SULFUR-SELECTIVE BIODESULFURIZATION OF ORGANOSULFUR COMPOUNDS IN MODEL OILS AND DISTILLATE FRACTIONS

JANTANA TANGAROMSUK

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY (BIOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2007

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การกำจัดกำมะถันออกจากสารประกอบอินทรีย์ในน้ำมันโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ (SULFUR-SELECTIVE BIODESULFURIZATION OF ORGANOSULFUR COMPOUNDS IN MODEL OILS AND DISTILLATE FRACTIONS)

จันทนา ตั้งอารมณ์สุข 4536829 SCBI/D

ปร.ด. (ชีววิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : มาลียา เครือตราชู, Ph.D. (BOTANY), ประหยัด โภคฐิติยุกต์ , Ph.D. (CHEMICAL ENGINEERING), ชัชวลี กะลัมพะเหติ, Ph.D. (ANALYTICAL CHEMISTRY)

บทคัดย่อ

การกำจัดกำมะถันออกจากน้ำมันโดยใช้ชีววิธี หรือ ไบโอดีซัลเฟอไรเซชั่น (biodesulfurization) ถือเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการช่วยผู้ผลิตสามารถผลิตน้ำมันที่มีค่ากำมะถันตามมาตรฐานใหม่ที่เข้มงวดมากขึ้นได้ โดยวิธีการนี้สามารถนำไปใช้แทนหรือช่วยเสริมให้การกำจัดกำมะถันโดยวิธีทางเคมี หรือ ไฮโดรดีซัลเฟอไรเซชั่น (hydrodesulfurization) มีประสิทธิภาพมากขึ้น ดังนั้น วิธีไบโอดีซัลเฟอไรเซชั่น จึงเป็นเรื่องที่มีผู้ศึกษาวิจัยอย่างกว้างขวางในช่วงหลาย 10 ปีที่ผ่านมา อย่างไรก็ตาม แม้ว่าจะมีการศึกษาเกี่ยวกับวิธีการดังกล่าวมากมาย แต่วิธีการนี้ก็ยังไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์จริงในระบบผลิตน้ำมันได้ ทั้งนี้ เหตุผลข้อหนึ่ง คือ ต้นทุนการผลิตเชื้อจุลินทรีย์ที่จะนำไปใช้สูงเกินไป เพื่อที่จะลดต้นทุนนี้ การพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดกำมะถันออกจากสารประกอบอินทรีย์ในน้ำมันที่หลากหลาย จึงเป็นสิ่งจำเป็น

ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารประกอบอินทรีย์เป็นแหล่งของกำมะถันเป็นจำนวน 25 สายพันธุ์ โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จะถูกนำไปศึกษาเกี่ยวกับการกำจัดกำมะถันออกจากสารไดเบนโซไทโอฟีน (dibenzothiophene) เชื้อจุลินทรีย์ 6 ชนิดที่สามารถกำจัดกำมะถันออกจากสารดังกล่าวได้ในอัตราที่สูงได้ถูกคัดเลือกและจำแนกชนิด หลังจากนั้นได้ทำการศึกษาความจำเพาะในการกำจัดกำมะถันออกจากซับสเตรท (substrate specificity) ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ถูกคัดเลือก ซึ่งพบว่าสายพันธุ์ R3 มีความสามารถดีที่สุด ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาการกำจัดกำมะถันในน้ำมันโดยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้ นอกจากนี้ ยังได้ทดลองเทคนิคการผลิตเชื้อจุลินทรีย์ *Rhodococcus erythropolis* strain IGTS8 ในปริมาณมาก โดยทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียดังกล่าวในเฟอร์เมนเตอร์ โดยเติมเอทานอลและซัลเฟตในอัตราและสัดส่วนที่เหมาะสม ซึ่งวิธีการนี้สามารถใช้เพื่อลดต้นทุนการผลิตได้ และได้ทำการศึกษาการกำจัดกำมะถันออกจากสาร ไดเบนโซไทโอฟีนในระบบทูเฟส ซึ่งจากผลการทดลอง พบว่า การสะสมของซัลเฟต ซึ่งเป็นผลผลิตสุดท้ายยับยั้งการกำจัดกำมะถันในระบบ แต่เมื่อนำ dilution method with separation unit มาใช้ในการกำจัดซัลเฟตออกจากระบบ พบว่า อัตราการกำจัดกำมะถันมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนจบการทดลอง

146 หน้า.

SULFUR-SELECTIVE BIODESULFURIZATION OF ORGANOSULFUR COMPOUNDS IN MODEL OILS AND DISTILLATE FRACTIONS

JANTANA TANGAROMSUK 4536829 SCBI/D

Ph.D. (BIOLOGY)

THESIS ADVISORS: MALEEYA KRUATRACHUE, Ph.D. (BOTANY), PRAYAD POKETHITIYOOK, Ph.D. (CHEMICAL ENGINEERING), CHATVALEE KALAMBAHETI, Ph.D. (ANALYTICAL CHEMISTRY)

ABSTRACT

Biodesulfurization is an attractive method considered to be an alternative or complementary to hydrodesulfurization, helping refiners cost – effectively meet new sulfur regulations. Over past decades, this technology has been investigated aggressively, but it has not yet been successfully commercialized. One problem is the cost of biocatalysts. To reduce the cost, microorganisms with sufficiently high activity and wide substrate specificity should be developed. The aims of this study were to isolate and select the desulfurizing microorganisms with high activity and broad substrate specificity, and to investigate mass production of biocatalysts with high activity, which has the potential to reduce overall biocatalyst cost.

In this study, bacteria, which could utilize organosulfur compounds as a sulfur source, were isolated from oil sludge and soil samples. DBT desulfurization activities of isolated strains were conducted. The strains with high activity were selected and identified by 16s rRNA sequencing. These strains were further studied for their substrate specificity by investigating the growth of the bacteria on various organosulfur compounds (i.e., BT, DBT, 3,4-benzoDBT, 4,6-DMDBT, methyl phenyl sulfide, phenyl sulfide and phenyl disulfide). Biodesulfurization of these substrates by growing and resting cells of the bacteria was also conducted. In addition, biodesulfurization of crude oil and hydrodesulfurized diesel oil by the selected strain was also investigated.

Twenty-five bacterial strains were isolated in this study. Among the isolates, 3 mesophilic strains (MS2, MS4 and R3) and 3 thermophilic strains (TS1, TO2 and TH3) were identified and selected for further studies. In Gibb's assay, the results revealed that all the selected strains could not desulfurize DBT via the sulfur-specific pathway. Based on the data obtained from the substrate specificity experiments, the strain R3, *Rhodococcus gordoniae*, exhibited the broadest substrate specificity. In addition, biodesulfurization of DBT in model oil with a high cell density culture of the strain IGTS8 was investigated. It was found that the inhibition effect of sulfate on desulfurization activity of the bacterium was solved by using the dilution with separation unit.

KEY WORDS: BIODESULFURIZATION / DBT / SUBSTRATE SPECIFICITY/ *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* IGTS8/ HIGH CELL DENSITY

146 pp.