پژوهشکده زیست‌فناوری

پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد در رشته‌ی بیوتکنولوژی کشاورزی

جداسازی و شناسایی باکتری‌های تجزیه کننده نفت برای زیست‌پالایی زمین‌های کشاورزی آلوده به مشتقات نفتی

توسط

محمد مجرد

استاد راهنما

دکتر عباس عالم‌زاده

اسفند ۱۳۹۰

بسم الله الرحمن الرحيم

به نام خدا

اظهارنامه

اینجانب **محمد مجرد (۸۸۱۲۴۵)** دانشجوی رشته **بیوتکنولوژی کشاورزی** پژوهشکده **زیست‌فناوری** اظهار می‌کنم، که این پایان نامه حاصل پژوهش خودم بوده و در جاهایی که از منابع دیگران استفاده کرده‌ام، نشانی دقیق و مشخصات کامل آن را نوشته‌ام، همچنین اظهار می‌کنم که تحقیق و موضوع پایان‌نامه‌ام تکراری نیست و تعهد می‌نمایم که بدون مجوز دانشگاه دستاوردهای آن را منتشر ننموده و یا در اختیار غیر قرار ندهم. کلیه حقوق این اثر مطابق با آیین نامه مالکیت فکری و معنوی متعلق به **دانشگاه شیراز** است.

نام و نام خانوادگی: **محمد مجرد**

تاریخ و امضاء:

به نام خدا

جداسازی و شناسایی باکتری‌های تجزیه کننده نفت برای زیست پالایی زمین‌های کشاورزی آلوده به مشتقات نفتی

به کوشش

محمد مجرد

پایان‌نامه
ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه شیراز به عنوان بخشی
از فعالیت‌های تحصیلی لازم برای اخذ درجه‌ی کارشناسی ارشد

در رشته‌ی

بیوتکنولوژی کشاورزی

از دانشگاه شیراز

شیراز

جمهوری اسلامی ایران

ارزیابی کمیته‌ی پایان‌نامه با درجه‌ی: عالی

دکتر عباس عالم‌زاده، استادیار بخش زراعت و اصلاح نباتات (رئیس کمیته) .....
دکتر محمد جواهری، استادیار بخش گیاه‌پزشکی .....
دکتر هومن راضی، استادیار بخش زراعت و اصلاح نباتات .....

اسفند ۱۳۹۰

تقدیم به

والاترین نام‌های زندگی‌ام

پدر و مادر

و تقدیم به تمام کسانی

که سامان دادن اندیشه‌ها را وظیفه اول خویش قرار داده بودند.

سپاسگزاری

خدای را سپاس از اینکه در پایان‌نامه صفحه‌ای وجود دارد که برای مطالبی که در آن می‌نویسیم هزار و یک منبع و دلیل نمی‌خواهند. صفحه‌ای که هر چی دوست داری، بنویسی. برگه‌ای که در آن تلاش کنی از مهربانی‌های پدر و مادر بگویی و بعد متوجه شوی اگر تمام دنیا کاغذ و تمام دریاها مرکب شوند توانایی نگارش ذره‌ای از آن را نداری. از همراهی خواهر و همسرش بگویی و بعد متوجه شوی که کلام ناتوان از بیانش است. از خنده‌های سروش بگویی و بعد دریابی که قابل توصیف نیست. از اعتماد و یاری استادی بگویی و بعد متوجه شوی توصیف مکررات است. از دوستانی بگویی که چون می‌آیند ممد حیات‌اند و نبود اندرشان مخرب ذات (زیادی ادبی شد!) و بعد متوجه شوی که واژگان در توصیف می‌مانند. این چگونه صفحه‌ای است! کلامی میخواهند غیرقابل نگارش!

با این حال بایستی فرض کرد سپاس کلمه‌ای است که تاب تحمل چنین مسئولیت عظیمی را دارد. آری، پس چنین می‌نگارم، سپاس ای مهربان‌ترین‌هایم. سپاس ای همراه همیشگی‌ام. سپاس ای یاور تازه‌ام، برادر هرگز نداشته‌ام. سپاس خنده‌های جاودان در وجودم. سپاس ای استاد یاری رسانم. سپاس ای دوستان مفرح ذاتم. ولی من می‌دانم و مطمئنا شما نیز می‌دانید که سپاس حقیرتر از آن است که جبران نماید.

می‌گویند، اینگونه که نمی‌شود، باید دقیقا اسم و مشخصات کامل را بنویسی تا تشکر حساب شود. پس اسم می‌برم، خانواده‌ی خوبم، اساتید گرانقدرم، خانم‌های مهندسان سارا هاشمی، سارا اسماعیلی، نجمه نجابت، گل‌آفرین قریشی، شهرزاد گمرک، زهرا سامی، نرجس راهپیما، زهرا پورخورشید و نیلوفر نیرومند و آقایان مهندسان سید محسن سهرابی، محمود چهاردولی، علی هرتمنی، علی محمد طالع و امین برادران خاکسار.

چکیده

جداسازی و شناسایی باکتری‌های تجزیه کننده نفت برای زیست‌پالایی زمین‌های کشاورزی آلوده به مشتقات نفتی

به کوشش

محمد مجرد

آلودگی‌های نفتی از پی‌آمدهای اجتناب ناپذیر استفاده از منابع نفتی است. در پژوهش حاضر جهت دست‌یابی به باکتری‌های تجزیه کننده نفت سه نمونه خاک و دو نمونه آب آلوده به ترکیبات نفتی و همچنین یک نمونه نفت خام از پالایشگاه بندرعباس جمع‌آوری شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده در محیط عمومی LB کشت و از باکتری‌های رشد کرده سریال رقت تهیه و ۲۵ باکتری جداسازی شد. باکتری‌های جداسازی شده در محیط‌های حداقل تغییر یافته SSM که به جای منابع کربن، گوگرد و نیتروژن آن نفت سفید جایگزین شده بود کشت شدند. نتایج نشان دادند هیچکدام از باکتری‌های توانایی استفاده از نفت سفید به عنوان منبع نیتروژن را نداشتند. از بین باکتری‌هایی که قادر به استفاده از نفت سفید به عنوان منبع گوگرد و کربن بودند ۳ باکتری برای کروماتوکرافی گازی انتخاب شد. نتایج کروماتوگرافی، نتایج رشد باکتری‌ها در محیط تغییر یافته را تایید کرد و اثبات شد که این باکتری‌ها توانایی استفاده از ترکیبات گوگردی و کربنی نفت سفید را دارا می‌باشند. در نهایت با استفاده از کیت شناسایی باکتری API 20 E و توالی‌یابی ژن 16S rDNA مشخص شد که از مجموع باکتری‌های جداسازی شده، باکتری *Enterobacter hormaechei* توانسته نزدیک به ۵۰ درصد از هیدروکربن نفت سفید را طی مدت ۷ روز تجزیه کند که می‌توان آن را به عنوان یک نامزد مناسب جهت زیست‌پالایی معرفی کرد.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه
۱-۱- پیشگفتار ۱
۱-۲- نمونه‌هایی از آلودگی‌های نفتی ۲
۱-۳- نفت ۴
۱-۳-۱- نفت خام ۴
۱-۳-۱-۱- ترکیبات هیدروکربنی ۴
۱-۳-۱-۲- ترکیبات گوگرددار ۶
۱-۳-۱-۳- ترکیبات نیتروژن‌دار ۷
۱-۳-۱-۴- ترکیبات اکسیژن‌دار ۷
۱-۳-۱-۵- ترکیبات آلی- فلزی ۷
۱-۳-۲- نفت سفید ۸
۱-۴- روش‌های حذف آلودگی‌های نفتی ۸
۱-۴-۱- روش فیزیکی ۹
۱-۴-۲- روش شیمیایی ۹
۱-۴-۳- زیست‌پالایی ۹
۱-۴-۳-۱- زیست‌پالایی به کمک عوامل طبیعی ۱۲
۱-۴-۳-۲- زیست‌پالایی تحریک شده ۱۲
۱-۴-۳-۳- زیست‌پالایی افزایشی ۱۳

۱-۵- عوامل موثر در زیست‌پالایی نفت ۱۳
۱-۶- میکروارگانیسم‌های مسئول تجزیه نفت ۱۵
۱-۷- مکانیسم‌های تجزیه اجزای نفت خام ۱۶
۱-۷-۱- تجزیه آلکان‌ها ۱۷
۱-۷-۲- تجزیه هیدروکربن‌های آروماتیکی ۲۱
۱-۷-۳- تجزیه هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک ۲۲

فصل دوم: مروری بر پژوهش‌های انجام شده
۲-۱- جداسازی و شناسایی باکتری‌های تجزیه کننده نفت و ترکیبات نفتی ۲۶
۲-۲- ارزیابی میزان تجزیه زیستی توسط باکتری‌ها ۳۵

فصل سوم: مواد و روش‌ها
۳-۱- نمونه‌گیری ۴۴
۳-۱-۱- نمونه‌گیری از خاک ۴۴
۳-۱-۲- نمونه‌گیری از آب ۴۴
۳-۱-۳- نمونه‌گیری از نفت خام ۴۵
۳-۲- جداسازی باکتری ۴۵
۳-۲-۱- جداسازی باکتری از خاک و آب آلوده ۴۵
۳-۲-۲- جداسازی باکتری از نفت خام ۴۶
۳-۳- تجزیه و تحلیل آماری ۴۷
۳-۴- کشت در محیط‌های حداقل تغییر یافته ۴۷
۳-۴-۱- آزمون جایگزینی منبع کربن با غلظت ۲/۵ درصد نفت سفید در محیط SSM.. ۴۷
۳-۴-۲- آزمون جایگزینی منابع مختلف با غلظت ۲۰ درصد نفت سفید در محیط SSM۴۸
۳-۵- کروماتوگرافی گازی ۵۰
۳-۶- آزمون‌های شناسایی باکتری ۵۱
۳-۶-۱- آزمون گرم ۵۱

۳-۶-۲- آزمون O/F ۵۱
۳-۶-۳- توالی‌یابی ژن 16S rDNA باکتری‌ها ۵۲
۳-۶-۴- شناسایی باکتری با استفاده از کیت API 20 E ۵۳

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱- جداسازی باکتری‌ها ۵۶
۴-۲- کشت در محیط‌های حداقل تغییر یافته ۵۷
۴-۲-۱- آزمون جایگزینی منبع کربن با غلظت ۲/۵ درصد نفت سفید در محیط SSM.. ۵۷
۴-۲-۲- آزمون جایگزینی منبع کربن با غلظت ۲۰ درصد نفت سفید در محیط SSM... ۶۰
۴-۲-۳- آزمون جایگزینی منبع گوگرد با غلظت ۲۰ درصد نفت سفید در محیط SSM. ۶۳
۴-۲-۴- آزمون جایگزینی منبع نیتروژن با غلظت ۲۰ درصد نفت سفید در محیط SSM ۶۶
۴-۳- کروماتوگرافی گازی ۶۹
۴-۴- شناسایی باکتری ۷۱
۴-۴-۱- آزمون گرم ۷۱
۴-۴-۲- آزمون O/F ۷۱
۴-۴-۳- کیت API 20 E ۷۱
۴-۴-۴- شناسایی باکتری‌های براساس توالی ژن 16S rDNA ۷۲
۴-۴-۴-۱- استفاده از نرم‌افزار بلاست ۷۲
۴-۴-۴-۲- رسم درخت فیلوژنی ۷۳
۴-۵- پیشنهادات ۷۴
۴-۶- فهرست منابع ۷۵

فهرست جدول‌ها

عنوان صفحه

جدول ۱-۱- عناصر تشکیل دهنده نفت خام..... ۶
جدول ۱-۲- چند نمونه از منافع اقتصادی استفاده از زیست‌پالایی..... ۱۱
جدول۳-۱- نمونه‌های جمع آوری شده از پالایشگاه بندرعباس..... ۴۵
جدول۳-۲- مواد تشکیل دهنده محیط LB..... ۴۶
جدول۳-۳- مواد تشکیل دهنده محیط 2xYT..... ۴۷
جدول ۳-۴- مواد تشکیل دهنده محیط SSM..... ۴۸
جدول ۳-۵- مواد تشکیل دهنده محیط کشت O/F..... ۵۲
جدول ۳-۶- برنامه تکثیر ژن 16S rDNA..... ۵۳
جدول ۴-۱- کلونی‌های جداسازی شده در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد از نفت خام، خاک و آب آلوده به ترکیبات نفتی..... ۵۷
جدول ۴-۲- کلونی‌های جداسازی شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد از نفت خام، خاک و آب آلوده به ترکیبات نفتی..... ۵۷
جدول ۴-۳- جذب نوری باکتری‌های جداسازی شده در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد در حضور غلظت ۲/۵ درصد نفت سفید به جای منبع کربن..... ۵۹
جدول ۴-۴- جذب نوری باکتری‌های جداسازی شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در حضور غلظت ۲/۵ درصد نفت سفید به جای منبع کربن..... ۵۹
جدول ۴-۵- مقایسه میانگین رشد باکتری‌ها برای روز اول در آزمون جایگزینی منبع کربن با غلظت ۲۰ درصد نفت سفید در محیط SSM..... ۶۲

جدول ۴-۶- مقایسه میانگین رشد باکتری‌ها برای روز دوم در آزمون جایگزینی منبع کربن با غلظت ۲۰ درصد نفت سفید در محیط SSM.....۶۲
جدول ۴-۷- مقایسه میانگین رشد باکتری‌ها برای روز اول در آزمون جایگزینی منبع گوگرد با غلظت ۲۰ درصد نفت سفید در محیط SSM.....۶۵
جدول ۴-۸- مقایسه میانگین رشد باکتری‌ها برای روز دوم در آزمون جایگزینی منبع گوگرد با غلظت ۲۰ درصد نفت سفید در محیط SSM.....۶۶
جدول ۴-۹- مقایسه میانگین رشد باکتری‌ها برای روز اول در آزمون جایگزینی منبع نیتروژن با غلظت ۲۰ درصد نفت سفید در محیط SSM.....۶۸
جدول ۴-۱۰- مقایسه میانگین رشد باکتری‌ها برای روز دوم در آزمون جایگزینی منبع نیتروژن با غلظت ۲۰ درصد نفت سفید در محیط SSM.....۶۸
جدول ۴-۱۱- نتایج بدست آمده از کیت API 20 E برای باکتری BSI3.....۷۱

فهرست شکل‌ها

عنوان صفحه

شکل ۱-۱- بعضی از هیدروکربن‌های موجود در نفت.....۵
شکل ۱-۲- اثر دما بر نرخ تجزیه هیدروکربن‌ها در محیط‌های مختلف.....۱۴
شکل ۱-۳- اصول کلی تجزیه هیدروکربن‌ها به‌وسیله میکروارگانیسم‌ها.....۱۷
شکل ۱-۴- مسیرهای تجزیه آلکان‌ها.....۱۹
شکل ۱-۵- تجزیه آلکان‌ها در باکتری‌های گرم منفی.....۲۰
شکل ۱-۶- مسیرهای متفاوت تجزیه هوازی تولوئن.....۲۲
شکل ۱-۷- مسیر کاتابولیسم برای تجزیه فنانترن در باکتری *Nocardioides* sp. KP7..۲۳
شکل ۴-۱- قطعه‌ای از ژن 16S rDNA که با آغازگرهای اختصاصی طی عمل PCR تکثیر شده‌اند.....۷۲
شکل ۴-۲- درخت فیلوژنی برای توالی 16srDNA باکتری BSI3 و تعدادی از توالی‌های موجود در پایگاه داده NCBI.....۷۳

فهرست پیوست‌ها

عنوان صفحه

پیوست ۱- نمودار و جدول کروماتوگرافی نفت سفید شاهد و ترکیبات آن ۸۲
پیوست ۲- نمودار و جدول کروماتوگرافی نفت سفید تیمار شده با باکتری BSII2 در محیط SSM بدون منبع گوگرد و ترکیبات آن.....۸۵
پیوست ۳- نمودار و جدول کروماتوگرافی نفت سفید تیمار شده با باکتری BSI3 در محیط SSM بدون منبع کربن و ترکیبات آن.....۸۸
پیوست ۴- نمودار و جدول کروماتوگرافی نفت سفید تیمار شده با باکتری CWiI2 در محیط SSM بدون منبع کربن و ترکیبات آن.....۹۱
پیوست ۵- اطلاعات تکمیلی بلاست برای توالی ژن 16S rDNA باکتری BSI3.....۹۴
پیوست ۶- اطلاعات تکمیلی همردیفی توالی 16S rDNA باکتری BSI3 و تعدادی از توالی‌های موجود در پایگاه داده NCBI.....۹۷

فصل اول

۱- مقدمه

۱-۱- پیشگفتار

امروزه نفت و مشتقات آن عمده‌ترین منبع انرژی برای صنعت و زندگی روزانه هستند (Das and Chandran, 2011) و نشت نفت از پی‌آمدهای اجتناب ناپذیر استفاده از این منابع می‌باشد (Hamzah *et al*., 2010). استخراج گسترده، تصفیه در پالایشگاه‌ها، فراوری، انتقال و بکارگیری نفت‌خام موجب ایجاد شرایطی می‌شود که خطر آلودگی محیط با هیدروکربن‌های نفتی را افزایش می‌دهد (Tahhan *et al*., 2010). طبق گزارش ارائه شده توسط آکادمی ملی علوم ایالات متحده [1] در سال ۲۰۰۳ حدود ۴۷٪ از نفت خام وارد شده به دریا ناشی از نشت طبیعی و ۵۳٪ آن (حدود ۶۶۸۰۰۰ تن) ناشی از فعالیت‌های انسانی (استخراج، حمل و نقل، پالایش، ذخیره‌سازی و بهره‌برداری) بوده است (Kvenvolden and Cooper, 2003). از سوی دیگر چنگ[2] و لین[3] در سال ۲۰۰۶ با بررسی ۲۴۲ حادثه‌ی ۴۰ سال گذشته که در تاسیسات صنعتی روی داده بود اعلام کردند که ۷۴٪ این حوادث در پالایشگاه‌های نفت، تاسیسات ذخیره‌سازی و پایانه‌های نفتی روی داده است. طبق آمار ITOPF[4]، از سال ۲۰۰۰ تا ابتدای سال ۲۰۱۰ میلادی، در هر سال بیش از ۳٫۳ مورد نشت نفت بیش از ۷۰۰ تن، بر اثر حوادث مربوط به نفتکش‌ها روی داده، که این معادل ۲۱۲۰۰۰ تن نفت می‌باشد که به دریا سرازیر شده است (ITOPF, 2009). آلودگی‌های نفتی در محیط موجب اختلال و فشار بر اکوسیستم‌ها شده (Xu

1. US National Academy of Sciences (NAS)
2. Chang
3. Lin
4. The International Tanker Owners Pollution Federation Limited

and Lu, 2010) و همچنین به دلیل دارا بودن مواد سمی نظیر بنزن، تولوئن، زایلن و غیره برای سلامتی موجودات مضر می‌باشد (Sarkar *et al.*, 2005).

۱-۲- نمونه‌هایی از آلودگی‌های نفتی

جهان در چند دهه گذشته شاهد آلودگی‌های وسیعی ناشی از نشت نفت بوده است. با توسعه‌ی صنعت، هیدروکربن‌های نفت تبدیل به بزرگترین منبع آلودگی منابع آبی و خاک‌ها شده‌اند (Ueno *et al.* 2007). نشت تصادفی به طور منظم در طی فرایند اکتشاف، فرآوری، پالایش، انتقال و ذخیره نفت خام رخ می‌دهد. مقدار طبیعی نشت نفت خام در حدود ۶۰۰۰۰۰ تن در سال تخمین زده می‌شود، که ممکن است نشت طبیعی نفت تا ۲۰۰۰۰۰ تن کمتر یا بیشتر از مقدار براورد شده افزایش یا کاهش یابد (Das and Chandran, 2011).

موارد زیادی از نشت نفت وجود دارد که از نظر وسعت آلودگی و یا میزان نفت وارده به محیط قابل ذکر است، برای نمونه در سال ۱۹۹۱ کشتی ABT SUMMER که از جزیره خارک به مقصد روتردام در حال حرکت بود در ۹۰۰ مایلی سواحل آنگولا دچار حریق و انفجار شد و حدود ۲۶۰۰۰۰ تن نفت به دریا نشت کرد و حدود ۸۰ مایل مربع با نفت سنگین ایران آلوده شد (Anonymous[b], 2011). شاید یکی از مهمترین حوادث نفت‌کش‌ها مربوط به کشتی Exxon Valdez باشد که در سال ۱۹۸۹ در محلی نزدیک به آلاسکا رخ داده است (ITOPF, 2008). که در آن زمان از این واقعه به عنوان بزرگترین حادثه زیست محیطی برای ایالات متحده نام برده شد (Cleveland, 2010). در این حادثه حدود ۳۷۰۰۰ تن نفت خام وارد منطقه‌ی نام برده شد و بیش از ۲ میلیارد دلار برای پاکسازی این منطقه تنها در سال اول هزینه شد (ITOPF, 2008). در این حادثه از کلیه روش‌های فیزیکی و شیمیایی مانند skimming، سوزاندن، اضافه نمودن مواد شیمیایی و حتی پاکسازی به روش دستی استفاده شد. در آن سال آژانس حفاظت از محیط زیست ایالات متحده[1] با استفاده از فرایند

1. U.S. Environmental Protection Agency (EPA)

زیست‌پالایی تلاش کرد تا بعضی جزایر و خط ساحلی را از نفت پاکسازی کنند. نتایج بدست آمده حاکی از آن بود که این تکنیک روش مناسبی برای تخریب ساختار نفت است (Cleveland, 2010). تلاش موفقیت آمیز در پاکسازی نفت نشت کرده از این نفتکش، توجه همگان را به پتانسیل تجزیه زیستی و فناوری زیست‌پالایی جلب نمود (Das and Chandran, 2011).

در آوریل ۲۰۱۰ در یکی از چاه‌های حفاری شرکت British Petroleum واقع در خلیج مکزیک انفجاری رخ داد. در اثر این حادثه نفت از چاه‌های اصلی این مخزن به مدت سه ماه در حال نشت بود و حدود ۷۸۰۰۰۰ متر مکعب (در حدود ۴/۹ میلیون بشکه) نفت خام وارد دریا شد و حدود ۲۰۰ کیلومتر از سواحل لوئیزیانا را آلوده کرد. مشاور انرژی کاخ سفید این حادثه را بدترین فاجعه زیست محیطی اعلام نمود که تا کنون ایالات متحده با آن روبرو شده است و عنوان نمود که آثار آن ۲۰ برابر بدتر از نشت نفت از کشتی Exxon Valdez بوده است. در نتیجه این حادثه ۸ پارک ملی حفاظت شده ایالات متحده و بیش از ۴۰۰ گونه موجود در جزایر خلیج مکزیک و سواحل حاشیه آن، در معرض خطر قرار گرفتند و به دلیل توقف صید ماهی و میگو در مناطق آلوده رکودی در بازار تجاری شیلات این مناطق بوجود آمد (Anonymous[a], 2011).

در ایران نیز شاهد حوادثی از این دست بوده‌ایم. در سال ۱۳۶۴ نفت‌کش Nova در نزدیکی جزیره خارک غرق و ۷۰۰۰۰ تن نفت خام وارد آب‌های خلیج فارس شد (ITOPF, 2009). در سال ۱۳۶۲ از سکوی نفتی نوروز در مجموع ۲۶۰۰۰۰ تن نفت به دلایل مختلف از جمله حمله هلیکوپترهای عراقی و یا برخورد کشتی‌ها با سکو به خلیج فارس نشت کرد (Anonymous[c], 2011). با توجه به حجم بالای استخراج، پالایش و انتقال نفت که در ایران صورت می‌گیرد، انتظار می‌رود که در آینده نیز شاهد چنین حوادثی باشیم. متاسفانه در بسیاری از مناطق، زمین‌های کشاورزی در کنار چاه‌ها و پالایشگاه‌ها و یا در کنار مسیر فاضلاب‌های تاسیسات نفتی قرار دارند، لذا اهمیت مسئله پاکسازی آلودگی‌های نفتی بیشتر می‌شود. با توجه به پر هزینه بودن فرایند پالایش فیزیکی و شیمیایی خاک و آب از آلودگی‌های نفتی می‌توان به فناوری زیست‌پالایی به‌عنوان یکی از راهکارهای مقرون به صرفه توجه کرد.

۱-۳- نفت

نفت به مواد هیدروکربنی گفته می‌شود که به صورت طبیعی عمدتا در سنگ‌های رسوبی یافت می‌شوند. این مواد می‌توانند به شکل فاز گازی، مانند گاز طبیعی، فاز مایع مانند نفت خام، و یا فاز جامد مانند قیر، در خلل و فرج و شکستگی‌های سنگ‌ها تجمع کنند (بخشنده و عسگری، ۱۳۸۸).

۱-۳-۱- نفت خام

نفت خام مایعی است تیره رنگ (سبز تا قهوه‌ای تیره) با ترکیب شیمیایی بسیار پیچیده‌ای که بستگی به تحولات کروژن[۱] اولیه دارد (ابوالحمد، ۱۳۸۶). نفت خام اساساً از هیدروکربن‌ها تشکیل شده است اما مقادیری کم گوگرد، نیتروژن و اکسیژن و مقادیری جزیی از فلزات نادر مانند وانادیوم و نیکل نیز دارد (بخشنده و عسگری، ۱۳۸۸).

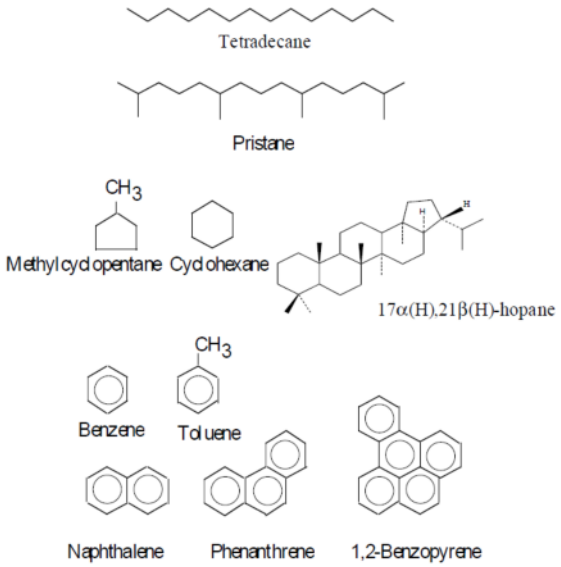
۱-۳-۱-۱- ترکیبات هیدروکربنی

هیدروکربن‌های نفت خام در محدوده‌ی C_1 تا C_{50} قرار دارند و به ۴ گروه هیدروکربن‌های اشباع پارافینی (آلکان‌ها[۲]) و نفتن‌ها (سیکلو آلکان‌ها[۳])، آروماتیک[۴] و مواد قطبی غیر هیدروکربنی مثل رزین و در نهایت آسفالتن دسته‌بندی می‌شوند که به روش کروماتوگرافی

۱. Kerogen: مواد آلی موجود در رسوب‌های دریاها، دریاچه‌ها و مرداب‌ها طی یک رشته واکنش‌های و تجزیه میکروبی، تراکم و پلی‌مری شدن به ماده هیدروکربنی بسیار غلیظی به نام کروژن تبدیل می‌شوند. در نهایت کروژن در اثر تجزیه حرارتی و دگرگونی‌های مواد آلی به نفت تبدیل می‌شود.

2. Alkanes
3. Cycloalkanes
4. Aromatics

جذبی قابل تفکیک از هم می‌باشند. هر یک از این بخش‌ها شامل تعداد متنوعی از ترکیب هستند (Harayama *et al*., 1999).



شکل ۱-۱- بعضی از هیدروکربن‌های موجود در نفت، Tetradecane (*n*- آلکان) - Pristane (آلکان انشعاب‌دار) – Methylcyclopentane، Cyclohexane و 17α[H],21β[H]-hopane (سیکلوآلکان) جز هیدروکربن‌های اشباع نفت خام می‌باشند و سایر ترکیبات نشان داده شده در این شکل ترکیبات آروماتیک می‌باشند (Harayama *et al.*, 1999).

ویژگی هیدروکربن‌های پارافینی با فرمول عمومی C_nH_{2n+2} اتصال اتم‌های کربن به وسیله‌ی پیوندهای یگانه است. زنجیر پارافینی می‌تواند بدون انشعاب (نرمال پارافین[1]) و یا انشعاب‌دار (ایزوپارافین) باشد. نفتن‌ها (سیکلوآلکان‌ها) به فرمول C_nH_{2n} هیدروکربن‌های حلقوی اشباع شده هستند. در نفت خام انواع نفتن‌ها به صورت حلقه‌های سیکلوهگزانی و سیکلوپنتانی وجود دارد. به‌طور کلی هیدروکربن‌های اشباع شده ۶۰ درصد اغلب نفت‌ها را تشکیل می‌دهند. ویژگی آروماتیک‌ها، حلقه‌ی بنزنی است که اشباع نشده ولی پایدار است. هیدروکربن‌های حلقوی (نفتنی و آروماتیک) که دارای زنجیرهای جانبی باشند، به هیدروکربن‌های مختلط موسومند که از این نوع ترکیبات نیز به مقدار زیاد در نفت وجود دارد. (ابوالحمد، ۱۳۸۶؛ بخشنده و عسگری، ۱۳۸۸؛ Harayama *et al.*, 1999) (شکل ۱).

[1]. *n*-alkane