۱۳۷۲۰۰

دانشگاه شهید باهنر کرمان
دانشکده فنی و مهندسی
گروه مهندسی شیمی

پایان‌نامه تحصیلی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد مهندسی شیمی
گرایش: پیشرفته

تولید آنزیم پکتیناز به روش تخمیر کشت سطحی توسط قارچ آسپرژیلوس نایجر

استاد راهنما:
دکتر محمد حسن فضائلی پور

مؤلف:
حیدر عباسی

۱۳۸۹/۳/۱۷
تاریخ اطلاعات مدارک علمی دانشگاه
تشخیص مدارک

خرداد ماه ۱۳۸۸

۱۳۷۲۰۰

دانشگاه شهید باهنر کرمان

این پایان نامه به عنوان یکی از شرایط احراز درجه کارشناسی ارشد به

گروه : مهندسی شیمی

دانشکده : فنی و مهندسی

دانشگاه شهید باهنر کرمان

تسلیم شده است و هیچگونه مدرکی به عنوان فراغت از تحصیل دوره مزبور شناخته نمی شود.

دانشجو: آقای حیدر عباسی

استاد راهنما: دکتر محمد حسن فضائلی پور

داور۱ : دکتر فرشته بختیاری

داور۲: دکتر سید احمد عطایی

معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی یا نماینده تحصیلات تکمیلی دانشکده : دکتر قربانعلی محمدی

حق چاپ محفوظ و مخصوص به دانشگاه شهید باهنر کرمان است.

دانشگاه شهید باهنر
کرمان
اداره کل

این پایان نامه با حمایت مالی گروه تولید و جداسازی مواد پژوهشکده صنایع شیمیایی معدنی به انجام رسیده است.

تقدیم

در ابتدا وطیفه دارم تا از کسانی که مرا در طول راه دشوار زندگی حمایت کردند و در مصائب و مشکلات زندگی همیشه همراه من بودند، تشکر کنم و بر حسب وظیفه و به عنوان هدیه ای کوچک این پایان نامه را به پدر و مادر مهربانم که همیشه مرا در سایه مهر و محبت خویش پرورانده اند و دایی و عمه عزیزم که اگر الطاف بیکرانشان در طول عمر شامل حال اینجانب نمی شد، به این مرحله هرگز نمی رسیدم و همچنین برادران و خواهران عزیزم که همیشه سنگ صبوری برای غمها و شادیهایم بودند، تقدیم می کنم.

تشکر و قدردانی

« ان اشکر الناس لله اشکرهم للناس »

« شاکرترین مردم نسبت به خدا حق شناس ترین آنها نسبت به مردم است»رسول اکرم(ص)

سپاس و ستایش خداوندی را سزاست که عشق به آموختن را در انسان به ودیعه نهاد، عشقی که رسالت برانگیز است. رسالتی انبیاگونه، شکرگزار هستم که در این راه یاریم نمود و از او می خواهم که مرا در جهت بکارگیری آموخته هایم در راه ثواب مدد فرماید. اکنون که این پژوهش به زیور چاپ آراسته می گردد بر خود لازم می دانم تا مطابق سنت حسنه سپاسگزاری، والاترین مراتب سپاس خویش را به محضر استادان فرزانه ای که در طول تحصیل همواره افتخار شاگردی آنان را داشته و مرا مرهون الطاف و عنایت خالصانه خود قرار داده اند اعلام دارم. اما کدامین قلم در ادای حق استاد قادر خواهد بود و کدامین زبان است که در بیان اجر فرهیختگان علم پرور، اظهار عجز ننماید. از اینرو بر خود لازم می دانم از استاد فرزانه جناب آقای دکتر محمد حسن فضائلی پور که با راهنمایی های سودمند و تذکرات عالمانه اشان همواره فراراه پژوهش حاضر بودند صمیمانه تشکر و قدردانی نمایم.

چکیده

پکتینازها گروهی از آنزیم های هیدرولیتیک هستند که مواد پکتیکی را تجزیه می کنند. اگزوپلی گالاکتوروناز(exo-p) و اندوپلی گالاکتوروناز(endo-p) دو نوع از این گروه هستند. در این پژوهش ابتدا دو گونه قارچی به نامهای آسپرژیلوس نایجر و وتریکودرماریسی که قادر به تولید پکتیناز بوده جداسازی شدند. نتایج حاصل از مقایسه دو گونه نشان داد که گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر توانایی بالاتری برای تولید پلی گالاکتورونازها در مقایسه با گونه تریکودرماریسی دارد. بهینه سازی بعضی از عوامل موثر در تولید پلی گالاکتورونازها توسط آسپرژیلوس نایجر تحت شرایط کشت سطحی ناپیوسته نشان داد که در غلظت ۵۰g/L پکتین به عنوان تنها منبع کربن و انرژی بیشترین مقدار تولید بدست می آید. در این حالت نسبت بهینه سولفات آمونیوم به پکتین ۰/۳ و زمان بهینه تخمیر ۴روز بود.

امکان تولید مداوم پلی گالاکتورونازها به روش تخمیر کشت سطحی نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که تولید مداوم پلی گالاکتورونازها به روش تخمیر کشت سطحی امکانپذیر است. زمانی که غلظت پکتین در خوراک ۵۰g/L و زمان ماند ۱ روز بود بالاترین فعالیت اگزوپلی گالاکتوروناز ۱/۵U/mLدر جریان خروجی بدست آمد و تحت همین شرایط فعالیت اندوپلی گالاکتوروناز حدود ۰/۰۱۵U/mLبود. استفاده از جریان برگشتی با نسبت ۰/۸ باعث افزایش غلظت اگزو و اندوپلی گالاکتوروناز به ترتیب تا ۱/۸ و ۰/۰۱۶ گردید. فرایند تولید پلی گالاکتورونازها در رآکتور کشت سطحی مدلسازی شد. برای اینکار از یک معادله سینتیکی میکائیلیس- منتون استفاده شد. پارامترهای رابطه سینتیکی با استفاده از یک سری داده های تجربی بدست آمد. مدل ارائه شده، داده های تجربی دیگر را با دقت قابل قبولی پیش بینی می کند.

جایگزینی پکتین با تفاله چغندر قند نیز در روش کشت سطحی مورد بررسی قرار گرفت که تفاله

چغندر قند بدلیل نامحلول بودن و ته نشینی نتایج خیلی ضعیفی در مقایسه با پکتین داد، اما استفاده از تفاله چغندر قند در روش تخمیر حالت جامد باعث تولید پلی گالاکتورونازها در مقادیری قابل مقایسه با مقادیر تولید شده در تخمیر پکتین باروش کشت سطحی شد(۵/۵U/g برای اگزو و۰/۰۶ U/g برای اندوپلی گالاکتوروناز). سپس تولید پلی گالاکتورونازها از تفاله چغندر قند به عنوان سوبسترا بوسیله قارچ آسپرژیلوس نایجر (A.niger) در تخمیر حالت جامد (SSF) به صورت شبه مداوم با استفاده از چکاندن قطره ای محلول معدنی پایه بر روی تفاله انجام گرفت. در این سیستم فرایند به مدت ۲۵ روز ادامه داشت و تولید کلی پکتیناز در این سیستم بسیار بالاتر از سیستم ناپیوسته بود یعنی تولید تجمعی آنزیم دراین ۲۵ روز ۶۹/۲۴U/g برای اگزوپلی گالاکتورونار و ۰/۷۳۸U/g برای اندوپلی گالاکتورونار بدست آمد که نتایج بسیار مطلوبی بود.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

پیشگفتار ۱
فصل اول: کلیات ومبانی نظری ۶
۱-۱- پکتینازها ۷
۱-۱-۱- عمل پکتینازها ۷
۱-۱-۲- پلی گالاکتوروناز ۹
۱-۲- کاربرد پلی گالاکتوروناز ها ۹
۱-۳- انتخاب منابع آنزیم ۱۳
۱-۴- روش های تولید آنزیم ۱۴
۱-۴-۱- کشت سطحی(Surface culture) ۱۴
۱-۴-۲- کشت غوطه ور(Submerged culture) ۱۴
۱-۴-۳- کشت در محیط جامد(Solid state culture) ۱۶
۱-۴-۴- تولید آنزیم پکتیناز به روش کشت سطحی(Surface culture) ۱۸
فصل دوم: مروری بر پژوهش های گذشته ۱۹
فصل سوم: مواد و روش ها ۳۶
۳-۱- مواد ۳۷
۳- ۲- لوازم عمومی آزمایشگاهی ۳۷
۳-۳- دستگاههای مورد استفاده ۳۷
۳-۴- سوبسترا ۳۸
۳-۵- میکروارگانیسم ۳۸
۳-۶- نگهداری میکروارگانیسم ۴۰
۳-۷- روش تلقیح ۴۰
۳-۸- عملیات تخمیر ۴۰
۳-۹- آماده سازی محیط تخمیر برای اندازه گیری فعالیت آنزیم ۴۰
۳-۱۰- روش های اندازه گیری ۴۱
۳ -۱۰-۱- فعالیت اندو پلی گالاکتوروناز(Endo-p) ۴۱
۳-۱۰-۲- فعالیت اگزو پلی گالاکتوروناز(exo-p) ۴۱

فصل چهارم: ارائه یافته ها و نتایج ۴۳
۴-۱- مقایسه دو قارچ بدست آمده از نظر تولید پلی گالاکتوروناز ۴۴
۴-۲- بررسی اثر غلظت پکتین بر تولید پلی گالاکتوروناز در تخمیر ناپیوسته ۴۶
۴-۳- اثر منبع نیتروژنی سولفات آمونیوم ۴۸
۴-۴- مقایسه سولفات آمونیوم و نیترات سدیم به عنوان منبع نیتروژن ۵۰
۴-۵- اثر غلظت قند آزاد (گلوکز) بر تولید پلی گالاکتوروناز ۵۱
۴-۶- اثر گلوکز به عنوان تنها منبع کربنی ۵۳
۴-۷- اثر جایگزینی پکتین با تفاله چغندر قند در تولید پلی گالاکتوروناز ۵۴
۴-۸- اثر پیش آماده سازی تفاله چغندر قند بر تولید آنزیم پلی گالاکتوروناز ۵۶
۴-۹- استفاده از غلظت های مختلف تفاله چغندر قند
به عنوان سوبسترا در تخمیر کشت سطحی ۵۶
۴-۱۰- استفاده از تخمیر حالت جامد تفاله چغندرقند ۵۷
۴-۱۱- بررسی سینتیک تولید آنزیم ۵۸
۴-۱۱-۱- بررسی سینتیک تولید آنزیم از پکتین به روش کشت سطحی ۵۸
۴-۱۱-۲- بررسی سینتیک تولید آنزیم از پکتین به روش تخمیر حالت
جامد از تفاله چغندر قند ۶۰
۴-۱۲- تولید پلی گالاکتوروناز به صورت پیوسته ۶۱
۴-۱۲-۱-تولید پلی گالاکتوروناز به صورت پیوسته تحت غلظت های مختلف پکتین
در روش کشت سطحی ۶۱
۴-۱۲-۲-تولید پیوسته پلی گالاکتوروناز تحت غلظت های مختلف پکتین
با جریان برگشتی محیط کشت در روش کشت سطحی ۶۲
۴-۱۲-۳-تولید پیوسته پلی گالاکتوروناز تحت زمانهای ماند مختلف در روش
کشت سطحی ۶۳
۴-۱۲-۴- تولید پلی گالاکتوروناز به صورت پیوسته با استفاده از تفاله چغندر قند
به روش تخمیر حالت جامد ۶۵
۴-۱۳- تولید پلی گالاکتوروناز به صورت ناپیوسته به روش تخمیر حالت جامد و
أثر هم زدن بر آن ۶۷
فصل پنجم: مدلسازی ۶۸
۵-۱- مدلسازی تولید پلی گالاکتوروناز در روش تخمیر کشت سطحی ۶۹

۵-۲- مقایسه بین نتایج مدل و نتایج آزمایشگاهی در غلظت های مختلف
پکتین در شرایط ناپایدار ۷۵
۵-۳- مقایسه بین نتایج مدل و نتایج آزمایشگاهی در زمان های ماند
متفاوت در شرایط ناپایدار ۷۷
فصل ششم: نتیجه گیری و پیشنهادات ۷۹
۶-۱- نتیجه گیری ۸۰
۶-۲- پیشنهادات ۸۱

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱) مکانیسم عمل پکتیناز ۹
شکل ۱-۲) فرایند تولید آب میوه ۱۱
شکل ۱-۳) خلاصه ای از فرایند مرکبات ۱۲
شکل ۴-۱) مورفولوژی میکروسکوپی دو قارچ الف)آسپرژیلوس نایجر و ب)تریکودرماریسی ۴۸
شکل ۴-۲) تأثیر پکتین به عنوان منبع کربنی بر روی تولید پلی گالاکتوروناز
بوسیله آسپرژلوس نیجر ۵۰
شکل ۴-۳) تأثیر نسبت منبع نیتروژنی به منبع کربنی بر تولید آنزیم های پلی گالاکتوروناز
توسط *آسپرژیلوس نایجر*(غلظت منبع کربنی(پکتین) :۵۰g/L) ۵۲
شکل ۴-۴) أثر گلوکز به عنوان منبع کربنی اضافی بر روی تولید پلی گالاکتوروناز
بوسیله آسپرژیلوس نیجر ۵۵
شکل ۴-۵) تأثیر گلوکز بر روی رشد قارچ ۵۶
شکل۴-۶) نمونه محیط کشت تخمیر شده ۶۲
شکل۴-۷) تولید پلی گالاکتوروناز به صورت تابعی از زمان. غلظت پکتین:۵۰ g/L ۶۲
شکل ۴-۸) تولید بیومس به صورت تابعی از زمان. غلظت پکتین : ۵۰g/L ۶۳
شکل۴-۹) تولید پلی گالاکتوروناز به صورت تابعی از زمان در روش تخمیر حالت جامد. ۶۴
شکل۴-۱۰) تولید پیوسته پلی گالاکتوروناز در روش تخمیر کشت سطحی. زمان ماند : ۱روز ۶۵
شکل ۴-۱۱) تولید پیوسته پلی گالاکتوروناز در روش کشت سطحی. ٪۸۰ محلول
خروجی از بیورآکتور با خوراک تازه مخلوط می شد. ۶۶
شکل ۴-۱۲) تولید پیوسته پلی گالاکتوروناز تحت زمان های ماند مختلف در
روش کشت سطحی (روز۲۲-۱۷: زمان ماند=۲۴h، روز ۲۸-۲۳: زمان ماند=۱۲h،
روز ۳۴-۲۹: زمان ماند=۶h. غلظت پکتین ورودی: ۵۰g/L ۶۷
شکل ۴-۱۳) بیورآکتورهای استفاده شده در تولید پلی گالاکتوروناز به صورت پیوسته ۶۸
شکل۴-۱۴) تولید پیوسته پلی گالاکتوروناز در روش تخمیر حالت جامد. هم زدن
اول: روز۱۷، هم زدن دوم:روز۲۱. زمان ماند : ۱روز ۶۹
شکل ۵-۱) مقایسه میان نتایج آزمایشگاهی و مدل تحت شرایط
حالت پایدار. زمان ماند: ۲۴h ۷۴

شکل ۵-۲) مقایسه میان نتایج آزمایشگاهی و مدل تحت
شرایط حالت ناپایدار. روز ۱۲-۶:غلظت پکتین-g/L ۴۰، روز ۱۸-۱۲:غلظت
پکتین-g/L ۵۰، زمان ماند: ۱روز..... ۷۶
شکل ۵-۳) مقایسه میان نتایج آزمایشگاهی و مدل تحت شرایط
حالت ناپایدار (روز۱۸-۱۲: زمان ماند=۲۴h، روز۲۴-۱۹:
زمان ماند=۱۲h، روز۳۰-۲۵: زمان ماند=۶h. غلظت پکتین ورودی: ۵۰g/L..... ۷۸

فهرست جدول ها

عنوان صفحه

جدول ۲-۱) انواع قارچ های جدا شده از خاک و کاکائو بر اساس اندازه حلقه ۲۴
جدول ۲-۲) تأثیر یون های مختلف فلزی و EDTA بر فعالیت پلی گالاکتوروناز ۳۴
جدول۳-۱) عناصر اصلی و غلظت آنها بر حسب (g/L) ۳۹
جدول ۳-۲) عناصر فرعی و غلظت انها بر حسب(g/L) ۳۹
جدول ۴-۱) تولید پلی گالاکتوروناز از دو نوع قارچ به روش تخمیر کشت سطحی ۴۷
جدول ۴-۲)تأثیر منابع نیتروژنی مختلف بر روی تولید پلی گالاکتوروناز بوسیله آسپرژیلوس نیجر ۵۳
جدول ۴-۳) تأثیر دو منبع کربنی گلوکز و پکتین بر روی تولید پلی گالاکتوروناز بوسیله آسپرژیلوس نیجر ۵۷
جدول ۴-۴) تأثیر دو نوع سوبسترا بر تولید پلی گالاکتوروناز بوسیله آسپژیلوس نیجر ۵۸
جدول۴-۵) مقایسه پکتین و تفاله چغندر قند در تولید پلی گالاکتوروناز ۵۹
جدول ۴-۶) اثر تغییر غلظن سوبسترا بر تولید پلی گالاکتوروناز ۶۰
جدول۴-۷) تولید پلی گالاکتوروناز با استفاده از تفاله چغندرقند با روش تخمیر حالت جامد، غلظت سوبسترا:۵۰g/L ۶۱
جدول ۴-۸) تولید پلی گالاکتوروناز به صورت ناپیوسته در تخمیر حالت جامد ۷۰
جدول ۵-۱) پارامترهای مدل ۷۳

پیشگفتار

پیشگفتار

افزایش جمعیت جهان، گسترش صنایع بویژه صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی راضروری کرده است، به طوری که در سالهای اخیر رشد این صنایع و روشهای فرایند در آنها پیشرفت چشمگیری داشته است. جهت افزایش بهره وری در این زمینه باید از جدیدترین روش ها در تولید استفاده شود. آنزیم ها یکی از محصولات عمده در فرایندهای بیوتکنولوژی به حساب می آیند. آنها در چند دهه اخیر به عنوان مناسب ترین و جدیدترین ماده در تغییر و تبدیل ترکیبات در صنایع کاربرد پیدا کرده اند. نقش بیولوژیکی آنها در بهبود کیفیت محصولات تولیدی در صنایع بسیار مورد توجه قرار گرفته است. آنزیم ها کاربردهای بسیاری در صنایع مختلف. استفاده از آنزیم عمری به درازای عمر بشریت دارد در حالی که این کاربرد، بر مبنای اطلاعات علمی استوار نبوده است.

شناخت علمی آنزیم ها نسبتاً جدید است و آغاز آن را مقارن ابتدای قرن نوزدهم می دانند. لیکن توسعه واقعی این علم از ابتدای قرن بیستم آغاز شد. در آغاز آنزیم ها توسط پاین[۱] و پرسوز[۲] در سال ۱۸۳۳، شناخته شدند، بدین ترتیب که آنها دریافتند در جوانه غلات موادی موجود است که می تواند نشاسته را به قند تبدیل کند. این ترکیب که در حال حاضر آمیلاز نام دارد، پاین و پرسوز به نام دیاستاز معرفی کردند. آنزیم دیاستاز قادر به تولید دکسترین محلول، از نشاسته نامحلول است. استفاده عمومی از آنزیم ها از سال ۱۸۹۰ آغاز گردید و نمونه ای از آن تهیه عصاره قارچی است که در تهیه نشاسته و تولید قند استفاده می شد.

آنزیم هایی مانند پپسین، پلی فنول اکسیداز و وارنوتاز در نیمه اول قرن نوزدهم، و تعداد بسیاری از آنزیم های دیگر که پکتیناز نیز جزئی از آنها می باشد در نیمه دوم قرن نوزدهم شناخته شدند. برخی از محققین عمل آنزیم ها را مشابه عمل مخمرها در تخمیر می دانستند. لذا قبلاً از کلمه

---

۱ - *payen*
۲ - *persoz*

فرمانت[۳] به جای آنزیم استفاده می شد. در آن زمان لی بیگ[۴] عمل تخمیر را به واکنش شیمیایی، و پاستور آن را به فعالیت حیاتی موجودات زنده یعنی مخمرها منتسب می کردند، لذا حالت تناقضی پدید آمد و در آن زمان دو اصطلاح جدید برای بیان عمل آنزیم ها و عمل تخمیر توسط میکروارگانیسم ها تعریف شد. اصطلاح تخمیر ناخواسته و خواسته در واقع عمل آنزیم و میکرو ارگانیسم را نشان میدهد.

در حال حاضر می توان به خوبی تمایز واکنش های آنزیمی و تخمیری را بررسی نمود. واکنش های آنزیمی نیازی به حضور موجود زنده ندارند و با استفاده از آنزیم استخراج شده می توان واکنش را هدایت نمود لیکن در واکنش های تخمیری وجود میکروارگانیسم زنده ضروری است.

در سال ۱۸۷۸ کهن[۵] کلمه آنزیم را به جای کلمه تخمیر ناخواسته انتخاب کرد. لی بیگ و پاستور همراه با محققی به نام بوخنر[۶] در سال ۱۸۹۷، موفق به تولید محلول تخمیری از مخمر در محیط عاری از میکروب شدند که در واقع همان محلول آنزیمی بود.

آنزیم ها، در واقع، کاتالیزورهای زیستی با ماهیت پروتئینی هستند و توسط موجودات زنده حیوان، گیاه و میکروارگانیسم تولید می شوند. انجام تمامی واکنش ها در سلول زنده به آنزیم نیازمند است. نقش عمده آنزیم ها در موجودات زنده، کاتالیزور واکنش های تجزیه و ترکیب است. آنزیم ها موجب افزایش سرعت واکنش های زیستی می شوند و در معرض تغییرات فیزیکی و شیمیایی قرار می گیرند.

فعالیت کاتالیزوری آنزیم ها معلول ساختمان خاص پروتئینی آنها است و عمل کاتالیزوری آنها در جای مشخصی از آنزیم به نام جایگاه فعال یا جایگاه کاتالیزوری انجام می شود.

همان طور که اشاره شد، آنزیم ها را می توان از منابع مختلف حیوانی، گیاهی و میکروبی تهیه کرد. آنزیم های تجارتی در سه گروه زیر طبقه بندی می شوند:

۳- *Ferment*
۴- *Liebig*
۵- *Kuhne*
۶- *Buchner*

۱- آنزیم های صنعتی، مانند آمیلازها، پروتئازها، گلوکز ایزومراز، لیپاز، کاتالاز، پنیسیلین آمیلاز و آنزیم های پکتیکی

۲- آنزیم ها آنالیتیکی، مانند گلوکز اکسیداز، گالاکتوز اکسیداز، الکل دهیدروژناز، هگزوکیناز،مورامیداز و کلسترول اکسیداز

۳- آنزیم های پزشکی، مانند آسپراژیناز، پروتئاز، لیپاز و استرپتوکیناز

آنزیم ها از دیدگاه انواع واکنش هایی که توسط آنها کاتالیز می شوند، به ۶ دسته تقسیم شده اند:

دسته اول، گروه اکسیدوردوکتازها: این آنزیم ها کاتالیزور واکنش های اکسایشی- کاهشی هستند و عبارتند از دهیدروژنازها، اکسیدازها و پروکسیدازها

دسته دوم، گروه ترانسفرازها: این آنزیم ها در واکنش هایی که در آنها گروههای شیمیایی انتقال می یابد، به عنوان کاتالیزور عمل می کنند. در این گروه می توان از کینازها که گروه فسفات را از ATP به جسم دیگر منتقل می سازند و ترانس امینازها که انتقال گروه آمینی را به عهده دارند، نام برد.

دسته سوم،گروه هیدرولازها: این آنزیم ها کاتالیزورهای واکنش های آبکافت هستند و عبارتند از: آنزیم های پکتیکی، لیپازها و آمیلازها. دسته چهارم، گروه لیازها: این آنزیم ها گروههای بخصوصی را بدون انجام عمل آبکافت حذف می کنند و تشکیل پیوند دوگانه می دهند. از این گروه می توان دکربوکسیلازها و آلدولازها را ذکر کرد. دسته پنجم، ایزومرازها: این آنزیم ها، کاتالیزور واکنش جابجایی داخلی بر روی یک ماده اولیه هستند. از این گروه می توان ایزومرهای سیس- ترانس، اپی مرازها و راسمازها را ذکر کرد. دسته ششم، لیگازها: این آنزیم ها با شکستن یک پیوند پیروفسفات، اتصال دو جسم به یکدیگر کاتالیز می کنند. در این واکنش ها ATP به عنوان دهنده انرژی توسط لیگازها آبکافت، وAMP و پیرو فسفات ایجاد می شود.

پکتینازها(Pectinase) آنزیمهایی هستند که معمولاً با روش میکروبی، بعنوان یک محصول برون سلولی توسط میکروارگانیسم های مولد آن تولید می شوند. عموماً آنزیم پکتیناز به سه روش تخمیر

غوطه ور[۷] ، تخمیر حالت جامد[۸] و کشت سطحی[۹] تولید می گردد. تخمیر حالت جامد به علت مزایای زیادی که در مقایسه با دو روش دیگر دارد مورد توجه محققان می باشد. کشت سطحی نیز دارای مزایایی است که خود را از دو روش دیگر متمایز می سازد. مهم ترین مزایای این روش عبارتند از: کم بودن هزینه و انرژی مورد نیاز، در پایان تخمیر می توان مایع زیر توده میکروبی را کشیده و با محیط کشت جدید جایگزین نمود، به این ترتیب با حفظ قارچها از سیکل قبلی دوره متوسط تخمیر در سیکل جدید کاهش می یابد، نیاز به هوادهی داخل محیط کشت و هم زدن ندارد.

مطالعات بسیاری به تولید پکتیناز به روش تخمیر غوطه ور یا حالت جامد یا کشت سطحی با استفاده از قارچ آسپرژیلوس نایجر اختصاص داده شده است. مهمترین مزیت استفاده از قارچ آسپرژیلوس نایجر کاربرد آسان آن و قابلیت تخمیر طیف گسترده ای از مواد خام ارزان قیمت و راندمان بالای تولید می باشد.

فصل اول این پایان نامه به مبانی و کلیات نظری شامل تعریف روش های مختلف تخمیر و مقایسه آنها، سوبستراهای مورد استفاده و میکروارگانیسم های مولد اختصاص دارد. در فصل دوم مروری بر پژوهش های گذشته آورده شده است. در فصل سوم مواد و روش های اندازه گیری به کار برده شده در این تحقیق توضیح داده شده است. در فصل چهارم نتایج ارائه و تحلیل شده است. در فصل پنجم مدلی برای تولید مداوم پلی گالاکتورونازها آوزده شده و در فصل ششم نتیجه گیری نهایی و پیشنهاداتی برای ادامه پژوهش ارائه گردیده است.

---

۷ *-SmF*
۸ *-SSF*
۹ *-SCF*

فصل اول

کلیات و مبانی نظری