

دراسة العوامل المؤثرة على التفكك الحيوي للمركبات النفطية باستخدام جراثيم معزولة من البيئة المحلية

د. علا حكمة الشاخ*

(تاريخ الإيداع ٣٠/١١/٢٠٢٥ - تاريخ النشر ٢٧/١/٢٠٢٦)

□ ملخص □

هدفت هذه الدراسة إلى اختبار فعالية خليط من الجراثيم المعزولة من البيئة المحلية، ودراسة كفاءتها في تفكيك زيت المحرك كنموذج عن المركبات النفطية، إذ دُرس تأثير بعض العوامل على فعالية العزلات الجرثومية التي تم اختيارها، والتوصل إلى نموذج معالجة حيوية بكفاءة عالية حُددت فيه القيم المثلى للمتغيرات المدروسة (درجة الحرارة، درجة الحموضة (pH)، زمن المعالجة، تركيز المركب النفطي)، بالاعتماد على منهجية سطوح الاستجابة (RSM) Response Surface Methodlogy (RSM) حقق الخليط الجرثومي المكون من العزلات الجرثومية *Bacillus cereus* ، *Bacillus subtilis* ، *Klebsiella pneumoniae* أعلى فعالية تفكك عند القيم المثلى للشروط التجريبية الآتية درجة الحرارة °C (31.32) ، pH (7.06) ، التركيز mg/l (174.09) زمن المعالجة (17.8) يوم.

الكلمات المفتاحية: المعالجة الحيوية، سطوح الاستجابة، الجراثيم، العوامل اللاحيوية، المركبات النفطية

* عضو هيئة تدريسية - قسم علم الحياة - كلية العلوم - جامعة طرطوس - طرطوس - سوريا

Study of the Factors Influencing the Biodegradation of Petroleum Compounds Using Bacteria Isolated from the Local Environment

Dr. Ola Hikmat ALshakh *

(Received 30/11/2025. Accepted 27/1/2026)

□ABSTRACT □

This study focused on the effectiveness testing of a mixture of bacteria isolated from the local environment to study their efficiency in reducing Petroleum compounds with engine oil as an example. The effect of processing conditions on the effectiveness of the selected bacteria was studied. Highly efficient bioremediation models were obtained in which the optimal values of the studied variables (temperature, pH, treatment time, oil compound concentration) were determined for each bacterial isolate, based on the Response Surface Methodology (RSM) methodology. The mixture bacteria *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis* , and *Bacillus cereus* achieved a reduction efficiency at the optimal values of the experimental conditions: temperature (31.32)°C, pH(7.6), oil compound concentration (174.09) mg/l, treatment time (17.8) days.

Keywords: Biodegradation, Response Surface Methodology, Bacteria, Abiotic Factors , Petroleum Compound.

*Academic Staff Member - Department of Life Sciences- Faculty of Sciences-Tartous of University-Tartous- Syria

المقدمة:

أثار التلوث الناتج عن المركبات النفطية وآثاره البيئية الخطيرة اهتمام المختصين والباحثين بالمجال البيئي ودفعهم إلى ضرورة العمل على الحد من مشكلة التلوث بها، والبحث عن إجراءات علاجية، لتخفيف أثر هذه المركبات على النظم البيئية ومكوناتها، إذ بينت الدراسات التطبيقية أن المعالجة الحيوية من التقانات الواعدة جداً للحد من هذه المشكلة، لأنها منخفضة التكلفة الاقتصادية وصديقة للبيئة وتسعى إلى الاستدامة، وأثبتت الأبحاث التي درست المواقع الملوثة بالمركبات النفطية وجود ارتباط بين هذه المركبات ووجود عدد من الأنواع الجرثومية بشكل مترافق لها باعتبارها من المواقع الغنية بالكربون، وبالتالي مصدر هام للطاقة الأمر الذي أثار اهتمام الباحثين في التعرف على هذه الأنواع، وتحديدتها، ودراسة خصائصها لاستثمارها في مجال المعالجة الحيوية (Tremblay et al., 2017)، وتم في السنوات الأخيرة التركيز على تطوير وتحسين المعالجة الحيوية والتي تتأثر فعاليتها بمجموعة من العوامل الحيوية وغير الحيوية التي تحدد كفاءة الكائنات الحية في التفكك الحيوي، بسبب تأثيرها المباشر على الفعالية الحيوية لها في البيئات المختلفة، وذلك من خلال إعاقة نشاطها أو تعزيزه أثناء معالجة الهيدروكربونات النفطية، وتعد هذه العوامل المفتاح الأساس للنجاح التطبيقي لعمليات المعالجة، لذا اهتمت العديد من الأبحاث في دراسة العوامل التشغيلية المؤثرة على فعالية الأحياء الدقيقة ودراسة التأثير المتبادل بين هذه العوامل، لتحديد الشروط المثلى التي ترفع كفاءة الكائنات الحية وتضمن نجاحها (Abdulrasheed et al., 2020; Al-Hawash et al., 2018).

من الكائنات التي أثبتت فعاليتها في المعالجة الحيوية للمركبات الهيدروكربونية المشبعة والعطرية خليط جرثومي مكون من العزلتين (*Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*) بفعالية تفكك ٦٣.٥% (Wu et al., 2023)

كما بينت دراسة (Tanzadeh et al., 2020) إمكانية التخفيض الحيوي للنفط الخام باستخدام عزلات جرثومية محلية، حددت على أنها (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Bacillus cereus*)

إذ حققت العزلة *Bacillus cereus* أعلى كفاءة معالجة من بين العزلات السابقة بلغت (60%) . تأتي هذه الدراسة لتسلط الضوء على تطوير طرائق المعالجة الحيوية لرفع كفاءة الكائنات الحية الدقيقة وذلك باختيار الطريقة المناسبة في المعالجة للوصول إلى أقصى فعالية، وبالتالي ضمان الحصول على معالجات قابلة للتطبيق.

أهمية البحث وأهدافه:

تكمن أهمية هذه الدراسة على استخدام التقانات الحيوية في معالجة المخلفات المختلفة ومنها المركبات النفطية، وذلك بانتخاب كائنات حية دقيقة قادرة على تفكيك هذه المركبات وتحويلها من مواد ملوثة إلى مواد صديقة للبيئة.

يهدف البحث إلى ما يلي:

- ❖ دراسة تأثير بعض العوامل اللاحيوية على فعالية التفكك الحيوي للمركبات النفطية باستخدام جراثيم معزولة محلياً.
- ❖ التوصل إلى نموذج معالجة حيوية بكفاءة جيدة من خلال تحديد الشروط المثلى للعوامل المدروسة.

مواد البحث وطرقه:

تصميم التجربة وفق منهجية سطوح الاستجابة

طبقت منهجية سطوح الاستجابة RSM (Response Surface Methodlogy) المستندة إلى تصميم (CCD) (Central Composite Design) لدراسة تأثير أربعة عوامل خارجية (درجة الحرارة، وpH، وزمن المعالجة، وتركيز زيت المحرك)، بالإضافة لدراسة التأثير المتبادل لهذه العوامل على استجابة الجراثيم في التفكك الحيوي للمركبات الهيدروكربونية في زيت المحرك بهدف تحديد الشروط المثلى التي تحقق أفضل معالجة حيوية (Gomez and Sartaj, 2014; Wu and Ahn, 2023)، تم اختبار هذه العوامل بدراسة تأثيرها ضمن مجالات محددة على النحو الآتي: درجة الحرارة °C (23-40) ، pH (4.5-8)، زمن المعالجة (7-15) يوم، تركيز زيت المحرك mg/l (90-180)، وبناءً عليه تم تصميم النموذج التجريبي الموضح في الجدول (1)، باقتراح إحدى وثلاثون تجربة درست التأثير المتبادل للعوامل الأربع، مُثلت هذه العوامل من خلال تصميم تجريبي بسبعة مكررات في النقاط المركزية لتقدير تأثير التباين، إذ يسمح تصميم (CCD) بدراسة تأثير العوامل الرئيسية والتفاعلات الهامة بين العوامل المدروسة لتحسين المعالجة.

طبقت تجارب النموذج المصمم باستخدام أنابيب زجاجية قياسها cm (15×2) حاوية على ml (20) من الوسط المغذي (Bushnell Hass Broth) (Bushnell and Hass, 1941)، والحاوية على خليط من الجراثيم المعزولة محلياً من حوض المعالجة البيولوجية لمصفاة بانياس، والتي صنفت بالاعتماد على الصفات الشكلية والكيميائية والتوصيف الجزيئي بتقانة تفاعل البلمرة المتسلسل، إذ تم انتقاء العزلات الأكثر كفاءة في التفكك الحيوي، بهدف تحديد الشروط المثلى لتحسين المعالجة والمصنفة بأنها *Klebsiella pneumoniae* ، *Bacillus subtilis* ، *Bacillus cereus* (ALshakh et al., 2023)، حضنت الأنابيب في حمام مائي هزاز rpm (120)، وبمعدل ثلاث مكررات.

حُللت النتائج التجريبية باستخدام تحليل التباين (ANOVA) (Analysis of Variance) لتحديد تأثير العوامل على فعالية المعالجة الحيوية، فقد تم التحقق من صحة النموذج المدروس من خلال مقارنة الاستجابة التجريبية مع القيم المتوقعة للنموذج، وحساب قيمة R^2 ، إذ عُولجت البيانات التجريبية ضمن نموذج الانحدار متعدد الحدود من الدرجة الثانية وفق المعادلة (1) (Swathi et al., 2020; Umar et al., 2020)، وذلك لحساب الاستجابة عند التفاعلات الخطية والتربيعية والتأثيرات التفاعلية بين العوامل ذات التأثير المعنوي، مع إهمال الحدود التي لم تعط أي تأثير، وتم تحديد أهمية كل عامل في المعادلة بقبول قيم ($p < 0.05$) على أنها ذات دلالة احصائية وصممت مخططات سطح الاستجابة لتوضيح تأثير العوامل الرئيسية وتأثير التفاعل المتبادل لها باستخدام البرنامج الاحصائي (Minitab-16).

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{44} X_4^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{14} X_1 X_4 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{24} X_2 X_4 + \beta_{34} X_3 X_4 \quad (1)$$

حيث أن: Y: النسبة المئوية لتفكك المركبات الهيدروكربونية (%) ، $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4$: المعاملات

خطية، β_0 : ثابت

$\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}, \beta_{44}$: المعاملات التربيعية، X_1, X_2, X_3, X_4 : متغيرات التجربة

$\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{14}, \beta_{23}, \beta_{24}, \beta_{34}$: المعاملات التفاعلية من الدرجة الأولى

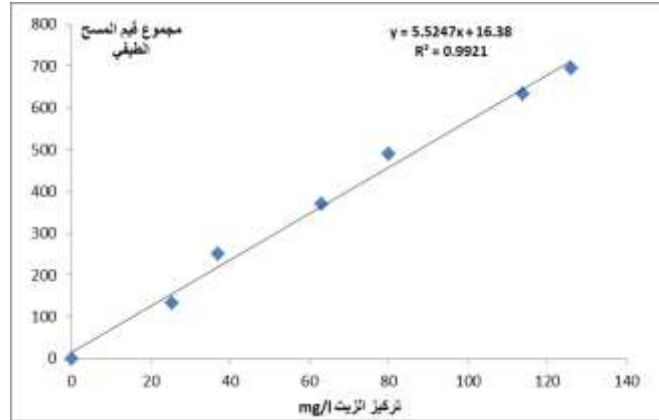
الجدول (1) نموذج CCD لدراسة المعاملات التجريبية على فعالية الخليط الجرثومي في تفكك زيت المحرك

رقم التجربة	درجة الحرارة (°C)	pH	الزمن (يوم)	التركيز (mg/l)
	X_T	X_{pH}	X_t	X_C
1	23.0	8.00	7	180
2	40.0	4.50	7	180
3	31.5	6.25	11	135
4	40.0	4.50	15	90
5	31.5	9.75	11	135
6	23.0	4.50	7	180
7	31.5	6.25	11	135
8	31.5	6.25	3	135
9	31.5	6.25	11	135
10	23.0	8.00	15	90
11	31.5	6.25	11	45
12	23.0	8.00	15	180
13	31.5	6.25	11	135
14	14.5	6.25	11	135
15	48.5	6.25	11	135
16	31.5	6.25	11	135
17	31.5	2.75	11	135
18	31.5	6.25	11	135
19	23.0	4.50	15	90
20	31.5	6.25	11	135
21	23.0	8.00	7	90
22	23.0	4.50	15	180
23	40.0	4.50	15	180
24	40.0	8.00	7	180
25	40.0	8.00	7	90
26	40.0	8.00	15	180
27	31.5	6.25	11	225
28	31.5	6.25	19	135
29	23.0	4.50	7	90
30	40.0	8.00	15	90
31	40.0	4.50	7	90

X_T : درجة الحرارة (°C) : X_{pH} : درجة الحموضة : X_t : زمن المعالجة (يوم) : X_C : تركيز الزيت (mg/l)

حساب النسبة المئوية لتخفيض زيت المحرك

قُدرت فعالية الخليط الجرثومي في التفكك الحيوي للمركبات النفطية من خلال قياس النسبة المئوية لتخفيض تراكيز زيت المحرك خلال زمن المعالجة، وذلك بالاعتماد على إجراء مسح طيفي باستخدام جهاز المطيافية الضوئية (السيكتروفوتومتر) عند أطوال موجية (190-700)nm، إذ تم تنفيذ منحنى المعايرة لزيت المحرك (10/40) عند التراكيز (25.2, 37.8, 63, 80.2, 113.4, 126) mg/l، وتم التوصل إلى علاقة خطية تربط بين تركيز الزيت والمساحة تحت المنحني الشكل (1).



الشكل (1) منحنى المعايرة لقياس تركيز الزيت

النتائج والمناقشة:

دراسة تأثير بعض العوامل على فعالية المعالجة الحيوية وفق نموذج (CCD)

دُرس تأثير درجة الحرارة، ودرجة الحموضة (pH)، وتركيز زيت المحرك، وزمن المعالجة على فعالية الخليط الجرثومي في التفكك الحيوي للمركبات الهيدروكربونية وفق نموذج (CCD) لتحديد مجال التأثير الأكبر لهذه العوامل وتأثير التفاعل المتبادل لها، بهدف تحسين المعالجة الحيوية. تُظهر النتائج التي توصلت إليها جميع التجارب المطبقة والموضحة في الجدول (٢) وجود تأثير للمتغيرات المدروسة على كفاءة المعالجة الحيوية.

سجل الخليط الجرثومي المدروس كفاءة جيدة في التفكك الحيوي للمركبات الهيدروكربونية في زيت المحرك، إذ حققت أعلى نسبة تخفيض تراوحت بين (81.5-88.07) % عند القيم الوسطى للعوامل المدروسة بالمقارنة مع التجارب الأخرى المقترحة، كما تبين أن اليوم الحادي عشر أعطى مؤشر على الزمن الكافي لبدء انتهاء المعالجة الحيوية، إذ لوحظ استمرار المعالجة عند الشروط ذاتها، ولكن بسرعة تفكك حيوي منخفضة لتصل في اليوم التاسع عشر إلى نسبة تخفيض (٩٠.٦٨) %، وكانت أدنى فعالية تخفيض حققها الخليط المدروس قد بلغت النسب (6.05) %.

يتبين من النتائج التي تم التوصل إليها أن كفاءة المعالجة تفاوتت بين الضعيفة والمتوسطة والجيدة حسب الشروط التجريبية المدروسة.

الجدول (2) تأثير العوامل المدروسة على فعالية الخليط الجرثومي في التفكك الحيوي لزيت المحرك وفق تصميم CCD

رقم التجربة	X_C	X_T	X_{pH}	X_T	الخليط الجرثومي	
					الشاهد	الفعالية التجريبية
					الفعالية المتوقعة	الفعالية التجريبية
1	180	7	8.00	23.0	5.028	60.62
2	180	7	4.50	40.0	3.661	20.25
3	135	11	6.25	31.5	3.482	81.5
4	90	15	4.50	40.0	3.365	50.05
5	135	11	9.75	31.5	2.858	30.86
6	180	7	4.50	23.0	7.623	16.6
7	135	11	6.25	31.5	5.592	84.3

٤٦.١٠	40.5	4.367	135	3	6.25	31.5	8
٨٤.١٤	82.134	2.254	135	11	6.25	31.5	9
٤٠.٩٥	45.577	8.560	90	15	8.00	23.0	10
٢٨.٠٨	15.6	3.010	45	11	6.25	31.5	11
٨٢.٨٣	85.909	3.753	180	15	8.00	23.0	12
٨٤.١٤	٨٢.771	2.113	135	11	6.25	31.5	13
١٩.٦٦	13.148	2.980	135	11	6.25	14.5	14
٢٧.٠٨	25.722	6.350	135	11	6.25	48.5	15
٨٤.١٤	89.9	1.892	135	11	6.25	31.5	16
٦.٧٢	6.05	3.340	135	11	2.75	31.5	17
٨٤.١٤	85.366	4.023	135	11	6.25	31.5	18
٣٦.٦١	43.35	1.903	90	15	4.50	23.0	19
٨٤.١٤	88.077	1.557	135	11	6.25	31.5	20
٢١.٦٦	25.9	5.499	90	7	8.00	23.0	21
٤١.٥٨	35.946	5.230	180	15	4.50	23.0	22
٥٢.١٦	55.371	1.997	180	15	4.50	40.0	23
٥١.٤٤	52.16	8.800	180	7	8.00	40.0	24
١٨.٤٩	24.567	7.462	90	7	8.00	40.0	25
٧٥.٥١	72.548	3.520	180	15	8.00	40.0	26
٦٦.٠٠	70.6	5.101	225	11	6.25	31.5	27
٩٣.١٣	90.86	4.583	135	19	6.25	31.5	28
١٣.٦٦	17.07	3.780	90	7	4.50	23.0	29
٣٧.٨٤	42.6	2.838	90	15	8.00	40.0	30
٢٨.٣٨	32.757	4.976	90	7	4.50	40.0	31

X_T : درجة الحرارة (°C) X_{pH} : درجة الحموضة X_t : زمن المعالجة (يوم) X_C : تركيز الزيت (mg/l)

تحليل التباين لتأثير العوامل المدروسة على المعالجة الحيوية

يبين الجدول (3) نتائج تأثير العوامل المدروسة على فعالية الخليط الجرثومي في المعالجة الحيوية، ومدى ملائمة النموذج المدروس لنجاح المعالجة.

الجدول (3) تحليل التباين (ANOVA) لتفكك المركبات الهيدروكربونية

النسبة المئوية لتخفيض زيت المحرك				
الشاهد	الخليط الجرثومي		التجربة	
	p Value	p Value		
—	0.948	***	0.000	المعاملات الخطية
—	0.510	***	0.000	درجة الحرارة (X_T)
—	0.979	***	0.000	pH (X_{pH})
—	0.950	*	0.017	زمن المعالجة (X_t)
—	0.773	*	0.017	تركيز الزيت (X_C)
—	0.416	***	0.000	المعاملات التربيعية
—	0.164	***	0.000	X_T^2
—	0.676	***	0.000	X_{pH}^2
—	0.201	**	0.009	X_t^2
—	0.306	***	0.000	X_C^2
—	0.737	***	0.001	التفاعل بين المعاملات
—	0.602	*	0.014	$X_T X_{pH}$
—	0.206	—	0.993	$X_T X_t$
—	0.757	—	0.527	$X_T X_C$
—	0.945	—	0.581	$X_{pH} X_t$
—	0.354	***	0.000	$X_{pH} X_C$
—	0.503	—	0.479	$X_t X_C$
—	0.135	—	0.074	Lack-of-Fit

P* < 0.05, P** < 0.01, P*** < 0.001

بالتحليل البياني للنتائج التجريبية تبين أن المتغيرات المدروسة من الدرجة الأولى والمؤثرة على التفكك الحيوي للمركبات الهيدروكربونية في زيت المحرك ذات دلالة احصائية عالية عند مستوى معنوية ($p < 0.001$) بالنسبة لكل من درجة الحرارة والـ pH ، بينما كان تأثير كل من زمن المعالجة وتركيز الزيت على فعالية التفكك الحيوي عند مستوى معنوية ($p < 0.05$). وبدراسة المتغيرات المدروسة من الدرجة الثانية، فقد كان لكل من درجة الحرارة و pH وتركيز الزيت دلالة احصائية عند مستوى معنوية ($p < 0.001$)، بينما أثر زمن المعالجة تأثير معنوي عند المستوى ($p < 0.01$).

وتشير النتائج إلى أن تأثير التفاعلات المتبادلة بين المتغيرات المدروسة على فعالية التفكك الحيوي للخليط الجرثومي المستخدم في المعالجة الحيوية كان ذو دلالة احصائية عالية عند مستوى معنوية ($p < 0.001$) بالنسبة للتأثير المتبادل بين تركيز الزيت و pH ($X_{pH} * X_C$)، بينما كان التأثير المتبادل بين درجة الحرارة و pH ($X_T * X_{pH}$) ذو دلالة احصائية عند مستوى معنوية ($p < 0.05$) لم تبدي باقي التفاعلات المتبادلة بين العوامل المدروسة أي تأثير على فعالية التفكك الحيوي.

وللتأكد من سلامة النموذج المستخدم في المعالجة الحيوية تم حساب معامل الارتباط R^2 للعوامل المدروسة على فعالية الخليط الجرثومي المستخدم في المعالجة الحيوية، والذي بلغ (97.02) تم حساب معاملات معادلة الانحدار والتوصل إلى معادلة متعددة الحدود من الدرجة الثانية، إذ تم التعبير عن النموذج الرياضي عن طريق ثوابت المتغيرات ذات التأثير المعنوي، وإهمال المتغيرات غير المؤثرة معنوياً على استجابة

الخليط الجرثومي المستخدم في التفكك الحيوي للمركبات الهيدروكربونية. تم التوصل على النموذج المبين وفق المعادلة الآتية:

$$Y_1 = -449.17 + 15.712X_T + 62.587X_{pH} + 7.853X_t + 0.730X_C - 0.210X_T^2 - 5.041X_{pH}^2 - 0.227X_t^2 - 0.005X_C^2 - 0.3017X_T X_{pH} + 0.117X_{pH} X_C$$

Y_1 : نسبة تفكك زيت المحرك (%)

X_T : درجة الحرارة (°C) ، X_{pH} : الـ pH ، X_t : زمن المعالجة (يوم) ، X_C : تركيز الزيت (mg/l)

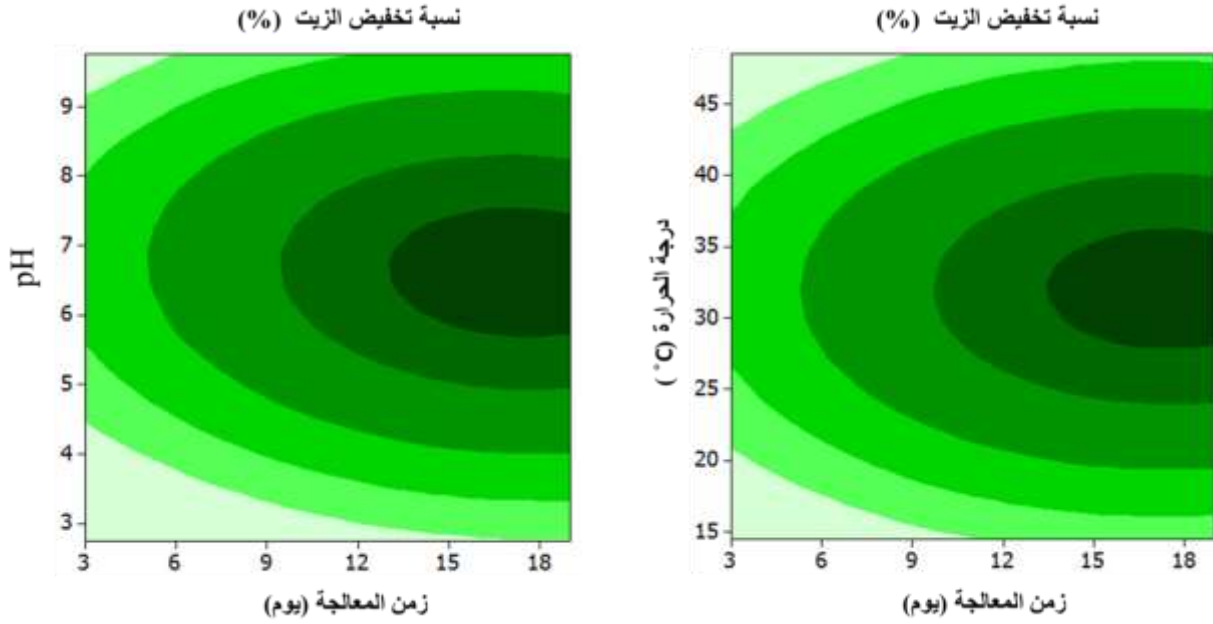
التأثيرات الأساسية والتفاعلات المتبادلة للعوامل المدروسة على فعالية المعالجة الحيوية

تأثير درجة الحرارة

أبدى الخليط الجرثومي المستخدم في المعالجة استجابة متغيرة في كفاءة التفكك الحيوي نتيجة تأثيرها بعامل الحرارة، كما هو موضح في الشكل (2)، إذ حققت سرعة تكييف في وسط المعالجة منذ المراحل الأولى بدءاً من اليوم السادس ضمن مجال تخفيض (60-80)%، كما لوحظ ازدياد فعالية التفكك الحيوي مع ازدياد زمن المعالجة، إذ بدأت بتسجيل أعلى نسب تفكك منذ اليوم الثالث عشر حتى نهاية المعالجة التي استمرت تسعة عشر يوماً، عند مجال من درجات حرارة °C (27-36) ، بنسبة تخفيض تجاوزت الـ (90) %، كما يتضح أهمية تأمين درجة الحرارة المناسبة للكائن الحي على فعالية المعالجة الحيوية من خلال ملاحظة التأثير السلبي لدرجات الحرارة المنخفضة على النشاط الحيوي للخليط الجرثومي المدروس، فقد كانت فعالية تفكك للمركبات الهيدروكربونية ضعيفة عند درجة حرارة أدنى من °C (20) .

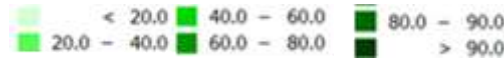
تأثير درجة الحموضة (pH)

يبين الشكل (3) تأثير تغير قيم الـ pH خلال زمن المعالجة على النسب المئوية لتفكك المركبات الهيدروكربونية، فقد حقق الخليط الجرثومي المدروس استجابة عالية بدءاً من اليوم الثالث عشر حتى نهاية فترة المعالجة، وكانت أقصى فعالية تفكك قد حققها عند المجال pH (5.7-7.8) بنسبة تفكك تزيد عن (90) %.



الشكل (3) تأثير الـ pH على فعالية المعالجة الحيوية

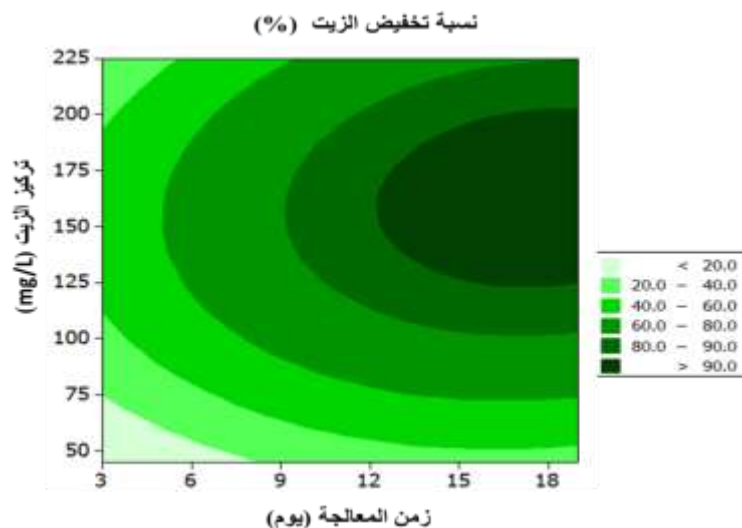
الشكل (2) تأثير درجة الحرارة على فعالية المعالجة الحيوية



مما تقدم وبعد دراسة التأثيرات الأساسية لدرجة الحرارة و pH خلال زمن المعالجة على كفاءة المعالجة تبين أن لهذين العاملين تأثير متقارب على نجاح المعالجة الحيوية، بسبب تأثيرهما على الركيزة الكيميائية والنشاط الجرثومي، إذ تزداد الفعالية الاستقلابية للعزلات الجرثومية المراد تحسين كفاءتها بازدياد العاملين إلى درجة معينة، وبالتالي ازدياد معدل استهلاكها للمركبات الهيدروكربونية للحصول على الطاقة اللازمة لأدائها الحيوي من خلال تفكيك هذه المركبات ضمن تفاعلات حيوية، ومسارات استقلابية معينة بتأثير أنزيمات نوعية لديها حساسية لدرجات الحرارة و pH (Koshlaf and Ball, 2017; Rahman *et al.*, 2022)، فقد لوحظ انخفاض نسب التفكك بدرجات الحرارة المنخفضة مهما ازداد زمن المعالجة المطبق في هذه التجربة، وهذا ما أكده الباحث (Atlas, 1975) والذي أثبت أن درجات الحرارة المنخفضة تؤثر سلباً على الخصائص الحيوية للكائن، وبالتالي تحتاج لفترة زمنية أطول لبدء التحلل لذلك فإن ضبط عاملي الحرارة و الـ pH وتحديد المجال الفعال والمحسن لأداء الكائن الحي سينعكس إيجاباً على كفاءة المعالجة الحيوية وبالتالي على النشاطات الاستقلابية (Sihag *et al.*, 2014). تبين أن معظم الجراثيم المفككة لهذه المركبات تكون فعالة ضمن مجال pH (6-8) (Wang *et al.*, 2017)، هذا يتوافق مع المجال الفعال للنتائج التجريبية، والانحراف عن الحالة المثالية يؤدي إلى انخفاض معدل نمو معظم الأنواع الجرثومية، كما تؤثر الـ pH على التنوع الحيوي والتفاعلات الاستقلابية للكائنات الحية، وبالتالي على فعالية المعالجة الحيوية في البيئات الملوثة بالمركبات النفطية (Mammitzsch *et al.*, 2014)، إذ لوحظ وجود اختلاف في كفاءة المعالجة الحيوية باختلاف قيم pH.

تأثير تركيز الزيت الابتدائي

يوضح الشكل (4) تأثير تراكيز مختلفة من زيت المحرك على الفعالية الحيوية، إذ أن التراكيز المنخفضة كانت تؤثر سلباً على فعالية المعالجة الحيوية، وقد يعزى السبب إلى انخفاض نسبة المواد التي تحتاجها الكائنات الحية للقيام بنشاطها الحيوي باعتبار الزيت المستخدم في المعالجة المصدر الوحيد للكربون، وقد كانت أعلى فعالية للخليط الجرثومي عند تراكيز تراوحت بين 202-122 mg/l لتتجاوز الـ (90) %.



الشكل (4) تأثير تركيز الزيت على فعالية المعالجة الحيوية

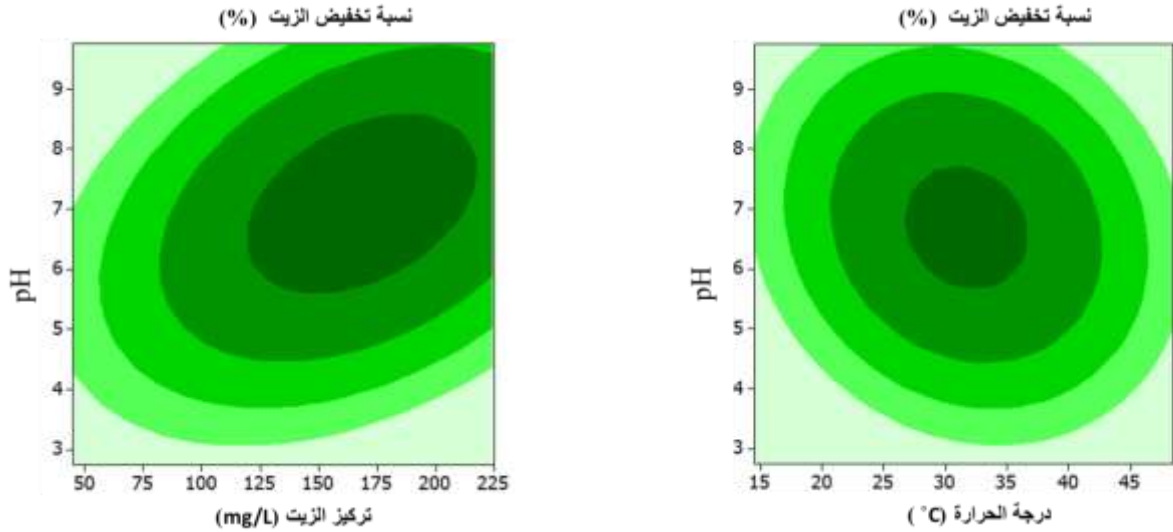
كما أثر تركيز زيت المحرك على فعالية الجراثيم في التفكك الحيوي، بالإضافة لتأثيره على معدلات الاستقلاب، فالتراكيز العالية تكون ذات تأثير سام، وبالتالي تؤثر سلباً على معدل النمو ونشاط الكتلة الحية التي ستحتاج إلى فترة زمنية طويلة في المعالجة (Martinez et al., 2019) ويمكن للتراكيز المنخفضة أن تحد من المعالجة الحيوية بسبب غياب الدعم الغذائي اللازم لتنشيط التفاعلات الحيوية لدى الكائن الحي، لذلك فإن التحلل الحيوي يحتاج إلى وجود تراكيز مثالية (Adams et al., 2015)

التفاعل المتبادل بين درجة الحرارة و pH

بينت نتائج الدراسة وجود تأثير واضح للتفاعل المتبادل بين عاملي درجة الحرارة و pH على فعالية الخليط الجرثومي في المعالجة الحيوية، إذ أنها أبدت فعالية تفكك ضمن مجالات تخفيض متفاوتة بتبدل قيم درجات الحرارة و pH، كما هو موضح في الشكل (5)، فقد حققت أعلى فعالية تفكك مرتفع عند المجال الحراري °C (36-27) بشكل مترافق مع قيم pH (7.7-5.7). وبناءً على منهجية (RSM) وبعد دراسة التأثير المتبادل لعاملَي الحرارة و pH من الممكن التنبؤ بأن أفضل استجابة ستكون عند درجة حرارة °C (31) و pH (6.6)، إذ يمكن أن تصل الفعالية (85) %.

التفاعل المتبادل بين تركيز الزيت و pH

يبين الشكل (6) التأثير المتبادل بين تركيز الزيت و pH، فقد حققت فعالية عظمى ضمن مجال واسع من التراكيز 212-123 mg/l بشكل مترافق مع pH (8.5-5.6) وكانت أفضل نسبة تفكك وفق النموذج المدروس (89.4) % عند التركيز 166.7 mg/l و pH (7.2).



الشكل (6) تأثير تركيز الزيت و pH على فعالية المعالجة الحيوية

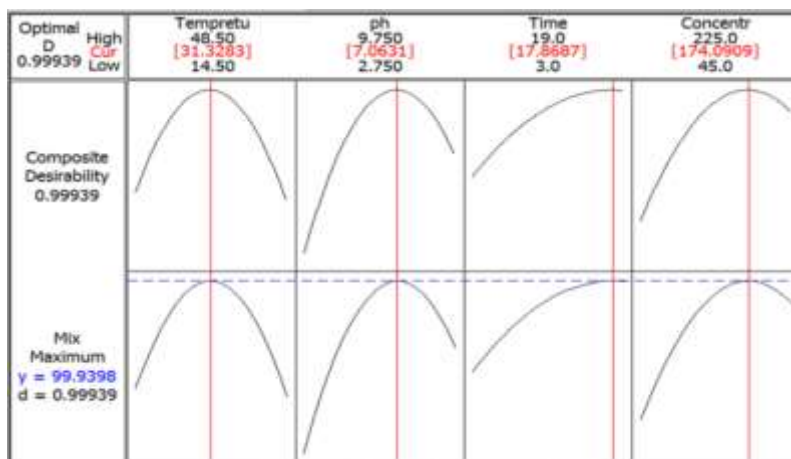
الشكل (5) تأثير درجة الحرارة و pH على فعالية المعالجة الحيوية

■ < 20.0 ■ 20.0 - 40.0 ■ 40.0 - 60.0 ■ 60.0 - 80.0 ■ 80.0 - 90.0 ■ > 90.0

بعد تحليل تأثير العوامل المدروسة بشكل مستقل ومتبادل مع بعضها على كفاءة المعالجة، تم التوصل إلى نموذج معالجة حُدثت فيه الشروط المثلى للخليط الجرثومي المدروس للتنبؤ بأفضل استجابة وفق القيم الآتية: درجة الحرارة °C (31.32) pH (7.06)، التركيز 174.09 mg/l (17.8) يوم المعالجة (الشكل (7)).

تؤكد النتائج التي تم التوصل إليها والمعتمدة على تطبيق منهجية (RSM) بأنها تحقق كفاءة أفضل في المعالجة الحيوية بسبب دراستها لتأثير العوامل التجريبية، والتأثير المتبادل لهذه العوامل على فعالية الكائنات الحية، مما يضمن تطبيق منظومة معالجة فعالة ومستدامة، وقد حققت النتائج فعالية تجريبية مقاربة مع فعالية النموذج المتنبئ به.

بالمقارنة مع دراسات أخرى اعتمدت منهجية (RSM) لتحديد الشروط المثلى لرفع كفاءة الأحياء الدقيقة في المعالجة الحيوية، تبين أن هذه المنهجية ساهمت في تحسين المعالجة وحققت فعالية أعلى في التفكك الحيوي للمركبات الهيدروكربونية، عمل (Swathi et al., 2020) على تطوير المعالجة الحيوية باستخدام خليط من الكائنات الحية الدقيقة وفق منهجية (RSM) لتحديد ظروف المعالجة المثلى لتخفيض نسبة المركبات الهيدروكربونية من خلال دراسة مجموعة من العوامل على النحو الآتي: الزمن (5-9) أيام، pH (6-10)، والتركيز (10-40) mg/g. توصلت الدراسة إلى أن أعلى حالة تفكك احتاجت (7) أيام لتخفيض تركيز المركبات الهيدروكربونية بنسبة (88.78) % عند pH (7) والتركيز (10) mg/g.



الشكل (7) القيم المثلى للعوامل المدروسة لتحقيق أعلى كفاءة معالجة حيوية للخليط الجرثومي

الاستنتاجات والتوصيات

- ١) تأثرت كفاءة الخليط الجرثومي في إزالة المركبات النفطية من المياه الملوثة بالعوامل التشغيلية (درجة الحرارة، ودرجة الحموضة، تركيز المركب النفطي، وزمن المعالجة).
- ٢) أظهرت الدراسة وجود تأثير للمتغيرات الأساسية والتفاعلية للعوامل التشغيلية على كفاءة المعالجة الحيوية، وكان للتفاعل بين درجة الحرارة ودرجة الحموضة والتفاعل المتبادل بين درجة الحرارة وتركيز المركب النفطي تأثير على فعالية المعالجة، كما أثر التفاعل المتبادل بين درجة الحموضة وتركيز المركب النفطي على فعالية المعالجة الحيوية.
- ٣) تم التوصل إلى نموذج معالجة حيوية بكفاءة جيدة حقق فعالية تخفيض للمركب النفطي عند تطبيق الشروط التشغيلية المثلى التي تم التوصل إليها والمتمثلة بدرجة الحرارة 31.32°C (pH 7.06)، التركيز (174.09) mg/l زمن المعالجة (17.8) يوم.

التوصيات

- ١) استثمار نتائج الدراسة في المعالجة الحيوية للملوثات النفطية والاستفادة منها تطبيقياً من خلال تمهيتها وحفظها لإضافتها إلى محطات معالجة المياه الملوثة بالنفط.
- ٢) البحث والاستقصاء عن عزلات جرثومية جديدة من مصادر بيئية محلية مختلفة، لدراسة فعاليتها في تفكيك المركبات النفطية.

المراجع.

ABDULRASHEED, M., ZAKARIA, N. N., ROSLEE, A. F. A., SHUKOR, M. Y., ZULKHARNAIN, A., NAPIS, S., CONVEY, P., ALIAS, S. A., GONZALEZ-ROCHA, G., AND AHMAD, S. A. 2020. *Biodegradation of Diesel Oil by Cold-Adapted Bacterial Strains of Arthrobacter Spp from Antarctica*. *Antarctic Science*, VOL..32, No, 5, 341–353

AL-HAWASH, A.B.; LI, S.; ALHUJAILY, A.; ZHANG, X.; MA, F.; DRAGH, M.A.; ABOOD, H.A. 2018. *Principles of Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons In The Environment*. *Egypt. J. Aquat. Res.*, VOL.44, 71–76.

ALSHAKH, H. O., ALI, T., NASSER, O., AND EHINOMEN, I. 2013, *Efficiency Of Locally Isolated Bacteria In The Bioremediation Of Petroleum Pollution Scientific Journal Of King Faisal University: Basic And Applied Sciences*, VOL.24, NO. 3, 61-67.

ADAMS, G. O., FUFUYIN, P. T., OKORO, S. E., AND Ehinomen, I. 2015, *Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation. International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, VOL.3,NO. 1, 28-39.

Atlas, R. M. (1975). Effects of Temperature and Crude Oil Composition on Petroleum Biodegradation. *American Society for Microbiology*, 30(3), 396–403

BUSHNELL, L. D., AND HAAS, H. F. 1941. *The Utilization Of Certain Hydrocarbons By Microorganisms. Journal of Bacteriology*, VOL.41, NO.5, 653–73.

GOMEZ, F., AND SARTAJ, M. 2014. *Optimization of Field Scale Biopiles For Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon Contaminated Soil At Low Temperature Conditions By Response Surface Methodology . International Biodeterioration & Biodegradation*, VOL. 89, 103–109.

KOSHLAF, E., AND BALL, A. 2017. *Soil Bioremediation Approaches for Petroleum Hydrocarbon Polluted Environments. AIMS Microbiology*, VOL. 3, No. 1, 25–49.

MARTINEZ, L. M., RUBERTO, A. L. A. M., GUREVICH, J. M., AND CORMACK, W. P. 2019. *Environmental Factors Affecting Reproducibility of Bioremediation Field Assays In Antarctica, Cold Regions Science and Technology*, VOL.169, 1–9.

MAMMITZSCH, K., JOST, G., AND JÜRGENS, K. 2014. *Impact of Dissolved Inorganic Carbon Concentrations And Ph On Growth Of The Chemolithoautotrophic Epsilonproteo Bacterium Sulfurimonas Gotlandica GDIT. Microbiol Open* , VOL. 3, 80–88.

RAHMAN, R. N. Z. R. A., LATIP, W., ADLAN, N. A., SABRI, S., ALI, M. S. M. 2022. *Bacteria Consortia Enhanced Hydrocarbon Degradation of Waxy Crude Oil. Arch. Microbiol*, 204, 70.

SIHAG, S., PATHAK, H., AND JAROLI, D. P. 2014. Factors Affecting The Rate Of Biodegradation Of Polyaromatic Hydrocarbons. *International Journal of Pure And Applied Bioscienc*, VOL .2, No3, 185–202.

SWATHI, K. V., MUNEESWARI, R., RAMANI, K., AND SEKARAN, G. 2020. *Biodegradation Of Petroleum Refining Industry Oil Sludge By Microbial-Assisted Biocarrier Matrix: Process Optimization Using Response Surface Methodology. Biodegradation*, VOL. 31, No. 46, 1-21.

TREMBLAY, J., YERGEAU, E., FORTIN, N., COBANLI, S., ELIAS, M., KING, T.L., AND GREER, C.W. 2017. *Chemical Dispersants Enhance The Activity of Oil-And Gas Condensate-Degrading Marine Bacteria. The ISME Journal*, VOL.1, No.12, 2793–2808.

TANZADEH, J., GHASEMI, M. F., ANVARI, M., AND ISSAZADEH, K. 2020. *Biological Removal of Crude Oil With The Use of Native Bacterial Consortia Isolated From The Shorelines of The Caspian Sea. Biotechnology & Biotechnological Equipment*, VOL.34, No. 1, 361–374

UMAR , D. Z., MUSA, A., AND YUNUSA, R.Y. 2020. *Optimization of Diesel Biodegrading Conditions Using Response Surface Methodology Based on Central Composite Design. Polycyclic Aromatic Compounds*, VOL. 42, No. 229, 1-11.

WANG, R., ZHANG, H., SUN, L., CHEN, S. 2017. *Microbial Community Composition Is Related to Soil Biological And Chemical Properties and Bacterial Wilt Outbreak. Sci Rep* , VOL. 7, 343.

WU, B., XIU, J., YU, L., HUANG, L., YI, L., AND MA, Y. 2023. *Degradation Of Crude Oil In A Co-Culture System of Bacillus Subtilis and Pseudomonas Aeruginosa*. Front Microbiol, 14.