

بررسی روش‌های مقابله با رسوبات سنگین هیدروکربنی به کمک فناوری زیستی

نواب صالحی، مسعود بهشتی*، علیرضا سلیمانی نظر

گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه اصفهان

پست الکترونیکی: m.behshti@eng.ui.ac.ir

چکیده

رسوب ترکیبات سنگین (خصوصاً رسوبات واکسی و آسفالتینی) همواره زمینه‌ساز مشکلات جدی برای صنعت نفت بوده است. با کاهش ذخایر موجود و افزایش بهره‌برداری از مخازن نفت‌های سنگین و مخازن نفتی دور از ساحل، استفاده از روش‌های جدید و کارآمد برای رفع این مشکلات به یک ضرورت تبدیل شده است. در طی دهه گذشته بکارگیری فناوری زیستی در حل برخی از مسائل مربوط به رسوبات هیدروکربن‌های سنگین به نتایج مطلوبی منجر شده است. هدف این مقاله مطالعه قابلیت‌های فناوری زیستی در کنترل و یا حذف رسوبات هیدروکربنی است. بدین منظور پس از ذکر سازوکارهای دخیل، تصویری کلی از مزایا، محدودیت‌ها و امکان کاربرد عملی فناوری زیستی در پیشگیری از تشکیل و یا حذف رسوبات سنگین ارائه می‌شود.

کلمات کلیدی: رسوبات هیدروکربنی، واکس، آسفالتین، تخریب زیستی، ترکیبات زیست‌فعال سطحی، فناوری زیستی

۱- مقدمه

رسوب مواد آلی سنگین در طی عملیات تولید، انتقال، ذخیره‌سازی و انجام فرآیندهای شیمیایی بر روی سیالات هیدروکربنی، مشکلی قدیمی برای صنایع نفت و گاز بشمار می‌رود [۱،۲]. رسوبات آلی جامد عموماً شامل آسفالتین‌ها، ترکیبات واکسی و هیدرات‌ها هستند که با آسیب زدن به سازنده، افزایش هزینه نگهداری، کاهش ظرفیت انتقال و یا حتی انسداد کامل خطوط لوله، سالانه میلیاردها دلار در سراسر دنیا خسارت وارد می‌کنند [۳،۴].

روش‌هایی که در حال حاضر برای پیشگیری و یا حذف رسوب هیدروکربن‌های سنگین ایجاد شده‌اند علاوه بر مشکلات مربوط به

نحوه پیاده‌سازی و کنترل، عموماً بسیار پرهزینه هستند. افزایش محدودیت‌های زیست محیطی، هزینه‌های بالا و خطرات ناشی از روش‌های شیمیایی مرسوم از یک سو و سلامت، سهولت و سودآوری احتمالی حاصل از فرآیندهای زیستی از سوی دیگر سبب شده است که روز به روز بر تعداد محققین و شرکت‌های نفتی علاقه‌مند به استفاده از این روش‌ها افزوده شود.

از اوایل دهه ۹۰ میلادی روش‌های زیستی به عنوان یکی از راه‌های اصلی مقابله با پدیده رسوبات سنگین در کنار روش‌های مکانیکی، حرارتی و شیمیایی قرار گرفتند [۳،۵،۶]. با وجودی که گام‌های قابل توجهی در شناسایی سوبه‌های دارای قابلیت تخریب ترکیبات

۲- تخریب زیستی هیدروکربن‌های سنگین

از لحاظ تئوری با شکسته شدن هیدروکربن‌های سنگین، محصولاتی بدست می‌آید که علاوه بر ارزش اقتصادی بالا امکان رسوب آن‌ها بسیار کمتر از ترکیبات اولیه است. بطور کلی زیست تخریب‌پذیری هیدروکربن‌ها تحت تأثیر عوامل بیولوژیک و عوامل فیزیکی- شیمیایی می‌باشد. عوامل بیولوژیک خود از فعالیت آنزیمی و پتانسیل ژنتیکی میکروارگانیسم و نیز محدودیت‌های انتقال مواد به درون سلول تأثیر می‌پذیرد. عوامل فیزیکی- شیمیایی ویژگی‌هایی نظیر شرایط تخمیر (شامل دما، pH، منابع نیتروژن و فسفر، هوادهی و...) و خواص سوبستراهای هیدروکربنی (شامل میزان انحلال در آب، ویسکوزیته، نفوذپذیری و کشش سطحی) را در بر می‌گیرد.

تخریب هیدروکربن‌ها یک تغییر اکسیداتیو است که با افزایش تعداد میکروارگانیسم‌ها، امولسیفیکاسیون و گاهی افزایش اسیدیته‌ی محلول توأم است. بنابر قاعده معمول، هیدروکربن‌های سبک وزن و یا ترکیبات با وزن مولکولی متوسط بیش از ترکیبات سنگین در معرض حمله میکروارگانیسم‌ها هستند، همچنین تخریب اجزاء پارافینی، بسیار آسان‌تر از ترکیبات آروماتیکی انجام می‌شود [۱۲].

تجزیه هیدروکربن‌ها توسط میکروارگانیسم‌ها اولین بار در سال ۱۹۰۶ توسط زونگن^۱ و کازهر^۲ انجام گرفت [۹]. تا قبل از دهه ۵۰ میلادی شناسایی و بکارگیری میکروارگانیسم‌هایی که توانایی مصرف هیدروکربن‌ها را داشته باشند به منظور تولید پروتئین تک یاخته، اسیدهای آمینه، کربوهیدرات‌ها، اسیدهای نوکلئیک، چربی‌ها، اسیدهای آلی، ویتامین‌ها، کوآنزیم‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و ترکیبات زیست‌فعال سطحی، مورد توجه قرار گرفته بود [۱۳]. در این زمان با افزایش اهمیت بحث درمان زیستی، استفاده از روش‌های بیولوژیک در زدودن آلودگی‌های نفتی به مهم‌ترین کاربرد این‌گونه میکروارگانیسم‌ها تبدیل شد [۱۴].

تاکنون گونه‌های مختلفی از باکتری‌ها و قارچ‌ها شناسایی شده‌اند که قادرند در شرایط هواری و/یا بی‌هواری، هیدروکربن‌های نفتی را مورد حمله قرار بدهند و از آن‌ها به عنوان منبع کربن و/یا انرژی خود استفاده کنند. حتی تولید (اجزاء) نفت در برخی ارگانیسم‌ها به اثبات رسیده است. به عنوان مثال جلبک‌های سبز بوتیروکوکوس براونی^۳

هیدروکربنی، شرایط و نحوه رشد آن‌ها، تشخیص مسیرهای متابولیکی تخریب، تهیه پایگاه‌های داده‌های بیوشیمیایی متابولیکی [۷] و نیز استفاده از ابزارهای مهندسی ژنتیک در این زمینه برداشته شده است، بسیاری از اصول مربوط به این مباحث همچنان نامکشوف باقی مانده‌اند [۸].

تاکنون سازوکارهای متفاوتی برای توصیف عملکرد میکروارگانیسم‌ها در مقابله با رسوبات هیدروکربنی، مشتمل بر دو مقوله پیشگیری از تشکیل ترکیبات جامد (و شبه جامد)، و حذف یا پراکنده کردن رسوبات موجود، پیشنهاد شده است. مهم‌ترین سازوکارهای شناخته شده عبارتند از: (الف) استفاده از رسوبات و یا ترکیبات دارای پتانسیل رسوب در ماشین متابولیکی سلول به عنوان منبع کربن و/یا انرژی [۹] (ب) شکسته شدن تدریجی پیوندهای شیمیایی درون یا بین مولکولی رسوبات به کمک آنزیم‌های برون سلولی که در اثر آن مولکول‌های درشت به مولکول‌های سبک‌تری تبدیل شده و پس از خروج از فاز جامد سبب تسهیل انحلال رسوبات باقی مانده می‌گردند [۱۰] (ج) تولید ترکیبات متابولیکی که نتیجه آن افزایش انحلال و دسترسی‌پذیری ترکیبات سنگین و جلوگیری از تشکیل رسوبات است [۱۱]. (د) برخورد فیزیکی سلول‌ها با رسوبات جامد به عنوان یک عامل جانبی.

از یک منظر کلی میکروارگانیسم‌هایی که قادر به تجزیه زیستی ترکیبات بوجود آورنده رسوبات باشند و یا واجد توانایی لازم برای تولید ترکیبات شیمیایی مناسب اعم از انواع حلال‌های زیستی و ترکیبات زیست‌فعال سطحی باشند، می‌توانند برای مقابله با (پیشگیری یا حذف) رسوبات بکار گرفته شوند. در سال‌های اخیر انواع مختلفی از میکرووب‌های خاص با ویژگی‌های مورد نظر جداسازی و شناسایی شده‌اند. به کمک چنین میکروارگانیسم‌هایی علاوه بر رفع معضلات ناشی از رسوب، با تبدیل نسبی اجزای سنگین به اجزای سبک‌تر کیفیت و ارزش محصول نیز افزایش می‌یابد.

در این مقاله دو سازوکار (الف) تخریب زیستی و (ب) تولید متابولیت‌های مناسب (خصوصاً ترکیبات فعال سطحی زیستی) به عنوان دو گزینه مناسب برای مقابله با مهم‌ترین رسوبات هیدروکربنی (رسوبات واکسی و آسفالتینی) مطرح شده و فرصت‌ها و محدودیت‌های مربوط به استفاده از فناوری زیستی در این زمینه مورد بررسی قرار می‌گیرند.

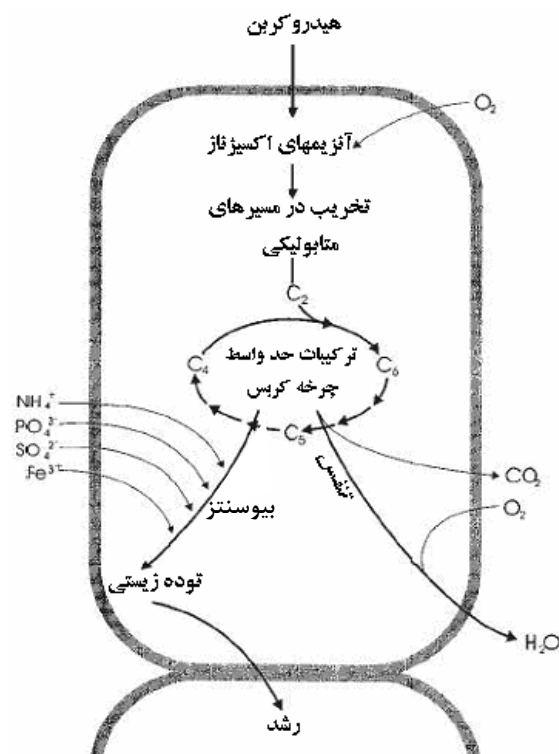
1. Söhngen

2. Kaserer

3. Botryococcus braunii

بصورت خطی است. اگر حلالیت سوبسترای جامد افزایش یابد - به عنوان مثال با استفاده از یک حلال (زیستی) - نرخ رشد میکروارگانیسم شکل نمایی به خود می‌گیرد [۱۳]. با توجه به اینکه راندمان فرآیندهای هوازی به مراتب بیشتر از فرآیندهای بی‌هوازی می‌باشد لذا در اکثر موارد استفاده از روش‌های هوازی توصیه می‌شود. واکنش‌های کلیدی آنزیمی در فرآیند هوازی توسط اکسیژنازها و پراکسیدازها انجام می‌شوند. شکل (۱) اصول تخریب هوازی هیدروکربن‌ها در فرآیندهای وابسته به رشد را نشان می‌دهد.^۱

قادر به تولید هیدروکربن‌های C_{30} تا C_{36} هستند [۱۵]. هر چند تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌ها قادرند ترکیبات هیدروکربنی را مصرف کنند و حتی سوبه‌هایی وجود دارند که قادر به تخریب بیش از یکصد نوع ترکیب آلی مختلف هستند ولی هیچ‌یک از باکتری‌ها آنزیم‌های لازم برای شکستن همه و یا حتی تعداد زیادی از هیدروکربن‌ها را در اختیار ندارند [۱۶]. بنابراین برای تخریب هیدروکربن‌ها باید مخلوطی از میکروارگانیسم‌ها با توانایی‌های متفاوت بکار گرفته شوند [۱۷، ۱۸]. تحقیقات نشان داده است که رشد میکروارگانیسم‌ها بر روی هیدروکربن‌های مایع به صورت نمایی و بر هیدروکربن‌های جامد



شکل ۱- اصول تخریب هوازی هیدروکربن‌ها در فرآیندهای وابسته به رشد [۱۶]

۱. تخریب زیستی هیدروکربن‌ها به صورت وابسته به رشد و یا کومتابولیسم رخ می‌دهد. در فرآیند رشد، هیدروکربن‌ها به عنوان منبع اصلی کربن و انرژی به صورت کامل اکسید می‌شوند. در کومتابولیسم، منبع کربن و انرژی، سوبسترای دیگری به غیر از هیدروکربن است و ترکیب هیدروکربنی بجای اکسایش کامل دچار تبدیل شیمیایی می‌شود.

۲-۱- تخریب زیستی ترکیبات واکسی

۲-۱-۱- معرفی رسوبات واکسی

بنابر تعریف، واکس‌ها مخلوطی از پارافین‌های سنگین (عمدتاً در محدوده C₁₈ تا C₇₀) هستند که معمولاً همراه با ترکیبات آسفالتینی، رزینی و ژلی رسوب می‌کنند [۲۰، ۵، ۴]. کاهش دما و تبخیر ترکیبات سبک عوامل اصلی تشکیل رسوب واکس هستند [۱].

بخش اصلی بیشتر رسوبات جامد اغلب انواع نفت خام را رسوب واکسی تشکیل می‌دهد. معضلات ناشی از تشکیل رسوبات واکسی همواره گریبانگیر صنعت نفت بوده است [۲۱]. موارد زیر تنها بخشی از این مشکلات را نشان می‌دهند: صدمه زدن به سازنده‌های مخازن نفتی، گرفتگی لوله‌های تولید و خطوط انتقال، ایجاد ته‌نشست و لجن نفتی در کف تانک‌های نفتی [۳]، افزایش ویسکوزیته و بالا رفتن توان لازم برای پمپاژ، امکان تشکیل ژل واکسی، بروز موقعیت‌های وخیم راه‌اندازی جریان پس از یک دوره توقف [۲۲] و پیچیده شدن فرآیندهای مربوط به مشتقات نفتی نظیر سوخت‌های دیزل، روغن‌های روان‌کننده و سوخت‌های سنگین [۲۳]. اصلی‌ترین مشکل واکس، رسوب و رشد لایه‌های کریستالی بر روی دیواره لوله‌های انتقال است [۲۴].

تاکنون روش‌های مختلفی برای مقابله با مشکلات ناشی از رسوب واکس ابداع و توسعه داده شده‌اند: روش‌های حرارتی (عایق‌بندی، گرمادهی، تزریق برش‌های داغ)، روش‌های مکانیکی (انواع واکس‌روب‌ها) و روش‌های شیمیایی (شامل حلال‌ها، ترکیبات پخش‌کننده و ترکیبات اصلاح‌کننده واکس). پخش‌کننده‌ها انواعی از ترکیبات فعال سطحی هستند که در پیشگیری و نیز آزاد کردن رسوبات واکس از سطوح بکار برده می‌شوند [۲۵]. ترکیبات بازدارنده، گروهی از ترکیبات اصلاح‌کننده هستند که با دخالت در فرآیند کریستالیزاسیون موجب جلوگیری از تشکیل رسوب (کاهش نقطه‌ابری شدن) و یا تشکیل ساختارهای شبکه کریستالی مولکول‌های واکس (کاهش نقطه ریزش) می‌شوند [۱].

۲-۱-۲- تخریب زیستی آلکان‌های خطی

به منظور مطالعه زیست تخریب‌پذیری ترکیبات واکسی، شایسته است که زیست تخریب‌پذیری اجزاء عمده تشکیل‌دهنده آن‌ها به تفکیک مورد بررسی قرار گیرد. مطالعه مسیرهای متابولیسی تخریب از جهات مختلفی حائز اهمیت است. نخست با تعیین ترکیبات قابل تخریب و

هنوز امکان کشت آزمایشگاهی قسمت عمده‌ای از باکتری‌هایی که در محیط‌های مختلف و بطور طبیعی هیدروکربن‌ها را تخریب می‌کنند، وجود ندارد. سودوموناس‌ها از قوی‌ترین باکتری‌ها در تخریب هیدروکربن‌ها به شمار می‌روند که از جمله آن‌ها می‌توان به سودوموناس پوتیدا^۱ و سودوموناس فلوروسانس^۲ اشاره نمود. پتانسیل بالای سودوموناس‌ها در تخریب هیدروکربن‌ها از دو عامل ناشی می‌شود که یکی وجود آنزیم‌های کاتابولیسی مناسب و دیگری قابلیت تنظیم متابولیسی آن‌هاست. سودوموناس‌ها باکتری‌هایی هوازی، میله‌ای شکل و گرم منفی هستند که فاقد توانایی تخمیر هستند.

گروه دیگری از میکروارگانیسم‌های تخریب‌کننده ترکیبات هیدروکربنی، باکتری‌های گرم مثبت رودوکوکوس^۳ هستند. بیشتر این باکتری‌ها هم‌اکنون در گروه‌های نوکاردیا^۴، میکوباکتری^۵ و کورینه باکتری^۶ طبقه‌بندی می‌شوند. رودوکوک‌ها دارای فعالیت‌های متابولیسی متنوع و گسترده‌ای هستند که می‌توانند ترکیبات زیست‌فعال سطحی تولید کنند. جدول (۱) باکتری‌های حائز اهمیت در تخریب هیدروکربن‌ها را نشان می‌دهد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که تمایل میکروارگانیسم‌ها برای مصرف هیدروکربن‌ها به ترتیب نزولی چنین است: آلکان‌های خطی، آلکان‌های شاخه‌دار، آروماتیک‌های تک حلقه‌ای، آلکان‌های حلقوی، آلکان‌های چند هسته‌ای و نهایتاً آسفالتین‌ها [۱۹].

جدول ۱- دسته‌بندی گرم برخی از باکتری‌های تخریب‌کننده

هیدروکربن‌ها [۱۶].

گونه‌های گرم مثبت	گونه‌های گرم منفی
نوکاردیا	سودوموناس
میکوباکتری	آسینتوباکتری ^۷
کورینه باکتری	آلکالی ژنس ^۸
آرتروباکتری ^۹	فلاوووباکتریوم/ سیتوفانگا ^{۱۰}
باسیلوس ^{۱۱}	گزانتوموناس ^{۱۲}

1. Pseudomonas putida
2. P. fluorescens
3. Rhodococcus
4. Nocardia
5. Mycobacteria
6. Corynebacteria
7. Acinetobacter
8. Alcaligenes
9. Arthrobacter
10. Flavobacterium/ Cytophaga group
11. Bacillus
12. Xanthomonas

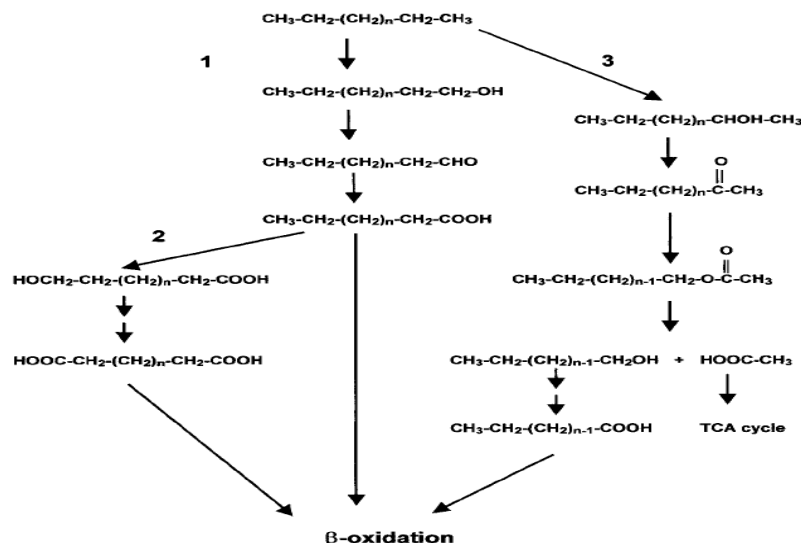
مشخص شدن شرایط درون سلولی لازم برای تخریب ترکیبات علاوه بر انتخاب مناسب سوبیه‌ها، محیط برون سلولی تا حد ممکن در نزدیکی شرایط بهینه برای تخریب کسر مشخصی از هیدروکربن‌ها تنظیم می‌شود. مزیت دوم، تشخیص متابولیت‌ها، آنزیم‌ها و گلوگاه‌های میانه مسیر است. بدین ترتیب بطور برنامه‌ریزی شده می‌توان نسبت به تنظیم محیط کشت (مثلاً با افزودن یک پیش‌ساز برای بهبود فعالیت یک آنزیم خاص) و یا دست‌کاری ماشین متابولیکی سلول به کمک ابزارهای قدرتمند مهندسی متابولیک اقدام نمود.

آلکان‌های خطی قسمت عمده رسوبات واکسی را تشکیل می‌دهند [۴]. بنابراین شکست مولکولی این ترکیبات می‌تواند به طور عمده بر مقابله با رسوب واکس تأثیرگذار باشد. از نقطه نظر انرژی، پارافین‌های اشباع بسیار مطلوب هستند چرا که دارای درجه احیای^۱ بالایی هستند. بطور کلی این ترکیبات نسبت به بقیه اجزاء نفت از قابلیت بیشتری برای شکسته شدن برخوردار هستند. در بین آلکان‌های خطی، ترکیبات با طول متوسط (C₁₀-C₂₀) تخریب‌پذیری مناسبی دارند و به سرعت تخریب می‌شوند. آلکان‌های با طول کوتاه (C₉⁺) تأثیرات نامطلوبی بر دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها دارند و معمولاً سمی و غیر تخریب‌پذیر هستند. آلکان‌های با طول بلند (C₂₀-C₄₀) جامداتی هیدروفوب هستند و بخاطر انحلال پایین و دسترسی مشکل به سختی

تجزیه می‌شوند [۲۶].

بنابر اطلاعات کنونی تنها میکروارگانیسم‌هایی که قابلیت تجزیه آلکان‌های C₂₀⁺ در آن‌ها به اثبات رسیده است، سوبیه‌های آسینتوباکتر بوده‌اند [۲۷]. همانطور که گفته شد قسمت عمده هیدروکربن‌های مسئول در بروز رسوب واکس، خارج از محدوده قابل تخریب هستند. بدین ترتیب اگر سازوکار تخریب تنها روش ممکن برای کنترل رسوبات می‌بود، تنها گروه بسیار معدودی از ارگانیسم‌ها برای مقابله با رسوبات واکسی مناسب بودند و این در حالی است که نتایج متعدد حاصل از پیاده‌سازی روش‌های زیستی در مقیاس‌های آزمایشی تا صنعتی نشان می‌دهد که محدوده وسیعی از سوبیه‌ها دارای قابلیت کاربرد در این زمینه هستند. در نتیجه، برآیند سازوکارهای چهارگانه مذکور می‌تواند ضعف نسبی یک سوبیه مشخص در بروز تعدادی از این ویژگی‌ها را برطرف کند.

در حمله اولیه باکتری‌ها به آلیفاتیک‌ها و سیکلوآلیفاتیک‌ها، سلول‌ها به اکسیژن مولکولی نیاز دارند. آنزیم‌های مونو و دی اکسیژناز با وارد کردن یک یا دو اتم اکسیژن به ساختار مولکولی سوبسترا، درجه احیای آن را کاهش می‌دهند. شکل (۲) این دو مکانیزم آنزیمی را نشان می‌دهد.



شکل ۲- مسیرهای متابولیکی تخریب آلکان‌های خطی. اکسیداسیون انتهایی (۱)، انتهایی دوسوبیه (۲) و ماقبل از انتها (۳) [۲۸].

1. Degree of Reduction

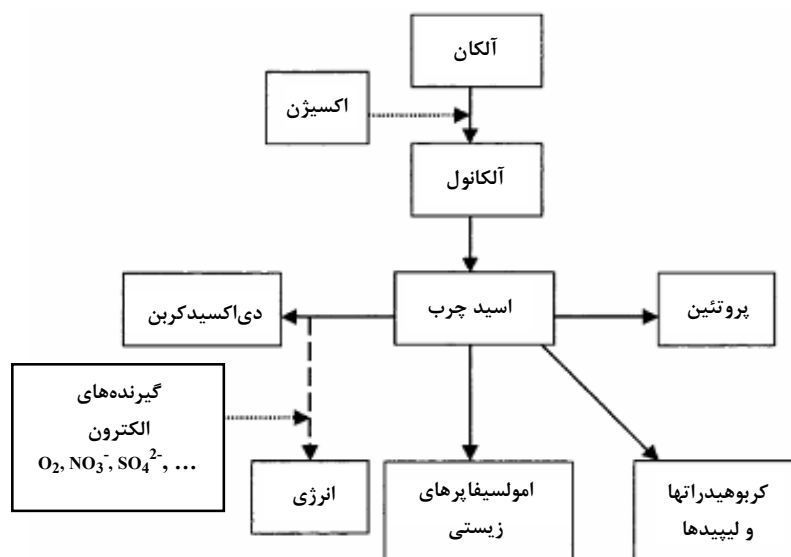
شاخه‌های جانبی بر روی رشته اصلی آلکان‌ها در تغییر سرعت شکسته شدن آن‌ها بسیار مؤثر است. به عنوان مثال وجود گروه بوتیل، مانع تأثیر آنزیم‌های شکننده بوده و فرآیند شکستن آلکان‌ها را به شدت کند می‌کند. وجود گروه متیل تأثیر چندانی در قابلیت شکسته شدن آلکان‌ها ندارد.

۲-۱-۳- تخریب زیستی آلکان‌های شاخه‌دار

همانطور که انتظار می‌رود این فرآیند در مقایسه با فرآیند تخریب آلکان‌های خطی به کندی صورت می‌گیرد [۲۹]. وجود یک گروه متیل به عنوان شاخه جانبی تأثیر چندانی در تخریب مولکول ندارد ولی با افزایش طول زنجیره، تخریب‌پذیری ترکیب به شدت کاهش می‌یابد. نتایج نشان می‌دهد که وجود کربن نوع چهارم در ساختمان مولکول تأثیر بسیار نامطلوبی در امکان‌پذیر بودن تخریب زیستی دارد. تخریب این ترکیبات بصورت اکسیداسیون بتا یا اومگا با حذف دو یا سه کربن در هر مرحله شکستن مولکول همراه است [۳۰].

اکسیداسیون آلکان‌ها به دو صورت انتهایی^۱ و یا انتهایی دوسویه^۲ انجام می‌شود. مسیر اکسیداسیون انتهایی مسیر اصلی اکسیداسیون است. آلکان‌ها در طی این مسیر ابتدا به الکل تبدیل شده و سپس در مرحله بعد به ترتیب به آلدئید و اسید چرب متناظر تبدیل می‌شوند. در اثر بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب، استیل کوآ تشکیل می‌شود. با تخریب آلکان‌های با تعداد اتم کربن فرد، پروپیونیل کوآ تولید می‌شود که خود پس از کربوکسیلاسیون به متیل مالونیل کوآ و سپس به سوکسینیل کوآ تبدیل می‌شود. اسیدهایی که از لحاظ فیزیولوژیکی طول مناسبی داشته باشند بصورت مستقیم در ساختمان غشاهای لیپیدی بکار گرفته می‌شوند. بخش عمده محصولات حاصل از تخریب زیستی وارد چرخه کربس می‌شوند (شکل ۳). تاکنون مشخص نشده است که در شرایط کمبود اکسیژن کدام قسمت از مسیر، مرحله کند کننده خواهد بود.

اکسیداسیون نوع ماقبل از انتها^۳ معمولاً در آلکان‌های خیلی سبک (C_3-C_6) و نیز آلکان‌های خیلی سنگین اتفاق می‌افتد و باعث بوجود آمدن الکل‌های نوع دوم و کتون‌های متناظر بعدی می‌شود. وجود



شکل ۳- نمودار فلاکس‌های متابولیکی. خطوط پیوسته: فلاکس‌های کربن، خطوط شکسته:

فلاکس اکسیژن مولکولی و ترکیبات گیرنده الکترون [۲۸].

1. Monoterminal
2. Biterminal
3. Subterminal

۲-۱-۴- تخریب زیستی آلکان‌های حلقوی

آلکان‌های حلقوی، که معمولاً حجم بسیار اندکی رسوبات واکسی را تشکیل می‌دهند، نسبت به حمله میکروبی مقاوم هستند. با این حال گونه‌هایی از میکروارگانیسم‌ها نیز وجود دارند که قادر به استفاده از آلکان‌های حلقوی، نظیر سیکلوهگزان، به عنوان تنها منبع هیدروکربن هستند. نبود گروه‌های متیل، مرحله اولیه تخریب یعنی حمله میکروارگانیسم به هیدروکربن را بسیار پیچیده و مشکل می‌کند. بنابراین وجود گروه آلکیل در مولکول‌های سیکلوآلکانی سبب تسریع در تخریب آنها می‌شود [۳۱،۳۲].

۲-۲- تخریب زیستی آسفالتین‌ها

آسفالتین‌ها جزء سنگین‌ترین مولکول‌های نفت خام هستند که در ساختمان آنها مولکول‌های نفتی و آروماتیکی متراکم متعددی وجود دارد. جرم مولکولی آسفالتین‌ها از چندصد تا چنددهزار دالتون متغیر است. آسفالتین‌ها حاوی مولکول‌های قطبی هستند و قسمت اعظم اتم‌های ناهمگون (S,O,N) و بخش عمده فلزات موجود در نفت در آنها قرار گرفته‌است. حضور آسفالتین‌ها باعث بروز مشکلاتی همچون افزایش ویسکوزیته، ایجاد امولسیون و تولید کک می‌شود. از آنجا که در ترکیب این مولکول‌ها فلزاتی همچون آهن، نیکل و وانادیم وجود دارد این مولکول‌ها عامل مسموم شدن کاتالیست‌ها در فرآیندهای پالایشی بشمار می‌روند.

پیش از پرداختن به زیست تخریب‌پذیری ترکیبات پیچیده آسفالتینی که از تعداد زیادی گروه‌های آروماتیکی تشکیل شده‌اند، ابتدا تخریب‌پذیری زیستی آروماتیک‌های ساده‌تر مورد بررسی قرار می‌گیرد.

انواع مختلفی از ترکیبات آروماتیک (اسیدهای آمینه آروماتیک، فنل‌ها و...) توسط میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند؛ بنابراین تخریب زیستی این ترکیبات چندان دور از ذهن نیست. با این وجود با افزایش تعداد حلقه‌های آروماتیکی، امکان تخریب زیستی این ترکیبات به شدت کاهش می‌یابد؛ زیرا این ترکیبات علاوه بر حلالیت اندک در آب، از انرژی‌های رزونانس ساختاری بسیار بالایی برخوردار هستند [۳۳].

تجزیه‌پذیری ترکیبات هیدروکربنی پلی‌آروماتیک به دو عامل بستگی دارد. اولین عامل، اندازه مولکولی ترکیب است که نشان‌دهنده تعداد حلقه‌های آروماتیکی می‌باشد. عامل دوم توپولوژی مولکولی یا الگوی اتصال حلقه‌هاست. در حال حاضر اطلاعات اندکی در مورد

تخریب‌پذیری هیدروکربن‌های پلی‌آروماتیک که بیش از پنج حلقه آروماتیک در ساختمان خود دارند (خواه بصورت طبیعی و خواه بصورت کشت‌های خالص یا مخلوط آزمایشگاهی) در دسترس می‌باشد [۳۴].

گزارشات متعدد نشان می‌دهد که تاکنون هیچ میکروارگانیسمی که قادر به شکستن ترکیبات آروماتیکی با بیش از پنج حلقه کربنی باشد شناخته نشده است [۳۵] بنابراین کاملاً منطقی است که ترکیبات آروماتیک و درشت مولکولی نظیر آسفالتین‌ها ورزین‌ها نسبت به تخریب زیستی بسیار مقاوم باشند [۳۶،۳۷]. بر اساس نتایج موجود تخریب ترکیبات هیدروکربنی که بیش از چهار حلقه آروماتیک در ساختمان خود دارند، منجر به افزایش مقدار توده زیستی نمی‌شود. این مطلب نشان می‌دهد که این ترکیبات تنها به عنوان منبع انرژی (و نه منبع کربن) مصرف می‌شوند.

نتایج متعدد کنونی نشان می‌دهند که هیچ مدرک مستندی دال بر تجزیه آسفالتین‌ها توسط میکروکروم‌ها وجود ندارد. با وجودی که برخی از محققین تجزیه زیستی آسفالتین‌ها را گزارش کرده‌اند ولی با توجه به عدم ذکر آنالیز دقیق شیمیایی به نظر می‌رسد، نتایج مشاهده شده، بیشتر ناشی از تولید ترکیبات فعال سطحی، تخریب زنجیره‌های جانبی این مولکول‌ها و یا حتی تخریب هیدروکربن‌های سبک‌تری باشد که در ساختمان این مولکول‌ها به دام افتاده‌اند. اخیراً فلورس و همکارانش یکی از معدود گزارشاتی را که تخریب جزئی آسفالتین‌ها را نشان می‌دهد ارائه کردند. این محققین تخریب آسفالتین را به وسیله مخلوطی از میکروکروم‌ها در طول چهل هفته در یک بیوراکتور بررسی کرده و معدنی شدن^۱ نسبی ترکیبات آسفالتینی را مشاهده نمودند [۳۸].

به نظر می‌رسد تنها راه عملی تخریب زیستی آسفالتین‌ها استفاده از مخلوط پیچیده‌ای از میکروارگانیسم‌های مختلف (شامل قارچ‌ها) با توانایی‌های متابولیکی متنوع باشد. قبل از انجام چنین عملیاتی با استفاده از حلال‌های مناسب باید مایسل‌های بزرگ آسفالتینی را تا حد ممکن به ترکیبات سازنده آن تفکیک نمود. با توجه به مشکلات مربوط به این بحث، در حال حاضر تخریب آسفالتین عموماً با هدف آزاد سازی ترکیبات فلزی از ساختمان این ترکیبات انجام می‌شود.

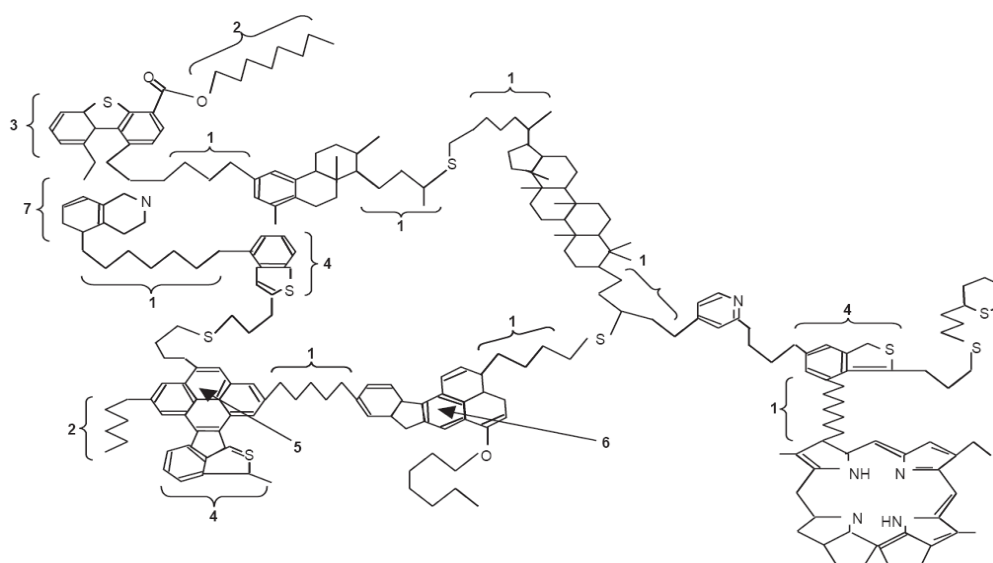
با وجود حجم عظیم ذخائر هیدروکربنی فوق سنگین، قسمت عمده

1. Mineralization

این منابع همچنان دست نخورده باقی مانده‌اند. این مطلب به انگیزه‌ای بسیار قوی برای یافتن میکروارگانیسم‌هایی تبدیل شده است که قادر به شکستن و یا آزادسازی ترکیبات آسفالتینی بوده و موجب تسهیل بهره‌برداری از این منابع شوند. با وجود اطلاعات اندکی که در مورد تخریب میکروبی آسفالتین‌ها موجود است، بر اساس مشاهدات قبلی که در مورد ترکیبات سبک‌تر صورت گرفته‌اند موقعیت‌های احتمالی شکسته شدن و یا تخریب زیستی این ترکیبات قابل

تقریب‌زدن هستند (شکل ۴).

جدول (۲) برخی از نتایج موفقیت‌آمیز حاصل از تخریب زیستی رسوبات هیدروکربنی سنگین را نشان می‌دهد. بهترین نتایج زمانی حاصل شده‌اند که از ائتلاف‌های میکروبی استفاده شده است. نقطه ضعف مشترک این نتایج مشخص نبودن ترکیبات بدست آمده از فرآیند تخریب زیستی است.



شکل ۴- نمایش پیوندهای بین مولکولی آسفالتین که امکان شکسته شدن و تخریب زیستی مولکول در آن‌ها وجود دارد:
 ۱- فوتواکسیداسیون، ۲- بتا- اکسیداسیون، ۳- مسیردی بنزوتیوفن، ۴- مسیرهای مشابه دی‌بنزوتیوفن، ۵- مسیرهای پایرن، ۶- مسیرهای مشابه با بنزوآلفا پایرن، ۷- مسیرهای مشابه با تخریب کاربازولها [۳۹].

جدول ۲- تخریب زیستی رسوبات هیدروکربنی سنگین.

مرجع	سویه بکار رفته	درصد تخریب	هیدروکربن سنگین
[۱۰]	۱۸ نوع سویه (شناسایی نشده)	۴۹/۷	مخلوط پارافین جامد
[۱۸]	۶ نوع سویه (شناسایی نشده)	۳۵/۲	لجن نفتی
[۲۷]	باسیلوس ترمولتورانس ^۱	۶۰	پارافین‌های C ₁₃ -C ₂₃
[۳۶]	گزایللا فاستیدوزا ^۲	تعیین نشده	nC ₃₄
[۳۸]	گونه‌های کورینه، بروی باسیلوس ^۳ و استافیلوکوکوس ^۴	تعیین نشده	آسفالتین

1. Bacillus thermoleovorans
2. Xylella fastidiosa
3. Brevibacillus
4. Staphylococcus

۳- مقابله با رسوبات سنگین با استفاده از محصولات

زیستی

به منظور پیشگیری از تشکیل و یا حذف (پراکنده کردن) رسوبات آسفالتینی و واکسی، انواع مختلفی از ترکیبات فعال سطحی شیمیایی تولید شده و مورد استفاده قرار گرفته‌اند. ترکیبات پخش‌کننده رسوبات پارافینی، گروهی از ترکیبات اصلاح‌کننده کریستال واکس و ترکیبات بازدارنده آسفالتین نمونه‌های شناخته شده این ترکیبات هستند. در این بخش کاربرد ترکیبات فعال سطحی در تغییر فرآیند رسوب ترکیبات آلی سنگین با هدف بررسی امکان جایگزینی این ترکیبات بجای مواد سنتزی رقیب، مورد مطالعه قرار می‌گیرد.

ترکیبات فعال سطحی ترکیباتی هستند که یک بخش آب‌گریز و یک بخش آب دوست در ساختمان آنها وجود دارد. به خاطر این ویژگی دوگانه تمایل به قرار گرفتن در سطوح تماس دارند تا نیروهای دافعه به حداقل برسند. با افزایش غلظت این مولکول‌ها، سطح حاوی آنها اشباع می‌شود. در این وضعیت کشش سطحی به حداقل ممکن (معادل با غلظت بحرانی مایسل) می‌رسد و امکان قرار گرفتن مولکول‌های اضافی وجود ندارد. این مولکول‌ها در داخل، فاز توده‌هایی (نظیر مایسل‌ها) تولید می‌کنند که حداقل تماس و دافعه را با مولکول‌های توده سیال داشته باشند.

تعداد زیادی از مولکول‌های بیولوژیکی (از جمله اجزای سازنده غشاء سلول)، خواص آب‌دوست-آب‌گریز دارند و فعالیت سطحی و امولسیون‌سازی بسیار خوبی از خود نشان می‌دهند. ترکیبات زیست‌فعال سطحی با تنوعی قابل توجه در ساختار و ترکیب شیمیایی توسط انواع زیادی از میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند.

بر اساس یک تقسیم‌بندی، زیست‌فعالان سطحی به دو گروه اصلی قابل تفکیک هستند: زیست‌فعالان سطحی ریزمولکول که اثر اصلی آنها کاهش کشش سطحی و کشش بین سطحی است و زیست‌فعالان سطحی درشت‌مولکول که نقش اصلی آنها تثبیت امولسیون‌های نفت در آب می‌باشد [۴۰]. ترکیبات زیست‌فعال سطحی ریزمولکول عموماً از نوع گلایکولیپید یا لیپوپپتید و ترکیبات درشت‌مولکول از نوع پلی ساکارید، پروتئین، لیپوپلی ساکارید و لیپوپروتئین هستند. جرم مولکولی ترکیبات زیست‌فعال سطحی در محدوده ۵۰۰ تا ۱۵۰۰ دالتون است.

ترکیبات زیست‌فعال سطحی دارای دو ویژگی منحصر به فرد هستند

که در مقایسه با ترکیبات فعال سطحی سنتزی به آنها برتری می‌بخشد. نخست آنکه غلظت بحرانی مایسل آنها بسیار اندک و در حدود ۱ تا ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر است، در نتیجه اگر هدف کاهش کشش سطحی، ایجاد و یا پایدار کردن امولسیون‌ها... باشد، در مقایسه با ترکیبات فعال سطحی شیمیایی به مقادیر بسیار کمتری از این ترکیبات نیاز است. خصوصیت دوم، تنوع بی رقیب این ترکیبات است تا جایی که میکروارگانیسم‌های متعلق به یک گونه خاص ممکن است چندین نوع ترکیب متفاوت تولید کنند. این تنوع موجب بکارگیری زیست‌فعالان سطحی در زمینه‌های مختلفی چون صنایع مربوط به نفت، معدن، مواد دارویی، مواد آرایشی، کشاورزی و مواد غذایی شده است.

۳-۱- اهمیت ترکیبات فعال سطحی زیستی

تنوع و ویژگی این ترکیبات امکان استفاده از انواع مختلفی از این ترکیبات را در جلوگیری از تشکیل (به عنوان بازدارنده) و یا حذف رسوبات آلی سنگین (به عنوان پخش‌کننده) فراهم کرده است. از جمله خواص جالب توجه این ترکیبات قابلیت کاربرد آنها بصورت خالص، مخلوط با انواع دیگر ترکیبات زیست‌فعال سطحی و حتی مخلوطی از آنها با ترکیبات فعال سطحی شیمیایی بدون کاهش فعالیت‌های شیمیایی- فیزیکی آنها می‌باشد.

صنایع نفتی بزرگترین بازار تولید و در عین حال بزرگترین بازار مصرف زیست‌فعالان سطحی بشمار می‌روند. در صنایع نفتی از آنها در زمینه‌های مختلفی نظیر ازدیاد برداشت نفت، ایجاد امولسیون و کاهش گرانروی در تسهیل انتقال نفت‌های خام سنگین، جاری ساختن رسوبات و لجن نفتی تشکیل شده در مخازن و تانک‌های نگهداری و درمان زیستی محیط‌های آلوده^۱ به ترکیبات نفتی در دریا و خشکی استفاده می‌شود.

۳-۲- کاربرد زیست‌فعالان سطحی در مقابله با رسوبات

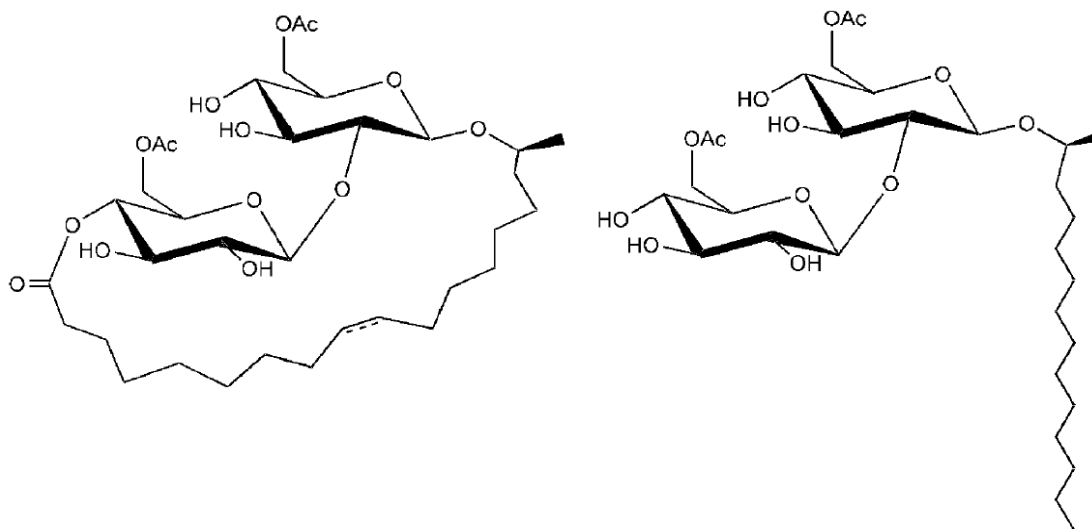
ترکیبات زیست‌فعال سطحی با تنوعی قابل توجه در ساختار و ترکیب شیمیایی توسط انواع زیادی از میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند. تعدادی از آنها کاربردهای وسیعی در مسائل مربوط به محیط زیست- نظیر تسریع تجزیه زیستی هیدروکربن‌ها در خاک‌های آلوده شده ساحلی- یافته‌اند. تاکنون بخش عمده تحقیقات بر روی ترکیبات

1. Bioremediation

در ساختمان همه ترکیبات بازدارنده واکس، یک قسمت پارافین شکل به طول ۱۰ تا ۲۵ کربن وجود دارد که مشابه با پارافین‌های موجود در کریستال واکس است و به آن‌ها امکان می‌دهد در ساختمان کریستال وارد شوند [۴۳]. وجود گروه‌های عاملی اضافی در ساختمان این ترکیبات باعث ایجاد اختلال در کریستالیزاسیون می‌شود که نتیجه آن کند شدن یا توقف فرآیند تشکیل رسوبات است [۴۴]. در شکل (۵) ساختار مولکولی یک ترکیب حاصل از *کاندیدا/ بمبی‌کولا*^۴ آورده شده است. زنجیره بلند پارافینی موجود، این ترکیب را به گزینه‌ای بسیار مناسب در کنترل و حذف رسوبات واکسی تبدیل می‌کند. علاوه بر نقش اصلاح کریستال واکس، امکان استفاده از این ترکیبات به عنوان پخش‌کننده هم وجود دارد. در شکل (۶) ساختارهای شیمیایی یک نمونه از ترکیبات پخش‌کننده شیمیایی جدید و یک نمونه از ترکیبات پخش‌کننده بیوشیمیایی احتمالی قابل کاربرد در این زمینه را نشان می‌دهد [۴۶، ۴۷].

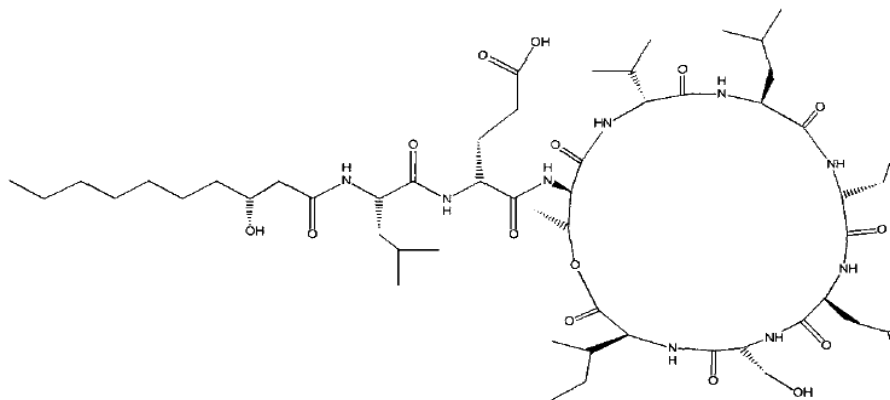
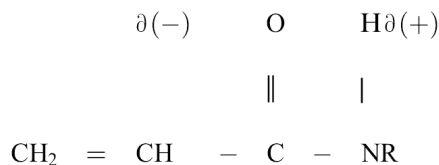
زیست‌فعال سطحی ریزمولکول سویه‌های *سودوموناس آئروچینوزا*^۱ (رامنولیپید)، گونه‌های *باسیلیوس* (انواع لیکنسین)، *تورولوپسیس بمبی‌کولا*^۲ (سوفوروز لیپید) و *رودوکوکوس ایتروپولیس*^۳ (ترهالوز دی میکولیپید) بوده است.

همانطور که نتایج عملیاتی متعدد نشان می‌دهند [۲۳] روش‌های شیمیایی مقابله با رسوبات، هم از لحاظ هزینه تمام شده و هم از لحاظ میزان عملکرد، موفق‌تر از سایر روش‌ها هستند، همچنین از لحاظ عملیاتی و اقتصادی، غالباً استفاده از مواد بازدارنده، مناسب‌ترین راه جلوگیری از تشکیل رسوب است [۲۴، ۴۱، ۴۲]. با در نظر گرفتن این نتایج و همچنین توجه به تنوع بسیار زیاد و نیز تخصصی عمل کردن این ترکیبات، روشن است که این ترکیبات، گزینه‌ای بسیار مناسب در حذف و یا پیشگیری از تشکیل رسوبات آسفالتینی و واکسی هستند، مشروط بر اینکه هزینه تمام شده آن‌ها کمتر از قیمت انواع حاصل از تولید سنتزی ترکیبات متداول باشد.



شکل ۵- ساختار مولکولی ۲-آلکیل سوفوروساید (سمت راست) و لاکتونیک سوفورولیپید (سمت چپ) به عنوان ترکیبات زیستی کاهنده نقطه ریزش حاصل از *کاندیدا/ بمبی‌کولا* [۴۵].

1. *P. aeruginosa*
2. *Torulopsis bombicola*
3. *R. erythropolis*
4. *Candida bombicola*

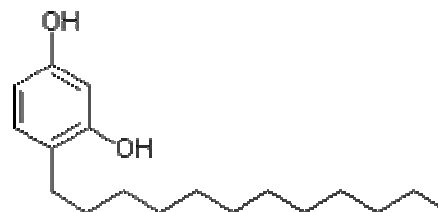


شکل ۶- مقایسه ترکیب پخش‌کننده سنتزی (بالا) [۴۶] و ترکیب حاصل از سودوموناس ویسکوزا^۱ (پایین) [۴۷].

۳-۳- جنبه‌های بیولوژیک زیست‌فعالان سطحی

کارکردهای بیولوژیک ترکیبات زیست‌فعال سطحی هنوز به درستی مشخص نشده است. بیشتر انواع زیست‌فعالان سطحی جزء متابولیت‌های ثانویه به شمار می‌روند؛ در حالیکه برخی از آن‌ها نقشی اساسی در حیات سلول ایفا می‌کنند. از آن جمله می‌توان به ترکیبات کشنده سلول‌های مزاحم و یا ترکیباتی که دسترسی به مواد مغذی را تسهیل می‌کنند اشاره نمود. بیشتر سلول‌هایی که هیدروکربن‌ها تنها منبع کربن آن‌ها را تشکیل می‌دهد در این گروه قرار می‌گیرند. البته در مواردی (نظیر *باسیلوس سوبتیلیس*^۲) تولید زیست‌فعالان سطحی تنها با استفاده از منابع کربنی قابل انحلال در آب میسر است. تولید ترکیبات زیست‌فعال سطحی، یکی از چند مکانیزم اصلی است که میکروارگانیزم‌ها به کمک آن دسترسی خود به ترکیبات آب‌گریز هیدروکربنی را افزایش می‌دهند [۴۸]. زیست‌فعالان سطحی ممکن است به عنوان منبع کربن، توسط سایر میکروارگانیزم‌های حاضر مصرف شوند و موجب افزایش اثرات کومتابولیکی در اجتماع باکتریایی تخریب‌کننده هیدروکربن‌ها گردند. حتی تولید این ترکیبات به عنوان منابع ذخیره انرژی برون‌سلولی به اثبات رسیده است.

با توجه به حضور گروه‌های عاملی با قطبیت بالا در مولکول‌های ترکیبات آسفالتینی، به نظر می‌رسد عملکرد ترکیبات زیست‌فعال سطحی در برخورد با آسفالتین‌ها بهتر از میزان تأثیر آن‌ها در برابر ترکیبات واکسی باشد. شکل (۷) ساختار مولکولی یکی از مؤثرترین ترکیبات بازدارنده آسفالتین (دودسیل رزورسینول) را نشان می‌دهد.



شکل ۷- ساختار مولکولی دودسیل رزورسینول

تولید ترکیباتی با ساختار مشابه فوق به عنوان متابولیت‌های میانی تخریب ترکیبات آروماتیکی که دارای تعداد اندکی از حلقه‌های آروماتیک هستند، انتظار می‌رود. وقتی این مولکول‌ها در فضای برون‌سلولی قرار گیرند، می‌توانند به عنوان بازدارنده‌های آسفالتینی (که به صورت در محل تولید می‌شوند) عمل کنند.

2. *B. subtilis*

1. *P. viscosa*

۳-۴- تولید صنعتی ترکیبات زیست فعال سطحی

تولید زیست فعالان سطحی غالباً با تشکیل کف، کاهش کشش سطحی^۱، کاهش کشش بین سطحی در داخل محیط کشت و ایجاد امولسیون (در مورد منابع کربنی آب‌گریز) همراه است. این ویژگی‌ها به عنوان معیارهای ارزیابی اولیه در تولید زیست فعالان سطحی برای رسیدن به حداکثر محصول دهی بکار می‌روند. آزاد شدن این ترکیبات از سلول‌ها ممکن است در فاز رشد یا در فاز سکون صورت گیرد. با توجه به تنوع میکروارگانیسم‌های تولیدکننده و ترکیب مولکولی ترکیبات تولید شده، روش‌های مختلفی برای تولید این ترکیبات بصورت تخمیر ناپیوسته و یا تخمیر پیوسته ابداع شده است که از آن جمله می‌توان به موارد زیر اشاره نمود: تولید پیوسته سورفکتین (زیست فعال سطحی حاصل از *باسیلوس سوبتیلیس*) و جداسازی مداوم کف محتوی محصول، تولید لیپوپتید حاصل از *باسیلوس لیکنی فورمیس*^۲ در فرآیند تخمیر و با نرخ رقت پایین با هدف جلوگیری از ورود سلول‌ها به فاز سکون و ممانعت از مصرف شدن محصول توسط سلول‌ها، تولید زیست فعالان سطحی در محیط جامد و نیز تثبیت سلول‌ها.

بازیابی و تغلیظ زیست فعالان سطحی قسمت عمده هزینه تولید را در بر می‌گیرد. مناسب‌ترین روش جداسازی، بسته به خواص فیزیکی-شیمیایی محصول و عملیات تولید، متفاوت است. برای جداسازی محصولات حاصل از سوبستراهای هیدروکربنی در قدم اول باید با سرد کردن محیط کشت تا دمای ۴ درجه سانتی‌گراد هیدروکربن‌ها را بصورت جامد درآورد. در ادامه، اگر ترکیب از نوع متصل به سطح سلول و یا از انواع نامحلول در آب باشد، جداسازی به ترتیب با روش‌های استخراج با حلال و سانتریفیوژ انجام می‌شود. ترکیبات بارداری نظیر سورفکتین، با تنظیم pH در نقطه ایزوالکتریک جداسازی می‌شوند. جداسازی زیست فعالان سطحی محلول در آب به کمک رسوب‌دهی (با استفاده از استون سرد، اتانول یا نمک‌هایی چون سولفات آمونیوم)، استخراج با حلال و یا اولترافیلتراسیون قابل انجام است.

جداسازی در مقیاس‌های صنعتی بزرگ (یا جداسازی پیوسته) به کمک کروماتوگرافی جذب سطحی بر روی رزین‌های تبادل یونی،

۱. در غلظت‌های بالاتر از غلظت بحرانی مایسل، کشش سطحی نمی‌تواند معیاری از غلظت ترکیب موجود در محلول به دست دهد.

2. B. licheniformis

کربن فعال یا جاذب‌های هیدروفوب نظیر آمبرلیت^۳ XAD2 انجام‌پذیر است. مشابه با بیشتر متابولیت‌ها، غلظت زیست فعالان سطحی تولید شده در فرماتور ناچیز است. بنابراین هزینه جداسازی و خالص کردن این ترکیبات، کسر قابل توجهی از هزینه تولید را شامل می‌شود [۴۹]. تولید زیست فعالان سطحی هنوز به خاطر دلایلی همچون نرخ رشد پایین سویه‌های مولد، هزینه بالای تولید، مواد اولیه گران‌قیمت، و نیاز به مراحل طولانی جداسازی هنوز توان رقابت با محصولات شیمیایی مشابه را ندارد [۵۰]. میزان تولید جهانی این ترکیبات در ابتدای هزاره جدید در حدود ۴۰۰ تا ۵۰۰ تن تخمین زده شده است [۵۱] که در مقایسه با تولید سه میلیون تنی ترکیبات شیمیایی مشابه [۵۲] فاصله بسیار زیادی دارد. با این وجود استفاده از مواد ارزان‌قیمت، مطالعه بیولوژی تولید این ترکیبات، تعیین و بهینه‌سازی شرایط تولید محصول خصوصاً در فرمولاسیون محیط کشت، ایجاد روش‌های مناسب برای فرآیندهای پایین‌دستی و استفاده از سویه‌های نو ترکیب و جهش یافته مناسب، تولید اقتصادی این ترکیبات را میسر خواهد کرد.

۴- نتایج عملی استفاده از فناوری زیستی

۴-۱- انتقال نفت‌های سنگین به کمک آب

در این روش، نفت‌های خام سنگین به صورت امولسیون (همراه با یک امولسیفایر مناسب) و یا همراه با لایه‌ای از آب، که بین جداره لوله و نفت قرار گرفته است، در مسیرهای طولانی منتقل می‌شوند [۵۳]. صنعت نفت اندونزی به عنوان یکی از پیشگامان این روش برای انتقال یکی از نمونه‌های نفت واکسی خود به مدت بیش از ۲۵ سال از این روش استفاده نمود [۵۴]. حضور امولسیفایر موجب ایجاد سوسپانسیون همگن با ویسکوزیته بسیار کمتر می‌شود که علاوه بر کاهش هزینه پمپاژ، مشکل رسوبات در آن به حداقل می‌رسد.

در کشور ونزوئلا برای انتقال نوعی نفت خام سنگین، مخلوطی از ترکیب زیستی امولسان و محصولات تجاری مورد استفاده قرار گرفت که نتیجه آن، کاهش ویسکوزیته از ۱۰^۵ mPs به ۷۰ mPs و انتقال موفقیت آمیز نفت در مسیری به طول ۶۰۰ کیلومتر بوده است. در یک تجربه مشابه با استفاده از ترکیب زیست فعال سطحی امولسان، امکان انتقال نوعی نفت خام واکسی، ویسکوزیته نفت خام بکار گرفته شده از مقدار اولیه ۲۰۰۰۰ Ps به ۱ Ps کاهش داده شد و امکان انتقال در یک

3. Amberlite

۴-۳- جلوگیری از تشکیل رسوبات هیدرات

اخیراً یک شرکت تولیدکننده ترکیبات بازدارنده هیدرات از فناوری جایگزین زیستی برای تولید این محصولات استفاده کرده است. بدین منظور با کلون کردن ژن (سنتز شده) کد کننده پلی‌آسپاراتات در *شرشیا کولی*^۲ این محصول در شرایط صنعتی در فرمانتور تهیه شده و مورد استفاده گرفته است.

۵- بحث و نتیجه‌گیری

با وجود ظرفیت‌ها و مزایای روش‌های میکروبی نسبت به سایر شیوه‌های کنترل یا حذف رسوبات آلی هیدروکربنی این روش‌ها هنوز نتوانسته‌اند جایگاه اصلی خود را بدست آورند. در دانش فناوری زیستی نفت خام، محققین علاوه بر پیچیدگی ذاتی محیط نفت خام با دستگاه‌های زنده خودکاری روبرو هستند که بررسی برهمکنش بین آنها را (دست کم در زمان حاضر) غیرممکن می‌سازد. ایجاد روش‌های جدید برای جداسازی سوبه‌های مناسب، توسعه و بهبود ژنتیکی این سوبه‌ها به کمک روش‌های مهندسی متابولیک، مطالعه جامع بر روی بیولوژی تولید ترکیبات زیست‌فعال سطحی و ایجاد روش‌های جداسازی مناسب برای تهیه این ترکیبات، مهم‌ترین مواردی هستند که می‌توانند نویدبخش توسعه و جایگزینی روش‌های میکروبی در آینده‌ای نزدیک باشند.

مراجع

- [1] Ferworm, K. A., Hammami, A., and Ellis, H., Control of wax deposition: an experimental investigation of crystal morphology and evaluation of various chemical solvents, SPE 37240, (1997).
- [2] Vazquez D, Mansoori G.A., Identification and measurement of petroleum precipitates, J. Petrol. Sci. Eng., Vol. 26, p.49-55, (2000).
- [3] Towler, B.F., Rebbapragada, S., Mitigation of paraffin wax deposition in cretaceous crude oils of Wyoming, J. Petrol. Sci. Eng. Vol. 45, p.11-19, (2004).
- [4] Misra, S., Baruah, S., Singh, K., Prediction of paraffin problems in crude oil production and transportation – A review, SPE 28181, Jan. (1994).
- [5] Sadeghazad, A., Christiansen, R.L., Sobhi, G.A., Edalat, M., The prediction of cloud point temperature: In wax deposition, SPE 64519, Oct. (2000).
- [6] Giangiacomo, L.A., Stripper field performance

2. *Escherichia coli*

خط لوله طولانی فراهم گردید [۵۲]. در تحقیق دیگری برای مقابله با مشکلات ناشی از واکس در مخازن نفتی نتایج زیر به دست آمد: کاهش ویسکوزیته به میزان ۳۴٪، کاهش کشش سطحی به میزان ۳۱٪، کاهش قابل توجه ترکیبات سنگین و کاهش نقطه ریزش به میزان ۳۱٪ [۵۵]. به نظر می‌رسد این روش‌ها در آینده نزدیک با استقبال بیشتری مواجه شوند [۴۶].

۴-۲- زدودن رسوبات سنگین از کف تانک‌های ذخیره‌نفت خام

برای نخستین بار در سال ۱۹۷۳ استفاده از سوبه مولد امولسان برای زدودن رسوبات تشکیل شده در کف مخازن کشتی‌های انتقال‌دهنده نفت خام انجام گرفت [۵۶]. با افزودن اوره و فسفات و انجام هوادهی پس از گذشت چهار روز رسوبات بطور کامل از مخازن آزاد شدند. پس از آن، تحقیقات وسیعی در زمینه یافتن و اصلاح سوبه‌های دارای قابلیت تولید امولسیفایرهای مناسب صورت گرفت که از آن جمله می‌توان به تولید آلسان از *آسینتوباکتر کالکواستیکوس*^۱ برای تمیز کردن مخازن در دهه ۸۰ اشاره نمود [۵۱].

یکی از موفق‌ترین نتایج در این زمینه توسط صنعت نفت کویت بدست آمده است. محققین با استفاده از ۲ تن محلول کشت میکروبی حاوی ترکیب زیست‌فعال سطحی موفق شدند رسوبات تشکیل شده در ته یک مخزن بزرگ نگهدارنده نفت را زدوده و بخش قابل توجهی از هیدروکربن‌های نفتی تجمع یافته را بازیابی کنند و نهایتاً هزینه صرف شده (بین ۱۰۰ تا ۱۵۰ هزار دلار به ازای هر مخزن) را از فروش هیدروکربن‌های نفتی بازیابی شده تأمین کنند [۵۷].

پژوهش‌های انجام شده موارد موفقی از بکارگیری روش‌های بیولوژیک برای مقابله با (حذف و یا کنترل) رسوبات نفتی را نشان می‌دهند. اولین طرح‌های پایلوت برای مقابله زیستی با رسوبات حاصل از فرآیندهای نفتی در اواسط دهه ۸۰ با موفقیت اجرا شد [۵۱]. در یک تجربه تحقیقی از چند موقعیت آلوده به ترکیبات نفتی چندسویه میکروبی با قابلیت تجزیه ترکیبات هیدروکربنی و تولید ترکیبات بیوشیمیایی مناسب (حلال‌ها و پاک‌کننده‌های زیستی) جداسازی گردید. این مخلوط میکروبی بکار گرفته شد و نتایج قابل توجهی در مقابله با رسوبات پارافینی حاصل گردیده است [۱۰].

1. *A. calcoaceticus*

- [23] Denis, J., Durand, J.P., Modification of wax crystallization in petroleum products, *Rev. Inst. Franc. du Petrole* Vol. 46, p.637-648, (1991).
- [24] Hennessy, A., Neville, A., and Roberts, K.J., In-situ SAXS/WAXS and turbidity studies of the structure and composition of multihomologous n-alkane waxes crystallized in the absence and presence of flow improving additive species, *Crystal Growth Des.*, Vol. 4, p.1062-1078, (2004).
- [25] Becker, P.E., Figueira, J.M., and Murphy, K.R., Surfactant prevents wax crystallization, solubilizes paraffin, *Hart's Petrol. Eng. Inter.*, p.29-33, (1998).
- [26] Singer, M.E., Finnerty, W.R., Microbial metabolism of straight-chain and branched alkanes, in: *Petroleum microbiology*, Atlas, R.M., p. 1-59, Macmillan, New York, (1984).
- [27] Kato, T., Haruki, M., Imanaka, T., Morikawa, M., Kanaya, S., Isolation and characterization of long-chain-alkane degrading *Bacillus thermoleovorans* from deep subterranean petroleum reservoirs, *J. BioSci. Bioeng.*, Vol. 91, No. 1, p.64-70., (2001).
- [28] Berthe-Corti, L., Fetzner, S., Bacterial metabolism of n-alkanes and ammonia under oxic, suboxic and anoxic conditions, *Acta Biotechnol.*, 22, 3-4, p.299-336, (2002).
- [29] Britton, L.N., Microbial degradation of aliphatic hydrocarbons, in: Gibson, D.T., *Microbial degradation of organic compounds*, p.89-129, Marcel Dekker, (1984).
- [30] Vlieg, J.E.T.V.H, Janssen, D.B., Bacterial degradation of aliphatic hydrocarbons, in: Rehm, H.J. and Reed, G., *Biotechnology: A multi-volume comprehensive treatise*, 2nd. ed., Vol. 11b., WILEY-VCH, Germany, (1999).
- [31] Cheng, Q., Thomas, S. M., Rouviere, P., Biological conversion of cyclic alkanes and cyclic alcohols into dicarboxylic acids: biochemical and molecular basis, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, Vol. 58, p.704-711, (2002).
- [32] Perry, J.J., Microbial metabolism of cyclic alkanes, in: Atlas, R.M., *Petroleum microbiology*, MacMillan Publishing Company, p. 61-98., (1984).
- [33] Cerniglia, C.E., Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Biodeg.*, Vol. 3, p.351-368, (1992).
- [34] Kanaly, R.A., Harayama, S., Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria, *J. Bacteriol.*, p. 2059-2067, Apr. (2000).
- [35] Bastiaens, L., Springael, D., Wattiau, P., Harms, H., De Wachter, R., Verachtert, H., Diels, L., Isolation of adherent polycyclic aromatic hydrocarbon(PAH) degrading bacteria using PAH-sorbing carriers, *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 66, No.5, p.1834-1843, (2000).
- [36] Yuste, L., Corbella, M.E., Turiegano, M.J., Karlson, U., Puyet, A., Rojo, F., Characterization of bacterial strains able to grow on high molecular mass residues from crude oil processing, *FEMS Microbiol. Ecol.*, Vol. 32, p.69-75, (2000).
- [37] Okerentugba, P.O., Ezeronye, O.U., Petroleum degrading comparison of chemical and microbial paraffin control systems, *SPE 52131*, (1999).
- [7] Biochemical periodic tables and a biodegradation pathway prediction system, accessible via <http://umbbd.45ahc.umn.edu/periodic> & <http://umbbd.ahc.umn.edu/predict/>, respectively.
- [8] Borgne, S.L., Quintero, R., Biotechnological processes for the refining of petroleum, *Fuel Proc. Technol.*, Vol. 81, p.155-169, (2003).
- [9] Bushnell, L.D., Haas, H.F., The utilization of certain hydrocarbons by microorganisms, *J. Bacteriol.*, Vol. 41, p.653-673, (1941).
- [10] Lazar, I., Voicu, A., Nicolescu, C., Mucenica, D., Dobrota, S., Petrisor, I.G., Stefanescu, M., Sandulescu, L., The use of naturally occurring selectively isolated bacteria for inhibiting paraffin deposition, *J. Petrol. Sci. Eng.*, Vol. 22, p.161-169, (1999).
- [11] Sadeghazad, A., Ghaemi, N., Microbial prevention of wax precipitation in crude oil by biodegradation mechanism, *SPE 80529*, (2003).
- [12] Stone, R.W., Fenske, M.R., White, A.G.C., Bacteria attacking petroleum and oil fractions, *J. Bacteriol.*, p.169-178, (1941).
- [13] Marino, F., Biodegradation of paraffin wax, master of engineering thesis, McGill University, (1998).
- [14] Ul-Hagh, F., A study on paraffin deposition and removal characteristics of Jacksonsburg-Stringtown oil, M.Sc. thesis, West Virginia University, (1999).
- [15] Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J., *Brock biology of microorganisms*, Upper Saddle River, New Jersey: Prentice-Hall, (2006).
- [16] Fritsche, W., Hofrichter, M., Aerobic degradation by microorganisms, in Rehm, H.J. and Reed, G. (Eds.), *Biotechnology: A multi-volume comprehensive treatise*, 2nd. ed., Vol. 11b. WILEY-VCH, Germany, (1999).
- [17] Flores, G.P., Argüello, G.B., Galeana, C.L., Mesta-Howard, A.M., A microbial consortium isolated from a crude oil sample that uses asphaltene as a carbon and energy source, *Biodegrad.*, 15, p.145-151, (2004).
- [18] Lazar, I., Dobrota, S., Voicu, A., Stefanescu, M., Sandulescu, L., Petrisor, I.G., Microbial degradation of waste hydrocarbons in oily sludge from some Romanian oil fields, *J. Petrol. Sci. Eng.*, Vol. 22, p.151-160, (1999).
- [19] Van Hamme, J.D., Singh, A., Ward, O.P., Recent advances in petroleum microbiology *Microbiol. Molec. Bio. Rev.*, p.503-549, Dec. (2003).
- [20] McClafflin, G.G., Whitfill, D.L., Control of paraffin deposition in production operations, *J. Petrol. Technol.*, p.1965-1970, Nov. (1984).
- [21] Parks, C.F., Chemical inhibitors combat paraffin deposition, *Oil Gas J.*, April 4, p.97-99, (1960).
- [22] Henaut, I., Vincke, O., and Brucey, F., Waxy crude oil restart: mechanical properties of gelled oils, *SPE 56771*, (1999).

- [53] Ford, P.E., Ells, J.W., and Russell, R.J., Pipelining high pour point crude: Part1, *Oil Gas J.*, p.88-91, (1965).
- [54] Sifferman, T.R., Flow properties of difficult to handle waxy crude oils, *J. Petrol. Technol.*, p.1042-1050, (1979).
- [55] Feng, Q., Zhou, J., Ni, F., Chen, Z., Liu, R., Application of thermophilic microbes in waxy oil reservoirs at elevated temperature, *SPE 71493*, (2001).
- [56] Rosenberg, E., Ron, E.Z., Bioemulsans: surface-active polysaccharide-containing complexes in: Steinbuechel, A., *Biopolymers*, WILEY-VCH, p.91-108, (2004).
- [57] Banat, I.M., Biosurfactant production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation, *Bioreso. Technol.*, Vol.57, p.1-12, (1995).
- potentials of single and mixed microbial cultures isolated from rivers and refinery effluent in Nigeria, *Afric. J. Biotechnol.*, Vol. 2 (9), p.288-292, Sep. (2003).
- [38] Flores, G.P., Argüello, G.B., Galeana, C.L., Mesta-Howard, A.M., A microbial consortium isolated from a crude oil sample that uses asphaltenes as a carbon and energy source, *Biodeg.*, 15, p.145-151, (2004).
- [39] Flores, G.P., Mesta-Howard, A.M., Petroleum asphaltenes: generated problematic and possible biodegradation mechanisms, *Revista Latinoamericana de Microbiología*, Vol. 43, No. 3, p.143 -150, (2001).
- [40] Rosenberg, E., Ron, E.Z., High and low molecular mass microbial surfactants, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, p.154-162, (1999).
- [41] Hennessy, A., Neville, A., Roberts, K.J., An examination of additive-mediated wax nucleation in oil pipeline environments, *J. Crystal Growth* 198/199, p.830-837, (1999).
- [42] Tung, N.P., Vuong, N.V., Long, B.Q.K., Vinh, N.Q., Hung, P.V., Hue, V.T., Hoe, L.D., Studying the mechanism of magnetic field influence on paraffin crude oil viscosity and wax deposition reductions, *SPE 68749*, (2001).
- [43] Wang, S.L., Flamberg, A., and Kikabhai, T., Select the optimum pour point depressant, *Hydroc. Process.*, p.59-62, Feb. (1999).
- [44] Ashbaugh, H.S., Guo, X., Schwahn, D., Prud'homme, R.K., Richter, D., Fetters, L.J., Interaction of paraffin wax gels with ethylene/vinyl acetate Co-polymers, *Energy Fuels*, Vol. 19, p.138-144, (2005).
- [45] Lang, S., Biological amphiphiles (microbial biosurfactants), *Curr. Opin. Collo. Interfa. Sci.*, Vol. 7, p.12-20, (2002).
- [46] Al-Roomi, Y., George, R., Elgibaly, A., Elkamel, A., Use of a novel surfactant for improving the transportability transportation of heavy viscous crude oils, *J. Petrol. Sci. Eng.*, Vol. 42, p.235-243, (2004).
- [47] Bach, H., Gutnick, D.L., Potential applications of bioemulsifiers in oil industry, in Duhalt, R.V., Ramirez, R.Q., *Petroleum biotechnology: developments and perspectives*, p.233-282, (2004).
- [48] Leahy, J.G., Colwell, R.R., Microbial degradation of hydrocarbons in the environment, *Microbiol. Rev.*, Vol. 54, No. 3, p.305-315, Sept. (1990).
- [49] Lin, S.C., Biosurfactants: recent advances, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, Vol. 66, p.109-120, (1996).
- [50] Mukherjee, S., Das, P., Sen, R., Towards commercial production of microbial surfactants, *Tren. Biotechnol.*, Vol.24, No.11, (2006).
- [51] Bognolo, G., Biosurfactants as emulsifying agents for hydrocarbons, *Collo. Surfac.*, p.41-52, (1999).
- [52] Banat, I.M., Makkar, R.S., Cameotra, S.S., Potential commercial applications of microbial surfactants, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, Vol. 53, p.495-508, (2000).