---- مجلة علوم الرافدين، المجلد 19، العدد 1، ص101-115، 2008 ----

الفعل الانفرادي والمشترك لبعض العزلات البكتيرية على التحال الحيوي 2- لنفط خام كركوك المتوسط

ياسين حسين عويد

قسم علوم الحياة

كلية التربية للبنات

جامعة تكريت

(تاريخ الاستلام 2007/6/27، تاريخ القبول 2007/12/31)

الملخص

اجريت هذه الدراسة بهدف التعرف على مدى قابلية العزلات البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa* و*Bacillus, subtilis* والـ *Actinomyces spp.* على تحليل نفط خام كركوك المتوسط بصورة انفرادية وكذلك بالتازر بين العزلات الثلاث. اظهرت النتائج ان حالة التازر بين العزلات الثلاث كانت الافضل اذ بلغ تحال النفط الخام اكثر من 82% فيما كان الفعل الانفرادي لكل من الـ *Pseudomonas aeruginosa* والـ *Bacillus subtilis* لتحال النفط الخام متقاربا جدا ليبلغ 65% و68 % على التوالي فيما كانت عزلة الـ *Actinomyces spp.* الاضعف في قدرتها على تحليل نفط خام كركوك المتوسط اذ وصل الى 45 %. اعتمدت الدراسة على استخدام تقنية كروماتوكرافيا الغاز Gas-Chromatography وطيف الاشعة تحت الحمراء Infra-Red كمؤشرات علمية كفؤءة لبيان التحال الحيوي للنفط الخام، فضلا عن اعتماد حساب الاعداد الحية لهذا الغرض، كما لوحظ ان الاعداد الحية كانت في تزايد مستمر خلال فترة النمو البالغة 28 يوما على النفط المستخدم مما يؤكد القدرة العالية للعزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة لاستغلال مكونات النفط الخام في النمو.

The Effects of Some Single Bacterial Isolates and Combination between them on Biodegradation of 2- Kirkuk Crude Oil

Yaseen H. O'waied

Department of Biology

College of Education for Girls

Tikreet University

ABSTRACT

This study was conducted to show the ability of some isolates of bacteria, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Actinomyces spp*. and the combination

between the three bacterial isolates to biodegrade Kirkuk crude oil. The results indicated that the combination were higher activity on crude oil and reached more than 82%. When *Pseudomonas aeruginosa* shown biodegradation percent more than 65% on crude oil, But *Bacillus subtilis* was more than 68% crude oil. The ability of *Actinomyces spp*. to biodegrade crude oil show more than 45%.

When depending by use analysis through Gas-Chromatography and Infra-Red Spectrum furthermore the viable count as another scientific indicators has been added to confirm the occurrence of biodegradation. The results showed that the viable count of the isolates increased with the time of incubation period at 28 days on crude oil, which that confirms the ability of isolates of strains in this study for a highly used of the component of this crude oil in growth.

المقدمة

برزت مشكلة التلوث بالنفط الخام من خلال زيادة الطلب العالمي عليه كمصدر رئيسي للطاقة في العالم اذ يشكل النفط الخام حوالي 32 % من الاحتياجات الكلية للطاقة في العالم (Ghaly and Macdonald, 2002).

يعد التلوث النفطي من اشد انواع التلوث خطورة بسبب الكميات الهائلة التي تلقى من النفط الخام ومنتجاته الى المحيط الحيوي وما يحتويه من مركبات سامة وضارة (الخفاف وخضير، 2000). هناك العديد من الوسائل التي تسبب التلوث بالنفط الخام ومنها وسائل شحن النفط الخام، مراحل الخزن والتنقية، الحوادث العرضية والتلقائية، التطبيقات الخاطئة للتخلص من البقايا والترسبات المتراكمة من النفط الخام في مستودعات الخزن (Juteau et al., 2003). يحدث سنويا ما يقارب 14.000 حالة تدفق للنفط الخام الى المحيط الحيوي وهذا يعكس حجم المخاطر البيئية الناجمة عن وصول كميات هائلة من النفط الخام الى المحيط الحيوي (Phillips, 2003). ان درجة تاثير النفط الخام المتدفق على الوضع الطبيعي للتربة تعتمد على عدة عوامل منها حجم ونوع النفط المتدفق، مدى تغطية النفط للتربة، الفصل السنوي الذي حصل فيه التدفق (Zhu et al., 2004). تمتد التاثيرات السامة لهيدروكاربونات النفط الخام إلى النباتات وديدان الارض (Wilson et al., 2002). تعد هيدروكاربونات النفط الخام مواد كارهة للماء hydrophobic ويتحدد التحلل الحيوي بوجود مادة النفط الخام ومدى التلامس الحاصل بين الاحياء المجهرية وسطح النفط الخام (Jaccobocci et al., 2001). كما ان النفط الاخف يكون اكثر استعدادا للتحلل الحيوي من النفط الاثقل منه بفعل البكتريا (Stavanger and Edinburgh, 1999).

اما عن الفعل التأزري بين العزلات البكتيرية في تحليل النفط الخام فقد وجد (Lai et al., 2001) وجود تازر بكتيري لخمس سلالات بكتيرية قادرة على تحليل النفط الخام والترسبات النفطية واختبرت

هذه السلالات تحت الظروف المختبرية والحقلية اذ وجد ان 96.2 %، 90.6 %، 90.3 % من الترسبات النفطية قد تحللت بفعل هذا التازر مقارنة بتحلل 14.3 % من النفط الخام في مجموعة المقارنة.

ولعدم وجود دراسات سابقة لبيان الفعل الانفرادي لكل من العزلات البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa* و *Actinomyces spp. Bacillus subtilis* وكذلك التازر بين هذه العزلات في تحليل نفط خام كركوك المتوسط واستغلال مكوناته في النمو وبيان دورها في تقليل الآثار الخطيرة الناجمة عن التلوث البيئي لذا فقد تم القيام بالدراسة الحالية.

المواد وطرائق العمل

العينات:

أولا : عينات النفط الخام:

تم الحصول على عينات نفط خام كركوك المتوسط من محطة ضخ بيجي المستلمة للنفط الخام من حقول كركوك، واستخدمت لجمع العينات قناني زجاجية حجم 100 ملليلتر معقمة ومظلمة ومعلمة ومحكمة الغلق.

ثانيا : عينات الاحياء المجهرية:

عزل وتشخيص الاحياء المجهرية المحللة للنفط الخام المستخدمة في هذه الدراسة

أ. استخدام وسط الاملاح المعدنية

كما جاء في Philips و Traxler (1963) فقد وزع 50 ملليلتر من الوسط في دوارق مخروطية سعة 250 ملليليتر بعدها تم تعقيم الوسط وتبريده واضيف النفط الخام بنسبة 1 % (حجم/حجم) وحضنت الدوارق على درجة حرارة 30مْ لمدة 21 يوما، بعدها اجريت التخافيف على اطباق من الوسط Trypticase soya agar المجهز من شركة Hemidia الهندية وحضنت على درجة حرارة 30 مْ لمدة 24 ساعة. بعدها تم عزل المستعمرات المختلفة في الصفات الظاهرية على اطباق في نفس الوسط وثبتت صفاتها من حيث الشكل ونوع استجابتها لصبغة كرام واختبار الحركة بعدها شخصت العينات باستخدام تقنية Analytical Profile Index API20 والمجهز من شركة Bio Merieux Kits-api الفرنسية، وبعد المقارنة مع الجدول الخاص بالتشخيص المجهز من الشركة نفسها تم حفظ العينات المعزولة على موائل من الوسط الزرعي Trypticase soya agar في درجة حرارة الثلاجة لحين الاستخدام. استخدام وسط الاملاح المعدنية المجهز في Philips و Traxler (1963) لتنمية الاحياء المجهرية المحللة للنفط الخام بعد ان تم توزيع 50 ملليليتر من وسط الاملاح المعدنية في دوارق مخروطية سعة 250 ملليلتر وبعدها تم تعقيم الوسط وتبريده ثم اضافة النفط الخام بنسبة 1 % (حجم/ حجم) واضافة 2 مل من المعلق البكتيري الذي يحتوي كل ملليلتر منه على التراكيز (84، 96، 92، 116) × 10^{7-} وحدة تكوين المستعمرة / ملليليتر لكل من العزلات

البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa* و *Bacillus subtilis* و *Actinomyces spp.* وكذلك التآزر بينها على التوالي الى المحلول الفسلجي بعدها حضنت الدوارق على درجة حرارة 30°م لمدة 28 يوما وتم حساب الاعداد الحية حسب ما مذكور في ادناه:

- **حساب الاعداد الحية للعزلات الثلاث والتآزر بين هذه العزلات المستخدمة في هذه الدراسة:**

حسبت الاعداد الحية بعد التلقيح مباشرة (الزمن الابتدائي) Zero time وكذلك بعد انقضاء مدة 1، 2، 3، 4 اسابيع باستخدام طريقة النشر Spread-plate Technique اذ تم نشر 0.1 مل من التراكيز المذكورة في الفقرة (أ) لكل من العزلات الثلاث والتآزر بينها على اطباق من وسط الاكار المغذي Nutrient agar وحضنت جميع الاطباق في درجة 30 مْ (Harley and Prescott, 1996) وحسب العدد الحي للمستعمرات البكتيرية النامية على النفط الخام بواسطة جهاز عداد المستعمرات Colony counter (Marins et al., 2002).

ب. قياس نسبة الفقدان الكمي للنفط الخام المستخدم في هذه الدراسة:

1- باستخدام الطرق الكيميائية غير المتخصصة:

تم قياس معدل تحلل النفط الخام باستخدام الطريقة الوزنية وذلك عن طريق قياس الفرق بين وزن كمية النفط الخام المضافة الى الوسط الزرعي المستخدم قبل وبعد تنمية العزلات البكتيرية المستخدمة وكما متبع في (Teschner and Wehner, 1985) وتم قياس النسبة المئوية لمعدل تحلل النفط الخام بفعل كل عزلة على حدة وكذلك بالتازر بين العزلات الثلاث.

2- الكشف عن تحلل النفط الخام باستخدام الطرق الكيميائية المتخصصة:

أ. باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز Gas -Chromatography (GC) وكما في (Rontani et al., 1999) اذ تم قياس مستوى تحلل مكونات نفط خام كركوك المتوسط المحلل بفعل العزلات البكتيرية المستخدمة في هذه الدراسة وبعد فترة التحضين البالغة 28 يوما وفي درجة حرارة التحضين المذكورة باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز (GC) المجهز من شركة Varian الامريكية وباستخدام عمود الفصل الكروماتوكرافي نوع Chromosorb W packed column 5% OV-17 البالغ طوله 9 قدم وقطرة ¼ انج وتم حقن 0.1 µm من كل نموذج من نماذج التجربة وكانت الظروف المستخدمة لتشغيل الجهاز كالاتي:

الغاز الحامل Carrier gas هو النتروجين N2، وان معدل جريان الغاز الحامل 45 مل / دقيقة، ودرجة حرارة الكاشف Detector FID 275°م اما درجة حرارة عمود الفصل الابتدائية Initial column temp فقد كانت 100°م وان وقت تحميل عمود الفصل Initial column Hold time 4 دقائق، اما درجة حرارة عمود الفصل النهائية الاولى Final1columnTemp فقد كانت

200°م، وكانت درجة حرارة عمود الفصل النهائية الثانية Final2 column Temp 250°م. اما معدل السرعة Rate فكان 10°م / دقيقة، وان التحميل Hold كان 10 دقائق. تم اجراء هذه التحاليلات والقياسات في مختبرات الشركة العربية لكيمياويات المنطفات في بيجي. بعدها سجلت النتائج.

ب. باستخدام طيف الاشعة تحت الحمراء (I-R) Infra-red.

تم قراءة طيف الاشعة تحت الحمراء للعينات المحللة بفعل العزلات المستخدمة في هذه الدراسة لنفط كركوك الخام باستخدام جهاز الاشعة تحت الحمراء نوع Fourier Transform Infrared Spectrophotometer العلامة FTIR-8400 S المجهز من شركة Shimadzu Corporation اليابانية حيث تم اخذ قطرة من كل عينة (معاملة) ووضعت في خلية الجهاز الزجاجية (Potassium bromide) وتم معايرة الجهاز باستخدام مادة متعددة الستايرين Polystyrene وبسمك 0.1 ملم من كل معاملة اضافة الى عينة المقارنة للنفط الخام وتمت القياسات بعد ان تم اعداد الجهاز على مدى من الارقام بين النسبة المئوية للنفوذية T% على المحور العمودي وبمدى من (Zero – 40) والعدد الموجي على المحور الافقي وبمدى 400-4000 1/cm (Dahlin et al., 1994)، وتمت هذه التحاليلات في مختبرات قسم الكيمياء، كلية التربية، جامعة تكريت، وسجلت النتائج.

ج. دراسة التغيرات المظهرية للنفط الخام بفعل العزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة:

تم ملاحظة التغيرات في الصفات المظهرية لنفط خام كركوك المتوسط المتحلل بفعل العزلات البكتيرية المستخدمة في هذه الدراسة، بعد فترة التحضين البالغة 28 يوما وفي درجة حرارة تحضين 30°م اذ تم ملاحظة الاستحلاب Emulsion للنفط الخام وتم تصوير التغيرات المظهرية فوتوغرافيا (Roling et al., 2002).

النتائج والمناقشة

أولا : الفقدان الكمي للنفط الخام باستخدام الطرق الكيميائية غير المتخصصة (الطرق الوزنية):

يوضح الجدول (1) النسب المئوية لتحلل نفط خام كركوك المتوسط بفعل العزلات البكتيرية المستخدمة في هذه الدراسة اذ تبين بان تحلل نفط خام كركوك المتوسط بفعل العزلات البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa* و *Bacillus subtilis* و *Actinomyces spp.* اذ كانت نسب التحلل اكثر من 65 % و68 % و54% على التوالي، اما بالنسبة للتازر بين العزلات الثلاث فقد بلغ أكثر من 82 %.

الجدول 1 : النسب المئوية لتحلل نفط خام كركوك المتوسط بالفعل الانفرادي والتازري للعزلات المستخدمة في هذه الدراسة.

ت	العزلات البكتيرية المحللة للنفط الخام	وزن سم^3 من النفط الخام غير المعامل (غم)	وزن النفط الخام المتبقي غير المحلل (غم)	وزن النفط الخام المتحلل بفعل العزلات البكتيرية (غم)	النسب المئوية لتحلل النفط الخام %
1	*Pseudomonas aeruginosa*	0.8462	0.2940	0.5522	65.256
2	*Bacillus subtilis*	0.8462	0.2636	0.5825	68.8371
3	*Actinomyces spp.*	0.8462	0.3856	0.4606	45.4315
4	التآزر	0.8462	0.1511	0.6651	82.1437

اذ اشارت دراسة عباس وجماعته (2000) على قدرة عزلات بكتريا *Pseudomonas* على تفكيك الهيدروكاربونات وانتاج المستحلبات الحياتية، فيما اشار الباحثان الراوي والعكيدي (1999) الى ان البكتريا *Bacillus subtilis* استطاعت ان تحلل انواع من نفط خام كركوك المتوسط، اذ كان النوعان المستخدمان في هذه الدراسة متقاربان من حيث قدرتهما لتحليل النفط الخام وكانت عزلة *Bacillus subtilis* اكفأ قليلا من الـ *Pseudomonas aeruginosa*، في حين كانت عزلة الـ *Actinomyces spp.* الاضعف في قدرتها لتفكيك مركبات النفط الخام وربما يرتبط ذلك بطبيعة الملوثات والمركبات الكيميائية الداخلة في تركيبة (Sarma et al., 2004). ان تفكك هيدروكاربونات النفط الخام وتحللها تعد ذات فائدة عظيمة لتحولها الى اصناف اخرى اقل سمية واقل خطرا على البيئة (Xu, 2001). اما بالنسبة للتازر البكتيري فقد بلغت قدرته لتحليل النفط الخام اكثر من 82% وظهر في هذه الدراسة بانه الاكفا في تحليل النفط الخام واتفقت هذه الدراسة بنتائجها مع كثير من الدراسات التي اجراها العديد من الباحثين ومنهم (Okoh, 2003)، والذين اكدوا بنتائجهم جميعا بان التازر بين الانواع البكتيرية كان الاكفا في تحليل مركبات النفط الخام. اذ كانت الاحياء المجهرية من افضل العوامل المحللة للهيدروكاربونات المشبعة الداخلة في تركيب النفط الخام المتدفق (Pepi et al., 2003). تتوقف قابلية التحلل الحيوي على المادة الهيدروكاربونية الخاضعة وعلى نشاط المجتمع المجهري (Hamme et al., 2000).

اما الجدول (2) فقد وضح ان الاعداد الحية للعزلات النامية على نفط خام كركوك المتوسط في تزايد مستمر مع مرور الزمن وقد يعزى ذلك إلى تأقلم البكتريا للبيئة الملوثة بالنفط الخام (Pineda – Floras and Mesta – Howard, 2001).

الجدول 2 : الاعداد الحية *(CFU/ml) للعزلات المحللة لنفط خام كركوك المتوسط المحـضنة بدرجـة حرارة 30 م^0.

ت	العزلات النامية	الزمن				
		الزمن الابتدائي	بعد اسبوع واحد	بعد اسبوعين	بعد ثلاثة اسابيع	بعد اربعة اسابيع
		10×10^7				
1	*Pseudomonas aeruginosa*	84	204	376	428	782
2	*Bacillus subtilis*	96	361	520	3024	نمو كثيف
3	*Actinomyces spp.*	92	116	458	528	817
4	التآزر	116	260	456	651	913

وكذلك إلى تيسر مركبات النفط الخاضعة للتحال البكتيري التي تعد غذاء لهذه البكتريا إذ أن العدد المايكروبي يعكس الارتباط بالتحال الحيوي (Hazen et al., 2003).

ثانيا : التحليل بالطرق الكيميائية المتخصصة:

التحليل بأستخدام كروماتوكرافيا الغاز (G – C) Gas – Chromatography:

من خلال ملاحظة الاشكال (2A , 2B , 2C , 2D) لوحظ اختفاء قسم من الحـزم عنـد التحليـل بأستخدام كروماتوكرافيا الغاز بالمقارنة مع الحزم الظاهرة في عينة المقارنة الشكل (1).

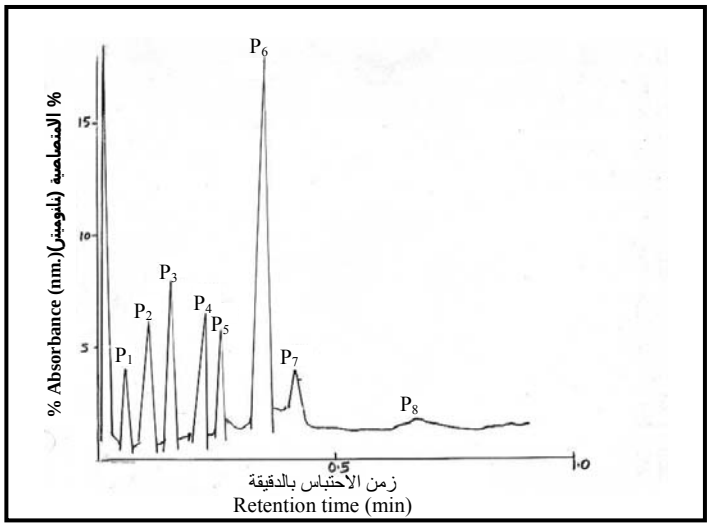
اذ يلاحظ أن العينة المعاملة مع العزلة *Pseudomonas aeruginosa* (الشكل 2A) تبين اختفـاء عدد كبير من الحزم بالمقارنة مع عينة المقارنة (الشكل 1) وهذا يتناسب مع نـسبة التحلـل بالطريقـة الوزنية البالغة اكثر من 65 %، كذلك يلاحظ اختفاء نسبة كبيرة من الحزم في العينة المعاملـة بالعزلـة *Bacillus Subtilis* (الشكل 2B) إذ يلاحظ اختفاء عدد اكبر من الحزم وهذا ايضاً يعكس النسبة المئوية للفقدان الوزني البالغة اكثر من 68 % في حين يلاحظ اختفاء عدد اقل من الحزم في عينة الـنفط الخـام بفعل العزلة *Actinomyces spp.* (الشكل 2C)، بينما اظهرت العينة المعاملة مع التـآزر بـين العـزلات الثلاث (الشكل 2D) اختفاء عدد اكبر من الحزم.

وتشير قسم من الدراسات إلى استخدام تقنية كروماتوكرافيا الغاز لتوضيح التحال الحاصـل فـي المركبات النفطية (Rontani et al., 1999) وهذه التقنية هي من الطرق الكيميائية المتخصصة التي يستدل

* **CFU/ml : Colony Forming Unit / milliliter**

من خلالها على نوع المركب المتحلل ومنها كروماتوكرافيا الغاز (Phillips and Stewart, 1974 ; Roling et al., 2002).

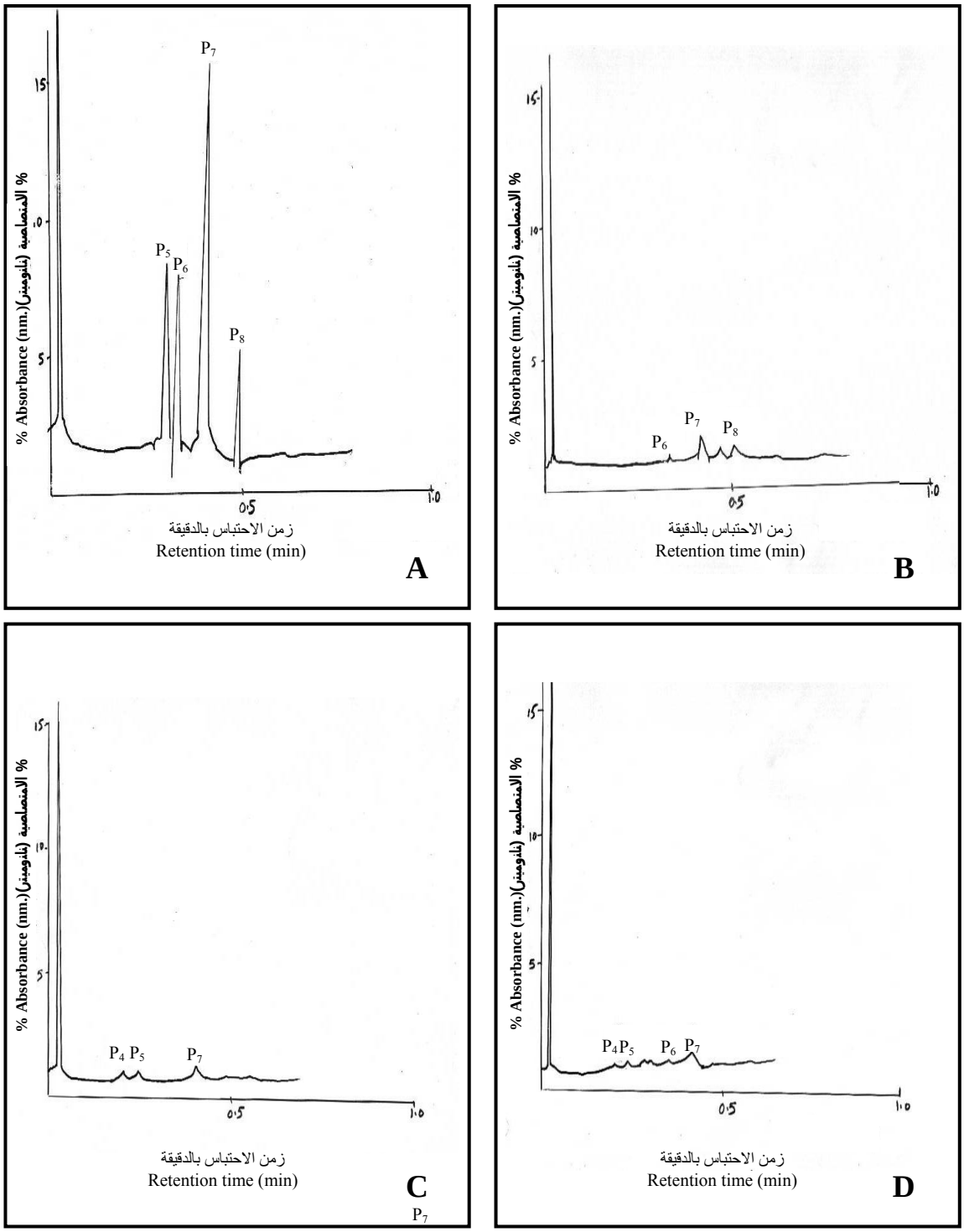
وتم التأكد من تحلل مكونات النفط الخام بفعل احياء مجهرية محلية في نايجيريا باستخدام تقنية كروماتوكرافيا الغاز في دراسة للباحث Ojo عام (2006).



الشكل (1) نتائج تحليل نفط خام كركوك المتوسط (عينة المقارنة) باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز (Gas-Chromatography) والمستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على 1% نفط خام وفي رقم هيدروجيني 7.2 والمحضن لمدة 28 يوم بدرجة حرارة 30م°

ب. التحليل باستخدام تقنية طيف الاشعة تحت الحمراء:

ان طيف هذه الاشعة يبين التاثر في الاواصر سواء الاهتزازات الامتطاطية Stretching vibration للاصرة C - H ذات الظهور المتكرر والاصرة C– C التي تظهر بتكرار اقل اذ تظهر هذه الاواصر في مدى يتراوح بين 1300-4000. اما التاثر الثاني فهي الاهتزازت الانحنائية Bending vibration أي تغير مواقع الاواصر فقط وليس اختفائها لذا لا يظهر تغير واضح في التحاليل وتظهر في مدى يتراوح بين 1360-1450. وتؤكد عدد من الدراسات على استخدام هذه التقنية للتاكد من تحلل النفط الخام (Ali, 1998). ان حدوث التغيرات في مواقع الذرات والاواصر يشير الى دور العزلات البكتيرية في تحليل المركبات الاروماتية (العبيدي ، 2003). بمكن ان يعزى ذلك الى ان المركبات النفطية ذوات الاوزان الجزيئية العالية الموجودة اصلا في النماذج النفطية قيد الدراسة الكارهة للماء Hydrophobic قد تحولت الى مركبات من الاصناف نفسها ولكن باوزان جزيئية واطئة ذوات صفات اكثر الفة للماء Hydrophilic وبذلك يمكن الاستفادة من النتائج المستحصلة بهذه التقنية والتي هي بالاساس تستخدم لتشخيص المجاميع الفعالة مثل مجموعة الكاربونيل او مجموعة النتريل أو الهيدروكسيل ..... الخ.



الشكل 2 : نتائج تحليل نفط خام كركوك المتوسط باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز (Gas-Chromatography) والمستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على 1% نفط خام وفي رقم هيدروجيني 7.2 والمحضن لمدة 28 يوم بدرجة حرارة 30°م وحسب الحروف الآتية:

A : بفعل البكتريا *Pseudomonas auroginosa* ، B : بفعل البكتريا *Bacillus subtilis*.

C : بفعل البكتريا *Actinomycetes spp.* ، D : بفعل التآزر البكتيري.

اشارت دراسات عديدة الى اعتماد تقنية الاشعة تحت الحمراء للتأكد من تحلل مكونات النفط الخام مختبريا في البيئات الملوثة (Baptista et al., 2005; Irwin et al., 1997).

ان طيف الاواصر الكيميائية الموجودة في النفط الخام المتحلل بفعل العزلات البكتيرية يظهر بنسب مختلفة وهو يعكس التأثر الطفيف الذي يحدث في الاواصر الكيميائية، لاحظ الاشكال (3B، 3C ، 3D ، 3E) وظهر في الاشكال المشار اليها وجود اختلاف في شدة الحزم وعدم وجود تغير واضح في مواقع الامتصاص للاواصر بالمقارنة مع عينة السيطرة الشكل (3A).

ثالثا : التغيرات الفيزيائية في النفط الخام:

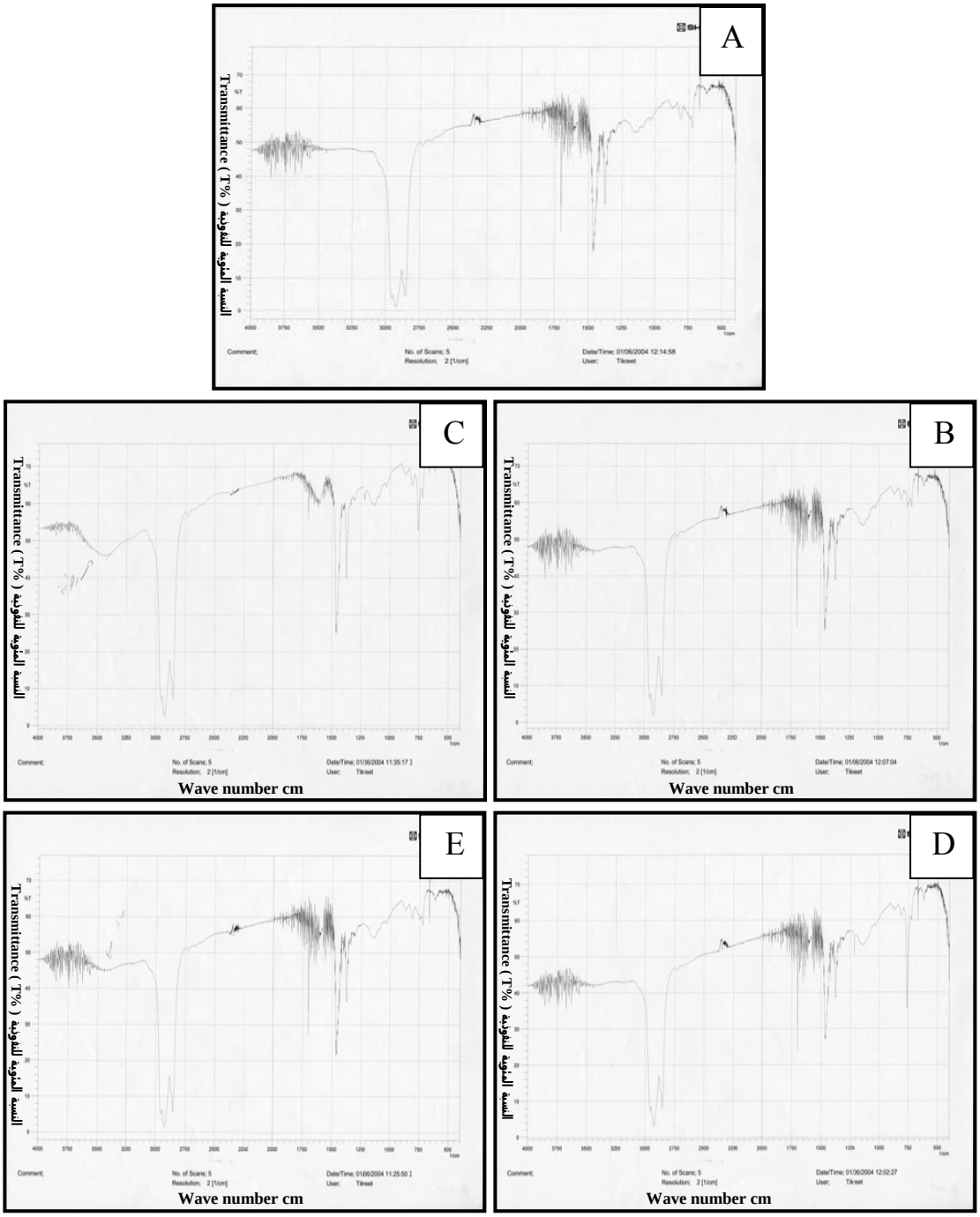
توضح الصورة (1) ان العزلات البكتيرية ادت الى تحويل مكونات نفط خام كركوك المتوسط الى جزيئات صغيرة جدا غير متماسكة طافية فوق الوسط الزرعي وعند تحريكها تمتزج بتجانس مع الوسط الزرعي لاحظ الصور (1A، 1B ، 1C ، 1D). ويعتقد ان تحلل مكونات النفط الخام كان بفعل قوة عوامل الاستحلاب Emulsification Power التي كانت عاملا آخر لتحليل المكونات النفطية ، فضلا عن العزلات البكتيرية التي كان لها دور اساسي في التحلل الحيوي للنفط الخام (Behrend and Schubert, 2000).

وأكدت الدراسات ان الطاقة التي تمتلكها عوامل الاستحلاب تقوم بتسريع التحلل الحيوي لمركبات الالكانات n-alkane (Phillips and Stewart, 1974) .

وتؤدي ظاهرة الاستحلاب الى تكوين طبقة مشتركة (نفطية – مائية) وتسمى هذه الظاهرة بالموسية Mousse، ويعتقد أن حدوث هذه الظاهرة في البيئة يرتبط بظروف بيئية محددة تعرضها للتجوية Weathering وكذلك بسبب نشاط الاحياء المجهرية وفاعليتها المحللة للهيدروكاربونات أو ربما يعود إلى تراكم عوامل الاستحلاب Emulsifying agents التي تحفز تكوين هذه الحالة (العبيدي، 2003) إذ لوحظ أن عملية تحلل الهيدروكاربونات بواسطة البكتريا غالباً ما تكون مصحوبة بإفراز مواد مستحلبة الى البيئة او الوسط الغذائي ذات نشاط على مستوى الشد السطحي Biosurfactant وتتميز هذه العوامل بالسمية الواطئة وقابلية التحلل والتراكم والسيطرة على النفط المتدفق وهي تقوم بتقليل الشد السطحي وتزيد اختراق الماء والانتشار لتعزيز النمو الميكروبي وحجز المعادن وفصلها (Kosaric, 2001).

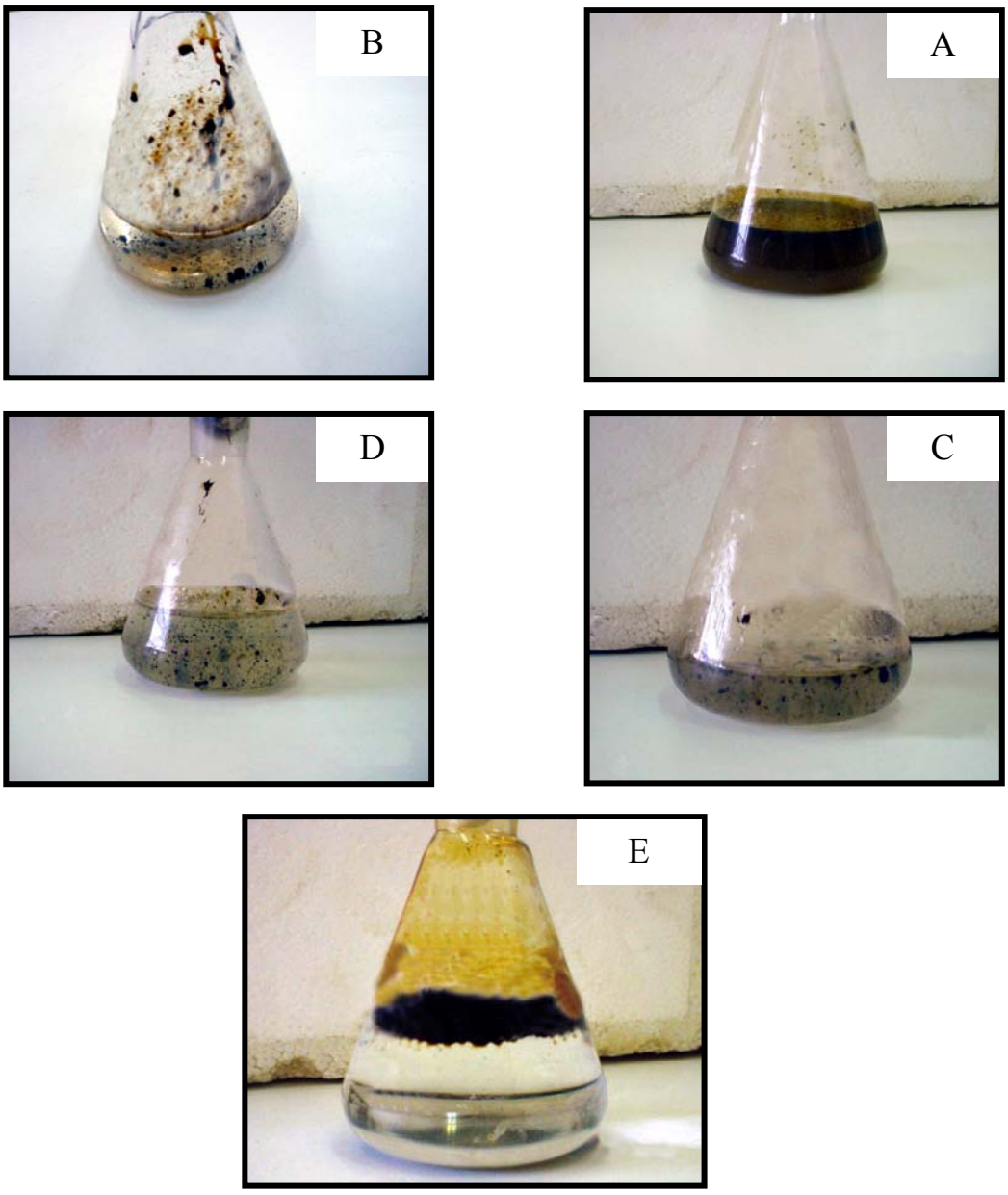
اذ يلاحظ انفصال وتحرر جزيئات النفط الخام في الوسط الزرعي بفعل العزلات البكتيرية، لاحظ الصور المشار اليها في (1A، 1B، 1C، 1D) بالمقارنة مع عينة السيطرة الصورة (1E)، (Plaza et al., 2006 ; Irwin et al., 1997 ; Dahlin et al., 1994).

وتتميز الطبقة المستحلبة بالوان مختلفة ولزوجة عالية أكثر من النفط الخام الذي تكونت منه (Cretney et al., 2002).



الشكل 3 : طيف امتصاص الاشعة تحت الحمراء لنفط خام كركوك المتوسط الحاوي على 1% نفط خـام وفي رقم هيدروجيني 7.2 والمستخلص من وسط الاملاح المعدنية والمحضن لمـدة 28 يومـا بدرجة حرارة 30°م اذ تمثل الحروف:

A : عينة المقارنة Control، B : بفعل البكتريا *Pseudomonas aeruginosa*، C : بفعل البكتريا *Bacillus subtilis*، D : بفعل البكتريا .*Actinomyces* spp ، E : بفعل التآزر البكتيري.



الصورة 1 : التغيرات الفيزيائية المظهرية المختلفة لطبقة النفط الطافي (بفعـل البكتريـا الناميـة فـي وسط الاملاح المعدنية اذ تمثل الحروف: A.B.C.D.E) على نفط كركوك الخام المحضنة بدرجة حرارة 30°م لمدة 28 يوما علـى

A : بفعل البكتريا *Pseudomonas aeruginosa*، B : بفعل البكتريا *Bacillus subtilis*، C : بفعل البكتريا *Actinomyces spp.*، D : بفعل التآزر البكتيري، E : عينة المقارنة Control.

المصادر العربية

الخفاف، عبد علي وخضير، ثعبان كاظم، 2000. الطاقة وتلوث البيئة. الفصل الثاني، تلوث البيئـة، دار المسيرة للنشر والتوزيع والطباعة، الطبعة الأولى، عمان، الأردن، 61 صفحة.

الراوي، أميرة محمود والعكيدي، محسن أيوب، 1999. التحلل الحيوي لأنواع من الـنفط الخـام بفعـل البكتريا *Bacillus subtilis*. مجلة التربية والعلم، العدد 37.

عباس، علاء شريف والخزعلي، ايمان هندي وعلي، ناهية عبدالحسين ورشيد، هـادي رحمـن، 2000. تشخيص عزلات محلية للبكتريا *Pseudomonas* مفككة للهيدروكاربونات ومنتجة للمـستحلبات الحياتية. المؤتمر القطري العلمي الأول في تلوث البيئة وأساليب حمايتها بغـداد 5 - 6 تـشرين الأول، ص 1 – 9.

العبيدي، اياد محمد، 2003. دراسة التردي الحيوي وطيف الأشعة تحت الحمراء لنماذج من نفط كركوك الخام المعامل بالسيانوبكتريا المثبتة للنتروجين. مجلة تكريت للعلوم الصرفة، المجلد 9 ، العدد 1، مجلة علمية تصدرها كلية العلوم، جامعة تكريت، صلاح الدين، العراق، ص 53-66.

REFERENCES

Ali, F.M., 1998. Crude oil Degrading Bacteria: Isolation , Growth and Biodegradation Studies . Dissertation, Thesis, Natural Product Chemistry. Universiti of Putra, Malaysia, pp. 1-152.

Baptista, S.J., Cammarato, M.C. and Freire, D.D.C., 2005 . Production of CO_2 in Crude Oil Bioremediation in Clay Soil. Braz. Arch. Biol. Technol. Vol. 48, pp. 249-255.

Behrend, O. and Schubert, K.A.H., 2000. Influence of Continuous Phase Viscosity on Emulsification by Ultrasound in Ultrasonics Sonochemistry. Hielscher-Ultrasound Technology, Vol. 7, pp. 77-85.

Cretney, W., Yunker, M. and Yeats, P., 2002. Biogeochemical Benchmarks for Source Identification of Contaminants from an Offshore Oil and Gas Industry. Canadian Science Advisory Secretariat Research Document. pp.1-17.

Dahlin, J.A., Michel, J. and Henry, C., 1994. Recovery of Mangrove Habitats at the Vesta Bella Spill Site One Year Post-Spill Observations. Institute of Environmental Studies. Louisiana State University. Hazmat Report. pp.1-30.

Ghaly, S. and MacDonald, N., 2002. Bioremediation: An Innovative Solution for Oil Contamination. A Final Report, Avnetis Biotech Challenge Competition Halifax, Nova Scotia. pp. 1-15.

Harley, J.P. and Prescott, L.M., 1996. Laboratory Exercises in Microbiology. 3rd edit. WCB. Mc Graw-Hill, NewYork. pp. 52-54.

Hamme, J.D.V., Odumera, J.A. and Ward, O.P., 2000. Community Dynamics of a Mixed – Bacterial Culture Growing on Petroleum Hydrocarbons in Batch Culture. Can. J. Microbiol. Vol. 46, pp.441 – 450.

Hazen, T.C., Tien, A.J., worsztynowicz, A., Altman, D.J., Ulfig, K. and Manko, T. 2003. Biopiles for Remediation of Petroleum–Contaminated Soils : Apolish Case

Study.Lawrence Berkeley National Laboratory .Institute for Ecology of Industrial Areas. pp.1-15. Poland

Irwin, R.J., 1997. Environmental contaminants Encyclopedia Energy on Petroleum in General. National Park Service Oakridge Drive, Fort Collins, Colorado, pp.1-68.

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.

Juteau, P., Bisaillon, J.G., Lepine, F., Ratheau, V., Beaudet, R. and Villemur, R., 2003. Improving the Biotreatment of Hydrocarbons – Contaminated Soils by Addition of Activated Sludge Taken from the Waste Water Treatment Facilities of an Oil Refinery, Kluwer Academic Publishers. Bioremediation: Vol. 14, pp. 31-40. Netherlands.

Kosaric, N., 2001. Biosurfactants and their Application for Soil Bioremedation. Food Technol. Biotechnol. 39 4 . pp. 259-304.

Lai, B., Mishra, S., Bhattacharya, D. and Sarma, P.M., 2001. Biotechnological Approach to Manage Oily Sludge. Proceedings of the 4th International Petroleum Conference and Exhibition 195 – 196. R and D Centre. Indian Oil Corporation Ltd. 280 p.

Marins, P.D., Carvalho, F.D.D.D. and Lippel, S.A.J.G., 2002. Bioremediation of Clay Soils Impacted by Petroleum. Technology Feature. pp.29 – 32.

Ojo, O.A., 2006. Petroleum-Hydrocarbon Utilization by Native Bacterial Population from A waste Water Canal South West Nigeria. African Journal of Biotechnology. Vol. 5, pp.333-337.

Okoh, A.I., 2003. Biodegradation of Bonny Light Crude Oil in Soil Microcosm by Some Bacterial Strains Isolated from Crude Oil Flow Stations Saver Pits in Nigeria. African. Journal of Biotechnology. Vol. 2, pp.104 – 108.

Pepi, M., Minacci, A., Cello, F.D., Baldi, D., and Fani, R., 2003. Long-term Analysis of Diesel Fuel Consumption in a Co-Culture of *Acinetobacter venetianus*, *Pseudomonas putida* and *Alcaligenes faecalis*. Kluwer Academic Publishers. Antonie Van Leeuwenhoek. Vol. 83, pp.3 – 9.

Philips, U.A. and Traxler, R.W., 1963. Microbial Degradation of Asphalt Apple. Microbiol., Vol. 11, pp.235-238.

Phillips, G.J.M., and Stewart, J.E., 1974. Effect of Four Dispersants on Biodegradation and Growth of Bacteria on Crude Oil. American Society for Microbiology. Applied Microbiology. Oct. pp.547-552.

Phillips, C., 2003. Oil and Environment. Crude Energy. Teaching Guide. Oil and the Environment. Technology Advanced, pp. 1-4.

Pineda-Flores, G. and Mesta-Howard, A.M., 2001. Petroleum Asphaltenes: Generated Problematic and Possible Biodegradation Mechanisms. Microbiologia. Review Article. Vol. 43, pp.143 – 150.

Plaza, G.A., Zjawiony, I. and Banat, I.M., 2006. Use of Different Methods for Detection of Thermophilic Biosurfactant-Producing Bacteria from Hydrocarbon-Contaminated and Bioremediated Soils. J. of Petroleum Science and Engineering, Vol. 50, pp.71-77.

Roling, W.F.M., Milner, M.G., Jones, D.M., Lee, K., Daniel, F., Swannell, R.J.P. and Head, I.M., 2002. Robust Hydrocarbon Degredation and Dynamics of Bacterial Communities During Nutrient-Enhanced Oil Spill Bioremediation. Applied and Environmental Microbiology. American Society for Microbiology. Vol. 68, pp.5537-5548.

Rontani, J.F., Bonin, P. and Volkman, J.K., 1999. Production of Wax Esters During Aerobic Growth of Marine Bacteria on Isoprenoid Compounds. American Society for Microbiology. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 65, pp.221-230.

Sarma, P.M., Bhattacharya, D., Krishnan, S. and Lai, B., 2004. Assessment of Intra-Species Diversity Among Strains of *Acinetobacter baumannii* Isolated from Sites Contaminated with Petroleum Hydrocarbons. Can. J. Microbiol. Vol. 50, pp. 405 –414.

Stavanger and Edinburgh, 1999. Project 2.3: Natural Degradation and Estimated Recovery Time – Scales. Ukooa Drill Cuttings Initiative Research and Development Programme. Environment and Resource Technology. Rogaland Research. pp. 1 – 105.

Teschner, M. and Wehner, H., 1985. Chromatographic Investigation as on Biodegraded Crude Oils. Chromatographia. Vol. 20, pp. 407-416.

Wilson, J.J., Hatcher, J.F. and Goudey, J.S., 2002. Exotoxicological Endpoints for Contaminated Site Remedation. Hydroqual Laboratories Ltd, Calgary. Ann 1st Super Sanita. Vol. 38, pp. 143–147. Alberta, Canada.

Xu, Y., 2001. Biodegradation of High Concentrations of Crude Oil in Microcosms. A thesis of M.Sc. Department of Civil and Environmental Engineering. College of Engineering. University of Cincinnati. China. pp. 1-207.

Zhu, X., Venosa, A.D., Suidan, M.T. and Lee, K., 2004. Guidelines for the Bioremedation of Oil–Contaminated Salt Marshes. National Risk Management Research Laboratory. Office of Research and Development U. S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Vol. 68, pp. 1-57.