



دانشگاه علم و صنعت ایران

دانشکده مهندسی شیمی

بهینه‌سازی شرایط و محیط کشت تولید زانتان توسط زانتوموناس کمپستریس

هلیا صالحین

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته

مهندسی شیمی - بیوتکنولوژی

اسفند ۱۳۸۳

به نام خدا

دانشکده مهندسی شیمی

**بهینه‌سازی شرایط و محیط کشت تولید زانتان
توسط زانتوموناس کمپستریس**

هلیا صالحین

پایان‌نامه کارشناسی ارشد

در رشته

مهندسی شیمی - بیوتکنولوژی

استاد راهنما:

جناب آقای دکتر شاه‌حسینی

اسفند ۸۳

تقدیم به پدر و مادر خوبم،

که به من آموختند که چگونه بنگرم، چگونه برگزینم و زندگی نمایم.

تقدیم به همسر مهربانم،

که در تمامی این لحظات، یار و یاور، پشتیبان و حامی من بوده است.

تقدیم به برادران عزیزم،

که وجود آنها باعث دلگرمی وجودم و نگاه آنها مشوق راهم بوده است.

چکیده

در این پروژه، ابتدا روشهای آنالیز میکروارگانیزم، زانتان بررسی شده است. حضور زانتان، ویسکوزیته کشت را به شدت افزایش می‌دهد و این امر مانع از ته‌نشینی باکتری می‌شود. در ترسیب زانتوموناس کمپستریس، بهترین زمان برای سانتریفوژ در دور ۴۰۰۰ rpm تعیین شده است. همچنین اسکن محلولهایی از زانتان و زانتوموناس کمپستریس در طول موجهای مختلف نشان می‌دهد که این باکتری و محصولش، هیچ‌گونه جذب خاصی در برابر طول موجهای ۲۰۰ nm تا ۹۰۰ nm ندارند. در مرحله بعد، روش‌های اندازه‌گیری گلوکز و نیترات آمونیوم مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایشات نشان می‌دهند که حضور صمغ زانتان، هیچ‌گونه خطایی در کیت گلوکز ایجاد نمی‌کند. سپس بهینه‌سازی شرایط و محیط کشت رشد زانتوموناس کمپستریس و تولید زانتان انجام شد. برای انجام این آزمایشات از روش آماری تاگوچی استفاده شد. قبل از شروع این دسته از آزمایشات، میزان pH مناسب مایه تلقیح در تولید بیشترین سلول بررسی گردید. بهترین pH برای مایه تلقیح در محدوده خنثی است.

برای بهینه‌سازی محیط کشت، ۴ پارامتر اصلی محیط کشت غذایی زانتوموناس کمپستریس (گلوکز، نیترات آمونیوم، اسید سیتریک و فسفات دی‌هیدروژن پتاسیم) انتخاب شدند. روش آماری تاگوچی، نشان می‌دهد که برای رشد سلول، مقادیر بهینه گلوکز ۳۰ g/l، نیترات آمونیوم ۵ g/l، اسید سیتریک ۲ g/l و فسفات دی‌هیدروژن پتاسیم ۱۰ g/l و برای تولید زانتان به ترتیب ۴۰ g/l، ۱ g/l، ۲ g/l و ۱۰ g/l می‌باشند.

آزمایشات بهینه‌سازی شرایط کشت به روش فاکتوریل نشان داده است که بهترین دما و pH برای تولید زانتان، دمای ۲۷ °C و pH = ۷ و برای رشد باکتری، دمای ۲۷ °C و pH = ۵ می‌باشد.

سپس محیط و شرایط بهینه در آزمایشات بیوراکتور در دو حالت ناپیوسته و پیوسته استفاده شده و منحنی رشد میکروارگانیزم، تولید زانتان و مصرف گلوکز و نیتروژن مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایشات بیوراکتور نشان می‌دهند که محصول میکروبی زانتان، یک محصول هم وابسته به رشد و هم غیر وابسته به آن است و تولید عمده آن در فاز سکون می‌باشد. رشد باکتری وابسته به میزان نیترات آمونیوم موجود در محیط و تولید زانتان وابسته به میزان گلوکز موجود در محیط می‌باشد.

از مقایسه آزمایشات کشت پیوسته و ناپیوسته می‌توان نتیجه گرفت که قابلیت تولید هم زانتان و هم زانتوموناس کمپستریس در کشت پیوسته به مراتب بیشتر از کشت ناپیوسته است.

منت خدای را عزوجل که طاعتش موجب قربت است

و

به شکر اندرش مزید نعمت

سپاس پروردگارم را برای هر آنچه که به من ارزانی داشته
است.

از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر شاه‌حسینی به پاس
راهنمائیهای علمی و عملی در تحقیقات و انجام آزمایشهای پایان‌نامه
سپاسگزارم.

از پرسنل محترم مرکز تحقیقات ژنتیک، به ویژه آقای دکتر
علی‌آبادی و آقای دکتر اکرمی کمال امتنان را دارم.

از پرسنل محترم شرکت نفت بهران و به طور خاص سرکار
خانم علاء و پرسنل بزرگوار آزمایشگاه تحقیقاتی به ویژه آقای فراهانی
به خاطر همیاری و همکاری در پیشبرد کار سپاسگزارم.

متشکرم از جناب آقای دکتر مقصودی و آقای دکتر
شجاع‌الساداتی که داوری پایان‌نامه را پذیرفتند.

فهرست مطالب

فصل اول - بازنگری منابع و مراجع

- ۱-۱- مقدمه ۲
- ۲-۱- صمغ زانتان ۳
- ۳-۱- کاربردهای صمغ زانتان ۶
- ۴-۱- زانتوموناس کمپستریس ۷
- ۱-۴-۱- محیط کشت رشد ۱۰
- ۲-۴-۱- دمای رشد ۱۱
- ۵-۱- تولید زانتان ۱۲
- ۱-۵-۱- محیط کشت تولید زانتان ۱۴
- ۱-۱-۵-۱- منبع کربنی محیط کشت زانتان ۱۵
- ۲-۱-۵-۱- منبع نیتروژنی محیط کشت زانتان ۱۶
- ۳-۱-۵-۱- نسبت منبع کربنی به منبع نیتروژنی در محیط کشت زانتان ۱۷
- ۴-۱-۵-۱- بررسی پاک‌کننده‌ها در محیط کشت زانتان ۱۷
- ۲-۵-۱- شرایط عملیاتی ۱۹
- ۱-۲-۵-۱- تهیه مایه تلقیح ۱۹
- ۲-۲-۵-۱- دما ۱۹
- ۳-۲-۵-۱- pH ۲۱
- ۴-۲-۵-۱- نرخ انتقال اکسیژن ۲۳
- ۵-۲-۵-۱- بازدهی تولید زانتان ۲۴
- ۶-۱- روشهای آنالیز ۲۵
- ۱-۶-۱- آنالیز صمغ زانتان ۲۵
- ۲-۶-۱- تعیین دانسیته سلولی ۳۱
- ۳-۶-۱- آنالیز غلظت گلوکز ۳۲

فصل دوم - مواد و روشها

- ۱-۲- تهیه باکتری ۳۴
- ۲-۲- نگهداری باکتری در محیط کشت جامد ۳۴
- ۱-۲-۲- تهیه محیط کشت رشد جامد ۳۴
- ۲-۲-۲- روش کشت باکتری لیوفیلیزه ۳۵
- ۳-۲-۲- روش کشت باکتری از محیط جامد ۳۷
- ۳-۲- رنگ آمیزی باکتری ۳۷
- ۱-۳-۲- تهیه محلولها ۳۸
- ۲-۳-۲- رنگ آمیزی باکتریهای زانتوموناس کمپسترینس ۳۹
- ۴-۲- بررسی روشهای آنالیز ۳۹
- ۱-۴-۲- تهیه کشت میکروبی ۳۹
- ۲-۴-۲- بررسی روش سانتریفوژ برای ترسیب باکتری ۴۰
- ۳-۴-۲- تعیین طول موج مناسب ۴۲
- ۱-۳-۴-۲- تعیین طول موج مناسب برای اندازه گیری دانسیته نوری باکتری ۴۲
- ۲-۳-۴-۲- تعیین طول موج مناسب برای اندازه گیری دانسیته نوری زانتان ۴۲
- ۴-۴-۲- تعیین مقدار جرم / تعداد سلول باکتریایی ۴۳
- ۱-۴-۴-۲- روش نیم مک فارلن ۴۴
- ۲-۴-۴-۲- روش مستقیم شمارش سلولی با میکروسکوپ ۴۵
- ۳-۴-۴-۲- اندازه گیری وزن خشک سلولی ۴۵
- ۴-۴-۴-۲- اندازه گیری دانسیته نوری حجم باکتریایی ۴۶
- ۵-۴-۲- منحنی کالیبراسیون زانتان بر حسب دانسیته نوری ۴۷
- ۶-۴-۲- بررسی کیت گلوکز ۴۷
- ۱-۶-۴-۲- اساس روش اندازه گیری گلوکز ۴۷
- ۲-۶-۴-۲- ویژگیها و کارایی کیتها ۴۷
- ۳-۶-۴-۲- معرفهای کیت اندازه گیری گلوکز ۴۸
- ۴-۶-۴-۲- آماده نمودن معرفها ۴۹

- ۴۹..... ۲-۴-۶-۵- آماده نمودن نمونه کشت
- ۴۹..... ۲-۴-۶-۶- روش آزمایش اندازه گیری گلوکز
- ۵۰..... ۲-۴-۶-۷- روش محاسبه میزان گلوکز
- ۵۰..... ۲-۴-۶-۸- بررسی عوامل مداخله گر بر کیت گلوکز
- ۵۱..... ۲-۴-۷- بررسی کیت نیتروژن
- ۵۲..... ۲-۴-۷-۱- تعیین طول موج مناسب برای اندازه گیری جذب نیتروژن
- ۵۲..... ۲-۴-۷-۲- منحنی کالیبراسیون نیترات آمونیوم
- ۵۲..... ۲-۴-۷-۳- آماده نمودن نمونه کشت
- ۵۲..... ۲-۴-۷-۴- اندازه گیری نیترات آمونیوم
- ۵۳..... ۲-۴-۷-۵- روش محاسبه میزان نیترات
- ۵۳..... ۲-۴-۷-۶- بررسی عوامل مداخله گر بر کیت نیترات آمونیوم
- ۵۳..... ۲-۵- مایه تلقیح
- ۵۳..... ۲-۵-۱- محیط کشت
- ۵۴..... ۲-۵-۲- آماده سازی مایه تلقیح
- ۵۵..... ۲-۵-۳- بررسی اثر pH مایه تلقیح بر کشت
- ۵۶..... ۲-۶- بهینه سازی محیط کشت
- ۵۶..... ۲-۶-۱- انتخاب محیط کشت
- ۵۷..... ۲-۶-۲- تهیه محیط کشت
- ۵۸..... ۲-۶-۳- روش مطالعه
- ۵۹..... ۲-۶-۴- طراحی آزمایشات
- ۶۱..... ۲-۶-۵- انجام آزمایشات
- ۶۱..... ۲-۶-۶- روش های آنالیز کشت ها
- ۶۱..... ۲-۶-۶-۱- تعیین محیط کشت بهینه بر اساس دانسیته نوری
- ۶۱..... ۲-۶-۶-۲- تعیین وزن خشک سلولی به روش فیلتراسیون
- ۶۲..... ۲-۶-۶-۳- تعیین وزن خشک سلولی به روش سانتریفوژ
- ۶۲..... ۲-۶-۶-۴- بررسی میزان زانتان به روش سانتریفوژ
- ۶۲..... ۲-۶-۶-۵- بررسی میزان گلوکز باقیمانده

- ۶۳ ۲-۶-۶-۶- بررسی میزان نیترات آمونیوم باقیمانده
- ۶۳ ۲-۷-۷- بهینه‌سازی شرایط محیط کشت
- ۶۳ ۲-۷-۱- انتخاب شرایط بهینه‌سازی
- ۶۴ ۲-۷-۲- تهیه محیط کشت
- ۶۴ ۲-۷-۳- روش مطالعه
- ۶۴ ۲-۷-۴- انجام آزمایشات
- ۶۵ ۲-۷-۵- روش‌های آنالیز
- ۶۵ ۲-۸-۸- آزمایشات بیوراکتور
- ۶۵ ۲-۸-۱- تشریح بیوراکتور
- ۶۵ ۲-۸-۲- تهیه محیط کشت و مواد مورد نیاز
- ۶۵ ۲-۸-۱-۲- تهیه مایه تلقیح
- ۶۵ ۲-۸-۲-۲- تهیه محیط کشت
- ۶۶ ۲-۸-۳-۲- تهیه ضدکف
- ۶۶ ۲-۸-۴-۲- تهیه اسید کلریدریک
- ۶۶ ۲-۸-۵-۲- تهیه باز هیدروکسید سدیم
- ۶۶ ۲-۸-۳- کالیبراسیون سنسورهای بیوراکتور
- ۶۶ ۲-۸-۳-۱- کالیبراسیون سنسور دما
- ۶۷ ۲-۸-۳-۲- کالیبراسیون سنسور pH
- ۶۸ ۲-۸-۳-۳- کالیبراسیون سنسور اکسیژن محلول
- ۶۹ ۲-۸-۴- استریلیزاسیون بیوراکتور
- ۷۰ ۲-۸-۵- آماده نمودن بیوراکتور
- ۷۰ ۲-۸-۶- شرح انجام آزمایش
- ۷۱ ۲-۸-۷- سیستم پیوسته
- ۷۳ ۲-۸-۸- روش‌های آنالیز
- ۷۳ ۲-۸-۱-۸- اندازه‌گیری دانسیته نوری
- ۷۳ ۲-۸-۲- تعیین وزن خشک سلولی به روش سانتیفریژ
- ۷۳ ۲-۸-۳- محاسبه حداکثر نرخ رشد ویژه

- ۷۴..... ۲-۸-۹- تعیین میزان زانتان به روش سانتریفوژ
- ۷۴..... ۲-۸-۱۰- تعیین میزان گلوکز
- ۷۴..... ۲-۸-۱۱- تعیین میزان نیتروژن
- ۷۴..... ۲-۸-۱۲- ضرایب بازدهی

فصل سوم - نتایج و بحث

- ۷۶..... ۳-۱- کشت باکتری از محیط جامد
- ۷۶..... ۳-۲- رنگ آمیزی باکتری
- ۷۷..... ۳-۳- بررسی روشهای آنالیز
- ۷۷..... ۳-۳-۱- بررسی روش سانتریفوژ برای ترسیب باکتری و زانتان
- ۷۷..... ۳-۳-۱-۱- میزان باکتری ته نشین شده
- ۷۸..... ۳-۳-۱-۲- میزان باکتری ته نشین نشده
- ۷۹..... ۳-۳-۱-۳- میزان زانتان ته نشین شده
- ۸۰..... ۳-۳-۱-۴- میزان زانتان ته نشین نشده
- ۸۱..... ۳-۳-۱-۵- نتیجه گیری
- ۸۳..... ۳-۳-۲- تعیین طول موج مناسب
- ۸۳..... ۳-۳-۲-۱- تعیین طول موج مناسب برای اندازه گیری دانسیته نوری باکتری
- ۸۴..... ۳-۳-۲-۲- تعیین طول موج مناسب برای اندازه گیری دانسیته نوری زانتان
- ۸۴..... ۳-۳-۲-۳- نتیجه گیری
- ۸۴..... ۳-۳-۳- تعیین مقدار جرم / تعداد سلول باکتریایی
- ۸۴..... ۳-۳-۳-۱- روش نیممک فارلن
- ۸۵..... ۳-۳-۳-۲- روش مستقیم شمارش سلولی با میکروسکوپ
- ۸۶..... ۳-۳-۴- بررسی نتایج آزمایشات نیممک فارلن و شمارش سلولی
- ۸۶..... ۳-۳-۵- تعیین وزن خشک سلولی
- ۸۶..... ۳-۳-۵-۱- تعیین وزن خشک سلولی به کمک سانتریفوژ
- ۸۷..... ۳-۳-۵-۲- تعیین وزن خشک سلولی به کمک فیلتراسیون

- ۳-۵-۳-۳- تعیین دانسیته نوری حجم باکتریایی ۸۸
- ۳-۳-۳-۶- منحنی کالیبراسیون زانتان بر حسب دانسیته نوری ۹۱
- ۳-۳-۳-۷- بررسی عوامل مداخله‌گر بر کیت گلوکز ۹۱
- ۳-۳-۳-۸- بررسی کیت نیتروژن ۹۵
- ۳-۳-۳-۱- تعیین طول موج مناسب برای اندازه‌گیری جذب نیتروژن ۹۵
- ۳-۳-۳-۲- منحنی کالیبراسیون نترات آمونیوم ۹۶
- ۳-۳-۴- بررسی اثر PH مایه تلقیح بر کشت ۹۶
- ۳-۳-۵- بهینه‌سازی محیط کشت ۹۸
- ۳-۳-۵-۱- بهینه‌سازی محیط کشت برای رشد زانتوموناس کمپستریس ۹۹
- ۳-۳-۵-۱-۱- تعیین محیط کشت بهینه بر اساس دانسیته نوری ۹۹
- ۳-۳-۵-۱-۲- تعیین محیط کشت بهینه بر اساس فیلتراسیون ۱۰۳
- ۳-۳-۵-۱-۳- تعیین محیط کشت بهینه بر اساس سانتریفوژ ۱۰۷
- ۳-۳-۵-۱-۴- نتیجه‌گیری ۱۱۱
- ۳-۳-۵-۲- بهینه‌سازی محیط کشت برای تولید زانتان ۱۱۳
- ۳-۳-۵-۱-۲- تعیین محیط کشت بهینه بر اساس دانسیته نوری ۱۱۳
- ۳-۳-۵-۲-۲- تعیین محیط کشت بهینه بر اساس سانتریفوژ ۱۱۸
- ۳-۳-۵-۲-۳- نتیجه‌گیری ۱۲۲
- ۳-۳-۵-۲-۴- بررسی میزان گلوکز باقیمانده ۱۲۴
- ۳-۳-۵-۲-۵- بررسی میزان نترات آمونیوم باقیمانده ۱۲۶
- ۳-۳-۶- بهینه‌سازی شرایط کشت ۱۲۶
- ۳-۳-۷- آزمایشات بیوراکتور به صورت ناپیوسته ۱۲۸
- ۳-۳-۷-۱- منحنی رشد باکتری ۱۳۰
- ۳-۳-۷-۱-۱- محاسبه حداکثر نرخ رشد ویژه ۱۳۰
- ۳-۳-۷-۲- منحنی تولید زانتان ۱۳۰
- ۳-۳-۷-۳- مقایسه منحنی رشد باکتری و منحنی تولید زانتان ۱۳۱
- ۳-۳-۷-۴- بررسی منحنی مصرف گلوکز ۱۳۲
- ۳-۳-۷-۵- بررسی منحنی مصرف نترات آمونیوم ۱۳۲

۱۳۳ منحنی‌های کالیبراسیون	۳-۷-۶
۱۳۴ منحنی کالیبراسیون باکتری	۳-۷-۶-۱
۱۳۵ منحنی کالیبراسیون زانتان	۳-۷-۶-۲
۱۳۵ ضرایب بازدهی	۳-۷-۷
۱۳۶ قابلیت تولید فرآیند تخمیر	۳-۷-۸
۱۳۷ آزمایشات بیوراکتور به صورت پیوسته	۳-۸
۱۳۸ منحنی رشد باکتری	۳-۸-۱
۱۳۸ منحنی تولید زانتان	۳-۸-۲
۱۳۹ بررسی منحنی مصرف گلوکز	۳-۸-۳
۱۳۹ بررسی منحنی مصرف نیترات آمونیوم	۳-۸-۴
۱۳۹ ضرایب بازدهی	۳-۸-۵
۱۴۰ قابلیت تولید فرآیند تخمیر	۳-۸-۶

فصل چهارم - نتیجه‌گیری و پیشنهادات ۱۴۱

پیوست‌ها

۱۴۸ پیوست ۱: تقسیم‌بندی پلی‌ساکاریدهای میکروبی
۱۵۰ پیوست ۲: روش تاگوچی در طراحی آزمایشها
۱۵۶ پیوست ۳: اندازه‌گیری گلوکز
۱۵۸ پیوست ۴: اندازه‌گیری نیترات آمونیوم
۱۵۹ پیوست ۵: مدل‌سازی فرآیند تولید زانتان
۱۶۲ پیوست ۶: خواص صمغ زانتان
۱۷۴ پیوست ۷: تشریح بیوراکتور

منابع و مراجع ۱۸۴

فهرست جدولها

- جدول ۱-۱- متوسط درصد ترکیبات پلی ساکاریدهای تولیدی توسط باکتریهای گونه زانتوموناس .. ۴
- جدول ۱-۲- کاربردهای اصلی صمغ زانتان در صنعت ۶
- جدول ۱-۳- مراحل کلیدی فرآیند تولید زانتان..... ۱۳
- جدول ۱-۴- اثرات منابع مختلف کربنی بر تولید زانتان..... ۱۵
- جدول ۱-۵- حداکثر نرخ رشد ویژه و تولید زانتان (با منبع کربنی ساکاروز)..... ۱۷
- جدول ۱-۶- شرایط عملیاتی مورد استفاده در تولید صمغ زانتان در بیوراکتورهای مختلف ۲۰
- جدول ۱-۷- غلظت نهایی زانتان و بازدهی حاصله در بیوراکتورها و شرایط عملیاتی مختلف ۲۵
- جدول ۲-۱- شماره‌های نگهداری باکتری زانتوموناس کمپستریس در بانک‌های میکروبی مختلف ۳۴
- جدول ۲-۲- محیط کشت جامد بکار برده شده در آزمایشات ۳۵
- جدول ۲-۳- مشخصات محیط کشت رشد باکتری ۴۰
- جدول ۲-۴- مواد لازم برای کیت گلوکز ۴۸
- جدول ۲-۵- معرفهای درون کیت گلوکز ۴۸
- جدول ۲-۶- روش آزمایش کیت گلوکز زیست شیمی ۴۹
- جدول ۲-۷- روش آزمایش کیت گلوکز پارس آزمون ۵۰
- جدول ۲-۸- محلولهای ساخته شده برای امتحان کیت گلوکز ۵۱
- جدول ۲-۹- محیط کشت مایه تلقیح به کار برده شده در آزمایشات ۵۴
- جدول ۲-۱۰- محیط کشت انتخابی برای بررسی اثر PH مایه تلقیح بر کشت ۵۶
- جدول ۲-۱۱- میزان مواد کم‌مقدار در بهینه‌سازی محیط کشت ۵۸
- جدول ۲-۱۲- پارامترهای بهینه‌سازی کشت و سطوح آنها ۵۸
- جدول ۲-۱۳- طراحی آزمایشات روش تاگوچی ۶۰
- جدول ۲-۱۴- آزمایشات بهینه‌سازی شرایط کشت ۶۴
- جدول ۳-۱- میزان باکتری ته‌نشین شده در مدت زمانهای مختلف سانتریفوژ ۷۷
- جدول ۳-۲- میزان باکتری ته‌نشین شده در مدت زمانهای مختلف سانتریفوژ ۷۹
- جدول ۳-۳- میزان باکتری ته‌نشین شده در مدت زمانهای مختلف سانتریفوژ ۸۰
- جدول ۳-۴- میزان باکتری ته‌نشین نشده در مدت زمانهای مختلف سانتریفوژ ۸۰

- جدول ۳-۵- میزان دانسیته نوری کشت در رقت‌های مختلف..... ۸۵
- جدول ۳-۶- نتایج آزمایش سانتی‌فیوژ کشت و اندازه‌گیری وزن خشک باکتری..... ۸۷
- جدول ۳-۷- نتایج حاصل از آزمایشات فیلتراسیون و تعیین وزن خشک سلولی ۸۷
- جدول ۳-۸- نتایج مربوط به اندازه‌گیری دانسیته نوری ۸۸
- جدول ۳-۹- تعیین دانسیته نوری یک حجم باکتری ۸۹
- جدول ۳-۱۰- میزان باکتری به دست آمده در روش فیلتراسیون ۹۰
- جدول ۳-۱۱- دانسیته نوری محلولهای زانتان با غلظت‌های مختلف ۹۱
- جدول ۳-۱۲- بررسی اثرات زانتان، الکل و محیط کشت بر دقت گلوکز ۹۲
- جدول ۳-۱۳- دانسیته نوری زانتان و باکتری مایه تلقیح در PHهای مختلف ۹۶
- جدول ۳-۱۴- نتایج حاصل اثر PHهای مختلف مایه تلقیح بر کشت ۹۷
- جدول ۳-۱۵- میزان متوسط دانسیته نوری باکتری و نسبت (S/N) آن ۹۹
- جدول ۳-۱۶- اثرات اصلی متغیرهای موثر در نیازهای تغذیه‌ای باکتری برای تشکیل سلول در روش استاندارد ۹۹
- جدول ۳-۱۷- آنالیز متغیرهای موثر بر نیازهای تغذیه‌ای برای تشکیل سلول در روش استاندارد ۱۰۰
- جدول ۳-۱۸- شرایط بهینه متغیرها در مطالعه نیازهای تغذیه‌ای باکتری به روش استاندارد ۱۰۱
- جدول ۳-۱۹- اثرات اصلی متغیرهای موثر در نیازهای تغذیه‌ای باکتری برای تشکیل سلول در روش (S/N) ۱۰۱
- جدول ۳-۲۰- آنالیز متغیرهای موثر بر نیازهای تغذیه‌ای برای تشکیل سلول در روش استاندارد ۱۰۲
- جدول ۳-۲۱- شرایط بهینه متغیرها در مطالعه نیازهای تغذیه‌ای باکتری به روش (S/N) ۱۰۲
- جدول ۳-۲۲- نتایج آزمایش فیلتراسیون در بهینه‌سازی کشت ۱۰۳
- جدول ۳-۲۳- اثرات اصلی متغیرهای موثر در نیازهای تغذیه‌ای باکتری برای تشکیل سلول در روش استاندارد ۱۰۳
- جدول ۳-۲۴- آنالیز متغیرهای موثر بر نیازهای تغذیه‌ای برای تشکیل سلول در روش استاندارد ۱۰۴
- جدول ۳-۲۵- شرایط بهینه متغیرها در مطالعه نیازهای تغذیه‌ای باکتری به روش استاندارد ۱۰۴
- جدول ۳-۲۶- اثرات اصلی متغیرهای موثر در نیازهای تغذیه‌ای باکتری برای تشکیل سلول در روش (S/N) ۱۰۵
- جدول ۳-۲۷- آنالیز متغیرهای موثر بر نیازهای تغذیه‌ای برای تشکیل سلول در روش (S/N) ... ۱۰۶

- جدول ۳-۲۸- شرایط بهینه متغیرها در مطالعه نیازهای تغذیه‌ای باکتری به روش (S/N)..... ۱۰۶
- جدول ۳-۲۹- نتایج آزمایش سانتریفوژ در بهینه‌سازی کشت ۱۰۷
- جدول ۳-۳۰- اثرات اصلی متغیرهای موثر در نیازهای تغذیه‌ای باکتری برای تشکیل سلول در روش استاندارد ۱۰۷
- جدول ۳-۳۱- آنالیز متغیرهای موثر بر نیازهای تغذیه‌ای برای تشکیل سلول در روش استاندارد ۱۰۸
- جدول ۳-۳۲- شرایط بهینه متغیرها در مطالعه نیازهای تغذیه‌ای باکتری به روش استاندارد ۱۰۸
- جدول ۳-۳۳- اثرات اصلی متغیرهای موثر در نیازهای تغذیه‌ای باکتری برای تشکیل سلول در روش (S/N) ۱۰۹
- جدول ۳-۳۴- آنالیز متغیرهای موثر بر نیازهای تغذیه‌ای برای تشکیل سلول در روش (S/N) ... ۱۱۰
- جدول ۳-۳۵- شرایط بهینه متغیرها در مطالعه نیازهای تغذیه‌ای باکتری به روش (S/N)..... ۱۱۰
- جدول ۳-۳۶- مقادیر بهینه متغیرهای بهینه‌سازی محیط کشت در تولید سلول به دو روش استاندارد و (S/N) ۱۱۱
- جدول ۳-۳۷- محیط کشت بهینه برای رشد باکتری زانتوموناس کمپستریس ۱۱۳
- جدول ۳-۳۸- نتایج آزمایش دانسیته نوری زانتان در بهینه‌سازی محیط کشت تولید زانتان ۱۱۴
- جدول ۳-۳۹- اثرات اصلی متغیرهای موثر در تولید محصول زانتان در روش استاندارد ۱۱۴
- جدول ۳-۴۰- آنالیز متغیرهای موثر در تولید محصول زانتان در روش استاندارد ۱۱۵
- جدول ۳-۴۱- شرایط بهینه متغیرها بر تولید محصول زانتان به روش استاندارد ۱۱۵
- جدول ۳-۴۲- اثرات اصلی متغیرهای موثر در تولید محصول زانتان در روش (S/N) ۱۱۶
- جدول ۳-۴۳- آنالیز متغیرهای موثر در تولید محصول زانتان در روش (S/N)..... ۱۱۷
- جدول ۳-۴۴- شرایط بهینه متغیرها در مطالعه تولید محصول زانتان به روش (S/N) ۱۱۷
- جدول ۳-۴۵- نتایج آزمایش سانتریفوژ در بهینه‌سازی کشت به منظور تولید زانتان ۱۱۸
- جدول ۳-۴۶- اثرات اصلی متغیرهای موثر در تولید محصول زانتان در روش استاندارد ۱۱۸
- جدول ۳-۴۷- آنالیز متغیرهای موثر بر تولید محصول زانتان در روش استاندارد ۱۱۹
- جدول ۳-۴۸- شرایط بهینه متغیرها در تولید محصول زانتان به روش استاندارد ۱۱۹
- جدول ۳-۴۹- اثرات اصلی متغیرهای موثر در نیازهای تغذیه‌ای باکتری برای تولید محصول در روش (S/N) ۱۲۰
- جدول ۳-۵۰- آنالیز متغیرهای موثر بر نیازهای تغذیه‌ای برای تشکیل زانتان در روش (S/N) ... ۱۲۱

- جدول ۳-۵۱- شرایط بهینه متغیرها در تولید زانتان به روش (S/N) ۱۲۱
- جدول ۳-۵۲- مقادیر بهینه متغیرهای بهینه‌سازی محیط کشت برای تولید زانتان به دو روش استاندارد و (S/N) ۱۲۲
- جدول ۳-۵۳- محیط کشت بهینه برای تولید محصول باکتری زانتان ۱۲۴
- جدول ۳-۵۴- میزان گلوکز باقی‌مانده در ارلن‌های بهینه‌سازی کشت ۱۲۵
- جدول ۳-۵۵- میزان گلوکز مصرفی جهت نگهداری و تولید انرژی در باکتری زانتوموناس کمپستریس ۱۲۵
- جدول ۳-۵۶- میزان نیتروژن باقیمانده در هر ارلن در آزمایش بهینه‌سازی محیط کشت ۱۲۶
- جدول ۳-۵۷- نتایج بهینه‌سازی شرایط کشت در دمای $27^{\circ}C$ ۱۲۷
- جدول ۳-۵۸- نتایج بهینه‌سازی شرایط کشت در دمای $30^{\circ}C$ ۱۲۷
- جدول ۳-۵۹- نتایج بهینه‌سازی شرایط کشت در دمای $33^{\circ}C$ ۱۲۸
- جدول ۳-۶۰- نتایج آنالیز میزان باکتری، زانتان، گلوکز و نیترات آمونیوم در زمانهای مختلف در کشت ناپیوسته ۱۲۹
- جدول ۳-۶۱- مقایسه منحنی‌های رشد باکتری و تولید زانتان ۱۳۱
- جدول ۳-۶۲- دانسیته نوری نمونه‌های کشت ناپیوسته ۱۳۳
- جدول ۳-۶۳- نتایج آنالیز میزان باکتری در زمانهای مختلف در کشت پیوسته ۱۳۷

فهرست شکلها

- شکل ۱-۱ - ساختار پلی ساکارید برون سلولی زانتوموناس کمپستریس ۳
- شکل ۱-۲ - تصاویر مولکولهای زانتان ۵
- شکل ۱-۳ - شبکه مولکولهای زانتان ۵
- شکل ۱-۴ - میکروگراف الکترونی زانتوموناس کمپستریس ۸
- شکل ۱-۵ - میکروگرافهای الکترونی زانتوموناس کمپستریس ۹
- شکل ۱-۶ - اثر دما بر روی پارامترهای رشد زانتوموناس کمپستریس ۱۱
- شکل ۱-۷ - شکل اجمالی فرآیند تولید زانتان ۱۲
- شکل ۱-۸ - اثر دما بر روی تولید زانتان ۲۱
- شکل ۱-۹ - اثر PH بر روی تولید زانتان ۲۲
- شکل ۱-۱۰ - اثر PH بر تولید زانتان ۲۳
- شکل ۱-۱۱ - اثر سرعت همزن بر تولید صمغ زانتان ۲۴
- شکل ۱-۱۲ - ترسیب زانتان با استفاده از حلالهای آلی بدون حضور نمک ۲۸
- شکل ۱-۱۳ - ترسیب زانتان با استفاده از مخلوط IPA و نمکهای تک و دو ظرفیتی ۲۹
- شکل ۱-۱۴ - تاثیر غلظت کلرید سدیم بر ترسیب زانتان با استفاده از IPA ۲۹
- شکل ۱-۱۵ - تاثیر غلظت پلی ساکارید بر حجم IPA مورد نیاز به منظور ترسیب صمغ زانتان ۳۰
- شکل ۲-۱ - نمونه ای از یک فلاسک فیلتراسیون که بر آن کیف بوختر گذاشته و به پمپ خلا وصل شده است. ۴۱
- شکل ۲-۲ - محیط نرم افزار WINROBUST و طرز تعیین آرایه متعامد مناسب ۵۹
- شکل ۲-۳ - جدول آزمایشات طراحی شده به وسیله نرم افزار WINROBUST ۶۰
- شکل ۲-۴ - پمپ پری استالتیک مورد استفاده ۷۱
- شکل ۲-۵ - تایمر بازگشتی مورد استفاده در سیستم پیوسته ۷۲
- شکل ۲-۶ - سیستم پیوسته بیوراکتور ۷۲
- شکل ۳-۱ - تصویر یکی از پلیت ها پس از ۷۲ ساعت در دمای 30°C ۷۶
- شکل ۳-۲ - نمودار میانگین باکتری ته نشین شده در مدت زمانهای مختلف سانتریفوژ ۷۷
- شکل ۳-۳ - میزان باکتری ته نشین نشده در دور 4000 RPM و در زمانهای متفاوت ۷۸

- شکل ۳-۴ - میزان زانتان تهنشین شده در دور RPM ۴۰۰۰ و زمانهای مختلف ۷۹
- شکل ۳-۵ - میانگین میزان زانتان تهنشین نشده در دور RPM ۴۰۰۰ و زمانهای مختلف ۸۱
- شکل ۳-۶ - دانسیته نوری زانتوموناس کمپستریس در طول موجهای مختلف ۸۳
- شکل ۳-۷ - دانسیته نوری زانتان در طول موجهای مختلف ۸۴
- شکل ۳-۸ - منحنی کالیبراسیون وزن خشک میکروبی بر حسب دانسیته نوری در ۶۲۵ NM ۹۰
- شکل ۳-۹ - منحنی کالیبراسیون محلولهای زانتان بر حسب دانسیته نوری ۹۱
- شکل ۳-۱۰ - تصاویر انواع کووت‌ها ۹۲
- شکل ۳-۱۱ - مقایسه میزان گلوکز موجود در محلول و اندازه‌گیری شده در آزمایشات ۱ تا ۶ ۹۳
- شکل ۳-۱۲ - مقایسه میزان گلوکز موجود در محلول و اندازه‌گیری شده در آزمایشات ۷ تا ۱۲ ۹۴
- شکل ۳-۱۳ - مقایسه میزان گلوکز موجود در محلول و اندازه‌گیری شده در آزمایشات ۱۳ تا ۱۸ ۹۴
- شکل ۳-۱۴ - مقایسه میزان گلوکز موجود در محلول و اندازه‌گیری شده در آزمایشات ۱۳ تا ۱۸ ۹۵
- شکل ۳-۱۵ - اسکن نمونه‌های کیت اراک‌شیمی و تعیین حداکثر جذب نیترات آمونیوم ۹۵
- شکل ۳-۱۶ - منحنی کالیبراسیون غلظت نیترات بر حسب جذب نوری ۹۶
- شکل ۳-۱۷ - مقایسه دانسیته نوری باکتری در مایه تلقیح‌های با PH متفاوت ۹۷
- شکل ۳-۱۸ - اثرات PH های مختلف مایه تلقیح بر کشت ۹۸
- شکل ۳-۱۹ - اثرات اصلی متغیرهای موثر در نیازهای تغذیه‌ای باکتری برای تشکیل سلول در روش استاندارد ۱۰۰
- شکل ۳-۲۰ - درصد سهم هرکدام از پارامترها در تشکیل باکتری به روش استاندارد ۱۰۰
- شکل ۳-۲۱ - اثرات اصلی متغیرهای موثر در نیازهای تغذیه‌ای باکتری برای تشکیل سلول در روش (S/N) ۱۰۱
- شکل ۳-۲۲ - درصد سهم هر متغیر در تشکیل سلول به روش (S/N) ۱۰۲
- شکل ۳-۲۳ - اثرات اصلی متغیرهای موثر در نیازهای تغذیه‌ای باکتری برای تشکیل سلول در روش استاندارد ۱۰۴
- شکل ۳-۲۴ - درصد سهم هرکدام از پارامترها در تشکیل باکتری به روش استاندارد ۱۰۵
- شکل ۳-۲۵ - اثرات اصلی متغیرهای موثر در نیازهای تغذیه‌ای باکتری برای تشکیل سلول در روش (S/N) ۱۰۵
- شکل ۳-۲۶ - درصد سهم هر متغیر در تشکیل سلول به روش (S/N) ۱۰۶

- شکل ۳-۲۷- اثرات اصلی متغیرهای موثر در نیازهای تغذیه‌ای باکتری برای تشکیل سلول در روش استاندارد ۱۰۸
- شکل ۳-۲۸- درصد سهم هر کدام از پارامترها در تشکیل باکتری به روش استاندارد ۱۰۹
- شکل ۳-۲۹- اثرات اصلی متغیرهای موثر در نیازهای تغذیه‌ای باکتری برای تشکیل سلول در روش (S/N) ۱۰۹
- شکل ۳-۳۰- درصد سهم هر متغیر در تشکیل سلول به روش (S/N) ۱۱۰
- شکل ۳-۳۱- مقایسه سهم هر متغیر در تولید سلول ۱۱۲
- شکل ۳-۳۲- متوسط میزان سهم هر متغیر در تشکیل باکتری زانتوموناس کمپستریس ۱۱۳
- شکل ۳-۳۳- اثرات اصلی متغیرهای موثر در تولید محصول زانتان در روش استاندارد ۱۱۴
- شکل ۳-۳۴- درصد سهم هر کدام از پارامترها در تولید محصول زانتان به روش استاندارد ۱۱۵
- شکل ۳-۳۵- اثرات اصلی متغیرهای موثر در تولید محصول زانتان در روش (S/N) ۱۱۶
- شکل ۳-۳۶- درصد سهم هر متغیر در تولید محصول زانتان به روش (S/N) ۱۱۷
- شکل ۳-۳۷- اثرات اصلی متغیرهای موثر در تولید محصول زانتان در روش استاندارد ۱۱۹
- شکل ۳-۳۸- درصد سهم هر کدام از پارامترها در تولید زانتان به روش استاندارد ۱۲۰
- شکل ۳-۳۹- اثرات اصلی متغیرهای موثر در نیازهای تغذیه‌ای باکتری برای تولید زانتان در روش (S/N) ۱۲۰
- شکل ۳-۴۰- درصد سهم هر متغیر در تشکیل زانتان به روش (S/N) ۱۲۱
- شکل ۳-۴۱- مقایسه سهم هر متغیر در تولید زانتان ۱۲۳
- شکل ۳-۴۲- متوسط میزان سهم هر متغیر در تشکیل زانتان ۱۲۴
- شکل ۳-۴۳- نمودارهای رشد باکتری، تولید زانتان و مصرف گلوکز و نیتروژن در کشت ناپیوسته ۱۲۸
- شکل ۳-۴۴- نمودار فاز لگاریتمی رشد سلول ۱۳۰
- شکل ۳-۴۵- منحنی دانسیته نوری باکتری، زانتان و کشت در ۶۲۵ NM بر حسب زمان در کشت ناپیوسته ۱۳۴
- شکل ۳-۴۶- منحنی کالیبراسیون باکتری بر حسب دانسیته نوری ۱۳۴
- شکل ۳-۴۷- منحنی کالیبراسیون زانتان بر حسب دانسیته نوری ۱۳۵
- شکل ۳-۴۸- منحنی رشد باکتری، تولید زانتان و مصرف گلوکز و نیتروژن بر حسب زمان در کشت پیوسته ۱۳۸