بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده مهندسی

گروه مهندسی شیمی

مدل سازی فرآیند متابولیکی *Pseudomonas aeruginosa* و کاربرد آن در عملکرد پیلهای سوختی میکربی

پایان نامه کارشناسی ارشد صنایع غذایی

زهرا حیدری

استاد راهنما

دکتر رضا قشلاقی

۱۳۹۱

دانشکده مهندسی

گروه مهندسی شیمی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته مهندسی شیمی (صنایع غذایی) خانم زهرا حیدری

تحت عنوان

مدل سازی فرآیند متابولیکی *Pseudomonas aeruginosa* و کاربرد آن در عملکرد پیلهای سوختی میکربی

در تاریخ ۱۳۹۱/۰۲/۲۴ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

۱- استاد راهنمای پایان نامه	دکتر رضا قشلاقی
۲- استاد داور خارجی	دکتر منصور مشرقی
۳- استاد داور داخلی	دکتر محمود اخوان مهدوی
مدیر گروه مهندسی شیمی	دکتر مهدی پورافشاری چنار

منت خدای را که خرد از بیان شأنش قاصر و قلم از توان وصفش عاجز است.

اوست که بر خلقت مکان قامت افراشت و به آیت کن فیکون آسمان و زمین را آفرید آنگاه با عشق جان را سرشت و به شاهد علم الانسان مالم یعلم به تأدیب او همت گماشت.

از آنجایی که تجلیل از معلم، سپاس از انسانی است که هدف و غایت آفرینش را تامین می کند و سلامت امانت هایی را که به دستش سپرده اند، تضمین؛ بر حسب وظیفه از استاد گرامی جناب آقای دکتر رضا قشلاقی که در تدوین این پایان نامه لحظه ای از من دریغ نکرد و زحمت راهنمایی اینجانب را بر عهده گرفتند؛

و از پدر و مادر عزیزم، این دو معلم بزرگوارم که همواره بر کوتاهی و درشتی من، قلم عفو کشیده و کریمانه از کنار غفلت هایم گذشته اند و در تمام عرصه های زندگی یار و یاوری بی چشم داشت برای من بوده اند؛ نهایت تشکر و قدردانی را دارم.

اینجانب زهرا حیدری دوره کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی، دانشگاه فردوسی مشهد، نویسنده پایان نامه: مدل سازی فرآیند متابولیکی *Pseudomonas aeruginosa* و کاربرد آن در عملکرد پیلهای سوختی میکربی، تحت راهنمایی آقای دکتر رضا قشلاقی متعهد می شوم:

- **تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.**
- **در استفاده از نتایج محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.**
- **مطالب مندرج درپایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.**
- **کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می باشد و مقالات مستخرج با نام دانشگاه فردوسی مشهد ویا Ferdowsi University of Mashhad به چاپ خواهد رسید.**
- **حقوق معنوی تمام افرادی که در بدست آوردن نتایج اصلی پایان نامه تاثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت شده است.**
- **در کلیه مراحل این پایان نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافت های آنها) استفاده شده ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.**
- **در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است، اصل رازداری و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.**

مالکیت نتایج و حق نشر

- **کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر گردد.**
- **استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.**

تاریخ

امضای دانشجو

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگی

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امید بخش وجودشان که در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است

به پاس قلب های بزرگشان که فریادرس است و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می گراید

و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند

این مجموعه را به پدر و مادر عزیزم تقدیم می کنم.

فهرست مطالب

عنوان **شماره صفحه**

فهرست مطالب ..... ح
فهرست شکل ها ..... ک
فهرست جداول ..... ل
چکیده ۱
فصل اول : مقدمه ۲
۱-۱- هدف پروژه ۲
۱-۲- روند انجام پروژه ۲
۱-۳- ساختار شبکه های متابولیکی ۳
۱-۴- بهینه سازی و تایید مدل ۳
۱-۵- پیشنهاد ۴
فصل دوم :کاوش نشریات ۵
۲-۱- مقدمه ۵
۲-۲- پیل های سوختی میکروبی ۵
۲-۲-۱- پیشینه ۵
۲-۲-۲- مزایای پیل های سوختی میکروبی ۶
۲-۲-۳- نحوه ی عملکرد پیل های سوختی میکروبی ۷
۲-۲-۴- عوامل موثر روی بازده ی MFC ها ۹
۲-۳- سودوموناس ها ۱۰
۲-۳-۱- سودوموناس آئروجینوزا ۱۰
۲-۳-۲- منابع محیطی سودوموناس ائروجینوزا ۱۱
۲-۳-۴- شرایط کشت ۱۱
۲-۳-۵- پیگمان پایوسیانین ۱۲
۲-۳-۶- متابولیسم ۱۲

۲-۴- مروری بر مسیر های شبکه ی متابولیکی ۱۳
۲-۴-۱- گلایکولیز ۱۳
۲-۴-۲- مسیر پنتوز- فسفات ۱۴
۲-۴-۳- مسیرانتنردودورف ۱۵
۲-۴-۴- چرخه ی تری کربوکسیلیک اسید (TCA) ۱۶
۲-۴-۵- مسیر گلی اکسیلات ۱۸
۲-۴-۶- واکنش های تولید پایوسیانین ۱۸
۲-۵- آنالیز شار متابولیکی ۱۸
فصل سوم: مواد و روش ها ۲۰
۳-۱- مقدمه ۲۰
۳-۲- آنالیز شار متابولیکی و مدل سازی استوکیومتری ۲۰
۳-۲-۱- موازنه ی عنصری ۲۱
۳-۲-۲- موازنه ی مواد ۲۲
۳-۲-۳- برنامه نویسی خطی ۲۵
۳-۲-۴- آنالیز حساسیت ۲۶
۳-۲-۵- شبیه سازی با استفاده از نرم افزار ۲۷
۳-۲-۶- تابع هدف ۲۷
۳-۳- داده های آزمایشگاهی ۲۸
۳-۴- مروری بر فرمول های الکتروشیمیایی ۲۸
فصل چهارم: نتایج و بحث ۳۰
۴-۱- بازسازی شبکه ی متابولیکی ۳۰
۴-۱-۱- جمع آوری داده ها از منابع اطلاعاتی ۳۰
۴-۱-۲- اصلاح شبکه ۳۱
۴-۱-۳- مسیر های متابولیکی اصلی در تولید PCN توسط *P.aeruginosa* ۳۳
گلایکولیز ۳۳

مسیر انتنردودورف ۳۳
واکنش های تشکیل PCN ۳۶
فرمول تشکیل زیست توده (تابع زیست توده)..... ۳۶
۴-۲- تبدیل شبکه متابولیکی به یک مدل محاسباتی..... ۳۸
۴-۳- اعتبارسنجی مدل..... ۳۸
۴-۳-۱- دلایل پیش بینی متفاوت مدل..... ۴۲
۴-۳-۲- بررسی اثر فرمول تشکیل زیست توده ۴۲
۴-۳-۳- پیش بینی تولید کوفاکتورها ۴۳
۴-۴- مدل سازی تولید PCN..... ۴۴
۴-۴-۱- هدف از مدل سازی ۴۴
۴-۴-۲- پیش بینی تولید PCN در پیل های سوختی میکروبی..... ۴۵
۴-۴-۳- دلایل اختلاف پیش بینی مدل و داده های آزمایشی در تولید PCN..... ۴۹
۴-۵- تولید جریان الکتریکی در یک MFC نمونه..... ۵۰
۴-۶- آنالیز حساسیت..... ۵۲
۴-۶-۱- آنالیز حساسیت در تولید PCN ۵۲
۴-۶-۲- آنالیز حساسیت دیگر مواد ۵۲
فصل پنجم: جمع بندی و پیشنهادات..... ۵۴
۵-۱- جمع بندی..... ۵۴
۵-۲- پیشنهادات ۵۴
منابع ۵۷
پیوست ۱- علائم اختصاری به کار رفته برای واکنش دهنده ها..... ۶۳
پیوست ۲-و اکنش ها ۶۵
پیوست ۳- جداول و نمودارهای استناد شده در متن..... ۶۸
پیوست ۴- توزیع شارها در بیشینه سازی کوفاکتورها..... ۷۱

فهرست شکل ها

شکل ۲- ۱: شمای ساده ای از یک پیل سوختی میکروبی و مکانیزم های مختلف انتقال الکترون ۷
شکل ۲- ۲: شمایی از واکنش های مسیر گلایکولیز. ۱۴
شکل ۲- ۳: شماتیک مسیر پنتوز فسفات. ۱۵
شکل ۲- ۴: شماتیک مسیر انتنردودورف. ۱۶
شکل ۲- ۵: شماتیک واکنش های چرخه ی تری کربوکسیلیک اسید. ۱۷
شکل ۳- ۱: موازنه ی جرم در حالت پایدار برای یک شبکه متابولیکی فرضی..... ۲۴
شکل ۴- ۱: مسیر گلایکولیز نشان داده شده در پایگاه اطلاعاتی KEGG، ژن متناظر با آنزیم هایی با پس زمینه ی خاکستری در ژنوم *P.aeruginosa* کشف شده است. ۳۲
شکل ۴- ۲: شمای کلی مسیر متابولیکی سودوموناس ائروجینوزا در شرایط بی هوازی و گلوکز به عنوان خوراک. ۳۵
شکل ۴- ۳: شماتیک مسیر بیوسنتز PCN در میکروارگانیسم *P.aeruginosa*..... ۳۷
شکل ۴- ۴- شمای کلی از توزیع فلاکس در بیشینه سازی سرعت رشد مخصوص *سودوموناس ائروجینوزا*..... ۴۱
شکل ۴- ۵: توزیع فلاکس برای بیشینه تولید NADH ($9\ mol/mol_{Glc}$) در شراط بی هوازی میباشد. ۴۵
شکل ۴- ۶: شماتیک توزیع فلاکس ها در بیشینه سازی میزان PCN تولیدی به منظور افزایش بازده ی پیل سوختی..... ۴۷
شکل ۴- ۷: پیش بینی مدل برای تولید جریان الکتریکی در یک پیل سوختی..... ۵۱
شکل ۴- ۸: پیش بینی مدل برای انرژی خروجی تولیدی در یک پیل سوختی..... ۵۲
شکل ۴- ۹: مقادیر حاشیه ای در برابر تولید مواد مختلف در برنامه ی بیشینه سازی تولید PCN..... ۵۳
شکل ۵- ۱: شکل شماتیکی توزیع فلاکس در شبکه ی متابولیکی *P.aeruginosa* اصلاح شده..... ۵۶

فهرست جداول

جدول ۴-۱- مقایسه ی نرخ رشد مخصوص مدل با داده های آزمایشگاهی.....۳۹
جدول ۴-۲- میزان زیست توده تولیدی و درصد خطای ایجاد شده با ۱۰٪ تغییر در هریک از ضرایب مواد حاضر در فرمول تشکیل زیست توده جداگانه، مقدار زیست توده بدون تغییر ضرایب $۰/۴۹۵\ hr^{-1}$ می باشد. ۴۳
جدول ۴- ۳- بیشینه مقدار تولید کوفاکتورها با ورودی ۱ مول گلوکز به عنوان خوراک در شرایط بی هوازی..۴۴
جدول ۴- ۴- پیش بینی مدل برای تولید PCN، توان خروجی و جریان تولید شده به عنوان تابعی از درصد خوراک مصرفی. غلظت PCN ، جریان تولیدی و توان خروجی براساس داده های آزمایشی به ترتیب معادل $۰/۰۰۰۲۹ mol\ lit^{-1}$، ۰/۰۱۹ mA. و $۳۷\ \mu W\ m^{-2}$ بوده است [۷۵]. ۴۶
جدول ۴- ۵- نتایج آزمایشی میزان توان خروجی، جریان تولید شده و غلظت PCN تولیدی در یک MFC با الکترود صفحه ای شکل [۷۵].....۴۸
جدول ۴-۶- پیش بینی مدل برای بیشینه تولید PCN، توان خروجی و جریان در پیل سوختی میکروبی با الکترود صفحه ای شکل و مقایسه ی نتایج با داده های آزمایشگاهی [۷۵]. ۴۸
جدول ۴- ۷- داده های آزمایشی [۷۷] و پیش بینی مدل برای بیشینه تولید جریان و PCN. ۴۹

چکیده

در این مطالعه مدل سازی شبکه متابولیکی میکروارگانیسم *سودوموناس ائروجینوزا* به منظور تولید پیگمان پایوسیانین انجام شد. این پیگمان حامل الکترون بوده و انتقال الکترون از سلول به پذیرنده الکترون را سهولت می بخشد. علاوه بر این علت دیگری که منجر به انتخاب میکروارگانیسم *سودوموناس ائروجینوزا* شد امکان فعالیت این میکروارگانیسم در شرایط بی هوازی است که شرایط حاکم بر پیل های سوختی میکروبی می باشد. پیل‌های سوختی میکروبی از جمله پیل‌های الکتروبیوشیمیایی هستند که با استفاده از فعالیت متابولیکی میکروارگانیسم‌های بی هوازی تولید الکتریسیته می کنند. در این پیل ها می توان از فاضلاب به عنوان خوراک ورودی استفاده کرد و ضمن تصفیه آن الکتریسیته نیز تولید نمود؛ این مزیت اصلی پیل های سوختی میکروبی است. افزایش توان تولیدی این پیل‌ها، همواره یکی از اهداف اصلی محققان بوده است. آنالیز شارهای متابولیکی که برپایه ی واکنش های موجود در سیستم عمل می کند؛ ابزار بسیار مناسبی برای به دست آوردن میزان شارهای نامعلوم موجود در سیستم است علاوه براین با استفاده از این آنالیز می توان نقاط حساس در تولید محصول مورد نظر را شناسایی و بررسی کرد. پس با مدل سازی شبکه متابولیکی میکروارگانیسم *سوموناس ائروجینوزا* و بهینه سازی تولید پایوسیانین (به عنوان حامل الکترون) می توان انتظار داشت که الکترون بیشتری به آند انتقال یافته و در نتیجه بازده این پیل ها افزایش یابد. به دلیل اینکه شبکه ی متابولیکی این میکروارگانیسم در شرایط بی هوازی به صورت مدون در دسترس نبود، با بررسی منابع مختلف این شبکه تدوین شد که شامل ۶۱ متابولیت و ۱۰۰ واکنش مربوط به آن ها می باشد. سپس از آنالیز شار متابولیکی و برنامه ریزی خطی جهت بهینه سازی تابع هدف مورد نظر کمک گرفته شد و نتایج پیش بینی شده توسط مدل با نتایج آزمایشگاهی ارایه شده توسط دیگران مقایسه گردید. وجود خطای کم در پیش بینی مقدار نرخ رشد ویژه میکروارگانیسم نشان دهنده‌ی دقت مناسب مدل ارائه شده در این مطالعه می‌باشد. میزان تولید بیشینه پایوسیانین و توزیع شار متابولیکی متناظر با این بیشینه سازی توسط مدل برآورد شد. بر طبق پیش بینی های مدل، این میکروارگانیسم توانایی تولید بیشتر پایوسیانین (۵۵٪ افزایش تولید پایوسیانین) تحت شرایط مناسب را داراست. این نتایج می تواند برای اصلاحات ژنتیکی این میکروارگانیسم در جهت افزایش تولید این حامل الکترونی مورد استفاده قرار گیرد و افزایش بازده ی چشمگیر پیل های سوختی میکروبی را به همراه داشته باشد. با توجه به تایید مدل توسط داده های آزمایشی و قابل اعتماد بودن مدل امکان کاربرد آن در تحقیقات آتی فراهم شده است.

واژه‌های کلیدی:

سودوموناس ائروجینوزا، مدل سازی، آنالیز متابولیکی شار، پایوسیانین، پیل سوختی میکروبی.

فصل اول : مقدمه

۱-۱- هدف پروژه

پیل های سوختی میکروبی[1] پیل هایی هستند که با استفاده از فعالیت کاتالیستی میکروارگانیسم های بی هوازی جریان الکتریکی تولید می کنند. علیرغم تحقیقات فراوانی که در سالهای گذشته انجام گرفته است هنوز جریان الکتریکی تولید شده توسط این پیل ها درخور توجه نیست. در راستای افزایش بازده ی MFC ها تحقیقات زیادی انجام گرفته شده است؛ یک دسته از این تحقیقات مربوط به بهینه کردن ساختمان پیل سوختی یا جنس و نوع الکترود ها است، دسته ی دیگر تغییر در نوع خوراک ورودی به سیستم، نوع میکروارگانیسم و یا حتی شرایط محیطی می باشد. در این تحقیق افزایش بازده از طریق افزایش الکترون انتقالی مورد مطالعه قرار گرفته است. میکروارگانیسم *سودوموناس ائروجینوزا*[2] یکی از میکروارگانیسم هایی است که در MFC ها استفاده می شود. مزیت مهم این میکروارگانیسم داشتن پیگمان پایوسیانین[3] است که عامل اصلی انتقال الکترون از سلول به الکترود آند می باشد. اگر به روشی بتوان میزان تولید این پیگمان را افزایش داد می توان انتظار داشت که میزان الکترون انتقالی به الکترود آند نیز افزایش یابد و بدین وسیله بازده ی MFC ها بیشتر شوند؛ این نظریه برای اولین بار در این تحقیق مطرح شده است.

۱-۲- روند انجام پروژه

برای نخستین بار تصمیم بر آن شد تا برای افزایش بازده ی MFC ها، ارتباطی بین روش آنالیز شار متابولیکی[4] و عملکرد MFC برقرار شود. MFA روشی است که در آن با استفاده از واکنش های موجود در شبکه ی متابولیکی میکروارگانیسم مورد بحث و استوکیومتری شبکه، میزان شار تک تک واکنش های حاضر در شبکه پیش بینی می شود. پس برای افزایش تولید PCN با استفاده از روش MFA لازم است تا ابتدا شبکه

---

[1] Microbial Fuel Cells (MFCs)
[2] *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*)
[3] Pyocyanin (PCN)
[4] Metabolic Flux Analysis (MFA)

ی متابولیکی میکروارگانیسم *P.aeruginosa* در شرایط بی هوازی که شرایط حاکم در MFC ها می باشد، به دست بیاید. تا آنالیز های بعدی بر اساس واکنش های موجود در این شبکه انجام بگیرد.

۱-۳- ساختار شبکه های متابولیکی

اساس کار آنالیز شار متابولیکی روی شبکه های متابولیکی میکراورگانیسم مربوطه قرار دارد. صحت حضور متابولیت ها و واکنش ها در این شبکه از اهمیت ویژه ای برخوردار است چرا که تمام آنالیز های بعدی بر پایه ی این واکنش ها انجام می گیرد. با کاوش نشریات و بررسی مقالات متعدد مسیرهای اصلی موجود در متابولیسم *P.aeruginosa* که در شرایط بی هوازی فعال هستند جمع آوری و شبکه ی واکنش های مربوطه توسعه داده شد. این واکنش ها شامل مسیر گلایکولیز[۱]، پنتوز فسفات[۲]، انتنردودورف[۳]، قسمتی از واکنش های مربوط به چرخه ی تری کربوکسیلیک اسید[۴]، واکنش های گلی اکسیلات[۵] و واکنش های مربوط به تولید پایوسیانین می باشند. مسیر متابولیکی پیش بینی شده شامل تعداد زیادی واکنش می باشد. کار با این تعداد واکنش بسیار پیچیده و سخت است پس به منظور ساده سازی، با تعدادی فرضیات بدون لطمه زدن به اطلاعات اصلی، شبکه ی به دست آمده ساده سازی شده است (به عنوان مثال حذف واکنش های غیرمرتبط با تولید محصول مورد نظر، یکی کردن واکنش های پشت سرهم با در نظر گرفتن شاخه های انشعابی و یا کوفاکتورهای تولید یا مصرف شده و ...).

۱-۴- بهینه سازی و تایید مدل

بعد از به دست آمدن شبکه ی متابولیکی مورد نظر با استفاده از لیست واکنش های به دست آمده، مدل سازی با اعمال فرض حالت پایدار روی سیستم انجام گرفت. از آنجا که تعداد واکنش هایی که شار آن ها نامعلوم است از تعداد متابولیت ها بیشتر است، پس درجه آزادی سیستم بزرگ تر از صفر می باشد. حل چنین شبکه ای از معادلات تنها با تعریف یک تابع هدف مناسب و بدست آوردن جواب بهینه امکان پذیر است. در این تحقیق از نرم افزار LINGO به عنوان ابزاری برای رسیدن به این هدف استفاده شده است.

برای تایید مدل به دست آمده لازم است تا نتایج پیش بینی شده توسط مدل با نتایج واقعی مقایسه شوند. در این تحقیق به دلیل عدم انجام کار آزمایشگاهی از نتایج آزمایشی دیگر محققان که در نشریات موجود بود استفاده شده است. مقایسه ی داده های آزمایشی با نتایج پیش بینی شده توسط مدل نشان داد که پیش

---

[1] Glyoxylate shunt
[2] Pentose-phosphate (PP) shunt
[3] Entner-Doudoroff Pathway
[4] Tricarboxylic acid cycle (TCA)
[5] Glycolysis

بینی مدل با درصد خطای بسیار کمی با نتایج آزمایشگاهی برابری می کند، این موضوع قابل اعتماد بودن مدل را تایید می کند پس می توان از آن برای بررسی های بیشتر استفاده کرد.

۱-۵- پیشنهاد

یکی از کاربرد های اصلاح ژنتیکی، تغییر در سطوح مختلف آنزیم های واکنش است، یعنی تغییر از حالت فعال به غیر فعال (یا به عکس) یا نیمه فعال کردن آن ها. بررسی های بیشتری جهت شناسایی مسیرهای متابولیکی که فعال بودن یا نبودن آنها موجب افزایش تولید PCN می شوند لازم است. می توان به جای انجام آزمایشات پرهزینه و زمان‌بر، از مدل توسعه یافته در این تحقیق به منظور پیش بینی نتایج استفاده کرد.

فصل دوم :کاوش نشریات

۲-۱- مقدمه

این فصل شامل مروری بر پیشینه ی علمی و تاریخی در مورد پیل های سوختی میکروبی و هم چنین میکروارگانیسم *P.aeruginosa* می باشد، به طوری که یک دید کلی از طرز کار این پیل ها و خصوصیات *سودوموناس ائروجینوزا* را ارایه می دهد. هم چنین مسیرهای متابولیکی اصلی که این میکروارگانیسم در شرایط بی هوازی طی می کند نیز معرفی شده اند.

۲-۲- پیل های سوختی میکروبی

۲-۲-۱- پیشینه

برای مدت زمان طولانی پیشرفت های مهم صنعتی و اقتصادی جهان با به کارگیری سوخت های فسیلی همراه بوده است، اما واضح است که مواد نفتی تا زمانی بیش از صد سال آینده باقی نخواهند ماند و مهم تر اینکه تا حدود ۱۰ یا ۲۰ سال آینده میزان تقاضای سوخت بیشتر از عرضه خواهد بود [۱]. با توجه به این واقعیت، مصرف کننده هایی که برنامه ریزی بلند مدت برای مصرف انرژی ندارند دچار مشکل خواهند شد، پس لازم است تا برنامه ریزی دقیقی برای بهینه سازی و چگونگی مصرف انرژی و منابع مورد استفاده ی آن وجود داشته باشد. علاوه بر مشکل کمبود این منابع، مسئله زیست محیطی نیز نگران کننده است چرا که استفاده از سوخت های فسیلی باعث آزاد سازی دی اکسید کربن می شود که خطر افزایش گازهای گلخانه ای را به همراه دارد [۲]. بنا به این دلیل مهم ترین مسئله برای برنامه ریزی مصرف انرژی، استفاده از انرژی های نو یا انرژی های سبز همچون انرژی خورشیدی (مانند آب گرمکن های خورشیدی)، باد و آب (مانند توربین ها) و انواع پیل های سوختی از جمله پیل سوختی پلیمری، هیدروژنی، کربنی و میکروبی می باشد [۳]. این دسته از انرژی ها علاوه بر این که باعث تخریب محیط زیست نمی شوند، جزء انرژی های تجدید پذیر بوده و نگرانی که نسبت به اتمام سوخت های فسیلی وجود دارد در این دسته از سوخت ها دیده نمی شود.

پیل های سوختی میکروبی یکی از مهم ترین انواع سیستم های الکتروشیمیایی بیولوژیکی[1] هستند که با استفاده از فعالیت متابولیکی میکروارگانیسم، از مواد آلی و معدنی تولید الکتریسیته می کنند [۴-۷]. انتظار می رود که این پیل ها در زمان کمبود انرژی های فسیلی به عنوان یک منبع بسیار خوب برای پاسخگویی به نیاز انرژی به کار بیایند. این نوع پیل ها می توانند از فاضلاب به عنوان سابستریت استفاده کرده و علاوه بر تولید الکتریسیته، فاضلاب را تصفیه کنند که این امر به کاهش هزینه های تصفیه ی فاضلاب های صنعتی و یا شهری کمک بسزایی می کند [۴-۵, ۸]. استفاده از این پیل ها پدیده ی جدیدی نیست و به حدود صد سال پیش باز می گردد [۹]. برای نخستین بار Potter در سال ۱۹۱۱ استفاده از باکتری به منظور تولید جریان الکتریکی را گزارش کرد [۱۰] اما در طی ۵۵ سال بعد از آن پیشرفت چشمگیری در این زمینه به دست نیامد [۱۱]. حدود سال های ۱۹۷۰ باز هم پیل های سوختی میکروبی مورد توجه قرار گرفتند و استفاده از میکروارگانیسم ها به عنوان کاتالیزور در پیل های سوختی پیشنهاد شد [۲, ۱۲]. در سال ۱۹۹۱ بود که پیل های سوختی میکروبی به منظور تصفیه ی فاضلاب استفاده شدند [۱۳] اما استفاده از پیل های سوختی ای که انرژی خروجی درخور توجهی تولید می کنند به تازگی رواج یافته است [۱۴].

۲-۲-۲- مزایای پیل های سوختی میکروبی

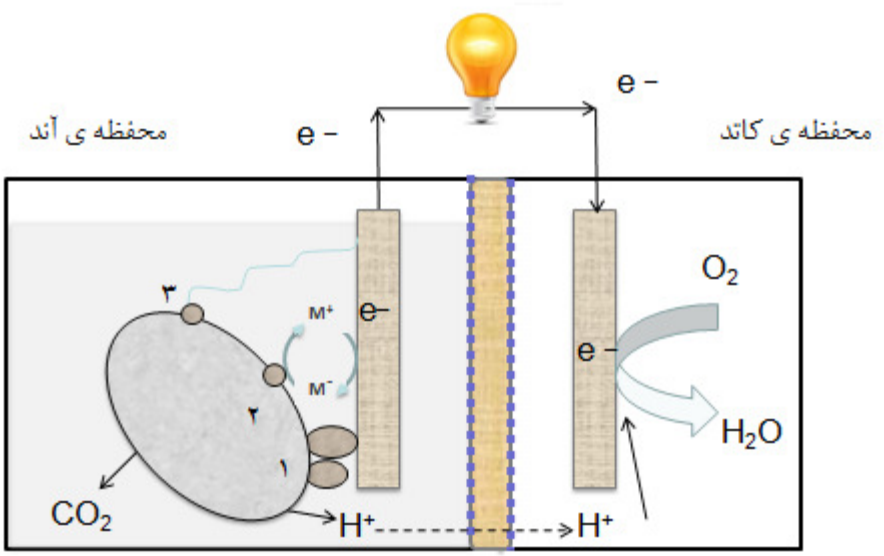
میزان جریان الکتریکی تولید شده توسط MFC ها در مقایسه با ژنراتورهای تولید برق بسیار کم‌تر است اما مزیت مهمی که این پیل ها را همواره در معرض توجه قرار می‌دهد همراه شدن تولید برق و تصفیه ی فاضلاب است [۱۵]. نکته ی قابل توجه دیگری که باعث تمایز MFC ها و دیگر پیل ها می شود این است که MFC ها می توانند از فاضلاب های بسیار رقیق به عنوان خوراک استفاده کنند، فاضلاب هایی که نمی توان از آن ها به عنوان خوراک در دیگر سیستم های تولید انرژی استفاده کرد، می توانند در این پیل ها به عنوان منبع انرژی به کار روند [۱۶]. از دیگر مزایای آن ها می توان به موارد زیر اشاره نمود[۱۴]:

- بالا بودن بازده ی آن به دلیل تبدیل مستقیم خوراک به انرژی.
- شرایط عملیاتی ایمن و پایین بودن دمای عملیاتی (دمای اتاق و حتی دماهای کم تر).
- عدم نیاز به انتقال گازهای خروجی، زیرا گازهای خروجی به صورت دی اکسید کربن به فضا وارد می شوند.
- کاهش هزینه ها به علت عدم نیاز به هوادهی در محفظه ی آند.

[1] Bioelectrochemical Systems (BES)

۲-۲-۳- نحوه ی عملکرد پیل های سوختی میکروبی

نمای ساده ای از یک پیل سوختی میکروبی در شکل ۲-۱ نشان داده شده است که شامل محفظه ی آند و کاتد می باشد و به وسیله ی یک غشا تبادلگر پروتون[1] یا پل نمکی از هم جدا شده اند. میکروارگانیسم به کار رفته در این نوع پیل ها ماده ی آلی یا معدنی را که به عنوان خوراک به آن داده می شود مصرف (اکسید) کرده و با گذر از واکنش های درون سلولی، انرژی به فرم ATP را تولید می کند.



شکل ۲- ۱: شمای ساده ای از یک پیل سوختی میکروبی و مکانیزم های مختلف انتقال الکترون: ۱) انتقال الکترون توسط برآمدگی های سطحی، ۲) انتقال الکترون با استفاده از یک واسطه، ۳) انتقال الکترون با استفاده از رشته های نانو

در طی این واکنش ها الکترون نیز تولید می شود. الکترون های تولید شده به وسیله ی باکتری بایستی به روشی به الکترود آند (پایانه ی منفی) انتقال یابند (که در ادامه بیشتر به توضیح آن پرداخته شده است) و سپس با گذر از یک مقاومت خارجی به الکترود کاتد (پایانه ی مثبت) برسند. الکترون هایی که به محفظه ی کاتدی رسیده اند با هیدروژنی که در آند تولید شده و از طریق غشا تبادلگر یونی به محفظه ی کاتد رسیده است و با اکسیژنی که در محفظه ی کاتد در اختیار آن قرار داده شده است ترکیب شده و تولید آب می کنند. تجهیزات باید طوری باشند که خوراک اکسید شده در آند، به طور مداوم و یا متناوب، قابل جایگزینی باشد [۲-۳, ۱۴]. الکترون تولید شده توسط میکروارگانیسم تمایل دارد به پایانه ی پذیرنده ی الکترون[2] برسد. مواد زیادی به عنوان TEA می توانند به کار روند، اکسیژن، نیترات و یا سولفات از این دسته مواد هستند (به

[1] Proton exchange membrane (PEM)
[2] Terminal electron acceptor (TEA)

عنوان مثال اکسیژن با پذیرفتن الکترون به فرم آب کاهیده می شود). اما نکته ی بسیار مهم این است که تولید الکتریسیته در صورتی ممکن است که اکسیژن یا هر TEA دیگری، در محفظه ی آند در اختیار میکروب قرار نگیرد زیرا در غیر این صورت به جای اینکه الکترون ها به الکترود آند بروند و از آن جا به مقاومت برسند و تولید برق کنند، به پذیرنده ی الکترون داده خواهند شد و در نتیجه برقی تولید نخواهد شد.

انواع روش های انتقال الکترون از میکروارگانیسم به الکترود آند

گفته شد لازم است تا الکترون از میکروارگانیسم گرفته شود و به الکترود آند انتقال داده شود. برای این انتقال، سه روش وجود دارد که بسته به نوع میکروارگانیسم مورد استفاده، متفاوت است.

اولین روش استفاده از حامل های شیمیایی[۱] یا شاتل های الکترونی[۲] است. این حامل ها دو نوع هستند، نوع اول موادی هستند که از بیرون به سیستم اضافه می شوند و به حامل های بیرونی[۳] معروفند. میکروارگانیسم هایی مانند *اشرشیاکلی*[۴] و *باسیلوس کلی*[۵] که به صورت ذاتی توانایی انتقال الکترون به آند را ندارند، از این حامل ها استفاده می کنند. از جمله این مواد می‌توان به قرمز خنثی[۶]، پتاسیم فری سیانید[۷] و تیونین[۸] اشاره کرد. این مواد با پذیرفتن الکترون، کاهیده شده و سپس با دادن الکترون به الکترود آند به فرم اکسایش یافته ی خود بر میگردند و باز هم آماده ی پذیرش الکترون می شوند. یک حامل شیمیایی خوب بایستی دارای چنین مشخصاتی باشد: ۱) به آسانی بتواند از دیواره ی غشایی سلول عبور کند؛ ۲) توانایی قابل توجهی برای گرفتن الکترون از سلول داشته باشد؛ ۳) سمی نبوده و باعث تخریب میکروارگانیسم نشود؛ ۴) ارزان و در دسترس باشد.

نوع دوم از این دسته حامل هایی هستند که توسط خود میکروارگانیسم به صورت ذاتی تولید می شوند مانند میکروارگانیسم *P.aeruginosa* که برای انتقال الکترون، تولید پیگمان PCN می کند[۳, ۱۶-۱۸]. این نوع حامل ها می توانند تشکیل یک بایوفیلم روی الکترود آند بدهند و از این طریق مستقیماً الکترون ها را از غشا سلولی به آند منتقل کنند. این روش انتقال الکترون ها (نوع دوم) که در سال ۱۹۹۹ کشف شده است دستاورد بسیار بزرگی در کار MFC ها به شمار می رود چرا که نیازی به اضافه کردن حامل ها به سیستم نیست و این مسئله هزینه های فرآیندی را تا حد زیادی کاهش داده و استفاده از MFC ها را توجیه پذیرتر می کند [۱۹-۲۰].

---

[1] Chemical mediators
[2] Electron shuttles
[3] Exogenous Mediators
[4] *Echerichia coli*
[5] *Bacillus coli*
[6] Neutral red
[7] Potassium Ferricyanide
[8] Thionin