

دور نسب الخلط الفيزيائي للترب كطريقة لاستصلاح الترب الملوثة بالنفط
الخام و أثره في بعض خواص التربة

The Role Of The Physical Mix Rates Of Soils as A
Method Of Reclamation Of Petroleum Polluted Soils
and Its Effect On Some Soil Characteristics

الدكتور

الدكتور

قاسم الفرج

على امرير

أستاذ في قسم التربة و استصلاح الأراضي
جامعة الفرات - كلية الزراعة

المهندسة الزراعية
كافح شرف الدين
طالبة دراسات عليا (ماجستير)

الملخص :

جرى تنفيذ هذه الدراسة لبيان إمكانية الخلط الفيزيائي للترب الملوثة بالترسب النظيف في حل مشكلة التلوث النظيف في التربة من خلال تغير بعض الأنشطة الحيوية لميكروبات التربة . إذ تم تنفيذ تجربة أصص بسعة ٦ كع من خلطة تربوية مكونة من التراب و الرمل النهري بنسبة (٣:١) (Sand:Soil) ثم خلطت ترب الأصص بنسب مختلفة من تربة ملوثة بالنقط الخام (شاهد ٢٠٪ و ٥٢٪ ٤٠٪) او زرعت بذور بالشعير بواقع / ٣٠٪ / بذرة في الأصص الواحد و وتمت التحاليل الميكروبولوجية الكيميائية و الحيوية في ثلاثة مراحل زمنية وكان النتائج كما يلى :

إن نسبة الخلط ٢٠٪ تربة ملوثة و كذلك النسبة ٣٠٪ اعتبرت في نتائج هذه التجربة تراكيز منشطة لأعدا البكتيريا و الفطريات في التربة و اعتبرت نسبة الخلط ٤٠٪ ٥٠٪ نسب منشطة للنمو البكتيري و الفطر ، و قدرة الفطريات على التحلل مع مرور الزمن حتى التراكيز ٤٠٪ للقياس . وقد أثبتت الاكتينومايس دوراً فعالاً في استصلاح الترب الملوثة و ازدانت حتى في نسب الخلط ٤٠٪ ٥٠٪ و هذا استنتاج هام مستقبلي للاستصلاح الفيزيائي أي يمكن استخدامها بشكل مباشر في التربة بهدف الاستصلاح و التتفية . و قياس CO_2 أدى تراكم لكميته بالرغم من انخفاض أعداد الميكروبات في أغلب التراكيز وهذا يعود إلى أن تحلل المركبات النفعية يبقى مستمراً مما أدى إلى تراكم CO_2 في التربة . كما تشكل القبيولات في ترب التجربة بشكل مطرد مع زيادة نسب الخلط و بفارق معنوية ذات دلالة

إحصائية مقارنة مع الشاهد

كلمات مفتاحية : التلوث النظيف ، الخلط الفيزيائي ، قياس CO_2 ، القبيولات الكلية ، بذول لميتك

المقدمة :Introduction

يعتبر التلوث البيئي من أهم المشكلات البيئية التي تواجه الإنسان في العصر الحديث ،

ولعل أبرز الفظاعات التي اقترفها الإنسان بحق البيئة كان في حق التربة من خلال استغلالها بشكل غير منظم و غير معقول. ولعل النظرة الخاطئة إلى التربة كمستودع كيماوي و مائي يتألف من تركيب فيزيائي لحبوبات متفاوتة الحجم (رمل ، سلت ، طين) قادت إلى تلوثها دون الأخذ بعين الاعتبار أنها وسط حيوي يعيش بالكائنات الحية الدقيقة و غير الدقيقة وأنها الحيز الطبيعي الذي يكفل الحياة للنباتات بأنواعها المختلفة وأنها من أكثر الأوساط البيئية في الطبيعة ديناميكية في العلاقات المتبادلة بين الكائنات الحية و مكونات التربة الفيزيائية و الكيماوية و الحيوية مما يجعلها أكثر مرونة بيئية في التعامل مع الملوثات التي تصل إليها و لعل الملوثات النفطية أحد أهم هذه الكيماويات التي تجد طريقها إلى التربة بشكل مباشر نتيجة التوسيع الكبير في استعمالات النفط و مستوياته مما يقود إلى أن هناك ملايين الأطنان من الملوثات و المخلفات العضوية النفطية الخامية و غيرها تجد طريقها إلى التربة أو إلى مياه المحيطات سنوياً بالصدفة أو الإهمال أو عن طريق صرف بقايا النفط و مشققته المختلفة في موقع استخراجه و المناطق المحيطة به .

وما يبحثنا هذا إلا لتسليط الضوء على إمكانية استخدام أحد الحلول الفيزيائية لامتصاص التربة الملوثة بالنفط الخام بالمناطق المحيطة في مراكز استخراجه و التي تلوث بدرجات متفاوتة حسب قريها و بعدها من مراكز البتر أو الاستخراج و ذلك من خلال خلطها مع تربة نظيفة غير ملوثة و دراسة النشاط الحيوي للترب بعد خلطها بنسب محددة من ترب ملوثة بهدف التوصل إلى حل مشكلة بيئية مصاحبة لاستخراج النفط تؤثر على حيوية الترب المجاورة لها .

أهمية البحث

يعتبر النشاط الحيوي أهم المؤشرات الحيوية التي تتأثر في حالات تلوث التربة بالكيماويات بأشكالها المختلفة ، والتي يعتبر النفط الخام أحد أهمها تأثيراً على ميكروبات التربة و نشاطها ، لذا يعتبر مجموع النشاط الحيوي في التربة منعكساً ايجابياً في حال زوال العامل الملوث أو انخفاض تأثيره .

لذا جاءت هذه الدراسة لبيان إمكانية الخلط الفيزيائي للترب الملوثة بالترب النظيفة في حل مشكلة التلوث النفطي في التربة من خلال تقدير بعض الأنشطة الحيوية لميكروبات هذه التربة .

الهدف من البحث:

١ - دراسة تأثير التلوث بالنفط الخام في بعض مجتمعات الأحياء الدقيقة (بكتيريا - فطر - أكتينومايس) للتربة .

٢ - دراسة أثر عملية الخلط في تغيير بعض الخواص الحيوية (الفينولات الكلية - الإندول أسيتك أسيد) للترب الملوثة بالنفط الخام .

- الدراسات المرجعية :

النفط هو خليط معقد من الهيدروكربونات والمركبات العضوية الأخرى، بما في ذلك بعض المكونات العضوية الفلزية (Butler and Mason, 1997) والمركبات الألبيقاتية، والهيدروكربونات العطرية (Prince, 1993; Wang et al., 1998) ومعظمها سامة للكائنات الحية (ATSDR, 1995) .

ما يجعل منه ملوثاً خطراً محتملاً على البشر والحيوانات والنباتات (Edewor et al., 2004) بعد تسربه للتربة والهبوط عمودياً في باطن الأرض تحت تأثير قوى الجاذبية الأرضية ، والضغط الشعري.

(Raisbeck and Mohtadi, 1974) وهذا يعتمد بالأساس على نوع التربة ونوع

وكمية النفط المترب

(Harris - McGill, 1980) وكذلك على محتوى الرطوبة في التربة (McGill, 1980) ففي المناطق المنخفضة يتجمع النفط بشكل طبيعي و يؤدي إلى سوء التصريف في حين على المناطق المنحدرة تكون حركة النفط على سطح التربة مما يجعل التربة الجافة غير قابلة للبلل. في حين تكون التربة الملوثة لديها ميل للجفاف و تكون أكثر عرضة للتآكل ومن أهم الآثار الرئيسية للنفط على التربة هو تثبيط عملية الترجمة من الأمونيوم إلى نترات . (Udo and Fayemi, 1975) McGill, 1977). عادة ما يكون هناك ارتفاع في الطلب على الأكسجين في التربة من الكائنات الدقيقة ، مما يؤدي إلى انخفاض كميات الأوكسجين في التربة حيث أفادت العديد من الدراسات أن الظروف اللاهوائية يمكن أن تؤدي إلى زيادة درجات الذوبان من المغنيز والحديد في التربة الملوثة بالنفط (Giddens, 1976; McGill, 1977) كما تم الإبلاغ عن زيادة في مجموع النتروجين والكربون العضوي و المواد العضوية . كما تبين أن هناك زيادة في نسبة N: C في التربة الملوثة (Udo and Fayemi, 1975) . بالإضافة إلى ذلك، التسربات النفطية عادة ما تؤدي إلى زيادة درجة حرارة التربة من 1°C إلى 10°C

(McGill, 1980) ويعتقد أن لهذا صلة بقامة لون التربة الملوثة بالنفط (Johnston, 1970; Raymond et al 1976) و عدم وجود الغطاء النباتي الذي يضل التربة. أن التطابير هو الآلة غير البيولوجية الرئيسية التي تحدث في التربة الملوثة بالنفط و ذكرت الدراسات أن خسائر التطابير تصل إلى ٤٠٪ في التربة الملوثة بالنفط. تجارب أجريت في البرتا تبين أنه عندما أضيف النفط للتربة في الحقل أن حوالي ٢٠٪ من النفط المضاف قد بالتطابير

(Rowell, 1975) . وخسائر التطابير قد تصل إلى ما يقرب من ٤٠- ٢٠٪ من الوزن الطازج للنفط الخفيف (McGill, 1977) . و هذه العملية سريعة نسبياً إذا تمت تهوية التربة و من المتوقع أن تنتهي خلال شهر واحد في 20°C في الطبقة السطحية من التربة (١٠- ١٠ سم) تغير الأكسدة بواسطة الكائنات المجهرية في التربة الآلية الأساسية لتحلل النفط في التربة (Schwendinger, 1968;

وقد أفادت الدراسات أنه يمكن للعديد من أنواع البكتيريا، والأكثينومايسن والفطريات الموجودة في التربة أيضاً أن تحل الهيدروكربونات بدءاً من النفط الخفيف إلى زيوت التشحيم الثقيلة والإسفلت والقطاران (Schwendinger, 1968) (Jones and Edington, 1968; Jensen, 1975). ويبعد أن البكتيريا الهوائية والفطريات تلعب دوراً أكثر أهمية في عملية تحلل النفط (Vanloocke et al., 1975; Llanos, 1976). للبكتيريات في التربة أن تمر بفترة قصيرة من التكيف أو تأخر في مرحلة التحلل إلى مراحل مختلفة (Rowell, 1975; Vanloocke et al., 1975) ويعود ذلك إلى السمية المنخفضة للهيدروكربونات وأثبتت الكثير من الدراسات جانب السمية حيث تحتاج البكتيريات إلى فاصل زمني لتوليف الأنزيمات اللازمة لتحلل النفط. فترة تأخير تتراوح من 1-3 أيام قبل حدوث أي نشاط (يتم كثفه في ارتفاع إنتاج ثاني أكسيد الكربون في التربة). على أساس هذه التقارير، يبدو أن وقت التكيف يعتمد إلى حد كبير على البكتيريات الموجودة في التربة والموقع والظروف المناخية، ونوع وكمية النفط. وقد أظهر العديد من الباحثين الزيادات في النشاط البكتيري بعد إضافة النفط إلى التربة عن طريق قياس إما امتصاص الأكسجين أو تطور ثاني أكسيد الكربون في التربة الملوثة بالنفط (Eriksson et al., 1999; Barathi and Vasudevan, 2001; Mishra et al., 2001) كبير من السلالات القادرة على الحد من تدهور التربة والمياه الجوفية بمواد الهيدروكربونية البترولية. (Kiyohara et al., 1992; Pathak et al., 2008) ومن أمثلة هذه السلالات :

Alcaligenes sp., *Flavobacter sp.*, *Corynebacterium sp.*
Streptococcus sp. *Moraxella sp.*, *Bacillus sp.* and *Enterobacter sp.*

كائنات حية أخرى مثل (Bhattacharya et al., 2002; Jain et al., 2010) هي أيضاً قادر على تقليل التلوث بالهيدرو كربونات إلى حد معين (Aspergillus sp., Penicillium sp., Fusarium sp.). (Brito et al., 2006)

ومع ذلك، فإنها تأخذ فترات أطول من الوقت لتتمو بالمقارنة مع نظرائها البكتيرية (Prenafeta-Boldú et al., 2001). وتتوزع كذلك البكتيريا والفطريات التي تحول العوال الهيدروكربونية إضافة للترة في البيانات البحرية والعيناء العذبة ، تم الإشارة إلى البكتيريا الخضراء المزرقة والقادرة أيضاً على الحد من التلوث بالنفط والغاز . (Lliros et al., 2003; Chaillan et al., 2004)

- مواد وطرق البحث :

- موقع الدراسة :نفذت تجربة أصص بسعة / ٦ / كع في كلية الزراعة بدير الزور
- جامعة الفرات ونفذت التحاليل المخبرية (الفيزيائية و الكيماوية و الميكروبولوجية و البيوكيمائية) في مختبر قسم الترية و استصلاح الأراضي بجامعة الفرات كلية الزراعة .

- مواد العمل :

- التربة : لقد تم جلب تربة من (سرير النهر) بهدف استخدامها لتنفيذ الدراسة و الجدول رقم / ١ / يوضح أهم الخواص الفيزيائية و الكيماوية للترة المستخدمة في التجربة قبل الزراعة .

التركيب الميكانيكي %			مادة عضوية %	كربونات كلية %	K ₂ O ملغم / كع	P ₂ O ₅ ملغم / كع	N ملغم / كع	PH	Ec ميللللموز / سم	العمق
طن	سلت	رمل								
٣٩.٧٥	٣٦.١٦	٢٤.٠٩	٠.٩	٢٤.٢	٨٢.٠	١٣.٩	٢٠.٩	٧.٩٢	٠.٨٥	٢٠-٠

- النبات المدروس : الشعير .

- الزراعة :

نفذت تجربة وفقاً لقواعد تنفيذ الخلطات الترابية الخاصة بالأوصى حيث جرى تحضير خلطة ترابية مكونة من التراب والرمل النيري بنسبة (3:1) (Sand:Soil) و زرعت بذور الشعير بواقع / ٣٠ / بذرة في الأوصى الواحد بتاريخ ٢٤/١٢/٢٠١٣ م سبق ذلك خلط التربة بنسب مختلفة من التربة الملوثة (شاهد ٢٠٠ % و ٣٠ % و ٥٠ % و ٤٠ %).

أخذت العينات الترابية الخاصة بإجراء التحاليل الميكروبيولوجية من كافة الأوصى في ثلاثة مراحل زمنية :

الموعد الأول : ٢٠١٤/١/٧ م.

الموعد الثاني : ٢٠١٤/٢/٢ م.

الموعد الثالث : ٢٠١٤/٤/١١ م.

لعمق (١٠-٥ سم) ومن داخل الأوصى دون قلع النبات وبواقع / ٢٠٠ غ لكل عينة أو معاملة ووضعت العينات في عبوات زجاجية محكمة لدراستها مباشرة .

- تصميم التجربة :

لقد تم تنفيذ تجربة عاملية وفق التصميم العشوائي الكامل وبعامل واحد (تربة ملوثة) إذ تم خلط تربة نظيفة مع تربة ملوثة بهدف استصلاحها وبواقع (وزن / وزن) (وضعها في أقصى سعة / ٦ / كغ كمالي) :

المعاملة الأولى : شاهد تربة نظيفة / تربة نظيفة

المعاملة الثانية : ٢٠ % تربة ملوثة + ٨٠ % تربة نظيفة .

المعاملة الثالثة : ٣٠ % تربة ملوثة + ٧٠ % تربة نظيفة .

المعاملة الرابعة : ٤٠ % تربة ملوثة + ٦٠ % تربة نظيفة .

المعاملة الخامسة : ٥٠ % تربة ملوثة + ٥٠ % تربة نظيفة .

ملاحظة : التربة الملوثة التي استعملت في عملية الخلط بهدف استصلاحها تم تلوينها صناعياً بالنفط الخام بنسبة / ٢٥ % (وزن / وزن) (نفط / تربة) .

- التحليل الإحصائي: أجري التحليل الإحصائي للنتائج باستخدام برنامج (SAS) مع حساب قيمة أقل فرق معنوي (L.S.D) عند مستوى (١ %) .

ـ طرائق العمل :

ـ التحاليل الفيزيائية و الكيميائية للتربة :

أجريت التحاليل التالية قبل الزراعة :

- ١ - التحليل الميكانيكي لتحديد قوام التربة بطريقة الهدروميتر .
- ٢ - تقدير درجة PH في مستخلص العجينة المشبعة باستخدام جهاز PH meter .
- ٣ - تقدير الناقلة الكهربائية Ec في مستخلص العجينة المشبعة باستخدام جهاز الناقلة الكهربائية .
- ٤ - تقدير المادة العضوية بطريقة الأكسدة الرطبة (Walkels – Blak) . Chapman and Pratt (1978) .
- ٥ - تقدير الأزوت . Chapman and Pratt (1978) .
- ٦ - تقدير الكربون . Chapman and Pratt (1978) .

ـ الاختبارات الميكروبولوجية :

لقد تم أخذ العينات الميكروبولوجية الخاصة بتقدير المحتوى الكلي للميكروبات في عينات التربة (Total count) ثم تقدير المحتوى البكتيري و المحتوى الفطري و أخيراً محتوى التربة من الأكتينومايس

ـ العزل الميكروبولوجى :

لقد جرى العزل وفقاً لطريقة روبرت كوخ للتحفيف و الصب في الأطباق مع الأخذ بعين الاعتبار الفارق في التحفيف عند دراسة تقدير الفطر و البكتيريا

ـ الاختبارات البيوكيماوية :

ـ ١- تقدير الفينولات الكلية : Total phenol

جرى تقدير الفينولات الكلية وفقاً لطريقة (Mc- growth 1982) المعدلة بواسطة (Ashraf and Harris, 2004) Sabra 1993 الامتصاصية باستخدام جهاز Spectro photometer على طول موجة / ٦٦٠ نانوميتر .

٦-٥-٤-٢- تقدیر كمية الاندول استيك اميد (IAA) وفقا لطريقة (Salkoweski Iqbal and Vaid, 2009) في التربة ومن خلال قياس الامتصاصية في جهاز Spectro photometer على طول موجة / ٥٣٠ نانوميتر .

النتائج و المناقشة Results & Discussion

تعتبر البكتيريا من أكثر الميكروبات عدداً في التربة و تقدر أعدادها بالملارين في الغرام الواحد من التربة إذا كانت التربة معافاة بيئياً و خصبة و لكن عند التعرض لاجهاد بيئي مثل التلوث النفطي الخام ، فإن هذا الأخير يتركيبة الكيماوي المعقد يمكن أن يتحلل بفعل البكتيريا إلى مركبات أقل أو تستهلكه البكتيريا كمحدر للكربيون في حالة النمو و التكاثر و الجدول رقم / ٢ / يبين أعداد البكتيريا تحت تأثير نسب مختلفة من الخلط (شاهد ، ٢٠% ، ٣٠% ، ٤٠% ، ٥٠%)

الجدول / ٢ / أعداد البكتيريا مقدرة بالمليون / غرام تربة ($\times 10^6$)

L.S.D 1 %	50%	40%	30%	20%	شاهد	
٠.٤٤١	٢.١٥	٢.٤٥	٣.٥٦	٣.٠٤	٤.٠	موعد ١
٠.٢٠٤	١.٠٠	١.٣٢	١.٧٦	١.٤٤	١.٧٦	موعد ٢
٠.٨٩٤	٢.٣٣	١.٨١	٣.٦٦	٢.٨٠	١.٨٠	موعد ٣

ولدى دراسة أرقام هذا الجدول / ٢ / نجد أن أعداد البكتيريا في العاملة الشاهد في الموعد الأول بلغت / ٤.٠ (أربع ملايين خلية بكتيرية في الغرام الواحد و انخفضت في الموعد الثاني إلى / ١.٧٦ / مليون و هذا يعود إلى طبيعة التغيرات الكيماوية و الغذائية التي طرأت على النبات المزروع في هذه التربة مما أفقن التربة و أثر بشكل

سلبي على الميكروبات (إجهاد غذائي تم ممارسته على ميكروبات التربة لأن التربة غير مسمدة) .

ولدى المقارنة بين الشاهد والمعاملات الأخرى (٢٠ ، ٣٠ ، ٤٠ ، ٥٠ %) و في الموعد الأول نجد أن أعداد البكتيريا إذا مقورنت مع الشاهد فهي أقل في جميع المعاملات ، وإذا ماتمت المقارنة بين نسب الخلط (٢٠ ، ٣٠ ، ٤٠ %) نجد أن أعداد البكتيريا وصلت إلى أعلى مستوى لها و بلغت (٣.٥٦) مليون عند نسبة الخلط (٣٠) % ثم انخفضت مع زيادة نسب الخلط ٤٠ ، ٥٠ ، ٥٠ % وهذا يقودنا إلى الاستنتاج بأن التركيز ٣٠٪ تؤدي تراكيز منشطة للنمو البكتيري مقارنة مع التركيز ٤٠ ٥٠٪ التي عملت على تثبيط النمو البكتيري و الذي انعكس على أعداد هذه المجموعات الميكروبية الهامة في التربة .

و يمكن أن نخلص إلى نتيجة من هذا الجدول أن النسبة 40% ، 50% أثرت بشكل سلبي على نمو البكتيريا في التربة

و لدى الانتقال إلى الجدول رقم / ٣ / الذي يتضمن تقدير أعداد الفطiro بشكل عام في ترب معاملات التجربة مقدرة ($\times 10^4$) بالعشرة آلاف في الغرام من التربة .

جدول / ٣ / أعداد الفطiroات مقدرة بمئات الآلاف / غرام تربة ($\times 10^5$)

L.S.D 1 %	50%	40%	30%	20%	شاهد	
٠.٥٧	١.٦٣	١.٠٣	٢.٣٥	٢.٥	٨.٦	موعد ١
٠.٦١	١.٢٥	١.٣٢	٢.٧٦	٢.٤	٧.٦	موعد ٢
٠.٥٢	١	١.٣	٢.٦٦	٢.١٠	٧.٣	موعد ٣

و من خلال قراءة الجدول / ٣ نجد أن أعداد الفطريات في المعاملة (٢٠ %) بالمقارنة مع الشاهد قد انخفضت بفارق معنوي واضح و التأثير ينساق على باقي المعاملات و ما يلاحظ أن النسبة ٢٠ % - ٣٠ % إذا ما قورنت مع ٤٠ % ، ٥٠ % نجد أن هناك فروق في أعداد الفطريات مما يؤكد النتيجة ذاتها التي تم الحصول عليها في الجدول / ٢ / وهي أن التركيز ٤٠ % ، ٥٠ % قد مارس إجهاداً بيئياً كبيراً على فطريات التربة و بالتالي نستنتج أنه لا يصلح كنسبة خلط عند إصلاح الترب الملوثة ، و النتيجة ذاتها تقريباً نجدها في الموعدين الثاني و الثالث وبخاصة في الموعد الثاني نجد أن أعداد الفطريات بدأت ترتفع مما يؤكد أن هذه الكتلة الفطرية استطاعت أن تفكك الكتلة النفعية المتواجدة في التربة و بخاصة في النسب الأولى مما أدى إلى ارتفاع طفيف في أعدادها و هذا ما يشير إلى قدرة الفطريات على استهلاك الكميات من النفط المتمطلة في النسب ٢٠ % ، ٣٠ % و ٤٠ % ، وهذا بحد ذاته استنتاج هام .

و استمراً لدراسة أهم مجتمعات الأحياء الدقيقة الناشطة في تحلل المركبات الكربوهيدراتية في التربة كان ولابد من دراسة الاكتومايس و هذه المجموعة هي بكتيريا و لكنها تدرس بشكل مستقل لأهميتها في تحلل المركبات العضوية صعبة التحلل مثل السيلولوز و اللجنين و الكيتن و المركبات البلاستيكية و اللدائن لذا وجودها في مؤشر حيوي على التحلل الصعب لهذه المركبات و الجدول / ٤ / يبيّن ذلك بوضوح تام .

الجدول / ٤ / أعداد الاكتومايس مقدرة بعشرات الآلاف (× ١٠٤)

L.S.D	% ٥٠	% ٤٠	% ٣٠	% ٢٠	شاهد	
.٢.٤٢	٢٠٠	٩.٦	٨.٠	٣.٥	٣.٥	موعد ١
.٠.٢٨	٣.٦	٣.١	٣.١	٤.٣	٣.٥	موعد ٢
.٠.٣٢	٣.٣	٤.١	٣.٢	٣.٤	٣.٢	موعد ٣

ولدى دراسة نتائج هذا الجدول بذقة و بخاصة في الموعد الأول نجد أن إضافة النفط الخام إلى التربة في المعاملات (٢٠٪ ، ٣٠٪ ، ٤٠٪ ، ٥٠٪) قد بلغت أعداد الأكتينومايس على التوالي (٣.٥ ، ٣.٦ ، ٨.٠ ، ٩.٦ ، ٢٠.٠) و جميع هذه القيم تفوقت على الشاهد والبالغ (٣.٥) بفارق معنوية واضحة و ذات دلالة إحصائية عالية عند المستوى (١٪) وهذا يؤكد ماتم التقدم له أن هذه الأكتينومايس وجدت في المركبات النفطية الخام مادة كربوهيدراتية أولية خامية صعبة التحلل فعملت على تفككها مما زاد من أعداد هذه المجموعات الميكروبية و انعكس هذا التحلل بشكل ايجابي على أعداد البكتيريا و الفطريات لأنها وجدت مواد عضوية مفككة و سهلة الاستقلاب فتتجزئ عن تفكك الأكتينومايس لها و من هنا نستنتج الدور الفعال للأكتينومايس في استصلاح الترب الملوثة بالنفط و التي يجب أن تعار أهمية جديدة في الدراسات القائمة و هذا يعتبر من أهم الاستنتاجات الميكروبية لهذه الدراسة . و عند الانتقال إلى الموعد الثاني نجد أن أعداد الأكتينومايس قد انخفضت و هذا يمكن تفسيره إلى أن دور هذه الميكروبات التنافسي مع البكتيريا و الفطريات على الغذاء ضعيف و يعود إلى الأعداد الهائلة للبكتيريا مقابل الأعداد القليلة للأكتينومايس مما يجعلها في علاقة تضاد غذائية مع باقي المجموعات الميكروية

- تقدیر CO_2 فی تربة التجربة :

بعد أن ظهر الدور الجلي لأعداد الميكروبات في التربة كان و لابد من تقدیر مؤشر هام جداً دال على عملية التحلل العضوي للمركبات الخامية النفطية و هو تقدیر CO_2 و هو الدالة المعبرة عن النشاط الحيوي لجميع الميكروبات بشكل عام و قد جرى تقدیره خلال ثلاثة مراحل زمنية لتوضیح كمیته المنتشرة المتواقة مع عملية التحلل و الجدول رقم / ٥ / يوضح كمیات CO_2 المنطلقة من التربة تحت تأثیر معاملات التجربة .

الجدول / ٥ / يوضح كمية CO_2 المنطلق منغ / ١٠٠ غ تربة

L.S.D	% ٥٠	% ٤٠	% ٣٠	% ٢٠	شاهد	
٣٧٠٠٨	٣٥٥.٣	٢٤٤.٢	٢١٤.٥	١٣٧.٥	٨٢.٥	موعد ١
٤٦.٨٢	٣٨٧.٤	٣٩٠.٥	٢٧٨.٣	٢٠٢.٤	١٥٧.٣	موعد ٢
٤٢.١٧	٥٨٣.٠	٤٦٢.٠	٣٤٩.٠	٢١٧.٨	١٠٦.٣	موعد ٣

ومن خلال استقراء نتائج هذا الجدول نجد أن قيم CO_2 تزداد مع زيادة تركيز المواد النفطية الخام في التربة إذ نجد أن كمية CO_2 المنطلق بالملغ / ١٠٠ غرام تربة قد بلغت في الشاهد (٨٢.٥) في حين ارتفعت في المعاملة ٢٠ % إلى (١٣٧.٥ ملغ) وازدادت بشكل مطرد إلى أن وصلت في المعاملة ٥٠ % حوالي (٣٥٥.٣) ملغ و الفروق بين المعاملات كانت ذات دلالات إحصائية واضحة و بفارق معنوية عند L.S.D أي قيمة أقل فرق معنوي عند المستوى (١ %) كونها تجربة أحسن في الموعد الثاني نجد أن النتيجة ذاتها تأخذ نفس الاتجاه أي زيادة كمية CO_2 مع زيادة تركيز النفط الخام في التربة و هذا نتيجة هامة تتوافق مع نتائج تغير أعداد الميكروبات في الجدول / ٢ / ، / ٣ / ، / ٤ / و التي ازدادت فيها أعداد الميكروبات و خاصة عند التركيز (٣٠ %) وهذا ما يعكس بشكل إيجابي على كمية CO_2 المنطلقة من التربة و السؤال الهام لماذا كانت CO_2 في المعاملة ٥٠ % أعلى في جميع المواقع بالرغم من أعداد الميكروبات كانت أعلى عند التركيز ٣٠ % و هذا يدل على أن كمية CO_2 المنطلق ليست فقط من تنفس الأحياء الدقيقة بل أيضاً من تحلل المواد العضوية أي أن ثلثي كمية CO_2 المنطلقة في التربة تأتي من تحلل المواد العضوية و ثلث فقط من تنفس الأحياء (نبات ، ميكروبات ، أولي الخ)

وهذا ما يفسر أن CO_2 قد ارتفعت في النسب أو التراكيز العالية من النفط الخام المضاد إلى التربة و هذا يدل على أن التحلل مستمراً رغم انخفاض أعداد الميكروبات و هذه نتيجة هامة جداً نستطيع صياغتها بأن التحلل للمركبات النفطية الخامية يبقى مستمراً رغم انخفاض أعداد الميكروبات بالتراكيز العالية مما يؤدي إلى تراكم كميات كبيرة من CO_2 .

- تقدير الفينولات الكلية في التربة :

بعد أن تمت دراسة الميكروبات (أعداداً و نشاطاً) في التربة و مدى انعكاس تأثير نسب الخلط المختلفة على أعداد هذه الميكروبات و نشاطها أثناء استصلاحها حيوياً كان لابد من معرفة آلية المقاومة التي أبدتها هذه المجاميع الميكروبية لمقاومة الإجهاد البيئي المتمثل في عملية الخلط للتربة العلوية على هذه الميكروبات من خلال تقدير مؤشر حيوي هام هو الفينولات الكلية و الجدول رقم / ٦ / يبين نتائج هذه الدراسة .

الجدول (٦) يبين كمية الفينولات المتواجدة في التربة مقدرة بـ ملغم / ١٠٠ غرام

تربة

L.S.D 1 %	% ٥٠	% ٤٠	% ٣٠	% ٢٠	شاهد	
	١٠.٤٢	٩.٤٣	٦.٨٣	٥.١٤	٤.٦٣	١ موعد
	١١.٠٤	١٠.٢٢	٧.٧٢	٦.٢٢	٤.٨٦	٢ موعد
	١٠.٨٨	٨.٨٦	٧.٦٨	٥.٠٥	٥.٥٢	٣ موعد
١.٨٣	١٠.٧٨	٩.٤٣	٧.٤١	٥.٤٧	٤.٦٧	X

تظهر أرقام هذا الجدول أن القيم المتوسطة للفينولات في معاملة الشاهد و التي بلغت (٤.٦٧) ملغم / ١٠٠ غرام تربة بينما لوحظ ارتفاع في متوسطات قيم الفينولات (٣ مكررات) بفارق غير معنوي عند المعاملة (٢٠ %) كنسبة خلط في حين أن

المعاملات (٣٠ ، ٤٠ ، ٥٠ %) قد أبدت ارتفاعاً في قيم الفينولات الكلية في التربة مقارنة مع الشاهد و يفروق معنوية ذات دلالات إحصائية واضحة و هذا يقودنا إلى استنتاج هام مفاده أن الفينولات التي تتشكل كنتيجة لرد فعل الميكروبات على الإجهاد الكيماوي المتمثل في التربة الملوثة بالنفط الخام قد كانت مستويات إنتاجها من قبل الميكروبات في التربة مرتفعة و ذات دلالة إحصائية .

وهذه النتيجة متقدمة مع قيم الجدول (٣) (٤) ، (٥) و التي أبدت نشاطاً ملحوظاً للميكروبات مما رافقها ارتفاع في إنتاج الفينولات للحد من تأثير العامل الكيماوي و خاصة في التراكيز العالية ٤٠ ، ٥٠ %

التقدير الكمي للاندول أستيك أسيد (IAA) :

لقد تم تقدير الاندول أستيك أسيد كمحفز نمو للبكتيريا يمكن أن تفرزه البكتيريا خارج تأثير الإجهاد أي أن هذا المركب يتاثر بشكل سلبي تحت تأثير الإجهادات حيث ثبت أن الميكروبات يمكنها أن تنتج الاندول أستيك أسيد لكن تحت ظروف مثالية للنمو و التي أثبتت قدرة بعض الاجناس البكتيرية في تربة الريزوسفير على إنتاج منظم النمو (IAA) أو الذي أثبت في بعض الحالات حفز البكتيريا على مقاومة الإجهاد و استمرار النمو و التكاثر و أرقام الجدول / ٧ / تبين هذه النتيجة .

لجدول رقم / ٧ / بوضوح كمية الاندول أستيك أسيد في التربة مقدرة بالملغ / ١٠٠ غرام تربة

L.S.D 1 %	% ٥٠	% ٤٠	% ٣٠	% ٢٠	شاهد	
	٠.٦٦	٠.٧٩	٠.٩٣	١.٢٢	١.٩٦	موعد ١
	٠.٥٩	٠.٨١	٠.٨٦	١.١٣	١.٧٣	موعد ٢
	٠.٦١	٠.٧٨	٠.٩٥	١.٣٣	١.٨١	موعد ٣
٠.١٣	٠.٦٢	٠.٧٩	٠.٩١	١.٢٢	١.٨٣	X

ما يلاحظه في نتائج هذا الجدول أن قيم الاندول استيك أسيد مرتفعة في معاملة الشاهد و بلغت القيمة المتوسطة (١.٨٣) ملغم / ١٠٠ غ تربة و انخفضت عند خلط التربة النظيفة بالتربيه الملوثة بالنفط عند نسبة الخلط (٢٠ %) و بلغت قيم (١.٢٢) و يفارق معنوي ذي دلالة احصائية واضحة و توالى الانخفاضات في قيم الاندول استيك أسيد مع زيادة نسب الخلط بالتربيه الملوثة من ٢٠ % إلى ٣٠ % وحتى ٥٠ % و بلغت أقل قيمة متوسطة (٠.٦٢) ملغم / ١٠٠ غ تربة عندما كانت نسبة الخلط بالتربيه الملوثة بالنفط الخام ٥٠ % .

و هذا يقود إلى استنتاج هام أن قيم الاندول استيك أسيد و التي بلغت دور محفز لنمو البكتيريا قد انخفضت بعكس الفينولات و بفارق معنوية واضحة مقارنة مع الشاهد .

قياس نسبة الكربون / الأزوت (C/N) :

تعتبر نسبة C/N مؤشراً خصوصياً حيوياً ذا دلالة (ميكروبيولوجية - عضوية) و هذا المؤشر يعبر العيزان الحقيقي للميكروبات سواء زيادة أو نقصاناً تبعاً لنوع الإضافة العضوية و هنا يعبر النفط الخام إضافة عضوية (كونه مركب كربوهيدراتي) و الجدول رقم (٩) يعبر عن قيم (C/N) للتربيه وفقاً لمعاملات التجربة .

الجدول (٩) نسبة الكربون إلى الأزوت في تربة التجربة (C/N)

L.S.D 1 %	% ٥٠	% ٤٠	% ٣٠	% ٢٠	شاهد	
٠.٠٠٧	٠.٠٤٤	٠.٠٣٩	٠.٠٣٨	٠.٠٢٩	٠.٠٢٣	N
٠.١٢١	٢.٤٣	٢.٢٨	١.٩٨	١.٨٤	٠.٨٣	C
—	١:٥٤	١:٥٨	١:٥٢	١:٦٣	١:٣٦	C/N

نلاحظ من خلال قيم هذا الجدول أن النصف الخام الذي لوث التربة لم يستطع رفع نسبة (C/N) إلى قيمة عالية إذا ما قورن كسماد عضوي مع قش قمح أو سماد عضوي غير متاخر بل لعبت المركبات الكربوهيدراتية دوراً غير ملبي في رفع نسبة (C/N) لأن هذه النسبة إذا ارتفعت في التربة سوف تؤدي إلى خلل حيوي في أعداد و نشاط البكتيريا و هذا مالم يتم ملاحظته في هذه التجربة و بقيت نسبة (C/N) في الحنود المعقولة للتراب و خصوصاً إذا كانت في مرحلة الاستصلاح .

الاستنتاجات:

- إن مثل هذه الدراسة التي اعتمدت على خلط تربة ملوثة / وزن إلى تربة نظيفة / وزن و لكن بنساب متساوية (٢٠ % ، ٣٠ % ، ٤٠ % ، ٥٠ %) يهدف لاستصلاح هذه التربة الملوثة بالنفط الخام اعتمد على أسم حيوية هامة أفادت بجملة من النتائج
- ١ - إن نسبة الخلط ٢٠ % تربة ملوثة و كذلك النسبة ٣٠ % اعتبرت في نتائج هذه التجربة تراكيز منشطة لأعدا البكتيريا و الفطريات في التربة .
 - ٢ - اعتبرت نسبة الخلط ٤٠ % ، ٥٠ % نسب مثبتة للنمو البكتيري و الفطري.
 - ٣ - قدرة الفطريات على التحلل مع مرور الزمن حتى التراكيز ٤٠ % إذ أبدت الفطريات قدرة أكبر على تحمل التراكيز العالية من الخلط ٤٠ % ولكن في الموعد الثاني للقياس .
 - ٤ - أثبتت الاكتينومايس دوراً فعالاً في استصلاح الترب الملوثة و ازدادت حتى في نسب الخلط ٤٠ % ، ٥٠ % و هذا استنتاج هام مستقبلي للاستصلاح الفيزيائي أي يمكن استخدامها بشكل مباشر في التربة بهدف الاستصلاح و التنقية .
 - ٥ - قياس CO₂ أبدى تراكم لكميته بالرغم من انخفاض أعداد الميكروبات في أغلب التراكيز وهذا يعود إلى أن تحلل المركبات النفطية يبقى مستمراً مما أدى إلى تراكم CO₂ في التربة .
 - ٦ - تتشكل الفينولات في ترب التجربة بشكل مطرد مع زيادة نسب الخلط و بفارق معنوية ذات دلالة إحصائية مقارنة مع الشاهد . وهي فعل ميكروبي للإجهاد الكيماوي .
 - ٧ - انخفاض تراكيز الأندول استيك أسيد بشكل عكسي مع الفينولات مع زيادة نسب الخلط .
 - ٨ - التأكيد على أهمية قياس الفينولات كمؤشر حيوي لبيان تأثير الإجهاد الكيماوي الذي مارسه النفط الخام على الجزء الحيوي من التربة .

٩ - بالرغم من زيادة كمية المادة الكربوهيدراتية فقد جاءت قيم N/C منخفضة مما أدى إلى زيادة في أعداد الميكروبات بسبب ضيق النسبة و التي تراوحت بين المعاملات ٢٠ % - ٥٠ % على التوالي (١:٣٦ ، ١:٥٤) مقارنة مع الشاهد (١:٣٦) .

النوصيات:

- ١ - إن نسب خلط تربة ملوثة بالمشتقات النفطية بهدف استصلاحها فيزيائياً بنسبة ٢٠ ، ٣٠ ، ٤٠ % مع تربة زراعية نظيفة ٨٠ ، ٧٠ % على التسلسل تعتبر نسب غير ضارة بخصوصية التربة (حيوياً) مع التحفظ على التحليل الكيماوي (دراسة المعادن الثقيلة) ٢٠.
- ٢ - يمكن أن نوصي باستخدام الأكتينومايس في الاستصلاح الحيوى للترب الملوثة بنسوب عالية إذ تعتبر الأكتينومايس أكثر المجاميع الميكروبية قدرة على التحلل في نسبة حتى ٥٠ % تربة ملوثة.
- ٣ - نوصي بقياس الفينولات الكلية كمؤشر على رد فعل الميكروبات للإجهاد الكيماوى الذي تمارسه المركبات النفطية على ميكروبات التربة إضافة إلى ما هو متبع في الدراسات السابقة و هو قياس CO_2 .

REFERENCES

- 1-Ashraf M and Harris PJC (2004) **Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants.** Plant Sci 166: 13-16.
- 2 - ATSDR, 1995. **Toxicological Profile for Fuel Oils.** Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, Georgia.
- 3- Barathi, S. and N. Vasudevan, 2001. **Utilization of petroleum hydrocarbons by Pseudomonas fluorescence isolated from a petroleum-contaminated soil.** Environ. Int., 26: 413-416.
- 4 - Bhattacharya, D., P.M. Sarma, S. Krishnan, S. Mishra and B. Lal, 2002. **Evaluation of genetic diversity among Pseudomonas citronellolis stains isolated from oily sludge contaminated sites.**
- 5 - Brito, E.M.S., R. Guyoneaud, M. Goni-Urriza, A. Ranchou-Peyruse and A. Verbaere et al., 2006. **Characterization of hydrocarbonoclastic bacterial communities from mangrove sediments in Guanabara Bay, Brazil.** Res. Microbiol., 157: 752-762.
- 6 - Butler, C.S. and J.R. Mason, 1997. **Structure and function analysis of the bacterial aromatic ring-hydroxylating dioxygenases.** Adv. Microb. Physio., 38: 47-84.
- 7 - Chaillan, F., A. Le Fleche, E. Bury, Y. Phantavong, P. Grimont, A. Saliot and J. Oudot, 2004. **Identification and biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degrading microorganisms.** Res. Microbiol., 155: 587-595.
- 8- Chaillan, F., A. Le Fleche, E. Bury, Y. Phantavong, P. Grimont, A. Saliot and J. Oudot, 2004. **Identification and biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degrading microorganisms.** Res. Microbiol., 155: 587-595.
- 9-Chapman HD and Pratt, PE (1978). **Methods of analysis for soil. Plant and waters** Uni of California, Div. Agr. Sc Priced publication L 043.

- 10 - Edewor, T.I., O.O. Adelowo and T.J. Afolabi, 2004. **Preliminary studies into the biological activities of a broad spectrum disinfectant formulated from used engine oil.** Poll. Res., 234: 581-586.
- 11 - Eriksson, M., G. Dalhammer and A.K. Borg-Karlson, 1999. **Aerobic Degradation of A Hydrocarbon Mixture in Natural Uncontaminated potting Soil by Indigenous Microorganisms at 20C⁰ and 6C⁰ .** Applied Microbiol. Biotechnol., 51: 532-535.
- 12 - Giddens, J. 1976. **Spent motor oil effects on soil and crops.** J. Environ. Qual. 5:179-181.
- 13 - Harris, J.O. **Petroleum Wastes in the Soil** (on file).
- 14-Iqbal A and Vaid F (2009) **Determination of benzoic acid and salicylic acid in commercial Benzoic and salicylic acid ointments by spectrophotometer method.** J Pharm Sci 22: 18-22.
- 15-Jackson, Ml (1973) **Soil chemical analysis** constable and Co LTD. London .
- 16 - Jain, P.K., V. K. Gupta, H. Pathak, M. Lowry and D.P. Jaroli, 2010. **Characterization of 2T engine oil degrading indigenous bacteria, isolated from high altitude (Mussoorie) India.** World J. Microbiol. Biotechnol., 26: 1419-1426.
- 17 - Johnston, R. 1970. **The decomposition of crude oil residues in sand columns.** J. Mar. Biol. Ass. 50:925-937.
- 18- Jensen, V. 1975. **Decomposition of oily wastes in soil.** Proc. 1st Int. Conf. Biodegradation Humification, Nancy, 1974. pp. 278-287
- 19 - Jones, J.G. and M.A. Edington. 1968. **An ecological survey of hydrocarbon-oxidizing micro-organisms.** J. Gen. Microb. 52:381-390.

- 20 - Kiyohara, H., N. Takizawa and K. Nagao, 1992. **Natural distribution of bacteria metabolizing many kinds of polycyclic aromatic hydrocarbons.** J. Ferment. Bioeng., 74: 49-51.
- 21 - Llanos, C. and A. Koller. 1976. **Changes in the flora of soil fungi following oil waste application.** OIKOS 27:377-382.
- 22 - Lliros, M.M., X. Munil, A. Sole, M. Martinez-Alonso, E. Diestra and I. Esteve, 2003. **Analysis of Cyanobacteria Biodiversity in Pristine and Polluted Microbial Mats in Microcosmos by Confocal Laser Scanning Microscopy CLSM.** In: Science, Technology and Education of Microscopy: An Overview, Mendez-Vilas, A. (Ed.). Badjz. Formt., Madhu A, pp: 483- 489.
- 23- McGill, W.B. 1977. **Soil Restoration following oil spills - a review,** J. of Can. Petrol. Techn. April- June: 60-67.
- 24 - McGill, W.B. 1978. **Oil spills.** Crops and Soils Magazine , pp. 6~9.
- 25 - McGill, W.B., 1980. **Factors Affecting Oil Degradation Rates in Soil.** In: Disposal of Industrial and Oily Sludges by Land Cultivation, Shilesky, D.M. (Ed.). Resource Systems and Management Association, Northfield, New Jersey, pp: 103-122.
- 26 - Mishra, S., J. Jyot, R.C. Kuhad and B. Lal, 2001. **Evaluation of inoculum addition to stimulate in situ bioremediation of oily-sludge-contaminated soil.** Applied Environ. Microbiol., 67: 1675- 1681
- 27 - Prince, R., 1993. **Petroleum spill bioremediation in marine environments.** Crit. Rev. Microbiol., 19: 217-242.
- 28 - Pathak, H., P.K. Jain, D.P. Jaroli and M. Lowry, 2008. **Degradation of phenanthrene and anthracene by Pseudomonas strain, isolated from coastal area.** Bioremed. J., 12: 111-116.
- 29 - Prenafeta-Boldu, X.F., A. Kuhn, L. D. mam, H. Anke, J.W. Van Groenestijn and J.A.M. De Bont, 2001. **Isolation and characterization of fungi growing on volatile aromatic hydrocarbons as their sole carbon and energy source.** Mycol. Res., 4: 477-484.

- 30 - Raymond, R.L., Hudson, J.O. and V.W. Jamison, 1976. **Oil degradation in soil.** Appl. and Env. Microb. 31:522-535.
- 31 - Raisbeck, J.M. and M.E. Mohtadi. 1974. **The environmental impacts of oil spills on land in the arctic regions. Water, Air and Soil Pollut.** 3:195-208
- 32 - Rowell, M.J. 1975. **Restoration of soil spills on agricultural soils. In: Proc. conf. The Environmental Effects of Oil and Salt Water Spills on Land .** Alberta Environment Research Secretariat, Edmonton, 1975. pp. 250-276.
- 33- Schwendinger, R.B. 1968. **Reclamation of soil contaminated with oil.** J. Inst. of Petrol. 54:182-197.
- 34 - Udo, E.J. and A. A. A. Fayemi. 1975. **The effect of oil pollution of soil on germination, growth and nutrient uptake of corn.** J. Environ. Qual. 4:537-540.
- 35 - Vanloocke, R., DeBorger, R., Voets, J. P. and W. Verstraete. 1975. **Soil and groundwater contamination by oil spills; problems and remedies.** Int. J. Environ. Stud. 8:99-111.
- 36 - Wang, Z., M. Fingas, S. Blenkinsopp, G. Sergy and M. Landriault et al., 1998. **Comparison of oil composition changes due to biodegradation and physical weathering in different oils.** J. Chromatogr. A., 809: 89-107.

**The Role Of The Physical Mix Rates Of Soils as A
Method Of Reclamation Of Petroleum Polluted Soils
and Its Effect On Some Soil Characteristics**

prof.Dr. Ali. Amrir

Dr.Doc Kasem Al-faraj

Eng.agr. Kefah sharaf Al-Deen

Abstract:

Was carried out this study to demonstrate the possibility of mixing physical contaminated soils soils clean in solving oil pollution in the soil problem by estimating some vital activities of soil microbes . been implemented experience pots with a capacity of 6 kg of mixture dirt composed of soil and river sand by (1 : 3) (Sand: Soil) and then mixed soils pots at different rates from the soil of crude oil contaminated (see 0.20 % and 30% .40 % .50 %) and the seeds sown barley by / 30 / seed per potted and has laboratory microbiological chemical and vital time in three stages and was The mixing ratio of 20% contaminated soil , as well as the ratio of 30% seen in the results of this experiment concentrations doped for prepared bacteria and fungi in soil considered mixing ratio of 40 %, 50% ratios inhibitor of bacterial growth and mushrooms, and the ability of fungi to decompose over time even focus a 40% measurable actinomays have proved instrumental in the reclamation of contaminated soil and grew up in the mixing ratios of 40% and 50 % and this is an important conclusion future Any physical reclamation can be used directly in the soil in order to reclamation and purification . And Co₂ measurement showed an accumulation of quantity despite the decline in the number of microbes in the majority of concentrations and this is due to the decomposition of the oil compounds remained constant , which led to the accumulation of Co₂ in the soil . As phenols are formed in the soils experience steadily with increasing mixing ratios and significant differences were statistically significant compared with witness .

Keyword : oil pollution , physical mixing , measuring Co₂, total phenols , indole acetic