

بهینه سازی فرآیند فروشویی آلاینده های نفتی از خاک به کمک بیوسورفکتانت سوفورولپید

علیرضا حبیبی*، الهه کرمی رحیم آباد

گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

چکیده

در این تحقیق، سوفورولپید تولید شده توسط مخمر *کاندیدا کاتنولاتا* برای استخراج آلودگی های نفتی موجود در یک نمونه خاک آلوده به مواد نفتی در میادین نفتی غرب کشور (نفت شهر)، استفاده شد. غلظت بحرانی تشکیل مایسل برای بیوسورفکتانت تولیدی 250 mg L^{-1} تعیین شد. با توجه به نقش عوامل فعال ساز سطحی در افزایش انحلال پذیری هیدروکربن ها در محیط آبی، استفاده از بیوسورفکتانت در استخراج هیدروکربن ها از خاک موثر بود. اثر غلظت بیوسورفکتانت، دما و دور همزن بر بازده استخراج، در یک طراحی آزمایش به روش مرکب مرکزی و هر یک با ۵ سطح مورد بررسی قرار گرفت. برازش و تحلیل داده ها با استفاده از روش سطح پاسخ انجام شد و نتایج نشان داد که به ترتیب دور همزن، دما و غلظت بیوسورفکتانت بیشترین تاثیر را بازده استخراج دارند. با بهینه یابی شرایط عملیاتی، بیشینه بازده حذف مواد نفتی به میزان ۹۵/۵۱٪ در شرایط زیر حاصل شد: غلظت بیوسورفکتانت mg L^{-1} ۲۲۰، دمای $^{\circ}\text{C}$ ۵۵ و دور همزن ۴۰۰ rpm.

مشخصات مقاله

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۲۰ شهریور ۱۳۹۶

دریافت پس از اصلاح: ۷ دی ۱۳۹۶

پذیرش نهایی: ۲۹ بهمن ۱۳۹۶

کلمات کلیدی:

مواد فعال ساز سطحی

مخمر *کاندیدا کاتنولاتا*

روش سطح پاسخ

بهینه سازی

هیدروکربن های نفتی

* عهده دار مکاتبات

a.habibi@razi.ac.ir

حقوق ناشر محفوظ است.

۱- مقدمه

هرساله میلیون‌ها بشکه نفت خام در سراسر جهان مصرف می‌شود که این میزان مصرف خود افزایش نشر ترکیبات مختلف نفتی را به منابع آبی و خاکی محتمل می‌سازد. مهم-ترین دسته‌های شناخته شده از آلاینده نفتی شامل هیدروکربن-های اشباع، آروماتیک، رزین‌ها و آسفالتن هستند که ممکن است در مراحل مختلف استخراج، تولید و حمل و نقل به محیط زیست انتشار یابند. از ویژگی‌های این ترکیبات می‌توان به پایداری طولان مدت در محیط و جهش‌زایی ژنتیکی در سلول‌های زنده اشاره نمود [۱]. همچنین، حضور مواد نفتی در خاک ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آن را تحت تاثیر قرار می‌دهند و موجب کاهش حاصل خیزی خاک می‌شود [۱]. افزایش مشکلات آلودگی خاک، به عنوان یکی از مهم‌ترین عناصر تشکیل دهنده اکوسیستم، یک تهدید جهانی است که سلامت انسان، جانداران، و میکروارگانیسم‌های طبیعی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. از آنجایی که احیای خاک نقش بسزایی در حفظ محیط زیست و زندگی انسانی به عنوان منبع تامین محصولات کشاورزی دارد، استفاده از تکنولوژی‌های کارآمد در حذف آلاینده‌ها از خاک، بسیار مورد توجه هستند. زیست-پالایی^۱ خاک‌های آلوده به کمک میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌ها، قارچ‌ها، مخمرها، میکرو جلبک‌ها)، جزء تکنیک‌های موفق در این زمینه است، اما آنچه این فرآیند را با محدودیت مواجه می‌سازد، سرعت کند حذف مواد نفتی به دلیل محدودیت‌های انتقال جرمی و در نتیجه کاهش دسترسی سلول‌ها به این مواد آلاینده است [۲]. چرا که تمامی سیستم‌های آنزیمی میکروبی شرکت کننده در حذف مواد نفتی متصل به دیواره سلولی هستند و از این رو انحلال پذیری مواد آلاینده در فاز آبی، یک مرحله کنترل کننده در سرعت تجزیه‌زیستی محسوب می‌شود [۱]. به منظور کاهش زمان تجزیه‌زیستی هیدروکربن‌های نفتی از خاک، افزایش انحلال پذیری ترکیبات نفتی در فاز آبی با استفاده از عوامل فعال ساز سطحی و از طریق کاهش کشش-سطحی در فصل مشترک دوفاز آبی-آلی، پیشنهاد شده است. عوامل فعال ساز سطحی یا سورفکتانت‌ها^۲، ترکیباتی هستند که در ساختار خود هر دو گروه، آب دوست و آب گریز را دارا هستند (ترکیبات آمفی پاتیک). این ترکیبات بر اساس نوع بخش قطبی مولکولشان به دسته‌های آنیونی، کاتیونی، آمفوتریک و غیریونی تقسیم بندی می‌شوند. یکی از ویژگی‌های منحصر بفرد

سورفکتانت‌ها، تشکیل توده مایسل در غلظت بحرانی مایسل^۳ می‌باشد. این تجمع مایسلی که نتیجه برهم کنش‌های ضعیف واندروالسی و پیوند هیدروژنی انتهای آب گریز و آب دوست موجود در مولکول‌های سورفکتانت است، موجب می‌شود تا انتهای آب گریز به سمت داخل مایسل هدایت شود؛ در حالی که قسمت‌های آب دوست در معرض فاز آبی و در بخش بیرونی مایسل قرار گیرند. به این ترتیب، این مواد با تشکیل فیلم مولکولی و گسترش یافتن در سطح مشترک دو فاز آب-هیدروکربن، کشش سطحی را در سطح مشترک کاهش داده و باعث تحرک هیدروکربن‌ها برای وارد شدن به هسته‌ی مایسل می‌شوند. نتیجه کلی این فرایند افزایش امتزاج پذیری این ترکیبات آب گریز در فاز آبی است [۳].

سورفکتانت‌های صنعتی از مواد پتروشیمیایی و یا منابع تجدیدپذیر نظیر چربی‌های گیاهی، حیوانی و یا میکروارگانیسم‌ها مشتق می‌شوند. در بین سورفکتانت‌ها، انواع شیمیایی نظیر Triton X-100 و Tween-80 بازه بالایی را دارا هستند. اما سمیت آنها بر روی میکروارگانیسم‌های طبیعی خاک، کاهش میزان انحلال اکسیژن و همچنین تشکیل امولسیون‌هایی با ویسکوزیته‌ی بالا خصوصاً در مواردی که به غلظت بالای سورفکتانت نیاز است؛ موجب محدودیت استفاده از این ترکیبات شده است [۳]. اثر سمیت سورفکتانت‌های شیمیایی بر دیواره سلول‌های میکروبی بسته به میزان جذب-سطحی و نفوذ آنها به درون غشای سلولی اغلب از طریق دو مکانیسم زیر صورت می‌پذیرد: عکس‌العمل با لیپیدهای غشایی و یا فعل و انفعال با مولکول‌های پروتئینی که برای عملکرد سلول ضروری هستند [۴]. از این رو، بیوسورفکتانت‌ها با قابلیت تجزیه‌ی زیستی و میزان سمیت کمتر، بهترین انتخاب در پالایش خاک از آلاینده‌های آلی آب گریز هستند. مقاومت در دمای بالا و حفظ خاصیت امولسیون کنندگی در بازه گسترده-ای از شوری و pH از دیگر ویژگی‌های شناخته شده در بیوسورفکتانت‌ها است [۵]. اخیراً، استخراج مواد ارگانیک از یک نمونه خاک مرداب توسط حلال‌های آلی از جمله نرمال هگزان به انجام رسیده است [۶]. اما استفاده از بیوسورفکتانت باتوجه به نکاتی که ذکر شد از توجه ویژه‌ای در فرآیند فروشویی خاک به دلیل امکان استفاده مجدد از خاک پس از عملیات برخوردار است.

نکته قابل توجه آن است که تولید بیوسورفکتانت‌ها تنها در صورتی می‌تواند مقرون به صرفه باشد که بتوان هزینه‌ی تولید

¹ Bioremediation process² Surface active agents or Surfactants³ Critical micelle concentration (CMC)

محلول با استفاده از محلول اسید کلریدریک ۲ N بر روی مقدار ۵ تنظیم شد. پس از استریل نمودن محلول فوق، ۱۱ mL دیزل استریل به عنوان منبع تامین کننده کربن سلول‌های مخمر به ارلن‌مایر اضافه شد. استریل دیزل با استفاده از فیلتر سرسرنگی استریل با اندازه روزنه $0.22 \mu\text{m}$ انجام شد. ۱۰ mL از سلول‌های رشدیافته بر روی محیط کشت Malt Extract Broth به عنوان مایه تلقیح اضافه شد و انکوباسیون برای مدت ۶ روز در یک شیکرانکوباتور با دمای 30°C و دور چرخش ۱۸۰ rpm انجام شد. بعد از اتمام زمان انکوباسیون و به منظور جداسازی سلول‌های موجود در محلول از یک دستگاه سانتریفیوژ برای مدت ۳۰ min با $5000 \times g$ استفاده شد. جداسازی بیوسورفکتانت از مایع شفاف به دست آمده، به روش ترسیب و افزودن اسید کلریدریک ۲ N و کاهش pH تا مقدار ۲ و سپس افزودن دوبرابر حجم مایع، متانول حاصل شد [۷]. برای تکمیل عملیات ترسیب، سوسپانسیون حاصل برای مدت ۲۴ ساعت در یخچال در دمای 4°C قرار گرفت. بعد از این مدت، بیوسورفکتانت با عملیات سانتریفیوژ به مدت ۱۰ min با $12000 \times g$ جداسازی شد. در نهایت، بیوسورفکتانت جداسازی شده با قرار گرفتن در دمای 37°C در ۴۸ h خشک شد.

۲-۲- روش انجام آزمایش فروشویی خاک

خاک مورد استفاده در این مطالعه از منطقه‌ی میدین نفتی نفت‌شهر در استان کرمانشاه تهیه شد که در اثر نشت مواد نفتی به بستر رودخانه، آلوده شده بود. درصد هیدروکربن‌ها در این نمونه خاک $14/37\%$ بود. این نمونه خاک قبل از استفاده از یک نمونه غربال با اندازه روزنه ۱ mm عبور داده شد. تمامی آزمایش‌ها در یک تانک مکعبی (ابعاد cm $25 \times 12 \times 12$) مجهز به همزن مکانیکی صورت گرفت. در هر آزمایش، ۵۰۰ mL آب مقطر به داخل مخزن ریخته شد. پس از انحلال بیوسورفکتانت در آب و برای دستیابی به دمای مورد نظر در عملیات فروشویی، این مخزن در داخل یک حمام آب گرم با دمای قابل کنترل قرار گرفت. پس از دستیابی به دمای مورد نظر، ۱۰۰ g از خاک آلوده به مخزن افزوده شد و برای مدت ۳h عملیات اختلاط به انجام رسید. برای تعیین درصد هیدروکربن‌های اولیه‌ی موجود در نمونه خاک، از یک آزمایش شاهد با حلال نرمال‌هگزان استفاده شد. بدین ترتیب، مقدار ۱۰۰g از خاک آلوده در تانک همزده با ۵۰۰ mL از نرمال‌هگزان، برای مدت ۳ h در دمای 35°C و دور همزن ۵۰۰ rpm شستشو داده شد.

آنها را با بکارگیری راه‌کارهایی همچون استفاده از مواد خام ارزان قیمت کاهش داد. تولید بیوسورفکتانت در نتیجه فعالیت متابولیکی میکروارگانیسم‌ها (باکتری، مخمر و قارچ) بر روی سوبستراهای آب‌گریز همچون دیزل و یا پسماندهای حاوی اسیدهای چرب یکی از این راه‌کارها است. از پرکاربردترین بیوسورفکتانت‌های صنعتی، می‌توان به سوفورولپیدها اشاره کرد که ساختارشان از دوبرخش اسیدچرب و نیز واحدهای گلیکوزیدی تشکیل شده است. مخمرهای خانواده کاندیدا/ همچون *C. antarctica*، *C. catenulata*، *C. bombicola* از توانایی بالایی برای تولید بیوسورفکتانت‌های سوفورولپیدی برخوردار هستند [۴، ۷].

هدف از انجام این تحقیق، فروشویی ناپیوسته آلاینده‌های نفتی از خاک آلوده به مواد نفتی در حوزه‌ی میدین نفت‌شهر با استفاده از سوفورولپید تولید شده توسط گونه‌ی مخمر کاندیدا/ کاتنولاتا در یک مخزن همزن‌دار بود. به این منظور، جداسازی و شناسایی بیوسورفکتانت تولیدی به انجام رسید و شرایط بهینه عملیاتی با استفاده از روش آماری سطح پاسخ و با در نظر گرفتن دور همزدن، دما و غلظت بیوسورفکتانت برای دستیابی به بالاترین بازده استخراج مواد آلاینده‌ی هیدروکربنی از خاک تعیین شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تولید، جداسازی و شناسایی بیوسورفکتانت

کشت میکروبی مورد استفاده برای تولید بیوسورفکتانت، مخمر کاندیدا/ کاتنولاتا^۱ بود که پیش از این از نمونه خاک‌های منطقه‌ی غرب استان کرمانشاه (شهرستان کرد) جداسازی و شناسایی شده و با کد ژنتیکی KP324968 توسط جمالی و همکارانش در بانک ژنتیکی NCBI^۲ به ثبت رسیده است [۸]. برای تولید بیوسورفکتانت، سلول‌های رشدیافته بر روی محیط کشت Malt Extract Broth به عنوان مایه تلقیح مورد استفاده قرار گرفت. تولید بیوسورفکتانت در ارلن‌مایر ۲۵۰ mL و با استفاده از ۱۰۰ mL از محیط کشت حاوی اجزای زیر انجام شد (g L^{-1}): عصاره‌ی مخمر، ۱؛ NH_4NO_3 ، ۱/۱؛ KH_2PO_4 ، ۰/۲ و $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۲. در این محیط کشت، عصاره مخمر و نیترات آمونیوم به عنوان منبع نیتروژن، KH_2PO_4 (منبع فسفر) و $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ به عنوان منبع تامین کننده مواد معدنی مورد نیاز سلول مورد استفاده قرار گرفتند. قبل از استریل، pH

^۱ *Candida catenulata*

^۲ National Center for Biotechnology Information

تبدیل مقادیر واقعی (x) به مقادیر کد شده (X) بر اساس رابطه (۲) انجام شد:

$$X = \frac{2x - (x_{high} + x_{low})}{x_{high} - x_{low}} \quad (2)$$

که در آن x_{high} و x_{low} به ترتیب کمترین و بیشترین سطح هر یک از متغیرهای مستقل مورد مطالعه است.

۲-۴- روش‌های سنجش

گروه‌های عاملی موجود در ساختار شیمیایی بیوسورفکتانت تولید شده، با استفاده از آنالیز FTIR (Jasco N4200, Tokyo, Japan) در محدوده‌ی عدد موج $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ شناسایی شد. غلظت بحرانی مایسل با اندازه‌گیری میزان کشش سطحی از محلول‌های آبی بیوسورفکتانت در بازه غلظتی 500 mg L^{-1} تا 10 mg L^{-1} توسط دستگاه KRUSS tensiometer K100 به انجام رسید. همچنین، اندیس امولسیون دیزل-آب براساس روش زیر اندازه‌گیری شد [۹]: 5 mL از دیزل با درجه IPA $37/76$ به 5 mL از محلول بیوسورفکتانت در بازه غلظتی 700 mg L^{-1} تا 0 در یک لوله فالكون دربار اضافه شد و برای مدت 2 min به شدت توسط یک دستگاه ورتکس همزده شد. سپس محلول برای مدت 24 h در دمای 30°C به حالت سکون قرار گرفت و پس از این مدت با استفاده از رابطه (۳)، اندیس امولسیون تعیین شد:

$$(\%) = 100 \times \frac{\text{ارتفاع بخش امولسیون}}{\text{ارتفاع کل محلول}} \quad (3)$$

تعیین درصد استخراج هیدروکربن از خاک آلوده براساس آنالیز کروماتوگرافی گازی^۳ با آشکارساز^۴ FID انجام شد [۱۰]. برای این منظور، $20 \mu\text{L}$ از نمونه محلول استخراج شده به دستگاه کروماتوگرافی Agilent 6820N مجهز به ستون Rtx-5 با قطر داخلی 5 mm تزریق شد. هلیوم به‌عنوان گاز حامل با دبی ثابت 1 mL min^{-1} استفاده شد. دمای آشکارساز و تزریق-کننده هر دو 300°C بود و برنامه‌ی دمایی آون دستگاه به صورت زیر انتخاب شد: ابتدا 2 min در دمای 70°C ، سپس با سرعت $5^\circ \text{C min}^{-1}$ به 180°C افزایش یافت و در ادامه با سرعت $1^\circ \text{C min}^{-1}$ تا 270°C افزایش یافت و نهایتاً 3 min در دمای 270°C نگهداشته شد. مقدار درصد هیدروکربن استخراج شده از خاک آلوده با استفاده از رابطه (۴) و بر اساس

انتخاب پارامترهای مورد بررسی در فروشویی، بر پایه‌ی آزمایش‌های اولیه برای تعیین پارامترهایی که بیشترین تاثیر را بر سیستم خاک/بیوسورفکتانت/هیدروکربن داشت، انجام شد. پارامترهای غلظت بیوسورفکتانت، دما و دور همزن سه متغیر مورد بررسی در این آزمایش‌ها بودند که با استفاده از یک طراحی مرکب مرکزی^۱ در پنج سطح برای هر متغیر مورد بررسی قرار گرفت. تحلیل متغیرها^۲، مدل‌سازی داده‌ها و نیز بهینه‌یابی شرایط فرآیند توسط نرم‌افزار Design Expert تعیین شد. براساس طرح مرکب مرکزی، تعداد کل آزمایش‌ها، 19 عدد بود (جدول ۱) و از تکرار پنج آزمایش در سطح مرکزی (سطح کد شده صفر) برای تعیین مجموع مربعات خطا (SS_{res}) استفاده شد:

$$SS_{res} = \sum (Y_{exp} - Y_{pred})^2 \quad (1)$$

Y_{pred} و Y_{exp} به ترتیب مقادیر تجربی و پیش‌بینی شده متناظر با آنها هستند.

جدول (۱) آزمایش‌های طراحی شده در طرح مرکب مرکزی (مقادیر داخل پرانتز مقادیر گذشته متغیرها هستند)

شماره آزمایش	X_1 : غلظت بیوسورفکتانت (mg L^{-1})	X_2 : دما ($^\circ \text{C}$)	X_3 : دور همزن (rpm)
۱	۲۲۰ (+)	۳۵ (-)	۲۰۰ (-)
۲	۲۶۰/۹ (+)	۴۵ (۰)	۳۰۰ (۰)
۳	۲۲۰ (+)	۵۵ (+)	۴۰۰ (+)
۴	۱۰۰ (-)	۵۵ (+)	۴۰۰ (+)
۵	۱۰۰ (-)	۵۵ (+)	۲۰۰ (-)
۶	۱۶۰ (۰)	۴۵ (۰)	۴۶۸ (+)
۷	۱۶۰ (۰)	۴۵ (۰)	۳۰۰ (۰)
۸	۲۲۰ (+)	۵۵ (+)	۲۰۰ (-)
۹	۵۹/۱ (-)	۴۵ (۰)	۳۰۰ (۰)
۱۰	۱۶۰ (۰)	۴۵ (۰)	۳۰۰ (۰)
۱۱	۱۶۰ (۰)	۶۱/۸ (+)	۳۰۰ (۰)
۱۲	۱۶۰ (۰)	۴۵ (۰)	۳۰۰ (۰)
۱۳	۲۲۰ (+)	۳۵ (-)	۴۰۰ (+)
۱۴	۱۶۰ (۰)	۴۵ (+)	۳۰۰ (۰)
۱۵	۱۶۰ (۰)	۴۵ (+)	۱۳۲ (-)
۱۶	۱۶۰ (۰)	۴۵ (+)	۳۰۰ (۰)
۱۷	۱۰۰ (-)	۳۵ (-)	۲۰۰ (-)
۱۸	۱۰۰ (-)	۳۵ (-)	۴۰۰ (+)
۱۹	۱۶۰ (۰)	۲۸/۲ (-)	۳۰۰ (۰)

³ Gas chromatography

⁴ Flame ionization detector

¹ Rotatable central composite design

² Analysis of variances

پیک‌های 2958 cm^{-1} و 2855 cm^{-1} مربوط به پیوندهای C-H_3 و C-H_2 در زنجیره‌ی آلیفاتیک هستند. پیک 1638 cm^{-1} به پیوند غیراشباع C=C مربوط می‌شود و پیک 1460 cm^{-1} پیوند C-O-H را در اسید کربوکسیلیک آشکار می‌کند. پیک 1375 cm^{-1} ، مشخص‌کننده‌ی گروه متیل‌استر با پیوندهای H-C=O است و در نهایت پیک 1248 cm^{-1} نشان‌دهنده‌ی پیوند C-O-C می‌باشد. همچنین پیک 1074 cm^{-1} گروه C-O-H را نشان می‌دهد که به یک کربوهیدرات مربوط می‌شود. این گروه‌های عاملی نشان‌دهنده‌ی وجود بخش‌های آب‌دوست و آب‌گریز در ساختار بیوسورفکتانت تولیدی توسط مخمر کاندیدا/کانتولاتا بود.

شکل (۲-الف) نشان می‌دهد که با افزایش غلظت بیوسورفکتانت از 10 mg L^{-1} تا 250 mg L^{-1} ، میزان کشش-سطحی محیط آبی به شکل محسوسی کاهش یافت و با افزایش بیشتر غلظت بیوسورفکتانت دیگر تغییری در میزان کشش سطحی حاصل نشد. این رفتار نشان‌گر آن بود که با رسیدن غلظت بیوسورفکتانت در محیط به میزان 250 mg L^{-1} ، توده-های مایسل از مولکول‌های منفرد بیوسورفکتانت تشکیل شده است و افزایش بیشتر غلظت تنها موجب افزایش تعداد مایسل‌ها شده و تاثیری بر روی کشش سطحی آب نداشت [۱۴]. این غلظت مشخص، که برای انواع سورفکتانت متفاوت می‌باشد، به غلظت بحرانی مایسل موسوم است و یکی از پارامترهای مهم در تعیین مشخصات کمی و کیفی مواد فعال‌ساز سطحی است. با توجه به شکل (۲-الف)، غلظت بحرانی مایسل برای سوفورولیپید تولید شده در این تحقیق در حدود غلظتی 250 mg L^{-1} تعیین شد.

نسبت سطح زیر پیک نمودارهای کروماتوگرام در نمونه و آزمایش شاهد (استفاده از حلال نرمال هگزان) تعیین شد:

$$(4) = (\%) \text{ بازده استخراج هیدروکربن}$$

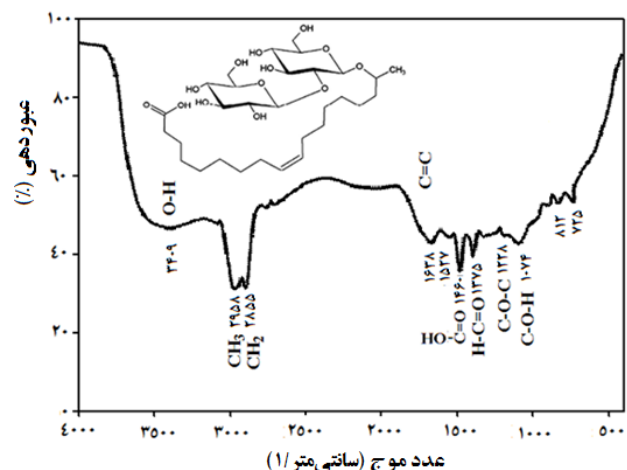
$$100 \times \frac{\text{سطح زیر پیک هیدروکربن استخراج شده در نمونه}}{\text{سطح زیر پیک هیدروکربن استخراج شده در آزمایش شاهد}}$$

۳- نتایج و بحث

۳-۱- سرشت نمایی بیوسورفکتانت تولیدی

در تحقیق حاضر، از یک کشت خالص مخمر کاندیدا/کانتولاتا که از توانایی بالایی برای تجزیه‌زیستی مواد نفتی برخوردار بود برای تولید سوفورولیپید استفاده شد. به این منظور، دیزل به عنوان منبع کربن در اختیار سلول‌های مخمر قرار گرفت. سلول‌های مخمر در حضور هیدروکربن‌های آلیفاتیک موجود در دیزل رشد یافتند و بیوسورفکتانت سوفورولیپیدی را به عنوان ماده حدواسط متابولیسم نرمال آلکان‌ها در محیط تولید نمودند. بر پایه مطالعات گسترده آنزیمی گذشته، در گونه‌های مخمری خانواده کاندیدا/دسته‌ای از منواکسیژنازها موسوم به *Cytochrome P450* به‌طور همزمان در حذف نرمال آلکان‌ها و نیز تولید سوفورولیپیدها نقش دارند [۱۱-۱۳].

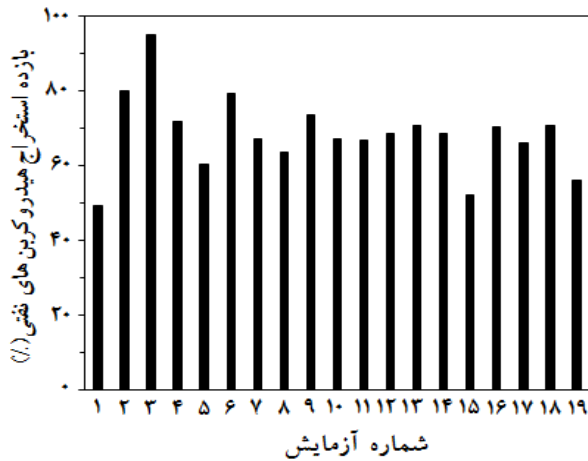
شکل (۱) طیف FTIR بیوسورفکتانت جداسازی شده از محیط رشد یافته مخمر کاندیدا/کانتولاتا بر روی هیدروکربن دیزل را در تحقیق حاضر نشان می‌دهد. این طیف به‌طور مشخص با طیف FTIR سوفورولیپید تولید شده توسط گونه-های کاندیدا/رگوسا که پیش از این در مقالات گزارش شده است، مطابقت دارد [۷].



شکل (۱) نتایج آنالیز FTIR بیوسورفکتانت تولید شده توسط کاندیدا/کانتولاتا

همان‌طور که در شکل (۱) مشخص است؛ پیک مشاهده شده در 3409 cm^{-1} ، مربوط به گروه هیدروکسیل (OH) است.

مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج تجربی به دست آمده از این آزمایش ها در شکل (۳) ارائه شده است.



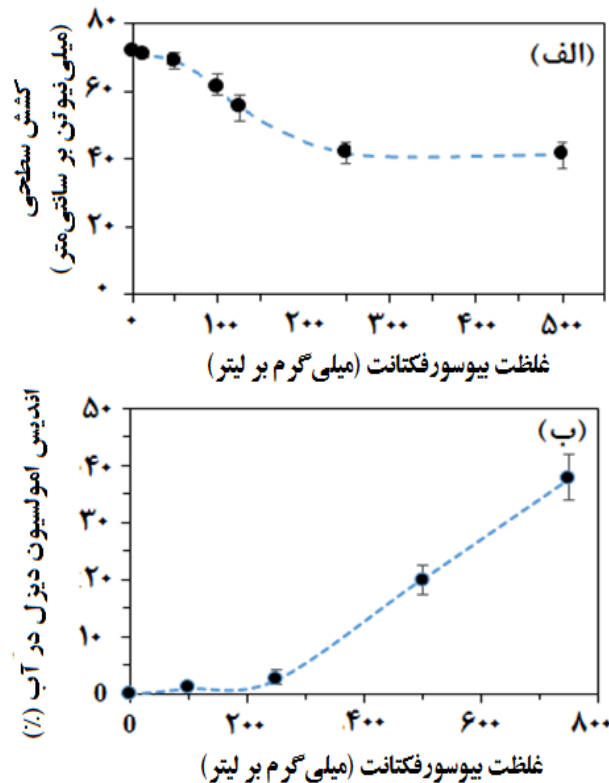
شکل (۳) نتایج تجربی حاصل از انجام آزمایش های طراحی شده در جدول (۱) برای فروشویی هیدروکربن های نفتی از خاک

همان طور که مشخص است، تغییر شرایط اثر محسوسی بر بازده استخراج هیدروکربن از خاک داشت. به طوری که بیشترین بازده در شرایط آزمایش شماره (۳) به میزان ۹۵/۵۱٪ و کمترین میزان بازده استخراج در شرایط آزمایش شماره (۱) به میزان ۴۹/۳۸٪ مشاهده شد. این تغییر در میزان بازده استخراج نشان گر آن بود که فرآیند فروشویی خاک از مواد آلاینده توسط محلول بیوسورفکتانت به شدت تحت تاثیر پارامترهای بررسی شده قرار داشت. بنابراین پیش بینی روند تغییرات آن و نیز بهینه یابی شرایط عملیاتی فرآیند می تواند در کاهش هزینه های فرآیند و کارآمدی آن موثر باشد.

در روش مرکب مرکزی و به منظور پیش بینی رفتار فرآیند، استفاده از مدل های چندجمله ای به عنوان یک ابزار کارآمد در بهینه سازی فرآیندهای مختلف مورد استفاده قرار گرفته است [۱۵، ۱۶]. یک مدل چندجمله ای در حالت کلی همانند معادله (۵) است:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^k \beta_{iii} X_i^3 + \varepsilon \quad (5)$$

در این رابطه، Y متغیر پاسخ مورد مطالعه، β_0 یک مقدار ثابت و بیان گر مقدار متوسط پاسخ مشاهده شده در آزمایش هایی بود که متغیرهای مستقل در سطوح مرکزی قرار داشتند. ثابت های β_i ، β_{ij} و نیز به ترتیب نشان گر اثر هر یک از متغیرهای مستقل، اثر غیرخطی هر یک از آنها و برهم کنش هر یک از



شکل (۲) تعیین غلظت CMC برای بیوسورفکتانت (الف)، قابلیت امولسیون کنندگی هیدروکربن های دیزل توسط بیوسورفکتانت (ب)

همچنین قابلیت امولسیون سازی هیدروکربن های دیزل با استفاده از بیوسورفکتانت تولید شده در شکل (۲-ب) و بر اساس اندیس امولسیون ارایه شده است. بر اساس این داده ها، با افزایش غلظت بیوسورفکتانت به غلظت های بالاتر از مقدار CMC، میزان اندیس امولسیون آب-دیزل به صورت خطی افزایش یافت. در توضیح این مطلب همان طور که پیش از این گفته شد، در غلظت های بالاتر از مقدار CMC، مایسل های بیشتری تشکیل می شود و حفره های آب گریز بیشتری برای قرار گرفتن مولکول های هیدروکربنی به وجود می آیند. از این رو، سهم امولسیون دیزل در آب با افزایش بیشتر بیوسورفکتانت به صورت خطی افزایش یافت. اما در غلظت های پایین تر از مقدار CMC، این رفتار خطی به دلیل عدم تشکیل ساختار مایسلی از مولکول های بیوسورفکتانت، دیده نشد.

۳-۲- مدل سازی آماری رفتار فرآیند استخراج مواد نفتی از خاک

در این تحقیق، اثر متغیرهای تاثیرگذار بر عملکرد استخراج هیدروکربن های نفتی از خاک آلوده بر اساس طراحی آزمایش ها به روش مرکب مرکزی که در جدول (۱) نمایش داده شده است،

داده‌های مربوط به تحلیل مقدار خطا تخمین مدل از رفتار تجربی فرآیند نشان داد که ضعف انطباق در برازش داده‌های تجربی با معادله (۶) به لحاظ آماری موثر نبود ($P = 0/5321$). همچنین سایر کمیت‌های آماری مرتبط به برازش داده‌های تجربی با معادله (۶) در جدول (۳) ارائه شده‌است. در این جدول، مقدارهای ضریب همبستگی (R^2)، ضریب همبستگی تعدیل شده ($adj-R^2$) و انحراف معیار (SD) از روابط زیر تعیین شدند:

$$R^2 = 1 - \frac{\sum (Y_{\text{exp}} - Y_{\text{pred}})^2}{\sum (Y_{\text{exp}} - \bar{Y})^2} \quad (7)$$

$$adj-R^2 = 1 - (1 - R^2) \left[\frac{(n-1)}{n-(k+1)} \right] \quad (8)$$

$$SD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum (Y_{\text{exp}} - \bar{Y})^2} \quad (9)$$

در این معادلات؛ \bar{Y} مقدار میانگین پاسخ، n تعداد داده‌های آزمایشگاهی و k تعداد متغیرها در معادله‌ی برازش شده‌است.

مقادیر R^2 ، $adj-R^2$ و $pred-R^2$ برای معادله (۶) به ترتیب ۰/۹۹۲۷، ۰/۹۸۵۴ و ۰/۹۶۳۷ بودند، که نشان‌گر برازش خوب این معادله از داده‌های آزمایشگاهی بود.

باتوجه به توانایی بالای معادله (۶) از پیش‌بینی رفتار مشاهده شده در فرآیند استخراج هیدروکربن‌های نفتی از خاک آلوده، می‌توان اطلاعات بیشتری را از روی مقدار و علامت ضرایب به دست آمده برای هر متغیر در این معادله، فراهم آورد. مثلاً، باتوجه به مقدار مثبت ضرایب β_1 ، β_2 و β_3 در معادله (۶)، می‌توان نتیجه گرفت که افزایش این متغیرها موجب افزایش بازده استخراج شود. همچنین می‌توان نتیجه گرفت که میزان تاثیرپذیری بازدهی استخراج آلاینده‌های نفتی از خاک آلوده به میزان ۶۲/۳۶٪ تحت تاثیر دور همزن، ۲۷/۵۵٪ تحت-تاثیر دما و ۱۰/۰۹٪ متاثر از غلظت بیوسورفکتانت بوده‌است. به این ترتیب، دور همزن بیشترین تاثیر را در بین متغیرهای موردبررسی بر روی بازده استخراج مواد نفتی از خاک آلوده داشت. این امر با توجه به ماهیت آب‌گریز هیدروکربن‌های نفتی و در نتیجه نقش موثر اختلاط در بهبود انتقال جرم و در دسترس قرار گرفتن مولکول‌های بیوسورفکتانت قابل توجه بود.

متغیرهای مورد مطالعه بود. ε نیز بیان‌گر میزان خطای پیش‌بینی مدل بود.

در این تحقیق، برای تعیین مدل چندجمله‌ای مناسب در توصیف رفتار فرآیند استخراج مواد نفتی از خاک آلوده، تحلیل آزمون F استفاده شد تا اثر افزودن ضرایب مختلف به معادله (۵) در توصیف این فرآیند مشخص شود. همان‌طور که در جدول (۲) نمایش داده شده‌است، مدل برهمکنش دو پارمتری (2FI) نسبت به مدل خطی و نیز مدل دوجبه دوم در مقایسه با مدل دارای مقدار F بالایی بودند. این موجب شد تا آماره P برای این دو مقایسه دارای مقدار کوچک‌تر از ۰/۰۵ باشد. نتیجه آنکه، با میزان سطح اطمینان ۹۵٪^۱، به ترتیب افزودن ضرایب β_{ij} (بیان‌گر اثرات تداخلی پارامترهای مستقل) در مدل 2FI و نیز افزودن ضرایب β_{ii} (بیان‌گر اثر غیرخطی پارامترهای مستقل) در مدل دوجبه دوم، به لحاظ آماری موثر بودند و در کار حاضر برای مدل‌سازی عددی فرآیند مورد استفاده قرار گرفتند. اما، با انجام آزمون F بین مدل‌های چندجمله‌ای درجه دوم و درجه سوم مشاهده شد که مقدار F به شدت کاهش یافت و به تبع مقدار آماره P به ۰/۴۲۱۱ افزایش یافت. این نتیجه نشان می‌دهد که ضرایب β_{iii} در توصیف فرآیند فروشویی کار حاضر به لحاظ آماری بی‌تاثیر بود و موجب افزایش دقت پیش‌بینی نشد.

بنابراین، در این تحقیق از یک چندجمله‌ای درجه دوم (معادله ۶) برای مدل‌سازی تجربی و بیان وابستگی بازده استخراج هیدروکربن‌های نفتی (Y) به صورت تابعی از متغیرهای غلظت بیوسورفکتانت (X_1)، دما (X_2) و دور همزن (X_3) استفاده شد.

$$Y = 68/28 + 1/49 X_1 + 3/76 X_2 + 8/4 X_3 + 5/4 X_1 X_2 + 4/63 X_1 X_3 + 2/16 X_2 X_3 + 3/09 X_1^2 - 2/33 X_2^2 - 0/83 X_3^2 \quad (6)$$

برای تعیین ضرایب معادله (۶) از تحلیل آزمون F استفاده شد تا ضرایب غیرموثر از معادله حذف شوند. نتایج تحلیل متغیرها^۲ در جدول (۳) آورده شده‌است. همان‌طور که مشخص است تمامی ضرایب معادله درجه دوم دارای مقدار P کمتر از ۰/۰۵ بودند و این بدان معنا بود که تمامی این ضرایب در توصیف رفتار فرآیند با سطح اطمینان ۹۵٪ موثر بودند و در معادله‌ی نهایی برای توصیف فرآیند باقی ماندند. همچنین

¹ Confidence level

² Analysis of variances

جدول (۲) آزمون F برای تعیین مدل چندجمله‌توصیف‌کننده رفتار داده‌های شکل (۳)

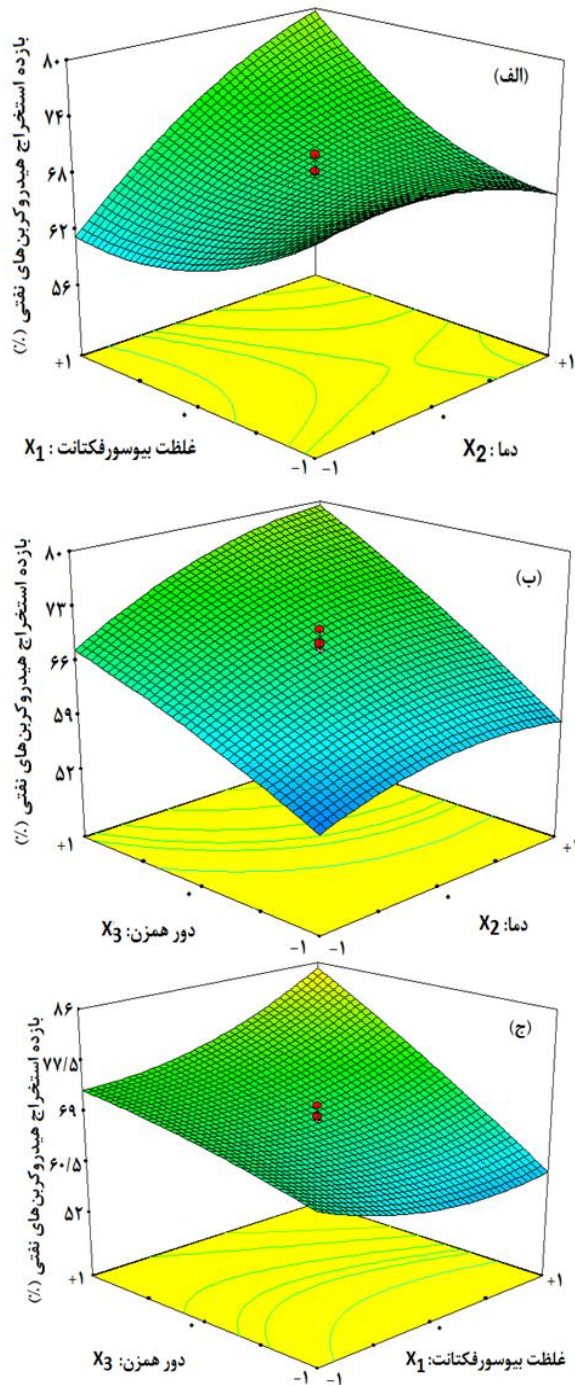
منبع	مجموع مربعات	درجه‌ی آزادی	متوسط مربعات	مقدار F	مقدار P
مقدار متوسط در برابر کل	۸۸۴۶۶/۳۴	۱	۸۸۴۶۶/۳۴		
مقدار ثابت / مدل خطی	۱۱۸۷/۰۷	۳	۳۹۵/۶۹	۸/۴۰	۰/۰۰۱۶
مدل خطی / مدل برهمکنش دو پارامتری	۴۲۲/۰۰	۳	۱۴۷/۳۳	۶/۶۹	۰/۰۰۶۶
مدل برهمکنش دو پارامتری / مدل درجه دوم	۲۵۰/۵۳	۳	۸۳/۵۱	۵۴/۴۲	<۰/۰۰۰۱
مدل درجه دوم / مدل درجه سوم	۶/۷۰	۴	۱/۶۷	۱/۱۸	۰/۴۲۱۱
خطای باقیمانده	۷/۱۱	۵	۱/۴۲		
کل	۹۰۳۵۹/۷۶	۱۹	۴۷۵۵/۷۸		

جدول (۳) نتایج آزمون تحلیل متغیرها و نیز معیارهای آماری مرتبط با برازش داده‌های تجربی با مدل چندجمله‌ای درجه‌ی دوم

منبع	مجموع مربعات	درجه‌ی آزادی	متوسط مربعات	مقدار F	مقدار P
مدل	۱۸۷۹/۶۱	۹	۲۰۸/۸۵	۱۳۶/۰۹	<۰/۰۰۰۱
X_1	۳۰/۵۱	۱	۳۰/۵۱	۱۹/۸۸	۰/۰۰۱۶
X_2	۱۹۲/۹۳	۱	۱۹۲/۹۳	۱۲۵/۷۲	<۰/۰۰۰۱
X_3	۹۶۳/۶۳	۱	۹۶۳/۶۳	۶۲۷/۹۳	<۰/۰۰۰۱
$X_1 X_2$	۲۲۳/۲۸	۱	۲۲۳/۲۸	۱۵۲/۰۱	<۰/۰۰۰۱
$X_1 X_3$	۱۷۱/۳۱	۱	۱۷۱/۳۱	۱۱۱/۶۳	<۰/۰۰۰۱
$X_2 X_3$	۳۷/۴۱	۱	۳۷/۴۱	۲۴/۳۸	۰/۰۰۰۸
X_1^2	۱۳۰/۴۶	۱	۱۳۰/۴۶	۸۵/۰۱	۰/۰۰۰۷
X_2^2	۷۳/۹۰	۱	۷۳/۹۰	۴۸/۱۶	<۰/۰۰۰۱
X_3^2	۹/۳۹	۱	۹/۳۹	۶/۱۲	۰/۰۳۵۳
خطای باقی‌مانده	۱۳/۸۱	۹	۱/۵۳		
خطای خالص	۶/۲۹	۴	۱/۵۷		
ضعف انطباق	۷/۵۲	۵	۱/۵۰	۰/۹۶	۰/۵۳۲۱
کل	۱۸۹۳/۴۲	۱۸			
کمیت آماری	ضریب همبستگی	ضریب همبستگی تعدیل‌شده	ضریب همبستگی پیش‌بینی	انحراف معیار	میزان دقت
مقدار	۰/۹۹۲۷	۰/۹۸۵۴	۰/۹۶۳۷	۱/۲۴	۴۹/۳۸

از دیگر مزایای به‌کارگیری روش سطح‌پاسخ استفاده از معادله (۶) برای رسم وابستگی متغیر وابسته به متغیرهای مستقل بود. شکل (۴-الف) وابستگی بازده استخراج را به صورت تابعی از غلظت بیوسورفکتانت و دما نشان می‌دهد. مشاهده شد که با تغییر همزمان این دو پارامتر بازده استخراج دچار تغییراتی شدیدی شد، به طوری که افزایش غلظت بیوسورفکتانت در دماهای بالاتر، تاثیر بیشتری در مقایسه با دماهای پایین بر روی بازده داشت. این رفتار به‌وضوح نشان‌گر آثار برهم‌کنشی این دو متغیر بر یکدیگر بود. اگر به جدول (۳) مراجعه شود، مشاهده می‌شود که ضریب مربوط به $X_1 X_2$ به لحاظ آماری موثر تعیین شد و در معادله (۶) این ضریب به مقدار $+۵/۴۰$ به‌عنوان مهم‌ترین ضریب برهم‌کنشی پارامترها

موجود است. همچنین پیش‌بینی نمودار شکل (۴-الف) در غلظت‌های بالای بیوسورفکتانت نشان داد، که اثر افزایش دما در غلظت‌های بالای بیوسورفکتانت بسیار چشم‌گیرتر از حالتی بود که افزایش دما در غلظت پایین بیوسورفکتانت (100 mg L^{-1}) بود. این امر به تشکیل توده‌های مایسلی از مولکول‌های بیوسورفکتانت در غلظت‌های بالاتر از غلظت بحرانی مایسل - دلالت دارد. در این غلظت‌ها، مولکول‌های بیوسورفکتانت با تشکیل حفره‌های آب‌گریز در خود محل مناسب را برای انحلال هیدروکربن‌های نفتی فراهم کردند. به این ترتیب، تشکیل توده‌های مایسلی موجب افزایش انحلال‌پذیری هیدروکربن‌های آب-گریز در سیستم آبی شد و به تبع بازده استخراج افزایش یافت [۱۴]. نقش دما در این بین، کاهش ویسکوزیته مواد نفتی و نیز



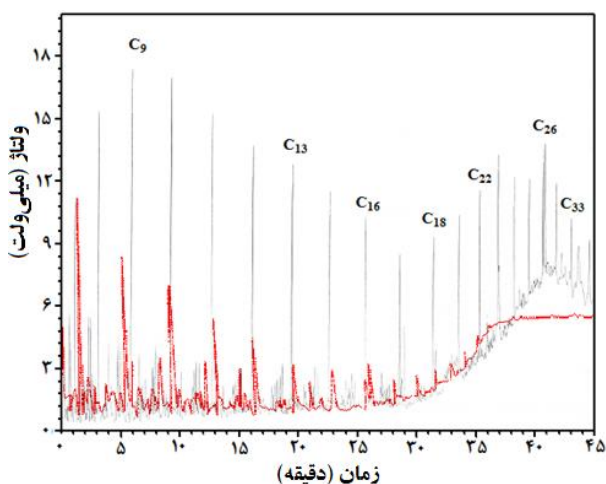
افزایش ضریب نفوذ موثر مواد نفتی در فاز آبی بود که دسترسی هیدروکربن‌ها را به حوزه‌های آب‌گریز مایسل تسهیل می‌کرد. همچنین برهم‌کنش دو پارامتر دما و دور همزن در شکل (۴-ب) مشاهده می‌شود. این نمودار سطح نشان داد که برای دسترسی به بالاترین بازده استخراج نیاز بود تا دما و دور همزن، همزمان افزایش یابند. به طوری که بازده استخراج از ۵۲٪ در شرایط دمایی ۳۵ °C و دور همزن ۲۰۰ rpm به ۸۰٪ در دمایی ۵۵ °C و دور همزن ۴۰۰ rpm افزایش یافت. شیب تند نمودار در این شکل بیان‌گر میزان تاثیرپذیری شدید بازده استخراج از این دو فاکتور مهم عملیاتی بود. با توجه به ماهیت آب‌گریز مواد نفتی، نیروی برشی حاصل از همزن نقش مهمی در افزایش توربولنسی در سیستم و به دنبال آن افزایش انتقال جرم داشت. همان‌طور که گفته شد با افزایش همزمان دور همزن و دما، به دلیل کاهش ویسکوزیته مواد نفتی سنگین و نیز افزایش ضریب نفوذ موثر آنها در فاز آبی بازده استخراج به صورت موثری افزایش یافت. اما در دورهای کم و دماهای پایین نیروی برشی وارد شده از سوی پره برای شستشو مواد نفتی سنگین از خاک فراهم نشد و در نتیجه بازده استخراج به دست آمده بیشتر مربوط به فروشویی مواد نفتی سبک از خاک طی این فرآیند بود. اثر تداخلی دیگر در مطالعه حاضر، برهم‌کنشی دو عامل غلظت بیوسورفکتانت و دور همزن بود که در شکل (۴-ج) نشان داده شده است. با افزایش غلظت بیوسورفکتانت اثر افزایش دور همزن بر بازده استخراج مشهودتر بود. دلیل این امر، افزایش میزان دسترسی هیدروکربن‌ها به بیوسورفکتانت با افزایش اختلاط بود. اما در دورهای پایین‌تر از ۲۰۰ rpm، افزایش غلظت بیوسورفکتانت تاثیری چندانی بر میزان بازدهی استخراج نداشت.

شکل (۴) بازده استخراج هیدروکربن‌های نفتی از خاک به صورت تابعی از غلظت بیوسورفکتانت و دما (الف)، به صورت تابعی از دما و دور همزن (ب) و به صورت تابعی از غلظت بیوسورفکتانت و دور همزن (ج)

۳-۳- بهینه‌یابی شرایط عملیاتی فرآیند استخراج

براساس نتایج تجربی به دست آمده و استفاده از معادله‌ی برازش شده در روش سطح پاسخ، امکان تعیین شرایط بهینه عملیاتی برای فرآیند فراهم بود. در نرم‌افزار تخصصی Design

آنجا که انحلال هیدروکربن‌ها با افزایش طول زنجیر آلیفاتیک کاهش می‌یابد، استفاده از بیوسورفکتانت در این تحقیق پتانسیل بالایی در حذف ترکیبات سنگین نفتی از خاک آلوده نشان داد؛ به طوری که تا ۹۵/۵۱٪ از کل هیدروکربن‌ها در شرایط بهینه آزمایش شماره (۳) استخراج شدند. همچنین شکل (۵) نشان می‌دهد که در همین شرایط عملیاتی و بدون استفاده از بیوسورفکتانت تنها هیدروکربن‌های سبک توانایی امکان استخراج از نمونه خاک را داشتند. این درحالی بود که در این آزمایش تنها ۳۷/۴٪ از هیدروکربن‌ها استخراج شد (جدول ۴).



شکل (۵) کروماتوگرام حاصل از آنالیز FID هیدروکربن استخراج شده از نمونه‌ی خاک آلوده، (خط مشکی محلول بیوسورفکتانت با غلظت 220 mg L^{-1} و خط قرمز بدون بیوسورفکتانت)

۴- نتیجه‌گیری

براساس نتیجه‌های این تحقیق، اگر چه به طور متوسط ۶۸/۳٪ از هیدروکربن‌های موجود در نمونه خاک آلوده طی مدت ۳ h توسط محلول آبی سوفرولپید استخراج شد. اما با بهینه سازی فرآیند، بازده استخراج تا ۹۵٪ در طی همین مدت قابل افزایش بود. این امر نشان از برهم‌کنش مثبت پارامترهای مورد بررسی همچون دما و سرعت همزن بر عملکرد بیوسورفکتانت داشت چرا که هر یک موجب افزایش دسترسی هیدروکربن‌ها به هسته آب‌گریز ساختار مایسلی بیوسورفکتانت شدند. پیش‌بینی شرایط بهینه براساس روش سطح پاسخ و مدل چندجمله‌ای درجه دوم صورت گرفت و نتایج نشان داد که بکارگیری بیوسورفکتانت با غلظت 220 mg L^{-1} ، دمای 55°C و دور همزن 400 rpm بهترین شرایط برای دستیابی به بالاترین بازده فروشویی هیدروکربن‌های نفتی از

expert امکان بهینه‌سازی عددی با استفاده از تابع مطلوبیت^۱ وجود دارد [۱۶]. تابع مطلوبیت می‌تواند مقداری از صفر تا یک داشته باشد. مقدار یک نشان‌دهنده‌ی یک‌حالت ایده‌آل است و مقدار صفر نشان‌گر این است که دست‌یابی به پاسخ مناسب در بازه‌ی تعیین‌شده، وجود ندارد. در این تحقیق، با در نظر گرفتن بازه آزمایش شده برای هر یک از پارامترهای مستقل و دست‌یابی به بیشینه بازده استخراج هیدروکربن‌های نفتی از خاک آلوده، معیار بهینه‌سازی انتخاب شد. برخی از شرایط بهینه پیش‌بینی شده توسط تابع مطلوبیت برای فرآیند حاضر، در جدول (۴) آورده شده است. مقدار مطلوبیت در شرایط تعیین‌شده توسط نرم‌افزار در بازه‌ی $0/978 - 0/514$ بود. مقایسه این شرایط پیش‌بینی شده مشخص کرد که برای داشتن بیشینه بازده استخراج حتماً بایستی دما در 55°C حفظ شود و تغییر در غلظت بیوسورفکتانت و دور همزن شدیداً موجب کاهش میزان مطلوبیت برای دست‌یابی به شرایط بهینه شد. شرایط بهینه اول که دارای بیشترین مطلوبیت آماری بود با شرایط آزمایش شماره (۳) در جدول (۱) مطابقت داشت. مقایسه‌ی نتیجه تجربی این آزمایش با شرایط بهینه پیش‌بینی شده نشان داد که تفاوت چندانی بین این دو مقدار وجود نداشت و به عبارت بهتر، روش سطح پاسخ از دقت پیش‌بینی بالایی از رفتار فرآیند حاضر برخوردار بود.

جدول ۴- مقایسه شرایط بهینه پیش‌بینی شده با نتایج تجربی

مطلوبیت	بازده استخراج (%)	دور همزن (rpm)	دما ($^\circ \text{C}$)	غلظت بیوسورفکتانت (mg L^{-1})	
پیش‌بینی	۹۴/۰۶	۴۰۰/۰	۵۵/۰	۲۲۰/۰	۰/۹۷۸
	۹۰/۵۳	۴۰۰/۰	۵۵/۰	۲۰۵/۰	۰/۹۰۴
	۸۹/۳۷	۳۶۶/۰	۵۵/۰	۲۲۰/۰	۰/۸۷۶
	۷۲/۸۴	۴۰۰/۰	۴۵/۰	۱۰۰/۰	۰/۵۱۴
آزمایش ۳	۹۵/۵۱	۴۰۰	۵۵	۲۲۰	
بدون بیوسورفکتانت	۳۷/۴	۴۰۰	۵۵	۰	

نتیجه آنالیز کروماتوگرافی هیدروکربن‌های استخراج شده از نمونه خاک آلوده در شرایط آزمایش شماره (۳) در شکل (۵) نمایش داده شده است. این کروماتوگرام نشان داد که هیدروکربن‌های نفتی سبک و سنگین هر دو در خاک آلوده موجود بودند. به طوری که بخش مهمی از این هیدروکربن‌ها دارای زنجیر بلند هیدروکربنی با بیش از بیست کربن بودند. از

¹ Desirability

52A3", *The Journal of Biological Chemistry*, 273, 32528-32534.

[12] I. N. A. van Bogaert, M. Demey, D. Develter, W. Soetaert and E. J. Vandamme (2009) "Importance of the cytochrome P450 monooxygenase CYP52 family for the sophorolipid-producing yeast *Candida bombicola*", *FEMS Yeast Research*, 9, 87-94.

[13] A. Habibi and F. Babaei (2017) "Biological treatment of real oilfield produced water by bioaugmentation with sophorolipid-producing *Candida catenulata*", *Environmental Processes*, 4, 891-906.

[14] S. S. Balan, C. G. Kumar, and S. Jayalakshmi (2016), "Pontifactin, a new lipopeptide biosurfactant produced by a marine *Pontibacter korlensis* strain SBK-47: Purification, characterization and its biological evaluation," *Process Biochemistry*, 51, 2198-2207.

[15] A. Habibi and F. Vahabzadeh (2013) "Formaldehyde degradation by *Ralstonia eutropha* in an immobilized cell bioreactor", *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 48, 11557-1572.

[16] S. Shamschiri Kourdestani, A. Habibi, M. Ahmadi (2017) "Optimization of lithotrophic activities of *Acidithiobacillus ferrooxidans* toward significant reduction of sulfur and ash from low rank bitumen", *Geomicrobiology Journal*, 34, 328-337.

نمونه خاک آلوده بود. مطالعه بر روی اثر غلظت سوفورولیپید نشان داد که غلظت بحرانی تشکیل توده مایسلی در حدود غلظتی 250 mg L^{-1} بود.

تقدیر و تشکر

این تحقیق به حمایت شرکت بهره‌برداری نفت و گاز غرب از زیرمجموعه شرکت ملی نفت ایران به انجام رسید.

مراجع

[1] S. G. Leahy and R. R. Colwell (1990) "Microbial degradation of hydrocarbons in the environment", *Microbiological Reviews*, 54, 305-315.

[2] F. M. Bento, F. A. O. Camargo, B. C. Okeke, and W. T. Frankenberger (2005) "Bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation", *Bioresourc Technology*, 96, 1049-1055.

[3] N. P. J. Price, K. J. Rey, K. E. Vermillion, C. A. Dunlap, and C. P. Kurtzman (2012) "Structural characterization of novel sophorolipid biosurfactants from a newly identified species of *Candida* yeast", *Carbohydrates Research*, 348, 33-41.

[4] I. Mnif, R. Sahnoun, S. Ellouz-Chaabouni, and D. Ghribi (2017) "Application of bacterial biosurfactants for enhanced removal and biodegradation of diesel oil in soil using a newly isolated consortium", *Process Safety and Environmental Protection*, 109, 72-81.

[5] R. D. Rufino, J. M. de Luna, G. M. De campos Takaki, and L. A. Sarubbo (2014) "Characterization and properties of the biosurfactant produced by *Candida lipolytica* UCP 0988", *Electronic Journal of Biotechnology*, 17, 34-38.

[۶] میلاد کردی، تیمور اسلام کیش (۱۳۹۶) "استخراج مرحله‌ای مواد ارگانیک از خاک مرداب توسط حلال‌های آلی"، *نشریه علوم و مهندسی جداسازی*، ۹(۱)، ۴۷-۵۶.

[7] P. Chandran and N. Das (2011) "Characterization of sophorolipid biosurfactant produced by yeast species grown on diesel oil", *International Journal of Science and Nature*, 2, 63-71.

[8] S. Jamali, M. Gharaei, and S. Abbasi (2016) "Identification of yeast species from uncultivated soils by sequence analysis of the hypervariable D1/D2 domain of LSU-rDNA gene in Kermanshah province, Iran", *Mycologia Iranica*, 3(2), 87-98.

[9] D.G. Cooper, and B. G. Goldenber (1987) "Surface-active agents from two *Bacillus* species", *Applied and Environmental Microbiology*, 53, 224-229.

[10] M. A. Zahed, H. A. Aziz, M. Hasnian Isa, L. Mohajeri, and S. Mohajeri (2010) Optimal conditions for bioremediation of oily seawater, *Bioresourc Technology*, 101, 9455-9460.

[11] U. Scheller, T. Zimmer, D. Becher, F. Schauer, and W. H. Schunck (1998) "Oxygenation cascade in conversion of *n*-alkanes to α,ω -dioic acids catalyzed by cytochrome P450

Optimization of Hydrocarbons Extraction from Contaminated Soil Using a Sophorolipid Biosurfactant

Alireza Habibi, Elahe Karami Rahimabadi

Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran

ABSTRACT

In the present study, a sophorolipid biosurfactant produced by *Candida catenulata* was used to extract hydrocarbons from a polluted soil collected from Naft Shahr oil-field. The critical micelle concentration was determined at 250 mg L^{-1} for the produced biosurfactant. Biosurfactant was efficient in leaching of hydrocarbons from contaminated soil due to the role of the surfactant in increasing the solubility of hydrocarbon in aquatic media. The effects of concentration of biosurfactant, temperature, and agitation speed were investigated on extraction yield using central composite design at 5 levels for each parameter. Data analysis and mathematical modeling were then performed using surface response methodology (RSM). The results showed agitation speed as the most effective factor followed by temperature and concentration of the biosurfactant. By optimizing the operating conditions of the process, the maximum removal efficiency of petroleum with 95.51% was achieved under the following conditions: concentration of biosurfactant 220 mg L^{-1} , temperature $55 \text{ }^\circ\text{C}$ and agitation speed of 400 rpm.

ARTICLE INFO

Article history:

Received: September 11, 2017

Received in revised form: December 28, 2017

Accepted: February 18, 2018

Key words:

Surface active agent

Candida catenulata yeast

Response surface methodology

Optimization

Petroleum hydrocarbons

All right reserved.

* Corresponding author
a.habibi@razi.ac.i