پژوهش نفت شماره ۱۱۸، مرداد و شهریور ۱۴۰۰، صفحه ۱۴۸-۱۳۴

بررسی پارامترهای مؤثر بر ارتقا برش نفت کوره با استفاده از میکروارگانیسم‌های سودوموناس آیروژینوس و رودوکوکوس اریتروپلیس جدا شده از لجن نفتی

نعمت اله نجفی و فرشاد رحیم‌پور*

آزمایشگاه تحقیقاتی فرآیندهای بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۸

چکیده

در این مطالعه قابلیت باکتری‌های مفید جدا شده از لجن مخازن نفت پالایشگاه کرمانشاه و تأثیر شرایط محیط کشت جهت اصلاح نفت کوره مورد بررسی قرار گرفت. جهت جداسازی و خالص‌سازی میکروارگانیسم‌ها از محیط‌های کشت مایع و جامد استفاده گردید و طی مراحل مختلف میزان جمعیت میکروبی افزایش پیدا نمود. باکتری‌های فوق شامل میکروارگانیسم‌های سودوموناس آیروژینوس و رودوکوکوس اریتروپلیس هستند. در انجام آزمایش‌ها، متغیرهای انتخابی شامل پارامترهای pH، دما، زمان، غلظت نفت کوره و غلظت میکروارگانیسم‌ها بوده و هریک از متغیرها در سطوح مختلف براساس شرایط استفاده گردید. همچنین، تأثیر مواد فعال‌سطحی بر اصلاح نفت کوره مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج به‌دست آمده بهترین شرایط حذف ترکیبات گوگردی و تبدیل به برش‌های سبک‌تر در pH= ۶/۵، دمای ۴۰ °C، غلظت ۴٪ حجمی نفت کوره، میزان ۲٪ حجمی محیط کشت حاوی دو میکروارگانیسم و زمان ۳ روز، همراه با اضافه نمودن مواد فعال‌سطحی شیمیایی حاصل گردیده است , در پایان آنالیز، ترکیبات نمونه حاصل در بهترین شرایط آزمایش با روش SARA مشخص گردید. میزان گوگرد کل و دانسیته در نمونه اولیه به‌ترتیب ۲۵۴۰۰ ppm و ۰/۹۴۲۸ kg/L و در نمونه نهایی برابر با ۹۴۰۰ ppm و ۰/۹۰۹۶ kg/L است، که در مقایسه با نتایج نمونه اصلی میزان تبدیل نفت کوره به نفت گاز برابر با ۲۹/۳٪ و کاهش گوگرد کل بیش از ۶۰٪ را نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: نفت کوره، سودوموناس آیروژینوس، رودوکوکوس اریتروپلیس، ارتقا برش، SARA

*مسؤول مکاتبات
آدرس الکترونیکی f_rahimpour@razi.ac.ir
شناسه دیجیتال: (DOI: 10.22078/pr.2021.4260.2926)

مقدمه

سوخت‌های فسیلی همچنان نقش مهمی در تأمین انرژی جهانی بر عهده دارند به‌طوری‌که پیش‌بینی می‌شود نیاز کلی تا سال ۲۰۲۵ به ۱۲۳ میلیون بشکه در روز افزایش یابد. در نتیجه، نیاز به توسعه روش‌هایی که توانایی تبدیل برش‌های سنگین نفت خام به محصولات مطلوب را داشته باشند، بیش از پیش احساس می‌شود. روش‌های فیزیکی و شیمیایی زیادی برای بهبود کیفیت محصولات نفتی وجود دارد. روش‌های موجود هزینه‌بر بوده و در برخی موارد دارای بازدهی مناسب نهستند. همچنین، محدودیت‌های محیط‌زیستی و تکنیکی مانع از به‌کارگیری برخی از این روش‌ها می‌شوند [۱]. در مقایسه با روش‌های فیزیکی و شیمیایی- حرارتی موجود، فرآیندهای زیستی عموماً دوستدار محیط زیست بوده و دارای انتخاب‌پذیری بالایی هستند [۲]. استفاده از میکروارگانسیم یا آنزیم‌ها دارای مزایای زیادی از جمله فشار و درجه حرارت پایین، عدم نیاز به هیدروژن، سادگی بالقوه فرآیند، هزینه‌های شیمیایی کم و حداقل تجهیزات و سرمایه‌گذاری در مقایسه با عملیات پالایشگاهی است [۳].

زیست‌فن‌آوری با استفاده از توانایی ویژه میکروارگانسیم‌ها برای حذف آلایندگی ناشی از برش‌های نفتی، ازدیاد برداشت مخازن، گوگردزدائی و نیتروژن زدائی، حذف فلزات سنگین از نفت، تبدیل باقی‌مانده‌های نفتی به متان و ... به‌کار گرفته شده است [۴]. کاربری موفقیت‌آمیز بیوتکنولوژی در فرآیندهای نفتی بر مبنای توسعه زیست‌کاتالیست‌های میکروبی که قابلیت تطابق با سوبستراهای هیدروکربنی مختلف را دارا باشند و بتوانند واکنش‌های تبدیلی و زیست‌پالائی را در مقیاس صنعتی انجام دهند، استوار است. این قابلیت به خواص شیمیایی و فیزیکی سوبسترا و دردسترس بودن آنها برای میکروارگانیسم بستگی دارد که تماس میکروارگانیسم با سوبسترای هیدروکربنی و تبدیل و انتقال آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

حضور ترکیبات سنگین موجب افزایش ویسکوزیته و چگالی برش‌های نفتی می‌گردد. به همین دلیل، ارتقا و تبدیل این ترکیبات و دیگر ترکیبات آروماتیکی موجود در برش‌های نفتی سنگین توسط روش‌های زیستی برای به حداکثر رساندن تولید برش‌های سبک‌تر مورد توجه قرار گرفته‌اند [۵]. میکروارگانیسم‌ها از دو طریق موجب ارتقا برش‌های سنگین نفتی می‌شوند: الف) شکستن مولکول‌های سنگین و کاهش وزن مولکولی متوسط برش و ب) ایجاد محصولات جانبی متابولیسم میکروبی مانند مواد بیولوژیکی فعال‌سطحی، اسیدها و بازها که موجب کاهش قابل توجه ویسکوزیته برش‌های نفتی می‌گردد [۶].

شکستن پیوند کربن- گوگرد در مولکول‌های حلقوی غیرهمگن حاوی اتم‌های گوگرد یکی از روش‌های کاهش ویسکوزیته است. نفت حاوی ترکیبات گوگرددار زیادی مانند دی‌بنزوتئوفن و مشتقات آلکیل‌دار آن و نیز دیگر ترکیبات آروماتیک حاوی گوگرد است که گوگردزدائی آنها توسط روش‌های متداول مشکل است. تا ۴۰٪ ترکیبات گوگردی در برش‌های سنگین به فرم آلکیل سولفید است و شکست انتخابگرانه پیوند کربن- گوگرد این مولکول‌ها با استفاده از میکروارگانیسم‌ها موجب کاهش وزن مولکولی و ویسکوزیته برش می‌گردد. میکروارگانیسم مطلوب برای این منظور نبایستی هیدروکربن را به‌عنوان منبع کربن استفاده کند زیرا از ارزش حرارتی سوخت کاسته می‌شود، به‌علاوه باید پایدار بوده و انتخاب‌پذیر باشد [۷]. وان هامه و همکارانش باکتری‌های *Rhodococcus sp. strain JVH1* را جدا نمودند که با استفاده از بیس- (۳- پنتا فلوروفنیل پروپیل) سولفید، که نمونه آروماتیک‌های مقاوم به تجزیه توسط میکروارگانسیم‌ها است، به‌عنوان سوبسترا قادر به شکستن پیوند کربن- گوگرد در زنجیره آلکیل هستند. ایشان نشان دادند که این باکتری قابلیت کاهش ویسکوزیته ناشی از شکستن پیوند کربن- گوگرد مولکول‌های آسفالتین بدون

کاهش تعداد کربن سوبسترا را دارا است [۷]. السید محمد و همکاران نشان دادند باکتری *Rhodococcus sp. strain SA11* قادر است از طریق مکانیسم 4S پیوند کربن- گوگرد ترکیبات تئوفنیک را شکسته و ویسکوزیته نفت را کاهش دهد [۸]. همچنین، بهاتیا و شارما گزارش کرده‌اند که باکتری گرمادوست *Klebsiella sp. 13T* قادر به حذف گوگرد درون مولکولی هیدروکربن بدون تجزیه ساختار آن است [۹]. بلدی و همکاران با استفاده از سویه‌های مخمر *Rhodosporidium toruloides* دی بنزوتئوفن و دیگر ترکیبات تئوفن را از هیدروکربن‌های نفتی حذف نمودند [۱۰]. چن و همکاران با استفاده از توده سلولی باکتری *Gordonia sp. SC-10* در مدت پنج روز ۸۱/۴۳٪ گوگرد موجود در یک نفت مدل حاوی ۱۷۴ mg/L دی‌بنزوتئوفن را از طریق مکانیسم شکستن پیوند کربن-گوگرد حذف نمودند [۱۱]. رانسون و ریواس نشان دادند برخی گونه‌های باکتری *Alcaligenes xylosoxidans* در دمای ۳۰ تا ۵۰ ˚C و pH بین ۸ تا ۹ قادرند به‌صورت انتخابگر و مکانیسم هوازی از طریق شکستن پیوند کربن- گوگرد ترکیبات دی‌بنزوتئوفن را بدون از بین بردن ساختار کربنی گوگردزدائی نمایند [۱۲]. بهاتیا و شارما با استفاده از باکتری *Pantoea agglomerans* دی بنزوتئوفن را با بازده ۹۰٪ به ۲-هیدروکسی دی فنیل تبدیل نمودند. مسیر پیشنهاد شده برای این تبدیل مسیر 4S است. همچنین، باکتری تطابق یافته بین ۲۶ تا ۷۱٪ گوگرد برش‌های مختلف نفتی را با شکستن پیوند کربن-گوگرد حذف نمود [۱۳]. طباطبائی و مظاهری اسدی با استفاده از باکتری *Bacillus cereus* برش باقی‌مانده برج تقطیر خلأ را ارتقا دادند [۱۴]. براساس نتایج به‌دست آمده در این کار در طی سه هفته در ۱۵۰ rpm و دمای ۳۰ ˚C، آلکان‌های اشباع به‌میزان ۲۲/۱٪، آروماتیک‌ها ۳۰/۳٪، و آسفالتین‌ها و رزین‌ها ۶۵/۵٪ کاهش یافته‌اند. شاه‌ابراهیمی و همکاران با استفاده از مخلوط باکتری‌های *Staphylococcus saprophyticus sp* و *Bacillus cereus sp* ۴۶/۴۱٪ آسفالتین نفت خام با غلظت اولیه ۲۵ g/L را حذف نمودند [۱۵]. ایشان نشان دادند که این باکتری‌ها عمدتاً از گوگرد برای رشد استفاده نمودند و میزان حذف کربن، هیدروژن و نیتروژن نسبت به نمونه شاهد کمتر بوده است. همچنین، گروه‌های آلکین بیشترین حذف را داشته‌اند. لاوانیا و همکاران با استفاده از گونه Moorella sp. در دمای ۷۰ ˚C با توجه به حذف ۵۶٪ آروماتیک‌ها، ویسکوزیته نفت خام را به‌میزان ۷۵ تا ۹۸٪ کاهش دادند [۱۶]. غلامی و همکاران با استفاده از کنسرسیوم میکروبی متشکل از Serratia sp., Raoultella sp و Ochrobactrum sp. میزان رزین‌ها در نفت سنگین را ۳۷/۳٪ کاهش دادند و به‌صورت همزمان، ترکیبات آلیفاتیک و آروماتیک به‌میزان ۸۶/۶ و ۶/۷٪ افزایش پیدا کردند [۱۷]. تعدادی از باکتری‌های آب‌گریز مانند *Leptospirillum*، *Achromobacter*، *Sulfolobus*، *pseudomonas* و *Thiobacillus sp* توانایی تبدیل نفت‌های سنگین به‌سبک، افزایش مقدار هیدروکربن‌های اشباع و کاهش میزان گوگرد، نیتروژن و ترکیبات فلزی را دارند. نتایج استفاده از میکروارگانیسم‌های ذکر شده نشان‌دهنده تبدیل بیولوژیکی ۵۰ تا ۶۰٪ هیدروکربن‌های سنگین در دمای ۳۷ ˚C و pH = ۷ و مدت زمان دو روز است [۱۸].

برای مولکول‌های هیدروکربن سنگین دو مکانیسم برای دسترسی این مواد توسط میکروارگانیسم‌ها پیشنهاد شده است: الف) کاهش تنش سطحی با تماس مستقیم سلول‌ها با هیدروکربن و ب) تسهیل تماس سلول‌ها با هیدروکربن امولوسیونی شده توسط مواد فعال‌سطحی زیستی [۱۹]. حجم زیاد هیدروکربن‌های سنگین می‌توانند یک چالش برای انتقال این مولکول‌ها به سلول‌های میکروبی باشد. برای رفع این مشکل می‌توان از مواد فعال‌سطحی استفاده نمود. مواد فعال‌سطحی مولکول‌های آمفیپاتیک با دو قسمت آب‌گریز و آب‌دوست هستند. آنها از طریق تجمع در سطح مشترک دو فاز، توانایی کاهش کشش سطحی بین مایعات غیرقابل امتزاج

و افزایش حلالیت و تحرک ترکیبات آلی آب‌گریز یا نامحلول را دارند [۶]. آنها براساس توانایی‌شان برای کاهش تنش سطحی، افزایش حلالیت، قدرت شویندگی، توانایی مرطوب کردن و ظرفیت کفسازی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۲۰]. برخی از بیومولکول‌ها توانایی تولید مواد فعال‌سطحی زیستی را دارند. مواد فعال‌سطحی زیستی از مزایایی نظیر سازگاری با طبیعت، قابلیت تجزیه‌پذیری به‌صورت طبیعی، سمیت پایین، عملکرد اختصاصی، فعالیت بالا تحت شرایط سخت دما، فشار و اسمولالیته بالا و نیز کف‌کنندگی زیاد برخوردار هستند که با ترکیب آنها با مواد فعال‌سطحی می‌توان به نتایج بهتری دست یافت. نفت کوره یک فرآورده بازیافتی و شاخه‌ای است و یکی از بیشترین برش‌های تولیدی پالایشگاه است. از طرفی، با توجه به قیمت جهانی نفت کوره، هر چه میزان تولید آن کمتر شود سوددهی پالایشگاه افزایش می‌یابد. امروزه یکی از پراهمیت‌ترین واحدهای هر پالایشگاه، واحدهای غلظت‌شکن است که برش‌های سنگین را در اثر حرارت به اجزاء سبک و نفت کوره نیمه‌سنگین تبدیل می‌کند. نفت کوره شامل مقادیری از باقی‌مانده‌ای تقطیر نفت خام حاصل از کراکینگ حرارتی است، نفت کوره معمولاً فرآورده تقطیر شده بین ۱۸۰ تا ۳۸۰ °C است و عمدتاً از هیدروکربن‌هایی با زنجیره‌های طولانی به خصوص آلکان‌ها، آلکان‌های حلقوی و آروماتیک‌ها تشکیل شده است و حاوی ترکیبات گوگردی، اکسیژنه و فلزات نیز است. ویسکوزیته سینماتیک آن در ۱۸۰ °C بالاتر از ۱۰ است، نقطه اشتعال آن بالای ۵۰ °C است و دانسیته آن بیشتر از ۰/۹ است. با توجه به اینکه تبدیل برش‌های سنگین به برش‌های سبک‌تر و گوگردزدائی آنها در فرآیندهای متداول پالایشگاهی نیازمند استفاده از دما و فشار زیاد است، حذف این مراحل با استفاده از فرآیندهای میکروبی که توانایی ارتقا برش‌های سنگین را دارا باشند، اهمیت زیادی دارد. هدف کلی این تحقیق بهبود خواص و ارتقاء نفت کوره پالایشگاه کرمانشاه به ترکیبات با ارزش‌تر از طریق کاهش دانسیته و گوگردزدائی، بااستفاده از میکروارگانیسم‌های بومی جدا شده از لجن نفتی پالایشگاه است. میکروارگانیسم‌های جدا شده شناسائی گردیده و تأثیر متغیرهای عملیاتی دما، زمان، pH، غلظت نفت کوره و غلظت میکروارگانیسم و مواد فعال‌سطحی ها بر میزان کاهش دانسیته و گوگرد کل برش نفتی بررسی شده و مقادیر بهینه پارامترها تعیین شده است.

مواد و روش‌ها و تجهیزات

مواد

مواد شیمیایی و محیط کشت مورد استفاده در این تحقیق از شرکت مرک (آلمان) تهیه گردید. کلیه مواد به همان صورت خریداری شده مورد استفاده قرار گرفته‌اند. آب دو بار تقطیر در کلیه آزمایش‌ها به‌کار گرفته شد. نفت کوره از پالایشگاه کرمانشاه تهیه شد. دانسیته اولیه نمونه برابر ۹۴۲/۸ kg/m^3 و گوگرد کل آن ۲۵۴۰۰ ppm است.

جداسازی باکتری

جهت جداسازی میکروارگانیسم از لجن مخازن انبار نفت کوره پالایشگاه کرمانشاه استفاده گردید. محیط کشت استفاده شده شامل مواد گلیسرول (۱۰ g/L)، KH_2PO_4 (۲/۴۴ g/L)، $NaH_2PO_4.2H_2O$ (۱۰/۴۸ g/L)، NH_4Cl (۲ g/L)، $MgSO_4.7H_2O$ (۰/۵ g/L)، $CaCl_2.2H_2O$ (۰/۰۰۱ g/L)، $FeCl_2.XH_2O$ (۰/۰۰۰۵ g/L)، $MnCl_2.2H_2O$ (۰/۰۰۳ g/L) در آب مقطر است. ترکیب محیط کشت جامد دقیقاً شبیه محیط کشت مایع است ولی به‌میزان ۱۰ g/L آگار به محیط افزوده شده است. pH محیط برابر ۷ تنظیم شده است. ابتدا ۵ mL از لجن را به ۹۵ mL محلول محیط کشت اضافه نموده و در دمای ۳۵ °C و دور ۱۵۰ rpm به‌مدت چهار روز در ارلن مایر کشت داده می‌شود تا کدورت سیستم افزایش و رنگ آن تغییر کند. ۱۰ mL از محیط کشت به محیط جدید با ترکیب مشابه انتقال یافته که فقط در آن مقداری از گلیسرول

پژوهش نفت شماره ۱۱۸، مرداد و شهریور ۱۴۰۰، صفحه ۱۴۸-۱۳۴

با نفت کوره جایگزین شده است. این انتقال به محیط جدید تا جایگزینی کامل گلیسرول با نفت کوره طی پنج مرحله انجام می‌گیرد. سپس، محلول حاوی میکروارگانیسم کشت داده شده به‌صورت سریالی با محلول استریل نمکی (۰/۹٪ سدیم کلراید) رقیق شده و به محیط جامد انتقال داده شده و طی شش مرحله متوالی به روش کشت خطی در ۳۵ °C و هر مرحله به‌مدت ۶ روز کشت داده می‌شود تا باکتری تک کلونی به‌دست آید. سپس باکتری‌های جدا شده محیط جامد به محیط مایع انتقال داده شده و طی دو مرحله در محیط کشت مایع رشد نموده و محیط کشت حاصل جهت انتقال به محیط‌های جدید حاوی ۲۵٪ گلیسرول در فریزر نگهداری می‌شود.

بررسی رشد باکتری‌ها

برای بررسی رشد باکتری‌ها، میزان رشد توده میکروبی نمونه‌های تیمار شده از طریق بررسی کدورت نمونه‌ها ارزیابی گردید. به این منظور، میزان جذب نوری نمونه‌ها طی مدت ۵ روز از طریق بررسی کدورت حاصل از رشد باکتری‌ها، توسط دستگاه اسپکتوفتومتری در طول موج ۶۰۰ nm اندازه‌گیری گردید.

تعیین هویت میکروارگانیسم‌ها

خصوصیات اولیه میکروارگانیسم با تعیین مشخصه کلونی، مشاهده میکروسکوپی و رنگ‌آمیزی گرم [۲۱] صورت گرفت. DNA کل توسط روش Marmur استخراج گردید [۲۲]. واکنش‌های PCR با استفاده از پرایمرهای [50-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3′] 27F و [50-GGTTACCTTGTTACGACTT-3′] 1492R و با استفاده از آنالیزور توالی ABI 3730/ 3730 xl DNA انجام گرفت (Applied Biosystems Inc., Korea). این آزمایش با استفاده از ۵۰ µL مخلوط واکنش حاوی ۱ µL عصاره DNA به‌عنوان قالب با هر پرایمر با غلظت ۵ mM، کلرید منیزیم ۲۵ mM، و dNTPs با غلظت ۲ mM، به‌همراه ۱/۵ واحد Taq پلیمرایز و بافر صورت گرفت. پس از سرشت‌زدائی اولیه به‌مدت ۵ min در ۹۴ °C ، ۳۵ چرخه شامل سرشت‌زدائی در ۹۴ °C، ۳۵ به‌مدت ۵ min، اتصال در ۵۵ °C برای ۱ min، طویل شدن رشته در ۷۲ °C به‌مدت ۱ min و گسترش نهایی واکنش در ۷۲ °C درجه به‌مدت ۵ min انجام گرفت. محصول به‌دست آمده خالص‌سازی شده و توالی آن مشخص گردید.

واکنش گوگردزدائی و شکست مولکولی

برای انجام آزمایش‌های گوگردزدائی و شکست مولکولی نفت کوره از ارلن‌مایرهای ۲۵۰ mL حاوی ۵۰ mL محیط کشت استفاده شد. در ابتدا جهت تهیه محیط کشت حاوی میکروارگانیسم، نمونه‌های نگهداری شده به‌عنوان مایه تلقیح به محیط کشت با ترکیب ذکر شده اضافه شده و تا هنگامی‌که دانسیته نوری در ۶۰۰ nm محلول برابر ۴ شود گرماگذاری می‌گردد. ارلن‌مایرها در شیکرانکوباتور در pH و دماهای مشخص و میزان مشخص از نفت کوره و میکروارگانیسم گرماگذاری شده و پس از گذشت زمان لازم، محلول از سلول جدا شده و آزمایش‌های مربوط به‌میزان گوگرد و وزن مخصوص روی آنها انجام شده است. جهت بررسی تأثیر مواد فعال‌سطحی محیط کشت مشابه آزمایش‌های گوگردزدائی و شکست مولکولی و با حضور مواد فعال‌سطحی انجام گردیده است. از سدیم دودسیل سولفات (SDS) و اتیل‌دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) به‌میزان ۰/۰۵ g در هر ۵۰ mL محیط کشت به‌عنوان مواد فعال‌سطحی استفاده شده است. هر آزمایش ۳ بار تکرار شده است و مقدار میانگین گزارش شده است.

اندازه‌گیری ترکیبات نفت کوره

برای تفکیک نفت کوره سنگین به ترکیبات اشباع، آروماتیک، رزین و آسفالتین (SARA) و اندازه‌گیری آنها از روش SARA (استاندارد ASTM D4124 – 09) استفاده می گردد [۲۳]. در این روش، ۱۰ g از نمونه نفتی با نرمال هپتان مخلوط شده و آسفالتین آنها جدا و رسوب می‌گردد. میزان آسفالتین با اندازه‌گیری وزن رسوب مشخص می‌گردد.

برش باقی‌مانده را تا حد امکان از هپتان جدا کرده و وزن آن اندازه‌گیری می‌شود. g ۲ از برش باقی‌مانده را به یک ستون کروماوگرافی پر شده از سیلیکای فعال شده که با نرمال هپتان اشباع شده اضافه نموده و به‌ترتیب با mL ۱۰۰ نرمال هپتان (مربوط به قسمت برش اشباع)، mL ۱۰۰ تولوئن (مربوط به آروماتیک‌ها)، mL ۱۰۰ محلول متانول- تولوئن (به نسبت ۵۰:۵۰) (مربوط به ترکیبات قطبی/ رزین‌ها)، mL ۱۰۰ کلروفرم (مربوط به ترکیبات قطبی/ رزین‌ها)، و mL ۱۰۰ استونیتریل (مربوط به ترکیبات قطبی/ رزین‌ها) در ستون جداسازی می‌گردد. حجم‌های خروجی از ستون به‌صورت جداگانه جمع‌آوری شده و سه برش آخر با هم مخلوط می‌گردد. برش‌ها تحت خلأ عریان‌سازی شده تا حلال آن تبخیر شود و وزن می‌گردد. محتوی ترکیبات اشباع، آروماتیک‌ها، و رزین‌ها با توجه به درصد وزنی باقی‌مانده برش‌ها نسبت به وزن کل نمونه محاسبه می‌گردد.

اندازه‌گیری میزان گوگرد کل

جهت اندازه‌گیری میزان گوگرد کل در نفت کوره از دستگاه آنالیز گوگرد توسط تابش اشعه ایکس (X-ray fluorescence SLFA -60 Horiba, Japan) استفاده گردید. دستگاه آنالیزور گوگرد کل براساس استاندارد ASTM D4294 میزان گوگرد در برش‌های نفتی را آنالیز و براساس ppm گزارش می‌نماید [۲۴] .

بحث و نتایج

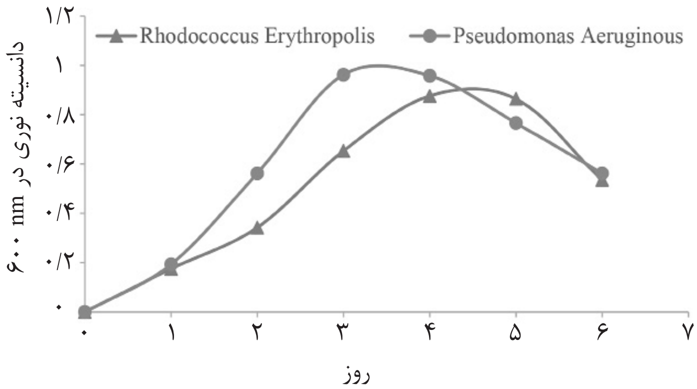
شناسایی نمونه باکتری‌های

ابتدا میکروارگانیسم‌ها از نمونه اصلی به محیط‌های انتخابی، که شامل بلاد آگار- شکلات آگار- EMB آگار- محیط مایع تیوگلی‌کولات است، طبق روش استاندارد انتقال داده می‌شود. برای تعیین هویت یک کلنی را برداشته و بعد از پاساژ در محیط‌های انتخابی پلیت به‌مدت h ۲۴-۱۸ در انکوباتور C˚ ۳۷ قرار داده تا ارگانیسم مورد نظر رشد نماید. سپس جهت تشخیص براساس استاندارد اقدام می‌گردد.

دو نوع باکتری شناسائی و جدا گردید. توالی 16SrDNA به‌ترتیب تشابه ۹۸/۶٪ و ۹۹٪ با *Pseudomonas aeruginosa* (به شماره دسترسی ATCC9027 بانک ژنتیک *NCBI*) و *Rhodococcus erythropolis* (به شماره دسترسی GU570564 بانک ژنتیک *NCBI*) نشان می‌دهند. سودوموناس‌ها یکی از مهم‌ترین جنس‌های موجود در خانواده سودوموناسه محسوب می‌شوند. باکتری‌های موجود در این جنس همگی میله‌ای شکل، مستقیم یا کمی منحنی، گرم منفی غیر اسید فست و بدون اسپور هستند. این باکتری‌ها به‌شدت هوازی بوده و از مولکول اکسیژن به‌عنوان گیرنده نهایی الکترون استفاده می‌کنند. رودوکوکوس نوعی از باکتری‌های گرم مثبت هوازی هستند که شامل دو دسته مایکوباکتریوم و کورین باکتری است و در طیف وسیعی از محیط‌ها از جمله خاک، آب و سلول‌های یوکاریوتی رشد می‌کنند. باکتری‌های رودوکوکوس به‌دلیل توانایی در تجزیه مواد پروتوپلاسمی سلولی طیف گسترده‌ای از ترکیبات و تولید استروئیدهای فعال زیستی، آکریلامید و اسید اکریلیک و دخالت آنها در گوگردزدائی سوخت‌های فسیلی مهم هستند. رودوکوکوس‌ها دارای خاصیت آب‌گریزی زیاد هستند که این خاصیت حلالیت آنها را در محیط‌های آلی تسهیل می‌کنند. همچنین، مقاومت بالائی نسبت به محیط‌های آلی از خود نشان می‌دهند [۲۵]. سودوموناس‌ها دارای خاصیت آب‌گریزی کمتری نسبت به رودوکوکوس‌ها دارند ولی مقاومت خوبی در محیط‌های آلی از خود نشان می‌دهند [۲۶]. با توجه به منحنی رشد میکروارگانیسم‌ها شکل ۱ مشاهده می‌گردد حداکثر رشد میکروارگانیسم‌ها در روزهای سوم تا پنجم اتفاق می‌افتد.

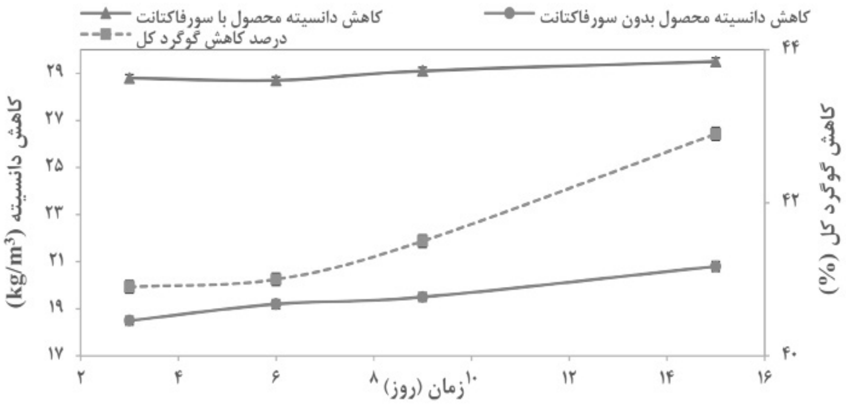
تأثیر زمان

برای بررسی تأثیر زمان واکنش بر کاهش دانسیته و کاهش گوگرد کل نمونه‌های نفت کوره از mL ۲ محیط کشت حاوی میکروارگانیسم در pH= ۷، دمای C˚ ۳۰ و میزان mL ۱۰ نفت کوره استفاده گردید.



شکل ۱ منحنی رشد زمانی میکروارگانیسم‌ها

نتایج به‌دست آمده در شکل ۲ نشان داده شده است. با توجه نتایج به‌دست آمده مشاهده می‌گردد بعد از سه روز میزان تأثیر میکروارگانیسم در کاهش دانسیته بسیار ناچیز است. همچنین، درصد کاهش گوگرد کل نیز افزایش حدود دو درصدی را نشان می‌دهد. دلیل این امر می‌تواند، به‌دست آمدن حداکثر سرعت رشد میکروارگانیسم‌ها در روزهای سوم و چهارم باشد. براساس تست کدورت، حداکثر رشد میکروارگانیسم‌ها در روزهای سوم و چهارم اتفاق می‌افتد و پس از آن، میزان جمعیت مبکروبی کاهش می‌یابد. بنابراین، زمان انجام آزمایش‌ها سه روز در نظر گرفته می‌شود. چالش اساسی بکارگیری فرآیندهای بر مبنای آنزیم، فعالیت بیولوژیکی آنزیم‌ها در محیط آلی با ویسکوزیته بالا است. با توجه به اینکه نفت کوره ترکیب آب‌گریزی بوده و از آب سبک‌تر است، لذا تمایل دارد همواره روی سطح آب قرار گیرد. معمولاً هیدروکربن‌هایی که دارای زنجیره بیشتر از ۳۶ کربن هستند دارای ویسکوزیته بالا و تنش سطحی زیاد هستند. این موضوع باعث خارج شدن هیدروکربن‌ها از جریان سیال و محدودیت انتقال جرم و در نتیجه، کاهش در دسترس بودن آن به‌عنوان سوبسترا خواهد شد [۲۷]. با افزودن مواد فعال‌سطحی تنش سطحی بین نفت کوره و محیط کشت کاهش یافته و حلالیت نفت در آب افزایش می‌یابد. در نتیجه میزان بازدهی سیستم در این حالت افزایش نسبی را نشان می‌دهد. یکی از راه‌های مورد استفاده میکروارگانیسم‌ها برای دسترسی به هیدروکربن‌ها و سایر ترکیبات آب‌گریز تولید مواد فعال‌سطحی زیستی است .میکروارگانیسم‌ها انواع مختلفی از ترکیبات فعال‌سطحی با وزن مولکولی کم یا زیاد را تولید می‌کنند. نرخ تولید مواد فعال‌سطحی زیستی تابعی از نوع سوبسترا و شرایط شیمیایی و فیزیکی محیط کشت مانند pH و دما است. باکتری‌های سودوموناس آیروژینوس و رودوکوکوس اریتروپلیس قبل از افزودن مواد فعال‌سطحی شیمیایی به‌خوبی در محیط حاوی نفت کوره رشد می‌نمایند. همچنین، کف تشکیل شده در محیط کشت قبل از افزودن مواد فعال‌سطحی شیمیایی نشان‌دهنده تولید مواد فعال‌سطحی زیستی است. به‌علاوه با توجه به تولید مواد واسطه در فرآیند گوگردزدائی، این امکان وجود دارد که مواد فعال‌سطحی زیستی تولید شده خروج این مواد از داخل سلول را تسهیل نموده و از میزان بازدارندگی آن بکاهد [۲۸]. با توجه به شکل ۲ مشاهده می‌شود که مواد فعال‌سطحی زیستی تولید شده موجب دسترسی میکروارگانیسم‌ها به هیدروکربن شده و منجر به کاهش دانسیته نفت کوره و نیز کاهش گوگرد کل می‌گردد. میزان نهایی دانسیته محصول پس از پانزده روز در شرایط ذکر شده از ۹۲۲ g/cm^3 در حالت بدون مواد فعال‌سطحی به ۹۱۳/۴ g/cm^3 در حالت با مواد فعال‌سطحی کاهش می‌یابد و گوگرد کل نیز به ۱۴۵۰۳ ppm کاهش می‌یابد.



شکل ۲ تغییرات کاهش دانسیته و درصد گوگرد کل با زمان کشت در محیط کشت در دمای ۳۰ °C، pH= ۷، ۲ mL میکروارگانیسم و میزان ۱۰ mL نفت کوره

تأثیر مواد فعال‌سطحی بر میزان دسترسی میکروارگانیسم‌ها به ترکیبات آلی را می‌توان با سه مکانیسم اصلی توضیح داد: پخش مواد آلی در فاز غیرآبی که موجب افزایش سطح تماس در اثر کاهش تنش سطحی بین دو فاز آبی و آلی می‌گردد و حلالیت مؤثر هیدروکربن‌ها را در حضور مایسل‌های تشکیل شده افزایش می‌دهد و میکروارگانیسم‌ها هیدروکربن‌ها را از طریق هسته مایسل‌ها دریافت می‌کنند. در مکانیسم دوم، دیگر مواد فعال‌سطحی موجب افزایش نرخ انتقال جرم مواد آلی به فاز آبی می‌گردند و آنها را در دسترس میکروارگانیسم‌ها قرار می‌دهند. در مکانیسم سوم، افزودن مواد فعال‌سطحی موجب تغییر آب‌گریزی میکروارگانیسم شده و تماس بین میکروارگانیسم و هیدروکربن را افزایش می‌دهد. گونه *Pseudomonas aeruginosa* قادر به تولید مواد فعال‌سطحی زیستی رهامنولیپید (*rhamno-lipids*) [۲۹] و گونه *Rhodococcus erythropolis* قادر به تولید مواد فعال‌سطحی زیستی ترهالوز دیمایکولیپید (*trehalose dimycolipids*) هستند [۳۰].

مخلوط مواد فعال‌سطحی- مواد فعال‌سطحی زیستی خواص سطحی مناسب‌تری نسبت به مواد فعال‌سطحی زیستی به تنهائی از خود نشان می‌دهد. در مخلوط مواد فعال‌سطحی- مواد فعال‌سطحی زیستی جذب آنها به سطح مشترک، نسبت به مواد فعال‌سطحی زیستی، افزایش یافته و موجب کاهش تنش سطحی بین دو فاز می‌گردند [۳۱]. همان‌گونه که از نتایج مشاهده می‌شود، با افزودن مواد فعال‌سطحی به محیط کشت بازده میکروارگانیسم برای کاهش دانسیته برش نفتی و درصد گوگرد کل افزایش می‌یابد، که به‌دلیل تقویت همکاری مخلوط مواد فعال‌سطحی و مواد فعال‌سطحی زیستی و انعطاف‌پذیری بیشتر برای پردازش مواد آلی است. سدیم دودسیل سولفات یکی از رایج‌ترین مواد فعال‌سطحی است. این ماده یک ترکیب شیمیائی امولسیون‌کننده، پُف‌دهنده، تسریع‌کننده انحلال، و با خاصیت کف‌کنندگی است که از آن در صنایع شویندگی یا مواد غذائی استفاده می‌شود و ماده فعال‌کننده سطحی آنیونی در تولید شامپو است. استفاده از مواد فعال‌سطحی به‌همراه اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید (EDTA) به‌طور معنی‌داری در مقایسه با مواد فعال‌سطحی به تنهایی، انرژی سطحی را افزایش می‌دهد. افزودن سدیم دودسیل سولفات و EDTA، در مقادیر کم، به محیط کشت موجب القا بیشتر ترشح ترکیب فعال می‌گردد. این امر موجب بهبود عملکرد مواد فعال‌سطحی زیستی تولید شده توسط افزایش سوبسترا محلول در آب و یا حل شدن لایه‌های غیرقطبی هیدروکربن در محیط کشت می‌گردد. همچنین، EDTA می‌تواند به‌صورت بالقوه به تشکیل

پژوهش نفت شماره ۱۱۸، مرداد و شهریور ۱۴۰۰، صفحه ۱۴۸-۱۳۴

کمپلکس‌هایی با یون‌های فلزی کمک کرده و آنها را در دسترس میکروارگانیسم قرار دهد [۳۲].

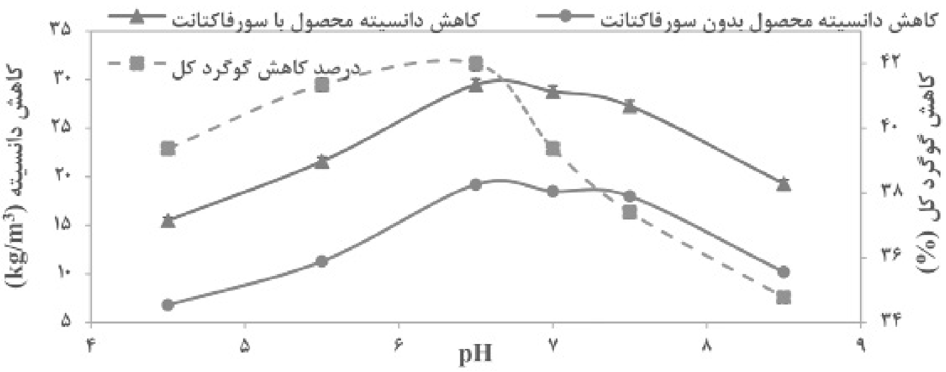
تأثیر pH

برای بررسی تأثیر pH بر کاهش دانسیته و کاهش گوگرد کل نمونه‌های نفت کوره از ۲ mL محیط کشت حاوی میکروارگانیسم در زمان ۳ روز، دمای ۳۰ °C و میزان ۱۰ mL نفت کوره استفاده گردید. نتایج به‌دست آمده در شکل ۳ نشان داده شده است. میزان نهایی دانسیته محصول در pH برابر ۶/۵ در شرایط ذکر شده از ۹۲۳ g/cm³ در حالت بدون مواد فعال‌سطحی به ۹۱۳/۲ g/cm³ در حالت با مواد فعال‌سطحی کاهش می‌یابد و گوگرد کل نیز به ۱۴۷۳۲ ppm کاهش می‌یابد.

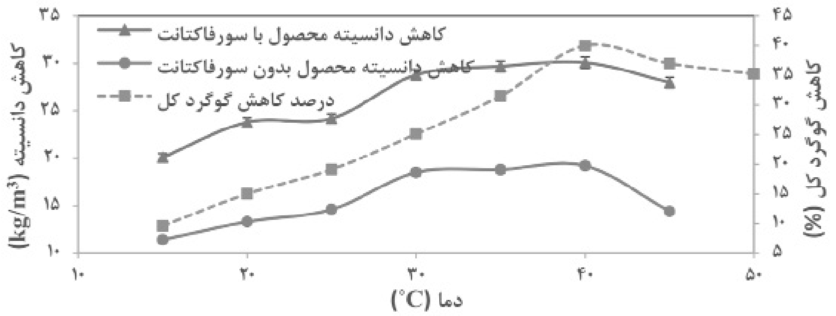
یکی از عوامل مؤثر بر فرآیندهای زیستی، pH محیط است. طبق بررسی‌های انجام شده و همچنین، شرایط عملیاتی در بسیاری از فرآیندهای زیستی می‌توان نتیجه گرفت که بهترین pH محیط، همان شرایط خنثی pH برابر ۷ تا ۸ است. معمولاً باکتری‌ها و قارچها در pH نزدیک به خنثی رشد می‌کنند. افزایش pH از مقدار خنثی باعث افت قابل توجه تجزیه هیدروکربن‌ها شده و در بعضی مواقع، pH اسیدی باعث توقف تجزیه بیولوژیکی نیز می‌گردد. با توجه به نتایج، بهترین pH که باعث بیشرین کاهش ویسکوزیته گردیده است برابر با ۶/۵ بوده که یکی از دلایل آن این است که بیشتر باکتری‌ها در pH حدود خنثی بهتر رشد می‌کنند. اگر محیط زیاد اسیدی و یا قلیایی باشد باکتری‌ها ابتدا رشد وسپس حیات خود را از دست می‌دهند در حالی که قارچها در محیطهای اسیدی مقاوت بیشتری دارند. pH بهینه برای رشد این باکتری بین ۶/۷ تا ۷/۲ است [۳۳ و ۳۴]. در این مطالعه تنظیم pH از ۴/۵ تا ۸/۵ باعث نتیجه‌ای نزدیک به ۱/۱۳ برابر سرعت تقلیل بیولوژیکی نفت کوره شده است.

تأثیر دما

برای بررسی تأثیر دما بر کاهش دانسیته و کاهش گوگرد کل نمونه‌های نفت کوره از ۲ mL محیط کشت حاوی میکروارگانیسم در زمان ۳ روز، pH = ۶/۵ و میزان ۱۰ mL نفت کوره استفاده گردید. نتایج به‌دست آمده در شکل ۴ نشان داده شده است. میزان نهایی دانسیته محصول در دمای ۴۰ °C در شرایط ذکر شده از ۹۲۳ g/cm³ در حالت بدون مواد فعال‌سطحی به ۹۱۲/۷ g/cm³ در حالت با مواد فعال‌سطحی کاهش می‌یابد و گوگرد کل نیز به ۱۵۲۴۰ ppm کاهش می‌یابد. دما از دو روش متفاوت بر میکروارگانیزمها تأثیر می‌گذارد: با افزایش دما تا یک حد مشخص واکنش‌های آنزیمی و شیمیایی درون سلول با سرعت بیشتری انجام شده و رشد سریع‌تر می‌شود.



شکل ۳ وابستگی کاهش دانسیته و درصد کاهش گوگرد کل به pH محیط کشت در دمای ۳۰ °C، مدت زمان سه روز، ۲ mL میکروارگانیسم و میزان ۱۰ mL نفت کوره

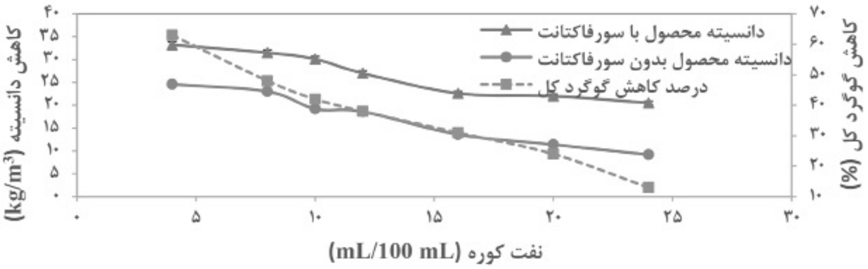


شکل ۴ وابستگی کاهش دانسیته و درصد گوگرد کل به دمای محیط کشت در pH= ۶/۵، مدت زمان سه روز، ۲ mL میکروارگانیسم و میزان ۱۰ mL نفت کوره

ولی پس از آن افزایش دما باعث از بین رفتن ساختار میکروارگانیسم و تخریب سلولی شده و فعالیت سلول به‌شدت کاهش می‌یابد. دمای بهینه رشد، بیانگر حالتی است که تمام و یا اغلب اجزای سلولی در بالاترین میزان سرعت فعالیت می‌کنند. معمولاً بهترین محدوده دما بین ۲۰ تا ۴۰ °C قرار دارد. دما همچنین بر روی خواص فیزیکی هیدروکربن‌ها اثرگذار می‌باشد. در دمای کم، ویسکوزیته هیدروکربن‌ها افزایش می‌یابد و در نتیجه حلالیت و پخش هیدروکربن‌ها در آب کمتر شده و هیدروکربن کمتری در تماس با میکرارگانیسم‌ها است، که باعث کاهش شروع حذف بیولوژیکی می‌شود. در نتیجه میزان هیدروکربن‌های متابولیز شده توسط میکرارگانیسم‌ها کاهش می‌یابد. همچنین، اجزای سبک نفت که دارای فراریت کمتری هستند به‌مدت طولانی در محلول باقی‌مانده و بدلیل سمیت فعالیت میکروبی را کاهش می‌دهند. مراحل اولیه در شکست پیوندهای درون مولکولی هیدروکربن‌های نفتی از طریق اکسیداسیون صورت می‌گیرد و در نتیجه نیازمند به اکسیژن مولکولی است. از آنجا که دما میزان حلالیت اکسیژن و هوا را تغییر می‌دهد، به‌طور مستقیم برروی شکست پیوندهای درون مولکولی هیدروکربن‌ها تأثیر می‌گذارد. سرعت‌های واکنش حذف و شکست مولکولی با کاهش دما کاهش می‌یابد [۳۵]. سودوموناس آیروژینوزا باسیل گرم منفی است و توانایی رشد درجه حرارت‌های بین ۵ تا ۴۲ °C را دارد. با توجه به نمودارهای پاسخ می‌توان بهترین و مؤثرترین شرایط جهت حداکثر کاهش میزان ویسکوزیته را تعیین نمود. نمودار نتایج نشان می‌دهد که در دمای ۴۰ °C بهترین نتیجه حاصل گردیده است [۳۳ و ۳۴].

تأثیر ترکیب و غلظت هیدروکربن‌های نفتی(غلظت نفت کوره)

جهت بررسی تأثیر غلظت هیدروکربن بر شکست مولکولی مقادیر مختلف نفت کوره به ارلن مایر حاوی محیط کشت افزوده شده و pH آن را برابر ۶/۵ تنظیم نموده. میزان میکروارگانیسم در تمام نمونه‌ها برابر ۲ mL است. همچنین دمای واکنش برابر ۴۰ °C تنظیم شده است. زمان انجام واکنش ۳ روز در نظر گرفته شده است. نتایج در شکل ۵ نشان داده شده است. بیشترین میزان نهایی دانسیته محصول در شرایط ذکر شده از ۹۱۸/۲ kg/m³ در حالت بدون مواد فعال‌سطحی به ۹۰۹/۶ kg/m³ در حالت با مواد فعال‌سطحی کاهش می‌یابد و گوگرد کل نیز به ۹۴۰۰ ppm کاهش می‌یابد. نتایج نشان می‌دهد با افزایش میزان نفت کوره نمونه‌ها راندمان اثر میکروارگانیسم‌ها کاهش یافته که به‌علت‌های مختلف از جمله میزان مقاومت میکروارگانیسم در حضور هیدروکربن، نرخ انتقال جرم ترکیبات آلی بین فاز هیدروکربن و فاز آب، انتقال مؤثر اکسیژن بین دو فاز می‌توان اشاره نمود [۳۵]. اکسیژن یکی از مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر و مورد نیاز شکست پیوندهای درون مولکولی هیدروکربن‌ها توسط میکروارگانیسم است.



شکل ۵ نتایج کاهش دانسیته و درصد کاهش گوگرد کل براساس میزان نفت کوره در دمای C° ۴۰، ۶/۵ =pH، مدت زمان سه روز و حجم میکرو ارگانیسم اضافه شده ۲ mL

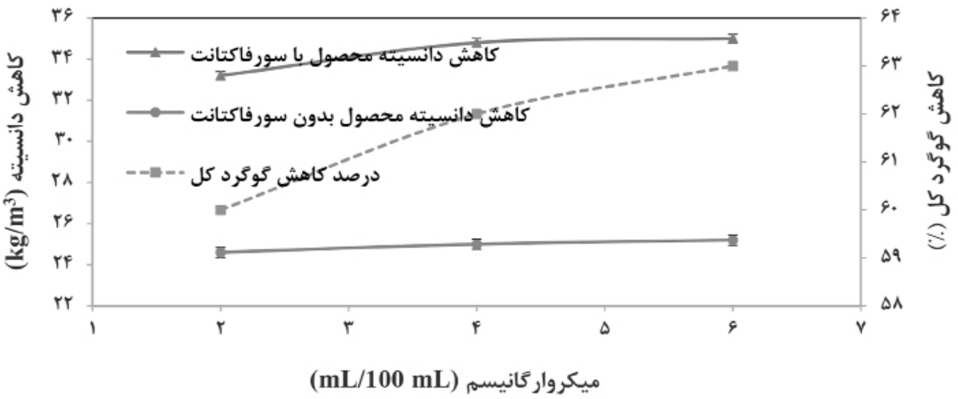
باکتری‌ها به منظور شروع حمله به هیدروکربن‌ها از اکسیژن در شرایط هوازی استفاده می‌کنند. با توجه به این که دانسیته هیدروکربن‌ها از آب کمتر است، در سطح مخلوط قرار گرفته و دسترسی میکروارگانیسم‌ها به اکسیژن کاهش می‌یابد. بنابراین، میزان تأثیر آنها بر ترکیبات نفتی کاهش می‌یابد. همچنین، افزودن هیدروکربن‌ها به محیط آبی باعث افزایش نسبت کربن به نیتروژن و یا نسبت کربن به مجموع فسفر و نیتروژن می‌گردد زیرا هیدروکربن‌ها دارای غلظت بسیار کم ترکیبات معدنی هستند و کمبود نیتروژن و فسفر عامل محدودکننده واکنش‌های شکست پیوند درون مولکولی می‌شود [۳۶]. وارد کردن مقادیر زیادی از منابع آلی کربن باعث ایجاد یک نقصان مواد مغذی غیرآلی سودمند شده و باعث محدود شدن مقدار کاهش بیولوژیکی می‌شود. همان‌گونه که از نتایج مشاهده می‌گردد با افزایش SDS و EDTA به محلول‌ها میزان کاهش دانسیته بیشتر می‌شود. افزایش میزان ترکیبات مذکور در غلظت‌های بالا نفت کوره تاثیر بیشتری دارد، زیرا این ترکیبات باعث افزایش دسترسی میکروارگانیسم‌ها به ترکیبات نفتی می‌گردد.

تأثیر جمعیت میکروبی

برای بررسی تأثیر میزان میکروارگانیسم بر کاهش دانسیته و کاهش گوگرد کل نمونه‌های نفت کوره از مقادیر مختلف میکروارگانیسم در زمان ۳ روز، ۶/۵ = pH، دمای C° ۴۰ و میزان ۴ mL نفت کوره استفاده گردید. نتایج به‌دست آمده در شکل ۶ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌گردد با افزایش میزان میکروارگانیسم میزان کاهش دانسیته، افزایش بسیار کمی را نشان می‌دهد و کاهش گوگرد کل نیز تغییر اندکی (کمتر از سه درصد) دارد که می‌تواند به‌علت کمبود میزان مواد مغذی در نمونه جهت رشد میکروارگانیسم‌ها باشد. با توجه به نتایج حاصل شده بهترین شرایط در دمای C° ۴۰، ۶/۵=pH، مدت زمان سه روز و میزان ۴ mL نفت کوره و حجم ۲ mL از میکروارگانیسم‌ها به‌دست می‌آید. در این شرایط، دانسیته برش به‌میزان ۳۴٪ و گوگرد کل نیز به‌میزان ۶۰٪ کاهش می‌یابند. بیشترین میزان نهایی دانسیته محصول در شرایط ذکر شده از ۹۰۷/۸ kg/m³ در حالت بدون مواد فعال‌سطحی به ۹۰۷/۸ kg/m³ در حالت با مواد فعال‌سطحی کاهش می‌یابد و گوگرد کل نیز به ۹۴۰۰ ppm کاهش می‌یابد.

ترکیب برش نفت کوره

نتایج تست SARA برش اولیه نفت کوره و نمونه اصلاح شده در شرایط بهینه در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که از نتایج مشاهده می‌شود میزان ترکیبات آروماتیک کاهش و ترکیبات آلیفاتیک افزایش یافته‌اند. با کاهش درصد آروماتیک‌ها دانسیته کاهش می‌یابد. در حقیقت، شکستن پیوند کربن-گوگرد در مولکول‌های حلقوی غیرهمگن حاوی اتم‌های گوگرد موجب کاهش ویسکوزیته می‌گردد [۳۷ و ۳۸].



شکل ۶ وابستگی کاهش دانسیته و درصد گوگرد کل به میران میکروارگانیسم‌ها در محیط کشت در دمای $^{\circ}$C ۴۰، ۶/۵= pH، مدت زمان سه روز و میزان ۴ mL نفت کوره

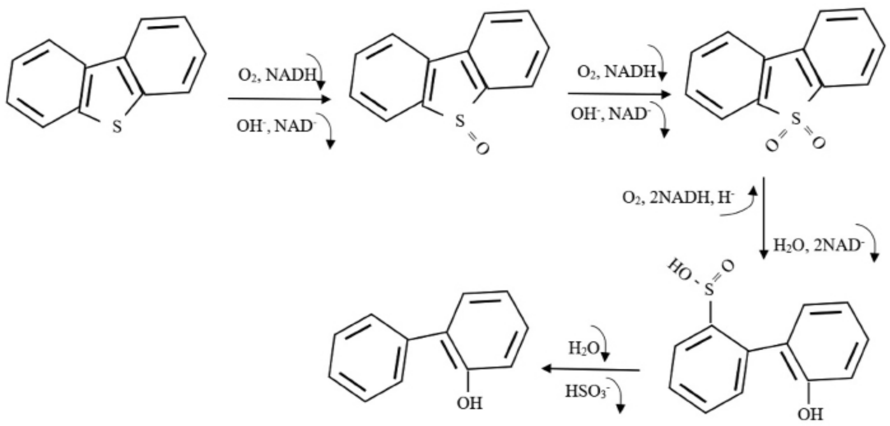
جدول ۱ نتایج تست SARA برش اولیه نفت کوره و نمونه اصلاح شده

		نفت کوره اولیه	نمونه اصلاح‌شده	
دانسیته در ۶۰ °F (g/cm^3)		۴ ۸	۹ ۶	
رسوبات و آب (درصد حجمی)		/۰ ۵	< /۰ ۵	
ترکیبات	آنالیز SARA			درصد تغییر
اشباع (وزنی ٪)		/۲۳	/ ۴	۱ / ۷
آروماتیک (وزنی ٪)		/۲۱	۸	-۳ ۶
رزین (وزنی ٪)		۹	۴۲	۶
آسفالتین (وزنی ٪)			/	-
دیگر ترکیبات (وزنی ٪)		/		
	ترکیبات فاز اشباع			
پارافین‌ها (وزنی ٪)			۳	
ایزوپارافین‌ها (وزنی ٪)		۱ /	/	- /
آروماتیک‌ها (وزنی ٪)		۹	۷	-۲۰۰
نفتن‌ها (وزنی ٪)		/ ۵	۴ ۶	-۱ / ۷
اولفین‌ها (وزنی ٪)		۲ ۹	۶	/۳۱
اکسیژنیت‌ها (وزنی ٪)		۰	۰	-
نامشخص (وزنی ٪)		۴	۸۳	۴ ۶
	ترکیبات فاز آروماتیک			
پارافین‌ها (وزنی ٪)				
ایزوپارافین‌ها (وزنی ٪)		/۱۳	۴۳	/۰۳
آروماتیک‌ها (وزنی ٪)		۷۳	۸ / ۹	/۳۱
نفتن‌ها (وزنی ٪)		/۳	/	/
اولفین‌ها (وزنی ٪)		/ ۸	۴	۱ /۰۱
اکسیژنیت‌ها (وزنی ٪)		۰	۰	-
نامشخص (وزنی ٪)			۱ /	-۳

پژوهش نفت شماره ۱۱۸، مرداد و شهریور ۱۴۰۰، صفحه ۱۴۸-۱۳۴

مکانیسم مطرح ۴ S شامل چهار ترکیب واسطه گوگرد است. در این مکانیسم، اکسیداسیون گوگرد همراه با شکستن پیوند گوگرد- کربن به‌صورت متوالی صورت می‌گیرد و گوگرد بدون برهم زدن ساختار هیدروکربن از آن خارج می‌شود. این مسیر شامل چهار مرحله واکنش آنزیمی است که در شکل ۷ نشان داده شده است. آنزیم‌ها به قسمت حاوی گوگرد حمله کرده و به‌صورت انتخاب‌گر گوگرد را از هیدروکربن خارج می‌کند. واکنش کامل گوگردزدائی زیستی از هیدروکربن‌ها در مسیر ۴ S را می‌توان به سه مرحله تقسیم نمود: ۱) فعال‌سازی شکست حلقه حاوی گوگرد با اکسیداسیون گوگرد، ۲) تشکیل سولفونات آروماتیک ناشی از شکست حلقه حاوی گوگرد، و ۳) خارج‌سازی گروه سولفونات. ترکیبات آروماتیک حاوی گوگرد ابتدا توسط دو واکنش متوالی اکسید شده و تبدیل به فرم سولفون متناظر این ترکیبات شده و سپس این ترکیبات میانی هیدروکسیله شده و پیوند گوگرد- کربن شکسته می‌شود. در نتیجه اسید سولفونیک متناظر تشکیل می‌گردد و اتم گوگرد توسط یک واکنش هیدرولیز اسیدسازی شده تبدیل به محصول گوگردگیری شده می‌شود. اثر NADH به‌عنوان کوفاکتور برروی فعالیت گوگردزدائی رودوکوکوس و سودوموناس از طریق مسیر 4S توسط سوسا و همکاران مورد بررسی قرار گرفته است [۳۹ و ۴۰]. ایشان نشان دادند که سویه‌های رودوکوکوس و سودوموناس قادر به استفاده از ترکیبات مختلفی از جمله تیوفن‌ها، سولفیدها، دی‌سولفیدها، مرکاپتان‌ها، سولفواکسیدها و سولفون‌ها به‌عنوان منبع گوگرد هستند.

میکروارگانیسم‌ها همچنین قادر به حذف گوگرد موجود در زنجیره خطی بین بخش‌های آروماتیک بزرگ‌تر یا آلیفاتیک بزرگ‌تر هستند [۴۱]. سودوموناس آئروژینوزا و رودوکوکوس اریتروپلیس دارای مکانیسم‌های هیدروکسیله کردن برای تجزیه ترکیبات آروماتیک به‌صورت ارتو می‌باشد. کاهش وزن مولکول از طریق تقسیم زنجیره‌های آلفاتیک یا حلقه‌های آروماتیک ازمولکول اصلی به‌خوبی در نتایج آزمایش مشاهده می‌گردد [۷]. مکانیسم‌های شکست حلقه ترکیبات آروماتیک به‌وسیله سودوموناس‌ها با دو روش ارتو و متا انجام می‌پذیرد [۳۴ و ۴۲] و استفاده از مخلوط باکتری موجب افزایش اصلاح برش نفتی و حذف انواع ترکیبات گوگرد موجود در برش می‌گردد.



شکل ۷ مکانیسم ۴ S برای شکستن پیوند کربن-گوگرد در مولکول‌های حلقوی حاوی گوگرد [۳۹]

نتیجه‌گیری

در این تحقیق، ارتقا برش نفت کوره با استفاده از میکروارگانیسم‌های سودوموناس آیروژینوس و رودوکوکوس اریتروپلیس و تأثیر پارامترهای عملیاتی بر این فرآیند مورد بررسی قرار گرفته است. با توجه به نتایج به‌دست آمده، بیشترین میزان کاهش دانسیته نفت کوره در دمای ۴۰ °C، pH= ۶/۵، مدت زمان سه روز و حجم میکروارگانیسم اضافه شده ۲ mL، چهار درصد حجمی نفت کوره و با حضور SDS و EDTA حاصل گردیده است. میزان دانسیته در شرایط مذکور برابر با ۰/۹۰۹۶ kg/L است که با توجه به دانسیته نفت کوره پالایشگاه کرمانشاه ۰/۹۴۲۸ kg/L و دانسیته نفت گاز پالایشگاه مذکور که معادل ۰/۸۳۲ kg/L است، تبدیل حدود سی درصدی نفت کوره به نفت گاز مشاهده می‌گردد. همچنین، گوگرد کل به‌میزان بیش از ۶۰٪ کاهش یافته است. با توجه به اینکه در حال حاضر میزان تولید نفت کوره پالایشگاه حدود ۴۰٪ کل محصولات است و با توجه به قیمت‌های جهانی نفت کوره و نفت گاز تبدیل فوق از لحاظ اقتصادی بسیار مقرون به‌صرفه است. نتایج حاصل از این تحقیق می‌تواند به‌عنوان یک گزینه برای ارتقا برش‌های سنگین نفتی و تبدیل آنها به برش‌های سبک‌تر، با استفاده از مکانیزم شکست مولکول‌های سنگین به مولکول‌های کوچک‌تر و حذف اتم‌های غیرهمگن از آنها بدون کاهش ارزش حرارتی آنها مورد توجه قرار گیرد.

مراجع

[1]. Speight J G (2013) Refining heavy oil and extra-heavy oil, in: Delmon B, Yates JT, and Centi G (Eds.), Heavy and Extra-Heavy Oil Upgrading Technologies, Elsevier, 164: 1–14.
[2]. Kilbane J J (2006) Microbial biocatalyst developments to upgrade fossil fuels, Journal Current Opinion in Biotechnology, 17: 305–314.
[3]. Ayala M, Vazquez-Duhalt R, Morales M, Le Borgne S, (2016) Application of microorganisms to the processing and upgrading of crude oil and fractions, In Lee S. (Eds.) Consequences of Microbial Interactions with Hydrocarbons, Oils, and Lipids: Production of Fuels and Chemicals. Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology. Springer, 1-36.
[4]. Bachmann R, Johnson A, Edyvean R, (2014) Biotechnology in the petroleum industry: an overview, International biodeterioration and biodegradation, 86: 225–237.
[5]. Chapman J, Ismail A E, Dinu C Z, (2018) Industrial Applications of Enzymes: Recent Advances, Techniques, and Outlooks, Catalysts, 8, 6: Article 238. doi:10.3390/catal8060238.
[6]. Wang W, Shao Z, (2013) Enzymes and genes involved in aerobic alkane degradation, Fronties in Microbiology, 4: Article 116. doi:10.3389/fmicb.2013.00116.
[7]. Van Hamme J D, Fedorak P M, Foght J M, Gray M R, Dettman H D, (2004) Use of a novel fluorinated organosulfur compound to isolate bacteria capable of carbon-sulfur bond cleavage, Applied and Environmental Microbiology, 70, 3:1487–1493.
[8]. Mohammad M E S., Al-Yacoub Z H, Vedakumar J V (2015) Biocatalytic desulfurization of thiophenic compounds and crude oil by newly isolated bacteria, Frontiers in Microbiology, 6: Article 112.
[9]. Bhatia S, Sharma D K (2012) Thermophilic desulfurization of dibenzothiophene and different petroleum oils by Klebsiella sp. 13T, Environmental Science and Pollution Research, 19: 3491–3497.
[10]. Baldi F, Pepi M, Fava F, (2003) Growth of rhodosporidium toruloides strain DBVPG 6662 on dibenzothiophene crystals and rimulsion, Applied and Environmental Microbiology, 69, 8:4689-4696.
[11]. Chen Sh, Sun Sh, Zhao Ch, Liu Q, Zang M, (2019) Biodesulfurization of model oil using growing cells of Gordonia sp. SC-10, Petroleum Science and Technology, 37, 8: 907-912.
[12]. Ranson I, Rivas CM, (2002) Biodesulfurization of hydrocarbons, Patent U.S. 6808919 B2.
[13]. Bhatia S, Sharma DK, (2010) Biodesulfurization of dibenzothiophene, its alkylated derivatives and crude oil by a newly isolated strain Pantoea agglomerans D23W3, Biochemical Engineering Journal, 50: 104-109.
[14]. Tabatabaee MS, Mazaheri Assadi M, (2013) Vacuum distillation residue upgrading by an indigenous Bacillus cereus, Journal of Environmental Health Sciences and Engineering, 11: Article 18.
[15]. Shahebrahimi Y, Fazlali A, Motamedi H, Kord S, Mohammadi AH, (2020) Effect of Various Isolated Microbial Consortiums on the Biodegradation Process of Precipitated Asphaltenes from Crude Oil, ACS Omega, 5, 7:.3131–3143.

[16]. Lavania M, Cheema S, Lal B (2015) Potential of viscosity reducing thermophillic anaerobic bacterial consortium TERIB#90 in upgrading heavy oil, Fuel, 144: 349–357.
[17]. Ghollami M, Roayaei M, Ghavipanjeh F, Rasekh B (2013) Bioconversion of Heavy Hydrocarbon Cuts Containing High Amounts of Resins by Microbial Consortia, Journal of Petroleum and Environmental Biotechnology, 4, 2: Article 139.
[18]. Banoth S, Kaannoju B, Nunavath H, Branoth C H, pasha Ch (2013) Biotransformation and biocracking of long chain fatty acids and Hyderocarbons, Technology spectrum, 6, 1: 83-89.
[19]. Wentzel A, Ellingsen T E, Kotlar H-K, Zotchev SB, Throne-Holst M (2007) Bacterial metabolism of long-chain n-alkanes, Appllied Microbiol Biotechnology, 76: 1209–1221.
[20]. Fariq A, Yasmin A (2020) Production, characterization and bioactivities of biosurfactants from newly isolated strictly halophilic bacteria, Process Biochemistry, 98: 1-10.
[21]. Claus D (1992) A standardized gram staining procedure, World J Microbiology Biotechnol, 8: 451–452.
[22]. Marmur J (1961) A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms, J Molecular Biololgy, 3: 208–218.
[23]. ASTM D4124-09 (2018) Standard Test Method for Separation of Asphalt into Four Fractions, ASTM International, West Conshohocken, PA.
[24]. ASTM D4294-16e1 (2016) Standard Test Method for Sulfur in Petroleum and Petroleum Products by Energy Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometry, ASTM International, West Conshohocken, PA.
[25]. Maass D, Todescato D, Moritz Vladimir Oliveira DEJ, Oliveira D, Ulson de Souza AA, Guelli Souza SMA, (2015) Desulfurization and denitrogenation of heavy gas oil by Rhodococcus erythropolis ATCC 4277, Bioprocess and Biosystems Engineering, 38: 1447–1453.
[26]. Bouchez-Naitali M, Abbad-Andaloussi S, Warzywoda M, Monot F (2004) Relation between bacterial strain resistance to solvents and biodesulfurization activity in organic medum, Applied Microbiology and biotechnology, 65, 4: 440-445.
[27]. Amini F, Samadi N, Harande M, Naghdi M, Sharifan A (2009) Optimization of the production of rhamnolipids by Pseudomonas aeruginosa strains, Iranian Journal of Nutrition Science Food Technology, 4, 1: 33-38.
[28]. Ismail W, Al-Rowaihi I S, Al-Humam A A, Hamza R Y, El-Nayal AM, Bououdina M (2013) Characterization of alipopeptide biosurfactant produced by a crude oil-emulsifying Bacillus sp., International biodeterioration & biodegradation, 84: 168–178.
[29]. Chong H, Li Q (2017) Microbial production of rhamnolipids: opportunities, challenges and strategies, Microbial Cell Factories, 16: Article 137.
[30]. Uchida Y, Misawa S, Nakahara T, Tabuchi T (2014) Factors Affecting the Production of Succinoyl Trehalose Lipids by Rhodococcus erythropolis SD-74 Grown on n-Alkanes, Agricultural and Biological Chemistry, 53, 3: 765-769.
[31]. Chen M L, Penfold J, Thomas R K, Smyth T J P, Perfumo A, Marchant R, Banat I M, Stevenson P, Parry A, Tucker I, Grillo I (2010) Mixing behavior of the biosurfactant, rhamnolipid, with a conventional anionic surfactant, Sodium Dodecyl Benzene Sulfonate, Langmuir, 26, 23: 17958–17968.
[32]. Nurfarahin A H, Mohamed M S, Phang L Y (2018) Culture Medium Development for Microbial-Derived Surfactants Production-An Overview, Molecules, 23, 5: Article 1049.
[33]. Pallcroni N J, Genus I (1984) Pseudomonas mogula, In: Krieg, N. R., Holt J. G., (Eds.), Bergey’s manual of systematic bacteriology. Williams and Wilkins, I: 141-199.
[34]. Collier L, Balows A, Sussman M, (1998) Topley and Wison’s microbiology and microbial infections, Oxford University Press Inc., 245-1138.
[35]. Abin-Fuentes A, Leung J, Mohamed M, Wang D, Prather K (2014) Rate-limiting step analysis of the microbial desulfurization of dibenzothiophene in a model oil system, Biotechnology and Bioengineering, 111, 5:876–84.
[36]. Nurfarahin A H, Mohamed M S, Phang L Y (2018) Culture Medium Development for Microbial-Derived Surfactants Production—An Overview, Molecules, 23, 5: 1049.
[37]. Ma Y L, Lu W, Wan L L, Luo N (2015) Elucidation of fluoranthene degradative characteristics in a newly isolated Achromobacter xylosoxidans DN002, Appllied Biochemistry Biotechnology, 175: 1294-1305.
[38]. Varjani S J (2017) Microbial degradation of petroleum hydrocarbons, Bioresource Technology, 223: 277–286.
[39]. Sousa J P M., Ferreira P, Neves R P P, Ramos M J, Fernandes P A (2020) The bacterial 4S pathway – an economical alternative for crude oil desulphurization that reduces CO_2 emissions, Green Chemistry, 22: 7604-7621.
[40]. Martínez I, Santos V E, García-Ochoa F (2017) Metabolic kinetic model for dibenzothiophene desulfurization through 4S pathway using intracellular compound concentrations, Biochemical Engineering Journal, 117: 89-96.
[41]. Pineda-Flores G, Boll-Arguello G, Lira-Galeana C, Mesta-Howard AM (2004) A microbial consortium isolated from a crude oil sample that uses asphaltenes as a carbon and energy source, Biodegradation, 15, 3: 145–151.
[42]. Lory S, Tai P C (1985) Biochemical and genetic aspects of Pseudomonas aeruginosa of pseudomonas aeruginosa virulence, Part of the Current Topics in Microbiology and Immunology book series, 118: 53-89.

High amounts of heavy hydrocarbons can be a challenge to transfer these molecules to microbial cells. Surfactants can be used to solve this problem. Surfactants are amphipathic molecules with two parts, hydrophobic and hydrophilic. Through accumulation at the interface of two phases, they have the ability to reduce the surface tension between immiscible liquids and increase the solubility and mobility of hydrophobic or insoluble organic compounds [7]. Some biomolecules have the ability to produce biosurfactants. Biosurfactants have advantages such as compatibility with nature, natural degradability, low toxicity, specific performance, high activity under harsh conditions of temperature, high pressure and osmolality and high foaming, which can be combined with surfactants to achieve better results.

Fuel oil is one of the refinery's most produced cuts. According to the world price of fuel oil, the lower of its production causes higher profitability of the refinery. Today, one of the most important units of any refinery is the visbreaker units, which converts heavy cuts into light components and semi-heavy fuel oil. Fuel oil contains some of the crude oil distillation residues from thermal cracking. It is usually a distilled product between 180 and 380 °C and consists mainly of long-chain hydrocarbons, especially alkanes, annular alkanes, and aromatics. It also contains sulfur compounds, oxygen and metals. Its kinematic viscosity is higher than 10 at 180 °C, its flash point is above 50 °C and its density is more than 0.9.

The overall purpose of this study is to improve the properties and upgrading of Kermanshah refinery's fuel oil to more valuable compounds by reducing density and desulfurization, using local microorganisms isolated from the oil sludge of the refinery. The isolated microorganisms have been identified, and the effect of five operational variables of temperature, time, pH, fuel oil concentration and microorganism concentration on the reduction of density, and total sulfur of the oil cut has been investigated and the optimal values of the parameters have been determined. The results of this research can be considered as an option for upgrading heavy oil cuts and turning them into lighter cuts.

Materials and Methods

The chemicals and culture medium used in this study were prepared by Merck (Germany). Fuel oil was obtained from Kermanshah oil refinery. The initial density of the sample is 942.8 kg/m^3, and its total sulfur is 25400 ppm.

Isolation of Bacteria and Investigation of Bacterial Growth

Microorganisms were isolated from oil storage tanks of Kermanshah oil refinery, and cultured in sequential solid and liquid media to obtained pure microorganisms according to standard protocols.

To evaluate the growth of bacteria, the growth of microbial mass of the treated samples was evaluated by examining the turbidity of the samples by a spectrophotometer at a wavelength of 600 nm.

The initial characteristics of the microorganism were determined by clonal characterization, microscopic observation and gram staining.

Desulfurization Reaction and Molecular Cleavage

Desulfurization and molecular cleavage tests were done in 250 ml Erlenmeyer containing 50 ml of culture medium Erlenmeyer are incubated in a shaker-incubator at specific pH and temperatures and a certain amount of fuel oil and microorganisms. After the necessary time, the solution is separated from the cell and tests related to the amount of total sulfur and specific gravity are performed on them. To investigate the effect of surfactant, the culture medium was similar to desulfurization and molecular failure experiments but with the presence of surfactant. Sodium dodecyl sulfate (SDS) and ethylamide tetraacetic acid (EDTA) at the rate of 0.05 g per 50 ml of culture medium were used as surfactants. Each experiment was repeated 3 times, and the mean value was reported.

Measurement of Oil Cuts Compositions

SARA method (ASTM D4124-09) is used to separate heavy fuel oil into saturated, aromatic, resin and asphaltene compounds (SARA) and to measure them. To measure the amount of total sulfur in fuel oil, sulfur analyzer (X-ray fluorescence SLFA-60 Horiba, Japan) was used. Total sulfur oil cuts were determined according to ASTM D4294 standard and reports based on ppm.

Results and Discussion

Identification of bacterial samples

Two types of bacteria were identified and isolated. According to the 16SrDNA, sequences are 98.6% and 99% similar to *Pseudomonas aeruginosa and Rhodococcus erythropolis*, respectively.

According to the growth curve of microorganisms, the maximum growth of microorganisms occurs on the third to fifth days.

Effect of operating parameters on the density and total sulfur reduction

To investigate the effect of reaction time on density reduction and total sulfur reduction of fuel oil samples, 2 ml of culture medium containing microorganisms at pH = 7, temperature of 30 °C and 10 ml of fuel oil were used.

According to the obtained results, it is observed that after three days, the variation of density reduction is very small, also the percentage of total sulfur reduction shows an increase in about two percent. The reason for this can be the maximum growth rate of microorganisms on the third and fourth days. After

that, the microbial population decreases, so the time for testing is considered as three days. Due to the fact that fuel oil is a hydrophobic compound, and it is lighter than water, it tends to always be on the surface of the water. This removes the hydrocarbons from the fluid flow and restricts mass transfer, thus reducing its availability as a substrate. With the addition of surfactant, the surface tension between the fuel oil and the culture medium is reduced, and the oil solubility in water is increased. As a result, the efficiency of the system was increased.

Pseudomonas aeruginosa can produce rhamnolipids biosurfactant and *Rhodococcus erythropolis* can produce trehalose dimycolipids. Surfactant-biosurfactant mixture shows better surface properties than biosurfactant alone. In the surfactant-biosurfactant mixture, their adsorption to the common surface increases compared to the biosurfactants and reduces the surface tension between the two phases.

According to the obtained results, addition of surfactant to the culture media increases the efficiency of the microorganism to reducing the oil cut density and percentage of total sulfur, which is due to the stronger cooperation of the mixture of surfactant and biosurfactants and greater flexibility for processing organic matter.

One of the factors affecting biological processes is the pH of the environment. To investigate the effect of pH, 2 ml of microorganism's media was used for 3 days at a temperature of 30 °C and 10 ml of fuel oil. Bacteria and fungi usually grow at near-neutral pH. Increasing the pH from a neutral value causes a significant decrease in the decomposition of hydrocarbons, and in some cases, an acidic pH also stops the biodegradation. According to the results, the best pH, which caused the greatest decrease in viscosity, was 6.5. In this study, adjusting the pH from 4.5 to 8.5 resulted in a result close to 1.13 times the biological reduction rate of fuel oil.

To investigate the effect of temperature, 2 ml of microorganism's media at 3 days, pH = 6.5 and 10 ml of fuel oil were used. Temperature affects microorganisms in two different ways: by increasing the temperature to a certain extent, the enzymatic and chemical reactions inside the cell take place more rapidly and grow faster. But after that, the increase in temperature causes the destruction of the structure of the microorganism and cell destruction, and the cell activity is drastically reduced. Temperature also affects the physical properties of hydrocarbons. At low temperatures, the viscosity of hydrocarbons increases, and as a result, the solubility and diffusion of hydrocarbons in water decreases and less hydrocarbons are in contact with microbes, which reduces the onset of biological removal.

As a result, the amount of hydrocarbons metabolized by microbes is reduced. Also, light oil components that have less volatility remain in solution for a long time and reduce microbial activity due to toxicity. The early stages in the breakdown of intramolecular bonds of petroleum hydrocarbons take place through oxidation and therefore require molecular oxygen. Because temperature alters the solubility of oxygen, it directly affects the breakdown of intramolecular bonds of hydrocarbons. Pseudomonas aeruginosa is a gram-negative bacillus and has the ability to grow temperatures between 5-42˚C [1].

To investigate the effect of hydrocarbon concentration, different amount of fuel oil were added to Erlenmeyer containing culture medium and its pH was adjusted to 6.5. The amount of microorganisms in all samples is equal to 2 ml. The reaction temperature is also set to 40 °C. The reaction time is 3 days. The results show that by increasing the amount of fuel oil in the samples, the efficiency of microorganisms decreases, which it can be attributed to the various reasons such as the resistance of microorganisms in the presence of hydrocarbons, mass transfer rate of organic compounds between hydrocarbon phase and water phase, and effective oxygen transfer between two phases [1]. Addition of hydrocarbons to the aqueous medium also increases the ratio of carbon to nitrogen or the ratio of carbon to total phosphorus and nitrogen. As can be seen from the results, by increasing surfactants in the solutions, the rate of density reduction increases.

To investigate the effect of microorganisms, different amount of microorganisms at 3 days, pH = 6.5, temperature 40 °C and 4 ml of fuel oil were used. The results of optimum conditions are shown in Figure 1. As can be seen, by increasing microorganism, the decrease in density shows a very small increase and the decrease in total sulfur has a slight change (less than three percent), which can be due to lack of nutrients in the sample for the growth of microorganisms.

According to the results, the best conditions are obtained at a temperature of 40 °C, pH = 6.5, a duration of three days and a volume of 4 ml of furnace oil and 2 ml of microorganisms. Under these conditions, the shear density decreases by 34% and the total sulfur by 60%.

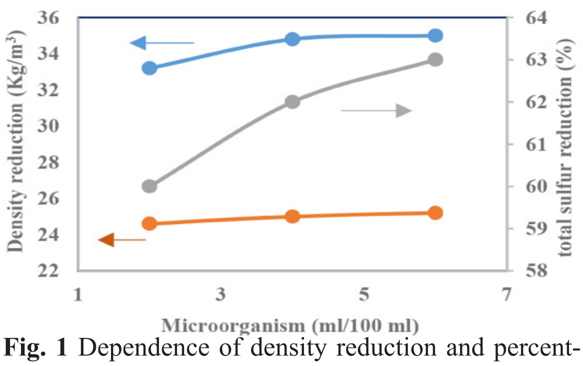


Fig. 1 Dependence of density reduction and percentage of total sulfur on the microorganisms in the culture medium at 40 °C, pH = 6.5, duration of three days and the amount of 4 ml of furnace oil.

The results of the SARA test for the initial cutting of fuel oil and the modified sample under optimal conditions are shown that the amount of aromatic compounds decreased and aliphatic compounds increased. Density decreases as the percentage of aromatics decreases.

Conclusions

According to the results, the highest reduction in furnace oil density at 40 ° C, pH = 6.5, duration of three days and the volume of microorganisms added 2 ml, 4% by volume of fuel oil and the presence of surfactant were obtained. The density in the suggested condition is equal to 0.9096 kg/L, which according to the density of oil in the fuel of Kermanshah refinery 0.9096 kg/L and the density of gas oil in the refinery, which is equal to 0.832 kg/L. About 30% conversion of fuel oil to gas oil is observed. Total sulfur has also been reduced by more than 60 percent. Considering that the current production of refinery fuel oil is about 40% of the total products and considering the world prices of fuel oil and gas oil, the above conversion is very economical.

References

1. Van Hamme J D, Fedorak P M, Foght J M, Gray M R, Dettman H D (2004) Use of a novel fluorinated organosulfur compound to isolate bacteria capable of carbon-sulfur bond cleavage, Appl Environ Microbiol. 70, 3, 1487–1493.
2. Mohammad E S, Al-Yacoub Z H, Vedakumar J V (2015) Biocatalytic desulfurization of thiophenic compounds and crude oil by newly isolated bacteria, Frontiers in Microbiology, 6, 112: 2015.
3. Konishi J, Ishii Y, Okumura K, Suzuki M (2000) High temperature desulfurization by microorganisms, U.S. Patent: 6130081.
4. Baldi F, Pepi M, Fava F (2003) Growth of Rhodosporidium toruloides strain DBVPG 6662 on dibenzothiophene crystals and rimulsion, Applied and environmental microbiology, 69, 8, 4689-4696.
5. Chen S, Sun S, Zhao C, Liu Q, Zang M (2019) Biodesulfurization of model oil using growing cells of Gordonia sp. SC-10, Petroleum Science and Technology, 37, 8, 907-912.
6. [6] Bhatia S, Sharma D K (2010) Biodesulfurization of dibenzothiophene, its alkylated derivatives and crude oil by a newly isolated strain Pantoea agglomerans D23W3, Biochemical Engineering Journal, 50, 104-109.
7. Wentzel A, Ellingsen T E, Kotlar H-K, Zotchev S B, Throne-Holst M (2007) Bacterial metabolism of long-chain n-alkanes, Appllied Microbiol Biotechnology, 76, 1209–1221.