



Isolierung und Charakterisierung von zwei thermotoleranten Kerosin abbauenden Bakterien aus ölig kontaminiertem Boden

Von
Wesam A.Z. alther*

Received 07 June, 2023; Revised 19 June, 2023; Accepted 21 June, 2023 © The author(s) 2023.
Published with open access at www.questjournals.org

Zusammenfassung

Sieben bakterielle Isolate wurden aus Böden isoliert, die mit gebrauchten Dieselmotorenölen kontaminiert waren, die bei hoher Temperatur verwendet worden waren, von diesen; zwei waren gramnegative Bakterien und die anderen fünf waren grampositiv. Alle diese Bakterien wurden auf Wachstum in Bushnell & Haas-Brühe (BH-Brühe) mit Kerosin als Kohlenstoffquelle bei verschiedenen Temperaturen (25 – 48 °C) getestet, von den sieben Isolaten wuchs eines gut und zeigte signifikantes Wachstum von (37 – 48 °C) , ein weiteres Isolat wächst gut von (37–42 °C), die anderen fünf Isolate verloren nach dem ersten Tag der Inkubation bei allen getesteten Temperaturbedingungen ihre Lebensfähigkeit. Die zwei Isolate, die in BH-Brühe mit Kerosin wachsen konnten, wurden als *Sphingomonas spiritivorum* und *Pseudomonas chlororaphis* klassifiziert .

Schlüsselwörter

Thermotolerante Bakterien Biodeterioration, aerobe Bakterien, Kerosinabbau. Biologischer Abbau, Kohlenwasserstoffe, mit Kohlenwasserstoffen kontaminierter Boden, bakterielle Verschlechterung
Korrespondierender Autor; Prof. Dr. Wesam Altaher; drwesamaltaher@gmail.com

Einführung

Seit Beginn der Geschichte haben Mikroben Strukturen und Materialien nachteilig beeinflusst, waren in der Anfangszeit organische Materialien wie Stoffe, Holz, Farben, Klebstoffe und Schmiermittel die Hauptproblembereiche, sind es heute die hauptsächlich verwendeten organischen Materialien Kohlenwasserstoffe oder deren Produkte, und dies hat sich als die Hauptquelle mikrobieller Probleme durchgesetzt, und heute ist die Kohlenwasserstoffverunreinigung, die aus den Aktivitäten im Zusammenhang mit der petrochemischen Industrie resultiert, eines der größten Umweltprobleme. Eine große Anzahl von Bakterienarten ist in der Lage, eine breite Palette von Kohlenwasserstoffen zu oxidieren, einschließlich gesättigter oder ungesättigter aliphatischer Verbindungen, aromatischer, naphthenischer Reihen und anderer Kohlenwasserstoffgemische, zu denen laut Makut und Ishaya (1) die am weitesten verbreiteten bakteriellen Kohlenwasserstoffabbauer in absteigender Reihenfolge gehören Gattungen *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Nocardia*, *Arthrobacter* und andere, die Kohlenwasserstoffe abbauen können, einschließlich *Vibrio*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Acinetobacter*, *Aeromonas* und *Alcaligenes*. Bakterien sind die aktivsten Agenten beim Erdölabbau und sie arbeiten als primäre Abbauer, mehrere Bakterien sind sogar dafür bekannt, dass sie sich ausschließlich von Kohlenwasserstoffen ernähren (2). Mancera et al., (3) führten 25 Gattungen von Kohlenwasserstoff abbauenden Bakterien und 25 Gattungen von Kohlenwasserstoff abbauenden Pilzen auf, die aus stark mit Kohlenwasserstoffen verseuchten Böden isoliert wurden, eine ähnliche Zusammenstellung von Maddela et al., (4) umfasste 22 Gattungen von Bakterien und 31 Gattungen von Pilzen. Rosenberg (5) kommentierte, dass die erste Priorität von Bakterien bei der Kohlenwasserstoffnutzung darin besteht, Energie zu gewinnen, und dass sie Kohlenwasserstoffe auf drei verschiedene Arten angreifen können (1) Umwandlung von Kohlenwasserstoff in andere ähnliche und einfache Verbindungen (2) Umwandlung in die Kohlenstoffskelette, aus denen sie bestehen die Zelle (3) vervollständigt die Oxidation zu CO₂ und Wasser, und in allen Fällen hängt

die Geschwindigkeit der Kohlenwasserstoffoxidation von Belüftung, Temperatur, Kettenlänge, Kettenverzweigung und Sättigung oder Ungesättigtheit ab. Kraftstoffhandhabungssysteme sind sehr komplex und an vielen Stellen ist eine Form von mikrobieller Kontamination aus verschiedenen Quellen unvermeidlich. Mikroorganismen kommen auf verschiedene Weise mit Ölprodukten in Kontakt, einschließlich Belüftungs- und Pumpsystemen. Im Allgemeinen ist es sehr schwierig, eine mikrobielle Kontamination zu verhindern Da es bei diesen Produkten praktisch unmöglich ist, während ihres Transports und ihrer Lagerung sterile Bedingungen aufrechtzuerhalten, kommen diese Mikroorganismen, die Kohlenwasserstoffe als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle nutzen können, praktisch überall vor; in Luft, Wasser und Boden (6). Obwohl die Fähigkeit von Bakterien, Kohlenwasserstoffe anzugreifen, seit vielen Jahren bekannt ist, wurde erst kürzlich die Bedeutung ihres Einflusses auf die Qualität von Erdölprodukten erkannt, die viele ihrer Eigenschaften beeinflussen kann, einschließlich ihrer Farbe, Emulsionsstabilität, Geruch, Oktanzahl und Filtrierbarkeit, Wasserverträglichkeit und korrosive Wirkung auf Metalle (7). Im Irak gibt es nur begrenzte Informationen über den mikrobiellen Abbau von Kohlenwasserstoffen; Ziel dieser Arbeit war es, die aus verschmutzten Böden isolierten kultivierbaren Kohlenwasserstoff-Bakterienstämme und ihren Wachstumsverlauf zu untersuchen, indem ihre optimalen Erholungstemperaturen unter Verwendung von Kerosin als einzige Quelle für ihren Kohlenstoff und ihre Energie bestimmt wurden und ob sie es bei hoher Temperatur nutzen können.

Material und Methoden

1- Isolierung von ölabbauenden Bakterien;

Bakterien wurden aus stark kontaminierten Böden mit gebrauchten Diesel- und Motorölen in der Nähe von Automotoren-Wechselölgeschäften in Hilla durch Mischen von 10 g isoliert. Erde mit 100 ml Bushnell-Hass (BH)-Medium in 250-ml-Kolben gegeben und zwei Tage lang bei 37°C in einem Orbitalschüttler-Inkubator bei 170 U/min inkubiert, dann wurde 1 ml der Suspension für dezimale Reihenverdünnungen bis zu 10⁻⁶ Aliquots entnommen von 0,1 ml wurden auf BH-Agar ausgesät, die mit 100 Mikroliter Kerosin bedeckt waren, die Platten wurden bei 37°C für zwei Tage inkubiert, die Kerosin abbauenden individuellen unterschiedlichen isolierten Kolonien wurden einem erneuten Ausstreichen auf anderen Platten der gleichen Medien und Bedingungen unterzogen bis zur Reinheit (8).

2- Auswahl von Kerosin-assimilierenden Stämmen bei festgelegten unterschiedlichen Temperaturen;

Aus den sieben verschiedenen Stämmen, die isoliert worden waren, wurden Bakteriensuspensionen hergestellt, indem eine einzelne Kolonie des Isolats entnommen und in 10 ml BH-Medium suspendiert wurde, 1 ml dieses bakteriellen Inokulums (1 OD 600 Äquivalent) wurde auf 100 ml überführt BH-Medium, das 20 ml Kerosin enthielt, das zuvor durch Filtration durch einen sterilen Millipore-Filter unter Verwendung einer 0,45-Mikron-Membran sterilisiert wurde, Kolben wurden bei 25°C, 30°C, 37°C, 42°C und 48°C bei 170 U/min in einem Inkubationsschüttler inkubiert, wobei eine Kontrolle ohne Bakterienisolat war vorbereitet für jede Reihe von Experimenten, alle Experimente wurden doppelt durchgeführt, die anfänglichen Bakterienzahlen und das nachfolgende Bakterienwachstum in der wässrigen Phase wurden täglich bis zu sieben Tage lang durch die Platten dezimal verdünnungs technik unter Verwendung von Platten mit Tryptose-Blut agar basis (TBAB) überprüft. (9).

3- Identifizierung, Charakterisierung und Standardisierung der Isolate;

Zwei Isolate, die die Fähigkeit zeigten, Kerosin als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle zu assimilieren, wurden mit konventionellen mikrobiologischen und biochemischen Verfahren auf Artniveau identifiziert, die Tests wurden gemäß Bergeys Handbuch der systematischen Archaea und Bakterien durchgeführt (10) und bestätigt durch 16S-rRNA-Sequenzierung (11), während die anderen Isolate nur auf ihrer Gattungsebene identifiziert wurden, wurden die Zellen vor der Verwendung in nachfolgenden Arbeiten auf den McFarland-Nephelometer-Standard von 0,5 standardisiert (12). In allen Fällen wurde 1 % v/v standardisiertes Inokulum entsprechend dem Volumen des Mediums verwendet.

4- Wachstum von *Sphing. spiritivorum* und *Ps. Chlororaphis* in verschiedenen Kerosinverhältnissen;

Aliquots von 1 ml, 5 ml und 10 ml Bakt eriensuspensionen in BH-Brühe wurden zu 100 ml Kerosin in Erlenmeyerkolben gegeben, was Verhältnisse v/v von 1:100, 5:100 und 10:100 ergab, wobei die Kolben *Sphing. spiritivorum* wurden bei 48°C inkubiert und das für *Ps. Chlororaphis* wurden bei 42°C inkubiert, anfängliche lebensfähige Bakterienpopulationen wurden bestimmt und dann wurde das Wachstum eine Woche lang täglich unter Verwendung der Plattenverdünnungsfrequenztechnik zur Schätzung der Bakterienzahl geschätzt.

Ergebnisse

1- Isolierung und Identifizierung der Isolate

Die Ergebnisse der Identifizierungstests an den Isolaten sind in Tabelle 1 gezeigt, alle durchgeführten Tests wurden bei der besten Erholungstemperatur jedes Bakteriums, 42°C für *Ps. Chlororaphis*, 48°C für *Sphing. spiritivorum* und 37°C für die anderen .

2- Bestimmung der optimalen Erholungstemperatur der Isolate

Fünf der sieben Isolate zeigten eine ungefähre optimale Erholungstemperatur bei 37 °C, während die anderen beiden Bakterien (*Ps. chlororaphis* und *Sphing. spiritivorum*) eine optimale Erholungstemperatur bei 42 °C bzw. 48 °C hatten, die Fähigkeit jedes Isolats, bei unterschiedlichen Temperaturen zu wachsen und die optimale Temperatur für maximales Wachstum mit den anfänglichen und endgültigen Zellpopulationszahlen sind in Tabelle 2 gezeigt, *Sphing. spiritivorum* kann in einem Bereich von 25 - 48 °C mit der höchsten lebensfähigen Anzahl an Kolonien auf Tryptose-Blutagarbasis (TBAB) bei 48 °C gezüchtet werden, fünf Isolate (*Nocardia* sp., *Rhodococcus* sp., *Arthrobacter* sp., *Corynebacter* sp., und *Micrococcus* sp.) wuchsen bei 42°C und 48°C nicht, ergaben aber bei 37°C die höchste lebensfähige Anzahl an Kolonien, während *Ps. chlororaphis* ergab die höchste lebensfähige Anzahl an Kolonien bei 42 °C, und ihr Wachstumsbereich lag zwischen 25 – 42 °C.

3- Wachstum in BH-Brühe und Kerosin bei verschiedenen Temperaturen;

Die Wachstumsergebnisse dieser Experimente sind in Tabelle 3 gezeigt, die Isolate von *Nocardia* sp., *Rhodococcus* sp., *Arthrobacter* sp. *Corynebacter* sp. und *Micrococcus* sp. zeigten sichtbares Wachstum auf TBAB nach Inkubation in BH-Brühe mit Kerosin nach dem ersten Tag der Inkubation bei 37°C und konnten bei 42°C und 48°C nicht wachsen, während die Isolate von *Sphing. spiritivorum* und *Ps. chlororaphis* wachsen sehr gut und lieferten signifikante Wachstumserträge, *Sphing. spiritivorum* erreichte seine maximale Wachstumsausbeute ab dem zweiten Tag der Inkubation bei 48°C und lieferte bei 42°C eine höhere Wachstumsausbeute als bei 37°C. Die optimale Wachstumstemperatur für *Ps. chlororaphis* in BH-Brühe mit Kerosin war 42°C und es ergab seine maximal lebensfähige Wachstumsausbeute nach 3 Tagen Inkubation und produzierte eine höhere Wachstumsausbeute bei 42°C als bei 37°C.

4- Wachstum von *Sphing. spiritivorum* und *Ps. Chlororaphis* bei unterschiedlichen Verhältnissen von Kerosin;

Die maximale Wachstumsausbeute trat nach 2 Tagen Inkubation bei 48°C für *Sphing. spiritivorum* und die Erträge waren bei jedem Verhältnis 1:100, 5:100 und 10:100 fast ähnlich, während bei 42°C maximale Wachstumserträge nach 3 Tagen für *Ps. Chlororaphis* erzielt wurden wie in Tabelle 4 gezeigt, ergaben beide Isolate ähnliche Ergebnisse dahingehend, dass sie von Änderungen im Verhältnis von wässriger zu nichtwässriger Phase unbeeinflusst blieben, obwohl es einen sehr leichten Anstieg der Anzahl gab, als das Verhältnis zunahm, jedoch *Sphing. spiritivorum* hatte einen relativ höheren Ertrag als *Ps. Chlororaphis* .

Diskussion

Sieben bakterielle sp. wurden aus mit Kraftstoff kontaminiertem Boden isoliert, nur zwei von ihnen (*Sphing. spiritivorum* und *Ps. chlororaphis*) waren thermotolerant und konnten Kerosin als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle nutzen, Kerosin enthält normalerweise C10-C16-aliphatische Kohlenwasserstoffe und Frostschutzzusätze, die dies können besitzen biostatische Eigenschaften, aber es wurde gezeigt, dass einige Mikroorganismen in der Lage sind, dem Kerosin zugesetzte Frostschutzmittel abzubauen (13). Mikroorganismen, die oberhalb von 40 °C optimal wachsen, werden als Thermophile bezeichnet. Die meisten bekannten Thermophilen sind moderat und zeigen eine obere Temperaturgrenze des Wachstums zwischen 50 und 70 °C, Thermophile, überwiegend Bazillen, besitzen ein erhebliches Potenzial für die Umwandlung von Umweltschadstoffen (14,15). Die mikrobielle Wirkung wird unter anderem direkt von mehreren biotischen und abiotischen Parametern beeinflusst; Besondere Aufmerksamkeit muss der Art und Konzentration des kontaminierten Öls, der Art der kontaminierten Umgebung, den vorherrschenden klimatischen Bedingungen, dem pH-Wert, den Stickstoff- und Phosphorquellen, den Spurenelementen sowie der Temperatur gelten, die eine wichtige Rolle spielen, indem sie die Chemie direkt beeinflussen die Schadstoffe und auch die Physiologie und Diversität der mikrobiellen Flora, daher sind bei erhöhten Temperaturen höhere Reaktionsgeschwindigkeiten aufgrund kleinerer Grenzschichten zu erwarten (16). Es gibt viele Möglichkeiten, die optimale Temperatur von Bakterien zu bestimmen, wie z. B. die Schätzung der Gesamtausbeute an Zellen, die Atmungs- oder Fermentationsrate, die Verzögerungszeit, das im Abgas eines Bioreaktors gemessene CO₂ und die Sporenproduktion, aber die häufigste Bedeutung der optimalen Temperatur für Bakterien ist die Temperatur, bei der die spezifische Wachstumsrate maximal ist (7,17) , Mona et al., (18) zeigten, dass bei höheren oder niedrigeren Temperaturen die Wachstumsrate niedriger ist, und kommentierten auch, dass die Rate der Proteinsynthese und Die Rate der Stoffwechselprozesse nimmt ab, wenn die Temperatur unter die optimale Temperatur für das Wachstum gesenkt wird. Die scheinbare Lebensfähigkeit einer Bakteriensuspension kann je

nach Temperatur variieren, bei der das Wachstumsmedium inkubiert wird. Das anfängliche Experiment ergab, dass die größte Erholung bei unterschiedlichen Temperaturen für jedes Isolat auftrat, um folglich die ungefähre Temperatur für optimales Wachstum zu bestimmen. Bei den Isolaten wurden die Wachstumserträge in unterschiedlichen Temperaturbereichen gemessen, fünf der Isolate hatten ihre optimale Temperatur bei 37 °C und die anderen zwei (*Ps. Chlororaphis* und *Sphing. spiritivorum*) hatten ihre optimale Temperatur bei 42 °C bzw. 48 °C, es kann also sein. Es ist ersichtlich, dass bei diesen Temperaturen die höchste Ausbeute an lebensfähigen Zellen auftritt. Varjani (19) berichtete, dass unterschiedliche Temperaturen unterschiedliche Wachstumserträge erzeugten, wenn sie in Kerosin und BH-Brühe gezüchtet wurden, außerdem ergaben unterschiedliche Medien unterschiedliche Erträge, und dies lag an der unterschiedlichen Kohlenstoffquelle, die in jedem Fall verwendet wurde (20). Alle Isolate wurden auf ihre Fähigkeit getestet, Kerosin mit BH-Brühe zu assimilieren, nur *Sphing. spiritivorum* und *Ps. Chlororaphis* in der Lage sind, es bei Temperaturen zwischen 37–48 bzw. 37–42 °C zu assimilieren, zeigten Xu et al. (21), dass einige Bakterien, die nicht in der Lage sind, Kohlenwasserstoffe zu verwerten, im Kraftstoff auf Stoffwechselnebenprodukten von Kohlenwasserstoff verwertenden Bakterien wachsen könnten, stimmt dies mit überein die Aussage von Boto et al. (22), dass die Akklimation einer mikrobiellen Gemeinschaft an ein Substrat häufig zur gleichzeitigen Akklimation an einige, aber nicht alle strukturell verwandten Moleküle führt, außerdem haben einzelne Mikrobenarten die Fähigkeit, auf mehrere strukturell ähnliche Substrate einzuwirken, und wirken daher leichter auf ihren Analoga nach der ersten Zugabe. Suganthi et al., (23) zeigten anhand ihrer Experimente, dass einige der Bakterien, die aus dem in den Kraftstofftanks vorhandenen Schlamm isoliert wurden, in Kerosin- und Mineralsalzmedien wachsen konnten, während andere Isolate dies nicht konnten, und sie gaben an, dass Bakterien dies taten, weil sie es waren in der Lage, Kerosin als einzige Kohlenstoffquelle zu nutzen. In dieser Arbeit wurden bakterielle Isolate von *Sphing. spiritivorum* und *Ps. Chlororaphis* in der Lage waren, Kerosin zu verwerten, diese Arten besitzen katabolische Enzyme für Kohlenwasserstoffe, und was noch wichtiger ist, sie haben eine immense Fähigkeit zur Anpassungsänderung (24). Es wird angenommen, dass diese Anpassungsfähigkeit durch ihre inhärenten Regulationsmuster gefördert wird, die dies ermöglichen zufällige Induktion verschiedener katabolischer Wege, die zu neuen Mustern des biologischen Abbaus führen, und dies entspricht der hohen Abbaufähigkeit und Allgegenwärtigkeit, die mit diesen Bakterientypen verbunden ist, da es den biologischen Abbau sowohl von Boden- als auch von Wasserumgebungen betrifft, die mit Erdöl oder seinen Produkten (25) und allen anderen Bakterien verschmutzt sind getestet, obwohl sie aus mit Kohlenwasserstoffen verunreinigtem Boden isoliert wurden, kein Kerosin verwerten konnten, fehlte diesen Bakterien wahrscheinlich die für die anfängliche Oxidation erforderlichen Enzyme, die Kohlenwasserstoffe verwerten. Sie könnten jedoch in Systemen wachsen, in denen Kohlenwasserstoffe verwertende Bakterien vorhanden waren, um die anfängliche Oxidation durchzuführen in der Lage, das sauerstoffhaltige Stoffwechselnebenprodukt zu verwerten, das von den Kohlenwasserstoff verwertenden Bakterien produziert wird (26) Deepti und Mehta (27) fanden heraus, dass nur drei von dreiunddreißig Bakterien, die aus Kraftstofftanks isoliert wurden, Kraftstoffverwerter waren, der Rest wurde in zweifelhafte Kraftstoffverwerter, Kraftstoffüberlebende und zufällige Kontaminanten unterteilt. Die Brennstoffüberlebenden und die zweifelhaften Brennstoffnutzer konnten in Mischkulturen von Isolaten überleben, waren jedoch nicht in der Lage, als Reinkulturen zu überleben. Diese Organismen nutzen Stoffwechselnebenprodukte, die durch die primäre Kohlenwasserstoffoxidation durch die Brennstoffnutzer erzeugt wurden, andere gaben jedoch an, dass sie Wachstum annehmen würden von Mikroorganismen in Gegenwart eines Erdölprodukts als „vorheriger“ Beweis für die Kohlenwasserstoffnutzung, ist nicht gültig (28,29).

Tabelle 1; Analytischer Profilindex, der zur Identifizierung der isolierten Stämme verwendet wird.

Stämme Figuren	<i>Nocardia</i> <i>sp.</i>	<i>Rhodococcus</i> <i>sp.</i>	<i>Arthrobacter</i> <i>sp.</i>	<i>Corynbacter</i> <i>sp.</i>	<i>Micrococcus</i> <i>sp.</i>	<i>Sphing.</i> <i>Spiritivorum</i>	<i>Ps.</i> <i>Chlororaphis</i>
Gram-Fleck	+	+	+	+	+	--	--
Glucose fermentation	+	--	--	--	--	+	+
Urease Produktion	+	+	+	+	+	+	--
Gelatine	+	--	--	--	--	--	--
Oxidase	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	--	--	--	--	--	+
Mannose	+	--	--	--	--	--	--
Maltose	+	--	--	--	--	--	--
Zitrat	+	--	+	+	+	+	+
Ribose	+	--	+	+	+		
Galaktose	+	--	--	--	+		
Sorbit	+	--	+	+	+		
Rhamnose	+	+	--	--	--		
Dulcitol	+	--	--	--	--		

Isolierung und Charakterisierung von zwei thermotoleranten Kerosin abbauenden Bakterien aus ..

Inosit	+	+	+	+	--		
Melibiose	+	--	--	--	--		
Trehalose	+	--	--	--	+		
Glykogen	+	--	--	--	--		
Beta galactosidase	+	--	+	+	+	+	--
N-acetyl-glucosamin assimilation	+	--	+	+	+	+	--
Capronat assimilation	--	--	--	--	--	--	+
Adipat assimilation	+	--	+	+	+	+	--
Phenyacetat assimilation	+	--	+	+	+	+	--
B-Methyl-Xylosid	+	--	--	--	--		
α -Methyl-D-mannosid	+	--	--	--	--		
β -gentiobiose	+	--	--	--	--		
2Keto gluconat	+	--	--	--	+		
5Keto gluconate	+	--	--	--	--		
Adipat assimilation	+	--	+	+	+	+	--
Phenyacetat assimilation	+	--	+	+	+	+	--
B-Methyl-Xylosid	+	--	--	--	--		
α -Methyl-D-mannosid	+	--	--	--	--		
β -gentiobiose	+	--	--	--	--		
2Keto gluconat	+	--	--	--	+		
5Keto gluconate	+	--	--	--	--		

Notiz; die physiologischen Tests unterschieden sich je nach Grammstatus der Stämme.

Tabelle 2; Optimale Erholungstemperaturen der Isolate mit ihren Anfangs- und Endpopulationszahlen auf TBAB.

Isoliert	Inkubations temperaturen (C)	Initial bevölkerung Zelle/ml	Optimale Temp. für maximales Wachstum	Finale bevölkerung Zelle/ml
<i>Sphing. Spiritivorum</i>	25	7.6 X10 ²	48C	5.2X10 ²
	30	7.6 X10 ²		3.3X10 ³
	37	7.6 X10 ²		4.3X10 ⁴
	42	7.6 X10 ²		9.2X10 ⁵
	48	7.7 X10 ²		8.1X10 ⁷
<i>Nocardia sp.</i>	25	7.4 X10 ²	37C	8.1X10 ³
	30	7.4 X10 ²		4.2X10 ⁴
	37	7.4 X10 ²		1.3X10 ⁷
	42	7.5 X10 ²		Zero
	48	7.5 X10 ²		Zero
<i>Rhodococcuc sp.</i>	25	3.8 X10 ²	37C	8.2X10 ³
	30	3.8 X10 ²		8.0X10 ⁴
	37	3.9 X10 ²		5.4X10 ⁷
	42	3.8 X10 ²		Zero
	48	3.9 X10 ²		Zero
<i>Arthrobacter sp.</i>	25	4.2 X10 ²	37C	7.2X10 ³
	30	4.2 X10 ²		4.5X10 ⁴
	37	4.2 X10 ²		1.2X10 ⁷
	42	4.2 X10 ²		Zero
	48	4.1 X10 ²		Zero
<i>Corynebact. Sp</i>	25	4.1 X10 ²	37C	3.2X10 ³
	30	4.1 X10 ²		5.1X10 ⁴
	37	4.2 X10 ²		1.2X10 ⁷
	42	4.1 X10 ²		Zero
	48	4.1 X10 ²		Zero
<i>Micrococcus sp</i>	25	5.4 X10 ²	37 C	5.5X10 ³
	30	5.4 X10 ²		3.7X10 ⁴
	37	5.4 X10 ²		3.4X10 ⁷
	42	5.4 X10 ²		Zero
	48	5.5 X10 ²		Zero
<i>Ps. Chlororaphis</i>	25	3.5 X10 ²	42C	5.2X10 ²
	30	3.5 X10 ²		3.8X10 ³
	37	3.5 X10 ²		5.1X10 ⁴
	42	3.6 X10 ²		8.2X10 ⁷
	48	3.6 X10 ²		Zero

Tabelle 3; Wachstum der Bakterienisolate in BH-Brühe mit Kerosin als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle bei verschiedenen Temperaturen

Inkubations temperaturen (C)	Inkubation Zeit (Tage)	<i>Sphing. Spiritivorum</i>	<i>Nocardia sp.</i>	<i>Rhodococcus sp.</i>	<i>Arthrobacter sp.</i>	<i>Corynebact sp.</i>	<i>Micrococcus sp.</i>	<i>Ps. chlororaphis</i>
25	1	+	+	+	+	+	+	+
30		+	+	+	+	+	+	+
37		+	+	+	+	+	+	+
42		+	--	--	--	--	--	++
48		++	--	--	--	--	--	--
25	2	+	--	--	--	--	--	+
30		+	--	--	--	--	--	+
37		+	--	--	--	--	--	+
42		++	--	--	--	--	--	++
48		+++	--	--	--	--	--	--
25	3	+	--	--	--	--	--	+
30		+	--	--	--	--	--	+
37		+	--	--	--	--	--	++
42		++	--	--	--	--	--	+++
48		+++	--	--	--	--	--	--
25	4	+	--	--	--	--	--	+
30		+	--	--	--	--	--	+
37		+	--	--	--	--	--	++
42		++	--	--	--	--	--	+++
48		+++	--	--	--	--	--	--
25	5	+	--	--	--	--	--	+
30		+	--	--	--	--	--	+
37		+	--	--	--	--	--	++
42		++	--	--	--	--	--	+++
48		+++	--	--	--	--	--	--
25	6	+	--	--	--	--	--	+
30		+	--	--	--	--	--	+
37		++	--	--	--	--	--	++
42		+++	--	--	--	--	--	+++
48		+++	--	--	--	--	--	--
25	7	+	--	--	--	--	--	+
30		+	--	--	--	--	--	+
37		++	--	--	--	--	--	++
42		+++	--	--	--	--	--	+++
48		+++	--	--	--	--	--	--

-- ; kein Wachstum, + ; leichtes Wachstum, ++ ; moderates Wachstum, +++ ; üppiges Wachstum.

Tabelle 4; Wachstum von *Sphing. Spiritivorum* und *Ps. Chlororaphis* in BH-Brühe mit unterschiedlichen Kerosinverhältnissen.

Isoliert	Inkubations temperaturen (C)	Kerosin verhältnis	Inkubations zeit für maximales Wachstum (Tag)	Initial Bevölkerung Nummer	Maximal Ertrag Nummer
<i>Sphing. Spiritivorum</i>	48	1: 100	2	3.1X10 ⁴	5.7X10 ⁸
	48	5: 100	2	3.1X10 ⁴	5.9X10 ⁸
	48	10:100	2	3.2X10 ⁴	6.0X10 ⁸
<i>Ps. Chlororaphis</i>	42	1: 100	3	3.3X10 ⁴	3.6X10 ⁸
	42	5: 100	3	3.4X10 ⁴	3.8X10 ⁸
	42	10:100	3	3.2X10 ⁴	3.8X10 ⁸

Verweise ;

Notiz ; Alle Originalreferenzen sind auf Englisch

- [1]. Makut, MD und P. Ishaya .2010. Bakterienarten, die mit Böden assoziiert sind, die mit gebrauchten Erdölprodukten in der Stadt Keffi, Nigeria, kontaminiert sind. African J. Microbiol. 4; 1698-1702
- [2]. Nilanjana D. und P. Chandran, 2011, mikrobieller Abbau von Erdöl-Kohlenwasserstoff-Kontaminanten; ein Überblick, Biotechnol. Auflösung Int.; 941-956.

- [3]. Mancera, M. E., M. T. Casasola, E. R. leal. 2007. Aus zwei stark verschmutzten Böden isolierte Pilze und Bakterien zum Abbau von Kohlenwasserstoffen. *Acta.Chim.Slov.* 54; 201 – 209.
- [4]. Maddela, N., L. Scalvenzi, M. Perez und C. Montero. 2015. Effizienz einheimischer Bakterien und Fadenpilze für den biologischen Abbau von Petruleum-Kohlenwasserstoffen im Boden. *Bull Umgebung. Kont. Toxicol.* 95 : 385 – 349 .
- [5]. Rosenberg, E. 2008. Die Kohlenwasserstoff oxidierenden Bakterien. In ; *Die Biologie der Bakterien.* A. Balows (Hrsg.), Springer Verlag. Heidelberg. Deutschland.
- [6]. Patel, V. und K. Shah. 2013. Verschmutzung durch Erdölkohlenwasserstoffe und ihr biologischer Abbau. *Inter. J. Chmitech. Anwendung* 2; (3) : 63 – 80 .
- [7]. Oliver, B., M. Magot. 2005. *Erdölmikrobiologie.* ASM Press, USA
- [8]. Goveas, L. C., R. Selvaraj und S. P. Sajankila. 2020. Isolierung und Charakterisierung von Bakterien aus Raffinerieabwässern zum Abbau von Erdöl. *J. Pure Appl. Mikrobiell.* 14 ; 473 – 484 .
- [9]. Kenneth, J. R. und George, C. R. 2018. Labordiagnose, In; *Sherris medizinische Mikrobiologie.* (6. Aufl.), J. C. Sherris (Hrsg.), Mc Graw Hill Companies. USA.
- [10]. William, B. W., 2012. *Bergey's manual of physical of archaea andbacter* (1. Aufl.), John Wiley and Sons Inc., USA.
- [11]. Marchesi, J. R., T. Sato und A. Weightman. 2019. Design und Bewertung nützlicher bakterienspezifischer PCR-Primer, die kodierende Gene amplifizieren. *Appl. Umgebung. Mikrobiol.* 64; 795-799.
- [12]. Patricia, M. T., 2021. *Bailey und Scotts Diagnostic Microbiology* (15. Aufl.), Elsevier Pub. (Hrsg.), USA.
- [13]. Firouz, A. und R. Lockington. 2015. Eine umfassende Übersicht über den biologischen Abbau von aliphatischen Kohlenwasserstoffen durch Bakterien. *Appl. Bioch. Biotech.* DOI 10.1007/s1 2010 – 2015 .
- [14]. Wedulo, A., D. K. Atuhaire und S. Ochwo. 2014. Charakterisierung und Bewertung der Effizienz erdölabbauender Bakterien, die aus dem Boden isoliert wurden. *Academic J.* 13 (48) ; 4458 – 4470.
- [15]. Macaulay, B.M. 2014. Das Verhalten von ölabbauenden Mikroorganismen verstehen, um die mikrobielle Sanierung von ausgelaufenem Erdöl zu verbessern. *Appl. Ecol. Umgebung. Auflösung* 13(1);247–262.
- [16]. Adetitin, D.O., O.D. Adebisi und A. B. Oiyemi. 2016. Biodegradative Aktivitäten einiger gramnegativer Bakterien, die aus mit Kerosin behandeltem Boden isoliert wurden. *Agrarforschung.* 16 (1) 41 – 57 .
- [17]. Sunita J.V., 2017. Mikrobielle Zersetzung von Erdölkohlenwasserstoffen (Review). *Bioresour. Technol.*, 223; 277 – 286 .
- [18]. Mona, F. A., M. J. Ridha und A. H. Taly . 2018 . Optimierung des biologischen Abbaus von Kerosin durch lokale Bodenbakterien. *Rein. Appl. Mikrobiol.* 12 (4) 2049 – 2057 .
- [19]. Varjani, S. J., 2017. Ein neuer Blick auf Faktoren, die den mikrobiellen Abbau von Erdölkohlenwasserstoffen beeinflussen. *Biodeterior. Bioabbau* . 120 ; 71 – 83 .
- [20]. Kebede G., T. Tafese und F. Assefa . 2021. Faktoren, die die bakterielle Biosanierung von Kohlenwasserstoffkontaminanten im Boden beeinflussen; Mechanismen und Wirkungen. *J.Chem.* 9823362 .
- [21]. Xu X., W. Liu und S. Tian. 2018. Erdölkohlenwasserstoff abbauende Bakterien zur Sanierung von Ölverschmutzungen unter aeroben Bedingungen; Eine perspektivische Analyse. *Vorderseite Mikrobiol.* 9; 2885 – 2896.
- [22]. Boto M., C. Magalhaes und R. Perdigo. 2021. Nutzung des Potenzials mikrobieller Gemeinschaften für die biologische Sanierung von Ölverschmutzungen . *Vorderseite Mikrobiol.* 12 ; 879 - 890 .
- [23]. Sughanthi, S. H., S. Murshid und K. Ramani. 2018 . Verbesserter biologischer Abbau von Kohlenwasserstoffen im Bodenölschlamm von Erdöltanks. *J. Umgebung. Verwalten.* 220 ; 87 – 95 .
- [24]. Ornston, I.N. und W.K.Yeh, 2010. Wiederkehrende Themen und wiederholte Sequenzen in der Stoffwechselevolution. In; *biologischer Abbau und Entgiftung von Umweltschadstoffen.* A. M. Chakrabart, (Hrsg.), CRC Press Miami.
- [25]. Nilanjana, D., P. Chhandran . 2011. Mikrobielle Zersetzung von Erdöl-Kohlenwasserstoff-Kontaminanten; Ein Überblick . *Biotechnologie. Auflösung Inter.* 10 ; 4061 – 4074 .
- [26]. Suzan, P.D.V., . 2014 . Biosanierungspotential von Mikroorganismen aus Erdöllagerstätten . *Meeresumfrage. Stier.* 10 ;1016 - 1026 .
- [27]. Deepti, G. J. und S. Mehta. 2017. Isolierung und Identifizierung von benzinabbauenden Mikroorganismen aus kontaminiertem Boden und Vergleich ihres biologischen Sanierungspotenzials. *Int. Auflösung J. Pharm.* 8 (2); 34 – 38 .
- [28]. Bambang, Y., M. Said und Z. Fanani. 2011 . Kinetischer Ansatz des biologischen Abbaus von erdölkontaminiertem Boden durch Verwendung einheimischer isolierter Bakterien . *J. Trop Böden,* 16 (1); 33 – 38 .
- [29]. Saranya, K. T. Palanisami und R. Naida. 2016 . In-situ-Sanierungsansätze für das Management von Altlasten; Ein umfassender Überblick. In ; *Übersichten über Umweltbelastungen und Toxikologie,* P.de Voogt (Hrsg.), Vol. 3, No. 236, SpringerInter. Veröffentlichen. Schweiz .