

## گوگردزدایی زیستی، پیشرفت‌ها و چالش‌های پیش رو

فاطمه بسحاق<sup>۱</sup>، بابک مختارانی<sup>۲\*</sup>، حمیدرضا مرتهب<sup>۲</sup>

۱- کارشناس ارشد مهندسی شیمی، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران

۲- دانشیار مهندسی شیمی، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۲۵

پیام نگار: Mokhtaranib@ccerci.ac.ir

### چکیده

اعمال مقررات سختگیرانه جدید برای کاهش گوگرد در سوخت‌های فسیلی، بهره‌گیری از روش‌های اقتصادی و کارآمد برای گوگردزدایی را ضروری می‌کند. گوگردزدایی زیستی با برخورداری از مزایایی چون انعطاف پذیری پدیده ناشی از به‌کار گرفتن سیستم‌های آنزیمی میکروبی، شرایط عملیاتی ملایم، ایمنی بیشتر، و آلودگی زیست محیطی کمتر، یکی از راهکارهای بسیار مناسب برای رسیدن به کمترین مقدار گوگرد در سوخت است که می‌تواند در گوگردزدایی صنعتی به‌کار گرفته شود. هدف از انجام این تحقیق بررسی مسائل کلیدی، پیشرفت‌ها و چالش‌های فرایند گوگردزدایی زیستی است. با وجود تحقیقات زیاد در این زمینه، حتی بالاترین فعالیت بدست آمده هنوز برای برآوردن الزامات صنعتی ناکافی است. برای افزایش کارایی گوگردزدایی زیستی نیازمند تحقیقات بیشتری در زمینه‌هایی چون افزایش فعالیت گوگردزدایی، یافتن مسیرهای تبدیل جدید، حذف گوگرد در دمای بالاتر، استفاده از تکنیک‌های مهندسی ژنتیک، جداسازی سویه‌های جدید، بهینه‌سازی طراحی زیست واکنشگاهها و استفاده از فناوریهای تلفیقی با گوگردزدایی زیستی است.

کلیدواژه‌ها: گوگردزدایی زیستی، سوخت‌های فسیلی، ریزاندامگان

### ۱- مقدمه

درصد است و نفت خام با مصرف حدود ۴۰ درصد در حکم پرمصرف‌ترین سوخت فسیلی شناخته شده است. نفت خام ترکیبی پیچیده از مایعات آلی با ساختارهای متفاوت است که پس از کربن و هیدروژن، گوگرد سومین عنصر تشکیل دهنده آن به‌شمار می‌آید [۱-۲]. مقدار گوگرد و API<sup>۱</sup> دو خاصیتی‌اند که بیشترین اثر را در ارزش گذاری بر نفت خام دارند. در روند فعلی استحصال نفت در جهان، API نفت در حال کاهش و میزان گوگرد آن در حال افزایش

تولید انرژی یکی از مهمترین مسائل دنیای امروز است. منابع تأمین انرژی شامل سوخت‌های فسیلی (نفت، زغال سنگ و گاز طبیعی)، سوخت هسته‌ای، و سوخت‌های تجدیدپذیرند. هرچند درصد انرژی به‌دست آمده از سوخت‌های فسیلی در سال‌های اخیر کاهش یافته است، اما سهم انرژی جهان از سوخت‌های فسیلی هنوز بیش از ۸۲

\* تهران، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران، پژوهشکده مهندسی نفت، آزمایشگاه فرایندهای تخمیری

1. American Petroleum Institute

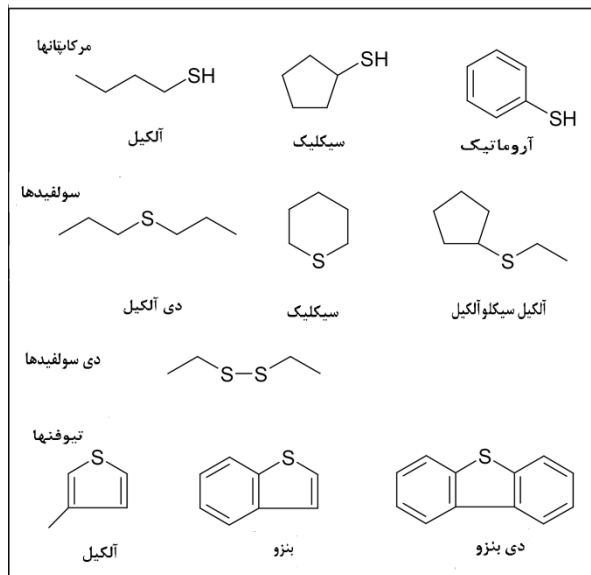
[۴,۷]. روش صنعتی متداول برای حذف گوگرد از سوخت‌ها، گوگردزدایی هیدروژنی است که عملکرد مناسبی در حذف ترکیبات گوگردی هتروسلیلیکی ندارد. تولید نفت سبک با مقادیر بسیار کم ترکیبات گوگرد نیاز به طی شدن شرایط دشوار عملیاتی، از جمله دما و فشار بسیار بالا و نیز کاتالیست‌های بسیار فعال دارد. تولید گاز CO<sub>2</sub> و ایجاد آلودگی زیست محیطی نیز از جمله معایب و ایرادهای این روش است [۱۵-۱]. گوگردزدایی زیستی امکان بالقوه رسیدن به استانداردهای جدید را دارد و با افزایش تقاضا برای سوخت‌های کم گوگرد یک راهکار بسیار مناسب برای رسیدن به کمترین مقدار گوگرد در سوخت است. گوگردزدایی زیستی روشی سازگار با محیط زیست به شمار می‌آید که می‌تواند گوگرد را از ترکیبات مقاوم آلی تحت دما و فشار محیط و بدون کاهش ارزش حرارتی سوخت حذف کند. در این روش، از ریزاندامگانها یا آنزیم‌هایشان، یا عصاره سلولی به عنوان کاتالیست برای حذف گوگرد از سوخت‌های فسیلی استفاده می‌شود. هرچند که نخستین تلاش‌ها برای انجام گوگردزدایی زیستی چندان موفق نبودند، زیرا سوش‌های جدا شده نمی‌توانستند به طور خاص گوگرد را از ترکیب مدل حذف کنند؛ اما با ادامه تحقیقات و با شناسایی مسیر اختصاصی گوگردزدایی توسط دکتر کیلیان در سال ۱۹۸۹، باکتری‌ها به طور کاملاً اختصاصی و بدون صدمه زدن به اسکلت کربن، گوگرد را از ترکیب مدل جدا می‌کردند. ریزاندامگانهای مختلفی با قابلیت حذف گوگرد از ترکیبات موجود در سوخت‌ها، بدون تغییر در ساختار و ارزش حرارتی سوخت، شناسایی و جداسازی شدند و همین امر موجب پیشرفت و گسترش این فرایند شد. مقالاتی که تاکنون در ارتباط با گوگردزدایی زیستی منتشر شده‌اند، حاکی از تلاش بی وقفه پژوهشگران در راه عملی کردن و بهینه سازی فرایند گوگردزدایی زیستی است. انعطاف‌پذیری زیاد ناشی از به‌کارگیری سیستم‌های آنزیمی میکروبی با قابلیت کاهش تولید محصولات جانبی نامطلوب، برخورداری از مسیر انتخابی، شرایط عملیاتی ملایم و توانایی حذف کامل گوگرد هتروسلیلیکی از ویژگی‌های گوگردزدایی زیستی است که دلیلی برای انجام مطالعات گسترده برای توسعه این روش است. علیرغم پیشرفت‌های درخور توجه در فرایند گوگردزدایی زیستی، چند مشکل اساسی برای تجاری کردن این فرایند پیش پاست که از جمله می‌توان به آهنگ کم گوگردزدایی زیست‌کاتالیست‌ها و

است. مقدار گوگرد در متوسط نفت خام دنیا از سال ۱۹۹۰ تا سال ۲۰۱۰، به میزان ۰/۱۴ درصد افزایش یافته است [۲]. به طور کلی، گوگرد به دو صورت معدنی و آلی در نفت خام یافت می‌شود که بخش اعظم آن را ترکیبات آلی تشکیل می‌دهند. ترکیبات حاوی گوگرد معدنی شامل عنصر گوگرد، آهن سولفید، و هیدروژن سولفیدند. ترکیبات حاوی گوگرد آلی عموماً به شکل حلقوی یا اشباع از گروه‌های تیول‌ها (مرکاپتان‌ها)، سولفیدها، دی‌سولفیدها و هتروسلیلیک‌ها (تیوفن‌ها) هستند (شکل (۱)). وجود ترکیبات گوگردی در فرایندهای پالایشگاهی به علت نقش آن‌ها در غیر فعال کردن کاتالیست‌های به‌کار رفته در فرایندها و نیز ایجاد خوردگی در خطوط لوله، پمپ‌ها و تجهیزات پالایشگاهی، نامطلوب است. علاوه بر این، ترکیبات گوگرد به تشکیل رسوبات در محصولات نفتی کمک می‌کنند که خود به ایجاد مشکلات فراوانی می‌انجامد. از این رو، گوگردزدایی از سوخت‌ها در صنعت نفت از اهمیت فراوانی برخوردار است. احتراق سوخت‌های فسیلی، اکسیدهای گوگردی تولید می‌کند که سبب اسیدی شدن آب باران و آثار نامطلوب بر سلامت جانداران، محیط زیست و اقتصاد می‌شود. ساده‌ترین راه برای محدود کردن انتشار گاز SO<sub>2</sub> در هوا، نظارت بر کیفیت سوخت از طریق کاهش میزان گوگرد موجود در سوخت‌هاست [۴-۲]. بطور کلی، برای کاهش انتشار SO<sub>2</sub> دو روش مختلف را می‌توان به‌کار گرفت: روش حذف قبل از احتراق سوخت، و روش حذف بعد از احتراق سوخت. روش‌های به‌کار گرفته شده قبل از احتراق برای کاهش مقدار گوگرد در سوخت‌های فسیلی، شامل فرایندهای فیزیکی، شیمیایی و زیستی (بیولوژیکی) است که نسبت به روش‌های بعد از احتراق از مزایای بیشتری برخوردارند [۶-۴]. از آنجا که SO<sub>2</sub> سوار بر جریان هوا منتقل می‌شود، ممکن است آثار نامطلوب آن هزاران کیلومتر دورتر از محل تولید مشاهده شود؛ بنابراین، برای کنترل انتشار SO<sub>2</sub> همکاری‌های بین‌المللی لازم است. امروزه قوی‌ترین انگیزه برای کاهش گوگرد در سوخت‌ها، سفت و سخت‌تر شدن قوانین زیست محیطی است [۴]. بنابر مقررات جدید گوگرد در کانادا و ایالات متحده در سال ۲۰۰۶، مقدار گوگرد مجاز در سوخت دیزل (گازوئیل) در جاده از ۵۰ mg/kg به ۱۵ mg/kg و برای بنزین از ۳۵۰ mg/kg به ۳۰ mg/kg کاهش یافت. براساس استاندارد یورو ۵، مقدار گوگرد در سوخت دیزل باید تا میزان ۱۰ ppm کاهش یابد

و طیف ترکیبات گوگردی در خوراک بستگی دارد. معمولاً، شرایط عملیاتی این فرایند، فشار جزئی هیدروژن بین ۱۵۰ psi تا ۲۵۰ psi و دما بین ۲۰۰°C تا ۴۲۵°C است. برای رسیدن به غلظت‌های کمتر گوگرد (کمتر از ۱۵ mg/kg)، دما و فشار بالاتری لازم است. در این شرایط، اولفین‌ها هیدروژن می‌گیرند که باعث کاهش عدد اکتان و افزایش مصرف هیدروژن می‌شود. تیول‌ها، سولفیدها و تیوفن‌ها از طریق فرایند گوگردزدایی هیدروژنی حذف می‌شوند. اما بنزوتیوفن، دی‌بنزوتیوفن (DBT) و بخصوص مشتقات آلکیل‌ه شده آن‌ها به‌طور چشمگیری در برابر این فرایند مقاوم‌اند و برای حذف این ترکیبات از طریق فرایند گوگردزدایی هیدروژنی دما، فشار و زمان اقامت بسیار بالایی لازم است. علاوه بر این، در مرحله‌ای از فرایند، حتی افزایش دما و فشار نیز بدون متأثر کردن عدد اکتان، باعث جداسازی گوگرد باقیمانده نمی‌شود. با افزایش بهره‌گیری از فرایند گوگردزدایی هیدروژنی، ضمن افزایش نیاز به تولید هیدروژن، حجم H<sub>2</sub>S تولید شده افزایش می‌یابد و به افزایش بار بر واحد کلاوس می‌انجامد. در مورد سوخت دیزل (گازوئیل) برای رسیدن به گوگردزدایی عمیق و رسیدن به ۱۰ ppm باید دو مرحله طی شود. در مرحله اول مقدار گوگرد را به ۵۰ ppm کاهش می‌دهند و در مرحله دوم، مقدار گوگرد را به ۱۰ ppm و کمتر کاهش می‌دهند. در مواردی، مرحله اول یک واحد هیدروژن‌دار کردن معمولی در شرایط عملیاتی ملایم است، در حالی که مرحله دوم به فشار بالا، افزایش دبی هیدروژن، کاهش سرعت، و انتخاب کاتالیست فعال و مناسب تحت شرایط سخت عملیاتی نیاز دارد. هرچند گوگردزدایی هیدروژنی به عنوان یک روش مقرون به صرفه برای گوگردزدایی از سوخت‌های فسیلی مطرح است، اما هزینه جداسازی ترکیبات مقاوم گوگردی بسیار بالاست. هزینه لازم برای کاهش میزان گوگرد از ۲۰۰ mg/kg به ۵۰ mg/kg چهار برابر هزینه مورد نیاز برای کاهش از ۵۰۰ mg/kg به ۲۰۰ mg/kg است [۵-۱]. با توجه به ایرادهای یادشده در گوگردزدایی هیدروژنی، افزایش میزان گوگرد در ذخایر باقی مانده نفت خام، و نیز روند روبه رشد آلودگی هوا و سختگیرانه‌تر شدن قوانین زیست‌محیطی در زمینه میزان انتشار گوگرد، نیاز به یافتن روش‌های جدید و مناسب برای گوگرد زدایی و انجام مطالعات گسترده برای توسعه این روش‌ها احساس می‌شود.

7. Dibenzothiophene

کندی فرایند گوگردزدایی زیستی اشاره کرد. به همین دلایل، انتظار برای یافتن یک سازوکار سوخت و سازی معقول با انجام تحقیقات بیشتر همچنان پابرجاست [۱۵-۴،۸-۱]. در تحقیق حاضر به بررسی مسائل کلیدی، پیشرفت‌ها و چالش‌های فرایند گوگردزدایی زیستی پرداخته شده است.



شکل ۱. انواع ترکیبات گوگرد آلی [۹].

## ۲- روش‌های گوگردزدایی

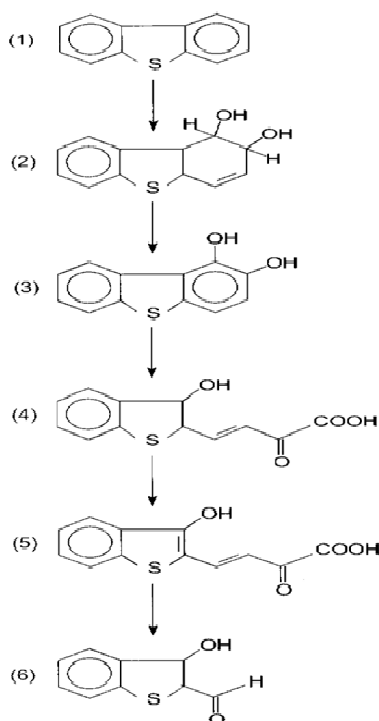
روش‌های مختلف گوگردزدایی از نفت و برش‌های نفتی عبارتند از: گوگردزدایی اکسایشی (ODS<sup>۱</sup>)، گوگردزدایی به روش جذب سطحی (ADS<sup>۲</sup>)، گوگردزدایی هیدروژنی (HDS<sup>۳</sup>)، گوگردزدایی با مایعات یونی (ILS<sup>۴</sup>)، و گوگردزدایی زیستی (BDS<sup>۵</sup>). در میان روش‌های حذف گوگرد، روش گوگردزدایی هیدروژنی از کاربرد بیشتری برخوردار است. گوگردزدایی هیدروژنی فرآیندی است که در آن مواد گوگرددار موجود در ترکیبات نفتی در مجاورت گاز هیدروژن و کاتالیست‌های مناسب از جمله NiMo/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> و CoMo/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>، به H<sub>2</sub>S تبدیل می‌شوند. H<sub>2</sub>S به‌دست آمده از این فرایند از طریق فرایند اصلاح شده کلاوس<sup>۶</sup> به گوگرد عنصری تبدیل می‌شود. شرایط فرایند عملیاتی فرایند گوگردزدایی هیدروژنی به درجه گوگردزدایی

1. Oxidative Desulfurization
2. Adsorptive Desulfurization
3. Hydrodesulfurization
4. Ionic Liquids
5. Biodesulfurization
6. Claus

### ۳- گوگردزدایی زیستی

بی‌هوازی، و اختصاصی. در مسیر تخریبی، حمله اولیه به سمت یکی از اتم‌های کربن هدایت می‌شود. این مسیر در سال ۱۹۷۳ توسط کوداما گزارش شد. مجموعه فعالیت‌های آنزیمی اکسایشی و مخرب کربن که به اتم‌های کربن در حلقه فنیل DBT (مدل استاندارد گوگرد آلی هتروسیلیکی) حمله می‌کند، مسیر کوداما نامیده می‌شود، و شامل ۳ مرحله اصلی از جمله هیدروکسیل دار شدن، شکستن حلقه و هیدرولیز است (شکل ۲). مسیر کوداما مسیری تجزیه‌ای است که به تجزیه اسکلت کربنی DBT منجر و موجب کاهش ارزش حرارتی سوخت می‌شود. با توجه به شکستن ناخواسته پیوند کربن-کربن در حلقه بنزنی، از این نوع گوگردزدایی به عنوان فرایند مخرب یاد می‌شود [۹،۴،۲].

مسیر دوم، مسیر بی‌هوازی است (شکل ۳). در این مسیر، DBT به بی‌فنیل و سولفید هیدروژن تبدیل می‌شود. تحت شرایط بی‌هوازی، اکسایش هیدروکربن به ترکیبات نامطلوبی چون محصولات رنگی حداقل است. این مزیت می‌تواند انگیزه‌ای برای ادامه پژوهش در این زمینه باشد. اگرچه نگهداری یک فرایند بی‌هوازی بسیار دشوار است، فعالیت مخصوص بسیاری از سویه‌های گزارش شده برای گوگردزدایی DBT تحت شرایط بی‌هوازی ناچیز است [۴،۲،۹].



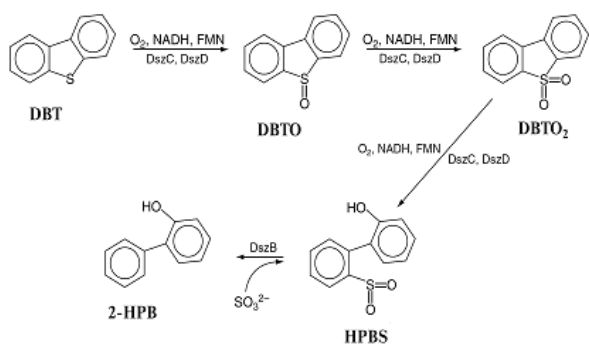
شکل ۲. مسیر کوداما در گوگردزدایی زیستی [۳].

گوگردزدایی زیستی یکی از روش‌های سازگار با محیط زیست است که می‌تواند گوگرد را از ترکیبات مقاوم آلی تحت دما و فشار محیط، بدون کاهش ارزش حرارتی سوخت حذف کند و به عنوان فرایندی مکمل یا جایگزین برای فرایند گوگردزدایی هیدروژنی به کار گرفته شود. ریزاندامگانها برای رشد و فعالیت‌های زیستی خود به گوگرد نیاز دارند. به‌طور کلی، گوگرد در ساختار بعضی آنزیم‌های کوفاکتور<sup>۱</sup> (مانند کوآنزیم<sup>۲</sup> A، تیامین<sup>۳</sup> و بیوتین<sup>۴</sup>) و اسیدهای آمینه (سیستئین<sup>۵</sup>، متیونین<sup>۶</sup>) حضور دارد. ریزاندامگانها بسته به آنزیم‌ها و مسیر سوخت و سازی خود می‌توانند گوگرد مورد نیازشان را از منابع مختلف تامین کنند. بعضی ریزاندامگانها می‌توانند گوگرد در ترکیبات تیوفنی را مصرف کنند و میزان گوگرد سوخت را کاهش دهند [۴]. محیط زیست طبیعی مانند خاک آلوده یا میدان‌های نفتی، معمولاً بهترین مکان برای یافتن ریزاندامگانهایی با قابلیت انجام فرایند گوگردزدایی زیستی به‌شمار می‌آیند. ریزاندامگانها امکانات بالقوهٔ مختلفی را برای گوگردزدایی بروز می‌دهند که ناشی از ساختار ژنتیکی گوناگون آنهاست. هم سلول‌ها و هم عصاره آنها در فرایند گوگردزدایی زیستی قابل استفاده‌اند [۸]. از جمله مزایای گوگردزدایی توسط ریزاندامگانها می‌توان این‌ها را برشمرد: این فرایند در شرایط دما و فشار ملایم انجام می‌شود؛ بنابراین مصرف انرژی آن کم است. در این فرایند به دلیل وجود آنزیم‌ها، میزان انتخابگری بسیار بالاست. تولید گازهای گلخانه‌ای و فرآورده‌های فرعی نامطلوب از این روش بسیار کمتر از دیگر روش‌هاست. تولید CO<sub>2</sub> در این فرایند ۷۰ تا ۸۰ درصد کمتر از گوگردزدایی هیدروژنی است. در این فرایند عدد اکتان تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد و به گاز هیدروژن نیاز نیست. هزینه سرمایه‌گذاری و عملیاتی آن کمتر از گوگردزدایی هیدروژنی است [۴،۸،۱۲]. ویژگی‌های یادشدهٔ گوگردزدایی زیستی پژوهشگران را علاقمند به انجام مطالعات گسترده برای توسعه این روش کرده است.

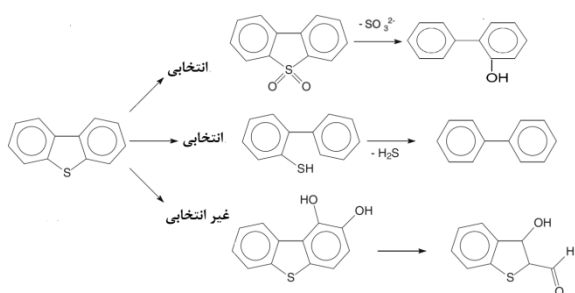
### ۴- مسیر فرایند BDS

عموماً گوگردزدایی زیستی به سه صورت انجام می‌شود: تخریبی،

- 1 Cofactor
2. Coenzyme
3. Thiamine
4. Biotin
5. Cysteine
6. Methionine

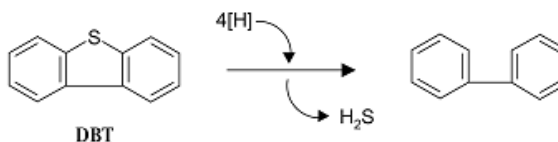


شکل ۴. مسیر ۴S در گوگردزدایی زیستی [۱۳].



شکل ۵. مسیرهای فرایند گوگردزدایی زیستی [۱۱].

در مسیر ۴S پنج واکنش در نظر گرفته شده است که به صورت چهار واکنش سری (زنجیره‌ای) و یک واکنش جانبی‌اند. در مرحله اول DBT با استفاده از آنزیم DszC به DBTO تبدیل می‌شود. در مرحله دوم DBTO با استفاده از آنزیم DszC به DBTO<sub>2</sub> تبدیل می‌شود. در مرحله سوم تبدیل DBTO<sub>2</sub> به HPBS با استفاده از آنزیم DszA صورت می‌گیرد و در مرحله چهارم HPBS با استفاده از آنزیم DszB به 2-HBP تبدیل می‌شود. واکنش جانبی، تولید FMNH<sub>2</sub> می‌کند. در این مسیرکنندترین مرحله واکنش که مرحله محدودکننده نیز به‌شمار می‌آید، مرحله چهارم یعنی تبدیل HPBS به 2-HBP است و سریعترین مرحله واکنش سوم یعنی تبدیل DBTO<sub>2</sub> به HPBS است. آنالیز فرایند گوگردزدایی زیستی به صورت آنزیمی، نشان می‌دهد که تنها ترکیب حد واسط که در محیط تجمع می‌کند HPBS است، زیرا سرعت تولیدش چند برابر سرعت مصرف آن است؛ بنابراین، برای افزایش سرعت واکنش گوگردزدایی زیستی باید فعالیت کاتالیزستی DszB را افزایش داد [۱۶-۱۸]. 2-HBP یک مولکول آروماتیک آبگریز و قابل حل در نفت است. بنابراین ارزش



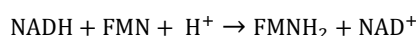
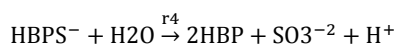
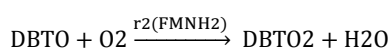
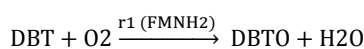
شکل ۳. مسیر واکنش گوگردزدایی زیستی بی‌هوازی [۹].

سومین مسیر، مسیر اختصاصی است. در مسیر اختصاصی، حمله اولیه به سمت اتم گوگرد مرکزی هدایت می‌شود. این مسیر که توسط دکتر کیلیبان در سال ۱۹۸۹ برای سویه رودوکوکوس اریتروپولیس گزارش شد، مسیر ۴S نامیده شده است. مسیر ۴S آرمانی‌ترین مسیر ممکن برای گوگردزدایی زیستی به‌شمار می‌آید. در این مسیر باکتری‌ها به‌طور کاملاً اختصاصی و بدون صدمه به اسکلت کربن، گوگرد را از ترکیب مدل جدا می‌کنند. مسیر ۴S، DBT را طی چهار واکنش متوالی به ۲-هیدروکسی بی‌فنیل (2-HBP) و سولفیت تبدیل می‌کند. یون سولفیت تولید شده می‌تواند به سولفات و سولفید تبدیل شود. اگر به صورت سولفید درآید، در ساختارهای سلول مانند پروتئین به کار می‌رود. نام مسیر ۴S به واسطه تولید مواد حد واسط یعنی سولفوکساید<sup>۱</sup>، سولفون<sup>۲</sup>، سولفینات<sup>۳</sup> و سولفیت (یا سولفات) است. در این مسیر، سوخت و سازی اختصاصی ۴ مرحله آنزیمی (سه آنزیم DszA, DszB, DszC) دخالت دارند. در این مسیر آنزیم‌های DszA و DszC برای فعالیت خود به FMNH<sub>2</sub> نیاز دارند که توسط آنزیم فلاوین ردوکتاز (DszD) تأمین می‌شود. فرایند با کمک دو منواکسیژناز سیتوپلاسمی (DszA, DszC) که به وسیله یک فلاوین ردوکتاز (DszD) حمایت می‌شوند، و یک دسولفیناز (DszB) انجام می‌شود. FMN ردوکتاز در بین ۴ آنزیمی مسیر ۴S (دو منواکسیژناز- یک اکسیدوردوکتاز FMN: NADH - یک دسولفیناز) آنزیم کلیدی است. هنگامی که فلاوین ردوکتاز، FMN ردوکتاز یا اکسیدوردوکتازهای مختلف به مخلوط واکنش اضافه می‌شوند، آهنگ گوگردزدایی افزایش می‌یابد. به ازای گوگردزدایی هر یک مول DBT، ۴ مول NADH ضروری است [۴، ۱۴-۲]. در شکل (۴) مسیر گوگردزدایی ۴S و در شکل (۵) هر سه مسیر گوگردزدایی را مشاهده می‌کنید.

1. 2-hydroxybiphenyl
2. Sulphoxide
3. Sulphone
4. Sulphonate

همان بافر حاوی ترکیب گوگرد آلی قرار می‌گیرند [۸]. سیستم ساده در فاز آبی شامل زیست‌کاتالیست و DBT معلق در آب است و در حالت دوفازی شامل زیست‌کاتالیست در فاز آبی و DBT در یک حلال آلی (مثلاً تتراادکان) است [۱۲]. آزمایش‌های گوگردزدایی زیستی هم بصورت آزمایش‌های *in vivo* (سلول‌های تمام) و هم آزمایش‌های *in vitro* (سلول‌های همگن شده با غلظت اشباع از FMN، NADH و آنزیم فلاوین اکسیدوردوکتاز تجاری) انجام می‌شوند [۱۹]. تحقیقات بسیاری برای توسعه گوگردزدایی زیستی روی سلول‌های در حال رشد و سلول‌های فعال بدون رشد (سلول‌هایی که پس از جدا شدن از محیط کشت استریل و معلق سازی مجدد در بافر به فعالیت زیستی خود ادامه می‌دهند) در فاز آبی و دوفازی انجام شده است [۱۰] که آن‌ها را می‌توان به ۳ دسته تقسیم‌بندی کرد: دسته اول تحقیقاتی‌اند که در آن‌ها گوگردزدایی از تیوفن‌ها و مشتقات آلکیل آن‌ها بررسی شده است. گوگرد تیوفنی ۵۰ تا ۹۰ درصد گوگرد در نفت یا برش‌های نفتی را شامل می‌شود. به همین دلیل، این ترکیبات به عنوان یک الگوی مقاوم برای ترکیبات آلی گوگردی در نظر گرفته شده‌اند [۱۲]. دسته دوم تحقیقاتی‌اند که در آن‌ها گوگردزدایی از نفت و مشتقات نفتی بررسی شده است و در بیشتر تحقیقات DBT همراه  $C_{14}$ ،  $C_{16}$  و  $C_{13}$  (به عنوان مدلی از سوخت دیزل) بکار رفته است. در جدول‌های (۱)، (۲) و (۳) به نمونه‌هایی از این تحقیقات اشاره شده است.

سوخت به دست آمده حفظ می‌شود. در بررسی‌ها مشخص شده است که میزان 2-HBP تولید شده کمتر از DBT مصرف شده است. موازنه مواد و منحنی رشد نشان می‌دهد که مقداری از DBT ناپدید شده است. احتمالاً مقدار ناپدید شده در محیط کشت به صورت ترکیبات میانی حضور دارد [۱۰]. ترکیبات میانی، ترکیباتی مانند DBTO<sub>2</sub>، DBT<sub>2</sub> و HBPS هستند که از اتم گوگرد در ساختار خود برخوردارند. بنابراین، پیشرفت فرایند گوگردزدایی زیستی باید با میزان 2-HBP تولید شده اندازه‌گیری شود. زیرا 2-HBP تنها ترکیب بدون گوگرد در این فرایند است [۱۹].



## ۵- مطالعات اخیر در زمینه فرایند گوگردزدایی زیستی

در فرایند گوگردزدایی زیستی ابتدا سلول‌ها در یک محیط کشت مناسب حاوی مقدار حداقلی از ترکیب آلی گوگردار کشت داده می‌شوند. کشت تا پایان فاز نمایی رشد ادامه می‌یابد، سلول‌ها جمع‌آوری و با محلول بافر شسته می‌شوند و سپس در

جدول ۱- نمونه‌هایی از تحقیقات گوگردزدایی انجام شده روی تیوفن‌ها و مشتقات آلکیل آن‌ها

مرجع	درصد حذف گوگرد	زمان (ساعت)	رشدمایه*	ریزاندامگان
[۲۰]	۴۱	۳۶	BTH, Alkylated DBT	اسفینگمنس سابارکتیکا <sup>۱</sup> T7B
[۲۱]	۹۳	۴۸	DBT	گوردونیا ZD-7
[۲۲]	۵۹	۲۴	DBT	مایکوباکتریوم گودی <sup>۲</sup> X7B
[۲۳]	۷۷	۱۶۸	DBT, methylated-DBT	گوردونیا آلکانیورانس <sup>۳</sup> 1B
[۲۴]	۶۰	۳۶۰	DBT	لایسینی باسیلوس اسفاریکوس <sup>۴</sup> DMT-7
[۲۵]	۹۵	۳۳۶	DBT	مایکوباکتریوم NISOC-06

1. Resting Cells

2. *Sphingomonas Subarctica*

3. *Mycobacterium Goodii*

4. *Gordonia Alkanivorans*

5. *Lysinibacillus Sphaericus*

\* رشدمایه عبارت معادل سوپسترا براساس مصوبات فرهنگستان زبان و ادب فارسی است.

جدول ۲. نمونه‌هایی از تحقیقات گوگردزایی انجام شده روی مدل نفتی

مرجع	درصد حذف گوگرد	زمان (ساعت)	رشد مایه	ریزاندامگان
[۲۲]	۹۹	۲۴	DBT+C14	مایکوباکتریوم گودی X7B
[۲۳]	۶۳	-	DBT+C7	گوردونیا آلکانیورانس 1B
[۱۰]	۱۰۰	۱۰	DBT+ C14	رودوکوکوس اریتروپولیس SHT87
[۳۳]	۱۰۰	۱۲۰	DBT+C16	رودوکوکوس اریتروپولیس

جدول ۳. نمونه‌هایی از تحقیقات گوگردزایی انجام شده روی نفت خام و برش‌های نفتی

مرجع	درصد حذف گوگرد	زمان (ساعت)	رشد مایه	ریزاندامگان
[۲۶]	۵۲	۷۲	Crude light gas oil (1000ppm).	مایکوباکتریوم فلی WU-0103
[۲۷]	۳۰-۸۵	۱۲	Jilian FCC gasoline, SR gasoline	رودوکوکوس اریتروپولیس XP
[۲۸]	۴۷	۲۰	HDS-treated diesel oil (591ppm).	سودوموناس دلافیلدی <sup>۱</sup> R-8
[۲۹]	۱۲	۱۲۰	Diesel oil (1500ppm).	رودوکوکوس گلوبولوس <sup>۲</sup> DAQ3
[۲۲]	۹۹	۷۲	Lianing crude oil (3600ppm).	مایکوباکتریوم گودی X7B
[۳۰]	۹۷	۱۲	Diesel	رودوکوکوس اریتروپولیس FSD-2
[۳۱]	۷۶	۷۲	Heavy crude oil of soroush oil field	استیکوتریس <sup>۳</sup> WS4
[۳۱]	۶۵	۱۴۴	Heavy crude oil of kuhemond oil field	استیکوتریس WS4
[۳۲]	۵۰	۳۰	Diesel oil	گوردونیا آلکانیورانس RIPI 90A

انتقال جرم بین دو فاز آبی و آلی برای تویین ۸۰ گزارش شد. برای این سویه عملکرد گوگردزایی زیستی در حضور عامل فعال سطحی تویین ۸۰ نسبت به عدم حضور آن بیش از ۵۰ درصد افزایش یافت [۳۵]. استفاده از تویین ۸۵ نیز افزایش در بازده گوگردزایی از مدل نفتی (هگزادکان-DBT) با سویه سودوموناس پوتیدا CECT5279 را نشان داد [۳۶]. اثر عامل فعال سطحی بتا سیکلودکسترین برای گوگردزایی از مدل نفتی (هگزادکان-DBT) با سویه رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 بررسی شد. با اضافه شدن شدن این عامل فعال سطحی، DBT ۵۰ ppm طی ۲۴ ساعت کاملاً حذف شد، در حالی که بدون کاربرد عامل فعال سطحی در این مدت حذف کامل انجام نشد. افزودن این سورفکتنت سبب افزایش نفوذ DBT به فاز آبی و جلوگیری از تجمع محصول نهایی 2-HBP شد [۳۷]. استفاده از عاملهای فعال سطحی برای تشکیل امولسیون یکی از روش‌های

#### ۶- پیشرفت‌های در حوزه فرایند گوگردزایی زیستی

• برای افزایش بازده گوگردزایی زیستی می‌توان از مواد افزودنی و مکمل‌هایی چون ترکیبات عامل فعال سطحی (سورفکتنت‌ها) استفاده کرد. سورفکتنت‌ها (روکشگرها) ترکیباتی‌اند که با کاهش کشش سطح مشترک بین دو فاز سبب افزایش انتقال جرم ترکیبات آبریز می‌شوند و با افزایش انتقال رشد مایه به سلول بازده فرایند را افزایش می‌دهند [۳۴]. اثر عاملهای فعال سطحی مختلف بر میزان گوگردزایی از مدل نفتی (هگزادکان-DBT) با سویه کورینه باکتریوم<sup>۵</sup> ZD1 بررسی شد. در بین عاملهای فعال سطحی مورد بررسی (تریون x 100، تویین ۸۰، بریج-۳۵، و بتا سیکلودکسترین<sup>۶</sup>)، بیشترین افزایش

1. Delafieldii
2. Globerulus
3. Stachybotrys
4. Surfactants
5. Corynebacterium
6. B-cyclodextrin

استفاده شد [۴۵]. گوگردزدایی از نفت خام و مدل نفتی (تترادکان-DBT) با استفاده از باکتری گرمادوست مایکوباکتریوم گودی X7B در دمای  $40^{\circ}\text{C}$  انجام شد [۲۲]. سویه گرمادوست کلبزی الا<sup>۲</sup> 13T برای گوگردزدایی در دمای  $45^{\circ}\text{C}$  استفاده شد [۴۶].

• پتانسیل قارچ‌ها در انجام گوگردزدایی زیستی نیز بررسی شده است. آزمایشات انجام شده با قارچ استیکوبوتریس WS4 نشان می‌دهند که این سویه توانایی حذف گوگرد از نفت خام سنگین را دارد [۳۱].

• استفاده همزمان از دو سویه برای انجام گوگردزدایی سبب افزایش عملکرد گوگردزدایی می‌شود. مخلوطی از دو سویه رودوکوکوس اریتروپولیس DS-3 و گوردونیا C-6 برای گوگردزدایی از نفت دیزل استفاده شد. آهنگ گوگردزدایی مخلوط دو سویه  $1/6$  برابر گوگردزدایی با سویه گوردونیا C-6 و  $1/8$  برابر گوگردزدایی با سویه رودوکوکوس اریتروپولیس DS-3 به دست آمد [۴۷].

• فعالیت گوگردزدایی ریزاندامگانه با استفاده از تکنیک‌های مهندسی ژنتیک تحت تأثیر قرار می‌گیرد. پژوهشگران کوشیده‌اند تا با اصلاحات ژنتیکی عملکرد گوگردزدایی را بهبود بخشند. آینده تجاری فرایند گوگردزدایی زیستی به ادامه این اصلاحات ژنتیکی برای سویه‌های فعلی در جهت عملکرد بهتر آن‌ها یا شناسایی سویه‌های جدید با توانایی گوگردزدایی بالاتر بستگی دارد [۴۸-۵۰].

• برای تعیین مدل سنتیکی حاکم بر فرایند گوگردزدایی زیستی، مطالعات سنتیکی توسط برخی پژوهشگران انجام شده است. مدل سنتیکی میکائیلیس منتن<sup>۳</sup> برای مرحله اول (کاتالیز شدن با دو مونواکسیژناز DszA, DszC) و مدل سنتیکی مهار رقابتی محصول برای واکنش چهارم (کاتالیز شدن با دسولفیناز DszB) پیشنهاد شد [۱۶]. برخی دیگر از پژوهشگران مدل سنتیکی هالدن<sup>۴</sup> و برخی دیگر مدل سنتیکی میکائیلیس منتن را برای فرایند گوگردزدایی زیستی پیشنهاد دادند و سپس پارامترهای سنتیکی را برای فرایند به دست آوردند [۵۱-۵۲].

• گوگردزدایی زیستی هم با سلول‌های در حال رشد و هم با سلول‌های فعال فاقد رشد (در حال سکون) در فاز آبی و دوفازی

مؤثر برای کاهش گرانروی نفت سنگین است [۳۸] و سبب بهینه شدن فرایند گوگردزدایی زیستی می‌شود [۳۹].

• نانو زیست‌فناوری نیز در مطالعات گوگردزدایی زیستی استفاده می‌شود. استفاده از نانو ذرات سبب افزایش عملکرد گوگردزدایی زیستی می‌شود [۴۰]. جذب نانوذرات مغناطیستی  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  با اندازه متوسط  $45\text{ nm}$  تا  $50\text{ nm}$  روی سطح رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 گوگردزدایی DBT را بیش از  $56\%$  درصد افزایش داد [۴۱]. اثر نانوذرات مغناطیستی  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  روی سطح رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 و رودوکوکوس اریتروپولیس FMF بررسی شد [۴۲]. تثبیت سلول‌های پوتیدا دلافیدی R-8 با نانو ذرات  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  با اندازه متوسط  $10\text{ nm}$  تا  $15\text{ nm}$  برای گوگردزدایی مدل نفتی (دودکان-DBT) به کار رفت [۴۳]. برای بهتر شدن بازده گوگردزدایی، سلول‌های مغناطیستی شده به وسیله یک آهنربای خارجی از محیط مایع جدا می‌شوند [۸].

• افزودن نیکوتین آمید ( $5\text{ }\mu\text{mol}$ ) یا ریپوفلاوین ( $25\text{ }\mu\text{mol}$ ) به محیط کشت بیش از  $130\%$  درصد افزایش در فعالیت گوگردزدایی سویه رودوکوکوس اریتروپولیس USTB-03 را نشان داد [۴۴].

• از آن جا که فرایندهای پالایشی مرسوم در دمای بسیار بالا صورت می‌گیرند، بنابراین فرایند گوگردزدایی زیستی گرماگرا مطلوب است و به راحتی می‌تواند در فرایندهای پالایشی بدون خنک کردن خوراک ادغام شود. علاوه بر این، در دمای بالا، گرانروی سیال کاهش پیدا می‌کند که باعث بهتر شدن فرایند گوگردزدایی خواهد شد [۲]. بیشتر سوش‌های گزارش شده معتدل دوست‌اند. این سوش‌ها توانایی گوگردزدایی حول و حوش دمای  $30^{\circ}\text{C}$  را دارند. از آن جا که فعالیت آنزیمی میکروب‌های گوگردزدا به دما وابسته است، با افزایش دما توانایی گوگردزدایی این سوش‌ها کاهش می‌یابد. سوش‌های گرمادوست نه تنها گوگردزدایی را در گستره دمایی بالاتری انجام می‌دهند، بلکه مزایای بیشتری نسبت به سوش‌های معتدل دوست دارند [۱]. دمای بالا، علاوه بر کاهش گرانروی، کاهش آلودگی باکتری‌ها و افزایش آهنگ آنزیمی را در پی می‌آورد [۳]. باکتری گرمادوست مایکوباکتریوم فلی<sup>۱</sup> WU-F1 برای گوگردزدایی در دمای  $45^{\circ}\text{C}$

2. *Klebsiella*  
3. Michaelis-Menten  
4. Haldane

1. *Mycobacterium Phlei*



بکار برد. برای تثبیت سلول‌های سودوموناس استاتزری<sup>۱</sup> از سدیم آلزینات (۳% W/V) استفاده شد. با تثبیت سلول‌ها تا ۶۰۰ ساعت، قابلیت زنده ماندن سلول‌ها طولانی شد [۵۵]. برای سویه رودوکوکوس اریتروپولیس KA2-5-1 طول عمر سلول‌های تثبیت شده در مدل نفتی (تترادکان-DBT) بیش از ۹۰۰ ساعت افزایش یافت. در این تحقیق از اسپار ENT-4000 برای تثبیت سلول‌ها استفاده شد [۵۶]. آهنگ گوگردزدایی با سلول‌های تثبیت شده کوچکتر از آهنگ گوگردزدایی با سلول‌های تثبیت نشده است [۱۲،۴].

• یکی از مشکلات صنعتی شدن گوگردزدایی زیستی جداسازی ریزاندامگان و فاز آلی-آبی و امکان استفاده مجدد از ریزاندامگانهاست. تفکیک سلول‌ها از نفت بسیار دشوار است و امکان بازیابی سلول‌ها بدون اتلاف آن‌ها وجود ندارد. تثبیت کردن سلول‌ها به عنوان راه‌حلی برای حل مشکل جداسازی ریزاندامگان از فاز آلی و امکان استفاده مجدد از آن نیز به‌کار می‌رود [۴].

• تنوع هیدروکربنی که به عنوان خوراک به‌کار می‌رود باید در نظر گرفته شود [۴]. نرخ گوگردزدایی از سیستم چند رشدمایه در مقایسه با گوگردزدایی از سیستم تک رشدمایه متفاوت است. چون رقابت بین رشدمایه یک عامل بازدارنده است، گوگردزدایی از مدل نفتی (هگزادکان-مخلوطی از آلکیل‌های DBT و هر ترکیب به تنهایی) با سویه مایکوباکتریوم ZD-19 در یک واکنشگاه بالابر بادی<sup>۲</sup> انجام شد. آهنگ گوگردزدایی از مخلوط کمتر از آهنگ گوگردزدایی هر ترکیب به تنهایی به‌دست آمد [۵۷].

• از جمله محدودیت‌های دیگر برای به‌کارگیری گوگردزدایی زیستی در صنعت، هزینه محیط کشت و زیست‌کاتالیست‌هاست [۵۸]. در این فرایند مقدار زیادی زیست توده نیاز است (مثلاً، ۲/۵ گرم زیست توده به ازای هر گرم گوگرد) و آهنگ گوگردزدایی شدیداً به PH، دما و غلظت اکسیژن حل شده بستگی دارد [۲]. تولید انبوه زیست‌کاتالیست‌ها با فعالیت زیاد گوگردزدایی یک چالش مهم است که بتوان به آن وسیله هزینه زیست‌کاتالیست‌ها را کاهش داد. تولید ریزاندامگان با نیم عمر طولانی و فعالیت پر دامنه و قابل تجدید، مهمترین مرحله یک فرایند گوگردزدایی

انجام شده است. سلول‌های در حال سکون بازدهی بالاتری نسبت به سلول‌های در حال رشد دارند. وقتی از سلول‌های در حال رشد استفاده شود اغلب DBT به‌عنوان منبع گوگرد استفاده می‌شود که احتمالاً سبب زیست‌سنتر ژن‌های مسیر ۴s می‌شود [۱۲]. علاوه بر این، بازسازی NADH که یک عامل محدود کننده اصلی در شرایط سلول‌های در حال رشد است، هنگامی که از سلول‌های در حال سکون استفاده شود مشکلی ایجاد نمی‌کند [۵۳]. بازدهی گوگردزدایی در حالت دوفازی نیز بالاتر از حالت تک فازی است که احتمالاً به‌خاطر تجمع محصول 2-HBP در فاز آلی و عدم آسیب دیدن سلول‌هاست. از سوی دیگر، انحلال DBT در حلال آلی احتمالاً امکان تماس DBT با سلول‌ها را افزایش می‌دهد [۱۰]. انحلال‌پذیری DBT در آب ۰/۰۰۵ mM است. اگرچه ممکن است این مقدار با عامل فعال سطحی زیستی تولید شده توسط سلول‌ها کمی افزایش یابد [۵۴].

## ۷- محدودیت‌ها و چالش‌های فرایند گوگردزدایی

### زیستی

جداسازی زیستی گوگرد چند محدودیت دارد که باعث شد در صنعت آن را به‌کار بگیرند.

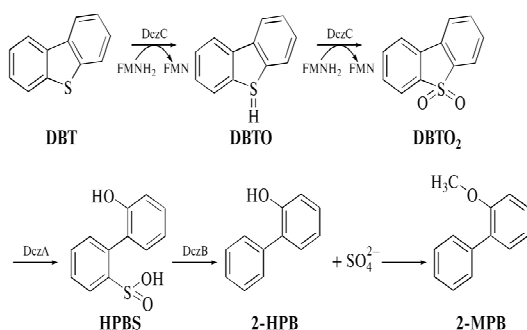
• این فرایند با تجزیه زیستی بسیار آرام محدود می‌شود. کند بودن حذف زیستی ترکیبات گوگرد نسبت به واکنش‌های شیمیایی از جمله موانع مهم برای استفاده از این روش است. گوگردزدایی زیستی مانند سایر فرایندهای میکروبی فرایندی کند است و برای حذف آلاینده به زمانی طولانی نیاز دارد. از آن‌جا که این فرایند در سیستم دوفازی است، بازدهی فرایند به مقدار زیادی به در دسترس‌پذیر بودن DBT در فاز آبی، جایی که ریزاندامگانها حضور دارند بستگی دارد. به منظور تسریع فرایند گوگردزدایی زیستی تلفیق دو فرایند گوگردزدایی زیستی و الکتروکینتیک پیشنهاد شد. تلفیق این دو فرایند سبب کاهش زمان گوگردزدایی در مقایسه با گوگردزدایی زیستی می‌شود [۶].

• طول عمر ریزاندامگانها در فرایند گوگردزدایی زیستی کوتاه است (۱ الی ۲ روز) و باید به ۸ الی ۱۶ روز (۲۰۰-۴۰۰ ساعت) افزایش یابد [۳،۱۱]. تثبیت کردن سلول‌ها طول عمر آن‌ها را افزایش می‌دهد [۱۲]. پایه‌های مختلفی را می‌توان برای تثبیت سلول‌ها

1. *Pseudomonas Stutzeri*  
2. Airlift

آهنگ پایین گوگردزدایی است. تحقیقاتی که در زمینه گوگردزدایی زیستی انجام می‌شود، برای دستیابی به یک فرآیند تجاری است و یک فرآیند تجاری موفق به زیست‌کاتالیستی نیاز دارد که فعالیت گوگردزدایی آن در حدود  $3-1/2 \text{ mM DBT/g(dry cell).h}$  باشد [۳، ۱۴]. در حالی که فعالیت زیست‌کاتالیست‌های کنونی در حدود  $3/5-1/5 \mu\text{M DBT/g(dry cell).h}$  یعنی حدود هزار بار کمتر است. آهنگ ناکافی گوگردزدایی تابع چند عامل است: کم بودن فعالیت آنزیمی مخصوص سلول‌ها و موانع انتقال جرم بین برش آگریز نفت، برش آبی شامل سلول‌های میکروبی و برش بازدارنده محصول پایانی (در مورد DBT محصول 2-HBP) از جمله این عوامل اند. برای غلبه بر این مشکلات، به تحقیقات بیشتری برای شناسایی انواع جدید ریزاندامگانه‌های موجود در طبیعت با فعالیت گوگردزدایی بالاتر و نیز استفاده از تکنیک‌های مهندسی ژنتیک برای افزایش فعالیت گوگردزدایی ریزاندامگانه‌ها نیاز است [۱۲].

• یکی از عوامل محدودکننده گوگردزدایی زیستی مهار فعالیت آنزیمی DczB با محصول نهایی مسیر 4S (2-HBP) است. تشکیل 2-HBP به دلیل آثار سمی آن سبب مهار رشد ریزاندامگانه‌ها می‌شود. آثار بازدارندگی ممکن است در غلظت‌های بالاتر از  $0/1 \text{ mM}$  مشاهده شود [۶۰]. استفاده از مسیر سوخت‌وسازی طولانی 4S برای سویه مایکوباکتریوم ZD-19 پیشنهاد شد. در این مسیر (شکل ۶) محصول نهایی ۲-هیدروکسی بی‌فنیل به ۲-متوکسی بی‌فنیل تبدیل می‌شود. این محصول نهایی آثار بازدارندگی کمتری بر رشد ریزاندامگانه‌ها و عملکرد گوگردزدایی آن‌ها دارد [۶۱].



شکل ۶. مسیر متابولیسمی طولانی 4S [۶۱].

• گوگردزدایی زیستی می‌تواند بعنوان یک مکمل مناسب برای

زیستی است. بهره گرفته از محیط کشت ارزان در بزرگ مقیاس و برای کاربرد صنعتی به کاهش هزینه‌ها کمک می‌کند. در بررسی گوگردزدایی با سویه گوردونیا آلکانیورانس IB از هیدرولیزشده لجن کاغذ بازیافتی برای محیط کشت بهره گرفته شد. این لجن که (بر مبنای وزن خشک) شامل سلولز (۳۵٪)، گزیلان<sup>۱</sup> (۱۰٪) و لیگنین<sup>۲</sup> (۲۰٪) است، به عنوان منبع کربن در محیط کشت به کار رفت [۲۳]. استفاده از محیط‌های کشت مختلف بر عملکرد فرایند گوگردزدایی زیستی تأثیر می‌گذارد. در بررسی منابع کربنی مختلف (اتانول، گلوکز، گلیسرول، استات، سیترات، پیروات<sup>۳</sup>، ملات، فومارات<sup>۴</sup>، اکسالواستات<sup>۵</sup>) و منابع گوگردی مختلف (تاورین<sup>۶</sup>، دی‌بنزوتیوفن، متیونین<sup>۷</sup>، سولفات منیزیم، دی‌متیل‌سولفوکسید) برای گوگردزدایی از مدل نفتی (تترادکان-DBT) با سویه مایکوباکتریوم G3 بهترین منبع کربن اتانول و بهترین منبع گوگرد سولفات منیزیم گزارش شد [۵۹]. برای گوگردزدایی با سویه رودوکوکوس اریترپولیس IGTS8 بهترین منبع کربن گلوکز (۲۰ g/L)، بهترین منبع نیتروژن NH<sub>4</sub>CL (۶۷۰ mg/L) و بهترین منبع گوگرد دی‌متیل‌سولفوکسید (۱۳۰۰ μmol/L) گزارش شد [۱۸].

• از آنجا که این فرایند به آب نیاز دارد، در مقیاس صنعتی اندازه واکنشگاه دوفازی بسیار بزرگ است. بنابراین، فرایندی که نسبت فاز آبی به آلی کمتری داشته باشد ترجیح داده می‌شود. به دلیل نیاز باکتری به آب، حذف یا کاهش آب مورد نیاز برای فرایند نیز چالش دیگری است که باید بررسی شود [۴]. نسبت فاز آبی به آلی نقش مهمی در تعیین حجم واکنشگاه و میزان محصول آن دارد [۳۵]. بنابراین باید مقدار بهینه‌ای برای نسبت حجمی فاز آبی به آلی در نظر گرفته شود. در بسیاری تحقیقات نسبت فازی یک به یک در نظر گرفته شده است. در اختیار داشتن ریزاندامگانه‌هایی با قابلیت تحمل بالاتر فاز هیدروکربنی یک مزیت برای گوگردزدایی است زیرا به آب کمتری برای فرایند نیاز است [۴].

• یکی از موانع اصلی برای صنعتی شدن فرایند گوگردزدایی زیستی

1. xylan
2. lignin
3. Pyruvate
4. Fumarate
5. Oxaloacetate
6. Taurine
7. Methionine

لازم است و هر مرحله را عواملی تحت تأثیر قرار می‌دهند. این ۵ مرحله از این قرارند: [۳]

- تولید سلول‌های در حال استراحت فعال با فعالیت مخصوص بالا
- آماده کردن یک سیستم دو فازی شامل برش نفتی، فاز آبی و زیست‌کاتالیست
- گوگردزادایی از بازه وسیعی از ترکیبات گوگرد در آهنگ مناسب
- جداسازی برش نفتی، بازیابی زیست‌کاتالیست‌ها و برگشت آن‌ها به زیست‌واکنشگاه
- تصفیه فاضلاب

نمونه آزمایشی نشان داده شده در شکل (۷) برای کاربرد صنعتی گوگردزادایی زیستی پیشنهاد شده است. این نمونه بر استفاده از سه زیست‌واکنشگاه به دلیل رسیدن به حداقل میزان گوگرد در سوخت تأکید دارد [۱۵]. کاربرد فناوری گوگردزادایی زیستی هنوز فقط در سطح مطالعه آزمایشی است. تنها شرکتی که برای توسعه صنعتی گوگردزادایی زیستی تلاش کرد، شرکت انرژی زیست‌سیستم آمریکا<sup>۸</sup> بود [۷، ۱۲]. این شرکت برای طراحی یک آزمایش به‌منظور حذف گوگرد از سوخت دیزل در پالایشگاه پترو استار<sup>۹</sup> آلاسکا برنامه‌ریزی کرد. در این فرایند زیست‌کاتالیست و سوخت فسیلی در یک زیست‌واکنشگاه، جایی که گوگردزادایی زیستی اتفاق می‌افتد، مخلوط می‌شوند. محصول نفت گوگردزادایی شده برای تصفیه فاضلاب از طریق فیلترها فرستاده می‌شود [۷]. تلاش‌های این شرکت برای رسیدن به فناوریهای لازم به نتیجه نرسید، شرکت تغییر نام داد و تحقیقات متوقف شد. شرکت پترو استار برای بهتر شدن فرایند گوگردزادایی زیستی با شرکت دایورسا<sup>۱۰</sup> آمریکا همکاری و حمایت انجمن انرژی آمریکا را دریافت کرد [۱۲]. شرکت دایورسا تلاش‌هایی برای بهتر شدن فعالیت گوگردزادایی انجام داد اما موفق نشد به زیست‌کاتالیستی با فعالیت لازم برای فرایند صنعتی دست یابد [۱۴]. نیاز به دستیابی به فناوری یک آزمایش صنعتی برای فرایند گوگردزادایی زیستی با تحقیقات بیشتر همچنان پابرجاست.

گوگردزادایی عمیق محصولات نفتی بعد از گوگردزادایی هیدروژنی به‌کار رود [۳۰]، یا اینکه می‌تواند قبل از فرایند گوگردزادایی هیدروژنی استفاده شود؛ بنابراین در انجام تحقیقات، تعیین مکان نهایی گوگردزادایی زیستی در فرایندهای پالایش نفت اهمیت دارد [۱۲].

## ۸- روش‌های آنالیز

روش‌های آنالیزی در فرایند گوگردزادایی زیستی برای شناسایی ریزاندامک‌ها، تعیین میزان کیفی و کمی عناصر سوخت‌وسازی و کنترل پیشرفت واکنش آنزیمی عبارتند از:

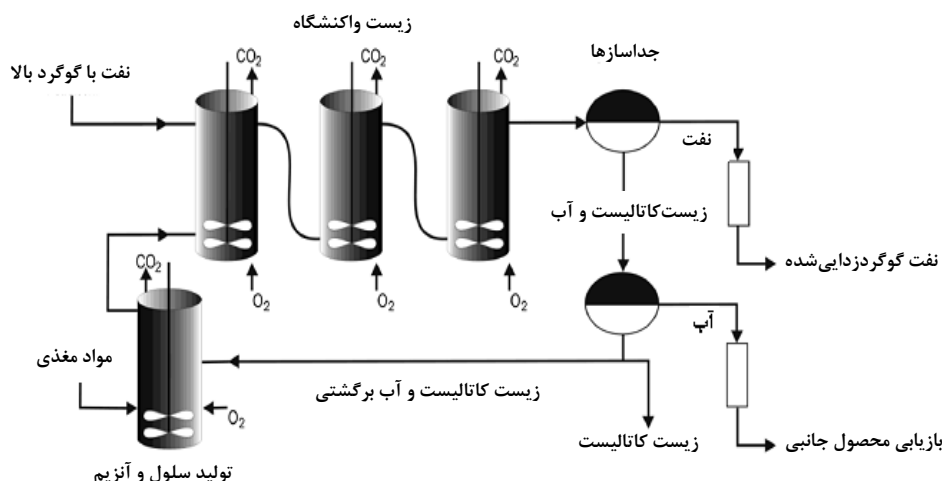
- اندازه‌گیری رشد سلولی توسط طیف-نورسنج<sup>۱</sup> [۵۴].
- تعیین کیفی و کمی مقدار 2-HBP از طریق روش ارزیابی گیبس. معرف گیبس با گروه‌های هیدروکسیل آروماتیک واکنش داده و کمپلکس‌های آبی رنگ تولید می‌کند. این آزمون بر مبنای تولید رنگ ناشی از واکنش معرف گیبس (۲ و ۶ دی‌کلروکینون-۴-کلرامید) با محصول واکنش (۲-هیدروکسی بی‌فنیل) در pH هشت است [۶۲].
- تعیین غلظت DBT باقیمانده و 2-HBP تولیدی و دیگر ترکیبات گوگردی مسیر ۴s توسط کروماتوگرافی گازی<sup>۲</sup> مجهز به آشکارساز یونش شعله‌ای<sup>۳</sup>، آشکارساز نورتابی شیمیایی گوگرد<sup>۴</sup>، آشکارساز نشر اتمی<sup>۵</sup> [۱۹، ۴۳، ۴۴].
- تعیین ساختار شیمیایی عوامل سوخت‌وسازی حاصل از عملکرد گوگردزادایی از طریق گاز کروماتوگرافی-طیف-نورسنجی جرمی<sup>۶</sup> [۶۳].
- تعیین غلظت DBT و 2-HBP و دیگر ترکیبات گوگردی توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا<sup>۷</sup> [۶۲].
- تعیین نوع ریزاندامگان از طریق 16S rRNA [۴۹].

## ۹- طرح کلی فرایند گوگردزادایی زیستی

برای برخورداری از یک فرایند گوگردزادایی زیستی که قابل رقابت با فرایند گوگردزادایی هیدروژنی عمیق باشد، یک فرایند ۵ مرحله‌ای

1. Spectrofotometer
2. Gas Chromatography (GC)
3. Flame Ionization Detector (FID)
4. Sulfur Chemiluminescence Detector (SCD)
5. Atomic Emission Detector (AED)
6. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)
7. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

8. Energy BioSystems Corporation (EBS, United States)  
9. Petro Star  
10. Diversa



شکل ۷. نمودار جریانی فرایند گوگردزدایی زیستی [۱۵].

## ۱۰- نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه به بررسی مسائل کلیدی، پیشرفت‌ها و چالش‌های فرایند گوگردزدایی زیستی پرداخته شد. سرمایه کمتر و هزینه عملیاتی پایین، شرایط عملیاتی ملایم، قابلیت تولید گازهای گلخانه‌ای کمتر، و نیز تولید محصولات جانبی باارزش از فواید گوگردزدایی زیستی است. از آنجا که زیست کاتالیست‌ها در انجام این فرایند دخیل‌اند، گوگردزدایی بسیار انتخابی خواهد بود. این فرایند دارای معایبی مانند کند بودن، دشواری تفکیک سلول‌ها و فاز آلی و آبی از هم، دشواری امکان استفاده مجدد از سلول‌ها، و کم بودن فعالیت گوگردزدایی است. استفاده از مکمل‌هایی مانند عوامل فعال سطحی و عوامل فعال سطحی زیستی، استفاده از فناوری نانو و تکنیک‌های مهندسی ژنتیک از عوامل مهمی به‌شمار می‌آیند که بر کارایی این فرایند تأثیر فراوان خواهند داشت. افزایش آگاهی از محیط زیست میکروبی و درک بهتر از سیستم‌های زیستی، یافتن مسیرهای تبدیل جدید، افزایش فعالیت گوگردزدایی، حذف گوگرد در دمای بالاتر، جداسازی سویه‌های جدید برای گوگردزدایی در طیف وسیع‌تری از ترکیبات گوگرد، شناسایی سویه‌هایی با قابلیت تحمل بالاتر فاز هیدروکربنی، استفاده از تکنیک‌های مهندسی ژنتیک، بهینه‌سازی طراحی زیست واکنشگاهها، و استفاده از فناوریهای تلفیقی توأم با فرایند گوگردزدایی زیستی می‌توانند به افزایش کارایی گوگردزدایی زیستی و تحقق سوخت فسیلی پاک منجر شوند.

## مراجع

- [1] Gupta, N., Roychoudhury, P. K., Deb, J., "Biotechnology of desulfurization of diesel: prospects and challenges", *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 66, 356-366, (2005).
- [2] Srivastava, V. C., "An evaluation of desulfurization technologies for sulfur removal from liquid fuels", *RSC Adv.* 2, 759-783, (2012).
- [3] Mohebbi, G. A., Ball, A., "Biocatalytic desulfurization (BDS) of petrodiesel fuels", *Microbiology*, 154, 2169-2183, (2008).
- [4] Solemani, M., Bassi, A., "Biodesulfurization of refractory organic sulfur compounds in fossil fuels", *Biotechnol. Adv.* 25, 570-596, (2007).
- [5] Rath, K., Mishra, B., Vuppu, S., "Bio degrading ability of organo-sulphur compound of a newly isolated microbe *Bacillus* sp. KS1 from the oil contaminated Soil", *Arch. Appl. Sci. Res.* 4, 465-471, (2012).
- [6] Boshagh, F., Mokhtarani, B., Mortaheb, H. R., "Effect of electrokinetics on biodesulfurization of the model oil by *Rhodococcus erythropolis* PTCC1767 and *Bacillus subtilis* DSMZ 3256", *J. Hazard. Mater.* 280, 781-787, (2014).
- [7] Boniek, D., Figueiredo, D., Dos Santos, A. F. B., De Resende Stoianoff, M. A., "Biodesulfurization: a mini review about the immediate search for the future technology", *Clean Technol. Environ. Policy*, (2014).
- [8] Nuhu, A., "Bio-catalytic desulfurization of fossil fuels: a mini review", *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* (2012).
- [9] Marcellis, C., anaerobic biodesulfurization of thiophenes. Ph.D. Thesis, Wageningen University, December, (2002).
- [10] Davoodi-Dehaghani, F., Vosoughi, M., Ziaee, A. A., "Biodesulfurization of dibenzothiophene by a newly isolated *Rhodococcus erythropolis* strain", *Bioresour. Technol.* 101, 1102-1105, (2010).
- [11] Javadli, R., de Klerk, A., "Desulfurization of heavy oil", *Appl. Petrochem. Res.* 1, 3-19, (2012).

- [12] Debabov, V. G., "Microbial Desulfurization of Motor Fuel", *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 46, 733–738, (2010).
- [13] Ramirez-Corredores, M., Borole, A., Chapter 3 Emerging Biocatalytic processes From Biocatalysis in Oil Refining: studies in surface science and catalysis, 164, 65-226, (2007).
- [14] Kilbane, J. J. "Microbial biocatalyst developments to upgrade fossil fuels", *Curr. Opin. Biotechnol.* 17, 305–14, (2006).
- [15] Monticello, D. J. "Biodesulfurization and the upgrading of petroleum distillates", *Curr. Opin. Biotechnol.* 11, 540–546, (2000).
- [16] Alcon, A., Santos, V. E., Martin, A. B., Gomez, E., Garcia-Ochoa, F., "Kinetic model for DBT desulphurization by resting whole cells of *Pseudomonas putida* CECT5279", *Biochem.Eng. J.* 39, 486-495, (2008).
- [17] Calzada, j., Alcon, A., Santos, V. E., Garcia-Ochoa, F., "Extended kinetic model for DBT desulfurization using *Pseudomonas Putida* CECT5279 in resting cells", *Biochem.Eng. J.* 66, 52-60, (2012).
- [18] Del Olmo, C. H., Alcon, A., Santos, V. E., Garcia-Ochoa, F., "Modeling the production of a *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 biocatalyst for DBT biodesulfurization: Influence of media composition", *Enzyme Microb. Technol.* 37, 157–166, (2005).
- [19] Alcon, A., Santos, V. E., Martin, A. B., Gomez, E., Yustos, P., Garcia-Ochoa, F., "Biodesulfurization of DBT with *Pseudomonas putida* CECT5279 by resting cells: Influence of cell growth time on reducing equivalent concentration and HpaC activity", *Biochem. Eng. J.* 26, 168-175, (2005).
- [20] Gunam, I. B. W., Yaku, Y., Hirano, M., Yamamura, K., Tomita, F., Sone, T." Biodesulfurization of Alkylated Forms of Dibenzothiophene and Benzothiophene by *Sphingomonas subarctica* T7b", *Biosci. Bioeng.* 101, 322-327, (2006).
- [21] Li, W., Wang, M. D., Chen, H., Chen, J. M., Shi, Y., "Biodesulfurization of dibenzothiophene by growing cells of *Gordonia* sp. in batch cultures", *Biotechnol. Lett.* 28, 1175–1179, (2006).
- [22] Li, F., Zhang, Z., Feng, J., Cai, X., Ping, X., "Biodesulfurization of DBT in tetradecane and crude oil by a facultative thermophilic bacterium *Mycobacterium goodii* X7B", *J. Biotechnol.* 127, 222–228, (2007).
- [23] Alves, L., Marques, S., Matos, J., Tenreiro, R., Girio, F. M., "Dibenzothiophene desulfurization by *Gordonia alkanivorans* strain 1B using recycled paper sludge hydrolyzate", *Chemosphere*, 70, 967–973, (2008).
- [24] Bahuguna, A., Lily, M. K., Munjal, A., Singh, R. N., Dangwal, K., "Desulfurization of dibenzothiophene (DBT) by a novel strain *Lysinibacillus sphaericus* DMT-7 isolated from diesel contaminated soil", *Environ. Sci.* 23, 975–982, (2010).
- [25] Papizadeh, M., Ardakani, M. R., Ebrahimipour, G., Motamedi, H., "Utilization of dibenzothiophene as sulfur source by *Microbacterium* sp. NISOC-06", *Microbiol. Biotechnol.* 126, 1195–1200, (2010).
- [26] Ishii, Y., Kozaki, S., Furuya, T., Kino, K., Kirimura, K., "Thermophilic Biodesulfurization of Various Heterocyclic Sulfur Compounds and Crude Straight-Run Light Gas Oil Fraction by a Newly Isolated Strain *Mycobacterium phlei* WU-0103", *Curr. Microbiol.* 50, 63–70, (2005).
- [27] Yu, B., Ma, C., Zhou, W., Wang, Y., Cai, X., Tao, F., Zhang, Q., Tong, M., Qu, J., Xu, P., "Microbial desulfurization of gasoline by free whole-cells of *Rhodococcus erythropolis* XP", *FEMS Microbiol. Lett.* 258, 284–289, (2006a).
- [28] Guobin, S., Huaiying, Z., Jianmin, X., Guo, C., Wangliang, L., Huizhou, L., "Biodesulfurization of hydrodesulfurized diesel oil with *Pseudomonas delafieldii* R-8 from high density culture", *Biochem. Eng. J.* 27, 305–309, (2006).
- [29] Yang, J., Hu, Y., Zhao, D., Wang, S., Lau, P. C., K. Marison, I. W., "Two-layer continuous-process design for the biodesulfurization of diesel oils under bacterial growth conditions", *Biochem. Eng. J.* 37, 212–218, (2007).
- [30] Zhang, H., Shan, G., Liu, H., Xing, J., "Surface modification of  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nano-particles with gum arabic and its applications in adsorption and biodesulfurization", *Surf. Coat. Technol.* 201, 6917–6921, (2007a).
- [31] Torkamani, S., Shayegan, J., Yaghmaei, S., Alemzadeh, I., "Study of the first isolated fungus capable of heavy crude oil biodesulfurization", *Ind. Eng. Chem. Res.* 47, 7476–7482, (2008).
- [32] Azimzadeh Irani, Z., Mehrnia, M. R., Yazdian, F., Soheily, M., Mohebbi, G. A., Rasekh, B., "Analysis of petroleum biodesulfurization in an airlift bioreactor using response surface methodology", *Bioresour. Technol.* 102, 10585-1059,1 (2011).
- [33] Amin, G. A., "Integrated Two-Stage Process for Biodesulfurization of Model Oil by Vertical Rotating Immobilized Cell Reactor with the Bacterium *Rhodococcus erythropolis*", *Pet. Environ. Biotechnol.* 2, 325-330, (2011).
- [34] Li, J., Chen, B., "Surfactant-mediated Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons", *Materials*, 2, 76-94, (2009).
- [35] Miao-dong, W., Wei, L., Yao, S., Da-hui, W., Hai, F., "Effects of surfactant on biodesulfurization by *Corynebacterium* sp.ZD-1 in the presence of organic phase", *J. Zhejiang University Science A.* 7, 371–375, (2006).
- [36] Del Aguila, R. A., Boltes, K., Leton, P., Rodriguez, A., Rosal, R., Perdigon, J. A., Garcia-Calvo, E., "Biodesulfurization of DBT in model oil by resting cell of *Pseudomonas putida* CECT5279: Process enhancement", *Proceedings of European Congress of Chemical Engineering* Sept. 16-20, (2007).
- [37] Caro, A., Leton, P., Garcia-Calvo, E., Setti, L., "Enhancement of dibenzothiophene biodesulfurization using B-cyclodextrins in oil-to-water media", *Fuel*, 86, 2632–2636, (2007).
- [38] Li, W., Jiang, X., "Enhancement of bunker oil biodesulfurization by adding surfactant" *World J. Microbiol. Biotechnol.* 29, 103–108, (2013).
- [39] Bandyopadhyay, S., Chowdhury, R., Bhattacharjee, C., Pan, S., "Simultaneous production of biosurfactant and ULSD (ultra low sulfur diesel) using *Rhodococcus* sp. in a chemostat", *Fuel*, 113, 107–112, (2013).
- [40] Derikvand, P., Etemadifar, Z., Biria, D., "Taguchi optimization of dibenzothiophene biodesulfurization by *Rhodococcus erythropolis* R1 immobilized cells in a biphasic system", *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 86, 343–348, (2014).

- [41] Ansari, F., Grigoriev, P., Libor, S., Tothill, I. E., Ramsden, J. J., "DBT degradation enhancement by decorating *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 with magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nano particles", *Biotechnol. Bioeng.* 102, 1505–1512, (2009).
- [42] Bardania, H., Raheb, J., Mohammad Beigi, H., Rasekh, B., Arpanaei, A., "Desulfurization activity and reusability of magnetite nanoparticle-coated *Rhodococcus erythropolis* FMF and *R. erythropolis* IGTS8 bacterial cells", *Biotechnol. Appl. Biochem.*, (2013).
- [43] Shan, G., Xing, J., Zhang, H., Liu, H., "Biodesulfurization of dibenzothiophene by microbial cells coated with magnetite nanoparticles", *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 4497–4502, (2005).
- [44] Hai, Y., Xudong, S., Qianqian, X., Zhao, M., Chengbin, X., Jun, N., "Effects of nicotinamide and riboflavin on the biodesulfurization activity of dibenzothiophene by *Rhodococcus erythropolis* USTB-03", *Environ. Sci.* 20, 613–618, (2008).
- [45] Furuya, T., Ishii, Y., Kino, K., Kirimura, K., Noda, K., "Thermophilic biodesulfurization of hydrodesulfurized light gas oils by *Mycobacterium phlei* WU-F1", *FEMS Microbiol. Lett.* 221, 137–142, (2003).
- [46] Bhatia, S., Sharma, D. K., "Thermophilic desulfurization of dibenzothiophene and different petroleum oils by *Klebsiella* sp. 13T", *Environ. Sci. Pollut. Res.*, (2012).
- [47] Li, G. Q., Li, S. S., Qu, S. W., Liu, Q. K., Ma, T., Zhu, L., Liang, F. L., Liu, R. L., "Improved biodesulfurization of hydrodesulfurized diesel oil using *Rhodococcus erythropolis* and *Gordonia* sp", *Biotechnol. Lett.* 30, 1759–1764, (2008).
- [48] Raheb, J., Hajipour, M. J., Saadati, M., Rasekh, B., Memari, B., "The enhancement of biodesulfurization activity in a novel indigenous engineered *Pseudomonas putida*", *Iranian. Biomed. J.* 13, 207–213, (2009).
- [49] Etemadifar, Z. G., Emtiazi, G., Christofi, N., "Enhanced desulfurization activity in protoplast transformed *Rhodococcus erythropolis*", *Am. Euras. J. Agric. Environ. Sci.* 3, 795–801, (2008).
- [50] Alves, L., Melo, M., Mendonca, D., Simoes, F., Matos, J., Tenreiro, R., Girio, F. M., "Sequencing, cloning and expression of the dsz genes required for dibenzothiophene sulfone desulfurization from *Gordonia alkanivorans* strain 1B", *Enzyme Microb. Technol.* 40, 1598–1603, (2007).
- [51] Caro, A., Boltes, K., Leton, P., Garcia-Calvo, E., "Biodesulfurization of dibenzothiophene by growing cells of *Pseudomonas putida* CECT 5279 in biphasic media", *Chemosphere.* 73, 663–669, (2008).
- [52] Rashtchi, M., Mohebbali, G. A., Akbarnejad, M. M., Towfigh, J., Rasekh, B., Keytash, A., "Analysis of biodesulfurization of model oil system by the bacterium, strain RIPI-22", *Biochem. Eng. J.* 29, 169–173, (2006).
- [53] Caro, A., Boltes, K., Leton, P., Garcia-Calvo, E., "Dibenzothiophene biodesulfurization in resting cell conditions by aerobic bacteria", *Biochem. Eng. J.* 35, 191–197, (2007).
- [54] Maghsoudi, S., Kheiriloomoom, A., Vossoughi, M., Tanaka, E., Katoh, S., "Biodesulfurization of hydrocarbons and diesel fuels by *Rhodococcus* sp. strain P32C1", *Biochem. Eng. J.* 8, 151–156, (2001).
- [55] Hou, Y., Kong, Y., Yang, J., Zhang, J., Shi, D., Xin, W., "Biodesulfurization of dibenzothiophene by immobilized cells of *Pseudomonas stutzeri* UP-1", *Fuel.* 84, 1975–1979, (2005).
- [56] Naito, N., Kawamoto, T., Fujino, K., Kobayashi, M., Maruhashi, K., Tanaka, A., "Long-term repeated biodesulfurization by immobilized *Rhodococcus erythropolis* KA2-5-1 cells", *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55, 374–378, (2001).
- [57] Zhang, S. H., Chen, H., Li, W., "Kinetic analysis of biodesulfurization of model oil containing multiple alkyl dibenzothiophenes", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, (2012).
- [58] Alves, L., Paixao, S. M., "Enhancement of dibenzothiophene desulfurization by *Gordonia alkanivorans* strain 1B using sugar beet molasses as alternative carbon source", *Appl. Biochem. Biotechnol.*, (2014a).
- [59] Okada, H., Nomura, N., Nakahara, T., Maruhashi, K., "Cultivation of a desulfurizing bacterium, *Mycobacterium* strain G3", *Biotechnol. Lett.* 23, 2047–2050, (2001).
- [60] Chen, H., Zhang, W. J., Cai, Y. B., Zhang, Y., Li, W., "Elucidation of 2-hydroxybiphenyl effect on dibenzothiophene desulfurization by *Mycobacterium* sp. strain ZD-M2" *Bioresour. Technol.* 99, 6928–6933, (2008).
- [61] Chen, H., Cai, Y. B., Zhang, W. J., Li, W., "Methoxylation pathway in biodesulfurization of model organosulfur compounds with *Mycobacterium* sp.", *Bioresour. Technol.* 100, 2085–2087 (2009).
- [62] Mohebbali, G., Ball, A. S., Rasekh, B., Kaytash, A., "Biodesulfurization potential of a newly isolated bacterium, *Gordonia alkanivorans* RIPI90A", *Enzyme Microb. Technol.* 40, 578–584, (2007).
- [63] Luo, M. F., Xing, J. M., Gou, Z. X., Li, S., Liu, H. Z., Chen, J. Y., "Desulfurization of dibenzothiophene by lyophilized cells of *Pseudomonas delafieldii* R-8 in the presence of dodecane", *Biochem. Eng. J.* 13, 1–6, (2003).