., 196, 500 - 508
31. **Fodelianakis**, S., Antoniou, E., Mapelli, F., Magagnini, M., Nikolopoulou, M., Marasco, R., Barbato, M., Tsiola, A., Tsikopoulou, I. and Giaccaglia, L. (2015). Allochthonous bioaugmentation in ex situ treatment of crude oil-polluted sediments in the presence of an effective degrading indigenous microbiome. J. Hazard. Mater., 287, 78–86.
32. **Gil-Diaz**, M., Alonso, J., Rodriguez-Valdes, E., Pinilla, P. and Lobo MC (2014). Reducing the mobility of arsenic in brownfi eld soil using stabilised zero-valent iron nanoparticles. J. Environ. Sci. Health A, 49, 1361–1369.
22. **Kurumata**, M., Takahashi, M., Sakamoto, A., Ramos, J. L., Nepovim, A., Vanek, T., Hirata, T., Morikawa, H. (2005). Tolerance to, and uptake and degradation of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) are enhanced by the expression of a bacterial nitroreductase gene in Arabidopsis thaliana. Z. Naturforsch. C., 60, 272–278
23. **Gallagher**, E. M., Young, L. Y., McGuinness, L. M. and Kerkhof, L. J. (2010). Detection of 2,4,6-trinitrotoluene-utilizing anaerobic bacteria by 15N and 13C incorporation. Appl. Environ. Microbiol., 76, 1695–1698.
24. **Cohen**, R., Zeiri, Y., Wurzberg, E. and Kosloff, R. (2007). Mechanism of thermal unimolecular decomposition of TNT (2,4,6-trinitrotoluene)- A DFT study. Journal of Physical Chemistry A, 111, 11074 - 11083.
25. **Li**, L., Cunningham, C. J., Pas, V., Philp, J. C., Barry, D. A., and Anderson, P. (2004). Field trial of a new aeration system for enhancing biodegradation in a biopile. Waste Manag., 24, 127–137.
26. **Gomez**, F., and Sartaj, M. (2013). Field scale ex-situ bioremediation of petroleum contaminated soil under cold climate conditions. Int. Biodeterior. Biodegradation, 85, 375–382.
27. **Xu**, Y., Sun, G. D., Jin, J. H., Liu, Y., Luo, M., Zhong, Z. P. and Liu, Z. P. (2014). Successful bioremediation of an aged and heavily contaminated soil using