نشریه بین المللی علوم مهندسی دانشگاه علم و صنعت ایران، شماره ۷، جلد ۱۹، سال ۱۳۸۷، صفحه ۳۱-۲۵
مهندسی شیمی، ریاضی و کامپیوتر

IMMOBILIZATION OF DESULFURIZATION BACTERIA ON SUITABLE BASE AND OPTIMIZATION THE CONDITIONS

M. Zarkesh; M. Mashayekhi; M. Akbarnejad; Gh. Mohebali; B. Rasekh; A. Keytash

Researcher ,ripi (MSc degree in chemical engineering)
ripi (MSc degree in chemical engineering)
Senior Researcher, ripi (MSc degree in chemical engineering)
Associate Prof & Phd degree in chemistry (Head of carbon research center)
Phd degree in Microbiology (Head of center of Biology,ripi)
phd student (Head of department of Biotechnology,ripi,ripi)
BSc in Biotechnology (project manager .ripi)

Abstract: Biodesulfurization of oil component is an important biological Attraction of the oil industry. Researches and studies in this area are going on to reach to the industrial scale. On this way, there are so many problems which can be solved by proper research. In current article, the aim is creating desirable technical knowledge for a special bacteria immobilization our studies around this subject proved that this method is very useful. Immobilization process has been performed successfully and the desirable support (calcium alginate) was selected. As the second step the concentration of calcium chloride and Na-alginate was optimized (0.05 mol for the first and 700 mlg for the second) optimization steps was complete through the factorial method. In the last step through the same methods we could prove that our immobilized bacteria is renewable and can be recovered for using in another desulfurization experiment.

تثبیت باکتری گوگردزدا در پایه مناسب و بهینه سازی شرایط آن

مهشید زرکش، مریم مشایخی، محمدمهدی اکبرنژاد، قاسمعلی محبعلی، بهنام راسخ و اشک کیتاش

چکیده: حذف بیولوژیکی گوگرد از ترکیبات نفتی یکی از جاذبه‌های مهم بیوتکنولوژی در صنعت نفت می‌باشد. در ادامه تحقیقات در این زمینه بحث صنعتی شدن مطرح است. در این راستا مشکلاتی وجود دارد که امید است با انجام پژوهشهای مختلف این مشکلات را مرتفع نمود. در این تحقیق سعی بر ایجاد دانش فنی تثبیت این باکتری و مطالعه سودمندی این روش در جهت صنعتی شدن بوده است. در تحقیق حاضر به طور موفقیت‌آمیزی فرآیند تثبیت انجام گردیده و پایه مناسب آن یعنی کلسیم آلژینات مشخص شده است. در مرحله دوم تلاش در جهت بهینه‌سازی شرایط تثبیت باکتری انجام گردیده است که نهایتاً به میزان مناسب غلظت کلسیم کلراید و سدیم آلژینات به ترتیب برابر ۰/۰۵ مول و ۷۰۰ میلی گرم دست یافته شد. انجام مراحل بهینه سازی با روش فاکتوریال کامل بوده است. در ضمن در مرحله آخر تحقیق بررسی امکان

تاریخ وصول: ۸۳/۳/۱۰
تاریخ تصویب: ۸۴/۲/۱۷

مهشید زرکش، پژوهشگاه صنعت نفت، مرکز تحقیقات کاتالیست، zarkeshm@ripi.ir
مریم مشایخی، پژوهشگاه صنعت نفت، مرکز تحقیقات کاتالیست، mar_mashayekh@yahoo.com
محمدمهدی اکبرنژاد، پژوهشگاه صنعت نفت، مرکز تحقیقات کاتالیست
قاسمعلی محبعلی، پژوهشگاه صنعت نفت، واحد میکروبیولوژی آب و پساب
بهنام راسخ، پژوهشگاه صنعت نفت، واحد میکروبیولوژی آب و پساب
اشک کیتاش، پژوهشگاه صنعت نفت، واحد میکروبیولوژی آب و پساب

[Downloaded from ijiepm.iust.ac.ir on 2025-07-18]

استفاده مجدد از باکتری تثبیت شده با همان آزمایشات بهینه‌سازی انجام گردید. در این مرحله مشخص شد که امکان کاربرد مجدد باکتری نیز میسر شده است و می توان آنرا از محیط فرآیند شده، جدا کرده و مجدداً در محیط سولفورزدایی نشده وارد کرد.

واژه‌های کلیدی: گوگردزدایی بیولوژیکی؛ تثبیت؛ باکتری؛ کلسیم آلژینات؛ بهینه سازی؛ آگار؛سل-ژل

۱. مقدمه

همه سوختهای فسیلی حاوی ترکیبات گوگرد می باشند، وجود این ترکیبات در نفت خام و سایر سوختها در ادامه فرآیندهای پالایش سبب ایجاد گاز H_2S که از آلوده کننده های هوا می باشد، گردیده است[۳،۲،۱]. همچنین وجود مرکاپتانها در محصولات پالایش از جمله گازوئیل، نفت سفید و نفت کوره در هنگام احتراق در موتور و در کوره ها موجب تولید گازهای H_2S و SO_2 شده و سبب آلودگی شدید محیط زیست می گردد.

انتشار اکسیدهای گوگرد در محیط زیست باعث ریزش بارانهای اسیدی و در نتیجه تخریب زمینهای کشاورزی و آسیب به نمای ساختمانها می‌گردد[۴،۲]. در حال حاضر تلاش می شود که با عمل سولفورزدایی هیدروژنی (HDS) مقدار سولفور موجود در سوختهای فسیلی کاهش یابد ولی افزایش میزان سولفور در ذخایر باقیمانده نفتی و از طرفی سخت گیرانه تر شدن قوانین زیست محیطی[۷،۶،۵]، محققین را به ایجاد و توسعه روش تازه ای واداشته است. روش متداول کنونی به علت شرایط عملیاتی سخت آن(فشار و دمای بالا) پر هزینه و گرانقیمت می باشد و نیز برای حذف برخی ترکیبات گوگرددار حلقوی مانند دی بنزوتیوفن موثر نمی باشد. از زمانی که محققین توانایی میکروارگانیسمها در رابطه با حذف گوگرد را کشف کردند تلاش شد که این عمل به صورت انتخابی و با فعالیت و قابلیت بالا در کاهش و حذف گوگرد ترکیبات پیچیده نفتی مورد استفاده قرار گیرد. این تحقیقات با عنوان گوگردزدایی بیولوژیکی (BDS) بسط و توسعه یافته است. تا کنون میکروارگانیسمهای متفاوتی برای این منظور در سراسر دنیا شناسایی شده است. محققین در جهت رسیدن به فرآیند صنعتی BDS با دو مشکل عمده روبرو می باشند. یکی جداسازی آب، نفت و بیوکاتالیست از یکدیگر و دیگری طول عمر و فعالیت کم بیوکاتالیستهای مورد استفاده است. تمام فرآیندهای گوگردزدایی بیولوژیکی گزارش شده، سه فازی و شامل آب، سلول و نفت می باشند[۸]. در همه موارد نفت با سلول تشکیل یک سوسپانسیون می دهد زیرا بیوکاتالیستها در هنگام فرآیند سولفورزدایی جهت امتزاج نفت با فاز آبی تولید سورفاکتانت می‌نمایند. مشکل به نظر می رسد که بتوان آب و نفت را از این مخلوط امولسیونی جدا نمود، علاوه بر آن بازیافت سلولها در این فرآیند نیز یکی از مشکلات می باشد. یک نظر برای جداسازی نفت، آب و سلولها از مخلوط امولسیونی استفاده از نیروی سانتریفوژ است[۹] که یکی از پر هزینه ترین مراحل فرآیند BDS است، زیرا نیاز به تجهیزات گرانقیمت و مصرف بالای انرژی دارد [۱۰،۱۱]. انجام این روش در ایران نیز در مراحل تحقیقات آزمایشگاهی است. پژوهشگاه صنعت نفت در راستای کاهش مشکلات سولفورزدایی بیولوژیکی در زمینه BDS تحقیقات وسیعی داشته است. یکی از روشهای بکار گرفته شده در حوزه گوگردزدایی بیولوژیکی تثبیت باکتری گوگردزدا است با تثبیت باکتری امکان حذف فاز آبی میسر می گردد و نیز با انجام عمل تثبیت به علت افزایش حجم و اندازه بیوکاتالیست جداسازی آنها ازترکیبات نفتی را می توان با سهولت بیشتری انجام داد. با توجه به مسائل ذکر شده هدف از انجام این تحقیق یافتن روشی مناسب جهت تثبیت باکتری و تعیین بهترین پایه برای انجام این عمل می باشد و در نهایت با انجام آزمایشات بهینه سازی، شرایط تثبیت در این پایه بهینه گردد.

در این تحقیق محیط مدل نفتی جایگزین گازوئیل در بررسی عملکرد باکتری مورد استفاده قرار گرفته است، زیرا تقریباً در همه تحقیقات قبلی عمل گوگردزدایی برروی محیط مدل نفتی مانند نرمال تترادکان، نرمال هگزادکان یا دیگر حلالهای آلی حاوی دی بنزوتیوفن (DBT) انجام گردیده است[۱۲]. فرآیند گوگردزدایی بیولوژیکی بکارگرفته شده در این تحقیق شامل سلولهای تثبیت شده و محیط مدل نفتی بدون حضور آب می باشد که این سیستم جداسازی آسان و امکان استفاده مجدد بیوکاتالیست را در مقایسه با فرآیند سوسپانسیون سلولی فراهم می نماید.

۲. مواد و روشها

۲-۱. میکروارگانیسم

برای انجام آزمایشات مربوط به این تحقیق از باکتری RIPI-22 که در واحد میکروبیولوژی پژوهشگاه صنعت نفت جهت حذف گوگرد از محصولات نفتی جداسازی و استفاده گردیده است. باکتری-RIPI 22یک باسیل گرم مثبت هوازی می‌باشد(شکل ۱).

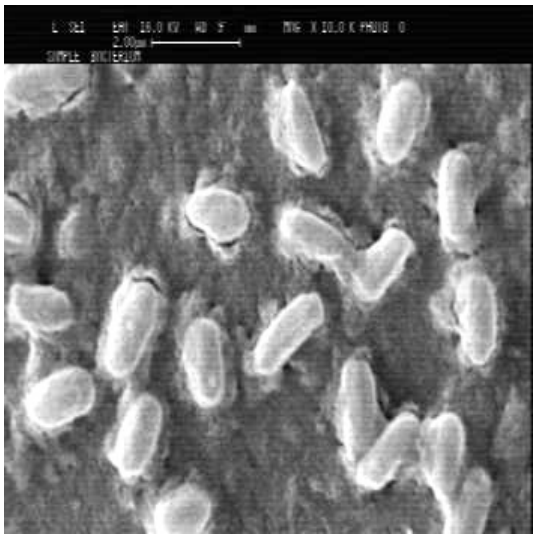
این باکتری به صورت هوازی در محیط کشت جدول ۱ در دمای 30^oC با استفاده از DBT (به عنوان تنها منبع گوگرد) . به مدت ۱۷۰ ساعت به رشد کامل خود می‌رسد. پس از آن سلولها به وسیلهٔ سانتریفوژ در دمای 4^oC با دور ۶۰۰۰rpm و در مدت ۳۰ دقیقه از محیط جدا می‌گردند وجهت حذف اضافات DBT همراه با سلول ، میکروبها بوسیلهٔ بافر فسفات ۱۰۰mM (pH = 7.0) شسته شده و در همین راستا و در جهت حذف کامل DBT از محیط ، سوسپانسیون باکتری در بافر فسفاته با دور ۱۰۰۰rpm و به مدت

[Downloaded from ijiepm.iust.ac.ir on 2025-07-18]

۱۰ دقیقه سانتریفوژ می گردد و در نهایت سلول در محلول بافر معلق می‌گردد.

۲-۲. مواد شیمیایی

دی بنزوتیوفن (DBT) و نرمال-هگزادکان، کلسیم کلراید($CaCl_2$) و ۲- هیدروکسی بی فنیل (2HBP) از شرکت Merck خریداری شده و سدیم آلژینات از شرکت Sigma و بقیه مواد مورد استفاده مواد در دسترس و در حد آنالتیکی بوده که از شرکتهای معتبر خریداری شده است.



شکل۱. گونهٔ باکتریایی RIPI-22 درزیرمیکروسکوپ الکترونی EM 360 Cambridge model با بزرگنمایی ۱۰۰۰۰

جدول ۱. ترکیبات محیط کشت مورد استفاده برای رشد باکتری

ردیف	مواد	مقدار
1	KH_2PO_4	6 g
2	Na_2HPO_4	4 g
3	NH_4NO_3	1.2 g
4	Sodium benzoate	2 g
5	$MgCl_2.6H_2O$	0.75 g
6	$MnCl_2.4H_2O$	0.004 g
7	$CaCl_2.2H_2O$	0.001 g
8	$FeCl_3$	0.001 g
9	Deionized water	1000 ml

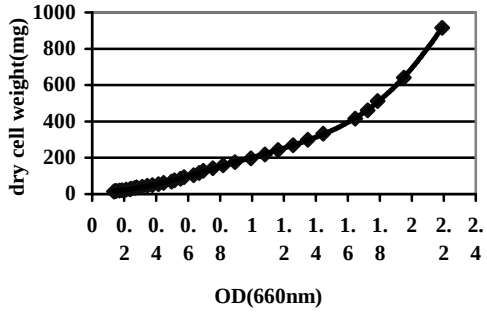
۲-۳. روش اندازه گیری وزن خشک سلولی

برای اندازه گیری وزن خشک از دستگاه اسپکتروفتومتری با طول موج ۶۶۰nm استفاده شد[۱۳,۴]. به این صورت که ابتدا منحنی استاندارد آن رسم گردید و در مقادیر مختلف جذب نوری مقدار وزن خشک مشخص گردید . منحنی شکل۲ مقدار وزن خشک را در ODمختلف نشان می دهد و منحنی شکل ۳ بخش خطی از منحنی که در محدوده OD ۰/۷ تا ۱/۲ است را نشان می دهد.

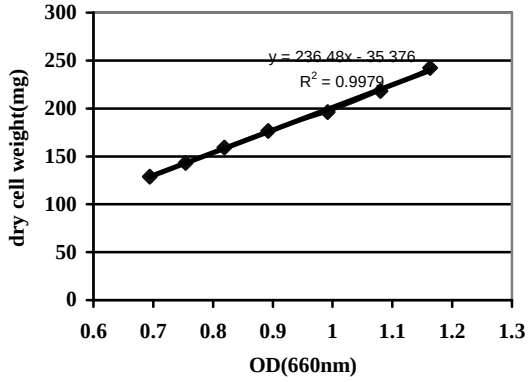
۳. روشهای تثبیت

۳-۱. روش تثبیت بر روی دانه‌های شیشه ای

به ۲گرم دانه شیشه ای با قطر ۲ میلی متر که توسط اسید فلوئوریدریک (HF) دارای سطح ناهمواری شده ، ۴ میلی لیتر سوسپانسیون سلولی با OD معلوم اضافه می شود و پس از نیم ساعت همزدگی ازسوسپانسیون جدا می گردد و در نهایت دانه‌های شیشه‌ای که سلول بر آن تثبیت گردیده بدست می آید [۱۰].



شکل۲. منحنی وزن خشک بر حسب OD در طول موج ۶۶۰nm



شکل۳. منحنی بخش خطی نمودار وزن خشک بر حسب OD در طول موج ۶۶۰ nm

۳-۲. روش تثبیت بر روی سرامیک لانه زنبوری (Hony–comb)

به روش فوق الذکر تثبیت بر روی قطعات سرامیک لانه زنبوری با ابعاد ۱×۱×۱ cm^3 انجام گردید. سرامیک لانه زنبوری از جنس $2MgO.1Al_2O_3.5SiO_2$ می باشد.

۳-۳. روش تهیه ژل کلسیم آلژینات و تثبیت باکتری در آن

۶۰۰ میلی‌گرم سدیم آلژینات را با ۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه مخلوط کرده و در ۱۰۰°C به طور کامل حل‌می‌گردد. بعد از سرد شدن تا دمای اتاق، ۴ میلی‌لیتر سوسپانسیون سلولی (با وزن خشک سلولی معلوم) به محلول اضافه می‌گردد و به خوبی مخلوط می‌گردد. این مخلوط به صورت قطره قطره در محلول کلسیم کلراید M

[Downloaded from ijiepm.iust.ac.ir on 2025-07-18]

۰/۱چکانده می‌شود تا دانه‌های تثبیت یافته سلول حاصل گردد[۱۴,۵].

۳-۴. روش تهیهٔ ژل آگار و تثبیت در آن

۶۰۰ میلی‌گرم آگار در ۲۰ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم (pH=7.0)۲۰۰mM در ۱۰۰°C حل می‌گردد. محلول به دمای ۵۰°C رسیده و سپس ۴ میلی‌لیتر سوسپانسیون سلولی (با وزن خشک سلولی معلوم) به محلول اضافه شده و به سرعت مخلوط می‌گردد تا به دمای اتاق برسد. ژل تشکیل شده را به قطعات کوچک بریده شده (۵×۵×۵ mm^3) و میکروارگانیسم تثبیت یافته در ژل حاصل می‌شود.

۳-۵. روش تهیه سل-ژل و تثبیت در آن

۲/۵ گرم تترااتوکسی‌سیلان را در ۱۵ گرم آب دیونیزه مخلوط می‌کنیم و با استفاده از HCl (۱N) به pH=2 می‌رسانیم. پس از یک‌ساعت و نیم اختلاط شدید با پدیدار شدن مخلوط شفاف توسط NH_4OH (1N) به pH = 8 می‌رسانیم و بلافاصله ۴ میلی‌لیتر سوسپانسیون سلولی (با وزن خشک سلولی معلوم) به محلول اضافه شده و در ظرف مناسب ریخته تا ژل تشکیل گردد و سپس به قطعات کوچک (۵×۵×۵ mm^3) بریده می‌شود[۱۷,۱۶].

۳-۶. انجام عمل سولفورزدایی بیولوژیکی سلولهای آزاد در یک محیط مدل نفتی

عمل سولفورزدایی بیولوژیکی توسط ۴ میلی لیتر محلول سوسپانسیون سلولی که پس از گذراندن فاز لگاریتمی سانتریفوژ شده و سپس در بافر حل گردیده و به عنوان بیوکاتالیست در ۴ میلی‌لیتر هگزادکان حاوی دی بنزو تیوفن (DBT) در یک ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتر با همزدگی ۲۵ rpm در ۳۰°C به مدت ۲۰ ساعت انجام می‌شود. برای تخمین فعالیت سولفورزدایی DBT باقیمانده و مقدار۲- هیدروکسی بی فنیل (2-HBP) تولید شده را که در فاز آلی می‌باشد، به صورت زیر اندازه‌گیری می‌نماییم.

۳-۷. انجام عمل سولفورزدایی بیولوژیکی سلولهای تثبیت یافته در یک محیط مدل نفتی

عمل سولفورزدایی بیولوژیکی توسط سلولهای تثبیت یافته به عنوان بیوکاتالیست در ۴ میلی‌لیتر هگزادکان حاوی DBT در یک ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتر با همزدگی ۲۵۰rpm در ۳۰°C به مدت ۲۰ ساعت انجام می‌شود. برای تخمین فعالیت سولفورزدایی DBT باقیمانده و مقدار2-HBP تولید شده را که در فاز آلی می‌باشد، به صورت زیر اندازه‌گیری می‌نماییم.

۳-۸. روش انجام آزمایشات بهینه سازی

در آزمایشات بهینه سازی نیاز است که ابتدا متغیرهای موثر و سپس جدول آزمایشات را تعیین کنیم و درنهایت آزمایشات را انجام دهیم. در این مقاله تعداد متغیرهای موثر ۳ تا بوده که هر کدام را با تغییر در دو سطح در نظر گرفته و جدول ۲ برای آنها در نظر گرفته شد که بحث در مورد نتایج در بخشهای بعدی خواهد آمد.

۳-۹. تکرار استفاده از بیوکاتالیستها در محیط مدل

برای انجام عمل سولفورزدایی در مرحله دوم، ابتدا بیوکاتالیستهای تثبیت شده از محیط مدل خارج گردیده و پس از شستشوی با بافر مجدداً به محلول تازهٔ دی بنزوتیوفن در هگزادکان اضافه می گردد و پس از گذشت زمان لازم میزان فعالیت بیوکاتالیست با اندازه گیری 2HBP تعیین می شود.

جدول۲.جدول برنامه ریزی آزمایشات برای ۳ متغیر در دو سطح

No.	*Factor1*	*Factor2*	*Factor3*
1	-1	-1	-1
2	-1	-1	1
3	-1	1	-1
4	-1	1	1
5	1	-1	-1
6	1	-1	1
7	1	1	-1
8	1	1	1

۳-۱۰. اندازه‌گیری

DBT و 2-HBP بوسیلهٔ دستگاه HPLC (λ=280nm) با پمپ ۶۰۰E و دتکتور ۴۹۰uv مدل واترز با ستون NOVA-PAK C18(300×3.9mm) که فاز متحرک آب/ استونیتریل (70/30) بوده و جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه (flow = 1ml/min) در دمای ۳۰°C انجام شده است.

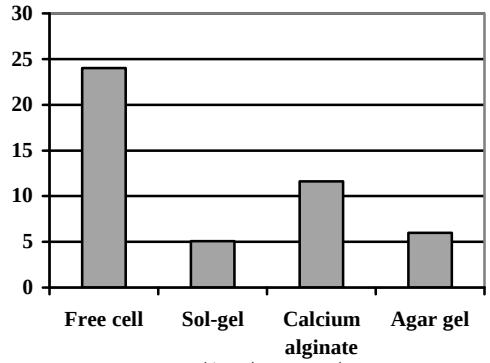
۴. نتایج و بحث

در این تحقیق عمل تثبیت با توجه به روشهای ذکر شده در بخش قبل برای باکتری RIPI-22 انجام گردید. تثبیت باکتری بر روی دانه‌های شیشه‌ای و سرامیک لانه زنبوری به دلیل جذب کم باکتری بر روی آن، اندازه‌گیری فعالیت باکتری میسر نبود و در نتیجه این دو روش تثبیت حذف گردید. علت تثبیت نشدن باکتری بر گلوله های شیشه‌ای و سرامیک لانه زنبوری عدم اتصال فیزیکی بین سلولها و باکتری ها می باشد که به همین دلیل پس از شستشو توسط محلول بافر، اکثر باکتری ها از روی آنها شسته می شوند. زیرا باکتریها در غشاء خارجی خود دارای عوامل فعال برای اتصال نمی باشند و در مورد آنزیمها احتمالاً این امکان وجود خواهد داشت که

[Downloaded from ijiepm.iust.ac.ir on 2025-07-18]

به این ترتیب تثبیت گردند. همچنین با تثبیت باکتری در ژلهای کلسیم آلژینات، آگار و سل - ژل نتایج به صورت نمودار شکل ۴ بدست آمد.

با توجه به این نمودار مشخص می‌گردد که پایه کلسیم آلژینات نسبت به دو پایه دیگر فعالیت بیشتری را حفظ کرده است زیرا درصد حفظ فعالیت نسبت به سلول آزاد در پایه‌های سل- ژل، کلسیم آلژینات و آگار به ترتیب برابر ۲۱٫۱۲۵، ۴۸٫۳۷۵ و ۲۵ درصد بوده است. با توجه به این نتایج پایه کلسیم آلژینات برای منظور تثبیت مناسب بوده و انتخاب گردید. علاوه بر این پایه کلسیم آلژینات به علت مقاومت و استحکام بیشتر مکانیکی برای امر تثبیت مناسبتر است.

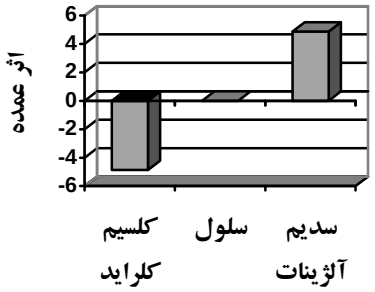


شکل۴. فعالیت ویژه سلول تثبیت شده در پایه‌های مختلف نسبت به سلول آزاد

جدول ۳. جدول طراحی آزمایشات با مقادیر سطوح هر فاکتور

شماره آزمایش	مقدار سلول (میلی لیتر)	غلظت کلسیم کلراید(مولار)	مقدارسدیم آلژینات(میلی گرم)
۱	۴	۰/۰۵	۶۰۰
۲	۴	۰/۰۵	۷۰۰
۳	۴	۰/۱	۶۰۰
۴	۴	۰/۱	۷۰۰
۵	۶	۰/۰۵	۶۰۰
۶	۶	۰/۰۵	۷۰۰
۷	۶	۰/۱	۶۰۰
۸	۶	۰/۱	۷۰۰

پس از انتخاب پایه مناسب برای تثبیت باکتری گوگردزدای RIPI-22 عواملی که در انجام این عمل موثر بودند تعیین گردید. این عوامل که در ساخت پایه موثر هستند عبارتند از مقدار سلول، غلظت کلسیم کلراید و مقدار سدیم آلژینات مصرفی در ساخت پایه و آزمایشات بهینه‌سازی با توجه به جدول ۲ برای این عوامل ترتیب داده شد. سطوح موردنظر برای هر فاکتور در جدول ۳ نشان داده شده است. آزمایشات ۱ تا ۸ طبق جدول ۳ انجام گردید و نتایج آن در جدول ۴ آمده است. با توجه به نتایج این جدول، آنالیزهای آماری انجام شد و بدین ترتیب مشخص شد که عامل شماره ۱ یعنی حجم سوسپانسیون باکتری در این عمل نقشی ندارد. بنابراین آنالیزها برای دو فاکتور دیگر انجام شد و میزان تاثیر این فاکتورها در نمودار شکل ۵ مشخص شد.



شکل ۵. نمودار اثرات عمده فاکتورهای مورد آزمایش

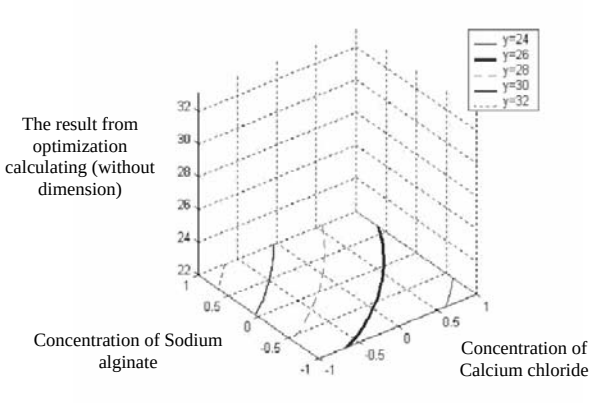
جدول۴. میزان فعالیت ویژه بیوکاتالیست در دو مرحله استفاده در محیط مدل

(µmol2HBP/Kgdry cell weight.hr)

شماره آزمایش	میزان فعالیت در مرحله اول	میزان فعالیت در مرحله دوم
۱	۱۰۵۳/۴	۴۸۱
۲	۱۷۱۷/۲	۶۲۰/۱
۳	۸۵۸/۶	۲۹۴/۲
۴	۱۰۷۷/۲	۴۰۵/۴
۵	۱۰۶۱/۳	۴۳۷/۳
۶	۱۰۷۲	۶۲۸/۱
۷	۹۹۷/۷	۳۱۴
۸	۱۰۳۷/۵	۵۳۲/۶

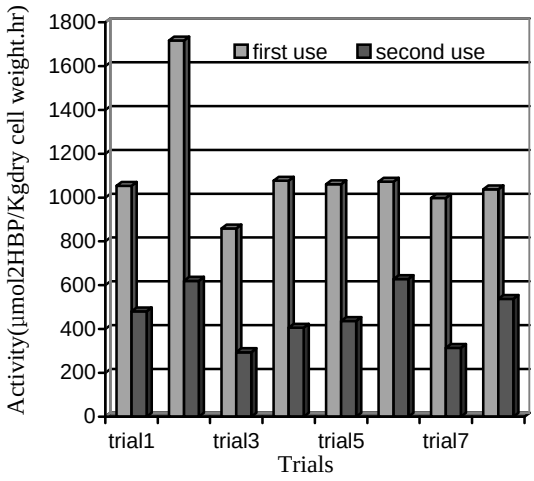
پس از محاسبات آماری معادله ای که تغییرات این متغیرها از آن پیروی می کند بدست آمد و بر اساس آن منحنی های کنتور برای آنها رسم گردید (شکل ۶). با توجه به این نمودار و محاسبات، نقطه بهینه در سطح (۱-) برای غلظت کلسیم کلراید (۰/۰۵ مولار) و سطح (۱+) برای مقدار سدیم آلژینات (۷۰۰ میلی گرم) بدست آمد. پاسخ پیش بینی شده برای این نقطه ۱۷۲۰ میکرو مول ۲-هیدروکسی بی فنیل تولید شده به ازای یک کیلو گرم وزن خشک سلول در یک ساعت محاسبه شده است که با پاسخ آزمایش تائید برابر می باشد. در نهایت جهت مشخص شدن امکان استفاده مجدد از باکتری تثبیت شده برای آزمایشات ۱ تا ۸ مجددا بیوکاتالیستها در مجاورت محیط مدل گوگردی به مدت ۲۰ ساعت دیگر قرار گرفت. نتایج فعالیت بیوکاتالیست در این آزمایشات در جدول ۴ ذکر شده و مقایسه نتایج آنها در شکل ۷ نشان داده شده است.

[Downloaded from ijiepm.iust.ac.ir on 2025-07-18]



شکل۶. نمودارکنتور پلات برای فاکتورها

همانطوریکه از نتایج آزمایشات (جدول ۴) دیده می‌شود، بهترین فعالیت مربوط به آزمایشات ۲ و ۶ می‌باشد که غلظت سدیم آلژینات در حداکثر یعنی همان سطح (۱) و کلسیم کلراید در حداقل یعنی همان سطح (۱-) است.بنابراین از عوامل مهم در بدست آوردن بیشترین فعالیت در هر دو مرحله استفاده، تشکیل ساخت پایه و چگونگی حفرات پایه است. به این ترتیب می توان نتیجه گرفت که تا این مرحله از آزمایشات برای میزان کلسیم کلراید و سدیم آلژینات تشکیل دهنده پایه مقادیر بهینه برابر ۰٫۰۵ مولار و ۷۰۰ میلی گرم است و به این ترتیب با استفاده از پایه کلسیم آلژینات امکان کاربرد مجدد پایه بدست آمده است. ولی باز هم در جهت افزایش میزان فعالیت تلاش بیشتری انجام خواهد گردید.



شکل۷. نمودار مقایسه میزان فعالیت باکتری تثبیت شده در دو مرحله عملیات

تشکر و قدردانی

از همکاری صمیمانه آقایان مهندس حمید بنیاد ریاست محترم واحد مهندسی واکنشهای کاتالیستی، سید وحید صمیمی از واحد تجزیه دستگاهی و همچنین حمیدرضا حاجی‌زاده از واحد ساخت آزمایشگاهی و نیمه صنعتی کاتالیست که در انجام این تحقیقات ما را یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌نمائیم.

مراجع

[1] Shennan, J.L.; "*Microbial Attack on Sulphur Containing Hydrocarbons: Implication on Sulphur for the Biodesulphurization of Oils and Coals*". J. Chem. Tech. Biotechnol; 67; 1996, pp. 109-123.

[2] Ohshiro, T., & Izumi, Y., "*Microbial Desulfurization of Organic Sulfur Compounds in Petrolume*"; Biosci. Biotechnol. Biochem. ; 63(1); 1999, pp. 1-9.

[3] Beverly, L., "*et.al; Biocatalytic Sulfur Removal from Fuels: Applicability for Producing Low Sulfur Gasoline;Critical Reviews in Microbiology*" ; 24 (2); 1998, pp. 99-147.

[4] Maghsoudi, S.; "*et al; Biodesulfurization of Hydrocarbons and Diesel Fuels by Rhodococcus sp. Strain P32 C1*"; Biochemical Engineering Journal; 8; 2001, pp. 151-156.

[5] Monticello, D.J., "*Riding the Fossil Fuel Biodesulfurization Wave*"; CEMTECH; 28(7); 1998, pp. 38-45.

[6] Chang, J.H., et.al.; "*Desulfurization of Model and Diesel Oils by Resting Cells of Gordona sp*", Biotechnology letters; 22; 2000, pp. 193-196.

[7] Olson; "*Microbial Catalyst for Desulfurization of Fossil Fuels; United State Patent* "; No. 6124130, 2000.

[8] Koufman, E.N., "*et al.; Development of an Electro-Spray Bioreactor for Crude Oil Processing*"; Fuel Process Technology; 52; 1997, pp. 127-144.

[9] Yu, L.; "*et al.; Oil/Water/Biocatalyst Three Phase Separation Process* ", U.S. patent 5,772,901; June 1998.

[10] Chang, J.H.; "*et al, Desulfurization of Light Gas Oil in Immobilized –Cell Systems of Gordona sp. CYSK1 and Nocardia sp* ".CYSK2 FEMS Microbiology letters, 182; 2000, pp.309-312.

[11] Ban, K., "*et al., Whole Cell Biocatalyst for Biodiesel Fuel Production Utilizing Rhizopus Oryzae Cells immobilized within biomass support particles*"; Biochemical engineering journal; 8; 2001, pp. 39-43.

[12] Ohshiro, T.; "*et al., Microbial Desulfurization of Dibenzothiophene in the Presence of Hydrocarbon*"; App Microbiol Biotechnol; 44; 1995, pp. 244-252.

[13] Maghsoudi, S.; "*et al; Selective Desulfurization of Dibenzothiophene by Newly Isolated Corynebacterium sp*". Strain P32 C1;Biochemical Engineering Journal; 5, 2000, pp. 11-16.

[14] Cheetham, P.S.J., "*et al.; Physical Studies on Cell Immobilization Using Calcium Alginate Gels*"; Biotechnology and Bioengineering; Vol XXI; 1979, pp. 2155-2168.

[Downloaded from ijiepm.iust.ac.ir on 2025-07-18]

[15] Poncelet, D., "*et al.; Production of Alginate Beads by Emulsification/internal Gelation*"; Appl. Microbiol. Biotechnol.; 43; 1995, pp. 644-650.

[16] Blum, J., "*et al., Sol-gel Encapsulated Transition-Metal Catalysts* "; CHEMTECH February; 1999, pp. 32-38.

[17] Murakata, T., "*et al.; Control of Pore Size Distribution of Silica Gel Through Sol-Gel Process Using Inorganic Salts and Surfactants as Additives*"; Journal of Materials Science; 27; 1992, pp.1567-1574.

[Downloaded from ijiepm.iust.ac.ir on 2025-07-18]