المجلة العلمية لجامعة الملك فيصل: العلوم الأساسية والتطبيقية
Scientific Journal of King Faisal University: Basic and Applied Sciences

فعالية جراثيم معزولة محلياً في المعالجة الحيوية للتلوث النفطي

علا الشاخ [1] وتميم عليا [2] وأميمة ناصر [1]
[1] قسم الوقاية البيئية، المعهد العالي لبحوث البيئة، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا
[2] قسم الكيمياء البيئية، المعهد العالي لبحوث البيئة، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا

Efficiency of Locally Isolated Bacteria in the Bioremediation of Petroleum Pollution

Ola Al-shakh [1], Tamim Alia [2] and Omiema Nasser [1]
[1] Department of Environmental Prevention, Higher Institute for Environmental Research, University of Tishreen, Latakia, Syria
[2] Department of Environmental Chemistry, Higher Institute for Environmental Research, University of Tishreen, Latakia, Syria

LINK الرابط	RECEIVED الاستقبال	ACCEPTED القبول	PUBLISHED ONLINE النشر الإلكتروني	ASSIGNED TO AN ISSUE الإحالة لعدد
https://doi.org/10.37575/b/sci/230053	05/10/2023	01/12/2023	01/12/2023	01/12/2023

NO. OF WORDS عدد الكلمات	NO. OF PAGES عدد الصفحات	YEAR سنة العدد	VOLUME رقم المجلد	ISSUE رقم العدد
5740	7	2023	24	2

الملخص

تعد المعالجة الحيوية للملوثات النفطية من الاستراتيجيات الجديدة، التي تتميز بأنها اقتصادية وصديقة للبيئة وتحقق الاستدامة، تعتمد هذه المعالجة على استخدام كائنات حية دقيقة للاستفادة من نشاطها الحيوي لتفكيك المركبات الهيدروكربونية التي يتكون منها النفط. ركزت هذه الدراسة على عزل وتوصيف بكتيريا من البيئة المحلية ودراسة فعاليتها في خفض المركبات الهيدروكربونية لزيت المحرك المعتمد كمصدر وحيد للكربون. بعد عملية العزل الانتقائية تم الحصول على ست عزلات بكتيرية، تم تقييم فعاليتها في المعالجة الحيوية. أظهرت النتائج تفوق عزلتين بكتيريتين (SL4-IW2) بالتفكك الحيوي لزيت المحرك بنسبة تفكك وصلت لـ (83.17-76.58)% على التوالي خلال 20 يوماً، وأكدت النتائج وجود علاقة طردية بين فعالية التفكك الحيوي وكل من معدل النمو والنسبة المئوية لإرجاع مركب الـ2,6-dichlorophenol indophenol (DCPIP)، إذسجلت العزلتان (SL4-IW2) أعلى معدل نمو، وحققت أعلى معدل إرجاع لمركب الـ (DCPIP) بنسبة (74.55-79.79)% على التوالي خلال فترة المعالجة، صنفت العزلتان البكتيريتان (SL4-IW2) أنهما *Bacillus subtilis- Klebsiella pnoumoniae* من خلال دراسة الصفات الشكلية والخصائص الحيوية لهما، خلصت نتائج هذه الدراسة إلى إمكانية استخدام هذه العزلات في عمليات التفكك الحيوي للمركبات الهيدروكربونية.

ABSTRACT

Bioremediation of petroleum pollutants is a new, environmentally friendly technique that promotes sustainability. This method is based on employing microorganisms to degrade petroleum contaminants in the environment. This study focused on characterising and selecting bacteria isolated from the local environment to study their efficiency in reducing hydrocarbon compounds with engine oil as the sole source of carbon. The findings of this study have shown that six bacterial isolates were chosen and utilised in the bioremediation process. Two of these isolates, SL4 and IW2 were robust in the treatment of hydrocarbon compounds of engine oil with efficiency reaching up to 83.17% and 76.58%, respectively, in 20 a day- period. During the biodegradation process, SL4 and IW2 achieved the highest growth rate as well as the highest redox rate of 2,6-dichlorophenol indophenol (DCPIP) at a percentage of 79.79% and 74.55%, respectively. After conducting morphological and biochemical testing the result confirmed that SL4 and IW2 isolates were *Klebsiella pnoumoniae - Bacillus subtilis*. based on the results, it can conclude that the local bacterial strains isolated in this study have great potential to degrade petroleum contaminants.

KEYWORDS
الكلمات المفتاحية
bacteria growing, biochemical test, biodegradation, engine oil, hydrocarbon compounds, redox rate
الأكسدة والاختزال، المركبات الهيدروكربونية، زيت المحرك، التفكك الحيوي، الاختبارات البيوكيميائية، النمو البكتيري

CITATION
الإحالة
Al-shakh, O., Alia, T. and Nasser, O. (2023). Faeaaliat jarathim maezulat mhlyaan fi almuealajat alhayawiat liltalawuth alniftii 'Efficiency of locally isolated bacteria in the bioremediation of petroleum pollution'. *Scientific Journal of King Faisal University: Basic and Applied Sciences*, **24**(2), 61–7. DOI: 10.37575/b/sci/230053 [in Arabic]
الشاخ، علا و عليا، تميم و ناصر، أميمة. (2023). فعالية جراثيم معزولة محلياً في المعالجة الحيوية للتلوث النفطي. *المجلة العلمية لجامعة الملك فيصل: العلوم الأساسية والتطبيقية*، **24**(2)، 61–7.

1. المقدمة

تعد مشكلة التلوث البيئي بالملوثات النفطية مشكلة عالمية لما لها من اثار سلبية اقتصادياً وبيئياً، ففي السنوات الأخيرة ازداد الطلب على المشتقات النفطية نتيجة تطور القطاعات الصناعية والتكنولوجية واعتمادها على النفط كمصدر رئيس للطاقة، بهدف تلبية متطلبات الحياة العصرية، مما أدى إلى زيادة عمليات الإنتاج والنقل والتخزين لسد جميع الاحتياجات المطلوبة، وقد ترافقت هذه العمليات بتسرب المركبات الهيدروكربونية النفطية إلى النظم البيئية، الأمر الذي أثر في مكوناتها الحيوية وغير الحيوية، وأدى إلى تدهورها واختلال توازنها، بسبب التأثير السام لهذه المركبات على المدى الطويل (Zargar *et al.*, 2022; Head *et al.*, 2006)، وقد استحوذ التلوث النفطي على اهتمام الباحثين بشكل لافت من خلال القيام بدراسات وأبحاث عديدة للوصول إلى استراتيجيات مستدامة لإعادة تأهيل المناطق الملوثة بهدف التخلص من المركبات الهيدروكربونية وخفض مؤشرات التلوث بالاعتماد على طرائق معالجة مختلفة كالطرائق الفيزيائية والكيميائية والحيوية، وبينت الأبحاث التطبيقية أن الطرائق الحيوية هي الأفضل لأنها منخفضة التكلفة الاقتصادية وصديقة للبيئة تسعى إلى الاستدامة ولا ينتج منها منتجات ضارة، وتعتمد المعالجة الحيوية على توظيف أنواع من الكائنات الحية المحلية في تفكيك المركبات الهيدروكربونية ذات العبء البيئي إلى مركبات قليلة الخطورة أو غير خطرة (Goveas *et al.*, 2022; Al-Dhabi *et al.*, 2020).

ومن الكائنات الحية التي درست فعاليتها في المعالجة الحيوية للمركبات الهيدروكربونية وكانت ذات كفاءة جيدة الفطريات (Yehia, 2023) ، ولكن العديد من الدراسات بينت أن البكتيريا من أفضل الكائنات الحية في تفكيك هذه المركبات، وقد اعتمدت مجموعة من الإجراءات لتحديد العزلات االبكتيرية المفككة للمركبات الهيدروكربونية والمتكيفة مع بيئتها باعتبارها وسائط حيوية محلية تمتلك القدرة على ضبط وتقييد الأثر البيئي للملوثات النفطية بصورة طبيعية وسريعة، وفي السنوات الأخيرة تم التركيز على تطوير وتحسين ظروف المعالجة مع ضرورة اختيار الطريقة المناسبة والنوع المناسب للوصول إلى أقصى كفاءة معالجة، لذا كان لابد من الفهم العميق للعوامل التي تؤثر على متطلبات الأحياء الدقيقة خلال فترة المعالجة، ومراقبة سلوك وأداء الكائن الحي ومعدل نموه ونشاطه الحيوي (Al-Hawash *et al.*, 2018)، الذي يتجلى برد الفعل التسلسلي لتفكيك المركبات النفطية نتيجة الهجوم الأولي لها داخل الخلايا البكتيرية لتدخل في مسارات الاستقلاب الخاصة بكل كائن على حده، ولوحظ أن الفعالية الحيوية تزداد خلال مراحل المعالجة بسبب امتلاك الكائن الحي خصائص تخلق حالة انسجام مع المركبات الهيدروكربونية، فقد تبين وجود علاقة بين كمية ونوع الروابط الكيميائية والوزن الجزيئي وشكل الهيكل الكيميائي للمركب الهيدروكربوني وبين سرعة التفكك الحيوي (Carrick , 1977) .

Corresponding Author: Ola AL-shakh 00963930740518, olaalshakh233@gmail.com المؤلف المراسل: علا الشاخ

ظهر ذلك واضحاً في نتائج دراسة Medić *et al.* (2020) إذ لوحظ تأثير نوع وبنية الهيكل الكيميائي للمركبات الهيدروكربونية بشكل واضح على كفاءة المعالجة الحيوية للعزلة البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa*، فقد فككت المركبات الأليفاتية (n- nonadecane- n-hexadecan) بنسبة (80-98) %على التوالي، بينما انخفضت فعالية تفكك المركبات الأكثر تعقيداً كالهيدروكربونات الحلقية العطرية (Phenantrene - Pyeren) إلى(41-50) % على التوالي.

وتوافق ذلك مع نتائج دراسة Christova *et al.* (2019) فقد تأثرت الفعالية الحيوية بطبيعة الوظائف الكيميائية للمركبات الهيدروكربونية على الرغم من اختلاف نوع العزلة البكتيرية المستخدمة في المعالجة الحيوية *Bacillus cereus*، إذ فككت المركبات الأليفاتية بنسبة (93)% والمركبات العطرية (Phenantrene – Anthracene) بنسبة (52-58)% .

وتأتي هذه الدراسة كمساهمة في مجال التخلص من هذه الملوثات البيئية، بهدف تخفيف عبء التلوث البيئي الناتج عنها، وذلك من خلال عملية الاستقصاء والبحث عن كائنات حية دقيقة قادرة على تحمل عبء التلوث البيئي للمخلفات النفطية، وقيامها بدور فعال في خفض التكلفة الاقتصادية لعمليات المعالجة المستخدمة.

2. أهمية البحث وأهدافه

تكمن أهمية هذه الدراسة في كونها حلقة مهمة في عملية المعالجة الحيوية للمياه النفطية بأقل تكاليف ممكنة، وتقوم منهجية البحث على دراسة تجريبية لفعالية بكتيريا معزولة من البيئة المحلية كمنظومة معالجة حيوية لتخفيض تركيز الملوثات النفطية عبر دراسة تخفيض محتواها من المركبات الهيدروكربونية، ومن هنا تتجلى أهمية البحث في:

- الأهمية البيئية: معالجة المياه النفطية وتخفيض محتواها من الملوثات، وتخفيف العبء البيئي إلى حدود مقبولة لطرحها في البيئة.
- الأهمية الاقتصادية: اعتماد نظام معالجة حيوي، وبكتيريا تعزل محلياً يخفف صعوبة استيرادها في الظروف الراهنة،إضافة إلى إمكانيةاستثمار المياه بيئياً.

يهدف البحث إلى ما يلي:

- عزل بكتيريا قادرة على تحمل المركبات النفطية من البيئة المحلية، واختبار فعاليتها في المعالجة الحيوية.
- انتقاء السلالة البكتيرية الأكثر كفاءة في تفكيك المركبات النفطية

3. مواد وطرائق العمل

3.1. الاعتيان:

جمعت عينات مياه ملوثة بالمركبات النفطية من حوض المعالجة الحيوية في الشركة العامة لمصفاة بانياس، محافظة طرطوس، سوريا في عبوات بولي ايثلين سعة (1) لتر، ثم نقلت مباشرة إلى المختبر، للعمل على عزل وانتقاء كائنات حية دقيقة محلية، واختبار فعاليتها في تخفيض المركبات الهيدروكربونية .

3.2. عزل البكتيريا وانتقاء الاكثر كفاءة في التفكك الحيوي للمركبات الهيدروكربونية:

تمت عملية الكشف عن البكتيريا وعزلها، بالاعتماد على الطرائق المعتمدة عالمياً مع بعض التعديلات وفق المراحل الآتية:

3.2.1. مرحلة إغناء البكتيريا عزلها وتفريقها من عينات المياه الملوثة بالمركبات النفطية

أضيف (1) مل من المياه الملوثة بالمركبات النفطية، التي جمعت من حوض المعالجة البيولوجية في أرلنماير يحتوي (100) مل من وسط المرق المغذي (Nutrient Broth) (NB)، ثم حضنت العينات في الدرجة (35) درجة مئوية ومدة (48) ساعة. تمت الزراعة بطريقة التخطيط من الوسط الزرعي (NB)، وذلك بعد القيام بسلسلة من التخفيف على الوسط الزرعي(Nutrient Agar) (NA)، ثم وضعت الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة (35) درجة مئوية مدة (48) ساعة، وفُرقت المستعمرات النقية، إضافة إلى إعادة تفريق المستعمرات المختلطة بتكرار طريقة التخطيط بعد القيام بسلسلة التخفيف للمستعمرات ذاتها (Holt, 1977).

3.2.2. مرحلة العزل الانتقائي للبكتيريا المفككة للمركبات النفطية

حضرت بادئة لكل عزلة بكتيرية نقية، وذلك بنقل البكتيريا النامية على الوسط المغذي الصلب (NA) بمقدار عقدة إبرة زرع إلى أنابيب تحتوي الوسط المغذي السائل (NB)، ثم وضعت في الحاضنة عند درجة حرارة (35) درجة مئوية مدة (48) ساعة، بعد ذلك ثفلت الأنابيب الحاوية العزلات البكتيرية بالمثفلة (4000) دورة في الدقيقة مدة (10) دقائق، وغسلت بمحلول ملحي (NaCl) تركيز (0.9)% ثلاث مرات للتخلص من كامل المواد العضوية، وقدر معدل النمو البكتيري بطريقة الكثافة الضوئية (OD_{600}) باستخدام جهاز السبيكتروفوتومتر عند طول موجة (600) نانومتر (Safitri *et al.*, 2018; Tahseen *et al.*, 2016; Rahman *et al.*, 2002).

حُقنت البادئات البكتيرية المحضرة في أرلنمايرات حاوية (100) مل من وسط الـ (BH)(Bushnell Hass) المحضر بإذابة (1.0)غ K_2HPO_4، (1.0)غ KH_2PO_4، (1.0)غ NH_4NO_3، (0.2)غ $MgSO_4$، (0.02)غ $CaCl_2$، (0.05)غ $FeCl_3$ في (1) لتر ماء مقطر، وعُدلت الpH إلى (7-7.2) بإضافة (NaOH, HCl) (Bushnell and Hass 1941)، وعُقم بالاتوغلاف بدرجة حرارة (121) درجة مئوية مدة 20 دقيقة. عُدل الوسط بإضافة زيت محرك 10/40 بتركيز(0.1)% باعتباره المصدر الوحيد للكربون في الوسط المغذي، وبمعدل ثلاثة مكررات، وحضنت في حمام مائي هزاز بدرجة الحرارة (35) درجة مئوية و(120) هزة في الدقيقة مدة (7) أيام مع مراقبة العزلات التي تمكنت من النمو بهدف عزل البكتيريا المفككة للمركبات الهيدروكربونية، وإقصاء البكتيريا غير القادرة على تفكيك هذه المركبات (Lima *et al.*, 2019) .

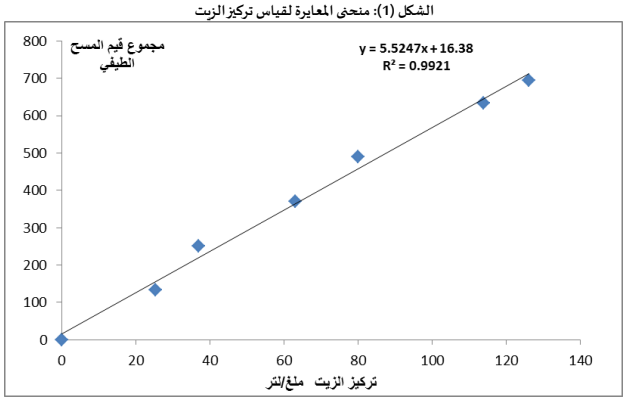
3.2.3. تقدير فعالية العزلات البكتيرية في تفكيك المركبات الهيدروكربونية وتوصيف العزلات الأكثر كفاءة

قُدرت فعالية العزلات البكتيرية على تفكيك المركبات الهيدروكربونية التي استخدم كمصدر لها زيت المحرك 10/40 في درجة الحرارة العادية والذي يتكون من مركبات هيدروكربونية تحتوي على (18-34) ذرة كربون مضافاً إليه بعض مضادات الأكسدة لتحسين جودته)

تم قياس التركيز الكلي لهذه المركبات خلال زمن المعالجة، وذلك بالاعتماد على إجراء مسح طيفي باستخدام جهاز السبيكتروفوتومتر عند أطوال موجية (700 -190) نانومتر.

تم تنفيذ منحنى معايرة يربط بين تركيز الزيت في الماء والمساحة تحت منحنى المسح الطيفي، وتم التوصل إلى علاقة خطية تربط بين تركيز الزيت والمساحة تحت المنحنى الشكل (1).

الشكل (1): منحنى المعايرة لقياس تركيز الزيت



تمت المعالجة الحيوية بإضافة البادئات البكتيرية النقية المحضرة بالطريقة السابقة إلى أنابيب زجاجية تحتوي على وسط (BH-CO) المحضر بإضافة

(20) مل من (BH) المضاف إليه زيت محرك بتركيز (126) ملغ/لتر وبمعدل ثلاثة مكررات، إذ تم اختيار هذا التركيز بعد إجراء سلسلة من التجارب المخبرية لانتقاء التركيز الذي يحقق أفضل حالة استحلاب للزيت ضمن الوسط بعد تحريكه بسرعة دورانية عالية مدة ثلاث ساعات للحصول على أفضل حالة تجانس، ثم حضنت في حمام مائي هزاز بدرجة الحرارة (35) درجة مئوية و(120) هزة في الدقيقة مدة (20) يوماً، أخذت القياسات في الأيام (2-4-6-8-10-12-15-20).

3.3. توصيف البكتيريا الاكثر كفاءة في المعالجة الحيوية:

وصّفت البكتيريا التي سجلت فعالية جيدة بالاعتماد على صفاتها الشكلية وخصائصها الحيوية الكيميائية (صبغة غرام، الأكسدة، اختبارات تخمر السكريات) وفق بروتوكول بيرجي (Vos *et al.*, 2009) وبالاعتماد على التحليل الجزيئي بتقانة الـ PCR الذي أجري في مخابر هيئة الطاقة الذرية السورية وفق البروتوكول المعتمد، والمتضمن المراحل الآتية -

3.3.1. استخلاص الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين (DNA)

استنبتت المستعمرة البكتيرية المعزولة في وسط الاستنبات في درجة الحرارة (37) درجة مئوية مدة (24) ساعة، وأُخذ (1.5) مل من المستنبت البكتيري، وثُفل مدة (1) دقيقة بسرعة (9000) دورة بالدقيقة، وضع فوق الراسب البكتيري (500) ميكرولتر من موقي الـ TE، وأُضيف (50) ميكرولتر من الأنزيم الحال الليزوزيم (10) ملغ/مل، ورجَّ المزيج جيداً ثم تُرك مدة ساعتين في حمام مائي عند درجة الحرارة (37) درجة مئوية، وتُرك (24) ساعة في درجة حرارة (50) درجة مئوية، وأضيف (25) ميكرولتر من أنظيم البروتيناز K (20) ملغ/مل ، وحُضن المزيج في درجة حرارة (37) درجة مئوية مدة ساعة، وأضيف (25) ميكرولتر من الـ SDS (25%) مع الحضن مدة ساعة. أضيف (200) ميكرولتر من الـ NaCl (5 مول) و (750) ميكرولتر من مزيج (فينول-كلوروفورم) مع المزج الجيد، وثُفل المزيج بسرعة (13000) دورة بالدقيقة مدة(5) دقائق. أضيف إلى الجزء الطافي (الحاوي المادة الوراثية)(450) ميكرولتر من الإيزوبربانول، وثفل المزيج بسرعة (13000) دورة بالدقيقة مدة (45) دقيقة. أُضيف إلى الراسب (1) مل من الإيتانول (70%) ثُفل المزيج بسرعة (13000) دورة بالدقيقة مدة (5) دقائق في درجة حرارة (4) درجة مئوية، ثم تُرك الراسب حتى يجف، وأضيف (50) ميكرولتر من موقي الـ TE وحُفظ المزيج في الجمادة لحين الاستخدام.

3.3.2. تقانة PCR (Polymerase chain reaction)

أجري التفاعل بحجم نهائي (25) ميكرو لتر من مزيج الـ PCR مضاف (100µg/µl) من الـ DNA المُستخلص بالاعتماد على الجين المميز للمورثة *16s rDNA* وفق تسلسل الأسس الأزوتية للبرايمر المستخدم 5`-(ACCCACTACGGTCGCGTATG-3`) و (5`-CAAGACATCATGGCCCTTAC-3`) حدث التفاعل في برنامج حراري بدأ بالتحطيم الحراري البدائي مدة (5) دقائق عند درجة حرارة (95) درجة مئوية، وهويتكون من 35 دورة وفق ثلاث مراحل تختلف عن بعضها بدرجة الحرارة والفترة الزمنية المخصصة لكل مرحلة موضحة بالجدول (1).

الجدول (1) خطوات عمل الـPCR ضمن الدورة الواحدة وتباين درجات الحرارة

الزمن	درجة الحرارة	الخطوات	التفاعل
دقائق3	درجة مئوية94		تنشيط الانزيم والتهيئة لتحطيم الحراري
ثانية30	درجة مئوية94	التحطيم الحراري	35 دورة
ثانية45	درجة مئوية52-59	الالتصاق	
دقيقة1	درجة مئوية72	الاستطالة	
دقائق10	درجة مئوية72		ضمان استكمال تركيب السلسة الجديدة من الحمض النووي DNA
لحين الاستخدام	درجة مئوية4		حفظ العينات

3.4. اختبار فعالية الأكسدة التنفسية DCPIP:

تم إضافة (100) ميكرولتر من البادئة البكتيرية لكل عزلة بكتيرية، و(400) ميكرولتر من الـDCPIP بتركيز (0.5) غ/لتر إلى أنابيب زجاجية حاوية وسط (BH-CO) وبمعدل ثلاثة مكررات، ثم حضنت في حمام مائي هزاز بدرجة الحرارة (28) درجة مئوية و(120) هزة في الدقيقة مدة (7) أيام وتم القياس بشكل يومي، إذ ثفلت العينات للتخلص من المعلق الجرثومي. قيست الامتصاصية بوساطة جهاز السبيكتروفوتومتر عند طول موجة (600) نانومتر، وقدرت كفاءة العزلة البكتيرية الأسرع في عملية المعالجة من خلال حساب معدل إرجاع الـ DCPIP بتطبيق العلاقة:

(Xu *et al.*, 2022; Hanson *et al.*, 1993)

$$D=\frac{A_0-A_i}{A_0}\times 100$$

D: نسبة إرجاع مركب الـDCPIP ، A_0: امتصاصية الشاهد، A_i: امتصاصية العينة

3.5. الدراسة الإحصائية:

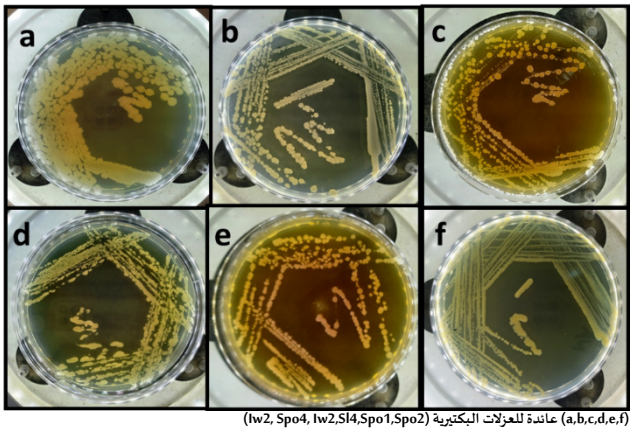
تم إجراء الدراسة الإحصائية للنتائج التي تم الحصول عليها باستخدام برنامج Excel، إذ تم رسم خطوط بيانية تبين العلاقة بين الفترات الزمنية وكل من تغير معدل النمو البكتيري والنسبة المئوية لتفكك المركبات الهيدروكربونية والنسبة المئوية لإرجاع الـ DCPIP.

4. النتائج والمناقشة

4.1. عزل وانتقاء البكتيريا الاكثر كفاءة في التفكك الحيوي للمركبات الهيدروكربونية:

توصلت الدراسة إلى عزل ست عشرة سلالة بكتيرية من عينات الحوض البيولوجي، سجلت ست سلالات بكتيرية (SPO2-SPO4-SPO1-IW3-IW2-SL4) أعلى معدل نمو في وسط (BH) الحاوي (0.1)% (v/v) من زيت المحرك كمصدر وحيد للكربون والطاقة، وذلك بعد الحضن مدة أسبوع بدرجة الحرارة (35) درجة مئوية، ويبين الشكل (2) المستعمرات البكتيرية على الوسط الزرعي (NA).

الشكل (2): المستعمرات البكتيرية على الوسط الزرعي (NA)



عائدة للعزلات البكتيرية (a,b,c,d,e,f) (Iw2, Spo4, Iw2,Sl4,Spo1,Spo2)

4.2. تقدير فعالية البكتيريا المعزولة في تفكك المركبات الهيدروكربونية وقياس معدل النمو البكتيري:

تتميز البكتيريا المعزولة من البيئة المحلية الملوثة بالمركبات النفطية بامتلاكها ميزات مضافة، بسبب تكيفها وتأقلمها مع شروط البيئة الملوثة، وقدرتها على تفكيك أنواع مختلفة من المركبات الهيدروكربونية باعتبارها مصدراً بديلاً للطاقة (Lopes *et al.*, 2018)

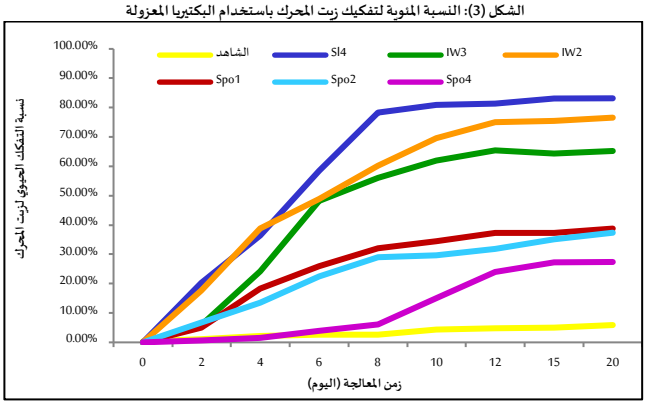
بينت نتائج هذه الدراسة فعالية مختلفة للبكتيريا المعزولة من البيئة المحلية في عملية المعالجة الحيوية، كما هو موضح في الشكل (3)، إذ تفاوتت كفاءة تفكيك المركبات الهيدروكربونية بين الجيدة والمنخفضة خلال مدة معالجة استمرت 20 يوماً، مع ملاحظة وجود شبه استقرار لنسبة التخفيض، مما يدل على انتهاء فعاليتها الحيوية. تفوقت العزلتان (SL4-IW2) بكفاءة معالجة عالية، إذ استطاعت خفض المركبات الهيدروكربونية بنسبة (76.58 -83.17)% على التوالي، بخلاف العزلة البكتيرية (IW3) التي أبدت فعالية معالجة متوسطة (65.29)%، بينما كان معدل التفكك الحيوي للعزلات (SPO1-SPO2-SPO4) ضعيفاً، إذ لم تتجاوز أعلى نسبة تفكك لها الـ(38.78)% للعزلة البكتيرية (SPO1). بشكل متزامن لعملية المعالجة الحيوية تمت مراقبة تأقلم واستجابة البكتيريا لمصدر التغذية المتمثل بالمركبات

الهيدروكربونية في زيت المحرك، وذلك من خلال قياس تغير معدل النمو البكتيري بطريقة الكثافة الضوئية OD_{600} كما هو موضح في الشكل(4)

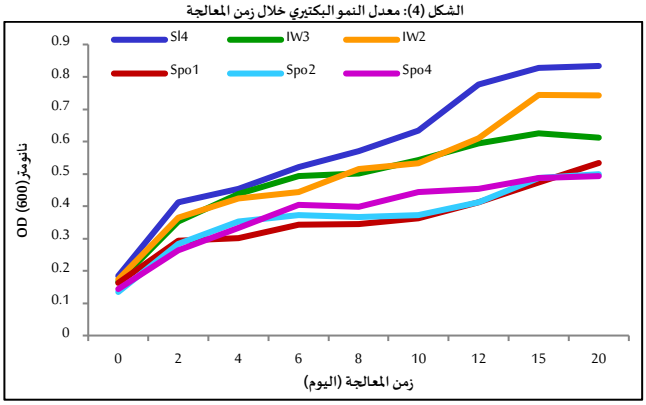
أظهرت النتائج نسب نمو متفاوتة لأغلب البكتيريا المستخدمة، فقد حققت العزلتان (SL4-IW2) أعلى معدل نمو، وكان قد قابلها أعلى معدل تخفيض، كما أن العزلات البكتيرية (SPO1-SPO2-SPO4)، التي أبدت فعالية ضعيفة في تفكيك المركبات الهيدروكربونية قابلها نمو ضعيف.

بينت النتائج أن النمو البكتيري يتوافق طرداً مع انخفاض تركيز المركبات الهيدروكربونية، ويمكن تفسير هذه العلاقة الطردية كنتيجة استهلاك البكتيريا لهذه المركبات واستقلابها للحصول على الكربون وتأمين الطاقة اللازمة للقيام بعمليات النمو والتكاثر والأنشطة الحيوية المختلفة (Kleindienst *et al.*, 2015; Hazen *et al.*, 2010).

الشكل (3): النسبة المئوية لتفكيك زيت المحرك باستخدام البكتيريا المعزولة



الشكل (4): معدل النمو البكتيري خلال زمن المعالجة



يعزى التفاوت في فعالية المعالجة ومعدل نمو البكتيريا إلى عوامل عدة تتعلق بالخصائص الحيوية الخاصة بكل نوع بكتيري، والعوامل البيئية والظروف التجريبية المطبقة، ويمكن تفسير التباين في نسب الفعالية التي ظهرت من خلال النتائج التي توصلت إليها هذه الدراسة من ناحيتين: الأولى تتمثل بالخصائص الحيوية للبكتيريا المستخدمة، التي تتحدد بالدرجة الأولى بالتقصي عن سلوك كل كائن حي، ونوع الأنزيمات الخاصة به ووظائفها الكيميائية، خاصة التأكسدية، ومسارات الاستقلاب المتغيرة والخاصة بكل نوع، كما يؤثر التركيب الكيميائي لجدار الخلية البكتيرية في سرعة وسهولة التصاق المركب الهيدروكربوني على سطح الخلية (Liu *et al.*, 2019; Carolin *et al.*, 2021)، ومن الخصائص الحيوية التي تعد المفتاح الأساس للتفكك الحيوي قدرة بعض الأنواع البكتيرية على إنتاج مركبات استحلابية تمتلك خصائص محددة تخلق حالة توازن وتواصل مع المركبات الهيدروكربونية، لأنها تؤثر في نفاذية سطح الخلية البكتيرية وتخفض توترها السطحي وتعمل في الوقت نفسه على زيادة تشتت هذه المركبات وزيادة ذوبانيتها، فينتج من ذلك حالة تقارب بين البكتيريا والمركبات الهيدروكربونية نتيجة تحسن الاتصال بين الغشاء الخلوي والمركب النفطي(Bezza and Chirwa, 2015; Shavandi *et al.*, 2011) ، مجمل الخصائص الحيوية المذكورة أثرت في عمليات الاستقلاب الحيوي وحفزت عمل الكتلة الحية، تبعاً لكل نوع بكتيري من البكتيريا المستخدمة، لذلك لوحظ زيادة عمليات التحول الحيوي المتمثلة بزيادة نسبة تخفيض المركبات الهيدروكربونية وازدياد معدل نمو لبعض الأنواع البكتيرية، وبالمقابل واجهت بعض الأنواع صعوبة في الاستقلاب الحيوي وتفكيك هذه المركبات لعدم امتلاكها الخصائص الحيوية التي تدعم البكتيريا في عملياتها الحيوية (Bordoloi *and Konwar*, 2009; Singh *et al.*, 2007).

أما الناحية الثانية فهي تتعلق بالخصائص الكيميائية للركيزة المستخدمة، إذ إن لنوع المركب الهيدروكربوني وتركيبه الكيميائي ووزنه الجزيئي دور مهماً ومؤثراً في كفاءة العزلات البكتيرية (Takei *et al.*, 2008) ، فقد بينت بعض الدراسات وجود أنواع بكتيرية تكون ملازمة لمجال واسع من المركبات للهيدروكربونات ، بينما بعض البكتيريا لا تكون فعالة إلا لنوع معين من هذه المركبات (Fuentes *et al.*, 2016; Yakimov *et al.*, 2007)

بالمقارنة مع دراسات أخرى استخدمت المصدر الكربوني ذاته (زيت المحرك) كانت النتائج متفاوتة ففي دراسة (Veerapagu *et al.*, 2019) وصلت نسبة تخفيض المركبات الهيدروكربونية لزيت المحرك لـ 69%- 58% عند استخدام العزلتين *Bacillus subtilis* و *pseudomonas* sp. على التوالي خلال فترة معالجة استمرت 30 يوماً، وبنسبة زيت محرك 1% (v/v)، وتعد كفاءة جيدة على عكس دراسة (Debajit and Yadav, 2014)، إذ كانت فعالية المعالجة منخفضة، فقد بلغت 16% بعد فترة معالجة امتدت 28 يوماً عند استخدام العزلة البكتيرية *B. cerues*، مما يؤكد تأثير نوع الكائن الحي وخصائصه الحيوية على كفاءة المعالجة.

بمقارنة النتائج التي توصلت إليها هذه الدراسة مع دراسات أخرى اعتمدت على تطبيق المعالجة الحيوية للمركبات النفطية بتوظيف بكتيريا من البيئة المحلية الملوثة بها، فقد توصلت دراسة (Abdulla *et al.*, 2019) إلى عزل بكتيريا من تربة ملوثة بالمركبات النفطية، ودرست فعالية خمس عزلات منها تميزت بكفاءة معالجة متفاوتة وصلت أعلى نسبة تخفيض لـ 98%، وكانت هذه النسبة المرتفعة متوافقة مع معدل نمو عالٍ لنفس العزلة بلغ بالوزن الجاف 3.3 ملغ/لتر، وقد يعزى السبب في تفوق نتائج المعالجة بالمقارنة مع نتائج هذه الدراسة إلى اختلاف نوع المصدر الكربوني المعتمد بالتجربة ونوع العزلات البكتيرية المستخدمة.

وتقاربت نتائج هذه الدراسة مع دراسة Tanzadeh *et al.*, (2020)إذ عُزل بكتيريا من البيئة المحلية، وكانت فعالية *Pseudomonas aeruginosa* هي الأعلى بنسبة تفكك (83)%. وقد يعزى السبب إلى الخصائص الحيوية والسلوك الاستقلابي الذي قد يتشابه مع البكتيريا المعتمدة في هذه الدراسة.

وفي دراسة Wu *et al.* (2023) تبين أن فعالية بكتيريا *Bacillus subtilis* *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة محلياً وصلت إلى تخفيض الزيت الخام بنسبة (54.35) % , (32.61)% على التوالي.

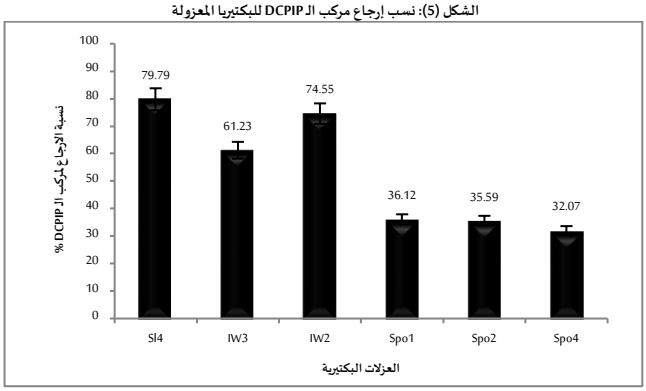
يتضح مما سبق أن فعالية المعالجة الحيوية تتقيد بمجموعة من العوامل باعتبارها صلة وصل بين شروط البيئة وانسجام الكائن الحي الدقيق، هي تتمثل بنقطتين مهمتين الأولى تتعلق بالتوفر البيولوجي للبكتيريا المفككة للمركبات الهيدروكربونية، والثانية الاتصال الحقيقي بين الخلايا البكتيرية والركائز الكيميائية وخصائص هذه الركائز، إذ طورت هذه البكتيريا تدابير مضادة لمواجهة الملوثات النفطية مثل إفراز مواد استحلابية حسنت من الوصول واستهداف الركائز الكيميائية.

4.3. تقدير فعالية التفكك الحيوي بطريقة الـ DCPIP :

تفيد هذه الطريقة في تحديد العزلات البكتيرية الأسرع في تفكيك المركبات الهيدروكربونية بالاعتماد على التغير اللوني، يوضح الشكل (5) أن كل العزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة (SL4-IW2-IW3-SPO1-SPO2-SPO4) لديها ميل لتفكيك المركبات الهيدروكربونية، ولكن بفعالية مختلفة، إذ أثبتت نتائج حساب النسبة المئوية لإرجاع مركب الـ DCPIP بعد 7 أيام من الحضن، إضافة إلى مراقبة التغير اللوني، أن العزلات (SL4-IW2-IW3) مرشحة للقيام بعملية المعالجة الحيوية بكفاءة أفضل من بقية العزلات بتفكيك زيت المحرك باعتباره المصدر الوحيد للكربون، إذ بلغت نسبة الإرجاع لكل من العزلات السابقة (61.23، 74.55، 79.79)% على التوالي.

ويعزى التغير اللوني إلى عمليات الأكسدة والإرجاع التي تحدث بتأثير أنزيمات الأكسدة والإرجاع الخاصة بكل كائن حي، التي تعد مسؤولة بشكل مباشر عن تفاعلات الهدم، والتي تؤدي إلى تحرر الإلكترونات نتيجة أكسدة المركبات الهيدروكربونية فيقوم مركب الـ DCPIP باستقباله، مما يؤدي إلى إرجاعه وتغير اللون من الأزرق الداكن إلى الأزرق الباهت أو يصبح عديم اللون، ويعد هذا مؤشر حقيقي للكشف عن البكتيريا الأسرع والأكثر كفاءة من خلال حساب نسبة الإرجاع الـ DCPIP. وذلك بسبب اختلاف الوظائف التأكسدية نتيجة وجود أنواع محددة من أنزيمات الأوكسجيناز والهيدروجيناز، التي تمتلك مواقع فعالة ترتبط فعاليتها بنوع الزمر الكربوكسيلة والألدهيدية، التي تحدد مسار الكائن الحي وتشكل هذه الأنزيمات نقطة اتصال بين الغشاء البكتيري والركائز الكيميائية، إذ طورت البكتيريا بفعل أنزيمات الأوكسجيناز تدابير مضادة لمواجهة المركبات الهيدروكربونية (Tremblay *et al.*, 2017) من خلال قدرتها على اختزال الحلقات العطرية باعتبارها وسيطاً لتدخل في مسارات تحلل متسلسلة لتتحول إلى مركبات أقل ضرراً.

الشكل (5): نسب إرجاع مركب الـ DCPIP للبكتيريا المعزولة



يتضح مما سبق أن تقدير نسب الإرجاع لمركب الـ DCPIP يعكس فعالية أنزيمات الأكسدة والإرجاع التي أسهمت في ضبط مسارات تفاعلات الاستقلاب داخل الخلايا، وبالتالي النشاط الحيوي للأحياء، الذي يعد عاملاً مساعداً في الانتقاء الصحيح والدقيق للكائن الحي المستخدم في المعالجة. في هذه الدراسة كانت نسب الالإرجاع منسجمة مع نسب التخفيض للمركبات الهيدروكربونية ومعدل النمو، مما يؤكد أن العزلتين البكتيريتين (SL4-IW2) هما الأفضل في المعالجة الحيوية.

بالمقارنة مع دراسات مختلفة اعتمدت طريقة قياس الـ DCPIP لتقدير كفاءة الأحياء في تفكيك المركبات الهيدروكربونية، فقد تبين قدرة مجموعة من العزلات البكتيرية على إرجاع الـ DCPIP، وكانت نتائج نسبة الإرجاع للعزلات المستخدمة في هذه الدراسة أفضل من دراسة (Obi *et al.*, 2016)، رغم توافق الشروط المطبقة في الدراستين من حيث مدة المعالجة ودرجة الحرارة وتركيز الـ DCPIP فكانت العزلة المستخدمة في دراستهم *Pseudomonas* sp. قد حققت نسبة التخفيض 73%، كما بينت دراسة (Xu *et al.*, 2022) أن نسبة إرجاع الـDCPIP لخليط من البكتيريا مكون من 29 عزلة وصل إلى60% خلال 5أيام، وهي نسبة منخفضة بالنظر إلى عدد العزلات البكتيرية الذي من المفترض أن يسهم في زيادة نسبة المواد الحيوية المفرزة، والتي تساعد في تعزيز النشاط الحيوي، أظهرت نتائج التحليل الكيفي لدراسة (Ionescu *et al.*, 2015) زوال اللون الأزرق لمركب الـ DCPIP بعد 20 يوماً بشكل كامل بفعل العزلة البكتيرية *Pseudomonas fluoresce*.

4.4. تصنيف العزلات البكتيرية الأكثر كفاءة في المعالجة الحيوية:

صنفت العزلات البكتيرية التي أبدت كفاءة جيدة في عملية المعالجة الحيوية بالاعتماد على صفاتها الشكلية وخصائصها الحيوية الكيميائية، ويبين الجدول (2) صفات العزلتين (SL4-IW2) عند زراعتهما على مجموعة من أوساط الزراعة الانتقائية، كما أظهر الجدول (3) نتائج الاختبارات الحيوية الكيميائية لهاتين العزلتين.

الجدول (2): نتائج نمو العزلتين (SL4-IW2) على بعض الأوساط الاختبارية

العزلة البكتيرية	PEMBA Agar Medium	EMB Agar Medium	MacConkey Agar Medium	Mannitol salt Agar Medium
IW2	مستعمرات صفراء	NG	NG	مستعمرات صفراء
SL4	NG	أزرق بنفسجي	زهري	NG

(NG) لم يحدث نمو

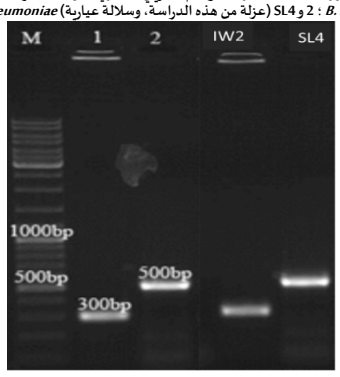
الجدول (3): الصفات الشكلية والاختبارات الكيميائية الحيوية للعزلتين (SL4-IW2)

الاختبار	نتائج الاختبارات	
	IW2	SL4
لون المستعمرة على (NA) الشكل المجهري	أبيض رمادي عصيات	أبيض إلى كريمي عصيات قصيرة
صبغة غرام	+(Ve)	-(Ve)
المالتاز	- (Ve)	- (Ve)
السترات	+ (Ve)	+ (Ve)
الأوكسيداز	- (Ve)	- (Ve)
اليورياز	+ (Ve)	+ (Ve)
الجركية	- (Ve)	- (Ve)
اللاكتوز	- (Ve)	- (Ve)
اندول	- (Ve)	- (Ve)
أحمر الميتيل	- (Ve)	- (Ve)
الغلكوز	+ (Ve)	+ (Ve)
الأرجنين	+ (Ve)	-(Ve)

(Ve) +الاختبار ايجابي (Ve) - الاختبار سلبي

تبين بعد تصنيف العزلات وفق الطرائق التقليدية والطرائق الحديثة تقانة الPCR كما هو موضح في الشكل (6) أن العزلة البكتيرية (SL4) عرف أنها من نوع *Klebsiella pneumoniae* والعزلة البكتيرية (IW2) *Bacillus subtilis*

الشكل(6) : هلامة الأغاروز1%حيث: المسار M الواسم الجزيئي المعياري: 1 و2 IW (عزلة من هذه الدراسة، وسلالة عيارية) *B. subtilis* : 2 و SL4 (عزلة من هذه الدراسة، وسلالة عيارية) ***Klebsiella pneumoniae***



أثبتت دراسات أخرى أن العزلتين البكتيريتين *Klebsiella pneumoniae* و *Bacillus subtilis* من البكتيريا المرافقة لوجود المركبات الهيدروكربونية، وبالتالي تتوافر بصورة طبيعية في البيئات التي تعاني التلوث النفطي، إضافة إلى لإمكانية الاستفادة منها في المعالجة الحيوية وتخفيف عبء الملوثات النفطية (You *et al.*, 2018; Obi *et al.*, 2016).

5. الاستنتاجات

- إمكانية استثمار بكتيريا معزولة محلياً متكيفة مع الملوثات النفطية في تخفيض العبء البيئي بطريقة المعالجة الحيوية كان أفضلها للعزلة البكتيرية *K. pneumoniae* إذ بلغت (83.17)%.
- أعطى معدل نمو العزلات البكتيرية فكرة تقريبية عن مدى فعالية كل عزلة في استهلاك المركبات الهيدروكربونية لزيت المحرك كركيزة للنمو باعتباره مصدراً وحيداً للطاقة.
- ساعد اختبار الـ DCPIP على انتقاء العزلة البكتيرية الأسرع في تفكيك المركبات الهيدروكربونية، إ ذ بلغت نسبة إرجاع هذا المركب 79.80% للعزلة البكتيرية *K. pneumoniae* .

6. التوصيات

إجراء مزيد من الدراسات حول إمكانية تحسين كفاءة المعالجة الحيوية وفقاً لظروف المعالجة ونمذجة النتائج، بما يحقق الاستثمار الأمثل للكائنات الحية المحلية في تخفيض العبء البيئي.

Hazardous Materials, **170**(1), 495–505. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.04.136

Bushnell, L.D. and Haas, H.F. (1941). The utilization of certain hydrocarbons by microorganisms. *Journal of Bacteriology*, **41**(5), 653–73. DOI: 10.1128/jb.41.5.653-673.1941

Carolin, C.F., Kumar, P.S. and Ngueagni, P.T. (2021). A review on new aspects of lipopeptide biosurfactant: Types, production, properties and its application in the bioremediation process. *Journal of Hazardous Materials*, **407**(n/a), 124827. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.124827

Carrick, N.L. (1977). Alteration in petroleum resulting from physico-chemical and microbial factors. In: *Effects of Petroleum on Arctic and Subarctic Marine Environments and Organisms*. London: Academic Press New York.

Christova, N., Kabaivanova, L., Nacheva, L., Petrov, P. and Stoineva, I. (2019). Biodegradation of crude oil hydrocarbons by a newly isolated biosurfactant producing strain. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, **33**(1), 863–72. DOI: 10.1080/13102818.2019.1625725

Debajit, B. and Yadav, R.N.S. (2014). Biodegradation of complex hydrocarbon by a novel Bacillus cereus strain. *Journal of Environmental Science and Technology*, **7**(3), 176–84. DOI: 10.3923/jest.2014.176.184

Fuentes, S., Barra, B., Caporaso, J.G. and Seeger, M. (2016). From rare to dominant: a fine-tuned soil bacterial bloom during petroleum hydrocarbon bioremediation. *Applied and Environmental Microbiology*, **82**(3), 888–96. DOI: 10.1128/AEM.02625-15

Goveas, L.C., Selvaraj, R., Vinayagam, R., Alsaiari, A.A., Alharthi, N.S. and Sajankila, S.P. (2022). Nitrogen dependence of rhamnolipid mediated degradation of petroleum crude oil by indigenous pseudomonas sp. WD23 in seawater. *Chemosphere*, **304**(n/a), 135235. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.135235

Hanson, K.G., Desai, J.D. and Desai, A.J. (1993). A rapid and simple screening technique for potential crude oil degrading microorganisms. *Biotechnology Techniques*, **7**(n/a), 745–8. DOI: 10.1007/BF00152624

Hazen, T.C., Dubinsky, E.A., DeSantis, T.Z., Andersen, G.L., Piceno, Y.M., Singh, N. and Mason, O.U. (2010). Deep-sea oil plume enriches indigenous oil-degrading bacteria. *Science*, **330**(6001), 204–8. DOI: 10.1126/science.1195979

Head, I.M., Jones, D.M. and Röling, W.F. (2006). Marine microorganisms make a meal of oil. *Nature Reviews Microbiology*, **4**(3), 173–82. DOI: 10.1038/nrmicro1348

Holt, J.G. (1977). *The Shorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th edition. USA: Williams and Wilkins Co., Baltimore, Amazon book clubs.

Ionescu, R., Măruţescu, L., Tănase, A.M., Chiciudean, I., Csutak, O., Pelinescu, D. and Stoica, I. (2015). Flow cytometry based method for evaluation of biodegradative potential of Pseudomonas fluorescens. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, **6**(n/a), 567–78. DOI: 10.1016/j.aaspro.2015.08.088

Kleindienst, S., Paul, J.H. and Joye, S.B. (2015). Using dispersants after oil spills: impacts on the composition and activity of microbial communities. *Nature Reviews Microbiology*, **13**(6), 388–96. DOI: 10.1038/nrmicro3452

Lima, S.D., Oliveira, A.F., Golin, R., Lopes, V.C.P., Caixeta, D.S., Lima, Z.M. and Morais, E.B. (2019). Isolation and characterization of hydrocarbon-degrading bacteria from gas station leaking-contaminated groundwater in the Southern Amazon, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, **80**(2), 354–61. DOI: 10.1590/1519-6984.208611

Liu, S.C., Sun, S.J., Cui, P. and Ding, Y.F. (2019). Molecular modification of fluoroquinolone-biodegrading enzymes based on molecular docking and homology modelling. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **16**(18), 3407. DOI: 10.3390/ijerph16183407

Lopes, P.R.M., Montagnolli, R.N., Cruz, J.M., Claro, E.M.T. and Bidoia, E.D. (2018). Biosurfactants in improving bioremediation effectiveness in environmental contamination by hydrocarbons. In: K. Vivek, K. Manoj and P. Ram (eds.) *Microbial Action on Hydrocarbons*. Singapore: Springer Nature. DOI: 10.1007/978-981-13-1840-5_2

Medić, A., Lješević, M., Inui, H., Beškoski, V., Kojić, I., Stojanović, K. and Karadžić, I. (2020). Efficient biodegradation of petroleum n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons by polyextremophilic Pseudomonas aeruginosa san ai with multidegradative capacity. *RSC Advances*, **10**(24), 14060–70. DOI: 10.1039/C9RA10371F

Obi, L.U., Atagana, H.I. and Adeleke, R.A. (2016). Isolation and characterisation of crude oil sludge degrading bacteria. *SpringerPlus*, **5**(1), 1–13. DOI: 10.1186/s40064-016-3617-z

Rahman, K.S.M., Thahira-Rahman, J., Lakshmanaperumalsamy, P. and Banat, I.M. (2002). Towards efficient crude oil degradation by a mixed

نبذة عن المؤلفين

علا حكمت الشاخ

قسم الوقاية البيئية، المعهد العالي لبحوث البيئة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.
olaalshakh233@gmail.com ،00963930740518

علا حكمت الشاخ، سورية، حاصلة على إجازة في علم الحياة، اختصاص حيوية كيميائية، جامعة تشرين، ماجستير في الوقاية البيئية، طالبة دراسات عليا في مرحلة الدكتوراه في المعهد العالي لبحوث البيئة جامعة تشرين، تعمل عضو هيئة فنية (قائم بالأعمال) ومُدرسة في قسم علم الحياة، كلية العلوم، جامعة طرطوس، ودرسّت عدداً من المقررات العملية في قسم علم الحياة جامعة تشرين، قامت بنشر العديد من الأوراق البحثية في المجلة العلمية لكل من جامعتي تشرين وطرطوس، شاركت في العديد من المؤتمرات والندوات العلمية والورشات البيئية في الجمهورية العربية السورية. ORCID:0009-0006-9357-0177

تميم عليا

قسم الكيمياء البيئية، المعهد العالي لبحوث البيئة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.
tamimalia@gmail.com ،00963955182700

أ.د. عليا، سوري، أستاذ دكتور وعضو هيئة تدريسية من المعهد العالي لبحوث البيئة، جامعة تشرين والجامعة الافتراضية السورية، حاصل على درجة الدكتوراه في مراقبة جودة الأغذية، من جامعة EGE التركية، يشغل منصب مدير مركز ضمان الجودة في جامعة تشرين، ومدرب معتمد لدى وزارة التنمية الادارية، ومستشار في تطبيق أنظمة إدارة الجودة، لديه العديد من الأوراق البحثية العلمية المنشورة محلياً وخارجيا، ومشارك في العديد من المؤتمرات والندوات العلمية داخل الجمهورية العربية السورية وخارجها، له العديد من الكتب والمؤلفات العلمية المنشورة، ومشرف على العديد من رسائل الماجستير والدكتوراه. ORCID:0009-0005-4271-8269

أميمة ناصر

قسم الوقاية البيئية، المعهد العالي لبحوث البيئة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.
Omiemanasser@gmail.com ،00963990197242

أ.د. ناصر، سورية، أستاذة دكتورة وعضو هيئة تدريسية من قسم الوقاية البيئية المعهد العالي لبحوث البيئة، جامعة تشرين، وأستاذ محاضر لعدد من المقررات في كلية الصيدلة جامعة الشام الخاصة، حاصلة على درجة الدكتوراه في اختصاص الأحياء الدقيقة- طاقات متجددة (غاز حيوي)، من جامعة تشرين، سوريا، شغلت منصب رئيس قسم الوقاية البيئية سابقاً، درّست عدد من المقررات في كل من كلية (الصيدلة، التربية، طب الأسنان، الزراعة)، ولها العديد من المؤلفات والأبحاث العلمية المحكمة وشاركت في عدد من المؤتمرات والندوات العلمية، مشرفة على العديد من رسائل الماجستير والدكتوراه. ORCID:0009-0005-2298-9475

المراجع

Abdulla, K.J., Ali, S.A., Gatea, I.H., Hameed, N.A. and Maied, S.K. (2019). Bio-degradation of crude oil using local bacterial isolates. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science,* University of Kerbala, Kerbala City, Iraq, 17–18 /11/ 2019.

Al-Dhabi, N.A., Esmail, G.A. and Arasu, M.V. (2020). Sustainable conversion of palm juice wastewater into extracellular polysaccharides for absorption of heavy metals from Saudi Arabian wastewater. *Journal of Cleaner Production*, **277**(2), 124252. DOI: 10.1016/j.jclepro.2020.124252

Al-Hawash, A.B., Dragh, M.A., Li, S., Alhujaily, A., Abbood, H.A., Zhang, X. and Ma, F. (2018). Principles of microbial degradation of petroleum hydrocarbons in the environment. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, **44**(2), 71–6. DOI: 10.1016/j.ejar.2018.06.001

Bezza, F.A. and Chirwa, E.M.N. (2015). Production and applications of lipopeptide biosurfactant for bioremediation and oil recovery by Bacillus subtilis CN2. *Biochemical Engineering Journal*, **101**(n/a), 168–78. DOI: 10.1016/j.bej.2015.05.007

Bordoloi, N.K. and Konwar, B.K. (2009). Bacterial biosurfactant in enhancing solubility and metabolism of petroleum hydrocarbons. *Journal of*

bacterial consortium. *Bioresource Technology*, **85**(3), 257–61. DOI: 10.1016/S0960-8524(02)00119-0

Safitri, R.M., Mangunwardoyo, W. and Ambarsari, H. (2018). Biodegradation of diesel oil hydrocarbons using Bacillus subtilis InaCC B289 and Pseudomonas aeruginosa InaCC B290 in single and mixed cultures. In: *AIP Conference Proceedings*. **2021**(1), 300131–5. DOI: 10.1063/1.5062737

Shavandi, M., Mohebali, G., Haddadi, A., Shakarami, H. and Nuhi, A. (2011). Emulsification potential of a newly isolated biosurfactant-producing bacterium, Rhodococcus sp. strain TA6. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **82**(2), 477–82. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2010.10.005

Singh, A., Van Hamme, J.D. and Ward, O.P. (2007). Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Application aspects. *Biotechnology Advances*, **25**(1), 99–121. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2006.10.004

Tahseen, R., Afzal, M., Iqbal, S., Shabir, G., Khan, Q.M., Khalid, Z.M. and Banat, I.M. (2016). Rhamnolipids and nutrients boost remediation of crude oil-contaminated soil by enhancing bacterial colonization and metabolic activities. *International Biodeterioration and Biodegradation*, **115**(2016), 192–8. DOI: 10.1016/j.ibiod.2016.08.010

Takei, D., Washio, K. and Morikawa, M. (2008). Identification of alkane hydroxylase genes in Rhodococcus sp. strain TMP2 that degrades a branched alkane. *Biotechnology Letters*, **30**(8), 1447-1452. DOI: 10.1007/s10529-008-9710-9

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 and Biotechnological Equipment*, **34**(1), 361–74. DOI: 10.1080/13102818.2020.1756408

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*, **11**(12), 2793–808. DOI: 10.1038/ismej.2017.129

Veerapagu, M., Jeya, K.R., Kalaivani, R., Jeyanthi, K.A. and Geethanjali, S. (2019). Screening of hydrocarbon degrading bacteria isolated from oil contaminated soil. *The Pharma Innovation Journal*, **8**(6), 69–72.

Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A. and Whitman, W.B. (2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd edition. United States, New York: Springer science.

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**(n/a), 1132831. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1132831

Xu, W., Qiao, Y., Wei, J., Jiang, Q. and Xue, J. (2022). Bacterial communities and culturable petroleum hydrocarbon degrading bacteria in marine sediments in the northeastern South China Sea. *Frontiers in Environmental Science*, **10**(n/a), 549. DOI: 10.3389/fenvs.2022.865636

Yakimov, M.M., Timmis, K.N. and Golyshin, P.N. (2007). Obligate oil-degrading marine bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, **18**(3), 257–66. DOI: 10.1016/j.copbio.2007.04.006

Yehia, R.S. (2023). Highlighting the potential for crude oil bioremediation of locally isolated Cunninghamella echinulata and Mucor circinelloides. *Brazilian Journal of Microbiology*, **54**(3), 1969–81. DOI: 10.1007/s42770-023-01008-z

You, Z., Xu, H., Zhang, S., Kim, H., Chiang, P.C., Yun, W. and He, M. (2018). Comparison of petroleum hydrocarbons degradation by Klebsiella pneumoniae and Pseudomonas aeruginosa. *Applied Sciences*, **8**(12), 2551. DOI: 10.3390/app8122551

Zargar, A.N., Lymperatou, A., Skiadas, I., Kumar, M. and Srivastava, P. (2022). Structural and functional characterization of a novel biosurfactant from Bacillus sp. IITD106. *Journal of Hazardous Materials*, **423**(2), 127201. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.127201