

Research Article



DOI: 10.22034/IJCHE.2021.302627.1138



DOR: 20.1001.1.17355400.1401.21.123.5.1



This journal is an open access journal licensed under an Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International license (CC BY-NC-ND 4.0).

Laboratory Study of the Effect of Ionic liquids on the Growth Rate of Microorganisms Applicable in the MEOR and Bioremediation Processes

P. Sarafzadeh^{1*}, Z. Khosravi², F. Aram³, A. Zeinolabedini Hezaveh⁴

1- Instructor of Chemical Engineering, Faculty member of Technical and Vocational University (TVU), Tehran, Iran

2- B. Sc. Student of Industrial Chemical Engineering, Technical and Vocational University (TVU), Tehran, Iran

3- PhD Student of Chemical Engineering, Shiraz University

4- M. Sc. in Chemical Engineering, Fanavari Atiyeh Pouyandegan Exir Company

E-mail: pegah.sarafzadeh@gmail.com

Abstract

For the first time in this study, the effect of ionic liquids in different concentrations and properties on the growth and performance of microorganisms capable to be used for MEOR, biodegradation and bioremediation purposes has been investigated. In this regard, two ionic liquids with different characteristics and chain lengths, namely; 1-octadecyl-3-methylimidazolium chloride and 2-decyl-3-methylimidazolium chloride were synthesized in the laboratory and their effects were investigated in different concentrations (0, 10, 25, 50, 100, 200 ppm) on 5 different bacterial species (including *Enterobacter* and *Bacillus* families), isolated from oil or oil-contaminated soil. The results show an optimum amount of concentration on the top-down curve of the growth and performance of microorganisms in most cases. The maximum the growth rate was obtained for the most species, ranges between 10 and 25PPM and the antibacterial concentration of studied ionic liquids for all species was achieved in 50 ppm. Also, in most cases, 1-octadecyl-3-methylimidazolium chloride was shown to have a greater effect on the growth and yield of all microorganisms.

Received: 1 September 2021

Accepted: 17 October 2021

Page Number: 59-73

Keywords:

Ionic Liquids,
Microbial Enhanced Oil
Recovery (MEOR),
Bioremediation,
Biodegradation

Please Cite this Article Using:

Sarafzadeh, P., Khosravi, Z., Aram, F., Zeinolabedini Hezaveh, A., "Laboratory Study of the Effect of Ionic liquids on the Growth Rate of Microorganisms Applicable in the MEOR and Bioremediation Processes", Iranian Chemical Engineering Journal, Vol. 21, No. 123, pp. 59-73, In Persian, (2022).



بررسی آزمایشگاهی تأثیر مایعات یونی بر میزان رشد میکروارگانیسم‌های کاربردی در فرایندهای ازدیاد برداشت نفت و زیست‌پالایی

پگاه صرافزاده^{۱*}، زهرا خسروی^۲، فرزانه آرام^۳، علی زین‌العابدینی هزاوه^۴

۱- مربی مهندسی شیمی، عضو هیئت علمی دانشگاه فنی و حرفه‌ای، گروه مهندسی شیمی، تهران، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی مهندسی تکنولوژی صنایع شیمیایی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران

۳- دانشجوی دکتری مهندسی شیمی، دانشگاه شیراز

۴- کارشناس ارشد مهندسی شیمی، شرکت فناوری آتیه پویندگان اکسیر

پیام نگار: pegah.sarafzadeh@gmail.com

چکیده

در این تحقیق برای نخستین بار، تأثیر مایعات یونی در غلظت‌ها و طول زنجیره مختلف بر میزان رشد و عملکرد گونه‌های باکتریایی با قابلیت به‌کارگیری در فرایندهای ازدیاد برداشت ثالثیه میکروبی نفت، تجزیه زیستی و زیست‌پالایی بررسی شده است. در این راستا، دو مایع یونی با طول زنجیره کربنی متفاوت با نام‌های ۱- اوکتادسیل-۳-متیل ایمیدازولیوم کلرید و ۱- دودسیل-۳-متیل ایمیدازولیوم کلرید، سنتز شدند و پس از آن، تأثیر غلظت‌های متفاوت این مایعات یونی (ppm ۱۰۰، ۲۵، ۱۰، ۵، ۰، ۲۰۰) بر ۵ گونه (از خانواده انتروباکتر و باسیلوس) جدا شده از نفت و یا خاک آلوده به نفت، بررسی شد. نتایج نشان داد که برای غلظت‌های بررسی شده، مقداری بهینه وجود دارد که در بیشتر موارد بررسی منجر به عملکرد و رشد بهتر میکروارگانیسم‌ها می‌شود. این غلظت، برای بیشتر گونه‌ها بین ۱۰ الی ۲۵ ppm و غلظت میکروب‌کش به دست آمده برابر با ۵۰ ppm است؛ علاوه بر این، نتایج نشان می‌دهد که مایع یونی ۱- اوکتادسیل-۳-متیل-ایمیدازولیوم کلرید در بیشتر موارد، عملکرد بهتری در افزایش رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها، نسبت به ۱- دودسیل-۳-متیل ایمیدازولیوم کلرید، از خود نشان می‌دهد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۵

شماره صفحات: ۷۳ تا ۵۹

کلیدواژه‌ها:

مایعات یونی،

ازدیاد برداشت نفت به‌روش

میکروبی،

پالایش زیستی محیط،

تجزیه زیستی هیدروکربن‌های

سنگین

* شیراز، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، دانشکده فنی دختران الزهراء

استناد به مقاله:

صرافزاده، پ.، خسروی، ز.، آرام، ف.، زین‌العابدینی هزاوه، ع.، "بررسی آزمایشگاهی تأثیر مایعات یونی بر میزان رشد ریزاندام‌های کاربردی در فرایندهای ازدیاد برداشت نفت و زیست‌پالایی"، نشریه مهندسی شیمی ایران، سال بیست و یکم، شماره ۱۲۳، صص. ۷۳-۵۹، (۱۴۰۱).

میکروارگانسیم‌ها در همه‌جای محیط پیرامون ما وجود دارند و با وجود آن‌که سالیان دراز، جوامع بشری با فرض مضر بودن آن‌ها تلاش می‌کردند تا آن‌ها را از بین ببرند؛ امروزه مفیدبودن برخی از انواع میکروارگانسیم‌ها اثبات شده است که این امر منجر به توجهی ویژه به شاخه‌ای از علم با عنوان بیوتکنولوژی یا زیست‌فناوری شده است. امروزه از میکروارگانسیم‌های مفید در زمینه‌های مختلف؛ از جمله صنایع دارویی، صنایع غذایی، مسائل محیط زیست، زمینه‌های وابسته به نفت، صنعت کشاورزی، پزشکی و غیره استفاده چشمگیری می‌شود [۱]. در این بین، با ازدیاد برداشت نفت به‌روش میکروبی^۱ با استفاده از میکروارگانسیم‌ها و با محصولات زیستی تولیدشده آن‌ها، بازیافت هر چه بیشتر نفت انجام می‌پذیرد [۲-۳]. به‌طور دقیق‌تر، ازدیاد برداشت میکروبی نفت به فرایندهایی گفته می‌شود که در آن از قابلیت تولید متابولیت‌های میکروبی به‌وسیله میکروارگانسیم‌های مختلف برای بهبود بازدهی استخراج نفت استفاده می‌شود. مسأله منحصربه‌فردی که روش ازدیاد برداشت میکروبی نفت نسبت به سایر روش‌ها دارد، آن است که ما در این روش بر خلاف سایر روش‌ها با موجودات زنده درون مخزنی سروکار داریم که می‌توانیم آن‌ها را به‌روش‌های مختلف به‌گونه‌ای مهندسی کنیم که با بهترین بازدهی ممکن و متناسب با شرایط خاص هر مخزن پدیدار شوند [۴-۸]. این موضوع یکی از اهداف این تحقیق است. میکروارگانسیم‌ها علاوه بر فرایند ازدیاد برداشت میکروبی نفت، در سایر موارد وابسته به مسائل نفت نیز می‌توانند تأثیرگذار باشند؛ به‌عنوان مثال آن‌ها می‌توانند مواد سنگین نفتی را که اغلب باعث رسوب و گرفتگی دهانه‌های چاه خروجی می‌شوند و در کل ارزش پایین‌تری دارند؛ به مولکول‌های کوچک‌تر و با ارزش بیشتر تبدیل کنند که این فرایند را تجزیه‌زیستی^۲ می‌نامند و نتایج حاصل از آن برای محققان بسیار امیدوار کننده است [۹-۱۱]. در مقابل می‌توان برخی آلودگی‌های زیستی به‌وجود آمده در محیط زیست را که بیشتر از نشت آلاینده‌های نفتی و دیگر موارد رخ داده است، با سازوکار مشابه به‌وسیله میکروارگانسیم‌های مصرف‌کننده نفت از بین برد که به این روش زیست‌پالایی^۳ گفته می‌شود [۱۲-۱۳]. علاوه بر توجه ویژه محققان به استفاده از میکروارگانسیم‌ها، در یک

دهه اخیر به مواد شیمیایی جدیدی نیز توجه کرده‌اند که با عنوان مایعات یونی^۴ شناخته می‌شوند. این مواد در حقیقت ترکیباتی آلی هستند که از یون‌ها تشکیل شده‌اند، به‌گونه‌ای که ساختار تشکیل‌دهنده این دسته از مواد، کاتیون‌ها و آنیون‌های مختلف است. این ترکیبات با وجود پیوند یونی بین آنیون و کاتیون تشکیل‌دهنده، در دمای زیر ۱۰۰°C به‌شکل مایع هستند. در مایعات یونی معمولاً آنیون‌ها از لحاظ حجم بسیار کوچک‌تر از کاتیون‌ها هستند؛ به‌عبارت دیگر معمولاً نقش کاتیون را یک ترکیب حجیم بازی می‌کند. کاتیون دارای بار مثبت و آنیون دارای بار منفی است. اما کاتیون ترکیبی آلی است، درحالی که آنیون ساختار معدنی دارد. همین تفاوت در سایز آنیون و کاتیون در ساختار مایعات یونی منجر به ضعیف‌بودن پیوند یونی بین دو جزء تشکیل‌دهنده می‌شود که این پدیده عامل اصلی مایع‌بودن این دسته از مواد در دمای زیر ۱۰۰°C به حساب می‌آید. هم‌چنین مایعات یونی طیف وسیعی از ترکیبات آنیون-کاتیون را شامل می‌شوند که همین امر ویژگی منحصر به‌فردی را به آن‌ها می‌دهد و استفاده از این مواد را در صنایع گوناگون، مانند استفاده از مایعات یونی در اصلاح الکترودها، جداسازی ترکیبات حلقوی گوگردی، فرایندهای نساجی، تولید سلول‌های خورشیدی RSSC و غیره، امکان پذیر می‌کند [۱۴-۱۹]. نتایج امیدبخش مایعات یونی در جنبه‌های مختلف علمی و صنعتی باعث توجه زیاد محققان به این دسته از مواد در سال‌های اخیر شده است؛ چنان‌که تنها در پنج سال اخیر بیش از ۸۰۰۰ مقاله در نشریه‌های معتبر ISI در این زمینه چاپ شده است [۱۷]. در بین کاربردهای مایعات یونی، تعداد محدودی از تحقیقات، امکان به‌کارگیری این مواد را با اهداف بازیافت نفت بررسی کرده‌اند، چنان‌که نتایج آن‌ها نشان می‌دهد که این دسته از مواد می‌توانند کشش بین سطحی را کم کنند؛ در نتیجه در مواردی به‌جای سورفکتانت‌های شیمیایی به‌منظور افزایش میزان بازیافت نفت از مخازن نفتی بررسی شده‌اند [۲۰-۲۴، ۱۵-۱۴]. به‌عنوان مثال زین‌العابدینی و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی تأثیر مایع یونی ۱-دودسیل-۳-متیل‌ایمیدازولیوم کلرید بر روی کاهش کشش بین سطحی و تأثیر آن بر بازیافت نفت به‌عنوان یک سورفکتانت

1. Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR)
2. Biodegradation
3. Bioremediation

4. Ionic Liquids (ILs)

جدید تحقیق کرده و به این نتیجه رسیده‌اند که غلظت CMC با این مایع یونی در غلظت‌های بسیار پایین‌تر نسبت به سورفکتانت‌های شیمیایی متداول رخ می‌دهد و امکان افزایش بازیافت ثالثیه نفت از مخازن نیز امکان‌پذیر است [۱۴].

یکی دیگر از قابلیت‌های معرفی‌شده برای این خانواده از مواد شیمیایی، استفاده در صنایع پزشکی - به‌عنوان میکروب‌کش - بوده است [۲۹-۲۵]. در حقیقت افزایش مقاومت باکتری‌های بیماری‌زا در مقابل روش‌های متداول ضد باکتریایی گاهی باعث افزایش مرگ و میر در سراسر جهان شده است. بسیاری از باکتری‌های مهم بیماری‌زا در برابر دسته‌های مهمی از داروهای ضد باکتریایی بالینی که به‌طور معمول استفاده می‌شوند، مقاومت نشان می‌دهند. همین امر باعث تلاش برای یافتن و طراحی ترکیبات جدید در زمینه پزشکی شده و نتیجه آن که در چند مقاله چاپ شده، نشانگر آن است که مایعات یونی می‌توانند فعالیت ضد میکروبی علیه برخی باکتری‌های بیماری‌زا از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *اینترکوک فارکالیس* نشان دهند که این امر در زمینه پزشکی از اهمیت زیادی برخوردار است. این تحقیقات نشان می‌دهد که مایعات یونی حاوی مشتقات ایمیدازول، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی دارند و مشاهده شده که ترکیبات بر پایه ایمیدازول می‌توانند به سطوح غشای میکروارگانیزم‌ها آسیب برسانند، به‌ویژه هنگامی که در زمان کوتاه و با غلظت زیاد استفاده شوند [۲۹].

به‌طور خلاصه چنان که ذکر شد تقریباً همه تحقیقاتی که در زمینه تأثیر مایعات یونی بر باکتری‌ها انجام شده، در کاربردهای پزشکی و به‌منظور از بین بردن باکتری‌های بیماری‌زا از محیط و یا وسایل پزشکی بوده و تعداد بسیار کمی از این تحقیقات بر تأثیر متقابل مایعات یونی بر باکتری‌ها در سایر موارد صنعتی و مهندسی متمرکز بوده است. به‌عنوان مثال، آناندکومار و همکاران در سال ۲۰۲۰ بر روی تأثیر چند مایع یونی در جلوگیری از فعالیت میکروبی و تشکیل زیست‌فیلیم روی سطوح برج‌های خنک‌کننده تحقیق کردند [۳۰]. گاهی نیز بر تأثیر میکروارگانیزم‌ها در تجزیه زیستی مایعات یونی تحقیقاتی شده است [۳۵-۳۱]. اما با این وجود، هم‌چنان به تحقیقات گسترده در زمینه تأثیر مایعات یونی بر

عملکرد میکروارگانیزم‌ها در سایر موارد به‌کارگیری زیست‌فناوری در صنایع مختلف نیاز است. از این رو در این مقاله برای نخستین بار، تأثیر مایعات یونی بر میزان رشد و عملکرد میکروارگانیزم‌های جداسازی شده از نفت یا خاک آلوده به نفت ارزیابی و تحلیل شده است. شایان ذکر است که روش ازدیاد برداشت نفت به‌روش میکروبی (MEOR) تنها یک روش از بین تمامی روش‌های ازدیاد برداشت نفت است که طی آن بازیافت نفت با به‌کارگیری موجودات زنده انجام می‌گیرد و در نتیجه، بررسی و کنترل رفتار این موجودات میکروسکوپی درون مخزن می‌تواند تأثیر به‌سزایی در افزایش بازیافت نفت از مخازن داشته باشد. همین امر در زمینه زیست‌پالایی و تجزیه زیستی محیط نیز اجرائی است؛ زیرا می‌توان با مهندسی رفتار میکروارگانیزم‌های شرکت‌کننده در این فرایندها بازدهی فرایند را به‌طور قابل توجهی افزایش داد.

در راستای اهداف این مقاله، تأثیر دو مایع یونی به‌نام ۱- اوکتا دسیل - ۳- متیل ایمیدازولیوم کلرید و ۲- دسیل - ۳- متیل ایمیدازولیوم کلرید در غلظت‌های متفاوت (۲۰۰ ppm، ۱۰۰ ppm، ۵۰ ppm، ۲۵ ppm، ۱۰ ppm، ۲ ppm) بر گونه باکتریایی با قابلیت‌های نام‌برده، بررسی و تحلیل شده است.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱ باکتری‌های مورد استفاده

باکتری‌های مورد استفاده در این تحقیق از نفت گچساران و یا خاک آلوده به این نفت - که از اطراف پالایشگاه شیراز جمع‌آوری شد - جداسازی شده‌اند و پیش‌تر تأثیر و توانایی بالقوه آن‌ها در ازدیاد برداشت میکروبی نفت، زیست‌پالایی محیط و تجزیه زیستی مواد سنگین نفتی به اثبات رسیده است (جدول (۱)). چهار گونه نخست، توانایی بالقوه خود را در بازیافت نفت از مخازن نفتی در شرایط آزمایشگاهی و در شرایط سخت و هم‌چنین مواردی چون زیست‌پالایی و تجزیه زیستی مواد سنگین نفتی به مواد مرغوب سبک‌تر، نشان داده‌اند و دو گونه آخر توانایی بالقوه خود را در زیست‌پالایی خاک‌های آلوده به مواد نفتی به اثبات رسانده‌اند که اطلاعات دقیق آن‌ها در مراجع ثبت شده است [۳۷-۳۶، ۷-۴].

جدول ۱. میکروارگانیسم‌های به‌کار گرفته شده در آزمایش‌ها.

Table 1. List of bacterial formulations used in the rest of experiments.

Number	Bacterial Formulations	Biological Characteristics	Bacterial Name Abbreviations
1	<i>Bacillus Stearotherophilus</i> # 13	Gram-positive	<i>Bacillus</i> 13
2	<i>Enterobacter Cloacae</i> #1	Gram-negative	<i>Enterobacter</i> 1
3	<i>Enterobacter Cloacae</i> # 3	Gram-negative	<i>Enterobacter</i> 3
4	<i>Enterobacter sc</i> ₁	Gram-negative	<i>Enterobacter sc</i> ₁
5	<i>Enterobacter ss</i> ₁	Gram-negative	<i>Enterobacter ss</i> ₁

دو محلول اول با استفاده از اتوکلاو و محلول سوم به‌دلیل حساسیت دمایی با استفاده فیلتر میکروبی، استریل و به محیط اضافه می‌شوند.

✓ محیط رشد محلول نمکی معدنی (MSM):

درصد ترکیب مواد در محیط کشت MSSO به‌صورت زیر است (تمامی غلظت‌ها بر حسب گرم بر لیتر است): $(NH_4)_2SO_4$: (2.53), K_2HPO_4 : (2.25), KH_2PO_4 : (0.5), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: (0.2), Agar: (15), Sucrose: (2), Carbon source: (crude oil). علاوه بر مواد بالا یک محلول افزودنی نیز در پایان به این محیط کشت اضافه می‌شود که اطلاعات دقیق آن در مرجع آورده شده است [۴۹].

شایان ذکر است که محیط رشد MSSO برای سه گونه باکتریایی اول و محیط MSM برای دو گونه آخر به‌عنوان محیط کشت اختصاصی استفاده شد؛ زیرا چنان‌که بیان شد، بر اساس مقاله‌های پیشین چاپ‌شده این محیط‌های رشد باعث عملکرد بهینه میکروارگانیسم‌های مورد بررسی می‌شوند.

علاوه بر مواد و محیط کشت‌های نام‌برده، محیط بافر که حاوی K_2HPO_4 : (0.56), KH_2PO_4 : (0.22), NaCl: (0.8) (بر حسب گرم بر لیتر) است، به‌منظور انجام تست هیدروفوبیسیته (آب‌گریزی) سطح سلول‌های باکتریایی، تهیه و استفاده شد. خصوصیت این محلول در آن است که در آن سلول‌های باکتریایی تنها می‌توانند زنده بمانند؛ اما نمی‌توانند محصولات زیستی خود را تولید کنند [۳۷، ۷].

۲-۳ مایع‌های یونی به‌کار گرفته شده

دو مایع یونی با نام‌های ۱-اوکتا دیسیل-۳-متیل ایمیدازولیوم کلرید

۲-۲ محیط‌های کشت و مواد به‌کار رفته

محیط‌های کشت عمومی با نام‌های BHI, NB, LB, NA (همگی از شرکت مرک آلمان تهیه شدند) برای کشت‌های اولیه و هم‌چنین دو محیط کشت اختصاصی با نام‌های MSSO و MSM با ترکیب هیدروکربنی اختصاصی برای هر گونه باکتری (به‌منظور کشت نهایی) انتخاب شده‌اند. نکته مهم این است که اساس انتخاب محیط کشت‌های اختصاصی نام‌برده، تحقیقات پیشین بر روی هر کدام از میکروارگانیسم‌های مورد بررسی بوده است، به‌طوری‌که با انتخاب نوع محیط کشت اختصاصی و جزئیات هر کدام، میزان کارایی میکروارگانیسم، به بیشترین مقدار ممکن افزایش یافته است [۳۷-۳۶، ۴-۷]. مشخصات این دو محیط کشت در ادامه آورده شده است:

✓ محیط رشد محلول نمکی معدنی (MSSO)

درصد ترکیب مواد در محیط کشت MSSO به‌صورت زیر است (تمامی غلظت‌ها بر حسب گرم بر لیتر است): Yeast extract: (0.5), K_2HPO_4 : (13.9), KH_2PO_4 : (2.7), NaCl: (1), $NaNO_3$: (1), Carbon Source: (1). منبع کربنی برای گونه باسیلوس نرمال دودکان و برای گونه *انتروباکتر روغن آفتاب‌گردان* (با توجه به مقاله‌های چاپ شده باهدف رشد بهتر و بیشینه میزان تولید بیوسورفکتانت) انتخاب شده است. به این محیط پس از اتوکلاو سه محلول افزودنی^۱ به نسبت حجمی ۱٪ حجمی اضافه می‌شود. این سه محلول عبارت‌اند از:

- محلول حاوی ۱۰ درصد جرمی $(NH_4)_2SO_4$
- محلول حاوی ۲/۵ درصد جرمی $MgSO_4$
- محلول حاوی عناصر کم‌مقدار ولین^۲ که درصد ترکیب آن با جزئیات کامل در مرجع آورده شده است [۴].

1. Tracers
 2. Woiln's Trace Element Solution

و ۲- دسیل-۳- متیل ایمیدازولیوم کلرید در محیط آزمایشگاه، سنتز و استفاده شد.

۳. روش انجام آزمایش

۳-۱ کشت باکتری‌ها

برای انجام آزمون‌ها، تمامی گونه‌های باکتری در ابتدا به مدت ۲۴ ساعت بر روی محیط جامد (NA) کشت شدند تا از خلوص آن‌ها اطمینان حاصل شود، سپس ابتدا به مدت ۲۴ ساعت بر محیط کشت عمومی NB، سپس LB و در آخر هر کدام در محیط کشت BHI به مدت ۲۴ ساعت کشت شدند تا به بهترین نحو در محیط کشت اصلی بتوانند رشد کنند. سپس گونه‌های *انتروباکتر ۱* و *انتروباکتر ۳* در محیط کشت MSSO با منبع کربنی روغن آفتاب‌گردان و گونه *باسیلوس ۱۳* بر این محیط کشت با منبع کربنی نرمال دودکان و دو گونه *انتروباکتر اس/اس ۱* و *انتروباکتر اس سی ۱* بر محیط کشت MSM با منبع کربنی نفت خام کشت شدند.

۳-۲ سنتز مایعات یونی

دو مایع یونی به کار رفته در ادامه آزمایش‌ها در محیط آزمایشگاه سنتز شدند که روش سنتز آن‌ها در ادامه آورده شده است:

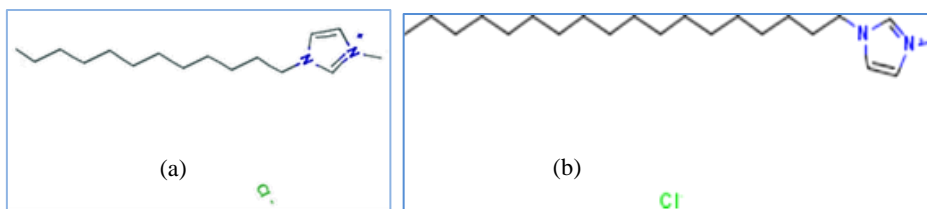
۳-۲-۱ سنتز مایع یونی ۱-اوکتا دسیل-۳-متیل ایمیدازولیوم کلرید

واکنش مورد نیاز برای سنتز مایع یونی با استفاده از بالن سه‌دهانه انجام می‌پذیرد. این بالن مجهز به دماسنج و میرد است و امکان ورود گاز نیتروژن را نیز فراهم می‌آورد. پس از آماده‌سازی تجهیزات مورد نظر برای سنتز مایع یونی، مخلوط ۰/۱ مول (۸/۲ گرم)

متیل ایمیدازول و ۰/۱ مول آلکیل (اوکتا دسیل) کلرید به درون بالن منتقل می‌شود. در پایان پس از آن که الکیل کلرید واکنش‌ن داده را از بالن خارج کردیم، محصول واکنش را سه مرتبه و هر مرتبه با ۳۰ میلی‌لیتر از محلول اتیل استات می‌شویم تا مواد واکنش‌ن داده اولیه که احتمالاً به همراه محصول وجود خواهند داشت، شسته و از محصول نهایی حذف شود. در نهایت، با قراردادن محصول شسته‌شده به درون یک گرم‌خانه، محصول کاملاً خشک نهایی حاصل می‌شود. در این شرایط محصولات ۱- آلکیل (اوکتا دسیل) - ۳- متیل ایمیدازولیوم کلرید که به صورت پودر سفیدرنگ و یا با گرانیوی بالا هستند و رنگی متمایل به زرد دارند. همچنین صحت روش سنتز نیز با استفاده از طیف NMR تایید خواهد شد. لازم به ذکر است که با توجه به این که مایعات یونی توانایی بالایی برای جذب رطوبت دارند، این مایعات همواره با استفاده از پارافیلیم از محیط اطراف ایزوله می‌شوند و در شرایطی کاملاً حفاظت‌شده، نگهداری می‌شوند.

۳-۲-۲ سنتز مایع یونی ۲-دسیل-۳-متیل ایمیدازولیوم کلرید

کل فرایند سنتز، مشابه با مایع یونی ۱- اوکتا دسیل-۳- متیل ایمیدازولیوم کلرید است و تنها به جای افزودن ۰/۱ مول آلکیل کلرید به محیط واکنش، مقدار ۰/۱ مول اکتیل کلرید به محیط افزوده می‌شود تا مایع یونی با طول زنجیره دلخواه سنتز شود. طرحی از ساختار مولکولی دو مایع یونی در شکل (۱) آورده شده است؛ در شکل نیز پیداست که دو مایع یونی ساختار مولکولی مشابه دارند؛ اما مایع یونی «۱- اوکتا دسیل-۳- متیل ایمیدازولیوم کلرید» دارای طول زنجیره بلندتر نسبت به مایع یونی دیگر است.



شکل ۱. ساختار مولکولی دو مایع یونی سنتز شده و به کار رفته در تحقیقات: (a) ۲-دسیل-۳-متیل ایمیدازولیوم کلرید (IL-1)، (b) ۱-اوکتا دسیل-۳-متیل ایمیدازولیوم کلرید (IL-2).

Figure 1. Molecular structure of two synthesized ionic liquids; (a) 2-decyl-3-methylimidazolium chloride (IL-1), (b) 1-octadecyl-3-methylimidazolium chloride (IL-2).

۳-۴ بررسی میزان آب‌گریزی باکتری‌ها

به‌منظور شناخت هرچه بیشتر خصوصیات باکتری‌های به‌کار گرفته‌شده در آزمایش‌ها، آزمون شناسایی میزان آب‌گریزی باکتری‌ها انجام شد. میزان آب‌گریزی سطح سلول گونه‌های به‌کار گرفته‌شده یکی از پارامترهای مهم در چسبیدن باکتری‌ها به قطرات نفتی در هر سه فرایند ازدیاد برداشت میکروبی نفت، پالایش زیستی محیط‌های آلوده و همچنین تجزیه زیستی هیدروکربن‌های سنگین است، که می‌تواند در راندمان نهایی هر سه فرایند تأثیر بسزایی داشته باشد. روش دقیق اندازه‌گیری آب‌گریزی سطح گونه‌ها به‌طور دقیق در مرجع آورده شده است [۳۸]؛ اما به‌طور خلاصه باید گفت که در این آزمایش، گونه‌های مورد بررسی - همانند روش توضیح داده شده در بخش قبل - پس از کشت در محیط‌های پیش‌کشت شامل NB, LB, BHI در مرحله اول بر روی محیط کشت‌های اختصاصی به‌مدت ۲۴ ساعت مختص خود کشت داده می‌شوند، سپس سلول‌های باکتریایی به کمک سانتریفیوژ با دور ۴۰۰۰ rpm به‌مدت ۱۵ دقیقه از محیط میکروبی جدا می‌شوند و سه بار با محلول بافر شست‌وشو داده می‌شوند. بدین منظور سلول‌های جداشده در محلول بافر معلق می‌شوند و پس از اختلاط، با سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ rpm و به‌مدت ۱۰ دقیقه جداسازی می‌شوند. این کار سه بار متوالی تکرار می‌شود. پس از آن سلول‌های باکتریایی جداسازی و شسته‌شده به OD (Optical Density) معادل با ۰/۱ در محلول بافر رسانده می‌شود. در مرحله بعد، به نمونه‌ها مقدار مشخصی نرمال دودکان اضافه می‌شود (نسبت حجمی ۰/۲ به ۱/۲ نرمال دو دکان نسبت به محلول بافر حاوی سلول باکتریایی) و پس از دو دقیقه اختلاط مناسب، نمونه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در حالت سکون و استراحت نگه داشته می‌شوند و در آخر دوباره OD نمونه‌ها اندازه‌گیری می‌شود. پس از انجام مراحل آزمایشگاهی فوق، با استفاده از فرمول زیر میزان آب‌گریزی به‌دست می‌آید [۳۸]:

$$\% \text{Hydrophobicity} = \frac{\text{identical OD}(0.1) - \text{OD}(20 \text{ min})}{\text{identical OD}(0.1)} \times 100$$

۳-۵ بررسی تأثیر سورفکتانت شیمیایی

افزون بر انجام تست آب‌گریزی، تأثیر اضافه‌کردن مواد خارجی بر نحوه رشد و عملکرد میکروارگانیسم‌ها نیز قبل از اضافه‌کردن مایعات یونی به‌عنوان نمونه‌های جدید، بررسی شد. یعنی میزان غلظت

۵۰ ppm از سورفکتانت شیمیایی^۱ SDBS به‌هنگام کشت باکتری‌ها، به محیط کشت، اضافه و تأثیر آن بر نمونه‌های با شرایط مشابه اما بدون حضور این ماده، بررسی شد. لازم به ذکر است که علاوه بر هر آزمون، یک آزمون کنترل نیز در نظر گرفته شده است که کاملاً مشابه آزمون اصلی است؛ ولی در آن سلول (باکتری) یا مایع یونی یا سورفکتانت به محلول اضافه نشده است. علت انتخاب سورفکتانت شیمیایی آن است - که چنان‌که پیش‌تر بیان شد در مقالات دیده شده است - که مایعات یونی می‌توانند همانند سورفکتانت‌های شیمیایی در شرایط مخزن و یا موارد وابسته به نفت عمل کنند.

۳-۶ تأثیر مایعات یونی بر عملکرد و رشد میکروارگانیسم‌ها

در این بخش، به‌منظور بررسی تأثیر مایعات یونی سنتز شده بر نحوه رشد و عملکرد میکروارگانیسم‌ها، در کشت‌های جداگانه، در کشت گونه‌های مورد بررسی بر محیط کشت اختصاصی، از هر کدام از مایعات یونی سنتز شده با غلظت‌های متفاوت (۲ ppm، ۱۰ ppm، ۲۵ ppm، ۵۰ ppm، ۱۰۰ ppm، ۲۰۰ ppm) به محیط کشت، افزوده و به باکتری‌ها فرصت داده شد تا در حضور مایعات یونی افزوده‌شده به‌مدت ۲۴ ساعت در شیکر انکوباتور رشد کنند، سپس خصوصیات رشد آن‌ها بررسی شد. آزمون‌های مشابه هم‌زمان با عدم حضور مایعات یونی نیز انجام و نتایج با یکدیگر مقایسه شد. پس از آن میزان جذب نور در طول موج ۶۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌نورسنجی (آزمون استاندارد) OD انجام و نتایج تحلیل و بررسی شد.

۴. ارائه نتایج

در ادامه مقاله نتایج حاصل از آزمون‌های تجربی در قسمت‌های مختلف بر اساس روش‌های ذکر شده در بخش قبل، آورده شده است. نکته قابل توجه در تمامی آزمون‌ها آن است که با توجه به این‌که هر داده تجربی گزارش شده در کل این تحقیق، میانگین حداقل سه اندازه‌گیری مستقل است، امکان محاسبه انحراف از معیار برای داده‌ها وجود داشته است. بر این اساس، با توجه به محاسبات انحراف از معیار انجام‌شده، بیشینه انحراف از معیار اندازه‌گیری شده در حدود ۲/۵٪ است که این مقدار می‌تواند به‌عنوان یک سطح قابل قبول از خطا در تمام اندازه‌گیری‌ها در نظر گرفته شود.

1. Sodium Dodecylbenzenesulfonate

۱-۴ نتایج حاصل از انجام آزمون آب‌گریزی گونه‌های

مورد بررسی

نتایج حاصل از انجام آزمون آب‌گریزی سطح سلول‌های باکتری در جدول زیر آورده شده است.

جدول ۲. نتایج حاصل از آزمون آب‌گریزی.

Table 2. Results of Hydrophobicity tests on bacterial formulations.

Bacterial Name Abbreviations	%Hydrophobicity
Bacillus 13	57.14
Enterobacter 1	13.74
Enterobacter 3	33.89
Enterobacter SS1	0
Enterobacter SC1	0

۲-۴ نتایج حاصل از افزودن سورفکتانت شیمیایی SDBS به

محیط کشت

چنان‌که پیش‌تر بیان شد، پس از انجام آزمون آب‌گریزی، وضعیت رشد و عملکرد میکروارگانیسم‌ها در حضور و عدم حضور سورفکتانت شیمیایی SDBS، انجام شد که نتایج آن در ادامه آمده است.

۳-۴ نتایج عملکرد باکتری‌ها به همراه دو مایع یونی

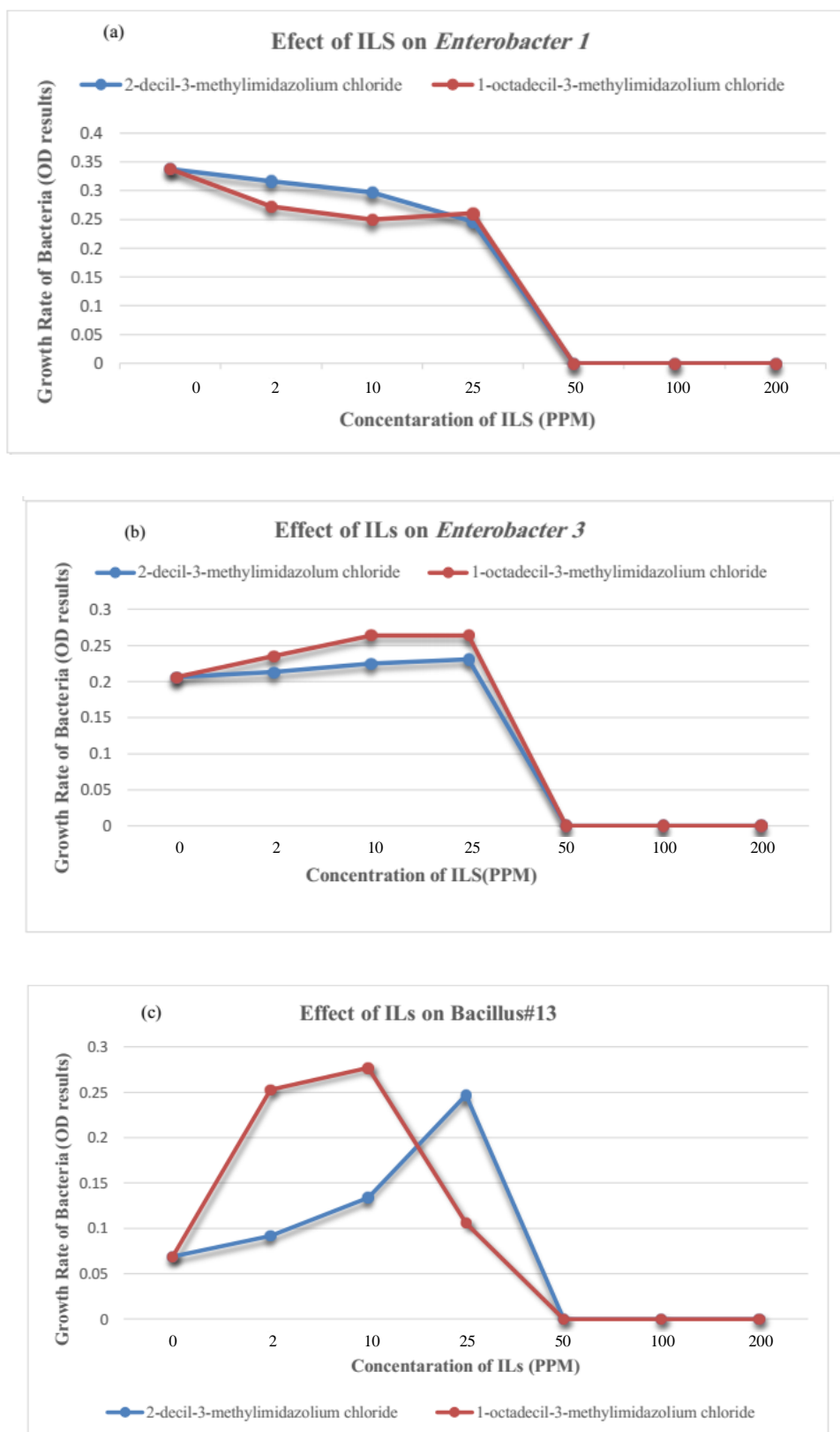
در ادامه نتایج آزمون اندازه‌گیری میزان جذب (OD) که نشان‌دهنده میزان رشد و عملکرد گونه‌های متفاوت در غلظت‌های مختلف دو مایع یونی است در شکل (۲) آورده شده است. لازم به ذکر است که در ابتدا گونه‌های مورد بررسی در محیط‌های پیش‌کشت عمومی به مدت ۲۴ ساعت و سپس در محیط کشت اختصاصی مختص خود به مدت ۲۴ ساعت کشت شدند، سپس در تست‌های اندازه‌گیری میزان رشد و عملکرد میکروارگانیسم‌ها استفاده شدند. در بخش ۲-۲ در مورد جزئیات محیط‌های کشت مورد استفاده و در بخش ۳-۱ در مورد نحوه کشت به تفصیل توضیح داده شده است.

جدول ۳. نتایج اضافه‌کردن سورفکتانت شیمیایی SDBS

به محیط باکتریایی.

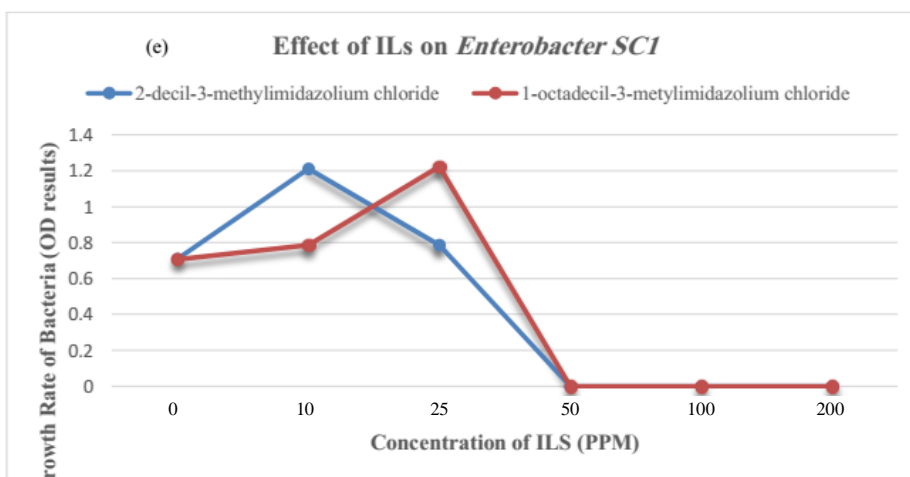
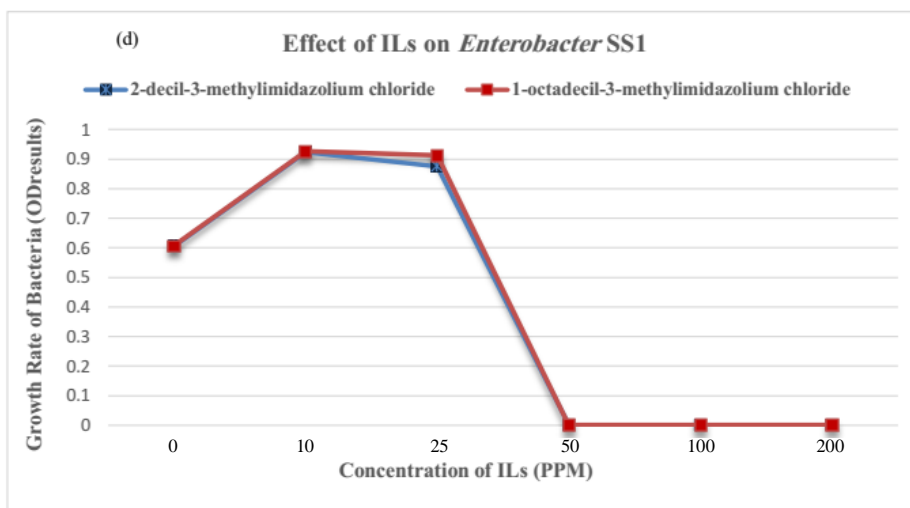
Table 3. Growth Rate results of addition of chemical surfactant (SDBS).

Bacterial Name Abbreviations	Growth Rate of bacteria (OD results) without addition of SDBS	Growth Rate of bacteria (OD results) with addition of SDBS
Bacillus 13	0.069	0.01
Enterobacter 1	0.338	0.3
Enterobacter 3	0.206	0.4
Enterobacter sc1	0.708	0.359
Enterobacter ss1	0.606	0.471



شکل ۲. نمودار میزان رشد میکروارگانیسم‌ها (حاصل از تست OD) در حضور غلظت‌های مختلف از دو مایع یونی سنتز شده: (a) انتروباکتر ۱، (b) انتروباکتر ۳، (c) باسیلوس ۱۳، (d) انتروباکتر ss1، (e) انتروباکتر sc1.

Figure 2. Growth Rate of Bacteria (OD results) in presence of two synthesized ionic liquids for bacterial formulations of: (a) *Enterobacter 1*, (b) *Enterobacter 3*, (c) *Bacillus 13*, (d) *Enterobacter ss1*, (e) *Enterobacter sc1*.



ادامه شکل ۲. نمودار میزان رشد میکروارگانیسم‌ها (حاصل از تست OD) در حضور غلظت‌های مختلف از دو مایع یونی سنتز شده: (a) انتروباکتر ۱، (b) انتروباکتر ۳، (c) باسیلوس ۱۳، (d) انتروباکتر ss1، (e) انتروباکتر sc1.

Figure 2. Growth Rate of Bacteria (OD results) in presence of two synthesized ionic liquids for bacterial formulations of: (a) *Enterobacter 1*, (b) *Enterobacter 3*, (c) *Bacillus 13*, (d) *Enterobacter ss1*, (e) *Enterobacter sc1*.

۵. بحث و تحلیل نتایج

انتروباکتر ۳ نسبت به سایر گونه‌های انتروباکتر است. در مقابل، نتایج جدول (۲) نشان از تأثیر منفی اضافه کردن سورفکتانت شیمیایی SDBS بر اکثر گونه‌ها به جز در گونه *انتروباکتر ۳* دارد. چنان‌که در مقاله‌های پیشتر چاپ‌شده از این گونه انتروباکتر نیز مشاهده می‌شود، این گونه دارای خصوصیات منحصر به فردی است که بررسی نتایج متفاوت آن حتی می‌تواند پدیده‌های جدید حاکم در فرایندهای مورد بررسی را مشخص کند [۶-۷]. همچنین نتایج تأثیر دو مایع یونی با طول زنجیره متفاوت بر رشد میکروارگانیسم‌های مورد بررسی در شکل (۲) آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که در بیشتر موارد، ابتدا هر دو مایع یونی موجب افزایش میزان رشد

نتایج آزمون آب‌گریزی بر روی گونه‌های مورد بررسی نشان می‌دهد که گونه *باسیلوس* دارای بیشترین میزان آب‌گریزی (حدود ۵۷٪) است. در مقابل، گونه‌های انتروباکتر دارای آب‌گریزی کمتری هستند، به طوری که به‌غیر از گونه *انتروباکتر ۳* که دارای آب‌گریزی در حدود ۳۴٪ است، سایر گونه‌های انتروباکتر، کمتر آب‌گریز هستند. این پدیده با ساختار طبیعی گونه‌های مورد بررسی مطابقت دارد؛ زیرا به‌طور معمول باکتری‌های گرم مثبت به‌دلیل ساختار سطح سلولی خود معمولاً نسبت به باکتری‌های گرم منفی آب‌گریزتراند [۷، ۳۸]. اما نکته قابل توجه در تفاوت میزان آب‌گریزی

۱- اوکتا دسیل ۳- متیل ایمیدازولیوم کلرید در هنگام تماس با گونه‌های مختلف باکتری بیشتر از مایع یونی ۲- دسیل ۳- متیل ایمیدازولیوم کلرید موجب افزایش رشد و عملکرد گونه‌های باکتریایی مورد بررسی شده است، که این موضوع با تحقیقات چاپ‌شده بر روی میکروارگانیسم‌های مورد بررسی در زمینه پزشکی و بیماری زای انسانی منطبق بوده است [۲۹-۲۶]. البته تحقیق پیش رو موارد متفاوتی نیز (در غلظت‌های خاصی) در رابطه با گونه‌های جداشده از نفت و یا خاک آلوده به نفت در مقایسه با باکتری‌های انسانی بیماری‌زا نشان می‌دهد. درباره باکتری‌های بیماری‌زای انسانی - چنان‌که در قسمت‌های پیشین نیز ذکر شد- دیده شده است که مایعات یونی (مخصوصاً مایعات یونی بر پایه ایمیدازولیوم) چنانچه در زمان کم و با غلظت بالا در تماس با این گونه باکتری‌ها قرار گیرند، می‌توانند به سطوح غشای آن‌ها آسیب برسانند. در مجلات با اهداف پزشکی برای خاصیت میکروب‌کشی مایعات یونی بر پایه ایمیدازولیوم، چنین استدلال شده که IL_1 ها می‌توانند با دو لایه لیپید غشای خارجی از میکروارگانیسم‌ها در تعامل باشند و نفوذپذیری غشای خارجی سلول‌ها را افزایش دهند، این امر بر ساختار غشای سلولی باکتری تأثیر می‌گذارد؛ بنابراین ظرفیت مقاومت آن غشا کاهش یافته، در نتیجه ترمیم آسیب واردشده بر روی غشا نیز سخت می‌شود. یعنی این ترکیبات به‌آسانی توانایی نفوذ به درون غشای باکتری را به دست می‌آورند. از طرفی نمک‌های ایمیدازولیوم با فعالیت‌های ضد میکروبی خود می‌توانند در جلوگیری از تشکیل زیست‌فیلم نقش داشته باشند [۲۹-۲۸]

نکته مهم این است که هرچند تأثیر طول زنجیره مایع یونی بر رشد و عملکرد گونه‌های مورد بررسی این مقاله با مقالات منتشرشده در زمینه پزشکی مشترک است؛ اما این مقاله بر خلاف سایر مقالات، در زمینه پزشکی موارد مثبت تأثیر مایعات یونی را بر رشد و عملکرد میکروارگانیسم‌ها در غلظت‌های مشخصی بررسی کرده است که جای امیدواری بسیاری را در زمینه‌های ازدیاد برداشت نفت و سایر موارد کاربردی فراهم می‌سازد.

۶. نتیجه‌گیری

در این تحقیق تأثیر مایعات یونی با طول زنجیره متفاوت بر میزان

۱. مایعات یونی (Ionic Liquid)

رشد و عملکرد ۵ گونه میکروبی که توانایی عملکرد مناسبی را در فرایندهای ازدیاد برداشت نفت، پالایش زیستی محیط و تجزیه زیستی ترکیبات سنگین نفتی - مانند آسفالتین- دارند بررسی شد. پیش از آن به منظور شناخت بیشتر خصوصیات و عملکرد گونه‌های مورد بررسی، آب‌گریزی اولیه گونه‌ها و همچنین تأثیر ماده افزوده سورفکتانت شیمیایی بر میکروارگانیسم‌ها بررسی شد. دلیل انتخاب سورفکتانت شیمیایی در این مرحله آن است که بر اساس گزارش برخی از مقالات، مایعات یونی در مخزن و سایر موارد وابسته به نفت خصوصیات هم‌چون سورفکتانت‌های شیمیایی از خود نشان می‌دهند. نتایج این تحقیق نشان داد که مایعات یونی می‌توانند بر میزان رشد و عملکرد گونه‌های باکتریایی مورد بررسی تأثیرگذار باشد و این امر با تغییر نوع و طول زنجیره مایع یونی متفاوت است. در نتایج حاصل از تأثیر مایعات یونی، در اکثر موارد نمودار رشد و عملکرد نسبت به غلظت مایع یونی دارای یک نقطه اکسترمم است که در آن میزان رشد و عملکرد به بیشینه میزان خود می‌رسد و پس از آن میزان رشد کاهش می‌یابد و در غلظت مشخصی به‌طور کامل برابر با صفر می‌شود (این در حالی است که در مورد سورفکتانت شیمیایی و البته تنها در یک غلظت ثابت ۵۰ ppm در بیشتر موارد اثر منفی در رشد میکروارگانیسم‌ها مشاهده شده است). غلظت بهینه با تغییر گونه باکتریایی و یا نوع مایع یونی به‌کار گرفته شده متفاوت است و در محدوده ۱۰ ppm تا ۲۵ ppm متغیر است؛ اما برای همه گونه‌های باکتریایی مورد بررسی غلظت ۵۰ ppm را می‌توان غلظت میکروب‌کش نام نهاد که از این غلظت به بعد رشد میکروارگانیسم‌ها در حضور هر دو مایع یونی کاملاً به صفر می‌رسد. دلیل افزایش ابتدایی در نمودار رشد و عملکرد گونه‌های باکتریایی و سپس کاهش آن را می‌توان آن دانست که احتمالاً گونه‌های باکتریایی ابتدا از مایعات یونی با غلظت‌های کم به‌عنوان منبع غذایی استفاده می‌کنند و با تجزیه زیستی آن‌ها میزان رشد میکروارگانیسم‌ها افزایش می‌یابد؛ اما در غلظت‌های بالاتر، اثرات سمی مایع یونی غالب شده، این امر باعث از بین رفتن کامل میکروارگانیسم‌ها از محیط می‌شود. هم‌چنین نتایج نشان داد که طول زنجیره مایع یونی می‌تواند بر میزان تأثیرات مایع یونی بر رشد و عملکرد گونه‌های جداشده از منابع نفتی تأثیرگذار باشد؛ چنان‌که طول زنجیره بیشتر در مایع یونی ۱- اوکتا دسیل ۳- متیل

- and Characterization of Gram-Positive Biosurfactant-Producing Halothermophilic Bacilli from Iranian Petroleum Reservoirs", *Jundishapur J Microbiol*, (2014).
- [5] Sarafzadeh, P., Niazi, A., Oboodi, V., Ravanbakhsh, M., Zeinolabedini Hezave, A., Ayatollahi, S. S., Raeissi, S., "Investigating the efficiency of MEOR processes using *Enterobacter cloacae* and *Bacillus stearothermophilus* SUCPM#14 (biosurfactant-producing strains) in carbonated reservoirs", *JPSE* (113): pp.46-53, (2013).
- [6] Sarafzadeh, P., Zeinolabedini Hezave, A., Ravanbakhsh, M., Ayatollahi, Sh., Niazi, A., "Enterobacter cloacae as biosurfactant producing bacterium: Differentiating its effects on interfacial tension and wettability alteration mechanisms for oil recovery during MEOR process", *Colloids and surface B*, 105, pp.223-229, (2013).
- [7] Sarafzadeh, P., Zeinolabedini Hezave, A., Mohammadi, S., Niazi, A., Ayatollahi, Sh., "Modification of rock/fluid and fluid/fluid interfaces during MEOR processes, using two biosurfactant producing strains of *Bacillus stearothermophilus* SUCPM#14 and *Enterobacter cloacae*: A mechanistic study", *Colloids and surface B*, Vol. 117, pp. 346-353, (2014).
- [8] Gaol, C. L., Ganzer, L., Mukherjee, S., Alkan, H., "Parameters govern microbial enhanced oil recovery (MEOR) performance in real-structure micromodels", *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 205, p. 108814, (2021).
- [9] El-Rahim, W., Moawad, H., Abdel Azeiz, A., Sadowsky, M., "Biodegradation of azo dyes by bacterial or fungal consortium and identification of the biodegradation products", *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, ISSN 1687-4285, (2021).
- [10] Kaczmarek-Szczepeńska, B. Sionkowska, M. M., Mazur, O., Świąteczak, J., Brzezinska, M. S., "The role of microorganisms in biodegradation of chitosan/tannic acid materials", *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol.184, pp.584-592, (2021).
- [11] Ding, Y., Wyckoff, K. N., He, Q., Cao, X., Huang, B., "Biodegradation of waste asphalt shingle by white rot fungi", *Journal of Cleaner Production*, 310, 127448, (2021).
- [12] Tran, K. M., Lee, H., Thai, Th., Shen Eyun, S., Na, D., "Synthetically engineered microbial scavengers for enhanced bioremediation", *Journal of Hazardous Materials*, 419,126516, (2021).
- [13] Ajona, M., Vasanthi, P., "Bioremediation of petroleum contaminated soils – A review", *Materials Today: Proceedings*, Vol.45, No. 7, pp.7117-7122, (2021).

ایمیدوزالیوم کلرید در بیشتر موارد تأثیر بیشتری نسبت به مایع یونی دیگر بر رشد و عملکرد میکروارگانیسم‌ها داشته است. همچنین نتایج نشان داد که غلظت بهینه - که در آن مقدار رشد میکروارگانیسم بهینه است - می‌تواند با تغییر طول زنجیره مایع یونی متفاوت باشد.

نکته مهم آن است که هرگاه میزان رشد میکروارگانیسم‌ها در تمامی فرایندهای مرتبط با بیوتکنولوژی افزایش یابد، راندمان فرایند نیز افزایش پیدا می‌کند؛ لذا یافتن راه‌حلی مشابه با نتایج این تحقیق می‌تواند به افزایش راندمان فرایندهای مورد بررسی یعنی ازدیاد برداشت میکروبی نفت، زیست‌پالایی و تجزیه زیستی هیدروکربن‌های سنگین کمک کند. در پایان نیز باید خاطر نشان کرد که نتایج این تحقیق می‌تواند کمک شایانی در مهندسی میکروارگانیسم‌ها در تزریق به مخازن نفتی و یا پالایش زیستی داشته باشد که با استفاده از آن بتوان متناسب با نیاز فرایند رشد و عملکرد میکروارگانیسم‌ها را افزایش و حتی در سایر موارد آن را کاهش داد یا به صفر رسانید؛ زیرا در هر زمان که رشد بیشتر میکروارگانیسم‌ها و عملکرد بیشتر آن‌ها مد نظر باشد، می‌توان مایع یونی را در محدوده غلظت بهینه تزریق کرد و پس از عملیات با اضافه کردن مقدار معینی از مایع یونی، محیط را از وجود گونه‌های باکتریایی (در مواردی که حضور گونه‌های به‌جا مانده در محیط مشکلاتی به همراه داشته باشد) کاملاً پاک‌سازی کرد.

مراجع

- [1] Rabiee Ghahfarkhi, S., Sarafzadeh, P. "An overview of the applications of biotechnology as a promising technology in the sciences and industries." 4th International Conference in Applied Resources in Science and Engineering, In Persian, (2019).
- [2] Rakhshan, N., Mohebi, A., Ranjbar, M., Amini, J. "Evaluating the performance of isolated oil-contaminated soil bacteria for Enhanced Oil Recovery Purposes in a laboratory model", *Iranian, Chemical Engineering Journal*, 10 (55), In Persian, (2011).
- [3] Khani, M., Bahrami, A., Mosmeri, H., "Performance of Biosurfactants in Microbial Enhanced Oil Recovery", *Iranian, Chemical Engineering Journal*, 13 (77), (2014).
- [4] Zargari, S., Ramezani, A., Ostvar, S., Rezaei, R., Niazi, A., Ayatollahi, Sh. "Isolation

- [14] Hezave, A. Z., Dorostkar, S., Ayatollahi, Sh., Nabipour, M., Hemmateenejad, B., "Investigating the effect of ionic liquid (1-dodecyl-3-methylimidazolium chloride ([C12mim][Cl])) on the water/oil interfacial tension as a novel surfactant", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Vol.421, pp.63-71, (2013).
- [15] Hezave, A. Z., Dorostkar, S., Ayatollahi, Sh., Nabipour, M., Hemmateenejad, B., "Effect of different families (imidazolium and pyridinium) of ionic liquids-based surfactants on interfacial tension of water/crude oil system", *Fluid Phase Equilibria*, 360, pp. 139-145 (2013).
- [16] Moradi, Z., Ahmadi, L., Sarafzadeh, P., "An overview of the structures, properties and applications and recent developments in ionic liquids as a new green chemical in various industries", 2nd International Conference on New Horizons in Engineering Sciences, In Persian, (2018).
- [17] Megaw, J., Busetti, A, Gilmore, B. F., "Isolation and Characterisation of 1-Alkyl-3-Methylimidazolium Chloride Ionic Liquid-Tolerant and Biodegrading Marine Bacteria", *PLOS ONE*, 2013.
- [18] Egorova, K. S., Ananikov, V. P., "Fundamental importance of ionic interactions in the liquid phase: A review of recent studies of ionic liquids in biomedical and pharmaceutical applications", *Journal of Molecular Liquids*, 272, pp. 271-300, (2018).
- [19] Noorhisham, N. A, Amri, D., Mohamed, A. H., Yahaya, N., Ahmad, N. M., Mohamad, Sh., Kamaruzaman, S., Osman, H., "Characterisation techniques for analysis of imidazolium-based ionic liquids and application in polymer preparation: A review", *Journal of Molecular Liquids*, Volume 326, 115340, (2021).
- [20] Yousefi, M., Naseri, A., Abdouss, M., Miran Beigi, A. A., "Synthesis and characterization of eight hydrophilic imidazolium-based ionic liquids and their application on enhanced oil recovery", *Journal of Molecular Liquids*, Vol. 248, pp. 370-377, (2017).
- [21] Sakthivel, S., Velusamy, S., Chandrasekharan Nair, V., Sharma, T., Sangwai, J. S., "Interfacial tension of crude oil-water system with imidazolium and lactam-based ionic liquids and their evaluation for enhanced oil recovery under high saline environment", *Fuel*, vol. 191, pp.239-250, (2017).
- [22] Nadwani, Sh. Malek, N., Lad, V. N., Chakraborty, M., Gupta, S., "Study on interfacial properties of Imidazolium ionic liquids as surfactant and their application in enhanced oil recovery", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Vol. 516, pp.383-393, (2017).
- [23] Abdullah, M. M. S., Alquraishi, A. A., Allohedan, H. A., Almansour, A. O., Atta, A. M., "Synthesis of novel water soluble poly (ionic liquids) based on quaternary ammonium acrylamidomethyl propane sulfonate for enhanced oil recovery", *Journal of Molecular Liquids*, Vol. 233, pp. 508-516, (2017).
- [24] Pillai, P., Kumar, A., Mandal, A., "Mechanistic studies of enhanced oil recovery by imidazolium-based ionic liquids as novel surfactants", *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, Vol. 63, pp.262-274, (2018).
- [25] Docherty, K. M., Kulpa Jr, Ch. F., "Toxicity and antimicrobial activity of imidazolium and pyridinium ionic liquids", *Green Chem.* (2005).
- [26] Ranke, J., Molter, K., Stock, F., Bottin-Weber, U., Poczobutt, J., Hoffmann, J., Ondruschka, B., Filser, J., Jastorff, B., "Biological effects of imidazolium ionic liquids with varying chain lengths in acute *Vibrio fischeri* and WST-1 cell viability assays", *Ecotoxicol Environ Saf*, Vol.58, No. 3, pp. 396-404, (2004).
- [27] Ventura, S. P. M., Marques, C. S., Rosatella, A. A., Afonso, C. A. M., Gonçalves, F. J. M., Coutinho, J. A. P., "Toxicity assessment of various ionic liquid families towards *Vibrio fischeri* marine bacteria", *Ecotoxicol Environ Saf*, Vol.76, No. 2, pp. 162-8, (2012).
- [28] Wood, N., Ferguson, J. L., Gunaratne, H. Q. N., Seddon, K. R., Goodacre, R., Stephens, G. M., "Screening ionic liquids for use in biotransformations with whole microbial cells", *Green Chem*, Vol. 13, pp.1843-1851, (2011)
- [29] Duman, A., Ozturk, I., Tunçel, A., Ocakoglu, K., Colak, S., Hoşgör-Limoncu, M., Yurt, F., "Synthesis of new water-soluble ionic liquids and their antibacterial profile against gram-positive and gram-negative bacteria", *Heliyon*, Vol. 5, p. e02607, (2019).
- [30] Anandkumar, B., George, R. P., Philip, J. "Efficacy of Imidazolium and Piperidinium based ionic Liquids on inhibiting biofilm formation on Titanium and Carbon steel surfaces", *Analytica Chimica Acta*, Vol. 1126, pp. 38-51, (2020).
- [31] Sydow, M., Owsianiak, M., Framski, G., Woźniak-Karczewska, M., Piotrowska-Cyplik, A., Ławniczak, L., Szulc, A., Zgoła-Grzeškowiak, A., Heipieper, H. J., Chrzanowski, L., "Biodiversity of soil bacteria exposed to sub-lethal concentrations of phosphonium-based ionic liquids: Effects of toxicity and biodegradation", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 147, pp. 157-164, (2018).
- [32] Koutinas, M., Vasquez, M. I., Nicolaou, E., Pashali, P., Kyriakou, E., Loizou, E., Papadaki, A., Koutinas, A. A., Vyrides, I., "Biodegradation and toxicity of emerging contaminants: Isolation of an exopolysaccharide-producing *Sphingomonas sp.* for

- ionic liquids bioremediation", *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 365, pp. 88-96, (2019).
- [33] Castillo, A. S. R., Guihéneuf, S., Guével, R., Biard, P. F., Paquin, L., Amrane, A., Couvert, A., "Synthesis and toxicity evaluation of hydrophobic ionic liquids for volatile organic compounds biodegradation in a two-phase partitioning bioreactor", *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 307, pp. 221-230, (2016).
- [34] Markiewicz, M., Stolte, S., Lustig, Z., Łuczak, J., Skup, M., Hupka, J., Jungnickel, Ch., "Influence of microbial adaption and supplementation of nutrients on the biodegradation of ionic liquids in sewage sludge treatment processes", *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 195, pp. 378-382, (2011).
- [35] Ui Hassan Shah, M., Moniruzzaman, M., Sivapragasam, M., Talukder, M. M. R., Bt Yusup, S., Goto, M., "A binary mixture of a biosurfactant and an ionic Liquid surfactant as a green dispersant for oil spill remediation", *Journal of Molecular Liquid*", Vol. 280, pp. 111-119, (2019).
- [36] Darvishi, P. Ayatollahi, Sh., Nowla, D., Niazi, A., "Biosurfactant production under extreme environmental conditions by an efficient microbial consortium", *ERCPPI-2*, Vol. 84, No.2, pp.292-300, (2010).
- [37] Ghoreishi, C., "Separation of effective bacteria in the removal of oil-contaminated soils", a master's thesis on Agricultural Engineering, Department of Agriculture, Shiraz University, In Persian, (2011).
- [38] Mohamadi, S., Etezadi, R., Sarafzadeh, P., Ayatollahi, Sh., "Effect of the chemical surfactants on the cell surface characteristics of *Enterobacter Cloacae*", 1st National Iranian Oil & Gas Conference, In Persian, (2013).