مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره ششم، شماره بیست و چهارم- پائیز۱۳۹۵

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی تجزیه زیستی Paraffin-wax توسط باکتری ترموفیل بومی نفت خام ایران

میترااالسادات طباطبائی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی

چکیده:

سابقه و هدف: دو ساختار آسفالتین‌ها و موم‌ها که در نفت های سنگین فراوان می باشند مشکلاتی را در فرایندهای نفت ایجاد می کنند. امروزه در کشور ما در صنعت نفت تنها راه کار عملی در حل معضلات ناشی از رسوب پارافین در تجهیزات استخراج، خطوط اول و فرایندهای پالایش در دمای پایین روش های فیزیکی و شیمیایی می باشد که سالانه هزینه هنگفتی را جهت تامین منابع شیمیایی و نیروی انسانی به بدنه این صنعت وارد می کند استفاده از راه حل‌های بیولوژیک افق های جدیدی را در حل این معضلات پیش رو می گذارد.

مواد و روش ها: در این مطالعه پس از نمونه گیری از چاه های مختلف نفتی از منطقه لاوان. تیمار اولیه با پارافین در محیط کشت MSM انجام گرفت. سپس به ترتیب غربال گری، غنی سازی و جداسازی در شرایط ترموفیل صورت گرفت. توانایی تولید بیوسورفکتانت مورد بررسی قرار گرفت. سپس منحنی رشد باکتری هایی که از پارافین جامد به عنوان تنها منبع کربن و انرژی استفاده می کردند رسم شد و تحمل پذیری بالای فیزیکوشیمیایی این باکتری ها بررسی شد. پس از تیمار میکروبی پارافین به وسیله n-هگزان از محیط کشت استخراج و به وسیله دستگاه گاز کروماتوگرافی FID آنالیز شد. در نهایت باکتری با روش مولکولی شناسایی شد.

یافته ها: نتایج حاصل از GC بیان گر کاهش چشم گیر مقدار پارافین واکس ها تحت تاثیر باکتری ترموفیل مولد بیوسورفکتانت بومی نفت خام بود که ضمن شناسایی مولکولی به عنوان Bacillus thermoleovorans شناخته شد، بود. این باکتری قادر به رشد در حیطه دمایی ۴۰ تا ۶۵ درجه سانتی گراد و pH به شدت اسیدی ۴ تا قلیایی ۱۰ و شوری ۰/۵ تا ۱۵٪ بود.

بحث: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که باسیلوس ترمولوورانس، باکتری ترموفیل بومی نفت خام ایران می باشدکه با توانایی تحمل شرایط فیزیکوشیمیایی دشوار مشابه آنچه در صنعت نفت وجود دارد، می تواند پارافین را که از جمله اصلی ترین ترکیب های مشکل زا در صنعت نفت باشد تجزیه نماید.

نتیجه گیری: با توجه به مطالعه های محدود در زمینه تجزیه زیستی پارافین های جامد در دمای بالا، باسیلوس ترمولوورانس می تواند به عنوان یک باکتری کاربردی در بخش های مختلف صنعت نفت و محیطی مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: نفت خام ایران، پارافین، باکتری ترموفیل، تجزیه زیستی، باسیلوس

مقدمه:

برخی محیط های زیست با معیار انسانی محیط‌های کشت دشوار یا اکستریم محسوب می‌شوند که امکان حیات در آن نیست مگر برای میکروارگانیسم‌هایی که با این شرایط سازگاری پیدا کرده-اند که به آن ها اکستریموفیل گفته می شود. این شرایط عبارتند از: دماهای بسیار بالا یا بسیار پایین، فشار بالا، pH های اسیدی یا قلیایی و شوری بالا. بسیاری از این شاخص ها بیانگر آن چیزی است که در مخازن نفتی دیده می شود(۱۹) ؛ بنابراین این میکروارگانیسم‌های اکستریموفیل و آنزیم‌های آن ها که به آن اکستریموزیم گفته می شود، کاتالیست‌های مورد توجهی برای صنعت نفت درپالایش نفت محسوب می شود. (۹،۱۴)

امروزه افزایش استفاده از نفت‌های خام سنگین در مقایسه با نفت‌های سبک، مشکلات جدیدی را برای ارتقاء کیفیت آن ها ایجاد کرده است. این مشکلات به طور غالب مربوط به دو ساختار با وزن مولکولی بالا و بسیار سنگین آسفالتین‌ها و موم‌ها

نویسنده مسئول :

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی

پست الکترونیکی: Mitra_tabatabaee@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۰۶

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.1.0]

(waxes) می‌باشد. موم‌ها مولکول‌های پارافینی بلند زنجیره و یا آلکان‌هایی هستند که به طور اصولی زمانی که طولی بیش تر از ۴۰ اتم کربن داشته باشند درفرآیندهای عملیاتی ایجاد رسوب و اشکال می کنند. (۵)

اصلی ترین عمل کرد و کاربرد میکروارگانیسم‌ها در صنعت نفت به صورت شکستن، تجزیه و استفاده از ترکیب های هیدروکربنی است هر چند رشد میکروارگانیسم‌ها به طور غالب در سوبستراهای جامد مثل آلکان‌های نرمال پارافینی دشوار به نظر می رسد زیرا هیدروکربن‌های جامد به یکدیگر چسبیده و در نتیجه دسترسی سلول ها به آن را دشوار می کند. هم چنین سطح تماس قابل دسترس محدود شده و در نهایت رشد میکروارگانیسم‌ها کاهش می‌یابد. (۷،۱۰،۱۳) در مخازن نفتی تحت شرایط دما و فشار بالا پارافین‌ها به صورت متوازن و متعادل با ترکیب های دیگر باقی می‌مانند. اما به محض این که نفت به سطح مخازن پمپ می شود، دما و فشار کاهش پیدا می کند. در دمای پائین تر هیدروکربن‌های پارافینی از نفت خام جدا شده و در سطح تجهیزات تولید نفت رسوب می‌نماید. این رسوب های پارافینی سالانه هزینه ای معادل میلیون ها دلار برای شرکت های تولید کننده نفت به منظور پاک سازی این رسوب ها و نیز از طریق کاهش دادن میزان تولید، به بار می آورد. (۱۶) جلوگیری از این رسوب گذاری از طریق استفاده از تیمار شیمیایی هم چنین از طریق کنترل سرعت جریان و کنترل دما به منظور نگه داشتن مولکول‌ها در فاز محلول انجام می‌گیرد. موم‌ها می توانند مواد اولیه با ارزشی برای فرآیندهای پالایشی نفت باشند ، بنابراین جلوگیری از رسوب موم‌ها برای حفظ ارزش اقتصادی نفت و هم چنین پرهیز از اشکال های ایجاد شده در طی عملیات ها ضروری به نظر می رسد. برای پاک سازی رسوب-های ایجاد شده از جریان آب گرم، روغن گرم، حلال ها، ترکیب-های فعال سطحی (سورفکتانت‌ها) و یا از طریق تراشیدن خطوط لوله استفاده می شود.(۷) اگر چه بسیاری از این راه حل‌ها مورد استفاده و کاربرد صنعتی قرار می‌گیرد، اما هر کدام ضررها و معایب خاص خود را دارد. بنابراین به‌نظر می رسد روش های میکروبی راه حلی کم خطرتر و کم هزینه تر به‌منظور رهایی از مشکل های مربوط به پارافین‌ها می‌باشد. از فعالیت های بیولوژیک می توان از سه شکل در کنترل رسوب پارافین استفاده کرد :

الف) تولید متابولیت‌ها (از منابع دیگر کربنی به غیر از نفت) که می توانند حلالیت موم‌ها و آسفالتین‌ها را افزایش دهد. ب) تبدیل و تغییر بیولوژیک واکس‌ها (موم‌ها) و آسفالتین‌ها به محصول هایی که حلالیت بهتری دارند(از طریق کاهش وزن مولکولی یا تغییرهای اساسی. ج) تجزیه زیستی به منظور حذف ترکیب های مشکل ساز از خود نفت و یا از رسوب های ایجاد شده در طی عملیات های انجام شده روی نفت. (۳، ۱۸ ،۱۹)

تولید بیوسورفکتانت توسط میکروارگانیسم ها (۶) دسترسی زیستی و متعاقب آن تجزیه زیستی را بالا می برند. لذا دست یافتن به باکتری هایی که ضمن تحمل شرایط دشوار مخزنی دارای توانایی تولید بیوسورفکتانت و تجزیه موم های پارافینی باشد می تواند راه کار نوینی در حل بسیاری از مشکل های صنعت نفت را پیش رو باشد. لذا در این مطالعه یافتن راه کاری بیولوژیک که با هزینه و صرف انژی کم تر بتوان از آن جهت کاهش معضلات حاصل از پارافین استفاده کرد مورد بررسی قرار گرفت. بنابراین بررسی هایی به منظور جداسازی یک باکتری ترموفیل که قادر به تحمل شرایط دشوار مخزنی بوده ، قادر به تولید بیوسورفکتانت باشد و پیش از راسب شدن پارافین بتواند آن را تجزیه کند مد نظر قرار گرفت. از چنین باکتری می شود در فرایند ازدیاد برداشت میکروبی نفت به روش درجا استفاده کرد و در ضمن به طور هم زمان از آن برای هدف کاهش میزان پارافین مشکل ساز در صنعت نفت می توان بهره برد.

مواد و روش ها:

به منظور جداسازی نمونه های میکروبی موثر در تجزیه و سبک سازی موم های پارافینی نمونه های اولیه از سکوهای نفتی منطقه لاوان تهیه شد. نمونه گیری در شیشه های درپیچ دار استریل از سر سپراتور انجام شد. دمای هر نمونه در زمان نمونه گیری تعیین گردید. پس از انتقال نمونه ها به آزمایشگاه غنی سازی در محیط کشت نوترینت براث انجام گرفت. به این صورت که ابتدا ۰/۵میلی لیتر از نمونه نفتی در ۵۰ میلی لیتر محیط کشت نوترینت براث استریل تلفیح شد و به مدت ۱۴ روز در در دمای ۴۵°C در شیکر انکوباتور با دور rpm ۱۵۰گرماگذاری شد. (۱۵) نمونه هایی که ایجاد کدورت کردند در محیط کشت معدنی حداقل یا MSM با pH خنثی که در آن ۵٪ از پارافین جامد به عنوان تنها منبع کربن و انرژی که روی سطح دیواره ارلن به منظور افزایش سطح تماس ، وجود داشت به مدت ۷ روز در ۴۵°C و rpm ۱۵۰ گرماگذاری شدند. محیط کشت MSM دارای ۰/۵ gr ، Na_2SO_4 ۲ gr ، NH_4Cl ۱ gr ، K_2HPO_4 gr ۲ ، $CaCl_2.6H_2O$ ۰/۰۰۱ KNO_3 gr ، $MgSO_4.7H_2O$ gr ۱ ۰/۰۰۱ $FeSO_4.7H_2O$ در یک لیتر آب مقطر بود. (۱۵)

هدف از این کار غنی سازی باکتری‌های هوازی از نمونه ها بود که اول سمیت این هیدروکربن های سنگین را تحمل کرده و دوم قادر به استفاده از پارافین به عنوان تنها منبع کربن و انرژی در

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.1.0]

دمای بالا بوده و آن ها را می شکنند.

در مرحله بعدی باکتری‌هایی که می توانستند از پارافین به عنوان تنها منبع کربن و انرژی استفاده کنند به روش Spread plate جداسازی شد. در نهایت طی چندین مرحله تجدید کشت باکتری ها تخلیص شدند. ایزوله ها ابتدا رنگ آمیزی گرم انجام شده و سپس تست KOH برای تائید رنگ آمیزی گرم انجام گرفت. تست حرکت به روش Gap culture صورت گرفت. اگر باکتری متحرک بود از روی Strip کاغذی (کاغذ صافی) حرکت کرده و در سوی دیگر شیار ایجاد کلونی می کرد.

با توجه به شرایط دشوار مخازن نفتی جهت انتخاب بهترین سویه ها برخی فاکتورهای محیطی در رشد باکتری ها بررسی شدند.

نمک NaCl به عنوان اصلی ترین ملح سازنده آب یکی از فاکتورهای موثر روی فعالیت بیولوژیک محسوب می شود. در این مطالعه تحمل شوری توسط باکتری ها در دمای ۴۵ درجه بعد از ۲۴ ساعت از غلظت ۰/۵ تا ۱۵ درصد در محیط کشت نوترینت آگار مورد مطالعه قرار گرفته است. شرایط اسیدی مخازن نفتی و مواجهه مداوم باکتری های نفت زی با تغییر pH باعث شد بررسی تغییر اسیدیته از دیگر فاکتورهای مورد بررسی در این مطالعه قرار گیرد. لذا در این مطالعه تحمل تغییر pH توسط باکتری ها در دمای ۴۵ درجه بعد از ۲۴ ساعت از ۳ تا ۱۰ درصد در محیط کشت نوترینت براث مورد مطالعه قرار گرفت. (۷)

از جمله فاکتورهای حائز اهمیت در مطالعه باکتری های مخازن نفتی ایران، به واسطه عمق زیاد مخازن، دما می باشد. لذا در این مطالعه طیف تحمل پذیری دمایی در باکتری ها بررسی شد. از آنجا که هدف ما دست یابی به باکتری های ترموفیل بود از حداقل دمای ۴۰ تا ۶۵ درجه سانتی گراد بررسی شد.

به منظور انتخاب بهترین سویه های استفاده کننده از پارافین به عنوان تنها منبع کربن و انرژی رشد ساعتی تمام باکتری های انتخاب شده در محیط کشت MSM همراه با پارافین به عنوان تنها منبع کربن و انرژی به مدت ۲۴ ساعت در ۴۵°C انجام شد.

روش کار در این مرحله به این صورت بود که ابتدا یک preculture تیمار شده با پارافین تهیه شده به این صورت که ابتدا از هر نمونه به مدت ۴۸ ساعت در ۴۵ C در محیط نوترینت براث به منظور غنی سازی کشت شد. سپس ۱ml (۵٪) از این سوسپانسیون به ۲۵ ml محیط کشت MSM دارای ۵٪ پارافین به عنوان منبع اصلی کربن و ۰/۰۱ درصد گلوکز (۵) به عنوان محرک رشد فیلتر استریل شده تلقیح شد.

بعد از گذشت ۲۴ ساعت در ۴۵ C و هوادهی با ۱۵۰ rpm کدورت نمونه ها با دستگاه اسپکتروفوتومتر بررسی شد تا در ۶۰۰ nm به یک رسیده باشد در برخی موارد بیش از ۲۴ ساعت برای رسیدن به OD معادل ۱ لازم بود. سپس از این preculture آماده شده در این مرحله به میزان ۵٪ (۵ ml) به ارلن های اصلی که حاوی MSM همراه با پارافین بودند تلقیح انجام گرفت و نمونه ها در ۳۰ C در ۱۵۰ rpm گرماگذاری شدند. با استفاده از نرم افزار excel منحنی رشد برای هر باکتری رسم شد.

یک کلنی از باکتری در ۵۰ ماکرولیتر آب دو بار تقطیر استریل سوسپانسیون و به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار داده شد. ۵ ماکرو لیتر از سوسپانسیون فوق به عنوان DNA الگو در PCR با پرایمرهای fD۱ و rD۱ استفاده شد. شرایط PCR در جدول زیر ذکر شده است تصاویر زیر محصول PCR فوق در کنار ۱kbDNA size marker fermentase نشان می دهد.

توالی پرایمرهای فوق به شرح زیر است.(۴)

fD1*:5' CCGAATTCGTCGACAACAGAGT TTGATCCTGGCTCAG 3'

rD1*:5' CCCGGGATCCAAGCTTAAGGAG GTGATCCAGCC 3

1 cycle	30 cycle			1 cycle
95°C 1'	95°C 1'	50°C 30"	72°C 1' 30"	72°C 10'

جدول ۱: شرایط انجام PCR

به منظور شناسایی مولکولی باکتری‌های انتخاب شده محصول PCR در پلاسمید P Bleuescript Sk کلون شد (۴) و کلونی‌های سفید انتخاب و پس از تائید حضور قطعه خارجی در ژل الکتروفورز، توسط PCR با استفاده از پرایمرهای fD۱ و rD۱ تعیین توالی شد، سپس توالی‌های حاصل که با نرم افزار Chromas بررسی شد و در نهایت با توالی‌های موجود در بانک اطلاعات زیستی NCBI مقایسه شد.(۱ ، ۱۱) در نهایت پس از Blast کردن توالی‌ها در NCBI بهترین باکتری از لحاظ مولکولی شناسایی شدند. در پایان جهت تایید فرایند تجزیه زیستی موم پارافینی ، آلکان های باقی مانده از محیط کشت پس از تیمار میکروبی به وسیله هگزان در دکانتور استخراج شد. (۱۸) سپس نمونه پس از تبخیر حلال توسط GC FID مورد آنالیز قرار گرفت. لذا دستگاه گاز کروماتوگراف HP۵۸۹۰ با دتکتور FID در حضور گاز حامل هلیوم و دمای ۳۰۰ درجه سانتی گراد دتکتور مورد استفاده قرار گرفت. (۱۲ ، ۱۳)

یکی از اصلی ترین توانایی های باکتری‌های مصرف کننده یا در اصطلاح تجزیه کننده هیدروکربن ها اعم از سبک و سنگین توانایی تولید ترکیب های فعال سطحی یا بیوسورفکتانت‌ها به منظور افزایش دسترسی زیستی برای تاثیر آنزیمی و کاتالیتیکی

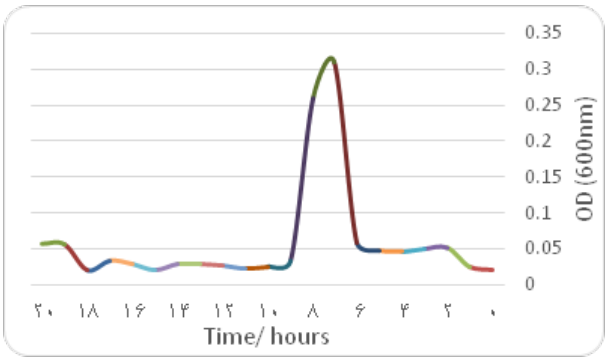
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.1.0]

روی این ترکیب ها است به این منظور بررسی این توانایی از همولیز گلبول های قرمز خون گوسفندی به روش ارائه شده توسط Balogun و Fagade ۲۰۰۸ استفاده شد.(۲)

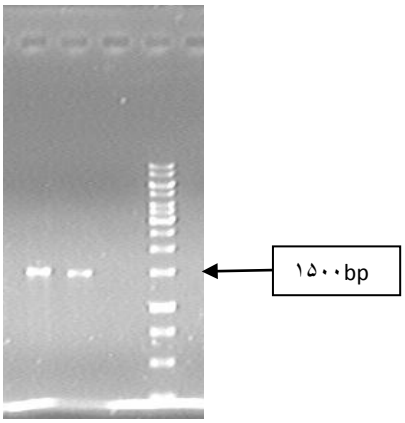
نتایج:

رشد میکروارگانیسم ها در دمای°C ۴۵ در محیط کشتی که پارافین در آن به عنوان تنها منبع کربن و انرژی در محیط معدنی حداقل مورد استفاده قرار می گرفت نشان داد که برخی از باکتری های مخازن نفتی ایران قادر به استفاده از موم های جامد پارافینی به عنوان تنها منبع کربن و انرژی خود می باشند. موثرترین باکتری که در این تحقیق مورد بررسی فراتر قرار گرفت که باکتری اسپوردار گرم مثبت بر اساس رنگ آمیزی گرم و مالاشیت گرین بود که تست KOH آن موید گرم مثبت بودن باکتری بود. این باکتری قادر به رشد در شوری ۰/۵ درصد تا ۱۵٪ می باشد. شرایط اسیدی مخازن نفتی و مواجهه مداوم باکتری های نفت زی با تغییر pH باعث شد بررسی تغییر اسیدیته از دیگر فاکتورهای مورد بررسی در این مطالعه قرار گیرد. لذا در این مطالعه تحمل تغییر pH توسط باکتری ها در دمای C ۴۵ بعد از ۲۴ ساعت از ۳ تا ۱۰ در محیط کشت نوترینت براث مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان گر توانایی رشد این باکتری در حیطه pH ۴ تا ۱۰ بود. و در pH بالای ۱۰ و زیر ۴ رشدی در آن مشاهده نشد. در ضمن این باکتری در محدوده دمایی ۴۵ تا ۶۵ درجه سانتی گراد در شرایط خنثی در محیط کشت MSM رشد قابل قبولی در حیطه ترموفیلیک داشت. منحنی رشد این باکتری از طریق کدورت سنجی به-وسیله اسپکتروفوتومتر در OD ۶۰۰ نانومتر در طی مدت ۲۴ ساعت رسم شد.(شکل۱)

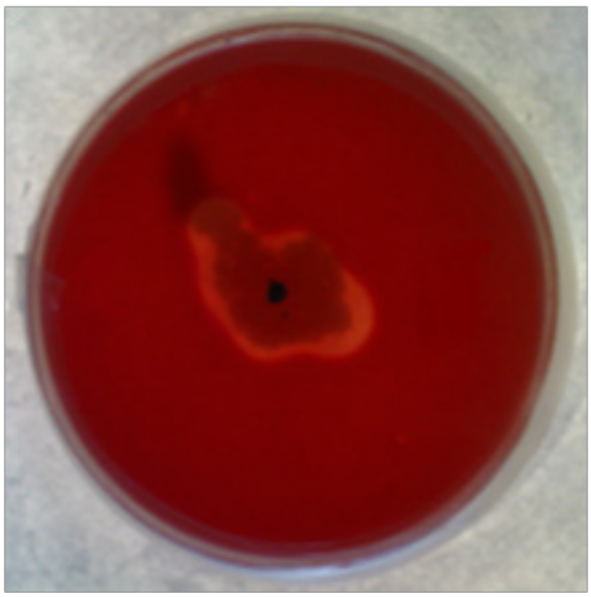


شکل(۱): منحنی رشد در محیط کشت MSM در حضور پارافین در°C ۴۵ و ۱۵۰ rpm

نتایج حاصل از توالی یابی محصول PCR و شناسایی مولکولی این باکتری ترموفیل تجزیه کننده آلکان های بلند زنجیره را B.thermoleovorans معرفی کرد. (شکل ۲) این باکتری قادر به همولیز گلبول های قرمز خون گوسفندی بود، که حاکی از کاهش کشش سطحی در گلبول های قرمز خون و لیز شدن آن ها در اثر رشد این باکتری و در واقع توانایی تولید بیو سورفکتانت می باشد. (شکل۳) به منظور اطمینان از نوع و شکل آلکان های خطی بلند زنجیره شکسته شده توسط این باکتری کروماتوگرافی گازی انجام شد. نتایج حاصل از گاز کروماتوگرافی نیز بیان گر کاهش قابل توجه میزان آلیفاتیک های اشباع پس از تیمار با این باکتری در ساختار پارافینی بود. (شکل۴)



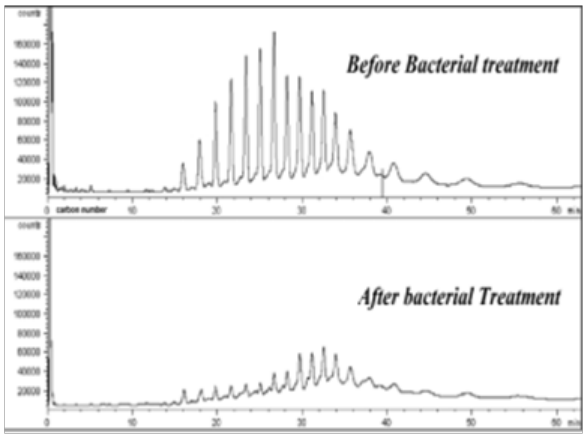
شکل (۲): محصول PCR نمونه در کنار مارکر وزن مولکولی



شکل(۳): پدیده همولیز توسط B.thermoleovorans بیانگر تولید بیوسورفکتانت

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.1.0]



شکل(۴): کرماتوگراف مربوط به تجزیه زیستی انواع آلکان های بلند زنجیره توسط B.thermoleovorans

بحث:

همان گونه که پیش بینی می شد نفت خام ایران دارای باکتری بومی ترموفیل می باشد که می تواند موم های سنگین پارافینی را مورد تجزیه قرار دهند. از این میان باکتری Bacillus thermoleovorans با توانایی ویژه خود در تحمل شرایط فیزیکوشیمیایی دشوار و شکستن محدوده وسیعی از آلکان ها از ۱۲ تا ۴۰ کربنه با توانایی تولید بیوسورفکتانت به عنوان یک گزینه مناسب در حل مشکلات صنعت نفت معرفی می شود.

مدت هاست که تجزیه میکروبی آلکان‌ها که تحت عنوان پارافین‌ها شناخته می شود مورد بررسی قرار گرفته است.Pseudomonas putida GP01 که به نام Pseudomonas aloverans GPo1 نیز شناخته می شود از جمله باکتری‌های تجزیه کننده آلکان‌هاست که تحقیق های زیادی روی آن انجام شده است. (۱۳) در حالی که این سویه به طور غالب پارافین‌های با زنجیره متوسط و آلکان‌هایی با زنجیره کربنی از C۱۲ تا C۲۲ (۱۷) را می‌شکند،aeruginosa WatG Pseudomonas می تواند آلکان‌های پارافینی هگزاتری آکونتان (C۳۶) و تترا اکتان ۲ (C۴۰) را در محیط کشت معدنی حاوی نفت خام بشکند. که یافته های حاصل از تحقیق حاضر موید یافته های قبلی در سایر مطالعه ها بود. تاکنون چندین نوعspp. Acinetobacter قادر به شکستن پارافین‌های هیدروکربنی شناسایی شده اند. از جمله سویه M۱ که به خاطر توانائی در شکستن زنجیره های پارافینی C۲۰ تا C۴۰ شناخته می شود.(۱۵،۶) Koma و همکارانش در سال ۲۰۰۱ یک .spp Acinetobacter که می توانست زنجیره های نرمال پارافینی را از روغن زائد موتور اتومبیل در C° ۳۰ بشکند، شناسایی کردند. Kotlar و همکاران در سال ۲۰۰۷ موفق شدند نوعیAcinetobacter سویه ۶A۲ را جداسازی کنند، که قادر به استفاده از پارافین بود. آن ها گزارش کردند که باکتری‌های ترموفیلی که پارافین را مصرف می کنند، بسیار معدود هستند در حالی که تعدادی زیادی از انواع مزوفیل بین ۳۰ تا ۳۷ درجه سانتی گراد گزارش شده است. در این مطالعه نیز فاکتور دما به عنوان یکی از فاکتورهایی که در تجزیه زیستی پارافین ها موثر است مورد بررسی و توجه قرار گرفت. زیرا هدف بلند مدت این مطالعه کاربرد در جا این باکتری در فرایند ازدیاد برداشت میکروبی نفت و کاهش مشکلات استخراج و خطوط لوله، حاصل از رسوب پارافین است. فاکتور دما در شرایط بومی ایران که مخازن عمیق بوده و دما بالاست در مطالعه های بومی حائز اهمیت است. آنچه مسلم است یافته های بسیار محدودی از باکتری های ترموفیل با توانایی شکستن آلیفاتیک های بلند زنجیره وجود دارد. هدف از مطالعه بر روی باکتری‌های ترموفیل توانا در شکستن پارافین‌ها و بررسی امکان استفاده از این پالایشگاه های میکروبی در چاه های نفتی و خطوط لوله برای حذف زیستی این ترکیب هایِ دردسر ساز بود(۱۰ ،۸ ، ۱۳) که در نهایت به نظر می رسد باکتری B.thermoleovorans می تواند ما را در نیل به این هدف یاری رساند.

نتیجه گیری:

صنعت نفت ایران با توجه به نفت خیز بودن این کشور همواره به دنبال راه حل های مناسب جهت حل معضلات صنعت نفت می باشد. B.thermoleovorans به عنوان یک باکتری بومی با تحمل پذیری بالای شرایط دشوار محیطی و توانایی تولید بیوسورفکتانت و هم چنین تجزیه زیستی موم های پارافینی در شرایط ترموفیل می تواند به عنوان یک راه کار بیوتکنولوژیک به این صنعت معرفی گردد. این باکتری با شکستن زنجیره های بلند آلیفاتیک که به صورت جامد در مسیر لوله کشی انتقال نفت، تجهیزات استخراج و یا دهانه چاه های استخراج رسوب می کند، می تواند یک راه حل کاربردی در صنعت نفت باشد. این باکتری به عنوان یک راه حل بیولوژیک در هم فرایندهای بالادستی و هم فرایندهای پایین دستی صنعت نفت قابل استفاده است. به طور خاص هدف از این تحقیق در کاربرد این باکتری در مراحل استخراج و خطوط لوله در صنایع بالادستی می باشد.

سپاسگزاری:

از معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی برای تأمین منابع مالی این پروژه تشکر و قدردانی می-شود.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.1.0]

منابع:

1- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. J molecul biol, 1990; 215(3):403-10

2- Balogun S.A. Fagade O.E. Screening for Surface-active Agent Producing Bacteria from Diesel Oil Polluted Tropical Soil. World Appl Sci J, 2008; 3(6):930-933

3- Cubitto MA, Moran AC. Commendatore M, Chiarello MN, Baldini MD, Sineriz F. Effects of Bacillus subtilis O9 biosurfactant on the bioremediation of crude oil-polluted soil. Biodegrad, 2004; 15: 281–287

4- Dordick JS. Review:Enzymatic catalysis in monophasic organic solvents. Enzyme MicrobTechnol, 1989,; 11(4): 194-211

5- Geirgiou G, Lin S, sharma, M M. Surface active compounds from microorganisms. Biotechnol, 1992;10:60-65

6- Geirgiou G, Lin S, sharma, MM. Surface active compounds from microorganisms. Biotechnology, 1992; 10:60-65

7- Kirkwood KM, Foght JM, Gray MR. Petroleum Biotechnology, Developments and Perspectives (1Th ed), Elsevier B.V, 2004; 151-154

8- Lazar L, Voico A, Nicolescu C. The use of naturally occuring selectivity isolated bacteria for inhibiting paraffin deposition. J Petrol Sci Eng, 1999; 22:161-169

9- Mai V, Wiegel J, Demain A L, Davies J E. Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology. American Society for Microbiology, Washington, DC,1999; 511-515

10- Marin F. Biodegradation of Paraffin Wax. A Thesis Submitted To The Faculty Of Graduate Studies And Research In Partial Fulfilment Of The Requirements Of The Degree Of Master Of Engineering, Department Of Chemical Engineering Mcgill University, Montréal 1998; 15-18

11- Martin-Laurent F, Philippot L, Hallet S, Chaussod R, Germon J C, Soulas G, Catroux G. DNA Extraction from Soils: Old Bias for New Microbial Diversity Analysis Methods. Appl Environ Microbiol, 2001; 67(5): 2354–2359

12- Queiroga CL, Nascimento LR; Serra GE. Evaluation of paraffins biodegradation and biosurfactant production by Bacillus subtilis in the presence of crude oil. Brazil J Microbiol, 2003;34:321-324

13- Sood N, Lal B. Isolation and characterization of a potential paraffin-wax degrading thermophilic bacterial strain Geobacillus kaustophilus TERI NSM for application in oil wells with paraffin deposition problems. Chemos, 2008; 70 :1445–1451

14- Sowers KR, Schreier HJ. Gene transfer systems for the Archaea. Trends Microbiol, 1999; 7(5):212-21

15- Tabatabaee M S, Mazaheri Assadi M,Vacuum distillation residue upgrading by an indigenous bacillus cereus. J Environ Health Sci Eng, 2013; 11:18-26

16- Thanh NX, Hsieh M, and Philp RP. Waxes and asphaltenes in crude oils. Org Geochem, 1999; 30: 119-129

17- Van Der Meer JR, Devos W M, Harayama S, Zehnder AJB. Molecular mechanisms of genetic adaptation to xenobiotic compounds. Microbiol Rev, 1992; 56:677-694

18- Vinothini C. Sudhakar S. Ravikumar R. Biodegradation of petroleum and crude oil by Pseudomo-

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.1.0]

nas putida and Bacillus cereus. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci, 2015; 4(1): 318-329
19- Xiong Z, Jiang Y, Qi D, Lu H., Yang F, Yang J, Chen L, Sun L, Xu X, Xue Y, Zhu Y, Jin Q. Complete genome sequence of the extremophilic Bacillus cereus strain Q1 with industrial applications. J Bacteriol, 2009; 191:1120-1121

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.1.0]

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.1.0]