

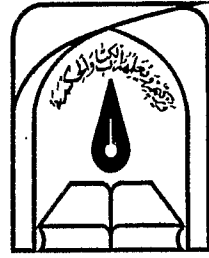
۷۸۹
داخل بود

طبرستان

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

مراکز اطلاعات و آموزش ایران
تهران

۲۲۶۷۲



دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده فنی و مهندسی

پایان نامه کارشناسی ارشد

مهندسی شیمی - بیوتکنولوژی

خالص سازی اسید آمینه لیزین با روش کروماتوگرافی تبادل

یونی در سیستم بستر متحرک

سید مرتضی رباط جزی

استاد راهنما

آقای دکتر سید عباس شجاع الساداتی

استاد مشاور

آقای مهندس سید مجتبی کرباسی

تابستان ۱۳۸۱

۳۳۶۷۲

روزنامه تخصصی دانشجو

۱۳۸۱ / ۵ / ۲۰



دانشگاه تربیت مدرس

تاییدیه هیات داوران

آقای سید مرتضی رباط جزئی پایان نامه ۹ واحدی خود را با عنوان خالص سازی لیزین با روش کروماتوگرافی تبادل یونی در سیستم بستر متحرک در تاریخ ۸۱/۴/۱۵ ارائه کردند. اعضای هیات داوران نسخه نهائی این پایان نامه را از نظر فرم و محتوی تایید و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد رشته مهندسی شیمی باگرایش بیوتکنولوژی پیشنهاد می کنند.

امضاء	نام و نام خانوادگی	اعضای هیات داوران
	آقای دکتر شجاع الساداتی	۱- استاد راهنما:
	آقای مهندس کرباسی	۲- استاد مشاور:
	آقای دکتر واشقانی فراهانی	۳- استادان ممتحن:
	آقای دکتر شاه حسینی	
	آقای دکتر کریم زاده	۴- مدیر گروه:

(یا نماینده گروه تخصصی)

رئیس هیات داوران
تربیت مدرس

این نسخه به عنوان نسخه نهائی پایان نامه ارائه مورده است.
امضای استاد راهنما:



بسمه تعالی

روزنامه اطلاعات و آمار علمی ایران
تاسیس ۱۳۳۵ خورشیدی

آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱ در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:
«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد / رساله دکتری نگارنده در رشته *مهندسی شیمی - پتروشیمی* است که در سال ۱۳۸۱ در دانشکده *فنون مهندسی* دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی *سرکار خانم / جناب آقای دکتر سید عباس سجادی*، مشاوره *سرکار خانم / جناب آقای دکتر محمد سجادی* و مشاوره *سرکار خانم / جناب آقای دکتر* از آن دفاع شده است.»

ماده ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵ دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶ اینجانب *سید علیرضا رباطچی* دانشجوی رشته *مهندسی شیمی - پتروشیمی* مقطع *کارشناسی ارشد* تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: *سید علیرضا رباطچی*

تاریخ و امضا: *۱۳۸۱*

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم که وجودشان منشاء برکت و دعای خیرشان
راه گشای زندگی است

و

همسر گرامیم که با صبر و شکیبائی در سراسر این راه، یار و
مشوق من بود.

حمد و سپاس ایزد منان را که لطف به ثمر رساندن این تحقیق را به من ارزانی داشت.

از استاد گرامی جناب آقای دکتر سید عباس شجاع الساداتی کمال تشکر را دارم که با راهنمایی های ارزنده خود نقش بسیار مهمی در این تحقیق داشتند. همچنین از جناب آقای مهندس سید مجتبی کرباسی که با پیگیری و مساعدت، در رفع مشکلات و کمبودها کمک بی شائبه ای نمودند؛ سپاسگزاری می نمایم. از جناب آقای مهندس زنجیریان و مهندس زمانی که در تهیه مواد و وسایل مورد نیاز مرا یاری کردند، تشکر می کنم. از زحمات کارشناس آزمایشگاه بیوتکنولوژی، سرکار خانم فاطمه تیموری سپاسگزارم و از کمک و مساعدت آقای مهندس رسول خلیل زاده در مرحله تولید قدردانی می نمایم. از تمام افرادی که در طول مدت انجام این تحقیق به هر نحوی مرا یاری کردند کمال تشکر را دارم.

سید مرتضی رباط جزی

تابستان ۸۱

چکیده:

در این تحقیق پس از تولید اسید آمینه ال-لیزین، با استفاده از روش کروماتوگرافی تبادل یونی، لیزین از محیط تخمیر بازیافت شد. شرایط جداسازی شامل، pH، غلظت محلول الوشن، ایزوترمهای جذب Lys^- ، Lys^{2+} و زمان جذب در سیستم کروماتوگرافی غیرمداوم بررسی شد. ظرفیت ستون کروماتوگرافی، دبی بهینه محلول الوشن و غلظت آن در سیستم کروماتوگرافی بستر ثابت بررسی و مطالعه شد. سرعت خالص سازی بیشینه در بستر ثابت ($g_{Lysine}^{-1} Resin h^{-1}$) ۰/۶۶ بدست آمد. با توجه به نتایج بدست آمده، لیزین در سیستم کروماتوگرافی بستر متحرک خالص سازی شد. بالاترین سرعت خالص سازی در این شرایط ($g_{Lysine}^{-1} Resin h^{-1}$) ۰/۱۱ تعیین شد که ۱۶۵٪ نسبت به سیستم بستر ثابت افزایش نشان می دهد. نتایج حاصل، بازیافت ۹۴٪ لیزین را از محیط تخمیر نشان داد.

واژه‌های کلیدی:

لیزین، کروماتوگرافی بستر متحرک، کروماتوگرافی تبادل یونی، خالص سازی، کورینه باکتریوم گلوتامیکوم.

عنوان	فهرست مطالب	صفحه
-------	-------------	------

فصل اول

مقدمه ۲

فصل دوم: مروری بر مفاهیم نظری ، مطالعات و تحقیقات انجام شده

۱-۲- اسیدهای آمینه.....	۵
۲-۲- خواص شیمیایی اسیدهای آمینه.....	۶
۳-۲- ویژگیهای شیمیایی لیزین.....	۸
۴-۲- اهمیت تولید لیزین.....	۱۰
۵-۲- تاریخچه تولید لیزین.....	۱۰
۶-۲- میکروارگانسیم های تولید کننده لیزین.....	۱۲
۷-۲- تولید لیزین.....	۱۳
۸-۲- اندازه گیری لیزین.....	۱۷
۹-۲- روشهای جداسازی اسید های آمینه.....	۱۹
۱۰-۲- کروماتوگرافی.....	۲۰
۱-۱۰-۲- فرایند کروماتوگرافی مایع.....	۲۰
۲-۱۰-۲- روشهای کروماتوگرافی مایع.....	۲۲
۳-۱۰-۲- بررسی کارائی ستون در کروماتوگرافی.....	۲۳
۱۱-۲- کروماتوگرافی تبادل یونی.....	۲۶
۱-۱۱-۲- تبادل کننده های یونی.....	۲۸
۲-۱۱-۲- ظرفیت تبادل کننده یونی.....	۳۲
۳-۱۱-۲- ایزوترمهای جذب.....	۳۳

۳۵	۲-۱۱-۴- ظرفیت ستون کروماتوگرافی تبادل یونی.....
۳۶	۲-۱۱-۵- مراحل خالص سازی لیزین در کروماتوگرافی تبادل یونی.....
۳۶	۲-۱۱-۵-۱- انتخاب نوع تبادل کننده یونی.....
۳۷	۲-۱۱-۵-۲- انتخاب ستون کروماتوگرافی.....
۳۷	۲-۱۱-۵-۳- آماده سازی نمونه.....
۳۸	۲-۱۱-۵-۴- خارج سازی نمونه از ستون.....
۴۰	۲-۱۲-۱- خالص سازی لیزین با روش کروماتوگرافی تبادل یونی.....
۴۲	۲-۱۲-۱- کریستالیزاسیون لیزین.....
۴۳	۲-۱۳-۱- کروماتوگرافی بستر متحرک.....
۴۵	۲-۱۳-۱- اصول کروماتوگرافی بستر متحرک.....
	۲-۱۳-۲- خالص سازی لیزین با استفاده از روش کروماتوگرافی بستر
۴۹	متحرک.....

فصل سوم: مواد و روشها

۵۲	۳-۱- مواد.....
۵۲	۳-۲- دستگاههای مورد استفاده.....
۵۲	۳-۳- خالص سازی لیزین در سیستم غیر مداوم.....
۵۲	۳-۳-۱- آماده سازی رزین.....
۵۳	۳-۳-۲- بهینه سازی pH محیط.....
۵۳	۳-۳-۳- بررسی زمان تعادل.....
۵۳	۳-۳-۴- بهینه سازی محلول روشن.....
۵۴	۳-۳-۵- ایزوترمهای جذب لیزین.....
۵۴	۳-۳-۶- محاسبه ضریب توزیع لیزین بین فاز آبی و رزین در حال تعادل.....

- ۳-۴- توليد ليزين با روش تخمير غير مداوم..... ۵۶
- ۳-۴-۱- ميكروارگانيسم..... ۵۶
- ۳-۴-۲- محيط كشت دخيره..... ۵۶
- ۳-۴-۳- فرايند تخمير غير مداوم..... ۵۷
- ۳-۴-۴- تاثير هواهه در توليد ليزين..... ۵۸
- ۳-۴-۵- انجام فرايند تخمير در فرمتور..... ۵۸
- ۳-۴-۵-۱- وسايل و تجهيزات..... ۵۹
- ۳-۵-۵- روشهه اندازه گيري..... ۶۱
- ۳-۵-۱- اندازه گيري ليزين توسط روش اسپكتروفومتري چينارد..... ۶۱
- ۳-۵-۲- اندازه گيري گلوکز..... ۶۱
- ۳-۵-۳- اندازه گيري غلظت توده زيستی..... ۶۲
- ۳-۶-۶- خالص سازي ليزين با روش کروماتوگرافي بستر ثابت..... ۶۳
- ۳-۶-۱- ستون کروماتوگرافي..... ۶۳
- ۳-۶-۲- آماده سازي محيط تخمير..... ۶۴
- ۳-۶-۳- تعيين ظرفيت ديناميكي ستون..... ۶۴
- ۳-۶-۴- خالص سازي ليزين در ستون بستر ثابت..... ۶۵
- ۳-۶-۵- بهينه سازي غلظت و سرعت جريان محلول الوشن..... ۶۵
- ۳-۷-۷- خالص سازي ليزين با روش کروماتوگرافي بستر متحرك..... ۶۶
- ۳-۷-۱- شرايط خالص سازي در کروماتوگرافي بستر متحرك..... ۶۶
- ۳-۷-۲- وسايل و تجهيزات..... ۶۸

فصل چهارم : بحث و نتايج

- ۴-۱- بررسي شرايط خالص سازي ليزين، در سيستم غير مداوم :..... ۷۱

۷۱ ۴-۱-۱-۱-تأثیر pH
۷۲ ۴-۱-۲-بررسی زمان تعادل در سیستم غیر مداوم
۷۲ ۴-۱-۳-بهینه سازی غلظت محلول الوشن
۷۳ ۴-۱-۴-ایزوترمهای جذب لیزین
۷۵ ۴-۲-بهینه سازی شرایط تولید ال-لیزین در سیستم غیر مداوم
۷۵ ۴-۲-۱-مقایسه اثر نوع منبع نیتروژن در تولید لیزین
۷۶ ۴-۲-۲-تأثیر هوادهی در تولید لیزین
 ۴-۲-۳-فرایند تولید ال-لیزین در سیستم غیر مداوم در فرمتور مجهز به
۷۶ pH کنترل و کنترل هوادهی و کنترل
 ۴-۳-خالص سازی لیزین از محیط تخمیر در سیستم کروماتوگرافی بستر
۷۹ ثابت
۷۹ ۴-۳-۱-تعیین ظرفیت ستون کروماتوگرافی در نقطه شکست
۸۰ ۴-۳-۲-بهینه سازی غلظت محلول الوشن
۸۰ ۴-۳-۳-بهینه سازی سرعت جریان محلول الوشن
 ۴-۴-خالص سازی لیزین از محیط تخمیر در سیستم کروماتوگرافی بستر
۸۳ متحرک فرایند

فصل پنجم

۸۶ نتایج نهائی و پیشنهادها
۹۰ مراجع
۹۴ فهرست انگلیسی-فارسی
۹۷ فهرست فارسی-انگلیسی

۱۰۱	ضمائم
۱۱۰	چکیده انگلیسی
۱۱۱	صفحه عنوان انگلیسی

صفحه	عنوان	فهرست جداول
۷.....	جدول ۱-۲: pH و pK: ایزوالکتریک بعضی از اسید های آمینه.....	
۹.....	جدول ۲-۲: بعضی از ویژگیهای اسید آمینه ال- لیزین.....	
۱۱.....	جدول ۲-۳: تولید و مصرف جهانی لیزین در سال ۱۹۸۹.....	
۱۷.....	جدول ۲-۴: ترکیب محیط کشت.....	
۱۷.....	جدول ۲-۵: نتایج بدست آمده از تاثیر نرخ هوادهی در میزان تولید.....	
۳۱.....	جدول ۲-۶: مقایسه ویژگی های رزین های تبادل یونی.....	
	جدول ۲-۷: کاربردهای سیستم کروماتوگرافی بستر متحرک در خالص سازی	
۴۳.....	محصولات مختلف.....	
۵۶.....	جدول ۳-۱: ترکیب محیط کشت ذخیره.....	
۵۷.....	جدول ۳-۲: ترکیب محیط کشتهای A, B, C, D.....	
۶۵.....	جدول ۳-۳: شرایط خالص سازی لیزین در سیستم کروماتوگرافی بستر ثابت.....	
۶۸.....	جدول ۳-۴: شرایط خالص سازی در سیستم بستر متحرک.....	
۷۵.....	جدول ۴-۱: نتایج تولید لیزین با محیط های کشت مختلف در ارلن لوزان.....	
۷۷.....	جدول ۴-۲: نرخ مصرف گلوکز، تولید لیزین و توده زیستی در فرایند غیر مداوم.....	
	جدول ۴-۳: نتایج حاصل در خالص سازی لیزین با روش کروماتوگرافی بستر	
۸۳.....	متحرک.....	
۸۷.....	جدول ۵-۱: نتایج حاصل از خالص سازی لیزین در سرعت جریان ثابت.....	
	جدول ۵-۲: نتایج حاصل در خالص سازی لیزین با روش کروماتوگرافی تبادل	
۸۷.....	یونی در سیستم بستر ثابت.....	
	جدول ۵-۳: نتایج حاصل در خالص سازی لیزین با روش کروماتوگرافی تبادل یونی	
۸۸.....	در سیستم بستر متحرک.....	
۱۰۱.....	جدول (۱): نتایج استاندارد جذب لیزین.....	
۱۰۲.....	جدول (۲): نتایج استاندارد جذب گلوکز.....	

- جدول (۳) : نتایج تاثیر pH در فرایند جذب لیزین در خالص سازی غیر مداوم..... ۱۰۳
- جدول(۴) تغییرات در صد لیزین جذب شده نسبت به زمان در خالص سازی غیر
مداوم..... ۱۰۳
- جدول(۵):نتایج تاثیر غلظت محلول هیدرو اکسید آمونیوم در بازیافت لیزین در
خالص سازی غیر مداوم..... ۱۰۴
- جدول (۶) : نتایج حاصل از ایزوترم جذب Lys^+ ۱۰۵
- جدول(۷) : نتایج حاصل از ایزوترم جذب Lys^{+2} ۱۰۶
- جدول (۸) : نتایج حاصل از تعیین ظرفیت ستون برای Lys^+ در نقطه شکست..... ۱۰۶
- جدول (۹) : نتایج حاصل از تعیین ظرفیت ستون برای Lys^{+2} در نقطه شکست..... ۱۰۷
- جدول(۱۰): نتایج تاثیر سرعت جریان محلول هیدرواکسید آمونیوم در استحصال
لیزین از ستون..... ۱۰۸
- جدول(۱۱): نتایج تاثیر غلظت محلول هیدرواکسید آمونیوم در استحصال لیزین
از ستون..... ۱۰۹

- شکل ۱-۲: منحنی تیتراسیون برای اسید آمینه آلانین..... ۸
- شکل ۲-۲: منحنی تغییرات بار الکتریکی لیزین..... ۹
- شکل ۳-۲: مکانیسم واکنش بین لیزین و نین هیدرین..... ۱۸
- شکل ۴-۲: جداسازی اجزاء در ستون کروماتوگرافی..... ۲۱
- شکل ۵-۲: توزیع و مهاجرت واپردی نمونه بین فاز متحرک و ساکن..... ۲۲
- شکل ۶-۲: پهن شدگی پیکها در کروماتوگرافی مایعی..... ۲۴
- شکل ۷-۲: منحنی تغییرات H در برابر سرعت جریان..... ۲۶
- شکل ۸-۲: ساختمان شیمیائی دو نوع تبادل کننده یونی،..... ۳۰
- شکل ۹-۲: اثر pH بر ظرفیت تبادل کننده یونی..... ۳۲
- شکل ۱۰-۲: انواع ایزوترمهای جذب..... ۳۴
- شکل ۱۱-۲: ظرفیت ستون کروماتوگرافی در نقطه شکست..... ۳۵
- شکل ۱۲-۲: نحوه ایجاد الوشن با شیب غلظت بطور ساده در آزمایشگاه..... ۳۹
- شکل ۱۳-۲: نمودار تغییرات Q_L و Q_T و در صد آب موجود در رزین با تکرار فرایند خالص سازی..... ۴۱
- شکل ۱۴-۲: نحوه انجام فرایند کروماتوگرافی بستر متحرک..... ۴۵
- شکل ۱۵-۲: شبیه سازی فرایند کروماتوگرافی بستر متحرک بر اساس بستر ثابت..... ۴۷
- شکل ۱۶-۲: نمودار شماتیک سیستم بستر متحرک..... ۴۸
- شکل ۱۷-۲: نمودار شماتیک سیستم خالص سازی لیزین توسط فرآیند کروماتوگرافی بستر متحرک..... ۵۰
- شکل ۱-۳: دستگاه فرمتور مجهز به سیستم هوا دهی و کنترل pH..... ۶۰
- شکل ۲-۳: شکل شماتیک ستون کروماتوگرافی مورد استفاده..... ۶۳