دانشگاه گیلان
پردیس بین الملل

پژوهشگاه مواد و انرژی

پایان نامه کارشناسی ارشد

بررسی تاثیر نانوساختار مزوپور بر سولفورزدایی بیولوژیک از دی‌بنزوتیوفن به وسیله باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8

از

نوید احمدی نسب

استادان راهنما:

دکتر حسن حسنی کومله

دکتر فریده قوی پنجه

شهریور ۱۳۹۲

بسم الله الرحمن الرحيم

پردیس بین الملل

گروه بیوتکنولوژی

(گرایش بیوتکنولوژی در کشاورزی)

عنوان:

بررسی تاثیر نانوساختار مزوپور بر سولفورزدایی بیولوژیک از دی بنزوتیوفن به وسیله باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8

از:

نوید احمدی نسب

استادان راهنما:

دکتر حسن حسنی کومله

دکتر فریده قوی پنجه

استادان مشاور:

دکتر محمود کاظم زاد

دکتر فاطمه داوودی دهاقانی

شهریور ۱۳۹۲

تقدیم به عزیزانم:

پدر، مادر، ایمان، آرمین، ثمین

و

نیما و گلدونه

با سپاسگزاری از

اساتید بزرگوارم در دوره تحصیلات تکمیلی

اساتید محترم راهنما جناب آقای دکتر حسن حسنی کومله و خانم دکتر فریده قوی پنجه به پاس تمام زحمات و راهنمایی های بیدریغ شان

اساتید محترم مشاور، جناب آقای دکتر محمود کاظم زاده و خانم دکتر فاطمه داوودی که در نهایت بزرگواری، در انجام این رساله یاری ام رساندند

اساتید محترم آقایان: دکتر علی اعلمی و دکتر امیر علی یوزباشی که زحمت داوری رساله حاضر را پذیرا شده اند

از جناب آقای دکتر هدایت زکی زاده نماینده محترم تحصیلات تکمیلی و راهنمایی های ارزنده ایشان

از راهنمایی و همکاری اساتید محترم آقایان دکتر منوچهر وثوقی از دانشگاه صنعتی شریف، دکتر بهنام راسخ از پژوهشگاه صنعت نفت و دکتر جمشید راهب از پژوهشگاه ملی ژنتیک و زیست فناوری

از کلیه همکاران گرامیم: اعضای هیئت علمی، کارشناسان و تکنسین های پژوهشگاه مواد و انرژی

از مسئولین و کارکنان محترم دانشگاه گیلان

از تمامی دوستان و عزیزان: یدالله گنج خانلو، محبوبه بنی فاطمی، کتایون کریمیان، ژیلا ضیایی، کیخسرو موذن زاده و تمامی همکلاسی های عزیزم

از دوستان خوبم در آزمایشگاه محیط زیست پژوهشگاه مواد و انرژی و آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه گیلان

فهرست جدول‌ها ..... د
فهرست شکل‌ها ..... ذ
چکیده فارسی ..... ز
چکیده انگلیسی ..... س
مقدمه ۱
کلیات و بررسی منابع ۴
مواد و روش‌ها ۳۴
نتایج و بحث ۵۲
نتیجه گیری کلی ۷۶
پیشنهادها ۷۸
منابع ۸۰

فهرست مطالب

مقدمه ۱
کلیات و بررسی منابع ۴
۱-۱- نفت و انرژی ۵
۱-۱-۱- عناصر و ترکیبات تشکیل دهنده‌ی نفت خام ۶
۱-۱-۲- ترکیبات سولفوردار موجود در نفت خام ۶
۱-۲- ضرورت سولفورزدایی از سوخت‌های فسیلی ۸
۱-۲-۱- آسیب‌های زیست محیطی ۸
۱-۲-۲- مشکلات صنعتی ۸
۱-۳- روش‌های سولفورزدایی ۸

۱-۳-۱- سولفورزدایی هیدروژنی ۹
۱-۳-۲- سولفورزدایی بیولوژیک ۱۰
۱-۴- اهمیت DBT در تحقیقات مرتبط با فرآیندهای سولفورزدایی ۱۱
۱-۵- مسیرهای متابولیکی تجزیه DBT توسط بیوکاتالیست‌ها ۱۱
۱-۵-۱- سولفورزدایی بیولوژیک تخریبی ۱۱
۱-۵-۲- سولفورزدایی بیولوژیک بی‌هوازی ۱۳
۱-۵-۳- سولفورزدایی بیولوژیک اکسیداسیون ویژه ۱۳
۱-۶- باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 ۱۶
۱-۷- چالش‌های سولفورزدایی بیولوژیکی ۱۷
۱-۸- عوامل موثر بر بازده فرآیند BDS ۱۸
۱-۸-۱- اثر شرایط رشد بیوکاتالیست و تولید مواد بازدارنده ۱۸
۱-۸-۲- اثر سیستم‌های محلول دوفازی ۱۹
۱-۸-۳- اثر مواد افزودنی و سورفکتانت‌ها ۲۰
۱-۸-۴- تاثیر مهندسی متابولیک و کاربرد مهندسی ژنتیک در فرآیند BDS ۲۰
۱-۸-۵- اثر موادجاذب و تثبیت بیوکاتالیست بر فرآیند BDS ۲۱
۱-۹- نانوفناوری ۲۲
۱-۹-۱- مقدمه‌ای بر نانوفناوری و اهمیت آن ۲۲
۱-۹-۲- روش‌های تولید نانومواد ۲۲
۱-۹-۲-۱- روش از بالا به پایین (مهندسی دقیق) ۲۳
۱-۹-۲-۲- روش از پایین به بالا (ساختار خود سامان دهنده) ۲۴
۱-۹-۲-۲-۱- روش فاز مایع (کلوئیدی) ۲۴
۱-۹-۲-۲-۲- روش فاز گازی ۲۵
۱-۹-۲-۲-۳- روش‌های ترسیب شیمیایی بخار ۲۵
۱-۱۰- نانوساختارهای متخلخل ۲۶

۱-۱۰-۱- مقدمه‌ای بر نانوساختارهای متخلخل و اهمیت آنها ۲۶
۱-۱۰-۲- روش‌های ایجاد تخلخل در مواد ۲۶
۱-۱۰-۲-۱- ایجاد تخلخل در ماده بالک خالص ۲۶
۱-۱۰-۲-۲- سنتز نانومواد متخلخل (روش از پایین به بالا) ۲۷
۱-۱۱- کاربردهای نانومواد متخلخل ۲۹
۱-۱۲- مزوپور سیلیکا ۳۰
۱-۱۲-۱- مزوپور MCM-41 سیلیکا با ساختار کریستالی هگزاگونال ۳۱
مواد و روش‌ها ۳۴
۲-۱- دستگاه‌ها و تجهیزات، مواد، میکروارگانیسم‌ها ۳۵
۲-۱-۱- دستگاه‌ها و تجهیزات ۳۵
۲-۱-۲- مواد شیمیایی ۳۵
۲-۱-۲-۱- مواد مورد نیاز برای سنتز نانوساختار مزوپور MCM-41 ۳۵
۲-۱-۲-۲- مواد شیمیایی مورد استفاده جهت کشت و آنالیز بیوکاتالیست‌ها ۳۶
۲-۱-۳- بیوکاتالیست مورد استفاده در این تحقیق ۳۶
۲-۱-۴- محلول‌ها و معرف‌های مورد استفاده ۳۶
۲-۱-۴-۱- محلول بافر فسفات نمکی 1X (PBS) ۳۶
۲-۱-۴-۲- سرم فیزیولوژیک ۳۶
۲-۱-۴-۳- آنتی بیوتیک کانامایسین ۳۷
۲-۱-۴-۴- استوک معرف گیبس ۱٪ ۳۷
۲-۱-۴-۵- استوک محلول ۱۰٪ DBT ۳۷
۲-۱-۴-۶- استوک محلول ۲-هیدروکسی بی‌فنیل ۱۰۰ ppm ۳۷
۲-۱-۵- محیط‌های کشت ۳۷
۲-۱-۵-۱- محیط کشت LB مایع ۳۷
۲-۱-۵-۲- محیط کشت LB جامد حاوی کانامایسین ۳۸
۲-۱-۵-۳- محیط کشت پایه نمکی (BSM) ۳۸

۲-۱-۵-۴- محیط نگهداری باکتری ۳۹
۲-۱-۶- تهیه سلول‌های بدون رشد (Resting Cells) ۳۹
۲-۲-روش‌ها ۴۰
۲-۲-۱- بررسی رشد و تکثیر سلولی در محیط BSM ۴۰
۲-۲-۲- رسم منحنی وزن خشک سلولی ۴۰
۲-۲-۳- محاسبه تعداد سلول‌های زنده در فواصل معین رشد سلولی ۴۱
۲-۲-۴- آنالیز اسپکتروفتومتری گیبس ۴۱
۲-۲-۵- رسم منحنی کالیبراسیون به روش اسپکتروفتومتری گیبس ۴۲
۲-۲-۶- بررسی توانایی مصرف سولفور توسط سلول‌های سولفورزدا در حین رشد سلولی ۴۲
۲-۲-۷- سنتز نانوساختار مزوپور MCM-41 سیلیکا ۴۲
۲-۲-۸- تجهیزات و تکنیک‌های مورد استفاده جهت بررسی MCM-41 ۴۲
۲-۲-۸-۱- پراش پرتو ایکس زوایای پایین (SAXS) ۴۳
۲-۲-۸-۲- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) ۴۳
۲-۲-۸-۳- میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) ۴۴
۲-۲-۸-۴- آنالیز BET ۴۴
۲-۲-۸-۵- آنالیز طیف سنج تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) ۴۶
۲-۲-۹- تعیین طیف اسپکتروفتومتری مرئی- ماوراء بنفش DBT ۴۶
۲-۲-۱۰- رسم منحنی کالیبراسیون جذب DBT ۴۶
۲-۲-۱۱- بررسی میزان جذب DBT توسط MCM-41 ۴۷
۲-۲-۱۲- بررسی نسبت مقادیر متفاوت نانوجاذب در جذب مولکول‌های DBT ۴۷
۲-۲-۱۳- تثبیت نانوجاذب MCM-41 بر سطح بیوکاتالیست‌ها ۴۷
۲-۲-۱۴- تثبیت و آماده سازی سلول‌ها برای تصویر برداری SEM ۴۸
۲-۲-۱۵- بررسی سولفورزدایی بیولوژیکی توسط سلول‌های پوشش یافته با نانوجاذب ۴۹
۲-۲-۱۶- اندازه‌گیری هیدروکربن‌ها به وسیله HPLC ۵۰

۲-۲-۱۷- بررسی خواص آنتی باکتریال نانوجاذب ۵۰
۲-۲-۱۷-۱- بررسی خاصیت آنتی باکتریالی نانوجاذب با استفاده از تست CFU ۵۰
۲-۲-۱۷-۲- بررسی خاصیت آنتی باکتریالی نانوجاذب با استفاده از تست دیسک نفوذی ۵۱
نتایج و بحث ۵۲
۳-۱- بررسی رشد و تکثیر بیوکاتالیست‌ها در محیط BSM با رسم منحنی رشد سلولی ۵۳
۳-۲- بدست آوردن معادله ارتباط وزن خشک سلولی با جذب نوری ۵۴
۳-۳- شمارش تعداد سلول‌های زنده ۵۴
۳-۴- منحنی استاندارد غلظت 2-HBP با استفاده از تست گیبس ۵۵
۳-۵- تعیین میزان تولید 2-HBP توسط سلول‌های سولفورزدا در حین مراحل مختلف رشد سلولی ۵۶
۳-۶- تهیه مولکول‌های کروی MCM-41 در دمای محیط ۵۶
۳-۷- بررسی رفتار پراش پرتو ایکس زوایای پایین نمونه MCM-41 ۵۷
۳-۸- بررسی مورفولوژی و ساختار ماکرو ذرات توسط SEM ۵۸
۳-۹- بررسی ایزوترم جذب و واجذب نیتروژن ۵۹
۳-۱۰- بررسی نظم، آرایش و اندازه حفره‌ها با استفاده از TEM ۶۰
۳-۱۱- بررسی طیف مادون قرمز مزوپور MCM-41 سیلیکا ۶۱
۳-۱۲- بررسی طیف اسپکتروفتومتری مرئی- ماورای بنفش DBT ۶۲
۳-۱۳- بدست آوردن معادله ارتباط غلظت DBT با جذب نوری ۶۳
۳-۱۴- بررسی قابلیت نانوجاذب MCM-41 در میزان جذب DBT ۶۳
۳-۱۵- بررسی تاثیر مقدار نانوجاذب مورد نیاز جهت جذب حداکثری مولکول‌های DBT ۶۴
۳-۱۶- بررسی تاثیر تثبیت شیمیایی بر مورفولوژی سلول‌ها جهت تصویر برداری SEM ۶۶
۳-۱۷- بررسی تثبیت ذرات MCM-41 بر سطح سلول سولفورزدا ۶۸
۳-۱۸- کالیبراسیون HPLC ۶۹
۳-۱۸-۱- منحنی استاندارد غلظت DBT با استفاده از آنالیز HPLC ۷۰

۳-۱۸-۲- منحنی استاندارد غلظت 2-HBP با استفاده از آنالیز HPLC ۷۱
۳-۱۹- بررسی سولفورزدایی از مدل نفتی توسط سلول‌های پوشش یافته با نانوجاذب ۷۱
۳-۲۰- بررسی خاصیت آنتی باکتریالی نانوجاذب MCM-41 ۷۴
۳-۲۰-۱- بررسی خاصیت آنتی باکتریالی نانوجاذب با استفاده از تست CFU ۷۴
۳-۲۰-۲- بررسی خاصیت آنتی باکتریالی نانوجاذب به روش تست دیسک نفوذی ۷۵
۳-۲۱- نتیجه گیری کلی ۷۶
۳-۲۲- پیشنهادها ۷۸
منابع ۸۰

فهرست جدول‌ها

جدول ۱-۱- عناصر موجود در نفت خام ۶

جدول ۱-۲- باکتری‌های شناسایی شده با قابلیت تخریب DBT و مشتقات آن از مسیر 4S ۱۵

جدول ۱-۳- طبقه بندی علمی باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس ۱۷

جدول ۲-۱- فهرست دستگاه‌ها و تجهیزات مورد استفاده ۳۵

جدول ۲-۲- ترکیبات محیط کشت BSM (بخش الف) ۳۸

جدول ۲-۳- ترکیبات محیط کشت BSM (بخش ب) ۳۹

جدول ۳-۱- پارامترهای بدست آمده از نمونه MCM-41 ..... ۵۹

جدول ۳-۲- زمان بازداری مولکول‌های DBT و 2-HBP از ستون کروماتوگرافی ۶۹

فهرست شکل‌ها

شکل ۱-۱- رشد جهانی مصرف انرژی از منابع مختلف ۵
شکل ۱-۲- ساختار شیمیایی ترکیبات آلی سولفوردار در برشهای نفتی ۷
شکل ۱-۳- ساختار شیمیایی از مولکول DBT و مشتقات آلکیله آن ۱۱
شکل ۱-۴- مسیر واکنش آنزیمی Kodama در سولفورزدایی از مولکول DBT ۱۲
شکل ۱-۵- مسیر واکنش سولفورزدایی بیولوژیک بی‌هوازی ۱۳
شکل ۱-۶- مسیر پیشنهادی 4S برای سولفورزدایی بیولوژیک از DBT توسط باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 ..... ۱۴
شکل ۱-۷- تغییر در محصول نهایی مسیر 4S از ترکیب DBT به وسیله‌ی انجام واکنش متوکسیلاسیون ۱۹
شکل ۱-۸- روش‌های از بالا به پایین و از پایین به بالا در جهت تولید نانومواد ۲۳
شکل ۱-۹- نمونه‌ای از خودآرایی نانوماده متخلخل دی‌پپتید ۲۸
شکل ۱-۱۰- طرحی کلی از سنتز نانومواد متخلخل به روش تمپلت ۲۸
شکل ۱-۱۱- طرح شماتیک از ساختار هندسی زیر گروه‌های خانواده M41S ۳۱
شکل ۱-۱۲- طرح شماتیک از سنتز مزوپور MCM-41 سیلیکا ۳۲
شکل ۱-۱۳- الگوریتم مراحل کارهای انجام شده در این پژوهش ۳۳
شکل ۲-۱- انواع ایزوترم‌های جذب سطحی ۴۵
شکل ۳-۱- منحنی رشد باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 در محیط کشت BSM ۵۳
شکل ۳-۲- منحنی ارتباط بین وزن خشک سلولی و جذب نوری ۵۴
شکل ۳-۳- تعداد سلولهای زنده باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 در فواصل معین رشد سلولی ۵۵
شکل ۳-۴- منحنی استاندارد غلظت 2-HBP برحسب جذب نوری ۵۵
شکل ۳-۵- میزان تولید 2-HBP توسط سلول‌های در حال رشد ۵۶
شکل ۳-۶- الگوی SAXS نمونه سنتز شده MCM-41 ..... ۵۷
شکل ۳-۷- تصویر SEM از نمونه سنتز شده MCM-41 ..... ۵۸

شکل ۳-۸- تعیین اندازه تقریبی ذرات نمونه سنتز شده MCM-41 ۵۸
شکل ۳-۹- ایزوترم جذب-واجذب نیتروژن برای نمونه MCM-41 ۵۹
شکل ۳-۱۰- تصاویر TEM از نمونه سنتز شده MCM-41 ۶۰
شکل ۳-۱۱- تخمین اندازه‌ی قطر حفره‌ها و ضخامت دیواره نمونه MCM-41 با تصویربرداری TEM ۶۱
شکل ۳-۱۲- طیف FTIR مربوط به مزوپور MCM-41 سیلیکا ۶۲
شکل ۳-۱۳- طیف اسپکتروفتومتری مرئی- ماورای بنفشDBT ۶۲
شکل ۳-۱۴- منحنی ارتباط بین غلظت DBT و جذب نوری ۶۳
شکل ۳-۱۵- منحنی جذب DBT توسط نانوجاذب MCM-41 ۶۴
شکل ۳-۱۶- منحنی جذب DBT توسط مقادیر متفاوت نانوجاذب MCM-41 ۶۴
شکل ۳-۱۷- منحنی درصد جذب DBT توسط مقادیر متفاوت نانوجاذب MCM-41 ۶۵
شکل ۳-۱۸- تصویر SEM از حالت آگلومره شدن نانوجاذب MCM-41 ۶۶
شکل ۳-۱۹- تصویر SEM از تغییرات مورفولوژی سلول‌ها در اثر استفاده از مقادیر متفاوت تثبیت کننده گلوتارآلدئید ۶۷
شکل ۳-۲۰- میزان فعالیت سولفورزدایی سلول‌های پوشش یافته با مقادیر متفاوت نانوجاذب MCM-41 ۶۸
شکل ۳-۲۱- تصاویر SEM از نحوه‌ی هم‌پوشانی ذرات MCM-41 بر سطح سلول‌های سولفورزدا ۶۹
شکل ۳-۲۲- کروماتوگرام HPLC از مولکول‌های DBT و 2-HBP با غلظت ۰/۰۱ میلی مولار ۷۰
شکل ۳-۲۳- منحنی استاندارد غلظت DBT با استفاده از آنالیز HPLC ۷۰
شکل ۳-۲۴- منحنی استاندارد غلظت 2-HBP با استفاده از آنالیز HPLC ۷۱
شکل ۳-۲۵- سولفورزدایی از DBT به وسیله سلول‌های آزاد و پوشش یافته با نانوجاذب ۷۲
شکل ۳-۲۶- فعالیت ویژه سولفورزدایی سلول‌های آزاد و پوشش یافته بر حسب میزان مصرف DBT ۷۳
شکل ۳-۲۷- فعالیت ویژه سولفورزدایی سلول‌های آزاد و پوشش یافته بر حسب میزان تولید 2-HBP ۷۳
شکل ۳-۲۸- منحنی تعداد سلول‌های زنده تشکیل شده به روش تست CFU ۷۴
شکل ۳-۲۹- رشد سلول‌های باکتریایی در اطراف دیسک نفوذی حاوی ذرات MCM-41 و نمونه بلانک ۷۵

چکیده فارسی:

بررسی تاثیر نانوساختار مزوپور بر سولفورزدایی بیولوژیک از دی‌بنزوتیوفن به وسیله باکتری رودوکوکوس اریتروپولیسIGTS8

نوید احمدی نسب

سرعت اندک واکنش‌های حاوی بیوکاتالیست‌ها، عاملی محدود کننده در راهیابی سیستم‌های زیستی به صنایع مختلف می‌باشد. سالهاست پژوهشگران در تلاشند در مراحلی از فرآیند سولفورزدایی نفت و مشتقات آن سلول‌ها را جایگزین کاتالیزورهای شیمیایی نمایند. اما متاسفانه سولفورزدایی بیولوژیک متاثر از انتقال کند سوبسترا از فاز آلی به سطح سلول‌ها می‌باشد. در این پژوهش سیلیکای مزوپور MCM-41 به عنوان جاذب ترکیبات سولفوردار از مدل نفتی (۱ میلی مول DBT در محلول دودکان) به روش خودآرایی آمین‌های نوع چهارم، در یک محیط بازی با ترکیب آب-اتانول و با استفاده از ستیل تری متیل آمونیوم برماید (CTAB) به عنوان تمپلت سنتز شد. نمونه بدست آمده با استفاده از تکنیک‌های مختلف از جمله ایزوترم جذب و واجذب نیتروژن، SAXS، SEM، HRTEM و FTIR شناسایی گردید. نتایج مطالعات BET و BJH نشان داد متوسط قطر حفرات نمونه سنتز شده حدود ۳/۵۴ نانومتر و سطح ویژه در گستره ۱۱۰۶ مترمربع بر گرم می‌باشد. با مشاهده تصاویر SEM مشخص شد نمونه فوق دارای توزیع یک‌نواخت با مورفولوژی کروی در محدوده ۲۰۰-۳۰۰ نانومتر می‌باشد. هم‌چنین نتایج حاصل از تصاویر HRTEM و الگوی SAXS نشان داد ساختار حفرات با الگوی هگزاگونال مطابقت دارد. از آنالیز HPLC برای محاسبه توانایی نانوجاذب در جذب DBT از مدل نفتی استفاده شد. نتایج نشان داد نانوجاذب با میزان ۰/۰۳ گرم بر میلی لیتر قادر است بیش از ۴۲ درصد DBT را از مدل نفتی جذب کند. سپس قابلیت نانوجاذب مزوپور MCM-41 سیلیکای تثبیت شده بر سطح باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 در بهبود فرآیند سولفورزدایی بیولوژیکی ترکیب نفتی بر اساس سنجش میزان مصرف DBT و تولید 2-HBP به عنوان محصول مسیر سولفورزدایی 4S بررسی گردید. تصویربرداری توسط SEM نشان داد پوشش دهی سلول توسط نانوجاذب به نحو مطلوبی صورت گرفته است. نتایج بررسی‌های آنالیز HPLC نشان داد بیش‌ترین فعالیت ویژه سولفورزدایی مربوط به سلول‌های پوشش یافته در یک ساعت اولیه و به میزان مصرف µmol DBT $min^{-1}g\ DCW^{-1}$ ۰/۳۴ می‌باشد که در مقایسه با بیشینه فعالیت ویژه سولفورزدایی سلول‌های آزاد که در ساعت سوم دیده شد حدود ۱۹ درصد افزایش یافته است. در نهایت برای بررسی خاصیت آنتی باکتریال نانوجاذب از روش‌های تست CFU و دیسک نفوذی استفاده شد. با توجه به نتایج بدست آمده به نظر می‌رسد نانوجاذب مزوپور MCM-41 سیلیکا بر قابلیت زنده ماندن باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 و فعالیت متابولیکی آنها تاثیر منفی قابل توجهی ندارد.

کمات کلیدی: باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8، دی‌بنزوتیوفن، سولفورزدایی بیولوژیک، نانوساختار مزوپور

Abstract

Studying the effect of mesoporous nanostructure on biodesulfurization of dibenzothiophene by *Rhodococcus erythropolis* IGTS8

Navid Ahmadi Nasab

Slow rate of bicatalytic reactions is a limiting factor in industrial application of biosystems. There have been many attempts for at least partially replacement of chemical catalysts by living cells in desulfurization process of oil and its derivatives. However, slow mass transfer of substrate from oil-phase onto the surface of cells is the subject affecting biological desulfurization. In this study, spherical mesoporous silica MCM-41 was synthesized based on a self assembly method, using a quaternary ammonium template, cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) in basic water-ethanol mixture. It has been applied for adsorptive removal of sulfur compounds from fossil fuels using 1mM solution of dibenzothiophene (DBT) in dodecane as model oil. The obtained samples has been characterized using different techniques such as nitrogen adsorption–desorption analyses as well as small angle X-ray scattering (SAXS), high resolution transmission electron microscopy (HRTEM), scanning electron microscopy (SEM), and Fourier Transform Infrared Spectrometry (FTIR). The results of BET and BJH studies showed that the prepared mesoporous adsorbent has ordered porous structures with surface area of 1106 m^2/g and mean pore diameter of 3.54 nm. SEM images illustrated that the sample was uniformly distributed with spherical morphology at the range of 200-300 nm. Moreover, the results of HRTEM images and SAXS pattern showed that structure of pores was hexagonal. High performance liquid chromatography (HPLC) analysis has also been utilized to study the measure of the DBT adsorption from dodecane solution by means of the synthesized silica. Results showed that 0.03 g/mL of mesoporous silica has capability to adsorb more than 42% of DBT from dodecane solution. Afterward, capacity of the assembling silica MCM-41 mesopore nanosorbent on the surface of *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 regarding improving biodesulfurization process on model oil was examined based on DBT consumption and 2-HBP production of the 4S pathway. SEM imaging showed that covering cells with nanoabsorbant was a success. Moreover, HPLC analysis results confirmed that maximum of specific desulfurization activity was obtainedfor covered cells at early hours with 0.34 µmol DBT $min^{-1}g\ DCW^{-1}$, which means about 19% increase in specific activity of maximum desulfurization of free cells at 3^{rd} hour. Finally, colony form unit (CFU) test and disk diffusion method were used to survey anti-bacterial property of nanosorbent. Taking into consideration the results, apparently, the silica MCM-41 mesopore has no considerable negative effect on survival capability of *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 and its metabolic activity.

Key word: Biodesulfurization, Dibenzothiophene, Mesoporous nanostructure, *Rhodococcus erythropolis* IGTS8

مقدمه

با افزایش بهره‌برداری از منابع نفتی به تدریج از کیفیت آنها کاسته می‌شود و با گذشت زمان تجمع ترکیبات آلاینده از جمله سولفور، نیتروژن و فلزات سنگین سبب افزایش ویسکوزیته نفت باقی مانده می‌گردد. این امر مشخصه‌های احتراقی سوخت را نامطلوب می‌گرداند. سولفور به عنوان سومین عنصر فراوان پس از کربن و هیدروژن در نفت، یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های نفتی شمرده می‌شود که به میزان ۰/۰۵ تا ۶ درصد در نفت خام و بالای ۱۴ درصد در نفت سنگین وجود دارد [Bahuguna, et al., 2011; Davoodi-Dehaghani, et al., 2010; Kayser, et al., 2002; Speight, 2000]. سولفور سبب بروز مشکلات زیست محیطی، خوردگی فلزات و مسمومیت کاتالیست‌های موجود در فرآیند پالایش می‌گردد. اتحادیه اروپا، آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا[1] (EPA) و برخی از دولت‌ها قوانین سخت گیرانه‌ای به منظور اجتناب از این مضرات وضع کرده‌اند که بر اساس آن میزان حد مجاز سولفور و ترکیبات آروماتیک برای سوخت دیزل به ترتیب در حدود ppm ۱۰ و ۱۵ درصد می‌باشد [Alcon, et al., 2005; Calzada, et al., 2011; Caro, et al., 2007a; Kilbane Ii, 2006; Nehb and Vydra, 2000]. برای رسیدن به این هدف از فناوری‌های مختلفی استفاده می‌شود، که در میان آنها فرآیندهای ترموشیمیایی مانند سولفورزدایی هیدروژنی[2] (HDS) متداول‌ترین است. اما استفاده از این فناوری، به تنهایی چندان کارآمد نمی‌باشد چرا که بیش از ۷۰ درصد از ترکیبات آروماتیک حاوی سولفور مانند ۴- و ۶،۴- آلکیل دی‌بنزوتیوفن[3] و ترکیبات هتروسیکلیک سولفوردار پلی آروماتیک نسبت به حذف کامل سولفور از خود مقاومت نشان می‌دهند. همچنین این روش نه تنها تحت شرایط پرهزینه دما و فشار بالا صورت می‌پذیرد بلکه خصوصیات سوخت را نیز تغییر می‌دهد. بنابراین، در حال حاضر مطالعه و تحقیق جهت توسعه روش‌های نوین سولفورزدایی تحت شرایط ملایم‌تر و با تولید کم‌تر گازهای گلخانه‌ای در حال افزایش است [Bahuguna, et al., 2011; Caro, et al., 2008; Guobin, et al., 2006; Mohebali, et al., 2007; Soleimani, et al., 2007; Tanaka, et al., 2002; Yang and Marison, 2005]. سولفورزدایی بیولوژیک[4] (BDS) فناوری جدیدی با رویکرد زیستی می‌باشد که در آن برای ارتقا کیفیت سوخت، از میکروارگانیسم با قابلیت حذف انتخابی سولفور از ترکیبات تیوفنی استفاده می‌شود [Marcelis, 2002; Nuhu, 2012; Soleimani, et al., 2007]. در این روش پیوند کربن-سولفور در ترکیباتی مانند دی‌بنزوتیوفن[5] (DBT) مورد حمله قرار گرفته و سلول طی یک مسیر متابولیکی چهار مرحله‌ای پیوسته (4S) بدون آسیب رساندن به ارزش حرارتی سوخت محصول نهایی ۲- هیدروکسی بی‌فنیل[6] (2-HBP) و سولفات را تولید می‌کند [Borgne and Quintero, 2003; Holland, et al., 2003; Maghsoudi, et al., 2000; Monticello, 2000]. با این حال سرعت اندک واکنش‌های حاوی بیوکاتالیست‌ها عاملی محدود کننده در راهیابی سیستم‌های

[1] Environmental Protection Agency
[2] Hydrodesulfurization
[3] 4- and 4,6-alkyl Dibenzothiophene
[4] Biocatalytic desulfurization
[5] Dibenzothiophene
[6] 2-Hydroxybiphenyl

زیستی به صنایع مختلف می‌باشد و سولفورزدایی بیولوژیک نیز متاثر از انتقال کند سوبسترا از فاز آلی به سطح سلول‌ها می باشد. یکی از روش‌های موثر در افزایش میزان فعالیت سولفورزدایی بیوکاتالیست‌ها افزایش سرعت انتقال جرم و کمک به انتقال سوبسترا (DBT) از فاز آلی به فاز آبی و سپس به سطح سلول‌ها می‌باشد[Ansari, et al., 2009; Guobin, et al., 2005; Shan, et al., 2005a; Zhang, et al., 2008; Zhang, et al., 2011]. بدین منظور می‌توان برای افزایش دسترسی بیوکاتالیست‌ها به سوبسترای آلی از سورفکتانت‌ها و یا جاذب‌هایی با قابلیت جذب حلقه‌های آروماتیک هتروسیکلیک سولفوردار مانند DBT استفاده کرد [Li, et al., 2009a; Zhang, et al., 2007]. در این میان ویژگی‌های سودمند نانوجاذب‌ها از جمله پایداری بالا، امکان کنترل شکل و اندازه حفره‌ها و هم‌چنین دارا بودن سطح ویژه‌ی بالا سبب شده است نسبت به سورفکتانت‌ها بیش‌تر مورد توجه قرار گیرند. [Dinamarca, et al., 2010]. یکی از جاذب‌های مناسب برای این روش مزوپور سیلیکا می-باشد. تعداد حفره‌ها و تخلخل منظم در محدوده‌ی ۵۰-۲ نانومتر و دارا بودن سطح ویژه‌ی زیاد، مواد مزوپور سیلیکا را به میزبانی ایده‌آل برای پذیرش بسیاری از مولکول‌ها با شکل‌ها، اندازه‌ها و ویژگی‌های مختلف تبدیل کرده است. در سال‌های اخیر محققان در زمینه‌های مختلف مانند جذب، تصفیه، رهایش دارو و فرآیندهای نیازمند کاتالیزور، از این مواد بهره گرفته‌اند. [Chen, et al., 2012; Dai, et al., 1999; Meléndez-Ortiz, et al., 2012; Qu and Tie, 2009].

در این پژوهش نانوکامپوزیت معدنی مزوپور MCM-41 سیلیکا به عنوان یک نانوجاذب و کاتالیست سازگار با محیط زیست به روش خودآرایی آمین‌های نوع چهارم سنتز شد و با استفاده از تکنیک‌های مختلف مورد شناسایی قرار گرفت. سپس قابلیت نمونه سنتز شده در جذب ترکیب آلی سولفوردار دی‌بنزوتیوفن (DBT) از مدل نفتی اندازه گیری شد. در ادامه MCM-41 از طریق جذب فیزیکی بر روی باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGST8 که رایج‌ترین میکروارگانیسم در مطالعات سولفورزدایی بیولوژیک می‌باشد، پوشش داده شد و میزان فعالیت سولفورزدایی باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 آزاد و پوشش‌دار شده با نانوجاذب و نیز قابلیت زنده ماندن سلول‌های پوشش‌دار شده با نانوجاذب MCM-41 به دو روش تعداد واحدهای تشکیل دهنده‌ی کلونی و دیست نفوذی مورد بررسی قرار گرفت.

کلیات و بررسی منابع