

یادداشت پژوهشی

# مطالعه مشاهده‌ای ازدیاد برداشت میکروبی نفت با استفاده از میکرومدل

حسین امانی

دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، مازندران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۸ تاریخ پذیرش: ۹۳/۴/۲۳

## چکیده

در سال‌های اخیر استفاده از میکرومدل‌های شیشه‌ای به منظور فهم و مشاهده مکانیسم ازدیاد برداشت نفت مورد توجه محققین قرار گرفته است. میکرومدل این امکان را فراهم می‌کند تا با مشاهده حرکت سیال، بازده جابه‌جایی در مقیاس حفرات بررسی شود. در این تحقیق، توانایی باکتری HATH سودومناس آرچینوزا برای رشد و تولید بیوسورفکتنت رامنولپید با استفاده از روغن آفتاب‌گردان به عنوان ماده کربنی بررسی شده است. رامنولپید تولید شده می‌تواند کشش سطحی را از  $70 \text{ mN/m}$  به  $28 \text{ mN/m}$  و کشش بین سطحی را از  $36 \text{ mN/m}$  به  $4 \text{ mN/m}$  در غلظت CMC کاهش دهد. این ویژگی‌ها تایید می‌کند رامنولپید تولید شده پتانسیل خوبی برای کاربرد در ازدیاد برداشت نفت به خصوص در ازدیاد برداشت به روش میکروبی دارد. همچنین با استفاده از دستگاه میکرومدل در آزمایش‌های مشاهده‌ای، اثر رامنولپید تولید شده در ازدیاد برداشت نفت مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد با تزریق رامنولپید با غلظت  $120 \text{ mg/l}$ ، در حدود  $5\%$  ازدیاد برداشت برای نفت خام حاصل می‌شود.

**کلمات کلیدی:** بیوسورفکتنت، بیوراكتور، رامنولپید، میکرومدل، ازدیاد برداشت میکروبی نفت

## مقدمه

مختلف مانند نفت و پتروشیمی، صنایع غذایی، داروسازی، پزشکی، کشاورزی، آرایشی و نساجی اهمیت بسیار دارند. بنا به دلایلی نظیر تنوع زیاد، کم خطر بودن برای محیط زیست، سمیت کمتر و قابلیت بازگشت به اکوسیستم، استفاده از بیو سورفکتنت‌ها بر سورفکتنت‌های شیمیایی ترجیح داده می‌شود [۴-۱۱].

یک زمینه مهم برای استفاده از این بیو سورفکتنت‌ها، ازدیاد برداشت میکروبی نفت است. این ترکیبات با کاهش کشش بین سطحی نفت و سنگ بستر، باعث کاهش نیروی موینگی (که مانعی برای خروج نفت از خلال منافذ سنگ بستر است) می‌شوند. همچنین، نقش امولسیون کنندگی بیوسورفکتنت به جدا شدن نفت از سطح سنگ‌ها کمک می‌کند [۱۰-۱۵].

سورفکتنت‌ها یا ترکیبات فعال سطحی مولکول‌های دوگانه دوستی هستند که با قرار گرفتن در سطح بین دو فاز منجر به کاهش کشش سطحی و بین سطحی و تشکیل میکروامولسیون‌های ناشی از انحلال جزئی هیدروکربن در آب و یا آب در هیدروکربن می‌گردند. بیو سورفکتنت‌ها یکی از فرآورده‌های مهم در میکروبیولوژی صنعتی می‌باشند که توسط میکروارگانیسم‌ها به‌ویژه باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها تولید می‌گردند [۱-۴]. این ترکیبات فعال سطحی به دلیل دارا بودن مزایایی از قبیل کاهش کشش سطحی و بین سطحی، مقاومت دمایی و تجزیه پذیری در صنایع

hosn1\_amani@Yahoo.com

\*مسئول مکاتبات  
آدرس الکترونیکی

### مواد و روش‌ها

**باکتری:** باکتری HATH سودومناس آرجینوزا از بانک میکروبی آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه تهران تهیه گردید.

**محیط پیش کشت:** از محیط LB<sup>۳</sup> (شامل یست اکسترکت<sup>۴</sup>، تریپتون و NaCl به ترتیب ۵، ۱۰ و ۱۰ gr/lit) به عنوان پیش کشت برای تولید رامنولیپید استفاده شد. یک لوپ باکتری به محیط پیش کشت که درون ارلن ۲۵۰ CC قرار داشت، در شرایط استریل اضافه گردید. سپس ارلن به مدت ۲۴ ساعت درون شیکرانکوباتور با دمای ۳۷°C و دور ۱۲۰ rpm قرار داده شد.

**محیط کشت:** اجزای محیط کشت اصلی در جدول ۱ بیان شده است. تمامی ترکیبات از شرکت مرک خریداری شده است.

جدول ۱- اجزای محیط کشت تولید رامنولیپید  
محلول A:

نام ترکیب	غلظت (gr/lit)
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	۰/۰۵
KCl	۰/۱
NaNO <sub>3</sub>	۱/۵

محلول B:

نام ترکیب	غلظت (gr/lit)
روغن آفتاب‌گردان	۲۵۰

محلول C:

نام ترکیب	غلظت (gr/lit)
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	۲۳
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	۱۱

pH محلول توسط سود (NaOH) برابر ۶/۵ تنظیم می‌شود.

محلول D:

نام ترکیب	غلظت (gr/lit)
C <sub>7</sub> H <sub>3</sub> NaO <sub>7</sub> ·2H <sub>2</sub> O	۲
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	۰/۲۸
ZnSO <sub>4</sub> ·6H <sub>2</sub> O	۱/۴
CoCl <sub>2</sub> ·5H <sub>2</sub> O	۱/۲
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	۱/۲
MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	۰/۸

به منظور استفاده از بیوسورفکتنت‌ها در ازدیاد برداشت میکروبی، معمولا دو روش پیشنهاد می‌شود. در روش اول (روش خارج محل) ابتدا بیوسورفکتنت در بیوراکتورها تولید شده و پس از جداسازی بیومس از آن، به مخزن اضافه می‌شود. در روش دوم به‌طور مستقیم باکتری‌هایی که توانایی تولید بیوسورفکتنت دارند، داخل مخزن تزریق می‌شوند (روش درون محل). پس از این مرحله، مواد غذایی لازم به مخزن که باعث تحریک رشد میکروارگانیسم‌های تولیدکننده بیوسورفکتنت ساکن در مخزن می‌شود، تزریق می‌گردد [۱۱-۱۴].

برای موفقیت‌آمیز بودن بازیافت نفت در روش دوم، لازم است باکتری‌ها توانایی رشد و تحمل شرایط حاکم بر مخازن مانند حرارت زیاد، فشار زیاد، غلظت‌های نمکی و شرایط بی‌هوازی را داشته باشند. همچنین در روش دوم وجود باکتری‌ها باعث تولید اسید یا اسیدی شدن نفت خام و در نهایت خوردگی تجهیزات و وسایل می‌شوند. برای تولید بیوسورفکتنت در خارج از مخزن، هزینه زیادی باید صرف طراحی و ساخت بیوراکتور، راه‌اندازی آن و خالص‌سازی بیوسورفکتنت شود ولی در نهایت محاسبات اقتصادی و توجه به معایب و مزایای هر روش مشخص کننده روش مورد استفاده است.

رامنولیپیدها یکی از مهم‌ترین و قوی‌ترین انواع بیوسورفکتنت‌ها هستند که توسط بعضی از باکتری‌ها مانند سودومناس آرجینوزا<sup>۱</sup> تولید می‌شوند [۱۱، ۱۲، ۱۶-۱۸]. رامنولیپیدها جزء گروه گلیکولیپیدهای قرار می‌گیرند که حاوی یک یا دو ملکول رامنوز در اتصال به یک یا دو ملکول بتا هیدروکسی کربوکسیلیک اسید می‌باشند. این بیوسورفکتنت‌ها می‌توانند کشش سطحی آب را تا ۲۵ mN/m کاهش دهند [۱، ۴، ۶، ۱۱ و ۱۲].

هدف از این تحقیق، بررسی تولید رامنولیپید درون یک بیوراکتور (روش خارج محل) از گونه بومی سودومناس آرجینوزا<sup>۲</sup> جدا شده از خاک‌های آلوده به نفت ایران و تزریق آن به یک میکرومدل به منظور مطالعه ازدیاد برداشت نفت است.

1. Pseudomonas Aeruginosa
2. Pseudomonas Aeruginosa HATH
3. LB-Medium
4. Yeast Extract

همزن در فاصله ۱ cm از پایه تخمیرکننده واقع شده بود. سه تیغه با فاصله‌بندی یکسان در تخمیر کننده و عرض ۱ cm متصل به دیواره مخزن بودند. ستون تفکیک کف به فضای بالای تخمیرکننده متصل بود. فرمانتور دارای سنسورهای کنترل دما، سرعت همزدن، سرعت هوادهی، DO<sup>۱</sup> و pH بود. لوله‌ای که به مخزن جمع آوری کف استریل متصل بود، جمع آوری کف را میسر ساخت. برای تولید رامنولپید، ۵۰۰ ml محیط کشت در شرایط استریل به درون فرمانتور اتوکلاو شده ریخته شد و پس از سرد شدن، ۲۵ ml از محیط پیش کشت (۵٪ حجمی) به آن اضافه شد. نمونه‌گیری‌ها در زمان‌های مختلف انجام گرفت.

**تعیین غلظت بحرانی تشکیل میسل (CMC):** مقدار CMC بستگی به حلالیت سورفکتنت در فاز آبی دارد و به‌عنوان معیاری جهت ارزیابی کارایی یک سورفکتنت شناخته می‌شود. غلظت بحرانی تشکیل میسل‌ها به غلظتی از سورفکتنت گفته می‌شود که در بالاتر از این مقدار، میسل‌ها به‌طور مرتب تشکیل می‌شوند. در این غلظت سطح بین دو مایع به طور کامل با سورفکتنت پر می‌شود. با افزایش میزان سورفکتنت میزان میسل تشکیل شده بیشتر می‌شود. قبل از رسیدن به میزان CMC، کاهش کشش سطحی به مقدار زیادی با غلظت سورفکتنت افزایش می‌یابد. پس از رسیدن به CMC، کاهش کشش سطحی دیگر دیده نمی‌شود. هرچه این غلظت کمتر باشد، بیوسورفکتنت کارایی بیشتری دارد. برای تعیین CMC کشش سطحی مایع در غلظت‌های مختلف به روش رینگ اندازه‌گیری شد.

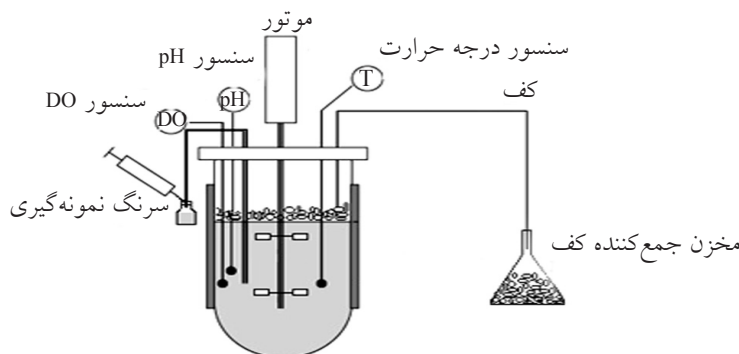
برای تهیه محیط کشت، محلول‌های A، B و C به‌صورت جداگانه اتوکلاو می‌شوند. در محلول D به‌دلیل حساسیت به حرارت، مواد از طریق فیلتراسیون با فیلترهای ۰/۲۲ μ استریل می‌شود. در شرایط استریل، محلول‌های A و C به نسبت مساوی با هم مخلوط شده و پس از اضافه کردن روغن آفتاب‌گردان به آن، ۱ ml از محلول D به ۱ lit از محیط کشت افزوده می‌شود.

**اتوکلاو:** برای استریل کردن محیط‌های کشت از اتوکلاو برقی استفاده شد. زمان استریل ۲۰ دقیقه در دمای ثابت ۱۲۱°C است.

**شیکر انکوباتور:** برای هم زدن محیط کشت و تامین درجه حرارت مناسب از شیکر انکوباتور مدل (shaker ISF1\_X Kuhner shaker X,climo) استفاده شد.

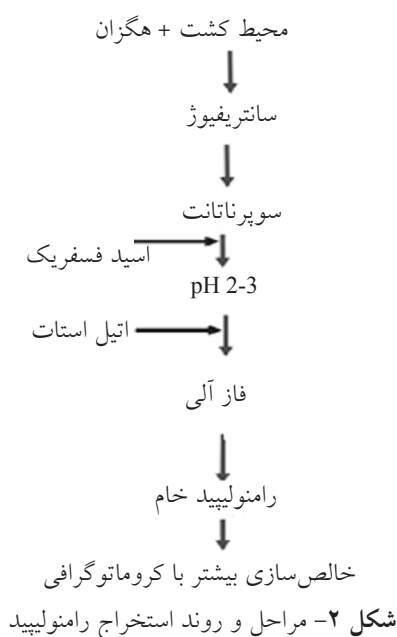
**دستگاه کشش سطحی:** کشش سطحی نمونه‌ها توسط دستگاه تنسیومتر (kruss k10T) به روش حلقه اندازه‌گیری گردید. در این روش حلقه دستگاه که از جنس آلایژ پلاتین می‌باشد، در مایع غوطه‌ور می‌گردد. نیروی وارد بر حلقه غوطه‌ور شده بر روی صفر تنظیم شده و حلقه به آرامی از درون مایع به خارج کشیده می‌شود. نیروی مورد نیاز برای خارج کردن حلقه از سطح مایع، حداکثر نیروی ثبت شده توسط دستگاه، به‌عنوان کشش سطحی مایع در نظر گرفته می‌شود.

**بیوراکتور:** به منظور جداسازی کف از کشت‌های ناپیوسته، سیستمی به‌کار رفت که در آن ستون تفکیک کف به بالای بیوراکتور اضافه شد (شکل ۱). تخمیرکننده به حجم ۲/۵ lit با ۲ همزن راشتون هرکدام به قطر ۴۵ mm، بهم زده شد. همزن‌ها ۵۰ mm از یکدیگر فاصله داشتند و پایین‌ترین



شکل ۱- شماتیک بیوراکتور مورد استفاده جهت تولید بیوسورفکتنت

1. Dissolved Oxygen
2. Critical Micelle Concentration



همچنین به دلیل اینکه رامنولیپید یک سورفکتانت غیر یونی است، میزان کمی از آن روی سطح شیشه جذب می‌شود [۱۹ و ۲۰]. به همین دلیل در تحقیق حاضر از تغییرات زاویه تماس با سطح صرف نظر می‌گردد، یا به عبارت دیگر فرض شده است این سورفکتانت تأثیری روی ترشوندگی سطح ندارد.

#### ساخت میکرو مدل شیشه‌ای

یک میکرو مدل رایج با توجه به هدف این تحقیق مبنی بر مشاهده جریان سیال در محیط متخلخل و با توجه به اینکه معمولاً در سنگ مخزن حفرات به صورت نامنظم پخش شده‌اند، طراحی و ساخته شد. نمونه‌ای که در این آزمایش ساخته شد، بر اساس طرح مقطع نازک تهیه گردید که از سنگ مخزن ماسه سنگی استخراج شد. با استفاده از نرم افزار Corel Draw، یکی از الگوهای رایج شامل مجموعه‌ای از خطوط که به طور کاملاً تصادفی در صفحه پخش شده‌اند، طراحی گردید.

الگوی استفاده شده در این تحقیق به گونه‌ای طراحی شده است که بتوان در آن به خوبی تفاوت عملکرد محلول‌های بیوسورفکتانت با آب را مشاهده کرد. شبکه ماتریکس شامل خطوط دارای طول بین ۱/۵ تا ۴ mm و عرض ۰/۱ تا ۰/۲ mm می‌باشد. شکل ۳ الگوی استفاده شده را نمایش می‌دهد.

**اندازه‌گیری غلظت روغن آفتاب‌گردان:** تعیین مقدار غلظت روغن آفتاب‌گردان به روش وزنی انجام گردید. ۲ ml حلال هگزان به ظروف از قبل وزن شده انتقال یافت و پس از تبخیر هگزان، ظروف مورد نظر مجدداً توزین شد.

**اندازه‌گیری بیومس:** به منظور جداسازی باکتری‌ها، محیط کشت در دستگاه سانتریفیوژ (Multifuge 1S-R, Heraeus) درون لوله‌های مخصوص از قبل وزن شده در ۱۰۰۰۰ rpm و ۴ °C سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت برای انجام کلیه آزمایش‌ها به منظور بررسی میزان تولید بیوسورفکتانت مورد استفاده قرار گرفت. رسوب باقی‌مانده یا بیومس پس از سانتریفیوژ، ۲ بار با آب نمک ۰/۹٪ شستشو داده شد. پس از آن بیومس به مدت ۲۴ ساعت در حرارت ۱۰۰ °C خشک شده و سپس توزین گردید [۶ و ۷].

**استخراج و خالص‌سازی رامنولیپید:** به ۱ ml از نمونه گرفته شده محیط کشت، ۱۰ μl H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> و ۱/۲۵ ml اتیل استات اضافه گردید [۷ و ۸]. مدت ۳۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ rpm در ۴ °C سانتریفیوژ شد و سپس فاز آلی آن جدا گردید. برای اطمینان بیشتر از جداسازی، یک بار دیگر فاز آبی با ۱/۲۵ ml اتیل استات استخراج گردید. پس از تبخیر اتیل استات در دمای ۵۰ °C و ۲۰۰۰ rpm درون یک تبخیرکننده، رامنولیپید زرد رنگ ظاهر می‌شود.

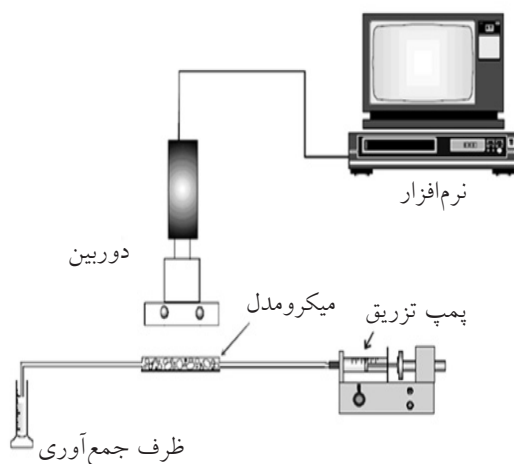
**اندازه‌گیری غلظت رامنولیپید:** برای تعیین غلظت رامنولیپید از دستگاه HPLC<sup>۱</sup> (Agilent 1100 Series) استفاده شد. ستون استفاده شده در دستگاه C18 با قطر ۵ μm و دبی تزریق ۰/۸ ml/min بود. در صورت استفاده از روغن آفتاب‌گردان به عنوان منبع کربنی، لازم است در ابتدا روغن باقی‌مانده در محیط کشت توسط هگزان جدا شده و اندازه‌گیری شود. شکل ۲ مراحل و روند استخراج رامنولیپید را نشان می‌دهد.

**روش کار آزمایش‌های مشاهده‌ای:** برای انجام آزمایش‌های مشاهده‌ای جریان فازهای آبی و آلی، از میکرومدل‌های شیشه‌ای استفاده می‌شود. این میکرومدل‌ها به عنوان شبیه‌ساز دو بعدی سنگ مخزن نفتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. از نظر ترشوندگی، میکرومدل‌های شیشه‌ای معمولاً بسیار آب-تر تلقی می‌شوند، زیرا خصوصیات شیمی سطح شیشه شبیه به ماسه سنگ می‌باشد.

1. High Performance Liquid Chromatography

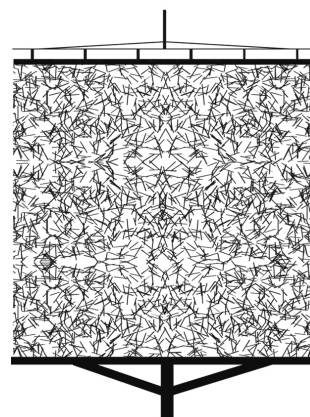
### آزمایش‌های سیلاب‌زنی در میکرومدل

تمامی آزمایش‌های سیلاب‌زنی میکرومدل در فشار اتمسفری انجام گرفته است. از پمپ مخصوص تزریق سرنگ مدل SP-500, JMS برای تزریق سیالات در مدل استفاده شده است. شکل ۴ کل سیستم تزریق و تحلیل را نشان می‌دهد. یک دوربین فیلم‌برداری یا عکاسی با وضوح بسیار بالا در زمان‌های مقتضی از مدل عکس‌برداری یا فیلم‌برداری می‌کند. عکس‌ها و فیلم‌ها تحلیل شده و نتایج استخراج می‌شود.



شکل ۴- سیستم تزریق در میکرومدل همراه با سیستم تحلیل

آزمایش‌های مشاهده‌ای شامل سیلاب‌زنی با آب و سپس با محلول بیوسورفکتانت می‌باشد. بازیافت نهایی سیلاب‌زنی با آب و بازیافت نهایی سیلاب‌زنی با محلول بیوسورفکتانت در این آزمایش‌ها بررسی، اندازه‌گیری و تحلیل شده است. برای به‌دست آوردن بازیافت در هر مرحله از تزریق، از رابطه  $Recovery = \frac{1 - S_{wc} - S_{or}}{1 - S_{wc}}$  استفاده می‌شود که در این رابطه  $S_{or}$  و  $S_{wc}$  به ترتیب اشباع آب کاهش نیافتنی یا همزاد و اشباع نفت باقی مانده می‌باشند. دبی تزریق  $1 \text{ ml/h}$  انتخاب شد. از آنجایی که نیروی موینگی تابع کشش سطحی میان دو فاز می‌باشد و هدف از این تحقیق بررسی ازدیاد برداشت نفت با مکانیسم کاهش کشش بین سطحی توسط بیوسورفکتانت‌ها است، از دبی کم ( $1 \text{ ml/h}$ ) در آزمایش‌ها استفاده می‌شود.



شکل ۳- الگوی استفاده شده برای ساخت میکرومدل

با تاباندن نور، این الگو بر روی فیلم خشک مقاوم در برابر نور یا لمینیت که بر روی یک قطعه آینه کاملاً چسبانده شده است، ظاهر می‌شود. با استفاده از محلول قلیایی مناسب، قسمت‌های سیاه رنگ حل شده و آماده حکاکی با اسید فلوریدریک می‌شود. ورودی و خروجی میکرومدل با دریل سوراخ می‌شود. شیشه صاف دیگری روی صفحه حکاکی شده قرار می‌گیرد و در کوره در دمای بالا فیوز می‌شود. پس از خنک شدن، سر سرنگ‌ها برای ورودی و خروجی نصب می‌شود. برای داشتن یک میکرومدل مناسب با عمق خوردگی تقریباً یکنواخت، لازم است زمان حکاکی و غلظت اسید کنترل گردد. برای اندازه‌گیری حجم حفرات، میکرومدل در حالت افقی قرار گرفته و از یک طرف تزریق انجام می‌شود. در دو زمان مشخص از مدل، عکس گرفته می‌شود. به دلیل معلوم بودن زمان گرفتن عکس‌ها و دبی تزریق، حجم تزریقی در این بازه زمانی هم مشخص می‌باشد. درصد سطحی سیالات تزریقی در هر دو حالت توسط نرم‌افزار Matlab اندازه‌گیری می‌شود [۲۱]. برنامه‌ای در محیط Matlab نوشته شده که می‌تواند درصد رنگ‌های مورد نظر در یک عکس را محاسبه نماید. با داشتن حجم تزریق در بازه مورد نظر و تفاوت سطوح، می‌توان متوسط اندازه عمق حفرات را محاسبه نمود. جدول ۲ خصوصیات میکرومدل استفاده شده را نشان می‌دهد.

جدول ۲- پارامترهای فیزیکی مدل

تراوایی مدل	عمق متوسط مدل	حجم حفرات مدل	تخلخل
۱۰۱ D	۰/۰۵۷۰۶ mm	۰/۳۳۵ cm <sup>3</sup>	٪۴۱/۵

### بحث و نتایج

#### تولید رامنولپید با استفاده از بیوراكتور طراحی شده

تولید رامنولپید تحت شرایط  $37^{\circ}\text{C}$  و  $500\text{ rpm}$  و  $0.5\text{ (v/v) m}$  در بیوراكتور طراحی شده به مدت  $100$  ساعت انجام شد. طی مدت تولید از بیوراكتور در زمان‌های معلوم با استفاده از سرنگ‌های مخصوص جهت بررسی تولید رامنولپید نمونه گیری شد. در این آزمایش پس از  $90$  ساعت کشت، بیشترین مقدار تولید بیوسورفکتنت در حدود  $12\text{ g/l}$  به دست آمد. همچنین نتایج نشان داد در  $24$  ساعت اول، رامنولپید بسیار کمی تولید می‌شود. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت تولید رامنولپید در فاز سکون صورت گرفته است.

#### بررسی کشش سطحی رامنولپید تولید شده

نتایج نشان می‌دهد برای بیوسورفکتنت خالص به دست آمده در این تحقیق، مقدار حداقل غلظت بیوسورفکتنت که پس از آن کشش سطحی و بین سطحی تغییر نمی‌کند، برابر  $120\text{ mg/l}$  می‌باشد. به عبارت دیگر کشش سطحی از  $70\text{ mN/m}$  به  $28\text{ mN/m}$  و کشش بین سطحی از  $36\text{ mN/m}$  به  $4\text{ mN/m}$  در غلظت CMC می‌رسد. کاهش کشش سطحی محیط رشد، مهم‌ترین و اصلی‌ترین معیار برای اثبات تولید بیوسورفکتنت محسوب می‌شود. سویه‌های مولد بیوسورفکتنت که توسط محققین دیگر جداسازی شده، توانسته بودند کشش سطحی محیط رشد را از  $69$  تا  $27\text{ mN/m}$  کاهش دهند. بنابراین نتایج

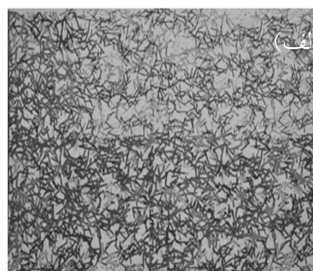
به‌دست آمده قابل مقایسه با نتایج تحقیقات قبلی می‌باشد [۶، ۷ و ۱۲]. به‌عنوان مثال در تحقیقات مشابه که توسط هورمان و همکارانش و همچنین مولر و همکارانش انجام گردیده، نتایج مشابهی به‌دست آمده است [۶ و ۷]. هورمان و همکاران [۶] با استفاده از رامنولپید تولید شده توسط باکتری DSM 9509 پلانتری<sup>۱</sup> توانستند کشش سطحی آب را به  $28\text{ mN/m}$  کاهش دهند. مولر و همکاران [۷] نیز با استفاده از رامنولپید تولید شده توسط باکتری PAO1 سودومناس آرجینوزا توانستند کشش سطحی آب را به  $27\text{ mN/m}$  برسانند. بنابراین نتیجه به‌دست آمده از این تحقیق در سطح قابل قبولی می‌باشد. این ویژگی‌ها تایید می‌کند رامنولپید تولید شده توسط باکتری *Pseudomonas Aeruginosa* HATH دارای پتانسیل خوبی به منظور کاربرد از دیاد برداشت نفت به‌خصوص در از دیاد برداشت میکروبی می‌باشد.

#### نتایج آزمایش‌های تزریق در میکرومدل شیشه‌ای

در آزمایش‌های مشاهده‌ای، بازیافت در مراحل مختلف تزریق با تحلیل عکس‌های گرفته شده در هر مرحله به‌دست می‌آید. به‌دلیل اینکه امکان نشان دادن تمام عکس‌ها در این مقاله وجود ندارد، برای روشن شدن روند کار تنها یک عکس در شکل ۵ نشان داده شده است. در جدول ۳ نیز میزان بازیافت نهایی آب و بازیافت نهایی پس از تزریق محلول بیوسورفکتنت ارائه شده است.

جدول ۳- بازیافت نهایی در تزریق آب و محلول بیوسورفکتنت

افزایش برداشت (%)	بازیافت نهایی پس از تزریق محلول رامنولپید (%)	بازیافت نهایی آب (%)	دبی تزریق (ml/h)
۵	۶۴/۲	۵۹/۲	۱



شکل ۵- عکس از میکرومدل (الف): مرحله نهایی سیلاب‌زنی با آب (ب): مرحله نهایی سیلاب‌زنی با محلول بیوسورفکتنت با غلظت  $120\text{ mg/lit}$  در دبی  $1\text{ ml/h}$

حداکثر میزان رامنولپید تولید شده برابر با ۱۲ g/l در بیوراکتور به دست آمد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که بیوسورفکتنت تولید شده دارای پتانسیل خوبی در کاهش کشش سطحی و همچنین کشش بین سطحی است. بیوسورفکتنت تولید شده توسط سویه مورد بررسی در این تحقیق، کشش سطحی آب را از ۷۰ به حدود ۲۸ mN/m رساند. در آزمایش‌های مشاهده‌ای، با استفاده از میکرومدل شیشه‌ای، در صورتی که سیلاب‌زنی با محلول بیوسورفکتنت پس از سیلاب‌زنی با آب باشد، ازدیاد بازیافت نفت به میزان ۵٪ مشاهده شد. در پایان با توجه به نتایج این تحقیق، به نظر می‌رسد استفاده از بیوسورفکتنت‌ها در صنایع مختلف از جمله صنایع نفت، می‌تواند مفید باشد. کشور ما نیز می‌تواند با دستیابی به فناوری تولید صنعتی و بومی این گونه مواد، یکی از مدعیان اصلی این صنعت در دنیا بوده و از این راه درآمدهای ارزی زیادی به دست آورد.

#### علائم و نشانه‌ها

LB-Medium :LB

Dissolved Oxygen: DO

Critical Micelle Concentration:CMC

High Performance Liquid Chromatography:HPLC

همان‌گونه که می‌دانیم به تله افتادن نفت در طول حفره‌های سنگ مخزن با استفاده از نیروهای ویسکوز و نیروهای موئینگی کنترل می‌گردد. عدد موئینگی ( $\mu\gamma/\delta$ ) به صورت نسبت نیروهای ویسکوز به نیروهای موئینگی تعریف می‌شود. در این رابطه  $\mu$  و  $\gamma$  به ترتیب سرعت و ویسکوزیته سیال جابه‌جا کننده و  $\delta$  کشش بین سطحی آب و نفت می‌باشد [۱]. این معادله نشان می‌دهد که عدد موئینگی با کاهش کشش بین سطحی افزایش می‌یابد که باعث ازدیاد برداشت نفت می‌شود. همان‌طور که در جدول ۳ و شکل ۵ دیده می‌شود، پس از آنکه میکرومدل توسط تزریق آب به بازیافت نهایی خود رسیده، سیلاب‌زنی با محلول رامنولپید باعث افزایش بازیافت نفت می‌شود. در واقع بازیافت نهایی بهبود می‌یابد. نتایج به دست آمده از این آزمایش نشان می‌دهد رامنولپید تولید شده در این تحقیق، با تغییر کشش بین سطحی، باعث ازدیاد برداشت نفت در حدود ۵٪ می‌شود.

#### نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، رامنولپید از Pseudomonas Aeruginosa HATH در sa از طریق تخمیر در یک بیوراکتور تولید گردید. بررسی رشد Pseudomonas Aeruginosa HATH در بیوراکتور با اندازه‌گیری غلظت رامنولپید نشان داد که رامنولپید در انتهای فاز لگاریتمی و ابتدای فاز سکون تولید می‌شود.

#### مراجع

- [1]. Sen R., "Biotechnology in petroleum recovery: The microbial EOR", Progress in Energy and Combustion Science, Vol. 34, pp.714-724, 2008.
- [2]. Carrillo P. G., Mardaraz C., Pitta-Alvarez S. I. and Giulietti A. M., "Isolation and selection of biosurfactant-producing bacteria", World Journal of Microbiology and Biotechnology, Vol. 21, pp. 82-84, 1996.
- [3]. Abu-Ruwaida A. S., Banat I. M. and Haditirto S., "Isolation of Biosurfactant producing bacteria", Product characterization and Evaluation, Biotechnology, pp. 315-324, 1991.
- [4]. Fiechter A., "Integrated system for biosurfactant synthesis", Biotechnology. pp. 1739-1745, 1992.
- [5]. Nereus W. and Daniel K. Y., Processes for the production of rhamnolipids, United States patent, patent No: US 7,202,063 B1. 2007.
- [6]. Hörmann B., Müller M. M., Sylatck C. and Hausmann R., "Rhamnolipid production by Burkholderia plantarii DSM 9509", Eur. J. Lipid Sci. Technol., Vol. 112, pp.674-680, 2010.

- [7]. Müller M. M., Hörmann B., Syldatk C. and Hausmann R., "Pseudomonas aeruginosa PAO1 as a model for rhamnolipid production in bioreactor systems", Appl. Microbiol. Biotechnol., Vol. 87, pp.167–174, 2010.
- [8]. Davis D. A., Lyncha H. C. and Varley J., "The application of foaming recovery of Surfactin from *B. subtilis* ATCC 21332 cultures", Enzyme Microbiol. Technol., Vol. 28, pp. 346-354, 2001.
- [9]. Chen C. Y., Baker S. C. and Darton R. C., "Batch production of biosurfactant with foam fractionation", Chem. Technol. Biotechnol., Vol. 81, pp. 1923-1931, 2006.
- [10]. Benincasa M., Contiero J., Manresa M. A. and Moraes I. O. "Rhamnolipid production by pseudomonas aeruginosa Lbi", Journal of Food Engineering. Vol. 54, pp. 283-288, 2004.
- [۱۱]. امانی ح., بررسی فرایند ازدیاد برداشت میکروبی نفت با بیوسورفکتنت ها، پایان نامه دکتری، دانشکده فنی، دانشگاه تهران، تیر ۱۳۸۹.
- [12]. Wang Q. H., Fang X. D., Bai B. J., Liang X. L., Shuler P. J., Goddard W. A. and Tang Y. C., "Engineering bacteria for production of rhamnolipid as an agent for enhanced oil recovery", Biotechnol. Bioeng., Vol. 98, pp. 842–853, 2007.
- [13]. Amani H., Mehrnia M. R., Haghghi M., Sarrafzadeh M. H. and Soudi M. R., "Scale up and Application of Biosurfactant from *Bacillus subtilis* in Enhanced Oil Recovery, Applied Biochemistry and Biotechnology", Vol. 162, pp. 510–523, 2010a.
- [14]. Amani H., Sarrafzadeh M. H., Haghghi M. and Mehrnia M. R., "Comparative study of biosurfactant producing bacteria in MEOR applications", Petroleum Science and Engineering, Vol. 75, pp. 209–214, 2010b.
- [15]. Sayegh S. G., Fisher D. B., "Enhanced Oil Recovery by CO<sub>2</sub> Flooding in Homogeneous and Heterogeneous 2D Micromodels", Journal of Canadian Petroleum Technology, Vol. 48, pp. 30-36, 2009.
- [16]. Rashedi H. R., Mazaheri Assadi M., Jamshidi E. and Bonakdarpour B., "Optimization of the Production of Biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* HR Isolated from an Iranian Southern Oil well", I. Journal of Chem. Eng., Vol. 25, No.1, pp. 25-29, 2006.
- [۱۷]. رضایی ر., مظاهری اسدی م., آذین م., تولید رامنولیپید توسط باکتری سودوموناس آئروجینوزا از ملاس چغندر قند تیمار شده، نشریه علوم دانشگاه تربیت معلم، جلد نهم، شماره ۳، صفحات ۵۲۴–۱۳۹۰، ۵۱۱.
- [۱۸]. ربیعی ف., مظاهری اسدی م., آذین م., تولید رامنولیپید با سودوموناس آئروجینوزا در محیط کشت حاوی آب پنیر تیمار شده، نشریه علوم دانشگاه تربیت معلم، جلد هشتم، شماره ۴، صفحات ۳۱۸–۳۰۳، ۱۳۸۷.
- [19]. Sreekala T. and Gina S. S., "Effect of Anionic Biosurfactant on Hexadecane Partitioning in Multiphase Systems", Environmental Science and Technology, Vol. 28, No. 12, pp. 1993–2000, 1994.
- [20]. Bubela B., "Geobiology and microbiology enhanced oil recovery", Donaldson EC, Elsevier, Amsterdam. Chapter 4, pp. 75-95, 1896.
- [۲۱]. حشمتی م., آزمایشات مشاهده‌ای سیلاب‌زنی با پلیمر در سیستم‌های ناهمگن، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده فنی، دانشگاه تهران، ۱۳۸۵.