

**Review Paper**

**مقاله مروری**

**A Review on Influential Factors on Polyhydroxyalkonates (PHA) Production with Feast /Famine Regime Using Waste Sludge from Biological Wastewater Treatment**

**مروری بر عوامل موثر در روش فقر و غنا برای تولید پلاستیک زیستی از لجن مازاد تصفیه بیولوژیکی فاضلاب**

Azar Asadi<sup>1\*</sup>, Farinaz Ahmadi<sup>2</sup>, Ali Akbar Zinatizadeh<sup>3</sup> and Ali Namvar<sup>4</sup>

آذر اسدی<sup>۱\*</sup>، فریناز احمدی<sup>۲</sup>، علی اکبر زینتی‌زاده<sup>۳</sup> و علی نامور<sup>۴</sup>  
۱- استادیار، گروه شیمی کاربردی، دانشکده نفت و گاز گچساران،

1- Assistant Professor, Department of Applied Chemistry, Faculty of Gas and Petroleum, Yasouj University, Gachsaran, Iran.

دانشگاه یاسوج، کهگیلویه و بویر احمد، ایران.

2- MSc. in Applied Chemistry, Department of Applied Chemistry, Faculty of Chemistry, Razi University, Kermanshah, Iran.

۲- دانش آموخته کارشناس ارشد، گروه شیمی کاربردی، دانشکده

3- Professor, Department of Applied Chemistry, Faculty of chemistry, Razi University, Kermanshah, Iran.

شیمی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

4- Undergraduate Student, Department of Applied Chemistry, Faculty of Gas and Petroleum, Yasouj University, Gachsaran, Iran.

۳- استاد، گروه شیمی کاربردی، دانشکده شیمی، دانشگاه رازی،

\* Corresponding author, Email: [a.asadi@yu.ac.ir](mailto:a.asadi@yu.ac.ir)

کرمانشاه، ایران.

۴- دانشجوی کارشناسی، گروه شیمی کاربردی، دانشکده نفت و گاز

گچساران، دانشگاه یاسوج، کهگیلویه و بویر احمد، ایران.

\* نویسنده مسئول، ایمیل: [a.asadi@yu.ac.ir](mailto:a.asadi@yu.ac.ir)

Received: 12/05/2020

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۲۳

Revised: 20/10/2020

تاریخ اصلاح: ۱۳۹۹/۰۷/۲۹

Accepted: 24/10/2020

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۰۳

© IWWA

© انجمن آب و فاضلاب ایران

**Abstract**

**چکیده**

Due to the increased use of plastic materials in the daily lives of human all over the worlds and the concerns about the negative impacts of petroleum based plastics on aquatic and soil environments, the researchers have attempted to introduce biodegradable alternatives to such plastics. The non-biodegradability of petroleum based plastic is due to the large and long polymer molecules and the strong bonds between them, which ultimately makes it very difficult and even impossible for microorganisms to break down the molecules. The bioplastics are simply decomposed into their constituent units by the activity of living organisms and do not remain in the environment. Polyhydroxyalkonates (PHAs) are among the biodegradable polymers that have been received attention in the recent years. PHAs are polyester compounds that are produced by bacteria under special conditions. Feast/famine methodology is one of the methods for PHA production from bacteria. In this method, a sequencing batch reactor (SBR) is used to supply feast and famine conditions, so that bacteria which are capable to produce PHA, compete with other microorganisms and obtain the maximum amount of PHA from the culture medium. In this review article, the method of feast/famine and the influential factors on producing PHA including feed type, feast/famine ratio, feed to microorganism (F/M) ratio, dissolved oxygen and nutrients concentration are investigated.

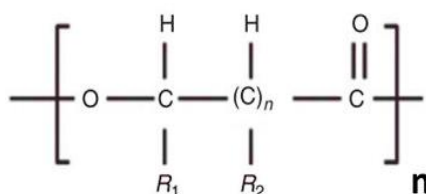
با توجه به کاربرد روز افزون مواد پلاستیکی در زندگی روزمره انسان‌ها و مشکلاتی که برای محیط‌زیست ایجاد می‌کنند محققان تلاش کردند جایگزین زیست تخریب‌پذیری را برای پلاستیک‌های نفتی معرفی کنند. زیست تخریب‌ناپذیر بودن پلاستیک‌های سنتی به دلیل بزرگ و طویل بودن بیش از حد مولکول‌های پلیمری و وجود اتصالات محکم بین آن‌ها است که در نهایت شکسته شدنشان توسط میکروارگانیسم‌ها را بسیار مشکل و حتی غیرممکن می‌سازد. اما پلاستیک‌های زیست تخریب‌پذیر به‌سادگی توسط فعالیت موجودات زنده به واحدهای سازنده خود تجزیه شده و در محیط باقی نمی‌ماند. پلی هیدروکسی آلکونات‌ها (PHA) از جمله پلیمرهای زیست تخریب‌پذیری هستند که در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته‌اند. PHAها ترکیبات پلی استری هستند که توسط میکروارگانیسم‌ها تحت شرایط ویژه سنتز می‌شوند. یکی از روش‌های تولید PHA از باکتری‌ها روش غنا و فقر است. در این روش از یک بیوراکتور با جریان ورودی و خروجی منقطع برای تامین رژیم غنا و فقر استفاده می‌شود تا میکروارگانیسم‌هایی که توانایی ذخیره PHA دارند بتوانند در رقابت با سایر میکروارگانیسم‌ها غالب شوند و در نتیجه حداکثر میزان PHA از محیط کشت حاصل شود. در این مقاله مروری، روش فقر و غنا برای تولید PHA و عوامل موثر بر آن شامل نوع خوراک، نسبت غنا به فقر، نسبت غذا به میکروارگانیسم، غلظت اکسیژن محلول و مواد مغذی مورد مطالعه قرار گرفته است.

**Keywords:** Activated sludge, Biodegradable plastics, Feast and famine, Polyhydroxyalkonate.

**واژه‌های کلیدی:** پلی هیدروکسی آلکونات، پلاستیک زیست تخریب‌پذیر، لجن فعال، غنا و فقر

PHA شبیه به پلی اتیلن (PE) و پلی پروپیلن (PP) است که خواص آن‌ها در جدول ۱ آورده شده است. هموپلیمر پلی هیدروکسی بوتیرات (PHB) یک ترموپلاستیک سفت و نسبتاً شکننده است. PHB خواص مفیدی از جمله مقاومت در برابر رطوبت، عدم حلالیت در آب، خلوص نوری و نفوذ ناپذیری بالایی در برابر اکسیژن را دارا است. این خواص PHB را از دیگر بیوپلاستیک‌های موجود متمایز می‌کند. امروزه، بیش از ۹۰ نوع مختلف مونومر هیدروکسی آلکانوات شناسایی شده‌اند (Muhammadi et al., 2015).

پلاستیک نفتی نقش مهمی در زندگی روزمره انسان ایفا می‌کند اما باعث آلودگی گسترده محیط زیست می‌شود. بیوپلاستیک، یک پلاستیک تخریب پذیر می‌باشد که جایگزینی برای پلاستیک نفتی در نظر گرفته می‌شود. یکی از شناخته شده ترین بیوپلاستیک‌ها، پلی هیدروکسی آلکانوات‌ها (PHA) است. PHA ترکیبات پلی استر خطی است که به‌طور طبیعی توسط بسیاری از باکتری‌ها از منابع تجدیدپذیر (مبتنی بر محیط زیستی) تولید می‌شود. خواص



شکل ۱- ساختار شیمیایی پلی هیدروکسی آلکانوات (PHA)، n تعداد واحدهای PHA در ساختار پلی استر خطی؛ R<sub>1</sub> و R<sub>2</sub>، زنجیره‌های جانبی هیدروکربن متغیر

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی هموپلیمر PHB، پلی پروپیلن و پلی اتیلن

خصوصیات	پلی هیدروکسی بوتیرات (PHB)	پلی پروپیلن (PP)	پلی اتیلن (PE)
نقطه ذوب (°C)	۱۷۵	۱۷۶	۱۱۰-۱۳۰
دمای انتقال شیشه (°C)	۱۵	-۱۰	-۱۱۰
بلورینگی (%)	۸۰	۷۰	۳۵-۸۰
استحکام کششی (MPa)	۴۰	۳۴/۵	۱۵-۴۵/۲
ضریب یانگ	۳/۵	۱/۷	۱/۱۳-۱/۰۱
ازدیاد طول تا پارگی (%)	۶	۴۰۰	۳-۱۹
مقاومت در برابر ضربه (v/m)	۵۰	۴۵	-

زیست توده لجن فعال است، هزینه سوبه‌های باکتری خالص و خطر تخریب محیط کشت از بین می‌رود. هم‌چنین، استفاده از محیط کشت میکروبی مخلوط باعث کاهش هزینه‌ها می‌شود زیرا کنترل فرآیند ساده است و در شرایط غیر استریل انجام می‌شود. علاوه بر این محیط کشت مخلوط می‌تواند به راحتی با تغییرات منبع کربنی سازگار باشد. بنابراین انواع پسماندها و زباله‌ها را می‌توان به‌عنوان خوراک استفاده کرد.

ارزیابی اقتصادی نشان داد که در صورت استفاده از زباله‌های تجدیدپذیر و لجن فعال می‌توان هزینه‌های تولید PHA را بیش از نیمی کاهش داد (Serafim et al., 2004). تولید PHA معمولاً تحت تأثیر تغییر شرایط عملیاتی برای غنی‌سازی محیط کشت مخلوط از باکتری‌های تجمع کننده PHA است. بنابراین، شرایط عملیاتی باید برای غنی‌سازی محیط کشت موفق با عملکرد و میزان بالای تولید PHA و ترکیب پلیمر پایدار بهینه شود.

در سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای در تحقیقات برای درک و بهبود فن‌آوری‌های تولید PHA شده است. امروزه بیشترین تولید صنعتی PHA با استفاده از محیط کشت‌های خالص یا نو ترکیب حاصل می‌شود (Amini et al., 2020). حداکثر غلظت PHA در تحقیقات، بیش از ۸۰ گرم در لیتر و بهره‌وری بیش از ۲ گرم بر لیتر در ساعت در آزمایشگاه با استفاده از محیط کشت با خوراک‌دهی منقطع به دست آمده است. یک جایگزین مناسب برای محیط کشت‌های خالص<sup>۴</sup> استفاده از محیط کشت‌های میکروبی مخلوط است.

لجن فعال که برای حذف COD و مواد مغذی در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب به کار می‌رود حاوی مقادیر عظیمی از میکروارگانیسم‌ها با قابلیت ذخیره PHA است. این ذخیره‌کنندگان PHA می‌توانند به‌عنوان کشت میکروبی مخلوط برای تولید کارآمد PHA انتخاب شوند. از آن‌جا که منبع

مواد مغذی، نسبت خوراک به میکروارگانیسم مورد مطالعه قرار می‌گیرد.

## ۲- استراتژی فقر-غنا یا تغذیه پویای هوازی (ADF)<sup>۵</sup>

مشکل اصلی استفاده مستقیم از لجن فعال شده برای تولید PHA میزان ذخیره بسیار کم پلیمر است، زیرا تنها بخشی از زیست‌توده میکروبی قابلیت ذخیره‌سازی PHA دارد. برای غلبه بر این محدودیت، استراتژی‌های مختلفی از جمله استفاده از رژیم‌های فقر-غنا و بی‌هوازی/هوازی به منظور غنی‌سازی لجن فعال با باکتری‌های ذخیره‌کننده PHA ارائه شده است. (عروجی و همکاران، ۱۳۹۷؛ یحیی و سمیه، ۱۳۹۹)

در دو دهه اخیر، تحقیقات بسیاری در مورد روش‌های مختلف انتخاب کشت میکروبی مخلوط از جمله غنا و فقر و بی‌هوازی/هوازی و غیره انجام شده است. هر روش عملیاتی شرایط متفاوتی برای رشد میکروارگانیسم‌ها با توانایی انباشت PHA ایجاد می‌کند. حداکثر بازده تولید PHB با استفاده از روش‌های غنی‌سازی بی‌هوازی/هوازی و غنا و فقر به ترتیب ۶۴٪ و ۵۳٪ (درصد وزنی) گزارش شده است (Liu et al., 2016b). جدول ۲ مقایسه‌ای بین فرآیندهای مختلف تولید PHA توسط محیط کشت‌های میکروبی مخلوط و محیط کشت‌های خالص ارائه می‌دهد. در این مقاله مروری، مهم‌ترین روش تولید PHA از لجن فعال موسوم به روش فقر و غنا معرفی و عوامل موثر بر این روش شامل شرایط راهبری، نوع خوراک، pH، سطح اکسیژن محلول،

جدول ۲- مقایسه فرایندهای مختلف استفاده شده برای تولید PHA توسط کشت میکروبی مخلوط و محیط کشت میکروبی خالص

مرجع	توضیحات	محتوای PHA (g polymer/g biomass)	نوع منبع کربن خارجی	نوع فرایند
Liu et al. (2016b)	با هدف غنی‌سازی لجن فعال از میکروارگانیسم‌های تجمع‌کننده PHA، لجن فعال در معرض دوره‌های پی در پی در دسترس بودن منبع کربن خارجی (دوره غنا) و در دسترس نبودن منبع کربن خارجی (دوره فقر) قرار می‌گیرد. تحت شرایط پویا، رشد میکروارگانیسم‌ها و ذخیره‌سازی PHA به‌طور هم‌زمان در حضور منبع کربن خارجی رخ می‌دهد و با اتمام منبع کربن خارجی PHA ذخیره شده به‌عنوان منبع کربن و انرژی توسط میکروارگانیسم مصرف می‌شود.	۵۳٪	استات	غنا و فقر
Liu et al. (2016b)	این سیستم‌ها با چرخه‌های بی‌هوازی و هوازی متناوب کار می‌کنند. میکروارگانیسم‌های انتخاب شده توسط این روش که توانایی انباشت PHA را دارند از دو گروه اصلی میکروارگانیسم‌های تجمع‌کننده پلی فسفات (PAO) و میکروارگانیسم‌های تجمع‌دهنده گلیکوژن (GAO) تشکیل شده است. سنتز PHA نقش مهمی در متابولیسم هر دو گروه میکروارگانیسم دارد. تحت شرایط بی‌هوازی، منبع کربن خارجی به صورت PHA در بدن میکروارگانیسم ذخیره شده و به‌طور هم‌زمان گلیکوژن یا پلی فسفات مصرف می‌شود. در حضور اکسیژن، میکروارگانیسم‌های PAO و GAO از PHA ذخیره شده به‌عنوان منبع کربن و انرژی برای رشد و بقا استفاده می‌کند.	۶۴٪	استات	بی‌هوازی/هوازی <sup>۶</sup>
Satoh et al. (1998)	اگرچه تحت شرایط بی‌هوازی/هوازی غنی‌سازی لجن فعال به‌صورت موفقیت‌آمیز انجام می‌شود اما تحقیقات نشان داده است که لجن فعال تحت شرایط هوازی PHA بیشتری نسبت به شرایط بی‌هوازی ذخیره می‌کند. از این رو محققان روش میکروهوازی/هوازی معرفی کردند که مقدار محدود و کافی اکسیژن به شرایط بی‌هوازی تزریق می‌شود.	۶۲٪	استات	میکروهوازی/هوازی <sup>۷</sup>
Ahmadi et al. (2020b)	غنی‌سازی لجن فعال با این روش مبتنی بر تحمیل محدودیت رشد داخلی است. این فرایند مشابه فرایند غنا و فقر است و تنها تفاوت آن در نحوه راهبری فرایند است. در طی فرایند منبع کربن خارجی در ابتدای دوره غنا و منبع نیتروژن در ابتدای دوره فقر به سیستم تزریق می‌شود. در طی دوره غنا به دلیل نبود نیتروژن رشد میکروارگانیسم‌ها محدود شده و مقدار بیشتری از منبع کربن خارجی برای ذخیره به‌صورت PHA در دسترس است. در ادامه با افزودن نیتروژن و نبود منبع کربن خارجی شرایط برای رشد میکروارگانیسم‌های تجمع‌کننده PHA مساعدتر می‌شود.	۷۹٪	استات	تغذیه مجزا کربن و نیتروژن <sup>۸</sup>
Kedia et al. (2014)	PHA به‌طور طبیعی توسط بسیاری از میکروارگانیسم‌ها سنتز می‌شود. در این فرایند از یک نوع خاص میکروارگانیسم با توانایی تجمع PHA استفاده می‌شود.	۷۵٪	استات و بوتیرات	محیط کشت خالص

کاهش می‌یابد که منجر به افزایش سطح اکسیژن محیط می‌شود و در این شرایط خوراک‌دهی پالسی به‌منظور افزایش منبع کربنی اتفاق می‌افتد در واقع افزایش سطح اکسیژن محلول باعث افزودن پالس بعدی خوراک می‌شود. پالس‌ها تا زمان حفظ سطح اکسیژن محلول در سطح معینی تکرار می‌شوند، بنابراین، حداکثر محتوای PHA در زیست‌توده حاصل می‌شود.

هم‌چنین محققان اثبات کرده‌اند که راکتورهایی با گرادیان بالا در غلظت خوراک ورودی مانند راکتورهایی با جریان لوله‌ای و منقطع (SBR) منجر به انتخاب مطلوب میکروارگانیسم‌ها با قابلیت ته‌نشینی خوب نسبت به میکروارگانیسم‌های رشته‌ای می‌شود. در حالی که نتایج به‌دست آمده توسط Wen et al. (2012) نشان داد که استفاده از باکتری‌های رشته‌ای می‌تواند با نرخی قابل‌مقایسه با لجن‌های قابل‌ته‌نشینی، PHA را ذخیره کنند. علاوه بر این، تقاضای اکسیژن محلول کمتر باکتری‌های رشته‌ای باعث صرفه‌جویی در انرژی مورد نیاز برای هوادهی در مرحله غنی‌سازی محیط کشت می‌شود. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که یک لجن حجیم (با قابلیت ته‌نشینی کم) با ظرفیت ذخیره‌سازی PHA حتی بالاتر از لجن‌های قابل‌ته‌نشینی نیز می‌تواند به‌طور پیوسته راهبری شود.

هسته عملکردی فرآیند ADF، انتخاب اجتماع میکروبی ذخیره‌کننده PHA با کارایی بالا است و به‌این منظور تنظیم و تثبیت چنین جامعه میکروبی باید به‌طور عمیق مورد مطالعه قرار گیرد. در یک مثال از اجرای موفقیت آمیز این استراتژی که از استات به‌عنوان منبع کربنی استفاده شد بالاترین میزان تولید PHA، ۸۹ درصد از وزن خشک سلول در مدت زمان راهبری ۷/۶ ساعت (نسبت فقر-غنا، ۰/۰۹) با استفاده از لجن فعال گزارش شد (Johnson et al., 2009).

### ۳- تأثیر شرایط عملیاتی

#### ۳-۱- نسبت غنا به فقر در مرحله غنی‌سازی

روش فقر و غنا به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان وسیله‌ای کارآمد برای تولید PHA با استفاده از محیط کشت میکروبی مخلوط در سیستم‌های هوازی شناخته می‌شود (Serafim et al., 2008a). در روش فقر و غنا، فشار انتخابی مبتنی بر در دسترس بودن بستر کربن است. میکروارگانیسم‌هایی که می‌توانند پلیمرهای قابل ذخیره تولید کنند، میزان جذب بالاتری دارند و در رقابت با سایر میکروارگانیسم‌ها برنده می‌شوند. این روش با اعمال یک مرحله طولانی قحطی، به‌منظور افزایش فشار انتخابی و دستیابی به

ADF یک استراتژی تغذیه‌ای اساسی برای تجمع پلی‌هیدروکسی آلکانوات (PHA) در محیط کشت‌های خالص و مخلوط است. ADF براساس رژیم فقر-غنا در یک سیستم تصفیه فاضلاب کار می‌کند. روند کلی تولید PHA با استفاده از محیط کشت مخلوط معمولاً در یک فرآیند سه مرحله‌ای انجام می‌شود. در مرحله اول، ماده آلی از طریق تخمیر اسیدوزن به یک ماده غنی اسیده‌ای چرب فرار (VFA)<sup>۹</sup> تبدیل می‌شود. در مرحله دوم که مرحله غنی‌سازی محیط کشت است جمعیت باکتری‌های ذخیره‌کننده PHA در محیط کشت افزایش می‌یابد. به‌این منظور از VFA تولید شده قبلی (در مرحله اول) به‌عنوان خوراک در یک راکتور منقطع متوالی (SBR) به‌منظور غنی‌سازی محیط کشت استفاده می‌شود و اعتقاد بر این است که امیدوار کننده‌ترین فرآیند برای تولید صنعتی است. ثابت شده است که محیط کشت مخلوط قادر به تجمع PHA در شرایط ناپایدار مانند تغذیه ناپیوسته و یا محدودیت مواد مغذی (نیتروزن، فسفر، اکسیژن و...) است. به‌طور خاص، هنگامی که لجن به دوره‌های متوالی در شرایط فقر و غنا از نظر منبع کربنی در یک راکتور منقطع متوالی (SBR)<sup>۱۰</sup> قرار گیرد ذخیره‌سازی PHA توسط لجن فعال می‌تواند افزایش یابد.

در منابع علمی گزارش شده است که فقدان منبع کربن خارجی (دوره فقر) برای مدت زمان قابل‌توجهی باعث کاهش مقدار آنزیم‌های مورد نیاز برای رشد سلول می‌شود. در پی چنین دوره گرسنگی، اگر محیط کشت میکروبی با منبع کربن اضافی (دوره غنا) غنی شود، از آنجایی که آنزیم‌های موجود در سلول‌ها پایین‌تر از حد موردنیاز برای رسیدن به حداکثر رشد است، ذخیره‌سازی پدیده غالب خواهد بود (Bengtsson et al., 2008). این شرایط امکان انتخاب یک محیط کشت غنی شده با ظرفیت بالاتر و با ثبات‌تر برای تولید PHA را فراهم می‌آورد. میکروارگانیسم‌هایی که در مرحله غنای اولیه می‌توانند از منبع کربنی برای ذخیره‌سازی استفاده کنند، نسبت به سایر میکروارگانیسم‌های موجود مزیت رقابتی دارند زیرا می‌توانند از پلیمر ذخیره شده به‌عنوان منبع کربن داخلی در مرحله قحطی استفاده کنند (Van Loosdrecht et al., 1997). سرانجام، زیست‌توده غنی شده برداشت می‌شود و در مرحله سوم با اعمال شرایط عملیاتی خاص مانند بار آلی بالاتر حداکثر محتوای پلیمر در زیست‌توده ذخیره خواهد شد. در نهایت حداکثر پلیمر ذخیره شده در زیست‌توده (مرحله سوم) استخراج می‌شود.

متداول‌ترین استراتژی کاربردی برای به حداکثر رساندن تجمع PHA، کنترل تنفس درون سلولی با اعمال خوراک‌دهی پالسی است. با افزایش تنفس درون سلولی، سطح منبع کربنی

می‌کند. در مقاله‌ای، آزمایش‌هایی با تغییر زمان ماند سلولی در محدوده ۲-۶-۸ ساعت انجام شد. در این تحقیق، کاهش زمان ماند سلولی منجر به انتخاب بهتر زیست‌توده با ظرفیت ذخیره‌سازی مناسب و در نتیجه افزایش عملکرد و میزان تولید پلیمر شد (Valentino et al., 2014).

### ۳-۲- تاثیر مواد مغذی

اثر عوامل خارجی از جمله کمبود مواد مغذی در سنتز PHA نیز به‌ویژه در مرحله غنی‌سازی محیط کشت مورد بررسی قرار گرفت. محدودیت مواد مغذی منجر به افزایش تولید پلی هیدروکسی بوتیرات (PHB) می‌شود در حالی که نیتروژن بالا باعث افزایش رشد زیست‌توده بدون تولید PHB می‌شود. غلظت کم فسفر و نیتروژن اثر مثبتی بر تجمع PHB دارا هستند. در سال ۲۰۰۲، میزان PHA به‌دست آمده از لجن فعال بدون مرحله غنی‌سازی قبلی حدود ۳۰٪ گزارش شده است (Takabatake et al., 2002).

در سال‌های بعد گزارش شد که در راکتور SBR با شرایط محدود کننده نیتروژن، میزان تجمع PHA تا ۵۷٪ گزارش شد (Mengmeng et al., 2009). (Cavaille et al., 2013) آزمایش تجمع PHA لجن فعال بدون غنی‌سازی قبلی را انجام دادند، اما در مرحله تجمع محدودیت فسفر را اعمال کردند و میزان PHA تا ۷۰٪ به‌دست آمد. همچنین، در مطالعه‌ای که توسط Wen et al. (2012) انجام شد، حداکثر تجمع PHA تا ۵۹٪ وزن خشک سلول با بهره‌وری ۱/۶۱ میلی‌گرم PHA / میلی‌گرم COD مصرف شده با محدودیت ازت مشاهده شد. نتایج نشان داد که زیست توده لجن فعال باعث تولید پلی هیدروکسی بوتیرات بیشتری نسبت به پلی هیدروکسی والرات خصوصاً در شرایط محدودیت می‌شود. (Ince et al., 2012) عملکرد زیست‌توده غنی شده در شرایط کافی از نظر نیتروژن و کمبود نیتروژن به ترتیب برابر ۰/۴۳ و ۰/۶۱ مول PHA / مول خوراک گزارش کرده‌اند.

تمام مواردی که تاکنون در این مقاله ارجاع شده است با محیط کشت‌های غنی‌شده هوازی محدود به تولید PHB با استفاده از VFA منفرد به‌عنوان تنها منبع کربنی هستند. لازم به ذکر است که کوپلیمر (HB/HV)<sup>۱۱</sup> برای بهره‌برداری تجاری و همچنین این واقعیت که مخلوط‌های اسیدی با تخمیر اسیدوژنیک آسان‌تر به‌دست می‌آیند بیشتر مورد توجه قرار دارد. تأثیر ترکیب منبع کربن بر عملکرد فرآیند تولید PHA توسط برخی محققان مورد بحث قرار گرفت که در جدول ۴ ارائه شده است. تغذیه لجن فعال با بستر منابع کربن که تفاوت در عدد کربن

محیط کشت مخلوط غنی شده از میکروارگانیسم‌های جمع‌آورنده PHA همراه می‌باشد.

در عملکرد SBR، مدت زمان مرحله غنا به طور مستقیم به میزان جذب خوراک بستگی دارد که با غلظت خوراک ورودی، غلظت زیست‌توده فعال و سرعت ویژه جذب خوراک تعیین می‌شود. انتظار می‌رود که افزایش غلظت خوراک (در زمان نگهداشت ثابت) منجر به افزایش متناظر غلظت سلول راکتور شود. به‌طور کلی تشخیص داده شده است که نسبت غنا به فقر پایین‌تر از ۰/۳ تا ۰/۲۵ برای غنی‌سازی محیط کشت میکروبی مخلوط با ظرفیت ذخیره بالا مورد نیاز است. این شرایط به میکروارگانیسم‌های تجمع PHA یک مزیت رقابتی نسبت به سایر میکروارگانیسم‌ها می‌دهد. در مقابل، در نسبت غنا به فقر بالاتر از ۰/۵۵ رشد میکروارگانیسم‌ها بر فرآیندهای ذخیره‌سازی پلیمر غالب می‌شود.

(Cavaille et al., 2013) میزان تولید را با و بدون مرحله غنی‌سازی مورد مطالعه قرار دادند. نسبت میزان تولید PHA به خوراک مصرف شده در این تحقیق ۰/۲ مول PHA / مول خوراک مصرف شده گزارش شده است که در مقایسه با شرایطی که مرحله غنی‌سازی وجود دارد به‌طور قابل توجهی پایین‌تر است (حداکثر ۰/۹ مول PHA / مول خوراک مصرف شده). برخی محققان بر میزان PHA تولید شده در مرحله غنی‌سازی توجه دارند. شرایط کار و نتایج حاصل از برخی از آن‌ها در جدول ۳ خلاصه شده است. همان‌طور که در جدول ۳ گزارش شده است، محتوای PHA در زیست‌توده در پایان فاز غنا با کاهش نسبت غنا به فقر افزایش می‌یابد. این روند به دلیل پاسخ متفاوت میکروبی به غلظت بالای خوراک است. در واقع، میکروارگانیسم‌ها هر لحظه در معرض غلظت بستر قرار می‌گیرند که ناشی از سرعت و غلظت جریان خوراک و میزان جذب خوراک توسط میکروارگانیسم‌ها است. بنابراین رقابت در به‌دست آوردن خوراک، ترکیب میکروبی لجن را در هر چرخه تغذیه تغییر می‌دهد. با توجه به گزارشات، با افزایش نسبت غنا به فقر، میزان ذخیره PHA در پایان فاز غنا افزایش می‌یابد. با توجه به این‌که به‌طور معمول سرعت ذخیره‌سازی PHA پایین است، اعمال شرایط ویژه (نسبت غنا به فقر بالا، زمان ماند بالا برای حذف منبع کربنی) منجر به افزایش سهم کربن ذخیره شده در قالب PHA می‌شود و در اصل می‌تواند یک مزیت برای بهره‌وری فرآیند باشد. البته عوامل دیگری نیز در تجمع PHA تأثیر دارند که در ادامه به آن‌ها اشاره می‌شود.

به‌طور کلی، اثر نسبت غنا به فقر (یا متقابل آن، طول چرخه) اغلب همراه با سرعت بارگذاری مواد آلی یا زمان ماند سلولی تغییر

دارند (یعنی استات و بوتیرات) هموپلیمر PHB را تولید می‌کند. در حالی که یک کوپلیمر P (HB/HV) با HV به‌عنوان واحد غالب هنگامی تشکیل می‌شود که از منابع کربن با اعداد کربن بالاتر (یعنی پروپیونات و بالاتر) استفاده شود (Dias et al., 2006). با توجه به مطالعات انجام شده، برای ترکیب واحدهای HV در PHA، باید پروپیونات به‌عنوان یکی از منابع کربنی باشد.

جدول ۳- مقایسه نتایج به دست آمده در مطالعات انجام شده

مرجع	نتایج		شرایط غنی سازی میکروبی					منبع کربن
	نسبت طول فاز غنا به فاز فقر	بازده تولید PHA ( $Y_{PHA/S}$ , g COD /g COD)	طول چرخه (h)	زمان ماند لجن (day)	غلظت لجن فعال (mg VSS/L)	COD /N /P	غلظت خوراک (mg COD/L)	
Ciggin et al. (2013)	۰/۰۳	۰/۴۸ ۰/۸۴	۴	۸	۲۴۰۰	۱۰۰، ۲/۶، ۷/۸	۱۲۳۰	استات، نشاسته
Ince et al. (2012)	۰/۰۵	۰/۶۸	۶	۸	۲۳۱۰	۱۰۰/۲/۲	۳۰۰	استات
Ciggin et al. (2013)	۰/۰۶	۰/۶۸	۴	۸	۱۴۸۰	۱۰۰، ۲/۶، ۷/۸	۱۲۰۰	
Çiğgin et al. (2011)	۰/۲۳	۰/۵۴	۴	۲	۱۰۵۰	۱۰۰، ۲/۶، ۷/۸	۱۱۰۰	
Liu et al. (2016a)	۰/۳۳	—	۶	۷	۱۵۰۰	۱۰۰، ۵، ۲/۵	۱۲۰۰	
Bernat et al. (2008)	۰/۳۳	۰/۴	۱۲	۷	۳۰۰۰	۱۰۰، ۲۵/۵، ۸	۴۵۰	
Ozdemir et al. (2014)	۰/۵	—	۲	۸	۱۷۵۰	۱۰۰، ۰/۵، ۱/۲	۲۰۲۰	

جدول ۴- مقایسه نتایج به دست آمده در مطالعات گزارش شده (استفاده از استراتژی ADF برای غنی سازی لجن فعال و استفاده از مرحله تجمع)

مرجع	نتایج		شرایط تجمع PHA		شرایط غنی سازی میکروبی				منبع کربنی	
	نسبت طول فاز غنا به فاز فقر	بازده تولید PHA ( $Y_{PHA/S}$ , g COD /g COD)	غلظت لجن فعال (mg VSS/L)	غلظت خوراک (mg COD/L)	طول چرخه (h)	زمان ماند لجن (day)	غلظت لجن فعال (mg VSS/L)	COD /N/P		غلظت خوراک (mg COD/L)
Marang et al. (2013)	۰/۰۲	۲/۶۹	۶۳۰	۱۷۰۰	۱۲	۱	۶۳۰	۱۰/۳، ۸/۴۸ ۱۰۰۰	۸۵۰	بوتیرات
Basak et al. (2011)	۰/۰۴	۱	۲۴۰۰	۲۴۰۰	۶	۸	۲۳۰۰	۱۰۰، ۲/۲	۳۰۰	استات
Serafim et al. (2008b)	۰/۰۷	۱/۲۶	۱۵۰۰	۱۹۰۰	۱۲	۱۰	۳۰۰۰	۲/۱، ۲/۸ ۱۰۰	۹۵۰	
Johnson et al. (2009)	۰/۰۴	۴/۰۴	۶۳۰	۲۵۵۰	۱۲	۱	۶۳۰	۵/۵، ۴/۴۸ ۱۰۰	۱۷۲۰	
Liu et al. (2011)	۰/۱۲	۳/۱۸	۲۰۰۰	۶۳۵۰	۲۴	۵	۲۰۰۰	۴/۳۷، ۲/۶ ۱۰۰	۱۱۶۰	
Jiang et al. (2011)	۰/۱۴	۲/۹۶	۲۸۰	۸۳۰	۱۸	۱	۵۵۰	۵/۵، ۴/۴۸ ۱۰۰	۱۶۵۰	
Qu and Liu (2009)	۰/۱۶	۱/۲۷	۱۰۰۰	۱۲۷۰	۶	۶	۲۰۰۰	۸/۸۴، ۴/۵۵ ۱۰۰	۹۵۰	
Montiel-Jarillo et al. (2017)	۰/۲۲	۰/۶	۲۰۰۰	۱۲۰۰	۱۲	۲	۴۰۰۰	۲/۸۲، ۱/۶۸ ۱۰۰	۱۲۰۰	
Wen et al. (2012)	۰/۱۴	۱/۲۷	۲۰۰۰	۲۵۵۰	۸	۱۰	۲۰۰۰	۴/۵۷، ۱/۱۲ ۱۰۰	۸۵۰	
Ahmadi et al. (2019)	۰/۱۵	۰/۱۱	۲۰۰۰	۵۰۰۰	۱۲	۸	۵۵۰۰	۱۰۰، ۱۰، ۱	۱۳۵۰	

### ۳-۳- تاثیر نوع خوراک

#### ۳-۳-۱- مرحله غنی‌سازی

در مرحله غنی‌سازی، لجن تولید شده دارای قابلیت ذخیره‌سازی PHA بالایی است که در مرحله بعدی مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد. این لجن وارد راکتور منقطع SBR با مقادیر زیادی منبع کربنی می‌شود تا حداکثر ظرفیت لجن برای ذخیره غلظت پلیمر در زیست‌توده مورد ارزیابی قرار گیرد. جدول ۳ شرایط راهبری و نتایج به‌دست آمده در برخی از تحقیقات انجام شده را برای تولید PHA با استفاده از VFA منفرد به‌عنوان خوراک و ADF به‌عنوان استراتژی غنی‌سازی را نشان می‌دهد. با توجه به داده‌های جدول مشخص می‌شود که نسبت غنا به فقر تأثیر معکوس بر محتوای PHA دارد.

هم‌چنین بوتیرات به‌دو دلیل خوراک مناسبی برای تولید PHA است. اول، این محصول از بازده نظری بالایی برخوردار است. عملکرد استوکیومتری PHA در بوتیرات ۰/۹۴ غلظت مولی است که ۴۰ درصد بیشتر از عملکرد استات است (Shi et al., 1997). دوم و مهم‌تر از آن، بوتیرات در طی تخمیر اسیدوزن از جریان‌های زباله آلی به‌مقدار زیادی تولید می‌شود. (Marang et al., 2013). خوراک بوتیرات را به‌عنوان منبع کربنی برای تولید پلی هیدروکسی آلکانوات (PHA) توسط محیط کشت غنی‌سازی شده بررسی کرد. نتایج به‌دست آمده میزان بالای جذب کربن و بازده PHA را با خوراک بوتیرات نسبت به استات نشان می‌دهد. علاوه بر این، هنگامی که هر دو خوراک در دسترس بودند جذب بالاتری از بوتیرات توسط میکروارگانیسم‌ها گزارش شد و تنها پس از کاهش چشمگیر بوتیرات، جذب استات با سرعت بالایی صورت گرفت.

تمام مواردی که تاکنون در این مقاله ارجاع شده است با محیط کشت‌های غنی شده هوازای محدود به تولید PHB با استفاده از VFA منفرد به‌عنوان تنها منبع کربنی هستند. لازم به ذکر است که کوپلیمر P (HB/HV) برای بهره‌برداری تجاری و هم‌چنین این واقعیت که مخلوط‌های اسیدی با تخمیر اسیدوزنیک آسان‌تر به‌دست می‌آیند بیشتر مورد توجه قرار دارد (Traverso et al., 2000). تأثیر ترکیب منبع کربن بر عملکرد فرآیند تولید PHA توسط برخی محققان مورد بحث قرار گرفت که در جدول ۵ ارائه شده است. تغذیه لجن فعال با بستر منابع کربن که تفاوت در عدد کربن دارند (یعنی استات و بوتیرات) هموپلیمر PHB را تولید می‌کند. در حالی که یک کوپلیمر P (HB/HV) با HV به‌عنوان واحد غالب هنگامی تشکیل می‌شود

که از منابع کربن با اعداد کربن بالاتر (یعنی پروپیونات و بالاتر) استفاده شود (Dias et al., 2006). با توجه به مطالعات انجام شده، برای ترکیب واحدهای HV در PHA، باید پروپیونات به‌عنوان یکی از منابع کربنی باشد.

بنابراین، ترکیب خوراک یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر ساختار جمعیت میکروبی و عملکرد سیستم‌های تولید PHA است. همان‌طور که قبلاً نیز گفته شد، تحمیل شرایط غنی‌سازی از طریق نسبت کم غنا/فقر و تعداد کم چرخه به‌ازای سن لجن، میکروارگانیسم‌ها را براساس کارایی آن‌ها برای ذخیره PHA انتخاب می‌کند. با این‌حال، از آن‌جا که این مطالعات فقط از تعداد محدودی از منابع کربن استفاده می‌کردند، نمی‌توان پیش‌بینی کرد که آیا همان شرایط انتخابی در صورت وجود خوراک‌های متعدد، غنی‌سازی محیط کشت را به‌همراه خواهد داشت. مطالعه ارتباط بین ترکیب میکروبی و اولویت جذب منبع کربنی در یک محیط کشت ذخیره‌سازی PHA توسط (Albuquerque et al., 2013) انجام شد. نتایج نشان می‌دهد که هنگامی که مخلوطی از VFA به‌عنوان منبع کربن استفاده می‌شود، بوتیرات با بالاترین سرعت مصرف می‌شود، سپس استات و بعد از آن پروپیونات مصرف می‌شود. هم‌چنین، میزان جذب استات هنگامی که سایر بسترهای VFA کاهش پیدا کرده‌اند، افزایش ناگهانی را نشان داد. در شرایط هوازی، با استفاده از مخلوطی از اسید استیک، پروپیونیک و اسید لاکتیک، کاهش شدید میزان حذف اسید استیک و لاکتیک در حضور سایر منابع کربنی نسبت به‌هنگام استفاده از هر منبع کربنی به‌تنهایی مشاهده شد (Dionisi et al., 2004). به‌طور مشابه، حذف در مخلوطی از استات و نشاسته (به‌منظور ذخیره PHA و گلیکوژن) در مقایسه با زمانی که هر منبع به‌تنهایی مورد استفاده قرار می‌گیرد با نرخ کمی پایین‌تر مشاهده شد (Karahana et al., 2008). از طرف دیگر، Carta et al. (2001) گزارش داد که هیچ تفاوتی در جذب استات و گلوکز در مخلوطی از گلوکز و استات در مقایسه با آزمایش‌های انجام شده با منبع کربنی واحد وجود ندارد. هم‌چنین گزارش شده است که میزان ذخیره‌سازی نیز مستقل از وجود منابع کربنی منفرد یا مخلوط است.

در مطالعه دیگری، Ciggin et al. (2013) تأثیر مخلوط استات/نشاسته در شکل‌گیری بیوپلیمرهای ذخیره‌سازی در مقایسه با مکانیسم ذخیره‌سازی در سیستم‌هایی که با این ترکیبات به‌عنوان منبع کربنی واحد تغذیه می‌شوند، مورد بررسی قرار داد. در سیستم‌های خوراک منفرد با تغذیه پالسی، نشاسته به‌طور کامل به گلیکوژن تبدیل شد، در حالی که ۲۵٪ استات برای

خوراک اتفاق می‌افتد.

### ۳-۳-۲- مرحله تجمع PHA

مشابه با غنی‌سازی، ارزیابی حداکثر ظرفیت ذخیره‌سازی PHA در اکثر مطالعات با خوراک‌های خالص انجام شد. فقط به‌تازگی، از ضایعات پیچیده واقعی برای ارزیابی ظرفیت ذخیره‌سازی محیط کشت‌های غنی‌سازی استفاده شد. جدول ۶ یک مرور کلی از نتایج موجود در تحقیقات پیشین مربوط به مرحله تجمع با خوراک‌های پیچیده واقعی و محیط کشت‌های غنی‌سازی شده تحت شرایط ADF ارائه می‌دهد.

Din et al. (2006) تأثیر نسبت COD به نیتروژن و نسبت COD به فسفر بر ظرفیت ذخیره PHA در جوامع میکروبی را با سیستمی که با خوراک روغن نخل تخمیر شده با طول چرخه ۶ ساعت راهبری شد، مورد ارزیابی قرار داد. بالاترین میزان ذخیره PHA (۴۴/۵ درصد)، در ۱۸۰ گرم COD به ازای هر گرم فسفر و ۲۶۰ گرم COD به ازای هر گرم نیتروژن بدست آمد.

صرف نظر از نوع خوراک پیچیده مورد استفاده برای مطالعات تجمع، محیط کشت‌های غنی‌سازی شده به‌روش ADF همیشه کوپلیمرهای مونومرهای 3HB و 3HV تولید می‌کنند (به استثنای Liu et al. (2008). تشکیل مونومرهای غیر از 3HB، که نتیجه مستقیمی از تنوع اسیدهای چرب فرار و سایر ترکیبات موجود در خوراک است، مزیت استفاده از پسماندهای پیچیده واقعی است. پایداری ترکیب پلیمر جنبه مهمی از تولید PHA از پسماندهای پیچیده واقعی توسط محیط کشت‌های مخلوط است. این یک جنبه مهم در تولید صنعتی است زیرا جریان‌های زباله اغلب نسبت به تغییرات فصلی و فرایند حساس هستند. در فرآیند سه مرحله‌ای، با دست‌کاری پارامترهای عملیاتی در مرحله تخمیر می‌توان این مشکل را حل کرد (Albuquerque et al., 2007). بازده ذخیره‌سازی به‌دست آمده توسط کشت‌های مخلوط غنی‌سازی شده در شرایط ADF، در بیشتر موارد در دامنه ۰/۲ و ۰/۸۴ گرم PHA به‌ازای هر گرم COD مصرف شده با سایر منابع کربنی غیر از VFA ها است (Gurieff, 2007). تفاوت در مقادیر عملکرد ذخیره‌سازی ممکن است با ترکیب مواد اولیه مرتبط باشد. ترکیب و غلظت VFA مختلف در مطالعات انجام شده در جدول ۴ آمده است. بازده ذخیره‌سازی در تحقیقات (به استثنای Dionisi et al. (2005b) کمتر از بازده ذخیره‌سازی با منبع کربنی استات است (۰/۸۷ گرم PHA به‌ازای هر گرم COD مصرف شده) که توسط Serafim et al. (2004) انجام شد. این اختلاف از آن‌جا ناشی می‌شود که در خوراک‌های تخمیری در کنار اسید

رشد مستقیم میکروبی در سن لجن ۸ روز به‌همراه ذخیره‌سازی اسید پلی هیدروکسی بوتیرات (PHB) استفاده شد. تغذیه مخلوط استات/نشاسته باعث افزایش معنی‌دار در استفاده از استات برای رشد مستقیم میکروبی شد. کسر استات تبدیل شده به PHB به‌ترتیب در سن‌های لجن ۸ و ۲ روز به ۵۸٪ و ۵۰٪ نسبت به‌حالت تنها استفاده شده، کاهش نشان داد در حالی‌که نشاسته در هر دو شرایط عملیاتی کاملاً به گلیکوزن تبدیل شد.

از طرفی، استفاده از خوراک‌های ارزان قیمت، مانند زباله‌های آلی، توسط بسیاری از محققان به‌عنوان راهی برای کاهش هزینه تولید PHA مورد بررسی قرار گرفته است. بیش از ۴۰٪ کل هزینه عملیاتی تولید PHA مربوط به تامین مواد اولیه است و بیش از ۷۰٪ این هزینه به منبع کربن اختصاص می‌یابد. از طرفی، ورود مداوم ضایعات صنعتی از صنایع با توجه به عناصر آلاینده سمی آن موجب نگرانی محیط‌زیست است. ضایعات غالباً غنی از مواد آلی هستند و از نظر مواد مغذی فقیر هستند. این شرایط نامتعادل از کربن و مواد مغذی برای رشد میکروارگانیسم‌های تجمع‌کننده PHA مطلوب است اما میزان مصرف مواد آلی و میزان ذخیره آن کمینه است. با استفاده از منابع کربنی ارزان قیمت مانند زباله‌های زراعی صنعتی (به‌عنوان مثال آب پنیر، ملاس و پساب کارخانه روغن نخل)، فرآیند تولید PHA اقبال بیشتری برای اقتصادی شدن دارد.

بسیاری از زباله کشاورزی خوراک‌های بالقوه مفیدی هستند مانند ملاس نیشکر و چغندر، پنیر، روغن‌های گیاهی و هیدرولیزهای نشاسته (به‌عنوان مثال ذرت، تاپوکا، سلولز و همی‌سلولز است. قابل توجه است که همه خوراک‌ها به یک اندازه برای فرآیند ذخیره‌سازی PHA مناسب نیستند. از این‌رو این مسئله با استفاده از انواع مختلفی از پیش‌تصفیه‌ها مانند تصفیه حرارتی، بی‌هوازی، آنزیمی، مکانیکی و غیره برطرف شد. پسماندهای تصفیه شده باعث ایجاد اشکال ساده‌تر مانند اسیدهای چرب فرار و قسمت‌های قندی می‌شوند که به‌راحتی جذب سلول‌ها می‌شوند. به‌عنوان مثال، هیدرولیز نشاسته و سلولز می‌توانند به رشد میکروارگانیسم‌های تجمع‌کننده گلیکوزن منجر شود (Mino et al., 1996). این مشکل را می‌توان با اسیدی کردن قندها، نشاسته و هیدرولیز سلولز با مخلوطی از اسیدهای چرب فرار مانند اسید استیک، پروپیونیک، بوتیریک و غیره برطرف کرد. چنین مخلوطی به آسانی به PHA تبدیل می‌شود. در این شرایط، تولید PHA در سه مرحله اتفاق می‌افتد که تصفیه پسماند اولین مرحله و به‌دنبال آن مرحله غنی‌سازی لجن فعال قرار دارد و در نهایت تولید PHA با استفاده از ضایعات تصفیه‌شده به‌عنوان



استیک، دیگر VFA کربن با زنجیره طولانی‌تر حضور دارند که برخلاف استات می‌تواند در مسیر سنتز PHA دکربوکسیلیزه شوند و در نتیجه میزان پلیمر کمتری تولید می‌کنند.

جدول ۵- مقایسه نتایج به‌دست آمده در مطالعات گزارش شده با استفاده از استراتژی ADF برای غنی‌سازی لجن فعال و مخلوط اسیدهای چرب فرار (VFA) به‌عنوان منبع کربن

مرجع	نتایج		شرایط تجمع PHA		شرایط غنی‌سازی میکروبی					نوع منبع کربن
	نسبت طول فاز غنا به فاز فقر	بازده تولید PHA (Y <sub>PHA/S</sub> , g COD /g COD)	غلظت لجن فعال (mg VSS/L)	غلظت خوراک (mg COD/L)	طول چرخه (h)	زمان ماند لجن (day)	غلظت لجن فعال (mg VSS/L)	COD /N /P	غلظت خوراک (mg COD/L)	
Marang et al. (2013)	۰/۰۳	۰/۷۸	۶۳۰	۱۷۰۰	۱۲	۱	۶۳۰	۰/۴۸ ۰/۵۹ ۱۰۰	۱۶۰۰	استات و بوتیرات
Guo et al. (2016)	۰/۰۴	۰/۳۱	۲۵۰۰	۳۰۰۰	۱۲	—	۵۰۰۰	۰/۰۶ ۰/۰۱ ۱۰۰	۱۰۰۰	استات و پروپیونات
Villano et al. (2010)	۰/۰۲	۰/۳۵	۴۲۰	۲۰۰۰	۲	۱	۲۰۰۰	۰/۰۵ ۰/۰۱ ۰/۰۴	۸۵۰۰	استات و پروپیونات
Valentino et al. (2013)	۰/۰۲۲	۰/۰۴۵	۶۰۰	۱۰۰۰	۲	۱	۲۰۰۰	۰/۰۱ ۰/۰۳ ۰/۰۹ ۰/۰۲ ۱۰۰	۸۵۰۰	استات و پروپیونات
Valentino et al. (2014)	۰/۰۲۵	۰/۰۴۵	۷۴۰	۱۴۸۰	۲	۱	۴۵۰۰	۰/۰۱ ۰/۰۴ ۰/۰۹ ۰/۰۲ ۱۰۰	۸۵۰۰	استات و پروپیونات
Villano et al. (2014)	۰/۰۲۸	۰/۰۳۶	۳۵۰۰	۷۳۰۰	۶	—	۲۵۰۰	۰/۰۱ ۰/۰۴ ۰/۰۶ ۱۰۰	۸۵۰۰	استات و پروپیونات
Dionisi et al. (2007)	۰/۰۱۱	۰/۰۵۵	۳۷۰	۱۵۰۰	۴	۱	۴۸۰۰	۰/۰۰ ۰/۰۹ ۰/۰۵ ۰/۰۲ ۱۰۰	۲۰۰۰۰	استات و پروپیونات و اسید لاکتیک
Dionisi et al. (2004)	۰/۰۰۲	۰/۰۴۵	۳۵۰	۱۰۰۰	۲	۱	۲۶۵۰	۰/۰۱ ۰/۰۴ ۰/۰۵ ۰/۰۱ ۱۰۰	۸۵۰۰	استات و پروپیونات و اسید لاکتیک
Dionisi et al. (2005a)	۰/۰۰۲	۰/۰۳۹	۳۵۰	۱۵۰۰	۲	۱	۳۵۰۰	۰/۰۱ ۰/۰۲ ۰/۰۸ ۰/۰۲ ۱۰۰	۱۲۷۵۰	استات و پروپیونات و اسید لاکتیک
Majone et al. (2006)	۰/۰۰۲	۰/۰۴۱	۳۰۰	۱۰۰۰	۲	۱	۳۲۰۰	۰/۰۱ ۰/۰۸ ۰/۰۵ ۰/۰۱ ۱۰۰	۸۵۰۰	استات و پروپیونات و اسید لاکتیک
Dionisi et al. (2006)	۰/۰۰۲۶	۰/۰۴۳	۵۰۰	۸۴۰	۲	۱	۵۹۰۰	۰/۰۰ ۰/۰۱ ۰/۰۸ ۰/۰۵ ۰/۰۲ ۰/۰۳ ۱۰۰	۲۰۰۰۰	استات و پروپیونات و اسید لاکتیک

محتوای PHA در مرحله تجمع است که در واقع نسبت F/M تعادل استوکیومتری بین سرعت رشد و مقدار خوراک را که برای حفظ شرایط رشد انتخابی باید در دسترس باشد را تعریف می‌کند.

### ۳-۴- تاثیر F/M

علاوه‌بر در دسترس بودن مواد مغذی و ترکیب خوراک، نسبت‌های F/M یکی از مهم‌ترین پارامترها برای بهینه‌سازی

VFA در پساب تخمیر را بررسی کرده‌اند، زیرا ترکیب VFA می‌تواند در مراحل بعدی بر ترکیب PHA تأثیر بگذارد. هنگام انتخاب pH، باید این واقعیت را در نظر گرفت که اکثر باکتری‌هایی که در فشار و دمای بالا نمی‌توانند زندگی کنند در طیف گسترده‌ای از مقادیر pH خارجی از ۹-۵/۵ رشد می‌کنند، هرچند که حفظ pH سیتوپلاسمی در دامنه باریک از ۷/۴ تا ۷/۸، که با عملکرد بهینه و ساختار یکپارچه پروتئین‌های سیتوپلاسمی سازگار است، رشد میکروارگانیسم‌ها را پشتیبانی می‌کنند.

چند مطالعه منتشر شده تأثیر pH (در این محدوده) را بر میزان و عملکرد ذخیره پلیمر شرح داده‌اند که با توجه به نتایج آن‌ها معمولاً با کنترل pH در محدوده ۸ تا ۹، بیشترین مقدار تولید بیوپلیمر به دست خواهد آمد. تحقیقات مقدماتی که توسط Dionisi et al. (2005a) انجام شده است نشان داد که تغییر pH از مرحله دوم (غنی‌سازی) به مرحله سوم (تجمع) روند تأثیر قابل توجهی بر سرعت و ترکیب PHA دارد، به طوری که میزان بالاتر تولید PHA و محتوای HV در پلیمر ذخیره شده در مقادیر pH قلیایی (در محدوده ۷/۵ تا ۹) مشاهده شد. با توجه به این نتایج مرحله استخراج PHA از زیست‌توده می‌تواند در pH قلیایی انجام شود.

در شرایط افزایش نسبت F/M پاسخ فیزیولوژیکی یک محیط کشت میکروبی مخلوط می‌تواند به طور فزاینده‌ای ذخیره‌سازی کربن و انرژی (به جای پاسخ رشد) باشد در صورتی که منبع کربنی بتواند به راحتی به سلول میکروبی منتقل شده و برای تبدیل به پیش‌سازهای پلیمری تخریب شود. با این وجود، محققان دیگر گزارش کردند که در شرایط افزایش استات، میزان اضافی کربن به پلیمر تبدیل نشده و کشت میکروبی سینتیک واکنش‌های متابولیکی را با سرعت رشد بالاتر تنظیم کرده به طوری که منبع کربنی بیشتری را برای رشد مستقیم در سطح استات بالا استفاده کرد. در مطالعه دیگری نیز این مطلب تأیید شده، به طوری که افزایش میزان ذخیره‌سازی توسط (Biros et al. (2014) هنگامی غلظت استات کاهش یافت گزارش شده است.

### ۳-۵- تأثیر pH

عملکرد فرایند کلی تحت تأثیر چندین پارامتر عملیاتی از جمله pH هر مرحله قرار دارد. تخمیر اسیدوژنیک معمولاً در شرایط اسید (به عنوان مثال ۵/۵-۶/۵) به منظور حذف متانوزن‌ها انجام می‌شود. مطالعات متعددی تأثیر pH بر ترکیب مخلوط

جدول ۶- شرایط بهره‌برداری، بازده ذخیره‌سازی و محتوای PHA حاصل از شرایط ADF با استفاده از ضایعات پیچیده واقعی

مرجع	نتایج		شرایط تجمع PHA		شرایط غنی‌سازی میکروبی					تخمیر اسیدوژن			
	نسبت طول فاز غنا به فاز فقر	بازده تولید PHA (Y <sub>PHA/S</sub> , g COD/g COD)	غلظت لجن فعال (mg VSS/L)	غلظت ت خوراکی (mg CO <sub>2</sub> /l)	طول چرخه (h)	زمان ماند لجن (day)	غلظت لجن فعال (mg/L)	COD/N/P	غلظت خوراک (mg COD/L)	بازده تولید (%)	زمان ماند (h)	pH	منبع کربنی
Chen et al. (2017)	۰/۰۴	۰/۶۸	۱۸۰۰	۲۵۲۰	۱۲	۵	۳۶۵۰	۱۰۰، ۶، ۱	۲۵۲۰	۷۱/۲	۹/۶	۴/۸	فاضلاب نیشکر
Ben et al. (2011)	۰/۰۴۳	۰/۵۳	۱۲۵۰	۱۵۰۰	۱۲	۷	۲۵۰۰	۱۰۰، ۳/۷	۱۱۰۰	۴۲	۳۶	۵/۵	فاضلاب کارخانه چوب
Albuquerque et al. (2011)	۰/۰۹	۰/۸	۶۸۰۰	۱۵۸۰	۱۲	۱۰	۳۰۰۰	۱۰۰، ۸، ۱	۱۴۵۰	۷۵	۱۰	۶	ملاس قند
Coats et al. (2011)	۰/۰۹	۰/۳۱	۸۰۰	۱۶۰۰	۲۴	۵/۳۳	۲۰۰۰	۰/۹، ۰/۷/۸، ۱۰۰	۶۶۰	—	۹۰	۴-۵/۵	فاضلاب شهری خام و مواد جامد اولیه
Oehmen et al. (2014)	۰/۱۱	۰/۸	۲۵۰۰	۲۵۲۰	۱۲	۱۰	۳۴۰۰	۳/۲، ۰/۴، ۱۰۰	۱۵۰۰	۷۰	۱۰	۶	ملاس قند

Farghaly et al. (2017)	۰/۱۴	۰/۴۶	۲۰۰۰	۲۸۵۰	۱۲	۱۰	۴۰۰۰	۰/۳۲، ۰/۴ ۱۰۰	۱۶۰۰	۲۱	—	۵/۵	فاضلاب کارخانه مقوا
Freches and Lemos (2017)	۰/۱۴	۰/۴۴	۲۲۰۰	۳۲۰۰	۲۴	۵	۲۳۰۰	۰/۵۳، ۰/۴ ۱۰۰	۱۴۵۰	—	—	—	گلیسرول خام از تولید بیودیزل
Liu et al. (2008)	۰/۱۴	—	۳۵۰	۷۰۰	۲۴	۴	—	۰/۴، ۰/۵ ۱۰۰	۳۰۰۰	—	—	—	فاضلاب کارخانه کنسرو گوجه فرنگی
Morgan-Sagastume et al. (2010)	۰/۱۷	۰/۳۷	۳۳۰۰	۱۵۰۰	۸	۶	۵۰۰۰	۰/۱۳، ۰/۲۷ ۱۰۰	۱۰۰۰	۵۰	۳۶	۶-۴ ۶/۸	لجن فعال مازاد
Albuquerque et al. (2010)	۰/۱۸	۰/۷۵	۱۵۰۰	۱۹۰۰	۱۲	۱۰	۳۰۰۰	۱۰۰، ۸، ۱	۱۴۴۰	۶۱	۱۰	۶	ملاس قند
Albuquerque et al. (2007)	۰/۲	۰/۶۶	۳۵۰۰	۳۹۰۰	۱۲	۱۰	۳۱۵۰	۰/۱۲، ۰/۳۴ ۱۰۰	۱۴۵۰	۷۶	۱۰	۵	ملاس نیشکر
Ahmadi et al. (2020a)	۰/۱۹	۰/۰۷	۲۰۰۰	۵۰۰۰	۱۲	۱۶	۵۵۰۰	۱۰۰، ۴، ۱	۱۳۵۰	—	—	—	فاضلاب کارخانه نوشابه سازی
Albuquerque et al. (2013)	۰/۲۲	۰/۷۶	۲۰۰۰	۳۸۰۰	۱۲	۱۰	۳۸۰۰	۰/۱۸۴، ۰/۵ ۱۰۰	۱۴۵۰	—	—	—	ملاس نیشکر
Korkakaki et al. (2016)	۰/۲۲	۰/۴۸	—	—	۱۲	—	—	—	۲۰۰۰	—	—	—	پسماندهای جامد شهری (شیرابه)
Beccari et al. (2009)	۰/۳۳	۰/۳۶	۳۷۰۰	۶۵۰۰	۲	۱	۳۷۰۰	۰/۶۱۵، ۰/۴ ۱۰۰	۸۵۰۰	۳۲	۳۳/۶	—	فاضلاب کارخانه روغن زیتون
Queirós et al. (2014)	۰/۳۳	۱/۱۹	۳۲۰	۲۰۰۰	۱۲	۵	۲۰۰۰	۱۰۰، ۰/۲	۱۷۰۰	—	—	—	پسماند کارخانه کاغذ سازی
Oliveira et al. (2017)	۰/۴	۰/۸۶	۱۳۰۰	۲۵۰۰	۱۲	۴	۲۶۰۰	۰/۴، ۰/۶ ۱۰۰	—	—	۷۲	۶	آب پنیر
Morgan-Sagastume et al. (2014)	۰/۵	۰/۲	۱۰۰۰	۳۰۰۰	۱/۵	۱/۵	۵۰۰	۰/۱۰۹ ۱۰۰، ۰/۱۲/۷	۲۷۵	۹۰	۱۴۲	۵-۵ ۶/۵	لجن و فاضلاب شهری
Valentino et al. (2015)	۰/۶۳	۰/۲۳	۵۰۰	۱۰۰۰	۱/۵	۱/۷۲	۱۹۰۰	۰/۱۰۹ ۱۰۰، ۰/۱۲/۷	۲۷۵	—	—	—	فاضلاب شهری سنتزی

## ۳-۶- تاثیر اکسیژن محلول

غلظت اکسیژن محلول اثر مستقیمی بر محتوای PHB ذخیره شده در لجن فعال دارد. در مطالعات قبلی گزارش شده است که مقادیر بیش از حد اکسیژن منجر به کاهش عملکرد PHB می‌شود زیرا بخش بیشتری از استات در غلظت بالاتر اکسیژن محلول صرف رشد زیست‌توده خواهد شد. با این حال، تحقیقات دیگر نشان داد که غلظت بالای اکسیژن محلول به نفع افزایش محتوای PHB است. به طور کلی افزایش غلظت اکسیژن محلول باعث افزایش میزان جذب استات خواهد شد. بنابراین، استات اضافی برای حفظ متابولیسم متعادل تبدیل به PHB می‌شود (Qu and Liu, 2009). افزایش غلظت اکسیژن محلول بدین معنی است که پذیرنده‌های الکترون بیشتری برای تولید انرژی توسط میکروارگانیسم‌ها در لجن موجود هستند. این نتیجه به این معنی است که جذب خوراک به دلیل این واقعیت افزایش می‌یابد که میکروارگانیسم‌های کشت شده در راکتورهایی که دارای رژیم خوراک پیوسته هستند حداکثر میزان آنزیم‌های جذب خوراک را القا می‌کنند (Van Aalst-van Leeuwen et al., 1997). از طرف دیگر، انتقال استات به درون غشای سلولی فرایندی است که انرژی مصرف می‌کند. براساس این شرایط، آن‌ها فرض می‌کنند که افزایش غلظت اکسیژن محلول باعث تسریع در جذب استات و پس از آن، ذخیره‌سازی PHB می‌شود (Smolders et al., 1994). از طرفی دیگر، بهینه‌سازی فرآیند تولید PHA با محیط کشت مخلوط منجر به تولید PHB تا ۶۷/۵ درصد وزنی با استات به‌عنوان خوراک شده است (Serafim et al., 2004).

## ۴- نتیجه‌گیری

مطالعات زیادی در زمینه تولید پلی هیدروکسی آلکانوات (PHA) با استفاده از محیط کشت‌های خالص میکروبی انجام شده است و گونه‌های مختلفی از میکروارگانیسم‌ها توانایی ذخیره PHA را نشان داده‌اند. با توجه به دیدگاه اقتصادی تولید PHA، توجه پژوهشگران به توانایی لجن فعال مازاد تصفیه‌خانه‌های فاضلاب برای تولید PHA معطوف شد و لجن فعال به‌عنوان منبع خوبی برای تولید PHA در نظر گرفته شد. روش‌های مختلفی برای افزایش راندمان تولید پلاستیک زیستی از لجن فعال مورد استفاده قرار گرفته است شامل غنا و فقر، بی‌هوای/هوای، میکروهوای/هوای، تغذیه مجزا کربن و نیتروژن. در این مقاله تمرکز بر روی یکی از روش‌های ساده تولید PHA از لجن فعال، روش فقر و غنا و اعمال محدودیت نیتروژن و فسفر است. عوامل

موثر بر تولید PHA از جمله نسبت غنا به فقر در مرحله غنی‌سازی، تاثیر مواد مغذی، تاثیر نوع خوراک، تاثیر نسبت F/M، تاثیر pH، تاثیر غلظت اکسیژن محلول توسط پژوهشگران بررسی شده است. مطالعات بیشتری برای تولید صنعتی PHA مورد نیاز خواهد بود و تمرکز بر بهبود عملکرد غنی‌سازی لجن فعال و افزایش بازده مرحله تجمع بیوپلاستیک زیستی برای برداشت حداکثری از لجن فعال از جنبه‌های پژوهشی مورد نیاز است. علاوه بر آن استفاده از رژیم پیوسته در تولید PHA از جمله نیازهای صنعتی شدن خواهد بود. با توجه به دانش کسب شده در این زمینه، در آینده در تولید تجاری PHA یک رویکرد از بالا به پایین مدنظر خواهد بود که در آن از قبل منبع کربنی و نوع PHA تولید شده با توجه به ملاحظات اقتصادی انتخاب می‌شود و استراتژی مطلوب به کار گرفته خواهد شد.

## ۵- پی‌نوشت‌ها

- 1- Poly Hydroxy Alkonate
- 2- Feast-Famine strategy
- 3- Poly (hydroxyl-butyrac acid)
- 4- Pure Culture
- 5- Aerobic Dynamic Feeding
- 6- Anerobic-aerobic
- 7- Microaerophilic –aerobic process
- 8- Uncoupled carbon and nitrogen feeding strategy
- 9- Volatile Fatty Acid
- 10- Sequencing Batch Reactor
- 11- Hydroxy Butyrate / Hydroxy Valerate
- 12- Feed / Microorganism

## ۶- مراجع

- عروجی، ن.، تکدستان، ع.، و کریمی، ف.، (۱۳۹۷). "اثر غلظت پارانیتروفنل موجود در فاضلاب بر کارایی فرایند تصفیه بیولوژیکی هوای و میزان لجن مازاد دفعی"، *علوم و مهندسی آب و فاضلاب*، ۳(۳)، ۱۷-۲۸.
- یحیی، چ.، و سمیه، ا.، (۱۳۹۷). "ارزیابی خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری تربت حیدریه جهت مصارف زراعی"، *پژوهش در بهداشت محیط*، ۳(۴)، ۲۳۶-۲۲۷.
- Ahmadi, F., Zinatizadeh, A., Asadi, A., and Younesi, H., (2019), "Influence of different culture selection methods on polyhydroxyalkanoate production at short-term biomass enrichment", *International Journal of Engineering*, 32(2), 184-192.
- Ahmadi, F., Zinatizadeh, A., and Asadi, A., (2020), "The effect of different operational strategies on

- growth in fast growing microbial culture", *Bioresource Technology*, 171, 314-322.
- Carta, F., Beun, J., Van Loosdrecht, M., and Heijnen, J., (2001), "Simultaneous storage and degradation of PHB and glycogen in activated sludge cultures", *Water Research*, 35(11), 2693-2701.
- Cavaille, L., Grousseau, E., Pocquet, M., Lepuple, A.S., Uribebarrea, J.L., Hernandez-Raqet, G., and Paul, E., (2013), "Polyhydroxybutyrate production by direct use of waste activated sludge in phosphorus-limited fed-batch culture", *Bioresource Technology*, 149(1), 301-309.
- Chen, Z., Huang, L., Wen, Q., Zhang, H., and Guo, Z., (2017), "Effects of sludge retention time, carbon and initial biomass concentrations on selection process: From activated sludge to polyhydroxyalkanoate accumulating cultures", *Journal of Environmental Science*, 52(1), 84-76.
- Ciggin, A.S., Orhon, D., Rossetti, S., and Majone, M., (2011), "Short-term and long-term effects on carbon storage of pulse feeding on acclimated or unacclimated activated sludge", *Water Research*, 45(10), 3119-3128.
- Ciggin, A.S., Rossetti, S., Majone, M., and Orhon, D., (2013), "Extent of intracellular storage in single and dual substrate systems under pulse feeding", *Environmental Science and Pollution Research*, 20(1), 1225-1238.
- Coats, E.R., Vandevort, K.E., Darby, J.L., and Loge, F.J., (2011), "Toward polyhydroxyalkanoate production concurrent with municipal wastewater treatment in a sequencing batch reactor system", *Journal of Environmental Engineering*, 137(1), 46-54.
- Dias, J.M., Lemos, P.C., Serafim, L.S., Oliveira, C., Eiroa, M., Albuquerque, M.G., Ramos, A.M., Oliveira, R., and Reis, M.A., (2006), "Recent advances in polyhydroxyalkanoate production by mixed aerobic cultures: From the substrate to the final product", *Macromolecular Bioscience*, 6(11), 885-906.
- Dionisi, D., Beccari, M., Digregorio, S., Majone, M., Parini, M.P., and Vallini, G., (2005a), "Storage of biodegradable polymers by an enriched microbial community in a sequencing batch reactor operated at high organic load rate", *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 80(1), 1306-1318.
- Dionisi, D., Carucci, G., Parini, M. P., Riccardi, C., Majone, M., and Carrasco, F., (2005b), "Olive oil mill effluents as a feedstock for production of biodegradable polymers", *Water Research*, 39(10), 2076-2084.
- Dionisi, D., Majone, M., Papa, V., and Beccari, M., (2004), "Biodegradable polymers from organic acids by using activated sludge enriched by aerobic periodic feeding", *Biotechnology and Bioengineering*, 85(6), 569-579.
- Dionisi, D., Majone, M., Vallini, G., Digregorio, S., and Beccari, M., (2006), "Effect of the applied organic load rate on biodegradable polymer production by polyhydroxyalkanoates (PHAs) production at short-term biomass enrichment", *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(3), 301-315.
- Albuquerque, M., Eiroa, M., Torres, C., Nunes, B., and Reis, M., (2007), "Strategies for the development of a side stream process for polyhydroxyalkanoate (PHA) production from sugar cane molasses", *Journal of Biotechnology*, 130(4), 411-421.
- Albuquerque, M., Martinao, V., Pollet, E., Averous, L., and Reis, M., (2011), "Mixed culture polyhydroxyalkanoate (PHA) production from volatile fatty acid (VFA)-rich streams: Effect of substrate composition and feeding regime on PHA productivity, composition and properties", *Journal of Biotechnology*, 151(1), 66-76.
- Albuquerque, M., Torres, C., and Reis, M., (2010), "Polyhydroxyalkanoate (PHA) production by a mixed microbial culture using sugar molasses: Effect of the influent substrate concentration on culture selection", *Water Research*, 44 (11), 3419-3433.
- Albuquerque, M.G., Carvalho, G., Kragelund, C., Silva, A.F., Crespo, M.T.B., Reis, M.A., and Nielsen, P.H., (2013), "Link between microbial composition and carbon substrate-uptake preferences in a PHA-storing community", *The ISME Journal*, 7(1), 1-12.
- Amini, M., Yousefi-Massumabad, H., Yoounesi, H., Abyar, H., and ahramifar, N., (2020), "Production of the polyhydroxyalkanoate biopolymer by *Cupriavidus necator* using beer brewery wastewater containing maltose as a primary carbon source", *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(1), 103588.
- Basak, B., Ince, O., Artan, N., Yagci, N., and Ince, B.K., (2011), "Effect of nitrogen limitation on enrichment of activated sludge for PHA production", *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 34(8), 1007-1016.
- Beccari, M., Bertin, L., Dionsi, D., Fava, F., Lampis, S., Majone, M., Valentino, F., Vallini, G., and Villsno, M., (2009), "Exploiting olive oil mill effluents as a renewable resource for production of biodegradable polymers through a combined anaerobic-aerobic process", *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 84(6), 901-908.
- Ben, M., Mato, T., Lopez, A., Vila, M., Kennes, C., and Veiga, M., (2011), "Bioplastic production using wood mill effluents as feedstock", *Water Science and Technology*, 63 (6), 1196-1202.
- Bengtsson, S., Werker, A., and Welander, T., (2008), "Production of polyhydroxyalkanoates by glycogen accumulating organisms treating a paper mill wastewater", *Water Science and Technology*, 58(2), 323-330.
- Bernat, K., Wojnoeska-Baryla, I., and Dobrzynska, A., (2008), "Denitrification with endogenous carbon source at low C/N and its effect on P (3HB) accumulation", *Bioresource Technology*, 99(7), 2410-2418.
- Biros, Y., Cokgor, E.U., Yagci, N., Pala-Ozkok, I., Cakar, Z.P., Sozen, S., and Orhon, D., (2014), "Effect of acetate to biomass ratio on simultaneous polyhydroxybutyrate generation and direct microbial

- famine cultivation pattern on bacterial diversity during poly- $\beta$ -hydroxybutyrate production from domestic sewage sludge", *Environmental Science and Pollution Research*, 23(13), 12966-12975.
- Liu, H.Y., Hall, P.V., Darby, J.L., Coats, E.R., Green, P.G., Thompson, D.E., and LOGE, F.J., (2008), "Production of polyhydroxyalkanoate during treatment of tomato cannery wastewater", *Water Environment Research*, 80(4), 367-372
- Liu, Z., Wang, Y., He, N., Huang, J., Zhu, K., Shao, W., Wang, H., Yuan, W., and Li, Q., (2011), "Optimization of polyhydroxybutyrate (PHB) production by excess activated sludge and microbial community analysis", *Journal of Hazardous Materials*, 185(1), 8-16.
- Majone, M., Beccari, M., Digregorio, S., Dionisi, D., and Vallini, G., (2006), "Enrichment of activated sludge in a sequencing batch reactor for polyhydroxyalkanoate production", *Water Science and Technology*, 54(1), 119-128.
- Marang., L., Jiang, Y., Van Looedrecht, M.C., and Kleerebezem, R., (2013), " Butyrate as preferred substrate for polyhydroxybutyrate production", *Bioresource Technology*, 142(1), 232-239.
- Mddin, M., Ujang, Z., Van Looedrecht, M.C., Ahmad, A., and Sairan, M., (2006), "Optimization of nitrogen and phosphorus limitation for better biodegradable plastic production and organic removal using single fed-batch mixed cultures and renewable resources", *Water Science and Technology*, 53(6), 15-20.
- Mengmeng, C., Hong, C., Qingliang, Z., Shirley, S.N., and Jie, R., (2009), "Optimal production of polyhydroxyalkanoates (PHA) in activated sludge fed by volatile fatty acids (VFAs) generated from alkaline excess sludge fermentation", *Bioresource Technology*, 100(3), 1399-1405.
- Mino, T., Liu, W., Satoh, H., and Matsuo, T., (1996), "Possible metabolisms of polyphosphate accumulating organisms (PAOs) and glycogen accumulating non-poly-P organisms (GAOs) in the exchanged biological phosphate removal process", *Medelingen-Faculteit Landbouwkudige En Toegepaste Biologische Wetenschappen*, 61, 1769-1776.
- Montiel-Jarillo, G., Carrera, J., and Suarez-Ojeda, M.E., (2017), "Enrichment of a mixed microbial culture for polyhydroxyalkanoates production: Effect of pH and N and P concentrations", *Science of the Total Environment*, 583(1), 300-307.
- Morgan-Sagastume, F., Karlsson, A., Johansson, P., Boon, N., Lant, P., and Werker, A., (2010), "Production of polyhydroxyalkanoates in open, mixed cultures from a waste sludge stream containing high levels of soluble organics, nitrogen and phosphorus", *Water Research*, 44(18), 5196-5211.
- Morgan-Sagastume, F., Valentino, F., Hjort, M., Cirne, D., Karabegovic, L., Gerardin, F., Johansson, P., Karlsson, A., Magnusson, P., and Alexandersson, T., (2014), "Polyhydroxyalkanoate (PHA) production from sludge and municipal wastewater treatment", mixed microbial cultures in a sequencing batch reactor", *Biotechnology and Bioengineering*, 93(1), 76-88.
- Dionisi, D., Majone, M., Vallini, G., Digregorio, S., and Beccari, M., (2007), "Effect of the length of the cycle on biodegradable polymer production and microbial community selection in a sequencing batch reactor", *Biotechnology Progress*, 23(5), 1064-1073.
- Farghaly, A., Enitan, A. M., Kumari, S., Bux, F., and Tawfik, A., (2017), "Polyhydroxyalkanoates production from fermented paperboard mill wastewater using acetate-enriched bacteria", *Clean Technologies and Environmental Policy*, 19(4), 935-947.
- Freches, A., and Lemos, P.C., (2017), "Microbial selection strategies for polyhydroxyalkanoates production from crude glycerol: effect of OLR and cycle length", *New Biotechnology*, 39(part A), 22-28.
- Guo, Z., Chen, Z., Wen, Q., Huang, L., Bakke, R., and Du, M., (2016), "Strategy to reduce the acclimation period for enrichment of PHA accumulating cultures", *Desalination and Water Treatment*, 57(60), 29286-29294.
- Gurieff, N., (2007). "Production of biodegradable polyhydroxyalkanoate polymers using advanced biological wastewater treatment process technology. Ph.D. Thesis, School of Engineering, The University of Queensland.
- Ince, O., Basak, B., Ince, B.K., Cetecioglu, Z., Celikkol, S., and Kolukirik, M., (2012), "Effect of nitrogen deficiency during SBR operation on PHA storage and microbial diversity", *Environmental Technology*, 33(16), 1827-1837.
- Jiang, Y., Marang, L., Kleerebezem, R., Muyzer, G., and Van Looedrecht, M.C., (2011), "Effect of temperature and cycle length on microbial competition in PHB-producing sequencing batch reactor", *The ISME Journal*, 5(5), 896-907.
- Johnson, K., Jiang, Y., Kleerebezem, R., Muyzer, G., and Van Looedrecht, M.C., (2009), "Enrichment of a mixed bacterial culture with a high polyhydroxyalkanoate storage capacity", *Biomacromolecules*, 10(4), 670-676.
- Karahan, O., Orhon, D., and Van Looedrecht, M.C., (2008), "Simultaneous storage and utilization of polyhydroxyalkanoates and glycogen under aerobic conditions", *Water Science and Technology*, 58(4), 945-951.
- Kedia, G., Passanha, P., Dinsdale, R.M., Gumy, A.J., Esteves, S.R., and Engineering, B., (2014), " Evaluation of feeding regimes to enhance PHA production using acetic and butyric acids by a pure culture of *Cupriavidus necator*", *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 19(1), 989-995.
- Korkakaki, E., Mulders, M., Veeken, A., Rozendal, R., Van Looedrecht, M. C., and Kleerebezem, R., (2016), "PHA production from the organic fraction of municipal solid waste (OFMSW): Overcoming the inhibitory matrix", *Water Research*, 96(6), 74-83.
- Liu, C., Liu, D., Qi, Y., Zhang, Y., Liu, X., and Zhao, M., (2016), "The effect of anaerobic-aerobic and feast-

- (2002), "PHA (polyhydroxyalkanoate) production potential of activated sludge treating wastewater", *Water Science and Technology*, 45(12), 119-126.
- Traverso, P., Pavan, P., Bolzonella, D., Innocent, L., Cecchi, F., and Mata-Alvarez, J., (2000), "Acidogenic fermentation of source separated mixtures of vegetables and fruits wasted from supermarkets", *Biodegradation*, 11(6), 407-414.
- Valentino, F., Beccari, M., Fraraccio, S., Zanaroli, G., and Majone, M., (2014), "Feed frequency in a sequencing batch reactor strongly affects the production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from volatile fatty acids", *New Biotechnology*, 31(4), 264-275.
- Valentino, F., Brusca, A. A., Beccari, M., Nuzzo, A., Zanaroli, G., and Majone, M., (2013), "Start up of biological sequencing batch reactor (SBR) and short-term biomass acclimation for polyhydroxyalkanoates production", *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 88(2), 261-270.
- Valentino, F., Morgan-Sagastume, F., Fraraccio, S., Corsi, G., Zanaroli, G., Werker, A., and Majone, M., (2015), "Sludge minimization in municipal wastewater treatment by polyhydroxyalkanoate (PHA) production", *Environmental Science and Pollution Research*, 22(10), 7281-7294.
- Van Aalst-Van Leeuwen, M., Pot, M., Van Loosdrecht, M., and Heijnen, J., (1997), "Kinetic modeling of poly ( $\beta$ -hydroxybutyrate) production and consumption by *Paracoccus pantotrophus* under dynamic substrate supply", *Biotechnology and Bioengineering*, 55(5), 773-782.
- Van Loosdrecht, M., Pot, M., and Heijnen, J., (1997), "Importance of bacterial storage polymers in bioprocesses", *Water Science and Technology*, 35(1), 41-47.
- Villano, M., Beccari, M., Dionisi, D., Lampis, S., Miccheli, A., Vallini, G., and Majone, M., (2010), "Effect of pH on the production of bacterial polyhydroxyalkanoates by mixed cultures enriched under periodic feeding", *Process Biochemistry*, 45(5), 714-723.
- Villano, M., Valentino, F., Barbetta, A., Martino, L., Scandola, M., and Majone, M., (2014), "Polyhydroxyalkanoates production with mixed microbial cultures: From culture selection to polymer recovery in a high-rate continuous process", *New Biotechnology*, 31(4), 289-296.
- Wen, Q., Chen, Z., Wang, C., and Ren, N., (2012), "Bulking sludge for PHA production: Energy saving and comparative storage capacity with well-settled sludge", *Journal of Environmental Sciences*, 24(10), 1744-1752.
- Water Science and Technology*, 69(1), 177-184.
- Muhammadi, S., Afzal, M., and Hameed, S.J., (2015), "Bacterial polyhydroxyalkanoates-eco-friendly next generation plastic: Production, biocompatibility, biodegradation, physical properties and applications", *Journal of Green Chemistry Letters and Reviews*, 8(3-4), 56-77.
- Oehmen, A., Pinto, F.V., Silva, V., Albuquerque, M.G., and Reis, M.A., (2014), "The impact of pH control on the volumetric productivity of mixed culture PHA production from fermented molasses", *Engineering in Life Sciences*, 14(2), 143-152.
- Oliveria, C.S., Silva, C.E., Carvalho, G., and Reis, M.A., (2017), "Strategies for efficiently selecting PHA producing mixed microbial cultures using complex feedstocks: Feast and famine regime and uncoupled carbon and nitrogen availabilities", *New Biotechnology*, 37(part A), 69-79.
- Ozdemir, S., Akman, D., Cirik, K., and Cinar, O., (2014), "Effect of cycle time on polyhydroxybutyrate (PHB) production in aerobic mixed cultures", *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(5), 2390-2399.
- Qu, B., and Liu, J., (2009). "Determination of optimum operating conditions for production of polyhydroxybutyrate by activated sludge submitted to dynamic feeding regime", *Chinese Science Bulletin*, 54(1), 142-149.
- Queiros, D., Rossetti, S., and Serafim, L.S., (2014), "PHA production by mixed cultures: a way to valorize wastes from pulp industry", *Bioresource Technology*, 157(1), 197-205.
- Satoh, H., Iwamoto, Y., Mino, T., and Matsuo, T.J., (1998), "Activated sludge as a possible source of biodegradable plastic", *Water Science and Technology*, 38(2), 103-109.
- Serafim, L.S., Lemos, P.C., Albuquerque, M.G., and Reis, M.A., (2008a), "Strategies for PHA production by mixed cultures and renewable waste materials", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 81(4), 615-628.
- Serafim, L.S., Lemos, P.C., Oliveria, R., and Reis, M.A., (2004), "Optimization of polyhydroxybutyrate production by mixed cultures submitted to aerobic dynamic feeding conditions", *Biotechnology and Bioengineering*, 87(2), 145-160.
- Serafim, L.S., Lemos, P.C., Torres, C., Reis, M.A., and Ramos, A.M., (2008b), "The influence of process parameters on the characteristics of polyhydroxyalkanoates produced by mixed cultures", *Macromolecular Bioscience*, 8(4), 355-366.
- Shi, H., Shiraishi, M., and Shimizu, K., (1997), "Metabolic flux analysis for biosynthesis of poly ( $\beta$ -hydroxybutyric acid) in *Alcaligenes eutrophus* from various carbon sources", *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 84(6), 587-579.
- Smolders, G., Vandermeij, J., Van Loosdrecht, M., and Heijnen, J., (1994), "Stoichiometric model of the aerobic metabolism of the biological phosphorus removal process", *Biotechnology and Bioengineering*, 44(7), 837-848.
- Takabatake, H., Satoh, H., Mino, T., and Matsuo, T.,



This article is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC-BY) license.