

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده فنی و مهندسی

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد مهندسی شیمی (بیوتکنولوژی)

بررسی اثر پتانسیل احیاء بر تولید پلی هیدروکسی بوتیرات توسط
واترسیا اوتروفا

نگارنده

هدیه روحیان

استاد راهنما

دکتر ابراهیم واشقانی فراهانی

استاد مشاور

دکتر سید عباس شجاع الساداتی

بهمن ۱۳۸۸

تقدیم بہ پدر و مادر عزیزم

بہ پاس قلب سخاوت مند شان

بہ پاس محبت های بی کران شان

بہ پاس فداکاری های بی دریغ شان

و بہ پاس عاطفہ سرشار و گرمای امید بخش وجود شان

سپاس بی کران پروردگار یکتا را که هستیان بخشد و به طریق علم و دانش رهنمونان شد و به همنشینی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه چینی از علم و معرفت را روزیایان ساخت. اکنون به پاس نعمت بی حد پروردگار بر خود لازم می دانم سپاس گزار تمام عزیزانی باشم که در برابر سختی ها و ناملایمات روزگار یاریم نمودند.

از زحمات بی دریغ استاد کراتقدر، جناب آقای دکتر و اشنقانی فراهانی که باینسشی عمیق و دقیق این پایان نامه را راهنمایی نمودند و در دوران تحصیل حمایت ایشان را از من دریغ نکردند و استاد کرامی جناب آقای دکتر شجاع الساداتی که مشاوره رساله را بر عهده داشتند شکر و سپاس گزار می نمایم. از سرکار خانم تیموری، کارشناس محترم آزمایشگاه شکر و قدردانی می نمایم. از همه دوستان و عزیزانی که در سخت ترین لحظات انجام پروژه محبت خود را انثار و جودم کردند، صمیمانه سپاس گزارم.

چکیده:

با توجه به افزایش کاربرد پلیمرها در زندگی روزانه، افزایش مشکلات زیست‌محیطی ناشی از تجمع ضایعات پلیمرهای مصنوعی در طبیعت و همچنین کاهش منابع سوخت‌های فسیلی، تحقیقات اخیر بر تولید پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر از منابع طبیعی و تجدیدپذیر متمرکز شده است. پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات تولید شده توسط گونه‌های مختلفی از ریزسازواره‌ها، به عنوان جایگزین مناسب برای پلاستیک‌های متداول در نظر گرفته شده است.

در این پژوهش برای اولین بار به ارائه راه‌کاری مناسب برای افزایش بهره‌وری فرآیند تولید پلی‌هیدروکسی‌بوتیرات توسط باکتری *واترسیا/وتروففا* با استفاده از اعمال پتانسیل (در حضور واسطه انتقال الکترون) و بررسی اثر پتانسیل اعمال شده بر بازده فرآیند پرداخته شده است. با استفاده از طراحی آزمایش به روش سطح پاسخ (طراحی مرکزی مرکب)، اثر سه عامل مقدار پتانسیل، زمان اعمال پتانسیل و غلظت نوترال‌رد (به عنوان واسطه انتقال الکترون) بر غلظت PHB و درصد تجمع PHB بررسی شد و شرایط بهینه برای هر یک از این عوامل به منظور افزایش پاسخ‌های مورد نظر تعیین گردید. شرایط بهینه برای عوامل مورد نظر عبارتند از: مقدار پتانسیل برابر با ۱/۷۶V، زمان اعمال پتانسیل برابر با ۱۳ ساعت و ۳۴ دقیقه پس از تلقیح و غلظت نوترال رد در محیط کشت برابر با ۵۷/۱۳ μM؛ در این شرایط غلظت PHB، ۱/۹۴g/L و درصد تجمع PHB به ازای واحد وزن خشک سلولی، ۵۴/۸۶٪ بدست آمد. با استفاده از سامانه اعمال پتانسیل در شرایط بهینه، درصد تجمع PHB در مقایسه با نمونه شاهد، به میزان ۲۳/۵٪ افزایش یافت. این افزایش تولید PHB را می‌توان به افزایش نسبت $NADPH/NADP^+$ درون سلول در اثر اعمال پتانسیل الکتریکی و نقش مؤثر آن در تنظیم فعالیت آنزیم‌های فعال در مسیر تولید PHB، نسبت داد.

واژگان کلیدی: پلی‌هیدروکسی‌بوتیرات، *واترسیا/وتروففا*، راکتور بیوالکتریک، پتانسیل احیا، بازیابی

NADPH

صفحه	عنوان
د	فهرست جدول‌ها
ه	فهرست شکل‌ها
	فصل اول: مقدمه
۴	۱-۱ پلیمرهای زیستی
۵	۲-۱ پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها
۸	۳-۱ اهداف پژوهش
۹	۴-۱ چگونگی تنظیم پایان‌نامه
	فصل دوم: مروری بر پژوهش‌های گذشته
۱۱	۱-۲ تاریخچه
۱۳	۲-۲ خواص پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها
۱۷	۱-۲-۲ تجزیه زیستی پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها
۱۹	۳-۲ کاربردهای پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها
۱۹	۱-۳-۲ کاربردهای صنعتی
۲۰	۲-۳-۲ کاربردهای پزشکی و دارویی
۲۲	۳-۳-۲ توسعه ریزسازواره‌های صنعتی
۲۳	۴-۲ مقایسه PHB و پلیمرهای مصنوعی
۲۵	۵-۲ عوامل مؤثر بر هزینه تولید پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها
۲۵	۱-۵-۲ بهره‌وری پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها
۲۶	۲-۵-۲ مقدار پلی‌هیدروکسی آلکانوات تولید شده
۲۶	۳-۵-۲ هزینه فرآیند تخمیر
۲۷	۴-۵-۲ بازیابی پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها
۲۸	۵-۵-۲ قیمت منبع کربن و بازدهی پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها

۳۰	۶-۲- تولید زیستی پلی هیدروکسی آلکانوات‌ها
۳۰	۲-۶-۱- گونه‌های مختلف تولید کننده PHA
۳۱	۲-۶-۱-۱- گونه‌های میکروبی طبیعی تولید کننده PHA
۳۲	۲-۶-۱-۲- گونه‌های میکروبی نوترکیب تولید کننده PHA
۳۲	۲-۶-۱-۳- تولید PHA از مواد زائد و در شرایط بی‌هوازی
۳۳	۲-۶-۲- مسیره‌های سوخت‌وسازی تولید پلی هیدروکسی آلکانوات‌ها
۳۶	۲-۶-۱- مسیر سوخت‌وسازی تولید PHB
۳۷	۲-۶-۳- تنظیم سوخت‌وساز پلی هیدروکسی آلکانوات‌ها
۴۲	۲-۷-۷- روش‌های احیای NADPH
۴۲	۲-۷-۱- احیای شیمیایی
۴۲	۲-۷-۲- احیای فتوشیمیایی
۴۳	۲-۷-۳- احیای آنزیمی
۴۴	۲-۷-۴- احیای الکتروشیمیایی
۴۵	۲-۸-۸- راکتورهای بیوالکتریک
۴۷	۲-۸-۱- سازوکار انتقال الکترون
۴۷	۲-۸-۱-۱- الکترولیز آب
۴۸	۲-۸-۱-۲- واسطه انتقال الکترون
۵۱	۲-۸-۱-۳- انتقال مستقیم الکترون
۵۲	۲-۹-۹- افزایش تولید PHB با استفاده از کنترل NADPH
فصل سوم: مواد و روش‌های آزمایشگاهی	
۵۵	۳-۱- ریزسازواره
۵۵	۳-۱-۱- فعال‌سازی ریزسازواره
۵۶	۳-۱-۲- شناسایی ریزسازواره

۵۸ ۲-۳- محیط‌های کشت
۵۸ ۱-۲-۳- محیط کشت نگهداری باکتری
۵۹ ۲-۲-۳- محیط کشت بذر
۶۱ ۱-۲-۲-۳- تهیه بانک سلولی
۶۱ ۲-۲-۲-۳- آماده‌سازی کشت بذر
۶۱ ۳-۲-۳- محیط کشت تخمیر
۶۲ ۳-۳- سامانه اعمال پتانسیل
۶۴ ۴-۳- روش‌های آنالیز
۶۴ ۱-۴-۳- اندازه‌گیری میزان رشد باکتری
۶۴ ۱-۱-۴-۳- جذب نوری
۶۴ ۲-۱-۴-۳- وزن خشک سلولی
۶۴ ۲-۴-۳- اندازه‌گیری مقدار PHB به روش GC
۶۶ ۳-۴-۳- طراحی آزمایش

فصل چهارم: نتایج و بحث

۷۱ ۱-۴- مقدمه
۷۴ ۲-۴- تجزیه و تحلیل آماری اثر عامل‌های طراحی بر غلظت PHB
 ۳-۴- تجزیه و تحلیل آماری اثر عامل‌های طراحی بر درصد تجمع PHB به ازای واحد وزن خشک سلول
۸۳ ۴-۴- بهینه‌سازی عامل‌های فرآیند

فصل پنجم: نتیجه‌گیری و پیشنهادها

۹۲ ۱-۵- نتیجه‌گیری
۹۵ ۲-۵- پیشنهادها
۹۶ فهرست منابع

عنوان	صفحه
جدول ۱-۱- شرکت‌های تولیدکننده PHA در جهان	۷
جدول ۱-۲- کاربردهای PHA ها	۲۱
جدول ۲-۲- مقایسه پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها و پلیمرهای مصنوعی	۲۴
جدول ۳-۲- اثر قیمت سوپسترا و بازده بر قیمت P(3HB)	۲۸
جدول ۴-۲- پروتئین‌های تنظیم‌کننده سوخت‌وساز PHB	۴۱
جدول ۵-۲- واسطه‌های انتقال الکترون در راکتورهای بیوالکتریک	۴۹
جدول ۱-۳- ترکیبات محیط کشت LB	۵۹
جدول ۲-۳- ترکیبات محیط کشت بذر	۶۰
جدول ۳-۳- ترکیبات محلول عناصر کم‌مقدار	۶۰
جدول ۴-۳- سطوح عامل‌های طراحی آزمایش	۶۸
جدول ۵-۳- طراحی آزمایش بر اساس روش طراحی سطح پاسخ	۶۹
جدول ۱-۴- پاسخ‌های آزمایش‌های طراحی شده	۷۳
جدول ۲-۴- تحلیل واریانس داده‌ها برای پاسخ غلظت PHB	۷۴
جدول ۳-۴- داده‌های پیشنهادی رابطه همبستگی برای پاسخ غلظت PHB	۷۶
جدول ۴-۴- اثر عامل‌ها بر غلظت PHB	۷۸
جدول ۵-۴- تحلیل واریانس داده‌ها برای پاسخ درصد تجمع PHB به ازای واحد وزن خشک سلول	۸۳
جدول ۶-۴- داده‌های پیشنهادی رابطه همبستگی برای پاسخ درصد تجمع PHB به ازای واحد وزن خشک سلول	۸۴
جدول ۷-۴- اثر عامل‌ها بر درصد تجمع PHB به ازای واحد وزن خشک سلول	۸۶
جدول ۸-۴- مقادیر پیش‌بینی شده و آزمایشگاهی برای پاسخ‌ها در شرایط بهینه	۹۰

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱- توزیع شرکت‌های تولید کننده انواع بیوپلاستیک	۳
شکل ۱-۲- توزیع شرکت‌های تولید کننده بیوپلاستیک در جهان	۴
شکل ۱-۳- انواع پلیمرهای زیستی	۵
شکل ۱-۲- رشد و توسعه علم در راستای تولید PHA	۱۲
شکل ۲-۲- ساختار پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها	۱۵
شکل ۲-۳- مدل شماتیک هیدرولیز آنزیمی کریستال PHB توسط آنزیم PHA دیپلیمراز	۱۸
شکل ۲-۴- مسیرهای بیولوژیکی تولید PHA	۳۵
شکل ۲-۵- مسیر تولید PHB و P(HB-HV) در <i>R. eutropha</i>	۳۷
شکل ۲-۶- تنظیم مسیر تولید سوخت‌وسازی PHB	۴۰
شکل ۲-۷- احیای عامل به‌مراه جفت شده با سوپسترا	۴۳
شکل ۲-۸- احیای عامل به‌مراه جفت شده با آنزیم	۴۴
شکل ۲-۹- احیای الکتروشیمیایی NADH	۴۵
شکل ۲-۱۰- سازوکار راکتورهای بیوالکتریک	۴۶
شکل ۲-۱۱- سازوکار انتقال الکترون	۴۷
شکل ۲-۱۲- سازوکار واکنش اکسایش یا کاهش واسطه‌های متالولیکی، جفت شده با NAD/NADH اکسید شده و یا کاهش یافته به روش الکتروشیمیایی	۵۱
شکل ۳-۱- سامانه اعمال پتانسیل	۶۳
شکل ۳-۲- منحنی رشد <i>واترسیا/وتروفافا</i> در محیط کشت با منبع کربن فروکتوز	۶۷
شکل ۴-۱- تغییرات وزن خشک سلولی (CDW)، وزن اجساد سلولی، غلظت PHB و درصد تجمع PHB به ازای واحد وزن خشک سلولی با تغییرات غلظت NR	۷۱
شکل ۴-۲- تغییرات وزن خشک سلولی (CDW)، وزن اجساد سلولی، غلظت PHB و درصد تجمع PHB به ازای واحد وزن خشک سلولی با تغییرات غلظت NR	۷۲
شکل ۴-۳- مقایسه مقادیر حقیقی و پیش‌بینی شده برای غلظت PHB	۷۶

شکل ۴-۴ - کانتور و نمودار سطح پاسخ اثر متقابل عامل‌های A و B بر غلظت PHB ۸۰

شکل ۵-۴ - کانتور و نمودار سطح پاسخ اثر متقابل عامل‌های A و C بر غلظت PHB ۸۲

شکل ۶-۴ - مقایسه مقادیر حقیقی و پیش‌بینی شده برای پاسخ درصد تجمع PHB به ازای واحد وزن خشک سلول ۸۵

شکل ۷-۴ - کانتور و نمودار سطح پاسخ اثر متقابل عامل‌های A و B بر درصد تجمع PHB به ازای واحد وزن خشک سلول ۸۷

شکل ۸-۴ - کانتور و نمودار سطح پاسخ اثر متقابل عامل‌های B و C بر درصد تجمع PHB به ازای واحد وزن خشک سلول ۸۹

فصل اول

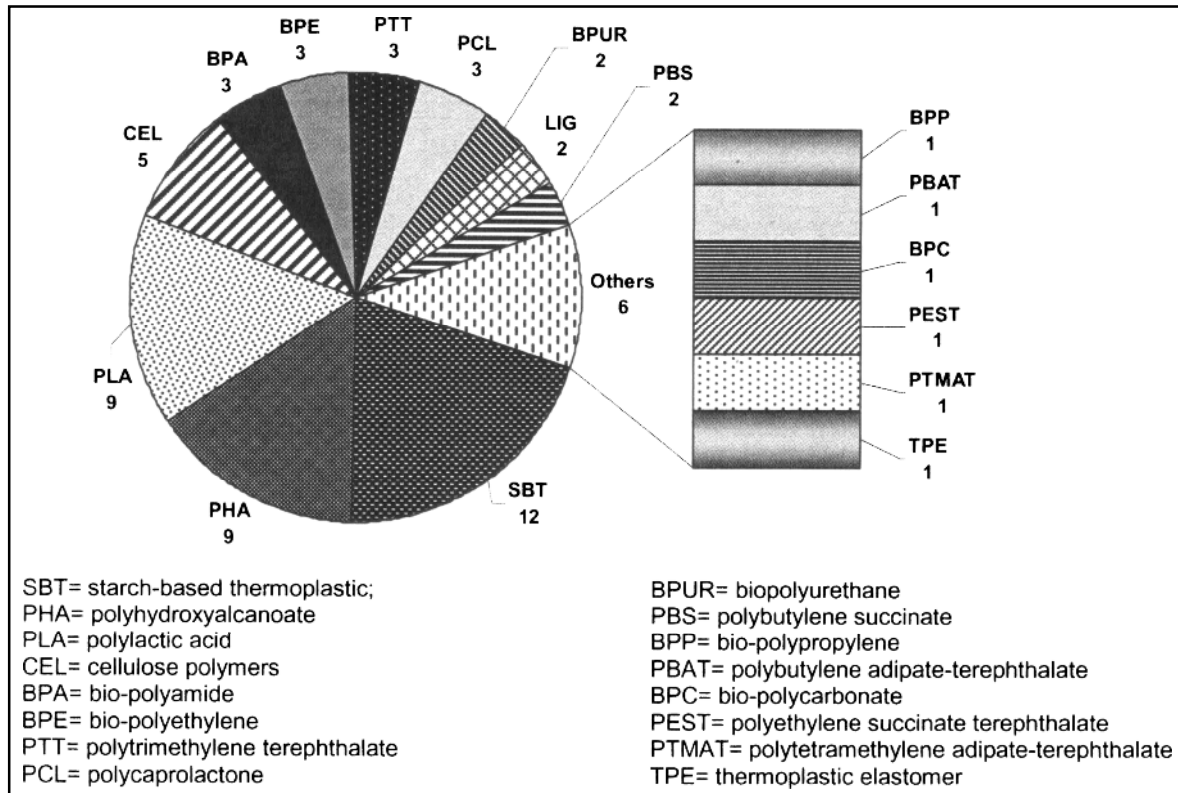
مقدمه

پلیمرهای مصنوعی به دلیل برخورداری از خواص و ویژگی‌های مطلوب از قبیل جرم مولکولی بالا، مقاومت شیمیایی و ماندگاری زیاد، مقاومت در برابر تخریب، دارای جایگاه خاصی در صنایع مختلف می‌باشند و به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند. همچنین با تغییر ساختار آنها می‌توان به راحتی پلیمرهایی با خواص و شکل‌های مختلف با توجه به مصارف مورد نظر تولید کرد (Reddy *et al.*, 2003). مصرف سالانه پلاستیک در جهان، تقریباً ۱۴۰ میلیون تن می‌باشد که تولید آنها نیاز به مصرف ۱۵۰ میلیون تن سوخت فسیلی دارد (Suriyamongkol *et al.*, 2007) و صدها هزار تن از این مواد هر ساله وارد محیط‌های دریایی شده و در اقیانوس‌ها تجمع می‌کند و اثرات نامطلوبی را بر محیط زیست برجای می‌گذارد (Reddy *et al.*, 2003).

از دهه ۱۹۷۰ با وقوع بحران‌های متوالی نفتی، پیش‌بینی‌های محققین مبنی بر اتمام منابع نفت و گاز به وقوع پیوست. با افزایش قیمت نفت و گاز و همچنین افزایش بحران‌های محیط زیستی از قبیل تجمع گاز CO₂ در اتمسفر، اثرات مخرب ضایعات پلاستیکی، گرم شدن کره زمین، تلاش‌های بسیاری از قبیل بازیافت ضایعات به روش‌های مکانیکی، کمپوست ضایعات و یا تولید انرژی با استفاده از سوزاندن مواد پلاستیکی در جهت حفظ محیط زیست صورت گرفت (Queiroz, Collares-Queiroz, 2009).

از جمله تلاش‌های انجام گرفته برای رفع و یا کاهش این مشکلات، تولید پلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر با منشاء طبیعی و تجدیدپذیر می‌باشد که "بیوپلاستیک" نام گرفته‌اند. بیوپلاستیک‌ها، پلاستیک‌هایی با درصدهای متفاوتی از پلیمرهای زیستی و جایگزین مناسبی برای پلیمرهای ترموپلاست با منشاء نفتی (پلی‌الفین‌ها و پلی‌استرها) می‌باشند. بیوپلاستیک‌ها با خواصی از قبیل زیست‌تخریب‌پذیری، سازگاری با محیط‌زیست، قابلیت تولید از منابع تجدیدپذیر، مصرف انرژی کمتر در مراحل تولید و تولید آب و

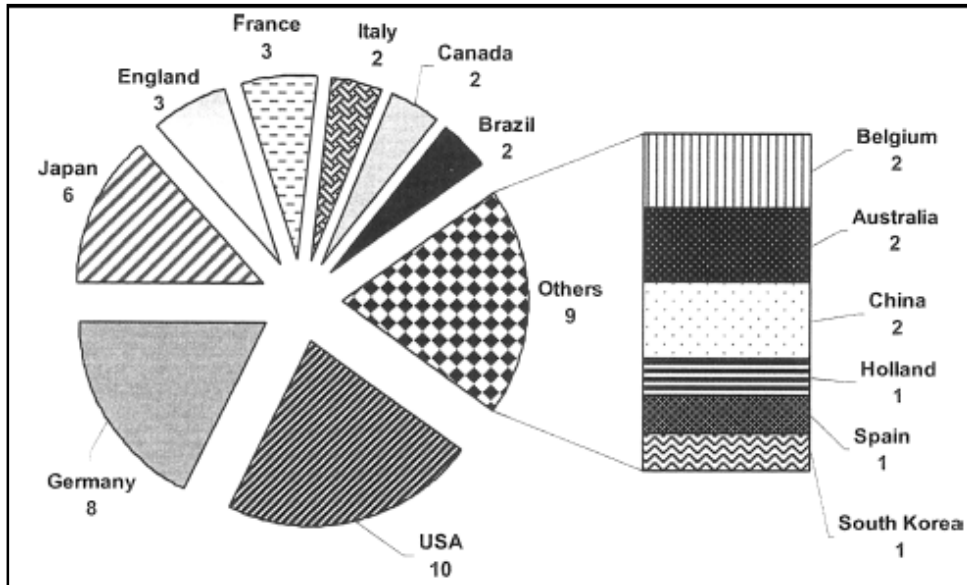
دی اکسید کربن در تخریب و تجزیه زیستی، در بازار جهانی به رقابت با پلاستیک‌های معمولی و متداول با منشاء نفتی می‌پردازند (Queiroz, Collares-Queiroz, 2009).



شکل ۱-۱- توزیع شرکت‌های تولید کننده انواع بیوپلاستیک (Queiroz, Collares-Queiroz, 2009)

با وجود اینکه صنعت تولید بیوپلاستیک بسیار نوپا می‌باشد، هم اکنون ۱۸۰ شرکت در سطح جهان در این صنعت فعال می‌باشند و می‌توان تولیدکنندگان در مقیاس صنعتی و نیمه‌صنعتی^۱ را در ۱۷ گروه مختلف بیوپلاستیک تقسیم‌بندی کرد (شکل ۱-۱). ۴۵ تولیدکننده از میان ۱۸۰ شرکت، سالانه ۴۰۰ هزار تن بیوپلاستیک در ۱۴ کشور مختلف تولید می‌کنند و تجمع شرکت‌های تولیدکننده در آمریکا، آلمان و ژاپن به چشم می‌خورد. توزیع شرکت‌های تولید کننده بیوپلاستیک در جهان در شکل ۱-۲ نشان داده شده است (Queiroz, Collares-Queiroz, 2009).

^۱ Pilot



شکل ۱-۲- توزیع شرکت‌های تولید کننده بیوپلاستیک در جهان (Queiroz, Collares-Queiroz, 2009)

۱-۱- پلیمرهای زیستی

پلیمرهای زیستی، پلیمرهایی هستند که موجودات زنده در فرآیند تولید آنها نقش داشته و ممکن است به طور کامل و یا جزئی دارای منشأ بیولوژیکی باشند و یا از مواد طبیعی و تجدیدپذیر (توده زیستی) تولید شوند و زیست تخریب پذیر باشند (Queiroz, Collares-Queiroz, 2009).

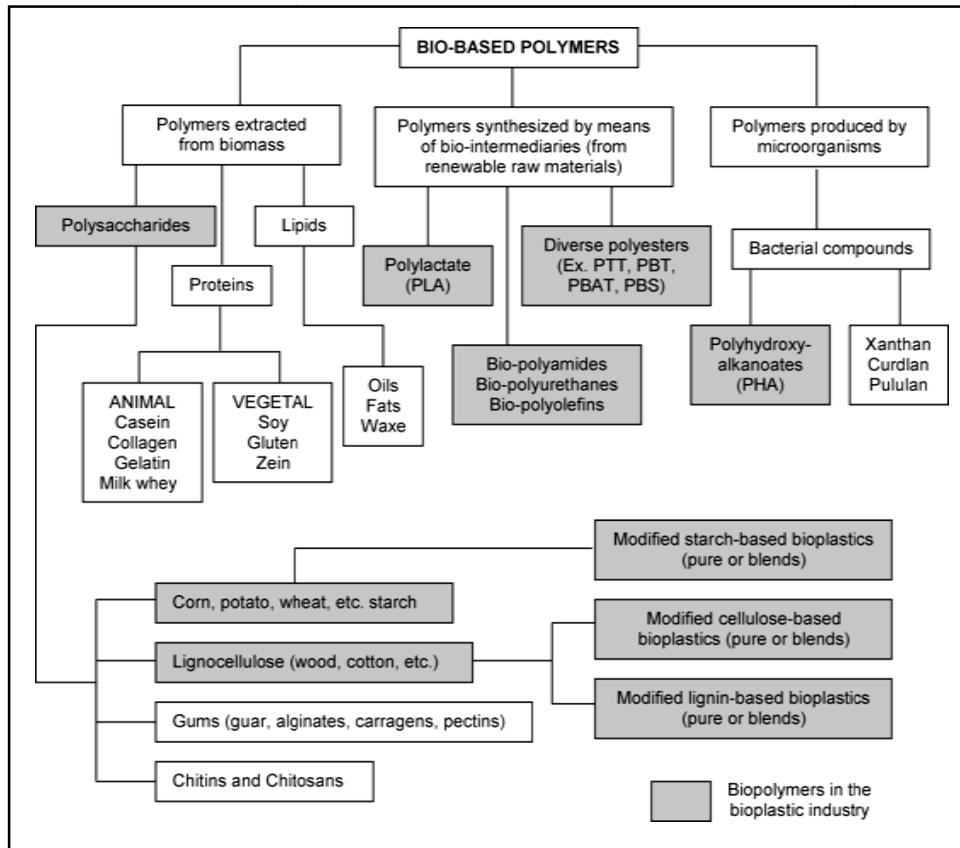
پلیمرهای زیستی را می‌توان به ۳ گروه تقسیم نمود (شکل ۱-۳) (Queiroz, Collares-Queiroz, 2009):

(۱) پلیمرهایی که به طور مستقیم از توده زیستی استخراج می‌شوند؛ به طور مثال پلیمرهایی که از سلولز استخراج شده‌اند و یا پلیمرهایی که با نشاسته اصلاح شده‌اند.

(۲) پلیمرهایی که مستقیماً توسط ریزسازواره‌ها تولید می‌شوند؛ از قبیل پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها (PHAs).

(۳) پلیمرهایی که از مواد اولیه تجدیدپذیر تولید می‌شوند؛ به طور مثال پلی‌لاکتیک اسید (PLA)،

بیوپلی اتیلن (BPE) که از پلیمریزاسیون اتیلن تولید شده از بیو اتانول تولید می‌شود؛



شکل ۱-۳ - انواع بیوپلمرها (Queiroz, Collares-Queiroz, 2009)

۱-۲ - پلی هیدروکسی آلکانوات‌ها

با افزایش مصرف پلاستیک‌های سازگار با محیط زیست و غیر نفتی، از قبیل پلاستیک‌های زیست تخریب پذیر، پلاستیک‌های سبز، بیوپلاستیک‌ها و اکوپلاستیک‌ها، از اوایل دهه ۱۹۸۰ شرکت‌های بسیاری در جهت تولید PHAs در مقیاس نیمه صنعتی و صنعتی بسیار تلاش کردند و تجاری‌سازی پلی هیدروکسی آلکانوات‌ها، به عنوان خانواده وسیعی از پلی استرهای گوناگون، سالهای زیادی مورد مطالعه قرار گرفته است. پیشرفت‌های علمی، منجر به تولید موفقیت آمیز پلی-(R)-۳-هیدروکسی بوتیرات (PHB) در مقیاس صنعتی توسط شرکت Chemie Linz در استرالیا و کوپلیمر (R)-۳-

هیدروکسی بوتیرات (3HB) و (R)-3-هیدروکسی والرات (3HV) (PHBV) توسط ICI در انگلستان و TianAn در چین شد. اوایل سال ۲۰۰۹، شرکت Metabolix در آمریکا و Tianjin Green Bioscience در چین قادر به تولید به ترتیب ۵۰۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ تن در سال PHA بودند. گزارشی از شرکت‌های معتبر جهانی که در تحقیقات و تولید PHA فعال می‌باشند در جدول ۱-۱ ارائه شده است (Chen, 2009).

پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها، پلی‌استرهای می‌باشند که توسط ریزسازواره‌های مختلف به عنوان منبع ذخیره انرژی و مواد در شرایط نامطلوب رشد (مقادیر محدود نیتروژن و فسفات در حضور کربن اضافی) تولید شده و دارای خواص مشابه ترموپلاست‌های مصنوعی مانند پلی‌پروپیلن می‌باشند (Khanna and Srivastava, 2005).

تولید میکروبی PHA، از مراحل رشد و توسعه سویه، بهینه‌سازی در ارلن لرزان، مطالعه تخمیرگاه‌های^۱ آزمایشگاهی و نیمه صنعتی و افزایش مقیاس صنعتی تشکیل شده است. به‌طور کلی، عوامل مؤثر بر بازده تولید میکروبی PHA عبارتند از: غلظت سلولی، سرعت رشد سلولی، نسبت PHA به وزن خشک سلولی، زمان لازم برای رسیدن به غلظت سلولی بالا، سوبسترا و روش استخراج و تخلیص PHA (Chen, 2009). مهم‌ترین مزیت پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها که آنها را از پلاستیک‌های مصنوعی متمایز می‌نماید، زیست‌تخریب‌پذیری آنها می‌باشد. تجزیه زیستی آنها در شرایط هوازی منجر به تولید دی‌اکسیدکربن و آب می‌شود و در شرایط بی‌هوازی دی‌اکسیدکربن و متان تولید می‌شود (Reddy *et al.*, 2003). این خاصیت باعث می‌شود که تخریب زیستی پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها در شرایط کمپوست در مدت زمان شش تا هشت هفته صورت گرفته و کاملاً به خاک تبدیل بشوند، در حالی که تخریب کامل کیسه‌های بسته‌بندی

^۱Fermentor

مواد غذایی از جنس پلی پروپیلن حدود 90 سال زمان نیاز دارد (Queiroz, Collares-Queiroz, 2009).

جدول ۱-۱- شرکت‌های تولیدکننده PHA در جهان (Chen, 2009)

Company	Types of PHA	Production scale (t/a)	Period	Applications
ICI, UK	PHBV	300	1980s to 1990s	Packaging
Chemie Linz, Austria	PHB	20-100	1980s	Packaging & drug delivery
btF, Austria	PHB	20-100	1990s	Packaging & drug delivery
Biomers, Germany	PHB	Unknown	1990s to present	Packaging & drug delivery
BASF, Germany	PHB, PHBV	Pilot scale	1980s to 2005	Blending with Ecoflex
Metabolix, USA	Several PHA	Unknown	1980s to present	Packaging
Tepha, USA	Several PHA	PHA medical implants	1990s to present	Medical bio-implants
ADM, USA (with Metabolix)	Several PHA	50 000	2005 to present	Raw materials
P&G, USA	Several PHA	Contract manufacture	1980s to 2005	Packaging
Monsanto, USA	PHB, PHBV	Plant PHA production	1990s	Raw materials
Meridian, USA	Several PHA	10 000	2007 to present	Raw materials
Kaneka, Japan (with P&G)	Several PHA	Unknown	1990s to present	Packaging
Mitsubishi, Japan	PHB	10	1990s	Packaging
Biocycles, Brazil	PHB	100	1990s to present	Raw materials
Bio-On, Italy	PHA (unclear)	10 000	2008 to present	Raw materials
Zhejiang Tian An, China	PHBV	2000	1990s to present	Raw materials
Jiangmen Biotech Ctr, China	PHBHHx	Unknown	1990s	Raw materials
Yikeman, Shandong, China	PHA (unclear)	3000	2008 to present	Raw materials
Tianjin Northern Food, China	PHB	Pilot scale	1990s	Raw materials
Shantou Lianyi Biotech, China	Several PHA	Pilot scale	1990s to 2005	Packaging and medical
Jiang Su Nan Tian, China	PHB	Pilot scale	1990s to present	Raw materials
Shenzhen O'Bioer, China	Several PHA	Unknown	2004 to present	Unclear
Tianjin Green Bio-Science (+DSM)	P3HB4HB	10 000	2004 to present	Raw materials & packaging
Shandong Lukang, China	Several PHA	Pilot scale	2005 to present	Raw materials & medical

در سال‌های اخیر، با توجه به خواص یاد شده برای پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها و خواص دیگر از قبیل زیست‌سازگاری، طبیعت پلی‌استری و خواص ترموپلاستی و الاستومری آنها کاربرد PHA در صنایع کشاورزی، دارویی، بهداشتی، بسته‌بندی، پلاستیکی، کاشتنی‌های^۱ پزشکی، داروها و حامل‌های دارورسانی، افزودنی‌های خوراکی، بسیار توسعه یافته و به عنوان نوع جدیدی از سوخت زیستی نیز مورد استفاده قرار گرفته است؛ همچنین از پروتئین‌ها و ژن‌های مربوط به PHA برای تنظیم سوخت‌وساز^۲ ریزسازواره‌های صنعتی، داروهای هدفمند و تخلیص پروتئین‌ها استفاده شده است (Chen, 2009).

اما با وجود کاربردهای بسیار متعدد پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها و قابلیت استفاده از آنها در صنایع مختلف، مهم‌ترین عاملی که استفاده جهانی آنها را محدود کرده است، قیمت زیاد آنها در مقایسه با پلیمرهای مصنوعی می‌باشد. مهم‌ترین عواملی که بر قیمت پلیمر تولید شده مؤثر می‌باشند عبارتند از: قیمت منبع کربن، هزینه مراحل جداسازی، هزینه فرآیند تخمیر، مقدار پلیمر تولید شده و بهره‌وری آن. بنابراین تحقیقاتی که در جهت کاهش هزینه تولید پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها انجام می‌شود، در زمینه‌های مختلفی از قبیل جداسازی و پرورش با کتری‌ها با قابلیت بهره‌دهی بالا و رشد مناسب با استفاده از منابع کربن ارزان قیمت، روش‌های ارزان ولی مؤثر در استخراج پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها، بهینه‌سازی شرایط تخمیر و محیط کشت، استفاده از روش‌های کشت با تراکم سلولی بالا و تولید گیاهان تراریخته با قابلیت تولید پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها می‌باشد (خسروی، ۱۳۸۳).

۱-۳- اهداف پژوهش

با توجه به مطالب یاد شده، امروزه نیاز به تولید پلیمرهای زیستی در جهان کاملاً شناخته شده و صنایع تولید پلیمرهای زیستی در حال توسعه می‌باشد. در میان پلیمرهای زیستی، تولید

¹Implants

²Metabolism

پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها نیز با توجه به خواص و کاربردهای یاد شده بسیار مورد توجه قرار گرفته و در سال‌های اخیر مطالعات زیادی در جهت کاهش هزینه تولید آنها و توسعه فرایند تولید در مقیاس صنعتی صورت گرفته است.

هدف این پژوهش نیز، توسعه فرآیند تولید پلی‌هیدروکسی‌بوتیرات توسط باکتری *واترسیا اوتروفا*^۱ - رایج‌ترین و شناخته‌شده‌ترین سویه در فرآیند تولید پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها- با استفاده از راکتور بیوالکتریک و بررسی اثر اعمال پتانسیل بر فرآیند و پلیمر زیستی تولید شده می‌باشد.

با توجه به موفقیت عطایی در افزایش درصد پلیمر تولید شده از شیر خرم توسط باکتری بومی با اعمال پتانسیل احیاء خارجی به محیط تخمیر (عطایی، ۱۳۸۷)، در این پژوهش با افزودن واسطه انتقال الکترون (NR) فرآیند اعمال پتانسیل توسعه داده شد. برای این منظور عامل‌های مؤثر(زمان اعمال پتانسیل، مقدار پتانسیل، غلظت واسطه انتقال الکترون) بر سامانه اعمال پتانسیل انتخاب شده و با استفاده از طراحی آزمایش به روش پاسخ سطحی اثر هر یک از عامل‌ها مطالعه شده و شرایط بهینه فرآیند برای تولید پلی‌هیدروکسی‌بوتیرات مشخص شد.

۱-۴- چگونگی تنظیم پایان‌نامه

در این پایان‌نامه، پس از بیان مقدمه در خصوص موضوع مورد مطالعه و اهداف پژوهش در فصل اول، مروری بر پژوهش‌های گذشته در فصل دوم ارائه شده است. در فصل سوم مواد و روش‌های آزمایشگاهی مورد استفاده در مراحل مختلف انجام پژوهش شرح داده شده است. نتایج آزمایش و تفسیر آنها در فصل چهارم ارائه شده و سرانجام در فصل پنجم نتیجه‌گیری نهایی و پیشنهادها برای ادامه پژوهش ارائه شده است.

^۱ *Watresia eutropha*