نهمین کنگره ملی مهندسی شیمی ایران

دانشگاه علم و صنعت ایران
۳-۵ آذر ماه ۱۳۸۳

تعیین شرایط بهینه تولید بیوسورفکتانت ها به منظور استفاده در تکنولوژی ازدیادبرداشت میکروبی نفت

منوچهروثوقی[۱] ،ایران عالم زاده[۱] ،احسان کارشکی[۲]*
۱. عضو هیات علمی دانشکده مهندسی شیمی ونفت دانشگاه صنعتی شریف
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی شیمی-بیوتکنولوژی)
vossoughi@sharif.edu
,alemzadeh@sharif.edu
kareshki@mehr.sharif.edu

چکیده

یکی ازروشهای ثالثیه ازدیادبرداشت نفت،روش میکروبی است.چندین مکانیزم برای این فرایند پیشنهادشده است که شامل مکانیزم های تولید گاز ، تولید اسید ، تولیدبیوسورفکتانت ، تولید بیوپلیمر و انسداد انتخابی می باشد.یکی از مهمترین این مکانیزم ها،تولید بیوسورفکتانت است.دراین مطالعه به منظور بررسی اثرات چهارپارامتر(منبع کربن،غلظت نمک،منبع نیتروژن،منبع فسفر)که می توانند تولیدبیوسورفکتانت راتحت تاثیر قراردهند یک سری ازمایشات براساس روش آماری تاگوچی طراحی شده است.نتایج نشان می دهد که منبع کربن دارای بیشترین تاثیردرتولید بیوسورفکتانت است.

کلمات کلیدی: ازدیادبراشت میکروبی،بیوسورفکتانت،روش تاگوچی

مقدمه

پس ازاستخراج نفت به روش های اولیه وثانویه هنوزمقدارنسبتا زیادی ازنفت درخلل وفرج موجوددرسنگ سازندمخزن باقی می ماند.مشخص گردیده است که به وسیله روشهای رایج ازدیادبرداشت نهایتا چیزی بین ۳۰تا۵۰درصد ازنفت اولیه ازمخزن خارج می گردد[۱].یکی ازروشهای ثالثیه ازدیادنفت که اخیرابه شدت موردتوجه قرارگرفته است روش ازدیادبرداشت میکروبی می باشد. این روش دارای قدمتی درحدودنیم قرن می باشد که پیشگامان اولیه به کارگیری آن کشورهای اروپای شرقی بوده اند اما هم اکنون این روش به صورت صنعتی دربرخی از کشورهای دیگر نیزمورداستفاده قرار می گیرد[۲]

چندین مکانیزم گوناگون برای فرایند ازدیادبرداشت میکروبی پیشنهاد شده است که مهمترین آنها عبارتند از:تولید گاز،تولید اسید،تولید بیوسورفکتانت،تولید بیوپلیمر ، انسدادانتخابی،شکسته شدن هیدروکربن های سنگین وتولید هیدروکربن های سبکترو...[۳و۲].یکی از مهمترین مکانیزم ها تولید بیوسورفکتانت ها می باشد.بیوسورفکتانت ها باعث کاهش کشش بین فازی نفت وسنگ سازند می شوند.ازطرفی دیگراین موادباایجاد حالت تعلیق درنفت باعث سهولت جدایش فیلم نفت از سنگ می شوند[۱و۴].به طورکلی سورفکتانت ها ازیک قسمت آب دوست تشکیل شده است که این قسمت از جنس اسید آمینه ،پپتید ، آنیون یا کاتیون ،مونو ، دی و یا پلی ساکارید می باشد.قسمت دیگر این ترکیبات عموما از ترکیبات آب گریزی همانند اسید چرب اشباع و غیراشباع یا هیدروکسیله ساخته شده است بیوسورفکتانت ها می توانند به وسیله میکروارگانیزم های تجزیه کننده هیدروکربن ها به صورت خودبه خود وپیوسته تولید شوند و درمحیط رهاگردند و عملکرد آنها نیز غالبا تابعی از نوع هیدروکربن جذب شده می باشد.علاوه بر این بیوسورفکتانت ها براثررشد میکروارگانیزم ها در محلول های دیگری مانند گلوکز،ساکاروز،گلیسرول و یا اتانول تولید می شوند[۵و۶].

سه استراتژی کلی برای استفاده از بیوسورفکتانت ها در فرایند ازدیادبرداشت میکروبی وجوددارد.این سه استراتژی عبارتند از:

۱-تولید بیوسورفکتانت ها در فرمانتورها و درشرایط کنترل شده و سپس تزریق این مواد درحین فرایند سیلاب زنی به داخل مخزن نفت.این روش تحت عنوان روش خارج ازمحل شناخته می شود و نسبتا گران است.

۲-تزریق مواد مغذی به مخزن وتحریک میکروارگانیزم های موجوددرمخزن.البته دراین روش میکروارگانیزم های موجوددرمخزن حتما بایدقادربه تولید بیوسورفکتانت باشند.

۳-تزریق موادمغذی و همچنین میکروارگانیزم ها به داخل مخزن.دراین روش از میکروارگانیزم های جداشده از نواحی مختلف که توانایی تولید بیوسورفکتانت ورقابت بامیکروارگانیزم های مقیم در مخزن رادارند استفاده می شود.روش های دوم و سوم به فرایندهای درجای ازدیادبرداشت میکروبی معروف هستند[۷].معمولا عوامل متعددی در تولید بیوسورفکتانت درشرایط مخزن تاثیرگذارهستند از جمله: اکسیژن،دما،غلظت نمک،PH،وجود مواد مغذی از جمله منبع کربن،نیتروژن و فسفات و.... دراین تحقیق اثرات تعدادی از این عوامل در تولیدبیوسورفکتانت ها موردبررسی قرارگرفته است.

مواد و روشها

ازیک گونه باکتری لیکنی فورمیس موجوددر مرکز تحقیقات بیوشیمی و محیط زیست دانشگاه صنعتی شریف استفاده شده است.این باکتری بی هوازی اختیاری وگرم منفی می باشد.نفت مورداستفاده، از پالایشگاه تهران تهیه گردیده است.تمام مواد مورداستفاده شامل نوترینت براث،نیترات آمونیوم،فسفات پتاسیم،گلوگزوسایر مواد از محصولات شرکت مرک بوده اند..ملاس مورد استفاده نیز حاوی ۵۵ درصد شکر بوده است.

به منظور بررسی اثر عوامل گوناگون موثربرتولید بیوسورفکتانت از روش آماری تاگوچی ،که روش مناسب وسیستماتیک برای بررسی همزمان اثرچندین فاکتوربریک پارامتر می باشد،استفاده شده است.دراین روش از آرایه های متعامد برای طراحی آزمایشات به منظور بررسی تعدادزیادی فاکتور با تعداد کمی آزمایش استفاده می شود.بعد ازانتخاب فاکتورهای مناسب وسطوح آنها،آرایه متعامد مناسب انتخاب می گردد[۸].

دراین آزمایش اثر فاکتورهای زیر برمیزان تولید سورفکتانت موردبررسی قرارگرفته است :

۱- منبع کربن

۲- غلظت منبع نیتروژن در فاز آبی

۳- غلظت منبع فسفات در فاز آبی

۴- غلظت نمک در فاز آبی

جدول ۱ فاکتورهای موردبررسی وسطوح آنها رانشان می دهد.همچنین جدول های ۲ و۳ آرایه L_9 مورد استفاده دراین آزمایش وترکیب محیط کشت در هرآزمایش را نشان می دهند.

کشش سطحی در شروع و انتهای آزمایش به وسیله یک تنسیومتر مدل k8 وساخت شرکت kruss آلمان اندازه گیری شد.

جدول۱- فاکتورها وسطوح سه گانه به کاررفته درآزمایش ها

فاکتور	منبع کربن	NH_4NO_3%	KH_2PO_4%	NaCl%
سطح اول	نفت	۰/۳	۰	۲
سطح دوم	ملاس(٪۳)	۰/۱۵	۰/۱	۵
سطح سوم	گلوکز(٪۱/۷)	۰	۰/۲	۸

جدول۲-آرایه متعامد L_9 تاگوچی

شماره آزمایش	فاکتوراول	فاکتوردوم	فاکتورسوم	فاکتورچهارم
۱	سطح اول	سطح اول	سطح اول	سطح اول
۲	سطح اول	سطح دوم	سطح دوم	سطح دوم
۳	سطح اول	سطح سوم	سطح سوم	سطح سوم
۴	سطح دوم	سطح اول	سطح دوم	سطح سوم
۵	سطح دوم	سطح دوم	سطح سوم	سطح اول
۶	سطح دوم	سطح سوم	سطح اول	سطح دوم
۷	سطح سوم	سطح اول	سطح سوم	سطح دوم
۸	سطح سوم	سطح دوم	سطح اول	سطح سوم
۹	سطح سوم	سطح سوم	سطح دوم	سطح اول

جدول۳- طراحی آزمایش ها براساس آرایه متعامد L_9 تاگوچی

شماره آزمایش	منبع کربن	NH_4NO_3%	KH_2PO_4%	NaCl%
۱	نفت	۰/۳	۰	۲
۲	نفت	۰/۱۵	۰/۱	۵
۳	نفت	۰	۰/۲	۸
۴	ملاس	۰/۳	۰/۱	۸
۵	ملاس	۰/۱۵	۰/۲	۲
۶	ملاس	۰	۰	۵
۷	گلوکز	۰/۳	۰/۲	۵
۸	گلوکز	۰/۱۵	۰	۸
۹	گلوکز	۰	۰/۱	۲

روش انجام آزمایش

برای انجام آزمایشات از ۹ ارلن دردار با حجم ۲۵۰سی سی استفاده شده است.علت انتخاب ارلن های دردار نزدیک کردن شرایط به شرایط بی هوازی می باشد.درهریک از ارلن ها براساس جدول تاگوچی ۲۰۰ سی سی محیط کشت افزوده شد.پس از آن به هریک از ارلن ها ۱٪ محلول مواد اندک که ترکیب آنها درجدول ۴ آمده است اضافه گردید.درنهایت به هریک از ارلن ها ۵۰ سی سی نفت خام اضافه شد.

پس از اتوکلاو کردن ارلن ها ،عمل تلقیح میکروبی باکتری باسیلوس لیکنی فورمیس از پیش کشت نوترینت براث به صورت استریل انجام گردید وارلن هابرای مدت چهارروز در شیکر انکوباتور با دمای ۴۵ درجه سانتیگراد ودورrpm ۹۰ قرار داده شدند.بعدازاین مدت پارامترهای موردنظر اندازه گیری می شوند.

جدول۴-ترکیب محلول مواداندک [۹]

مواد	مقدار(گرم در لیتر)
EDTA	۱/۰
$MnSO_4$	۳/۰
$FeSO_4$	۰/۱
$CaCl_2$	۰/۱
$CoCl_2$	۰/۱
$ZnSO_4$	۰/۱
CuSo4	۰/۰۱
$AlK(SO_4)_2$	۰/۰۱
H_3BO_3	۰/۰۱
Na_2MoO_4	۰/۰۱

بحث و نتیجه گیری

دراین آزمایش درصد کاهش کشش سطحی به عنوان اصلی ترین پاسخ مورد بررسی قرارگرفت.جدول ۵ میزان کشش سطحی ابتدایی ودرصد کاهش آن را در انتهای آزمایش نشان می دهد.

جدول۵- نتایج مربوط به کاهش کشش سطحی

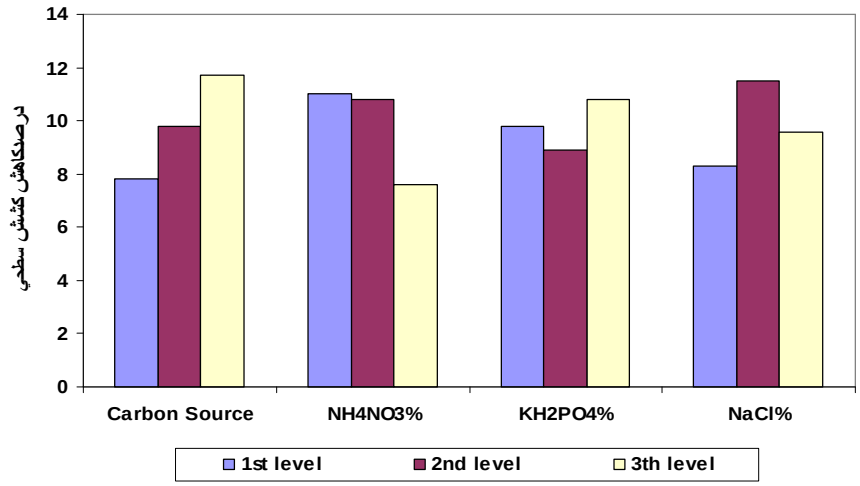
شماره آزمایش	منبع کربن	NH_4NO_3%	KH_2PO_4%	NaCl%	کشش سطحی ابتدایی(dyne/cm)	درصدکاهش کشش سطحی
۱	نفت	۰/۳	۰	۲	۵۳/۵	۷/۵
۲	نفت	۰/۱۵	۰/۱	۵	۵۰/۲	۹/۶
۳	نفت	۰	۰/۲	۸	۵۳/۵	۶/۴
۴	ملاس	۰/۳	۰/۱	۸	۵۰/۶	۹/۹
۵	ملاس	۰/۱۵	۰/۲	۲	۴۸/۴	۱۰/۳
۶	ملاس	۰	۰	۵	۵۶	۹/۳
۷	گلوکز	۰/۳	۰/۲	۵	۵۴/۴	۱۵/۶
۸	گلوکز	۰/۱۵	۰	۸	۵۷/۳	۱۲/۴
۹	گلوکز	۰	۰/۱	۲	۵۳/۸	۷/۲

به منظور بررسی هر یک از فاکتور ها و چگونگی اثر گذاری این فاکتور ها بر روی تغییرات کششی سطحی، اثر عمده هر یک از عوامل چهارگانه در سطوح مختلف آنها محاسبه و در جدول۶ آمده است.

جدول۶- مجموع و میانگین هر یک از فاکتورها

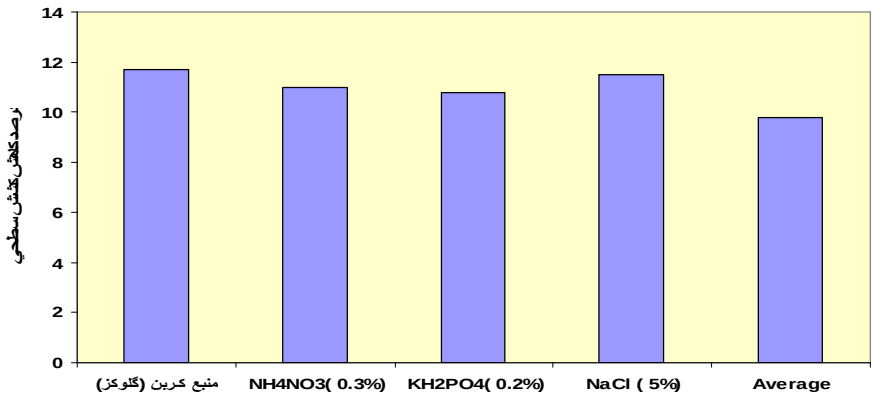
فاکتور	منبع کربن		NH_4NO_3%		KH_2PO_4%		NaCl%	
	مجموع	متوسط	مجموع	متوسط	مجموع	متوسط	مجموع	متوسط
سطح اول	۲۳/۵	۷/۸	۳۳	۱۱	۲۹/۲	۹/۷	۲۵	۸/۳
سطح دوم	۲۹/۵	۹/۸	۳۲/۳	۱۰/۸	۲۶/۷	۸/۹	۳۴/۵	۱۱/۵
سطح سوم	۳۵/۲	۱۱/۷	۲۲/۹	۷/۶	۳۲/۳	۱۰/۸	۲۸/۷	۹/۶

نمودارمیله ای مربوط به نتایج موجود درجدول ۶ در شکل ۱ نمایش داده شده است.



شکل ۱- نمودار میله ای اثر سطوح فاکتورهای مختلف برکاهش کشش سطحی

شکل۲ شرایط بهینه رابرای کاهش کشش سطحی نشان می دهد.



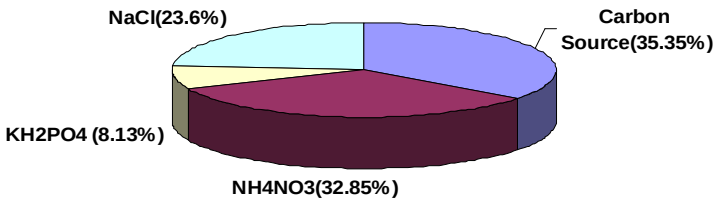
شکل۲- سطوح بهینه برای کاهش کشش سطحی

به منظور بررسی درصد سهم هر یک از فاکتورها در کاهش کشش سطحی از تحلیل واریانس استفاده گردیده است. جدول۷ این تحلیل را نشان می دهد

.جدول۷- آنالیزواریانس در مورد نتایج در مورد کاهش کشش سطحی

فاکتور	درجه آزادی	مجموع مربعات	مربع میانگین	سهم
منبع کربن	۲	۲۲/۸۲	۴۱/۱۱	۳۵/۳۵
NH_4NO_3%	۲	۲۱/۲۱	۱۰/۶۱	۳۲/۸۵
KH_2PO_4%	۲	۵/۲۵	۲/۶۳	۸/۱۳
NaCl%	۲	۱۵/۲۹	۷/۶۵	۲۳/۶۸
مجموع	۸	۶۴/۳۳	۳۲/۳	۱۰۰

شکل ۳ درصد سهم هر یک از فاکتور ها رادر کاهش کشش سطحی نشان می دهد.



شکل۳- درصد سهم هر یک از فاکتورها در کاهش کشش سطحی

بحث ونتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده می توان به نتایج زیر رسید:

۱- با توجه به نتایج منبع کربن مهمترین فاکتور در تولید بیوسورفکتانت ها و کاهش کشش سطحی می باشد. با توجه به شکل۱ ملاحظه می گردد که بیشترین میزان تولیدبیوسورفکتانت درحالتی رخ داده است که رشد بر روی گلوکز صورت گرفته است که با توجه به راحتی هضم و تخمیر این ماده نسبت به سایر کربوهیدرات ها و هیدروکربن ها این موضوع قابل پیش بینی بود.

در موردرشدبرروی ملاس میزان کشش سطحی تقریبا در هر سه آزمایش نزدیک به یکدیگر می باشد. میزان تولید بیوسورفکتانتها درحالتی که تنها منبع کربن نفت بوده است، با توجه به اینکه میزان رشد برروی نفت ضعیف تر از رشد بر روی گلوکزوملاس می باشدقابل توجه می باشد.

به طور کلی می توان گفت که افزودن یک کربوهیدرات در فرآیند ازدیادبرداشت میکروبی ضروری به نظر می رسد.از میان کربوهیدرات های موجود گلوکز احتمالا بهترین انتخاب می باشد،اما به علت اینکه کربوهیدرات باید درمقادیرزیادی تزریق گردد،استفاده از گلوکز غیراقتصادی وغیرمنطقی خواهد بود.بنابراین به عنوان یک جایگزین مناسب از ملاس که علاوه بردارابودن ترکیبات قندی ،حاوی ترکیبات نیتروژنی وسایر مواد می باشد استفاده می گردد.

۲-با دقت در نتایج می توان به این نتیجه رسید که افزودن نیتروژن تاثیری فوق العاده زیادی در رشد سلولی و کاهش کشش سطحی دارد به طوریکه درصد اهمیت نیتروژون هم سطح منبع کربن است. علت این امر این است که در ترکیب اکثر سورفکتانت ها نیتروژون به عنوان یک ترکیب اصلی وجود دارد . البته اهمیت افزودن منبع نیتروژون در مورد رشد بر روی ملاس اندکی کم تر می باشد که این امر را می توان به علت وجود برخی ترکیبات نیتروژنی در ملاس دانست . اما اهمیت افزودن ترکیبات نیتروژنی به خوبی در موردی که منبع کربن گلوکز و یا نفت می باشد مشخص می باشد.درفرایندهای ازدیادبرداشت میکروبی استفاده از ترکیبات نیتراتی شدیدا توصیه می گردد.زیرا این ترکیبات را می توان جایگزین خوبی برای اکسیژن به عنوان اکسید کننده در شرایط بی هوازی مخزن دانست.علاوه براین ثابت گردیده است که افزودن ترکیبات نیتراتی مانع رشد باکتری های احیا کننده سولفات ،که باعث ترشی نفت وخوردگی تجهیزات می شوند و ازطرفی مانع رشد مناسب باکتری های تزریقی می شوند،می باشد[۱].

۳-منبع فسفر دارای نقش کمتری نسبت به سایر فاکتورها در تولیدبیو سورفکتانت و کاهش کشش سطحی می باشد. البته این نکته قابل توجه است که وجود مقداری ترکیبات فسفری در محیط کشت به منظور رشد سلولی کاملا ضروری می باشد زیرا در صورتی که میکروارگانیزم قادر به رشد مناسب نباشند ممکن است بسیاری از متابولیت های مناسب را تولید ننماید.

۴-غلظت نمک دارای نقش قابل توجهی در فرآیندهای ازدیاد برداشت میکروبی می باشد. به نظر می رسدمیزان بهینه نمک برای باکتری لیکنی فورمیس حدود۵ درصد میباشد. در عمل در فرایندهای ازدیادبرداشت میکروبی باتوجه به شوری بسیار بالای مخازن نفتی ،استفاده از باکتری های نمک دوست ضروری است.

تشکر وقدردانی

بدین وسیله از شرکت مهندسی و توسعه نفت که در تامین بخشی از هزینه انجام آزمایشات همکاری نموده اند وهمچنین از کارکنان مرکزتحقیقات مهندسی بیوشیمی ومحیط زیست دانشگاه صنعتی شریف قدردانی می شود.

منابع و مراجع

1. McInerney M.J,Han S.O,Maudgalya S,Moutakki H,Folmsbee M,Knapp R,Nagle D,Jackson B.E,Staudt M,Frye w," Development of more effective biosurfactant for enhanced oil recovery",University of Oklahoma, January 2003.

2. Grethe Kjeilen, *RF,"* MEOR (Microbial Enhanced Oil Recovery), Microbial Developments in the Oil Industry, Institute of Petroleum, Nov 21-22, 2000.

3. Bryant,R.S and Douglas,J,"Evaluation of Microbial Systems in Porous Media for EOR" SPE Paper 16284,1988.

4. Banat, I.M., Biosurfactant Production and Possible Uses in Microbial Enhanced Oil Recovery and Oil Pollution Remediation: A Review, Bioresource Technol., 1995, vol. 51, pp. 1–12.

5. Geirgiou G,Lin S,Sharma M.M,"Surface Active Compounds from Microorganisms",Bio/Tech,Vol.10,Pages 60-65,1992.

6. Guerra-Santos L,Kappeli O,Fiechter A,"Dependence of Pseudomonas Aeruginosa Continuous Culture Biosurfactant Production ON Nutritional and Environmental Factores",Appl.Microbial.Biotech,Vol.24,Pages 443-448,1986.

7. Banat I.M,Makkar R.s,Cameotra S.S,"Potential commercial applications of microbial surfactants",Appl Microbiol Biotechnol ,Vol.53,Pages 495-508,2000.

8. Ross Phillip J." Taguchi techniques for quality engineering", MCGraw-Hill, Second Edition ,1996.

9. Mcinerney," Biosurfactant and Enhanced Oil Recovery ",US Patent No .4522261 , 1985.