



Research paper

(Received Apr. 10, 2025

Accepted Aug. 6, 2025)

A Review on Biodegradable Plastic Production from Microalgae

Behnam Feyzi¹, Roudabeh Samiee-Zafarghandi^{2*}, Maryam Pazoki², Hossein Abolghasemi^{1,3}

¹*Center for Separation Processes Modeling and Nano-Computations, School of Chemical Engineering, College of Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran.*

²*Department of Environmental Engineering, Graduate Faculty of Environment, University of Tehran, Tehran, Iran.*

³*School of Chemical Engineering, College of Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran.*

Abstract

The increasing plastic pollution and the continuous dependence on fossil resources have highlighted the urgent need for the development and utilization of biodegradable plastics. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) are promising polymers that have attracted considerable attention due to their complete biodegradability, biocompatibility, and physical properties comparable to those of conventional petrochemical based polymers such as polyethylene. These biopolymers are synthesized and accumulated as intracellular energy and carbon storage in certain groups of microorganisms and accumulate in the cytoplasm. Microalgae, which utilize sunlight as their primary energy source and require minimal nutrients for growth, have attracted attention for PHA production due to their adaptability to cultivation conditions, independence from seasonal variations, rapid growth rates. This article provides a comprehensive review of bioplastics, the conditions and metabolic pathways involved in PHA storage in microalgal cells, as well as the properties and applications of these biodegradable polymers produced by microalgae. The study also addresses commercialization, recent advancements, and associated challenges. Findings indicate that nutrient limitation significantly enhances the biopolymer accumulation in many microalgal species. Moreover, selecting appropriate microalgal strains has been shown to increase biopolymer yields as much as 70% of the dry biomass weight. The high potential of microalgae in producing biodegradable polymers could have a substantial impact on reducing environmental pollution and achieving sustainable development. Although commercial production of PHAs from microalgae still faces certain limitations, projections suggest that PHAs could account for up to 33% of the global polymer market in the future.

Keywords: Biodegradable plastic, Microalgae, Polyhydroxyalkanoates, Biorefinery.

* Corresponding Author: Roudabeh Samiee-Zafarghandi

Email: r_samiee@ut.ac.ir

Phone: +982161113156

Doi: 10.48306/juem.2025.515604.1071



مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۵/۱۵ تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۵/۱

مروری بر تولید پلاستیک زیست تخریب پذیر از ریزجلبک‌ها

بهنام فیضی^۱، رودابه سمیعی زفرقندی^{۲*}، مریم پاژکی^۲، حسین ابوالقاسمی^۳

^۱ مرکز مدل‌سازی فرآیندهای جداسازی و محاسبات نانو فناوری، دانشکده مهندسی شیمی، دانشکده فنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۲ گروه مهندسی محیط زیست، دانشکده محیط زیست، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۳ دانشکده مهندسی شیمی، دانشکده فنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

افزایش آلودگی‌های پلاستیکی و وابستگی پیوسته به منابع فسیلی، ضرورت توسعه و استفاده از پلاستیک‌های زیست تخریب پذیر را بیش از پیش نمایان ساخته است. پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها (PHAs^۱) پلیمرهایی هستند که به دلیل قابلیت تجزیه پذیری کامل، سازگاری زیستی و همچنین داشتن ویژگی‌های مشترک با پلیمرهای پتروشیمیایی مانند پلی‌اتیلن، مورد توجه قرار گرفته‌اند. این پلیمرها به عنوان ذخایر انرژی و کربن درون سلولی در گروهی از میکروارگانیسم‌ها تولید و در سیتوپلاسم سلولی تجمع می‌یابند. ریزجلبک‌ها، با استفاده از نورخورشید به عنوان منبع اصلی انرژی و با نیاز به حداقل مواد مغذی برای رشد، با شرایط کشت سازگار شده و به لحاظ عدم وابستگی به فصول سال، سرعت رشد بالا و مزایایی دیگر، در زمینه تولید PHAها مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این مقاله، به مروری بر پلاستیک‌های زیستی، شرایط تولید و مسیرهای متابولیکی ذخیره‌سازی PHAها در سلول‌های ریزجلبکی و ویژگی‌ها و کاربردهای این پلیمرهای زیست تخریب پذیر تولیدی توسط ریزجلبک‌ها پرداخته شده و تجاری‌سازی، پیشرفت‌ها و چالش‌های مرتبط با آنها بررسی شده است. نتایج مطالعات حاکی از آن است محدودیت در مواد مغذی موجب افزایش تجمع پلیمرهای زیستی در بسیاری از گونه‌ها شده است؛ انتخاب گونه ریزجلبکی مناسب توانسته بازدهی تولید پلیمرزیستی را تا ۷۰ درصد وزنی خشک زیست توده افزایش دهد. پتانسیل بالای ریزجلبک‌ها در تولید پلیمرهای زیست تخریب پذیر می‌تواند اثر قابل توجهی در کاهش آلودگی‌های محیط‌زیستی و دستیابی به توسعه پایدار داشته باشد. اگرچه تولید PHAها از ریزجلبک‌ها در مقیاس تجاری هنوز با محدودیتهایی روبروست، با این وجود پیش‌بینی می‌شود PAHها ۳۳ درصد از بازار مواد پلیمری جهان را به خود اختصاص دهد.

کلمات کلیدی: پلاستیک زیست تخریب پذیر، ریزجلبک، پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات، پالایشگاه زیستی.

Doi: 10.48306/juem.2025.515604.1071

* نویسنده مسئول: رودابه سمیعی زفرقندی

ایمیل: r_samiee@ut.ac.ir

تلفن: ۰۲۱۶۱۱۱۳۱۵۶

^۱ PolyHydroxyAlkanooates

۱- مقدمه

امروزه آلودگی‌های زیست‌محیطی ناشی از پسماندهای پلاستیکی، به یک چالش جدی برای اکوسیستم‌ها تبدیل شده‌است. از سال ۱۹۹۰، طیف وسیعی از انواع پلاستیک‌ها در صنایع مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌اند که پس از دفع به محیط، نه تنها موجب انتشار مواد شیمیایی مضر و آسیب به محیط‌زیست شده است، بلکه برای تجزیه این ترکیبات به زمان زیادی نیاز است. علیرغم ممنوعیت دفع پسماند در آب در سال ۱۹۳۴، ورود پلاستیک به اقیانوس‌ها از سال ۲۰۱۰ و به تبع آن آلودگی زیست‌محیطی دریایی به شدت افزایش یافته‌است [۱]. چنانچه اقدام جدی در خصوص آلودگی پلاستیک‌ها صورت نپذیرد، پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۵۰ پلاستیک‌های اقیانوس‌ها از میزان ماهی‌ها تجاوز کند. سازمان ملل هشدار داده است حیات دریایی به‌طور جبران‌ناپذیری نابود خواهد شد.

بطور کلی پلاستیک‌ها در دو دسته زیست‌تخریب‌پذیر و زیست‌تخریب‌ناپذیر طبقه‌بندی می‌شوند. پلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر شامل پلی‌لاکتیک اسید (PLA^۱)، پلی‌گلایکولید (PGA^۲) و پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات (PHA) و پلاستیک‌های زیست‌تخریب‌ناپذیر شامل پلی‌اتیلن (PE^۳)، پلی‌پروپیلن (PP^۴)، پلی‌وینیل‌کلراید (PVC^۵)، پلی‌استایرن (PS^۶)، پلی‌اتیلن ترفتالات (PET^۷)، پلی‌کربنات (PC^۸) و پلی‌تترافلوئوروآتیلن (PTFE^۹) می‌باشند [۲]. پلیمرهای نفتی نسبتاً بی‌اثر بوده و با دوام بالا دارای کاربردهای مختلفی می‌باشند؛ از این رو بیش از ۷۰ سال است که در دنیا در صنایع مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۳]. از سوی دیگر، تولید پلیمرهای مشتق شده از نفت دارای معایبی از جمله ردپای کربن بالا و انتشار دی‌اکسیدکربن حاصل از احتراق هستند و استفاده از آنها با افزایش مواد سمی و ریزپلاستیک‌ها در دریاها، - که در برابر تجزیه بیولوژیکی مقاومند - همراه است [۴]. با توجه به محدود بودن منابع سوخت‌های فسیلی و تأثیرات منفی زیست‌محیطی مرتبط با فرآورده‌های آن، تحقیق در مورد جایگزینی برای کاهش وابستگی به منابع تجدیدناپذیر ضروری به نظر می‌رسد [۵]. در این میان پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر به دلیل سازگاری با محیط‌زیست، به‌عنوان یکی از بهترین راه‌حل‌های موجود برای مقابله با مشکلات آلودگی‌های زیست‌محیطی ناشی از پلیمرهای مصنوعی شناخته می‌شوند. با این حال، هنوز هم هزینه‌های تولید پلیمرهای مبتنی بر نفت کمتر از پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر است، که این امر مانع از توسعه تجاری و عرضه گسترده پلیمرهای سازگار با محیط‌زیست شده است [۶].

PHAها به‌عنوان پلاستیک‌های زیستی با قابلیت اطمینان بالا، دارای خواص شبیه به پلی‌پروپیلن و البته با قابلیت تجزیه زیستی بوده و با استفاده از روش‌هایی مانند اکستروژن و تزریق قالب‌گیری تولید می‌شود. این پلیمرهای زیستی به سرعت توسط ارگانیسم‌های موجود در خاک تجزیه می‌شوند [۷]. PHAها در فرمانتورهای بزرگ توسط باکتری‌های هتروتروف^{۱۰} مانند اشیریشیا کلی نوترکیب^{۱۱} و کاپریاویدوس نکاتور^{۱۲} تولید می‌شوند [۳]. برای کشت این ارگانیسم‌ها به مقدار زیادی منابع کربن آلی مانند گلوکز و نمک‌های معدنی نیاز است که تقریباً ۵۰ درصد از کل هزینه‌های تولید را دربر گرفته است [۸]. در مقیاس صنعتی، PHA تولید شده از تخمیر باکتریایی در مقیاسه با برخی از پلاستیک‌های نفتی، به دلیل هزینه بالای تولید محدود شده است [۹]. روش جایگزین تولید PHA، استفاده از زیست توده سلولی ریزجلبک‌های پروکاریوتی است، که بیشتر به‌عنوان سیانوباکتری‌ها شناخته شده‌اند [۱۰].

جلبک‌ها عمدتاً گروه‌های متنوعی از ارگانیسم‌های فتواتوتروف هستند که طیف وسیعی از اشکال تک‌سلولی تا چندسلولی را دربر می‌گیرند [۱۱]. ریزجلبک‌ها، میکروارگانیسم‌های فتوسنتزکننده از محیط‌زیست‌های آب شیرین یا دریایی هستند و به شکل سلول‌های منفرد یا زنجیره‌ای از سلول‌ها وجود دارند [۱۲]. نیازهای رشد ساده‌ای دارند (آب، نور، یک منبع کربن و مواد مغذی)، و اجزای اصلی تشکیل‌دهنده آن‌ها پروتئین‌ها، لیپیدها و کربوهیدرات‌ها هستند [۱۳]. برخی از گونه‌ها حاوی بیش از ۷۰ درصد لیپید (بر اساس وزن

^۱ Polylactic Acid

^۲ Polyglycolide

^۳ Polyethylene

^۴ Polypropylene

^۵ Polyvinyl Chloride

^۶ Polystyrene

^۷ Polyethylene Terephthalate

^۸ Polycarbonate

^۹ Polytetrafluoroethylene

^{۱۰} این باکتری‌ها با استفاده از ترکیبات آلی آماده (مانند قندها، اسیدهای آمینه یا چربی‌ها) به‌عنوان منبع انرژی و کربن، رشد و تولید مثل می‌کنند و قادر به تولید این ترکیبات از مواد معدنی نیستند.

^{۱۱} Recombinant Escherichia coli

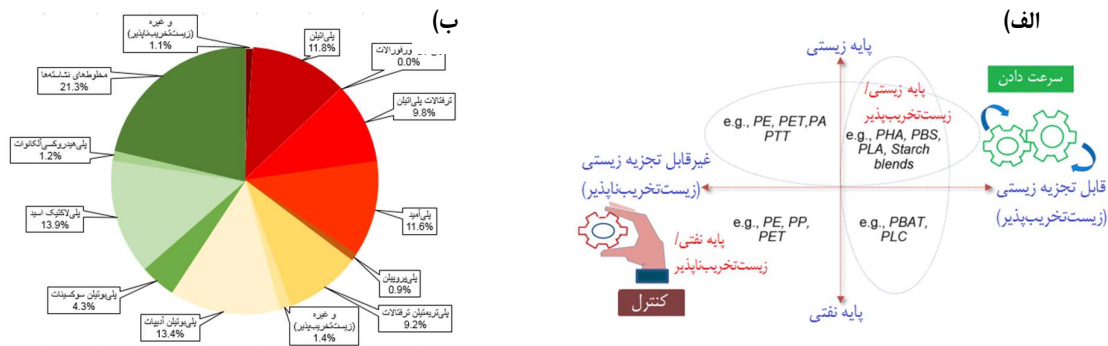
^{۱۲} Cupriavidus necator

خشک) بوده و تحت شرایط بهینه، رشد نمایی دارند [۱۲]. ریزجلبک‌ها علاوه بر دارا بودن بالاترین بازده تولید روغن (سالانه در حدود ۱۰۰,۰۰۰ لیتر روغن در هر هکتار) نسبت به دیگر زیست‌توده‌های کشاورزی، منبعی تجدیدپذیر برای انرژی محسوب می‌شوند [۱۴]. این میکروارگانیسم‌ها همچنین به دلیل محتوای غنی از پروتئین، ویتامین‌ها، اسیدهای چرب اصلی و املاح معدنی اهمیت خاصی دارند. برای بهره‌برداری از خواص ارزشمند این جلبک‌ها، معمولاً به صورت خشک یا مرطوب در بازار تجاری برای کاربردهای مختلف عرضه می‌شوند و تعیین کاربرد نهایی آن‌ها در هر صنعت به ویژگی‌ها و ترکیب زیست‌توده ریزجلبکی بستگی دارد [۱۵].

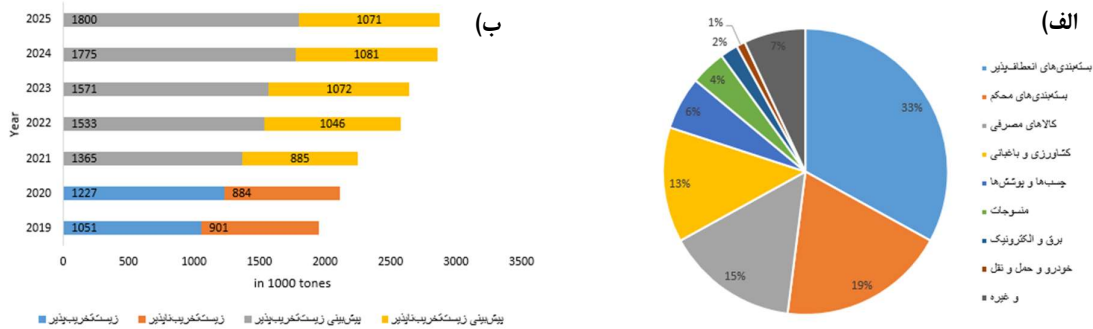
برای افزایش قابلیت پردازش و تجاری‌سازی PHA، علاوه بر کاهش هزینه‌های تولید، ویژگی‌های پلیمر نیز باید بهبود یابد [۱۶]. به این منظور، لازم است به شناخت دقیقی از خواص پلیمرهای زیستی همراه با کاربردهای صنعتی آن‌ها دست یافت. تحقیقات متعددی با هدف تولید PHAها از گونه‌های مختلف ریزجلبک‌ها انجام شده است [۹ و ۱۷]. از منظر توسعه پایدار، تولید پلاستیک‌های زیستی از ریزجلبک‌ها به عنوان منبعی پایدار و قابل‌اعتماد برای حل بسیاری از چالش‌ها شناخته می‌شود. کاهش وابستگی به پلاستیک‌های نفتی، کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی، حفاظت از تنوع زیستی و افزایش استفاده از منابع تجدیدپذیر از جمله این موارد هستند. بنابراین، استفاده از پلاستیک‌های زیستی که از منابع تجدیدپذیر مانند ریزجلبک‌ها تأمین می‌شوند، می‌تواند راه‌حلی مؤثر برای مقابله با مسائل مربوط به آلودگی پلاستیک‌ها باشد و به راهبردهای مختلف توسعه پایدار و بهبود وضعیت محیط‌زیست کمک کند. هدف از این مقاله، مروری کلی بر تولید PHAها از ریزجلبک‌های مختلف، بررسی خواص و ترکیبات این پلیمرهای زیستی و ارزیابی امکان‌پذیری و چالش‌های استفاده از PHA به عنوان جایگزینی پایدار و سازگار با محیط‌زیست برای پلاستیک‌های معمولی برپایه نفت است.

۲- انواع پلاستیک‌ها

پلاستیک به عنوان یک ماده مصنوعی ضروری، به‌طور گسترده در جوامع امروزی مورد استفاده قرار گرفته است. پلیمرهای مشتق‌شده از نفت شامل پلی‌اتیلن، پلی‌پروپیلن، پلی‌وینیل‌کلراید، پلی‌استایرن، پلی‌اتیلن ترفتالات، پلی‌کربنات و پلی‌تترافلوئوروآتیلن می‌باشند. این پلاستیک‌ها به دلیل دوام بالا و استحکام مناسب، در صنایع مختلف از جمله بسته‌بندی، ساخت و ساز، الکترونیک و غیره استفاده می‌شوند. با این حال، این پلاستیک‌ها معمولاً زمان زیادی برای تجزیه نیاز دارند و باعث آلودگی محیط زیست می‌شوند [۱۸]. تولید و مصرف گسترده پلاستیک در جهان، به‌ویژه با رشد چشمگیر از ۳۵۹ میلیون تن در سال ۲۰۱۸ به ۳۶۷ میلیون تن در ۲۰۲۰ و پیش‌بینی افزایش سه‌برابری تا سال ۲۰۵۰، پیامدهای زیست‌محیطی گسترده‌ای به دنبال داشته است. بخش عمده‌ای از این پلاستیک‌ها، به‌ویژه در کشورهای فاقد مدیریت کارآمد پسماند، در طبیعت رها شده و سالانه بیش از ۱۰ میلیون تن از آنها وارد اقیانوس‌ها می‌شود. نرخ بازیافت جهانی پلاستیک بسیار پایین و حدود ۲۸ درصد است، این درحالیست که همچنان حدود ۵۰ درصد زباله‌های پلاستیکی تولیدی، دفن می‌شوند. علاوه بر آلودگی محیطی، تولید پلاستیک از منابع فسیلی با انتشار سالانه صدها میلیون تن CO₂ همراه است که به بحران تغییرات اقلیمی دامن زده است. این چالش‌ها دولت‌ها و محققان را بر آن داشته تا با توسعه و جایگزینی پلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر، گامی مؤثر در کاهش آلودگی پلاستیک‌ها و حفظ سلامت انسان و محیط‌زیست بردارند [۹ و ۱۹].



شکل ۱- (الف) طبقه‌بندی پلاستیک، (ب) ظرفیت تولید پلاستیک‌زیستی بر اساس نوع ماده در سراسر جهان [۲ و ۱۵]



شکل ۲- الف) زمینه‌های کاربرد پلاستیک زیست‌تخریب‌پذیر، ب) پیش‌بینی ظرفیت تولید پلاستیک‌زیستی جهانی از سال ۲۰۱۹ تا ۲۰۲۵ [۲]

در شکل ۱- الف دسته‌بندی جامعی از پلاستیک‌ها بر اساس منشأ تولید (نفتی یا زیستی) و قابلیت تجزیه‌پذیری زیستی ارائه شده است. در این شکل، پلاستیک‌ها به چهار گروه اصلی تقسیم شده‌اند: ۱) پلاستیک‌های پایه نفتی و غیرقابل تجزیه زیستی مانند پلی‌اتیلن، پلی‌پروپیلن و پلی‌استایرن که به دلیل پایداری شیمیایی بالا، قابلیت تجزیه زیستی ندارند و زمان زیادی برای تجزیه در طبیعت نیاز دارند؛ ۲) پلاستیک‌های پایه نفتی و قابل تجزیه زیستی مانند پلی‌(بوتیلن آدیپات-کو-ترفتالات) (PBAT¹) و پلی‌کاپرولاکتون (PCL²) که به طور نسبی قابلیت تجزیه زیستی دارند اما همچنان از مواد نفتی ساخته شده‌اند؛ ۳) پلاستیک‌های پایه زیستی و غیرقابل تجزیه زیستی مانند پلی‌اتیلن و پلی‌پروپیلن که از منابع تجدیدپذیر تولید می‌شوند اما قابلیت تجزیه زیستی ندارند؛ و ۴) پلاستیک‌های زیستی و زیست‌تخریب‌پذیر نظیر پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها، پلی‌لاکتیک‌اسید و پلیمرهای پایه نشاسته که نه تنها از منابع زیستی تولید می‌شوند، بلکه در محیط طبیعی نیز توسط میکروارگانیسم‌ها به طور کامل تجزیه می‌شوند. این دسته‌بندی نشان می‌دهد که زیستی بودن منشأ لزوماً به معنای زیست‌تخریب‌پذیر بودن نیست، و انتخاب نوع پلاستیک باید با توجه به هر دو ویژگی انجام شود. توسعه و کاربرد پلاستیک‌های زیستی و قابل تجزیه می‌تواند نقش کلیدی در کاهش آلودگی‌های پلاستیکی و وابستگی به منابع فسیلی ایفا کند [۲، ۱۵ و ۲۰].

تحقیقات زیادی برای توسعه پلاستیک‌های زیستی به‌عنوان راهکاری برای تولید محصولات پایدار و کاهش اثرات زیست‌محیطی در حال انجام است. با این حال، استفاده از این پلاستیک‌ها هنوز در مراحل ابتدایی قرار دارد. ظرفیت تولید جهانی این نوع پلاستیک‌ها حدود ۲/۱۱ میلیون تن است که تنها ۵۵/۵ درصد از آن از مواد زیست‌تخریب‌پذیر به‌دست می‌آیند (شکل ۱-ب). بهبود ویژگی‌هایی همچون چقرمگی، سفتی، شکنندگی، پایداری حرارتی و کاهش هزینه تولید، از چالش‌های مهم در پلاستیک‌های زیستی است. با افزایش ظرفیت تولید، انتظار می‌رود که این نوع پلاستیک‌ها به تدریج قابلیت رقابت با پلاستیک‌های مبتنی بر نفت را پیدا کنند (شکل ۲-ب) [۲].

در شکل ۲- الف توزیع کاربردهای مختلف پلاستیک‌های زیستی در بازار جهانی ارائه شده است. بیشترین سهم مصرف پلاستیک‌های زیستی مربوط به بسته‌بندی‌های انعطاف‌پذیر و سخت است که حدود ۵۲ درصد از بازار را شامل می‌شود. پس از آن، پلاستیک‌های زیستی در کالاهای مصرفی (۱۳ درصد)، کشاورزی و باغبانی (۸ درصد)، منسوجات (۶ درصد)، صنایع خودروسازی و حمل و نقل (۶ درصد)، و الکترونیک (۴ درصد) مورد استفاده قرار می‌گیرند. این توزیع بازار نشان‌دهنده آن است که پلاستیک‌های زیستی عمدتاً در صنعت بسته‌بندی کاربرد دارند و با توسعه این صنعت، امکان گسترش استفاده از پلاستیک‌های زیستی در دیگر بخش‌ها نیز وجود دارد [۲].

۳- انواع پلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر

پلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر به چهار دسته اصلی طبقه‌بندی می‌شوند [۶، ۱۸، ۲۱ و ۲۲]:

¹ Poly (butylene adipate-co-terephthalate)

² Polycaprolactone

۱) پلاستیک‌های فوتوتخریب‌پذیر^۱: این نوع پلاستیک‌ها با افزودن گروه‌های حساس به نور در ساختار پلیمری تولید می‌شوند که به نور واکنش نشان داده و تجزیه می‌شوند. با این حال، عملکرد این نوع پلاستیک‌ها به میزان زیادی وابسته به شدت و دسترسی به نور است؛ این پلاستیک‌ها در محیط‌های کم‌نور یا شرایط دفن‌شده به دلیل عدم وجود نور کافی، روند تجزیه آنها محدود شده و مدت زمان زیادی برای تخریب آنها نیاز است.

۲) پلاستیک‌های نیمه‌زیست‌تخریب‌پذیر^۲: این پلاستیک‌ها از ترکیب نشاسته و قطعات کوچک پلاستیک‌های متداول ساخته شده‌اند. در این نوع از پلاستیک‌ها، میکروارگانیسم‌ها بخش نشاسته‌ای را تجزیه می‌کنند، اما قطعات پلاستیکی باقی‌مانده همچنان غیرقابل تجزیه باقی می‌مانند و به مرور به میکروپلاستیک‌ها تبدیل می‌شوند و به محیط‌زیست آسیب می‌رسانند.

۳) پلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر سنتز شده به روش شیمیایی^۳: این گروه شامل پلاستیک‌هایی مانند پلی‌وینیل الکل (PVA)^۴ و پلی‌لاکتیک اسید است که هرچند از طریق روش‌های شیمیایی سنتز می‌شوند، اما قابلیت تجزیه زیستی دارند. این پلیمرها نسبت به آنزیم‌ها یا میکروارگانیسم‌ها حساس بوده و در شرایط مناسب زیست‌محیطی، به ترکیبات ساده‌تری مانند دی‌اکسید کربن، آب و زیست‌توده تجزیه می‌شوند. با این حال، در بسیاری از کاربردهای صنعتی، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آنها همچنان با محدودیت‌هایی همراه است و در برخی موارد قابل مقایسه با پلاستیک‌های معمول نیستند. به‌عنوان مثال، پلی‌لاکتیک اسید دارای نقطه ذوب پایین‌تری است و ممکن است در دماهای بالا از پایداری حرارتی کمتری برخوردار باشد.

۴) پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها (PHAs): PHAها به‌طور طبیعی توسط میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند و به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی مشابه با پلاستیک‌های معمول و قابلیت زیست‌تخریب‌پذیری بالا، توجه پژوهشگران و صنعت‌گران را به خود جلب کرده‌اند و اغلب در کاربردهای پزشکی مانند نخ بخیه، صفحات استخوان و بسته‌بندی مواد غذایی استفاده می‌شوند.

۴- پلیمرهای زیستی

پلیمرهای زیستی، دسته‌ای از پلیمرها هستند که به‌طور طبیعی توسط موجودات زنده و از منابع تجدیدپذیر مانند حیوانات، گیاهان، باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها تولید می‌شوند [۲۳]. این پلیمرها ممکن است زیست‌تخریب‌پذیر مانند PLAها، یا زیست‌تخریب‌ناپذیر مانند پلی‌اتیلن با منشأ زیستی (Bio-PE) باشند. استفاده از پلیمرهای زیستی، با کاهش وابستگی به سوخت‌های فسیلی و کاهش ردپای کربن، نقش مؤثری در ارتقاء پایداری زیست‌محیطی دارد [۹].

۴-۱- پلی‌هیدروکسی آلکانوات (PHA)

PHAها، پلی‌استرها^۵ی خطی‌اند که توسط میکروارگانیسم‌ها و در حضور مقادیر بالای کربن و کمبود مواد مغذی مانند نیتروژن، اکسیژن و فسفر تولید می‌شوند. این پلیمرها به صورت گرانول در داخل سلول‌های میکروارگانیسم تجمع یافته و پس از استخراج و خالص‌سازی به پودری سفیدرنگ قابل تبدیل هستند. PHAها توسط انواع مختلفی از میکروارگانیسم‌ها قابل تولید می‌باشند [۹]. این ترکیب نخستین بار در سال ۱۹۲۶ کشف شد و از آن زمان تاکنون به دلیل زیست‌تخریب‌پذیری، زیست‌سازگاری، تنوع شیمیایی و امکان تولید از منابع کربنی تجدیدپذیر، توجه زیادی در حوزه‌های تحقیقاتی و تجاری به خود جلب کرده است [۲۴].

شناخته شده‌ترین نوع از PHA، پلی‌هیدروکسی بوتیرات (PHB) است که به لحاظ تجاری مورد توجه قرار گرفته است. همان‌طور که پیشتر نیز اشاره شد، مهم‌ترین مانع در تولید تجاری PHAها، هزینه‌های بالای فرایندهای تخمیر باکتریایی است، که باعث می‌شود پلاستیک‌زیستی باکتریایی گران‌تر از پلیمرهای بر پایه نفت مانند پلی‌پروپیلن و پلی‌اتیلن باشد. یک عامل اصلی در افزایش هزینه‌های تولید PHA منابع گران‌قیمت کربنی موردنیاز محیط‌های کشت است [۲۵]. در میان مشتقات مختلف PHA، کوپلیمر^۶ پلی (۳-

^۱ Photodegradable plastics

^۲ Semi-biodegradable plastics

^۳ Chemically synthesized biodegradable plastics

^۴ Polyvinyl Alcohol

^۵ پلی‌استرها گروهی از پلیمرهای مصنوعی هستند که به‌دلیل مقاومت بالا، دوام و کاربرد گسترده در صنعت نساجی و پلاستیک‌سازی شناخته می‌شود.

^۶ کوپلیمرها (Copolymers) پلیمرهایی هستند که از دو یا چند نوع مونومر مختلف تشکیل شده‌اند و با ترکیب ویژگی‌های هر مونومر، خواص فیزیکی و شیمیایی متنوع‌تری نسبت به هموپلیمرها ایجاد می‌کنند. (هموپلیمرها (Homopolymers) پلیمرهایی هستند که از تکرار یک نوع مونومر واحد تشکیل شده‌اند و ساختاری یکنواخت با خواص فیزیکی و شیمیایی مشخص دارند)

هیدروکسی بوتیرات کو ۳-هیدروکسی والرات) (PHBV^۱) به دلیل برخورداری از خواص بهبودیافته، از طیف گسترده تری از ویژگی های فیزیکی برخوردارند [۲۶]. این پلیمر از طریق کوپلیمریزاسیون PHB با واحدهای ۳-هیدروکسی والرات بدست می آید؛ این فرایند موجب کاهش بلورینگی بالای PHB و بهبود انعطاف پذیری و استحکام مکانیکی آن می گردد. خواص فیزیکی شیمیایی مطلوب و سرعت تخریب آهسته ای این کوپلیمر، آن را به گزینه ای مناسب در سامانه های رهایش کنترل شده دارو تبدیل کرده است. تاکنون تحقیقات گسترده ای درباره تولید کوپلیمر PHBV و کاربردهای آن در حوزه پزشکی انجام شده و روش های نوین برای طراحی سیستم نانو ساختار مبتنی بر PHBV گزارش شده است [۲۷].

۲-۴- ویژگی های پلی هیدروکسی آلکانوات ها

PHAها به طور کلی به صورت گرانول های کروی با قطر متوسط بین ۰/۲ تا ۰/۷ میکرومتر هستند و توسط یک غشای نازک ۲ نانومتری شامل تقریباً ۲ درصد پروتئین و ۰/۵ درصد لیپید احاطه شده اند. غشای اطراف گرانول ها از فسفولیپیدها تشکیل شده و با مشارکت آنزیم هایی نظیر پلیمرازها، دیپلیمرازها و دیگر پروتئین های سیتوزولی غیر اختصاصی^۲ پشتیبانی می شوند [۲۸]. وجود یک لایه فسفولیپیدی برای جلوگیری از تبلور PHA و حفظ ساختار آمورف آن ضروری است، زیرا بلورینگی بیش از حد می تواند موجب افزایش پایداری ساختاری گرانول ها و در نتیجه اختلال در عملکرد سلولی شود [۳]. مطالعه گرگ و همکاران [۲۹] ضمن تایید این موضوع نشان داده است گرانول های PHA از یک هسته پلی استری مرکزی تشکیل شده اند که توسط پوششی پروتئینی شامل آنزیم PHA سنتاز، فزین ها، آنزیم های دی پلیمریزه کننده، و پروتئین های تنظیم کننده احاطه شده اند.

از نظر شیمیایی، PHAها پلیمرهایی خطی و ترموپلاستیک هستند که از واحدهای مونومری اسید هیدروکسی آلکانوئیک ساخته می شوند. این مونومرها از طریق پیوندهای استری میان گروه های هیدروکسیل و کربوکسیل به یکدیگر متصل می گردند [۳۰]. یک مولکول معمولی PHA ممکن است از ۶۰۰ تا ۳۵۰۰۰ واحد مونومری اسید چرب هیدروکسی (R)^۳ تشکیل شده باشد. هر مونومر دارای یک گروه جانبی R و غالباً از نوع آلکیل اشباع شده است (مطابق شکل ۳)، اگرچه ممکن است شامل ساختارهایی نظیر آلکیل های غیر اشباع، شاخه دار یا آلکیل های جایگزین شده نیز باشد [۲۴]. پلاستیک های زیستی PHA بر اساس تعداد اتم های کربن موجود در گروه های عاملی به سه دسته اصلی تقسیم می شوند که عبارتند از: (۱) PHAها با زنجیره های کوتاه (PHA-SCL^۴) شامل اسیدهای هیدروکسی آلکانوئیک^۵ و ۳ تا ۵ اتم کربن، (۲) PHAها با زنجیره متوسط (PHA-MCL^۶) با ۶ تا ۱۴ اتم کربن و (۳) PHAها با زنجیره بلند (PHA-LCL^۷) با بیش از ۱۵ اتم کربن در زنجیره خود [۳۰ و ۶]. تفاوت بین این دسته ها به دلیل ویژگی های سوسترای سنتز PHA است که می تواند انواع خاصی از اسیدهای هیدروکسی با طول زنجیره کربنی مشخصی را بپذیرد [۴]. بسته به سوسترای مورد استفاده و متابولیسم میکروارگانیسم، می توان مونومرهای مختلف و در نتیجه پلیمرها و کوپلیمرهای مختلفی را به دست آورد.

^۱ Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)

^۲ Non-specific Cytosolic Proteins

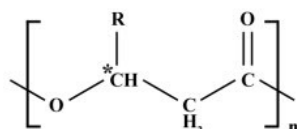
^۳ Hydroxy fatty acid (R group)

^۴ Short-Chain-Length Polyhydroxyalkanoates

^۵ Hydroxyalkoic acids

^۶ Medium-Chain-Length Polyhydroxyalkanoates

^۷ Long-Chain-Length Polyhydroxyalkanoates



Poly(3-hydroxyalkanoate)

R group	Carbon no.	PHA polymer
methyl	C ₄	Poly(3-hydroxybutyrate)
ethyl	C ₅	Poly(3-hydroxyvalerate)
propyl	C ₆	Poly(3-hydroxyhexanoate)
butyl	C ₇	Poly(3-hydroxyheptanoate)
pentyl	C ₈	Poly(3-hydroxyoctanoate)
hexyl	C ₉	Poly(3-hydroxynonanoate)
heptyl	C ₁₀	Poly(3-hydroxydecanoate)
octyl	C ₁₁	Poly(3-hydroxyundecanoate)
nonyl	C ₁₂	Poly(3-hydroxydodecanoate)
decyl	C ₁₃	Poly(3-hydroxytridecanoate)
undecyl	C ₁₄	Poly(3-hydroxytetradecanoate)
dodecyl	C ₁₅	Poly(3-hydroxypentadecanoate)
tridecyl	C ₁₆	Poly(3-hydroxyhexadecanoate)

شکل ۳ - ساختار شیمیایی پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات. (نام‌گذاری و تعیین تعداد اتم‌های کربن در ترکیبات PHA بر اساس گروه

آلکیل عاملی R تعیین می‌شود. علامت * نشان‌دهنده مرکز نامتقارن در واحد سازنده PHA است) [۲۴]

PHAها به دلیل تنوع شیمیایی قابل توجه در ساختار مونومرهای خود، دارای خواصی مشابه با پلاستیک‌های معمولی هستند. این پلیمرها بسته به ترکیب مونومری خود، می‌توانند از ترموپلاستیک‌های سخت و شکننده تا الاستومرها، لاستیک‌ها و چسب‌ها متغیر باشند. درجه‌ی پلیمریزاسیون آنها می‌تواند تا حدود ۳۰,۰۰۰ برسد که ناشی از وزن مولکولی بالای آنهاست [۳]. با افزایش طول زنجیره جانبی، انعطاف‌پذیری ماده بیشتر شده و شکنندگی آن کاهش می‌یابد. همچنین، وجود گروه‌های جانبی متنوع (مانند گروه‌های آروماتیک) می‌تواند خواص فیزیکی و مکانیکی آنها را تحت تأثیر قرار دهد [۲۶].

ویژگی‌های فیزیکی و حرارتی PHAها شامل دمای ذوب (T_m)، دمای انتقال شیشه‌ای (T_g)، درصد بلورینگی، استحکام کششی، کشیدگی تا نقطه شکست و جرم مولکولی است که همگی نقش کلیدی در تعیین رفتار مکانیکی و فرآیندی این پلیمرها دارند. از منظر حرارتی، PHAها دارای دمای ذوبی در بازه ۵۰ تا ۱۸۰ درجه سلسیوس و میزان بلورینگی بین ۳۰ تا ۷۰ درصد هستند، که این مقادیر به ترکیب مونومری بستگی دارد. پلیمرهایی با بلورینگی ۶۰ تا ۸۰ درصد معمولاً ساختاری سخت و صلب از خود نشان می‌دهند، در حالی که بلورینگی ۳۰ تا ۴۰ درصد منجر به افزایش انعطاف‌پذیری و بهبود قابلیت فرآیندپذیری در کاربردهای صنعتی می‌گردد. همچنین، عملکرد تجاری PHAها به توزیع وزن مولکولی و جرم مولکولی آنها وابسته است؛ به طوری که برای دستیابی به خواص مکانیکی مطلوب، جرم مولکولی باید بیش از ۴×۱۰^۴ دالتون باشد، در غیر این صورت، عملکرد مکانیکی کاهش می‌یابد. معمولاً جرم مولکولی PHAها بین ۲×۱۰^۵ تا ۳×۱۰^۵ دالتون گزارش شده است که به نوع گونه‌های میکروبی مورد استفاده و شرایط رشد، مانند pH، شرایط و انواع محیط‌های کشت، نوع و غلظت منبع کربن وابسته است. افزون بر این، پارامترهایی همچون نرخ تخریب زیستی، T_g و T_m نیز تحت تأثیر نوع مونومرها و نسبت ترکیب آنها قرار دارند. به عنوان مثال، دمای ذوب و T_g برای پلی‌هیدروکسی‌بوتیرات تولیدشده از سیانوباکتری‌ها به ترتیب حدود ۱۷۴ تا ۱۷۵ درجه و ۰/۶ تا ۰/۹ درجه سلسیوس گزارش شده است، در حالی که در کوپلیمر P(HBV) این مقادیر به ترتیب بین ۱۴۸ تا ۱۶۸ درجه سلسیوس برای T_m و ۵/۵- تا ۲/۲- درجه سلسیوس برای T_g متغیر است [۳ و ۳۱].

PHAها پلیمرهایی زیست‌سازگار، زیست‌تخریب‌پذیر، غیرسمی و نامحلول در آب هستند که از جمله ویژگی‌های کلیدی آنها می‌توان به مقاومت مناسب در برابر تخریب هیدرولیتیکی^۱ و پرتو فرابنفش (UV) و رفتار پیزوالکتریک^۲ اشاره کرد. این پلیمرها در

^۱ توانایی یک ماده برای حفظ ساختار و عملکرد خود در برابر تجزیه توسط آب یا رطوبت در طول زمان.

^۲ خاصیتی که در آن یک ماده هنگام اعمال فشار مکانیکی، بار الکتریکی تولید می‌کند یا در اثر میدان الکتریکی دچار تغییر شکل می‌شود.

کلروفورم و سایر حلال‌های کلردار حل می‌شوند، اما نسبت به اسیدها و بازها حساسیت دارند. تجزیه‌ی آن‌ها در شرایط بی‌هوازی نیز به‌خوبی انجام می‌پذیرد. همچنین، در حالت مذاب دارای چسبندگی کمتری نسبت به پلیمرهای متداول هستند که می‌تواند در فرایندهای شکل‌دهی صنعتی مفید باشد [۳۲ و ۳۳]. خواص PHA به ترکیب مونومرهایشان، به‌ویژه زنجیره‌های جانبی و فاصله پیوندهای استری در زنجیره اصلی وابسته است. در جدول ۱ مقایسه‌ای از خصوصیات فیزیکی و مکانیکی PHAهای به‌دست‌آمده از گونه‌های سیانوباکتریایی همراه با PHAهای تجاری موجود ارائه شده است.

جدول ۱- خواص مواد PHAهای تولید شده از ریزجلبک و مقایسه آن‌ها با PHAهای تجاری موجود. [۶]

خواص	PHB تولیدشده از ریزجلبک	P(3HB-co-3HV) تولید شده از ریزجلبک	PHB تجاری	P(3HB-co-3HV) تجاری
T _m (°C)	۱۷۴ - ۱۷۵	۱۴۸/۸ - ۱۶۸	۱۷۱ - ۱۸۲	۱۳۷ - ۱۵۰
T _g (°C)	۰/۶ - ۰/۹	-۵/۵ - -۲/۲	۰ - ۵	-۶ - -۴
مقاومت کششی (MPa)	۳۰/۲ - ۳۷/۶	۱۸/۱ - ۱۹/۵	۴۰	۳۰ - ۳۵
مدول ینانگ (GPa)	۳/۴ - ۳/۸	۰/۶ - ۱/۲	۳/۵	۰/۷ - ۱/۵
افزایش طول تا پارگی (%)	۴/۹	۷۲/۱ - ۸۷/۲	۵	۲۰

۳-۴- کاربرد و تجاری‌سازی پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها

PHAها به‌دلیل زیست‌سازگاری، تجزیه‌پذیری و خواص فیزیکی شیمیایی ویژه، در حوزه‌های مختلفی مانند پزشکی، کشاورزی، سوخت‌های زیستی و تولید محصولات یکبارمصرف کاربرد دارند. این ترکیبات در حوزه پزشکی، به دلیل زیست‌سازگاری و قابلیت تجزیه‌پذیری‌شان، در تولید بخیه‌های جذب‌شونده [۶]، در تشخیص سرطان [۳۴]، در مهندسی بافت برای ترمیم کبد، استخوان، غضروف، بافت‌های قلبی، بافت‌های عروقی، اسکلت مغز استخوان به کار می‌روند [۳۵]. بعلاوه، در سیستم‌های رهایش کنترل‌شده داروها کاربرد دارند؛ جایی که دارو به تدریج و در زمان‌بندی مشخصی آزاد می‌شود تا کارایی درمان افزایش یابد و عوارض جانبی کاهش پیدا کند. PHA همچنین به عنوان یک ترکیب دارویی فعال در نظر گرفته می‌شود و در حال حاضر به عنوان داروهای بالقوه ضد HIV، ضد سرطان، آنتی‌بیوتیک‌ها و غیره مورد بررسی قرار گرفته است [۲۴]. در حوزه کشاورزی، این پلیمرهای زیستی به‌عنوان حامل‌های زیست‌تجزیه‌پذیر برای رهایش تدریجی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه و علف‌کش‌ها استفاده می‌شوند. این امر ضمن افزایش بهره‌وری، به کاهش اثرات منفی مواد شیمیایی به محیط‌زیست کمک می‌کند [۶]. ویژگی پیزوالکتریک PHB امکان استفاده از آن را در حسگر، میکروفون‌ها، و آشکارسازها فراهم کرده است. همچنین، کوپلیمرهایی مانند PHBV به‌دلیل ویژگی ممانعت از عبور گاز، در بسته‌بندی مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته و ماندگاری محصولات غذایی را افزایش می‌دهند [۱۹]. این ترکیبات می‌توانند در مواد یکبارمصرف و در تولید محصولاتمانند تیغ ریش‌تراشی، بسته‌بندی‌های آرایشی و بهداشتی، و کیسه‌ها مورد استفاده قرار گیرند، که به‌دلیل ویژگی تجزیه‌پذیری زیستی، در کاهش زباله‌های پلاستیکی نقش مؤثری دارند [۶]. بعلاوه PHAها می‌توانند به منظور سوخت زیستی بیودیزل و از طریق فرایند متیل استریفیکاسیون، مورد استفاده قرار گیرند [۳۲]. در جدول ۲ فهرستی از شرکت‌های تولیدکننده PHAها آورده شده و شکل ۴ نیز نمایی از کارخانجات تولیدکننده PHB را نمایش می‌دهد.

جدول ۲ - تولیدکنندگان جهانی ترموپلاستیک PHA یا PHB [۳۶]

نام برند	میزان تولید (kTon/year)	کشور	نام شرکت
Biomer	-	آلمان	Biomer
Biomatera	-	کانادا	Biomatera
Minerv	۱۰	ایتالیا	Bio-On
Mirel	۱۰	سنگاپور	Kaneka
Green Bio	۱۰	چین	Tianjin Green Biosciences
-	۰/۳	انگلیس	Imperial Chemical Industries (ICI)
-	۵۰	آمریکا	Metabolix
Biocycle	۰/۸	برزیل	PHB Industrial
Tephaflex/TephElas	-	آمریکا	TEPHA
Enmat	۱۰	چین	Tinan
-	۳	چین	Yikeman ShanDong
-	۲	چین	ZheJiang Tia An



شکل ۴ - کارخانجات تولیدکننده PHB (الف) شرکت PHB Industrial در برزیل، (ب) شرکت Bio-On در ایتالیا، (ج) شرکت Metabolix در ایالات متحده آمریکا و (د) شرکت Meredian در ایالات متحده آمریکا [۳۶]

۴-۴- استخراج و بازیابی پلی هیدروکسی آلکانواتها

ورود PHB به بازار هنوز محدود است و دلیل اصلی آن هزینه بالای تولید این پلیمر زیستی است. هزینه‌های بالای فرایند تخمیر و فناوری‌های بازیابی و خالص‌سازی PHB، تأثیر چشمگیری بر اقتصاد کلی این فرایند دارند. در جهت تلاش برای کاهش هزینه‌های تولید PHB، تحقیقات زیادی در زمینه استفاده از منابع کربنی مقرون به صرفه و همچنین مهندسی ژنتیکی میکروارگانیسم‌ها انجام شده است. با این وجود، کاهش واقعی هزینه‌ها تنها با توسعه روش‌های بازیابی PHA که هم ارزان‌تر و هم دوست‌دار محیط زیست باشند، امکان‌پذیر خواهد شد [۳۶]. PHAها پس از تولید از سلول‌ها استخراج می‌شوند. آماده‌سازی زیست‌توده پس از کشت و پیش از استخراج PHA مرحله‌ای اساسی در این فرایند است، زیرا می‌تواند ویژگی‌های محصول نهایی را تحت تأثیر قرار دهد. به‌طور کلی، استخراج PHA با

مراحل بی‌ثبات‌سازی یا تخریب سلولی آغاز می‌شود و سپس به بازیابی و خالص‌سازی پلیمر زیستی منجر می‌گردد. روش‌های شیمیایی، فیزیکی، بیولوژیکی، یا ترکیبی از این روش‌ها برای دستیابی به محصولی با خلوص بالا و پایداری فیزیکی و حرارتی مطلوب به کار می‌روند [۳۷ و ۳۸]. در اولین مرحله، مواد جامد از مایع محیط کشت توسط سانتریفیوژ جدا می‌شوند، سپس دیواره سلولی میکروبی می‌تواند با استفاده از روش‌های شیمیایی، فیزیکی یا بیولوژیکی شکسته شود [۳۹].

روش‌های شیمیایی شامل استفاده از حلال‌های مختلف مانند کلروفرم، استون و اتیل‌استات هستند. این حلال‌ها به‌طور مستقیم یا در ترکیب با هم، PHA را از دیواره سلولی جدا می‌کنند. اگرچه این روش کارایی بالایی دارد، اما به دلیل هزینه‌های بالا و مخاطرات زیست‌محیطی، بیشتر برای مقیاس‌های آزمایشگاهی مناسب است و در تولیدات صنعتی چالش‌هایی را ایجاد می‌کند [۴۰ و ۴۱]. همچنین، استخراج با حلال‌های آلی در این روش معمولاً تنها منجر به تخریب ناچیز در ساختار پلیمرها می‌شود و امکان تولید PHB با خلوص و وزن مولکولی بالا را فراهم می‌کند. به دلیل آثار منفی زیست‌محیطی و محدودیت در مقیاس‌های بزرگ، این روش کمتر برای تولیدات انبوه به کار می‌رود [۳۶].

در روش‌های فیزیکی معمولاً از دستگاه‌هایی مانند هموژنایزرها و اولتراسوند استفاده می‌شود که در شکستن دیواره‌های سلولی و آزادسازی PHA موثر هستند. این روش‌ها از نظر اقتصادی به‌صرفه‌تر بوده و سمیت کمتری دارند و به پلیمر خصوصیات حرارتی بهتری می‌دهند. ترکیب روش‌های فیزیکی با شیمیایی می‌تواند بهره‌وری استخراج را افزایش و پلیمرهایی با ویژگی‌های پایدارتر تولید کند [۳۹]. روش‌های بیولوژیکی مبتنی بر استفاده از آنزیم‌هایی مانند لیزوزیم^۱، نوکلئاز^۲ و پروتئیناز^۳ هستند. در این روش‌ها با افزودن آنزیم‌ها به محیط کشت، دیواره سلولی را تجزیه شده و بدون آسیب به کیفیت PHA، استخراج انجام می‌شود. این روش‌ها به دلیل عدم نیاز به مواد شیمیایی و حفظ کیفیت پلیمر، برای مقیاس‌های صنعتی مناسب هستند؛ هرچند که بازدهی آن‌ها در مقایسه با روش‌های شیمیایی پایین‌تر است [۳۷ و ۳۹].

روش‌های فیزیکی و بیولوژیکی به عنوان جایگزین‌های مناسب‌تری برای روش‌های شیمیایی مطرح شده‌اند، زیرا در آن‌ها از مواد سمی استفاده نمی‌شود و آلودگی محیط زیست را به حداقل می‌رسانند. ترکیب این روش‌ها با مواد شیمیایی می‌تواند بازده استخراج را افزایش داده و به کاهش زمان تولید و سهولت کار با مواد سمی کمک کند. انتخاب روش استخراج مناسب، با توجه به ویژگی‌های پلیمری همچون وزن مولکولی، شاخص کریستالی و مقاومت حرارتی، نقش کلیدی در کیفیت و کارایی نهایی PHA دارد [۳۹]. در جدول ۳، مزایا و معایب هر یک از روش‌های اصلی بازیابی PHA خلاصه شده است.

جدول ۳- مقایسه مزایا و معایب روش‌های مختلف استخراج PHAها [۳۶]

روش بازیابی	مزایا	معایب
	حذف اندوتوکسین‌ها	ناسازگار با محیط زیست
استخراج با حلال	کارایی بالا برای کاربردهای پزشکی تخریب محدود (قابل صرف‌نظر) پلیمر وزن مولکولی بالا	مصرف حجم زیادی از حلال‌های سمی و فرار هزینه سرمایه‌گذاری و بهره‌برداری بالا طولانی بودن فرایند مختل شدن نظم زنجیره‌های پلیمری در گرانول‌های PHA
هضم شیمیایی	حفظ وزن مولکولی اصلی PHA استخراج‌شده حفظ نظم اصلی زنجیره‌های پلیمری در گرانول PHB	خلوص پایین PHA نیاز به آماده‌سازی برای حذف سورفکتانت از پساب
هیپوکلریت سدیم	به‌دست‌آوردن PHA با خلوص بالاتر	کاهش شدید وزن مولکولی استخراج شده

^۱ Lysozyme: آنزیم تجزیه کننده دیواره سلولی

^۲ Nuclease: آنزیم تجزیه کننده اسیدهای نوکلئیک

^۳ Proteinase: آنزیم تجزیه کننده پروتئین‌ها به اسید آمینه

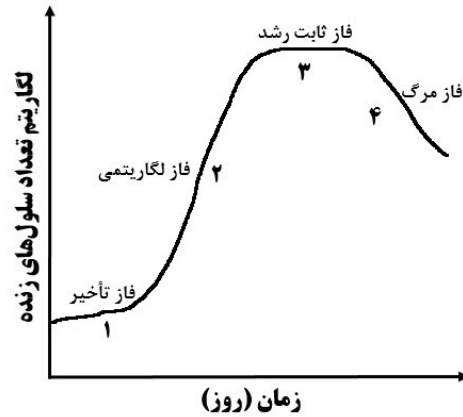
هزینه ترکیبی سورفکتانت و هیپوکلریت سدیم	کیفیت بالای PHA	توالی سورفکتانت - هیپوکلریت سدیم
نیاز به تصفیه پساب برای حذف باقی مانده سورفکتانت و هیپوکلریت سدیم	بازیابی سریع و ساده بودن فرایند حفظ نظم اصلی زنجیره‌های پلیمری در گرانول PHB هزینه عملیاتی پایین تر نسبت به استخراج با حلال	
ناسازگار با محیط زیست	خلوص بالای محصول	تجزیه با هیپوکلریت سدیم و استخراج با حلال
مصرف حجم زیادی از حلال‌های سمی و فرار	کاهش ویسکوزیته فاز حلال به دلیل هضم مواد سلولی غیرپلیمری توسط هیپوکلریت سدیم	
هزینه بازیابی بیشتر	عملکرد آسان کیفیت بالای محصول	Surfactant-chelate
تولید حجم زیادی از فاضلاب و نیاز به دفع مناسب	هزینه عملیاتی کم و بهره‌وری بازیابی بالاتر	انحلال انتخابی توسط پروتون‌ها
کاهش شدید وزن مولکولی (اگر پارامترهای فرایند دقیق کنترل نشوند)	بازیابی با کیفیت و پایدار	هضم آنزیمی
فرایند پیچیده هزینه بالای آنزیم‌ها	بدون استفاده از مواد شیمیایی کاهش میکرونیزه شدن گرانول‌های PHA	آسیاب دانه‌ای
مراحل عملیاتی زیاد و طولانی بودن زمان فرایند نیاز ضروری به کنترل دقیق پارامترهای مختلف فرایند میکرونیزه شدن شدید گرانول‌های PHA	بدون استفاده از مواد شیمیایی	همگن‌سازی با فشار بالا
وابسته به پارامترهای فیزیولوژیکی و میکروبی فرایند امکان تبخیر حرارتی محصولات باقی مانده سلولی	آلودگی کمتر	

روش‌های فیزیکی مانند آسیاب دانه‌ای و همگن‌سازی با فشار بالا، با نیاز کمتر به تجهیزات گران‌قیمت و حذف استفاده از مواد شیمیایی سمی، هزینه‌های عملیاتی پایین‌تری دارند و از نظر زیست‌محیطی مطلوب‌ترند. این روش‌ها معمولاً همراه با سایر روش‌های شیمیایی یا آنزیمی برای افزایش کارایی استفاده می‌شوند. از سوی دیگر، روش‌های شیمیایی نظیر استخراج با حلال و هیپوکلریت سدیم، اگرچه از کارایی بالایی برخوردارند، اما به دلیل استفاده از مواد شیمیایی مضر و نیاز به بازیافت حلال، هزینه‌برتر و آسیب‌زاتر برای محیط‌زیست هستند و برای مقیاس‌های صنعتی کم‌تر مطلوب می‌باشند. هضم آنزیمی نیز با اینکه روشی ایمن و پایدار است، هزینه‌های بیشتری به دلیل نیاز به آنزیم‌های خاص دارد و معمولاً در صنایع حساس به پایداری زیست‌محیطی، مانند داروسازی، مورد توجه قرار می‌گیرد. به طور کلی، ترکیب روش‌های فیزیکی و بیولوژیکی با شیمیایی در مقیاس صنعتی، هم کارایی استخراج را افزایش می‌دهد و هم هزینه‌ها را به حداقل می‌رساند، در حالی که اثرات زیست‌محیطی را کاهش می‌دهد.

۵- ریز جلبک‌ها

رشد ریزجلبک‌ها به‌طور کلی در قالب یک منحنی رشد سلولی (شکل ۵) صورت می‌گیرد و دارای چهار مرحله اصلی است: مرحله تاخیری، مرحله نمایی یا لگاریتمی، مرحله رشد ثابت و مرحله مرگ. در مرحله تاخیری، ریزجلبک‌ها به شرایط جدید محیطی عادت می‌کنند و تنظیمات متابولیکی خود را برای تطبیق با شرایط محیط رشد انجام می‌دهند. سپس در مرحله نمایی و با کافی بودن منابع غذایی در دسترس، رشد با سرعتی بالا و به‌صورت نمایی دنبال می‌شود. با گذشت زمان و کاهش منابع، مرحله رشد ثابت و سکون آغاز می‌شود؛ در این مرحله، نرخ تقسیم سلول‌ها با نرخ مرگ آن‌ها برابر شده و جمعیت سلولی ثابت می‌ماند. در نهایت، با اتمام منابع و افزایش

مواد سمی، مرحله مرگ فرا می‌رسد و تعداد سلول‌های زنده کاهش می‌یابد [۴۲]. معمولاً در فاز ثابت رشد، PHA در سلول‌های ریزجلبکی سنتز و تجمع می‌یابد [۴۳]. این ترکیبات به‌عنوان اجزای داخل سلولی برای ذخیره کربن و انرژی به کار می‌روند و می‌توانند تا ۸۰ درصد وزن سلولی ریزجلبک را به خود اختصاص دهند [۴۴].



شکل ۵ - شماتیک دیاگرام رشد ریزجلبک‌ها در فازهای مختلف (منحنی رشد سلولی) [۴۲]

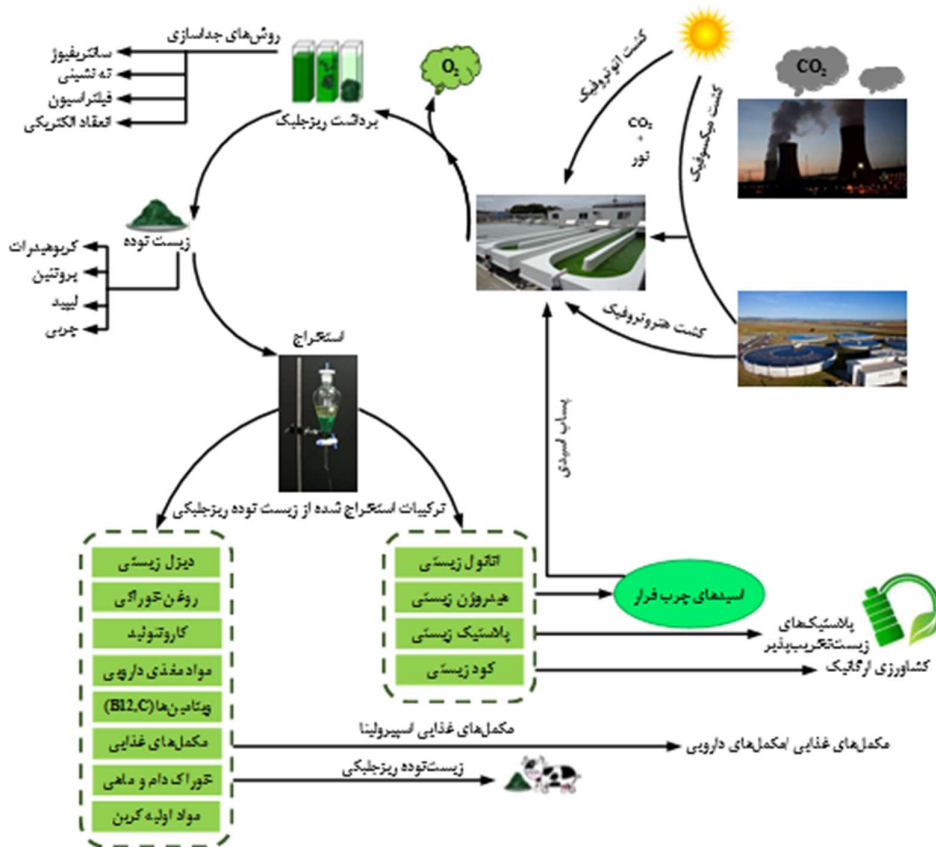
ریزجلبک‌ها متعلق به گروهی از میکروارگانیسم‌های فتوسنتزکننده‌اند که یوکاریوتی یا پروکاریوتی بوده و گرم منفی‌اند. آنها قادر به زندگی در آب‌های شور و شیرین هستند و با استفاده از نور خورشید، دی‌اکسیدکربن و نیز مواد مغذی معدنی، قادر به سنتز ترکیبات ارزشمند در زیست‌توده می‌باشند [۴۵]. اجزای اصلی ریزجلبک‌ها لیپیدها (۲۳-۷ درصد)، کربوهیدرات‌ها (۲۳-۵ درصد)، پروتئین‌ها (۵۲-۶ درصد) می‌باشند. علاوه بر این ریزجلبک‌ها حاوی کلسیم (۳-۰/۱ درصد)، منیزیم (۰/۷-۰/۳ درصد)، فسفر (۱/۵-۰/۷ درصد)، پتاسیم (۲/۴-۰/۷ درصد)، سدیم (۲/۷-۰/۸ درصد)، گوگرد (۱/۴-۰/۴ درصد)، مس (۱۰۲-۱۸ mg/kg)، آهن (۱۳۹۵- mg/kg) (۱۱۱۰۱)، منگنز (۴۵-۴۵۴ mg/kg)، سلنیوم (۰/۵-۰ mg/kg)، و روی (۲۸-۶۴ mg/kg) می‌باشند که می‌توانند در بسیاری از کاربردهای صنعتی استفاده شوند [۱۵]. شکل ۶ محصولات متنوع به دست آمده از ریزجلبک‌ها را نشان می‌دهد.



شکل ۶ - محصولات متنوع تولیدشده از ریزجلبک‌ها [۱۵]

۵-۱- کشت ریزجلبک‌ها با مفهوم پالایشگاه زیستی

رویکرد پالایشگاه زیستی شامل طیف وسیعی از سوخت‌های زیستی و مواد شیمیایی است که می‌تواند با استفاده از فناوری‌های مختلف مقرون‌به‌صرفه و پایدار محیط زیستی، صورت گیرد. تولید زیست‌توده ریزجلبکی و استفاده از آن با رویکرد پالایشگاه زیستی، شامل مراحل زیر است: کشت ریزجلبک، برداشت زیست‌توده، تخریب سلول و استخراج ترکیب، تقسیم‌بندی و خالص‌سازی (شکل ۷). هدف اصلی از این فرایندها، جداسازی و بازیابی ترکیبات موردنظر از زیست‌توده به شیوه‌ای مناسب، برای تولید محصولات تجاری است. مرحله تقسیم‌بندی به‌عنوان یکی از مسائل پیش‌رو در مفهوم پالایشگاه زیستی مطرح می‌شود، زیرا جداسازی ترکیبات مختلف بدون آسیب رساندن به بخش‌های دیگر دشوار است [۴۶]. لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها از اصلی‌ترین ترکیبات ریزجلبک‌ها هستند که از اهمیت خاصی برخوردارند. لیپیدهای زیست‌توده ریزجلبکی حاوی اسیدهای چرب ضروری (EPA^1) و (DHA^2) هستند که برخی از گونه‌ها از این حیث مورد توجه‌اند. از سوی دیگر لیپیدها می‌توانند مواد اولیه در تولید دیزل زیستی باشند. در حضور یک کاتالیست و یک الکل، لیپیدها به دیزل زیستی ($FAME^3$) متیل استرهای اسید چرب) تبدیل می‌شوند. کربوهیدرات‌ها نیز ماده اولیه موردتوجه در تکنولوژی‌های تبدیل زیست‌توده مانند تخمیر قندها برای تولید اتانول زیستی می‌باشند [۴۷].



شکل ۷ - شماتیک کلی مفهوم پالایشگاه زیستی ریزجلبکی [۴۶].

پروتئین‌های موجود در ریزجلبک‌ها از نظر تغذیه‌ای با سایر پروتئین‌های غذایی قابل‌مقایسه هستند زیرا دارای ویژگی‌ها و نسبت‌های مناسبی از اسیدهای آمینه می‌باشند. لازم به ذکر است بسته به شرایط تنش، که ممکن است منجر به انباشت بیشتر لیپیدها یا

¹ Eicosapentaenoic Acid

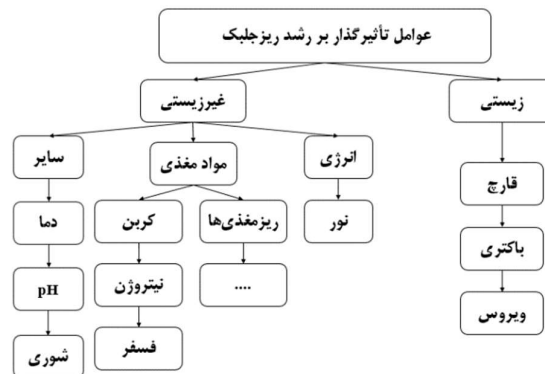
² Docosahexaenoic Acid

³ Fatty Acid Methyl Esters

کربوهیدرات‌ها شود، کل پروتئین‌های موجود در زیست‌توده به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد [۴۶]. بعلاوه این میکروارگانیسم‌ها قادر به تولید سایر مواد با ارزش از جمله گلیسرول، ویتامین‌ها، PHAها می‌باشند. به‌طور کلی روش‌هایی که برای استخراج ترکیبات زیستی گیاهی استفاده می‌شود، در استخراج ترکیبات زیستی و با ارزش افزوده ریزجلبک‌ها نیز قابل استفاده هستند. با این حال، در مفهوم پالایشگاه زیستی توجه به این نکته مهم است که با توجه به مشکلات پیرامون استخراج، روش‌هایی توسعه یابند که قادر به استخراج طیف وسیعی از متابولیت‌ها باشند.

۵-۲- عوامل مؤثر بر رشد و تولید محصولات زیستی ریزجلبک‌ها

رشد و تولید محصولات زیستی در ریزجلبک‌ها می‌تواند تحت تأثیر عوامل زیستی و غیرزیستی مختلف قرار گیرد. عوامل زیستی شامل حضور پاتوژن‌هایی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها و همچنین رقابت با دیگر گونه‌های ریزجلبکی است. از سوی دیگر، عوامل غیرزیستی شامل نور (کیفیت و کمیت)، دما، pH، شوری و مقدار مواد مغذی در محیط کشت هستند (شکل ۸). قرارگیری ریزجلبک‌ها در شرایط استرس‌زای زیستی یا غیرزیستی، منجر به PHAها به عنوان یک منبع ذخیره انرژی برای کمک به سازگاری در این شرایط می‌شود. در این میان، بیشترین تأثیر در سنتز پلیمرهای زیستی، ناشی از فاکتورهای غیرزیستی است [۳].



شکل ۸ - عوامل زیستی و غیرزیستی مؤثر در رشد ریزجلبک‌ها [۳]

نور به عنوان منبع اصلی انرژی، نقش اساسی در فرایند فتوسنتز و رشد ریزجلبک‌ها ایفا می‌کند و در تولید PHA نیز تأثیر مستقیم دارد. در سیستم‌های کشت باز، نور خورشید به محیط کشت می‌تابد، اما تابش نامتقارن و آلودگی توسط سایر میکروارگانیسم‌ها، می‌تواند بهره‌وری این سیستم‌ها را محدود کنند. در مقابل، در سیستم‌های بسته مانند فتوبیوراکتورها، شرایط کنترل‌شده‌ای فراهم می‌شود و با استفاده از لامپ‌های فلورسنت، نور با کیفیت و شدت مناسب‌تری تأمین می‌شود؛ همچنین، خطر آلودگی به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. شدت نور نیز ممکن است تحت تأثیر تراکم سلولی و رنگدانه‌های موجود در ریزجلبک‌ها قرار گیرد. مطالعات نشان داده‌اند که افزایش شدت نور می‌تواند باعث افزایش تولید بتاکاروتن شود. به عنوان مثال، لامرز و همکاران [۴۸] دریافتند که افزایش شدت نور از $200 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ تا $11400 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ منجر به افزایش تجمع بتاکاروتن در ریزجلبک دونالیلا سالینا شد.

دمای محیط کشت بر رشد و تولید زیست‌توده تأثیر مهمی دارد؛ این عامل فرآیندهای متابولیکی و سرعت واکنش‌های زیستی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. هر گونه از ریزجلبک‌ها، محدوده دمایی مطلوب خود را برای رشد دارد و دماهای خارج از این محدوده می‌تواند فعالیت‌های زیستی را کاهش دهد. دمای بهینه برای رشد بسیاری از ریزجلبک‌ها بین ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد است [۴۹]. مطالعات نشان داده‌اند که استرس گرمایی منجر به افزایش ذخیره‌سازی لیپیدها و PHAها می‌شود [۵۰].

pH محیط کشت برای رشد ریزجلبک‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است و اکثر گونه‌ها در محدوده pH ۷ تا ۹ بهترین عملکرد را دارند. تغییرات pH می‌تواند اثرات فیزیولوژیکی قابل توجهی بر ریزجلبک‌ها داشته باشد و موجب تغییر در ساختار غشا و انتقال مواد شود [۳]. گونسالوس و همکاران [۵۱] نشان دادند که تنظیم دقیق pH برای حفظ کیفیت و رشد پایدار ریزجلبک‌ها بسیار حیاتی است. شوری محیط کشت نیز عامل مهم در رشد ریزجلبک‌ها به‌ویژه در گونه‌های دریایی است. سطح بهینه شوری می‌تواند رشد ریزجلبک‌ها را تسریع کند، اما تغییرات شوری ممکن است به عنوان یک استرس اسمزی و یونی عمل کند و موجب تأثیرات منفی بر رشد و ترکیب شیمیایی ریزجلبک‌ها شود [۳]. تحقیقات نشان داده‌اند که افزایش شوری می‌تواند باعث افزایش تولید کاروتنوئیدها و لیپیدها شود، اما ارتباط مستقیمی با تولید PHA ندارد [۳]. در تحقیقی تمندانی و همکاران [۵۲] ریزجلبک اسپروولینا را با غلظت مختلف نمک‌های معدنی (نصف، برابر، دو برابر و سه برابر) به مدت ۲۰ روز کشت دادند؛ یافته‌ها نشان داد که افزایش یا کاهش غلظت نمک تأثیر معناداری بر میزان رشد اسپروولینا نداشته است، اما پراکسیداسیون لیپیدی با افزایش غلظت نمک بیشتر شد و محتوای پروتئین کاهش یافت. از سوی دیگر، شریواستا و همکاران [۵۳] در پژوهشی بر روی اسپروولینا سابسالسا نشان دادند که با افزایش ۵ درصدی غلظت NaCl، میزان PHB تولیدشده تا ۲۰ درصد افزایش یافت.

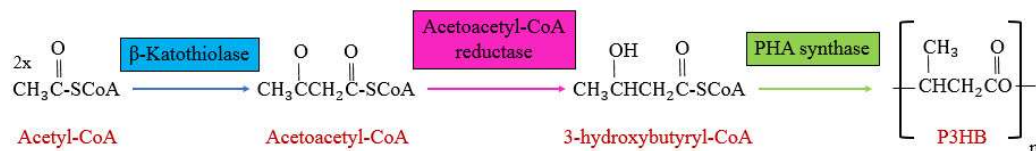
مواد مغذی از جمله کربن، نیتروژن و فسفر برای رشد و تولید محصولات زیستی در ریزجلبک‌ها ضروری هستند. کربن به عنوان منبع اصلی انرژی و برای تشکیل ترکیبات آلی حیاتی است و به‌صورت CO₂ یا ترکیبات آلی دیگر به محیط کشت افزوده می‌شود. نیتروژن نیز برای سنتز پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک ضروری است و معمولاً به‌صورت آمونیاک یا نیترات در محیط کشت وجود دارد. فسفر در تولید ATP¹ و فرآیندهای فتوسنتزی نقش مهمی ایفا می‌کند. کمبود هر یک از این مواد می‌تواند رشد و تولید زیست‌توده را محدود کند و باعث تولید محصولات خاص مانند PHA شود [۵۴]. تحقیقات نشان داده است که محدودیت نیتروژن و فسفر در محیط کشت برخی از گونه‌های ریزجلبک، به افزایش تجمع لیپیدها، PHA، و ترکیبات کربنی منجر شده و ترکیبات نیتروژن‌دار مانند پروتئین‌ها را کاهش داده است. به عنوان مثال، شارما و ملیک [۵۵] نشان دادند که محدودیت نیتروژن و فسفر در محیط کشت ریزجلبک نوستوک ماسکروم منجر به افزایش ۳۵ درصدی در تجمع PHB شد. علاوه بر این سه عنصر اصلی، عناصر دیگری مانند گوگرد، پتاسیم، منیزیم، و عناصر کمیاب مانند آهن، مس، و مولیبدن نیز برای رشد بهینه ریزجلبک‌ها ضروری هستند. گوگرد در ساخت پروتئین‌ها و ویتامین‌ها نقش دارد؛ پتاسیم در تنظیم اسمزی سلول و تعادل یونی مهم است؛ و منیزیم جزء اصلی کلروفیل است و به فرآیند فتوسنتز کمک می‌کند. عناصر کمیاب نیز به عنوان کوفاکتورهای ضروری در فعالیت‌های آنزیمی عمل می‌کنند و در فرایندهای متابولیکی مختلف نقش حیاتی دارند [۵۱].

۶- تولید پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات در ریزجلبک‌ها و مسیرهای سنتز زیستی

۶-۱- مسیرهای سنتز زیستی

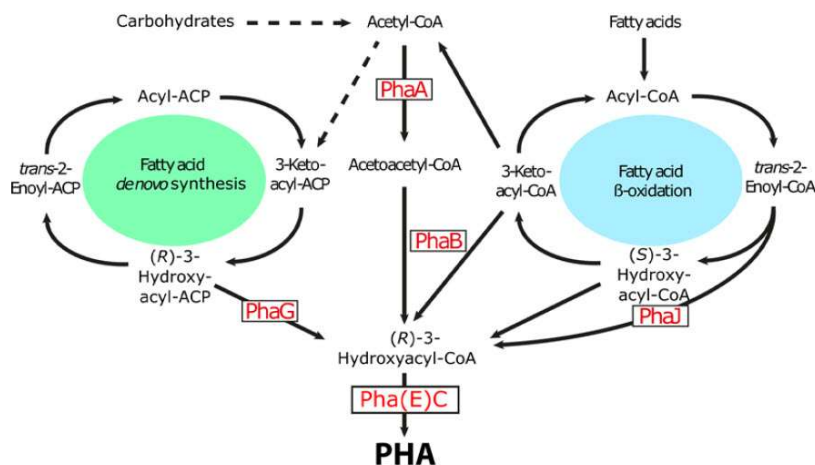
در شرایط محدودیت مواد مغذی نظیر نیتروژن و فسفر، تولید PHAها قابل افزایش است؛ در این شرایط مسیرهای متابولیکی سلول به سمت تولید ترکیبات کربنی غنی از انرژی هدایت می‌شود [۱۷، ۴۳ و ۵۶]. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که سنتز PHA در میکروارگانیسم‌ها و ریزجلبک‌ها از چندین مسیر بیوسنتزی متفاوت تبعیت می‌کند [۹]. به عنوان مثال، مسیر اول (شکل ۹) با ترکیب دو مولکول استیل‌کوآنزیم A آغاز می‌شود. در این مرحله، آنزیم β -کتوتیولاز موجب کاتالیز شدن پیوند کربن-کربن بین دو نیمه استیل‌کوآنزیم A شده و استواستیل‌کوآنزیم A تشکیل می‌شود. در مرحله بعد، آنزیم استواستیل‌کوآنزیم A ردوکتاز وابسته به NADPH، استواستیل‌کوآنزیم A را به ۳-هیدروکسی‌کوآنزیم A کاهش داده و در نهایت، آنزیم PHA سنتاز (PhaC)، از طریق پلیمریزاسیون مولکول‌های ۳-هیدروکسی‌کوآنزیم A، پلیمر نهایی یعنی PHB را تولید می‌کند. این مسیر به‌ویژه برای تولید PHB در بسیاری از میکروارگانیسم‌ها و ریزجلبک‌ها مشاهده است [۵۷].

¹ Adenosine Triphosphate (مولکولی حیاتی برای ذخیره و انتقال انرژی در سلول‌هاست و نقش کلیدی در فرایندهایی مانند فتوسنتز، تنفس سلولی و سنتز زیست‌مولکول‌ها ایفا می‌کند)



شکل ۹- مسیر سنتز زیستی PHA از استیل کوآنزیم A. (در این مسیر، استیل کوآنزیم A ابتدا به استواسیتیل کوآنزیم A تبدیل و سپس از طریق چندین واکنش آنزیمی PHB تولید می‌شود) [۵۷]

مسیرهای دیگری نیز برای تولید PHA وجود دارد که در برخی میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود. برای نمونه، در شکل ۱۰ دو مسیر اصلی سنتز زیستی PHA نشان داده شده است: مسیر سنتز اسید چرب و مسیر β -اکسیداسیون اسیدهای چرب. در مسیر سنتز اسید چرب، کربوهیدرات‌ها به اسیدهای چرب و سپس به PHA تبدیل می‌شوند. در مقابل، در مسیر β -اکسیداسیون، اسیدهای چرب به پیش‌سازهایی مانند (S)-۳-هیدروکسی آسیل کوآنزیم A تجزیه شده و در نهایت به PHA تبدیل می‌شوند. آنزیم‌های کلیدی این مسیر شامل PhaA، PhaB، PhaC و یا PhaEC هستند که در سنتز نهایی PHA نقش دارند و با رنگ قرمز مشخص شده‌اند [۲۶].

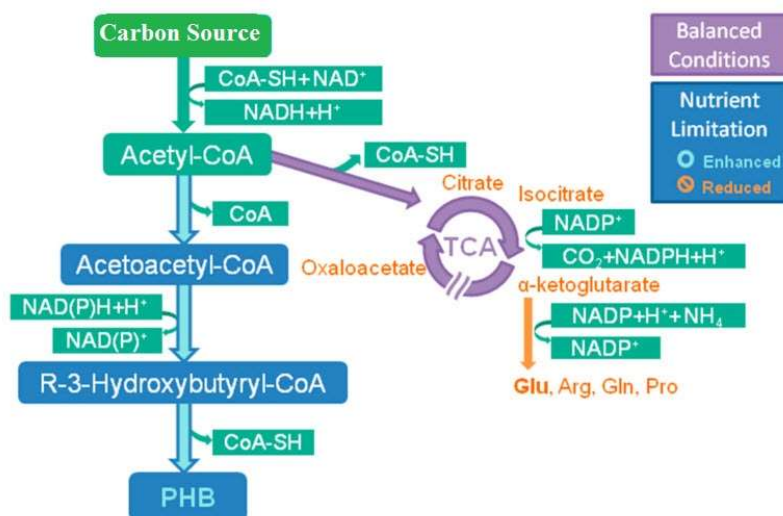


شکل ۱۰- مسیر سنتز زیستی PHA از طریق اسیدهای چرب. (این مسیر نشان‌دهنده استفاده از اسیدهای چرب به‌عنوان منبع اولیه و تبدیل آن‌ها به PHA در سلول است) [۲۶]

شکل ۱۱ سنتز زیستی PHB از منبع کربنی اولیه را نمایش می‌دهد. در این مسیر، منبع کربنی به استیل کوآنزیم A تبدیل شده و سپس وارد چرخه تولید PHB می‌شود. ابتدا، استیل کوآنزیم A به استواسیتیل کوآنزیم A و سپس به R-۳-هیدروکسی بوتیریل کوآنزیم A تبدیل می‌شود، که در نهایت به صورت PHB انباشته می‌گردد. این مسیر به شدت تحت تأثیر نسبت NADH به NAD^+ قرار دارد و نقش کلیدی در تنظیمات بیوشیمیایی سلول ایفا می‌کند. در شرایط محدودیت مواد مغذی مانند نیتروژن، نسبت $NADH/NAD^+$ افزایش یافته و آنزیم‌های مربوطه در چرخه تری‌کربوکسیلیک اسید (TCA) مهار می‌شود. جریان استیل کوآنزیم A به سمت چرخه TCA کاهش و در نتیجه سطح کوآنزیم A نیز کاهش می‌یابد. این کاهش موجب حذف مهار β -کتوتیولاز شده و مسیر بیوسنتز PHB از استیل کوآنزیم A فعال می‌شود. این تنظیمات، سلول را قادر می‌سازد در شرایط کمبود مواد مغذی به جای استفاده از چرخه TCA، PHB را به‌عنوان ذخیره انرژی و کربن تولید و انباشته کند [۵۸].

به‌طور کلی، سنتز PHA تحت کنترل تنظیمی درون‌سلولی قرار دارد. افزایش تولید این پلیمرها می‌تواند از طریق فعال‌سازی آنزیم‌های کلیدی در مسیر سنتز زیستی PHA یا مهار مسیرهای متابولیکی رقیب که از پیش‌سازهای مشترک استفاده می‌کنند، تحقق یابد. چنین تنظیماتی به

میکروارگانسیم‌ها امکان می‌دهد تا در شرایط محیطی نامطلوب، از منابع کربن به‌طور بهینه بهره‌برداری کرده و PHA را به‌عنوان ذخیره‌ای از انرژی و کربن انباشته نمایند.



شکل ۱۱- تنظیم سنتز PHB تحت تأثیر $NADH/NAD^+$ و محدودیت مواد مغذی [۵۸]

۲-۶- تاریخچه تحقیقات پیرامون تولید پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها از ریز جلبک‌ها

تحقیقات پیرامون تولید PHAها از ریزجلبک‌ها به دهه ۱۹۶۰ میلادی بر می‌گردد؛ در این زمان اولین تحقیقات پیرامون تولید این پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر آغاز شد. نخستین پژوهش‌ها بر روی ریزجلبک‌ها اغلب به منظور بررسی توانایی آن‌ها در تولید ترکیبات زیستی با ارزش انجام شد. مطالعات بر گونه‌هایی نظیر *Chlorogloea Fritschii* آغاز شد و نتایج حاکی از آن بود این گونه‌ها قادر به انباشت PHA هستند، هرچند میزان تولید در این مرحله کم بود [۵۹]. در دهه ۱۹۷۰، تمرکز پژوهش‌ها اغلب بر روی ارزش غذایی و پروتئینی گونه‌هایی مانند *Spirulina* و *Chlorella* به‌عنوان مکمل غذایی بود و هنوز PHA هدف اصلی تحقیقات نبود.

با توسعه فناوری فتوبیوراکتور و پیشرفت زیست‌شناسی سلولی در دهه ۱۹۸۰، پژوهش‌ها به سمت بهینه‌سازی شرایط کشت برای تولید PHA سوق یافت و محققان دریافتند که برخی سیانوباکتری‌ها، از جمله *Synechococcus* و *Aulosira* می‌توانند در شرایط محدودیت نیتروژن و فسفر تا حدود ۱۰ درصد از وزن خشک خود را به PHA تبدیل کنند [۶۰]. افزایش نگرانی‌ها درباره محیط زیست و تقاضا برای پلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر در دهه ۱۹۹۰، موجب تحقیقات گسترده در زمینه تولید PHA شد. با آغاز همکاری‌ها بین صنعت و مراکز تحقیقاتی، تولید PHA در گونه‌هایی مانند *Synechocystis* در شرایط آزمایشگاهی به میزان ۱۵ درصد از وزن خشک زیست‌توده رسید [۶۱]. در دهه ۲۰۰۰ میلادی، با پژوهش‌ها به منظور بهبود ژنتیکی و مهندسی متابولیکی ریزجلبک‌ها و استفاده از فتوبیوراکتورهای پیشرفته، تولید PHA در گونه‌هایی مانند *Synechococcus* و *Nostoc* در شرایط بهینه‌سازی‌شده تا حدود ۲۵ تا ۳۰ درصد وزن خشک زیست‌توده افزایش یافت [۶۲ و ۶۳]. که گامی مهم به‌سوی تولید صنعتی این پلیمر زیستی محسوب می‌شود. در دهه ۲۰۱۰ میلادی، تمرکز پژوهش‌ها بر بهینه‌سازی فرآیندهای برداشت، استخراج و خالص‌سازی PHA معطوف شد. پروژه‌های تجاری در کشورهای نظیر برزیل و چین، موفق به افزایش تولید PHA تا ۳۰-۴۰ درصد از وزن خشک زیست‌توده گردید و استفاده از پساب‌های صنعتی در فرآیند کشت به کاهش هزینه‌ها و افزایش بهره‌وری کمک کرد [۶۲ و ۶۴]. از دهه ۲۰۲۰ تاکنون، پیشرفت‌های قابل توجه در بیوتکنولوژی، منجر به جهش چشمگیری در بهره‌وری تولید PHA شد به‌طوری که پروژه‌هایی در کشورهایمانند امارات متحده عربی به منظور کشت ریزجلبک‌ها و بهره‌گیری از منابع ارزان‌قیمت مانند پساب‌ها، به تولید سالانه ۱۰۰ تن PHA نزدیک شدند [۶۵]. در چین و آمریکا، پژوهشگران موفق شدند میزان تولید PHA را در فتوبیوراکتورهای پیشرفته تا حدود ۵۰ درصد از وزن خشک زیست‌توده افزایش دهند [۶۶].

۶-۲-۱- تولیدکننده PHA

۶-۲-۱-۱- نوستوک (*Nostoc*)

نوستوک، یک سیانوباکتری رشته‌ای تثبیت‌کننده نیتروژن، در زیستگاه‌های آبی و خاکی می‌باشد و در افزایش باروری خاک، به‌ویژه در شالیزارها، نقش مهمی دارد [۸]. نخستین شواهد تولید PHB در نوستوک ماسکروم به سال ۲۰۰۵ بازمی‌گردد؛ در این زمان، شارما و مالیک [۵۵] نشان دادند که این سیانوباکتری تحت محدودیت فسفات و نیتروژن قادر به تولید ۸/۶ درصد PHB است. در شرایط خاص با افزودن ۰/۲ درصد استات و ۷ روز انکوباسیون در تاریکی، میزان PHB تا ۳۵ درصد وزن خشک سلولی افزایش یافت. مطالعات پاندا و همکاران [۶۷] نشان داد کاهش فسفات، موجب افزایش نسبت PHB درون سلولی اما کاهش زیست‌توده کلی می‌شود. استفاده از منابع کربنی مانند استات، پروپیونات، و والرات در شرایط هتروتروف، تولید کوپلیمر PHBV در نوستوک ماسکروم را افزایش و تولید PHA را به ۷۰ درصد وزن خشک سلولی رساند [۶۸].

بهاتی و مالیک [۶۹] نیز با افزودن کود مرغ به محیط کشت، افزایش زیست‌توده و PHA را گزارش کردند. آنان همچنین دریافتند که در شرایط کمبود فسفات و نیتروژن، بازده تولید PHB در نوستوک ماسکروم به ترتیب به ۰/۹۸ و ۰/۱۰۱ گرم در لیتر در روز می‌رسد. در پژوهشی دیگر، مالیک و همکاران [۷۰] نشان دادند بازدارنده‌های متابولیکی مانند ¹DCMU، ²CCCP و DCCD از طریق اثر بر سنتز NADPH تجمع PHB در نوستوک ماسکروم را تا ۲۱ درصد وزن خشک سلولی افزایش دادند.

۶-۲-۱-۲- سینه‌کوکوس (*Synechococcus*) و ساینکوسیستیس (*Synechocystis*)

Synechocystis و *Synechococcus*، سیانوباکتری‌های تک‌سلولی زیستگاه‌های آب شور و شیرین هستند که به دلیل توانایی تولید PHB و سایر PHAها در شرایط محدودیت مواد مغذی، توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده‌اند. نیوشیکا و همکاران [۷۱]، نشان دادند که سویه *Synechococcus sp. MA19* در شرایط کمبود فسفات قادر به تولید PHB به میزان ۵۵ درصد وزن خشک زیست‌توده است که یکی از بالاترین مقادیر گزارش شده در شرایط کشت فتواتوتروف به شمار می‌آید. مطالعه بر روی *Synechocystis sp. PCC 6803* نشان داد که این سویه در محدودیت نیتروژن و فسفر، و با استفاده از منابع کربنی مانند استات، توانایی بالایی در تجمع PHA دارد [۷۲].

در مطالعات اخیر، با بررسی محیط‌های فاضلابی غنی از کربوهیدرات‌ها و فسفات به عنوان محیط کشت، مشخص شد که سیانوباکتری *Synechocystis sp. PCC 6803* قادر است PHA تا میزان ۳۲/۵ درصد وزن خشک زیست‌توده، تولید کند [۷۳]. این یافته‌ها نشان‌دهنده پتانسیل بالای این سیانوباکتری‌ها، در تولید زیست‌پلیمرها و کاهش آلودگی در محیط‌های غنی از مواد مغذی دارند.

۶-۲-۱-۳- اسپیرولینا (*Spirulina*)

اسپیرولینا، که با نام علمی *Arthrospira* نیز شناخته می‌شود، سیانوباکتری رشته‌ای است که در محیط‌های قلیایی و دریاچه‌های نمکی رشد می‌کند و به دلیل داشتن مقادیر بالای پروتئین، ویتامین‌ها، و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، به‌طور گسترده در صنایع غذایی به عنوان مکمل مورد استفاده قرار می‌گیرد [۷۴]. اولین گزارش از تولید PHB توسط این سیانوباکتری به پژوهش کمپبل و همکاران [۷۵] در سال ۱۹۸۲ بازمی‌گردد که محتوای PHB را تا ۶ درصد وزن خشک سلولی در شرایط اتوتروف به دست آوردند. این مطالعه نشان داد که با استفاده از CO₂ و تحت شرایط مناسب، در اسپیرولینا به میزان کمی PHB تولید گردید. در ادامه پژوهش‌هایی مانند دی‌فیلیپس و همکاران [۷۶] گزارش کردند که افزودن استات به محیط کشت، موجب افزایش PHB تا ۳/۵ درصد وزن خشک سلولی گردید. شریواستاوا و همکاران [۵۳] نشان دادند که اسپیرولینا پلتنسیس تحت شرایط شوری بالا می‌تواند تا ۱۴/۷ درصد وزن خشک زیست‌توده PHB تولید کند. در مطالعه‌ای دیگر، کوالهو و همکاران [۵۶] گزارش کردند که با کشت اسپیرولینا در محیط کشت با اعمال محدودیت در نیتروژن، میزان تولید PHA به ۳۰/۷ درصد وزن خشک زیست‌توده رسید.

¹ 3-(3,4-Dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea

² Carbonyl Cyanide m-Chlorophenylhydrazone

۶-۲-۱-۴- اولوسیرا فرتیلیسیما (*Aulosira fertilissima*)

اولوسیرا فرتیلیسیما یکی از سیانوباکتری‌های مهم با قابلیت تثبیت نیتروژن است و به دلیل ویژگی منحصربه‌فرد در تجمع PHB، مورد توجه قرار گرفته است. اولوسیرا فرتیلیسیما در محیط‌های آب شیرین رشد می‌کند و به دلیل تثبیت نیتروژن، در شالیزارها و خاک‌های مرطوب برای افزایش حاصلخیزی خاک استفاده می‌شود [۷۷]. اولین مطالعات روی این گونه نشان داد که در شرایط کمبود فسفات و با افزودن استات، تولید PHB تا ۸۵ درصد وزن خشک زیست توده، افزایش یافت [۷۸]. این توانایی تولید بالا در شرایط استرس غذایی، *Aulosira* را به یکی از گزینه‌های مناسب برای تولید صنعتی زیست‌پلیمرها تبدیل کرده است.

۶-۲-۱-۵- آنابینا سیلندریکا (*Anabaena cylindrica*)

آنابینا سیلندریکا یک سیانوباکتری رشته‌ای است که به دلیل توانایی‌های زیستی متنوع خود در تولید PHB تحت شرایط مختلف محیطی، مورد بررسی قرار گرفته است. این سیانوباکتری نیز با دارا بودن ویژگی تثبیت نیتروژن، نقش مهمی در اکوسیستم‌های آبی و خاکی دارد و در کشاورزی نیز برای غنی‌سازی خاک استفاده می‌شود [۷۹]. اولین تحقیقات در زمینه تولید PHB در این گونه نشان داد که در محدودیت نیتروژن در شرایط اتوتروف، میزان اندکی PHB تجمع یافت. اما افزودن استات به محیط کشت موجب افزایش تولید PHB تا ۲ درصد وزن خشک زیست‌توده شد، که نشان‌دهنده تأثیر مثبت منابع کربنی بر تولید PHB است [۸۰].

۶-۲-۱-۶- بوتریکوکوس براونی (*Botryococcus braunii*)

بوتریکوکوس براونی یک ریزجلبک سبز و از کندترین گونه‌های جلبکی است که به دلیل توانایی بالای خود در تولید لیپیدهای ذخیره‌ای و PHB شناخته شده است. این ریزجلبک عمدتاً در محیط‌های آب شیرین و همچنین در برخی محیط‌های آب شور یافت می‌شود و به دلیل داشتن بازده بالا در تولید ترکیبات کربنی باارزش، به عنوان یک منبع صنعتی مهم در تولید پلیمرهای زیستی شناخته شده است [۸۱]. تحقیقات نشان داده‌اند که بوتریکوکوس براونی در شرایط کمبود نیتروژن، میزان بالایی از PHB را تولید کرده و آن را به یک منبع امیدبخش برای تولید صنعتی PHA تبدیل کرده است [۸۲]. این ریزجلبک در شرایط خاص و با استفاده از فاضلاب‌ها نیز توانایی تجمع PHA دارد که آن را به گزینه‌ای مطلوب برای تولید زیست‌پلیمرها در مقیاس صنعتی و کاهش آلاینده‌های محیطی تبدیل می‌کند [۸۳].

بطور کلی برای دستیابی به تولید بهینه PHA در ریزجلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها، از استراتژی‌های مختلف کشت بهره گرفته می‌شود. این راهکارها شامل کاهش یا افزایش هدفمند مواد مغذی مانند نیتروژن و فسفر، یا ایجاد کمبود هم‌زمان آن‌ها است؛ شرایطی که باعث هدایت متابولیسم سلولی به سمت تولید ترکیبات ذخیره‌ای مانند PHA می‌شود. به عنوان مثال، افزودن منابع کربنی خارجی نظیر استات و پروپیونات، مسیرهای زیست‌شیمیایی را به سوی تجمع این پلیمر زیستی هدایت می‌کند. علاوه بر این، اعمال تنش‌هایی نظیر افزایش شوری یا محدود کردن تبادل گاز (مانند کاهش دسترسی سلول‌ها به اکسیژن یا دی‌اکسید کربن)، نوعی فشار فیزیولوژیکی به سلول وارد می‌کند که آن‌ها را به جای رشد سریع، می‌تواند به سمت تولید مواد ذخیره‌ای همچون PHA سوق دهد. استفاده از فاضلاب به عنوان محیط کشت نیز مورد توجه قرار گرفته است؛ زیرا فاضلاب سرشار از مواد مغذی است و می‌تواند گزینه‌ای اقتصادی و پایدار برای تغذیه ریزجلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها محسوب شود. از منظر فناوری و هزینه، کشت سیانوباکتری‌های فتواتوتروف راهکاری موثر برای تولید PHA در مقیاس صنعتی به‌شمار می‌رود. این روش نه تنها وابستگی به منابع کربن خارجی را کاهش می‌دهد، بلکه در مقایسه با کشت‌های هتروتروف، نیاز به اکسیژن‌رسانی مکانیکی را نیز تا حد زیادی کاهش داده و هزینه‌های عملیاتی را پایین می‌آورد. با این حال، برای ارتقای بازدهی در مقیاس صنعتی، نیاز به استفاده از فتوبیوراکتورهای بهینه‌سازی شده، بهبود شرایط کشت و انجام پژوهش‌های بیشتر برای افزایش بهره‌وری فرایند وجود دارد. همچنین، انتخاب سویه‌هایی با مقاومت بالا و توانایی ذاتی در تولید مقادیر زیاد PHA می‌تواند راندمانی در بازه ۵ تا ۷۰ درصد بر اساس وزن خشک زیست‌توده فراهم سازد [۹ و ۱۷]. جدول ۴ خلاصه‌ای از پژوهش‌های انجام شده در این زمینه را ارائه می‌دهد.

جدول ۴- مطالعات انجام شده در خصوص تولید PHA از ریز جلبک.

مرجع	روش تایید تولید پلیمر	پاسخ (حداکثر مقادیر)			متغیرها و محدوده های مورد بررسی							مقیاس و سیستم کشت	ریز جلبک		
		محتوای پلیمر زیستی	بازده پلیمر زیستی (%)	میزان تولید زیست توده	سوپسترا	منبع فسفر	منبع نیتروژن	منبع کربن	دوره کشت (روز)	دوره نوری (روشنایی به)	شدت نور $\mu\text{mol photons. m}^{-2}\text{s}^{-1}$			دما (°C)	pH
۸۴	Nile-Red	۲/۷۹ g.L ⁻¹	۲۵/۹	۳/۵ g.L ⁻¹	فاضلاب شهری	-	-	هوا	۳۱	-	۱۰۰	۲۸	۷/۵	بطری ۴۰۰ mL	ساینکوسیستیس
								+ ۱٪ CO ₂			۱۰۰	-۳۰	-۸		
۸۵	-	-	۴/۸	۱/۴۱۳ g.L ⁻¹	فاضلاب - NaCl NaHCO ₃	PF	NF	هوا + ۰/۲ mL.min ⁻¹ CO ₂	۱۲۰	۱۵ : ۹	۱۰۰ -۵۰۰	۲۳ -۲۷	۸/۴	فتوبیوراکتور ۳۰ L	ساینکوسیستیس
۸۶	GC-MS	-	۳/۷	۲/۱۱ g.L ⁻¹	۲۰ mg.L ⁻¹ D- xylose	-	٪۲۵ کاهش نیترات	هوا + Na ₂ CO ₃	۱۵	۱۲:۱۲	۴۴/۸	۳۰	-	فتوبیوراکتور ۱ L	کلرلا فوسکا
۸۷	-	۴ mg.L ⁻¹ .d ⁻¹	۵/۶	۱/۵۶ g.L ⁻¹	NaCl	-	-	۴ g.L ⁻¹ NaHCO ₃	۱۲	۱۵ : ۹	۵۰۰	۳۱/۱	۷-۹	فتوبیوراکتور ۳ L	ساینکوسیستیس
		+ ۱/۲ g.L ⁻¹ استات						۳۱/۱ -۳۳/۷				سینه که کوس			

۸۸	XRD TGA C NMR H NMR GC-MS	۲۸۰ mg.L ⁻¹	۲۹/۵	۰/۹۴ mg.L ⁻¹	-	کاهش فسفات	کاهش نیترات	هوا + سدیم استات	۱۶	۱۲:۱۲	۲۰۰	-	۶/۵ - ۷/۵	فتوبیوراکتور ۲ L	کلرلا سوروکینیاننا
۸۹	-	۲/۴۵ mg.L ⁻¹ .d ⁻¹	۱۴	-	فاضلاب	-	-	هوا + ۵ mg.L ⁻¹ .d ⁻¹ NaHCO ₃	۲۶	۱۵:۹	۷۳	۳۰/۵ -۳۱/۷	۷-۹	فتوبیوراکتور ۳ L	ساینکوسیستیس
۹۰	-	۲۴۱ mg.L ⁻¹	۳۱	۰/۸۵ g.L ⁻¹	-	-	-	هوا + ۵ g.L ⁻¹ NaHCO ₃	۵	-	۴۰ -۳۰۰	۳۰	-	ارلن ۲۵۰ mL	ساینکوسیستیس
۱۶	TGA DSC GC-MS FTIR	-	۵۱/۳	۰/۱۹ g.L ⁻¹	-	PF	-	هوا + ۵ g.L ⁻¹ سدیم استات	۷	۱۶:۸	۹۰ -۱۲۰	۲۵ -۲۹	-	ارلن ۲۰۰ mL فتوبیوراکتور ۱۰ L	آناپنا
۹۱	-	۵/۱ mg.L ⁻¹ .d ⁻¹	۹	۱/۴ g.L ⁻¹	-	بهینه سازی نیترات	بهینه سازی فسفات	هوا + CO ₂	۲۰	۱۵:۹	۱۰۲	-	۷-۹	فتوبیوراکتور ۳ L	ساینکوسیستیس
۹۲	TEM H-NMR HPLC Nile-Red	-	۸۱	-	-	PF	NF	هوا + استات	۲۰	۱۲:۱۲	۵۰	۲۸	-	ارلن ۱۰۰ mL	ساینکوسیستیس
۹۳	-	-	۵/۰۴	۴۹۳ mg.L ⁻¹	-	PF	NF	کربن غیرآلی (کربنات و بی کربنات سدیم و CO ₂)	۱۵	۱۵:۹	۱۵۰	۲۸ -۳۲	۷/۵ -۹	ارلن ۵۰ ml فتوبیوراکتور ۲/۵ L	ساینکوسیستیس سینه کوکوس
۹۴	-	-	۳۳	۳۵۹ mg.L ⁻¹	-	-	NF	هوا + ۱/۲ % CO ₂	۱۴	۱۲:۱۲	۲۰۰	۲۵	۶/۸	بالن شیشه‌ای ۵۰۰ ml	آرترواسپیرا پلتنسیس
۷۳	NMR HPLC Nile-Red	۱۲/۷۳ mg.L ⁻¹ .d ⁻¹	۳۲/۵	۵۰۰ mg.L ⁻¹	فاضلاب میگو	-	-	هوا + استات	۱۴	۲۴:۰	۴۰	۲۷ -۳۰	۷-۹	فتوبیوراکتور ۱۰ L	ساینکوسیستیس

۹۵	SEM	0.49 mg.mL^{-1}	-	-	-	-	-	-	۱۵	-	-	-	-	-	هیما تکتو کوس پیویولس میکروسیستیس آنروژینوزا
		0.07 mg.mL^{-1}													
۹۶	GC FTIR	0.49 mg.L^{-1}	-	-	-	-	-	ساکارز	۲۰	۱۲:۱۲	۴۶/۲۵	۲۳ - ۲۷	۸/۵ - ۹	ارلن	اسپیرولینا
۹۷	-	-	۱۷/۴	0.84 g.L^{-1}	زایلوز و آرابینوز	-	۵۰٪ کاهش NaNO_3	زایلوز و آرابینوز	۱۰	۱۸ : ۶	۵۸	۳۰	۹	فتوبیوراكتور ۱/۸ L	کلرلا فوسکا
			-	$0.25 \text{ g.L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$				هوا + $0.4 \text{ g.L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$					۸/۶ -		کلرلا
۱۷	TGA DSC GC-MS FTIR	-	۱۶	$0.145 \text{ g.L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	-	PF	۷۰٪ کاهش NaNO_3	$0.4 \text{ g.L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$	۲۰	۱۲:۱۲	۴۱/۶	۲۸	۹ - ۹/۸	فتوبیوراكتور ۲۰ L	سینه کوکوس
			۱۲	$0.18 \text{ g.L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$				هوا + $16/8 \text{ g.L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$					۹/۲ -		اسپیرولینا
۹۸	HPLC TGA DSC FTIR	-	۱۳/۷	$1/5 \text{ g.L}^{-1}$	-	-	-	CO_2	۷۵	۱۶ : ۸	۲۵	۲۵	۸/۵	ارلن mL ۵۰ فتوبیوراكتور ۲۰۰ L	ساینکوسیستیس
۴۳	Sudan Black	$171/5 \text{ mg.L}^{-1}$	۱۷/۱	-	-	PF	NF	گلوکز، فروکتوز، ساکارز، گلیسرول، سیترات ۱۲	۱۵	۱۴:۱۰	-	۲۴	-	ارلن ۵۰ mL	سینه کوکوس الانگوتاس
۱۰۰	GPC TGA DSC FTIR HPLC	-	۶/۶	2 g.L^{-1}	سوپر ناتانت هاضم	-	-	هوا + CO_2	۲۱	۱۶ : ۸	۱۲	۲۰	۶/۷	فتوبیوراكتور ۲۰۰ L	ساینکوسیستیس

۹۹	SEM	۳۴۲ mg.L ⁻¹	۱۶/۴	۱/۳ g.L ⁻¹	-			کربنات، استات، گلوکز، گلیسرول	۱۴	۱۶:۸	۵۰	۲۸	۸/۵	ارلن ۵۰۰ mL	ساینکوسیسیتیس
	HPLC	۲۸۸ mg.L ⁻¹	۱۴/۶	۱/۱۲ g.L ⁻¹	کربنات و استات	PF	NF	هوا + ۲٪ CO ₂			۴۰			فتوبیوراكتور ۱/۵ L	
۱۰۱	Nile-Red Sudan- Black FTIR H NMR GC-Ms TGA DSC	-	۲۶/۴	-	NaCl	PF	-	۰/۴٪ گلوکز	۲۱	۱۴:۱۰	۲۵	۳۰	۷/۵	ارلن ۵۰ mL	نوستوک ماسکروم
۱۰۲	HPLC C NMR H NMR	۳۵۶/۵ mg.L ⁻¹	۲۵/۴	۱۳۹۶/۶ mg.L ⁻¹	-	PF	NF	CO ₂	۳۰	-	۵۰	۲۸	۷/۵	-	کلتریکیس سیتون مکولا
۸۲	Nile-red Sudan- black TEM FTIR	۲۴۷ mg.L ⁻¹	۶۰	-	-	-	-	-	۱۸	۱۲:۱۲	۳۰	۴۰	۷/۵	ارلن	بوتریکوکوس براونی
۸۳	Nile-red Sudan- black TEM FTIR DSC TGA XRD	۰/۳۸۲ mg.g ⁻¹	۱۶/۴	۱۲ mg.L ⁻¹	-	-	-	-	۳۰	۱۲:۱۲	۳۰	۲۴ - ۲۶	۷/۵	ارلن	بوتریکوکوس براونی
۱۰۳	HPLC	۹۵/۴ mg.L ⁻¹	۵/۵	۱/۵۵ g.L ⁻¹	محلول مغذی از			هوا + ۲٪ CO ₂	۴۰	۱۶:۸	۲۴/۵	۲۴ - ۲۶	۸/۴	ارلن ۵۰ mL	ساینکوسیسیتیس
		۸۸/۷ mg.L ⁻¹	۴/۷	۱/۶۳ g.L ⁻¹	هاضم بی هواری	-	-				-	۱۸ - ۲۲	۶/۷	فتوبیوراكتور ۲۰۰ L	
۱۰۴	Nile red TEM NMR	۱۴/۳ mg	۶/۹۸	۱/۲۶ g.L ⁻¹	-	-	NF	هوا + ۲٪ CO ₂	۸	۲۴:۰	۱۰۰	۳۰	۷	ارلن ۵۰ mL	ساینکوسیسیتیس

۶۹	GC-MS H NMR	۲۵۳/۱ mg.L ⁻¹	۲۲/۶	۱/۱۲ g.L ⁻¹	کود مرغی	-	NF	هوا + ۲-۱۰٪ CO ₂	۲۰	۱۴:۱۰	۷۵	۲۳ - ۲۷	۷	فتوبیوراكتور ۵L	نوستوك ماسكروم
۶۴	GC FTIR DSC TGA	۴۳۸/۹ mg.L ⁻¹	۷۸/۲	۶۱۹/۳ mg.L ⁻¹	-	PF	NF	استات گلوکز والرات	۱۶	۱۴:۱۰	۷۵	۲۳ - ۲۷	۸	ارلن ۲۵۰mL	نوستوك ماسكروم
۵۶	TGA DTG	۰/۶ g.L ⁻¹	۳۰/۷	-	-	۰/۱-۰/۳ g.L ⁻¹ K ₂ HPO ₄	۰/۰۵ -۰/۲۵ g.L ⁻¹ NaNO ₃	NaHCO ₃	۴۵	۱۲:۱۲	۵۹/۲	۳۰	۹/۸ - ۱/۸ ۰	فتوبیوراكتور ۲L	اسپيرولينا
۱۰۵	HPLC	-	۲۱/۸	۱/۴۹ g.L ⁻¹	گلوکز	PF	NF	هوا	۲۸	۲۴:۰	۱۰ -۵۰۰	۲۸	۷/۵	ارلن ۲۵۰mL	ساینکوسیسیتیس
۷۸	GC-MS H NMR	۱/۵۹ g.L ⁻¹	۶۶	-	-	PF	NF	هوا + استات، سیترات	۱۴	۱۴:۱۰	۷۵	۲۶ - ۳۰	۸/۵	ارلن ۱۵۰mL	اولوسیرا فرتیلیسیما
۵۳	FTIR NMR SEM Nile red DSC TGA	mg.g ⁻¹ ۱۴۷/۷۵	۷/۴۵	۲/۲ g.L ⁻¹	NaCl	-	NF	-	۲۰	۱۴:۱۰	-	۲۴	۷/۵	ارلن ۲۵۰mL	اسپيرولينا سایسالس
۱۰۶	GC Nile blue TEM	-	۱۰ ۱۴	-	-	-	NF	هوا + ۰/۵٪ سدیم استات	۱۵	۲۴:۰	۱۳/۷۶	۲۵	۷/۲	ارلن	اسپيرولينا پلتسیس ساینکوسیسیتیس
۱۰۷	GC	-	۴۵/۶	-	-	-	NF	استات - گلوکز	۷	۱۴:۱۰	۷۵	۲۴ - ۲۶	۸	ارلن ۱۵۰mL	نوستوك ماسكروم
۷۰	GC	-	۳۲	۱۰۵ mg.L ⁻¹	-	-	NF	استات - پروپیونات	۱۴	۱۴:۱۰	۷۵	۲۳ - ۲۷	۸/۵	ارلن ۱۵۰mL	نوستوك ماسكروم
۷۱	GC	-	۵۵	۴/۴ g.L ⁻¹	-	محدودیت فسفات	-	هوا + ۲٪ CO ₂	۱۱	-	۲۱۰	۵۰	۸	ارلن ۵۰۰mL	سینه کوکوس

۶۷	GC NMR	-	۲۹	-	فاضلاب دریاچه	PF	NF	گلوکز - فروکتوز - مالتوز - اتانول و استات	۲۱	۱۴:۱۰	۷۵	۲۶ - ۳۰	۸/۵	ارلن ۱۵۰ mL	ساینکوسیستیس
۱۰۸	GC Nile blue TEM	-	۱۰	-	-	-	NF	هوا + ۰/۵٪ از استات - بوئیرولاکتون - پروپیونیک اسید - ۴ هیدروکسی بوئیریک اسید	۲۵	۲۴:۰	۱۳/۷۶	۲۵	۹	ارلن ۲۵۰ mL	اسپیرولینا پلتنسیس
۵۵	-	-	۳۵	۷ mg.L ⁻¹	-	محدودیت فسفات با جایگزینی KCl	-	۰/۰۵ - ۰/۴٪ سیکلو هگزان - گلوکز - فروکتوز - مالتوز - اتانول و استات	۲۱	۱۴:۱۰	۷۵	۲۴ - ۲۶	۸	ارلن ۱۵۰ mL	نوستوک ماسکروم
۲۸	GC FT-IR Nile-blue	-	۱۱	۷/۸ g.L ⁻¹	تقویت شده با باکتری رالستونیا ایوتروفا	-	NF	-	۱۵	-	۱۵۰	۳۰	-	ارلن ۲۵۰ mL	ساینکوسیستیس

NF: محدودیت نیترات، NP: محدودیت فسفات

۷- چالش‌ها و دستاوردهای تولید PHA از ریزجلبک‌ها در مقیاس بزرگ

ریزجلبک‌ها به‌عنوان ریزسازواره‌های فتوسنتزکننده، در سال‌های اخیر به یکی از محورهای کلیدی پژوهش‌های زیست‌فناوری تبدیل شده‌اند. این میکروارگانیسم‌های تک‌سلولی، به‌دلیل توانایی بالای خود در تولید ترکیبات زیستی ارزشمند همچون پروتئین‌ها، لیپیدها، رنگدانه‌ها و زیست‌پلیمرها، پتانسیل چشمگیری در توسعه محصولات صنعتی پایدار از خود نشان داده‌اند. بهره‌برداری از ریزجلبک‌ها نه تنها می‌تواند به تولید مواد اولیه با ارزش افزوده در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی کمک کند، بلکه نقش مهمی در دستیابی به اهداف زیست‌محیطی همچون کاهش گازهای گلخانه‌ای و بازیافت مواد مغذی ایفا می‌کند. شناخت پیشینه تاریخی، توسعه صنعتی و گسترش کاربردهای ریزجلبک‌ها، نقطه‌ی شروعی ضروری برای درک جایگاه فعلی و آینده‌ی این میکروارگانیسم‌ها در اقتصاد نوین منطبق بر اصول پایداری به شمار می‌رود.

۷-۱- تولید پلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر پایدار از ریزجلبک‌ها

اگر چه تولید پلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر پایدار از ریزجلبک‌ها هنوز در مراحل آزمایشگاهی بوده و به تجاری‌سازی کامل نرسیده‌اند [۱۰۹]، اما کشورهای مختلف به سرمایه‌گذاری در این زمینه پرداخته‌اند. چین، ژاپن، ایالات متحده و برزیل با راه‌اندازی پروژه‌های متعددی به هدف تولید صنعتی PHA از ریزجلبک‌ها دست یافته‌اند [۱۱۰]. این پروژه‌ها شامل کارخانه‌های صنعتی آزمایشی، تحقیق در زمینه بهبود سویه‌های ژنتیکی ریزجلبکی و استفاده از سویه‌های مهندسی‌شده، مسیرهای متابولیکی اصلاح‌شده، توسعه آنزیم‌های جدید، توسعه روش‌های کارآمد کشت، کنترل آلودگی، بهینه‌سازی برداشت و خالص‌سازی زیست‌توده هستند [۱۱۰ و ۱۰۹].

۷-۲- پژوهش‌های مرتبط در ایران

ایران با دسترسی به منابع طبیعی مناسب مانند سواحل طولانی، نور خورشید و دسترسی به دی‌اکسید کربن، به توسعه کشت و بهره‌برداری از ریزجلبک‌ها پرداخته است. سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، با راه‌اندازی پایلوتی به ظرفیت ۱۰۰،۰۰۰ لیتر و تجهیزاتی مانند فرماتورهای ایرلیفت، ستون‌های تقطیر و هموژنایزرهای نیمه‌تجاری، شرایط لازم برای تولید انبوه محصولات زیستی مانند سوخت‌های زیستی، پروتئین‌های نو ترکیب، مکمل‌های غذایی و افزودنی‌های دارویی از ریزجلبک‌ها را فراهم کرده است [۶۵]. در منطقه قشم، شرکت‌هایی مانند شرکت دانش‌پژوهان سبز بنیان قشم با موفقیت تولید اسپیرولینا را در حوضچه‌های باز اجرا کرده‌اند. این پروژه به تراکم سلولی بین ۵۳۰۲ تا ۹۹۸۱ سلول در هر میلی‌لیتر و محتوای پروتئینی حدود ۵۵ درصد دست یافته است [۱۱۱]. شرایط اقلیمی مطلوب خلیج فارس و دریای عمان نیز امکان توسعه کشت ریزجلبک‌ها را فراهم کرده و با کاهش هزینه‌های تولید به توسعه پایدار کمک می‌کند [۱۱۲]. این تلاش‌ها در ایران، علی‌رغم موفقیت در تولید صنعتی، تاکنون به تولید پلاستیک‌های زیستی از ریزجلبک‌ها در مقیاس بزرگ منجر نشده است.

۷-۳- سیستم‌های کشت و چالش‌های فنی

سیستم‌های مختلف کشت در تولید PHA از سیانوباکتری‌ها، مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در سیستم‌های بسته، مانند فتوبیوراکتورهای ستون حبابی، راکتورهای پنبلی تخت و فتوبیوراکتورهای لوله‌ای، به دلیل امکان کنترل بیشتر بر شرایط محیطی (مانند دما، نور و تهویه)، محصول با کیفیت بالاتر تولید می‌شود. اما باید توجه داشت این سیستم‌ها هزینه‌بر هستند. در مقابل سیستم‌های کشت باز که در حوضچه‌های وسیع و با استفاده از نور طبیعی انجام می‌شود، هزینه کمتری دارند ولی ممکن است به دلیل محدودیت‌های کنترل عوامل محیطی و امکان ورود آلودگی‌های خارجی، کیفیت محصول را کاهش دهند [۶]. در مطالعه‌ای استفاده از یک فتوبیوراکتور لوله‌ای با ظرفیت ۲۰۰ لیتر در اتریش برای کشت سیانوباکتری ساینکوسیستیس استفاده شد. این سیستم در مجاورت گاز دودکش نیروگاه دورنروهر^۱ قرار داشت و با استفاده از CO₂ و در شرایط محدودیت نیتروژن به‌صورت

^۱ Dürnrohr power station

نیمه‌پیوسته به مدت ۷۵ روز کشت داده شد و میانگین تولید PHB به ۱۲/۵ درصد وزن خشک سلولی رسید. [۹۸]. همچنین در چندین پایلوت اروپایی از سیستم‌های کشت ترکیبی با فاضلاب شهری برای تولید PHA از ریزجلبک‌ها و لجن فعال استفاده شد که نشان دادند استخراج بهینه‌شده قادر به تولید پلیمرهایی با ویژگی‌های قابل قبول برای کاربردهای صنعتی است [۱۱۳ و ۱۱۴]. در نمونه‌ای دیگر، سامانتاری و همکاران [۱۱۵] از فاضلاب غنی از مواد مغذی حاصل از آبی‌پروری برای تولید PHB توسط سیانوباکتری *Aulosira fertilissima* استفاده کردند و توانستند در هر متر مربع تا ۹۲ گرم PHB تولید کنند. این سیستم، با استفاده از تانک‌های پلاستیکی تقویت‌شده با فیبر و تنظیم پارامترهایی نظیر عمق، میزان تلقیح و تلاطم (گردش مداوم محیط کشت)، قابلیت بالایی در تصفیه فاضلاب و تولید زیست‌توده ارزشمند نشان داد.

۷-۴- چالش‌های برداشت و خالص‌سازی

برداشت زیست‌توده از چالش‌های مهم تولید PHA است. این فرایند به دلیل غلظت اندک زیست‌توده ریزجلبکی (۲-۰/۲ گرم بر لیتر)، اندازه کوچک سلول‌ها و پایداری کلونیدی، هزینه‌بر است. روش‌هایی مانند فیلتراسیون، انعقاد و لخته‌سازی، ته‌نشینی و سانتریفیوژ مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما هر کدام چالش‌های خاصی دارند. برای مثال، سانتریفیوژ به انرژی بالایی نیاز دارد، در حالی که روش انعقاد و لخته‌سازی با استفاده از نمک‌های معدنی به لحاظ اقتصادی مقرون‌به‌صرفه‌تر است و حجم بیشتری از کشت را پردازش می‌کند [۳]. پس از برداشت، فرآیند خشک کردن زیست‌توده نیز هزینه‌بر است و معمولاً حدود ۲۰ درصد از هزینه تولید PHA را شامل می‌شود [۶]. استفاده از انرژی خورشیدی یا بادی در این فرآیند می‌تواند هزینه‌ها را کاهش دهد. علاوه بر این مراحل، هزینه‌های بالای استخراج و خالص‌سازی PHA نیز یکی از موانع اساسی در تجاری‌سازی این محصولات است، زیرا روش‌های استخراج فعلی غالباً به حلال‌های شیمیایی و پرخطر نیاز دارند که هزینه‌های تولید و ریسک‌های زیست‌محیطی را افزایش می‌دهد [۱۱۶]. راهبردهای نوآورانه شامل روش‌های استخراج سریع با استفاده از تخریب آنزیمی یا شیمیایی زیست‌توده، همچنین تکنیک‌های مکانیکی برای شکستن سلول‌ها به‌طور همزمان مورد بررسی قرار گرفته‌اند [۶].

۷-۵- ریزجلبک‌ها و نقش آن‌ها در توسعه اقتصاد چرخشی زیستی

اقتصاد چرخشی به‌طور مستقیم با تولید اقتصادی مبتنی بر دانش و استفاده از منابع طبیعی یا پسماندها به‌عنوان مواد اولیه برای تولید محصولات مفید و پایدار به گونه‌ای مرتبط است که منجر به صرفه‌جویی در منابع طبیعی، کاهش پسماند و افزایش ارزش‌آفرینی می‌شود. در این میان، استفاده از ریزجلبک‌ها در صنعت، نه تنها موجب تولید محصولات باارزش می‌شود، بلکه به مدیریت پسماندهای آلی و کاهش انتشارات گازهای گلخانه‌ای کمک کرده و نقش مهمی در امنیت غذایی دارند. مزیت ریزجلبک‌ها در اقتصاد چرخشی در این است که نیاز به ترکیبات یا فرآیندهای پیچیده ندارند و تنها برای رشد به نور و مواد مغذی ضروری نیاز دارند؛ حتی می‌توان آن‌ها را در فاضلاب نیز پرورش داد [۱۱۷]. مطالعات موردی نشان داده‌اند که ادغام فرآیند کشت ریزجلبک‌ها با سامانه‌های تصفیه فاضلاب می‌تواند به نتایج قابل توجهی منجر شود.

از سوی دیگر همانگونه که پیشتر اشاره شد مطالعات متعدد صورت گرفته بر روی ریزجلبک‌ها، این میکروارگانیسم‌ها منابع قابل اطمینان برای تولید پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، PHAها جهت تولید پلاستیک‌های زیستی معرفی کرده‌اند. زیست‌توده ریزجلبکی در تولید سوخت‌های زیستی و کودهای کشاورزی نیز نقش دارد. وجود پالایشگاه زیستی ریزجلبکی بهره‌وری و بازایی منابع را افزایش می‌دهد، نقش مهمی در کاهش هزینه تولید زیست‌توده دارد و با دارا بودن مزایای زیست‌محیطی به تحقق واقعی اقتصاد چرخه‌ای کمک می‌کند [۱۱۷].

۷-۶- بازار PHA و چالش‌های اقتصادی

PHA به‌عنوان پلیمر زیست‌تخریب‌پذیر، برتری‌های قابل توجهی نسبت به پلاستیک‌های متداول دارد. با این حال، یکی از چالش‌های جایگزینی این پلاستیک‌ها با PHA، کاهش هزینه‌های تولید آن است. در مقاله منتشر شده در سال ۲۰۱۷، هزینه پلیمرهایی مانند پلی‌پروپیلن و پلی‌اتیلن در حدود ۰/۶۰ تا ۰/۸۷ دلار به ازای هر پوند (حدود ۱/۳۲ تا ۱/۹۲ دلار به ازای هر کیلوگرم) بود، در حالی که

هزینه تولید پلیمر زیستی PHA تقریباً ۳ تا ۴ برابر بیشتر و در حدود ۲/۲۵ تا ۲/۷۵ دلار به ازای هر پوند (معادل ۴/۹۶ تا ۶/۰۶ به ازای هر کیلوگرم) برآورد شده است [۱۸]. با وجود این چالش‌ها، پیش‌بینی‌ها حاکی از آن است که PHA می‌تواند تا ۳۳ درصد از بازار جهانی پلیمرها را به خود اختصاص دهند [۳]. بنابراین، توسعه روش‌های تولید ارزان‌تر و کارآمدتر، مانند استفاده از منابع کربنی ارزان‌تر، می‌تواند به تجاری‌سازی گسترده PHA کمک کند.

پیش‌بینی می‌شود که تولید جهانی ریزجلبک‌ها در صنایع غذایی، دارویی و زیست‌پالایی رشد قابل توجهی داشته باشد. در این راستا پالایشگاه‌های زیستی با بهره‌گیری از ترکیبات حاصل از زیست‌توده ریزجلبکی، به تولید محصولات با ارزش افزوده بالا خواهند پرداخت. با توسعه فناوری‌های جدید در زمینه زیست‌شناسی و بیوتکنولوژی، گونه‌های کارآمدتری از ریزجلبک‌ها شناسایی خواهند شد که قادر به تولید ترکیبات ارزشمند با بازده اقتصادی بالاتر هستند و به تحقق اقتصاد زیستی پایدار در مقیاس جهانی کمک می‌کنند.

۷-۷- نقشه راه تحقیقات آینده

با توجه به پتانسیل بالای ریزجلبک‌ها در تولید زیست‌توده و ویژگی‌های زیست‌تخریب‌پذیر PHA، بهره‌برداری صنعتی از این منابع، افقی نو در تولید پلاستیک‌های زیستی ترسیم می‌کند. با این حال، چالش‌هایی مانند هزینه بالای کشت، بازده پایین سنتز، و پیچیدگی فرایندهای استخراج و خالص‌سازی، مانع تجاری‌سازی گسترده شده‌اند. مطالعات آتی در این حوزه باید بر بهبود سویه‌های جلبکی از طریق ارتقای استراتژی‌های مهندسی ژنتیک و متابولیکی، بهینه‌سازی شرایط کشت و فرآیندهای تولید، افزایش بهره‌وری زیستی، توسعه روش‌های استخراج اقتصادی و زیست‌سازگار متمرکز باشند تا ظرفیت بالقوه ریزجلبک‌ها در کمک به تولید پایدار زیست‌پلاستیک‌ها به‌طور کامل محقق شود. همچنین، ارزیابی چرخه عمر (LCA)، تحلیل اقتصادی و آزمون‌پذیری در مقیاس پایلوت صنعتی برای امکان‌سنجی جایگزینی واقعی با پلاستیک‌های نفت‌پایه ضروری است.

۸- نتیجه‌گیری

استفاده از PHAهای تولید شده از ریزجلبک‌ها، می‌تواند به عنوان یک راهکار مهم برای کاهش هزینه‌های تولید پلیمرها و افزایش رقابت با پلیمرهای مبتنی بر نفت در نظر گرفته شود. ریزجلبک‌ها منابعی ارزشمند برای تولید PHA به شمار می‌آیند؛ این میکروارگانیسم‌ها با استفاده از فرآیند فتوسنتز و به کمک نور و دی‌اکسیدکربن به عنوان منابع اصلی انرژی، با حداقل نیازهای تغذیه‌ای، این پلیمرها را تولید می‌کنند. مصرف دی‌اکسیدکربن توسط این میکروارگانیسم‌ها، نقش زیست‌محیطی قابل توجهی ایفا می‌کند و می‌تواند به کاهش اثرات گلخانه‌ای ناشی از انتشار این گاز توسط صنایع کمک نماید. استفاده از فاضلاب بعنوان محیط کشت و نیز دی‌اکسیدکربن خروجی از دودکش نیروگاهها و کارخانجات تولید سیمان می‌تواند به پایداری هر چه بیشتر کمک کند. بنابراین، تولید پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر از ریزجلبک‌ها، علاوه بر کاهش وابستگی به منابع فسیلی، به کاهش انتشار دی‌اکسیدکربن نیز منجر می‌شود که از دیگر مزایای زیست‌محیطی آن محسوب می‌شود. با این حال، مسیرهای بیوشیمیایی مرتبط با تولید PHA در ریزجلبک‌ها هنوز به‌طور کامل درک نشده است و پژوهش‌های بیشتر برای شفاف‌سازی این فرآیندها و بهینه‌سازی آن‌ها مورد نیاز است. همچنین، شرایط کشت و روش‌های استخراج این پلیمرها تأثیر قابل توجهی بر ویژگی‌های نهایی PHA دارند که برای کاربردهای صنعتی و تجاری‌سازی آن ضروری است. پژوهش‌ها پیرامون تولید PHA از ریزجلبک‌ها همچنان در مراحل اولیه قرار دارد و هنوز به‌طور کامل به مرحله تجاری‌سازی نرسیده است. با این وجود، یافته‌ها حاکی از آن است که ریزجلبک‌ها پتانسیل تولید زیست‌پلیمرها را با هزینه کمتر و تأثیر مثبت بر محیط زیست دارند و می‌توانند نقشی حیاتی در حفظ محیط‌زیست داشته باشند.

۹- منابع

1. Sudhakar, M.P., Maurya, R., Mehariya, S., Karthikeyan, O.P., Dharani, G., Arunkumar, K., Pereda, S.V., Hernández-González, M.C., Buschmann, A.H. and Pugazhendhi, A. (2024). Feasibility of bioplastic production using micro- and macroalgae: A review. *Environmental Research*, 240, 117465. DOI: 10.1016/j.envres.2023.117465

2. Dang, B.T., Bui, X.T., Tran, D.P., Ngo, H.H., Nghiem, L.D., Hoang, T.K.D., Nguyen, P.T., Nguyen, H.H., Vo, T.K.Q., Lin, C. and Lin, K.Y.A. (2022). Current application of algae derivatives for bioplastic production: A review. *Bioresource Technology*, 347, 126698. DOI: [10.1016/j.biortech.2022.126698](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126698)
3. Costa, S.S., Miranda, A.L., de Morais, M.G., Costa, J.A.V. and Druzian, J.I. (2019). Microalgae as source of polyhydroxyalkanoates (PHAs)—A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131, 536-547. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2019.03.099](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.099)
4. Anjum, A., Zuber, M., Zia, K.M., Norren, A., Anjum, M.N. and Tabasum, S. (2016). Microbial production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) and its copolymers: A review of recent advancements. *International Journal of Biological Macromolecules*, 89, 161-174. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2016.04.069](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.069)
5. Getachew, A. and Woldesenbet, F. (2016). Production of biodegradable plastic by polyhydroxybutyrate (PHB) accumulating bacteria using low cost agricultural waste material. *BMC Research Notes*, 9, 509. DOI: [10.1186/s13104-016-2321-y](https://doi.org/10.1186/s13104-016-2321-y)
6. Singh, A.K., Sharma, L., Mallick, N. and Mala, J. (2017). Progress and challenges in producing polyhydroxyalkanoate biopolymers from cyanobacteria. *Journal of Applied Phycology*, 29, 1213-1232. DOI: [10.1007/s10811-016-1006-1](https://doi.org/10.1007/s10811-016-1006-1)
7. Choi, H.I., Sung, Y.J., Hong, M.E., Han, J., Min, B.K. and Sim, S.J. (2022). Reconsidering the potential of direct microalgal biomass utilization as end-products: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 155, 111930. DOI: [10.1016/j.rser.2021.111930](https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111930)
8. Troschl, C., Meixner, K. and Drogg, B. (2017). Cyanobacterial PHA production—Review of recent advances and a summary of three years' working experience running a pilot plant. *Bioengineering*, 4, 26-45. DOI: [10.3390/bioengineering4020026](https://doi.org/10.3390/bioengineering4020026)
9. Balaji, S., Gopi, K. and Muthuvelan, B. (2013). A review on production of poly β hydroxybutyrates from cyanobacteria for the production of bio plastics. *Algal Research*, 2(3), 278-285. DOI: [10.1016/j.algal.2013.03.002](https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.03.002)
10. Rueda, E., Álvarez-González, A., Vila, J., Díez-Montero, R., Grifoll, M. and García, J. (2022). Inorganic carbon stimulates the metabolic routes related to the polyhydroxybutyrate production in a *Synechocystis* sp. strain (cyanobacteria) isolated from wastewater. *Science of the Total Environment*, 829, 154691. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2022.154691](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154691)
11. Singh, J. and Gu, S. (2010). Commercialization potential of microalgae for biofuels production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(9), 2596-2610. DOI: [10.1016/j.ejpe.2012.07.001](https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2012.07.001)
12. Bahadar, A. and Bilal Khan, M. (2013). Progress in energy from microalgae: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27, 128-148. DOI: [10.1016/j.rser.2013.06.029](https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.06.029)
13. Lopez Barreiro, D., Prins, W., Ronsse, F. and Brilman, W. (2013). Hydrothermal liquefaction (HTL) of microalgae for biofuel production: State of the art review and future prospects. *Biomass and Bioenergy*, 53, 113-127. DOI: [10.1016/j.biombioe.2012.12.029](https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.12.029)

14. Amin, S. (2009). Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. *Energy Conversion and Management*, 50(7), 1834-1840. DOI: [10.1016/j.enconman.2009.03.001](https://doi.org/10.1016/j.enconman.2009.03.001)
15. Onen Cinar, S., Chong, Z.K., Kucuker, M.A., Wiczorek, N., Cengiz, U. and Kuchta, K. (2020). Bioplastic Production from Microalgae: A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17, 3842. DOI: [10.3390/ijerph17113842](https://doi.org/10.3390/ijerph17113842)
16. Simonazzi, M., Pezzolesi, L., Galletti, P., Gualandi, C., Pistocchi, R., De Marco, N., Paganelli, Z. and Samori, C. (2021). Production of polyhydroxybutyrate by the cyanobacterium cf. *Anabaena* sp. *International Journal of Biological Macromolecules*, 191, 92-99. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2021.09.054](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.054)
17. Costa, S.S., Miranda, A.L., Andrade, B.B., de Jesus Assis, D., Souza, C.O., de Morais, M.G., Costa, J.A.V. and Druzian, J.I. (2018). Influence of nitrogen on growth, biomass composition, production, and properties of polyhydroxyalkanoates (PHAs) by microalgae. *International Journal of Biological Macromolecules*, 116, 552-562. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2018.05.064](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.064)
18. Rajpoot, A.S., Choudhary, T., Chelladurai, H., Verma, T.N. and Shende, V. (2022). A comprehensive review on bioplastic production from microalgae. *Materials Today: Proceedings*, 56, 171-178. DOI: [10.1016/j.matpr.2022.01.060](https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.01.060)
19. Emadian, S.M., Onay, T.T. and Demirel, B. (2017). Biodegradation of bioplastics in natural environments. *Waste Management*, 59, 526-536. DOI: [10.1016/j.wasman.2016.10.006](https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.10.006)
20. Mastropetros, S.G., Pispas, K., Zagklis, D., Ali, S.S. and Kornaros, M. (2022). Biopolymers production from microalgae and cyanobacteria cultivated in wastewater: Recent advances. *Biotechnology Advances*, 60, 107999. DOI: [10.1016/j.biotechadv.2022.107999](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.107999)
21. Coppola, G., Gaudio, M.T., Lopresto, C.G., Calabro, V., Curcio, S. and Chakraborty, S. (2021). Bioplastic from renewable biomass: A facile solution for a greener environment. *Earth Systems and Environment*, 5, Article 2021. DOI: [10.1007/s41748-021-00208-7](https://doi.org/10.1007/s41748-021-00208-7)
22. López-Pacheco, I.Y., Rodas-Zuluaga, L.I., Cuellar-Bermudez, S.P., Hidalgo-Vázquez, E., Molina-Vazquez, A., Araújo, R.G., Martínez-Ruiz, M., Varjani, S., Barceló, D. and Iqbal, H.M.N. (2022). Revalorization of Microalgae Biomass for Synergistic Interaction and Sustainable Applications: Bioplastic Generation. *Marine Drugs* 20, 601. DOI: [10.3390/md20100601](https://doi.org/10.3390/md20100601)
23. Osman, A.M., Abdurahman, N.H. and Noormazlinah, A., (2023). A Review Study on the Potential of Microalgae Biomass Producing Biopolymer Material. *Current Science and Technology (CST)*, 2(2), 48-54. DOI: [10.15282/cst.v2i2.9413](https://doi.org/10.15282/cst.v2i2.9413)
24. Tan, G.-Y. A., Chen, C.-L., Li, L., Ge, L., Wang, L., Razaad, I. M.N., Li, Y., Zhao, L., Mo, Y. and Wang, J.-Y. (2014). Start a Research on Biopolymer Polyhydroxyalkanoate (PHA): A Review. *Polymers*, 6(3), 706-754. DOI: [10.3390/polym6030706](https://doi.org/10.3390/polym6030706)
25. Chong, J.W.R., Yew, G.Y., Khoo, K.S., Ho, S.H. and Show, P.L. (2021). Recent advances on food waste pretreatment technology via microalgae for source of polyhydroxyalkanoates. *Journal of Environmental Management*, 293, 112782. DOI: [10.1016/j.jenvman.2021.112782](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112782)
26. Koch, M. and Forchhammer, K., (2021). Polyhydroxybutyrate: A Useful Product of Chlorotic Cyanobacteria. *Microbial Physiology* 31(2), 67-77. DOI: [10.1159/000515617](https://doi.org/10.1159/000515617)

27. Kartik, A., Akhil, D., Lakshmi, D., Gopinath, K.P., Arun, J., Sivaramakrishnan, R. and Pugazhendhi, A. (2021). A critical review on production of biopolymers from algae biomass and their applications. *Bioresource Technology* 329, 124868. DOI: [10.1016/j.biortech.2021.124868](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124868)
28. Sudesh, K., Taguchi, K. and Doi, Y. (2002). Effect of increased PHA synthase activity on polyhydroxyalkanoates biosynthesis in *Synechocystis* sp. PCC6803. *International Journal of Biological Macromolecules*, 30(2), 97-104. DOI: [10.1016/s0141-8130\(02\)00010-7](https://doi.org/10.1016/s0141-8130(02)00010-7)
29. Grage, K., Jahns, A.C., Parlane, N., Palanisamy, R., Rasiah, I.A., Atwood, J.A. and Rehm, B.H.A. (2009). Bacterial polyhydroxyalkanoate granules: biogenesis, structure, and potential use as nano-/micro-beads in biotechnological and biomedical applications. *Biomacromolecules*, 10, 660-669. DOI: [10.1021/bm801394s](https://doi.org/10.1021/bm801394s)
30. Meixner, K., Kovalick, A., Sykaceka, E., Gruber-Brunhumer, M., Zeilinger, W., Markl, K., Haas, C., Fritza, I., Mundigler, N., Stelzera, F., Neureiter, M., Fuchsa, W. and Droscha, B. (2018). Cyanobacteria biorefinery – production of poly(3-hydroxybutyrate) with *Synechocystis salina* and utilisation of residual biomass. *Journal of Biotechnology*, 265, 46-53. DOI: [10.1016/j.jbiotec.2017.10.020](https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.10.020)
31. Madadi, R., Maljaee, H., Serafim, L.S. and Ventura, S.P.M., (2021). Microalgae as Contributors to Produce Biopolymers. *Marine Drugs* 19, 466. DOI: [10.3390/md19080466](https://doi.org/10.3390/md19080466)
32. Raza, Z. A., Abid, S. and Banat, I. M. (2018). Polyhydroxyalkanoates: Characteristics, production, recent developments and applications. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 126, 45-56. DOI: [10.1016/j.ibiod.2017.10.001](https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.10.001)
33. Bugnicourt, E., Cinelli, P., Lazzeri, A. and Alvarez, V. (2014). Polyhydroxyalkanoate (PHA): Review of synthesis, characteristics, processing and potential applications in packaging. *eXPRESS Polymer Letters*, 8(11), 791-808. DOI: [10.3144/expresspolymlett.2014.82](https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2014.82)
34. Ranganadhareddy, A. (2022). Microalgae as a Source of Biopolymer - A Comprehensive Review. *Journal of Biochemical Technology* 13(2), 40-45. DOI: [10.51847/dTb7rBmjNO](https://doi.org/10.51847/dTb7rBmjNO)
35. Butt, F. I., Muhammad, N., Hamid, A., Moniruzzaman, M. and Sharif, F. (2018). Recent progress in the utilization of biosynthesized polyhydroxyalkanoates for biomedical applications - Review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 1294-1305. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2018.09.002](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.002)
36. Carpine, R. (2020). Cyanobacteria for PHB production. Master's thesis, University of Naples, Italy.
37. Kapritchkoff, F.M., Viotti, A.P., Alli, R.C.P., Zuccolo, M., Pradella, J.G.C., Maiorano, E.A., Miranda, E.A. and Bonomi, A. (2006). Enzymatic recovery and purification of polyhydroxybutyrate produced by *Ralstonia eutropha*. *Journal of Biotechnology*, 122, 453-462. DOI: [10.1016/j.jbiotec.2005.09.009](https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.09.009)
38. Madkour, M.H., Heinrich, D., Alghamdi, M.A., Shabbaj, I.I., & Steinbuchel, A. (2013). PHA recovery from biomass. *Biomacromolecules*, 14, 2963-2972. DOI: [10.1021/bm4010244](https://doi.org/10.1021/bm4010244) | [Biomacromolecules](https://doi.org/10.1021/bm4010244)

39. Costa, S.S., Miranda, A.L., Assis, D.J., Souza, C.O., Morais, M.G., Costa, J.A.V. and Druzian, J.I. (2018). Efficacy of *Spirulina* sp. polyhydroxyalkanoates extraction methods and influence on polymer properties and composition. *Algal Research*, 33, 231-238. DOI: [10.1016/j.algal.2018.05.016](https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.05.016)
40. Fiorese, M.L., Freitas, F., Pais, J., Ramos, A.M., Aragão, G.M.F. and Reis, M.A.M. (2009). Recovery of polyhydroxybutyrate (PHB) from *Cupriavidus necator* biomass by solvent extraction with 1,2-propylene carbonate. *Engineering in Life Sciences*, 9, 454-461. DOI: [10.1002/elsc.200900034](https://doi.org/10.1002/elsc.200900034)
41. Riedel, S.L., Brigham, C.J., Budde, C.F., Bader, J., Rha, C., Stahl, U. and Sinskey, A.J. (2012). Recovery of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) from *Ralstonia eutropha* cultures with non-halogenated solvents. *Biotechnology and Bioengineering*, 110, 461-470. DOI: [10.1002/bit.24713](https://doi.org/10.1002/bit.24713)
42. Madigan, M.T., Bender, K.S., Buckley, D.H., Sattley, W.M. and Stahl, D.A. (2020). *Brock Biology of Microorganisms*. 15th Edition, Pearson Education, 1096 pages.
43. Mendhulkar, V. and Shetye, L. (2017). Synthesis of biodegradable polymer polyhydroxyalkanoate (PHA) in cyanobacteria *Synechococcus elongates* under Mixotrophic nitrogen- and phosphate-mediated stress conditions. *Industrial Biotechnology*, 13, 85-88. DOI: [10.1089/ind.2016.0021](https://doi.org/10.1089/ind.2016.0021)
44. Chong, J.W.R., Khoo, K.S., Yew, G.Y., Leong, W.H., Lim, J.W., Lam, M.K., Ho, Y.C., Ng, H.S., Munawaroh, H.S.H. and Show, P.L (2021). Advances in production of bioplastics by microalgae using food waste hydrolysate and wastewater: A review. *Bioresource Technology*, 342, 125947. DOI: [10.1016/j.biortech.2021.125947](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125947)
45. Richmond, A. and Hu, Q. (Eds.). (2013). *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. John Wiley & Sons.
46. Markou, G. and Nerantzis, E. (2013). Microalgae for high-value compounds and biofuels production: A review with focus on cultivation under stress conditions. *Biotechnology Advances*, 31(8), 1532-1542. DOI: [10.1016/j.biotechadv.2013.07.011](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.07.011)
47. Markou, G., Vandame, D. and Muylaert, K. (2014). Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients. *Water Research*, 65, 186-202. DOI: [10.1016/j.watres.2014.07.025](https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.025)
48. Lamers, P.P., van de Laak, C.C.W., Kaasenbrood, P.S., Lorier, J., Janssen, M., De Vos, R.C.H. and Wijffels, R.H. (2010). Carotenoid and fatty acid metabolism in light-stressed *Dunaliella salina*. *Biotechnology and Bioengineering*, 106(4), 638-648. DOI: [10.1002/bit.22725](https://doi.org/10.1002/bit.22725)
49. Razzak, S.A., Hossain, M.M., Lucky, R.A., Bassi, A.S. and de Lasa, H. (2017). Integrated CO₂ capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing—A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27, 622-653. DOI: [10.1016/j.rser.2013.05.063](https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.05.063)
50. Chen, B., Wan, C., Mehmood, M.A., Chang, J., Bai, F. and Zhao, X. (2017). Manipulating environmental stresses and stress tolerance of microalgae for enhanced production of lipids and value-added products – A review. *Bioresource Technology*, 244, 1198-1206. DOI: [10.1016/j.biortech.2017.05.170](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.170)

51. Gonçalves, A.L., Pires, J.C.M. and Simões, M. (2017). A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. *Algal Research*, 24, 403-415. DOI: [10.1016/j.algal.2016.11.008](https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.008)
52. Tamandani, Y.K., Norastehnia, A. and Moradi, F. (2020). Production of polyhydroxybutyrate by cyanobacteria *Spirulina* sp. under concentrations of mineral salts stress. *Aquatic Physiology and Biotechnology*, 8(1), Spring 2020.
53. Shrivastav, A., Mishra, S.K. and Mishra, S. (2010). Polyhydroxyalkanoate (PHA) synthesis by *Spirulina subsalsa* from Gujarat coast of India. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(2), 255-260. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2010.01.001](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.01.001)
54. Barone, G.D., Ferizovic, D., Biundo, A. and Lindblad, P. (2020). Hints at the applicability of microalgae and cyanobacteria for the biodegradation of plastics. *Sustainability*, 12, 10449. DOI: [10.3390/su122410449](https://doi.org/10.3390/su122410449)
55. Sharma, L. and Mallick, N. (2005). Accumulation of poly- β -hydroxybutyrate in *Nostoc muscorum*: Regulation by pH, light-dark cycles, N and P status and carbon sources. *Bioresource Technology*, 96(11), 1304-1310. DOI: [10.1016/j.biortech.2004.10.009](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.10.009)
56. Coelho, V.C., da Silva, C.K., Terra, A.L., Costa, J.A.V. and de Morais, M.G. (2015). Polyhydroxybutyrate production by *Spirulina* sp. LEB 18 grown under different nutrient concentrations. *African Journal of Microbiology Research*, 9(24), 1586-1594. DOI: [10.5897/AJMR2015.7530](https://doi.org/10.5897/AJMR2015.7530)
57. Palash, A., Salehi, Z., Tavakoli, O. and Amoozgar, M.A. (2018). Investigation of polyhydroxyalkanoate bioplastic production in bacteria. Master's thesis, University of Tehran.
58. Gradissimo, D. G., Xavier, L. P. and Santos, A. V. (2020). Cyanobacterial polyhydroxyalkanoates: A sustainable alternative in circular economy. *Molecules*, 25(18), 4331. DOI: [10.3390/molecules25184331](https://doi.org/10.3390/molecules25184331)
59. Carr, N.G. (1966). The occurrence of poly-p-hydroxybutyrate in the blue-green alga, *Chlorogloea fritschii*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 120, 308-310. DOI: [10.1128/jb.172.5.2791-2792.1990](https://doi.org/10.1128/jb.172.5.2791-2792.1990)
60. Jensen, T.E. and Sicko, L.M. (1971). Fine structure of poly- β -hydroxybutyric acid granules in a blue-green alga, *Chlorogloea fritschii*. *Journal of Bacteriology*, 106, 683-686. DOI: [10.1128/jb.106.2.683-686.1971](https://doi.org/10.1128/jb.106.2.683-686.1971)
61. Asada, Y., Miyake, M., Miyake, J., Kurane, R. and Tokiwa, Y. (1999). Photosynthetic accumulation of polyhydroxybutyrate by cyanobacteria—the metabolism and potential for CO₂ recycling. *International Journal of Biological Macromolecules*, 25(1-3), 37-42. DOI: [10.1016/S0141-8130\(99\)00013-6](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(99)00013-6)
62. Gerde, J.A., Yao, L. and Lio, J. (2014). Microalgae flocculation: Impact of flocculant type, algae species and cell concentration. *Algal Research*, 3, 30-35. DOI: [10.1016/j.algal.2013.11.015](https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.11.015)
63. Wu, G.F., Wu, Q.Y. and Shen, Z.Y. (2001). Accumulation of poly- β -hydroxybutyrate in cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803. *Bioresource technology*, 76(2), 85-90. DOI: [10.1016/S0960-8524\(00\)00099-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00099-7)

64. Bhati, R. and Mallick, N. (2015). Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) copolymer production by the diazotrophic cyanobacterium *Nostoc muscorum* Agardh: Process optimization and polymer characterization. *Algal Research*, 7, 78-85. DOI: [10.1016/j.algal.2014.12.003](https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.12.003)
<https://irost.org>.
65. Carpine, R., Olivieri, G., Hellingwerf, K.J., Pollio, A. and Marzocchella, A. (2020). Industrial production of poly- β -hydroxybutyrate from CO₂: Can cyanobacteria meet this challenge? *Processes*, 8, 323. DOI: [10.3390/pr8030323](https://doi.org/10.3390/pr8030323)
66. Panda, B., Jain, P., Sharma, L. and Mallick, N. (2006). Optimization of cultural and nutritional conditions for accumulation of poly- β -hydroxybutyrate in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Bioresource Technology*, 97(11), 1296-1301. DOI: [10.1016/j.biortech.2005.05.013](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.05.013)
67. Chavan, S., Yadav, B., Tyagi, R.D. and Drogui, P. (2021). Polyhydroxyalkanoate (PHA) biopolyesters production by thermophilic microbes using waste feedstocks: A review. *Bioresource Technology*, 341, 125900. DOI: [10.1016/j.biortech.2021.125900](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125900)
68. Bhati, R. and Mallick, N. (2015). Carbon dioxide and poultry waste utilization for production of polyhydroxyalkanoate biopolymers by *Nostoc muscorum* Agardh: A sustainable approach. *Journal of Applied Phycology*, 28(1), 161-168. DOI: [10.1007/s10811-015-0573-x](https://doi.org/10.1007/s10811-015-0573-x)
69. Mallick, N., Gupta, S., Panda, B. and Sen, R. (2007). Process optimization for poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) co-polymer production by *Nostoc muscorum*. *Biochemical Engineering Journal*, 37(2), 125-130. DOI: [10.1016/j.bej.2007.04.002](https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.04.002)
70. Nishioka, M., Nakai, K., Miyake, M., Asada, Y. and Taya, M. (2001). Production of poly- β -hydroxybutyrate by thermophilic cyanobacterium, *Synechococcus* sp. MA19, under phosphate-limited conditions. *Biotechnology Letters*, 23, 1095-1099. DOI: [10.1023/A:1010551614648](https://doi.org/10.1023/A:1010551614648)
71. Dutt, V. and Srivastava, S. (2018). Novel quantitative insights into carbon sources for synthesis of polyhydroxybutyrate in *Synechocystis* PCC 6803. *Photosynthesis Research*, 136, 303-314. DOI: [10.1007/s11120-017-0464-x](https://doi.org/10.1007/s11120-017-0464-x)
72. Krasaesueb, N., Incharoensakdi, A. and Khetkorn, W. (2019). Utilization of shrimp wastewater for poly- β -hydroxybutyrate production by *Synechocystis* sp. PCC 6803 strain Δ SphU cultivated in photobioreactor. *Biotechnology Reports*, 23, e00345. DOI: [10.1016/j.btre.2019.e00345](https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00345)
73. Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. and Isambert, A. (2006). Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(2), 87-96. DOI: [10.1263/jbb.101.87](https://doi.org/10.1263/jbb.101.87)
74. Campbell, D., MacKinnon, R. and Bantle, J.A. (1982). Poly- β -hydroxybutyrate metabolism in blue-green algae. *Journal of Bacteriology*, 149(1), 384-389. DOI: [10.1128/jb.149.1.361-363.1982](https://doi.org/10.1128/jb.149.1.361-363.1982)
75. De Philippis, R., Sili, C. and Vincenzini, M. (1992). Glycogen and poly- β -hydroxybutyrate synthesis in *Spirulina maxima*. *Journal of General Microbiology*, 138, 1623-1628. DOI: [10.1099/00221287-138-8-1623](https://doi.org/10.1099/00221287-138-8-1623)
76. Sharma, N.K., Tiwari, S.P., Tripathi, K. and Rai, A.K. (2011). Sustainability and cyanobacteria (blue-green algae): Facts and challenges. *Journal of Applied Phycology*, 23, 1059-1081. DOI: [10.1007/s10811-010-9626-3](https://doi.org/10.1007/s10811-010-9626-3)

77. Samantaray, S. and Mallick, N. (2012). Production and characterization of poly- β -hydroxybutyrate (PHB) polymer from *Aulosira fertilissima*. *Journal of Applied Phycology*, 24, 803-814. DOI: [10.1007/s10811-011-9699-7](https://doi.org/10.1007/s10811-011-9699-7)
78. Flores, E. and Herrero, A. (2010). Compartmentalized function through cell differentiation in filamentous cyanobacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 8, 39-50. DOI: [10.1038/nrmicro2242](https://doi.org/10.1038/nrmicro2242)
79. Lama, L., Nicolaus, B., Calandrelli, V., Manca, M.C., Romano, I. and Gambacorta, A. (1996). Effect of growth conditions on endo- and exopolymer biosynthesis in *Anabaena cylindrica* 10 C. *Phytochemistry*, 42, 655-659. DOI: [10.1016/0031-9422\(95\)00985-X](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00985-X)
80. Banerjee, A., Sharma, R., Chisti, Y. and Banerjee, U.C. (2008). *Botryococcus braunii*: A renewable source of hydrocarbons and other chemicals. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28(4), 245-279. DOI: [10.1080/07388550290789513](https://doi.org/10.1080/07388550290789513)
81. Kavitha, G., Kurinjimalar, C., Sivakumar, K., Kaarthik, M., Aravind, R., Palani, P. and Rengasamy, R. (2016). Optimization of polyhydroxybutyrate production utilizing wastewater as nutrient source by *Botryococcus braunii* Kütz using response surface methodology. *International Journal of Biological Macromolecules*, 93, 534-542. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2016.09.019](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.09.019)
82. Kavitha, G., Kurinjimalar, C., Sivakumar, K., Palani, P. and Rengasamy, R. (2016). Biosynthesis, purification and characterization of polyhydroxybutyrate from *Botryococcus braunii* kütz. *International Journal of Biological Macromolecules*, 89, 700-706. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2016.04.086](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.086)
83. Grivalský, T., Lakatos, G.E., Štěrbová, K., Manoel, J.A.C., Beloša, R., Divoká, P., Kopp, J., Kriechbaum, R., Spadiut, O., Zwirzitz, A. and Trenzinger, K. (2024). Poly- β -hydroxybutyrate production by *Synechocystis* MT_a24 in a raceway pond using urban wastewater. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108, 44. DOI: [10.1007/s00253-023-12924-3](https://doi.org/10.1007/s00253-023-12924-3)
84. Senatore, V., Rueda, E., Bellver, M., Díez-Montero, R., Ferrer, I., Zarra, T., Naddeo, V. and García, J. (2023). Production of phycobiliproteins, bioplastics and lipids by the cyanobacteria *Synechocystis* sp. treating secondary effluent in a biorefinery approach. *Science of the Total Environment*, 857, 159343. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2022.159343](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159343)
85. Cassuriaga, A.P.A., Moraes, L., Morais, M.G. and Costa, J.A.V. (2023). Use of exogenous substrate in *Chlorella* cultivation: Strategy for biomass and polyhydroxybutyrate production. *International Journal of Biological Macromolecules*, 231, 123193. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2023.123193](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123193)
86. Rueda, E., Altamira-Algarra, B. and García, J. (2022). Process optimization of the polyhydroxybutyrate production in the cyanobacteria *Synechocystis* sp. and *Synechococcus* sp. *Bioresource Technology*, 356, 127330. DOI: [10.1016/j.biortech.2022.127330](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127330)
87. Kumari, P., Kiran, B.R. and Mohan, S.V. (2022). Polyhydroxybutyrate production by *Chlorella sorokiniana* SVMIICT8 under Nutrient-deprived mixotrophy. *Bioresource Technology*, 354, 127135. DOI: [10.1016/j.biortech.2022.127135](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127135)
88. Rueda, E., Gonzalez-Flo, E., Roca, L., Carretero, J. and García, J. (2022). Accumulation of polyhydroxybutyrate in *Synechocystis* sp. isolated from wastewaters: Effect of salinity, light, and

- P content in the biomass. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10, 107952. DOI: [10.1016/j.jece.2022.107952](https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107952)
89. Gracioso, L.H. and Bellan, A. (2021). Light excess stimulates Poly-beta-hydroxybutyrate yield in a mangrove-isolated strain of *Synechocystis* sp. *Bioresource Technology*, 320, 124379. DOI: [10.1016/j.biortech.2020.124379](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124379)
90. Rueda, E. and García, J. (2021). Optimization of the phototrophic Cyanobacteria polyhydroxybutyrate (PHB) production by kinetic model simulation. *Science of the Total Environment*, 800, 149561. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2021.149561](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149561)
91. Koch, M., Bruckmoser, J., Scholl, J., Hauf, W., Rieger, B. and Forchhammer, K. (2020). Maximizing PHB content in *Synechocystis* sp. PCC 6803: A new metabolic engineering strategy based on the regulator PirC. *Microbial Cell Factories*, 19, 231. DOI: [10.1186/s12934-020-01491-1](https://doi.org/10.1186/s12934-020-01491-1)
92. Rueda, E., García-Galán, M.J., Díez-Montero, R., Vila, J., Grifoll, M. and García, J. (2020). Polyhydroxybutyrate and glycogen production in photobioreactors inoculated with wastewater borne cyanobacteria monocultures. *Bioresource Technology*, 295, 122233. DOI: [10.1016/j.biortech.2019.122233](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122233)
93. Nematollahi, M.A., Laird, D.W., Hughes, L.J., Raeesadati, M. and Moheimani, N.R., (2020). Effect of organic carbon source and nutrient depletion on the simultaneous production of a high value bioplastic and a specialty pigment by *Arthrospira platensis*. *Algal Research*, 47, 101844. DOI: [10.1016/j.algal.2020.101844](https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101844)
94. Abdo, S.M. and Ali, G.H. (2019). Analysis of polyhydroxybutyrate and bioplastic production from microalgae. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 97. DOI: [10.1186/s42269-019-0135-5](https://doi.org/10.1186/s42269-019-0135-5)
95. Nobakht Porshokouh, T., Norastehnia, A. and Moradi, F. (2019). Comparison of polyhydroxybutyrate content produced by *Spirulina* sp. under autotrophic, heterotrophic, and mixotrophic culture conditions. *Journal of Aquatic Ecology*, 9(1), 111-112. DOI: [10.5897/AJMR2015.7530](https://doi.org/10.5897/AJMR2015.7530)
96. Cassuriaga, A.P.A., Freitas, B.C.B., Morais, M.G. and Costa, J.A.V. (2018). Innovative polyhydroxybutyrate production by *Chlorella fusca* grown with pentoses. *Bioresource Technology*, 265, 456-463. DOI: [10.1016/j.biortech.2018.06.026](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.026)
97. Troschl, C., Meixner, K., Fritz, I., Leitner, K., Palacios Romero, A., Kovalcik, A., Sedlacek, P. and Drosch, B. (2018). Pilot-scale production of poly- β -hydroxybutyrate with the cyanobacterium *Synechocystis* sp. CCALA192 in a non-sterile tubular photobioreactor. *Algal Research*, 34, 116-125. DOI: [10.1016/j.algal.2018.07.011](https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.07.011)
98. Kamravamanesh, D., Pflügl, S., Nischkauer, W., Limbeck, A., Lackner, M. and Herwig, C. (2017). Photosynthetic poly- β -hydroxybutyrate accumulation in unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6714. *AMB Express*, 7(1), 1-12. DOI: [10.1186/s13568-017-0443-9](https://doi.org/10.1186/s13568-017-0443-9)
99. Kovalcik, A., Kovalcik, A., Meixner, K., Mihalic, M., Zeilinger, W., Fritz, I., Fuchs, W., Kucharczyk, P., Stelzer, F. and Drosch, B. (2017). Characterization of polyhydroxyalkanoates

- produced by *Synechocystis salina* from digestate supernatant. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 497-504. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2017.04.054](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.054)
100. Ansari, S., and Fatma, T. (2016). Cyanobacterial Polyhydroxybutyrate (PHB): Screening, Optimization and Characterization. *PLoS ONE*, 11(6), e0158168. DOI: [10.1371/journal.pone.0158168](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158168)
101. Kaewbai-ngam, A., Incharoensakdi, A., and Monshupanee, T. (2016). Increased accumulation of polyhydroxybutyrate in divergent cyanobacteria under nutrient-deprived photoautotrophy: An efficient conversion of solar energy and carbon dioxide to polyhydroxybutyrate by *Calothrix scytonemicola* TISTR 8095. *Bioresource Technology*, 212, 342-347. DOI: [10.1016/j.biortech.2016.04.035](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.035)
102. Meixner, K., Fritz, I., Daffert, C., Markl, K., Fuchs, W. and Drogg, B. (2016). Processing recommendations for using low-solids digestate as nutrient solution for poly- β -hydroxybutyrate production with *Synechocystis salina*. *Journal of Biotechnology*, 240, 61-67. DOI: [10.1016/j.jbiotec.2016.10.023](https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.10.023)
103. Hondo, S., Takahashi, M., Osanai, T., Matsuda, M., Hasunuma, T., Tazuke, A., Nakahira, Y., Chohnan, S., Hasegawa, M. and Asayama, M. (2015). Genetic engineering and metabolite profiling for overproduction of polyhydroxybutyrate in cyanobacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 120(5), 510-517. DOI: [10.1016/j.jbiosc.2015.03.004](https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.03.004)
104. Monshupanee, T., and Incharoensakdi, A. (2014). Enhanced accumulation of glycogen, lipids and polyhydroxybutyrate under optimal nutrients and light intensities in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Journal of Applied Microbiology*, 116(4), 830-838. DOI: [10.1111/jam.12409](https://doi.org/10.1111/jam.12409)
105. Toh, P.S., Jau, M.H., Yew, S.P., Abed, R.M. and Sudesh, K. (2008). Comparison of Polyhydroxyalkanoates Biosynthesis, mobilization and the effects on cellular morphology in *Spirulina platensis* and *Synechocystis* sp. *Uniwg. Journal of Bioscience*, 19(2), 21-38.
106. Sharma, L., Singh, A.K., Panda, B. and Mallick, N. (2007). Process optimization for poly- β -hydroxybutyrate production in a nitrogen fixing cyanobacterium, *Nostoc muscorum* using response surface methodology. *Bioresource Technology*, 98(5), 987-993. DOI: [10.1016/j.biortech.2006.04.016](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.04.016)
107. Jau, M.H., Yew, S.P., Toh, P.S., Chong, A.S., Chu, W.L., Phang, S.M., Najimudin, N. and Sudesh, K. (2005). Biosynthesis and mobilization of poly (3-hydroxybutyrate) [P (3HB)] by *Spirulina platensis*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 36(3), 144-151. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2005.05.002](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2005.05.002)
108. Arora, Y., Sharma, S. and Sharma, V. (2023). Microalgae in Bioplastic Production: A Comprehensive Review. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 48(6), 7225-7241. DOI: [10.1007/s13369-023-07871-0](https://doi.org/10.1007/s13369-023-07871-0)
109. Brasil, B.S.A.F. and Garcia, L.C. (2016). Microalgas: alternativas promissoras para a indústria. *Agroenergia em Revista*, 10, 1-60.

110. Shams, M., Haji-Aghababa, A., Kardani-Esfahani, S.M. and Amini, N.G. (2017). Industrial Production of Microalgae *Arthrospira (Spirulina) platensis* in Central Iran. *International Journal of Pure and Applied Bioscience*, 5(4), 31-36. DOI: [10.18782/2320-7051.5389](https://doi.org/10.18782/2320-7051.5389)
111. Lababpour, A. (2021). Site selection for large-scale industrial cultivation of algae: A case study on the coasts of the Persian Gulf and the Oman Sea. *Journal of Applied Research in Geographic Sciences*, 17(47), 326-337. DOR: [20.1001.1.22287736.1396.17.47.3.5](https://doi.org/20.1001.1.22287736.1396.17.47.3.5)
112. Price, S., Kuzhiumparambil, U., Pernice, M. and Ralph, P. (2022). Techno-economic analysis of cyanobacterial PHB bioplastic production. *J. Environ. Chem. Eng.* 10 (3).
113. Panuschka, S., Drosch, B., Ellersdorfer, M., Meixner, K. and Fritz, I. (2019). Photoautotrophic production of poly-hydroxybutyrate – First detailed cost estimations. *Algal Res.* 41, 101558.
114. Samantaray, S. and Mallick, N. (2014). Production of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) co-polymer by the diazotrophic cyanobacterium *Aulosira fertilissima* CCC 444. *Journal of Applied Phycology*, 26, 237-245. DOI: [10.1007/s10811-013-0073-9](https://doi.org/10.1007/s10811-013-0073-9)
115. Carpine, R., Olivieri, G., Hellingwerf, K.J., Pollio, A., Pinto, G. and Marzocchella, A. (2020). Photoautotrophic Production of Poly- β -hydroxybutyrate (PHB) From Cyanobacteria: Nitrate Effects and Screening of Strains. *Environmental Engineering and Management Journal*, 18(6), 1337-1346.
116. Olabi, A.G., Shehata, N., Sayed, E.T., Rodriguez, C., Anyanwu, R.C., Russell, C. and Abdelkareem, M.A. (2023). Role of microalgae in achieving sustainable development goals and circular economy. *Science of the Total Environment*, 854, 158689. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2022.158689](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158689)
117. Kourmentza, C., Plácido, J., Venetsaneas, N., Burniol-Figols, A., Varrone, C., Gavala, H.N. and Reis, M.A.M. (2017). Recent advances and challenges towards sustainable polyhydroxyalkanoate (PHA) production. *Bioengineering*, 4(2), 55. DOI: [10.3390/bioengineering4020055](https://doi.org/10.3390/bioengineering4020055)