

Industrial Microbiology

مكروبيولوجيا صناعية

المعمل الرابع

By: Aljawharah Alabbad

2025

التكنولوجيا الحيوية والمعالجة البيولوجية

النتائج المترتبة من تسرب النفط على الكائنات الحية



- **النفط الخام** المتسرب إلى البيئة يحتوي على المواد العضوية الطيارة والتي تكون درجة غليانها منخفضة، حيث تتبخر هذه المواد فوراً وهذا بدوره يقلل من التلوث بنسبة ٢٥٪. ولكنه ينتج مواد سامة في الجو.
- **الزيت المتبقي** يكون سميك جداً ولزج، حيث يلتصق بأي شيء يلامسه مثل الصخور والرمال والحياة البحرية.

- توفر الحلول البيئية لمجموعة واسعة من الملوثات البحرية. ويمكن تحقيق ذلك من خلال بعض الكائنات الحية الدقيقة التي لديها قدرة فريدة على القيام بذلك.
- هناك أنواع مختلفة من الكائنات الحية الدقيقة يمكنها أن تحلل النفط الخام، وبعض الكائنات الحية الدقيقة تعمل بشكل أسرع وأكثر كفاءة من غيرها تبعاً للعوامل البيئية التي تحيط هذه الكائنات الدقيقة، فضلاً عن العوامل الداخلية الأخرى (الإنزيمات).

- هي التقنيات التي تستخدم الكائنات الحية أو منتجاتها لتحسين الصحة البشرية والبيئة البشرية.

كيف يمكن لهذه الكائنات الصغيرة التي يعتقد الكثيرون أنها تمثل مصدر إزعاجاً بأن تساعد الإنسان في تنظيف البيئة؟

بعض الأجناس الميكروبية
القادرة على تحليل
الهيدروكربونات

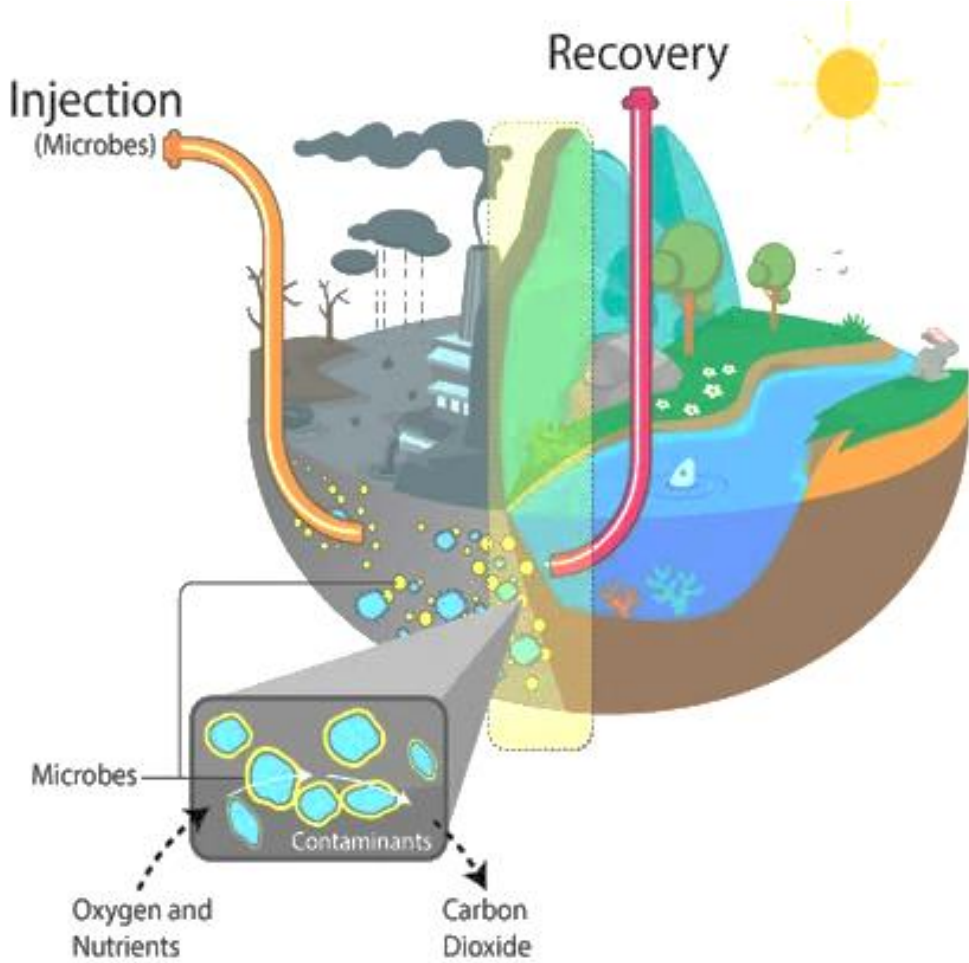
البكتيريا

*Corynebacterium , Arthrobacter ,
Mycobacterium , Nocardia ,
Acinetobacter , Pseudomonas ,
Flavobacterium , Brevibacterium*

الفطريات

*Cladosporium , Candida ,
Trichosporium ,
Torulopsis , Rhodotorula*

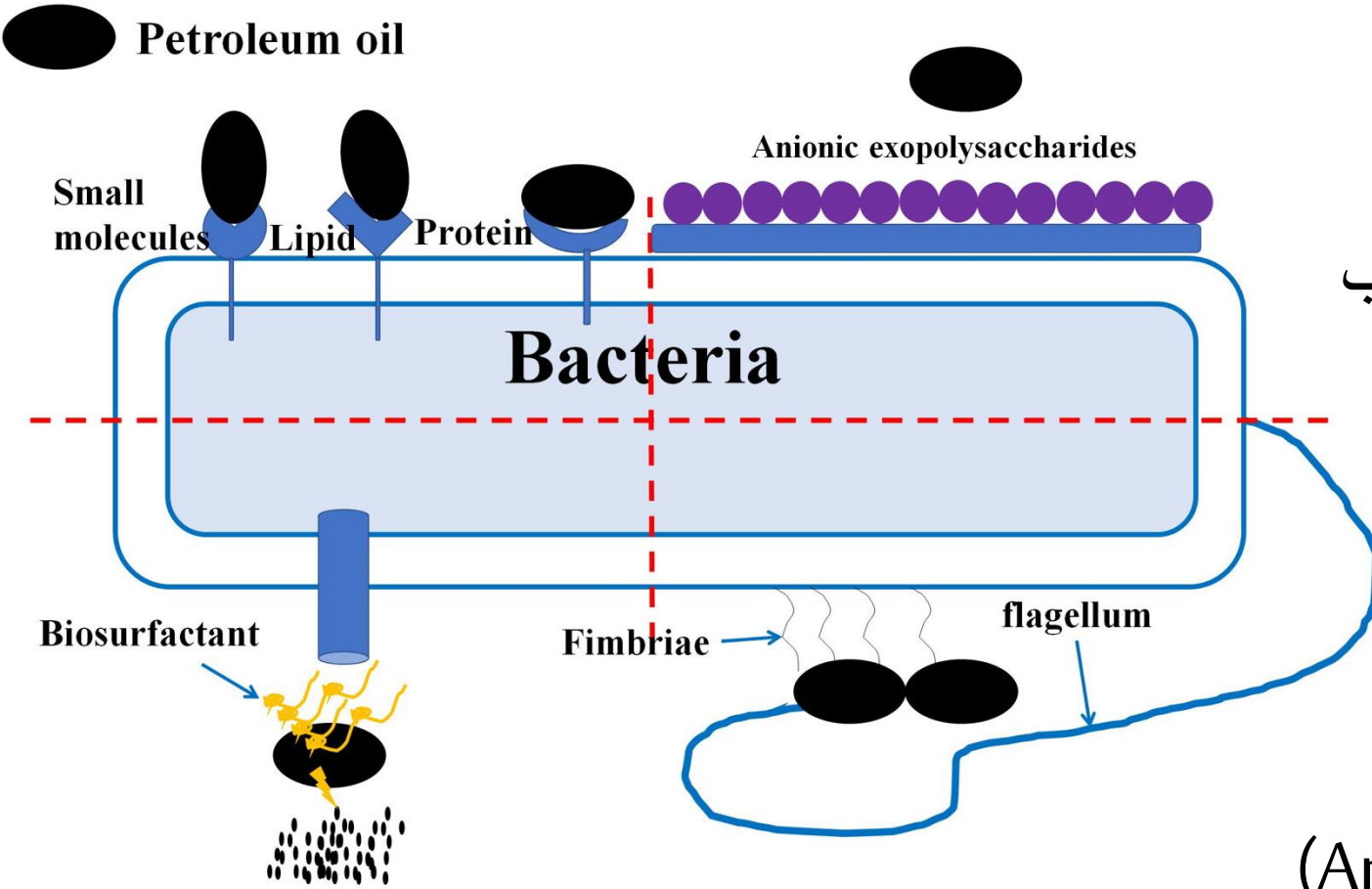
التحلل البيولوجي



- هو استخدام عملية حيوية مثل الكائنات الحية الدقيقة لتسريع التخلص من تلوث البيئة بالنفط المتسرب.
- يعتبر التحلل البيولوجي طريقة صديقة للبيئة عندما يتعلق الأمر بانسكاب النفط حيث يتم تحلله إلى مواد غير ضارة مثل ثاني أكسيد الكربون والماء.

التحلل البيولوجي

- تحتوي هذه الكائنات الدقيقة على إنزيمات قادرة على تحلل الهيدروكربونات المعقدة الموجودة في النفط، حيث تقوم البكتيريا باستهلاك المواد الكربونية المعقدة و تحويلها إلى CO_2 والماء.
- تعتبر هذه البكتيريا أصلية، بمعنى أنها تتواجد في أماكن تسرب أو تواجد النفط الخام بشكل طبيعي.
- هناك أنواع عديدة من هذه البكتيريا تختلف بشكل كبير من حيث قدرتها على تحلل النفط الخام.



- الأهداب (Fimbriae) أو الأسواط (Flagellum) البكتيريا تلتصق بالنفط البترولي.
- تفرز البكتيريا عوامل سطحية حيوية (Biosurfactant) تعمل على استحلاب النفط البترولي.
- تساعد البروتينات والدهون والجزيئات الصغيرة الأخرى على سطح البكتيريا على الالتصاق بالنفط البترولي.
- بعض السكريات الخارجية الأنيونية (Anionic exopolysaccharides) الموجودة على سطح البكتيريا تمنعها من الالتصاق بالنفط البترولي.

كيفية عزل البكتيريا من عينات التربة الملوثة بالنفط

1. يُوزن 10 جم من التربة الملوثة بالنفط الخام وتُخلط مع 100 مل من محلول خاص داخل قارورة بحجم 500 مل.
2. يُحفظ الخليط في الحضان عند درجة حرارة 30°C لمدة 3-5 أيام.
3. بعد انتهاء فترة التحضين، ينقل 1 مل من السائل الموجود في القارورة إلى أطباق بتري تحتوي على وسط غذائي مخصص لنمو البكتيريا.
4. تُوضع الأطباق في الحضان عند درجة حرارة 30°C لمدة 24-48 ساعة.
5. يمكن ملاحظة نمو البكتيريا على الأطباق عن انتهاء فترة التحضين، مما يدل على أن مصدرها هو التربة الملوثة بالنفط.

كيفية عزل البكتيريا من عينات التربة الملوثة بالنفط

6. تُنقل المستعمرات البكتيرية المعزولة من الأطباق المغذية إلى أطباق تحتوي على النفط الخام فقط كمصدر وحيد للكربون.
7. تحضن الأطباق في الحضان عند درجة حرارة 30° مئوية لمدة 5-10 أيام.
8. بعد انتهاء المدة، يصبح من الممكن ملاحظة نمو البكتيريا على الأطباق التي تحتوي على النفط الخام فقط، مما يؤكد قدرتها على استخدامه كمصدر وحيد للكربون.

منحنى النمو البكتيري

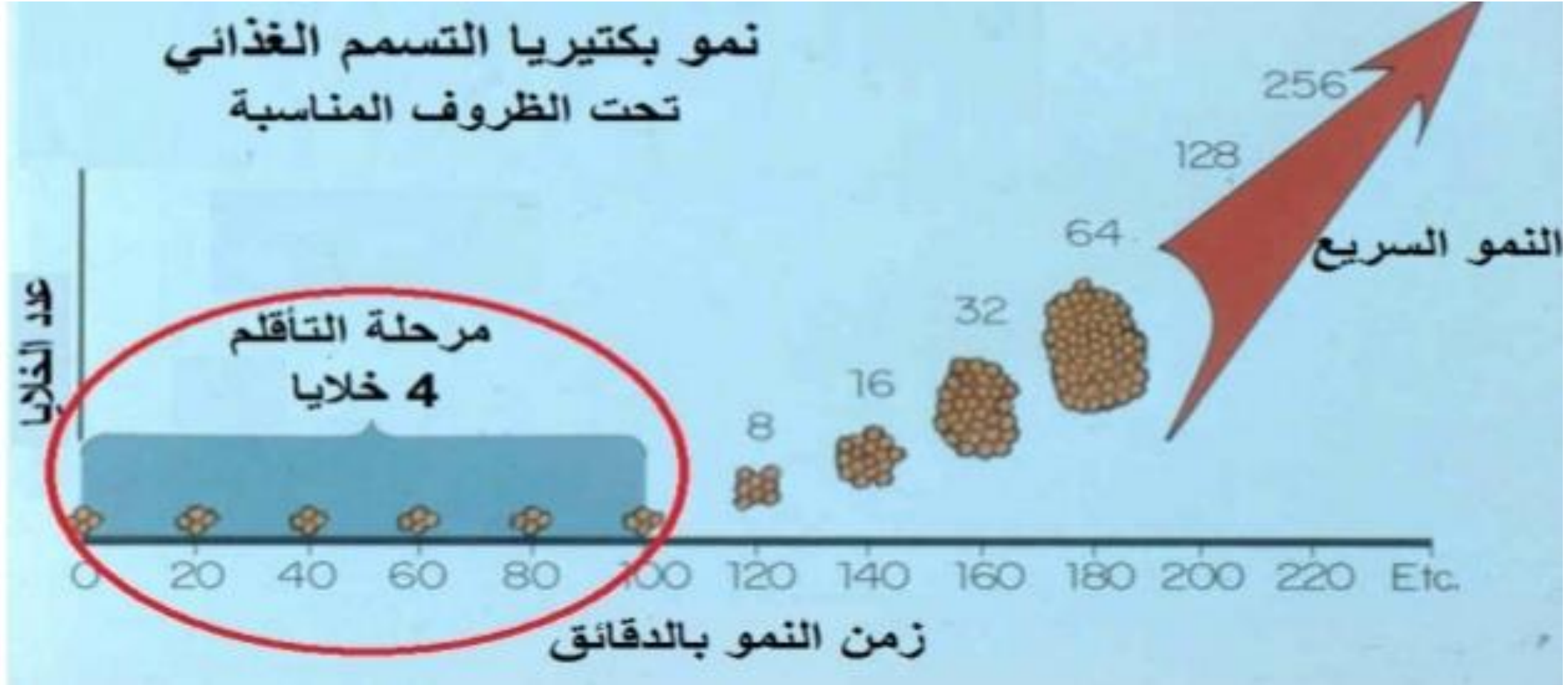


- تنمو البكتيريا في بيئتها الخاصة، حيث تستهلك المواد الغذائية المتاحة حتى تنفذ تدريجياً.
- تتكاثر الخلايا البكتيرية بالانقسام الثنائي، حيث تنقسم الخلية إلى خليتين، ثم إلى أربع، فثمانٍ، وهكذا، مما يؤدي إلى تضاعف أعدادها خلال فترة قصيرة.
- خلال بضع ساعات، قد يصل عدد البكتيريا إلى مئات الملايين، مما يجعلها كافية لمعالجة بقع النفط الكبيرة.

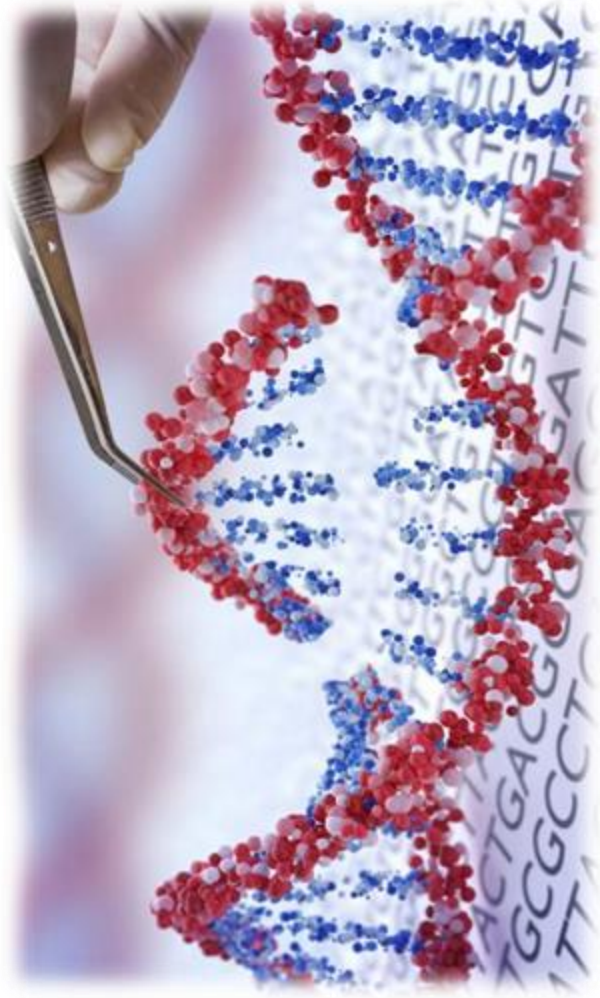
منحنى النمو البكتيري

- يعتمد معدل انقسام البكتيريا ونموها بشكل أساسي على توفر الغذاء، مثل النفط الخام.
- من المعروف أن إضافة بعض المواد المغذية، مثل مصادر الكربون الإضافية (كالسكر)، بالإضافة إلى النيتروجين والفوسفور، يعزز قدرة البكتيريا على تحلل النفط الخام.
- لذلك، من الضروري مراقبة هذه العملية عن كثب لتقييم تأثير هذه الإضافات على تحسين كفاءة التحلل الحيوي.

منحنى النمو البكتيري



التكنولوجيا الحيوية الأخرى التي المعززة لقدرة البكتيريا على التحلل الحيوي؟



- يمكن استخدام الهندسة الوراثية والمعروفة ب (التكنولوجيا الحيوية) وهي واحدة من الطرق والأدوات الحديثة والتي من خلالها يمكن تعزيز قدرة التحلل الحيوي للبكتيريا.
- الفكرة قائمة على نظرية ان لكل بروتين أو أنزيم هناك جين محدد وهو المسؤول عن ذلك.

خطوات إنتاج البكتيريا المعدلة وراثياً

١. تحديد وعزل الجينات المشفرة لإنزيمات المسؤولة عن التحلل البيولوجي.

٢. استنساخ هذا الجين في ناقلات خاصة تسمى البلازميد.

٣. نقل البلازميد إلى بكتيريا جديدة.

٤. اختبار قدرة هذه البكتيريا الجديدة على تحلل النفط الخام في المواقع الملوثة.

التجربة الثانية: فحص الميكروبات الملوثة للزبادي

الأدوات

- ابرة تلقيح تحتوي على العقدة (بلاستيكية أو زجاجية)
- حمام مائي يضبط عند درجة حرار ١٠٠ درجة مئوية.
- شريحة زجاجية
- بيكرات تحتوي على زایلول، كحول ايثانول، ماء مقطر
- صبغة أزرق الميثيلين
- زيت سيدر



١. يتم وضع الوعاء المحتوي على الزبادي بدون غطاء في درجة حرارة الغرفة لمدة أسبوع

٢. يتم فحص العفن في سطح الوعاء، ويتم ذلك باستخدام إبرة التلقيح حيث يؤخذ عينه من السطح وتوضع العينه في شريحة زجاجية تحوي قطرة ماء ويتم فحصها بالمجهر.

٣. يتم فحص الزبادي بإستخدام ابره تلقيح يتم تحريك الزبادي و أخذ عينه منه وتوضع في شريحة زجاجية، وتترك لتجف تماماً.

٤. تنقل الشريحة فوق وعاء يحوي ماء يغلي لمدة ٥ دقائق لتثبيت غشاء الحليب بالبخار، ويتم صبغها حسب ما ذكر في المعمل السابق.

alalabbad@ksu.edu.sa