

جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم‌های گوگردخوار از لجن تصفیه‌خانه فاضلاب پالایشگاه نفت تهران

رضا شکوهی^۱، محمد یوسف علیخانی^۲، زهرا کاشی تراش اصفهانی^۳

۱- دانشیار گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۲- استاد گروه میکروشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، ایران
۳- کاندیدای دکترای تخصصی مهندسی محیط‌زیست، دانشکده مهندسی عمران، آب و محیط زیست، دانشگاه شهید بهشتی، تهران و مدرس دانشگاه جامع علمی کاربردی
(نویسنده مسئول) ۷۷۱۱۷۷۴۲ (۰۲۱) Z_kashitarash@sbu.ac.ir

(دریافت ۹۳/۷/۲ پذیرش ۹۴/۲/۲۸)

چکیده

شناسایی میکروارگانیسم‌های گوگردخوار کاملاً مهمی در گوگردزدایی میکروبی ترکیبات آلی خصوصاً نفت است. گوگردزدایی میکروبی از نظر اکولوژیکی بی‌خطر و از نظر اقتصادی قابل توجیه است. لذا دستیابی به اطلاعاتی در مورد شناسایی، جداسازی و آدپتاسیون میکروارگانیسم‌های مورد نظر از جنبه‌های مختلف عملیاتی، اقتصادی و زیست محیطی از اهمیت زیادی برخوردار است. بدیهی است که نوع میکروارگانیسم‌های موجود با توجه به شرایط محیطی محل و خصوصیات نفت تغییر می‌کند و پیدا کردن این گونه‌ها در شرایط و وضعیت محل می‌تواند میزان کارایی میکروارگانیسم‌ها را افزایش دهد. هدف از انجام این پژوهش شناسایی و جداسازی باکتری‌های تجزیه‌کننده گوگرد از لجن بیولوژیکی تصفیه‌خانه فاضلاب پالایشگاه نفت تهران است. در این پژوهش کاربردی-توصیفی به مدت ۱۲ ماه در هر ماه ۱۰ نمونه از نقاط مختلف حوض ته‌نشینی در ارتفاعات و مساحت‌های مختلف برداشت شد و پس از به‌هم‌زدن و یکنواخت کردن به آزمایشگاه منتقل شد. سپس جداسازی باکتری‌های گوگردخوار از لجن تصفیه‌خانه فاضلاب پالایشگاه نفت تهران انجام شد. به‌منظور جداسازی میکروارگانیسم‌ها ابتدا نمونه‌ها در محیط‌های کشت اختصاصی و افتراقی کشت داده شد و پس از تشکیل و تکثیر کلنی‌ها با انجام آزمایش‌های متعدد، میکروارگانیسم‌ها شناسایی شدند. باکتری‌هایی که در این پژوهش شناسایی شدند، عبارت‌اند از: *برواندایوموناس وسیکالاریس*، *آسینتوباکتر اس بی بی*، *کلوستریدیوم اس بی بی*، *آکالیجنس اس بی بی*، *اشیرشیاکلی*، *باسیلوس اس بی بی*، *کلبسیلا اس بی بی*، *اکروموباکتر اس بی بی*، *دی سیلفو ویبریو اس بی بی*. همچنین سایر جنس‌هایی از خانواده بزرگ *سودوموناس* ایزوله شدند. با توجه به محیط کشت اختصاصی و شرایط اختصاصی به کار رفته در این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که تمامی باکتری‌های شناسایی شده، از گوگرد به‌عنوان تنها منبع انرژی استفاده کرده‌اند. دستاورد مهم دیگر این پژوهش در مورد توانایی *برواندایوموناس وسیکالاریس* به‌منظور تجزیه گوگرد است. این باکتری برای اولین بار به‌عنوان باکتری تجزیه‌کننده گوگرد در این پژوهش گزارش شده است و تاکنون گزارشی در این مورد ارائه نشده است.

واژه‌های کلیدی: گوگرد، پالایشگاه تهران، باکتری‌های گوگردخوار

۱- مقدمه

عامل خوردگی فلزات و سنگ‌های ساختمانی نیز هستند. حذف گازهای آلوده‌کننده از محصولات احتراق، بسیار پرهزینه است [۳ و ۴]. سخت‌تر شدن استانداردهای جهانی برای محصولات گوگردی نیز ایجاب می‌نماید که پالایشگران، محصولات تولیدی را با میزان گوگرد کمتر تولید نمایند [۳].

در حال حاضر رایج‌ترین شیوه برای جداسازی ترکیبات سولفور از نفت خام، ایجاد کنش شیمیایی این ماده با هیدروژن در دمای ۴۵۵ درجه سلسیوس و با فشار ۲۰۴ اتمسفر است که انرژی زیادی مصرف می‌کند و پرهزینه است [۵]. این فرایند نتیجه دلخواه تولیدکنندگان نفت نیست، زیرا گوگرد به دو صورت کلی معدنی و آلی در سوخت‌های فسیلی وجود دارد. گوگرد معدنی به راحتی از طریق تیمارهای فیزیکی یا شیمیایی و با هزینه کم حذف می‌شود اما

ترکیبات گوگردی از مهم‌ترین مواد موجود در سوخت‌های فسیلی از جمله نفت‌اند که از نظر اقتصادی، صنعتی و محیطی به محیط‌زیست آسیب می‌رسانند [۱ و ۲]. وجود گوگرد در نفت و محصولات نفتی، مرغوبیت نفت را کاهش می‌دهد و در بیشتر موارد سبب خوردگی و همچنین آلودگی محیط زیست و تولید آلاینده مهم SO_2 می‌شود [۱ و ۳]. نفت خام سنگین بین ۴ تا ۸ درصد گوگرد دارد. نفت خام ایران حدود ۱/۵ درصد گوگرد دارد. در محصولات احتراق سوخت‌های فسیلی حاوی گوگرد، علاوه بر گازهای اکسید گوگرد و اکسید ازت، مقداری غبار نیز وجود دارد که مجموعاً از عوامل آلوده‌کننده محیط زیست محسوب می‌شوند. باران‌های اسیدی ناشی از رهاسازی اکسید گوگرد در فضا، حیات بسیاری از گیاهان و جانداران و به‌ویژه آبزیان را به خطر می‌اندازد. همچنین این باران‌ها

مرحله عمل گوگردزدایی با هیدروژن در روش سنتی است [۹ و ۱۰].

هدف از انجام این پژوهش شناسایی و جداسازی باکتری‌های تجزیه‌کننده گوگرد از لجن بیولوژیکی تصفیه‌خانه فاضلاب پالایشگاه تهران بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- نمونه برداری و نوع پژوهش

در این پژوهش کاربردی-توصیفی به مدت ۱۲ ماه در هر ماه ۱۰ نمونه از نقاط مختلف حوض ته‌نشینی در ارتفاعات و مساحت‌های مختلف برداشته شد و پس از بهم زدن و یکنواخت کردن به آزمایشگاه منتقل شد. سپس جداسازی باکتری‌های گوگردخوار از لجن تصفیه‌خانه فاضلاب پالایشگاه نفت تهران انجام شد و نمونه‌های فاضلاب در بطری‌هایی از جنس پلاستیکی جمع‌آوری و مطابق با روش‌های استاندارد به آزمایشگاه منتقل و کشت داده شد [۱۲].

۲-۲- روش شناسایی میکروارگانسیم‌ها

در این پژوهش برای جداسازی میکروارگانسیم‌های گوگردخوار از محیط‌های پایه اختصاصی Postgate's Medium B و K-9 medium استفاده شد. منبع کربن اضافه شده به محیط پایه، گلیسرول و اتانول با غلظت ۲۰ میلی‌مولار بود و منبع گوگرد اضافه شده به محیط پایه، غالباً دی‌بنزوتیوفن^۳ بود و همینطور از دی‌بنزوسولفون^۴، دی‌متیل سولفوکسید^۵ و سولفات منیزیم^۶ نیز استفاده شد. مواد شیمیایی با حداکثر خلوص استفاده شدند. تمام ظروف شیشه‌ای مورد استفاده با اسیدکلریدریک ۴ نرمال به‌دقت شستشو داده شدند و با آب دوبار تقطیر آبکشی شدند و در فور خشک شدند. برای استریل کردن محیط، منابع گوگرد و کربن جداگانه استریل شد و در شرایط استریل نیز به محیط اضافه شدند. برای تعیین هویت باکتری‌های جدا شده، ابتدا بررسی با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم، رنگ‌آمیزی اسید فست و رنگ‌آمیزی اختصاصی اسپور انجام گرفت و اسلایدها در بزرگنمایی ۱۰۰۰ زیر میکروسکوپ مشاهده شدند. سپس از آزمون‌های بیوشیمیایی رایج میکروب‌شناسی مانند آزمون کاتالاز، آزمون حرکت، آزمایش هوازی-بی‌هوازی بودن باکتری‌ها، آزمون تجزیه‌کازین، آزمون اوره‌آز و نوارهای تشخیصی API® ID strip range

گوگردی که به طریق کووالان به ترکیبات آلی این سوخت‌ها اتصال دارد، به راحتی زدوده نمی‌شود [۵ و ۶].

روش دیگر، گوگردزدایی هیدروژنی^۱ است. در HDS، سوخت فسیلی با گاز هیدروژن در دما و فشار بالا و در حضور یک کاتالیست شیمیایی شامل ترکیبات فلزی تماس داده می‌شود. گوگردزدایی آلی با تبدیل احیایی ترکیبات گوگردی به سولفید هیدروژن صورت می‌گیرد که البته سولفید هیدروژن محصولی گازی شکل و خورنده است و به طریق فرار از ماده^۲ خارج می‌شود. این روش به دلیل ماهیت بی‌ثبات و فرار بعضی ترکیبات موجود در نفت خام، نمی‌تواند به‌کار گرفته شود [۷ و ۸].

هزینه‌بری و مشکلات روش‌های موجود، پژوهشگران را به استفاده از میکروارگانسیم‌ها برای ارتقای روش و یافتن امکانات بهتر و مناسب‌تر و کم‌هزینه‌تر برای جایگزینی روش‌های موجود در صنایع گوگرد پالایشگاه‌ها ترغیب نموده است. با توجه به طبیعی بودن روند سیستم‌های بیولوژیک، این روش‌ها از نظر محیط زیستی در مقایسه با سایر روش‌ها ایمن‌تر محسوب می‌شوند [۹، ۱۰ و ۱۱].

در روش بیولوژیکی، کیفیت یا ارزش حرارتی نفت و ترکیبات مفید آن کم می‌شود و نفت نیز توسط باکتری‌ها خورده نمی‌شود، بلکه تنها گوگرد نفت از سوی باکتری‌ها جذب یا خورده می‌شود [۹ و ۱۰].

منظور از گوگردزدایی بیولوژیکی روشی است که باکتری‌ها و آنزیم‌های آنها را در جهت واکنش‌های معین و مشخصی به‌منظور آزادسازی گوگرد و باقی‌گذارن هیدروکربن‌ها سوق دهد. این روش همانند فناوری متداولی است که در آن کاتالیزورهای معدنی برای تسهیل واکنش گاز هیدروژن با اجزای نفت خام برای تولید سولفید هیدروژن و نفت گوگردزدایی شده به‌کار می‌روند. با این که سرعت روش شیمیایی نسبت به روش بیولوژیکی بیشتر است اما در فرایند شیمیایی به دمای ۱۴۰ درجه سلسیوس نیاز است که تأمین آن مستلزم صرف هزینه و انرژی بالایی است. این در حالی است که گوگردزدایی بیولوژیک در دمای اتاق انجام می‌شود [۹، ۱۰ و ۱۱]. بنابراین گوگردزدایی از طریق بیولوژیک، هزینه سرمایه‌گذاری و مخارج کمتری دارد و انجام عملیات آن در دما و فشار پایین شرایط عملیاتی ملایم امکان‌پذیر است [۹ و ۱۰]. همچنین روش گوگردزدایی بیولوژیک قادر به جداسازی گوگردهای هتروسیکل (حلقه‌های با جنس‌های متفاوت) با کارایی زیاد است که دشوارترین

³ DBT

⁴ DBTO₂

⁵ DMSO

⁶ MgSO₄.7H₂O

¹ Hydro-Desulfurization (HDS)

² Stripping

آکروموباکتراس پی پی پی^{۱۲}، دی سیلفوویبریواس پی پی پی^{۱۳} و تیوباسیلوس اس پی پی پی^{۱۴}.

۴- بحث

با توجه به محیط کشت اختصاصی و شرایط اختصاصی به‌کار رفته در این پژوهش مشخص شد که تمامی باکتری‌های شناسایی شده، از گوگرد به‌عنوان تنها منبع انرژی استفاده کرده‌اند. از میان باکتری‌های مشاهده شده، باکتری/اشریشیاکلی یکی از انواع/تتروباکتریاسه‌ها بوده و از گوگرد موجود در ترکیبات حاوی گوگرد برای سنتز پروتئین استفاده کرده است [۱۳]. بابو و همکاران نیز در پژوهش خود در سال ۲۰۱۴ موفق به جداسازی گونه‌هایی از خانواده/تتروباکتریاسه شدند و بیان داشتند که این گونه‌ها توانایی پاکسازی بیولوژیک گوگرد یا سولفورزدایی بیولوژیک را دارند [۱۴].

توانایی گونه کلبسیلا نیز برای گوگردزدایی ترکیبات نفتی قبلاً توسط پژوهشگران متعددی تأیید شده است. احمد لاله و همکاران در پژوهش خود موفق به گوگردزدایی از دی بنزوتیوفن توسط کلبسیلا اکسی توکا^{۱۵} جداسازی شده از خاک‌های آلوده به نفت جنوب اهواز شد [۱۵].

در این پژوهش تیوباسیلوس تیواکسیدانس از گروه تیوباسیلوس‌های هوازی گرم منفی بدون اسپور نیز یافت شد. تیوباسیلوس‌ها و باکتری‌های مشابه، سولفید هیدروژن و سولفید آهن یا گوگرد عنصری را به اسیدسولفوریک اکسید می‌کنند. وقتی این اسید یونیزه می‌شود، باعث پایین آمدن pH محیط تا ۱ یا ۲ می‌شود [۱۶].

از حدود ۵۰ سال پیش، از میکروارگانیسم‌ها به‌ویژه تیوباسیلوس برای زدودن مواد معدنی گوگردی و ساده در سوخت‌های فسیلی خصوصاً گوگرد استفاده شده است. همچنین گزارش شده است که برای گوگردزدایی از زغال از باکتری تیوباسیلوس فرواکسیدانس استفاده شده است. این باکتری گرم منفی در pH به‌شدت اسیدی بر روی سوبستراهای آهن یا گوگرد رشد می‌کند و نیازمند چندین ماده معدنی و اکسیژن در محیط کشت خود است. تیوباسیلوس به گوگرد معدنی پیریت و مارکاسیت حمله کرده و آهن فریک و سولفات تولید می‌نماید. تیوباسیلوس علاوه بر گوگردزدایی زغال‌سنگ، توانایی اکسیداسیون سولفید هیدروژن موجود در نفت و گاز طبیعی را نیز دارد. باکتری تیوباسیلوس تنها

باکتری‌ها استفاده شد. مواد مورد نیاز برای جداسازی اولیه و تعیین هویت باکتری‌های ایزوله شده از شرکت‌های مرک^۱، فلوکا^۲ و سیگما^۳ تهیه شد.

در این پژوهش که به مدت ۱۷ ماه انجام شد، به مدت ۱۲ ماه در هر ماه ۱۰ نمونه از نقاط مختلف حوض ته‌نشینی در ارتفاعات و مساحت‌های مختلف برداشته شد و پس از بهم‌زدن و یکنواخت کردن به آزمایشگاه منتقل شد.

برای نگهداری طولانی مدت سویه جداسازی از محیط شیر بدون چربی دارای ۲۰ درصد گلیسرول خالص و دمای ۷۰- درجه سلسیوس فریزر استفاده شد. برای تنظیم pH کلیه محیط‌ها از اسید کلریدریک و سود نرمال استفاده شد.

۳- نتایج

۳-۱- مطالعات میکروسکوپی اسمیر مستقیم نمونه

در تهیه اسمیر مستقیم از نمونه‌ها و بررسی میکروسکوپی آنها و همچنین رنگ‌آمیزی گرم^۴ مشخص شد که اکثر باکتری‌ها انواع باسیل‌ها و کوکو باسیل‌های گرم منفی خمیده و رشته‌های بلند گرم منفی می‌باشند. همچنین تعدادی باسیل‌های گرم مثبت و قارچ دیده شد. سپس نمونه‌ها به‌صورت هوازی و بی‌هوازی کشت داده شدند و با توجه به ضرورت شناسایی نوع میکروارگانیسم‌ها، اقدام به جداسازی آنها در محیط کشت و شناسایی توسط آزمایش‌های افتراقی شد.

۳-۲- نتایج حاصل از جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم‌ها

پس از جداسازی میکروارگانیسم‌ها در محیط‌های مغذی اقدام به شناسایی باکتری‌های جدا شده با استفاده از آزمون‌های در دسترس شد.

باکتری‌هایی که در این پژوهش شناسایی شدند، عبارت‌اند از:

برواندیوموناس وسیکالاریس^۵، آسینتوباکتراس پی پی پی^۶، کلوستریدیوم اس پی پی^۷، آکالیجنس اس پی پی^۸، اشریشیاکلی^۹، اشریشیاکلی^۹، باسیلوس اس پی پی^{۱۰}، کلبسیلا اس پی پی^{۱۱}،

1 Merck

2 Fluka

3 Sigma

4 Gram

5 *Brevundimonas vesicularis*

6 *Acinetobacter spp*

7 *Clostridium spp*

8 *Alcaligenes spp*

9 *E. coli*

10 *Bacillus spp*

11 *Klebsiella spp*

12 *Acromobacter spp*

13 *Desulfovibrio spp*

14 *Thiobacillus spp*

15 *Klebsiella Oxytoca*

برتری اصلی فرایند بی‌هوازی نسبت به هوازی عدم اکسیداسیون هیدروکربن‌ها به ترکیبات نامطلوب از قبیل محصولات رنگی و مواد چسبناک ناچیز است [۱۹]. باکتری احیاکننده سولفات دی‌سولفوویبریو دسولفوریکان M6 برای گوگردزدایی ترکیبات گوگرددار مدل و نفت خام مناطق مختلف استفاده شده است [۲۰، ۲۱ و ۲۲]. با این روش می‌توان بیشتر گوگرد را از برش‌های سنگین تر نفت خام و برش‌های سبک تر حذف نمود. بعضی ترکیبات گوگرددار به‌طور کامل حذف می‌شوند، در صورتی که روی بقیه ترکیبات هیچ اثری ندارد، یعنی ترکیبات گوگرددار آروماتیک نسبت به ترکیبات گوگرددار آلیفاتیک بیشتر توسط باکتری تخریب می‌شوند. در طبقه‌بندی ترکیبات تیوفنیک، نشان داده شده است که باکتری دسولفوویبریو دسولفوریکان M6، ۹۶ درصد بنزوتیوفن و ۴۲ درصد دی بنزوتیوفن را تبدیل و حذف می‌کند [۲۰].

اسینتوباکتر نیز از جمله میکروارگانیسم‌های گوگردزدا از دی بنزوتیوفن است. این باکتری از دی بنزوتیوفن نه تنها به‌عنوان منبع گوگرد بلکه به‌عنوان منبع کربن و انرژی هم استفاده می‌کند و به‌دلیل از دست رفتن کربن و کاهش ارزش سوختی، از این‌گونه بیوکاتالیست‌ها در فرایند گوگردزدایی از سوخت‌های فسیلی استفاده نمی‌شود [۲۳].

در مورد توانایی برواندیوموناس وسیکالاریس در تجزیه گوگرد تاکنون گزارشی ارائه نشده است. ولی نتایج پژوهش‌هایی در این زمینه نشان داده که این باکتری قادر است سم علف‌کشی بنام ۴- (۲ و ۴- دیکلروفنوکسی) بوتریک اسید و ۴- (۴- کلرو- متیل فنوکسی) بوتریک اسید را تجزیه نماید [۹، ۱۰، ۱۱]. همچنین نتایج پژوهش‌های شکوهی و همکاران نشان داد که این باکتری توانایی تجزیه فتل را نیز داراست. این باکتری باسیل گرم منفی، هوازی و غیر تخمیری است که در محیط یافت می‌شود و به‌ندرت از نمونه‌های انسانی جدا می‌شود. برواندیوموناس وسیکالاریس قبلاً جزء گروه IV جنس سودوموناس طبقه‌بندی می‌شد.

۵- نتیجه‌گیری

شناسایی میکروارگانیسم‌های گوگردخوار گام مهمی در گوگردزدایی میکربی ترکیبات آلی خصوصاً نفت محسوب می‌شود. گوگردزدایی میکربی از نظر اکولوژیک بی‌خطر و از نظر اقتصادی قابل توجیه است. لذا دستیابی به اطلاعاتی در خصوص شناسایی، جداسازی و آدپتاسیون میکروارگانیسم‌های مورد نظر از جنبه‌های مختلف عملیاتی، اقتصادی و زیست‌محیطی از اهمیت زیادی برخوردار

توانایی گوگردزدایی مواد معدنی گوگردی مثل پیریت را دارد و مواد آلی گوگردی دست نخورده باقی می‌مانند، همچنین سرعت عمل آن نیز پایین است و ۸ تا ۱۲ روز زمان برای زدودن ۹۰ درصد گوگرد پیریت لازم است [۹، ۱۰ و ۱۱]. بابو و همکاران در مطالعه خود در سال ۲۰۱۴ موفق به جداسازی گونه‌های باسیلوس شدند و بیان داشتند که گونه‌های باسیلوس توانایی بالایی در پاکسازی محیط‌های آلوده به سولفور دارند [۱۴]. همانطور که بیان شد جنس‌های مختلفی از خانواده بزرگ سودوموناس نیز در این پژوهش ایزوله شد.

دو نوع از باکتری‌های شناسایی شده در پژوهش حاضر به‌نام‌های سودوموناس آرچینوسا و آکالیجنس سودوموناس جزء گونه‌های سودوموناس هستند. توانایی سودوموناس‌ها در مورد گوگردزدایی توسط پژوهشگران مختلف گزارش شده است. سانچز و همکاران در طرحی به بررسی امکان کاهش سطح گوگرد توسط گونه‌های سودوموناس پرداختند و اعلام کردند که پس از هفت روز کشت، متوسط حذف گوگرد برای گونه‌های ATCC 39327 و N° 06 به ترتیب ۶۴ و ۵۳ درصد بوده است [۹، ۱۰ و ۱۱]. سودوموناس‌ها جزء باکتری‌های میله‌ای شکل گرم منفی هستند که هرگز به‌صورت تخمیری عمل نمی‌کنند. بعضی از باکتری‌های مربوط به این گونه قادرند بیش از ۱۰۰ نوع ماده آلی مختلف را به‌عنوان منبع کربن مصرف نمایند. توانایی زیاد سودوموناس‌ها در تجزیه مواد آلی صرفاً به‌دلیل توانایی آنها در تولید آنزیم‌های کاتابولیکی نیست، بلکه به قابلیت‌های آنها در تنظیم مسیرهای متابولیکی هم بستگی دارد [۹، ۱۰ و ۱۱].

راج و همکاران در سال ۲۰۱۲ موفق به جداسازی گونه‌هایی از انتروباکتریاسه‌ها، سودوموناس‌ها و باسیلوس‌ها از تصفیه‌خانه هند شدند و از آنها در فرایندهای گوگردزدایی بیولوژیک استفاده نمودند [۱۷].

همچنین پژوهش نشان داده است که در محدوده دمایی ۳۰ تا ۵۰ درجه سلسیوس، میکروارگانیسم آکالیجنس زیلوکسی دانس^۱ که در پژوهش نیز جداسازی شد، خیلی مؤثر و به‌صورت انتخابی برای گوگردزدایی بیولوژیک به روش هوازی عمل می‌کند. اعضای طبقه میکروارگانیسم آکالیجنس پیوندهای C-S-C در ترکیبات پیچیده آلی گوگرددار را می‌شکنند تا ترکیبات گوگرددار معدنی تولید نمایند [۱۸].

دی‌سولفوویبریو که در این پژوهش نیز مورد شناسایی قرار گرفت، توانایی گوگردزدایی بیولوژیک به روش بی‌هوازی را دارد.

¹ *Alcaligenes xylosoxidans*

پی، باسیلوس اس پی پی، اشریشیاکلی، آکالیجنس اس پی پی. همچنین سایر جنس‌هایی از خانواده بزرگ سودومناسه ایزوله شدند. دستاورد دیگر و بسیار مهم این پژوهش در خصوص توانایی برواندیوموناس وسیکالاریس برای تجزیه گوگرد بود. در این مطالعه برای اولین بار در ایران و دنیا به توانایی برواندیوموناس وسیکالاریس برای تجزیه گوگرد پی برده شد.

۵- قدردانی

از سرکار خانم مریم حیدربرقی کارشناس محترم آزمایشگاه میکرب شناسی دانشگاه علوم پزشکی همدان که در انجام این پژوهش کمال همکاری و مشارکت را داشتند، صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

است. در حال حاضر، گوگردزدایی نفت خام به روش¹ BDS به چند دلیل به صورت تجاری به کار گرفته نشده است؛ این دلایل به طور عمده، مربوط به مواردی چون مسئله تدارکات و بهداشت، حمل و نقل، ذخیره‌سازی و استفاده از میکروارگانیسم‌ها در زمینه تولید یا در محیط پالایشگاه است. دستیابی راحت و سریع به کاراترین میکروارگانیسم‌های گوگردخوار در داخل خود پالایشگاه برای حذف گوگرد از سوخت یکی از دستاوردهای مهم این مطالعه بوده است. باکتری‌هایی که در این تحقیق شناسایی شدند عبارت بودند از: آسیتتو باکتراس پی پی، برواندیوموناس وسیکالاریس، کلستریدیوم اس پی پی، آکروموباکتراس پی پی، کلبسیلا اس پی پی

¹ Biodesulfurization (BDS)

۶- مراجع

1. Pawelec, B., Navarro, R., Campos-Martin, J., and Fierro, J. (2011). "Towards near zero-sulfur liquid fuels: A perspective review." *Catal. Sci. Technol.*, 1, 23-42.
2. Seeberger, A., and Jess, A. (2010). "Desulfurization of diesel oil by selective oxidation and extraction of sulphur compounds by ionic liquids: A contribution to a competitive process design." *Green Chem.*, 12, 602-608.
3. Nevers, N.D. (2000). *Air pollution control engineering*, McGraw-Hill, N.Y.
4. Public Health Service. (1996). *The effects of air pollution, Division of Air Pollution*, Washington, D.C.
5. Anisimov, A., and Tarakanova, A. (2009). "Oxidative desulfurization of hydrocarbon raw materials." *Russ. J. Gen. Chem.*, 79, 1264-1273.
6. Ismagilov, Z., Yashnik, S., Kerzhentsev, M., Parmon, V., Bourane, A., Al-Shahrani, F., et al. (2011). "Oxidative desulfurization of hydrocarbon fuels." *Catal. Rev. Sci. Eng.*, 35, 199-255.
7. Ho, T. (2004). "Deep HDS of diesel fuel: Chemistry and catalysis." *Catal. Today*, 98, 3-18.
8. Adshiri, T., Shibata, R., Sato, T., Watanabe, M., and Arai, K. (1998). "Catalytic hydrodesulphurization of dibenzothiophene through partial oxidation and a water-gas shift reaction in supercritical water." *Ind. Eng. Chem. Res.*, 37, 2634-2638.
9. Mehran, S., and Amarjeet, B. (2007). "Biodesulfurization of refractory organic sulphur compounds in fossil fuels." *Biotechnol. Adv.*, 25, 570-596.
10. Agarwal, P., and Sharma, D. (2010). "Comparative studies on the biodesulfurization of crude oil with other desulfurization techniques and deep desulfurization through integrated processes." *Energy Fuels*, 24, 518-524.
11. Kirkwood, K., Ebert, S., Foght, J., and Fedorak, P. (2005). "Bacterial biodegradation of aliphatic sulfides under aerobic carbon- or sulfur-limited growth conditions." *Appl Microbiol.*, 99, 1444-1454.
12. AWWA. (2012). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 22th Ed., USA.
13. Seperhnia, N., Mahboubi, A.A., Mosadeghi, M.R., Khodakarmian, G., and Sinejani, A.S. (2012). "Effect of calcuim caronate and calcuim sufate on *E.Coli* survial in fine send mixtures." *J. of Environmental Studey*, 38 (2), 117-126. (In Persian)

14. Babu, G.P., Subramanyam, P., Sreenivasulu, B., and Paramageetham, C. (2014). "Isolation and identification of sulfate reducing bacterial strains indigenous to sulphur rich barite mines." *Int. J. Curr. Microbiol App Sci.*, 3(7), 788-793.
15. Laleh, A., Amiri, S., Ebrahimipour, G., and Fakhary, J. (2012). "Desulfurization of dibenzothiophene by *klebsiella oxytoca* isolated from oil-contaminated soil in southern Ahva." *Environmental Sciences*, 9 (3), 27-40. (In Persian).
16. Maria, C., Coaba, C., and Ver, K. (1991). *Microbial examination of water and wastewater*, Boca Raton, London.
17. Rath, K., Mishra, B., and Vuppu, S. (2012). "Biodegradability of organo-sulphur compound of a newly isolated microbe *Bacillus sp.*" *Applied Science Research*, 4(1), 465-471.
18. Ranson, I., and Rivas, C. (2002). "Inventors; Biodesulfurization of hydrocarbons." Google patents Assignee.
19. McFarland, B. (1999). "Biodesulfurization." *Curr. Opin. Microbiol.*, 2, 257-264.
20. Kim, H., Kim, T., and Kim, B. (1990). "Degradation of organic compounds and the reduction of dibenzothiophene to biphenyl and hydrogen sulphide by desulfovibrio desulfuricans M6." *Biotechnol. Lett.*, 12, 761-764.
21. Kim, B., Kim, H., and Kim, T. (1995). "Selectivity of desulfurization activity of desulfovibrio desulfuricans M6 on different petroleum products." *Fuel Process Technol.*, 43, 87-94.
22. Lizama, H., Wilkins, L., and Scott, T. (1995). "Dibenzothiophene sulphur can serve as sole electron acceptor during growth by sulphate-reducing bacteria." *Biotechnol. Lett.*, 17, 113-116.
23. Ohshiro, T., and Ishii, Y., (2005). "Dibenzothiophene desulfurizing enzymes from moderately thermophilic bacterium *Bacillus subtilis* WU-S2B: Purification, characterization and overexpression." *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100(3), 266-273.