



Biodesulfurization of Dibenzothiophene by *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 in the Presence of Magnetic Nanoparticles and Carbon Nanotubes Surface-modified Polyethylene Glycol

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Karimi E.¹ MSc,
Yazdian F.* PhD,
Rasekh B.² PhD,
Akhavan Sepahy A.³ PhD,
Rashedi H.⁴ PhD,
Sheykhha M.H.⁵ PhD,
Haghiroalsadat B.F.⁶ PhD,
Hatamian A.S.¹ PhD

How to cite this article

Karimi E, Yazdian F, Rasekh B, Akhavan Sepahy A, Rashedi H, Sheykhha M H, Haghiroalsadat B F, Hatamian A S. Biodesulfurization of Dibenzothiophene by *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 in the Presence of Magnetic Nanoparticles and Carbon Nanotubes Surface-modified Polyethylene Glycol. Modares Journal of Biotechnology. 2018;9(2):301-308.

*Life Science Engineering Department, New Sciences & Technologies Faculty, University of Tehran, Tehran, Iran

¹Life Science Engineering Department, New Sciences & Technologies Faculty, University of Tehran, Tehran, Iran

²Biotechnology Research Center, Research Institute of Petroleum Industry, Tehran, Iran

³Biology Department, Life Science Faculty, North Tehran Branch, Islamic Azad Universities, Tehran, Iran

⁴Biotechnology Department, Chemical Engineering Faculty, University of Tehran, Tehran, Iran

⁵Biotechnology Research Center, International Campus, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences & Health Services, Yazd, Iran

⁶New Medical Sciences & Technologies Department, Paramedical Faculty, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences & Health Services, Yazd, Iran

Correspondence

Address: New Sciences & Technologies Faculty, North Kargar Street, Tehran, Iran. Postal Code: 1439957131
Phone: +98 (21) 86093259
Fax: +98 (21) 88497324
yazdian@ut.ac.ir

Article History

Received: October 28, 2016
Accepted: June 14, 2017
ePublished: June 21, 2018

ABSTRACT

Aims Today, crude oil is one of the main sources of energy. The combustion of sulfur-containing compounds in fossil fuels leads to the production of sulfur oxides that has adverse effects to human health and the environment. At the moment, the current method for removal of sulfur is Hydrodesulfurization. The aim of this study was to investigate the effect of magnetic nanoparticles and modified carbon nanotubes as nano-adsorbent on improving the biodesulfurization activity of microorganisms (*Rhodococcus erythropolis* IGTS8).

Materials & Methods In the current experimental study, the nanoparticles were synthesized by chemical co-precipitation and the carbon nanotubes were initially carboxylated. Multi-layer carbon nanotubes were mixed with 95% sulfuric acid and 52% nitric acid (volume ratio 1:3) and, then, modified by polyethylene glycol. In order to characterize nanoparticles and carbon nanotubes, scanning transmission electron microscopy (STEM), X-ray diffraction, magnetic surveys, analysis of arch Raman, and fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) were conducted.

Findings The size of nanoparticles was estimated to be 7-8nm and modified carbon nanotubes showed the highest solubility as well as stability in deionized water for two weeks. The growth of microorganisms in the presence of magnetic nanoparticles and carbon nanotubes compared to their absence increased by 40% and 8%, respectively. Moreover the desulfurization activity of microorganisms in the presence of magnetic nanoparticles and carbon nanotubes showed a significant increase compared to their absence.

Conclusion Nanoparticles with adsorption of sulfur compounds increase their availability for microorganisms.

Keywords Crude Oil; Carbon Nanotubes; *Rhodococcus erythropolis* IGTS8

CITATION LINKS

- [1] Genomic structure and promoter analysis of the dsz operon for dibenzothiophene biodesulfurization from *Gordonia alkanivorans* RIPI90A
- [2] Biocatalytic desulfurization (BDS) of petrodiesel fuels
- [3] Dibenzothiophene desulfurization by *Gordonia alkanivorans* strain 1B using recycled paper sludge hydrolyzate
- [4] Selective desulphurization of dibenzothiophene by a soil bacterium: Microbial DBT desulphurization
- [5] Chemistry of diesel fuels
- [6] Modeling the production of a *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 biocatalyst for DBT biodesulfurization: Influence of media composition
- [7] DBT degradation enhancement by decorating *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 with Magnetic Fe₃O₄ nanoparticles
- [8] Dibenzothiophene biodesulfurization in resting cell conditions by aerobic bacteria
- [9] Biodesulfurization of dibenzothiophene and its alkylated derivatives through the sulfur-specific pathway by the bacterium RIPI-S8₁
- [10] Sequencing, cloning and expression of the dsz genes required for dibenzothiophene sulfon desulfurization from *Gordonia alkanivorans* strain 1B
- [11] Advanced technology for functionalization of carbon nanotubes
- [12] Removal of heavy metals from wastewater using carbon nanotubes
- [13] Carbon nanotube catalysts for oxidative desulfurization of a model diesel fuel using molecular oxygen
- [14] Surface modification and functionalization of carbon nanotube with some organic compounds
- [15] PEGylation of double-walled carbon nanotubes for increasing their solubility in water
- [16] Magnetite nanoparticles with surface modification for removal of methyl violet from aqueous solutions
- [17] Citrate capped superparamagnetic iron oxide nanoparticles used for hyperthermia therapy
- [18] Development of citrate-stabilized Fe₃O₄ nanoparticles: Conjugation and release of doxorubicin for therapeutic applications
- [19] Magnetic immobilization of *Bacillus subtilis* natto cells for menaquinone-7 fermentation

گوگردزدایی زیستی از دی‌بنزوتیوفن توسط رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 در حضور نانوذرات مغناطیسی و نانولوله‌های کربنی سطح اصلاح شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول

الهام کریمی MSc

گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

فاطمه یزدانی PhD*

گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

بهنام راسخ PhD

مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقات صنعت نفت، تهران، ایران

عباس اخوان‌سپهی PhD

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد

اسلامی، تهران، ایران

حمید راشدی PhD

گروه بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

محمدحسن شیخها PhD

مرکز پژوهشی بیوتکنولوژی، پردیس بین‌الملل، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات

بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران

بی‌بی‌فاطمه حقیرالسادات PhD

گروه علوم و فنون نوین پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی

شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

اشرف‌السادات حاتمیان PhD

گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

اهداف: امروزه نفت خام یکی از منابع اصلی انرژی است. سوختن ترکیبات حاوی گوگرد در سوخت‌های فسیلی منجر به تولید اکسیدسولفور می‌شود که اثرات زیان‌باری برای سلامت و محیط زیست دارد. در حال حاضر روش رایج برای حذف گوگرد، گوگردزدایی شیمیایی است. هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر نانوذرات مغناطیسی و نانولوله‌های کربنی اصلاح شده به‌عنوان نانوجاذب در بهبود فعالیت گوگردزدایی باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 بود.

مواد و روش‌ها: در پژوهش تجربی حاضر نانوذرات به روش شیمیایی هم‌رسوبی سنتز و نانولوله‌های کربنی ابتدا کربوکسیله شدند. نانولوله‌های کربنی چندلایه با ترکیب سولفوریک/اسید ۹۵٪ و نیتریک/اسید ۵۲٪ (نسبت حجمی ۳:۱) مخلوط و سپس با پلی‌اتیلن‌گلیکول اصلاح شدند. مشخصه‌یابی نانوذرات مغناطیسی و نانولوله‌های کربنی توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی و عبوری، پراش پرتو ایکس، سنجش خواص مغناطیسی، آنالیز قوس رامان و طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوری به صورت پذیرفت.

یافته‌ها: سایز نانوذرات ۷ تا ۸ نانومتر تخمین زده شد و نانولوله‌های کربنی اصلاح شده بیشترین حلالیت را در آب دیونیزه داشتند. آنها تا دو هفته پایداری نشان دادند. میزان رشد باکتری در حضور نانوذرات مغناطیسی و نانولوله‌های کربنی نسبت به عدم حضور آنها افزایش ۴۰٪ و ۸٪ و همچنین میزان فعالیت گوگردزدایی باکتری در حضور نانوذرات مغناطیسی و نانولوله‌های کربنی افزایش قابل توجهی نسبت به عدم حضور آنها نشان داد.

نتیجه‌گیری: ساختارهای نانویی با جذب سطحی ترکیبات گوگردی دسترس‌پذیری آنها را برای باکتری افزایش می‌دهند.

کلیدواژه‌ها: نفت خام، نانولوله‌های کربنی، رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۱۴

* نویسنده مسئول: yazdian@ut.ac.ir

مقدمه

وجود ترکیبات حاوی گوگرد در سوخت‌های فسیلی یک مشکل اصلی برای صنعت نفت است. از احتراق سوخت‌های فسیلی مقدار قابل توجهی گاز سمی دی‌اکسیدگوگرد به محیط زیست رها می‌شود که سبب آلودگی هوا شده و عامل اصلی باران اسیدی است [1].

زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس

روشی که پالایشگاه‌ها برای خارج کردن گوگرد از نفت و مشتقات آن به کار می‌گیرند، گوگردزدایی شیمیایی (HDS) است. در این روش اتم گوگرد موجود در ترکیبات گوگردی در حضور گاز هیدروژن و کاتالیست فلزی مانند کبالت-مولیبدن / آلومینیوم‌اکسید (CoMo/Al₂O₃) یا نیکل-مولیبدن / آلومینیوم‌اکسید (NiMo/Al₂O₃) به هیدروژن سولفید تبدیل می‌شود. با توجه به نوع هیدروکربن و درجه گوگردزدایی مورد نیاز، فرآیند HDS می‌تواند در دمای ۴۲۵-۲۰۰ °C و فشار ۱۵۰ تا ۲۵۰ پوند بر اینچ مربع (Psi) از هیدروژن رخ دهد. در چنین شرایطی میزان گوگرد می‌تواند از ۱ تا ۵٪ به ۰/۱٪ کاهش یابد [2]. اگرچه با روش HDS به راحتی گوگرد غیرآلی یا برخی ترکیبات گوگردی آلی ساده جدا می‌شوند، اما این فرآیند برای حذف ترکیبات گوگردار هتروسیکلیک پیچیده مانند بنزوتیوفن، دی‌بنزوتیوفن و ۴ و ۶ دی‌متیل‌دی‌بنزوتیوفن مناسب نیست و این ترکیبات بعد از تیمار با HDS در نفت و فرآورده‌های آن باقی می‌مانند [3].

گوگردزدایی زیستی (BDS) یکی از بهینه‌ترین روش‌ها برای حذف ترکیبات آلی گوگردار پیچیده است و به دلیل هزینه‌های سرمایه‌گذاری کمتر، انجام فرآیند در شرایط دمایی و فشار ملایم، عدم نیاز به هیدروژن، عدم تخریب اسکلت کربنی، عدم تولید فرآورده‌های جانبی سمی، ذخیره انرژی و حفظ ارزش حرارتی سوخت نسبت به روش شیمیایی گوگردزدایی بیشتر مورد توجه است [4]. در سال ۱۹۵۳ اولین گزارش‌های گوگردزدایی میکروبی از نفت خام منتشر شد [3]. در سال ۱۹۹۰، کیلبان باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 (*R. erythropolis IGTS8*) را به‌عنوان اولین باکتری گوگردزا، که مسیر 4S را طی می‌کند، معرفی نمود [5]. 7. باکتری‌ها از طریق مسیر 4S قادر به اکسایش گزینشی اتم گوگرد از ترکیبات هتروسیکلی آروماتیک گوگردار هستند بدون آن که اسکلت کربنی را متابولیزه کنند. در این مکانیزم گوگرد از دی‌بنزوتیوفن (DBT) جدا و محصول ۲- هیدروکسی‌بی‌فنیل (-2-HBP) تولید می‌شود [8].

پژوهش‌های بسیاری در مورد جداسازی و شناسایی باکتری‌ها با توانایی حذف گوگرد از ترکیبات ساده و پیچیده گوگردار و همچنین مطالعات ژنتیکی گسترده‌ای روی این باکتری‌ها انجام شده، اما تحقیقات کمی در مورد جنبه‌های مهندسی و توسعه صنعتی فرآیند گوگردزدایی زیستی صورت گرفته است [9]. کاربرد فناوری نانو طی سال‌های اخیر به‌عنوان یک روش جدید به‌منظور تثبیت و بهبود فعالیت سلول‌ها توجه بسیاری را به خود جلب نموده است [7]. پژوهشگران توجه روزافزونی به استفاده و توسعه نانوذرات در فرآیندهای پایین‌دستی زیستی برای جداسازی مولکول‌ها و درشت‌مولکول‌های زیستی، آشکارسازی و تشخیص هدف‌گیری و ارتقای کارایی زیست‌حسگرها دارند [10]. نانولوله‌های کربنی شکل جدیدی از ترکیبات خانواده کربن هستند که اولین بار در سال ۱۹۹۱ توسط ایجیما گزارش شدند [11]. تحقیقات نشان می‌دهد که نانولوله‌های کربنی به‌عنوان گروه جدیدی از نانوجاذب‌ها برای بسیاری از ترکیبات از جمله فلزات سنگین معرفی می‌شوند. پایداری شیمیایی و گرمایی بالا و سطح ویژه بالای نانولوله‌های کربنی، آنها را به‌عنوان نانوجاذب‌های مناسب معرفی می‌کند [12]. ژنک و همکاران نشان دادند که در گوگردزدایی اکسایشی برای ترکیبات گوگردی آلی مانند بنزوتیوفن و مشتقات آلکیل آن می‌توان از نانولوله‌های کربنی به‌عنوان کاتالیست‌های نوع جدید استفاده کرد [13].

هدف پژوهش حاضر بررسی اثر نانوذرات مغناطیسی و نانولوله‌های کربنی اصلاح شده به‌عنوان نانوجاذب در بهبود فعالیت گوگردزدایی

در پژوهش حاضر، پلیمر زیستی پلی‌اتیلن‌گلیکول برای پوشش سطح نانوذرات به کار رفت. پوشش سطح نانوذرات با پلیمر پلی‌اتیلن‌گلیکول در دو مرحله انجام شد. مرحله اول حین سنتز نانوذرات بود، بدین ترتیب که در مرحله انتهایی سنتز نانوذرات، پس از تشکیل رسوب سیاه‌رنگ، ۵۰ میلی‌لیتر محلول پلی‌اتیلن‌گلیکول (۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به صورت آهسته افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۰°C هم زده شد. در مرحله دوم ۱۰۰ میلی‌گرم از نانوذرات سنتز شده در ۶۰ میلی‌لیتر از محلول پلی‌اتیلن‌گلیکول با همان غلظت به مدت ۱۵ ساعت هم زده شدند. در نهایت نانوذرات حاوی پوشش پلیمری توسط میدان مغناطیسی جدا و در نهایت نانوذرات به مدت یک شبانه‌روز در خشک‌کن انجمادی با دمای ۵۰°C خشک شدند.

کربوکسیلاسیون و اصلاح سطح نانولوله‌های کربنی: جداره خارجی نانولوله‌های خام از نظر شیمیایی خنثی است که برای کاربردهای نانولوله‌ها مطلوب نیست. یکی از روش‌های غلبه بر این مشکل، عامل‌دار کردن نانولوله‌های کربنی است. عامل‌دار کردن نانولوله‌های کربنی باعث گسترش کاربردهای نانولوله‌ها در زمینه‌های مختلف و بهبود خواص آنها می‌شود^[14]. نانولوله‌های کربنی با گونه‌های شیمیایی مانند اکسیژن، فلئور و نیتروژن یا عوامل آلی (بیومولکول‌ها) به صورت کووالانسی نیرو وارد می‌کنند و گروه‌های عاملی با پیوندهای کووالانسی به انتها یا جداره نانولوله‌ها متصل می‌شوند. در عامل‌دار کردن کووالانسی، اتم‌های کربن SP² به اتم‌های کربن SP³ تبدیل می‌شوند. بنابراین خواص انتقالی و الکتریکی نانولوله‌ها تغییر می‌کنند^[15]. روش اکسیداسیون شیمیایی از جمله روش‌های عامل‌دار کردن کووالانسی است که طی آن گروه‌های عاملی مختلفی از جمله کربوکسیل‌ها، گروه‌های انیدرید کربوکسیلی، هیدروکسیل‌ها، کربونیل‌ها، لاکتون‌ها و لاکتول‌ها روی سطح نانولوله‌های کربنی ایجاد می‌شوند. طی عامل‌دار کردن نانولوله‌ها با اسیدها گروه‌های عاملی اکسیژن‌دار به سطح نانولوله‌های کربنی متصل می‌شوند که روی سطح نانولوله‌ها بار منفی ایجاد می‌کنند و باعث پایداری سوسپانسیون نانولوله‌ها در حلال‌ها می‌شوند^[11]. سولئو و همکاران^[14] سطح نانولوله‌های کربنی چند دیواره را با مخلوطی از سولفوریک اسید و نیتریک اسید با نسبت حجمی ۳:۱ در حمام اولتراسونیک به مدت ۵ ساعت در دمای ۶۰°C با گروه‌های کربوکسیل عامل‌دار نمودند و با طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)، اتصال گروه‌های کربوکسیل (COOH) و هیدروکسیل (OH) به سطح نانولوله‌های کربنی را نشان دادند.

در پژوهش حاضر، نانولوله‌های کربنی (نانوآنی؛ مشهد؛ ایران) مورد استفاده، چندلایه (بیش از دو لایه) بودند و براساس روش سولئو و همکاران عمل شد، به این صورت که ۵۰۰ میلی‌گرم از نانولوله‌های کربنی چندلایه با ۲۵۰ میلی‌لیتر مخلوط سولفوریک اسید ۹۵٪ و نیتریک اسید ۵۲٪ (نسبت حجمی ۳:۱) مخلوط شد. مخلوط حاصل به مدت ۵ ساعت در حمام اولتراسونیک در دمای ۶۰°C قرار گرفت. پس از کاهش دما تا دمای محیط، مخلوط با ۲۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به منظور حذف اسید اضافی، رقیق شد. سپس از طریق سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه رسوبات جداسازی شدند. در نهایت رسوبات در آن در دمای ۱۰۰°C به مدت یک شبانه‌روز خشک شد. ۲۰ میلی‌گرم از نانولوله‌های کربوکسیل‌دار شده در مرحله قبل با ۱۰ میلی‌لیتر دی‌متیل فرمامید (DMF) مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار گرفت و پس از آن ۳ میلی‌لیتر استیل کلراید (CH₃COCl) به مخلوط افزوده شد و به مدت یک

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی است.

بررسی رشد و فعالیت گوگردزایی باکتری در محیط مدل: باکتری مورد نظر در این پژوهش رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 بود که از پژوهشگاه صنعت نفت تهیه شد. به منظور مطالعه و بررسی میزان فعالیت گوگردزایی باکتری محیط کشت معدنی پایه (BSM) به کار رفت. این محیط در دو قسمت مجزا تهیه و سترون شد. سپس تحت شرایط استریل دو بخش به یکدیگر افزوده و دی‌بنزوتیوفن به عنوان تنها منبع گوگردی در غلظت ۰/۳ میلی‌مولار در اتانول مطلق تهیه و به آن افزوده شد. به میزان ۱٪ مایه تلقیح آماده شده به فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت BSM منتقل، سپس محیط در شیکر انکوباتور در دمای ۳۰°C و سرعت چرخش ۱۲۰ دور در دقیقه گرماگذاری شد.

آزمون گیس: ۲- هیدروکسی‌بی‌فنیل، محصول نهایی گوگردزایی زیستی از دی‌بنزوتیوفن است که توسط معرف گیس قابل شناسایی است^[3]. قبل از استفاده از معرف گیس، pH محیط با استفاده از بی‌کربنات سدیم روی ۸ تنظیم شد. اصول آزمون گیس این گونه است که این معرف با گروه‌های هیدروکسیل آروماتیک در pH برابر ۸ واکنش می‌دهد که کمپلکس‌های آبی‌رنگ را ایجاد می‌کند. پس از نمونه‌گیری از محیط کشت در فواصل زمانی معین، باکتری‌ها از محیط کشت توسط سانتریفیوژ در شرایط ۴۲۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه جدا شدند. ۲ میلی‌لیتر از مایع رویی به لوله آزمایش منتقل و سپس ۲۰ میکرولیتر معرف گیس اضافه شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۰°C گرماگذاری شد تا کاملاً رنگ آبی ظاهر شود. در نهایت بررسی چگالی نوری در ۶۱۰ نانومتر با روش طیف‌سنجی صورت گرفت.

سنتز و اصلاح سطح نانوذرات: روش‌های متعددی برای سنتز نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن (Fe₃O₄) وجود دارد. روش شیمیایی هم‌رسوبی به دلیل آسانی و هزینه کم، کاربرد بیشتری دارد. در این پژوهش سنتز نانوذرات به روش *انصاری* و همکاران انجام شد^[7].

ابتدا ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول فروکلرید (FeCl₂.4H₂O) ۰/۲ مولار با ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول فریک کلرید (FeCl₃.6H₂O) ۰/۱ مولار در یک بالن سه‌دهانه ترکیب شدند. سپس به منظور اسیدی‌ساختن جزئی محیط، ۳ میلی‌لیتر از محلول اسیدکلریدریک ۲ مولار به محلول یون‌های آهن افزوده و ترکیب حاصل در دمای ۳۰°C هم زده شد. پس از آن یک گرم گلیسین به همراه ۱۱ میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید (NaOH) ۵ مولار به صورت قطره‌قطره اضافه و pH محلول روی ۱۲ تنظیم شد. سپس ۳ گرم گلیسین مجدداً به محلول افزوده شد. سورفاکتانت‌ها بر سطح و کشش سطحی مواد در حالت محلول موثر هستند. در واقع سورفاکتانت‌ها در زمان سنتز نانوذرات با کاهش اثرات متقابل میان ذرات از طریق افزایش نیروی دافعه بین آنها باعث کاهش کشش سطحی می‌شوند. به همین منظور از گلیسین به عنوان سورفاکتانت استفاده شد. سپس محلول به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در دمای ۶۰°C هم زده شد. در انتها رسوب سیاه تشکیل شده، توسط آهنربا مدل 50×25×10 N42:1.3 (تهران مگنت؛ ایران) جداسازی و دو مرتبه با آب دیونیزه به همراه سانتریفیوژ در دور ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه برای حذف یون‌های اضافی شسته شد. در دوره‌های بالا سانتریفیوژ نیروی زیادی به نانوذرات وارد کرده و سبب کلوخه شدن آنها می‌شود^[7]. در نهایت نانوذرات به مدت یک شبانه‌روز در خشک‌کن انجمادی با

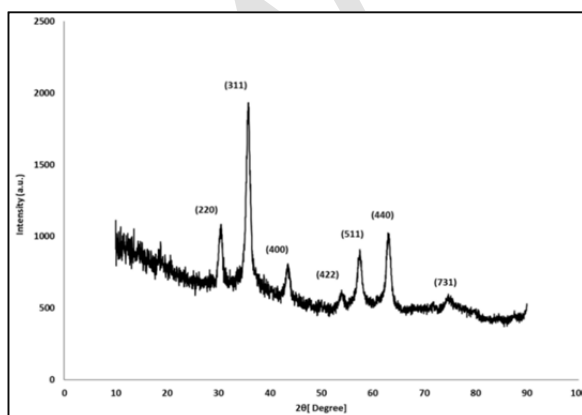
مشاهده می‌شود، به طوری که شدت اشعه ایکس بازتابیده از کریستال (که در هر اتم بدون تغییر طول موج به صورت الاستیک پراکنده شده‌اند) در زوایای خاصی ماکزیمم خواهد بود و در بقیه زوایا شدت اشعه پراشیده شده مقدار قابل ملاحظه‌ای ندارد [16].

ساختار کریستالی نانوذرات توسط دستگاه الگوی پراش پرتو ایکس مدل X-Pert Pro MPD (PANalytical؛ هلند) در آزمایشگاه فناوری نانوکفا تهیه شد. با توجه به پیشرفت تکنولوژی در زمینه مغناطیس و کاربردهای وسیع آن در زمینه صنعت، به ابزاری نیاز است که بتوان با استفاده از آنها خواص مغناطیسی را بررسی کرد. دستگاه‌های مغناطیس‌سنج متفاوتی در این راستا وجود دارد که براساس میزان فرکانس جریان عبوری به چند دسته تقسیم می‌شوند. دستگاه‌های مغناطیس‌سنج به روش‌های مختلف و در شرایط دمایی، میدان مغناطیسی و جهت‌گیری نمونه، مغناطیس یک نمونه از ماده را با ابعاد مختلف اندازه‌گیری می‌کنند [7]. به منظور مطالعه خواص مغناطیسی نانوذرات مغناطیسی از دستگاه مغناطیس‌سنج نمونه مرتعش (VSM) مدل MDKB (شرکت مغناطیس دقیق کویر؛ ایران) توسط آزمایشگاه فناوری نانو دانشگاه کاشان انجام شد.

طیف‌سنجی رامان ابزاری بسیار ارزشمند برای مطالعه ویژگی‌های ساختاری نانوساختارهای بر پایه کربن است. در واقع روشی مناسب برای ارزیابی کمی و کیفی نانولوله‌های کربنی است [11]. مطالعه ساختار نانولوله‌های کربنی با آنالیز قوس رامان با دستگاه مدل SENTERRA (2009) (BRUKER؛ آلمان) در آزمایشگاه مرکزی نانو انجام شد. ترکیب شیمیایی نانولوله‌های کربنی عامل‌دار شده به وسیله دستگاه طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه مدل Tensor27 (BRUKER؛ آلمان) در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه تهران صورت پذیرفت.

یافته‌ها

الگوی پراش پرتو ایکس نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن: الگوی پراش پرتو ایکس نانوذرات مغناطیسی اصلاح شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول، پیک‌هایی را در زاویه‌های 30° ، $35^\circ/4$ ، 43° ، $54^\circ/3$ ، $56^\circ/9$ و $62^\circ/5$ مربوط به صفحات کریستالی 220 ، 311 ، 400 ، 422 ، 440 ، 511 و 731 از شبکه مکعبی نانوذرات مغناطیسی نشان داد (نمودار ۱). سائز نانوذرات $16/3$ نانومتر تخمین زده شد.



نمودار ۱) الگوی پراش پرتو ایکس نانوذرات مغناطیسی اصلاح شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول

خواص مغناطیسی نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن: نانوذرات مغناطیسی اصلاح شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول پسماند مغناطیسی

شبه‌انروز در 100°C در آون قرار گرفت. سپس $1/2$ گرم پلی‌اتیلن‌گلیکول با وزن مولکولی 1500 گرم بر مول (مرک؛ آلمان) در 40 میلی‌لیتر دی‌متیل‌فرمامید ترکیب و به مدت 15 دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار داده شد. این محلول به صورت قطره‌قطره به نانولوله‌های مرحله قبل اضافه و سپس ترکیب حاصل به مدت 15 ساعت در 160°C هم زده شد. در نهایت رسوبات چندین بار با آب دیونیزه شست‌وشو و رسوب نهایی در خشک‌کن انجمادی در دمای 50°C - خشک شد.

بررسی میزان حلالیت نانولوله‌های کربنی در حلال‌های مختلف: میزان پراکندگی و توزیع نانولوله‌های کربنی پوشش‌دار در حلال‌های آب، اتانول و دی‌متیل‌سولفوکسید (DMSO) بررسی شد. بدین منظور 5 میلی‌گرم از نانولوله‌های کربنی با پوشش پلی‌اتیلن‌گلیکول در 25 میلی‌لیتر از محلول‌های ذکر شده افزوده و به مدت 10 دقیقه در دمای محیط در حمام اولتراسونیک قرار گرفت. سپس میزان پایداری آن تا 72 ساعت بررسی شد.

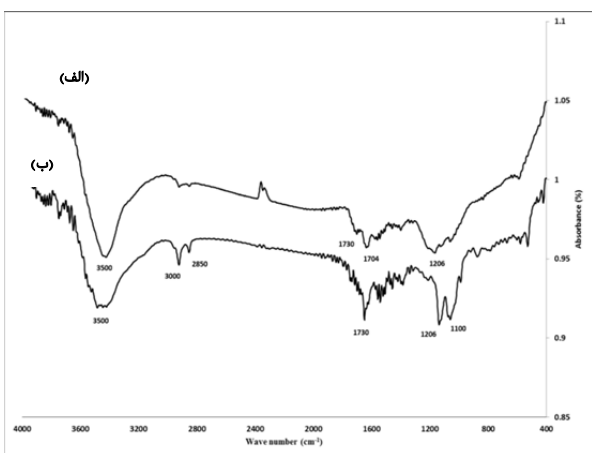
بررسی فعالیت گوگردزدایی باکتری‌ها در حضور نانوساختارها: به منظور بررسی تاثیر نانوذرات مغناطیسی و نانولوله‌های کربنی اصلاح شده بر میزان فعالیت گوگردزدایی باکتری، ابتدا مایه تلقیح تهیه شد. بدین منظور باکتری در 100 میلی‌لیتر محیط نوترینت‌براث در ارلن 250 میلی‌لیتری کشت داده شد. سپس باکتری‌ها در نیمه فاز لگاریتمی رشد توسط سانتی‌فیوژ (1400 دور در دقیقه به مدت 10 دقیقه) جدا شده و دو مرتبه با محلول رینگر شسته شدند. باکتری‌ها به 100 میلی‌لیتر محیط BSM در حضور DBT با غلظت نهایی $0/3$ میلی‌مولار به عنوان تنها منبع گوگردی و گلیسرول (2 میلی‌مولار بر لیتر) به عنوان تنها منبع کربنی ($A_{600}=1$) تلقیح شدند. سپس 10 میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی 100 میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانولوله‌های کربنی و نانوذرات مغناطیسی اصلاح شده در آب مقطر استریل به محیط BSM اضافه شد و به منظور اتصال صحیح و موثر نانوساختارها با سطح سلول باکتری، تحت دمای 30°C و 120 دور در دقیقه به مدت 15 دقیقه گرماگذاری شدند. سلول‌های تثبیت شده با سانتی‌فیوژ (1400 دور در دقیقه به مدت 10 دقیقه) جداسازی و به 250 میلی‌لیتر محیط BSM در ارلن 1000 میلی‌لیتری منتقل و در شرایط دمای 30°C و 120 دور در دقیقه به مدت 120 ساعت گرماگذاری و نمونه‌گیری با فاصله زمانی 24 ساعت انجام شد. میزان رشد به روش طیف‌سنجی در طول موج $6505\text{UV}/\text{vis}$ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (Jenway؛ انگلستان) و میزان فعالیت باکتری‌ها از طریق آزمون گیبس مورد بررسی قرار گرفت.

مشخصه‌یابی نانوساختارها: با استفاده از روش‌های میکروسکوپی، تصاویری با بزرگ‌نمایی بالا از ماده به دست می‌آید تا بتوان جزئیات آن را با دقت مطالعه نمود. در میکروسکوپ‌های الکترونی به جای نور از پرتو الکترونی استفاده می‌شود. از آنجایی که طول موج الکترون می‌تواند بسیار کوتاه باشد، پس در میکروسکوپ‌های الکترونی می‌توان به بزرگ‌نمایی بسیار بالا دست یافت [7]. برای مطالعه ساختار سطحی و مورفولوژی نانوذرات مغناطیسی از تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و عبوری (TEM) استفاده شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FESEM) توسط دستگاه (CarlZeiss) Supra 55 (آلمان) و تصاویر TEM توسط دستگاه مدل CM 200, 200 kVTEM، تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و عبوری (TEM) (Philips) ATM 2 kx2 k CCD camera؛ هلند) تهیه شدند.

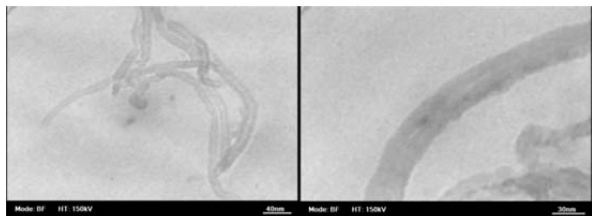
پراش اشعه ایکس (XRD) روش قدیمی و پرکاربرد به منظور بررسی خصوصیات کریستال‌ها است. پراش اشعه ایکس توسط کریستال

نانولوله‌های کربوکسیل‌دار، برای نانولوله‌های کربنی اصلاح‌شده نیز مشاهده شد. همچنین پیک در محدوده 1100cm^{-1} بیانگر گروه C-O مربوط به گروه عاملی اتر پلی‌اتیلن‌گلیکول در نانولوله‌های کربنی اصلاح‌شده بود. پیک‌های 2850cm^{-1} و 3000cm^{-1} نیز به دلیل حضور گروه C-H در زنجیره پلی‌اتیلن‌گلیکول بودند.

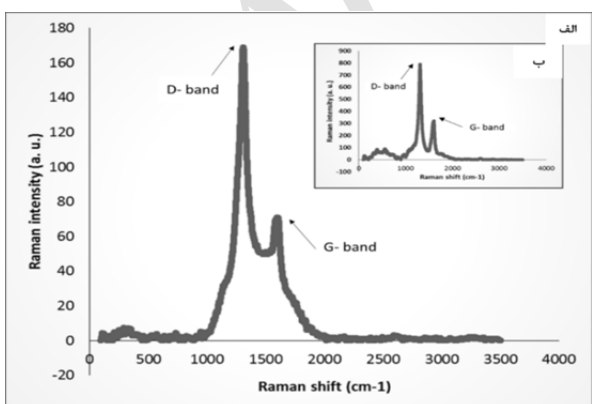
سطح نانولوله‌های کربنی نسبتاً صاف و مسطح بود و به صورت یک فاز مجزا مشاهده نشد. پس از اصلاح سطح نانولوله‌های کربنی توسط لایه‌ای از پلیمر با ضخامت تقریباً ۲ تا ۶ نانومتر حالت غیرمسطح ایجاد شد (شکل ۲). همچنین قطر متوسط دیواره جانبی نانولوله‌های کربنی چنددیواره نرمال ۵ تا ۱۵ نانومتر بود، نانولوله‌های کربنی چنددیواره دارای پوشش پلی‌اتیلن‌گلیکول به طور واضح افزایش جزئی در قطر دیواره را نشان دادند.



نمودار ۳) طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوری؛ الف) نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار، ب) نانولوله‌های کربنی اصلاح‌شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول



شکل ۴) تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانولوله‌های کربنی چنددیواره اصلاح‌شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول

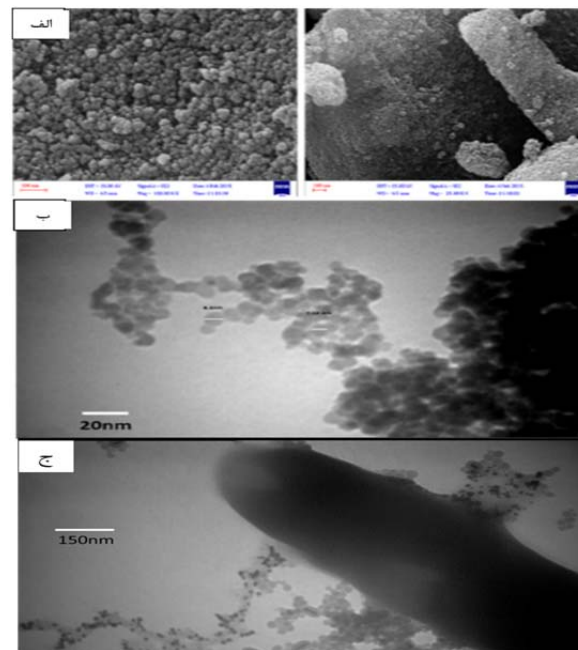


نمودار ۴) طیف‌سنجی رامان؛ الف) نانولوله‌های کربنی اصلاح‌شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول، ب) نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار

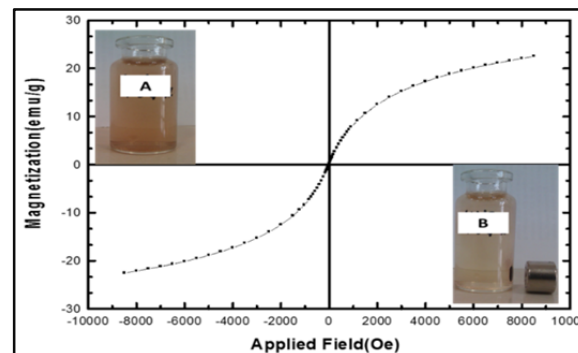
طیف‌سنجی رامان از نانولوله‌های کربنی اصلاح‌شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول دو پیک را نشان داد یکی از پیک‌ها در محدوده

نداشتند و حلقه پسماند نانوذرات مغناطیسی رفتار سوپر پارامغناطیسی را در دمای محیط نشان داد (نمودار ۲). اشباع مغناطیسی آنها به‌طور تقریبی 22emu/g (واحد الکترومغناطیسی بر گرم) بود.

تصاویر TEM نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن اصلاح‌شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول، توزیع یکنواختی از نانوذرات با شکل کروی را نشان داد. سایز نانوذرات ۷ تا ۸ نانومتر تخمین زده شد (شکل ۱). نانوذرات حالت کلوخه و توده‌ای داشتند.



شکل ۱) الف) SEM، ب) TEM نانوذرات مغناطیسی اصلاح‌شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول، ج) جذب سطحی نانوذرات بر سطح ریزسازواره

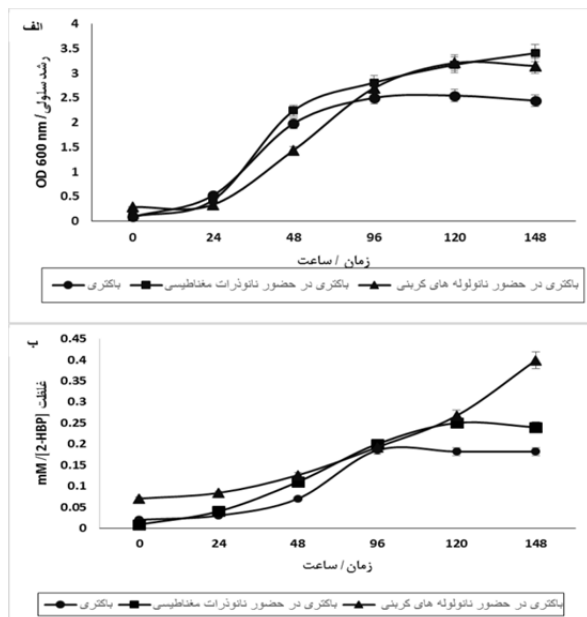


نمودار ۲) خواص مغناطیسی نانوذرات مغناطیسی اصلاح‌شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول؛ A) میزان پراکندگی و حلالیت نانوذرات در آب، B) جذب مغناطیسی نانوذرات محلول در آب

طیف‌سنجی مادون قرمز نانولوله‌های کربنی: برای نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار پیک‌هایی را در محدوده 1706cm^{-1} و 1704cm^{-1} نشان داد (cm^{-1} یا بر سانتی‌متر) که به ترتیب مربوط به گروه‌های C=O و C-O-C بود (نمودار ۳). همچنین طیف در محدوده 3500cm^{-1} پیک مربوط به پیوند H در گروه‌های عاملی O-H را نشان داد که در هر دو نوع نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار و اصلاح‌شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول مشاهده شد.

پیک در محدوده 1730cm^{-1} مربوط به گروه‌های C=O از گروه عاملی کربوکسیلیک بود. مشابه پیک‌های مشاهده‌شده در طیف

تا ۱۲۰ ساعت (۰/۲۵۰ میلی‌مولار=2-HBP) ادامه یافت (نمودار ۵).



نمودار ۵ (الف) نمودار رشد ریزسازواره (ب) نمودار میزان تولید 2-HBP توسط ریزسازواره

بحث

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر نانوذرات مغناطیسی و نانولوله‌های کربنی اصلاح‌شده به‌عنوان نانوجاذب در بهبود فعالیت گوگردزایی باکتری انجام شد.

یافته‌های حاصل از پژوهش حاضر درباره الگوی پراش پرتو ایکس نانوذرات مغناطیسی اصلاح‌شده با پلی‌اتیلن گلیکول با الگوی پراش پرتو ایکس نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن استاندارد مطابقت دارد [17]. نیگام و همکاران نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن را به روش هم‌رسوبی سنتز نمودند، الگوی پراش پرتو ایکس آنها پیک‌هایی مربوط به صفحات کریستالی ۲۲۰، ۳۱۱، ۴۰۰، ۴۲۲، ۵۱۱ و ۴۴۰ در زوایای ذکر شده را نشان داد [18]. سایز نانوذرات پژوهش حاضر از طریق فرمول شرر ۱۶/۳ نانومتر تخمین زده شد که به‌طور جزئی از سایز تخمین‌زده براساس نتایج TEM بیشتر بود.

در پژوهش حاضر، رفتار مغناطیسی نانوذرات سنتز شده در محدوده میدان مغناطیسی ۱۰۰۰۰+ تا ۱۰۰۰۰- بررسی شد. نتایج VSM نانوذرات مغناطیسی اصلاح‌شده با پلی‌اتیلن گلیکول پسماند مغناطیسی نداشت و حلقه پسماند نانوذرات مغناطیسی رفتار سوپر پارامغناطیسی را در دمای محیط نشان داد. طبق پژوهش/نصاری و همکاران، اشباع مغناطیسی نانوذرات مغناطیسی سنتز شده به روش هم‌رسوبی در دمای محیط، ۱۰ emu/g بود [7].

در پژوهش حاضر تصاویر TEM نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن اصلاح‌شده با پلی‌اتیلن گلیکول، توزیع یکنواختی از نانوذرات با شکل کروی را نشان داد.

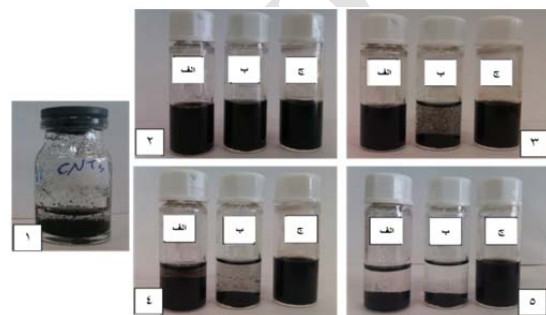
تصاویر SEM اغلب در مطالعات مورفولوژی و سطح ذرات کاربرد دارد. در تصاویر SEM تنها ذرات موجود در سطح دیده می‌شود و نانوذرات در سطح به دلیل سایز بسیار کم به حالت توده‌ای دیده می‌شوند. همان‌طور که در نتایج SEM پژوهش حاضر مشاهده شد نانوذرات حالت کلوخه و توده‌ای داشتند.

واکنش سلول‌ها با محیط پیرامون و ترکیب فیزیکی و شیمیایی ساختمان موجود زنده باعث پیدایش بار الکتریکی در سطح سلول

و پیک دیگری در محدوده 1595cm^{-1} (باند D) و 1344cm^{-1} (باند G) بود که هر دو باند در همه مواد گرافیتی مشاهده شد. باند D نشانگر سایت‌های ناقص بر سطح نانولوله‌های کربنی مانند گروه‌های عاملی متصل به دیواره نانولوله‌های کربنی و ناخالصی‌های کربن بود. در حالی که باند G، نشانگر آرایش منظم اتم‌های کربن با آرایش هیبریدی SP^2 بود (نمودار ۴).

نسبت I_G/I_D (نسبت شدت باند G به باند D) برای نانولوله‌های کربنی نرمال ۰/۸۱ بود و بعد از عامل‌دار کردن این نسبت به ۰/۷۱ کاهش یافت.

میزان حلالیت و پایداری نانولوله‌های اصلاح‌شده در حلال‌های قطبی: نانولوله‌های کربنی نرمال کمی بعد از سونیکیت کاملاً رسوب کردند و در سه حلال دیگر ۱۰ دقیقه بعد از سونیکیت کاملاً پایدار بودند (شکل ۳). پس از ۷۲ ساعت نانولوله‌ها در اتانول و دی‌متیل سولفوکسید کاملاً رسوب کردند، ولی در آب دیونیزه تا یک هفته به‌طور کامل پایدار بودند.



شکل ۳) بررسی میزان حلالیت و پایداری نانولوله‌های کربنی دارای پوشش پلی‌اتیلن گلیکول در آب دیونیزه و حلال‌های آلی؛ ۱) نانولوله‌های کربنی نرمال در آب دیونیزه، ۲) نانولوله‌های کربنی دارای پوشش پلی‌اتیلن گلیکول پس از سونیکیت، ۳) پس از ۱۰ دقیقه، ۴) پس از ۷۲ ساعت، ۵) پس از یک هفته، در حلال‌های الف) دی‌متیل سولفوکسید، ب) اتانول، ج) آب دیونیزه

تأثیر نانو ساختارها بر رشد و فعالیت گوگردزایی باکتری:

حضور و عدم حضور نانولوله‌های کربنی فاز تاخیر ۲۴ ساعته را طی کرد و پس از آن وارد فاز لگاریتمی رشد شد. در عدم حضور نانولوله‌های کربنی بالاترین میزان رشد باکتری تا ۹۶ ساعت ($\text{OD}_{600} = 2/57$) مشاهده شد. در حالی که باکتری در حضور نانولوله‌های کربنی در ۱۲۰ ساعت ($\text{OD}_{600} = 3$) به بالاترین میزان رشد خود رسید که افزایش ۸٪ را نسبت به عدم حضور نانولوله‌های کربنی نشان داد.

نانوذرات مغناطیسی نه تنها اثر سمی بر رشد باکتری نداشتند، بلکه سبب ادامه رشد باکتری تا ۱۴۸ ساعت ($\text{OD}_{600} = 3/408$) شدند، در حالی که بیشترین میزان رشد باکتری در عدم حضور نانوذرات مغناطیسی تا ۹۶ ساعت ($\text{OD}_{600} = 2/57$) مشاهده شد که این نتایج افزایش ۴۰٪ در رشد باکتری در حضور نانوذرات مغناطیسی را نشان می‌دهد.

باکتری با یک تاخیر ۲۴ ساعته فعالیت گوگردزایی خود را آغاز کرد و در عدم حضور نانولوله‌های کربنی بالاترین فعالیت گوگردزایی باکتری تا ۹۶ ساعت ($0/185$ میلی‌مولار=2-HBP) بود، در حالی که در حضور نانولوله‌های کربنی باکتری بعد از ۱۴۸ ساعت به بالاترین فعالیت خود ($0/399$ میلی‌مولار=2-HBP) رسید. بنابراین فعالیت گوگردزایی باکتری در حضور نانولوله‌های کربنی افزایشی معادل ۴۶٪ را نشان داد.

در حضور نانوذرات مغناطیسی میزان تولید 2-HBP و فعالیت گوگردزایی باکتری با شدت بیشتر نسبت به عدم حضور نانوذرات

بررسی تاثیر نانوذرات و نانولوله‌های کربنی بر میزان دی‌بنزوتیوفن مصرف شده و هیدروکسی‌بی‌فنیل تولید شده طی فرآیند زیستی تنها از طریق آزمون گیبس قابل انجام است و برای بررسی اثر نانوساختارها در کاهش دی‌بنزوتیوفن به‌تنهایی، به روش‌هایی از قبیل کروماتوگرافی نیاز است که جزء اهداف این پژوهش نبود. همچنین شناسایی دی‌بنزوتیوفن و مشتقات آن با معرف گیبس امکان‌پذیر نیست.

گوگردزایی زیستی تحت شرایط عملیاتی ملایم و با هزینه کم انجام می‌شود که از جمله مزیت‌های آن نسبت به روش شیمیایی است. با این حال سرعت پایین فرآیندهای زیستی و جداسازی بیوکاتالیست پس از اتمام فرآیند از معایب روش‌های زیستی است که کاربرد صنعتی آنها را با محدودیت‌هایی همراه کرده است [3]. بنابراین در سال‌های اخیر، نانوساختارها به‌عنوان جاذب‌های مناسبی برای ترکیبات گوگردی نفت خام معرفی شده‌اند. در پژوهش حاضر نیز نانوذرات مغناطیسی آهن و برای اولین بار نانولوله‌های کربنی به‌عنوان جاذب برای بهبود سرعت گوگردزایی زیستی استفاده شد. باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 فعالیت انتخابی و بالا برای حذف ترکیبات آلی گوگرد که معمولاً در نفت خام وجود دارد را نشان می‌دهد. بنابراین ارتقای باکتری برای حذف گوگرد و طراحی فرآیندهای گوگردزایی جدید از طریق بهبود نفوذپذیری غشای باکتری امکان‌پذیر است. در پژوهش حاضر نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن با روش شیمیایی هم‌رسوبی سنتز شد و سایز آن ۷ تا ۸ نانومتر تخمین زده شد. همچنین نانولوله‌های کربنی ابتدا کربوکسیله، سپس با پلی‌اتیلن‌گلیکول اصلاح شدند و میزان پایداری آن در محلول‌های آبی تا ۷۲ ساعت بررسی شد. میزان رشد باکتری در حضور نانولوله‌های کربنی ۸٪ و در حضور نانوذرات مغناطیسی افزایش ۴۰٪ را نشان داد. همچنین میزان فعالیت گوگردزایی باکتری در حضور نانوذرات و نانولوله‌ها افزایش قابل توجهی نسبت به عدم حضور نشان داد. باکتری میزان فعالیت گوگردزایی خود را در حضور نانولوله‌های کربنی تا ۱۴۸ ساعت و در حضور نانوذرات تا ۱۲۰ ساعت ادامه داد. فعالیت گوگردزایی از طریق مسیر 4S که محصول نهایی آن 2-HBP است، در سیتوپلاسم باکتری انجام می‌شود. مطالعات پیشین نشان داده است که تجمع 2-HBP در سیتوپلاسم اثر مهاری بر رشد و فعالیت گوگردزایی باکتری دارد. افزایش قابل توجه در رشد و میزان تولید 2-HBP در حضور نانوساختارها احتمالاً به دلیل تسهیل انتقال 2-HBP به بیرون باکتری از محل تولید (سیتوپلاسم) است. در واقع نانوذرات با جذب سطحی ترکیبات گوگردی، دسترس‌پذیری آنها را برای باکتری آسان می‌کنند. به‌طور کلی یک مکانیزم احتمالی برای افزایش فعالیت باکتری افزایش نفوذپذیری غشا پس از اتصال نانوذرات است [7]. در واقع بسیاری از مطالعات قبلی نشان می‌دهند که نانوذرات مغناطیسی می‌توانند یکپارچگی غشای سلولی را مختل نموده و ویژگی‌های طبیعی سلول‌های باکتری را تحت تاثیر قرار دهند [19]. نتایج پژوهش حاضر نشان داد افزودن نانوساختارها به محیط BDS ممکن است به همه محدودیت‌های فرآیند BDS غلبه نکند، اما می‌تواند اثر مهاری تجمع 2-HBP که در مطالعات پیشین به آن اشاره شده است اجتناب نماید. به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر اهمیت نانوذرات مغناطیسی و نانولوله‌های کربنی را به‌عنوان جاذب نشان داد.

جداسازی سلول‌های آزاد به‌عنوان بیوکاتالیست در گوگردزایی زیستی از سامانه‌های دوفازی آب/نفت اهمیت بسیاری دارد که در پژوهش حاضر استفاده از نانوذرات مغناطیسی با هدف جداسازی

می‌شود. این شارژ الکتریکی می‌تواند منجر به جذب و دفع یون‌های بار الکتریکی متفاوت شود. بنابراین با توجه به گرم‌منفی بودن باکتری‌های این پژوهش (دارای بار سطحی منفی) و محیط کشت پایه نمکی و اصلاح سطح نانوذرات با پلیمر پلی‌اتیلن‌گلیکول، در پوشش‌دهی سطح باکتری‌ها با نانوذرات مغناطیسی، تصور می‌شود اتصال نانوذرات به سطح باکتری‌ها از طریق برهم‌کنش ضعیف الکترواستاتیکی صورت می‌گیرد. در واقع اتصال از طریق جذب سطحی است و سپس جداسازی باکتری‌ها از طریق میدان مغناطیسی خارجی انجام می‌شود [7]. به‌منظور بررسی ارتباط نانوذرات و باکتری از تصاویر TEM استفاده شد.

در پژوهش حاضر برای نانولوله‌های کربنی کربوکسیله‌دار پیک‌هایی در محدوده 1206 cm^{-1} و 1704 cm^{-1} مشاهده شد که به ترتیب مربوط به گروه‌های C-O-C و C=O هستند.

سطح نانولوله‌های کربنی نسبتاً صاف و مسطح بود و به‌صورت یک فاز مجزا مشاهده نشد. پس از اصلاح سطح نانولوله‌های کربنی توسط لایه‌ای از پلیمر با ضخامت تقریباً ۲ تا ۶ نانومتر حالت غیرمسطح ایجاد شد. نانولوله‌های کربنی چنددیواره دارای پوشش پلی‌اتیلن‌گلیکول به‌طور واضح افزایش جزئی در قطر دیواره را نشان دادند و این اتصال موفقیت‌آمیز پلیمر به سطح نانولوله‌ها را نشان می‌دهد.

طیف‌سنجی رامان از نانولوله‌های کربنی اصلاح‌شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول دو پیک در محدوده $1000-2000 \text{ cm}^{-1}$ نشان می‌دهد [11]. نی و همکاران سطح نانولوله‌های کربنی چنددیواره را با پلی‌اتیلن‌گلیکول اصلاح کردند. نتایج طیف‌سنجی رامان پژوهش آنها دو پیک D و G در محدوده 1437 cm^{-1} و 1578 cm^{-1} را نشان داد [15]. طیف‌سنجی رامان نانولوله‌های کربنی اصلاح‌شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول در پژوهش حاضر نیز دو پیک نشان داد. یکی از پیک‌ها در محدوده 1344 cm^{-1} (باند D) و پیک دیگر در محدوده 1595 cm^{-1} (باند G) بود که هر دو باند در همه مواد گرافیتی مشاهده می‌شود. باند D نشانگر سایت‌های ناقص بر سطح نانولوله‌های کربنی مانند گروه‌های عاملی متصل به دیواره نانولوله‌های کربنی و ناخالصی‌های کربن، در حالی که باند G نشانگر آرایش منظم اتم‌های کربن با آرایش هیبریدی sp^2 است. نسبت شدت باند G (I_G) به باند D (I_D) اغلب برای تخمین محتوای ناخالصی کربن و تراکم گروه‌های عاملی سطح نانولوله‌های کربنی استفاده می‌شود [11]. نسبت I_G/I_D برای نانولوله‌های کربنی نرمال ۰/۸۱ است و بعد از عامل‌دار کردن، این نسبت به ۰/۷۱ کاهش یافت که این موضوع حضور گروه‌های عاملی را اثبات می‌کند.

نتایج به‌دست‌آمده در مورد میزان حلالیت و مدت زمان پایداری نانولوله‌های کربنی پگیله‌شده در آب دیونیزه تا یک هفته، کاربرد نانولوله‌های کربنی اصلاح‌شده را در محیط‌های بیولوژیکی نشان می‌دهد (که اغلب حلال پایه آب است).

هدف اصلی پژوهش حاضر، بررسی عملکرد نانوذرات مغناطیسی و نانولوله‌های کربنی اصلاح‌شده بر بهبود فرآیند گوگردزایی زیستی بود. طی فرآیند گوگردزایی زیستی منابع گوگردی به ترکیبات فنلی تبدیل می‌شوند که از طریق آزمون گیبس قابل تشخیص هستند. انصاری و همکاران [7] در پژوهش خود نشان دادند با توجه به اینکه دی‌بنزوتیوفن در آب نامحلول است، بنابراین دسترس‌پذیری زیستی آن برای باکتری پایین است و در نتیجه میزان انتقال جرم آن کاهش می‌یابد که این موارد از محدودیت‌های اصلی فرآیند زیستی است. آنها اشاره نمودند که نانوذرات مغناطیسی با افزایش نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی باکتری و همچنین جذب سطحی ترکیبات گوگردی موجب کاهش اثر این محدودیت‌ها می‌شوند.

- 3- Alves L, Marques S, Matos J, Tenreiro R, M. Gírio F. Dibenzothiophene desulfurization by *Gordonia alkanivorans* strain 1B using recycled paper sludge hydrolyzate. *Chemosphere*. 2008;70(6): 967-73.
- 4- Maxwell S, Yu J. Selective desulphurization of dibenzothiophene by a soil bacterium: Microbial DBT desulphurization. *Process Biochem*. 2000;35(6):551-6.
- 5- Song C, Hsu CS. Chemistry of diesel fuels. Boca Raton: CRC Press; 2000.
- 6- Del Olmo CH, Alcon A, Santos VE, Garcia-Ochoa F. Modeling the production of a *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 biocatalyst for DBT biodesulfurization: Influence of media composition. *Enzyme Microb Technol*. 2005;37(2):157-66.
- 7- Ansari F, Libor P, Grigoriev S, Tothill I.E, Ramsden JJ. DBT degradation enhancement by decorating *Rhodococcus erythropolis* IGST8 with Magnetic Fe₃O₄ nanoparticles. *Biotechnol Bioeng*. 2009;102(5):1505-12.
- 8- Caro A, Boltes K, Letón P, García-Calvo E. Dibenzothiophene biodesulfurization in resting cell conditions by aerobic bacteria. *Biochem Eng J*. 2007;35(2):191-7.
- 9- Rashidi L, Mohebal G, Towfighi Darian J, Rasekh B. Biodesulfurization of dibenzothiophene and its alkylated derivatives through the sulfur-specific pathway by the bacterium RIPI-S8. *Afr J Biotechnol*. 2006;5(4):351-6.
- 10- Alves L, Melo M, Mendonça D, Simões F, Matosa J, Tenreiro R, et al. Sequencing, cloning and expression of the dsz genes required for dibenzothiophene sulfone desulfurization from *Gordonia alkanivorans* strain 1B. *Enzyme Microb Technol*. 2007;40(6):1598-603.
- 11- Meng L, Fu C, Lu Q. Advanced technology for functionalization of carbon nanotubes. *Prog Nat Sci*. 2009;19(7):801-10.
- 12- Mubarak NM, Shahu JN, Abdullah EC, Jayakumar NS. Removal of heavy metals from wastewater using carbon nanotubes. *Sep Purif Rev*. 2014;43(4):311-38.
- 13- Zhang W, Zhang H, Xiao J, Zhao Z, Yu M, Li Z. Carbon nanotube catalysts for oxidative desulfurization of a model diesel fuel using molecular oxygen. *Green Chem*. 2014;16(1):211-20.
- 14- Le VT, Ngo CL, Le QT, Ngo TT, Nguyen DN, Vu MT. Surface modification and functionalization of carbon nanotube with some organic compounds. *Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol*. 2013;4(3):035017.
- 15- Nie H, Guo W, Yuan Y, Dou Z, Shi Z, Liu Z, et al. PEGylation of double-walled carbon nanotubes for increasing their solubility in water. *Nano Res*. 2010;3(2):103-9.
- 16- Keyhanian F, Shariati S, Faraji M, Hesabi M. Magnetite nanoparticles with surface modification for removal of methyl violet from aqueous solutions. *Arabian J Chem*. 2016;9(1):S348-S54.
- 17- Cheraghipour E, Javadpour S, Mehdizadeh AR. Citrate capped superparamagnetic iron oxide nanoparticles used for hyperthermia therapy. *J Biomed Sci Eng*. 2012;5(12):715-9.
- 18- Nigam S, Barick KC, Bahadur D. Development of citrate-stabilized Fe₃O₄ nanoparticles: Conjugation and release of doxorubicin for therapeutic applications. *J Magn Mater*. 2011;323(2):237-43.
- 19- Ebrahiminezhad A, Varma V, Yang S, Berenjian A. Magnetic immobilization of *Bacillus subtilis* natto cells for menaquinone-7 fermentation. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016;100(1):173-80.

مغناطیسی بیوکاتالیست تا حدودی در تسهیل جداسازی بیوکاتالیست موفق بوده است اما دستیابی به سنتر آسان و مقرون به صرفه نانوذرات، پایداری آنها در محیط‌های آبی و عدم سمیت آنها از محدودیت‌های پژوهش حاضر بود و به پژوهش‌های بیشتری نیاز دارد.

به منظور تعبیه واحد گوگردزدایی زیستی در بخش پایین دست (Downstream) یک واحد گوگردزدایی شیمیایی به عنوان یک فناوری مکمل، برای نیل به گوگردزدایی بیشتر، جداسازی باکتری‌های بومی با قابلیت گوگردزدایی از واحدهای صنعتی، دستکاری ژنتیکی باکتری‌های مقاوم به حرارت، توسعه صنعتی فرآیند گوگردزدایی زیستی و اصلاح سطح موثر نانوذرات به منظور افزایش پایداری آنها در محیط‌های آبی پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

سایز تخمینی نانوذرات ۷ تا ۸ نانومتر است و نانولوله‌های کربنی اصلاح شده بیشترین حلالیت را در آب دیونیزه دارند. آنها تا دو هفته پایدار هستند. میزان رشد باکتری در حضور نانوذرات مغناطیسی و نانولوله‌های کربنی نسبت به عدم حضور آنها به ترتیب افزایش ۴۰٪ و ۸۰٪ و همچنین میزان فعالیت گوگردزدایی باکتری در حضور نانوذرات مغناطیسی و نانولوله‌های کربنی افزایش قابل توجهی نسبت به عدم حضور آنها نشان می‌دهد. ساختارهای نانویی با جذب سطحی ترکیبات گوگردی، دسترس پذیری آنها را برای باکتری افزایش می‌دهند.

تشکر و قدردانی: نویسندگان از جناب آقای دکتر راسخ به خاطر راهنمایی‌های ارزنده تشکر و قدردانی می‌کنند.

تأییدیه اخلاقی: پژوهش حاضر برگرفته از پایان‌نامه سرکار خانم الهام کریمی فارغ التحصیل سال ۱۳۹۳ از دانشکده مهندسی علوم زیستی دانشگاه تهران است.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند که میان آنها تعارض منافی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: الهام کریمی (نویسنده اول)، پژوهشگر اصلی (۳۰٪): فاطمه یزدیان (نویسنده دوم)، تحلیلگر آماری (۲۰٪): بهنام راسخ (نویسنده سوم)، روش‌شناس (۱۵٪): عباس اخوان سپهری (نویسنده چهارم) نگارنده بحث (۱۵٪): حمید راشدی (نویسنده پنجم) پژوهشگر کمکی (۵٪): محمدحسن شیخها (نویسنده ششم) پژوهشگر کمکی (۵٪): بی‌بی فاطمه حقیرالسادات (نویسنده هفتم) پژوهشگر کمکی (۵٪): اشرف‌السادات حاتمیان (نویسنده هشتم) پژوهشگر کمکی (۵٪)

منابع مالی: منابع مالی پژوهش حاضر از سوی دانشگاه شهید صدوقی یزد تامین شده است.

منابع

- 1- Shavandi M, Sadeghizadeh M, Khajeh K, Mohebal G, Zomorodipour A. Genomic structure and promoter analysis of the dsz operon for dibenzothiophene biodesulfurization from *Gordonia alkanivorans* RIPI90A. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2010;87(4):1455-61.
- 2- Mohebal G, Ball AS. Biocatalytic desulfurization (BDS) of petrodiesel fuels. *Microbiology*. 2008;154(Pt 8):2169-83.