جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علمی- پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی
پاییز 1390، دوره سوم، شماره دهم، صفحه 14-7

بررسی اثر منابع کربن و نیتروژن و دوره های انکوباسیون مختلف در بیوسنتز PHB به عنوان بیوپلاستیک به وسیله *Bacillus subtilis* ATCC6633

ارغوان چائی بخش لنگرودی[1]، خسرو عیسی زاده[1]، محمد فائزی قاسمی[1]، مهنازفرهمند[2]

1. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده علوم پایه، گروه میکرویولوژی، لاهیجان، ایران
2. دانشگاه آزاد اسلامی واحد شرق تهران، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی، تهران، ایران

نویسنده مسؤول: ارغوان چائی بخش لنگرودی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده علوم پایه، گروه میکرویولوژی، لاهیجان، ایران.
Email: arghavan_ch62@yahoo.com

دریافت: 90/7/11 پذیرش: 90/9/30

چکیده

زمینه و هدف: پلی بتا هیدروکسی بوتیرات (PHB) ، یک ترموپلاستیک قابل تجزیه زیستی است که از طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها به صورت گرانول های درون سلولی استخراج می شود. از این پلیمرها در صنایع بسته بندی، دارویی و کشاورزی استفاده می شود. هدف از این تحقیق بهینه سازی ترکیبات غذایی محیط و شرایط کشت جهت بهبود تولید PHB توسط باکتری *Bacillus subtilis* ATCC6633 بود.

روش بررسی: ابتدا با استفاده از روش تغییر یک فاکتور در زمان (One- Factor- at- a- time) اثر منابع کربنی و نیتروژنی مختلف و همچنین اثر زمان انکوباسیون در تولید بررسی گردید. سپس بهینه سازی بهترین منبع غذایی انجام پذیرفت. ابتدا اثر منابع کربنی مختلف مانند گلوکز، سوکروز، آرابینوز، مانیتول و نشاسته بررسی شد سپس منابع نیتروژنی معدنی و آلی مختلف نظیر سولفات آمونیوم، نیترات پتاسیم، گلایسین و سیستئین در تولید PHB توسط این باکتری بررسی شد.

یافته ها: نتایج نشان داد که از میان منابع کربنی، نشاسته به عنوان بهترین منبع کربن بوده و از میان منابع نیتروژنی، سولفات آمونیوم به عنوان نیتروژن معدنی و گلایسین به عنوان نیتروژن آلی به عنوان بهترین منابع شناخته شدند. بهترین زمان و غلظت نشاسته و سولفات آمونیوم جهت تولید PHB به ترتیب عبارت بودند از 48 ساعت و 5% (حجمی/حجمی) و برای گلایسین شامل 48 ساعت و 3% (حجمی/حجمی) بود.

نتیجه‌گیری: به طور کلی در بین غلظت های (1-8)% منابع کربن و نیتروژن، غلظت های (2-5)% ، بیشترین میزان تولید را داشتند.

واژه‌های کلیدی: Poly- beta- hydroxy butyrate، ترموپلاستیک، بهینه سازی

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

پلی بتا هیدروکسی بوتیرات (PHB) ، یک گرانول ذخیره ایی است که در بسیاری از میکروارگانیسم ها دیده می شود. این پلیمر باکتریایی در شرایط نامساعد غذایی در این سلول ها تولید شده و در صورت تداوم شرایط و به منظور بقای باکتری ها، تجزیه شده و منابع کربن و انرژی مورد نیاز آنها را فراهم می کنند(1و2). هر شرایط نامساعدی منجر به تولید این ترکیبات نمی شود و در واقع فقط در صورتی که منابع کربن فراوان و بیش از نیاز باکتری بوده و از طرفی هم محدودیت عناصری مانند نیتروژن، فسفر و منیزیم حاکم باشد، آنگاه متابولیسم مرکزی سلول به سمت تولید این پلیمر پیش می رود تا باکتری بتواند از ظرفیت های موجود حداکثر استفاده را کرده و منابع در دسترس را به صورت بهینه ذخیره کند(3).

این پلیمرها در موارد بسیار به پلاستیک های مصنوعی(پتروشیمیایی) شباهت دارند و در واقع می توان گفت که نوع طبیعی آنها هستند منتها یک تفاوت بسیار عمده آنها با پلاستیک های مصنوعی، تجزیه پذیری آنهاست که این بیوپلیمرها را به عنوان پلاستیک های سبز و و بی ضرر مطرح کرده است(4-7).

ارزیابی ها نشان می دهد که هر ساله حدود 150 میلیون تن پلاستیک در سراسر جهان تولید می شود و 40% از آنها به دور انداخته می شوند و مقدار زیادی زباله پلاستیکی به محیط های دریایی وارد شده و در دریاها و اقیانوس ها تجمع می یابند(8 و9). به همین علت در دو دهه گذشته توجه بسیار زیادی به شناسایی باکتری های تولید کننده این پلیمرها، بررسی مسیرهای متابولیکی آنها و تولید این ترکیبات از باکتری ها شده است و مشخص شده که نوع باکتری تولید کننده و شرایط مختلف محیط کشت، دو عامل مهم و تعیین کننده در میزان و نوع پلیمر تولید شده می باشد(10-12).

با اینکه پلاستیک ها بخش زیادی از دنیای ما را اشغال کرده اند و در واقع موارد زیادی از دریچه مصنوعی قلب گرفته تا بطری ها از جنس پلاستیک هستند و با اینکه کابردهای خانگی، صنعتی و محیطی بسیاری دارند اما مشکلات عمده ایی در مورد آنها وجود دارد که مهم ترین آن ، مشکلات زیست محیطی آنهاست، چون این پلاستیک ها از ترکیبات نفتی تولید می شوند، بنابراین تجزیه ناپذیر بوده و دائما تراکم ضایعات پلاستیکی در تمام دنیا در حال افزایش است. مشکل دیگر تولید پلاستیک های صنعت پتروشیمی ، تولید این مواد از منابع فسیلی و محدود است که سرانجام روزی به انتها خواهد رسید، این دو علت مهم باعث شده که دانشمندان در تلاش برای یافتن جایگزین های مناسبی برای پلاستیک های نفتی باشند که برای اکوسیستم مضر نبوده و از منابع تجدیدشدنی بدست آید(13و14). بنابراین با توجه به معضلات و محدودیت های پلاستیک های رایج، چاره ایی جز جایگزینی هر چند تدریجی آنها با پلیمرهای سازگار با اکوسیستم، که منشاء طبیعی داشته و دوباره به طبیعت بازگردند، وجود ندارد و این پروژه عظیم در حدود دو دهه است که به صورت جدی دنبال می شود، هر چند محدودیت هایی هم در حال حاضر در تولید وسیع بیوپلیمرها وجود دارد که عمدتا محدودیت های اقتصادی است (15).

تا سال 1970 اطلاعات زیادی در موارد یاد شده بدست آمده بود، اما توجه محققان صرفاً در حد ویژگی های فیزیکی و اهمیت فیزیولوژیکی آنها در باکتریها معطوف شده بود و بررسی های جالب توجهی در زمینه امکان استفاده از آنها در حد مصارف صنعتی نشده بود. امکان استفاده از آنها اولین بار در اوایل دهه 1970 مطرح شد. مشکلات ناشی از کاربردهای وسیع پلاستیک های صنعت پتروشیمی، یعنی آلودگی های زیست محیطی و محدودیت منابع فسیلی، انگیزه و محرک بزرگی در اندیشیدن و ارزیابی این بیوپلیمرها به عنوان جانشینان احتمالی پلیمرهای نفتی بوده است (16).

در این تحقیق هدف، بهینه سازی تولید PHB در یکی از مناسب ترین گونه های باکتریایی است که پتانسیل مناسبی در تولید این پلیمر داشته اما تاکنون اپتیمم سازی و بررسی میزان تولید با منابع مختلف کربنی و نیتروژنی مختلف و اثر غلظت این منابع در مورد آن صورت نگرفته است.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

روش بررسی

میکروارگانیسم و شرایط کشت: باکتری ATCC6633 *Bacillus subtilis* از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد.

بهینه سازی شرایط کشت: به منظور بهینه سازی، محیط کشت نوترینت براثی که حاوی ترکیبات پپتون، Nacl، عصاره مخمر و عصاره گوشت می‌باشد را آماده و pH آن را به 6/8 رسانده، پس از همگن شدن محیط تحت حرارت در شرایط معمول تحت اتوکلاو استریل گردید.

بررسی اثر منابع کربنی و نیتروزنی مختلف بر تولید PHB در محیط کشت بهینه: جهت بررسی اثر منابع کربنی مختلف بر تولید PHB مقدار 100 میلی لیتر از محیط کشت بهینه شده را به داخل ارلن مایر 250 میلی لیتری انتقال داده و هر کدام از منابع کربن مختلف اعم از گلوکز، سوکروز، آرابینوز، مانیتول و نشاسته به میزان 2% به طور جداگانه به محیط کشت مایع تلقیح شدند و سپس سویه استاندارد به طور جداگانه به محیط حاوی قندها تلقیح شد. محیط‌های تلقیح شده در انکوباتور شیکردار در دمای $^{\circ}C$ 30-35 و با دور 225-250 rpm در شرایط انکوباسیون قرار داده شدند. به منظور بررسی Time Course در غلظت 2% منابع کربن و به منظور تعیین زمان بهینه تولید در طی مدت زمان تعین شده 24-72 ساعت، نمونه گیری از محیط کشت به صورت روتین و هر 24 ساعت یک بار تا 72 ساعت انجام گرفت. جهت بررسی اثر منابع نیتروژنی بر تولید PHB نیز منابع نیتروژنی مختلف شامل سولفات آمونیوم، نیترات پتاسیم، گلایسین و سیستئین به میزان 2% به طور جداگانه به محیط کشت مایع تلقیح شد و بقیه آنالیز ها مانند منابع کربنی ذکر شده در بالا انجام شد.

تعیین وزن خشک سلولی (DCW): به این منظور در ابتدا نمونه‌ها در شرایط 3000rpm به مدت 2 ساعت سانتریفوژ شدند. سپس مایع رویی یا همان سوپرناتانت دور ریخته شد و رسوب باقیمانده در لوله که همان بیوماس بوده است به منظور تعیین(DCW) و برای خشک شدن در فور قرار گرفت. شرایط ایجاد شده برای خشک شدن و تعیین (DCW) در فور، دمای $50^{\circ}C$ و به مدت 72 ساعت بوده است. پس از آن، به محض خشک شدن ، نمونه‌ها چندین مرتبه وزن شدند آنقدر این کار ادامه یافت تا وزن ثابتی به دست آمد. سپس وزن به دست آمده از وزن لوله حاوی نمونه که در مرحله قبل از نمونه گیری محاسبه شده بود کسر شد، عدد باقی مانده معادل (DCW) نمونه ها بود.

روش سنجش PHB: در این تحقیق، استخراج پلیمر در طی چند مرحله و به روش شیمیایی انجام گرفت. نمونه های برداشت شده از ارلن ها به مدت 2 ساعت با دور rpm 3000 سانتریفوژ شد و به رسوب حاصل 1 میلی لیتر هیپوکلریت سدیم اضافه شد و به مدت 1 ساعت در دمای $60^{\circ}C$ انکوبه گردید، سپس 5 میلی لیتر اتانل 96% و استن به حجم های مساوی و 1 میلی لیتر کلروفرم به نمونه ها اضافه و نمونه ها داخل فور با حرارت $40^{\circ}C$ به مدت 30 دقیقه گذاشته شدند. پس از این مدت به نمونه ها 10 میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه شد و داخل بن ماری با حرارت $100^{\circ}C$ به مدت 10 دقیقه قرار گرفتند. سنجش میزان PHB به روش اسپکتروفتومتری در طول موج 235 نانومتر انجام شد و عدد بدست آمده در منحنی استاندارد وارد شد تا میزان تولید PHB توسط باکتری در حضور هر منبع کربنی بدست آید.

بهینه سازی منابع کربن و نیتروژن: پس از بررسی نتایج و به دست آوردن بهترین منبع کربن و نیتروزن در زمان بهینه مقادیر آن نیز بهینه شد.

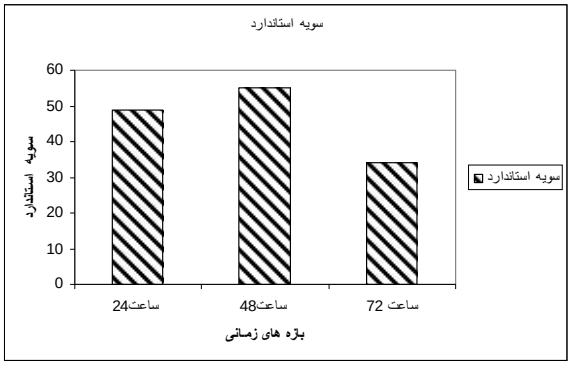
یافته ها

بررسی Time Course غلظت 2% منابع کربنی مختلف بر تولید بهینه PHB: بررسی محیط های کشت تلقیحی طراحی شده در روزهای مختلف نشان داد تولید پلیمر در بازه زمانی 24-48 ساعت سیر صعودی و پس از آن در بازه زمانی 48-72 ساعت سیر نزولی داشته است. به عبارتی حداکثر تولید پلیمر در زمان 48 ساعت روی داد.

بررسی Time Course غلظت 2% منابع نیتروزنی مختلف بر تولید بهینه PHB: پس از بهینه سازی محیط کشت از

لحاظ منابع نیتروژن نیز مشاهده شد که حداکثر تولید پلیمر در زمان 48 ساعت بوده است.

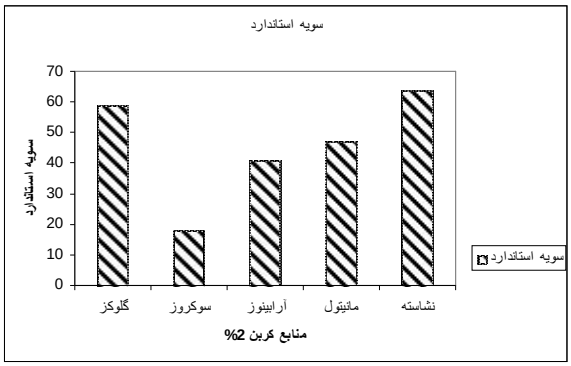
میانگین درصد محصول تولیدی منابع کربن 2% در بازه زمانی 72-24 ساعت: طی تحقیقات به عمل آمده، زمان بهینه جهت تولید PHB، 48 ساعت گزارش شد که میانگین محصول تولیدی در این زمان معادل 54/8% بود (نمودار1).



نمودار1. مقایسه میانگین درصد محصول تولیدی منابع کربن 2% در بازه زمانی 72-24 ساعت

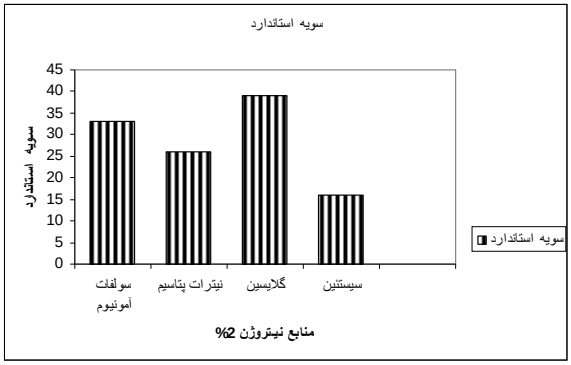
میانگین درصد محصول تولیدی منابع نیتروژن 2% در بازه زمانی 72-24 ساعت: بر اساس نتایج به دست آمده، میانگین محصول تولیدی در زمان ماکزیمم تولید PHB که همان 48 ساعت بود معادل 35% گزارش شد.

میانگین درصد محصول تولیدی برای منابع کربن 2% : بررسی نتایج حاصل از درصد محصول تولیدی برای منابع کربن 2% نشان داد که بهترین منبع کربن جهت تولید بهینه PHB، نشاسته بود که میانگین محصول تولیدی آن 64/44% گزارش شد (نمودار2).



نمودار2. مقایسه میانگین درصد محصول تولیدی برای منابع کربن 2% توسط سویه استاندارد

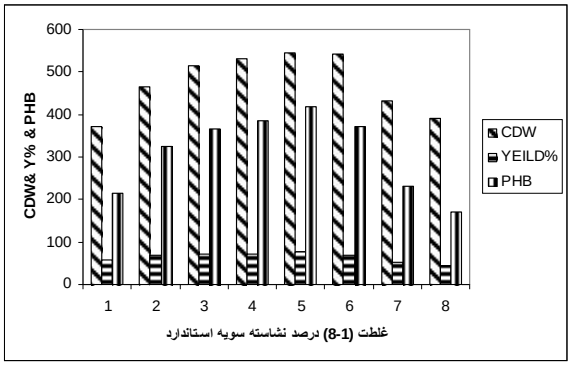
میانگین درصد محصول تولیدی برای منابع نیتروژن2% آلی و معدنی: بررسی نتایج حاصل از در صد محصول تولیدی برای منابع نیتروژن آلی 2% نشان داد که بهترین منبع نیتروژن آلی جهت تولید بهینه PHB، گلایسین بود که میانگین محصول تولیدی آن معادل 39% بود و برای منابع نیتروژن معدنی 2% سولفات آمونیوم به عنوان بهترین منبع و میانگین محصول تولیدی آن معادل 33% گزارش شد (نمودار3).



نمودار3. مقایسه میانگین درصد محصول تولیدی نیتروژن در بازه زمانی 72-24 ساعت

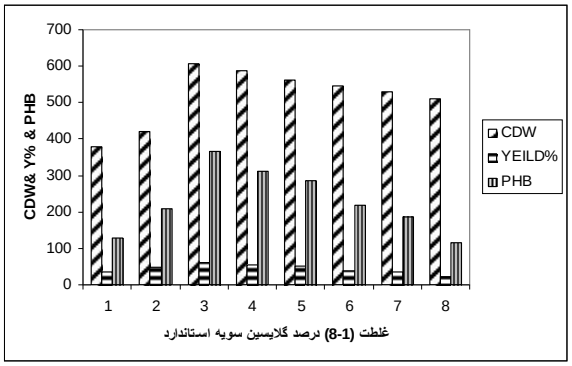
بهینه سازی منابع کربنی، مقادیر آن و رابطه آن با CDW: طبق تحقیقات به عمل آمده از میان منابع کربنی مختلف، نشاسته به عنوان بهترین منبع کربنی در تولید بهینه PHB انتخاب گردید و در بررسی اثر غلظت های (8-1)% نشاسته بر میزان تولید PHB مشخص شد که غلظت 5% نشاسته بهترین غلظت در تولید PHB بود و ماکزیمم محصول تولیدی در این غلظت معادل 76% گزارش شد. حداکثر

میزان CDW نیز در غلظت 5% نشاسته بودو از غلظت (8-6)% کاهش در میزان CDW مشاهده شد (نمودار4).

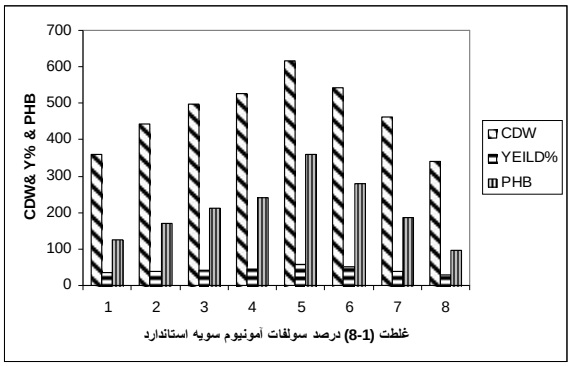


نمودار4. بررسی اثر غلظت (8-1) % نشاسته در زمان کشت 48 ساعت

بهینه سازی منابع نیتروژنی، مقادیر آن و رابطه آن با CDW: بررسی نتایج حاصل از تاثیر منابع نیتروژنی آلی و معدنی مختلف بر تولید PHB توسط این باکتری نشان داد که گلایسین به عنوان بهترین منبع نیتروژن آلی بوده و در بررسی اثر غلظت های (8-1)% گلایسین بر میزان تولید PHB مشخص شد که غلظت 3% بهترین غلظت در تولید PHB بوده و ماکزیمم محصول تولیدی در این غلظت معادل 60% گزارش شد و همچنین سولفات آمونیوم به عنوان بهترین منبع نیتروژن معدنی بود و بهترین غلظت آن جهت تولید PHB معادل 5% و ماکزیمم محصول تولیدی در این غلظت معادل 58% گزارش شد (نمودار های 5و6).



نمودار5. بررسی اثر غلظت (8-1) % گلایسین بر روی سویه استاندارد *B.subtilis* جهت تولید PHB در زمان کشت 48 ساعت



نمودار6. بررسی اثر غلظت (8-1) % سولفات آمونیوم بر روی سویه استاندارد *B.subtilis* جهت تولید PHB در زمان کشت 48 ساعت

بحث

بررسی‌ها در مورد باکتری *B. subtilis* نشان داده که این باکتری توانایی بالایی در سنتز و ذخیره پلیمر PHB را داراست و این توانایی یکی از عوامل بقا و قابلیت زندگی این باکتری در خاک می‌باشد. تولید PHB در این باکتری در سطحی قابل مقایسه با سایر باکتریهای تولید کننده PHB می‌باشد. تحقیقات وسیعی در زمینه سیکل ژنتیکی PHB در این باکتری صورت گرفته اما در زمینه تولید PHB در باکتری *B. subtilis*، در شرایط مختلف محیط کشت و سوبستراهای مختلف بررسی‌های زیادی در ایران صورت نگرفته است.

در مورد بهینه سازی تولید PHB در سایر باکتریها می توان به باکتریهایی *نظیر Alcaligenes latus*، *Alcaligenes eutrophus*، *Pseudomonas* و *Bacillus* اشاره کرد که مهمترین سویه‌های تجاری تولید صنعتی PHB محسوب می‌شوند، بنابراین به دلیل پتانسیل مناسب تولید، به صورت عمده در اپتیمم سازی تولید، بر روی این باکتریها کار شده است. مطالعات Nazime Mercan و همکاران (17) نشان داد که بیشترین تولید PHB توسط گلوکز به عنوان منبع کربن و معادل 19/51% و در زمان 48 ساعت بود.

در بررسی که توسط BelmaAslim و همکارانش (18) انجام شد، آنها میزان تولید PHB را در محیط پایه YMB در غلظت 2% گلوکز به عنوان تنها منبع کربن در تعدادی از

گونه‌های باسیلوس مورد بررسی قرار دادند که حداکثر تولید در این شرایط معادل 74% در سویه *B. subtilis*25 بوده است. در بررسی که ما انجام دادیم، در همین شرایط، باکتری *B.subtilis* ATCC 6633، 76% تولید داشته است. در اینجا اهمیت نسبت غلظت منبع کربن به نیتروژن به خوبی آشکار است و اینکه این باکتری نه تنها در شرایط محدودیت عنصر نیتروژن، بلکه در شرایط معمول محیط کشت نیز، توانایی مناسبی در تولید PHB را داراست.

در مطالعه‌ای که توسط Tavernier و همکارانش (19) انجام شد، اثر منابع کربن و نیتروژنی مختلف و pH آن را بر تولید PHB بر روی سویه *B. megaterium* مورد آزمایش قرار دادند. آنها گزارش کردند که این سویه سرعت رشد مختلفی را در محیط نشان می‌دهد. آنها همچنین به این نتیجه رسیدند که در محیط‌های با pH اسیدی، تولید PHB کاهش می‌یابد و در محیط‌های حاوی فروکتوز و عصاره مخمر مقدار تولید PHB، 85% بوده است. در اپتیمم سازی تولید PHB در باکتریها، فاکتورهای متعددی مورد توجه قرار گرفته است که از مهمترین آنها می‌توان به تعیین سوبستراهای بهینه و شرایط بهینه استخراج پلیمر اشاره کرد. از مهمترین مطالعاتی که دراین زمینه صورت گرفته است، می‌توان به «اندازه‌گیری تولید پلی هیدروکسی بوتیرات به وسیله جنس باسیلوس» اشاره کرد که توسط MiracYilmaz، Haluk Soran و Yavuz Beyatli درمورد باکتری *B. subtilis* انجام گرفته است. در این بررسی اثرات دما، pH و نسبت C/N مورد بررسی قرار گرفته و در واقع بهینه سازی شده است. این مطالعه در مورد این باکتری نشان داد که دما و pH اپتیمم در تولیدPHB ، همان دما و pH اپتیمم رشد باکتری بوده است. ماکزیمم تولید در این شرایط در باکتری مزبور حدود41/67% بود(20).

در مقایسه نتایج بدست آمده در این بررسی با مطالعاتی که توسط Z. Nur Yuksekdag وNazime Mercan در مورد دو سویه مختلف *B. subtilis 25* و *B. megaterium 12* انجام شد بیشترین تولید PHB توسط گلوکز به عنوان منبع کربن و در باکتری *B. subtitis* معادل 19/51% و در باکتری *B. megaterium* معادل 19/49% و در بین منابع نیتروژن نیز پپتون پروتئاز درصد تولید PHB را داشت و در باکتری *B. subtilis* معادل 78/69% و در باکتری *B. megaterium* معادل 77% و در زمان 48 ساعت گزارش شد(21).

Hercan و همکارانش این دو سویه را در محیط‌هایی حاوی Nutrient broth همراه با ترکیبات مختلف اعم از پپتون، سوکروز، گلوکز، آرابینوز، مانیتول، سیستئین، گلایسین، نیترات پتاسیم و سولفات آمونیوم تحت بررسی قرار دادند که مقادیر متفاوت PHB، در زمانهای مختلف، در غلظت 2% منابع ذکر شده تولید شد و نتایج ذکر شده در بالا را نشان داد. این نتایج نشان می‌دهند که این گونه باکتریایی، پتانسیل بالایی را در تولید PHB داراست و در سویه‌های مختلف، نتایج متفاوتی را می‌دهد. با توجه به نتایج حاصل در بررسی که ما انجام دادیم، با افزایش غلظت سوبسترای مناسب مانند گلوکز (2%)، نشاسته (5%)، گلایسین (3%) و سولفات آمونیوم (5%) می‌توان تولید را افزایش داد.

در مطالعه‌ای که توسط Bonartseva و همکارانش انجام گرفت تولید این پلیمر را در گونه‌های مختلف باسیلوسها در شرایط مختلف رشد و در محیط‌هایی با منابع مختلف کربن و نیتروژن آزمایش کردند، آنها به این نتیجه رسیدند که سنتز PHB می‌تواند تحت تأثیر منابع مختلف کربن و نیتروژن القا شود(22). البته توانایی تولید در گونه‌های مختلف بسیار متفاوت بوده است برای نمونه در شرایط کاملاً مشابه با شرایط مورد مطالعهٔ ما و در محیطی که دارای سوکروز به عنوان منبع کربن و نیترات به عنوان منبع نیتروژن بوده است گونه *Rizsobium phaseoli*، 65% و گونه *Rizobium elti*، 1/38% وزن خشک سلولی، PHB سنتز کرده‌اند.

طی مطالعه‌ای که به وسیلهHaluk Soran و همکارانش در سال 2005 بر روی خاک‌های آنکارا صورت گرفت میزان تولید PHB و وزن خشک سلولی سویه‌های مختلف از *B. subtilis* به مقدار 13/93% و 13/47% بود. در مطالعه رابطه بین تولید PHB و زمان بهینه تولید باید گفت که کاهش میزان تولید PHB پس از زمان تولید بهینه، در همهٔ موارد مطالعه شده مشاهده شد، به این معنی که در تمام موارد کار شده، پس از زمان حداکثر تولید، ما همیشه شاهد

کاهش در میزان PHB بوده‌ایم که خود در فاز ساکن یا لگاریتمی رشد می‌تواند باشد. علت این مورد را می‌توان در فرایند متابولیسمی PHB جستجو کرد یعنی باکتری در شرایطی که با کمبود عنصر نیتروژن در مقابل مقادیر فراوان منابع کربن مواجه شود، منابع کربن مازاد را به صورت پلیمرهای PHB در سیتوپلاسم خود به عنوان منبع کربن و انرژی ذخیره می‌کند. در واقع نوعی پس‌انداز متابولیکی انجام می‌دهد تا در شرایطی که با کمبود انرژی و کربن روبه‌رو می‌شود این ذخایر را به مصرف برساند.

نتیجه گیری

نتایج نشان داد که از میان منابع کربنی و نیتروژنی مختلف مناسب ترین غلظت منبع کربنی و نیتروژنی در تولید PHB، لزوما بالاترین غلظت نبوده بلکه بالاترین غلظتی است که منجر به محدود سازی و مهار رشد باکتری نشود.

Refrences

1- Aslim B, Caliskan F, Beyaeli Y. *Poly-β -hydroxy butyrate (PHB) Production by lactic acid bacteria.* FEMS Microbiology Letters. 2008; (2):293-297.

2- Aslim B, Yuksekdag Z, Beyatli Y. *Determination of PHB growth quantilties of certain Bacillus species isolated from soil.* Turkish Electronic jornal of Biotechnology. 2003; (5):24-30.

3- Gouda MK, Swellam AE, Omar SH. *Production of PHB by a Bacillus subtilis strain using sugar cane molasses and corn steep liquor as sole carbon and nitrogen sources.* Microbiological Research. 2001; (156):201-207.

4- Aquilanti L, Favilli F, Clementi F. *Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of Azotobacter from soil samples.* April. Soil Biology and Biotechnology. 2004; 1475-1483

5- Christian K, Paul R. *Bergeys Manual of systematic Bacriology.* 2010; pp: 334-402.

6- Jan H. *The prokaryotes*. Department of Microbiology University of Illinois at Urbana-Champaign. 2006;6: 759-783.

7- Khanafari A, Akhavan Sepahei A, Mogharab M. *Production and Recovery of poly-β-hydroxybutyrate from whey degradation by Azotobacter.* J. Environ. Health. Sci. Eng. 2006; 193-198.

8- Saha SP, Paul AK. *Production of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by azotobacter chroococcum MAL-201*. In: 44th Annual Conference of association of Microbiologists of India.2003; pp: 180.

9- Sureshkumar M, Mudaliar SN. *Production of biodegradable plastics from activated sludge generated from a food processing industrial waste water*. Bioresource Technology. 2004; 95:327-330.

10- Parshad J, Suneja S, Kukeja K, Lakshminarayana K. *Poly-ß-hydroxybutyrate production by Azotobacter chroococcum.* Foliar Microbiology. 2001. 46(4):31`5-520.

11- Page WJ. *Bacterial polyhydroxyalkanoates Natural Biodegradable plastics with a great future.* Canadian Journal of Microbiology.1995; 41: 1-3.

12- Pal S, Paul AK. *Accumulation of biodegradable plastics by Azotobacter.* In: 59th Annual conference of Association of Microbiologists of India. 2000; pp:58.

13- Lee SY. *Bacterial polyhydroxyalkanoates.* Biotechnology and Bioengineering. 1996; 49:1-14.

14- Khanafari A, Akhavan Sepahei A, Mogharab M. *Production and Recovery of Poly-B-hydroxy butyrate from whey degradation by*

Azotocacter.Iran. Environ. Health. Sci. Eny. 2006; 3:193-198.

15- Luzier L, Kocer H .*Materials derived from biomass / biodegradable materials*.Proc Natl Acad Sci. 2007; 6:83-90.

16- Lee S, Labuzek S. *Bacterial poly hydroxyl alkanoates*. Biotechnology and Bioengineering. 1996; 3: 353-357.

17- Mirac Y, Haluk S, Yovus B. *Determination of Poly-β -hydroxy butyrate (PHB) Production by some Bacillus SPP*. World journal of Microbiology & Biotechnology.2005; 21: 466-565.

18- Nur yuksekdag Z, Belma Aslim A, yavuz B, Nazime M. *Effect of carbon and Nitrogen sources and incubation times on Poly-Beta-hydroxy butyrate (PHB) Synthesis by Bacillus subtilis 25 and Bacillus megaterium 12*.African journal of Biotechnology. 2004;3: 63-66.

19- Ojum TV, Yu J, Solomon BO. *Production of poly Hydroxy alkanoates, a bacterial biodegradable polymer*. African journal of Biotechnology. 2004;3: 18-24.

20- Senthil kumar B, Prabakaran G. *Production of PHB(Bioplastics) using bio-effluent as substrate by Alcaligens eutrophus*. Indium journal of Biotechnology.2006; 5: 76-79.

21- Sanders J, Barnard G. *The poly-beta-hydroxybutyrate granule in vivo. A new insight based on NMR spectroscopy of whole cells*. Journal of Biological Chemistry. 1989; 264(6):3286-91.

22- Steinbuchel A. *Biodegradable plastics*. Current Opinion in Biotechnology.1992; 3:291-297.

23- Suzuki S,Yamane S. *Mass Production of Poly-β -hydroxy butyric acid fed-batch culture with controlled carbon/nitrogen feeding*.Appl Microbiol biotechnol. 2009; 2:370-374.

24- Tavernier P, Portais JC, Saucedo JEN, Courtois J, Courtois B, Barbotin JN. *Poly-p- hydroxybutyrate production in two Rhizobium meliloti strains.* Applied and Environmental Microbiology.1994; 63:1. 21-26.

25- TomboUni R, Nuti MD. *Poly (beta-hydroxyalkanolates) biosynthesis and accumulation by different species*. FEMS Microbiology. 1989; 60:299-304.

26- Valentin H E, Schonebaum A, Steinbuchel A. *Identification of 4-hydroxyvaleric acid as a constituent of biosynthetic polyhydroxyalkanoic acids from bacteria*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 1995; 36:507-514.