ترکیبات آلی گوگردی معمولا جزو مواد آلوده‌کننده و خطرناک برای محیط‌زیست هستند. دی‌سولفیداویل (DSO) یکی از این ترکیبات است که درنتیجه فرایند تصفیه نفت و گاز تولید می‌شود. دی‌متیل سولفید (DMS) ماده‌ای سمی و به شدت بدبو و برای محیط‌زیست بسیار خطرناک است و وجود آن در هوا باعث آلودگی و ناراحتی‌های ریوی می‌شود و در آب و خاک نیز اثرات مخرب دارد. در پالایشگاه گاز عسلویه به علت تولید بسیار زیاد گاز، حجم تولید DSO مقابل ملاحظه است و سوزاندن آن مشکلات محیط‌زیستی ایجاد می‌کند. در واحد پژوهش و توسعه شرکت نفت و گاز پارس پروژه‌ای تعریف‌شد که این ماده به روش‌های میکروبی تجزیه شده و به مواد بی‌ضرر تبدیل شود. مطالعات بعدی نشان‌داد که این ماده قابل تفکیک است و پس از تفکیک مواد خالص‌شده در صنایع مختلف کاربرد دارد. درحال حاضر کارهای آزمایشگاهی خاتمه یافته و قرارداد پایلوت نیمه‌صنعتی با یک شرکت ایرانی در مرحله عقد قرارداد است. روش میکروبی نیز به جواب قابل قبول رسیده و گونه مناسب شناسایی و تکثیر شده است. به زودی طرح نیمه‌صنعتی آن در عسلویه اجرامی‌شود. در آینده مقادیر زیاد DSO به روش شیمیایی تفکیک و مقادیر کم و آلودگی‌های ناخواسته آب و خاک به روش میکروبی رفع خواهدشد. در ادامه چکیده‌ای از این تحقیق را می‌خوانید:

تولید متانول از دی‌متیل‌سولفید (DMS) توسط باسیلوس‌ها

مهندس سید حمیدرضا علوی از شرکت نفت و گاز پارس
گیتی امتیازی ، شراره حریرچی ، محسن گلابی -دانشجویان دانشکده علوم دانشگاه اصفهان

چکیده

در این تحقیق با غنی‌سازی خاک از ترکیبات خطی گوگرد حاوی DSO، دوباکتری جداسازی شد که با روش‌های میکروبیولوژیکی به عنوان باسیلوس شناخته‌شدند. این باکتری‌ها به صورت کو-متابولیسم با استفاده از گلوکز به عنوان منبع کربن و دی‌متیل سولفید (DMS) موجود در DSO به عنوان منبع گوگرد، توانستند DMS را تجزیه و از آن متانول تولیدکنند.

بررسی مقدار تولید متانول با روش گروماتوگرافی گازی Gas Chromatography (GC) نشان‌داد که ۸۰٪ از DMS موجود در محیط کشت به متانول تبدیل‌شده است. همچنین باتوجه به وجود گروه گوگردی می‌توان مقدار این ماده را با روش اسپکتروفتومتری UV مطالعه کرد. نتایج حاصله نشان‌داد که در PH=6 و در شرایط انکوباتورگذاری $30^{o}C$ باکتری‌های جداشده می‌توانند بیشترین پیک DMS را در طول موج 310nm کاهش دهند. همچنین با استفاده‌از کلروربازیم و استات سرب، هیچ‌گونه سولفات یا H_2S آزادشده در محیط مشاهده‌نشد.

طبق مطالعات انجام‌گرفته باکتری‌های زیادی می‌توانند از ترکیبات گوگردی استفاده‌کنند که می‌توان به Acinetobacter(5), Hyphomicrobium(10), Methylophaga(2), Rhodococcus(6), Thiobacillus(8), Atrhobacter(1), Pseudonocordia(7) و باکتری‌های ارغوانی(۹) اشاره‌کرد. همچنین گزارشاتی مبنی بر تجزیه زیستی (Biodegradation) این ترکیبات توسط بازیدومیست‌ها(۳) و فیتوپلانکتون‌ها(۴) در دست است ولی هیچگونه گزارشی در مورد تجزیه زیستی این ترکیبات از جمله DMS توسط باسیلوس‌ها وجودندارد. در این تحقیق نشان‌داده شده که متانول از تجزیه زیستی DMS ایجاد و منجر به حذف آلودگی DMS,DSO و امثال آن از محیط‌زیست می‌شود.

مواد و روش‌ها

DMS یکی از ترکیباتی است که همراه DSO وجوددارد، به طوری که برای غنی‌سازی باکتری‌های تجزیه‌کننده DMS، مقداری خاک به محیط کشت حاوی DSO و مواد معدنی درج شده در جدول۱، اضافه‌شد.

پس از ۲۱ روز، 5ml از خاک غنی‌شده به محیط DSO Broth اضافه و ۴ بار پاساژداده شد. سپس برروی محیط DSO آگار خالص‌سازی انجام‌شد. برای سنجش غلظت H_2S آزادشده در محیط، از روش رنگ‌سنجی (Colorimetery) به همراه معرف N و N- دی‌متیل پارافنیلین‌دی آمین استفاده‌شد و غلظت SO_4^{2-} آزادشده احتمالی در محیط کشت نیز با استفاده از کلروربااریم مشخص‌گردید. همچنین برای استخراج فاز آلی از خاک آلوده شده به DSO از حلال اتیل استات به منظور انجام GC استفاده‌شد.

مقدار بر حسب gr/lit	ماده شیمیایی	مقدار بر حسب gr/lit	ماده شیمیایی
۰/۲	$FeCl_3.6H_2O$	۲/۲۵	KH_2PO_4
۰/۶	$CaCl_2$	۲/۲۵	K_2HPO_4
۱۵	برای محیط جامد Agar	۱	$(NH_4)_2SO_4$
30 µlit/lit	DSO	۰/۲	$MgCl_2.6H_2O$
اتوکلاو نمودن در ۱۲۱°C به‌مدت ۱۵ دقیقه		۰/۱	NaCl

جدول۱-مواد موردنیاز برای محیط کشت حاوی DSO

بحث و نتایج

۱- تجزیه زیستی DSO توسط باسیلوس‌ها

DSO به‌عنوان محصول فرعی صنایع نفت شناخته‌شده و حاوی DMS، دی متیل دی سولفید (DMDS) اتیل سولفید، دی اتیل سولفید و غیره است. در این تحقیق با غنی‌سازی خاک توسط DSO توانستیم دو سویه باکتریایی را جداکنیم که با توجه به آزمایشات کلیدی و اختصاصی باکتری‌شناسی، باکتری‌های میله‌ای، g^+، کاتلاز+، اکسیداز+، هوازی و بی‌هوازی اختیاری واسپوردار تشخیص داده‌شدند که این ویژگی‌ها مربوط به جنس باسیلوس می‌باشد. دو سویه جداشده قادر به تولید H_2S و یا سولفات از DMS نیستند و تنها با حضور گلوکز به‌عنوان منبع کربن و به صورت کو- متابولیسم و در شرایط هوازی، می‌توانند از DMS به‌عنوان منبع گوگرد استفاده‌کنند. علت این امر بررسی تغییرات جذب UV است. زیرا در حالتی که DMS هم به‌عنوان منبع گوگرد و هم به‌عنوان منبع کربن به‌کار رفته بود، تغییری در جذب UV مشاهده‌نشده ولی با افزودن گلوکز به محیط، غلظت DMS کاهش یافت. علاوه‌براین نتایج، مشخص گردید که سویه۲ نسبت به سویه۱ رشد سریع‌تری را در محیط حاوی DSO به‌عنوان منبع گوگرد به‌همراه گلوکز به‌عنوان منبع کربن، دارد. نهایتاً با استخراج DMS از خاک آلوده شده توسط حلال اتیل استات و انجام GC مشخص‌شد که از تجزیه زیستی DMS، متانول تولید شود. با توجه به این نتایج و تجزیه‌شدن این ماده توسط باسیلوس‌ها، می‌توان روش نوینی برای کاهش آلودگی این ماده خطرناک در محیط‌زیست، به‌دست آورد.

۲- تاثیرات DSO در تنفس میکروارگانیسم‌های خاک

DSO نقش مهمی در مرگ و میرباکتری‌ها دارد و می‌تواند تنفس را در مجاورت خاک کاهش‌دهد. به همین منظور برای مطالعه اثر غلظت‌های مختلف DSO بر روی تنفس خاک، مقادیر ۰/۱ تا ۰/۵ میلی‌لیتر به نمونه‌های ۱گرمی خاک اضافه‌شد و تغییرات تنفس خاک براساس تغییر ماده رنگی در لوله‌های مویین برحسب میلی‌متر مورد بررسی قرارگرفت (جدول۲). همان‌طور که جدول نشان‌می‌دهد، تنفس وقتی که مقدار DSO ۰/۲ ml/gr است، در ۳ساعت، ۵۰٪ کاهش می‌یابد و بعد از ۹ساعت این کاهش به ۴۲/۳۹٪ می‌رسد. در حالی که اگر مقدار DSO ۰/۱ ml/gr باشد با وجود آنکه کاهش تنفس وجوددارد، ولی این کاهش تنفس بعد از ۹ساعت به شاهد نزدیک‌تر می‌گردد و پس از مرگ یکسری از باکتری‌ها، تنفس در میکروارگانیسم‌های دیگر افزایش می‌یابد. بدان معنی که باکتری‌های باقی‌مانده می‌توانند DSO را اکسید نمایند. ولی باید درنظر داشت که اگر میزان DSO به ۰/۵ ml در هرگرم خاک برسد پس از گذشت ۹ساعت ۶۲٪ کاهش تنفس وجوددارد به این معنی که عمل تنفس حتی در باکتری‌های اکسیدکننده آن متوقف گردیده است.

مقدار DSO در هر گرم خاک بر حسب ml	زمان بر حسب ساعت ۳	۵	۹	
شاهد (نمونه شاهد حاوی آب به‌جای DSO است.)	۲/۵	۴	۵/۳	تغییر ماده رنگی در لوله مویین برحسب mm
۰/۱	۱/۵	۳/۷	۴/۸	
۰/۲	۱/۲۵	۲	۳	
۰/۳	۱/۲۵	۲	۳	
۰/۴	۱/۲	۱/۹	۲/۹	
۰/۵	۰/۹	۱/۳	۲	

جدول۲-نتایج حاصل از تنفس خاک در مجاور محلول DSO

به دلیل کثرت منابع از درج آنها خودداری شده در صورت لزوم با نشریه تماس حاصل فرمایید.