Archive of SID

مجموعه مقالات چهارمین کنفرانس ملی مهندسی مخازن هیدروکربوری و صنایع بالادستی
۷ خرداد ۱۳۹۴، ایران، تهران، مرکز همایش‌های صدا و سیما
مجری: هم اندیشان انرژی کیمیا ۸۸۶۷۱۶۷۶ – ۰۲۱
www.Reservoir.ir

جدا سازی باکتری‌های بومی با هدف رفع آسیب سازندی پلیمری و ازدیاد برداشت نفت

امین الدین ظریفی [۱]، معین جهانبانی وشاره [۲]، ریاض خراط [۳]، سید شهاب الدین آیت اللهی [۴*]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی مخازن هیدروکربوری، دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران
[۲] دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی مخازن هیدروکربوری ، دانشگاه صنعتی شریف دانشکده مهندسی شیمی و نفت
[۳] استاد و عضو هیئت علمی، دانشگاه صنعت نفت
[۴] استاد و عضو هیئت علمی ، دانشگاه صنعتی شریف
Amin68za@gmail.com

چکیده

باکتری‌های بومی هر مخزن سازگاری بیشتری با شرایط آن مخزن دارند. به منظور امکان‌سنجی رفع آسیب سازندی ناشی از عملیات تزریق پلیمر و در عین حال فعال کردن مکانیزم‌های رایج ازدیاد برداشت میکروبی، ۲ مخزن از مناطق جنوب ایران با دمای کمتر از ۸۰°C انتخاب شد. برای هرچه بیشتر عملی کردن این روش امکان تزریق و استفاده از باکتری‌های بومی آب دریا نیز مورد بررسی قرار گرفت. کاهش گرانروی به عنوان شاخص تجزیه زیستی پلیمر در نظر گرفته شده است. توانایی تولید مواد فعال سطحی زیستی حین تجزیه زیستی پلیمر به منظور کاربردهای ازدیاد برداشت پیشرفته بررسی شده است. برای سنجش توانایی باکتری‌ها در تولید مواد فعال سطحی زیستی اندازه‌گیری کشش بین سطحی به روش قطره آویزان انجام شد. از میان گونه‌های مختلف جدا شده یک گونه از آب دریا و یک گونه از نفت مخزن (الف) و یک گونه جدا شده از نفت مخزن (ب) توانایی تجزیه زیستی پلیمر و در نتیجه توانایی رفع آسیب‌های سازندی پلیمری را دارند. از میان این سه باکتری، دو گونه علاوه بر توانایی تجزیه زیستی پلیمر قادر به تولید مواد فعال سطحی زیستی بیشتری هستند و می‌توانند برداشت نفت را با مکانیزم کاهش کشش بین سطحی افزایش دهند.

کلمات کلیدی

آسیب سازند، پلیمر، گرانروی، ازدیاد برداشت به روش میکروبی، باکتری‌های بومی، مواد فعال سطحی زیستی، کشش بین سطحی

*Dr.ayatollahi@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مجموعه مقالات چهارمین کنفرانس ملی مهندسی مخازن هیدروکربوری و صنایع بالادستی
۷ خرداد ۱۳۹۴، ایران، تهران، مرکز همایش‌های صدا و سیما
مجری: هم اندیشان انرژی کیمیا ۸۸۶۷۱۶۷۶ – ۰۲۱
www.Reservoir.ir

۱- مقدمه

پلیمرها کاربردهای گسترده‌ای در صنایع بالادستی نفت به عنوان گرانروکننده[†] سیالات شکاف زنی و تکمیل چاه دارند. در میان پلیمرها، پلیمر HPAM به عنوان پرکاربردترین پلیمر در صنعت نفت شناخته می‌شود. مطالعات اخیر نشان داده است جذب مولکول‌های پلیمری توسط دانه‌های سازندی سبب افزایش غلظت و رسوب پلیمر در گلوگاه‌های موجود در محیط متخلخل مخزن شده و باعث کاهش تراوایی و آسیب سازندی می‌شود. رفع آسیب پلیمرها معمولاً مشکل است[۱]. اصولاً به منظور رفع آسیب سازندی از تزریق اسید و یا تجزیه زیستی پلیمرها استفاده می‌شود، با توجه به مشکلات عدیده ناشی از اسید زنی از جمله ریسک بالا، تخریب بالای تجهیزات سر چاهی و ته چاهی و هزینه بالا، روش‌های میکروبی محاسنی مانند کم هزینه بودن، سازگاری با محیط زیست و همچنین پایدار بودن زیست فرآورده‌ها نسبت به دما و شوری دارند که اخیراً این روش‌ها را بسیار مورد توجه قرار داده است. میکروارگانیسم‌ها با فعال کردن مکانیزم‌های مختلف از جمله تجزیه زیستی پلیمر در گلوگاه‌هایی که بعد از تزریق پلیمر با کاهش تراوایی مواجه شده‌اند می‌توانند با از بین بردن تخریب سازندی سبب افزایش تولید شوند و یا با تولید مواد فعال‌ساز سطحی زیستی و کاهش کشش بین سطحی نفتی (که به دلیل غلبه نیروهای موئینه بر نیروهای گرانرو در مخزن نفتی به تله افتاده و نمی‌تواند تولید شود) سبب افزایش تولید شوند [۲]. مواد فعال سطحی زیستی از جمله مهم‌ترین زیست فرآورده‌ها هستند که با کاهش کشش بین سطحی آب/نفت منجر به کاهش فشار موئینه می‌شوند[۳]. با توجه به محدودیت منابع آبی و نزدیکی عمده مخازن نفتی ایران به دریای خلیج فارس، اکثر پروژه‌های تزریق پلیمری با آب دریا انجام می‌شود، در نتیجه باکتری‌هایی با توانایی تجزیه زیستی پلیمر HPAM در آب دریا می‌تواند در جهت موفقیت انجام پروژه‌های تزریق پلیمری موثر واقع شود.

۲- روش و مراحل تحقیق

۲-۱- نمونه‌گیری

به منظور بررسی دقیق‌تر تأثیر میکروارگانیسم‌ها بر فرآیند تزریق پلیمری در مخزن سعی بر آن شد که باکتری‌های مورد بررسی علاوه بر توانایی تجزیه پلیمر HPAM ، از نمونه‌های نفتی و آب دریا جداسازی شوند. در نتیجه از سه باکتری برای تجزیه پلیمر HPAM استفاده شد. نمونه‌گیری به وسیله ظروف استریل مخصوص آن انجام شد. بسته به دسترسی به نفت، قبل از ورود به تفکیک‌گر (حاوی باکتری‌های درون مخزن) از واحد بهره‌برداری مربوطه نمونه‌گیری شد. با توجه به عدم دسترسی به آب مخزن و همچنین احتمال زیاد حضور باکتری‌های مخزن در فاز آبی نسبت به فاز هیدروکربنی سعی بر آن شد که در واحدهای بهره‌برداری از نمکی‌ترین چاه‌ها نمونه‌گیری شود (چا هایی که کمی تولید آب دارند). نمونه آب دریا به منظور اطمینان از عدم تداخل گونه‌های غیر بومی از فاصله‌ای دور از ساحل و به دور از آلودگی‌های ساحلی، از عمق یک متری گرفته شد. نمونه‌های گرفته شده در جدول (الف) قابل مشاهده است.

جدول ۱: لیست نمونه‌های گرفته شده

نمونه‌های نفتی	نفت مخزن (الف) (گرفته شده از چاه نمکی)	نفت مخزن (ب)
نمونه‌های آبی	آب دریا	آب کف تانک مخزن (ب)

[†] Viscosifire

www.SID.ir

Archive of SID

۲-۲- جداسازی باکتری‌ها

برای اطمینان از جداسازی کامل تمام گونه باکتری‌های موجود از دو روش/محیط کشت شناخته شده جداسازی استفاده شد. ترکیب محیط کشت اول $(NH_4)_2SO_4$ ۱۰، KCl ۱,۱، NaCl ۱,۱، $FeSO_4.7H_2O$ ۰,۰۰۰۲۸، KH_2PO_4 ۴,۳، $K_2HPO_4.3H_2O$ ۴,۴، $MgSO_4$ ۰,۵، عصاره مخمر ۰,۵ گرم، محلول عناصر جزئی ۰,۵ سی‌سی بر لیتر می‌باشد. ٪۲ w/v نرمال هگزادکان به عنوان منبع کربن استفاده می‌شود. محلول عناصر جزئی شامل $ZnSO_4$ ۰,۲۹، $CaCl_2$ ۰,۲۴، $CuSO_4$ ۰,۲۵، $MnSO_4$ ۰,۲۷ گرم بر لیتر می‌باشد. به ml ۵۰ از این محیط کشت در یک ارلن ml ۲۵۰ پس از آتوکلاو کردن ۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های آب و نفت و ۱ گرم از نمونه خاک اضافه شده و مدت ۵ روز در دمای $37^{\circ}C$ و دور rpm ۱۶۰ گذاشته می‌شود [4]. روش جداسازی دوم روش باشنل هاس است. محیط کشت باشنل هاس توسط انجمن میکروبیولوژی صنعتی SIM، کمیته تجزیه میکروبی سوخت‌ها، برای بررسی میکروبیولوژی سوخت‌ها پیشنهاد شده است. ترکیب این محیط کشت $MgSO_4$ ۰,۲، $CaCl_2$ ۰,۰۲، KH_2PO_4 ۱,۰، K_2HPO_4 ۱,۰، $(NH_4)NO_3$ ۱,۰، $FeCl_3$ ۰,۰۵ گرم بر لیتر می‌باشد. ٪۱ w/v نرمال هگزادکان به عنوان منبع کربن استفاده می‌شود. به ml ۵۰ از این محیط کشت در یک ارلن ml ۲۵۰ پس از آتوکلاو کردن ۱ میلی‌لیتر از نمونه های آب و نفت به مدت ۳۰ روز در دمای $37^{\circ}C$ گذاشته می‌شود[5]. پس از این مرحله ml ۰,۱ از رقت‌های ۱ تا 10^{-8} محیط‌های مایع بر محیط کشت لوریا برتونی آگار، آگار خونی و مک کانکی آگار پخش شد. گونه-های رشد کرده طی کشت دادن خطی متوالی به شکل ماکروسکوپیک خالص‌سازی شدند.

۲-۳- غربال‌گری گونه‌های با توانایی تجزیه زیستی پلیمر HPAM

با توجه به کاربرد گسترده پلیمر HPAM در صنعت نفت از این پلیمر با خصوصیات ٪۲۳ هیدرولیز و میانگین وزن ملکولی $2 * 10^7$ در این تحقیق استفاده شده است.

برای مشاهده توانایی باکتری‌های جداسازی شده در تجزیه زیستی پلیمر HPAM از محیط کشت SBM استفاده شد. ترکیب این محیط کشت جامد Yeast extract ۰,۱، HPAM ۰,۳، KH_2PO_4 0.5، K_2HPO_4 ۰,۵، $MgSO_4$ ۰,۲، NaCl ۰,۵، آگار ۱۵ گرم بر لیتر می‌باشد. با توجه به این که این محیط منبع کربنی غیر از پلیمر HPAM ندارد تنها باکتری‌هایی توانایی رشد بر این محیط را دارند که توانایی تجزیه پلیمر HPAM را داشته باشند[6]. باکتری‌های جداسازی شده بر این محیط کشت داده و برای مدت ۳ روز درون اتوکلاو با دمای $37^{\circ}C$ درجه قرار داده شدند.

۲-۴- آماده‌سازی نمونه به منظور تست گرانروی و کشش سطحی

به منظور تهیه کشت مبنا[‡]، سه باکتری مذکور در جدول ۲ در محیط کشت غنی لوریا برتونی براث کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت (در حالی که باکتری‌ها در فاز رشد توانی هستند) و پس از تنظیم OD_{660} هر سه نمونه بر روی ml ۱، ml ۱ از این محلول در ml 100 از محیط کشت پایه نمکی MSS در ارلن های ml۲۵۰ تلقیح شد. محیط کشت MSS دارای ترکیب 0.5 Yeas extract، KH_2PO_4 ۸,۱، K_2HPO_4 ۲۰,۸۵، NaCl ۰،۱ $NaNO_3$ ۱ گرم بر لیتر (pH=۷) می‌باشد. با توجه به ساختار پیچیده HPAM برای تسهیل تجزیه زیستی آن از گلوکز که یک قند ساده می‌باشد به عنوان یک محرک اولیه استفاده شد تا HPAM در انتهای فاز توانی رشد (و پس از ایجاد جمعیت میکروبی کافی برای انجام فرآیند تجزیه زیستی) به عنوان منبع کربن قرار گیرد. به این منظور از غلظت ۵ گرم بر لیتر گلوکز و ۲ گرم بر لیتر HPAM استفاده شد. بعد از آتوکلاو

‡ Seed Culture

www.SID.ir

Archive of SID

کردن محیط پایه، ۱۰ml محلول عناصر کم مقدار با ترکیب $MgSO_4$ (w/v)٪۰,۲۵ و $(NH_4)_2SO_4$ ۱٪ و ۱۰ml عناصر کم مقدار

با ترکیب EDTA ۰,۵، $MnSO_4.2H_2O$ ۳، NaCl ۱، $CaCl_2.2H_2O$ ۰,۱، $ZnSo_4.7H_2O$ ۰,۱، $FeSO_4.7H_2O$ ۰,۱، $CuSO_4.5H_2O$ ۰,۰۱، $AlK(SO_4)_2$ ۰,۰۱، $Na_2Mo_4.2H_2O$ ۰,۰۱، H_3BO_3 ۰,۰۱، Na_2SeO_4 ۰,۰۰۵، $NiCl_2.6H_2O$ ۰,۰۰۳گرم بر لیتر بعد از فیلتراسیون به محیط کشت MSS اضافه شد[۷]. برای حذف عامل شوری، دما (در آتوکلاو) و لرزش (درون انکوباتور لرزان) یک نمونه بدون تلقیح باکتری به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. هر چهار نمونه در دمای ۳۷°C و با دور ۱۶۰ rpm درون انکوباتور قرار داده شدند.

۲-۵- اندازه‌گیری گرانروی

سه نمونه و محلول شاهد بعد از گذشت ۴ روز به منظور انجام تست گرانروی مورد بررسی قرار گرفتند. جهت اندازه‌گیری تغییرات گرانروی از دستگاه رئومتر (Anton Paar-MCR 301) ساخت اتریش با دقت بالا استفاده شد.

شکل ۱: دستگاه رئومتر

تعیین خصوصیات رئولوژیک نمونه‌ها با استفاده از رئومتری صفحه به صفحه (plate and plate) با قطر ۲۵ mm انجام شد. با توجه به اندازه ذرات موجود و با انجام آزمون موسوم به Gap ramp (فضای بین صفحه گردان و صفحه ثابت) و در واقع، محل قرارگیری نمونه‌ها، معادل با 0.8 mm تعیین شد. تغییرات گرانروی برای هر نمونه در نرخ های برشی بین ۰,۰۱ تا ۱۰۰۰ (1/s) مورد بررسی قرار گرفت.
هر کدام از آزمون‌ها دارای دو بار تکرار می‌باشد.

۲-۶- اندازه‌گیری کشش سطحی

www.SID.ir

Archive of SID

توانایی تولید مواد فعال سطحی زیستی برای هر یک از سه گونه بررسی شد. بعد از گذشت ۱۰ روز نمونه‌های درون انکوباتور برای جداسازی باکتری‌ها از محیط کشت، با دور ۶۰۰۰ rpm و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. کشش بین سطحی محلول زیست فرآورده‌های حاصل با روش قطره آویزان (تحلیل پروفایل قطره) اندازه‌گیری شد.

۳- ارائه و تحلیل نتایج

۳-۱- جداسازی گونه‌های با توانایی تجزیه زیستی پلیمر HPAM

در محیط کشت جامد SBM پلیمر HPAM به عنوان تنها منبع کربن در اختیار میکروارگانیسم‌ها قرار گرفت. در نتیجه تنها گونه‌هایی قادر به رشد بر روی آن بودند که توانایی تجزیه و مصرف پلیمر را داشته باشند. در میان گونه‌های جداسازی شده تنها سه باکتری مذکور در جدول ۲، با رشد بر محیط کشت SBM توانایی تجزیه پلیمر HPAM را از خود نشان دادند.

جدول ۲: باکتری‌های مورد بررسی با توانایی تجزیه پلیمر HPAM

نفت مخزن (الف)
نفت مخزن (ب)
آب دریا

۳-۳- تأثیر تجزیه زیستی پلیمر بر کشش بین سطحی

با توجه به داده‌های بدست آمده دو گونه آب دریا و نفت مخزن (الف) قادر به کاهش کشش سطحی به شکل قابل ملاحظه‌ای بودند. بنابراین می‌توان از باکتری‌های بومی مخزن (الف) و آب دریا در جهت بر طرف کردن تخریب سازندی ناشی از تزریق پلیمری و در عین حال برای ازدیاد برداشت به روش میکروبی با مکانیزم کاهش کشش بین سطحی استفاده کرد. گونه مخزن (ب) تنها توانایی رفع آسیب سازند را داشته و قادر به تولید بیوسورفکتانت نیست.

جدول ۲- نتایج آزمون قطره آویزان

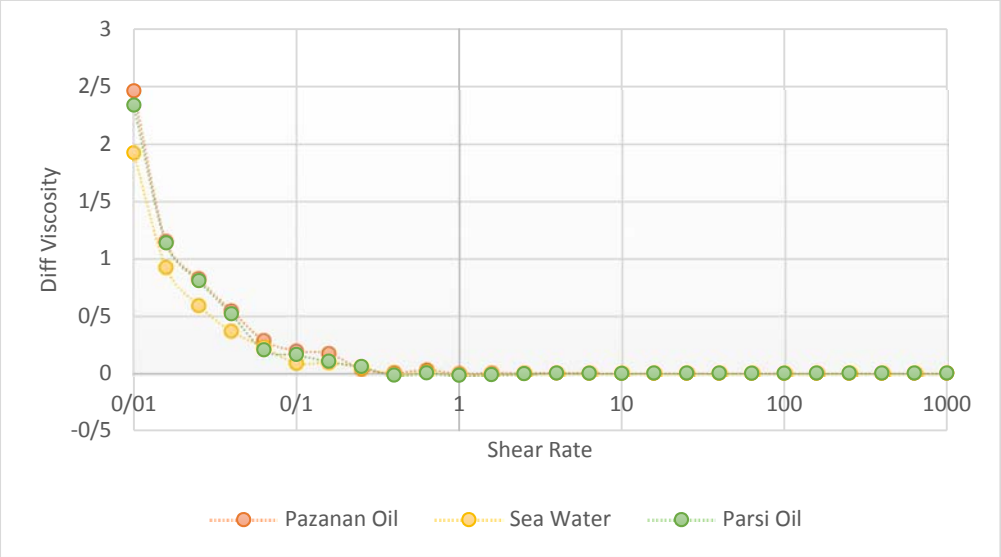
باکتری جداسازی شده	کشش بین سطحی (mN/m)
شاهد	۲۳,۲۵
باکتری مخزن (الف)	۴,۷۷
باکتری مخزن (ب)	۱۹,۳۹
آب دریا	۱,۷۵

۳-۴- تأثیر تجزیه زیستی پلیمر بر گرانروی

www.SID.ir

Archive of SID

اختلاف گرانروی هر نمونه با گرانروی شاهد بر حسب تغییرات نرخ برشی در نمودار نیمه لگاریتمی زیر رسم شد.

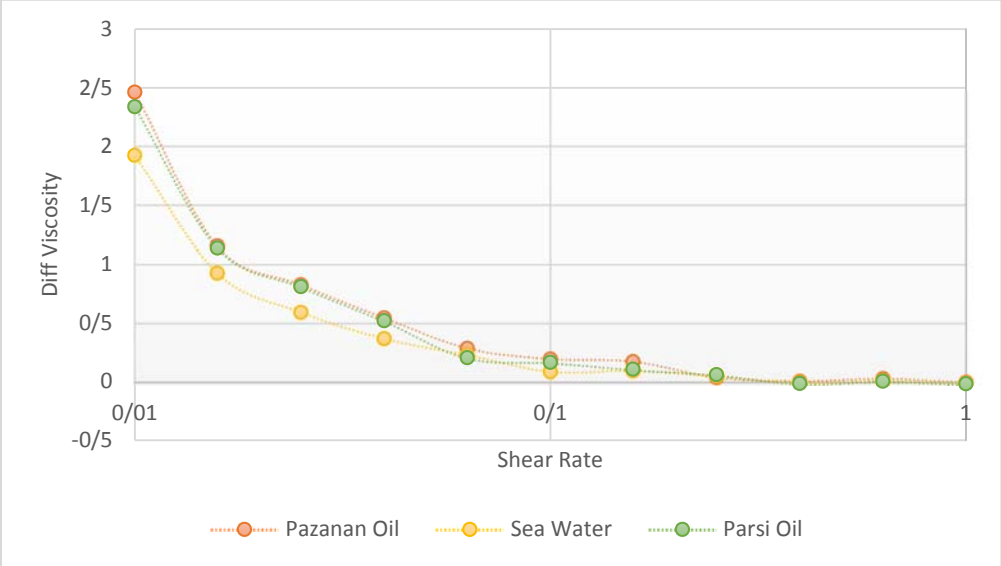


شکل ۱: تغییرات اختلاف گرانروی بر حسب نرخ برش

برای تفسیر صحیح شکل ۱، توجه به این نکته حائز اهمیت است که در نرخ‌های برشی بالا گرانروی وابستگی خیلی کمی به جرم مولکولی دارد، بنابراین باید انتظار داشت اثر تخریب زیستی (شکست و تغییر جرم مولکولی) را در نرخ‌های برشی پائین مشاهده کرد. با توجه به این که در محیط متخلخل مخزن نرخ‌های برشی پائین اتفاق می‌افتد، تغییر گرانروی در این نرخ‌های برش می‌تواند تاثیر زیادی بر موفقیت تزریق پلیمری به منظور ازدیاد برداشت و یا رفع آسیب سازندی در مخزن داشته باشد. همان طور که شکل ۱ نشان می‌دهد تاثیر میکروارگانیسم‌ها در محدوده نرخ‌های برشی پایین قابل ملاحظه است. علاوه بر مطالب فوق، با توجه به این که پلیمر HPAM با غلظت ۲۰۰۰ppm در محیط کشت مورد استفاده قرار گرفته اما عواملی نظیر دمای بالای آتوکلاو، نمک‌های موجود در محیط کشت MSS و دور ۱۶۰rpm در انکوباتور سبب شده اختلاف گرانروی نمونه‌ها و نمونه کنترل در نرخ‌های برشی بالاتر به حدود صفر برسد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲: تغییرات اختلاف گرانروی در نرخ برش‌های پایین

شکل ۲ بزرگ نمایی شده شکل ۱ و بیان کننده این حقیقت است که در نرخ‌های برش پائین تاثیر باکتری‌ها بر گرانروی بسیار قابل ملاحظه بوده است و در نتیجه برای انجام تزریق پلیمری به این دو مخزن با استفاده از آب دریا، باید علاوه بر در نظرگیری خصوصیات سنگ و سیال، از لحاظ میکروارگانیسم‌های موجود، توانایی آن‌ها را در تجزیه زیستی پلیمری مورد بررسی قرار داد.

۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش پتانسیل فعال شدن دو مکانیزم تجزیه زیستی پلیمر و کاهش کشش بین سطحی به صورت هم زمان توسط میکروارگانیسم‌ها بررسی شد. به منظور امکان‌سنجی اجرای فرآیند ازدیاد برداشت میکروبی به روش درجا و رفع آسیب‌های سازندی ناشی از استفاده پلیمر، جداسازی باکتری‌های بومی از ۲ مخزن جنوب ایران با دمای قابل قبول و آب دریای خلیج فارس (به عنوان اصلی‌ترین منبع آبی در اجرای فرآیندهای ازدیاد برداشت) صورت گرفت. از آب دریا و نفت مخزن (الف) باکتری با توانایی بالا در کاهش کشش سطحی جداسازی شد، که امکان اجرای فرآیند ازدیاد برداشت میکروبی به روش درجا با کمک آب دریا، در این مخزن را فراهم می‌کند. هر سه باکتری جداسازی شده توانایی بالایی در تجزیه زیستی پلیمر به منظور رفع آسیب‌های سازندی ناشی از استفاده پلیمر (در حفاری به عنوان سیال گرانرو کننده و یا در ازدیاد برداشت شیمیایی) را دارند. برای هر چه عملی‌تر کردن این روش، نیاز به بررسی سازگاری محلول مواد مغذی تزریقی با آب همزاد هریک از مخازن می‌باشد.

۵- مراجع

[1] P.M Roberts, et al., *Ultrasonic removal of organic deposits and polymer-induced information* damage , SPE, U. of Texas

[2] Willhite, G.P. and D. Green, *Enhanced Oil Recovery*. 1998.

www.SID.ir

Archive of SID

[3] معین جهانبانی, محمد صادق موسی پور, مطالعه مکانیزم‌های حاکم بر تغییر ترشوندگی طی فرایند ازدیاد برداشت به روش میکربی, دومین همایش ملی نفت و گاز ایران, دانشگاه شهید باهنر کرمان, ۱۳۹۳.

[4] Peng, F., et al., *An oil-degrading bacterium: Rhodococcus erythropolis strain 3C-9 and its biosurfactants.* Journal of applied microbiology, 2007. **102**(6): p. 1603-1611.

[5] Bushnell, L. and H. Haas, *The utilization of certain hydrocarbons by microorganisms.* Journal of Bacteriology, 1941. **41**(5): p. 653.

[6] Mutai Bao., et al., *Biodegradation of partially hydrolyzed polyacrylamide by bacteria isolated from production water after polymer flooding in an oil field*, 2010. **184**(3): p. 105-110.

[7] Karimi, M., et al., *Investigating wettability alteration during MEOR process, a micro/macro scale analysis.* Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2012. **95**: p. 129-136.

[8] Youssef, N.H., et al., *Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganisms.* Journal of Microbiological Methods, 2004. **56**(3): p. 339-347.

www.SID.ir