



التحطيم الاحيائي لتراكيز بعض المبيدات في المياه الملوثة باستخدام بكتيريا *Bacillus*

خالد فالح حسن

دائرة البيئة والمياه ، وزارة العلوم والتكنولوجيا ، بغداد، العراق

الإستلام: 24 آب/2014/القبول: 21 أيلول 2014

الخلاصة: أختير نوعان من المبيدات الزراعية كمادة عضوية ذات تأثيرات سلبية في الصحة العامة و البيئة المائية وانتخبت البكتيريا *Bacillus subtilis* و *Bacillus badius* لدراسة كفاءتها في تحليل وتفكيك المبيد الحشريالديازينون والمبيد العشبي الكلايفوسات بتركيز 50, 60, 70, 80, 90 و 100 جزء بالمليون من المياه فيالمختبر بدرجة حرارة 25 م° واس هيدروجيني 7.2-7.6 وينظام الدفعة الواحدة Batch culture system و لفترة 24 ساعة. اظهرت البكتريا *Bacillus badius* قدرة عالية في تحليل مبيد الديازينون بنسبة 66.6% , 62.3% , 43.7% , 34.1% و 23.8% على التوالي ومبيد الكلايفوسات بنسبة 75.4% , 61.8% , 47.8% , 37.5% و 30.5% ولنفس فترة المعاملة على التوالي. في حين كانت بكتيريا *Bacillus subtilis* اقل كفاءة في تحليلالديازينون لنفس التراكيز وبنسبة 43.2% , 39.3% , 25.1% , 24.6% و 21.8% وللکلايفوسات بنسبة 62.2% , 52.3% , 42.4% , 32% و 23% على التوالي. اثبتت الدراسة عدم قدرة البكتيريا *Bacillus subtilis* و *Bacillus badius* على تحمل تركيز 100 جزء بالمليون من المبيدات.

Biodegradation of some Pesticides Concentrations in water by *Bacillus* Bacteria

*Khalid F. Hassan

Environment and Water Researches Dep ,Ministryof Science and Technology

Received: August 25,2014/ Accepted: September21,2014

Abstract:Two types of pesticides were selected as organic matter for their negative influence on human health and aquatic life. Two bacteria *Bacillus badius*and *Bacillus subtilis*were used to examine their ability to degradation the insecticide Diazinon and herbicide Glyphosate with initial concentrations 50, 60, 70, 80, 90 and 100 ppm inwater, of laboratory conditions of 25 C° and pH 7.2-7.6 in batch culture system for 24hr treatment period. *Bacillus badius*showed high capability to reduce Diazinonconcentrations by 66.6% , 62.3% ,43.7% , 34.1% , 23.8% and Glyphosate concentrations by 75.4% , 61.8% , 47.8% , 37.5% and 30.5%.While, *Bacillus subtilis* showed lowerability to reduce Glyphosate concentrations by 62.2% , 52.3% , 42.4% , 32% , 23% and Diazinon concentrations by 43.2% , 39.3% , 25.1% , 24.6% and 21.8%. This studyproved that *Bacillus badius*and *Bacillus subtilis* have no ability to survive in pesticides concentration of 100 ppm.

Keywords:Pollution,Diazinon, Glyphosate, Biodegradation, Bacteria,*Bacillus*.

*Correspondingauthor: should be addressed(Email:alrubbay@gmail.com)

الى المسطحات المائية خلال عمليات البزل
او عن طريق مياه الامطار او رميها مباشرة
الى الانهار. ومن هذه المبيدات الديازينون
(Diazinon) وتركيبه الكيميائي-2
isopropyl-6-methyl-4-
hydroxypyrimidineC₁₂ H₂₁ N₂ O₃

المقدمة

تعد المبيدات الزراعية مواد شائعة الاستعمال
لتقادي الافات الزراعية وزيادة الانتاج الزراعي
على الرغم منالتأثيرات السلبية وغير المرغوب
فيها على البيئة وصحة الانسان، اذ تعتبر من
الملوثات السامة للمياه فيما لووصلت هذه المواد

اثبت (8) في دراستهم قدرة بكتيريا *Bacillus* على استهلاك وتحطيم الكثير من المواد العضوية من المياه الملوثة وخفض تراكيزها بشكل كبير، وبينت دراسة (9) قدرة البكتيريا على خفض تراكيز الفوسفات والنترات والنترت من المياه الملوثة وتحويلها الى حبيبات غذائية مخزونة داخل خلاياها.

تهدف هذه الدراسة الى اختبار كفاءة بكتيريا *Bacillus subtilis* في تحليل وتفكيك تراكيز مختلفة من المبيد الحشري الديازينون والمبيد العشبي الكلايفوسات بحدود 50, 60, 70, 80, 90 و 100 جزء بالمليون من المياه الملوثة في الظروف المختبرية.

المواد وطرائق العمل

1- **جمع وتهيئة النماذج:** جمعت عينات من مياه نهر دجلة بوساطة قناني Polyethylene سعة 5 لتر لاستخدامها في تحضير تراكيز المبيدات و رشحت باستخدام جهاز Vacuum عبر اوراق ترشيح بحجم ثقب 0.45 مايكرون وعقمت بجهاز الموصدة Autoclave بدرجة حرارة 121 م وضغط 1.5 بار ولمدة 20 دقيقة للتأكد من قتل الاحياء المجهرية وتفادي تأثيرها على النتائج، كذلك جمع 1 كيلو غرام من التراب بالقرب من مولد ديزل كهربائي و نقلت العينات الى المختبر لغرض عزل وتشخيص الاجناس البكتيرية

2- **عزل وتنمية البكتيريا:** أخذ وزن واحد غرام من نموذج التربة ووضع في انبوب اختبار زجاجي معقم حاوي على تسعة مليلتر من الماء المقطر المعقم بواقع تخفيف 10^{-1} وتكمل التخفيف الى 10^{-2} و 10^{-3} ، وضعت الانابيب في حمام مائي بدرجة حرارة 80 درجة مئوية لفترة 20 دقيقة لقتل الخلايا البكتيرية الخضرية غير المكونة للسبور (spore)، أخذ 0.1 مليلتر من كل تخفيف و نشر على طبق زجاجي معقم يحوي وسط الاكار المغذي وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 30 درجة مئوية لمدة سبعة ايام. وبعد ظهور المستعمرات تم عمل المسحات وصبغها بصبغة كرام لتشخيص الخلايا البكتيرية الخضرية والسبورات وموقعها بالخلية البكتيرية بالمجهر الضوئي المركب، تم تنقية المستعمرات بعمل مزارع ثانوية و نقلها الى وسط الاكار المغذي وبطريقة التخطيط وكررت العملية للحصول على مستعمرات نقية للبكتيريا و حفزت المستعمرات النقية بانابيب زجاجية معقمة

(PS) وهو من المركبات العضوية الفسفورية والمستخدم على شكل مبيد حشري على نطاق واسع في رش الاراضي الزراعية للتخلص من الحشرات والنمل والديدان وعمره النصفية يصل الى 185 يوم في المياه العادية (1). ويعد الديازينون من المركبات شديدة السمية اذ انه سريع الامتصاص في الامعاء خلال بضع ساعات وعند وصوله الى الكبد فانه يعرقل عملية افراز العديد من الانزيمات ويتركز ايضا في الكلى والامعاء الدقيقة مما يسبب حالات تسمم شديدة. و المبيد الثاني الكلايفوسات (Glyphosate) وتركيبها الكيميائي Isopropylamin N-phosphonomethyl-glycine (C₃ H₈ N O₅ P) من المركبات العضوية الامينية الفسفورية، يستخدم كمبيد عشبي عالي الكفاءة في قتل انواع كثيرة من النباتات الضارة ذات التأثير السلبي للمحاصيل الزراعية (1) ان هذا المبيد اقل سمية من باقي المبيدات الحشرية والفطرية ولكن له بعض التأثيرات فيالقناة الهضمية من خلال ترسبه في الاثني عشري بتركيز قليلة (2). ان تواجد المبيدات الزراعية في المياه والتربة وتأثيراتها على البيئة والانسان اصبح محط اهتمام الدراسات العالمية ومنها الدراسة التي قام بها (3) اذ وجدا ان تراكيز المبيدات العضوية الكلورية في انهار مقاطعة Major في جنوب تايلند بلغت 1 غم / 6 مليلتر في حينوجد (4) ان هناك تراكيز عالية للمبيدات الكلورية في انسجة بعض الاسماك المتواجدة فينهر (Piracicaba) في البرازيل، كما وجد (5) ان تراكيز المبيدات الفسفورية فينهر دجلة لمنطقة العزيز في البصرة بلغت 166 جزء بالمليون. ان الحد الاعلى المسموح به لتراكيز المبيدات في مياه الشرب وحسب منظمة الصحة العالمية ومنظمة الغذاء العالمية (WHO\FAO) هو 0.02 ملغم/لتر للديازينون و 0.08 ملغم/لتر للكلايفوست (6).

وتعد البكتيريا من الاحياء المجهرية الكفوءة في عمليات المعالجات الاحيائية للملوثات العضوية اذ تمتلك القدرة على افراز مجموعة كبيرة من الانزيمات المحللة التي تعمل على تكسير المواد العضوية والهيدروكاربونية وتحويلها الى مواد ابسط وادمصاص الكثير من العناصر الثقيلة على جدارها الخلوي اضافة الى انتشارها في كل الجسم المائي ونموها السريع، وتعد بكتيريا *Bacillus* ذات كفاءة عالية لتكسير المواد العضوية الذائبة بفعل انزيماتها المحللة (7)، وقد

بيكتيريا *Bacillus subtilis* و *Bacillus badius* و بكتيريا *subtilis* و بواقع ثلاث مكررات لكل تركيز وبكثافة نمو بكتيري 20 ± 12500 خلية/مليتر لكل المعاملات واستخدمت عينة مياه نهر معقمة لتحضير تراكيز المبيدات 50 – 100 جزء بالمليون بدون زرعها بالبيكتيريا واعتبارها معاملة السيطرة، وتم تهوية العينات خلال فترة التجربة باستخدام مضخة هواء لتنشيط البيكتيريا. قيس تراكيز المبيدات الديازينون والكلايفوست بجهاز Gas Chromatography وحسب الطريقة القياسية رقم A-6630(14). نسبة خفض التراكيز = التركيز الاولي – التركيز بعد المعاملة/ التركيز الاولي $\times 100$

النتائج والمناقشة

دور البيكتيريا في خفض تراكيز مبيد الديازينون

يوضح الجدول (1) كفاءة بكتيريا *Bacillus badius* في تحليل مبيد الديازينون لمياه النهر بعد معاملتها لمدة 24 ساعة وبأس هيدروجيني 7.3 و الحاوية على 50, 60, 70, 80 و 90 جزء بالمليون من المبيد، اذ بعد 6 ساعات من المعاملة بالبيكتيريا انخفضت التراكيز الى 40.6, 49.5, 61.4, 72.3 و 81.4 جزء بالمليون وعلى التوالي بلغت التراكيز بعد 24 ساعة للمعاملة 16.7, 22.6, 39.4, 52.7 و 68.5 جزء بالمليون على التوالي وبنسبة تحلل 66.6%, 62.3%, 43.7%, 34.1% و 23.8% على التوالي.

وبشكل Slant على وسط الاكار المغذي وحرارة 10 درجة مئوية وجددت العزلات كل اسبوعين (10) و (11).

3- **تشخيص البيكتيريا:** شخضت بكتيريا *Bacillus* باستخدام الاختبارات البايوكيميائية وفقا لما وصف من قبل (12):

Citrate ,L V (egg yolk reaction) utilization , V-P reaction , Nitrate reaction , Indol production , Growth 7% NaCl , Starch hydrolysis , Casein hydrolysis , Gelatin hydrolysis , Urease activity , Hemolysis (Blood agar)

4- **حساب عدد الخلايا البكتيرية:** حسب اعداد الخلايا البكتيرية في واحد مليتر من العالق البكتيري باستخدام طريقة Hemocytometer (counting chamber) (13) و حسب المعادلة:

عدد البكتيريا (خلية/مليتر) = عدد الخلايا في 4 مربعات $\times 4 \times 10$

5- **قياس تراكيز المبيدات:** تم تحضير محلول مائي لمبيد الديازينون والكلايفوسات بتركيز 1000 جزء بالمليون، رشح المحلول باستخدام Filtration unit عبر اوراق ترشيح بحجم ثقوب 0.45 مايكرون ومنه حضرت التراكيز 50, 60, 70, 80, 90 و 100 جزء بالمليون وبطريقة التخفيف باستخدام مياه النهر المعقمة و بحجم 100 مليتر لكل تركيز باستخدام دوارق زجاجية معقمة وتم تعديل قيمة الدالة الحامضية بحدود 7.2 لكل المعاملات و زرعت الدوارق

الجدول (1) تحلل مبيد الديازينون بعد فترة 24 ساعة من معاملته ببيكتيريا *Bacillus badius*

ت	المعاملة	التركيز بعد المعاملة (جزء بالمليون)		تركيز المبيد (جزء بالمليون)	نسبة التحلل (%) بعد 24 ساعة
		6 ساعات	24 ساعة		
1	السيطرة	48.5	47.8	50	4.4
		59.4	58	60	2.8
		69	68.6	70	2.3
		80	80	80	0
		90	90	90	0
		100	100	100	0
2	<i>Bacillus badius</i>	40.6	16.7	50	66.6
		49.5	22.6	60	62.3
		61.4	39.4	70	43.7
		72.3	52.7	80	34.1
		81.4	68.5	90	23.8
		100	100	100	0



السيطرة. و بلغت تراكيز المبيد 44.3, 52.4, 63.8, 76.5 و 82.8 جزء بالمليون بعد 6 ساعات وازداد هذا الانخفاض بعد 24 ساعة اذ اصبحت التراكيز 28.4, 36.6, 52.4, 60.3 و 70.3 جزء بالمليون وعلى التوالي.

وضح الجدول (2) كفاءة تحلل مبيد الديازينون في مياه النهر بعد معاملتها بـ *Bacillus subtilis* ولمدة 24 ساعة وباس هيدروجيني 7.4 والتي بلغت 43.2%, 39.3%, 25.1%, 24.6% و 21.8% للتراكيز 50, 60, 70, 80 و 90 جزء بالمليون على التوالي مقارنة بمعامل

الجدول (2) تحلل مبيد الديازينون بعد فترة 24 ساعة من معاملته بـ *Bacillus subtilis*

نسبة التحلل (%) بعد 24 ساعة	التركيز بعد المعاملة (جزء بالمليون)		تركيز المبيد (جزء بالمليون)	المعاملة	ت
	24 ساعة	6 ساعات			
4	48	48	50	السيطرة	1
1.6	59	60	60		
1.6	69	70	70		
0	80	80	80		
0	90	90	90		
0	100	100	100		
43.2	28.4	44.3	50	<i>Bacillus subtilis</i>	2
39.3	36.6	52.4	60		
25.1	52.4	63.8	70		
24.6	60.3	76.5	80		
21.8	70.3	82.8	90		
0	100	100	100		

قدرة بكتيريا *Bacillus* على تحطيم مبيد الديازينون في بيئة المياه العذبة لبحيرة باريسان في ايرانبندب عالية كذلك توافقت النتائج مع دراسة (20) اذ اثبتوا كفاءة بكتيريا *B. badius* على تحطيم المبيدات الفسفورية في المختبر ونسبة 75%.

دور البكتيريا في خفض تراكيز مبيد الكلايفوسات

يوضح الجدول (3) نسبة تحلل مبيد الكلايفوسات بعد معاملته بـ *Bacillus badius* ولمدة 24 ساعة و هي 75.4%, 61.8%, 47.8%, 37.5% و 30.5% للتراكيز 50, 60, 70, 80 و 90 جزء بالمليون وعلى التوالي. اذ انخفضت التراكيز بعد 6 ساعات من المعاملة بالبكتيريا الى 39.4, 41.2, 59.7, 70.6 و 78.4 جزء بالمليون وعلى التوالي وبعد 24 ساعة للمعاملة اصبحت التراكيز 12.3, 22.9, 36.5, 50 و 62.5 جزء بالمليون على التوالي.

يلاحظ مما تقدم ان بكتيريا *B. badius* ذات قدرة اكبر على تحليل مبيد الديازينون مقارنة ببكتيريا *B. subtilis* اذ كانت نسبة الانخفاض الحاصل للتراكيز 50 و 60 جزء بالمليون هي 66.6 و 62.3 % على التوالي في حين كانت نسبة التحلل لنفس التراكيز لبكتيريا *B. subtilis* هي 43.2 و 39.3 % على التوالي ويرجع السبب ان بكتيريا *B. badius* لها قدرة اكبر على افراز مجموعة من الانزيمات تمكنها من تحليل وتحطيم الكثير من المواد العضوية الهيدروكاربونية والاروماتية والامينية واستهلاك الكربون والفسفور والنتروجين لديمومة حياتها (15). اذ ان مبيد الديازينون غني بهذه العناصر وهذا واضح من تركيبه الكيميائي $(C_{12}H_{21}N_2O_3PS)$ وقد اثبت (16) في دراستهم ان بكتيريا *B. badius* لها قدرة على انتاج انزيم Hydrogenase و Catalase و Protease الفعالة في عمليات تحطيم العديد من المركبات الهيدروكاربونية والعضوية مقارنة ببكتيريا *B. subtilis* والتي لها قدرة على انتاج انزيمي Catalase و Protease (17) و (18), وقد توافقت النتائج مع دراسة (19) اذ اثبتو

الجدول (3) تحلل مبيد الكلايفوسات بعد 24 ساعة من معاملته بـ *Bacillus badius*

نسبة التحلل 24 بعد (%) ساعة	التركيز بعد المعاملة (جزء بالمليون)		تركيز المبيد (جزء بالمليون)	المعاملة	ت
	24 ساعة	6 ساعات			
3	48.5	50	50	السيطرة	1
1.6	59	60	60		
1.6	69	70	70		
0	80	80	80		
0	90	90	90		
0	100	100	100		
75.4	12.3	39.4	50	<i>Bacillus badius</i>	2
61.8	22.9	41.2	60		
47.8	36.5	59.7	70		
37.5	50	70.6	80		
30.5	62.5	78.4	90		
0	100	100	100		

80 جزء بالمليون وعلى التوالي واستمر الانخفاض بالتركيز بعد 24 ساعة من المعاملة الى 18.9, 28.7, 40.3, 54.4 و 68.6 جزء بالمليون وعلى التوالي و كانت نسبة التحلل بمقدار 23%, 32%, 42.4%, 52.3%, 62.2% و 72.2% على التوالي.

يوضح الجدول (4) نسبة تحلل المبيد بعد معاملته ببكتيريا *Bacillus subtilis* ولمدة 24 ساعة من المعاملة اذ كانت التراكيز قبل المعاملة للمبيد 50, 60, 70, 80 و 90 جزء بالمليون وبعد 6 ساعات من المعاملة بالبكتيريا اصبحت التراكيز 40.7, 49.5, 60.4, 72.2 و

الجدول (4) تحلل مبيد الكلايفوسات بعد 24 ساعة من معاملته ببكتيريا *Bacillus subtilis*

نسبة التحلل (%) بعد 24 ساعة	التركيز بعد المعاملة (جزء بالمليون)		تركيز المبيد (جزء بالمليون)	المعاملة	ت
	24 ساعة	6 ساعات			
4	48	50	50	السيطرة	1
0	60	60	60		
0	70	70	70		
0	80	80	80		
0	90	90	90		
0	100	100	100		
62.2	18.9	40.7	50	<i>Bacillus subtilis</i>	2
52.3	28.7	49.5	60		
42.4	40.3	60.4	70		
32	54.4	72.2	80		
23	68.6	80	90		
0	100	100	100		

والتكاثر، ففي دراسة (21) اثبتوا قدرة بكتيريا *Bacillus* على تحليل مبيد الكلايفوسات في التربة وفعالية هذه البكتيريا على تحطيم الاصرة P - C بفعل انزيماتها المحللة، وقد توافقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسة (22) اذ بينوا قدرة بكتيريا *Bacillus* المعزولة من الترب الملوثة بالمبيدات الفوسفاتية على تحطيم هذه المركبات وبفاعلية عالية. ان قدرة بكتيريا *B. subtilis* و *B. badius* على تحليل الكلايفوسات وبكفاءة عالية مقارنة بمبيد

بينت النتائج ان بكتيريا *B. badius* و *B. subtilis* يمتلكان قدرة عالية على تحليل الكلايفوسات اذ كانت نسبة التحلل للمبيد عالية بعد معاملتها ببكتيريا *B. badius* و بنسبة 75 % لتركيز 50 جزء بالمليون و بنسبة 62.2 % لنفس التركيز عند معاملته ببكتيريا *B. subtilis* وهذا يرجع الى كفاءة الانزيمات المحللة التي تفرزها هذه البكتيريا لتكسير الاواصر واستغلال عناصر الكربون والنروجين والفسفور في عمليات النمو

بالعينات المعاملة بالبكتيريا, وقد تم تعديل قيمة الدالة الحامضية لان المبيدات تتأثر بشكل كبير بفعل التغير بقيمة الاس الهيدروجيني اذ ان مبيد الديازينون يتحلل خلال 72 ساعة ومبيد الكلايفوسات خلال 24 ساعة عند قيمة اس هيدروجيني 3-5 حسب دراسة(23).

الديازينون قد يرجع ايضا الى بساطة التركيب الكيميائي للمبيد ($C_3 H_8 N O_5 P$) مقارنة بالديازينون ($C_{12} H_{21} N_2 O_3 PS$). يلاحظ من النتائج ظهور انخفاض قليل في تراكيز المبيدات لمعامل السيطرة وذلك بفعل التهوية والاكسدة الكيميائية لكنها قليلة مقارنة

batch and chemo stat cultures. FEMS Microbiol. Ecol., 18: 305–316.

References

- 8- Nwaogu, L. A.; Onyeze, G. O. C. and Nwabueze, R. N. (2008). Degradation of diesel oil in a polluted soil using *Bacillus*. African Journal of Biotechnology Vol. 7 (12), 1939-1943.
 - 9- Farmer. A. (2009). Managing Environmental Pollution. Environmental Management series, Routledge, New York.
 - 10- Mortimer, P. S.; Heinz, S.; Hans, G. T. and Asbeuth, B. (1981). The Prokaryotes. Handbook on Habitats, Isolation and identification of Bacteria. Vol. 3. Berlin Heidelberg, New York. USA.
 - 11- Reva, O. N.; Sorokulova, I. B. and Smirnov, V. V. (2006). Simplified technique for identification of the aerobic spore-forming and anaerobic bacteria. Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 51, 1361–1371.
 - 12- Jennifer, M. P.; Turnbull, P. C. and Gibson, J. R. (1983). A colour Atlas of Bacillus species. Wolfe Medical Publication. London.
 - 13- Santhini, K.; Myla, J.; Sajani, S. and Usharani, G. (2009). Screening of *Micrococcus* Sp from Oil Contaminated Soil with Reference to Bioremediation & Active Account. Botany Research International, Vol. (4): 248-252.
 - 14- APHA (1998). Standard method for the examination of water and wastewater, 16th ed. American public Health Association, American water works Association and water pollution control federal, Washington, D.C.
 - 15- Bennet, J.W. and Fasion, B.D. (2009). Use of Bacteria biodegradation. Manual of environmental microbiology. Second edition. ASM Press Washington D.C.
 - 16- Kinuthia, M.; Hamadi, I.; Boga, A.; Muigai, W.; Ciira, K. and Muniru, K. T. (2010). Degradation of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) by bacterial isolates from cultivated and
- 1- U.S. Environmental Protection Agency (2003). EPA draft final list of recommendations for chemicals in the national survey for pesticides. Chem. Rep. 9(34):988.
 - 2- Daruich, J.; Zirulink, F. and Gimenez, M.S. (2001). Effect of herbicide Glyphosate on enzymatic activity rates. Environ. Res. 85(3):226-31.
 - 3- AbdNaser, H.S. and Sani, I. (2008). Organochlorinepesticide residues in the Major rivers of Southern Thailand. Malaysian J. of analytical sciences. Vol. 12, No. 2, 280-284.
 - 4- Daniela, M.; Fernando, M. and Wagner, E. (2008). Organochlorinepesticide in Piracicaba river Basin/Brazil: A survey of sediment, Bivalve and fish. Brazil. Quim. Nova. Vol. 31, No. 2, 214-219.
 - 5- التميمي, عبد الله محمد علي (2002). تأثير المبيدات الفسفورية العضوية على تواجد الاسماك في نهر دجلة / البصرة. رسالة ماجستير, كلية العلوم. جامعة البصرة.
 - 6- FAO\WHO (2003). Evaluation of some pesticides residues in food. WHO food additive Series No. 42. World Health Organization.
 - 7- Arts, P.; Robertson, L.A. and Kuenen, J.G. (2007). Nitrification and denitrification by *bacteria* in aerobic

- uncultivated soil. *African Journal of Microbiology Research*. Vol. 4 (3) pp. 185-196.
- 17-Schachman, H. K. (2004). *Methods in Enzymology*. eds. Academic Press, New York, Vol. 4, pp. 32-71.
- 18-Gramss, G.; Kirsche, B.; Volgt, K.D.; Gunther, T. and Fritsche, W. (1999). Conversion rates of five polycyclic aromatic hydrocarbons in liquid culture of 20 Bacteria and the concomitant production of oxidative enzymes. *Mycol. Res.* 103:1009-1018.
- 19-Yaghoob, T.; Farshid, K.; Mehdi, D. and Amir, M. (2010). Isolation and Identification of Diazinon Degradation Bacteria from Fresh Water of Lake Parishan in Iran. *World Journal of Fish and Marine Sciences*. Vol. 2(3):240-245.
- 20-Kumar M, Philip L (2006). Biodegradation of Diazinon in contaminated soil and water in laboratory scale reactors. *J. Hazardous Mater.* Vol.136: 354-364.
- 21-De Pasquale, C.; Fodale, R.; and Quatrini, P. (2009). Biodegradation of organophosphorus pesticides by soil bacteria. *Journal of Geophysical Research*. Vol. 11: 445-452.
- 22-Ortiz-Hernandez, M. and Sanchez-Salinas, E. (2010). Biodegradation Of the Organophosphate Pesticide Tetrachlorvinphos by Bacteria Isolated from Agricultural Soils in Mexico. *Rev. Int. Contam. Ambient.* Vol. 26 (1) 27-38.
- 23-Magara, Y.; Aizawa, T.; Matumoto, N. and Souna, F. (2002). Degradation of pesticides by chlorination during water purification. *Water Science and Technology*. Vol. 30(7): 119-128.