

بررسی تولید پلی هیدروکسی آلکانوات ها (PHAs) در راکتور لجن فعال

Investigation of Polyhydroxyalkanoates (PHAs) Production in Activated Sludge Reactor

حسین گنجی دوست^۱، ابراهیم واشقانی فراهانی^۱، مهدی برقعی^۲، نادر مختارانی^{۱*}

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

۲- تهران، دانشگاه صنعتی شریف، مرکز تحقیقات بیوشیمی و محیط زیست، صندوق پستی ۱۱۳۶۵/۸۶۳۹

دریافت: ۸۲/۱۲/۱۰، پذیرش: ۸۳/۸/۱۳

چکیده

در این پژوهش، امکان تولید پلی هیدروکسی آلکانوات ها (PHAs) در راکتور لجن فعال در مقیاس آزمایشگاهی بررسی شده است. بدین منظور ابتدا از سیستم لجن فعال بی هوازی - هوازی با زمان ماند هیدرولیکی ۱۰h و زمان ماند سلولی پنج روز برای خو گرفتن میکروارگانیسم ها به منظور تولید پلیمر استفاده شده است. سپس لجن مازاد حاصل از سیستم یاد شده به راکتور تولید پلیمر منتقل و طی فرایندی هوازی و در pH خنثی افزایش غلظت (PHAs) در درون سلول میکروارگانیسم ها بررسی شده است. بر اساس آزمایش های انجام شده حداکثر غلظت ۲HV و ۲HB پس از ۲۴h هوادهی مشاهده شده است. در سیستم مورد مطالعه حداکثر غلظت PHAs تولیدی در حدود ۱۷ درصد وزنی جامدات خشک لجن بوده که از این مقدار ۱۴ درصد مربوط به تری هیدروکسی بوتیرات و حدود ۳ درصد مربوط به تری هیدروکسی والرات است. همچنین، در سیستم یاد شده به ازای مصرف هر ۱ kg کربن ۲۲۵ g پلیمر تولید شده است.

واژه های کلیدی

پلیمرهای زیست تخریب پذیر،
لجن فعال، تصفیه فاضلاب،
فرایند بی هوازی - هوازی،
پلی هیدروکسی آلکانوات

مقدمه

ذوب، انعطاف پذیری و مقاومت در برابر آب) بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. این گروه از پلیمرها دارای کاربردهای متنوعی اند که از آن جمله می توان به استفاده در ساخت انواع الیاف، شامپو و مواد آرایشی، انواع صفحات و جایگزین های استخوان (پروتزها)، نخ ها و

طی دو دهه گذشته از میان پلاستیک های قابل تجزیه گروهی تحت عنوان پلی هیدروکسی آلکانوات ها (PHAs) به علت کم بودن هزینه تولید، سادگی نسبی فرایند تولید نسبت به سایر زیست پلیمرها و همچنین خواص فیزیکی و مکانیکی نزدیک به پلیمرهای مصنوعی (نقطه

Key Words

biodegradable polymers,
activated sludge, wastewater treat-
ment, anaerobic-aerobic process,
polyhydroxyalkanoate

با توجه به موارد یاد شده و با در نظر گرفتن مشکلات مربوط به دفع پلاستیک های مورد استفاده در بسته بندی کالا و همچنین حمل زباله و با توجه به هزینه های مربوط به دفع لجن مازاد تصفیه خانه های فاضلاب اهمیت تهیه پلاستیک های قابل تجزیه بیولوژیکی از فاضلاب مشخص می شود.

همان طور که اشاره شد در چند سال اخیر مطالعات زیادی برای تولید PHAs انجام شده که اغلب آنها با استفاده از کشت خالص میکروارگانیسم ها انجام گرفته است. کشت خالص ضمن پیچیدگی فرایند باعث افزایش هزینه محصول نیز می شود. در صورت تولید PHAs به کمک روش های معمول تصفیه فاضلاب مانند لجن فعال این امکان وجود دارد که ضمن ساده کردن فرایند، هزینه تولید این فرآورده را نیز مقداری کاهش داد. لازم به ذکر است که بر اساس مطالعات انجام شده [۷] در سال ۱۹۹۴ هزینه تولید PHAs (به روش کشت خالص) در حدود شش برابر هزینه تولید پلیمرهای مصنوعی مانند پلی پروپیلن برآورد شده که در صورت تولید پلیمر با استفاده از لجن فعال (با بازده ای نزدیک به کشت خالص) می توان در صدی از آن را کاهش داد.

با توجه به موارد یاد شده و مصرف روزافزون پلاستیک ها و همچنین مشکلات مطرح در زمینه دفع آنها، بررسی امکان تولید PHAs در راکتور لجن فعال به عنوان هدف اصلی از انجام این پژوهش انتخاب شد.

تجربی

مواد

در این پژوهش، از تری هیدروکسی بوتیریک اسید (Sigma-USA) برای اندازه گیری کمی ۳HB و از کوپلیمر PHA (Sigma-USA) که شامل ۸۸ درصد ۳HB و ۱۲ درصد وزنی ۳HV بوده برای اندازه گیری کمی ۳HV استفاده شد. سدیم پروپیونات مورد استفاده با خلوص آزمایشگاهی از شرکت Spectrum آمریکا و سایر مواد شیمیایی مورد آزمایش نیز با خلوص آزمایشگاهی و از شرکت Merck آلمان تهیه شد.

دستگاه ها

در این پژوهش، برای شناسایی و اندازه گیری PHAs از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) مدل PU۴۴۱۰FID ساخت شرکت فیلیپس با ستون موئین (BP-۱۰) با قطر داخلی ۰/۲۲ mm و طول ۲۵ m استفاده شده است. سایر شرایط مورد استفاده نیز عبارتند از:

دمای تزریق ۱۸۰°C، دمای بالایی ۱۵۰°C، زمان بالایی ۱ min، دمای ستون ۱۰۰°C، سرعت ۸°C/min و دمای آشکار ساز ۲۰۰°C.

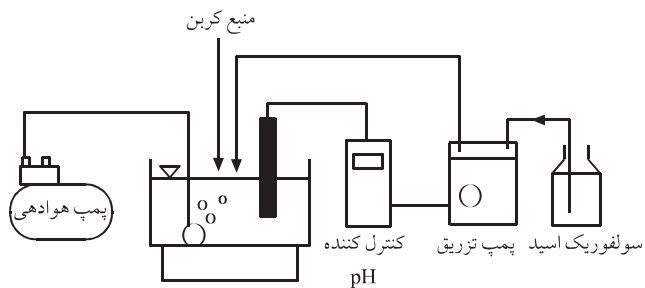
دستکش های جراحی، پوشش زخم ها، جایگزین عروق خون، انواع فیلم های بسته بندی، کیسه و ظروف اشاره کرد. این نوع زیست پلاستیک که به شکل دانه در داخل سلول میکروارگانیسم تجمع یافته، پس از استخراج و خالص سازی به پودری سفید رنگ تبدیل می شود و به کمک گروه های مختلف میکروارگانیسم ها و از منابع هیدروکربنی با مواد مغذی محدود قابل تهیه است. به عبارت دیگر میکروارگانیسم ها قادر به ساخت و ذخیره PHAs به عنوان منبع انرژی در داخل سلول خود بوده که این امر هنگامی که میکروب با محدودیت مواد غذایی مواجه می شود انجام می گیرد. وزن مولکولی این پلیمرها در محدوده ۲۰۰ هزار تا سه میلیون دالتون، بر حسب نوع میکروارگانیسم و شرایط رشد قرار دارد.

تقریباً ۳۰۰ نوع میکروارگانیسم مختلف، شامل انواع گرم مثبت و گرم منفی شناسایی شده که می توانند انواع PHAs را ذخیره کنند. از جمله میکروارگانیسم هایی که توانایی تولید PHAs را دارند می توان به گونه های باسیلوس، ازتوباکتر، سودوموناس و آلکالیجنز اشاره کرد [۱]. در حال حاضر در صنعت برای تولید این نوع پلیمر از کشت خالص *Alcaligenes Eutrophus* در محیطی از منابع ساده کربنی مثل گلوکوز به عنوان منبع اصلی کربن استفاده می شود. این روش در سال ۱۹۸۰ برای اولین بار استفاده شده است [۲]. از آن پس نیز در ارتباط با تولید PHAs به کمک میکروارگانیسم های مختلف و همچنین افزایش بازده تولید و نیز خواص فیزیکی این گروه از پلیمرها پژوهش های زیادی انجام شده است [۳-۵].

پلیمر یاد شده در سیستم های مرحله ای، نیمه پیوسته و پیوسته قابل تولید است و با کنترل شرایط رشد حتی می توان تا ۸۰ درصد وزن خشک سلول پلیمر تولید کرد.

با توجه به موارد یاد شده تولید این نوع پلیمر از فاضلاب هایی که دارای محدودیت در ماده غذایی اند نیز امکان پذیر است.

در تهیه PHAs میکروارگانیسم ها از مواد آلی محلول که از مهمترین آنها اسیدهای چرب فرارند استفاده و آنها را به PHAs تبدیل می کنند. بنابراین در صورتی که طی فرایند تصفیه فاضلاب نیز این نوع اسیدها تولید شوند با استفاده از میکروارگانیسم های مناسب می توان ضمن مصرف کربن آلی محلول، مقدار قابل توجهی زیست پلاستیک تهیه کرد. تهیه PHAs از پساب دارای مزایایی است که از مهمترین آنها می توان تولید نسبتاً ارزان زیست پلاستیک، کاهش حجم لجن مازاد و به دنبال آن کاهش هزینه های تصفیه فاضلاب را برشمرد. لازم به ذکر است که بر اساس مطالعات انجام شده در صورت بازیافت PHAs از لجن مازاد تصفیه خانه فاضلاب، حجم لجن را می توان به کمتر از ۳۰ درصد کاهش داد [۶].

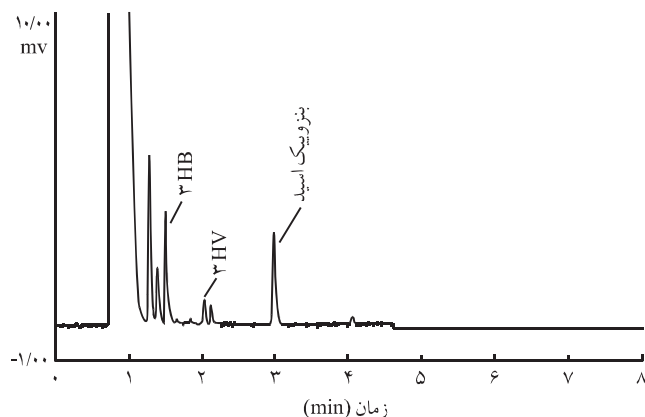


شکل ۲ - نمودار سیستم مورد استفاده برای تولید پلیمر.

راکتور که نمایی از آن در شکل ۲ نشان داده شده است، محلول سدیم استات که هر ۶ h یکبار به سیستم اضافه می‌شد به عنوان خوراک بکار رفت.

غلظت محلول سدیم استات اضافه شده به سیستم در لحظه شروع (T_0) در حدود 1000 mgC/L و در زمان‌های T_6 ، T_{12} و T_{18} در حدود 500 mgC/L بوده است. از آنجا که مصرف یون استات در این فرایند باعث افزایش pH سیستم می‌شد از محلول رقیق سولفوریک اسید برای تثبیت pH در محدوده خنثی استفاده شد. در این سیستم هر ۶ h یکبار نمونه‌گیری بعمل آمده، عواملی مثل MLSS، MLVSS، COD و PHAs اندازه‌گیری شده است.

برای اندازه‌گیری PHAs، پلیمرهای تولیدی با استفاده از متانول اسیدی به متیل استر تبدیل و پس از جداسازی فاز آلی از فاز آبی به دستگاه GC تزریق شده است [۸]. لازم به ذکر است که در این مرحله برای اندازه‌گیری کمی پلیمرهای تولیدی نمودار درجه بندی مربوط که با استفاده از ^3HB و کوپلیمر ^3HB و ^3HV رسم شده بکار رفته است. نمونه‌ای از نمودار کروماتوگرام GC در شکل ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود بنزویک اسید به عنوان استاندارد درونی



شکل ۳ - نمودار کروماتوگرام GC.

همچنین، برای اندازه‌گیری COD (Chemical Oxygen Demand) از طیف نورسنج Varian مدل Conc ۵۰ استفاده شده است.

برای کنترل pH هنگام فرایند از دستگاه کنترل کننده pH ساخت شرکت زاگ شیمی مدل CNT۹۰۶ با دقت ۰/۱ واحد به شکل در خط استفاده شده است.

روش‌ها

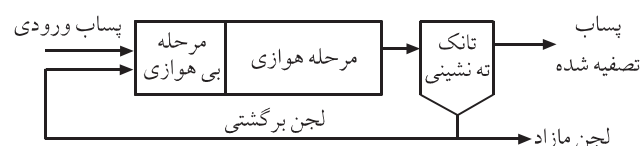
در این پژوهش، از سیستم لجن فعال (بی‌هوازی - هوازی) که به شکل پیوسته عمل می‌کند به عنوان منبع تولید لجن استفاده شده است. نمایی از این سیستم که دارای مخزن بی‌هوازی، راکتور هوازی و تانک ته‌نشینی است، در شکل ۱ نشان داده شده است.

در این سیستم پساب ورودی که به‌طور مصنوعی و در داخل آزمایشگاه تهیه می‌شود به شکل پیوسته و با دبی یکنواخت 1 L/h و با COD حدود 200 mg/L به مخزن بی‌هوازی وارد می‌شود. 1 L از پساب ورودی به سیستم شامل ترکیبات زیر است:

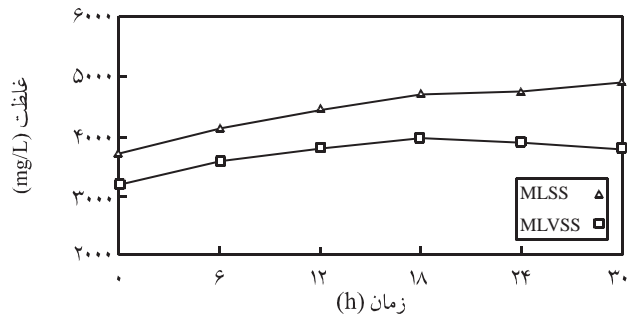
سدیم پروپیونات، مخمر، پیتون، پتاسیم کلرید، آمونیوم سولفات، منیزیم سولفات، کلسیم کلرید، پتاسیم پرسولفات و استیک اسید به ترتیب با مقادیر 130 ، 33 ، 100 ، 70 ، 72 ، 89 ، 17 و 60 و 117 در مقیاس mg . در ادامه، سرریز مخزن بی‌هوازی وارد راکتور هوازی شده و پس از مصرف مواد آلی محلول به کمک میکروارگانیسم‌ها، فاضلاب تصفیه شده برای جداسازی ذرات معلق به تانک ته‌نشینی هدایت می‌شود. در نهایت نیز فاضلاب تصفیه شده تخلیه، درصدی از لجن ته‌نشین شده (حدود ۸۰ درصد) به مخزن بی‌هوازی بر می‌گردد.

در این سیستم زمان ماند هیدرولیکی (HRT) 10 h و زمان ماند سلولی (θ_c) در حدود ۵ روز بوده که این عمل با برداشت درصدی از کل لجن موجود به شکل روزانه بدست آمده است. میزان حذف بار آلی (COD) در سیستم یاد شده نیز بیش از ۹۰ درصد است. لازم به ذکر است که لجن هوازی مورد نیاز برای راه‌اندازی سیستم، از تصفیه‌خانه فاضلاب شهرک قدس تهران و لجن بی‌هوازی از یکی از راکتورهای موجود در آزمایشگاه تهیه شده است.

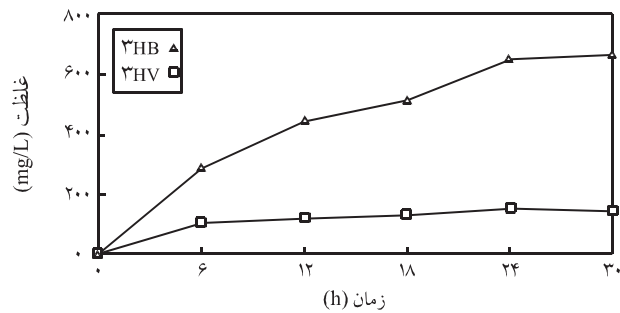
در ادامه برای غنی‌سازی میکروارگانیسم‌ها از PHAs، 1 L از لجن مازاد به راکتور تولید پلیمر منتقل و به مدت 24 h هوادهی شد. در این



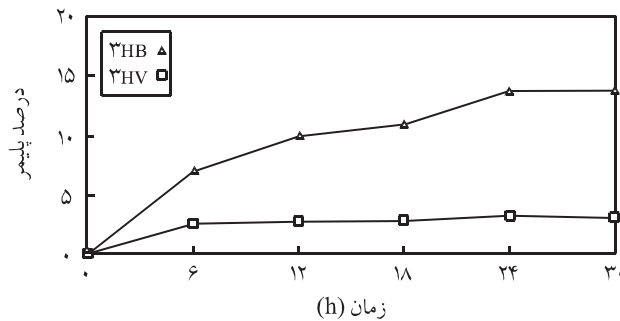
شکل ۱ - نمودار سیستم تصفیه مورد استفاده.



شکل ۴- نوسانات MLSS و MLVSS طی فرایند تولید پلیمر.



شکل ۵- میزان تغییرات غلظت 3HB و 3HV در دوره فرایند.



شکل ۶- نمودار درصد پلیمر تولیدی نسبت به جامدات خشک لجن.

۱۷ درصد بوده که با میزان تولید پلیمر در روش کشت خالص (۴۰ تا ۷۰

بکار رفته است. سایر عوامل مورد نیاز نیز طبق روش های موجود [۹] ارزیابی شده است.

نتایج و بحث

همان طور که قبلاً نیز بیان شد نوسانات پارامترهای MLSS، MLVSS، COD، 3HB و 3HV طی فرایند در راکتور تولید پلیمر بررسی شده است. شکل ۴ میزان نوسانات MLSS و MLVSS در دوره زمانی ۳۰ h را نشان می دهد. همان طور که ملاحظه می شود طی فرایند میزان تغییرات این دو عامل متناسب با یکدیگر بوده، نسبت آنها تقریباً ثابت باقی مانده است.

تغییرات غلظت 3HB و 3HV طی دوره فرایند در شکل ۵ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود، غلظت هر دو پلیمر در ابتدای فرایند ناچیز و در حد صفر بوده است. با گذشت زمان غلظت آنها افزایش یافته اما میزان تولید 3HB بیش از 3HV بوده به گونه ای که پس از گذشت ۲۴ h از کل پلیمر تولیدی ۸۱ درصد مربوط به 3HB و ۱۹ درصد مربوط به 3HV بوده است. علت زیاد بودن غلظت 3HB در مقایسه با 3HV به نوع خوراک مورد استفاده در راکتور تولید پلیمر مربوط است و پیش بینی می شود تا با تغییر در ترکیبات خوراک مورد استفاده بتوان درصد پلیمرهای تولیدی را نیز تغییر داد. در صورت وقوع این امر امکان تولید پلیمر با خواص فیزیکی دلخواه نیز میسر می شود. در شکل ۶ نیز درصد پلیمر تولیدی نسبت به مواد جامد (خشک) لجن در زمان های مختلف نشان داده شده است.

خلاصه نتایج بدست آمده از آزمایش های مختلف در سه دوره زمانی ۰، ۱۲ و ۲۴ h در جدول ۱ ارائه شده است. لازم به ذکر است که اعداد و ارقام ارائه شده میانگین سه بار تکرار کلیه آزمایش هاست. همان طور که مشاهده می شود میزان تولید PHA در توده خشک میکروبی در حدود

جدول ۱- خلاصه نتایج بدست آمده در سه دوره زمانی مختلف.

COD (mg/L)		درصد پلیمر تولیدی به جامدات خشک لجن	میزان مصرف کربن (mg/L)	PHAs (mg/L)	MLVSS (mg/L)	MLSS (mg/L)	متغیر زمان (h)
بعد از اضافه شدن خوراک	قبل از اضافه شدن خوراک						
۲۱۹۰	۰	۰	۰	۰	۳۲۰۰	۳۷۲۰	۰
۱۵۴۰	۳۹۰	۱۲/۷	۱۵۰۰	۵۶۵	۳۸۱۰	۴۴۵۰	۱۲
۱۷۲۰	۲۴۰	۱۶/۹	۲۵۰۰	۸۱۵	۳۹۰۰	۴۷۵۰	۲۴

خلاصه آن به شرح زیر است :

- با استفاده از لجن فعال حاصل از تصفیه فاضلاب شهری با زمان ماند سلولی (θ_c) حدود ۵ روز و زمان ماند هیدرولیکی حدود ۱۰ h امکان تولید PHAs وجود دارد.

- شرایط حاکم بر راکتور تولید پلیمر مانند غلظت و ترکیبات خوراک، روش هوادهی و تغییرات pH اثر قابل توجهی در تولید پلیمر دارد بنابراین، طی فرایند باید آنها را بدقت کنترل کرد.

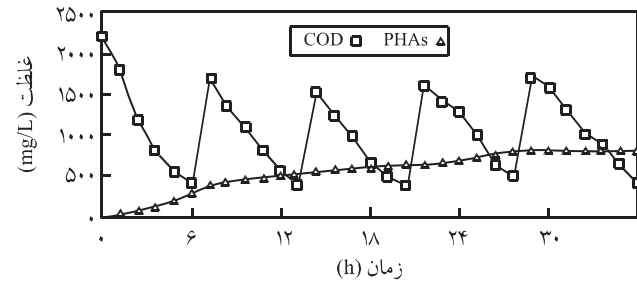
- در سیستم مورد مطالعه غلظت 3HB و 3HV تولیدی به ترتیب ۱۳/۷ و ۳/۲ درصد وزنی جامدات خشک لجن بوده است. علت زیاد بودن غلظت 3HB در مقایسه با 3HV مربوط به نوع خوراک مورد استفاده در راکتور تولید پلیمر است و با تغییر ترکیبات خوراک راکتور یاد شده امکان تغییر در غلظت پلیمرهای تولیدی وجود دارد.

- در راکتور تولید پلیمر طی ۲۴ h غلظت پلیمر تولیدی به حداکثر رسیده و پس از آن تغییرات غلظت قابل توجه نیست.

- در سیستم مورد آزمایش غلظت 3HV پس از ۶ h به حداکثر رسیده و پس از آن تقریباً ثابت می ماند.

- در این سیستم (راکتور تولید پلیمر) به ازای مصرف هر ۲۵۰۰ g کربن در حدود ۸۱۶ g PHAs تولید شده است.

- نسبت MLVSS به MLSS طی واکنش تقریباً ثابت و در حدود ۰/۸۵ بوده است.



شکل ۷- نمودار نوسانات COD و PHAs در راکتور تولید پلیمر.

درصد) اختلاف زیادی دارد اما پیش بینی می شود که با اعمال تغییراتی در سیستم بتوان این مقدار را تا بیش از ۵۰ درصد نیز افزایش داد. میزان نوسانات COD پساب و PHAs (شامل مجموع غلظت 3HB و 3HV تولیدی در راکتور تولید پلیمر) طی ۳۰h نیز در شکل ۷ نشان داده شده است. در این نمودار افزایش بار آلی سیستم در زمان های ۶، ۱۲، ۱۸، ۲۴h و ۳۰h مربوط به افزایش خوراک در زمان های یاد شده بوده است. همان طور که از شکل پیداست بیشترین سرعت تولید پلیمر مربوط به ۸ h اول است و پس از آن میزان افزایش غلظت پلیمر تقریباً ناچیز بوده است.

نتیجه گیری

ضمن آزمایش های انجام شده در این پژوهش نتایجی بدست آمده که

مراجع

- Kim B.S. and Chang H.N., Production of Poly (3-hydroxybutyrate) from Starch Azotobacter Chroococcum, *Biothechnol. Lett.*, **20**, 109-112, 1998.
- Holmes P.A., Application of PHB: A Microbially Produced Biodegradable Thermoplastic, *Phys. Technol.*, **16**, 32-36, 1985.
- Doi Y., *Microbial polyesters*, VCH, New York, Chap.1, 1990.
- Anderson A.J. and Dawes E.A., Occurrence, Metabolism, Metabolic Role and Industrial Uses of Bacterial Polyhydroxyalkanoates, *Microbiol. Rev.*, 450-472, 1990.
- Lee S.Y., Bacterial Polyhydroxyalkanoates, *Biothechnol. Bioengin.*, **49**, 1-14, 1996.
- Samuel L. and Jian Y., Production of Biodegradable Thermoplastics from Municipal Sludge by a Two Stage Bioprocess, *Resour. Conserv. Recy.*, **19**, 151-164, 1997.
- Chang H.N., Biodegradable Plastics and Biotechnology. In: *Better Living Through Innovative Biochemical Engineering*, Teo W.K.(Ed.), Singapore University, Singapore, 24-30, 1994.
- Braunegg 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.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater; American Public Health Association, 19th ed., Washington DC, 1995.