



اثر اسیدهای چرب فرار بر تولید پلی هیدروکسی آلکانوات ها با استفاده از لجن فعال

نادر مختارانی^{۱*}، حسین گنجی دوست^۱، ابراهیم واشقانی فراهانی^۱، منیژه خالقی سرنامی^۲

۱- تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده فنی و مهندسی، صندوق پستی ۱۴۱۵۵/۱۴۳

۲- تهران، شرکت جهش کیمیا، صندوق پستی ۱۳۴۴۵/۱۳۸۱

دریافت: ۸۶/۵/۳۱، پذیرش: ۸۶/۹/۲۷

چکیده

پلی هیدروکسی آلکانوات ها (PHAs) پلیمرهای زیست تخریب پذیری هستند که به وسیله میکروارگانیسم ها و در شرایط خاص تولید می شوند. هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر اسیدهای چرب فرار بر کمیت و کیفیت پلیمر تولیدی با استفاده از لجن فعال بوده است. بر اساس نتایج به دست آمده، وجود اسیدهای چرب فرار در ترکیب خوراک راکتور ناپیوسته مرحله ای، در مقایسه با هنگامی که فقط از ساکاروز به عنوان منبع کربن استفاده می شد، باعث افزایش ۹۰ تا ۱۳۰ درصدی بازده پلیمر تولیدی شده است. غلظت منبع کربن اضافه شده در راکتور تولید پلیمر نیز یکی از عوامل مؤثر در تولید PHAs است. هنگامی که استات و پروپیونات به تنهایی به عنوان منبع تأمین کربن راکتور تولید پلیمر استفاده شدند، غلظت بهینه این دو اسید به ترتیب در محدوده ۲۵-۳۰ و ۱۵-۲۰ mgC/L.h.g.SS و معین شده است. همچنین، بر اساس نتایج این پژوهش، تغییر ترکیب خوراک راکتور تولید پلیمر بر کمیت و کیفیت محصول مؤثر است، به طوری که افزایش نسبت پروپیونات به استات باعث کاهش مقدار PHAs و همچنین افزایش نسبت ۲- هیدروکسی والرات به ۳- هیدروکسی بوتیرات در پلیمر تولیدی می شود. نتایج نشان می دهد، حداکثر مقدار PHAs هنگامی حاصل شده که سدیم استات به تنهایی به عنوان منبع تأمین کربن استفاده شده است. همچنین، با افزایش مقدار پروپیونات از صفر به ۱۰۰ درصد در سوبسترا، نسبت جرمی ۲- هیدروکسی والرات در محصول از ۶ به ۸۵ درصد افزایش یافته است.

واژه های کلیدی

اسیدهای چرب فرار، پلیمر زیست تخریب پذیر، تصفیه بی هوازی - هوازی، کشت مخلوط، لجن فعال

*مسئول مکاتبات، پیام نگار:

nmokhtarani@yahoo.com

Effect of Volatile Fatty Acids in Production of Polyhydroxyalkanoates by Activated Sludge

N. Mokhtarani^{1*}, H. Ganjidust¹, E. Vasheghani Farahani¹ and M. Khaleghi Sarnamy²

1. Faculty of Engineering, Tarbiat Modarres University, P.O. Box: 14155/143, Tehran, Iran

2. Jahesh Kimia Company, P.O. Box: 13445/1381, Tehran, Iran

Received 22 August 2007, accepted 18 December 2007

Abstract

Polyhydroxyalkanoates (PHAs) is known to be temporarily stored by microorganisms in activated sludge, especially in the anaerobic-aerobic processes. The main objective of this study was to investigate the effects of fatty acids (VFAs) compounds coexistence in substrate of SBR on PHAs productivity of activated sludge. It has been found that addition of different concentrations of VFAs results in an increase of PHAs content of activated sludge in the range of 90-130% as compared to the one acclimatized with only sucrose as a carbon source. In this study the optimum concentration of acetate and propionate as the sole carbon sources in the PHAs production reactor was also found to be 30-35 and 15-20 mgC/L.h.g.SS, respectively. Finally, the work was conducted in order to try and control PHAs composition by applying carbon sources with different acetate to propionate ratios. It has been observed that inclusion of propionate in the carbon sources lowered PHAs productivity. The produced PHAs is composed mainly of 3-hydroxy-butyrate and 3-hydroxy-valerate, and when the propionate in the substrate was increased from 0 to 100% the mass ratio of 3HV produced is increased from 6 to 85%.

Key Words

volatile fatty acids, biodegradable polymer, anaerobic-aerobic treatment, mixed culture, activated sludge

(* To whom correspondence should be addressed.

E-mail: nmokhtarani@yahoo.com

مقدمه

با توجه به مصرف روزافزون انواع پلاستیک‌ها در بسته بندی مواد غذایی، کالا و همچنین استفاده از کیسه های پلاستیکی برای جا به جایی و حمل زباله و با توجه به هشدارهای سازمان های مختلف زیست محیطی در ارتباط با مشکلات ناشی از رها شدن پلاستیک ها در طبیعت، از حدود دو دهه گذشته پژوهش هایی به منظور ساخت ترکیبات مشابه که زیست تخریب پذیر نیز باشند، در سطح جهان آغاز شده است [۱].

تاکنون، تعداد زیادی پلاستیک های تخریب پذیر در جهان تولید شده که با محیط زیست نیز سازگارند. اما، امروزه تولید انبوه آنها به علت عواملی چون بالا بودن نسبی قیمت سوبسترا، کم بودن مقدار تولید و نیز هزینه های مربوط به استریل نگه داشتن محیط (برای جلوگیری از آلوده شدن میکروب ها در کشت خالص) به طور محدودی انجام پذیرفته و باعث شده تا این گروه از پلیمرها نتوانند با سایر پلاستیک ها رقابت داشته باشند.

بر اساس یکی از مطالعات انجام شده [۲] هزینه قابل توجه مواد اولیه، علت اصلی بالا بودن قیمت پلاستیک های تخریب پذیر در مقایسه با پلاستیک های معمولی عنوان شده است. لی [۳] در گزارشی هزینه تولید پلیمرهای زیست تخریب پذیر در کشت خالص را در حدود ۲۰ برابر قیمت پلاستیک های مصنوعی برآورد کرده است.

از میان پلیمرهای تخریب پذیر که تاکنون تهیه شده اند گروهی با عنوان پلی هیدروکسی آلکانوات ها (polyhydroxyalkanoates, PHAs) و کopolymerهای آن که بالغ بر چهل نوع ترکیب هستند، به علت تخریب کامل، انعطاف پذیری، مقاومت صد درصد در برابر آب، کم بودن نسبی هزینه تولید و همچنین سادگی فرایند نسبت به سایر پلیمرهای زیست تخریب پذیر بیشتر مورد توجه قرار گرفته اند [۴،۵].

پلی هیدروکسی آلکانوات ها، پلی استر هیدروکسی آلکانوات ها هستند و وزن مولکولی آنها بر حسب نوع میکروارگانیزم و شرایط رشد در محدوده 2×10^5 تا 3×10^6 دالتون قرار دارد. این نوع ترکیبات به علت خواص فیزیکی، مکانیکی و همچنین به علت سازگاری با بدن حتی در عمل های جراحی نیز کاربرد دارند [۶].

این گروه از پلیمرها کاربردهای متنوعی دارند که از آن جمله می توان به استفاده از آنها در ساخت انواع الیاف، شامپو و مواد آرایشی، انواع صفحات و جایگزین های استخوان (پروتزها)، نخ ها و دستکش های جراحی، زخم پوش ها، جایگزین عروق خون و انواع فیلم های بسته بندی، کیسه و ظروف اشاره کرد. این نوع زیست پلیمر که به شکل دانه داخل سلول میکروارگانیزم تجمع می یابد و پس از استخراج و خالص سازی به پودر سفید رنگی تبدیل می شود، توسط گروه های

مختلف میکروارگانیزم ها از منابع هیدروکربنی هنگامی که مقدار مواد مغذی (nutrient) محدود است، قابل تهیه اند. گروهی از باکتری ها و همچنین دسته ای از فیلامنتوس ها (*Filamentous*) قابلیت ساخت این نوع پلیمرها یا کopolymer آنها را به عنوان منبع ذخیره کربن در داخل سلول خود دارند [۷]. تقریباً ۳۰۰ نوع میکروارگانیزم، شامل انواع گرم مثبت و منفی شناسایی شده که قادر به ذخیره سازی انواع PHAs هستند. از جمله میکروارگانیزم هایی که قابلیت تولید PHAs را دارند، می توان به گونه های باسیلوس، ازتوباکتر، سودوموناس و آلکالیجنز اشاره کرد [۸]. در تهیه PHAs، میکروارگانیزم ها از مواد آلی محلول استفاده می کنند که مهم ترین آنها اسیدهای چرب فرار (volatile fatty acids, VFAs) هستند و آنها را به PHAs تبدیل می کنند. بنابراین، اگر طی فرایند تصفیه فاضلاب نیز این نوع اسیدها تولید شوند، با استفاده از میکروارگانیزم های مناسب می توان ضمن مصرف کربن آلی محلول، زیست پلیمر نیز تهیه کرد.

تهیه PHAs از پساب مزایایی دارد که از مهم ترین آنها می توان تولید نسبتاً ارزان زیست پلیمر، کاهش حجم لجن مازاد و به دنبال آن کاهش هزینه های تصفیه فاضلاب را برشمرد. لازم به ذکر است، بر اساس مطالعات انجام شده در صورت بازیافت PHAs از لجن مازاد تصفیه خانه فاضلاب حجم آن به کمتر از ۳۰ درصد کاهش می یابد [۹].

طی دو دهه گذشته، تلاش های زیادی به منظور تولید بهینه PHAs انجام شده، اما با وجود این تلاش ها قیمت فعلی این نوع ترکیبات هنوز چند برابر پلاستیک های معمولی است [۱۰].

در پژوهشی، لجن حاصل از تصفیه زیستی فاضلاب صنایع چوب و کاغذ، نشاسته سازی و صنایع تولید پنیر در تولید PHA با یک دیگر مقایسه شده است. در این پژوهش، حداکثر مقدار پلیمر تولیدی با استفاده از استات به عنوان منبع تأمین کربن هنگامی به دست آمده که لجن حاصل از تصفیه فاضلاب صنایع چوب و کاغذ مورد استفاده قرار گرفته است [۱۱].

در پژوهشی دیگر، اثر نوسان پتانسیل اکسایش - کاهش (oxidation reduction potential, OPR) بر کیفیت تولید پلیمر در شرایطی بررسی شده که از ترکیب سدیم پروپیونات و سدیم استات به عنوان منبع تأمین کربن استفاده شده بود [۱۲]. بر اساس نتایج این پژوهش، OPR به عنوان عامل کنترل کننده مناسبی برای تولید پلیمر معرفی شده است.

با توجه به موارد گفته شده و مشکلات مطرح شده در زمینه دفع انواع پلاستیک ها و همچنین عدم وجود اطلاعات مفید در خصوص اثر اسیدهای چرب فرار بر تولید پلیمر هنگام استفاده از کشت مخلوط،

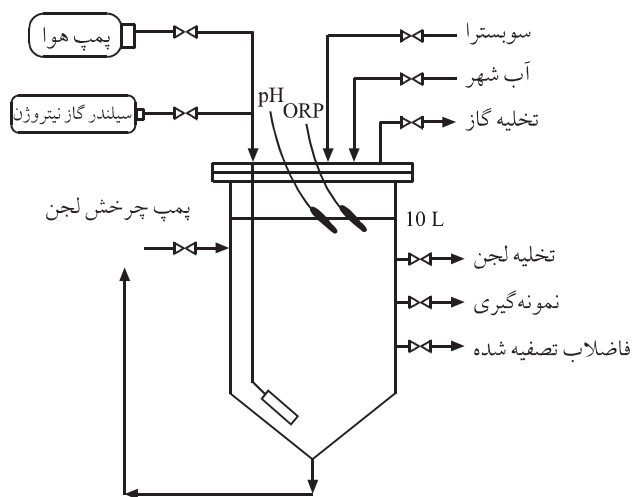
روش‌ها

به منظور خودادان میکروارگانسیم‌ها برای تولید پلیمر از سامانه راکتور ناپیوسته مرحله‌ای (sequencing batch reactor, SBR) بی‌هوازی - هوازی با حجم ۱۰ L استفاده شد. این راکتور به طور مداوم و در یک چرخه ۴ h به کار گرفته شده است. در این راکتور که طرح کلی آن در شکل ۱ نشان داده شده است، تمام مراحل به وسیله یک سامانه الکتریکی به طور دقیق کنترل شده است. در سامانه مورد نظر که در دمای ۲۵-۲۳°C به کار گرفته شد، در هر چرخه ۲۰ min زمان پرشدن مخزن و تزریق نیتروژن، ۱ h برای مرحله بی‌هوازی، ۲ h برای مرحله هوازی، ۲۰ min برای ته‌نشینی و در نهایت ۲۰ min به منظور تخلیه فاضلاب تصفیه شده پیش‌بینی شده است.

در این راکتور، زمان ماند سلولی (θ_c) با برداشت روزانه درصدی از کل لجن موجود به مدت ۱۰ روز کنترل شده است. شایان ذکر است، بذر اولیه لجن هوازی مورد نیاز به منظور راه‌اندازی سامانه، از تصفیه‌خانه فاضلاب شهرک قدس تهران و لجن بی‌هوازی از یکی از راکتورهای موجود در آزمایشگاه تأمین شده است.

در این راکتور، شدت واکنش‌های اکسایش - کاهش در مراحل هوازی و بی‌هوازی به وسیله دستگاه کنترل‌کننده ORP اندازه‌گیری و کنترل شده است. در این سامانه فاضلاب ورودی به طور مصنوعی و داخل آزمایشگاه تهیه و ۱ L از آن شامل ترکیباتی به شرح جدول ۲ بوده است.

در ادامه به منظور غنی‌سازی میکروارگانسیم‌ها از پلی هیدروکسی آلکانوات‌ها، ۱ L از لجن مازاد سامانه SBR به راکتور تولید پلیمر (polymer production reactor, PPR) منتقل و به مدت ۲۴ h هوادهی شده است. در این راکتور که طرح کلی آن در شکل ۲ آمده است، از



شکل ۱- طرح کلی راکتور ناپیوسته مرحله‌ای (SBR).

هدف اصلی در این پژوهش، بررسی اثر اسیدهای چرب فرار بر تولید PHAs با استفاده از لجن فعال معین شده است. در این پژوهش، از سدیم استات و سدیم پروپیونات به عنوان منبع تأمین بنیان اسیدهای چرب استفاده شد و اثر این دو ترکیب بر کمیت و کیفیت پلیمر ذخیره شده در درون سلول میکروارگانسیم‌ها بررسی شده است.

تجربیه

مواد

در این پژوهش، از ۳- هیدروکسی بوتیریک اسید برای اندازه‌گیری کمی ۳- هیدروکسی بوتیرات (3-hydroxy-butyrate, 3HB) و از کوپلیمر PHAs که شامل ۸۸ درصد وزنی 3HB و ۱۲ درصد وزنی ۳- هیدروکسی والرات (3-hydroxy-valerate, 3HV) بود برای اندازه‌گیری کمی 3HV استفاده شد که هر دو محصول شرکت Sigma آمریکا بودند. سدیم پروپیونات مصرفی با خلوص آزمایشگاهی و از شرکت Spectrum آمریکا تهیه شد. سایر مواد شیمیایی به کار رفته نیز با خلوص آزمایشگاهی و از شرکت Merck آلمان تهیه شدند.

دستگاه‌ها

در این پژوهش، به منظور شناسایی و اندازه‌گیری PHAs، رنگ‌نگار گازی (GC) مدل PU4410/FID ساخت شرکت Philips با ستون مویین (۱۰-BP)، قطر داخلی ۰/۲۲ mm و طول ۲۵ m به کار گرفته شده است. سایر شرایط مورد استفاده نیز به شرح جدول ۱ است. برای اندازه‌گیری اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (chemical oxygen demand, COD) از طیف‌سنج Varian مدل Conc 50 و به منظور کنترل pH از دستگاه کنترل‌کننده pH ساخت شرکت زاگ شیمی مدل CNT906 با دقت ۰/۱ واحد به طور مستقیم (on-line) استفاده شده است.

جدول ۱- شرایط انجام آزمایش در دستگاه رنگ‌نگار گازی (GC).

مقدار	پارامتر
۸	سرعت افزایش دما (°C/min)
۱۸۰	دمای تزریق (°C)
۱۵۰	حد بالای دما (°C)
۱۰۰	دمای ستون (°C)
۱	حد بالای زمان (min)
۲۰۰	دمای حس گر (°C)

به منظور تجزیه PHAs، پلیمرهای تولیدی با استفاده از متانول اسیدی به متیل استر تبدیل و پس از جداسازی فاز آلی از فاز آبی به دستگاه GC تریق شده است [۱۳]. همچنین، در این پژوهش مجموع غلظت 3HB و 3HV به عنوان غلظت PHAs مد نظر قرار گرفته است. سایر پارامترهای مورد نیاز نیز طبق روش‌های مندرج در مرجع [۱۴] مورد ارزیابی قرار گرفته است. لازم به ذکر است که در این پژوهش، تمام آزمایش‌ها حداقل سه مرتبه تکرار و نتایج با سطح اطمینان بیش از ۹۰ درصد معنی دار بوده است.

نتایج و بحث

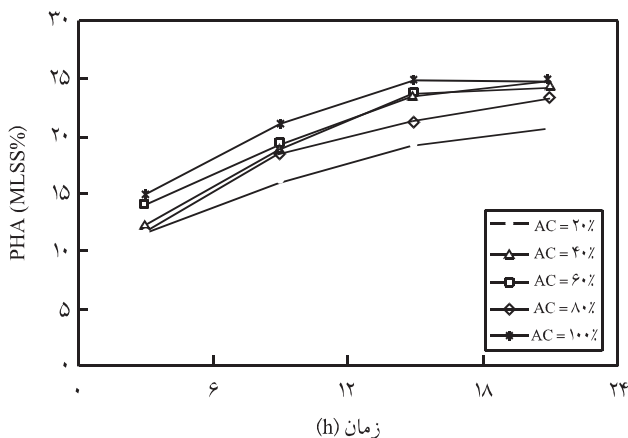
تغییر مقدار اسیدهای چرب فرار در خوراک سامانه SBR

استات و پروپیونات به ترتیب دو اسید چربی هستند که به راحتی توسط میکروارگانیسم‌ها به PHAs تبدیل می‌شوند. بنابراین، ضروری است تا اثر آنها در قابلیت لجن برای تولید پلیمر مورد بررسی قرار گرفته و بر اساس آن فاضلاب مناسب برای استفاده در سامانه SBR به منظور تطبیق لجن معین شود. با در نظر گرفتن نتایج حاصل از مطالعات قبل [۱۵] در این مرحله پنج آزمایش طراحی و با تغییر نسبت استات و پروپیونات در خوراک سامانه SBR سعی شد، تا اثر غلظت این دو نوع اسید بر لجن حاصل و در نهایت ذخیره PHAs درون سلول میکروارگانیسم‌ها در راکتور تولید پلیمر مورد بررسی قرار گیرد. درصد تولید پلیمر نسبت به وزن خشک لجن در هر یک از شرایط گفته شده در شکل ۳ با یک دیگر مقایسه شده‌اند. شایان ذکر است، در این آزمایش‌ها از سدیم استات به عنوان منبع کربن در راکتور تولید پلیمر استفاده شد. در این راکتور $1000 \text{ mg}_C/\text{L}$ از خوراک در لحظه T_0 و $500 \text{ mg}_C/\text{L}$ در زمان های T_6

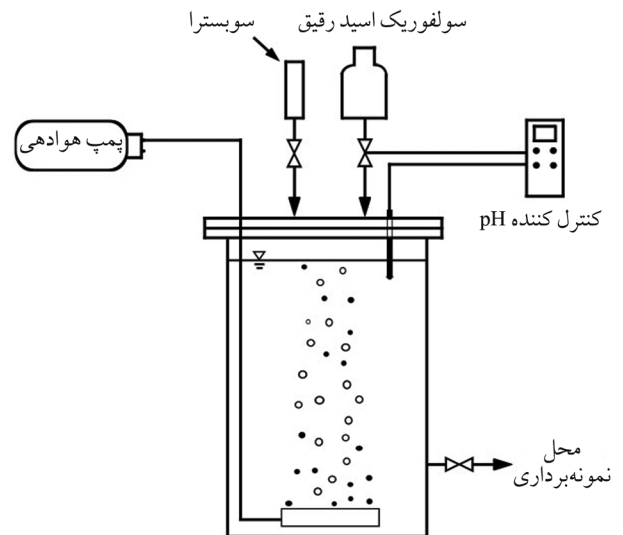
جدول ۲- مشخصات مواد مورد استفاده برای خوراک راکتور SBR.

غلظت (mg/L)	ترکیبات
۶۰	منیزیم کلرید
۴۹	آمونیم کلرید
۱۴	کلسیم کلرید
۵۹	پتاسیم کلرید
۴۴	پتاسیم مونوهیدروژن فسفات
۹۸	استیک اسید
۱۰۹	سدیم پروپیونات
۱۳	اوره
۱۱۲	ساکاروز
۸۴	پپتون (peptone)
۳۱	عصاره مخمر (yeast extract)

محلول‌های سدیم استات و سدیم پروپیونات یا مخلوطی از آنها که هر ۶h یک بار به سامانه اضافه می‌شد، به عنوان خوراک استفاده شده است. از آن‌جا که مصرف یون استات و پروپیونات در این فرایند باعث افزایش pH سامانه می‌شد، بنابراین از محلول رقیق سولفوریک اسید به منظور تثبیت pH در محدوده خنثی استفاده شده است. در این سامانه هر ۶h یک بار نمونه‌گیری انجام و پارامترهایی نظیر مقدار مواد جامد تعلیقی فرار در محلول (mixed liquor volatile suspended solids, MLVSS)، مقدار مواد جامد تعلیقی مایع در محلول (mixed liquor suspended solids, MLSS)، اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD) و PHAs اندازه‌گیری شده است.



شکل ۳- مقایسه مقدار تولید پلیمر در شرایط مختلف.



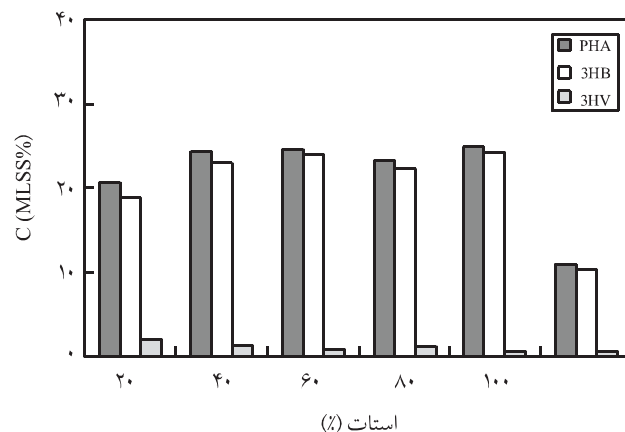
شکل ۲- طرح کلی راکتور تولید پلیمر (PPR).

می‌توان به فاضلاب صنایع غذایی، صنایع لبنی، صنایع دارویی و همچنین خروجی واحدهای هضم بی‌هوازی لجن اشاره کرد. با توجه به نتایج به دست آمده حداقل غلظت استات در خوراک سامانه SBR به مقدار ۴۰ درصد پیشنهاد می‌شود.

اثر غلظت سوبسترا در راکتور تولید پلیمر

بر اساس مطالعات انجام شده [۱۶، ۱۷] برای دست‌یابی به حداکثر مقدار تولید پلیمر، نیاز به تعیین غلظت بهینه سوبسترا در راکتور تولید پلیمر است. بنابراین، در این مرحله اثر تغییر غلظت منبع کربن (یون استات و پروپیونات) بر مقدار ذخیره PHAs در راکتور مزبور مورد بررسی قرار گرفته است.

از آنجا که غلظت منبع کربن به تنهایی نمی‌تواند بیانگر مقدار سوبسترای در دسترس میکروارگانیسم‌ها باشد، بنابراین در این آزمایش از نسبت بار آلی به توده میکروبی (organic load to biomass, OLB) استفاده شد. بدین منظور آزمایش‌هایی به شرح جدول‌های ۳ و ۴ طراحی و اثر غلظت منبع کربن بر تولید پلیمر در سطوح مختلف مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تنها عامل متغیر در آزمایش‌ها نسبت بار آلی به توده میکروبی بوده و سایر شرایط ثابت باقی مانده است. نتیجه حاصل از انجام آزمایش‌های مزبور در شکل‌های ۵ و ۶ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، بیشترین مقدار تولید PHAs در مورد استات و پروپیونات به ترتیب هنگامی اتفاق افتاده است که نسبت بار آلی به توده میکروبی در محدوده ۳۰-۳۵ و $15-20 \text{ mgC/L.h.gSS}$ (در هر یک از این محدوده‌ها اختلاف معنی‌داری بین مقدار پلیمر تولیدی در لحظه ۲۴ وجود ندارد). بنابراین، مقادیر مزبور به عنوان بهترین نسبت بار آلی به توده میکروبی برای تولید پلیمر انتخاب شده‌اند. همچنین، مقادیر مزبور با نتایج حاصل از آزمایش‌های اولیه در ارتباط با سرعت مصرف استات و پروپیونات نیز



شکل ۴- حداکثر مقدار پلیمرهای تولیدی در شرایط مختلف.

T_{12} و T_{18} به سامانه اضافه شد.

همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، حداکثر مقدار پلیمر تولیدی در شرایط مختلف به یک دیگر نزدیک است و در اغلب موارد اختلاف معنی‌داری در این خصوص وجود ندارد. در شکل ۴ حداکثر مقدار تولید پلیمر از فاضلاب فاقد اسیدهای چرب فرار (تنها از شکر به عنوان منبع کربن استفاده شد) و فاضلاب دارای درصد‌های مختلف VFAs با یک دیگر مقایسه شدند.

همان‌طور که مشاهده می‌شود، وجود اسیدهای چرب فرار در خوراک سامانه SBR باعث افزایش ۱۳۰-۹۰ درصدی مقدار پلیمر تولیدی شده است. از آنجا که در راکتور تولید پلیمر از سدیم استات به عنوان منبع کربن استفاده شده است، بنابراین، علت این امر را می‌توان با تطبیق ارگانیسم‌ها در مصرف اسیدهای چرب قبل از انتقال به راکتور تولید پلیمر مرتبط دانست. بنابراین، به منظور افزایش مقدار تولید پلیمر اضافه کردن مقداری VFAs به فاضلاب برای تطبیق لجن امری ضروری است. از بهترین منابع تأمین اسیدهای چرب فرار در صنایع

جدول ۳- شرایط مختلف انجام آزمایش با استفاده از سدیم استات به عنوان منبع کربن.

راکتور	متغیر	آزمایش ۱	آزمایش ۲	آزمایش ۳	آزمایش ۴
SBR	زمان ماند هوازی (h)	۲	۲	۲	۲
	زمان ماند سلولی (day)	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
	کربن ناشی از یون استات (%)	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰
PPR	غلظت سدیم استات (mgC/L.day)	۱۵۰۰	۲۰۰۰	۲۵۰۰	۳۰۰۰
	pH	۷-۷/۵	۷-۷/۵	۷-۷/۵	۷-۷/۵
	نسبت بار آلی به توده میکروبی (mgC/L.h.gSS)	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰

جدول ۴- شرایط مختلف انجام آزمایش با استفاده از سدیم پروپیونات به عنوان منبع کربن.

راکتور	متغیر	آزمایش ۱	آزمایش ۲	آزمایش ۳	آزمایش ۴
SBR	زمان ماند هوازی (h)	۲	۲	۲	۲
	زمان ماند سلولی (day)	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
	کربن ناشی از یون استات (%)	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰
PPR	غلظت سدیم استات (mgC/L.day)	۱۰۰۰	۱۲۰۰	۱۴۰۰	۱۶۰۰
	pH	۷-۷/۵	۷-۷/۵	۷-۷/۵	۷-۷/۵
	نسبت بار آلی به توده میکروبی (mgC/L.h.gss)	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰

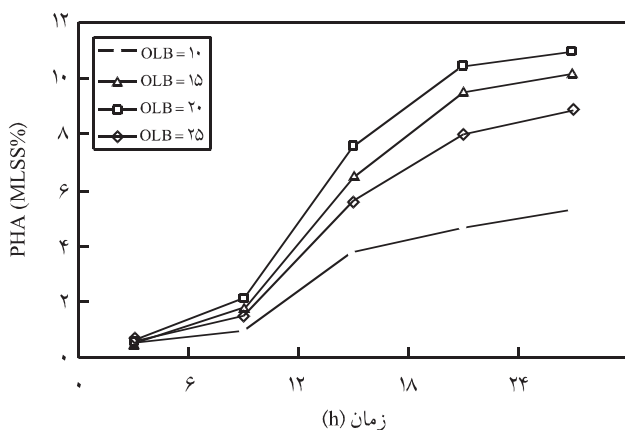
خوراک راکتور تولید پلیمر بر محصول بررسی شده است. بدین منظور، سدیم پروپیونات با نسبت‌های مختلف با سدیم استات مخلوط و به عنوان خوراک، در راکتور تولید پلیمر استفاده شده است. در این مرحله نیز پنج آزمایش مختلف به شرح جدول ۵ طراحی و اثر تغییر منبع تأمین کربن در سوبسترا در حالت‌های مختلف با یک دیگر مقایسه شده است. در این آزمایش حداکثر غلظت سدیم پروپیونات ۱۲۰۰ میلی گرم کربن در لیتر در روز (۱۵-۲۰ mgC/L.h.gss) و حداکثر غلظت سدیم استات مورد استفاده ۲۰۰۰ میلی گرم کربن در لیتر در روز (۳۰-۳۵ mgC/L.h.gss) در نظر گرفته شد. در شکل ۷ حداکثر مقدار پلیمر تولیدی و ترکیبات آن در هر یک از حالت‌های مورد مطالعه با یک دیگر مقایسه شده‌اند. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، حداکثر مقدار PHAs تولیدی مربوط به آزمایش ۱ است که در آن تنها از سدیم استات به عنوان منبع کربن استفاده شده است. پس وجود پروپیونات در منبع کربن باعث کاهش مقدار تولید PHAs می‌شود. در شکل ۸ پلیمر تولیدی در هر یک از حالت‌های مورد مطالعه با یک دیگر مقایسه شده‌اند.

تطابق کامل دارد (نتایج در این مقاله ارائه نشده است). بنابراین، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که بهترین غلظت سوبسترا در راکتور تولید پلیمر همان مقدار قابلیت لجن در مصرف کربن موجود در آن است و مقادیر بیشتر یا کمتر آن باعث کاهش مقدار PHAs تولیدی می‌شود.

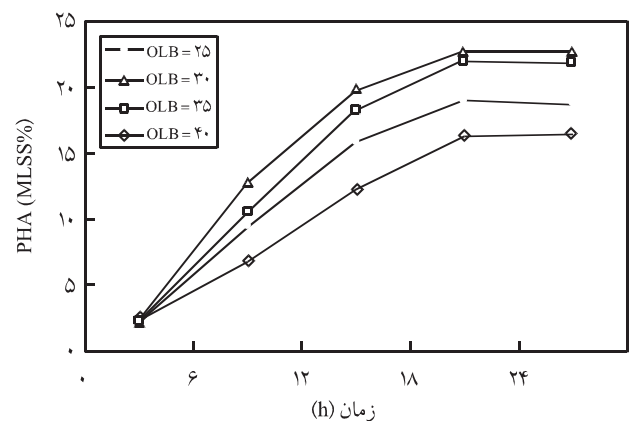
همان‌طور که از مقایسه شکل‌های ۵ و ۶ حاصل می‌شود، تغییر منبع کربن در خوراک راکتور تولید پلیمر از استات به پروپیونات باعث شده تا مقدار PHAs تولیدی نیز کاهش یابد. همچنین، در این آزمایش هنگامی که از سدیم استات به تنهایی به عنوان منبع کربن استفاده شد، مقدار 3HB بیشتر از 3HV بود، در حالی که هنگام استفاده از سدیم پروپیونات نتیجه عکس حاصل شد. به عبارت دیگر، در فرایند تولید پلیمر درصد زیادی از یون استات به 3HB تبدیل شده، اما یون پروپیونات به 3HV تبدیل می‌شود.

اثر تغییر نسبت استات به پروپیونات در خوراک راکتور تولید پلیمر

در این بخش، با در نظر گرفتن نتایج آزمایش‌های مرحله قبل اثر ترکیب



شکل ۶- اثر تغییر غلظت منبع کربن (سدیم پروپیونات) در راکتور تولید پلیمر بر مقدار پلیمر تولیدی.



شکل ۵- اثر تغییر غلظت منبع کربن (سدیم استات) در راکتور تولید پلیمر بر مقدار پلیمر تولیدی.

جدول ۵- شرایط مختلف انجام آزمایش در راکتور تولید پلیمر.

متغیر	آزمایش ۱	آزمایش ۲	آزمایش ۳	آزمایش ۴	آزمایش ۵
مقدار کربن مورد استفاده (mgC/L.day)	۲۰۰۰	۱۸۰۰	۱۶۰۰	۱۴۰۰	۱۲۰۰
کربن ناشی از سدیم استات (%)	۱۰۰	۷۵	۵۰	۲۵	۰
کربن ناشی از سدیم پروپیونات (%)	۰	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰
متوسط نسبت بارآلی به توده میکروبی (mgC/L.h.gSS)	۳۰-۳۵	۲۵-۳۰	۲۰-۲۵	۲۰-۲۳	۱۵-۲۰

همان طور که مشاهده می شود، با افزایش غلظت سدیم پروپیونات در خوراک، مقدار 3HV در محصول افزایش یافته است. در این آزمایش با افزایش غلظت سدیم پروپیونات از صفر به ۱۰۰ درصد در سوپسترا، نسبت جرمی 3HV از حدود ۶ به ۸۵ درصد افزایش یافته است. پس می توان نتیجه گرفت، استات باعث تولید کوپلیمر 3HB-3HV شده، که این موضوع با مسیر زیست سنتز PHAs با استفاده از باکتری

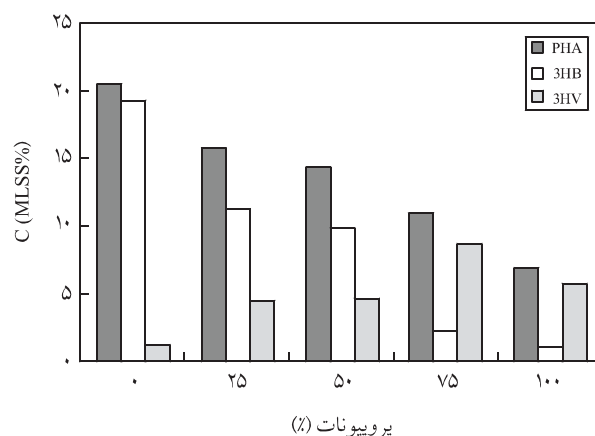
R.Eutrophar کاملاً قابل توجیه است، در این مسیر هنگامی که از استات به عنوان منبع کربن استفاده شود، ابتدا سوپسترا به Acetyl-CoA تبدیل می شود. سپس ۲ mol Acetyl-CoA مورد استفاده قرار گرفته و تبدیل به ۱ mol پلی هیدروکسی بوتیرات (PHB) می شود. در این مسیر برای تولید PHB در معرض سه واکنش آنزیمی متوالی قرار می گیرد. در این فرایند اگر از پروپیونیک اسید به تنهایی به عنوان سوپسترا استفاده شود، کوپلیمر PHB-PHV حاصل می شود. در این حالت، Acetyl-CoA با حذف کربونیل، کربن از Propionyl-CoA تشکیل می شود. سپس ۲ mol Acetyl-CoA برای تولید یک واحد HB از کوپلیمر مورد استفاده قرار می گیرد، در حالی که یک واحد HV از واکنش Acetyl-CoA و Propionyl-CoA تشکیل می شود.

یادآور می شود، بر اساس مطالعات انجام شده [۱۸] تولید پلیمر با استفاده از باکتری *R.Eutrophar* هنگامی که از پروپیونیک اسید به تنهایی به عنوان منبع کربن استفاده شد، منجر به تولید کوپلیمر 3HV-3HB با حدود ۴۰ درصد 3HV شده که تقریباً نصف مقدار به دست آمده با استفاده از لجن فعال در این پژوهش است. بنابراین، با استفاده از استات و پروپیونات در کشت خالص و همچنین لجن فعال امکان ذخیره کوپلیمر 3HB و 3HV وجود دارد، اما در لجن فعال امکان تولید این کوپلیمر با درصد بیشتری از 3HV نسبت به کشت خالص (*R.Eutrophar*) و در نتیجه خواص فیزیکی متنوع تر وجود دارد.

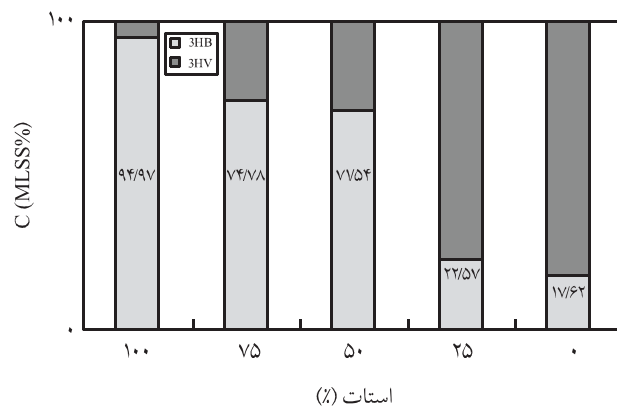
نتیجه گیری

مهم ترین نتایج حاصل از آزمایش های انجام شده در این پژوهش را می توان به شرح زیر خلاصه کرد:

- وجود مقداری اسیدهای چرب فرار در ترکیب خوراک ورودی به سامانه SBR باعث افزایش بازده تولید پلیمر می شود. همچنین، در این مورد اثر استات بیشتر از پروپیونات است، به طوری که افزایش این دو ترکیب با نسبت های مختلف به خوراک سامانه SBR



شکل ۷ - حداکثر مقدار پلیمر تولیدی با استفاده از نسبت های مختلف استات به پروپیونات به عنوان منبع کربن.



شکل ۸ - درصد مولی ترکیبات پلیمر تولیدی با استفاده از نسبت های مختلف استات به پروپیونات.

پلیمر کنترل کرد.

- تغییر ترکیبات خوراک راکتور تولید پلیمر بر کمیت و کیفیت پلیمر تولیدی مؤثر است، به طوری که در این پژوهش افزایش نسبت پروپیونات به استات باعث کاهش مقدار PHAs و همچنین افزایش نسبت 3HV به 3HB در پلیمر تولیدی شده است. در این مورد حداکثر مقدار PHAs مربوط به زمانی است که سدیم استات به تنهایی به عنوان منبع تأمین کربن استفاده شده است. همچنین، بر این اساس با افزایش مقدار پروپیونات از صفر به ۱۰۰ درصد در سوبسترا نسبت جرمی 3HV در محصول از ۶ به ۸۵ درصد افزایش نشان داده است.

مقایسه با هنگامی که فقط از ساکاروز به عنوان منبع کربن استفاده می‌شد، باعث افزایش ۹۰ تا ۱۳۰ درصدی بازده پلیمر تولیدی شده است.

- غلظت منبع کربن اضافه شده در راکتور تولید پلیمر نیز یکی از عوامل مؤثر در تولید PHAs است. برای استات و پروپیونات هنگامی که به تنهایی به عنوان منبع تأمین کربن راکتور تولید پلیمر مورد استفاده قرار گرفتند، غلظت بهینه به ترتیب در محدوده ۳۰-۳۵ و ۱۵-۲۰ mgC/L.h.gss معین شده است.

- ترکیبات کوپلیمر تولیدی و همچنین خواص فیزیکی و رفتار گرمایی آن را می‌توان با تغییر در سوبسترای مورد استفاده در راکتور تولید

مراجع

1. Plastic in Solid Waste, *Warmer Bulletin*, Special Report, No.43, 10, 1994.
2. Takabatake H., Satoh H., Mino T. and Matsuo T., Recovery of Biodegradable Plastics from Activated Sludge Process, *Water Sci. Technol.*, **42**, 351-356, 2000.
3. Lee S.Y., Bacterial Polyhydroxyalkanoates, *Biotechnol. Bioeng.*, **49**, 1-14, 1996.
4. Chua H., Yu P.H.F. and Ho L.Y., Recovery of Biodegradable Polymers from Food-processing Wastewater Activated Sludge System, *J.IES (Journal of the Institution of the Engineers)*, **37**, 9-13, 1997.
5. Kumagai Y., Enzymatic Degradation of Binary Blends of Microbial Poly(3-hydroxy butyrate) with Enzymatically Active Polymers, *Polym. Degrad. Stab.*, **37**, 253-256, 1992.
6. Pelissero A., Update on Biodegradable Plastics Materials, *Imballaggio*, **38**, 54, 1987.
7. Pfeiffer J.T., Recycling, Solid Waste Management and Engineering, Prentice Hall, New York, 1st ed., 72-84, 1992.
8. Kim B.S. and Chang H.N., Production of Poly(3-hydroxybutyrate) from Starch Azotobacter Chroococcum, *Biothechnol. Lett.*, **20**, 109-112, 1998.
9. Lee S. and Jian Y., Production of Biodegradable Thermoplastics from Municipal Sludge by a Two Stage Bioprocess, *Resources Conserv. Recycl.*, **19**, 151-164, 1997.
10. Mokhtarani N., *Determination of Effective Factors on the Production of Polyhydroxyalkanoates (PHAs) by Activated Sludge*, PhD Thesis, Tarbiat Modares University, Iran, 2005.
11. Yan S., Tyagi R.D. and Surampalli R.Y., Polyhydroxyalkanoate (PHA) Production Using Wastewater as Carbon Source and Activated Sludge as Microorganisms, *Water Sci. Technol.*, **53**, 175-180, 2006.
12. Hu W.F., Sin S.N., Chua H. and Yu H.F., Synthesis of Polyhydroxyalkanoate (PHA) from Excess Activated Sludge under Various Oxidation Reduction Potentials (ORP) by Using Acetate and Propionate as Carbon Sources, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **121**, 289-301, 2005.
13. Braunnegg G., Sonnleitner B. and Lafferty R.M., A Rapid Gas Chromatographic Method for the Determination of Poly-β-hydroxybutyric Acid in Microbial Biomass, *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **6**, 29-37, 1978.
14. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 19th ed, American Public Health Association, Washington, 1995.
15. Mokhtarani N., Ganjidust H. and Khaleghi Sarnami M., Effect of Process Variables in the Production of Polyhydroxyalkanoates (PHAs) by Activated Sludge, *Proceedings of 1st Conference of Environmental Engineering*, Tehran, Iran, 2007.
16. Lemos P.C., Viana C., Salgueiro E.N., Ramos A.M., Crespo J.P.S.G. and Reis M.A.M., Effect of Carbon Source on the Formation of Polyhydroxyalkanoates (PHAs) by a Phosphate-Accumulation Mixed Culture, *Enzyme Microbial Technol.*, **22**, 662-671, 1998.
17. Dionisi D., Majone M., Ramadori R. and Beccari M., The Storage of Acetate under Anoxic Conditions, *Water Res.*, **35**, 2661-2668, 2001.
18. Doi Y., Kunioka M., Nakamura Y. and Soga K., Biosynthesis of Copolyesters in *Alcaligenes Eutrophus* H16 from ¹³C-Lebeled Acetate and Propionate, *Macromolecules*, **20**, 2988-2991, 1987.