



تاريخ الإستلام: 2025-10-21 | تاريخ القبول: 2025-11-25 | تاريخ النشر: 2025-12-30

## التقنية الحيوية ودورها في معالجة التربة الملوثة بالنفط الخام بواسطة البكتيريا

نعيمة احمد الصادق طبيقة، الصادق علي كاموك

قسم الهندسة الكيميائية والبيئية - كلية التقنية الهندسية جنزور

[sadegkamouka@gmail.com](mailto:sadegkamouka@gmail.com) ، [naimastbiga69@gmail.com](mailto:naimastbiga69@gmail.com)

### ABSTRACT

Bioremediation is a natural process in which microorganisms alter and degrade the structure of petroleum hydrocarbon compounds into other substances. The resulting compounds, such as carbon dioxide, water, and biomass, may be partially oxidized due to biological transformation. The bacteria that consume petroleum are referred to as "hydrocarbon-oxidizing bacteria" because they oxidize these compounds, leading to their degradation and the transformation of contaminated soil into clean soil. This study was conducted to evaluate the efficiency of biotechnological methods using bacteria to remediate oil-contaminated soils. The experiments were carried out in the microbiology laboratory at the Oil Research Center using soil samples from the crude oil-contaminated area of the Zawiya Refinery, with contamination originating from the Sharara oil field . The study concluded that a high percentage of hydrocarbon degradation and breakdown was achieved—up to 60%. The bacterial strains (Actinomycetes, Pseudomonas aeruginosa, and Vibrio) demonstrated very high growth capacity in the contaminated environment. The efficiency of the bioremediation process was found to be directly proportional to the active biomass in the soil. Similarly, hydrocarbon degradation was positively correlated with time, particularly during the initial phase of biodegradation by hydrocarbon-oxidizing bacteria. This process is facilitated by the enzymes produced by these bacteria, capable of degrading polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Most of the isolated bacterial strains were Gram-negative, characterized by a lipid-rich outer membrane. This feature enables them to absorb a greater quantity of hydrocarbon compounds from the environment, subsequently oxidizing and utilizing them as a carbon source

### الملخص

عملية المعالجة البيولوجية عملية طبيعية تقوم فيها الميكروبات بتغيير وتكسير طبيعي للمركبات الهيدروكربونية البترولية إلى مواد أخرى وقد تكون المركبات الناتجة صديقة للبيئة (ثاني أكسيد الكربون والمياه والكتلة الحيوية) مؤكدة جزئياً بفعل التحول البيولوجي فالبكتيريا التي تستهلك البترول تدعى "مؤكسدات الهيدروكربون" لأنها توكسد المركبات مسببة التحلل وتحويله إلى تربة نظيفة. أجريت هذه الدراسة لمعرفة مدى كفاءة التقنية الحيوية باستخدام البكتيريا في مكافحة من تلوث التربة بالنفط الخام في معمل الميكروبولوجي في مركز بحوث النفط لعينات من تربة مصفاة الزاوية الملوثة بالنفط الخام من حقل الشريارة خلصت الدراسة الى أن نسبة تحليل عالية للهيدروكربونات وتقسيمها يصل الى 60% وقدرة سلالات

البكتيريا (*Vibrio* , *pseudomonas.aeruginos* , *Actinomycete*) على نمو عالية جداً في البيئة الملوثة و أنكفاء المعالجة تتناسب طردياً مع الكثافة الحيوية النشطة في التربة تفكك الهيدروكربون يتناسب طردياً مع الزمن مع بداية فترة التحلل بواسطة البكتيريا المؤكسدة للهيدروكربونات ويتم ذلك بفعل الانزيمات التي تمتلكها البكتيريا (PAHs) إذا ان أنواع البكتيريا التي تم عزلها جلها سالبة الجرام والتي يتميز غالباً بها باحتوائهما على الدهون التي تمكنها من الحصول على أكبر كمية من المركبات الهيدروكربونية من البيئة ثم اكستتها واستغلالها مصدراً للكربون.

**الكلمات الدالة:** التقنية الحيوية ، بكتيريا *Vibrio* ، *aeruginos* ، *pseudomonas* ، الهيدروكربونات النفطية ، تلوث التربة.

## 1 المقدمة

تعرض العناصر البيئية إلى اختلال شديد في توازنها نتيجة للاستخدام المستمر للنفط ومشتقاته [1] يمكن أن يتسرّب النفط بشكل مباشر وغير مباشر إلى داخل البيئة مما يؤدي إلى تلوثها الخطير [2] وتعد التربة ملوثة باحتوائها على مادة أو عدة مواد بتركيزات تشكل خطراً على صحة الإنسان والحيوان والنبات، وكما أشارت بعض الدراسات إلى أن النبات يتأثر سلباً عند تلوث التربة بالنفط الخام، حيث يتسبب التلوث بتآخر وانخفاض نسبة الإنبات بدرجة كبيرة وخاصة في وجود مستوى عالٍ من التلوث وحدوث نقص تام في تغذية النبات [3] كما أن الاستصلاح السريع للتربة الملوثة بالنفط الخام يتم بعمليّة تنشيط للكائنات الحية الدقيقة التي تستعمل الهيدروكربونات كمصدر للطاقة وذلك بعزل بكتيريا مؤكسدة للهيدروكربونات من البيئة المحلية وتعريفها بعد الهيدروكربونات النفطية لاسيما الأرماتية من الملوثات الخطيرة من خلال انتقالها في السلسلة الغذائية [4] فضلاً عن سميتها للأحياء وفعاليّتها المطرفة والمسرطنة وصفاتها الكيميائية والفيزيائية المعقدة التي تجعل منها صعبة التحليل [5] وتتوفر حالياً عدة طرق لإزالتها أو معالجة الملوثات النفطية بالطرق الكيميائية والفيزيائية والحيوية وتحظى المعالجة الحيوية باهتمام كبير كونها طريقة صديقة للبيئة وتعُرف بأنها إمكانية استخدام الكائنات الحية الدقيقة في هدم وأزالة السموم بطريقة فعالة ولاسيما المعالجة بالبكتيريا.

## 2 أهمية الدراسة

رسم وتوجيه وتطوير السياسات في مجالات التقنية الحيوية والإسهام لتحقيق الفائدة القصوى من هذا التخصص في علاج العديد من المشاكل المحلية والوطنية في المجال الصناعي والبيئي والتخلص من النفايات كالالتلوث بالنفط ومشتقاته وإعداد كواذر مؤهلة وإنشاء قاعدة بيانات في مجال التقنية الحيوية وتوجيه تطبيقات التقنية الحيوية بما يحقق الأمان الصحي الغذائي والقضاء على التلوث.



### 3 أهداف الدراسة

- توضيح خطورة التلوث بالنفط و مشتقاته على الأوساط البيئية خاصة الترب التي تعد وسطاً مهماً لنمو النباتات سواء البرية أو البحرية و توفير الأمن الغذائي.
- الحصول على عزلات بكتيرية ذات كفاءة عالية في تحليل المواد الهيدروكربونية و تكسير الروابط الكربونية.
- تصنيف أنواع البكتيريا و معرفة مدى قدرتها على معالجة التلوث النفطي للتربة وذلك عن طريق معرفة استهلاك المواد الهيدروكربونية النفطية كمصدر للكربون و الطاقة.

### 4 المواد و طرق العمل

تم استخدام عينة من التربة الملوثة بالنفط الخام من حقل الشارة المستخدم في مصفاة الزاوية لإجراء هذه الدراسة للكشف عن العزلات البكتيرية و مقدرتها على تحليل و تكسير روابط النفط الخام و استخدام الكربون و النيتروجين كمصدر للغذاء و الحصول على الطاقة. ولغرض الدراسة تم تنشيط البكتيريا و ذلك بزراعتها على طبق بتري حاوي على وسطين غذائيين هما

1. بيئة أجار المغذي
  2. بيئة الملح المعدني المتوسط حضر الوسط تبعاً [6] وذلك بإذابة المكونات بالمقادير المذكورة في 1 لترماء مقطر تم تعقيم بواسطة جهاز Autoclave بدرجة حرارة  $121^{\circ}$  لمدة 15 دقيقة.
- ولغرض التعرف على النمو الميكروبي تم استخدام الأوساط الغذائية الآتية:

جدول (1) الأوساط الغذائية المستخدمة لنمو البكتيريا في الحضانة:

بيئة الملح المعدني المتوسط	بيئة أجار المغذي
- كبريتات الأمونيوم $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3.0 جرام / لتر	- بيبتون 0.5 %
- ديهيدرات كبريتات الصوديوم $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ... 10 $\text{H}_2\text{O}$ 10 جرام / لتر	- مستخرج الخيمير أو مستخرج البقر 0.3 % اجار 1.5 %
- كلوريد البوتاسيوم $\text{KCl}$ 0.1 جرام / لتر	- كلوريدات الصوديوم 0.5 %
- فوسفات هيدروجين البوتاسيوم $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ... 7H $\text{MgSO}_4$ 20 جرام / لتر	- تم ضبط الاس الهيدروجيني 6.8 و يكون عند درجة حرارة 25 درجة مئوية
- نترات الكالسيوم $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0.1 a جرام / لتر	
تم ضبط الاس الهيدروجيني على 0.2 باستخدام حمض الكبريتيك .	

### 5 مواصفات نفط حقل الشارة الخام المستخدم في الدراسة

يقع حقل الشارة للنفط في صحراء مرزق ليبيا قرب مدينة اوباري اكتشف عام 1980 طورته شركة بتروم الحقل تشغله وتديره شركة أكاكوس للعمليات النفطية التي كانت تعرف باسم شركة ريسول للعمليات النفطية والمساحة الإجمالية للحقل قرابة 200 كيلو متر مربع \* 70 كيلو متر بمجموع آبار قرابة 350 بئر، يعتبر الحقل من اكبر وافضل الحقول جودة وانتاجاً للنفط ينتج حوالي 350 الف برميل يومياً يرتبط الحقل بحظيرة خزانات تقع في مدينة الزاوية بخط طوله 723 كيلو متر وقطره 30 بوصة ويبلغ عدد الخزانات التي تستقبل



خام الشرارة 9 خزانات سعة كل خزان 300 الف برميل ، بدأ انتاج الحقل 12/12/1996م وبدأ تصدير اول شحنة 01/09/1998م [7].

جدول ( 2 ) يبين مواصفات نفط حقل الشرارة المستخدم في الدراسة

Light	خام خفيف جداً مع مستويات منخفضة من المعادن
Sweet	حلو
0.07Mg /g	KOH
API Gravity 43.1	مقاييس الكثافة النوعية
TotalSulphur :0.07	مستوى الكبريت
0 Mg/ Kg	النيكل
1Mg/ Kg	الفاناديوم

## 6 الجانب العملي

- تم وضع 1000 مل من الماء المقطر في قارورة مضاد اليه  $K_2HPO_4$  بوزن 1.8 جرام / لتر ،  $NH_4CL$  بوزن 1 جرام / لتر ،  $NaCl$  بوزن 10.1 جرام / لتر، بعد ذلك تم توزيع الكمية علي 21 دورق سعة كل دورق 100 مل فقط و تم اغلاق الدوارق بإحكام.

- تم تحضير 100 مل من الماء المقطر مضاد اليه  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  بوزن 10.1 جرام في قارورة و أخذ 100 مل اخرى من الماء المقطر مضاد اليه  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  بوزن 10.2 جرام في قارورة اخرى وتم وضع القوارير مع الدوارق في جهاز التعقيم.

- بعد مرور ساعتين تم إخراج الدوارق و القوارير حيث تم أخذ 1 مل من كل قارورة و اضافتها الدوارق. بعد ذلك تم اضافة 60 غرام من التربة الملوثة لعدد 18 من الدوارق مع إضافة نفط مفلتر من حقل الشرارة الي هذه الدوارق بنساب مختلفة حيث كانت هذه النسب 1% ، 5% ، 10% ، وكل نسبة 4 دوارق مع ترك 2 دوارق كنترول (للمراقبة والمعايرة ) لكل نسبة يحتوي هذا الدورق علي الميديا بالإضافة الي نسبة النفط المفلتر فقط بدون التربة الملوثة.

- ثم وضعت هذه الدوارق في حاضنة هزازة درجة حرارتها 28°C في هذه الائتماء تم تحضير الوسط الغذائي الثاني وهو عبارة عن كبسولة من Ringers solution تم وضعها في ماء مقطر موجود في قارورة بسعة 500ml.

- تم وضع هذه القارورة علي ميزان الاذابة بعد ذلك تم توزيع هذه الكمية بنسبة 9 مل علي كل أنابيب الاختبار بواسطة سحاحة وضعت هذه الانابيب في جهاز التعقيم حيث تم اخراجهم بعد مرور ساعتين.

- تم تحضير الوسط الغذائي الثالث و هو عبارة عن الاجار الطبيعي و الاجار المخلوط بالنفط تمت إضافة حوالي 56 جرام من الاجار في 2000 مل من الماء المقطر داخل قارورتين كل قارورة بسعة 1000مل من الماء المقطر و 28 جرام من الاجار الطبيعي.

- وضعت القارورتين علي ميزان الاذابة بعد ذلك تم وضعهم في جهاز التعقيم و بعد مرور ساعتين من الزمن تم اخراجهم و تبريدهم بحيث تم توزيع ما تحتويه القارورة الاولى علي اطباق بتري المخصص لنمو البكتيريا بالتساوي و تمت إضافة نفط مفلتر من حقل الشرارة الي القارورة الثانية بنسبة 10 مل و تم توزيع ما تحتويه هذه القارورة بعد الرج علي باقي الأطباق بالتساوي.



- بعد مرور 7 أيام تم إخراج عدد 9 دوارق من الحاضنة بتراكيز مختلفة من ضمنهم دورق كونترول (المعايير) لكل نسبة .

- تم أخذ 100 مل من الدورق الذي يحتوي على تربة ملوثة بنسبة 6% و اضافته لأحد أنابيب الاختبار تم وضع هذه الانبوبة في جهاز هزار بعد ذلك تم أخذ 1 مل من هذه الانبوبة و اضافتها للأنبوبة الملوثة و هكذا حتى وصلنا ثامن أنبوبة ( مزارع ثانوية ).

- تم أخذ 4 مل من الانبوبة السادسة بحيث تمت إضافة 1 مل لكل زوج من الأطباق المحتوية على الاجار الطبيعي و الاجار المخلوط بالنفط.

### 6.1 زراعة الميكروبات

لغرض التعرف على النمو الميكروبي اتبعت طريقة الزرع من الترب الملوثة على البيئات الغذائية الموضوعة في أطباق بتري بحيث تم توزيع هذه الكمية على سطح الاجار بواسطة إبره التلقيح الخاصة من ثم تغلق الأطباق و توضع في حاضنة كانت درجة حرارتها 37 درجة مئوية مع المراقبة بعد حوالي من 3-4 أيام تمت ملاحظة نمو البكتيريا على السطح يمكن رؤيتها وعد النمو بالعين المجردة مع تكرار هذه العملية على جميع الدوارق بنفس الطريقة.

### 6.2 التعرف على العزلات البكتيرية

تم إجراء الاختبارات على العزلات البكتيرية قيد الدراسة حسب ما جاء في العديد من المراجع و المصادر المختلفة [8] تم مبدئيا الاعتماد على الصفات المظهرية للمستعمرات على الأوساط و تشمل الحجم و اللون وارتفاع المستعمرة و شكل الحواف و من تم استعمل المجهر الضوئي للتعرف على شكل الخلايا و حجمها و رؤية الابواغ و طريقة تجمعها و من تم الانتقال للاختبارات البيو كيميائية.

### 6.3 الاختبارات البيو كيميائية

#### ► صبغة جرام

تعتبر طريقة صبغة جرام من أهم طرق الصبغ التفريري لأن باستعمالها نستطيع التفريق بين مجموعات البكتيريا . حيث إن صبغ البكتيريا بهذه الصبغة يعتبر أهم الخطوات في دراسة خواص البكتيريا أثناء تعريفها في المعمل. واستعملت هذه الطريقة لأول مرة من قبل العالم كريستيان جرام عام 1884م بواسطة صبغ البكتيريا بطريقة جرام نستطيع تقسيم البكتيريا إلى مجموعتين:

1- البكتيريا الموجبة لصبغة جرام.

2-البكتيريا السالبة لصبغة جرام.

► إجراء كل الاختبارات الحيوية و تشمل ( اختبار الكاتاليز - اكسيديز - انتاج كبريتيد الهيدروجين

► اكسدة وتخرم السكريات) التي تستخدم كمصدر للكربون و النيتروجين ) سيتم توضيحها لاحقا في جدول النتائج .



#### 6.4 النسبة المئوية لتحلل النفط الخام في عينات الدراسة

- تم استخدام جهاز الكروماتوجرافيا الغازية كطريقة فعالة من أجل فصل و كشف المركبات العضوية القابلة للتقطير ومزيج من مركبات غير عضوية من الطور الثابت و التحليل النوعي بواسطة تحليل الايون الجزيئي للعينة السائلة بواسطة التأين الالكتروني (EL) وامكانية حقن العينة بطريقة قياس الوزن الجزيئي عن طريق جهاز (GC ) و الحصول على مطياف الكتلة من مادة عضوية نقية و تحليل الزيوت العطرية والاحماض الدهنية [9]
- يتضمن آلية جهاز GC التجزئة في انحلالية الغازات بين الطور المتحرك الداخلي و الطور الصلب الساكن واهم اجزاء الكروماتوجرافيا الغازية :-
- الغازات و حجرة الحقن و العامود و الكاشف و الغاز المستعمل عادة يكون غاز الهليوم و هو غاز خامل حتى ل يتفاعل مع العينة.

#### 7 النتائج والمناقشة

- بعد الدراسة و التجارب المعملية التي أجريت تم التوصل إلى النتائج الآتية:
- الجراثيم التي تم عزلها من استزراع التربة الملوثة بنفط الشارة شملت أنواع من البكتيريا التي ظهرت على الوسطين
- -بيئة أجار المغذي
- -بيئة الملح المعدني المتوسط
- اختلف نموها من نمو ضعيف إلى معتدل إلى نمو كبير عند تحضينها عند 37°C لمدة من 24 ساعة إلى 72 وقد ظهرت البكتيريا المعزلة صفراء اللون وبعضها برتقالي وبعض الآخر باللون الأبيض الكريمي أو الحلبي ، وبعضها ظهر وبعض الآخر بني وبعضها ظهر باللون الرصاصي الباهت والغامق، وبعضها ظهر بلون وردي. أما شكل المستعمرات المعزلة فبعضها ظهر صغير ذات حواف كاملة ملساء ، في حين أن البعض الآخر كانت حوافها غير منتظمة وسطحها غير أملس أنواع البكتيريا التي عزلت كانت بعضها موجبة وبعضها سالبة لصبغة جرام.
- استخدمت السلالات البكتيرية النامية على الإagar الطبيعي (المرق ) و أجار الملح المعدني ركائز الهيدروكربونات البترولية الخام كمصدر وحيد للطاقة و الكربون بعد أن تم تحضينها ومعدل المعالجة الحيوية للتربة يعتمد على بقاء و نمو الكائنات في التربة وهذه السلالات من المستعمرات التي نمت على الوسط الغذائي كما موضح في الجدول التالي(جدول 3) صنفت مبدئيا على الخصائص حسب خصائصها المورفولوجية و الفسيولوجية وفقا لنظام التصنيف الذي اقترحه دليل bergeys وكانت النتيجة وجود سلالتين
- 1\_ سالبة جرام خيطية + موجبة جرام عضوية اكتينوميسيتس *Actinomycete*
- 2\_ سيدومonas *Pseudomonas aeruginosa* وقضبان سالبة جرام عضوية وخلايا *Vibroid Cells (Vibrio)*

جدول (3) بين شكل المستعمرات البكتيرية المعزولة من ترب مصفاة الزاوية بالمجهر الضوئي على الاوساط الغذائية

لون المستعمرة	صبغة جرام
صفراء	عصوية موجبة جرام
رمادية مصفرة	عصوية سالبة الجرام
بنيّة صغير	عصوية سالبة الجرام
وردية	عصوية موجبة وسالبة جرام
أبيض	أبواج عصوية
رمادية	عصوية سالبة الجرام الزائفية
البرتقالية	بكتيريا الضمة سالبة الجرام

الرائفة الزنجارية، (*Pseudomonas aeruginosa*) هي بكتيريا سالبة غرام منتشرة بكثرة، يمكن أن تسبب أمراض عند الحيوانات، بما فيها البشر. وانها تعتبر ايجابية السترات، وتحوي انزيم الكاتالاز (Catalase)، وكانت نتيجة اختبار الاوكسیداز لها ايجابي. تتوارد هذه البكتيريا في التربة، والمياه، والنباتات، ، ومعظم البيئات الطبيعية، أ تزدهر هذه البكتيريا في الأجواء طبيعية، بل أيضا في الأجواء قليلة الاكسجين، تتغذى على مجموعة واسعة من المواد العضوية، و لها قادرة على تحليل المواد الهيدروكربونية وقد استخدمت لتكسير القطران والنفط [10] عند حدوث تسرب في النفط. ومن الجدير بالذكر أن الأحياء المجهرية المحللة للمركبات الهيدروكربونية تشكل أقل من 1% من المجتمع الميكروبي للتربة وتزداد هذه الأعداد عند التلوث لتصل إلى 18 % من المجموع الكلي وأن البكتيريا المحللة قد تنتج بعض المواد المؤثرة في الشد السطحي والتي تعمل على تفكك وتحليل البقع النفطية [11] تعتبر البكتيريا الخيطية شكل (2,1) موجبة لصبغة جرام ولكنها تتصل كمجموعة مستقلة من قبل المختصين في علوم أحياء التربة المجهرية. وهي أحياء مجهرية وحيدة الخلية هوائية متفرعا شبيه بمايسيليوم الفطريات عدا كونه دقيقا وقطره يتراوح من 0.5 – 1 مايكرون وقد يصل أحيانا إلى 2 ما يكرون صفاتها تكون وسط بين الفطريات والبكتيريا تتکاثر بتجزئة الهايفات إلى أجزاء كروية أو اسطوانية وقسم منها تتکاثر بتکون سبورات لا جنسية (كونيدات Conidia أو السبورات الموجودة في حافظة السبورات. المستعمرات النامية على سطح البيئة الغذائية تشبه مستعمرات الفطريات ، تلتقي مع الفطريات في بعض الخواص وهي :

1- يمتلك المايسليوم في الاكتينومايسنات الراقية خاصية التقرع الموجودة في مايسيليوم الفطريات.

2- تكون بعض الاكتينومايسنات مايسيليوم هوائية وكونيديا مثل ما موجود في الفطريات.

وقد أثبتت الدراسة بما لا يقبل الشك بأنها بكتيريا للأسباب التالية :

1- خليتها التي هي من نوع بدائية النواة و الجدار الخلوي الذي يتركب كيميائيا من معقدات تتكون من ارتباط كل من السكريات والسكريات الامينية والأحماض الامينية وبذلك فهو يشابه تماما غلاف البكتيريا الموجبة لصبغة جرام.



2- كما أنها تشبه البكتيريا من حيث حساسيتها للمضادات الحيوية وللبكتريوفاج وللمثبتات البكتيرية ولن يست الفطرية ولملائمتها للترب القاعدية وقطر الخلية الدقيق.

3- أن شكل وحجم الهايفات والكونيديا والقطع الناتجة عن تجزئة المايسيليوم تكون جميعها مشابهة لتركيب البكتيريا وإن بعض الأجناس لا تكون مايسيليوم هوائي وتكون مشابهة للجنس في شكلها العام وتفاعلاتها الأصطbagية.

4- تمتلك اسوات مشابهة لتلك الموجودة في البكتيريا الاعتيادية أن مثل هذه الصفات أدت إلى تصنفيها ضمن البكتيريا الخيطية ولن يست الفطريات وتشكل الرتبة أحد الرتب العشر التي تصنف لها البكتيريا. تكثر الاكتينومايسنات أو البكتيريا الخيطية في التربة وفي خليط المخلفات العضوية، أعدادها في التربة تأتي بعد أعداد البكتيريا الأخرى وأحيانا تكونان متكافئتين في العدد وم معظم البكتيريا الخيطية رمية التغذية تعيش على الأنسجة العضوية الميتة



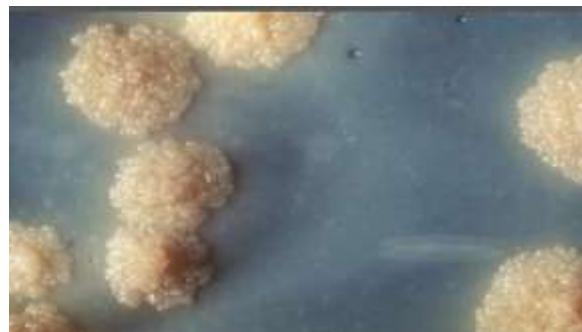
شكل (1) بكتيريا الخيطية على بيئة الاجار      شكل(2) البكتيريا الخيطية تحت المجهر

#### **بكتيريا (Vibrio)**

بكتيريا الضمة (فيبرو) كما موضح بالشكل (3) هو أحد أنواع البكتيريا السالبة لصبغة جرام، وتتخد شكلاً مميزاً وهو شكل القصبي المنحني أو الفاصلة ولذلك تعرف ببكتيريا الضمة تستطيع أنواع عديدة من هذه البكتيريا. توجد غالباً في المياه المالحة، تعد بكتيريا الضمة من البكتيريا اللاهوائية والتي تعطي نتيجة موجبة لاختبار إنزيم الأوكسیديز ولا تقوم بصناعة الأبواغ ولكن الصفة المشتركة بين كل أنواع هذا الجنس أنها متحركة بواسطة سوط قطبي ولها أغطية، وعلى عكس أنواع البكتيريا الأخرى وبعد الاطلاع على نتائج تحليل عينات النفط في جهاز الكروماتوجرافي لعينات من النفط بتراكيز معينة المضاف إليها التربة المحتوية على أعداد من سلالتين البكتيريا التي تم الكشف عليها والنامية على الوسطين البيئيين اتضاح أن البكتيريا لها تأثير واضح على تفكك وتكسير الروابط الهيدروكربونية للنفط واستخدامها كركائز للحصول على الكربون والطاقة ومن المقارنات مثلاً 14 C عندما كان تركيز النفط الخام 1% كانت نسبة التحلل 15.783 وكانت نسبة التفكك 15% وعندما كان تركيز النفط الخام 5% كانت نسبة التحلل 11.388 وكانت نسبة التفكك 25% بينما في التركيز 10% كانت نسبة التحلل 9.929 وكانت نسبة الهضم والتكسير 60%.



هذا يعني أن للبكتيريا قدرة على الهضم و التكسير كلما زادت نسبة البكتيريا وتکاثرت زادت نسبة التفكك وقلت نسبة الاهيدروكربون لأن البكتيريا استخدمتها كغذاء للحصول على الكربون و الطاقة وهذا لحد معين حتى يستقر التفكك و الهضم و يرجع ذلك اما لتحلل كل الاهيدروكربونات خاصة الخيطية منها الغير معقدة او لوصول البكتيريا لحالة التشبع وأحيانا وصولها لمرحلة الثبات و موت الكثير من الخلايا بالحمض العضوي السام.

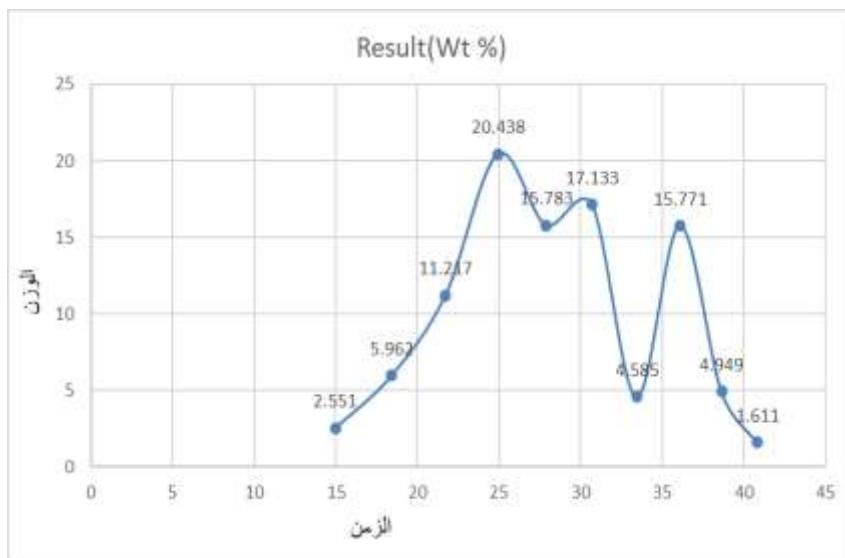


شكل(3):بكتيريا الضمة

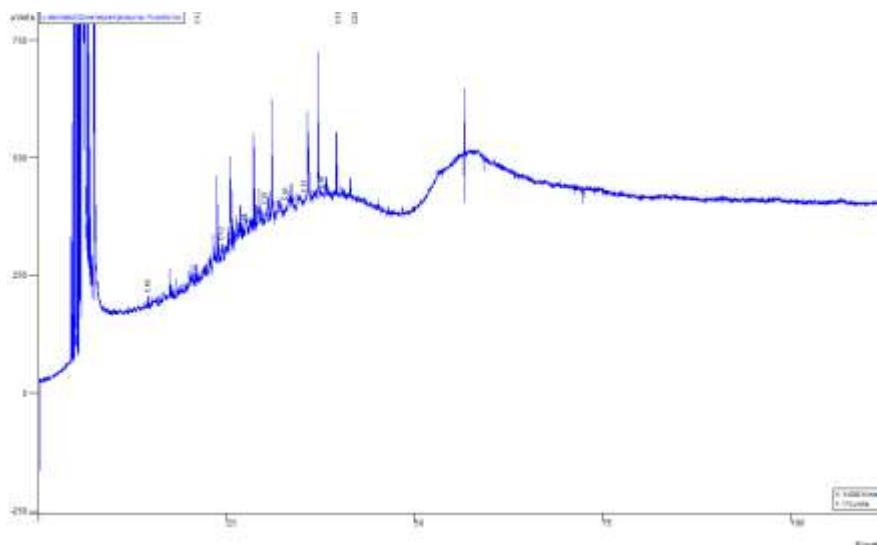
جدول (4) نتائج اختبار توزيع الكربون لجهاز الكروماتوغرافيا الغازية (GC) لعينة من التربة ملوثة بنفط مفلتر بنسبة 1%

**Ac 1% .run**

Peak No	Peak Name	Result (Wt %)	Ret. Time (min)
1	C10	2.551	14.983
2	C11	5.962	18.411
3	C12	11.217	21.733
4	C13	20.438	24.954
5	C14	15.783	27.899
6	C15	17.133	30.708
7	C16	4.585	33.437
8	C17	15.771	36.091
9	C18	4.949	38.635
10	C19	1.611	40.814
Totals		100.000	287.665
Average		10	28.7665
Median		19.7449	29.3035
std.deviation		6.872354796	8.716140382
Correlation		-0.05373218	



شكل (4): العلاقة بين وزن الكتلة الحيوية للبكتيريا والزمن لتكسير الكربوهيدرات عند نسبة 1%



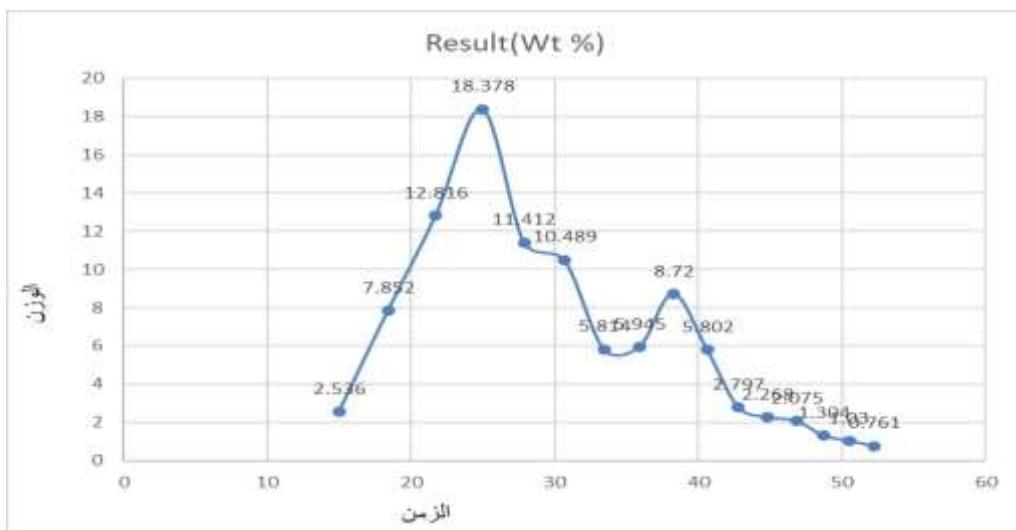
شكل(5): كروماتوغرام الغاز لنفط الشراره المفلتر بنسبة 1% وزن/حجم



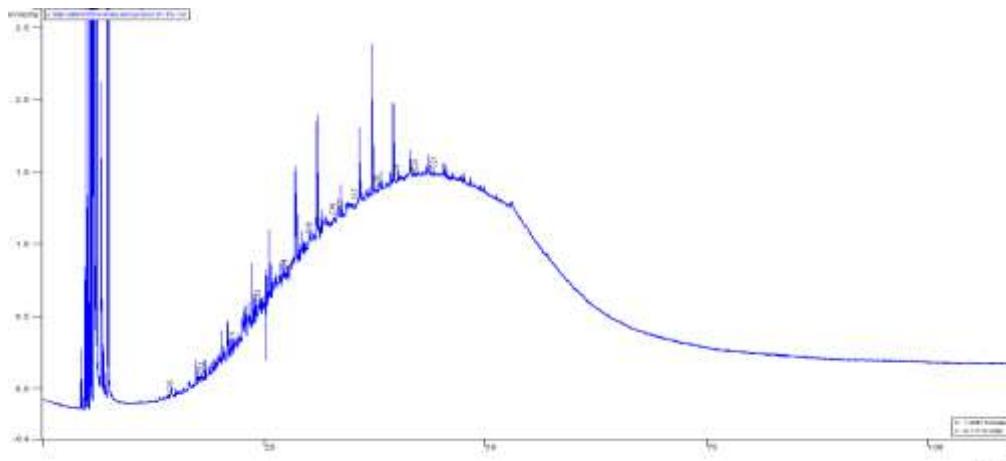
جدول (5): نتائج اختبار توزيع الكربون لجهاز الكروماتوغرافيا الغازية (GC) لعينة من التربة ملوثة بنفط مفلتر بنسبة 5%

b1 5% . run

Peak No	Peak Name	Result (Wt %)	Ret. Time (min)
1	C10	2.536	14.983
2	C11	7.852	18.411
3	C12	12.816	21.733
4	C13	18.378	24.954
5	C14	11.412	27.871
6	C15	10.489	30.680
7	C16	5.814	33.437
8	C17	5.945	35.914
9	C18	8.720	38.252
10	C19	5.802	40.617
11	C20	2.797	42.770
12	C21	2.268	44.798
13	C22	2.075	46.833
14	C23	1.304	48.714
15	C24	1.030	50.485
16	C25	0.761	52.212
Totals		99.999	572.664
Average		6.2499375	35.7915
Median		2.536	14.983
std.deviation		5.064988483	11.77053444
Correlation		-0.636009214	



شكل (6) : العلاقة بين وزن الكتلة الحيوية للبكتيريا والزمن لتكسير الكربوهيدرات عند نسبة 5%



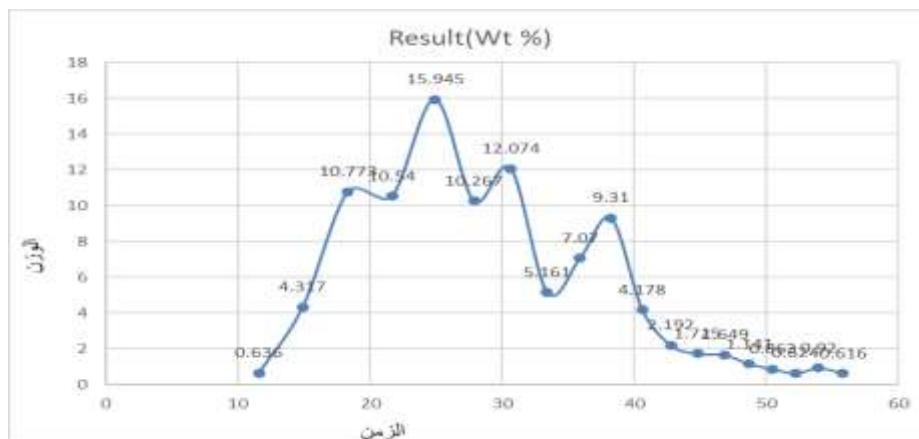
شكل (7): كروماتوغرام الغاز لنفط الشرارة المفلترة بنسبة 5% وزن/حجم



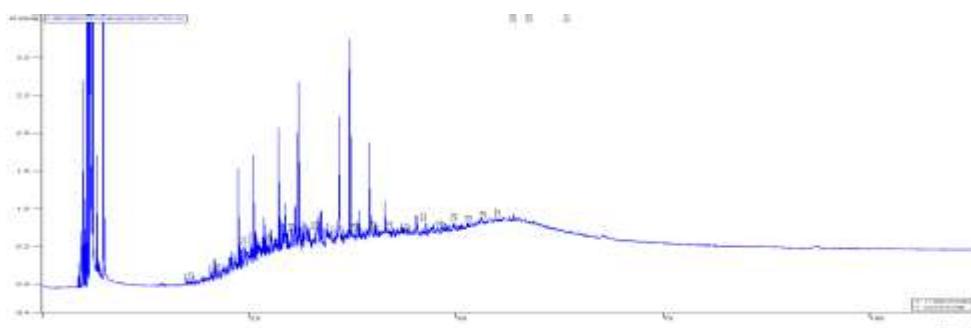
جدول (6): نتائج اختبار توزيع الكربون لجهاز الكروماتوغرافيا الغازية (GC) لعينة من التربة ملوثة بنفط مفلتر بنسبة 10%

**C1 10% .run**

Peak No	Peak Name	Result (Wt %)	Ret. Time (min)
1	C9	0.636	11.597
2	C10	4.317	14.903
3	C11	10.773	18.329
4	C12	10.540	21.663
5	C13	15.945	24.905
6	C14	10.267	27.860
7	C15	12.074	30.647
8	C16	5.161	33.404
9	C17	7.070	35.896
10	C18	9.310	38.238
11	C19	4.178	40.605
12	C20	2.192	42.779
13	C21	1.725	44.792
14	C22	1.649	46.827
15	C23	1.141	48.717
16	C24	0.863	50.476
17	C25	0.624	52.202
18	C26	0.920	53.925
19	C27	0.616	55.793
Totals		100.001	693.558
Average		5.263211	36.50305
Median		4.178	38.238
std.deviation		4.831688	13.72731
Correlation		-0.57283	



شكل(8) : العلاقة بين وزن الكتلة الحيوية للبكتيريا والزمن لتكسير الكربوهيدرات عند نسبة 10% وزن/حجم



شكل(9) : كروماتوغرام الغاز لنفط الشراره المفلترة بنسبة 10% وزن/حجم



شكل (11)



شكل (10)



شكل(13)



شكل (12)

تبين الصور (10، 11، 12، 13 ) بعض الاختبارات المعملية الميكروبولوجية



## 8 الخلاصة

بعد الاطلاع على نتائج الدراسة التي تمت بشأن المعالجة الحيوية لنترية مصفاة الزاوية الملوثة بالنفط الخام من حقل الشرارة خلصت الدراسة الى تحليل عالي للهيدروكربونات وتفكيكها يصل الى 60 %.

1. قدرة سلالات البكتيريا (*Actinomycete , pseudomonas.aeruginos , Vibrio*) على نمو عالية جدا في البيئة الملوثة.

2. كفاءة المعالجة تتناسب طرديا مع الكثافة الحيوية النشطة في التربة.

3. التحلل بواسطة الميكروبوات الأصلية لنفس البيئة يعطي نتائج أعلى مقارنة بإضافة خلايا ميكروبية من بيئات أخرى بسبب تكيف وقدرة البكتيريا للبقاء على قيد الحياة.

تفكك الهيدروكربون يتناسب طرديا مع الزمن مع بداية فترة التحلل بواسطة البكتيريا المؤكسدة للهيدروكربونات بواسطة استخدام جهاز الكروماتوغرافيا الغاري كما موضح بالشكل ( 5، 7، 9 ) ويمكن ان تعزى الزيادة في عدد الخلايا البكتيرية خلال الأيام الأولى الى استهلاك البكتيريا للمركبات الهيدروكربونية البسيطة إذ تستهلك البكتيريا المركبات البسيطة مثل الألkan أولا ثم الاصعب تركيبا ويتم ذلك بفعل الانزيمات التي تمتلكها البكتيريا (PAHs) مثل المركبات الهيدروكربونية متعددة الحلقات إذا ان أنواع البكتيريا التي تم عزلها جلها سالبة الجرام والتي يتميز غلافها باحتواه على الدهون التي تتمكنها من الحصول على أكبر كمية من المركبات الهيدروكربونية من البيئة ثم اكستتها واستغلالها مصدرا للكربون وبعدها يقل التفكك ويتوقف غالبا السبب وجود هيدروكربونات ذات روابط فرعية متعددة صعب التحلل ايضا بسبب تراكم الحمض العضوي الذي يعد من العناصر السامة للخلايا البكتيرية.

## المراجع

### المراجع العربية

[1] بن صادق، علي. 1999 (التلوث البيئي). جامعة الملك سعود- الرياض- المملكة السعودية-الطبعة الثانية.

[2] أبو الغيث (2010) رسالة ماجستير - جامعة الزاوية هيدروكربونات الموجودة في النفط كمصدر للكربون والطاقة.

[3] الطائي، ميسون صالح؛ حمد، نداء شهاب؛ البكري، جولان جبار صاحب. 2016 ( ). دراسة إمكانية إزالة الهيدروكربونات النفطية وبعك الملوثات في مياه المخلفات النفطية لمصفى النجف. مجلة جامعة ( 60 - 50: 24 ) بابل/ العلوم الصرفة التطبيقية.

### المراجع الأجنبية

- [1] Thouand, G.; Bauda, P.; Oudot, J.; Kirsch, G.; Sutton,C Vidalie, J.F(1999). Laboratory evaluation of crude oil biodegradation with commercial or natural microbial inocula. Canadian Journal of Microbiology. 45(2):
- [2] MSM recipe is from Coleman et al 2002( AEM, JS666), originally adapted from( Hartmans et Appl.Micr.Biotech.1992).



- [3] The Oil Reserves of Libya — Discovered, Produced and Yet to Find: From Analysis of the Impact of Recent New Ideas from the Reserve Base". مؤرشف من الأصل في 20-10-2017. اطلع عليه بتاريخ 28-05-2013 .searchanddiscovery.com. 2008.
- [4] MacFaddin, J. F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3rd ed. Williams and willkins company. USA., pp. 912.
- [5] - Itah J.P. (2005). "Growth Profile and Hydrocarbonoclastic Potential of Microorganisms Isolated from Tarballs in the Bight of Bonny Nigeria". World Journal of Microbiology and Biotechnology 21 (6–7): 1317–22. doi:10.1007/s11274-004-6694-z.
- [6] Jacobucci, D.F.C., Vasconcelos, C.K., Matsuura, A.B., Falconi, F.A. and Durrant, L.R. 2001. Degradation of Diesel Oil by Biosurfactant – Producing Bacterial Strains. The Association for Environmental Health and Sciences. Food Engineering Faculty. Companies State University. Unicamp Companies – Brazil Advanced Technology. pp.1-8.
- [7] <https://is.gd/J1yJ7J> Accessed date: 20-12-2025.