



نهمین کنگره ملی مهندسی شیمی ایران

دانشگاه علم و صنعت ایران  
۳-۵ آذر ماه ۱۳۸۳

## ارزیابی عملکرد باکتریهای جداسازی شده از مخازن ذخیره در مقابله با مشکل رسوبگذاری نفت خام

علی مشرف رضوی\*، رضا روستاآزاد<sup>۱</sup>

۱. دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف

[alimr1352@yahoo.com](mailto:alimr1352@yahoo.com)

### چکیده

۳ گونه باکتریایی از مخازن ذخیره نفت خام پالایشگاه تهران جهت رسوب زدایی بیوتکنولوژیک جداسازی گردید و عملکرد آنها با ۲ باکتری موجود در کلکسیون میکروبی برای رسوب زدایی مقایسه گردید. ۲ گونه از باکتریهای جداسازی شده با تولید بیوسورفکتانت و پایین آوردن شدید کشش سطحی، نفت خام را تا حد میکروامولسیون در فاز آبی بصورت مخلوط در آورد. همچنین ۳ گونه از باکتری ها با مصرف قیر بعنوان ماده غذایی آنرا بصورت قطعات ریز در فاز آبی در آوردند. این مطالعه نشان داد که نه تنها مقدار بلکه نوع مواد فعال سطحی تولید شده توسط میکروارگانیسمها متفاوت است. در بعضی موارد مقدار مختصری از مواد فعال سطحی تولید شده، منبع کربن موجود را در دسترس میکروب قرار داده و از رشد آن پشتیبانی می نماید. در بعضی از موارد نیز حتی مواد فعال سطحی زیاد تولید شده بر روی منبع کربن بی تاثیر میباشند. در اینگونه موارد تحت تاثیر مکانیزم کنترل پس خور، مقدار معتناهی مواد فعال سطحی می تواند تولید گردد.

**کلمات کلیدی:** باکتری، بیوسورفکتانت، رسوب زدایی، نفت خام.

## مقدمه

مشکل رسوبات نفت خام که از دیر باز دامنگیر صنعت نفت بوده است هر ساله هزینه های هنگفتی را بر این صنعت وارد مینماید. این مشکل که در دهانه چاه های نفت، خطوط لوله انتقال نفت خام و مخازن ذخیره و نیز در تجهیزات پالایشگاهی خود را نشان می دهد، علاوه بر کاهش بازده در تمام مراحل فوق سالانه چندین میلیارد دلار را صرف پاکسازی این رسوبات در دنیا مینماید.

این مشکل نه تنها در نفت خام سنگین بلکه در نفت خام سبک و حتی در میعانات گازی نیز ممکن است دیده شود [۱]. بنابراین شناخت این پدیده و آشنایی با روشهای مقابله با آن از اهمیت ویژه ای برخوردار است. در نفت خام طیف گسترده ای از ترکیبات سبک تا سنگین وجود دارد. در دما و فشار بالای مخزن ترکیبات سنگین در تعادل ترمودینامیکی با دیگر اجزا بصورت محلول هستند و بخصوص گاز محلول در نفت به پایداری این ترکیبات سنگین در محلول کمک میکند. پس از استخراج نفت و تغییر دما و فشار و به تبع آن جداسازی گازهای همراه نفت، تعادل ترمودینامیکی اجزای نفت خام بهم خورده و ترکیبات سنگین تر شروع به رسوب گذاری میکنند [5].

روش های سنتی که در مقابله با مشکل رسوبگذاری استفاده میشود شامل روش های شیمیایی، حرارتی، مکانیکی و یا ترکیبی از آنها میباشد. بدلیل هزینه بالا و بازده پایین این روشها، استفاده از روش های جدیدتر مد نظر قرار گرفته و در این راستا روشهای بیوتکنولوژیکی، هم بعنوان روش جایگزین و هم به همراه روشهای سنتی مطرح گردیده اند. مکانیزم عمل این روشها عمدتاً به دو صورت تخریب (Degradation) و پراکندگی (Dispersion) می باشد [2].

در مکانیزم تخریب، باکتری ها ترکیبات سنگین را به انواع هیدروکربن های سبکتر شکسته و نیز با تولید انواع حلالهای آلی همچون الکل ها باعث انحلال رسوبات و یا پایداری آنها می شوند. در مکانیزم پراکندگی رشد باکتری ها در محیط باعث تولید بیوسورفکتانت و در نتیجه نرم شدن، جدا شدن و پراکندگی رسوبات میشوند. رشد باکتری ها در فاز آبی صورت میگیرد و بنابراین باکتری هایی که از نفت بعنوان ماده غذایی استفاده می کنند تنها در سطح تماس دو فاز میتوانند رشد کنند. به همین دلیل این باکتریها بطور طبیعی برای اینکه ماده غذایی بیشتری را در دسترس خود قرار دهند با تولید بیوسورفکتانت باعث افزایش سطح تماس دو فاز میگرددند. این ترکیبات کشش سطحی را در سطح تماس بین دو فاز کاهش داده و باعث ایجاد امولسیون دو فازی میگرددند [3]. با ریز تر شدن قطرات نفت در فاز آبی سطح بیشتری از نفت در اختیار میکرو ارگانیزم قرار میگیرد.

در روش مقابله با رسوبات نفتی به روش بیوتکنولوژیک، عملکرد سوش میکروبی نقش عمده ای بر عهده دارد. به همین دلیل در این مطالعه منابع مختلفی جهت بدست آوردن سوش میکروبی مناسب جستجو گردید. در این جستجو ویژگی تعیین کننده قابلیت رشد میکروارگانیزم بر روی نفت خام و تولید بیو سورفکتانت مناسب و به میزان کافی بود.

## مواد و روشها

جداسازی سویه مناسب از رسوبات کف مخازن ذخیره نفت خام پالایشگاه تهران صورت گرفت. در ابتدا کلیه میکروبهای موجود در نمونه های رسوب در محیط کشت آگار مغذی (Nutrient Agar) تکثیر شدند. سپس مخلوط میکروبی به دست آمده در محیط اختصاصی کشت داده شد و تعداد محدودی از باکتریها جدا شدند. مواد موجود در محیط کشت اختصاصی مورد نظر که تنها منبع کربن و انرژی موجود در آن نفت خام میباشد در جدول ۱ آمده است.

باکتریهایی که در محیط اختصاصی رشد کردند توسط محیط مغذی (Nutrient Broth) تقویت شده و سپس خالص سازی به روش کشت خطی انجام شد.

علاوه بر سوشهای جداسازی شده، از یک سوش کلکسیون میکروبی آلمان (DSMZ5366) و یک سوش کلکسیون میکروبی مرکز تحقیقات مهندسی بیوشیمی و کنترلر محیط زیست دانشگاه صنعتی شریف (BBRC9012) استفاده گردید.

برای مقایسه عملکرد هضم رسوب، باکتریها در دو آزمایش مختلف در فلاسک گردان حاوی محیط کشت ارزیابی در ۱۶۰ rpm و ۴۵ °C کشت داده شدند. محیط کشت ارزیابی حاوی ترکیبات مندرج در جدول ۱ و مقدار ۲۰ g/l گلوکز و عاری از آگار بود. علاوه بر این مقادیر مشخص و توزین شده ای از نفت خام و یا قیر به آن اضافه گردید. نتیجه آزمایشات بصورت اندازه گیری تغییرات کشش سطحی فاز آبی و قدرت امولسیون سازی (Emulsion Activity, EA) و همچنین مشاهده ظاهری نحوه انتشار (Dispersion) دو فاز در یکدیگر حاصل شد.

جدول ۱- ترکیب محیط کشت جامد اختصاصی جهت جداسازی

جزء	مقدار	واحد
KCl	۰.۵	g/l
MgSO <sub>4</sub>	۱.۰	g/l
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	۱.۰	g/l
FeCl <sub>3</sub>	Trace	-
FeSO <sub>4</sub>	۰.۰۱	g/l
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	۲.۰	g/l
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	۱.۰	g/l
CaCl <sub>2</sub>	۰.۰۲	g/l
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	۰.۲۱	g/l
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	۰.۰۹	g/l
NaNO <sub>3</sub>	۰.۲۵	g/l
NH <sub>4</sub> Cl	۰.۲۵	g/l
Trace element sol.	۱.۰	ml/l
Crude oil	۱۰۰	ml/l
agar agar	۱۵	g/l
Yeast extract	۱.۵	g/l

برای اندازه گیری قدرت امولسیون سازی، EA، حجم مساوی از فاز آبی مورد آزمایش و فاز آلی هگزادکان به مدت ۳ دقیقه در داخل لوله آزمایش ریخته و ورتکس (vortex) گردید. پس از ۲۴ ساعت نسبت حجم فاز امولسیون باقیمانده رویی به حجم کل محلول اندازه گیری شد. بزرگ بودن این عدد نشان دهنده تمایل دوفاز به ایجاد امولسیون در نتیجه تولید بیوسورفکتانت و کاهش کشش سطحی می باشد [4].

## نتایج و بحث

از رسوب مخازن ذخیره نفت خام ۳ گونه باکتریایی جداسازی گردید که دو گونه میله ای (باسیل) و یک گونه میله ای کوتاه (کوکوباسیل) بود. باکتریهای میله ای A11 و A12 و باکتری میله ای کوتاه A41 نامگذاری گردیدند.

۳ باکتری جدا شده و ۲ باکتری کلکسیون میکروبی مورد ارزیابی قرار گرفتند. در محیط کشت ارزیابی حاوی نفت خام بعد از ۲۴ ساعت باکتریهای A11 و A12 به ترتیب نفت را بطور کامل و یکنواخت در فاز آبی منتشر نمودند. در نمونه های مربوط به باکتریهای DSMZ5366 و BBRC9012 و A41 نیز قطرات ریز نفت در آب مشاهده گردید ولی شدت انتشار کمتر از دو باکتری قبلی بود. این در حالیست که خلاف انتظار اولیه ضریب EA دو باکتری A11 و A12 کمتر از ۳ باکتری دیگر بود. مشاهده میکروسکوپی فاز آبی در ۵ نمونه نشان داد که در نمونه های A11 و A12 قطرات نفت در نمونه فاز آبی ته نشسته تا قطر میکرومتر وجود داشت و لذا فاز شفاف و به ظاهر خالص آبی در واقع یک میکروامولسیون بود. وجود این قطرات میکرونی مبین آن است که مواد فعال سطحی تولید شده در این سیستم عملاً درگیر فاز نفتی بوده و لذا نمی توانند در اندرکنش با هگزادکان وارد شوند. بنابراین توسعه میکروامولسیون در این حالت مانع از اندازه گیری صحیح (EA) در این آزمایش شد.

در محیط کشت ارزیابی حاوی قیر مشاهدات ظاهری نشان داد که باکتریهای DSMZ5366 و BBRC9012 و A41 رشد زیادی داشته و قیر را به قطعات ریزی در شکل و اندازه دانه های برنج تقسیم نمودند. در نمونه های A11 و A12 قیر دست نخورده مانده بود ولی روی فاز آبی کف قابل توجهی تولید شده بود. میزان کاهش وزن قیر و فاکتور EA در این آزمون در جدول ۲ آمده است. این مشاهدات به وضوح نشان میدهند که نه تنها مقدار بلکه نوع مواد فعال سطحی تولید شده توسط میکروارگانیزمها متفاوت است.

جدول ۲- کاهش قیر و فاکتور EA در محیط کشت ارزیابی حاوی قیر

باکتری	در صد کاهش	EA
DSMZ5366	٪۱۵،۶۵	۰
BBRC9012	٪۱۶،۳۰	٪۲،۵
A41	٪۱۲،۱۰	٪۳
A11	٪۰	٪۵۳،۸
A12	٪۰	٪۲۱

به نظر میرسد که باکتریهای DSMZ5366 و BBRC901 و A41 مواد فعال سطحی تولید میکنند که قیر را هضم نموده و در دسترس آنها قرار میدهد. بنابراین با ترشح مقدار مختصری از سورفکتانت رشد قابل ملاحظه ای از این باکتریها بر روی قیر دیده می شود. مواد فعال سطحی تولید شده توسط باکتریهای A11 و A12 بر روی قیر بی تاثیر میباشند. در نتیجه این باکتریها تحت تاثیر مکانیزم کنترل پس خور، مقدار معتناهی مواد فعال سطحی تولید میکنند ولی در نهایت رشد قابل توجهی از آنان دیده نمی شود.

## تقدیر و تشکر

از مدیریت محترم پالایشگاه تهران جهت تدارک رسوبات نفتی مخازن ذخیره نفت خام تشکر به عمل می آید.

## منابع و مراجع

1. Brill,j.p.; Volk,M; "Paraffin Deposition Prediction in Multiphase Flow Lines and Well Bores "; April 28;1999; Advisory Board Meeting.
2. Lazar, I.; Voico, A.; Nicolescu, C.; Mucenica, D.; Dobrota, S.; Petrisor, I. G.; Stefanescu, M.; Sandulescu, L.; "The Use Of Naturally Occurring Selectively Isolated Bacteria for Inhibiting Paraffin Deposition"; J. of Petroleum Science and Engineering; Vol. 22; pp. 161-169; 1999.
3. Geirgiou, G.; Lin, S.; Sharma, M. M.; "Surface Active Compounds from Microorganisms"; Bio/Tech; Vol. 10, pp. 60-65; 1992.
4. Nazina, D. T., Sokolova, N. Sh., A. A.; Grigor'yan Y. F., Xue, S. S., Belyaev, M. Ivanov, V., "Production of Oil-Releasing Compounds by Microorganisms from the Daqing Oil Field, China" Microbiology Vol.72 No.2, pp.173-178, 2003.

۵. پایتختی اسکویی، سید جواد، "مقابله با مشکل رسوب گذاری پارافین نفت خام با استفاده از فن آوری زیستی"; پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف، ۱۳۸۱

۶. مشرف رضوی، علی، "بررسی نحوه تاثیر رشد میکروبی بر روی خواص فیزیکی شیمیایی نفت خام"; پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف، ۱۳۸۳