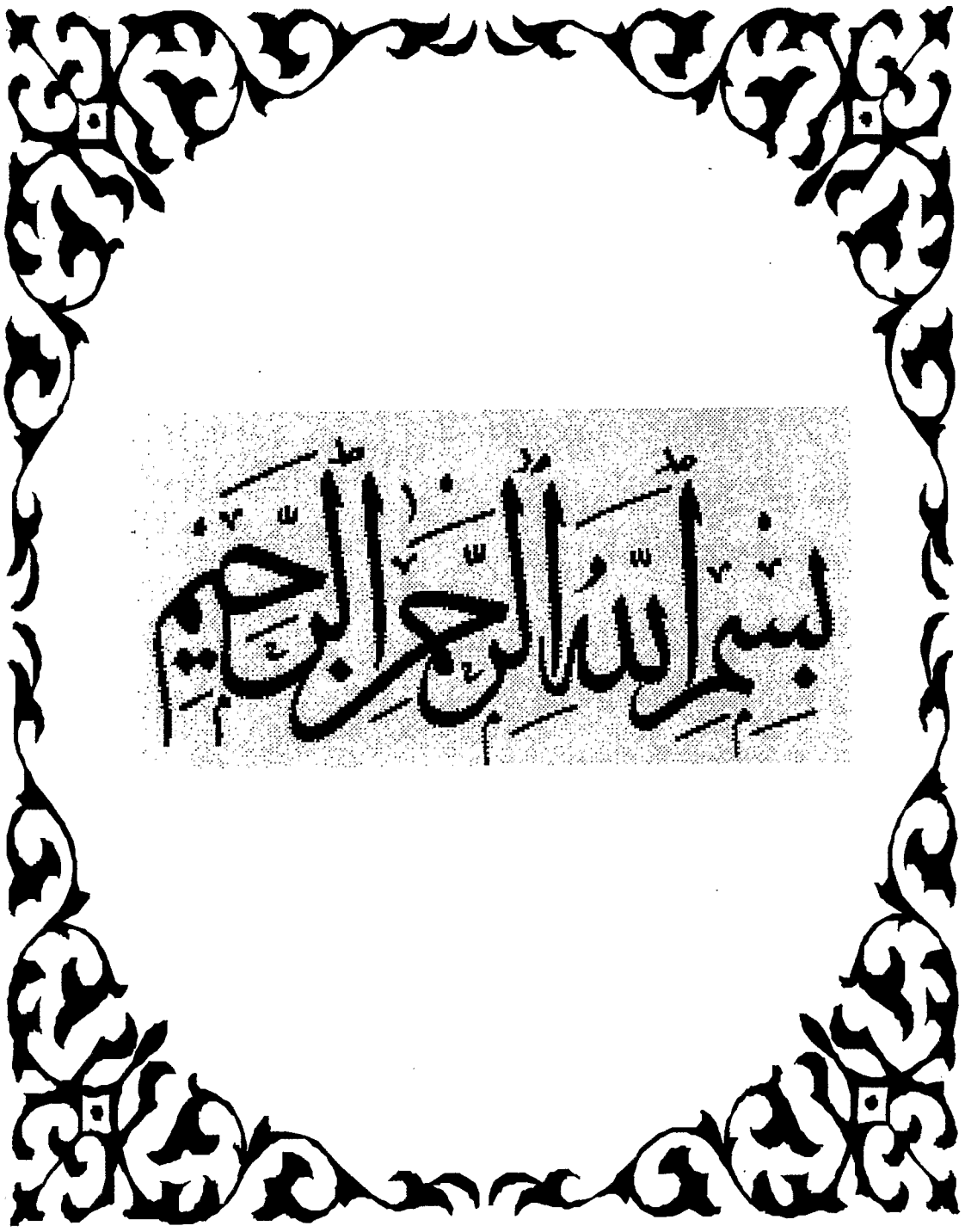


٩٥٧٦٨

دانشکده علوم پایه

پایان نامه

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته میکروبیولوژی

عنوان

ویژگی های پسمانده تخمیر زانتان و امکان مصرف مجدد آن در دور جدید تخمیر زانتان

استادان راهنما

جناب آقای دکتر محمدرضا صعودی

جناب آقای دکتر جمشید فولادی

واحد اطلاعات و مدارک علمی

دانشجو

سمانه صدیقی خویدک

۱۳۸۷/۴۲/۱۷

خرداد ۸۷

۹۵۷ ۶۸
ب

شماره
تاریخ
پیوست

بسمه تعالی

بموجب نامه شماره ۴۶۸۷/ت مورخ ۸۷/۳/۲۵ جلسه دفاع از پایان نامه
خانم سمانه صدیقی دانشجوی رشته مدیریت صنعتی دانشکده علوم پایه
شماره دانشجویی ۸۴۱۲۷۰۰۶ در روز پنج شنبه مورخ ۸۷/۳/۲۲ تحت عنوان عوامل کلیدی های
سیاسه تحمیر زنتان اصفان مصرف نجدید آن مورد مرجع تحمیر زنتان
در اطاق سمعی و بصری برگزار گردید.
ابتدا خانم سمانه صدیقی خلاصه گزارشی از کار پژوهشی خود را ارائه کردند و
سپس به سئوالات اعضاء حاضر در جلسه پاسخ دادند. در پایان هیات داوران رساله دانشجو را با
نمره ۱۹/۵ و امتیاز عالی مورد قبول قرار دادند
~~قرار ندادند~~
(نوزده و نیم)

هیات داوران:

۱. استاد راهنما } جناب آقای دکتر صفوری
۲. استاد مشاور } جناب آقای دکتر فولادی
۳. داور سرکار خانم دکتر سیده سپهر
۴. داور جناب آقای دکتر غلامحسین ابراهیم پور

نام و نام خانوادگی مدیر گروه	امضاء
احیاء عمری عالی	

نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده	امضاء
با نماینده دانشکده در شورای تحصیلات تکمیلی دانشگاه	

۸۷/۳/۲۲

بارالها چه کنم قسمت و تقدیر تو بود
هرچه بر دیده ما رفت به تدبیر تو بود

بندگی کردن درگاه تو آسان نبود
مجمری دل شدن از مشعل تنویر تو بود

ندهم عهد تو را تا فرحی دریابم
بیخود از می شدن از خوشه تخمیر تو بود

. . . جور استاد به ز مهر پدر

سپاس از همه آنانکه در راه آموختنم از وجود خویش مایه گذاشتند و مرا بنده خویش نمودند و همه آنانکه از وجودشان خواهم آموخت.

سپاس ویژه نثار اساتید گرانقدر:

جناب آقای دکتر محمدرضا صعودی

جناب آقای دکتر جمشید فولادی

سرکار خانم دکتر شایسته سپهر

جناب آقای دکتر غلامحسین ابراهیمی پور

که به من آموختند:

چشم دل باز کن که جان بینی　　وانچه نادیدنی است، آن بینی

دل هر ذره را که بشکافی　　آفتابیش در میان بینی

سپاس از حمایت های پدر بزرگوار و زحمات بی دریغ مادر عزیزم

یک حرف و دو حرف بر زبانم بنهاد زبان و گفتن آموخت

و سپاس بی پایان نثار عزیزترین عزیزانم؛ خواهران خوب و برادران مهربانم

که دستان پرمهرشان همواره یاریگرم بود.

بر خود لازم می دانیم که از مسئول و کارشناسان محترم آزمایشگاه جابر بن حیان سازمان انرژی اتمی ایران، جناب آقای مهندس بهزاد، جناب آقای مهندس پویری منجی، سرکار خانم مهندس پژمان زاد و سرکار خانم مهندس غفاری و همچنین سرکار خانم مهندس بزاززاده کارشناس محترم آزمایشگاه دانشگاه صنعتی خواجه نصیر که در سنجش مواد آلی و معدنی پسماند ما را یاری کردند، تشکر نمائیم.

چکیده:

صمغ زانتان یک بیوپلیمر میکروبی است که به طور صنعتی از تخمیر سوکروز یا گلوکز با استفاده از باکتری گرم منفی *Xanthomonas campestris* در مقیاس انبوه تولید می شود. فرایند تولید زانتان با تولید حجم قابل توجهی از پساب همراه است.

پالایش پساب های صنعتی از اهمیت ویژه ای در حفاظت محیط زیست برخوردار است. یکی از روشهای کاهش هزینه های تخمیر و نیز کاهش پساب های تخمیری، برگشت دادن (Backsetting) آنها در دور جدید تخمیر می باشد که در این پروژه به عنوان یک راه حل برای کاهش حجم پساب، کاهش انرژی و ظرفیت لازم برای تیمار و دفع پساب و کاهش مصرف آب مورد استفاده قرار گرفته است.

در این پژوهش از باکتری *X. campestris* سویه DSMZ ۱۷۰۶، زانتان تولید شد و بعد از استخراج محصول و جمع آوری پسماندهای تخمیر، ویژگی های اصلی پسماند، به لحاظ شیمیائی و میکروبی تعیین گردید. سپس پسماند تخمیر به کشت های جدید در غلظت ها و زمان های مختلف افزوده شد و اثرات فرایند فوق بر کمیت و کیفیت تولید محصول بررسی شد.

نتایج نشان داد که افزودن پسماند در تراکم حجمی ۲۰٪ به محیط کشت تولید، بر روی رشد بیومس اثر منفی ندارد و حتی افزودن تراکم ۲۰٪ حجمی پسماند در ساعت اولیه به محیط کشت موجب افزایش بیومس نیز شد ولی افزودن پسماند موجب کاهش تولید زانتان شد که این اثر منفی با افزایش تعداد دفعات افزودن پسماند و همچنین افزودن پسماند در ساعت اولیه به محیط کشت تولید، نمود بیشتری دارد.

بررسی ها نشان داد که استفاده از روش های مختلف فیزیکوشیمیائی برای فرآوری پسماند، قبل از برگشت دادن آن به دور جدید تخمیر، لازم است که در این پروژه، پسماند با زغال فعال، کیتوزان و فیلتر C_{18} تیمار شد. بررسی فراتر مشخص کرد که مصرف پسماند تیمار شده با فیلتر C_{18} تا تراکم ۲۵٪ حجمی، به عنوان آب مصرفی در محیط کشت تولید زانتان، باعث افزایش ۱۰۷٪ محصول خام، ۷۰٪ زانتان خالص و ۶۷٪ ویسکوزیته نسبت به کنترل منفی (محیط تولید حاوی پسماند تیمار نشده) و افزایش ۲٪ محصول خام در مقایسه با کنترل مثبت (محیط تولید تهیه شده با آب) شد.

فهرست مطالب:

❖ **فصل اول (مقدمه و پیشینه پژوهش)** ۱

۱-۱- مرور کوتاهی بر زانتان و *Xanthomonas campestris* ۲

۱-۱-۱- تاریخچه صمغ زانتان ۲

۱-۱-۲- تاکسونومی و مورفولوژی باکتری *Xanthomonas* ۲

۱-۱-۳- ساختار زانتان ۳

۱-۱-۴- کاربرد زانتان ۵

۱-۱-۵ شرایط رشد و نگهداری *X. campestris* ۶

۱-۱-۶- فرایند تولید زانتان و استخراج آن ۶

۱-۱-۷- استفاده از منابع کربنی ارزان قیمت برای تولید زانتان و ضرورت آن ۸

۱-۱-۸- انواع محیط کشت مورد استفاده در تولید زانتان و مقدار فراورده تولید شده ۱۰

۱-۲- ارتباط پساب تولید زانتان با پساب تخمیر الکلی ۱۳

۱-۳- پساب واحدهای تولیدکننده الکل اتیلیک ۱۴

۱-۳-۱- آلودگی و سمیت پسماندهای تقطیر ۱۶

۱-۳-۲- ملاس به عنوان ماده اولیه در تولید الکل ۱۸

۱-۳-۳- کاربردهای پسماند حاصل از تقطیر الکل ۱۸

۱-۴- برگشت (Backsetting) ۲۱

۱-۴-۱- اثرات مثبت برگشت و استفاده مجدد از پسماند ۲۲

۱-۴-۲- اثرات منفی برگشت ۲۳

۱-۴-۳- پیشینه برگشت دادن (Backsetting) پسماندهای تخمیر ۲۳

۱-۵- استفاده از پسماند سایر صنایع برای تولید فرآورده های با ارزش ۲۵

۱-۶- روش های مختلف تصفیه و مصرف مجدد پسماند در واحدهای تولید کننده الکل ۲۷

۱-۶-۱- تیمار بی هوازی پسماند..... ۲۷
۱-۶-۲- میکروارگانیسم های دخیل در تصفیه هوازی پسماند..... ۲۸
۱-۶-۳- کوآگولاسیون و جذب ۳۱
۱-۶-۳-۱- اثر کوآگولانت های غیر آلی ۳۱
۱-۶-۳-۲- اثر کوآگولانت های پلی مریک ۳۱
۱-۶-۳-۳- اثر کوآگولانت های طبیعی آلی ۳۲
۱-۶-۳-۴- زغال فعال..... ۳۳
۱-۶-۴- تکنیک استخراج فاز جامد از مایع (SPE)..... ۳۴
❖ **فصل دوم (روش پژوهش و ابزار و مواد)** ۳۷
۲-۱- ابزار و مواد مورد استفاده ۳۸
۲- ۲- میکرو ارگانیسم مورد استفاده ۴۰
۲- ۳- تولید زانتان ۴۰
۲-۴- استخراج محصول خام (زانتان ناخالص) از محیط کشت تولید و جدا کردن پساب ۴۰
۲-۵- تقطیر پساب ۴۱
۲-۶- خالص کردن زانتان و اندازه گیری مقدار بیومس ۴۱
۲-۷- آنالیز مواد آلی و معدنی پساب تقطیر شده (پسماند) ۴۲
۲-۷-۱- سنجش عناصر معدنی ۴۲
۲-۷-۱-۱- C , H , N , S ۴۲
۲-۷-۱-۲- Mg و P ۴۳
۲-۷-۱-۳- متانول ۴۵
۲-۷-۲- سنجش مقدار BOD و COD ۴۵
۲-۷-۲-۱- سنجش BOD_5 (Biological Oxygen Demand) ۴۵

۲-۷-۲-۲- سنجش COD (Chemical Oxygen Demand) ۴۶
۲-۷-۳- سنجش قند ۴۷
۲-۷-۴- سنجش پروتئین به روش برادفورد (Bradford) ۴۸
۲-۷-۴-۱- محلول های معرف ۴۸
۲-۷-۴-۲- سنجش غلظت های بالای پروتئین ۴۹
۲-۷-۴-۳- سنجش غلظت های پائین پروتئین ۴۹
۲-۸- رشد *Xanthomonas campestris* و تولید زانتان در محیط حاوی پسماند تقطیر ۵۰
۲-۹- بررسی میزان رشد *X. campestris* در محیط جامد حاوی پسماند ۵۱
۲-۱۰- مصرف پسماند تقطیر به عنوان محیط کشت رشد *X. campestris* ۵۲
۲-۱۰-۱- مصرف پسماند تقطیر در تراکم های(v/v) ٪۱۰۰ و (v/v) ٪۲۵ ..... ۵۲
۲-۱۰-۲- مصرف پسماند تقطیر به طریق غنی سازی با قند ۵۳
۲-۱۰-۳- مصرف پسماند تقطیر به طریق رقیق سازی و غنی سازی ۵۴
۲-۱۰-۴- بررسی میزان و چگونگی رشد *X. campestris* ۵۵
۲-۱۰-۵- استفاده از محیط پیش کشت حاوی پسماند برای تلقیح محیط تولید زانتان ..۵۶
۲-۱۱- اثر زمان افزودن پسماند تیمار نشده ((v/v) ٪۲۰) بر تولید زانتان ۵۷
۲-۱۲- تصفیه پسماند و مقایسه بین پسماندهای تیمار شده با روش های مختلف ۵۹
۲-۱۲-۱- تیمار با کیتوزان ۵۹
۲-۱۲-۲- تیمار با زغال فعال ۵۹
۲-۱۲-۲-۱- استفاده از پودر زغال فعال (PAC) ۵۹
۲-۱۲-۲-۲- استفاده از فیلتر زغال فعال ۶۰
۲-۱۲-۳- استفاده از فیلتر C_{18} ۶۰
۲-۱۲-۴- مقایسه بین پسماندهای تیمار شده با روش های مختلف ۶۰

۲-۱۲-۵- تولید کیتوزان از پوسته میگو ۶۱
۲-۱۳- اثر افزودن (v/v) ٪۲۰ پسماند تیمار شده با کیتوزان و زغال فعال بر تولید زانتان..... ۶۳
۲-۱۴- اثر افزودن پسماند تیمار شده با فیلتر C_{18} بر تولید زانتان..... ۶۵
❖ **فصل سوم (نتایج)** ۶۷
۳-۱- آنالیز مواد آلی و معدنی پساب تقطیر شده (پسماند) ۶۸
۳-۱-۱- نتیجه سنجش قند ۶۹
۳-۱-۲- نتیجه سنجش پروتئین به روش برادفورد ۷۰
۳-۲- بررسی میزان رشد *X. campestris* در محیط جامد حاوی پسماند..... ۷۱
۳-۳- مصرف پسماند تقطیر در تراکم های(v/v) ٪۱۰۰ و (v/v) ٪۲۵ به عنوان محیط رشد..... ۷۳
۳-۴- مصرف پسماند تقطیر به عنوان محیط رشد به طریق غنی سازی با قند..... ۷۴
۳-۵- مصرف پسماند تقطیر به عنوان محیط رشد به طریق رقیق سازی و غنی سازی..... ۷۵
۳-۶- بررسی میزان و چگونگی رشد در محیط پیش کشت حاوی پسماند غنی سازی شده..... ۷۹
۳-۷- استفاده از محیط پیش کشت حاوی پسماند برای تلقیح محیط تولید زانتان..... ۸۲
۳-۸- اثر زمان افزودن پسماند تیمار نشده ((v/v) ٪۲۰) بر تولید زانتان..... ۸۳
۳-۹- تصفیه پسماند و مقایسه بین پسماندهای تیمار شده با روش های مختلف..... ۸۸
۳-۱۰- اثر افزودن (v/v) ٪۲۰ پسماند تیمار شده با کیتوزان و زغال فعال بر تولید زانتان..... ۹۱
۳-۱۱- اثر افزودن پسماند تیمار شده با فیلتر C_{18} به محیط تولید بر تولید زانتان..... ۹۶
❖ **فصل چهارم (بحث و پیشنهادات)** ۱۰۳
۴-۱- بحث ۱۰۴
۴-۲- پیشنهادات ۱۱۳
جدول اختصارات..... ۱۱۴
فهرست منابع و مآخذ..... ۱۱۵

فصل اول

مقدمه

و

پیشینه پژوهش

۱-۱- مرور کوتاهی بر زانتان و *Xanthomonas campestris*

۱-۱-۱- تاریخچه صمغ زانتان

صمغ زانتان یک پلی ساکارید طبیعی و با اهمیت صنعتی است که در دهه ۱۹۵۰ توسط Northern Regional Research Laboratories (NRRL) وزارت کشاورزی آمریکا کشف شد و تولید پلی ساکارید ۱۴۵۹ – B یا صمغ زانتان بوسیله باکتری *Xanthomonas campestris* NRRL ۱۴۵۹ – B به طور گسترده مطالعه شده است.

اوائل دهه ۱۹۶۰، اوج تولید نیمه صنعتی این بیوپلیمر و به نام Kelzan توسط شرکت Kelco بود و در سال ۱۹۶۴ تولید قابل توجه تجاری آن آغاز شد. امروزه تولید کنندگان مهم زانتان شرکت های Merck و Pfizer ایالات متحده، Rhône Poulence و Sanofi – Elf فرانسه و Jungbunzlaur اتریش می باشد(۲۷).

۱-۱-۲- تاکسونومی و مورفولوژی باکتری *Xanthomonas*

Xanthomonas یک جنس از خانواده *Xanthomonadaceae* است (۱۰). همه ارگانیسم های این جنس بیماریزای گیاهی هستند و پاتووارهای *Xanthomonas* ، گیاهان بسیاری از جمله برخی از محصولات مهم کشاورزی مثل کلم (Cabbage)، یونجه (Alfalfa) و تیره لوبیا (Beans) را آلوده می کند.

سلول *Xanthomonas* ، گرم منفی و میله ای مستقیم با عرض ۰/۷ μm – ۰/۴ و طول ۱/۸ μm – ۰/۷ است و با یک تاژه منفرد قطبی به طول ۳ μm – ۱/۷ متحرک می باشد. کلنی ها معمولاً زرد رنگ، با سطح صاف و کره ای یا ویسکوز است (۲۷و۵۶).

این میکروارگانیسم، کمواورگانوتروف و هوازی اجباری است و در طی متابولیسم آن، اکسیژن به عنوان پذیرنده نهایی الکترون عمل می کند. کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی است.

Xanthomonas sp. برای کاتابولیسم گلوکز از مسیرهای انتنردودوروف(Entner – Doudoroff) و پنتوز فسفات و چرخه های تری کربوکسیلیک اسید و گلی اکسالات استفاده می کند (۲۶و۶۰).

پوشش سلولی آن مشابه دیگر باکتری های گرم منفی است. همه گونه های *Xanthomonas* دارای رنگدانه های زرد آریل پلی ان های برومینه (Brominated aryl – polyene) به نام زانتوموناداین (Xanthomonadin) هستند. این رنگدانه مختص باکتری های *Xanthomonas* بوده و بنابراین به عنوان یک مارکر شیمیوتاکسی و تشخیصی به کار می رود و هرچند برای بیماریزایی باکتری مهم نیست ولی برای حفاظت باکتری علیه آسیب های فتوبیولوژیکی مهم است (۵۵،۱۵و۵۸).

رنگ آمیزی با مرکب چین (India ink) نشان می دهد که همه باکتری های جنس *Xanthomonas* دارای کپسول هستند که غالباً پلی ساکاریدهای کپسولی جدا از سلول و لزج می باشد. این پلی ساکارید های کپسولی، صمغ زانتان نامیده می شود. شکل شماره ۱-۱ کلنی های *Xanthomonas campestris* را در محیط کشت جامد نشان می دهد (۲۷).

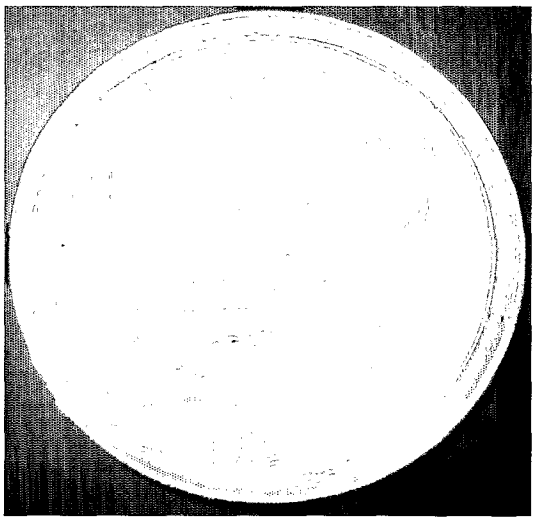
۱-۱-۳- ساختار زانتان

ساختار اصلی این هترو پلی ساکارید، پنتاساکاریدی است که توسط دو واحد گلوکز، دو واحد مانوز و یک واحد گلوکورونیک اسید به نسبت مولی ۲/۸ : ۲ : ۲ تشکیل شده است. زنجیره اصلی شامل واحدهای بتا دی گلوکز است که با اتصالات ۱ به ۴ به هم متصل شده اند که این ساختار مشابه سلولز است. زنجیره جانبی تری ساکاریدی شامل یک واحد D– گلوکورونیک اسید است که بین دو واحد مانوز واقع شده و از طریق موقعیت O_3 به هر کدام از گلوکز های زنجیره اصلی به صورت یک در میان، متصل است. تقریباً نیمی از D- مانوز های انتهایی حاوی یک پیرووبک اسید به صورت ۴ ، ۶ استال حلقوی هستند. D- مانوز های غیر انتهایی در موقعیت O_6 حاوی گروه های استیل هستند. این واحد های اسید پیرویک و اسید استیک، خصوصیات آنیونی به مولکول زانتان می بخشد. شکل شماره ۱-۲ ساختار شیمیائی صمغ زانتان را نشان می دهد(۲۷،۵و۷۲).

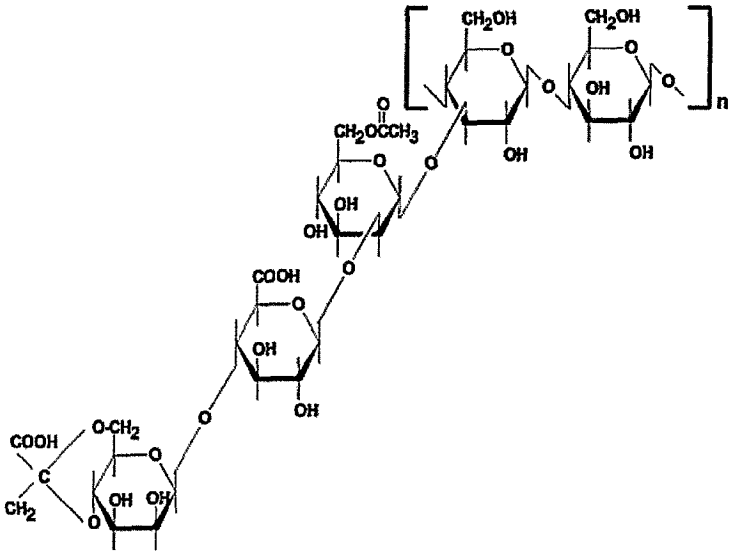
وزن مولکولی زانتان بین ۲×۱۰^۶ تا ۲۰×۱۰^۶ دالتون است (۲۷). برخی از منابع نیز وزن مولکولی آن را بین ۱۵×۱۰^۶ تا ۵۰×۱۰^۶ ذکر کرده اند(۷۲).

مولکول زانتان بسته به دمای محلول دارای دو نوع کنفورماسیون هلیکس و نامنظم (random coil) است. ساختار ثانویه هلیکس زانتان به صورت تک رشته ای یا دو رشته ای است که

زیستی بوده و توسط میکروارگانیسم های خاصی که آنزیم زانتاناز (Xanthanase) تولید می کنند، تجزیه می شود(۷۲،۲۷).



شکل (۱-۱): کلنی های *X. campestris* در محیط کشت جامد



شکل (۱-۲): ساختار شیمیائی صمغ زانتان (۵)

۱-۱-۴- کاربرد زانتان

مصرف جهانی زانتان در سال ۲۰۰۱ حدود ۳۵۰۰۰ تن تخمین زده شده است و از حجم کلی زانتان تولید شده در جهان ۶۵٪ آن در صنایع غذایی، ۱۵٪ آن در صنایع نفتی و ۲۰٪ آن در سایر صنایع به کار می رود. نیاز جهانی به زانتان سالیانه رو به افزایش است که این پدیده ناشی از کاربرد وسیع زانتان در صنایع مختلف است(۸۶).

زانتان سمی و مهار کننده رشد نیست. حساسیت زا نبوده و باعث سوزش چشم و خارش پوست نمی شود. بر این اساس در سال ۱۹۶۹ زانتان توسط انجمن غذا و داروی آمریکا (FDA) برای استفاده در غذا، بدون هیچ ممنوعیتی، پذیرفته شد و در سال ۱۹۸۰ مصرف زانتان در اروپا با کد افزودنی E – ۴۱۵ به تصویب رسید. خواص رئولوژیک فوق العاده صمغ زانتان موجب کاربرد گسترده این صمغ به عنوان عامل سوسپانسیون کننده، قوام دهنده و تغلیظ کننده در صنایع غذایی و کاربرد آن به عنوان عامل امولسیون کننده، روان ساز، تغلیظ کننده و عامل کنترل حرکت برای افزایش برداشت نفت شده است(۱،۳۶،۶۰).

به علت طبیعت پلی الکترولیت مولکول زانتان، این صمغ هم در آب سرد و هم در آب گرم محلول است و حتی در غلظت های پائین پلیمر نیز محلول های ویسکوز تشکیل می شود. این خصوصیات برای بسیاری از کاربردهای صنعتی به ویژه در صنایع غذایی مفید است. از جمله موارد کاربرد زانتان به طور خلاصه در زیر بیان می شود.

- کاربرد های غذایی: (نوشیدنی ها، سوپ و عصاره های گوشت، غذا های منجمد، کنسرو ها، چاشنی ها و سس، محصولات کم چرب، تثبیت طعم، فیلم های محافظتی، محصولات لبنی)
- کاربرد های آرایشی ، بهداشتی و دارویی: (خمیر دندان ، شامپو ، لوسیون ، کرم ، ژل ، سوسپانسیون های دارویی)
- کاربردهای صنعتی: (صنایع چاپ و رنگ در نساجی ، سیلابزنی محلول ویسکوز، لعاب سرامیک و سوسپانسیون های نظیر آن ، تمیز کننده ها ، صنایع کشاورزی ، افزایش برداشت نفت) (۵،۷۲،۶۰).

۱-۱-۵- شرایط رشد و نگهداری *X. campestris*

همه محیط کشت های مورد استفاده برای رشد *X. campestris* ، محیط های پیچیده (کمپلکس) هستند. اغلب از محیط YMA (Yeast extract Malt extract Agar) استفاده می شود. این باکتری در دماهای متفاوت در دامنه ۳۵°C - ۲۵ در pH خنثی کشت داده می شود اما دمای بهینه برای رشد آن ۲۸°C است.

تکنیک های مختلفی برای نگهداری بلند مدت و کوتاه مدت باکتری استفاده می شود. برای نگهداری بلند مدت از تکنیک های لیوفیلیزه کردن (Lyophylization) و فریز کردن (Freezing) در ۱۰٪ v/v محلول گلیسرین استفاده می شود. برای نگهداری کوتاه مدت، سلول بر روی پلیت و اسلنت های YMA کشت داده شده و بعد از ۲۴ – ۱۸ ساعت گرما گذاری در ۲۸°C ، در دمای ۴°C نگهداری و هر ۱۴ روز یک بار تجدید کشت می شوند(۲۷).

۱-۱-۶- فرایند تولید زانتان و استخراج آن

غالباً از *X. campestris* برای تولید صنعتی زانتان استفاده می شود. ابتدا باکتری از محیط کشت جامد YMA به حجم کوچکی از محیط کشت مایع YMB منتقل شده و بعد از یک دوره کوتاه گرما گذاری (h ≤۷)، به محیط حاوی نمک های غیر آلی (Semisynthetic) انتقال داده می شود. در فرایند تولید زانتان از فرمانتورهای هوادهی و دارای همزن استفاده می کنند. فرمانتور مورد استفاده می تواند بسته (Batch) ، دائمی (Continuous)، خوراک دهی (Fed batch) و (Intermittent harvesting) باشد اما به علت بی ثباتی سوش ها و ریسک آلودگی در محصولات، در فرایندهای صنعتی ترجیح داده می شود که از محیط های بسته استفاده شود.

بعد از طی دوره تخمیر، براث نهایی حاوی ۳۰g/l – ۱۰ زانتان، ۱۰g/l – ۱ توده سلولی و ۱۰g/l – ۳ مواد غذایی باقیمانده و دیگر متابولیت ها است. به علت غلظت بالای زانتان، براث بسیار ویسکوز بوده و این امر حذف بیومس را مشکل می کند. مراحل اصلی فرایند استخراج شامل غیر فعال کردن و حذف یا لیز سلول های میکروبی، رسوب دادن بیوپلیمر، آب گیری، خشک کردن و آسیاب کردن است. این فرایند ها به نحوی باید صورت گیرد که به بیوپلیمر آسیبی نرسد تیمارهای مورد استفاده برای غیر فعال کردن و حذف سلول های میکروبی شامل استفاده از مواد شیمیائی

(مثل هیپوکلریت های قلیائی ، آنزیم ها و ...) ، وسایل مکانیکی (سانتریفیوژ) و تیمار حرارتی است. تیمار با مواد شیمیائی در pH بالا باعث حذف پیروات محصول می شود و هنگامیکه از آنزیم برای لیز سلول ها استفاده می شود، در انتها می بایستی از محیط حذف شوند که این امر به هزینه های فرایند می افزاید. معمولاً براث تخمیر، برای کشتن سلول ها، پاستوریزه یا استریلیزه می شود. این تیمار های حرارتی هرچند باعث افزایش حذف زانتان از سلول ها می شود، اما پاستوریزاسیون براث تخمیر در دماهای بالا، اغلب باعث تجزیه حرارتی زانتان می گردد.

زانتان در محلول به صورت کلوئید های هیدروفیلیک وجود دارد. رسوب پلیمر با کاهش حلالیت این کلوئید ها صورت می گیرد. بهترین روش اضافه کردن مخلوطی از نمک ها به براث تخمیر و رسوب دادن با حلال های آلی مثل اتانول و ایزوپروپیل الکل (IPA) است. اضافه کردن الکل های سبک (متانول، اتانول، ایزوپروپانول) و استون نه تنها باعث کاهش حلالیت پلیمر و رسوب آن می شود بلکه باعث زدودن ناخالصی هایی مثل ترکیبات رنگی، نمک ها و سلول ها نیز می شود.

مقدار الکل مورد نیاز، بسته به نوع آن است. رسوب کامل صمغ با اضافه کردن سه حجم IPA یا استون به یک حجم براث تخمیر امکان پذیر است. اگر الکل های سبک تر مثل اتانول استفاده شود، بیش از شش حجم الکل به ازاء هر یک حجم براث مورد نیاز است.

افزودن نمک ها در غلظت های کافی موجب رسوب دهی بهتر زانتان می شود. در این شرایط، گروه های کاتیونی نمک با تمام گروه های آنیونی زانتان پیوند تشکیل می دهد که این امر منجر به معکوس شدن بار الکتریکی و در نتیجه رسوب دهی بهتر می شود. کاتیون های چند ظرفیتی مثل کلسیم، آلومینیوم و نمک های چهار ظرفیتی آمونیوم برای این امر مناسبند. هنگامیکه از الکل به همراه نمک ها برای رسوب دهی استفاده می شود، حجم کمتری الکل برای رسوب دادن لازم است. پلیمر رسوب داده شده، آبگیری و سپس خشک می شود و بعد از آسیاب شدن، به منظور جلوگیری از تجزیه زانتان در حضور رطوبت، در بسته های ضد آب بسته بندی می شود(۲۸،۲۳،۶۴،۲۷).

۱-۱-۷- استفاده از منابع کربنی ارزان قیمت برای تولید زانتان و ضرورت آن

با رشد روزافزون تقاضا برای صمغ زانتان و افزایش قیمت جهانی آن، مصرف گلوکز به عنوان سوبسترای اولیه از نظر اقتصادی به صرفه نیست.

صنعت پتروشیمی به علت قیمت نسبتاً بالای صمغ زانتان نسبت به سایر پلیمرها، از پلی ساکارید های مشتق از گیاهان و پلیمر های سنتتیک به جای صمغ زانتان استفاده می کند.

صمغ زانتان تجاری به علت استفاده از سوکروز و گلوکز به عنوان تنها منبع کربن و استانداردهای خلوص خیلی بالا برای مواد غذایی، نسبتاً گران است. بیش از ۵۰٪ هزینه های تولید صمغ زانتان برای کاربرد غذایی، مربوط به مراحل خالص سازی پائین دستی است که بسیاری از آنها برای کاربردهای غیر غذایی لازم نیست. راه دیگر برای کاهش هزینه ها، استفاده از سوبسترا های ارزان قیمت مثل ضایعات کشاورزی و پساب صنایع لبنی و تخمیری است.

هدف اصلی این پروژه نیز، نه تنها استفاده از مواد خام اولیه ارزان قیمت جایگزین برای تولید اقتصادی صمغ زانتان است، بلکه کاهش پساب های خروجی از واحد تولید کننده زانتان و حفاظت محیط زیست از آلودگی است (۴۷،۶۰،۷۷).

منابع کربنی ارزان قیمت متعددی برای تولید زانتان استفاده شده است از قبیل:

- عصاره میوه خورنوب یا کورگیاه (Carob) Roseiro et al. (۱۹۹۲) (۶۱)
- پساب کنجاله زیتون، Ramos – Cormenzana , Lopez (۱۹۹۶) (۴۲)
- ضایعات پرتقال، Bilanovic et al. (۱۹۹۴) (۸)
- اسید سیتریک، Ghosh , Jana (۱۹۹۵) (۳۳)
- آب پنیر، Yang , Silva (۱۹۹۵) ، Konicek et al. (۱۹۹۳) ، Fu et al. (۱۹۹۰) و Papoutsopoulou et al.(۱۹۹۴) (۲۲،۵۳، ۷۶، ۳۷)
- تفاله چغندر قند، Yoo et al. (۱۹۹۹) (۷۷)
- خربزه، هندوانه، خیار و گوجه فرنگی، Moreno , Lopez (۱۹۹۸) (۴۸)
- پسماند روغن کشی ذرت (corn steep liquor) ، Molina et al. (۱۹۹۶) (۴۷)
- ملاس و شربت گلوکز (glucose syrup)، De Vuyst et al. (۱۹۹۴) (۱۸)
- آرد بلوط (chestnut flour)، Liakopoulou – Kyriakides et al. (۱۹۹۹) (۳۹)