

تاثیر نوع بیوراکتور در تولید بیوپلیمرهای میکروبی زیست تخریب‌پذیر

مجتبی خانی*، علی بهرامی

۱- کارشناسی ارشد، ۲- استادیار دانشگاه صنعتی مالک اشتر، تهران، ایران

mj_khani67@yahoo.com

چکیده

بیوپلیمرها ماکرومولکول‌های بیولوژیکی هستند که از تعداد زیادی زیرواحد کوچک و شبیه به هم که با اتصال کووالانسی به هم متصل شده‌اند و یک زنجیره طولانی را ایجاد می‌کنند، ساخته شده‌اند. بیوپلیمرها از موجودات زنده از قبیل گیاهان، جانداران و میکروارگانیسم‌ها به طور طبیعی تولید می‌شوند و از لحاظ زیست محیطی نیز تجزیه‌پذیر هستند. امروزه مواد بیوپلیمری در شکل‌های گوناگونی توسعه یافته‌اند، بنابراین ظرفیت استفاده در صنایع گوناگون را دارند. به منظور استفاده از بیوپلیمرها در صنایع، نیاز به تجاری کردن فرآیند تولید و همچنین بهینه‌کردن تولید آنها است. همچنین باتوجه به این‌که نقش اصلی یک بیوراکتور خوب، فراهم کردن یک محیط کنترل شده به منظور دستیابی به شرایط بهینه‌ی رشد و یا تولید محصول است. نوع بیوراکتور مورد استفاده نیز در تولید بیوپلیمر تاثیرگذار است. در این مقاله ضمن مروری بر بیوپلیمرها و انواع بیوراکتورها، به بررسی بیوراکتور مناسب برای تولید بیوپلیمرهای میکروبی پرداخته شده است.

کلمات کلیدی: بیوپلیمر، زیست‌تخریب‌پذیر، بیوراکتور.

مقدمه

پلیمر یک کلمه یونانی متشکل از "پلی" به معنای تعداد زیاد و "مر" یعنی واحد می‌باشد. در واقع پلیمرها گروهی از مولکول‌های عظیم و بزرگ شامل واحدهای ساختمانی بوده که جهت تولید زنجیره‌های بلند، از طریق پیوند کووالانسی، به یکدیگر متصل می‌شوند. این واحدهای ساختمانی مونومر نامیده می‌شوند.

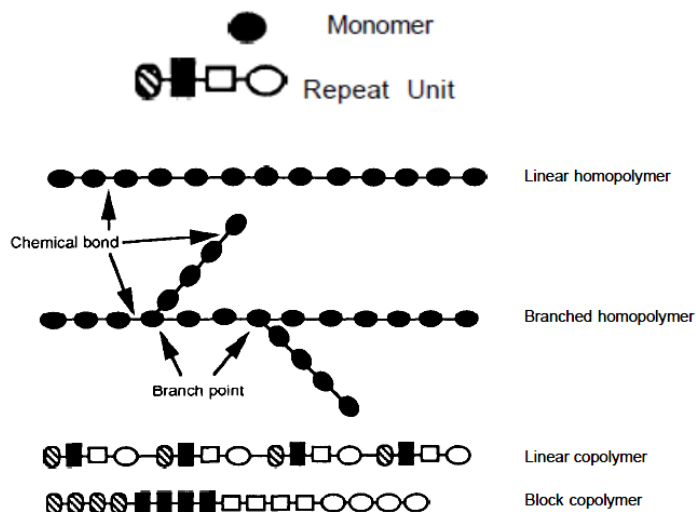
پلیمرها به صورت خطی، منشعب، شبکه‌ای یا

سه‌بعدی در مقیاس میکروسکوپی ظاهر می‌شوند (شکل ۱).

پلیمرهای خطی همانند مخلوط اسپاگتی و نامنظم بوده، پلیمرهای منشعب اغلب بوته‌ای می‌باشند و انواع مشبک، موهای کرک مانند است که دانه‌هایی درون آن استقرار دارند. تعدادی از پلیمرها قادرند به هر دو فرم خطی و منشعب وجود داشته باشند، که این ویژگی تنها به روش سنتز آنها بستگی دارد. ساده‌ترین نوع پلیمر، شکل خطی آن است که از تکرار

دو یا چند مونومر مختلف، به یکدیگر متصل شوند. همان‌طور که در شکل (۱) دیده می‌شود، کوپلیمر از اتصال چهار مونومر تشکیل شده است.

متناوب زیر واحدها تشکیل شده است. زیر واحدها می‌توانند یکسان، هموپلیمر یا متفاوت، هترو و کوپلیمر باشند. یک کوپلیمر زمانی تشکیل می‌شود که



شکل ۱- ساختارهای پایه پلیمرها

پلیمرهای امروزی که از مواد نفتی به دست می‌آیند، به محیط زیست برگشت‌پذیر هستند. بنابراین مواد آلوده کننده محیط زیست به شمار نمی‌آیند. در این خصوص مواد بیوپلیمری در ساخت پلاستیک‌ها به دو صورت مورد استفاده قرار می‌گیرند. اول استفاده از پلاستیک‌هایی که در آن‌ها یک ماده تخریب‌پذیر (مانند نشاسته) به یک پلاستیک متداول (مانند پلی‌اتیلن) اضافه می‌شود، در نتیجه این ماده به افزایش سرعت تخریب پلاستیک کمک می‌کند. این مواد چند سالی هست که وارد بازار شده‌اند و با آن که کمک زیادی به کاهش زباله‌های پلاستیکی کرده‌اند، اما به دلیل این‌که در آن‌ها از همان پلاستیک‌های متداول تخریب‌ناپذیر استفاده می‌شود و استفاده از مقدار زیادی مواد تخریب‌پذیر در پلاستیک ویژگی آن را تضعیف می‌کند، موقعیت چندان محکمی ندارند. دوم استفاده از پلاستیک‌های تخریب‌پذیر ذاتی است که به دلیل

پلیمرهای متداول امروزی از نفت خام ساخته می‌شوند، که با توجه به محدود بودن منابع نفتی و همچنین مشکلات زیست محیطی ناشی از آن‌ها، باید به تدریج با بیوپلیمرها که از منابع تجدید شونده ساخته می‌شوند، جانشین شوند.

بیوپلیمر از نظر بیوشیمیدان‌ها عبارت است از ماکرومولکول‌های بیولوژی که از تعداد زیادی زیر واحد کوچک و شبیه به هم که با اتصال کووالانسی به هم متصل شده‌اند و یک زنجیره طولانی را ایجاد می‌کنند، ساخته شده‌اند. در روند طبیعی، بیوپلیمرها و یا همان ماکرومولکول‌ها، ترکیبات داخل سلولی هستند که قابلیت زنده ماندن را به ارگانیسم در شرایط سخت محیطی می‌دهند. مواد بیوپلیمری در شکل‌های گوناگونی توسعه یافته‌اند، بنابراین ظرفیت استفاده در صنایع گوناگون را دارند. توسعه مواد بیوپلیمری به چند دلیل اهمیت دارد: اول این‌که این مواد بر خلاف

"خانی و همکاران، تاثیر نوع بیوراکتور در تولید بیوپلیمرهای میکروبی..."

را طی می‌کنند. سرعت و نوع تجزیه پلیمرها بر اساس انرژی مورد نیاز برای شکست پیوند و موقعیت پیوند، متفاوت است. پلیمرها با پیوندهای کووالانسی (C-C) بدون گروه‌های هیدرولیز شونده به زمان زیاد یا کاتالیزور جهت تجزیه شدن، احتیاج دارند.

در جدول (۱) مهمترین بیوپلیمرها، ساختار شیمیایی واحدهای مونومری و کاربردهای آنها در ارگانوسم زنده، ذکر شده است. به عنوان مثال، DNA که اطلاعات ژنتیکی سیستم‌های زنده را حمل می‌کند، یک کوپلیمر خطی، متشکل از چهار مونومر نوکلئوتیدی می‌باشد. نوکلئوتیدها در یک ستون مارپیچ حاوی قند و فسفات، با یکدیگر جفت می‌شوند. در حال حاضر، DNA از نظر صنعتی خیلی مورد توجه نمی‌باشد، اگرچه تحقیقاتی در زمینه تولید ترکیبات نانو به کمک این بیوپلیمر شروع شده است. در سال‌های اخیر، تحقیقات نشان داد که پلی‌پپتیدهای متنوعی که شبیه پروتئین‌های طبیعی بوده یافت شده است (۱).

پروتئین‌ها یا پلی‌پپتیدها، کوپلیمرهای پیچیده حاوی ۲۰ نوع اسید آمینه مختلف هستند. هر پروتئین دارای ترکیب شیمیایی و ساختار سه بعدی منحصر به فرد می‌باشد. واحدهای آمینواسیدی بر اساس کد ژنتیکی موجود در DNA، از طریق پیوند آمیدی، به دنبال یکدیگر قرار می‌گیرند.

پلی‌ساکاریدها، پلیمرها یا ماکرومولکول‌هایی حاوی قندهای ساده می‌باشند. این ترکیبات دو وظیفه عمده دارند. بعضی مانند نشاسته انرژی را برای فعالیت سلولی ذخیره کرده و بقیه از جمله سلولز نقش ساختاری ایفا می‌کنند. بعد از پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها بیشترین و پیچیده‌ترین گروه بیوپلیمر را تشکیل می‌دهند. زیرا پیوندهای موجود میان

ساختمان شیمیایی خاص به وسیله باکتری‌ها، آب یا آنزیم‌ها در طبیعت تخریب می‌شوند و خیلی سریع‌تر از نوع اول به محیط زیست برمی‌گردند، در درجه دوم اهمیت، مواد بیوپلیمری به وسیله موجودات زنده ساخته می‌شوند و در نتیجه در چرخه ساخت و تجزیه مواد بیولوژیک قرار می‌گیرند، پس هیچ‌گاه منابع آن محدود و تمام شدنی نیست، در حالی که مواد پلیمری و پلاستیکی امروزی از سوخت‌های فسیلی ساخته می‌شود که منابع آن محدود و تمام شدنی است. سومین مزیت بیوپلیمرها، اقتصادی بودن این مواد است. زیرا تولید بیوپلیمر نیاز زیادی به کارخانه و صنعت پیشرفته ندارد و با حداقل امکانات می‌توان به تولید آن مبادرت ورزید. همچنین قیمت بالای نفت خام، کشورها را به سوی استفاده از این مواد سوق داده است.

بیوپلیمرها خود به دو گروه عمده تقسیم می‌شود:

۱- بیوپلیمرهای که توسط سیستم‌های بیولوژیکی مانند میکروارگانوسم‌ها، گیاهان و حیوانات تولید می‌شوند.

۲- بیوپلیمرهایی که به صورت شیمیایی سنتز شده، ولی از مواد بیولوژیکی مانند اسیدهای آمینه، قندها، چربی‌ها یا روغن‌ها به دست می‌آیند.

همان‌طور که اشاره شد، این مواد توسط انواع موجودات زنده سنتز شده و بخش مهمی از اعمال اکوسیستمی را برعهده دارند. این پلیمرها به دلیل قابلیت تجزیه زیستی (biodegradable)، مجدداً توسط خود موجودات مصرف می‌شوند. به عبارتی طی روش‌های حفاظتی و اکولوژیکی مانند تولید کود، جذب در خاک و تیمارهای بیولوژیکی، تجزیه می‌شوند. در واقع این مواد، یک چرخه تولید و تجزیه

مونومرها، در وضعیت‌های مختلفی قرار می‌گیرند. اثر افزودن سایر مولکول‌ها، تحت تغییرات شیمیایی بیشتر پلی‌ساکاریدها، ساختارهای منشعب داشته و در قرار می‌گیرند (۱).

جدول ۱- بیوپلیمرهای طبیعی و عملکرد آن‌ها

پلیمر	مونومرها	عملکرد (ها)
اسیدهای نوکلئیک	نوکلئوتیدها	حامل اطلاعات ژنتیکی عام شناخته شده در همه ارگانیسم‌ها
پروتئین‌ها	اسیدهای آمینه	کاتالیزهای بیولوژیکی (آنزیم‌ها)، فاکتورهای رشد، رسپتور، هورمون‌ها (انسولین)، توکسین، آنتی‌بادی
پلی‌ساکاریدها	قندها	ساختمان گیاهان و ارگانیسم‌های عالی، ذخیره انرژی، ترشحات باکتریایی
پلی‌هیدروکسی آلکانوات	اسیدهای چرب	ذخیره انرژی میکروبی
پلی‌فنول	فنول‌ها	ساختمان گیاهی، ترکیبات خاک، مکانیسم دفاعی گیاهان
پلی‌فسفات	فسفات‌ها	ذخیره انرژی معدنی
پلی‌سولفات	سولفات‌ها	ذخیره انرژی معدنی

بیوپلیمرهای میکروبی

میکروارگانیسم‌های تولیدکننده بیوپلیمرها، در حدود ۸۰ سال قبل شناسایی شدند که برای نخستین بار بیوپلیمر پلی‌هیدروکسی بوتیرات از باکتری *باسیلوس مگاتریوم* تولید شد. از آن پس دانشمندان بیوپلیمر به دنبال یافتن راه‌هایی هستند که تولیدات بیوپلیمری باکتریایی را توسعه دهند و به صورت تجاری درآورند (۳). بیوپلیمرهایی که سلول‌های باکتریایی قادر به تولید آن هستند و از آن‌ها جداسازی شده‌اند، عبارتند از: پلی‌هیدروکسی آلکانوات، پلی‌لاکتیک اسید و پلی‌هیدروکسی بوتیرات. این بیوپلیمرها از نظر خصوصیات فیزیکی به پلیمرهای پلی‌استیلن و پلی‌پروپیلن شبیه هستند. بیوپلیمرهای میکروبی در

همان‌طوری که اشاره شد بیوپلیمرها می‌توانند از طریق چند مکانیزم مختلف تولید شوند. آن‌ها می‌توانند از سیستم‌های میکروبی مشتق شوند. همچنین می‌توانند از موجودات عالی مانند گیاهان و حیوانات استخراج شده و یا به صورت شیمیایی از واحدهای مونومری بیولوژیکی سنتز شوند. با توجه به مکانیزم تولیدی، بیوپلیمرها کاربردهای وسیعی را در برمی‌گیرند. بیوپلیمرهای در پزشکی، بسته‌بندی، مواد آرایشی، افزودنی‌های غذایی، پارچه لباس، مواد شیمیایی تصفیه آب، پلاستیک‌های صنعتی، جاذب، حسگرهای زیستی و حتی عناصر ذخیره‌سازی اطلاعات توسعه یافته‌اند. در جدول (۲) یک لیست جزئی از بیوپلیمرهایی که در حال حاضر استفاده می‌شوند، آورده شده است (۲).

"خانی و همکاران، تاثیر نوع بیوراکتور در تولید بیوپلیمرهای میکروبی..."

طبیعت به عنوان ترکیبات داخل سلولی میکروب‌ها یافت می‌شوند و بیشتر زمانی که باکتری‌ها در شرایط نامساعد محیطی قرار می‌گیرند، اقدام به تولید این مواد می‌کنند. این مواد در حالت طبیعی به عنوان یک منبع انرژی راحت و در دسترس عمل می‌کنند (۴). همچنین هنگامی که محیط اطراف باکتری غنی از کربن باشد و از نظر دیگر مواد غذایی مورد استفاده باکتری دچار کمبود باشد، باکتری اقدام به ساخت بیوپلیمرهای یاد شده می‌کند. باکتری‌ها برای ساختن بیوپلیمرهای مانند پلی‌هیدروکسی آلکانوات و پلی‌هیدروکسی بوتیرات از واکنش‌های تخمیری استفاده می‌کنند که در این واکنش‌ها نیز از مواد خام گوناگونی استفاده می‌شود. پلی‌هیدروکسی بوتیرات به وسیله یک باکتری به نام *استافیلوکوکوس پیدرمیس* ساخته می‌شود که روی تفاله‌های حاصل از واکنش‌های روغن‌گیری دانه‌های کنجد رشد می‌کند و این بیوپلیمر را می‌سازد. پلی‌هیدروکسی بوتیرات در درون سیتوپلاسم باکتری به صورت دانه‌های ذخیره‌ای (اینکلوژن بادی) ذخیره می‌شود که این مواد را به وسیله سانتریفیوژ و واکنش‌های شست‌وشوی چند مرحله‌ای می‌توان استخراج و خالص‌سازی و از آن استفاده کرد (۵). بیوپلیمرهای تولیدی توسط میکروب‌ها با توجه به

محل اقامتشان در سلول به سه گروه اصلی طبقه‌بندی می‌شوند (۶):

- ۱- بیوپلیمرهای سیتوپلاسمی: این بیوپلیمرها کربن و انرژی لازم سلول را فراهم می‌کنند.
- ۲- بیوپلیمرهای تشکیل دهنده دیواره سلولی: پپتید و گلیکان‌ها، تیکوئیداسید و لیپولی ساکاریدها.
- ۳- آگروبیوپلیمرها: بیوپلیمرهایی هستند که از سلول به محیط ترشح می‌شوند.

اکثر بیوپلیمرهای تولیدی، خارج سلولی هستند که بیوستز آگروبیوپلیمرها را می‌توان به سه فاز اصلی تقسیم کرد (۷): جذب یک سوسترای کربنی، سنتز درون سلولی بیوپلیمر، ترشح بیوپلیمر تولید شده از سلول به محیط.

بیوپلیمرها در موارد مختلفی به سلول‌ها کمک می‌کنند، آن‌ها از سلول در مقابل فشارهای زیستی مانند رقابت و همچنین فشارهای غیرزیستی مانند دما، شدت نور و pH محافظت می‌کنند. تنوع گسترده بیوپلیمرهای میکروبی با خواص فیزیکی و شیمیایی متنوع، شرایط امید بخشی را برای صنعت فراهم آورده است. تنها دو بیوپلیمر خارج سلولی برای استفاده در صنایع غذایی در آمریکا و اروپا مجاز شناخته می‌شوند که آن دو زانتان و ژلان می‌باشند.

جدول ۲- بیوپلیمرهای کاربردی

پلی استرها	پلی ساکاریدها (گیاهی)
پلی هیدروکسی آلکانوات‌ها	نشاسته (آمیلوز/ آمیلو پکتین)
پلی لاکتیک اسید	سلولز
پروتئین‌ها	آگار
ابریشم	آلژینات
کلاژن/ ژلاتین	کاراژنان
الاستین	پکتین
رزیلین	کنجاک (Konjac)
چسب‌ها (Adhesives)	انواع صمغ‌ها (مانند گوار)
پلی آمینو اسیدها	پلی ساکاریدها (حیوانی)
سویا، زین، گلوتن گندم، کازئین، سرم آلبومین	کتین/کتوسان
پلی ساکاریدها (میکروبی)	هیالورونیک اسید
زانتان	لیپیدها/سورفکتانت‌ها
دکستران	استوگلیسریدها، موم‌ها، سورفکتانت‌ها امولسان
ژلان	پلی فنول
لوان	لیگنین
کشک یان (Curd Ian)	تانین
پلی گالاکتوز آمین	هیومیک اسید
سلولز (میکروبی)	پلیمرهای خاص
پلی ساکاریدهای (فارچی)	لاک مخصوص الکل (Shellac)
پولولان	پلی گاما گلوتامیک اسید
الزینان (Elsinan)	لاستیک طبیعی
مخمر گلوکان	پلیمرهای سنتزی از چربی‌ها و روغن‌های طبیعی
	(مانند، نایلون از روغن کرچک)

تولید بیوپلیمر توسط میکروب‌ها مزیت‌های زیر را خواهد داشت:

- ۱- مقداری از بیوپلیمر که در طول ۳ تا ۶ ماه از گیاه می‌توان استحصال کرد را در یک روز توسط میکروارگانیزم می‌توان تولید کرد.
- ۲- عدم نیاز به انرژی خورشید در مقایسه با تولید توسط میکروجلبک

باتوجه به علاقه روبه‌رشد استفاده از منابع تجدیدپذیر، تحقیقات صنعتی به ویژه در بخش سوخت‌های زیستی که به تولید بیواتانول می‌انجامد، بطور فزاینده‌ای با ترکیب کردن و استفاده از بیوپلیمرها مرتبط است. برخی میکروارگانیزم‌ها توانایی تولید و ترشح بیش از ۴۰ گرم بر لیتر بیوپلیمر را در شرایط استرس دارند (۸).

"خانی و همکاران، تاثیر نوع بیوراکتور در تولید بیوپلیمرهای میکروبی..."

- ۳- امکان استفاده از منابع کربن ارزان قیمت مانند گلیسرول، هیدروکربن‌های باقی مانده و CO₂ (۹).
- ۴- عدم اشغال زمین‌های زراعی
- ۵- بازیابی آسان محصول به دلیل ترشح طبیعی بیوپلیمر توسط اغلب میکروب‌های تولید کننده (۱۰).
- معایب و یا فاکتورهای اصلی محدود کننده تولید بیوپلیمر توسط میکروارگانیسم‌ها، مربوط به اقتصاد
- فرآیند است. هزینه‌های اصلی فرآیند، مربوط به خرید سوسترهای گران قیمت در برخی موارد و دستیابی به زیرساخت‌های مورد نیاز فرآیند مانند خرید بیوراکتور و حفظ شرایط استریل می‌باشد (۱۱). در جدول (۳) گونه‌های میکروبی تولید کننده چند بیوپلیمر مهم و کاربردی آورده شده‌اند (۱۲ و ۱۳ و ۱۴ و ۱۵ و ۱۶).

جدول ۳- بیوپلیمرهای اصلی تولید شده توسط میکروب‌ها

بیوپلیمر	گونه میکروبی
سلولز	استوباکتر زیلیوم (<i>Acetobacter xillium</i>)
پولولان	آئروباژیدیوم پولولانس (<i>Auerobasidium pullulans</i>)
زانتان	زانتاموناس کمپستریس (<i>Xanthomonas compestris</i>)
لوان	زیموناس موبایلیس (<i>Zymonas mobilis</i>)
ژلان	سودوموناس الودئا (<i>Pseudomonas elodea</i>)
دکستران	لئوکوموستوک (<i>Leucomostoc</i>)
کوردلان	آگروباکتریوم رادیوباکتر (<i>Agrobacterium radiobacter</i>)
آلژینات	سودوموناس آنروژینا (<i>Pseudomonas auerozhyna</i>)
هیالورونیک اسید	استرپتوکوکوس زوئه پیدمیکوس (<i>Streptococcus zooepidemicus</i>)

بیوراکتورها

واژه بیوراکتور به هر ظرفی که در آن فرآیند شیمیایی زیستی استفاده کننده از سلول گیاهی، جانوری، میکروبی یا بخشی از موجود زنده مانند آنزیم برای تولید اقتصادی صورت پذیرد، اطلاق می‌شود (۱۷). استفاده از توانایی‌های میکروارگانیسم‌ها، در خدمت به بشر به هزاران سال پیش برمی‌گردد. شاید اولین استفاده از میکروارگانیسم‌ها را بتوان به تولید آب‌جو توسط سومریان در ۶۰۰۰ سال قبل از میلاد نسبت داد (۱۸). در آن زمان انسان بدون آن‌که از مفهوم واکنش زیستی آگاه باشد، از آن بهره می‌برد. تولید نان، پنیر، شراب و آب‌جو از طریق تخمیر سنتی، بیشتر مدیون

با توجه به این‌که بیوراکتور مرکز انجام اکثر فرآیندهای بیوشیمیایی می‌باشد، یکی از محیط‌های مناسب و کنترل شده برای کشت میکروارگانیسم‌ها و تولید محصولات بیولوژیکی است. بخصوص در تولید محصولات بیوپلیمری که باعث افزایش ویسکوزیته محیط کشت می‌شود، استفاده از بیوراکتورها برای اکسیژن‌رسانی بهتر و یکنواختی محیط بسیار مناسب است. با توجه به اهمیت بیوراکتورها در فرآیندهای بیوشیمیایی، در ادامه به مختصری در مورد بیوراکتورها و انواع آن می‌پردازیم و در خاتمه نیز به تاثیر نوع بیوراکتور در تولید بیوپلیمر میکروبی پرداخته می‌شود.

تصادف بود تا طراحی منطقی. لوئی پاستور، شیمیدان و میکروب‌شناس فرانسوی، اولین فردی بود که توانست دانشمندان را نسبت به نقش انکارناپذیر میکروارگانیسم‌ها در فرآیند تخمیر الکلی متقاعد سازد. او کشف کرد که تخمیر در نتیجه‌ی فعالیت یک موجود زنده میکروسکوپی به نام مخمر انجام می‌شود و وجود میکروب‌های ناخواسته موجب اختلال در تولید الکل می‌شود. او با حذف این میکروب‌های ناخواسته تولید الکل را بهبود بخشید. کار پاستور را می‌توان پایه و اساس طراحی بیوراکتورها دانست، زیرا شناسایی و درک فرآیند، لازمه کنترل فرایند است (۱۹).

نقش اصلی یک بیوراکتور خوب طراحی شده، فراهم کردن یک محیط کنترل شده به منظور دستیابی به شرایط بهینه‌ی رشد و یا تولید محصول است. محصولات بیوراکتورها ناشی از یکی از سه فرآیند اصلی زیر هستند:

۱- فرآیندهایی که در آن محصول، توسط سلول به صورت داخل سلولی یا خارج سلولی تولید می‌شود. محصولات سلولی برحسب زمان تولیدشان به دو دسته متابولیت‌های اولیه و ثانویه تقسیم می‌شوند.

۲- فرآیندهایی که در آن‌ها کشت سلول و توده‌ی زیستی هدف است.

۳- فرآیندهایی که در آن‌ها ترکیب افزوده شده به بیوراکتور تغییر داده می‌شود. این فرآیندها دگرگون‌سازی زیستی (Biotransformation) نامیده می‌شود. دگرگون‌سازی زیستی اغلب به وسیله توانایی آنزیمی ذاتی سلول‌ها انجام می‌شود. انواع سلول‌ها می‌توانند برای کاتالیز زیستی دگرگون‌سازی یک ماده‌ی خاص از طریق دهیدراسیون، اکسیداسیون،

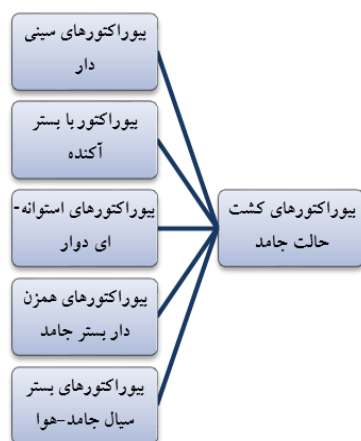
هیدروکسیلاسیون، آمیناسیون، ایزومراسیون و ... استفاده شوند (۱۹ و ۲۱).

اولین بیوراکتور استاندارد پذیرفته شده، یک تانک همزن‌دار بود که در شرایط سترون اجرا می‌شد (۲۰). در فاصله‌ی سال‌های ۱۹۰۰ تا ۱۹۴۰ محصولات اصلی تولید شده شامل: توده‌ی زیستی مخمر، گلیسرول، اسید سیتریک و ... بود. عمده‌ترین توسعه در این سال‌ها تولید مخمر نان و حلال‌های آلی بوده است. در خلال جنگ جهانی دوم و با توجه به ضرورت‌های آن دوره، تولید آنتی‌بیوتیک در شرایط غوطه‌ور و به طور کامل سترون انجام شد. تولید پنی‌سیلین فرآیندی هوازی و نسبت به آلودگی بسیار حساس و آسیب‌پذیر است. پس از مدت‌ها تلاش، اولین واحد صنعتی تولید پنی‌سیلین به روش تخمیر غوطه‌ور راه افتاد. موفقیت‌های به دست آمده در زمینه‌ی تولید پنی‌سیلین، پایه و اساس توسعه‌ی فرآیندهای جدید و تولید محصولات جدیدی مانند: سایر آنتی‌بیوتیک‌ها، ویتامین‌ها، ژیرلین، اسیدهای آمینه و آنزیم‌ها شد و به تدریج تجهیزات واحد نیمه صنعتی (Pilot-plant facilities) به منظور آزمودن فنون و فرآیندهای جدید در مقیاس نیمه صنعتی راه‌اندازی شد. توسعه‌ی روش‌های دست‌ورزی ژنتیکی، بیان ژن‌های انسانی و پستانداران را در میکروارگانیسم‌ها ممکن ساخت و به این ترتیب تولید پروتئین‌های انسانی در مقادیر زیاد ممکن شد (۲۲).

در بیوراکتورها، از گستره‌ی وسیعی از ارگانیسم‌ها یا کشت‌های بافت که از نظر نیازهای رشد و تولید متفاوت‌اند استفاده می‌شود. برآورده کردن این نیازها و شرایط خاص گاهی می‌تواند مشکل‌ساز باشد. علاوه بر این نتایج مقیاس آزمایشگاهی نیاز به بزرگ‌نمایی

"خانی و همکاران، تاثیر نوع بیوراکتور در تولید بیوپلیمرهای میکروبی..."

برای پردازش داده‌ها، کنترل و ایجاد مدل‌های مناسب بهبود می‌یابد (۲۶ و ۲۱). در طراحی یک بیوراکتور باید نیازها و ویژگی‌های هر ارگانیسم در نظر گرفته شود. برای مثال باکتری‌ها و مخمرها اغلب به اکسیژن بالایی نیاز دارند، قارچ‌ها از جمله استریتوماست‌ها به دلیل رشد منشعب و رشته‌ای در همزدن مشکل ایجاد می‌کنند، جلبک‌ها اغلب به نور زیادی نیاز دارند، بافت‌های گیاهی و جانوری به تنش بسیار حساسند (۱۸ و ۲۰). انواع بیوراکتورها در دو گروه به صورت شکل ۲ طبقه بندی می‌شوند.



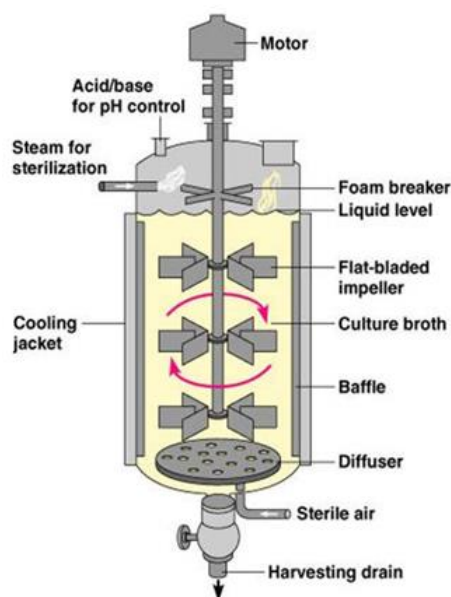
شکل ۲- انواع بیوراکتورها

و انتقال جرم بهتر مواد در محلول‌های گرانیو ناشی از غلظت بالای سلولی و ... منجر می‌شود. ولی در کنار این اثرات مثبت، همزن مکانیکی، تنش برشی به نسبت زیادی ایجاد می‌کند که برای سلول‌ها مضر است.

برای حجم‌های زیاد دارد که با در نظر گرفتن ملاحظات اقتصادی، بهداشتی و ایمنی، همواره به راحتی قابل انجام نیست. بیوراکتور را نباید یک واحد مجزا در نظر گرفت، بلکه باید به عنوان بخشی از عملیات واحد دارای فرآیندهای بالادستی و پایین‌دستی به حساب آورده شود (۱۹). عملکرد هر بیوراکتور تابع عوامل مختلفی از جمله غلظت توده‌ی جرمی، شرایط سترون، هوادهی، اختلاط، تبادل گرما و ... است. فرآیند بهینه‌سازی یک سیستم، با درک بیشتر بیوشیمی و فیزیولوژی ارگانیسم، استفاده از رایانه



رایج‌ترین نوع بیوراکتور هوازی امروزی، بیوراکتور زیستی تانک همزن دار است (شکل ۳) (۱۹). این بیوراکتورها نسبت به بیوراکتورهای رانده شده با نیروی محرکه گاز (اغلب هوا)، نیروی بیشتری را می‌توانند به محیط اعمال کنند، که این امر به اختلاط

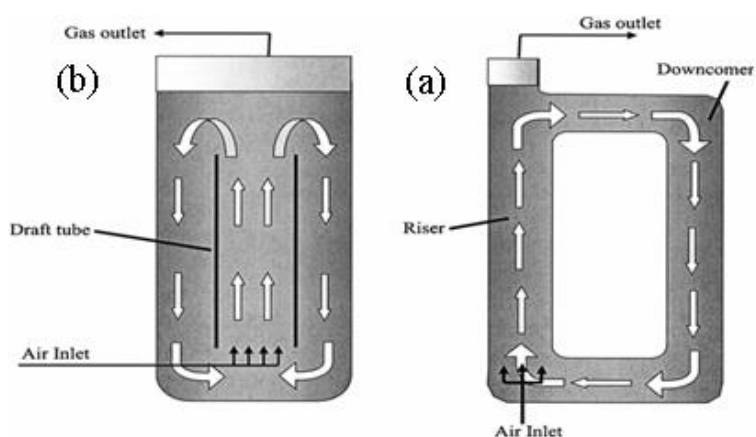


شکل ۳- بخش‌های یک بیوراکتور همزن‌دار

می‌آید.

بیوراکتورهای زیستی با هواگردنده برحسب نوع گردش مایع همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده شده است، به دو دسته با حلقه داخلی (AILR) و حلقه خارجی (AELR) تقسیم می‌شوند (۲۵ و ۱۸).

همچنین بیوراکتور زیستی هواگرد نیز یکی از پرکاربردترین بیوراکتورها در صنایع می‌باشد. این بیوراکتور دارای یک ستون است که به دو ناحیه تقسیم شده است: ناحیه بالا رونده (Riser) که در آن گاز فاز مایع را بالا می‌راند و ناحیه پایین‌آورنده (Downcomer) که در آن فاز مایع و کمی گاز پایین



شکل ۴- بیوراکتورهای زیستی هواگرد (a) جریان حلقوی داخلی با لوله درافت (b) جریان حلقوی خارجی

"خانی و همکاران، تاثیر نوع بیوراکتور در تولید بیوپلیمرهای میکروبی..."

تاثیر نوع بیوراکتور در تولید بیوپلیمر

انتقال از مقیاس ظروف شیکر (shake flask) به بیوراکتورها یک گام بحرانی در فرآیندهای افزایش مقیاس است. بخصوص در تولید محصولات بیوپلیمری که باعث افزایش ویسکوزیته محیط کشت می شود. همچنین فرآیند تولید اقتصادی بیوپلیمر علاوه بر ظرفیت تولید گونه خاص، به فرآیندهای فرمتوری و سوبستراهای موجود بستگی دارد. در سال ۲۰۰۴ ال. سلیمن و همکارانش (۲۷) به بررسی تولید بیوپلیمر بتاگلوکان توسط سویه *Botryosphaeria rhodina* در انواع بیوراکتورها پرداختند. در این آزمایش از سه نوع بیوراکتور با شرایط عملیاتی زیر استفاده شد:

۱- STR: راکتور همزن دار ۳ Lit مجهز به دو همزن توربینی ۶ تیغه با قطر ۴۵ mm که تیغه نوع راشتون در ته ظرف و تیغه نوع جریان محوری در بالا ظرف قرار

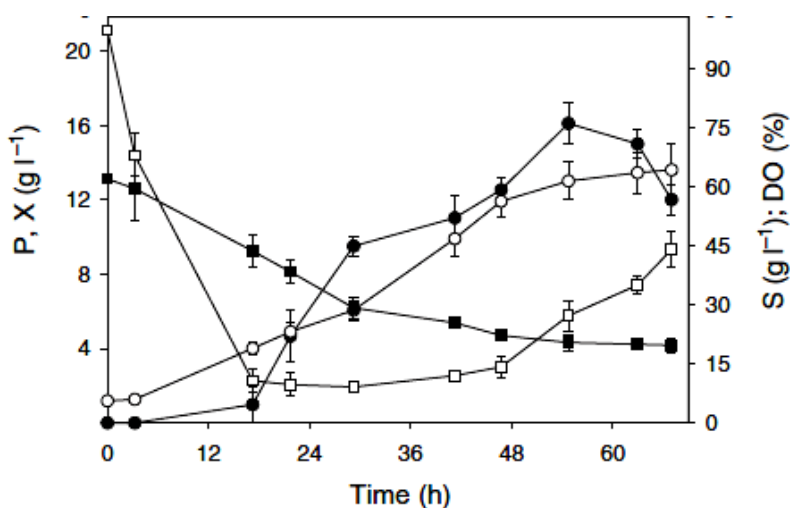
دارد.

۲- STR2: راکتور با شرایط راکتور STR1، ولی با همزن پروانه ای ۳ تیغه با قطر ۴۵mm و یک لوله درافت با قطر ۸۰mm است.

۳- Air lift: با لوپ خارجی با حجم ۲ Lit که شامل استوانه شیشه ای با قطر ۶۵mm در پایین، قطر ۹۵mm در بالا و ارتفاع ۳۰۰mm.

تولید بتاگلوکان در STR1

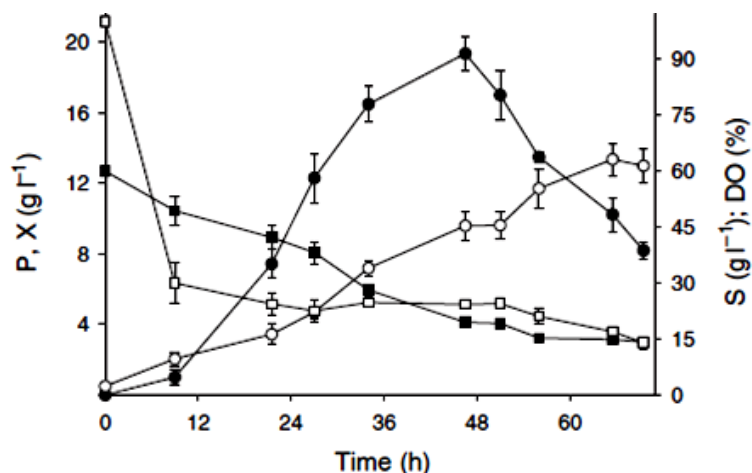
در این نوع راکتور که شامل ۲ تیغه مختلف است، ابتدا دور همزن ۳۰۰ rev/min بررسی شد و همچنین سرعت هوادهی ۱ vvm در دمای ۲۸°C کنترل شده است. با توجه به شکل (۵)، مقدار ماکزیمم تولید بتاگلوکان در مدت زمان ۵۴h، برابر ۱۶,۱g/l بوده است. در این نمودار درصد DO به سرعت، به مینیمم مقدار خود، یعنی ۹,۱٪، کاهش یافته و سپس افزایش یافته که انتظار می رود در تطابق با فاز ساکن باشد.



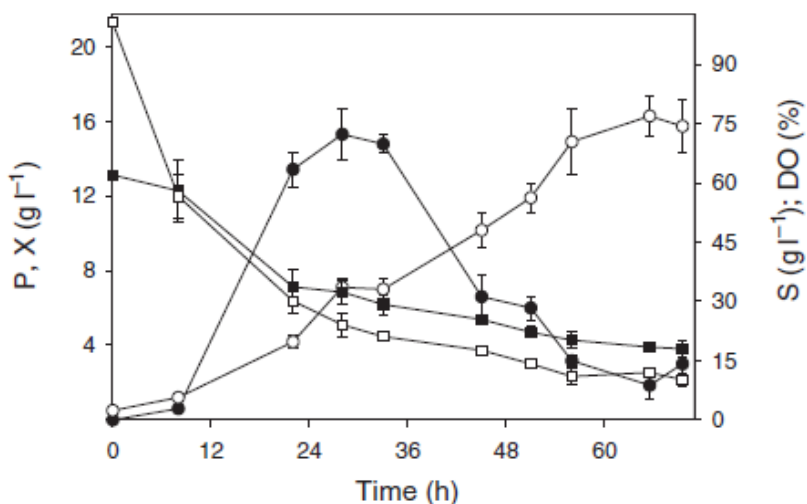
شکل ۵- زمان کشت در دور ۳۰۰ rev/min بر حسب غلظت سلول (X, O)، بتا گلوکان (P, ●)، اکسیژن محلول (DO, □)، گلوکز باقیمانده (S, ■).

با افزایش دور همزن از ۵۰۰ به ۷۰۰ rev/min تولید محصول کاهش یافته و به مقدار ۱۵,۳ g/l رسیده است (شکل ۷). در اینجا هم درصد DO به آهستگی کاهش یافته و در پایان زمان کشت به ۱۰ درصد رسیده است.

در شکل (۶) با افزایش دور همزدن به ۵۰۰ rev/min مقدار تولید بتاگلوکان به ۱۹,۴ g/l افزایش یافته است. در اینجا درصد DO به آهستگی کاهش یافته و در پایان زمان کشت به ۱۰ درصد رسیده است.



شکل ۶- زمان کشت در دور ۵۰۰ rev/min بر حسب غلظت سلول (X, ○)، بتا گلوکان (P, ●)، اکسیژن محلول (DO, □)، گلوکز باقیمانده (S, ■)



شکل ۷- زمان کشت در دور ۷۰۰ rev/min بر حسب غلظت سلول (X, ○)، بتا گلوکان (P, ●)، اکسیژن محلول (DO, □)، گلوکز باقیمانده (S, ■)

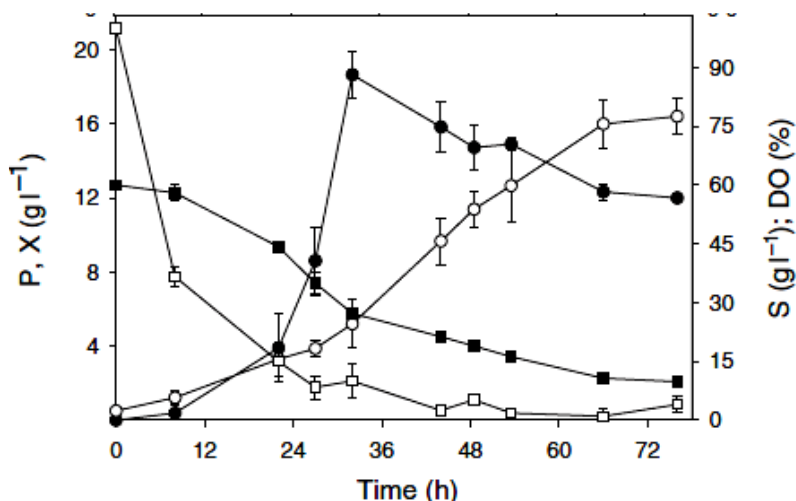
تولید بتاگلوکان در STR2

دررفت استفاده شده است. همانطور که در شکل (۸) نشان داده شده است، در دور همزدن ۵۰۰ rev/min

در این نوع راکتور، از پروانه ۳ تیغه همراه با لوله

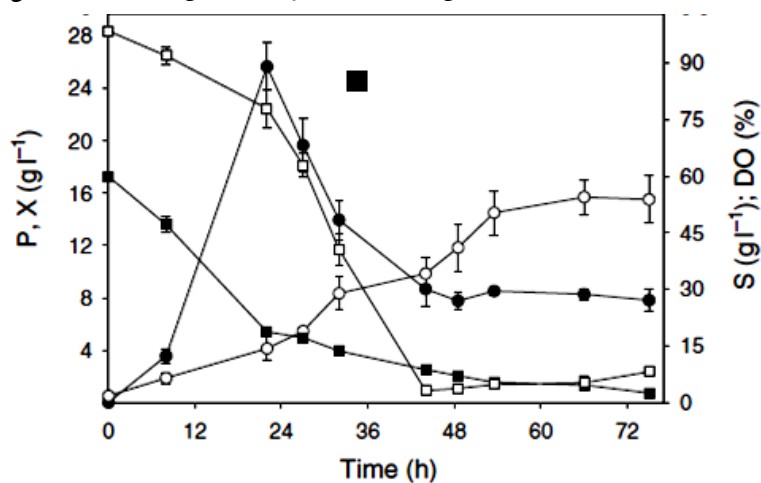
"خانی و همکاران، تاثیر نوع بیوراکتور در تولید بیوپلیمرهای میکروبی..."

تولید بتاگلوکان به 18.7 g/l که تقریباً با مقدار محصول STR1 برابر است، ولی زمان رسیدن به ماکزیمم محصول کمتر شده و به 32 h به جای 46 h رسیده و مقدار درصد DO محیط نیز، با رشد سلول به زیر ۵ درصد کاهش یافته است.



شکل ۸- زمان کشت در دور 500 rev/min در STR2 بر حسب غلظت سلول ($\circ, X$), بتا گلوکان ($\bullet, P$), اکسیژن محلول ($\square, \text{DO}$), گلوکز باقیمانده ($\blacksquare, S$)

تولید بتاگلوکان در Air lift در راکتور ایرلیفت با لوپ خارجی تولید بتاگلوکان بعد از 22 h به مقدار 25.7 g/l رسیده است. در این مدت زمان 68.8% گلوکز مصرف شده در حالی درصد DO محیط فقط به ۷۸ درصد رسیده و بعد از آن DO به سرعت کاهش یافته است (شکل ۹).



شکل ۹- زمان کشت در راکتور ایرلیفت بر حسب غلظت سلول ($\circ, X$), بتا گلوکان ($\bullet, P$), اکسیژن محلول ($\square, \text{DO}$), گلوکز باقیمانده ($\blacksquare, S$)

نتایج ال.سلبمن و همکارانش

در راکتور STR1 سه دور همزدن متفاوت بررسی شد و نشان داد که افزایش دور تا ۵۰۰ rev/min باعث آزاد شدن گلوکان بیشتری از دیواره سلولی می‌شود و اختلاط هم به خوبی انجام شده است، اما با افزایش دور تا ۷۰۰ rev/min که تنش زیادی ایجاد شده و باعث خسارت به سلول می‌شود، مقدار تولید محصول کاهش یافته است. بنابراین انتخاب یک دور همزدن مناسب، که هم تنش پایین باشد و هم اختلاط به خوبی انجام شود، ضروری است. در این مطالعه

همان‌طور که دیده شد با افزایش سرعت همزدن تا ۷۰۰ rev/min تولید محصول را زیاد نمی‌کند و در حقیقت مقدار DO کمتر از مقدار جذب شده در دور ۵۰۰ است. همچنین در راکتور ایرلیفت در زمان کم، محصول زیادی تولید شده و انتقال جرم و همزدن به خوبی انجام شده است. مقدار DO ۷۸ درصد جذب شده، نشان دهنده اختلاط بسیار خوب است (جدول ۴). بنابراین این نوع راکتورها نسبت به نوع STR، به علت پیچیدگی مکانیکی کمتر و همچنین مصرف انرژی کمتر، مناسب‌تر هستند (۲۷).

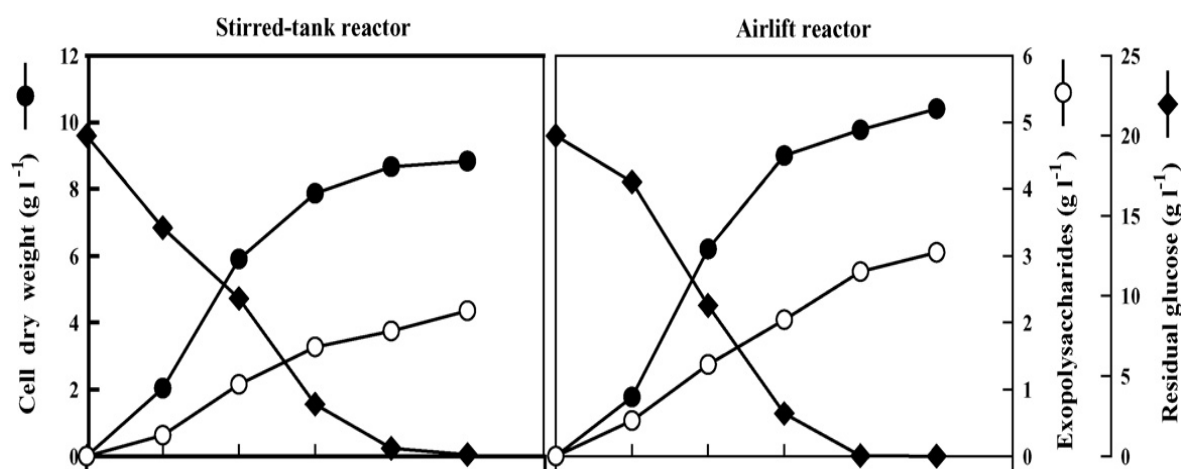
جدول ۴- نتایج ال.سلبمن و همکارانش

Reactor	$T_{\max}$ (h)	P (g l^{-1})	X (g l^{-1})	r_p ($\text{g l}^{-1} \text{h}^{-1}$)	η_s (%)	$Y_{P/S}$ (g g^{-1})	$Y_{P/X}$ (g g^{-1})
STR-1	46	19.4 ± 0.9^a	9.6 ± 0.8^a	0.42 ± 0.03^a	67.5	0.48 ± 0.01^a	2.02 ± 0.25^a
STR-2	32	18.7 ± 1.2^a	5.5 ± 0.6^b	0.58 ± 0.07^a	54.6	0.57 ± 0.03^a	3.40 ± 0.26^b
ALR	22	25.7 ± 1.8^b	4.1 ± 0.5^b	1.17 ± 0.09^b	68.8	0.62 ± 0.05^a	6.24 ± 0.44^c

همچنین یون جای‌چو و همکارانش (۲۸) در سال ۲۰۰۶ به مقایسه تولید آگروپلی‌ساکارید از گونه *Tremella fuciformis* پرداختند. در اینجا برای مقایسه از یک راکتور ایرلیفت ۵ Lit با شرایط یکسان راکتور STR (حجم کاری ۵ لیتر، دما ۲۸°C، سرعت هوادهی ۲vvm، سرعت همزدن ۲۰۰ rpm و pH=۸) استفاده شده است. در راکتور STR چون از همزن مکانیکی استفاده می‌شود، باعث ایجاد تنش در محیط و آسیب رساندن به سلول می‌شود و در راکتور ایرلیفت، چون

همزن مکانیکی نداریم، بنابراین اثرهای تنش کمتر از STR است. با توجه به شکل (۱۰) در راکتور ایرلیفت غلظت سلول و EPS تولیدی به ترتیب ۱۰,۳۰ g/l و ۳,۰۵ g/l در مدت پنج روز بوده است. در جدول (۵) نیز همه پارامترهای سینتیکی در راکتور ایرلیفت با STR مقایسه شده است و نشان می‌دهد که این پارامترها در ایرلیفت مقادیر بیشتری را دارند. در مقایسه بین راکتور STR و ایرلیفت نتایج نشان داده که راکتور Airlift مناسب‌تر است (۲۸).

"خانی و همکاران، تاثیر نوع بیوراکتور در تولید بیوپلیمرهای میکروبی..."



شکل ۱۰- نمودار مقایسه غلظت وزن خشک سلولی، EPS، گلوکز باقیمانده در بیوراکتور ایرلیفت و STR

جدول ۵- پارامترهای سینتیکی برای راکتور STR و ایرلیفت

Kinetic parameters	Stirred-tank reactor	Airlift reactor
Specific growth rate, μ (d^{-1})	0.19	0.21
Maximum cell mass, $X_{\max}$ (g L^{-1})	8.83	10.40
Maximum EPS, $P_{\max}$ (g L^{-1})	2.18	3.05
Specific consumption rate of substrate, $Q_{S/X}$ ($\text{g g}^{-1} \text{d}^{-1}$)	0.40	0.41
Specific production rate of EPS, $P_{P/X}$ ($\text{g g}^{-1} \text{d}^{-1}$)	0.05	0.06
Yield of EPS on substrate, $Y_{P/S}$ (g g^{-1})	0.13	0.15

نتیجه گیری

پلیمرهای متداول امروزی از نفت خام ساخته می شوند که با توجه به محدود بودن منابع نفتی باید به تدریج با بیوپلیمرها که از منابع تجدید شونده ساخته می شوند، جانشین شوند. با توجه به این که بیوپلیمرها از موجودات زنده از قبیل گیاهان، جانداران و میکروارگانیسم ها به طور طبیعی تولید می شوند و از لحاظ زیست محیطی نیز تجزیه پذیر هستند، بسیار مناسب می باشند. این مواد بخش مهمی از اعمال اکوسیستمی را برعهده دارند. بیوپلیمرها به دلیل

قابلیت تجزیه زیستی، مجدداً توسط خود موجودات مصرف می شوند. به عبارتی طی روش های حفاظتی و اکولوژیکی مانند تولید کود، جذب در خاک و تیمارهای بیولوژیکی، تجزیه می شوند. در واقع این مواد، یک چرخه تولید و تجزیه را طی می کنند. امروزه مواد بیوپلیمری در شکل های گوناگونی توسعه یافته اند، بنابراین ظرفیت استفاده در صنایع گوناگون را دارند. به منظور استفاده از بیوپلیمرها در صنایع نیاز به تجاری کردن فرآیند تولید و همچنین بهینه کردن تولید آنها است. تجاری کردن فرآیند تخمیری، مستلزم

است، نوع بیوراکتور مورد استفاده نیز در تولید بیوپلیمر تاثیرگذار است. با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه بیوراکتور ایرلیفت مناسب‌ترین بیوراکتور برای تولید بیوپلیمر می‌باشد. در راکتور ایرلیفت چون همزن مکانیکی نداریم، بنابراین اثرهای تنش و آسیب رسیدن به سلول کمتر است. در نتیجه سلول بیشتر رشد کرده و محصول بیشتری تولید می‌شود.

اقتصادی کردن فرآیند و کاستن هزینه‌ها است. محصولات بیوپلیمری تولیدی توسط باکتری‌ها گستره‌ی وسیعی از مواد با ارزش و مقرون به صرفه را با کاربردهای گسترده در داروسازی و صنایع غذایی بدست می‌دهد که هیچ گونه مشکلی از لحاظ سمیت و مضر بودن در مورد آن‌ها شناخته نشده است. همچنین باتوجه به این‌که نقش اصلی یک بیوراکتور خوب، فراهم کردن یک محیط کنترل شده به منظور دستیابی به شرایط بهینه‌ی رشد و یا تولید محصول

References

فهرست منابع

- 1- **R.C. Hardman, (1993).** Biopolymer: Making materials nature's way, Office of Technology Assessment.
- 2- **David L Kaplan (1994).** "Naturally Occurring Biodegradable Polymers," G Swift and R Narayan (eds), Polymer Systems-Synthesis and Utility (New York, NY Hanser Publishing, forthcoming)
- 3- **Jonas R., Farrah L.F., (1998).** Production and application of microbial cellulose. Polymer Degradation and Stability, 59,101-106.
- 4- **Pichavant L., (2009).** Synthese et reactivite de monomere issus de ressources renouvelables pour la polymerization radicalaire.Ph.D. Thesis. Technologieet Santé (p.259). Reims: Universite de Reims Champagne-Ardenne.
- 5- **Reddy N., Yang, Y., (2005).** Biofibers from agricultural by products for industrial applications. Trends in Biotechnology, 23(1), 22-27.
- 6- **Donotaba F., Fontanaa b.A., Baccoua J.C., Schorr-Galindo S., (2012).** Microbial exopolysaccharides: Main examples of synthesis, excretion, geneticsandextraction Carbohydrate Polymers, 87, 951-962.
- 7- **Vandamme E.J., De Baets, S., Steinbuchel, E., (2002).** Biopolymers, Polysaccharides I Polysaccharides from prokaryotes, Wiley-VCH.
- 8- **Lin, E.S. & Chen Y.H. (2007).** Factors affecting mycelial biomass and exopolysaccharides production in submerged cultivation of *Antorida cinnamomea* using complex media. Bioresource Technology, 98(13), 2511-2517.
- 9- **López, C.G., Fernández, F.A., Sevilla, J.F., Fernández, J.S., García, M.C. and Grima, E.M., (2009).** Utilization of the cyanobacteria *Anabaena* sp. ATCC 33047 in CO₂ removal processes. *Bioresource technology*, 100(23), pp.5904-5910.
- 10- **Bejar V., Llamas I., Calvo C., Quesada E., (1998).** Charactrization of exopolysaccahredes produced by 19 halophilic strains of the species *Halomonas eurihalina*. *Journal of biotechnology*, 61(2), 135-141.
- 11- **Dudman W.F., (1977).** The role of surface polysaccharides in natural enviroments. In I. W. Sutherland (Ed.), *Surface carbohydrates of the prokaryotic cell*, 357-454.

- 12- **Leonardo S.M., Gill M. C., Delgadillo I. (2003).** Partial characterisation of exopolysaccharides exudated by planktonic diatoms maintained in batch culture. *Acta Oecologic*, 24, 49- 55.
- 13- **Emtiazi J., Etemadifar Z., Tavassoli, M., (2013).** A novel nitrogen- fixing cellulyticbacterium associated with root of corn is a candidate for production of single cell protein. *Biomass and Bioenergy*, 25(4), 423-426.
- 14- **Stredansky M., Conti E., Bertocchi C., Matullova M., Zanetti F. (1998).** Succinogly can production by agrobacterium tumefaciens. *Journal of ferementation and bioengineerinf.* 85 (4), 398- 403.
- 15- **Shih I. L., Chen L. D., Wu J. Y., (2010).** Levan production using bacillus subtilinatton cells immobilized on alginate. *Carbohydrate polymers.* 82(1), 111-117.
- 16- **Poly A. et al., (2009).** High level synthesis of levan by novel halomonas species growing on defined media. *Carbohydrate polymers*, 78(4), 651-657.
- 17- **El-Mansi E.M.T., Bryce C.F.A., (1999).** "Fermentation microbiology and biotechnology", Taylor & Francis.
- 18- **Scragg, A.H., (1991).** "Bioreactors in biotechnology, a practical approach". Chichester, England: Ellis Harwood.
- 19- **Vogel H.C., Todaro C.L., (1995).** "Fermentation and biochemical engineering handbook", (2nd Edition), Noves publications.
- 20- **Williams, John A., (2002).** "Keys to bioreactor selection", *Biotechnol.Bioeng.* Vol.38, 1203-1209.
- 21- **Moo-Young, M., Chisti, Y., (1994).** "Biochemical engineering in biotechnology", *Pure & appl. Chem.*, Vpl.66, No.1, 117-136.
- 22- **Espier, raymand E., (2000).** "Encyclopedia of cell technology", The Wiley, Vol.1.
- 23- **Bailey, J.e., Ollis, D. F., (1989).** "Biochemical Engineering Fundamental", (2nd Edition), McGraw-Hill, New York.
- 24- **Stanbury, P.F., Whitaker, A., (1995).** "Principles of Fermentation Technology", (2nd Edition), Butter worth Heinemann publisher.
- 25- **Leib T.M., Pereira C.J., Villadsen J., (2001).** "Bioreactors: a chemical engineering perspective" *Chemical engineering science*, 56, 5485-5497.
- 26- **Chisti Y., and Moo-Young, M., (2002).** "Bioreactors", *Encyclopedia of physical science and technology*, (3nd Edition), Academic press, Vol. 2, 247-271.
- 27- **L.Selbmann, S.Crognale and M.Petruccioli, (2004).** "Beta-glucan production by Botryosphaeria rhodina in different bench-top bioreactors" *Dipartimento di scienze Ambientali , university of Tuscia, viterbo, Italy .*
- 28- **E. Jae Cho, J. Young Oh, H. You Chang, J. Won Yun (2006).** "Production of exopolysaccharides by submerged mycelial culture of a mushroom Tremella fuciformis" *Department of Biotechnology, Daegu University, Kyungsan, Kyungbuk 712-714, Republic of Korea.*

Effect of bioreactor on production of microbial biodegradable biopolymers

mojtaba khan*, ali bahrami

1- MSc, 2- Assistant Professor of Malek Ashtar University of Technology, Tehran, Iran

mj_khani67@yahoo.com

Abstract

Biopolymers are biological macromolecules that large and small subunits that bind covalently to the same are connected by a long chain of cause and they are built. Because of the biopolymers are produced naturally of the living organisms such as plants, animals and microorganisms therefor are biodegradable, they are very good. biopolymers have been developed in various forms, therefor have capacity to use in various industries. In order to use biopolymers in industry to commercialization the production process and optimize its production. Regard to the main role a well bioreactor, providing a controlled environment in order to achieve optimal conditions for growth or production type of Bioreactor also affects the production of biopolymers. In this study, an overview of the biopolymers and various bioreactor and have been investigated suitable bioreactor for the production of microbial biopolymers.

Keywords: biopolymer, biodegradable, bioreactor