



Biocatalytic Removal of Sulfur Compounds from Disulfide Oil (DSO)

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Rahpeima Z.^{*1} MSc,
Mowla D.¹ PhD

How to cite this article

Rahpeima Z, Mowla D. Biocatalytic Removal of Sulfur Compounds from Disulfide Oil (DSO). Modares Journal of Biotechnology. 2018 ;9(4):531-536.

ABSTRACT

Aims DSO (Disulfide Oil) is a byproduct of oil and gas refinery that is produced during demercaptanization process. The main components of DSO are dimethyl disulfide (DMDS), methyl ethyl disulfide (MEDS), and diethyl disulfide (DEDS). In this study, sulfur removal from DSO was investigated for the first time in the world by biological desulphurisation (BDS). Thus, the aim of this study was the biocatalytic removal of sulfur compounds from disulfide oil.

Materials & Methods In this experimental study, DSO was under biodesulfurization by two species, *Rhodococcus Re68*, and *Rhodococcus FMF*, in 200ml flasks under aerobic conditions for 4 days and covered flask for 10 days in the presence of glycerol. The DSO decomposition rate was measured by Gas Chromatography (GC) after extracting the residual of the medium by isooctane.

Findings DSO decomposition rate by *Rhodococcus Re68* in aerobic conditions and covered flask conditions was 46.7% and 57.18%, respectively. Also, the DSO decomposition rate by *Rhodococcus FMF* in aerobic conditions and covered flask conditions was 47.56% and 63%, respectively.

Conclusion The amount of disulfide oil transformation and its components including dimethyl disulfide, diethyl disulfide, and methyl ethyl disulfide are very significant by *Rhodococcus Re68* and *FMF*. *Rhodococcus Re68* and *FMF* bacteria use disulfide only as the sources of sulfur and cannot grow on them as the source of carbon and energy.

Keywords Disulfide Oil; Desulfurization; Biodesulfurization; *Rhodococcus Re68*; *Rhodococcus FMF*

¹Chemical Engineering Department, Engineering Faculty, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

*Correspondence

Address: NO. 231, 5 Alley, Modares Boulevard, Shohadaye Abjavar Street, Shiraz, Iran. Postal Code: 7158616538

Phone: -

Fax: -

zahrarahpeima6@gmail.com

Article History

Received: September 12, 2017

Accepted: August 19, 2017

ePublished: December 21, 2018

CITATION LINKS

[1] The feasibility study of removing sulfur compounds from DSO and producing value added products [2] Biodesulfurization of dibenzothiophene by a newly isolated thermophilic bacteria strain [3] Coal biodesulfurization processes [4] Mapping quantitative trait loci (QTLs) for seedling [5] *Pseudonocardia asaccharolytica* sp. nov. and *Pseudonocardia sulfidoxydans* sp. nov., two new dimethyl disulfide-degrading actinomycetes and emended description of the genus *Pseudonocardia* [6] A new fungus which degrades hydrogen sulfide, methanethiol, dimethyl sulfide and dimethyl disulfide [7] Applied bayesian forecasting and time series analysis [8] The effect of grown cell and cell free extract of *rhodococcus* sp. and *paenibacillus* sp. on dimethyl disulfide (dmlds) and diethyl disulfide (deds) removal [9] Effect of dimethyl disulfide and diethyl disulfide (DSO) in soil microbial flora [10] Isolation and physiological characterization of autotrophic sulfur bacteria oxidizing dimethyl disulphide as sole source of energy [11] Isolation and characterization of *Methylophaga sulfidovorans* sp. nov.: An obligately methylotrophic, aerobic, dimethylsulfide oxidizing bacterium from a microbial mat [12] Treatment of waste gasses contaminated with odorous sulfur compounds

حذف بیوکاتالیتیک ترکیبات گوگردی از دی سولفید اوایل (DSO)

زهرا راهپیمای* MSc

گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

داریوش مولا PhD

گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

چکیده

اهداف: دی سولفید اوایل (DSO)، یکی از محصولات جانبی واحدهای پالایشگاهی نفت و گاز است که از مرکباتان زدایی حاصل می شود. اجزای عمده تشکیل دهنده DSO، دی متیل دی سولفید (DMDS)، متیل اتیل دی سولفید (MEDS) و دی اتیل دی سولفید (DEDS) است. در این تحقیق حذف گوگرد از DSO به روش گوگردزدایی زیستی (BDS) برای اولین بار در دنیا مورد مطالعه قرار گرفت. بنابراین هدف پژوهش حاضر، حذف بیوکاتالیتیک ترکیبات گوگردی از دی سولفید اوایل بود.

مواد و روش ها: در این پژوهش تجربی، DSO به وسیله دو گونه باکتری رودوکوکوس *Re68* و *FMF* در شرایط هوازی به مدت ۴ روز و شرایط ارلن های ۲۰۰ میلی لیتری در درب پوشیده به مدت ۱۰ روز به صورت هوازی در حضور گلیسرول، مورد گوگردزدایی زیستی قرار گرفت. میزان کاهش DSO پس از استخراج میزان باقیمانده آن در محیط کشت توسط ایزواکتان به وسیله دستگاه گاز کروماتوگرافی اندازه گیری شد.

یافته ها: کاهش DSO در شرایط هوازی توسط باکتری رودوکوکوس *Re68* به میزان ۴۶/۷٪ و در شرایط درب پوشیده ۵۷/۱۸٪ بود. همچنین میزان کاهش DSO توسط باکتری رودوکوکوس *FMF* در شرایط هوازی و درب پوشیده به ترتیب ۴۷/۵۶٪ و ۶۳٪ بود.

نتیجه گیری: میزان ترانسفورماسیون دی سولفید اوایل و اجزای تشکیل دهنده آن شامل دی متیل دی سولفید، دی اتیل دی سولفید و متیل اتیل دی سولفید توسط دو گونه باکتری رودوکوکوس *Re68* و *FMF* بسیار قابل توجه است. باکتری های رودوکوکوس *Re68* و *FMF* از دی سولفید اوایل تنها به عنوان منبع گوگرد استفاده می کنند و قادر به رشد روی آنها به عنوان منبع کربن و انرژی نیستند.

کلیدواژه ها: دی سولفید اوایل، گوگردزدایی، گوگردزدایی زیستی، رودوکوکوس *Re68*، رودوکوکوس *FMF*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۵/۲۸

*نویسنده مسئول: zahrarahpeima6@gmail.com

مقدمه

حذف گوگرد از محصولات فرعی واحدهای شیرین سازی گاز از جمله دی سولفید اوایل (DSO) یکی از چالش های مهم و فزاینده در پالایشگاه های نفت و گاز محسوب می شود. یکی از راهکارهای متداول حذف گوگرد از ترکیبات نفتی، گوگردزدایی هیدروژنی (HDS) است که به دلیل وجود مشکلاتی مانند مساله ایمنی در تاسیسات هیدروژناسیون، هزینه های نسبتاً بالا برای تولید دما و فشار، تهیه منبع هیدروژن و مقاومت بودن برخی ترکیبات هتروسیکلیک گوگرددار آروماتیک مثل بیوتن و دی بنزوتیوفن، عملیاتی کردن HDS را برای خوراکی مثل DSO با چالش های نسبتاً جدی روبه رو خواهد کرد. در این میان موضوعی که بیشتر نمایان است، اینکه HDS معمولی نمی تواند بخش سنگین ترکیبات اورگانوسولفور آروماتیک DSO را تبدیل به هیدروژن سولفید نماید و لذا برای تبدیل بخش سنگین خوراک DSO احتیاج به گوگردزدایی عمیق (DHDS) است که در حال حاضر هزینه های نسبتاً بالایی را لازم خواهد داشت. البته راهکارهای دیگری مانند جداسازی ترکیبات دی سولفید اصلی از طریق تقطیر DSO، استفاده

از DSO به جای دی متیل دی سولفید (DMDS) در فرآیند احیای کاتالیزور مجتمع های پالایشگاهی و پتروشیمی، انتقال گازهای حاصل از سوختن DSO به فرآیند کلوس برای تبدیل به گوگرد و انجام گوگردزدایی اکسایشی (ODS) روی خوراک DSO وجود دارد. لیکن تمام موارد ذکر شده مشکلات خاص خود را داشته و هنوز در اکثر کشورهای دنیا و ایران کاربردهای صنعتی پیدا نکرده اند. گوگردزدایی زیستی یک روش بسیار مهم و ارزشمند است که تاکنون کارهای زیادی در مورد آن در منابع علمی و صنعتی گزارش شده است. روش ها و فناوری های بیولوژیکی به دلیل سهولت، کارایی بسیار بالا و ارزان بودن فرآیند به شدت مورد توجه مجامع علمی و صنعتی بوده و در بسیاری از جاها در حال جایگزین شدن با سایر روش های سخت و پرمخاطره ای است که در نهایت همان محصولات را تولید می کنند [1].

بر خلاف روش HDS که به دما و فشار بالا نیازمند است و از این لحاظ هزینه بر بوده و انرژی فراوانی به مصرف می رساند، گوگردزدایی زیستی (BDS) با هزینه بسیار کمتر و با ایمنی بیشتر قابل انجام است. محدودیت های HDS را می توان با BDS جبران نمود، چرا که برخی میکروارگانیسم ها می توانند گوگرد آلی مواد نفتی را به منبع انرژی خود، مورد استفاده قرار دهند. سرمایه مورد نیاز برای یک فرآیند گوگردزدایی زیستی/اکسایشی، حدود دو سوم هزینه مورد نیاز برای یک فرآیند HDS با کارایی مشابه است. همچنین هزینه عملیاتی نمودن آن نیز حدود ۱۵-۱۰٪ کمتر از یک واحد HDS است. عمده پژوهشگرانی که در زمینه BDS روی ترکیبات نفتی فعالیت می کنند، از مشتقات آروماتیک مانند دی بنزوتیوفن (DBT) به عنوان الگوی آزمایشگاهی استفاده نموده اند و لذا اکثر گزارشات موجود در زمینه گوگردزدایی زیستی براساس کارهای انجام شده روی DBT ارایه شده اند. همچنین گزارشات متعددی نیز در زمینه گوگردزدایی زیستی روی نمونه های نفتی ارایه شده است که یا صرفاً به منظور حذف گوگرد یا برای حذف گوگرد و تخریب اسکلت کربنی حاوی گوگرد به منظور پایین آوردن ویسکوزیته نمونه های نفتی انجام شده اند. در حال حاضر گوگردزدایی زیستی به طور قابل ملاحظه ای توسعه یافته و پتانسیل آن را دارد که در مقیاس های بزرگ مورد استفاده قرار گیرد [2].

باکتری های تجزیه کننده هیدروکربن، اولین بار حدود یک قرن قبل جداسازی شده اند. امروزه ۷۹ جنس از باکتری ها شناسایی شده اند که توانایی استفاده از هیدروکربن به عنوان منبع کربن و هیدروژن را دارند. از مهم ترین آنها می توان به جنس های آلکانیووراکس (Alcanivorax) و سودوموناس (Pseudomonas) اشاره کرد. میکروارگانیسم ها، براساس آنزیم هایی که دارند و بر پایه مسیرهای متابولیکی، قادرند گوگرد مورد نیاز خود را از منابع مختلف تامین کنند. برخی از میکروارگانیسم ها می توانند گوگرد را از ترکیبات تیوفنی نظیر دی بنزوتیوفن تامین کنند و آن را طی واکنش های سوخت و ساز احیا نمایند. در استفاده از DBT به عنوان سوپسترا برای ارزیابی فعالیت های گوگردزدایی باکتری های مختلف عمده تا دو مسیر اصلی شامل مسیر تخریب کننده حلقه و مسیر گوگردزدایی اکسیداسیون ویژه گزارش شده است [3].

در ادامه مروری بر پژوهش های انجام شده روی تبدیل ترکیبات تشکیل دهنده DSO شامل دی متیل دی سولفید (DMDS)، دی اتیل دی سولفید (DEDS) و متیل اتیل دی سولفید (MEDS) صورت گرفت. /یتو و همکاران یک گونه باکتری جداسازی کرده اند که قادر بود دی متیل دی سولفید را به عنوان تنها منبع گوگرد مصرف کند. آنها این گونه را از مجموعه میکروبی خود که شامل ۸۸ گونه

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تجربی، از یک محیط پایه معدنی که به همراه یک منبع آلی کربن و حاوی ۱۰ گرم یا ۱۰ میلی لیتر منبع کربن و انرژی (گلوکز، سوکروز یا گلیسرول)، ۲/۵ گرم دی پتاسیم فسفات (K_2HPO_4)، ۰/۲ گرم مگنزیوم کلراید هگزا هیدرات ($MgC_2L_2 \cdot 6H_2O$)، ۲/۵ گرم مونوپتاسیم فسفات (KH_2PO_4)، ۰/۱ گرم فریک کلراید ۶ به $(FeCl_3 \cdot 6H_2O)$ ، آمونیوم کلراید (NH_4Cl) و یک لیتر آب دو بار تقطیر بود، استفاده شد. pH محیط با اضافه کردن هیدروکلریک اسید (HCL) نرمال و سود نرمال روی ۷ تنظیم و به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو در دمای $110^\circ C$ و فشار ۱۰ پوند بر اینچ مربع استریل شد.

میکروارگانیزم: در این تحقیق برای انجام آزمایش‌های گوگردزایی زیستی DSO از دو گونه باکتریایی رودوکوکوس *Re68* و رودوکوکوس *FMF* استفاده شد. باکتری رودوکوکوس *Re68* (دانشگاه نیوکاسل؛ انگلستان) در قسمت گروه زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان نگهداری شد که پس از فعال‌سازی مجدد، مورد استفاده قرار گرفت. باکتری رودوکوکوس *FMF* (زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان؛ ایران) نیز تهیه شد. انتخاب این گونه‌ها براساس مطالعات کارهای تحقیقاتی و نتایج گوگردزایی که توسط این باکتری‌ها گزارش شده بود، انجام شد [۸]. آنالیز گوگردزایی زیستی DSO برای این نمونه‌ها با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) با آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) انجام شد (جدول ۱). تعیین میزان کم شدن DSO در همه آزمایش‌ها با استفاده از آشکارساز FID و مقایسه ارتفاع پیک‌ها به دست آمد و غلظت اجزای تشکیل‌دهنده DSO به‌طور دقیق اندازه‌گیری شد.

جدول ۱ شرایط دستگاه گاز کروماتوگرافی و روش اعمال شده برای تعیین غلظت نمونه‌های باکتریایی رودوکوکوس *Re68* و رودوکوکوس *FMF*

اجزا	شرایط
اینجکتور ۱۱۷۷	
آون اینجکتور (Injector oven)	روشن
دما	$250^\circ C$
نسبت مستقیم (Split ratio)	On-100
Column CP SIL 5BC 30M*0.32 D 0.25	
جریان ثابت (Constant flow)	روشن
جریان ستون به‌صورت میلی لیتر بر دقیقه (Column flow)	۱۰۰
پالس فشار	روشن
زمان پایداری (دقیقه)	۰/۱
دما ($^\circ C$)	سرعت (c/min)
۱۰	۵/۵
۱۴۰	۲۰
آشکارساز FID	
جریان make up (میلی لیتر بر دقیقه)	۲۵
جریان هیدروژن (میلی لیتر بر دقیقه)	۳۰
جریان هوا (میلی لیتر بر دقیقه)	۳۰۰

ظروف آزمایش: در این تحقیق برای انجام آزمایش‌های گوگردزایی DSO توسط باکتری‌ها، از ارلن‌های ۲۰۰ میلی لیتری با دهانه تنگ (برای جلوگیری از تبخیر DSO) استفاده شد. ارلن‌ها قبل از اضافه کردن محیط کشت، در دمای $121^\circ C$ و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو استریل شدند. برای ایجاد شرایط

میکروبی بود جدا کردند. این گونه باکتریایی با روش تعیین توالی 16SrDNA به‌عنوان *سودوموناس فلئورسنس* (*Pseudomonas fluorescens*) شناسایی شد. چون این گونه نمی‌توانست روی دی‌متیل‌دی‌سولفید و دیگر ترکیبات C_1 به‌عنوان تنها منبع انرژی رشد کند، از دسته متیلوتروف‌ها نبود. این باکتری نسبت به دی‌متیل‌دی‌سولفید بسیار مقاوم است، زیرا می‌تواند در غلظت‌های بالاتر از ۹/۰۴ میلی مولار دی‌متیل‌دی‌سولفید نیز رشد کند. بر پایه پژوهش ذکر شده، این باکتری می‌تواند دی‌متیل‌دی‌سولفید را مصرف کند و یک مصرف‌کننده بیولوژیکی دی‌متیل‌دی‌سولفید است [۴].

ریچرت و همکاران، دو اکتینومیسست به نام‌های گونه جدید *سودونوکاردیا آساکارولیتیکا* (*Pseudonocardia asaccharolytica* sp. Nov) و گونه جدید *سودونوکاردیا سولفیدوکسیدانتر* (*Pseudonocardia sulfidoxydans* sp. Nov) به دست آورده‌اند که دی‌متیل‌دی‌سولفید را تجزیه می‌کنند. آنها از یک بیوفیلتر، هفت گونه باکتری جدا کرده‌اند که قادر بودند متیل‌سولفیدها را به‌عنوان منبع انرژی مصرف کنند. از میان این هفت گونه، تنها چهار گونه از دی‌متیل‌دی‌سولفید، به‌عنوان تنها منبع انرژی استفاده می‌کردند و سه گونه از آنها قادر بودند که هم از دی‌متیل‌دی‌سولفید و هم از دی‌متیل‌سولفید استفاده کنند [۵].

فا و شودا یک قارچ جدا کرده‌اند که هیدروژن سولفید (H_2S)، دی‌متیل‌سولفید، دی‌متیل‌دی‌سولفید و متانتیول را تجزیه می‌کرد. این بازیدیومیسست H_2S ، دی‌متیل‌سولفید، متانتیول و دی‌متیل‌دی‌سولفید را به‌ترتیب ۱۰۰۰۰، ۴۰، ۱۵ و ۴ برابر از هر میکروارگانیزمی که تا سال ۱۹۹۱ گزارش شده بود، بیشتر تجزیه می‌کرد. آنها به دست آورده‌اند که pH بهینه برای فعالیت این قارچ نیز در حدود ۷ بوده است. نکته قابل توجه آن است که فعالیت این قارچ برای این گازها به‌تنهایی یا مخلوط آنها با یکدیگر تفاوتی نداشته است. آنها به دست آورده‌اند که H_2S ابتدا به سولفیت و سپس به سولفات اکسید شده و دی‌متیل‌سولفید به‌صورت استوکیومتری به دی‌متیل‌سولفوکسید تبدیل می‌شود [۶]. پل و همکاران موفق شده‌اند گونه‌ای را جداسازی کنند که دی‌متیل‌سولفید را مصرف می‌کند. آنها این هایفومیکروبیوم (*Hyphomicrobium*) را با گرماگذاری لجن فعال با غلظت‌های پایین دی‌متیل‌سولفید، به دست آورده‌اند [۷]. در این تحقیق به حذف ترکیبات گوگردی از DSO توسط دو گونه باکتری رودوکوکوس *re68* (*Rhodococcus re68*) و رودوکوکوس *FMF* پرداخته شد که نتایج قابل توجهی به دست آمد. به‌منظور رقابتی‌نمودن حذف ترکیبات گوگردی از DSO به روش زیستی با سایر فرآیندهای جداسازی ترکیبات سولفیدی به‌خصوص فرآیند گوگردزایی هیدروژنی (متداول‌ترین راهکار)، یک برنامه ۵ مرحله‌ای شامل تهیه بیوکاتالیست‌های دارای درجه بالایی از انتخاب‌گری (ویژه)، ایجاد سیستم‌های دوفازی شامل بخش آلی، بخش آبی و زیست‌کاتالیزور، گوگردزایی زیستی با سرعت قابل قبول، جداسازی DSO گوگردزایی شده، بازیافت زیست‌کاتالیزور و بازگرداندن آن به سیستم و اجرایی‌نمودن مدیریت پسماند موثر و کارآمد می‌بایست طراحی و اجرا شود که هر مرحله تحت تاثیر یک سری عوامل است. در این تحقیق به بررسی دستیابی به گونه باکتریایی مناسب و پایدار در محیط DSO و ایجاد سیستم‌های دوفازی شامل بخش آلی و بخش آبی پرداخته شد که در واقع اهداف این تحقیق به شمار می‌رفتند. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف حذف

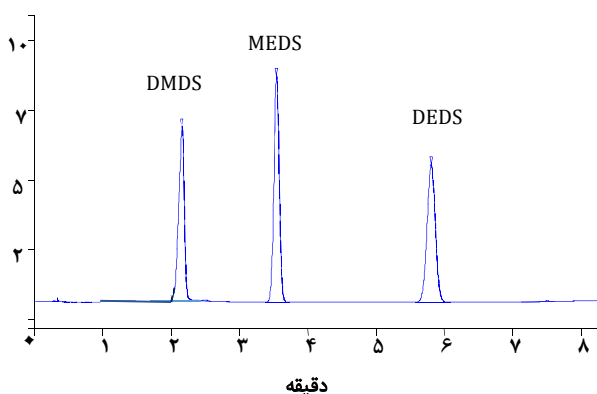
$$\epsilon = \frac{\text{Extracted DSO from M9 } (\mu\text{l})}{20} \times 100$$

بازده استخراج عبارت از نسبت مقدار DSO استخراج شده از محلول محیط کشت به آن مقدار از DSO است که باید از محلول محیط کشت استخراج می‌شد. همان طور که نتایج نشان داد، بهترین حالت برای استخراج DSO از محلول محیط کشت، استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر ایزواکتان در حالت ۳ دقیقه، به شدت هم‌زدن است. قابل ذکر است برای حصول نتیجه بهتر، محلول محیط کشت به دو قسمت تقسیم و ۱۰ میلی‌لیتر ایزواکتان در دو مرحله ۵ میلی‌لیتری به آن اضافه شد. با افزایش مدت زمان هم‌زدن و افزایش میزان ایزواکتان تغییری در نتایج بازدهی استخراج حاصل نشد (جدول ۲).

جدول ۲) آزمایش‌های تعیین بازده استخراج DSO از محیط کشت M9

بازده استخراج (درصد)	DSO در محلول استخراج شده (میکرولیتر)	ایزواکتان (CC)	مدت زمان هم‌زدن (دقیقه)
۵۲/۵	۱۰/۵	۵	۱
۶۰	۱۲	۱۰	۱
۶۵	۱۳	۵	۲
۷۲/۵	۱۴/۵	۱۰	۲
۷۵	۱۵	۵	۳
۸۷/۵	۱۷/۵	۱۰	۳

اندازه‌گیری میزان کاهش DSO توسط باکتری‌های رودوکوکوس Re68 و FMF: برای به‌دست‌آوردن میزان ترکیبات موجود در DSO، میزان ۲۰ میکرولیتر DSO به ۱۰ میلی‌لیتر ایزواکتان اضافه و سپس برای اندازه‌گیری به دستگاه GC-FID تزریق شد (نمودار ۱). دو نمونه از محیط کشت بدون منبع کربن (فاقد گلیسرول) حاوی باکتری‌های رودوکوکوس Re68 و FMF تهیه و با شاهد مقایسه شد.



نمودار ۱) طیف گاز کروماتوگرافی اجزای تشکیل‌دهنده دی‌سولفید اویل

یافته‌ها

۲۰ میکرولیتر DSO، شامل ۷/۰۲۲۶ میکرولیتر DMDS، ۷/۲۲۶ میکرولیتر MEDS و ۵/۷۵۱۴ میکرولیتر DEDS بود (نمودار ۱). مقایسه دو نمونه از محیط کشت بدون منبع کربن (فاقد گلیسرول) حاوی باکتری‌های رودوکوکوس Re68 و FMF و شاهد نشان داد که باکتری‌های رودوکوکوس Re68 و FMF قادر به تجزیه DSO بدون منبع کربن نبودند. میزان کاهش DSO توسط

بی‌هوازی، دهانه ارلن‌ها با پارافیلیم پوشانده شد.

بررسی گوگردزایی DSO توسط باکتری‌های رودوکوکوس Re68 و FMF: در این تحقیق به‌منظور بررسی گوگردزایی DSO توسط باکتری‌های موجود از محیط کشت M9 و با منبع کربن گلیسرول که فاقد منبع گوگرد بودند، استفاده شد. قبل از انجام آزمایش، تمام ظروف به‌منظور حذف منابع آلودگی با محلول جوهر نمک شسته و در دمای ۱۲۱°C و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو استریل شدند. محیط شاهد شامل محیط کشت‌های حاوی DSO بدون تلقیح باکتری در نظر گرفته شد.

۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی (محیط کشت M9 به اضافه کلنی‌های باکتری مد نظر) با OD₆₀₀=۰/۵-۰/۶ و ۲۰ میکرولیتر DSO به ۱۰ میلی‌لیتر از هر محیط کشت اضافه و در انکوباتور ۳۰°C در دو شرایط هوازی و هوازی سرپوشیده به‌همراه شاهد برای هر دو باکتری انکوبه شد. نمونه‌های هوازی به مدت ۴ روز و نمونه‌های هوازی با درب‌های پوشیده به مدت ۱۰ روز در انکوباتور، انکوبه شدند. برای تعیین میزان مصرف گوگرد DSO توسط باکتری‌ها، این ترکیب از محیط کشت‌ها و نمونه‌های شاهد توسط حلال ایزواکتان که قبلاً انتخاب شده بود، استخراج شد. موارد ذکر شده در مورد کلیه آزمایش‌ها یکسان بود.

بازده استخراج: برای به‌دست‌آوردن بازده استخراج DSO به‌وسیله ایزواکتان از محیط کشت، محلول‌های استاندارد ۲۰ میکرولیتر DSO در ۱۰ و ۲۰ میلی‌لیتر ایزواکتان ساخته و میزان DSO در آنها با دستگاه GC (آشکارساز FID) اندازه‌گیری شد. سپس ۲۰ میکرولیتر DSO به محیط کشت اضافه و با مقادیر مختلف حلال و زمان‌های مختلف استخراج شد. با مقایسه نتایج، زمان و میزان حلال مناسب برای استخراج DSO از محیط کشت به دست آمد.

تبخیر DSO: برای بررسی نرخ تبخیر DSO، مقدار ۲۰ میکرولیتر DSO به ۴ ارلن (ارلن‌های ۲۰۰ میلی‌لیتری با دهانه تنگ که با پنبه پوشانده شده بود) حاوی محیط کشت M9 اضافه و در مدت زمان ۹۶ ساعت با فواصل زمانی ۲۴ ساعته با اندازه‌گیری دقیق به‌وسیله GC-FID اندازه‌گیری شد. بدین منظور محیط کشت‌ها که دارای ۲۰ میکرولیتر DSO بودند با ۱۰ سی‌سی ایزواکتان، استخراج و غلظت نهایی DSO در آنها اندازه‌گیری شد. این آزمایش‌ها در دمای ۳۰°C انجام شد.

برای محاسبه درصد کاهش DSO از روابط زیر استفاده شد:

$$\text{درصد کاهش نسبی} = 100 \times \left[\frac{MC - MT}{MC} \right]$$

$$\text{درصد کاهش مطلق} = 100 \times \left[\frac{MC - MT}{MI} \right]$$

MC: میزان DSO در شاهد

MT: مقدار DSO در محیط کشت

MI: مقدار DSO اضافه‌شده در ابتدای کار است.

بازده استخراج: برای تعیین بازده استخراج با استفاده از مقادیر مختلف حلال ایزواکتان و در زمان‌های متفاوت، محلول محیط کشت M9 شامل ۲۰ میکرولیتر DSO به‌وسیله ایزواکتان استخراج شد (جدول ۲). در هر یک از محلول‌های استاندارد ساخته‌شده، مقدار DSO ۲۰ میکرولیتر بود، بنابراین بازده استخراج از رابطه زیر به دست آمد:

باکتری‌های مورد استفاده برای ترانسفورماسیون باکتریایی DSO کاملاً هوازی هستند و نمی‌توانند بدون حضور هوا فعالیت کافی داشته باشند. بنابراین، برای تصفیه DSO می‌بایست اکسیژن کافی در دسترس باکتری‌ها باشد. گوگردزدایی از دی‌متیل‌دی‌سولفید، دی‌اتیل‌دی‌سولفید و متیل‌اتیل‌دی‌سولفید در شرایط هوازی و شرایط ارلن‌های ۲۰۰ میلی‌لیتری در بسته انجام گرفت. استفاده از ارلن‌های ۲۰۰ میلی‌لیتری در بسته و حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت، شرایط هوازی مورد نیاز برای تجزیه این ترکیبات را به‌صورتی فراهم می‌سازد که امکان تبخیر را کاهش می‌دهد. با توجه به هوازی بودن باکتری‌های رودوکوکوس *Re68* و *FMF* این آزمایشات در ظروف در باز انجام شد که حداکثر میزان تبخیر DSO برابر ۸٪ بود.

افزایش مدت زمان آزمایش، میزان کاهش DSO توسط باکتری رودوکوکوس *FMF* را به‌میزان قابل توجهی افزایش داد. بنابراین مدت زمان در میزان کاهش DSO توسط این باکتری نقش مهمی دارد و حایز اهمیت است. برای انجام آزمایش‌های بهینه‌سازی، درب ظرف‌ها پوشانیده شد و زمان به ۱۰ روز افزایش یافت. در این حالت تبخیر DSO کاهش یافت و به صفر رسید و میزان کاهش برای هر کدام از اجزای DSO افزایش پیدا کرد، به‌گونه‌ای که برای باکتری *Re68* میزان کاهش DMDS، MEDS و DEDS هر کدام به‌ترتیب ۵٪، ۵٪ و ۴٪ و برای باکتری *FMF* میزان کاهش هر کدام به‌ترتیب ۷٪، ۱۵٪ و ۱۲٪ بود. در رابطه با این مساله، /سمیت و کلی نیز برای بررسی تجزیه زیستی دی‌متیل‌دی‌سولفید از فلاسک‌های درپوش‌دار لاستیکی یا تفلونی ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت استفاده کرده بودند^[10]. *دزورت* و همکاران برای جدا کردن یک متیلوتروف اجباری اکسیدکننده دی‌متیل‌سولفید به نام متیلوگاسولفیدوورانس از بطری‌های درب‌دار بوتیلی و تفلونی استفاده نموده‌اند^[11]. همچنین /سمت و همکاران برای بررسی تجزیه دی‌متیل‌سولفید از شیشه‌های پنی‌سیلین ۱۲۰ میلی‌لیتری با درپیش تفلونی حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت استفاده نموده‌اند^[12]. با مقایسه‌ای که روی درصد مصرف DMDS، MEDS و DEDS در دو شرایط متفاوت روی هر دو گونه باکتریایی انجام گرفت، مشخص شد که درصد مصرف MEDS و DEDS در مقایسه با DMDS به مراتب بیشتر بود. باکتری رودوکوکوس *Re68* بیشترین درصد مصرف متیل‌اتیل‌دی‌سولفید و باکتری رودوکوکوس *FMF* بیشترین درصد مصرف دی‌اتیل‌دی‌سولفید را نشان داد که این درصد‌ها به‌ترتیب عبارت از ۷۵٪ و ۸۲٪ بودند.

سمیت بیشتر و حلالیت کمتر دی‌متیل‌دی‌سولفید در آب و در مقایسه با MEDS و DEDS بیانگر این است که قابلیت ترانسفورماسیون باکتریایی MEDS و DEDS در مقایسه با DMDS توسط این دو گونه باکتریایی بسیار بیشتر است. این نتایج با مطالعاتی که /متیازی و همکاران^[8] در رابطه با DMDS و DEDS انجام داده‌اند، مشابهت داشت و نشان داده است که گونه باکتریایی پانی‌باسیلوس سویه H بیشترین درصد مصرف DMDS و DEDS را در حضور گلیسرول نشان داده است که این درصد‌ها به‌ترتیب عبارت از ۲۸/۸٪ و ۷۵/۵٪ بودند و همچنین رودوکوکوس *Re68* نیز مانند پانی‌باسیلوس سویه H بیشترین درصد مصرف این دو ترکیب را در گلیسرول نشان داد، به‌طوری که ۸۰/۴٪ از DEDS و ۲۴/۹٪ از DMDS در حضور گلیسرول و توسط این سویه مصرف شده است. تنها باکتری‌های گرم مثبت قادرند که در حضور DSO به فعالیت خود ادامه دهند. باکتری‌های *Re68* و *FMF* که در ترانسفورماسیون باکتریایی DSO از آنها استفاده شد نیز هر دو

باکتری رودوکوکوس *Re68* به‌ترتیب در شرایط هوازی بعد از ۴ روز ۴۶/۷٪ و در شرایط درب پوشیده بعد از ۱۰ روز ۵۷/۱۸٪ به دست آمد (جدول ۳).

میزان کاهش DSO توسط باکتری رودوکوکوس *FMF* به‌ترتیب در شرایط هوازی بعد از ۴ روز ۴۷/۵۶٪ و در شرایط درب پوشیده بعد از ۱۰ روز ۶۳٪ به دست آمد (جدول ۴).

جدول ۳) میزان کاهش DSO توسط باکتری رودوکوکوس *Re68* شرایط هوازی بعد از ۴ روز و هوازی سرپوشیده بعد از ۱۰ روز

ترکیب	میزان اولیه (میکرولیتر)	میزان در شاهد (میکرولیتر)	میزان در نمونه تیمار شده (میکرولیتر)	میزان کاهش یافته (میکرولیتر)	درصد نسبی کاهش	درصد مطلق کاهش
بعد از ۴ روز						
DMDS	۷/۰۲۲۶	۶/۴۲۸۲	۵/۱۴۲۵	۱/۲۸۵۶	۲۵	۱۸
MEDS	۷/۲۲۶	۶/۶۶۵	۱/۹۲۸۴	۴/۶۶۵۵	۷۰	۶۵
DEDS	۵/۷۵۱۴	۵/۳۰۵	۱/۹۰۹۸	۳/۳۹۵۲	۶۴	۵۹
DSO	۲۰	۱۸/۴	۸/۹۸۰۷	۹/۳۴۶۳	۵۰/۸	۴۶/۷
بعد از ۱۰ روز						
DMDS	۷/۰۲۲۶	۷/۰۲۲۶	۷/۰۲۲۶	۲/۱۰۶۷	۳۰	۳۰
MEDS	۷/۲۲۶	۷/۲۲۶	۱/۸۰۶۵	۵/۴۱۹۵	۷۵	۷۵
DEDS	۵/۷۵۱۴	۵/۷۵۱۴	۱/۸۴۰۴۴	۳/۹۱۰۹	۶۸	۶۸
DSO	۲۰	۲۰	۱۰/۶۶۹۵	۱۱/۴۳۷۱	۵۷/۱۸	۵۷/۱۸

جدول ۴) میزان کاهش DSO توسط باکتری باکتری رودوکوکوس *FMF* در شرایط هوازی بعد از ۴ روز و هوازی سرپوشیده بعد از ۱۰ روز

ترکیب	میزان اولیه (میکرولیتر)	میزان در شاهد (میکرولیتر)	میزان در نمونه تیمار شده (میکرولیتر)	میزان کاهش یافته (میکرولیتر)	درصد نسبی کاهش	درصد مطلق کاهش
بعد از ۴ روز						
DMDS	۷/۰۲۲۶	۶/۴۲۸۲	۴/۶۲۸۳	۱/۷۹۹۸	۲۸	۲۵/۶
MEDS	۷/۲۲۶	۶/۶۶۵	۲/۶۶۵۷	۳/۹۹۹۳	۶۰	۵۵
DEDS	۵/۷۵۱۴	۵/۳۰۵	۱/۵۹۱۵	۳/۷۱۳۵	۷۰	۶۴/۵
DSO	۲۰	۱۸/۴	۸/۸۸۵۵	۹/۵۱۲۶	۵۱/۶۹۸۹	۴۷/۵۶
بعد از ۱۰ روز						
DMDS	۷/۰۲۲۶	۷/۰۲۲۶	۴/۵۶۴۶	۲/۴۵۷۹	۳۵	۳۵
MEDS	۷/۲۲۶	۷/۲۲۶	۱/۸۰۶۵	۵/۴۱۹۵	۷۵	۷۵
DEDS	۵/۷۵۱۴	۵/۷۵۱۴	۱/۰۳۵۲	۴/۷۱۶۱	۸۲	۸۲
DSO	۲۰	۲۰	۷/۴۰۶۳	۱۲/۵۹۳۵	۶۳	۶۳

بحث

هدف پژوهش حاضر، حذف بیوکاتالیتیک ترکیبات گوگردی از دی‌سولفید اوایل (DSO) بود. ترانسفورماسیون باکتریایی DSO اجزای تشکیل‌دهنده آن توسط باکتری‌های رودوکوکوس *Re68* و *FMF* مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که این باکتری‌ها از اجزای تشکیل‌دهنده DSO که شامل دی‌متیل‌دی‌سولفید، متیل‌اتیل‌دی‌سولفید و دی‌اتیل‌دی‌سولفید است، تنها به‌عنوان منبع گوگرد استفاده کردند و قادر به رشد روی آنها به‌عنوان منبع کربن و انرژی نبودند. در این زمینه /یتو و همکاران نتایج مشابهی به دست آورده‌اند. آنها نشان داده‌اند که باکتری سودوموناس فلئورسنس سویه ۷۶ قادر به مصرف دی‌متیل‌دی‌سولفید به‌عنوان تنها منبع گوگرد بود، ولی نتوانست از آن به‌عنوان منبع کربن و انرژی استفاده کند^[4]. /متیازی و همکاران نشان داده‌اند که باکتری‌های باسیلوس خاک‌زی از ترکیبات آلکیل‌دی‌سولفیدی به‌عنوان تنها منبع گوگرد در حضور گلوکز یا گلیسرول در شرایط هوازی استفاده می‌کنند^[9].

Eng. 2006;25(3):65-71.

3- Prayuenyong, P. Coal biodesulfurization processes. Songklanakarin J Sci Technol. 2002;24(3):493-507.

4- Ito T, Miyaji T, Nakagawa T, Tomizuka N. Degradation of dimethyl disulfide by pseudomonas fluorescens strain 76. Biosci Biotechnol Biochem. 2007;71(2):366-70.

5- Reichert K, Lipski A, Pradella S, Stackebrandt E, Altendorf K. Pseudonocardia asaccharolytica sp. nov. and Pseudonocardia sulfidoxydans sp. nov., two new dimethyl disulfide-degrading actinomycetes and emended description of the genus Pseudonocardia. Int J Syst Bacteriol. 1998;48 Pt 2:441-9.

6- Phae CG Shoda M. 1991. A new fungus which degrades hydrogen sulfide, methanethiol, dimethyl sulfide and dimethyl disulfide. Biotechnol Lett. 1991;13(5):375-80.

7- Pole A, West M, Harrison J. Applied bayesian forecasting and time series analysis. Florida: CRC Press; 1994.

8- Emtiazi G, Harirchi S, Soroush Noghabi M. The effect of grown cell and cell free extract of rhodococcus sp. and paenibacillus sp. on dimethyl disulfide (dmds) and diethyl disulfide (deds) removal. World Appl Sci J. 2008;5(4):499-506.

9- Emtiazi G, Abbasi S. Effect of dimethyl disulfide and diethyl disulfide (DSO) in soil microbial flora. Res J Univ Isfahan Sci. 2006;24(2):107-18. [Perssian]

10- Smith NA, Kelly DP. Isolation and physiological characterization of autotrophic sulfur bacteria oxidizing dimethyl disulphide as sole source of energy. J Gen Microbiol. 1988;134(6):1407-17.

11- De Zwart JMM, Nelisse PN, Kuenen JG. Isolation and characterization of Methylophaga sulfidovorans sp. nov.: An obligately methylotrophic, aerobic, dimethylsulfide oxidizing bacterium from a microbial mat. FEMS Microbiol Ecol. 1996;20(4):261-70.

12- Smet E, Lens P, Van Langenhove H. Treatment of waste gasses contaminated with odorous sulfur compounds. Crit Rev Environ Sci Technol. 1998;28(1):89-117.

باکتری‌های گرم مثبت بودند. بنابراین میزان ترانسفورماسیون DSO توسط این دو گونه باکتری بسیار قابل توجه بوده است و منوط بر وجود چالش‌های بسیار در حذف گوگرد از DSO با روش‌های دیگر از جمله روش هیدروژن زدایی، استفاده از این روش در آینده نقطه عطفی در صنعت گوگرد زدایی از DSO محسوب می‌شود.

نتیجه‌گیری

میزان ترانسفورماسیون دی‌سولفید اویل و اجزای تشکیل‌دهنده آن شامل دی‌متیل دی‌سولفید، دی‌اتیل دی‌سولفید و متیل اتیل دی‌سولفید توسط دو گونه باکتری رودوکوکوس *Re68* و *FMF* بسیار قابل توجه است. باکتری‌های رودوکوکوس *Re68* و *FMF* از دی‌سولفید اویل تنها به‌عنوان منبع گوگرد استفاده می‌کنند و قادر به رشد روی آنها به‌عنوان منبع کربن و انرژی نیستند.

تشکر و قدردانی: موردی از سوی نویسندگان یافت نشد.

تاییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان یافت نشد.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان یافت نشد.

سهم نویسندگان: زهرا راهیپما (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/روشناس/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۵۰٪)؛ داریوش مولا (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/روشناس/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۵۰٪)

منابع مالی: موردی از سوی نویسندگان یافت نشد.

منابع

- 1- Mohammadi Zadeh MR. The feasibility study of removing sulfur compounds from DSO and producing value added products. Bushehr: South Pars Gas Complex; 2012.
- 2- Hosseini SA, Yaghmaei S, Mousavi SM, Jadidi AR. Biodesulfurization of dibenzothiophene by a newly isolated thermophilic bacteria strain. Iran J Chem Chem