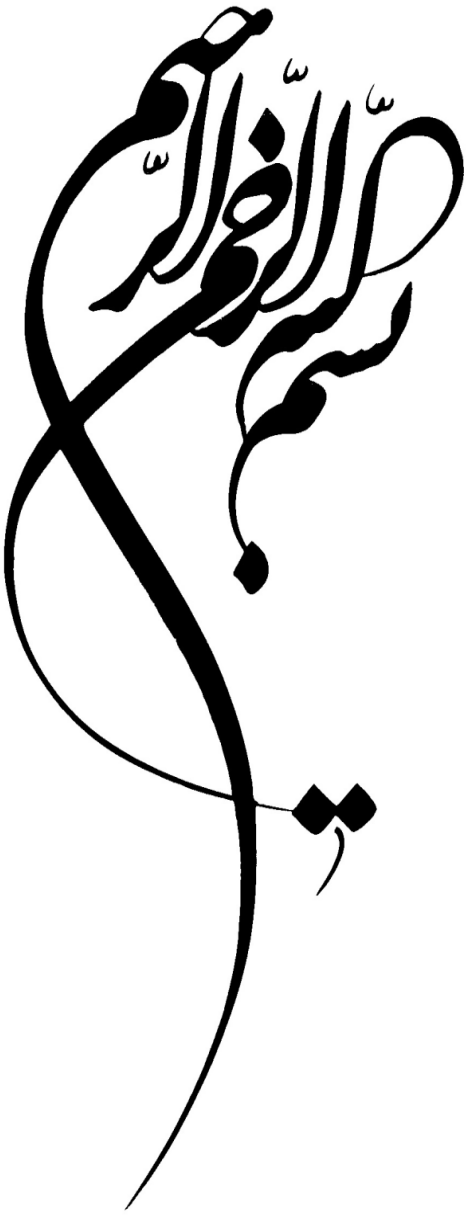

بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده منابع طبیعی

گروه محیطزیست

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته مهندسی منابع طبیعی گرایش آلودگی محیطزیست

عنوان:

تولید بیوپلیمر پلی‌هیدروکسی‌بوتیرات و والرات ازپساب برنج با استفاده از باکتری *Azohydromonas lata*

نگارنده:

سمیرا سبحانی

استاد راهنما:

دکتر حبیب ا... یونسی

استاد مشاور:

دکتر نادر بهرامی‌فر

زمستان ۱۳۹۱

تأییدیه اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیئت داوران نسخه نهائی پایان نامه **خانم سمیرا سبحانی** دانشجوی رشته **محیط زیست** ،**تحت عنوان: : تولید بیو پلیمر پلی هیدروکسی بوتیرات ووالرات از پساب برنج با استفاده از باکتری** *Azohydromonas lata*،را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و پذیرش آن را برای تکمیل درجه کارشناسی‌ارشد پیشنهاد می‌کنند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضا
۱- استاد راهنما	دکترحبیب ا... یونسی	دانشیار	
۲- استاد مشاور	دکترنادر بهرامی فر	استادیار	
۳- استاد ناظر	دکترعلیرضا ریاحی بختیاری	استادیار	
٤- استاد ناظر	دکتر مازیار شریف زاده	استادیار	
٥-نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر عباس اسماعیلی ساری	استاد	

آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسان‌ها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه و درآمدهای حاصل از آن‌ها متعلق به دانشگاه می‌باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می‌باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان نامه و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده‌ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده‌ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته‌ها در جشنواره های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان نامه و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **سمیرا سبحانی** دانشجوی رشته **محیط‌زیست** ورودی سال تحصیلی **۱۳۸۹** مقطع کارشناسی ارشد دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی متعهد می‌شوم کلیه نکات مندرج در آئین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته‌های علمی مستخرج از پایان نامه خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آئین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می‌دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هر گونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

تاریخ

امضاء

۱۳۹۱/۱۰/۲۱

آیین نامه چاپ پایان نامه های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به این که چاپ و انتشار پایان نامه های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامهٔ خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل پایان نامه ارشد نگارنده در رشته محیط زیست است که در سال ۱۳۹۱ در دانشکدهٔ منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر حبیب ا... یونسی و از آن دفاع شده است."

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل کتاب‌های عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶: اینجانب **سمیرا سبحانی** دانشجوی رشته **محیط‌زیست**، مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی

سمیرا سبحانی

تاریخ و امضاء

۱۳۹۱/۱۰/۲۱

تقدیم به

پدر و مادرم

که شکوه بی بدیل و ابدی زندگیم هستند و وجودشان همواره مایه آرامش و نگاه گرمشان پشتیبان

لحظه لحظه زندگی‌ام بوده است.

آنان که اگر دلگرمی صداقتشان نبود، هرگز شکوه لحظه بالیدن به باور رفتن و رسیدن مهیا نمی

شد.

تقدیر و تشکر

سپاس خداوندی را که اگر لطف بی کرانش نبود تلاش و پویش بی معنا می‌شد. او که در تمام لحظه-های سهل و سخت بود و چگونه بودن را به من آموخت. گذراندن مراحل اجرائی و تدوین این پایان نامه پس از الطاف الهی مدیون راهنمایی و همفکری بزرگوارانی است که بی تردید بدون همراهی آنان طی این طریق با مشکلات فراوان همراه بود. لذا بر خود لازم می‌دانم مراتب سپاس خود را به کلیه کسانی که در مراحل مختلف این پژوهش مرا یاری نمودند، اعلام دارم. از استاد راهنمای محترم و بزرگوارم جناب آقای دکتر حبیب ا... یونسی که مسئولیت این پایان نامه را تقبل نمودند و در مراحل انجام آن مرا از راهنمایی‌های ارزشمند خود بهره‌مند ساختند و به من آموختند چگونه در سایه صبر و کوشش، بیاموزیم آنگونه که باید آموخت و چگونه دشواری‌ها را به پشتوانه علم‌آموزی پشت سر بگذاریم، کمال امتنان را دارم. از استاد مشاور محترم و ارجمند جناب آقای دکتر نادر بهرامی‌فر که با تقبل مشاورت پایان نامه و راهنمایی‌های ارزشمند خود مراتب ارتقا آن را فراهم ساختند و در تمام لحظات تحقیق با صبر وحوصله، همگام من بودند نهایت سپاسگذاری را دارم. از اساتید گرانقدر جناب آقای دکتر علیرضا ریاحی بختیاری و جناب آقای دکتر مازیار شریف زاده که زحمت داوری این پایان نامه راقبول نمودند و از مساعدت و لطف نماینده تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر عباس اسماعیلی ساری، نهایت سپاسگذاری را دارم. ازکارشناسان محترم آزمایشگاه مرکزی به ویژه خانم مهندس حقدوست و آقای مهندس بور به پاس هماهنگی و مساعدت‌های ایشان در زمان کار در آزمایشگاه و همچنین از تمامی دوستان عزیزم و کسانی که در مراحل مختلف تحقیق از هر گونه همکاری دریغ نورزیدند قدردانی نموده و کمال تشکر را دارم.

با تشکر فراوان

سمیرا سبحانی

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی توانایی باکتری *Azohydromonas lata* در تولید کوپلیمر پلی-۳-هیدروکسی‌بوتیرات-والرات از پساب برنج درکشت ناپیوسته و در مقیاس آزمایشگاهی بود. پساب برنج با داشتن اکسیژن‌خواهی بیولوژیک (BOD)، اکسیژن‌خواهی شیمیایی (COD) و محتوای مواد آلی (عمدتاً به شکل نشاسته) نسبتاً زیاد، مشکل جدی زیست‌محیطی تلقی می‌شود. این پساب به عنوان ماده خام جهت ساخت بیوپلیمرهای بادوام و دوستدار محیط‌زیست مورد استفاده قرار می‌گیرد. این نوع مواد خام ارزان و به طور گسترده در دسترس بوده و مقرون به صرفه هستند. این مطالعه نشان داد که باکتری *A. lata* قادر است تحت شرایط محدودیت عناصر غذایی به ویژه محدودیت فسفر از پساب برنج پلی ۳-هیدروکسی‌بوتیرات تولید نماید. بیشترین مقدار پلی-۳-هیدروکسی‌بوتیرات، از نسبت C: N: P = ۱۰۰:۴:۱ و منبع نیتروژنی آمونیوم سولفات بدست آمد. حداکثر وزن خشک سلولی و حداکثر مقدار بیوپلیمر تولید شده به‌ترتیب ۴/۶۴ و ۲/۸ گرم بر لیتر بود. در حالی‌که محتوای پلی-۳-هیدروکسی‌بوتیرات ۶۰ درصد وزن خشک سلولی بود. همچنین نتایج نشان داد که هم محدودیت فسفر و هم محدودیت نیتروژن به مقدار قابل توجهی بر تولید پلی-۳-هیدروکسی‌بوتیرات موثر هستند. با این‌حال وزن خشک سلولی در مقایسه با تولید بیوپلیمر از شرایط محدودیت فسفر تاثیر بیشتری می‌پذیرد. داده‌های تجربی حاصل از آزمایشات نشان داد که پساب برنج در مقایسه با گلوکز و مالتوز منبع کربنی مناسبی برای تولید پلی-۳-هیدروکسی‌بوتیرات می‌باشد.

کلمات کلیدی: پلی-۳-هیدروکسی‌بوتیرات-والرات، *Azohydromonas lata* ، پساب برنج، فرآیند تخمیر ناپیوسته

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۱- مقدمه و کلیات	۱
۱-۱-پلاستیک و آلودگی محیط‌زیست	۱
۱-۲- انواع پلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر در محیط‌زیست	۲
۱-۲-۱- پلیمرهای سنتز شده به روش شیمیایی	۲
۱-۲-۲- پلاستیک‌های زیست‌تخریب تهیه شده از نشاسته	۲
۱-۲-۳- پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها	۲
۱-۳- ویژگی‌های پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها	۴
۱-۴-کاربرد پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها	۴
۱-۵- بیان مسئله	۵
۱-۶- اهداف تحقیق	۵
۱-۷- سوالات تحقیق	۶
۱-۸- فرضیه‌ها	۶
۲- پیشینه پژوهش	۷
۲-۱- طبقه‌بندی میکروارگانیسم‌های تولید کننده پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها	۷
۲-۱-۱- تولید بیوپلیمر با استفاده از میکروارگانیسم *A. lata*	۷
۲-۲- انواع فرآیند تخمیر	۸
۲-۲-۱- فرآیند ناپیوسته	۸
۲-۲-۲- فرآیند ناپیوسته خوراک‌دهی شده	۸
۲-۲-۳- فرآیند پیوسته	۱۰

۲-۳- تنوع منابع کربن در تولید پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها ۱۰
۲-۴- تولید پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها از پساب و پسماند ۱۱
۲-۵- استفاده از پساب برنج در تولید پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها ۱۳
۲-۶- کاربرد نشاسته به عنوان منبع کربنی در تولید پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها ۱۴
۲-۷- ضرورت انجام تحقیق ۱۵
۳- مواد و روش‌ها ۱۶
۳-۱- نمونه‌برداری پساب برنج ۱۶
۳-۲- تعیین شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی پساب برنج ۱۶
۳-۳- آماده‌سازی پساب برنج جهت تهیه محیط‌کشت ۱۷
۳-۴- میکروارگانیسم مورد استفاده در فرآیند هیدرولیز میکروبی ۱۸
۳-۵- میکروارگانیسم مورد استفاده در فرآیند تخمیر باکتریایی ۱۹
۳-۶- محیط نگهداری ۲۰
۳-۷- محیط کشت تلقیح ۲۰
۳-۸- محیط‌کشت تخمیر ۲۲
۳-۹- شرایط تخمیر و نمونه‌برداری ۲۳
۳-۱۰- سنجش وزن خشک سلولی ۲۳
۳-۱۱- تعیین مقدار قندهای کاهش‌پذیر ۲۴
۳-۱۱-۱- طرز تهیه محلول معرف DNS ۲۴
۳-۱۱-۲- رسم منحنی کالیبراسیون قندهای قابل تبدیل ۲۴
۳-۱۲- اندازه‌گیری نیتروژن ۲۵

۳-۱۳- اندازه‌گیری فسفر ۲۶
۳-۱۴- آماده‌سازی نمونه برای تزریق به GC ۲۷
۳-۱۵- تهیه استاندارد داخلی متیل‌بنزوات ۲۷
۳-۱۶- اندازه‌گیری پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها با کروماتوگراف گازی (GC) ۲۸
۳-۱۷- رسم منحنی کالیبراسیون جهت اندازه‌گیری پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها ۲۸
۳-۱۸- محاسبات بازدهی ۳۰
۳-۱۸-۱- بازده وزن خشک سلولی ۳۰
۳-۱۸-۲- بازدهی تولید ۳۱
۳-۱۸-۳- بهره‌دهی حجمی ۳۱
۳-۱۹- طرح آزمایشات ۳۱
۴- نتایج و بحث ۳۳
۴-۱- تاثیر نسبت C: N بر رشد میکروارگانیسم و تولید بیوپلیمر با منبع پساب ۳۳
۴-۲- تأثیر نسبت C: P بر تولید بیوپلیمر با استفاده از پساب ۳۷
۴-۳- بررسی تاثیر توام اسید بوتیریک و سدیم‌استات با پساب بر تولید بیوپلیمر ۳۹
۴-۴- تاثیر منابع نیتروژنی متفاوت بر تولید بیوپلیمر با استفاده از منبع پساب ۴۲
۴-۵- تاثیر منابع کربنی فروکتوز، ساکاروز، گلوکز، مالتوز بر تولید بیوپلیمر ۴۶
۴-۶- تاثیر غلظت منبع کربنی پساب بر تولید بیوپلیمر ۵۰
۴-۷- آزمون فرضیات ۵۰
۴-۸- نتایج کلی ۵۱
۴-۹- نتیجه‌گیری ۵۱
۴-۱۰- پیشنهادات پژوهشی ۵۲

فهرست جداول

عنوان		صفحه
جدول ۳-۱	شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی پساب برنج	۱۷
جدول ۳-۲	اجزای محیط کشت قارچ *A. niger*	۱۸
جدول ۳-۳	مواد شیمیایی مورد استفاده در محیط کشت اولیه	۱۹
جدول ۳-۴	اجزای محیط کشت تلقیح	۲۱
جدول ۳-۵	طرح آزمایشات	۳۲
جدول ۴-۱	مقادیر تولید بیوپلیمر، بازدهی تولید و وزن خشک سلولی و بهره‌دهی حجمی با نسبت C: N متفاوت و C: P ثابت از منبع پساب	۳۶
جدول ۴-۲	مقادیر تولید بیوپلیمر، بازدهی تولید و وزن خشک سلولی و بهره‌دهی حجمی با نسبت متفاوت C: P از منبع پساب با C: N ثابت	۳۸
جدول ۴-۳	مقادیر تولید بیوپلیمر، بازدهی تولید و وزن خشک سلولی و بهره‌دهی حجمی ازترکیب اسید بوتیریک و استات‌سدیم با پساب با نسبت C: N: P ثابت	۴۱
جدول ۴-۴	مقادیر تولید بیوپلیمر، بازدهی تولید و وزن خشک سلولی و بهره‌دهی حجمی با منابع نیتروژنی متفاوت از منبع پساب	۴۵
جدول ۴-۵	مقادیر تولید بیوپلیمر، بازده تولید و وزن خشک سلولی و بهره‌دهی حجمی از منابع کربنی، فروکتوز، سوکروز، گلوکز، مالتوز	۴۹

فهرست نمودارها

عنوان		صفحه
نمودار ۱-۱	طبقه‌بندی پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر	۳
نمودار ۳-۱	منحنی کالیبراسیون قندهای قابل تبدیل	۲۵
نمودار ۳-۲	منحنی کالیبراسیون استاندارد غلظت نیتروژن	۲۶
نمودار ۳-۳	منحنی استاندارد غلظت فسفر	۲۶
نمودار ۳-۴	کروماتوگرام GC برای استاندارد ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر	۲۹
نمودار ۳-۵	کروماتوگرام GC برای نمونه پلی‌هیدروکسی‌بوتیرات بعد از ۹۶ ساعت رشد باکتری *A .lata*	۲۹
نمودار ۳-۶	منحنی کالیبراسیون بدست آمده برای سه بیوپلیمر P(3HB), P(3HV) P(3HH)	۳۰

فصل ۱

مقدمه و کلیات

۱-۱ پلاستیک و آلودگی محیط‌زیست

امروزه در سراسر جهان انبوهی از پلیمرهای سنتزی با منشأ پتروشیمیایی تولید شده، که بخش قابل توجهی از این پلیمرها به عنوان پسماندهای صنعتی وارد اکوسیستم‌های طبیعی می‌شود (Shimao، ۲۰۰۱). کاربرد گسترده پلاستیک هم از خصوصیات مطلوب مکانیکی و دمایی و هم از ثبات و دوام آن ها ناشی می‌شود (Rivard و همکاران، ۱۹۹۵). افزایش چشم‌گیر تولید پلیمرهای معمولی به ویژه پلاستیک مصرفی در بسته‌بندی مواد غذایی، صنعت، کشاورزی و عدم تجزیه‌پذیری و ماندگاری طولانی مدت در محیط‌زیست توجه عموم را به سوی آلایندگی زیست محیطی این پلیمرها معطوف ساخته است (Albertsson و همکاران، ۱۹۸۷). پسماندهای پلاستیکی از طریق رها شدن در محل دفن زباله[۱]، سوزاندن و بازیافت وارد محیط‌زیست می‌شوند. دفع مواد پلاستیکی به شیوه‌ی نامناسب مهمترین منبع آلودگی زیست‌محیطی محسوب می‌شود. علاوه بر این از سوزاندن پلاستیک، آلاینده-های آلی پایدار (POPs)[۲]، فورآن‌ها و دی‌اکسین‌ها تولید می‌شوند (Jayasekara و همکاران، ۲۰۰۵) . ضرورت رفع مشکل مدیریت پسماندهای ناشی از پلیمرهای سنتزی و تلاش برای حفظ منابع محدود نفتی راه را برای توسعه پلیمرهای طبیعی هموار ساخته است، به طوری‌که می‌توان آن‌ها را به گونه‌ای موثر به کمپوست تبدیل و یا بازیافت نمود (Lee ، ۱۹۹۶). بیوپلیمرها از نظر سازگاری با محیط‌زیست، غیر سمی بودن، تجدیدپذیری سودمند بوده و در مقایسه بااثرات زیان آور زیست محیطی ناشی از پلیمرهای معمولی برای محیط زیست مضر نیستند (Gaouar و همکاران، ۱۹۹۷).

[۱] Landfill

[۲] Persistent Organic Pollutants

۱-۲ انواع پلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر در محیط‌زیست

۱-۲-۱ پلیمرهای سنتز شده به روش شیمیایی

پلی‌گلیکولیک‌اسید و پلی‌لاکتیک و پلی‌وینیل‌الکل و پلی‌اتیلن‌اکسید در این طبقه‌بندی قرار می‌گیرد. این ترکیبات در مقابل تجزیه میکروبی یا آنزیمی مقاوم نبوده و به علت نداشتن خصوصیات کلی پلاستیک‌ها از نظر تجاری قادر به جایگزینی پلاستیک نیستند.

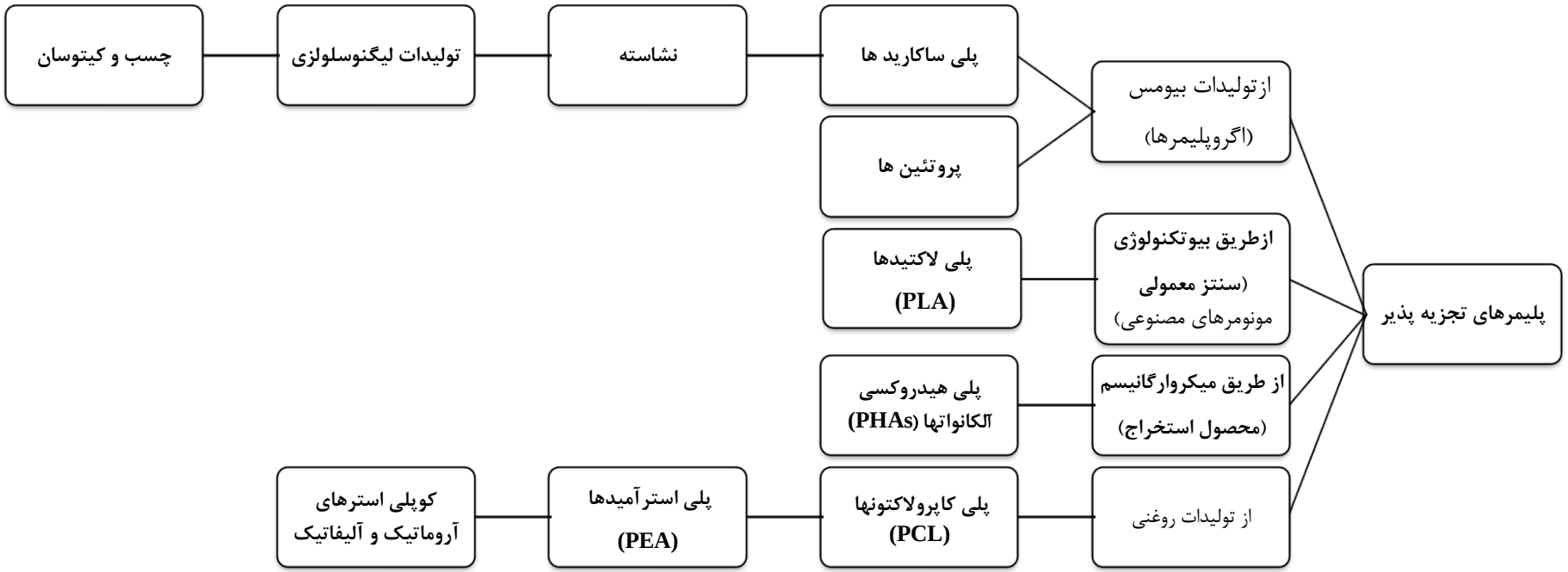
۱-۲-۲ پلاستیک‌های زیست‌تخریب تهیه شده از نشاسته

در این نوع از پلاستیک‌ها، نشاسته به عنوان ماده پر کننده و عامل اتصال عرضی در ترکیب نشاسته با پلاستیک (برای مثال، نشاسته-پلی اتیلن) استفاده می‌شود. میکروارگانیسم‌های خاک به‌آسانی نشاسته را تجزیه نموده و بنابراین بافت پلیمر شکسته شده و این سبب کاهش قابل ملاحظه‌ای در زمان تجزیه می‌شود. اما تنها بخشی از این پلاستیک‌ها تجزیه شده و بقایای سخت تجزیه نشده بعد از حذف نشاسته مدت‌های طولانی در محیط‌زیست باقی می‌مانند.

۱-۲-۳ پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها (PHAs)[1]

پلیمرهای با تجزیه‌پذیری کامل، که از طریق میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند. این مواد خصوصیات مشابه به انواع ترموپلاستیک‌های سنتزی نظیر پلی‌پروپیلن را دارا بوده و در محیط خاک، دریا، دریاچه و لجن و پساب توسط میکروارگانیسم‌ها تحت شرایط هوازی به‌طور کامل به آب و دی‌اکسیدکربن و تحت شرایط غیر هوازی به متان تجزیه می‌شوند (Khanna و همکاران، ۲۰۰۵).

[1] Polyhydroxyalkanoates



نمودار ۱-۱ طبقه‌بندی پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر (Avérous و همکاران، ۲۰۰۱)

۱-۳ ویژگی‌های PHAs

پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها به عنوان ذخایر کربن و انرژی تحت شرایط محدودیت عناصر ضروری همچون نیتروژن و فسفر و گوگرد و اکسیژن یا منیزیم و وفور منبع کربن در میکروارگانیسم‌های مختلف ذخیره می‌شوند (Anderson و همکاران، ۱۹۹۰). پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها از طریق موجودات زنده به ویژه گیاهان و باکتری‌ها تولید می‌شوند. سلول‌های گیاهی تنها مقدار اندکی (کمتر از۱۰ درصد وزن خشک سلولی) محصول پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات تولید می‌کند. مقادیر بیشتر بیوپلیمر تولید شده درون گیاه، بر روی رشد و نمو آن اثر منفی می‌گذارد (Bohmert و همکاران، ۲۰۰۲). تجمع درون سلولی این ترکیبات در بعضی از سلول‌های باکتریایی بیش از ۹۰ درصد حجم سلولی می‌باشد (Steinbüchel و همکاران، ۲۰۰۳). پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها ترموپلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر، غیر سمی و سازگار با محیط‌زیست بوده که از منابع تجدیدپذیر تولید می‌شوند. آن‌ها درجه بالایی از پلیمریزاسیون و کریستالی شدن را دارا بوده و از نظر نوری فعال، پیزوالکتریک و در آب نامحلول‌اند. این ویژگی‌ها امکان رقابت این ترکیبات را با پلی‌پروپیلن و پلاستیک‌های مشتق شده از نفت ممکن می‌سازد (Reddy و همکاران، ۲۰۰۳).

۱-۴ کاربرد PHAs

در ابتدا به عنوان لایه‌های بسته‌بندی کیسه‌ها و ظروف، به کار برده می‌شد. پس از آن به عنوان پوشش براق کننده کاغذ مورد استفاده قرار گرفت. کاربردهای دیگر این مواد شامل ظروف پلاستیکی یکبار مصرف، تیغ اصلاح، ظروف آشپزخانه و پارچه و لوازم بهداشتی زنانه و ظروف لوازم آرایش و بطری‌های شامپو و لیوان است. علاوه بر این به دلیل ساختمان شیمیایی خاص، به عنوان پیش‌سازهای مناسب به‌منظور تولید ترکیبات فعال نوری (Senior و همکاران، ۱۹۷۳) و به دلیل

تجزیه‌پذیری، به عنوان حاملین داروها در طولانی مدت، هورمون‌ها، حشره‌کش‌ها و علف‌کش‌ها، مواد سازنده استخوانی، نخ بخیه و جایگزین رگ‌ها استفاده می‌شود (Wang و همکاران، ۱۹۹۸).

۱-۵ بیان مسئله

هر ساله حجم وسیعی از مواد پلاستیکی به محیط زیست وارد می‌شود، که یکی از مشکلات مهم زیست محیطی شده است. سه شیوه بازیافت حرارتی، بازیافت معمولی و تهیه کمپوست برای حل مشکل آلودگی پلاستیک‌ها در محیط‌زیست پیشنهاد شده است. اما امروزه در کنار حل این مشکل با شیوه‌های نامبرده برای، پیشگیری از ورود بی‌وقفه پلاستیک‌های معمولی به محیط‌زیست، انواع پلاستیک‌های سازگار با محیط‌زیست تولید می‌گردد، که عمدتا بیوپلاستیک هستند. یکی از این بیوپلاستیک‌ها، پلاستیک‌های تولید شده از میکروارگانیسم‌هاست، که قابل تجزیه در محیط بوده و به دلیل ساختمان شیمیایی خاص خود دارای طیف وسیعی از کاربردها در زمینه‌های مختلف صنایع غذایی دارویی و شیمیایی می‌باشد و به احتمال زیاد در آینده‌ای نه چندان دور جایگزین پلاستیک-های امروزی خواهند شد.

۱-۶ اهداف تحقیق

۱. امکان‌سنجی تولید کوپلیمر ۳-هیدروکسی‌بوتیرات-والرات از پساب برنج
۲. تعیین بهینه نسبت C: N: P در تولید بیوپلیمر از پساب برنج
۳. کاهش هزینه‌های تولید بیوپلیمر با استفاده از پساب برنج

۱-۷ سوالات تحقیق

براساس اهداف در نظر گرفته شده، پاسخگویی به سوالات زیر در تحقیق حاضر مدنظر می‌باشد:

۱. توانایی میکروارگانیسم *Azohydromonas lata* در تولید کوپلیمر از پساب برنج چگونه است؟

۲. تاثیر پساب برنج بر نوع و مقدار کوپلیمر تولیدی به چه میزان بوده است؟

۳. نقش نیتروژن و فسفر به عنوان عناصر ضروری رشد بر میزان تولید چگونه است؟

۱-۸ فرضیه‌ها

فرضیه‌های این تحقیق بنا بر مطالعات گذشته و انجام پیش آزمون‌ها به صورت زیر تعیین شدند:

۱. بخش عمده پلیمر تولیدشده از پساب برنج از نوع، پلی-۳-هیدروکسی‌بوتیرات می‌باشد.

۲. کاهش غلظت نیتروژن در مقایسه با کاهش فسفر تاثیر بیشتری بر میزان تولید پلیمر دارد.

فصل دوم

پیشینه پژوهش

۲-۱ طبقه‌بندی میکروارگانیسم‌های تولید کننده PHAs

بسته به شرایط محیط کشت باکتری‌های تولیدکننده پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها به دو گروه عمده تقسیم می‌شوند: گروه اول از باکتری‌ها عمل سنتز پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها را تحت شرایط محدودیت عناصر غذایی (نیتروژن، اکسیژن فسفر،...) و وفور منبع کربن انجام می‌دهند. باکتری‌های این گروه شامل *Cupravidus necator* و *Protomonas oleovorans* هستند. گروه دوم حتی بدون محدودیت عناصر غذایی، در حین رشد پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات تولید می‌کنند. باکتری‌های این گروه شامل *Alcaligenes latus* و *E. Coli* نوترکیب هستند (Akaraonye و همکاران، ۲۰۱۰).

۲-۱-۱ تولید PHAs با استفاده از میکروارگانیسم *Azohydromonas lata*

میکروارگانیسم *A. lata* که در گذشته *Alcaligenes Latus* شناخته می‌شد، در این مطالعه به عنوان تولید کننده پلی‌هیدروکسی‌بوتیرات درون‌سلولی به کار برده شد این باکتری به دلیل رشد سریع و تجمع مقادیر بالایی از پلی‌هیدروکسی‌بوتیرات، تولیدکننده مناسبی برای این بیوپلیمر محسوب می شود (Braunegg و همکاران، ۲۰۰۴). دمای بهینه و pH مناسب جهت رشد این باکتری به ترتیب ۳۵ درجه سانتی‌گراد و ۶/۸ می‌باشد. این میکروارگانیسم منابع کربنی ارزان مثل گلوکز، ملاس، ساکاروز را با محصول بالایی از پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها تولید می‌نماید. تجمع پلی‌هیدروکسی-آلکانوات در باکتری *A. latus* بعد از ۸ ساعت محدودیت نیتروژن و ۲۰ ساعت از زمان رشد با استفاده از ساکاروز تقریبا ۸۸ درصد وزن خشک سلولی بود (Wang و همکاران، ۱۹۹۷).