بررسی پتانسیل روش‌های میکروبی در ازدیاد برداشت از مخازن نفتی ایران (مطالعه‌ی موردی: میدان مسجدسلیمان)

حسین قجاوند* معاونت پژوهش و فن‌آوری وزارت نفت

چکیده

حدود هفتاد سال از ثبت اختراع زوبل راجع به پتانسیل استفاده از میکروارگانیسم‌ها در برداشت نفت از مخازن هیدروکربنی می گذرد و در این خصوص در کشورهای مختلف کارهای زیادی در مقیاس میدانی انجام شده است. اما در ایران با وجود تنوع زیاد مخازن نفتی و وجود کاندیداهای، همچنان در استفاده از این فرآیندها تردید وجود دارد. در مقاله‌ی حاضر سعی شده ضمن توصیف فرآیندهای مختلف ازدیاد برداشت میکروبی نفت و متغیرهای غربال‌گری مخازن نفتی و همچنین معرفی چندین مخزن مناسب برای اجرای این فرآیندها، مطالعه‌ی موردی انجام شده در سال‌های اخیر روی یکی از میادین نفتی کشور بررسی شود. از آنجا که عمق، دما و شوری در اغلب مخازن نفتی ایران زیاد است، جهت استفاده از فرآیندهای میکروبی با هدف بهبود تولید نفت، نیازمند استفاده از گونه‌های میکروبی بی‌هوازی یا بی‌هوازی اختیاری با تحمل شوری و دمای زیاد هستیم. این باکتری‌ها ممکن است بومی مخازن ایران یا انتخاب شده از اکوسیستم‌های دیگر باشند. متغیرهای محیطی مخزن مانند دما، تراوایی سنگ و شوری معمولاً کاربرد انواع میکروارگانیسم‌هایی که می‌توانند برای فرآیندهای میکروبی درجا به کار برده شوند را محدود می کند. به‌همین دلیل جداسازی میکروبی و به کارگیری روش‌های غربال‌گری مناسب برای انتخاب باکتری از مراحل مهم در اجرای یک فن‌آوری موفق ازدیاد برداشت میکروبی نفت خواهد بود. بنابراین در تحقیق حاضر، یک برنامه‌ی جداسازی و غربال‌گری باکتری از نمونه‌ی آب سازند مخزن آسماری میدان نفتی مسجدسلیمان طراحی شد و طی آن باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری با تحمل شوری و دمای زیاد جدا شد. این باکتری‌ها بعضاً قادر به رشد تا دماهای بسیار زیاد و تحمل شوری تا غلظت ۱۵w/v درصد بودند. بر اساس معیارهای تحمل شوری و دما، فعالیت همولیز و کاهش کشش سطحی، در نهایت چند سویه‌ی باکتریایی مولد بیوسورفکتانت که سورفکتانت تولیدی آنها نسبت به دیگر سویه‌ها، قابلیت کاهش کشش سطحی زیادی داشت غربال‌گری شد. مطالعات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی، آنالیز اسید چرب دیواره‌ی سلولی و شناسایی توالی نوکلئوتیدهای ژن 16S rRNA این سویه‌ها نشان داد که آنها متعلق به یک گونه باسیلوس با شباهت نزدیکی به گروه Bacillus subtilis هستند. خاصیت فعال‌سطحیِ کم‌نظیر سورفکتانت‌های تولیدی توسط باکتری‌های جدا شده در این تحقیق از میدان مسجدسلیمان، نشان‌دهنده‌ی پتانسیل استفاده از این باکتری‌ها یا سورفکتانت‌های تولیدی توسط آنها در مقوله‌ی ازدیاد برداشت میکروبی نفت است.

واژگان کلیدی ازدیاد برداشت میکروبی نفت، مسجدسلیمان، بیوسورفکتانت، کشش سطحی

مقدمه

تولید طبیعی نفت بسته به فشار اولیه‌ی مخزن نفتی و عوامل دیگری مانند خواص سنگ مخزن، میزان تخلخل و همچنین خواص سیال مخزن، معمولاً کمتر از ۳۰ تا ۵۰ درصد کل نفت درجای اولیه است. پس از این مرحله‌ی تولید نفت، از روش‌های سیلاب‌زنی آبی و تزریق گاز جهت تأمین نیروی محرکه‌ی لازم برای به‌حرکت درآوردن نفت به‌سمت چاه‌های تولید استفاده می‌شود. پس از تولید نفت به کمک روش‌های مرحله دوم، هنوز حدود ۳۰ تا ۵۰ درصد نفت درجا در مخزن وجود دارد که برای تولید آن از روش‌های حرارتی، شیمیایی، امتزاجی و میکروبی استفاده می‌شود [۱]. هر یک از این روش‌ها به شکل‌های مختلف با افزایش بازده جاروب حجمی (E_p) یا افزایش بازده جابجایی میکروسکوپیک (E_d) و در نهایت منجر به افزایش بازده کلی برداشت نفت (E_r) خواهند شد:

$$E_r = E_p \times E_d \quad (۱)$$

از بین این روش‌ها، ازدیاد برداشت میکروبی نفت یکی از کم‌هزینه‌ترین روش‌هاست که در صورت فراهم بودن شرایط تزریق میکروارگانیسم‌ها یا محصولات متابولیکی آنها به داخل مخزن نفتی می‌تواند به‌عنوان روشی مؤثر، از طریق مکانیزم‌های مختلف، بازده جاروب حجمی و بازده جابجایی میکروسکوپیک نفت را افزایش دهد [۵-۲].

۱- انواع روش‌های ازدیاد برداشت میکروبی

به‌طور کلی روش‌های ازدیاد برداشت میکروبی نفت را می‌توان به دو دسته‌ی کلی روش‌های برون‌جا و درون‌جا تقسیم کرد:

*نویسنده‌ی عهده‌دار مکاتبات (h_ghojavand@aut.ac.ir)

الف) روش برون‌جا: تولید محصولات متابولیکی از قبیل پلی‌ساکاریدها در بیرون از مخزن و سپس تزریق آن به مخزن

ب) روش درون‌جا: تحریک میکروارگانیسم‌های بومی درون مخزن از طریق تزریق مواد مغذی مناسب یا تزریق میکروارگانیسم به‌همراه مواد مغذی به درون مخزن با هدف تولید محصولات متابولیکی مفید از قبیل بیوسورفکتانت‌ها

در صورت مناسب بودن شرایط تزریق میکروارگانیسم به مخزن نفتی بازده روش درون‌جا بیشتر خواهد بود. اما در صورتی که امکان تزریق میکروارگانیسم وجود نداشته باشد امکان تولید این مواد در بیرون از مخزن در شرایط کنترل‌شده و بهینه برای میکروارگانیسم وجود دارد. از آنجا که پایداری این محصولات بیشتر از میکروارگانیسم‌های تولیدکننده‌ی آنهاست در این حالت نسبت به حالت تزریق باکتری به درون مخزن، محدودیت‌های کمتری وجود دارد. از جمله موادی که به‌شکل برون‌جا تولید شده می‌توان به صمغ زانتان که توسط باکتری زانتاموناس کامپتریس تولید می‌شود اشاره کرد که از سال‌ها قبل در صنعت نفت مورد استفاده بوده است. محدوده‌ی وسیعی از محصولات میکروبی که می‌توانند E_p و E_d و در نتیجه بازده کلی برداشت نفت را افزایش دهند در جدول-۱ ارائه شده‌اند [۴].

از این محصولات، بیوسورفکتانت‌ها (از طریق کاهش نیروهای بین‌سطحی بین آب/نفت و در نتیجه آزاد کردن نفت که به‌دلیل وجود نیروهای مویینگی در حفره‌های کوچک به‌تله افتاده) و بیوپلیمرها (از طریق افزایش گرانروی آب و در نتیجه کاهش نسبت تحرک‌پذیری) مهم‌ترین محصولات میکروبی هستند که به‌ترتیب بازده جابجایی میکروسکوپیک و بازده جاروب حجمی نفت را افزایش می‌دهند. رشد درجای میکروارگانیسم‌ها نیز اختلاف تراوایی را کاهش داده و با مسدود کردن مسیرهای جریان آب سبب کاهش تولید آب و افزایش بازده جاروب فرآیند تزریق آب می‌گردد.

از مهم‌ترین مزیت‌های فرآیندهای میکروبی نسبت به سایر فرآیندهای ازدیاد برداشت نفت، استفاده از مواد مغذی مانند ملاس‌ها و پروتئین‌های کم‌ارزش است که عموماً ارزان‌تر از سایر ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در ازدیاد برداشت نفت هستند[۶]. روش‌های میکروبی با وجود تنوع و مزیت‌های زیاد دارای محدودیت‌هایی نیز هستند که کاربردی شدن آنها را برای مخازن ایران با چالش مواجه کرده است. کاربرد این روش‌ها برای کنترل جریان سیال تا حد زیادی به شرایط محیطی مخزن مانند PH، شوری، دما و تراوایی وابسته‌اند. نتیجه‌ای که می‌توان از مقالات و گزارش‌های علمی گرفت آن است که موفقیت یک فرآیند ازدیاد برداشت میکروبی نفت به مواردی از قبیل انتخاب مناسب مخزن کاندیدا، انتخاب مناسب گونه‌های باکتریایی بالقوه، بقاء باکتری‌ها در شرایط مخزن، مقدار متابولیت‌های تولید شده و آثار آنها بر آزادسازی نفت باقیمانده بستگی دارد [۶].

بنابراین مشخصات مخزن مورد نظر در طراحی یک فرآیند ازدیاد برداشت میکروبی نفت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. برای اجرای فرآیندهای میکروبی، یک مخزن نفت باید حداقل شرایطی که در جدول-۲ ارائه شده را داشته باشد [۷و۶]. مشخصات ذکر شده در این جدول برای استفاده از فرآیندهای میکروبی به‌صورت درون‌جاست. برای استفاده از فرآیندهای میکروبی به‌صورت برون‌جا محدوده‌ی این شرایط می‌تواند وسیع‌تر باشد. در حالت نخست برای موفقیت یک فرآیند میکروبی درون‌جا، تحمل باکتری‌ها به شرایط شوری، دما و همچنین تزریق‌پذیری (داشتن تراوایی مناسب) مخزن بستگی دارد. اما در حالت دوم پایداری محصول میکروبی در شرایط مخزن و خواص آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. محدوده‌ی مشخصات مخازنی که برای فرآیند تزریق محصولات میکروبی مناسب هستند همان شرایط لازم برای تزریق مواد شیمیایی است [۸].

از آنجا که هدف تحقیق حاضر بررسی پتانسیل روش‌های میکروبی ازدیاد برداشت از مخازن نفت کشور است، باید شرایط مخازن ایران از لحاظ متغیرهای محدودکننده برای فرآیندهای میکروبی مدنظر قرار گیرد. همان‌طور که اشاره شد یکی از مهم‌ترین متغیرهای یک مخزن نفتی که تا حد زیادی بر موفقیت فرآیند ازدیاد برداشت میکروبی نفت

جدول ۱ محصولات میکروبی و کاربردهای آنها در ازدیاد برداشت میکروبی نفت

	محصولات میکروبی	فرآیندهای میکروبی
۱	بیوسورفکتانت‌ها	کاهش کشش سطحی/بین‌سطحی، امولسیون‌سازی
۲	بیوپلیمرها	کنترل تحرک‌پذیری و اصلاح پروفایل تزریق‌پذیری
۳	بیومس	انسداد انتخابی، تجزیه‌ی نفت و کاهش گرانروی، تغییر ترشوندگی سطوح و سولفورزدایی نفت‌خام
۴	اسیدها	افزایش تخلخل و تراوایی سنگ مخزن و تولید دی‌اکسید کربن از طریق واکنش با کربناته‌ها
۵	گازها	تجدید فشار مخزن، تورم نفت، کاهش گرانروی، افزایش تراوایی با حل‌کردن سنگ‌های کربناته
۶	حلال‌ها	حل‌کردن نفت و کاهش گرانروی

جدول ۲ معیارهای غربال‌گری مخازن برای فرآیندهای ازدیاد برداشت میکروبی نفت [۷و۶]

متغیر	متغیر محدوده‌ی پیشنهادی
شوری	۱۵%> کلرید سدیم، می‌تواند کل جامدات حل شده بیشتر باشد
مینرال‌های جزئی	۱۰–۱۵ppm> آرسنیک، جیوه، نیکل، سلنیوم
نوع نفت‌خام	۱۵°API<، هنوز اطلاعات کافی برای نفت‌های سنگین‌تر در دسترس نیست
دمای مخزن	۱۷۰°F>
عمق مخزن	۸۰۰۰ft>
درجه‌ی اشباع نفت باقیمانده	۲۵%> ممکن است استثنا هم وجود داشته باشد
تراوایی سنگ مخزن	۵۰mD<، به‌استثنای مخازن شدیداً شکاف‌دار

مؤثر خواهد بود دمای مخزن است. رشد باکتری‌ها به توانایی آنزیم‌های باکتریایی برای کاتالیز فرآیندهای متابولیک و در نتیجه به دما بستگی دارد. به‌طور کلی آنزیم‌ها در دماهای کم به‌علت انرژی سینتیک کم، فعالیت کمتری دارند و با افزایش دما فعال‌تر می‌شوند. ولی به‌هر حال با افزایش زیاد دما، آنزیم‌ها ماهیت خود را از دست داده و کارکرد آنها متوقف می‌شود. باکتری‌ها در یک محدوده‌ی دمایی ۵°C- تا ۸۰°C قادر به رشد هستند. اما به‌هر حال هریک از گونه‌های باکتریایی خاص در محدوده‌ی دمایی معینی قابلیت رشد و فعالیت دارند. باکتری‌ها از نظر دمای رشد به چهار گروه تقسیم می‌شوند:

الف) ساکروفیل‌ها که قادر به رشد در محدوده‌ی دمایی ۵°C- تا ۲۰°C هستند (دمای رشد بهینه: حدود ۱۰°C)

ب) مزوفیل‌ها که قادر به رشد در محدوده‌ی دمایی ۲۰°C تا ۴۵°C هستند (دمای رشد بهینه: حدود ۳۷°C)

ج) ترموفیل‌ها که قادر به رشد در محدوده‌ی دمایی ۳۵°C تا ۸۰°C هستند (دمای رشد بهینه: حدود ۵۵°C)

د) هایپر ترموفیل‌ها که قادر به رشد در دماهای بیش از ۸۰°C و بعضاً تا ۱۰۵°C هستند

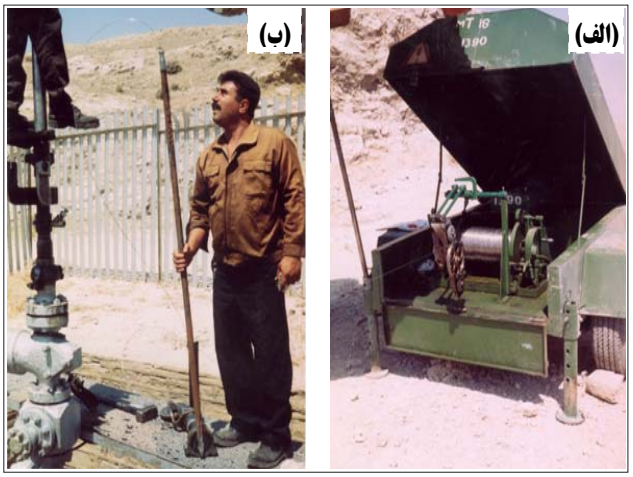
بنابراین با توجه به مشخصات مخازن نفتی ایران، کاربرد فرآیندهای میکروبی برای ازدیاد برداشت نفت منوط به وجود میکروارگانیسم‌های ترموفیل با خواص متابولیکی مطلوب جهت افزایش بازده جاروب حجمی یا بازده جابجایی میکروسکوپیک نفت است. در جدول-۳ به تعدادی از مخازن نفتی جنوب که باکتری‌های ترموفیل قادر به فعالیت در آنها هستند و می‌توانند کاندیداهای مناسبی برای مطالعات ازدیاد برداشت میکروبی نفت باشند اشاره شده است.

طبق این جدول در بین میادین نفتی ایران، میدان مسجدسلیمان به‌علت عمق کم و نزدیکی به سطح زمین، کمترین دما را داشته و در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری از علاقمندان به این حوزه از تحقیقات در کشور قرار گرفته است. این میدان عظیم که در شمال شرقی استان خوزستان واقع شده قدیمی‌ترین میدان نفتی ایران و اولین میدان نفتی کشف شده در خاورمیانه است. سنگ مخزن اصلی میدان مسجدسلیمان را سازند آسماری تشکیل داده اما این میدان علاوه بر سازند آسماری، ذخیره‌ی کمی نیز در زبانه‌ی آهکی سازند شهبازان در سازند پابده دارد. میدان مسجدسلیمان در طول عمر خود ۱/۴ میلیارد بشکه نفت تولید کرده است. نفت این میدان از نوع نفت‌های سبک با API برابر ۳۹ و مقدار گوگرد ۰/۸۸ درصد وزنی است. وسعت میدان $45mi^2$، ضخامت مخزن آسماری ۱۰۰۰ft، عمق سازند ۳۶۰۰ft-۶۴۰ و سطح تماس آب/نفت ۲۲۰۰ft.s.s است. متوسط تخلخل مخزن ۱۱ درصد و ضریب حجمی اولیه‌ی سازند برابر ۱/۱۱ می‌باشد [۹]. میدان مسجدسلیمان به‌دلیل شرایط ذکر شده کاندیدای مناسبی برای اجرای فرآیندهای میکروبی ازدیاد برداشت نفت است. در مقاله‌ی حاضر به بخشی از یک مطالعه موردی که در سال‌های اخیر روی این میدان انجام شده پرداخته خواهد شد.

همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد انتخاب مناسب گونه‌های باکتریایی بالقوه، از مهم‌ترین اصول موفقیت یک فرآیند ازدیاد برداشت در میدان نفتی است. این گونه‌های میکروبی را می‌توان از باکتری‌های موجود در نمونه‌های سیالات همان مخزنِ کاندیدای اجرای فرآیندهای میکروبی جدا کرد. مخازن نفتِ حاوی جمعیت‌های میکروبی، از نظر متابولیکی فعال و متنوع هستند. این میکروارگانیسم‌ها حتی در مخازن نفتی با شوری و دمای زیاد نیز دیده شده‌اند. این ارگانیسم‌ها در گردش کربن و سولفور در مخزن فعال بوده و پتانسیل استفاده از هیدروکربن به‌عنوان دهنده‌ی اصلی الکترون برای تنفس بی‌هوازی را دارند. باکتری‌ها

جدول ۳ | غربال‌گری مخازن نفت ایران برای فرآیندهای ازدیاد برداشت میکروبی نفت از لحاظ دمای مخزن

	میدان نفت – سازند	دمای مخزن (°C)
۱	مسجدسلیمان – آسماری، پابده	۳۹
۲	هفتکل – آسماری	۴۶
۳	ویزنهار – ایلام	۴۹
۴	بوشگان – آسماری	۵۴
۵	کبود – آسماری	۵۴
۶	لالی – آسماری	۵۶
۷	سرکان – بنگستان	۵۶
۸	مالمکوه – بنگستان	۵۶
۹	خویز	۶۲
۱۰	پر سیاه – آسماری	۶۳
۱۱	پارسی – آسماری	۶۶
۱۲	گچساران – آسماری	۶۱
۱۳	گچساران – بنگستان	۶۱
۱۴	گهربیشه – آسماری	۶۰



شکل ۱ | (الف) دستگاه چاه‌پیمایی MT (ب) ابزار نمونه‌گیری آب سازند که توسط MT در اعماق مدنظر به درون چاه هدایت می‌شود

می‌توانند با سرعت‌های محسوس در سنگ مخزن و حتی در سنگ‌های با تراوایی خیلی کم نفوذ کنند. بنابراین فعالیت‌های میکروبی در سرتاسر مخزن اتفاق می‌افتد. فعالیت‌های میکروارگانیسم‌ها در مخازن نفتی متنوع بوده و شامل فعالیت‌های مضر باکتری‌های احیاءکننده‌ی سولفات و فعالیت‌های مفیدی در برداشت اقتصادی نفت هستند. بنابراین شناخت بیشتر میکروارگانیسم‌های مخزن و عوامل مؤثر بر رشد و فعالیت آنها کمک شایانی در استخراج بهتر منابع طبیعی موجود در مخزن خواهد بود [۱۰].

مطالعه‌ی دقیق اکولوژی یک مخزن نفتی، نیازمند مغزه‌هایی است که به‌طور اسپتیک در عملیات حفاری به‌دست آمده‌اند. اما به‌دلیل هزینه‌ی فراوان حفاری، تهیه‌ی چنین مغزه‌هایی از مخازن نفتی برای مطالعات میکروبی به‌ندرت امکان‌پذیر است. بنابراین نتیجه‌گیری درباره‌ی انواع میکروارگانیسم‌های موجود و فعالیت‌های آنها در مخزن نفت باید از آنالیز میکروبی سیالات مخزن نفتی در دست مطالعه انجام گیرد.

روش‌های شمارش و جداسازی جمعیت‌های میکروبی سیالات مخازن نفتی و توصیف تنوع میکروبی آنها مشابه روش‌های مورد استفاده برای سایر محیط‌هاست. محیط و شرایط کشت باید از طریق شبیه‌سازی محل بومی (اصلی)، تا حد امکان دقیق تنظیم شود. از آنجا که اغلب مخازن نفتی، حاوی اکسیژن کم یا بدون اکسیژن هستند باید از محیط کشتی که به‌صورت بی‌هوازی تهیه شده استفاده کرد. از آنجا که بسیاری از باکتری‌های بی‌هوازی برای رشد به دی‌اکسیدکربن احتیاج دارند می‌توان از یک سیستم بافر بی‌کربنات استفاده نمود. برای تنظیم قدرت یونی محیط کشت می‌توان از آب سازند مخزن در دست مطالعه استفاده کرد. برای جداسازی و مطالعات شمارش میکروبی به‌طور معمول از فشار اتمسفریک نسبت به فشار واقعی مخزن استفاده می‌شود. از آنجا که فشارهای ۲۰MPa-۱۰ اثر سوئی بر متابولیسم باکتریایی ندارد فرض می‌شود که میکروارگانیسم‌های جدا شده در فشار اتمسفریک مشابه آنهایی هستند که در صورت استفاده از فشار واقعی مخزن جدا می‌شدند. بنابراین نشان دادن اینکه ایزوله‌ها می‌توانند در فشارهای زیاد مخازن رشد کرده و متابولیز کنند اهمیت دارد [۱۰].

شمارش و جداسازی میکروارگانیسم‌های تولیدکننده‌ی محصولات مفید جهت ازدیاد برداشت نفت (جدول-۱)، نیازمند محیط‌های کشت با ترکیب خاصی از مواد است. برای شمارش و جداسازی میکروارگانیسم‌های تولیدکننده‌ی اسیدها، حلال‌ها یا گاز به‌عنوان محصول نهایی، باید از محیط‌های کشت حاوی یک منبع کربن آلی استفاده شود. باکتری‌های مولد پلیمر با استفاده از محیطی بر پایه‌ی کربوهیدرات با نسبت کربن به نیتروژن زیاد، عموماً بر اساس نسبت مولی بزرگتر از ۵ به یک جدا می‌شوند. باکتری‌های مولد پلیمر روی پلیت‌های آگار یا کشت‌های مایع ویسکوز، کلونی‌های لزج‌مانند تولید می‌کنند. برای فرآیندهای انسداد انتخابی میکروبی شاید تولید یک پلیمر همراه با سلول، نسبت به یک پلیمر رها شده مفیدتر باشد؛ چراکه یک پلیمر همراه با سلول، کاهش تراوایی پایدارتری ایجاد می‌کند. میکروارگانیسم‌هایی که تولیدکننده‌ی امولسیفایرها یا بیوسورفکتانت‌ها هستند ابتدا با امولسیون‌سازی یک لایه‌ی نفتی در محیط مایع نمایان می‌شوند. ایزوله‌های حاصل از این غنی‌سازی‌ها را می‌توان برای فعالیت امولسیون‌کنندگی یا کاهش کشش سطحی آب (که نشان‌دهنده‌ی تولید یک بیوسورفکتانت است)، غربال‌گری نمود. برای غربال‌گری باکتری‌های تولیدکننده‌ی بیوسورفکتانت می‌توان فعالیت همولیز اطراف کلونی‌های رشد یافته روی پلیت‌های آگار-خون یا تشکیل هاله روی پلیت‌های آگار - نفت یا تری‌بوتیلین را نیز مدنظر قرار داد. برای اینکه نفت‌هایی که در حفره‌های ریز به‌تله افتاده‌اند آزاد شده و به جریان درآیند لازم است فشار مویینگی تا حد زیادی کاهش یابد. بنابراین میکروارگانیسم‌هایی مناسب این کار هستند که بتوانند با تولید بیوسورفکتانت، کشش بین‌سطحی نفت و آب شور را تا ۱۰۰۰ برابر یا بیشتر کاهش دهند. بنابراین اندازه‌گیری کشش بین‌سطحی بین دو فاز آبی و آلی نیز در غربال‌گری این باکتری‌ها ضروری است [۱۰].

در مقاله‌ی حاضر موارد بالا طی جداسازی باکتری‌های تولیدکننده‌ی بیوسورفکتانت در یک مطالعه موردی روی میدان مسجدسلیمان استفاده و نتایج ارزشمندی از آن حاصل شد که در ادامه به آنها اشاره خواهیم کرد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- نمونه‌گیری آب سازند آسماری میدان مسجدسلیمان و آنالیز آن

برای جداسازی باکتری‌های مفید جهت استفاده در عملیات ازدیاد برداشت میکروبی نفت، نمونه‌گیری آب سازند به‌صورت ته‌چاهی توسط دستگاه چاه‌پیمایی MT (شکل-۱-الف) و با استفاده از ابزار نمونه‌گیری مخصوص (شکل-۱-ب) در اعماق مختلف (۱۷۰۰ ft.s.s-۱۴۰۰) از چاه‌های مختلف میدان مسجدسلیمان (چاه MS-166 در منطقه‌ی چوب سرخ و چاه‌های MS-179 ، MS-171 و MS-266 در منطقه‌ی تل‌بزان) که به‌دلیل تولید آب زیاد بسته شده بودند انجام گردید. نمونه‌ها جهت جداسازی میکروبی در شرایط استریل در داخل ظروف استریل شده ریخته و به آزمایشگاه منتقل شد. به‌منظور امکان‌سنجی استفاده از روش‌های میکروبی در مخزن مورد مطالعه، توسعه‌ی محیط‌های کشت غنی‌سازی و جداسازی باکتری از نمونه‌های آب مخزن، محیط کشت برای تولید متابولیت مدنظر، یون‌های Cu, Fe, NO3, SO4 CO3, HCO3, Ca, Mg, Cl, کل جامدات حل شده، کل نیتروژن، Na و K و درصد شوری به‌دقت آنالیز شد.

۲-۲- محیط‌های کشت

در این مطالعه به‌منظور غنی‌سازی نمونه‌های مورد مطالعه و جداسازی باکتری از آن، غربال‌گری باکتری‌ها و تولید متابولیت مدنظر و همچنین نگهداری سـویه‌ها، از محیط‌های کشت ذکر شده در جدول-۴ استفاده شد.

بـرای تهیه‌ی این محیط‌هـا به‌صورت بی‌هـوازی ۰/۰۵٪ w/v از یک محلول حـاوی ۲/۵٪w/v Na2S و ۲/۵٪w/v cycteine hydrochloride به محیط کشـت اضافه گردید [۱۱و۱۰]. برای جداسـازی باکتری‌ها از نمونه‌هـای غنی‌شـده و خالص‌سـازی آنهـا، از محیط کشـت PCA و PCA+5% NaCl استفاده شد.

جدول ۴ ترکیب درصد محیط‌های کشت مورد استفاده برای غنی‌سازی نمونه های آب مخزن

Culture medium	Component	Concentration (gl-1)	Reference
Modified PTYG agar medium	NaCl	254.2	[۲۲]
	$MgSO_4.7H_2O$	26.48	
	$CaCl_2.2H_2O$	18.22	
	glucose	10	
	yeast extract	10	
	peptone	5	
	trypticase	5	
	agar	15	
Medium E	glucose	10	[۱۱]
	NaCl	50	
	$(NH_4)_2SO_4$	1	
	$MgSO_4$	0.25	
	trace salt solution*	ml 10	
	K_2HPO_4	13.9	
	KH_2PO_4	2.7	
	NaNO3	1	
	yeast extract	0.5	
GMT medium	glucose	10	[۲۳]
	NaCl	30	
	tryptone	2.5	
	KCl	0.1	
	$MgCl_2$	3	
	$MgSO_4$	0.2	
	$CaCl_2.2H_2O$	0.2	
	meat extract	2	
	trace salt solution	1ml	

Composition of the trace salt solution (gl-1): EDTA, 1; MnSO4.2O, 3; FeSO4.7H2O, 0.1; CaCl2.2H2O, .1; CoCl2.6H2O, 0.1; ZnSO4.7H2O, 0.1; CuSO4.5H2O, 0.01; AlK(SO4)2.12H2O, 0.01; H3BO3, 0.01; Na2MoO4.2H2O, 0.01

۲-۳- جداسازی و غربال‌گری باکتری‌های مولد بیوسورفکتانت و بررسی رشد آنها در دماها و شوری‌های مختلف

به‌منظور جداسازی باکتری از نمونه‌های غنی‌شده و خالص‌سازی آنها، ۰/۵ ml از نمونه‌های غنی شـده روی محیط کشت PCA، کشت خطی داده شد و در دمای ۴۲°C گرمخانه‌گذاری گردید. کلونی‌های رشدیافته جهـت خالص‌سـازی، چندیـن بـار روی محیط PCA، کشـت خطی چندمرحله‌ای داده شد تا در نهایت کلونی‌های منفرد با مورفولوژی‌های یکسـان به‌دست آمد. شکل رشـد میکروسـکوپی آنها نیز با استفاده از میکروسکوپ نوری ملاحظه شـد و سپس تا انجام مرحله‌ی غربال‌گری در یخچـال در دمـای ۴°C قرار گرفـت. به‌منظور غربـال باکتری‌های مولد بیوسـورفکتانت از آزمایش همولیز باکتری‌هـا روی محیط جامد آگار-خـون دفیبرینه شـده (۴۰gr/lit محیط بـلاد آگار و ۸-۵ درصد خون دفیبرینه‌ی گوسـفند) و همچنین آزمایش کاهش کشـش سطحی سوپرناتانت حاصل از کشت باکتری‌ها روی محیط کشت E (جدول-۴) اسـتفاده گردید. فعالیـت همولیتیـک به‌صورت ظهور هاله‌ای روشـن اطـراف یک کلونی مشـخص می‌شـود [۱۹-۱۲]. تحمـل باکتری‌های جدا شـده در مقابل شـوری و دما از طریق کشـت روی محیط PCA با درصدهـای مختلف نمک و بـا گام‌های ۵٪w/v تا ۲۵٪w/v و سـپس گرمخانه‌گذاری در دماهای مختلـف از ۴۰°C تا ۶۰°C با گام‌های ۵°C بررسی گردید. بررسی توانایی رشد باکتری‌های مولد بیوسورفکتانت در شرایط بی‌هوازی در داخل جار بی‌هوازی صورت گرفت (شکل-۲).

۲-٤- شناسایی باکتری‌های انتخابی

شناسـایی اولیه باکتری‌هـای تولیدکننده‌ی سـورفکتانت بر اسـاس آزمایش‌هـا و روش‌هـای اسـتاندارد مورفولوژیکـی، بیوشـیمیایی و فیزیولوژیکـی ذکـر شـده در مراجـع [۲۱و۲۰] انجام شـد. شناسـایی کامل سـویه‌های انتخابی توسـط DSMZ آلمان بر اسـاس آنالیز اسید چرب سـلولی، تعیین توالی نوکلئوتیدهـای ژن 16S rRNA و همچنین هیبریداسیون DNA-DNA انجام گردید.

۲-۵- اندازه‌گیری کشش سطحی

مایـع رویی حاصل از کشـت هـر یـک از باکتری‌هـا روی محیط کشـت E (گرمخانه‌گـذاری در دمای ۴۰°C و دور ۲۵۰rpm) توسـط سـانتریفیوژ (در دمـای ۴°C و دور ۱۰۰۰۰xg) از بیومـس جـدا شـده و سـپس کشش سـطحی آن با اسـتفاده از دستگاه تنسـیومتر دیجیتالی (K10ST, Kruss, Germany) بـا روش De Nouy ring detachment method در دمـای ۲۵°C و به‌صورت سـه بـار تکرار بـرای هر نمونه اندازه‌گیری و میانگین آن به عنوان کشش سطحی هر نمونه ثبت گردید.

۲- نتایج و بحث

۳-۱- جداسازی باکتری‌هایِ با تحمل شوری و دمای زیاد

به‌علت تنوع وسیع باکتری‌ها (از نظر دمایی شامل ساکروفیل، مزوفیل و ترموفیل، از نظر نیاز به اکسیژن شامل بی‌هوازی، هوازی و بی‌هوازی اختیاری، از نظر تحمل شوری شامل باکتری‌هایی که نمی‌توانند شوری زیادی تحمل کنند و هالوفیل‌ها که می‌توانند در محدوده‌ی وسیعی از غلظت نمک رشد کنند، از نظر PH شامل اسیدوفیل‌ها، آلکالوفیل‌ها و ...)، شرایط عملیاتی درنظر گرفته شده برای جداسازی باکتریایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده و بر اساس این شرایط می‌توان به باکتری مطلوب رسید. هر یک از این شرایط به‌نوعی به غربالگری نیز کمک خواهند کرد؛ به عبارتی در مرحله‌ی جداسازی با درنظر گرفتن شرایط عملیاتی مناسب، یک مرحله غربال گری نیز انجام می‌شود. از آنجا که هدف از این کار، جداسازی باکتری برای استفاده در فرآیندهای ازدیاد برداشت میکروبی نفت است، باکتری‌هایی مطلوب

جدول ۵ کلونی‌های جدا شده از نمونه‌های آب سازند آسماری میدان مسجدسلیمان و مشخصات مورفولوژیکی آنها

نام چاه	محیط غنی‌سازی	ایزوله	سویه	مشخصات مورفولوژیکی
MS-۱۶۶	محیط کشت E	EB-C1	EB-C1	۱-۲mm، قوام کره‌ای، گرد و محدب با حاشیه‌ای منظم و سفیدرنگ
		EB-C2	1	کمتر از ۱mm، کرم‌رنگ با قوام کره‌ای، گرد با حاشیه‌ای منظم و سطح براق
			2	۲mm، کرم‌رنگ با قوام کره‌ای، گرد با حاشیه‌ای منظم و سطح براق
	محیط کشت GMT	GMT-B	1	۲-۳mm، کرم‌رنگ، کاملاً گرد نیست، کشیدگی بیضی شکل دارد، حاشیه‌ای تقریباً منظم
			2	۴mm، سطح کدر با قوام کره‌ای، کشیدگی بیضی شکل
			3	۲-۳mm، سطح کدر و حالت شوره‌ای، کلونی تقریباً گرد با حاشیه‌ای کمی منظم
			4A	۳-۴mm، سطح کدر و حالت شوره‌ای، تقریباً گرد با حاشیه‌ای کمی نامنظم
			4B	۳-۴mm، سطح کدر و حالت شوره‌ای، تقریباً گرد با حاشیه‌ای کمی نامنظم
	محیط کشت GMT	GMT-B-C1	1	۴mm، سطح کدر با قوام کره‌ای، گرد با حاشیه‌ای منظم
			2	۲mm، کدر با سطح شوره‌ای، گرد با حاشیه‌ای کمی نامنظم
			3	۳mm، فرم گنبدی‌شکل و براق با قوام کره‌ای، گرد با حاشیه‌ای منظم
	محیط کشت PCA	PB1	PB1	۳-۴mm، کرم‌رنگ با قوام کره‌ای، قسمت مرکزی برجسته با حاشیه‌ای گرد و منظم
		PB2	PB2	۳-۴mm، کرم‌رنگ با قوام کره‌ای، قسمت مرکزی برجسته با حاشیه‌ای گرد و منظم
	محیط کشت PTYG اصلاح‌شده	TPYGB	1	۳-۴mm، کلونی کاملاً گرد گرد با حاشیه‌ای منظم، فرم گنبدی‌شکل و براق با سطح لزج
			2	۱mm، تقریباً گرد با حاشیه‌ای منظم، سطح براق با قوام کره‌ای
			3	۴mm، تقریباً گرد، سطح کدر با قوام کره‌ای
			4	۴-۵mm، سطح براق و کاملاً لزج
	محیط کشت PTYG اصلاح‌شده	TPYGD C1-	1	۱-۲mm، فرم گل شبدر زردرنگ، قوام کره‌ای
			2	۱mm، گرد با سطح چین‌خورده، سطح کدر با قوام کره‌ای
		TPYGD C2-	1	۱mm، گرد با سطح چین‌خورده، سطح کدر با قوام کره‌ای
			2	۱mm، گرد با سطح براق، کمی مایل به زرد
	محیط کشت E	ED	ED	۴-۵mm، قوام کره‌ای، مرکز محدب و برجسته با حاشیه‌ای منظم و کامل و رنگ سفید خاکستری

هستند که از نظر نیاز به اکسیژن، بی‌هوازی یا بی‌هوازی اختیاری باشند، از نظر تحمل شوری (به‌ویژه شوری زیاد مخزن مسجدسلیمان)، تحمل زیادی داشته باشند و از نظر دما به‌علت اینکه دمای مخزن مسجدسلیمان حدود ۴۲°C است جزء دسته‌ی ترموفیل‌ها باشند. با توجه به موارد بالا و روش جداسازی ذکر شده در بخش مواد و روش‌ها، تعدادی ایزوله‌ی باکتریایی به‌دست آمد که برای هر یک از آنها تا مرحله‌ی انتخاب باکتری‌های منتخب نهایی و شناسایی آنها، کد درنظر گرفته شد. نتایج جداسازی باکتریایی و مشخصات مورفولوژیکی کلونی‌های آنها در جدول-۴ ارائه شده است.

آب سازند آسماری میدان که از چاه‌های مختلف گرفته شده بود به‌دقت آنالیز شد. میانگین ترکیب یونی نمونه‌های مختلف عبارت بود از gr/lit Na^{+} ۱۰۱/۶، K^{+} ۰/۷۵، Ca^{+2} ۶/۶، Mg^{+2} ۲/۶، Fe^{+2} ۷×۱۰$^{-۴}$، NH_4^{+} ۵×۱۰$^{-۵}$، Mn^{+2} ۹۵×۱۰$^{-۴}$، Cu^{+2} ۶×۱۰$^{-۴}$، Cl^{-} ۱۶۳، SO_4^{-2} ۱۸، CO_3^{-} ۰/۰۰۰۸، Mn_3^{-} ۰/۰۱۳، total nitrogen ۰/۰۱۳، PO_4^{-3}، total ۱۰×۱۰$^{-۴}$، Cu_3^{-} ۳/۷×۱۰$^{-۴}$. شبیه‌سازی آب سازند بر اساس آنالیز یونی عبارت بود از (gr/lit): NaCl ۲۵۴/۲، $7H_2O$، $MgSO_4$ ۲۶/۴۸، Ca. ۲۲، $Cl_2 2H_2O$ ۱۸. همان‌طور که اشاره شد شوری و دما از مشخصات مهم مخازن نفتی است که بر رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها تأثیر زیادی دارد. از لحاظ شوری، بیشتر آبهای سازندهای میادین نفتی، حاوی کلرید کلسیم یا کلرید سدیم به‌عنوان اجزاء اصلی هستند. بعضی اوقات منیزیم، بی کربنات و سولفات نیز زیاد است و سایر یون‌های موجود در این آبها معمولاً مقادیر کمی دارند [۲۵و۲۴].

از آنجا که بیش از ۹۰ درصد کل جامدات محلول دیده شده در مخازن نفت را کلرید سدیم تشکیل می‌دهد، تحمل میکروارگانیسم‌ها در مقابل کلرید سدیم یکی از مهم‌ترین مشخصات مورد نیاز برای میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در فرآیندهای ازدیاد برداشت میکروبی نفت است [۲۵]. از آنجا که یکی از مراحل غربال گری باکتری‌های جدا شده از میدان مسجدسلیمان تحمل شوری و دمای زیاد درنظر گرفته شده بود بررسی اثر شوری روی رشد باکتری‌ها در محیط کشت جامد PCA (بر اساس غلظت‌های مختلف کلرید سدیم) و بررسی اثر دما روی رشد باکتری‌های بالا به‌صورت همزمان انجام شد. بررسی‌ها نشان داد سویه‌های ED TPYG-D-C1, TPYG-D-C2, PB1, PB2, و GMT-B رشد خوبی در دماهای تا ۶۰°C و غلظت‌های مختلف نمک تا ۱۵w/v٪ داشته‌اند. از این میان تحمل سویه‌ی ED در مقابل دما و نمک از سایر سویه‌ها بیشتر بوده است.

۳-۲- غربال گری و انتخاب باکتری‌های مولد سورفکتانت برای استفاده در ازدیاد برداشت نفت

از میان سویه‌های جدا شده از آب سازند آسماری میدان مسجدسلیمان، سویه‌های مولد بیوسورفکتانت ابتدا بر اساس فعالیت همولیز و سپس بر

اساس اندازه‌گیری کشش سطحی سوپرناتانت حاصل از کشت مایع سویه‌ها در محیط کشت E، غربالگری شد. آزمایش همولیز انجام شده نشان داد که هرچند تمام ایزوله‌ها در روز نخست روی محیط آگار-خون رشد کردند ولی ایزوله‌های TPYG-D-C1 TPYG-D-C2, GMT-B, GMT-B-C1, PB1, PB2, و ED به‌عنوان باکتری‌هایِ با فعالیت همولیتیک غربال شدند.

آزمایش همولیز برای غربال‌گری باکتری‌های تولیدکننده‌ی بیوسورفکتانت توسط محققان دیگر نیز استفاده شده است [۲۷و۲۶و۱۵]. کاریلو و همکاران در ۱۹۹۶ اشاره کردند که بین فعالیت همولیتیک و تولید بیوسورفکتانت رابطه‌ای وجود دارد و استفاده از آزمایش همولیز گلبول‌های قرمز خون روی محیط آگار را برای غربال‌گری فعالیت بیوسورفکتانت به‌عنوان یک روش اولیه پیشنهاد کردند [۱۵].

جدول ۶ مقایسه‌ی کشش سطحی بیوسورفکتانت تولیدی توسط باکتری‌های جدا شده در کارهای محققان دیگر [۳۲-۲۹و۲۶]

Surfactant type		Microorganisms	Surface tension (mN/m)
Glycolipids	Glycolipids	Rhodococcus aurantiacus	26
	Glycolipids	Rhodococcus rubber IEGM 231	29
	Glycolipids	Streptococcus thermophilus A	36
	Glycolipids	Torulopsis apicola	30
	Pentasaccharide lipid	Nocardia corynebacteroides	26
	Rhamnolipid	Pseudomonas aeroginosa	29
	Rhamnolipid	Pseudomonas DSM 2874	30
	Rhamnolipid	Pseudomonas aeroginosa LBI	26.9
	Rhamnolipid	Nine pseudomonas strains	36-34
	Rubiwettins	Serratia rubidaea	25.5-25.8
	Sophorolipids	Torulopsis bombicola	33
	Trehalose-mono, Dicorynomycolates	Nocardia corynebacteroides	36-32
		Rhodococcus erythropolis	
Lipopeptides/ Aminolipids	Lipopeptides	Bacillus licheniformis JF-2	27
	Lipopeptides	Bacillus licheniformis 86	27
	lipopeptide	Bacillus licheniformis BAS50	28
	lipopeptide	Bacillus licheniformis	27
	Viscosin	Pseudomonas fluorescens	26.5
	Serrawettin	Serratia marcescens	28.8-33.9
	Surfactin	Bacillus subtilis	32-27
Fatty Acids/ Neutral Lipids	Fatty Acids	Corynebacterium lepus	30 >
	Fatty acid + neutral lipids	Nocardia erythropolis	32
Others	Protein-Carbohydrate Complex	Pseudomonas fluorescens 378	27
	Phosphatidy lethanolamines	Rhodococcus erythropolis	30

به‌هر حال تشکیل هاله ممکن است تنها به‌علت تولید سورفکتانت نباشد؛ بلکه امکان دارد دلیل آن محصولات میکروبی دیگری از جمله واکنش آنزیمی نیز باشد. یا ممکن است سورفکتانت‌ها در محیط کشت جامد آگار-خون نفوذ ضعیفی داشته باشند [۱۲]. در تحقیق حاضر این مسأله با مقایسه‌ی فعالیت همولیز ایزوله‌های TPYG-D-C2 GMT-B, و GMT-B-C1 و کاهش کشش سطحی به‌وسیله بیوسورفکتانت تولیدشده توسط آنها بررسی شد. اندازه‌گیری کشش سطحی سوپرناتانت کشت این ایزوله‌ها نشان داد که ایزوله‌های GMT-B و GMT-B-C1 کشش سطحی را تا ۲۷mN/m و ایزوله‌ی TPYG-D-C2 کشش سطحی را تا ۴۰mN/m کاهش می‌دهند؛ این در حالی است که فعالیت همولیتیک ایزوله‌ی TPYG-D-C2 از دو مورد دیگر بیشتر شده است. یوسف و همکاران در ۲۰۰۴ فعالیت همولیتیک ۲۰۵ ایزوله‌ی باکتریایی را به‌همراه بررسی فعالیت سطحی این ایزوله‌ها با روش‌های فروپاشی قطره و پراکنده کردن نفت، مطالعه کردند. آنها نتایج هر یک از این روش‌ها را با اندازه‌گیری مقدار کاهش کشش سطحی سورفکتانت تولیدی توسط هر یک از این ایزوله‌ها مقایسه کرده و نشان دادند که روش‌های فروپاشی قطره و پراکندگی نفت، با توانایی ایزوله‌ها برای کاهش دادن کشش سطحی ارتباط دارد. در حالی که رابطه‌ی بین روش همولیز و کاهش کشش سطحی توسط ایزوله‌ها همواره برقرار نیست [۱۲]. بنابراین در تحقیق حاضر، برای انتخاب ایزوله‌های مولد بیوسورفکتانت، از روش اندازه‌گیری کشش سطحی کشت عاری از سلول هر یک از ایزوله‌ها استفاده شد. با توجه به اینکه بیشترین کاهش کشش سطحی سوپرناتانت حاصل از کشت تمام ایزوله‌ها روی محیط مایع E، بعد از دو روز گرمخانه‌گذاری در دمای ۴۲°C برابر ۲۷mN/m و مربوط به ایزوله‌های GMT-B و GMT-B-C1 بود در نهایت این دو مورد به‌عنوان باکتری‌های منتخب نهایی تولیدکننده‌ی بیوسورفکتانت انتخاب شدند. ایزوله‌های باکتریایی تولیدکننده‌ی بیوسورفکتانت (GMT-B و GMT-B-C1) که در مراحل قبل، از لحاظ تحمل بیشتر شوری و دما و همچنین خواص کشش سطحی بهتر سورفکتانت تولیدی آنها و نیز توانایی رشد در شرایط بی‌هوازی، از بین ایزوله‌های دیگر غربالگری شده بودند قبل از شناسایی میکروبی دوباره با کشت‌های پی‌درپی روی محیط کشت آگار و بررسی شکل کلونی‌های آنها خالص‌سازی شده و در نهایت نُه سویه‌ی خالص با خواص همولیتیک حاصل شد (شکل-۲).

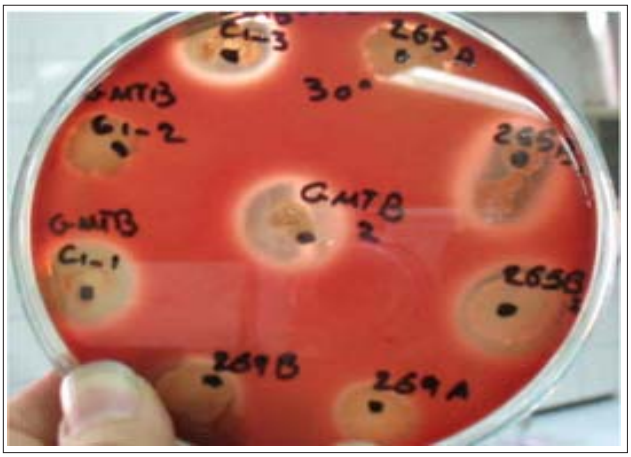
این سویه‌های تولیدکننده‌ی بیوسورفکتانت در سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران[1] مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران به ثبت رسیده که مشخصات کشش سطحی و شماره‌ی PTCC هر یک از آنها در مقاله‌ی [۲۸] ارائه شده است. در جدول-۶ توانایی

کاهش کشش سطحی بیوسورفکتانت تولیدی توسط باکتری‌های جدا شده در کارهای محققان دیگر ذکر گردیده است. مقایسه‌ی قابلیت کاهش کشش سطحی توسط سویه‌های جدا شده در تحقیق حاضر با مقادیر ذکر شده در جدول-۶ نشان می‌دهد بیوسورفکتانت تولیدی توسط سویه‌های باکتریایی جدا شده در این تحقیق، در مقایسه با باکتری‌های تولیدکننده‌ی بیوسورفکتانت گزارش شده در متون علمی، فعالیت‌های سطحی کم‌نظیری دارند.

۳-۳- شناسایی باکتری‌های تولیدکننده‌ی بیوسورفکتانت

بر اساس مطالعات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی، آنالیز اسید چرب دیواره‌ی سلولی و توالی نوکلئوتیدهای ژن 16S rRNA که توسط DSMZ آلمان انجام شد، باکتری‌های تولیدکننده‌ی بیوسورفکتانت که از میدان مسجدسلیمان جدا شدند متعلق به گروه باسیلوس سابتیلوس هستند. مورفولوژی سلولی و شکل کلونی یکی از این سویه‌ها در شکل-۳ نشان داده شده است. مشخصه‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، آنالیز اسید چرب دیواره سلولی، توالی نوکلئوتیدهای ژن 16S rRNA و هیبریداسیون DNA-DNA این سویه در مقاله‌ی [۳۳] ارائه شده است.

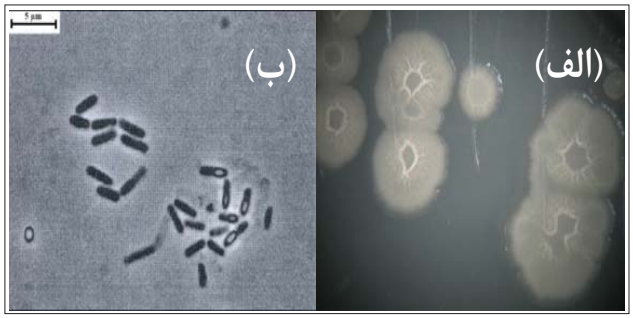
نمودار دندروگرام این سویه که نشان‌دهنده‌ی روابط تکامل ژنی این گونه با سویه‌های دیگر باسیلوس است نیز در مقاله‌ی [۳۳] ارائه شده است. با توجه به این نمودار، توالی نوکلئوتیدهای ژن 16S rRNA این گونه، شبیه به گروه باسیلوس سابتیلیس بوده و در این گروه بیشترین شباهت را به Bacillus mojavensis دارند.



شکل ۲ | فعالیت همولیتیک نُه سویه‌ی مولد بیوسورفکتانت جدا شده از آب سازند آسماری میدان مسجدسلیمان

نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر نشان داد هرچند در عمده‌ی مخازن ایران به‌علت وجود شرایط افراطی، امکان استفاده از روش‌های میکروبی نیست اما مخازنی هم هستند که می‌توانند کاندیدای مناسبی برای این روش‌ها باشند. آنالیز سیال مخزن و جداسازی میکروبی نشان داد که چاه‌های نفت محل‌های مناسبی برای جداسازی باکتری‌های مفید جهت ازدیاد برداشت نفت هستند و باکتری‌های جدا شده از این نمونه‌ها، تحمل‌کننده‌ی شرایط زیست‌محیطی موجود در این محل‌ها می‌باشند. بعضی محققان از آزمایش همولیز به‌عنوان معیاری اولیه برای انتخاب باکتری‌های تولیدکننده‌ی بیوسورفکتانت استفاده کرده و نشان داده‌اند که فعالیت همولیتیک باکتری‌ها روی محیط آگار-خون با قابلیت تولید بیوسورفکتانت در محیط کشت مایع رابطه دارد. اما تحقیق حاضر نشان داد با وجود اینکه فعالیت همولیز باکتری‌ها معیاری برای غربال‌گری باکتری‌های تولیدکننده‌ی بیوسورفکتانت است اما رابطه‌ی مستقیم مناسبی با فعالیت بیوسورفکتانت تولیدی ندارد و انتخاب باکتری کاندیدا باید بر اساس خاصیت کشش سطحی بیوسورفکتانت تولیدی صورت گیرد. بیوسورفکتانت تولیدی توسط باکتری انتخابی در تحقیق حاضر، توانایی کاهش کشش سطحی تا کمتر از ۲۷mN/m را دارد که در مقایسه با بیوسورفکتانت‌های گزارش شده در کارهای دیگر کم‌نظیر است. شناسایی این باکتری‌ها نیز نشان داد که باکتری انتخابی مولد بیوسورفکتانت، شباهت زیادی به گروه باسیلوس سابتیلیس دارد. این باکتری‌ها در سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران، ثبت و نگهداری می‌شوند.■



شکل ۳ | رشد سویه‌ی منتخب تولیدکننده‌ی بیوسورفکتانت جدا شده از میدان مسجدسلیمان (الف) مورفولوژی سلولی: میله‌ای، دارای پهنا و طول به‌ترتیب ۰/۷-۰/۸ µm و ۲/۵-۳ µm، سلول‌های منفرد، انتهای سلول به‌شکل گرد، دارای اسپور به‌شکل بیضوی و موقعیت اسپور انتهای سلول (ب) مشخصات کلونی: گرد با حاشیه‌ای کمی نامنظم و قطر حدود ۲mm، کرم‌رنگ، سطح شوره‌ای، وسط کلونی برجسته

پانویس‌ها

[1] http://ptcc.irost.org

منـــابع

[۱] ریاضی، محمدرضا، ۱۳۸۰، آشنایی با مهندسی مخازن نفت و گاز، چاپ دوم، مؤسسه انتشارات علمی دانشگاه صنعتی شریف

[2] Behlulgil K., Mehmetoglu T., Donmez S. 1992. Application Of Microbial Enhanced Oil Recovery Technique To Turkish Heavy Oil, Appl. Microbial. Biotechnology. 36: 833835-.

[3] Li Q., Kang C., Wang H., Liu C., Zhang C. 2002. Application Of Microbial Enhanced Oil Recovery Technique To Daqing Oilfield, Biochemical Engineering Journal. 11: 197199-.

[4] Van Hamme J. D., Singh A, Ward O. P. 2003. Recent Advances In Petroleum Microbiology, Microbiology And Molecular Biology Reviews. 67: 503–549.

[5] Jack T. R., 1992. "M.O.R.E." To M.E.O.R.: An Overview Of Microbially Enhanced Oil Recovery, In: Microbial Enhanced Oil Recovery-Recent Advances; Proceeding Of The 1992 International Conference On Microbial Enhanced Oil Recovery. 717-.

[6] Jang L. K., Chang P. W., John E. F., Yen T. F. 1983. Selection Of Bacteria With Favorable Transport Properties Through Porous Rock For The Application Of Microbial-Enhanced Oil Recovery, Applied And Environmental Microbiology. 6: 10661072-.

[7] Fowler M. L., Et Al. 1995. Reservoir Characteristics, Production Characteristics And Research Needs For Fluvial/Alluvial Reservoirs In The United States. DOE/PC/910080133-.

[8] Barrufet A. M. 2001. Improved Water Flooding Processes. PETE 609 - Module 6.

[9] Saidi A. M. 1987. Reservoir Engineering Of Fracture Reservoirs, Fundamental And Practical Aspects. Total Edition Presse.

[10] Mcinerney M. J. And Sublette K. L. 2002. Oil Field Microbiology. Page: 777787-. In: Hurst C. J. And Stetzenbach L. D. Manual Of Environmental Microbiology, 2nd Ed. ASM Press, Washington, D.C.

[11] Javaheri M., Jenneman G. E., Mcinerney M. J., Knapp R. M. 1985. Anaerobic Production Of A Biosurfactant By Bacillus Licheniformis JF-2. Applied And Environmental Microbiology. 50: 698700-.

[12] Youssef N. H. Duncan K. E. D. Nagle D. P. Savage K. N. Knapp R. M. Mcinerney M. J. 2004. Comparison Of Methods To Detect Biosurfactant Production By Diverse Microorganisms. Journal Of Microbiological Methods. 56: 339347-.

[13] Lin S. C. 1996. Biosurfactant: Recent Advances, J. Chem. Tech. Biotechnol. 66:109120-.

[14] Horowitz S., Gilbert J.N., Griffin W.M. 1990. Isolation And Characterization Of A Surfactant Produced By Bacillus Licheniformis 86. Journal Of Industrial Microbiology. 6: 243248-.

[15] Carrillo P. G., Mardaraz C., Pitta Alvarez S. I., Giulietti A. M. 1996. Isolation And Selection Of Biosurfactant Producing Bacteria. World Journal Of Microbiology & Biotechnology. 12: 8284-.

[16] Gevertz D., Paterek J. R., Davey M. N., Box P. O. 1992 Isolation And Characterization Of Anaerobic Halophilic Bacteria From Oil Reservoir Brines. In: Premuzic ET, Woodhead A (Eds) Microbial Enhancement Of Oil Recovery – Recent Advances, Proceedings Of The 1992 International Conference. Elsevier, Pp: 115129-.

[17] Tuleva . K., Ivanov G. R. And Christova N. E. 2002. Biosurfactant Production By A New Pseudomonas Putida Strain. . Zeitschrift Für Natürforschüng, 57:35660-.

[18] Das K., Mukherjee A. K. 2005. Characterization Of Biochemical Properties And Biological Activities Of Biosurfactants Produced By Pseudomonas Aeroginosa Mucoid And Non-Mucoid Strains Isolated From Hydrocarbon-Contaminated Soil Samples. Applied Microbiology And Biotechnology. 69: 192199-.

[19] Rodrigues L., Moldes A., Teixeira J., Oliveira R. 2006. Kinetic Study Of Fermentative Biosurfactant Production By Lactobacillus Strains. Biochemical Engieering Journal. 28: 109116-.

[20] Benson, H. J. 1990. Microbial Application: A Laboratory Manual In General Microbiology, Sixth Edition, Wm. C. Brown Publishers, United States Of America.

[21] Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., Williams, S. T. 1994. Bergey's Manual Of Determination Bacteriology, 9th Ed., Williams & Willkins, United States Of America

[22] Balkwill D. L. Ghiorse W. C. 1985. Characterization Of Subsurface Bacteria Associated With Two Shallow Aquifers In Oklahoma. Applied And Environmental Microbiology, 50: 580588-.

[23] Kaveev Kh. K. 2002. Preliminary Report On The 1st Stage Of The Microbiological Studies In The Selected Areas Of Oil Fields In Iran Under The Contract For Oil Recovery Enhancement Between Tatneft And RIPI.

[24] Sanchez G., Marin A., Vierma L. 1992. Isolation Of Thermophilic Bacteria From A Venezuelan Oil Field. In: Premuzic ET, Woodhead A (Eds) Microbial Enhancement Of Oil Recovery – Recent Advances, Proceedings Of The ۱۹۹۲ International Conference. Elsevier, Pp: 383389-.

[25] Donaldson E. C. 1980. Underground Disposal Of Brines From Geopressured Reservoirs. Proc., 73rd Annu. Meet., Am. Inst. Chem. Eng., Chicago, Ill., Nov. 1630 ,20- Pp. In: Donaldson E. C., Chilingarian G. V., Yen T. F. 1989. Microbial Enhanced Oil Recovery. Elsevier, Amsterdam, 1622-Pp.

[26] Banat I.M. 1993. Isolation Of A Thermophilic Biosurfactant-Producing Bacillus Species. Biotechnology Letters. 15: 591594-.

[27] Mulligan C. N., Cooper D. G., Neufeld R. J. 1984. Selection Of Microbes Producing Biosurfactants In Media Without Hydrocarbons. Journal Of Fermentation Technology. 62: 311314-.

[28] Ghojavand H., Vahabzadeh F., Mehranian M., Radmehr M., Shahraki A. Kh., Zolfagharian F., Emadi M. A., Roayaei E. (2008) Isolation Of Thermotolerant, Halotolerant, Facultative Biosurfactant Producing Bacteria, Appl. Microbiol. Biotechnol. 80: 1073–1085.

[29] Cooper D. C., Macdonald C. R., Duff S. J. B., Kosaric N. 1981. Enhanced Production Of Surfactin From Bacillus Subtilis Y Continuous Product Removal And Metal Cation Additions. Applied And Environmental Microbiology, 42: 408412-.

[30] Yakimov M. M., Timmis K. N., Wray V. Fredrickson H. L. 1995. Chracterization Of New Lipopeptide Surfactant Produced By Thermotolerant And Halotolerant Subsurface Bacillus Licheniformis BAS50. Applied And Environmental Microbiology. 61: 17061713-.

[31] Lin S. C., Goursaud J. C., Kramer P. J., Georgiou G. And Sharma M. M. 1990. Production Of Biosurfactant By Bacillus Licheniformis JF-2. In: Microbial Enhancement Of Oil Recovery-Recent Advances. Donaldson, E. C. (Ed). Elsevier Science Publishers, Amesterdam

[32] Mcinerney M. J., Jenneman G. E., Knapp R. M., Menzie D. E. 1985. Biosurfactant And Enhanced Oil Recovery. United State Patent. Patent Number: 4522261.

[33] Ghojavand H., Vahabzadeh F., Azizmohseni F. (2011) A Halotolerant, Thermotolerant And Facultative Biosurfactant Producer: Identification And Molecular Characterization Of Bacterium And Evolution Of The Emulsifier Stability Of Lipopeptide Biosurfactant. Biotechnology And Bioprocess Engineering. 16, 1:7280-.