جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

MCL- Poly (3HA)

پلی هیدروکسی آلکانوئات های با طول متوسط (Medium chain leught pcgy (3hA

گروه بزرگی از پلی استرهای طبیعی هستند که توسط باکتری ها تولید می شوند و تنوع ساختاری بالقوه و بالفعل بالای این پلیمرها باعث افزایش توجه نسبت به تولید اقتصادی آن ها شده است . کنترل مونورهای تشکیل دهنده و استراتژی های مختلف تخمیر که امکان طراحی و ساخت پلیمرهای با ساختار ویژه را فراهم می سازد . علاوه بر آن پلی (3HA) های فعال شده برای تغییرات شیمیایی بیشتر نیز تولید شده اند .

تولید MCLPHA در طبیعت به اعضای از جنس Pseudemenas که متعلق به همولوژی rRNA نوع I هستند محدود می شود . درمیان این جنس گونه های , P .flueresceus P .aeruginesa ، P.oleovorans ، P.lemonnieri ، P . testeroni ، P . puteda ، قرار دارند .

MCL –poly3HA تنها یک نوع پلیمر نیست بلکه خانواده های بزرگی از انواع پلی استرها است که ترکیب و ویژگی های آن با توجه به ترکیب مونورهای در دسترس متفاوت است تاکنون بیش از ۱۰۰ نوع MCL –poly3HA شناسایی شده اند که دارای مونورهای بین ٦ تا ١٦ کربن و زنجیره های متنوع اشباع ، غیر اشباع ، بدون شاخه ، دارای شاخه‌ی آلیفاتیک ، یا آروماتیک هستند . علاوه بر این ها مونومرهای با انواع گروههای جانبی فعال نظیر اتم های هالوژن ، هیدروکسی ، اپوکسی ، سیانو ، کربوکسیل

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

، فنوکسیل ، سیانوفنوکسی ، نیتروفنوکسی و همچنین کربوکسیل استری شده قابل پلیمریزه شدن به MCL –poly3HA هستند . تمامی پیوندها به علت خاصیت فضا ویژگی آنزیم های پلیمر از به صورت R می باشند . وزن مولکولی پلیمرها بسته به نوع میکروارگانیسم ، نوع پلیمر و شرایط رشد بین ۲×۱۰^{۵} تا ۳×۱۰^{۶} است .

نقش زیستی

MCL –poly3HA ها به عنوان منابع ذخیره‌ی کربن ، انرژی در باکتری ها عمل می کنند و هنگامی که کربن مازاد بر نیاز در محیط موجود است تولید می شوند . از آنجا که این ترکیبات به صورت پلیمر ذخیره می شوند بنابراین تغییر محسوسی در فشار اسمزی سلول نمی دهند . هنگامی که منبع کربن خارج سلولی کاهش یابد این پلیمرها توسط آنزیم های دپلیمراز درون سلولی تجزیه شده و مورد استفاده قرار می گیرند . تبدیل منابع غذایی اضافه به مواد ذخیره ای دارای ارزش بقا است چون دسترسی میکروارگانیسم های رقیب را به آنها کاهش می دهد .

کارکرد احتمالی دیگری که MCL –poly3HA میتواند داشته باشد در سم زدایی است . ترکیباتی مثل آلکان ها ، آلکانول ها و اسیدهای چرب در غلظت های پایین برای میکروارگانیسم ها سمی محسوب می شوند و حذف سریع آنها از طریق تبدیلشان MCL poly3HA–زیستایی میکروارگانیسم ها را افزایش می دهد .

MCL در مقابل SCL

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

در طبیعت انواع مختلف poly3HA دیده می شود و هر ناظری کارکردهای متنوع را برای آنها انتظار دارد . هنگامی که منبع غذایی باکتری ترکیبات آلیفاتیک باشند – MCL poly3HA ها فرم مناسبی برای ذخیره سازی هستند . در مقابل (3HA) SCL – Pcly ها در حضور کربوهیدرات بهتر و بهینه تر به نظر می رسند . اگر فرض کنیم که مونورهای poly3HA پس از دپلیمریزه شدن توسط ATP فعال می شوند . دراین صورت به عنوان مثال تبدیل کانوئیک اسید به poly3HA– MCL و سپس تبدیل آن به استیل کوآ نسبت به تبدیل مستقیم آن به استیل کوآ تنها مصرف یک ATP اضافی را می طلبد . در صورتی که اگر پلیمر poly3HA– SCL {poly3HA} باشد ۲/۵ مولکول ATP باید مصرف شود (شکل –) . درکنار صرفه جویی در انرژی توانایی poly3HA– MCL در حفظ قدرت احیا (Reducing power) ی مولکول نیز بیشتر است . تبدیل کانوئیک اسید به ۳- هیدروکسی کانوئیک اسید تنها منجر به تولید یک FADH می شود و باقی قدرت احیا در مولکول محفوظ می ماند . در مقابل تبدیل آن به ۳- هیدورکسی – بوتیریک اسید معادل NADH ۱/۵ و FADH ٤ تولید می کند و قدرت احیای کمتری را در مولکول باقی می گذارد .

در مقابل poly3HA– SCL ها در صورت استفاده از کربوهیدرات ها منابع ذخیره ی بهتری هستند . این امر بدین خاطر است که تولید poly3HA– MCL از طریق سنتز

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

اسید چرب نیازمند مصرف ATP و قدرت احیای بیشتری است با تجزیه ی آن توسط مسیر بتا – اکسید اسیون .

بنابراین به طور خلاصه در صورت استفاده از سوبستراهای آلیفاتیک MCL –poly3HA یک ترکیب ذخیره ای مناسب و در صورت استفاده از سوبسترا های کربوهیدراتی SCL –poly3HA یک ترکیب ذخیره ای مناسب است .

بیوسنتز و متابولیسم :

همانطور که پیشتر اشاره شد ، نوع مونومرهای تشکیل دهنده ی MCL –poly3HA بستگی به نوع منبع کربن حاضر در محیط دارد . مثلا در P.olecvorans بسته به نوع n– آلکانی که به باکتری داده شود نوع پلیمر محصول متفاوت است . در طی این آزمایشها دیده شده که این آلکان طی از دست دادن گروههای دو کربنه تجزینه شده اند . بنابراین احتمال اینکه مسیر بتا – اکسید اسیون در سنتز MCL –poly3HA دخیل باشد . مطرح شده این نوع نتایج بعدا تائید شده و ژن های مربوط شناسایی شدند . مسیر معمول سنتز MCL –poly3HA از طریق بتا – اکسیداسیون در شکل – آمده است شکل مقابل بتا– اکسیداسیون مسیر بیوسنتز اسیدهای چرب MCL –poly3HA بدین طریق نیز تولید میشود :

نتایج آزمایشها با طبیعت این مسیرها سازگار هستند . به عنوان مثال رد p.putede kt2442 سه نوع مسیر متفاوت برای تبدیل هگزانوئیک اسید به MCL –poly3HA قابل

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

مشاهده است هگزانوئیک اسید می تواند مستقیما پس طی یک نیم چرخه از بتا – اکسیداسیون تبدیل به ۳- هیدروکسی – هگزانوئیک اسید شده و در ساختار PHA شرکت کند . یا آنکه در چرخه ی بتا- اکسیداسیون تماما به استیل ـ کوآ تبدیل شده و استیل کوآ برای بیوسنتز مونومرهای مختلف C_6 تا C_{14} بکار گرفته شود. از طرف دیگر وجود مونومرهای غیر اشباع حاکی از آن است که سنتز Denevo ی اسیدهای چرب صورت می پذیرد . همچنین مدارکی مبنی بر طویل شدن خود هگزانوئیک اسید وجود دارد .

از طرف دیگر ترکیباتی بی ارتباط چون گلوکز ، فروکتوز و گلیسرول هم میتوانند به MCL –poly3HA تبدیل شوند . این نوع پلیمرها تنها مونومرهای C_8 و C_{10} دارند . علاوه بر این حضور وابسته به دمای اسیدهای چرب غیر اشباع و قطع تولید – MCL poly3HA در حضور سرولنین (Cerulenin) (یک مهار کننده ی سنتز اسیدهای چرب) تبدیل این ترکیبات از طریق بیوسنتز اسیدهای چرب (مسیر دوم) را تائید می کند .

www.kandoocn.com

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

طراحی فرآیند در دو گونه ی pseudemenas

طراحی فرایند در تولید MCL –poly3HA بیشتر روی بهینه سازی فاکتورهای چون yield , producfivity و درصد poly3HA در بیومس توجه داشته است . تولید MCL –poly3HA در مقیاس پایلوت در مورد p.putida و p. oleovoraw به خوبی مطالعه شده است . این دو گونه تفاوت بسیار زیادی را در شرای تولید نسبت به یکدیگر نشان می دهند .

p.oleovoran به علت حضور پلازمید OCI 1 می تواند از آلکان ها و آلکن ها به عنوان سوبستر استفاده کند . P.putidan قادر به این کار نیست ولی در مقابل می تواند کربوهیدرات را برای تولید MCL –poly3HA مصرف کند . p . putida قادر است MCL –poly3HA را در فاز رشد نمایی (هنگامی که منابع به فراوانی در دسترس هستند) تولید کند ، در حالی که p. oleovoran تنها در صورتیکه کمبود یکی از منابع رشد را محدود کرده باشد دست به تولید MCL –poly3HA می زند .

p. olevoran

استفاده از p. oleovoram برای تولید MCL –poly3HA در شرایط fed- batch و پیوسته (continuom) صورت گرفته است . محیط های رشد دو فازی شامل یک فاز آبی محتوی باکتری و یک فاز آلی اکتان بوده اند . وجود فاز الی در فرمانتوراین امکان را فراهم می سازد که بدون وارد کردن مرتب ترکیبات کربنی ، منبع کربن باکتری همواره

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

تامین باشد . پس ازیک فاز batch اولیه (٤٨ ساعت) غلظت بیومن به $۳۷/۱ gl^{-۱}$ رسد که حاوی ٪۳۳ و MCL –poly3HA بود . پس از این زمان نیتروژن به صورت منبع محدود در آمد . به طور کل pooductivity معادل $۰/۲۵ \ h^{-۱}gh^{-۱}$ بدست آمده است .

کشت در شرایط پیوسته با نرخ رشد $۰/۰۵ \ h^{-۱}$ در اکثر productivity $gl^{-۱}$ ۰/۵۸ و حداکثر غلظت بیومس $۰/۵۸ \ l^{-۱}gh^{-۱}$ انجام شده ولی در شرایط محتوای MCL – poly3HA به ۲۰٪ کاهش یافت . به نظر می رسد که توانایی نگهداری بیو پلیمر را کاهش می دهد .

برای بهتر شدن کار ، محیط های کشت برای نتیجه دادن چگالی حدود $۱۰۰ \ gl^{-۱}$ سلول تنظیم شدند . در شرایط fed – batch بیشینه ی غلظت بیومس به $۱۲ \ gl^{-۱}$ و priductivity بیومس به $۱/۸ \ gl^{-1}$ افزایش یافت . اما productivity ، MCL – poly3HA پایین و در حدود $۰/۳٤ \ l^{-۱}gh^{-۱}$ بود . ارائه ی همین شرایط به محیط chemistat که در بالا معرفی شد نیز موجب افزایش درصد بیوپلیمر نشده و محتوای MCL –poly3HA در سلول در حدود ۱۰٪ باقی مانده . علت پایین ماندن متحوای MCL –poly3HA در این شرایط هنوز مشخص نیست . فمانتاسیون fed –batch دیگری نیز با سوبسترای اکتانول و اکتانوآت انجام شد و در حضور اکسیژن خالص درصد MCL –poly3HA به ٪۳۷ و pooductivity به $۹/۳ \ l^{-۱}gh^{-۱}$ رسید . به علت تجمع سمی اکتانوآت غلظت های بالاتر بیومس غیر قابل دسترسی بود .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

یک فرایند بهینه و کارا که برای تولید بیشتر MCL –poly3HA به کار گرفته شد شامل دو مرحله ی پیوسته بود . در مرحله‌ی نخست بیومس تولید شد و در مرحله‌ی دوم MCL –poly3HA در غیاب نیتروژن به ٪۶۳ محتوای سلول به productivity ، $۱/۰۶\ l^{-۱}gh^{-۱}$ رسید . این رقم بیشترین مقدار تولید شده ی MCL –poly3HA در pl oloeavoram تاکنون (1997) است .

p. putide

برای تولید MCL –poly3HA توسط p.putida ، برخلاف p.oleovoram نیازی نیست که باکتری حتما در شرایط کمبود منبع قرار داده شود . از طرف دیگر p.putida قادر به مصرف آلکان ها و آلکن ها نیست و در عوض از اسیدهای چرب به عنوان منبع کربن برای این باکتری استفاده شده است . از اسیدهای چرب نمی توان به عنوان فاز دوم در فرمانتور استفاده کرد چون غلظت بالای آنها برای باکتری ها سمی است . در شرایط پیوسته p . putida با استفاده از اولئیک اسید MCL –poly3HA را با محتوای ٪۳۳ در غلظت $۳۰\ gl^{-۱}$ و با pooductivity ، $۰/۶۷\ l^{-۱}gh^{-۱}$ تولید کرده است .

برای آزمایش شرایط fed – bafch روی این باکتری نیاز بود که غلظت اسیدهای چرب به طریقی سنجیده و تنظیم شود که بالا رفتن آن باعث ممانعت از تولید نشده و پایین آمدن آن نیز ادامه رشد باکتری ها را محدود نکند . روش های HPLC برای سنجش ترکیبات آلیفاتیک معرفی شده اند ولی این روشها کارایی لازم را برای سنجش اسیدهای

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

چرب طویل در محیط آبی ندارند . در عوض ، برای تامین شرایط مطلـوب Exhansticn سوبسترا که به خاطر افزایش ناگهانی غلظت اکسیژن ایجاد می شـد بـه عنـوان سـیگنالی برای وارد کردن مقداری اسید چرب (به صورت یک پالس) به محیط در نظر گرفته شد . به این ترتیب و مدت زمانی کمبود اسید چرب حداقل و امکان مسمومیت نیـز کـاهش یافت . با استفاده از اسیدهای چرب روغن نارگیل به عنوان سوبسترا در این مسمویت نیز کاهش یافت . با استفاده از اسیدهای چرب روغـن نارگیـل بـه عنـوان سوبسـترا در ایـن فراینـد $^{-1}$ ۱۳۱gl بیـومس پـس از ۳۶ سـاعت بدسـت آمـد کـه محتـوی ٪۵۹ – MCL poly3HA با pooductivity ، $^{-1}$gh^{-1} l ۲/۳ بود که بالاترین میزان گزارش شـده تـاکنون است . همین آزمایش با اسیدهای چرب حاصل از ترکیبات دیگری نظیر بـا مخلـوطی از آنها با موفقیت انجام شـده اسـت کـه امکـان تولیـد MCL –poly3HA بـا مونومرهـای مختلف فراهم ساخته است. ایـن نتـایج نشـان مـی دهنـد کـه فراینـد fed-batch بـرای p.putida مناسب است و بیومن پایین که در chemiytat ایجاد می شـود ، cale – up آن را از لحاظ اقتصادی مشکل می کند.

تنظیم مونومرهای MCL –poly3HA

همانطور که در بخش بیوشیمی گفته شد، چرخه های بتا –اکسیداسیون بیوسنتز اسیدهای چرب، در متابولیسم MCL –poly3HA دخیل هستند . ازآنجا که اعضای این چرخه هـا

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

و همچنین آنزیم های سنتز کننده ی PHA شدت غیر اختصاصی هستند. دستکاری و تعیین مونومرهای تشکیل دهنده ی MCL –poly3HA از طریق تغییر سوبستر امکان پذیر است .

طول و عدم اشباعیت مونومرهای MCL –poly3HA . استفاده از اولئیک اسید (یک پیوند غیر اشباع و ۳- هیدورکسی –اسید چرب های ۳: c۱٦ و ۳: ۱٤ c به ترتیب باعث حضور مونومرهای دارای یک، دو و سه پیوند غیر اشباع در MCL –poly3HA می شود. همچنین استفاده از مخلوطی از اکتان و ۱- اکتن بسته به نوع ۱- اکتن میزان پیوندهای غیر اشباع بین ٪ ۰ تا ٪ ۵۰ تغییر می کند. همچنین استفاده از اسیدهای چرب، آلکان ها و یا آلکن های با طول های مختلف حضور مونومرهای متناسبی را در – MCL poly3HA باعث می شود و در صورت استفاده از مخلوط ها نوع مونومرها بستگی به نسبت سوبستراهای استفاده شده دارد. MCL –poly3HA با استفاده از اسیدهای چرب حاصل از مازاد تولیدات صنعتی نظیر talleil نیز قابل تولید است و بنابراین راه حل خوب و ارزانی برای تجدید بسیاری از منابع محسوب میشود. جالب اینجاست که مگر در مورد مونومرهای دار و گروه بزرگی از تک مونومرهای با فراوانی پایین ، ساختار کلی MCL –poly3HA تفاوت چندانی با پلیمر حاصل از اولئیک اسید نداشته است.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

تولید MCL –poly3HA با دیگر کارکردها

poly3HA هایی که در مونومرهای خود حاوی زنجیره های جانبی باشند . poly3HA های فعال نامیده می شوند. یکی از روش های قابل استفاده برای تولید – MCL poly3HA فعال استفاده ی همزمان از دو نوع سوبستر است. به طور کلی سوبستراهای تولید MCL –poly3HA سه گروه تقسیم می شوند: ۱ . سوبستراهایی که باعث رشد سلول می شوند ولی باعث تولید پلیمر نمی شوند.

۲. سوبستراها که باعث تولید پلیمر می شوند ولی باعث رشد نمی شوند . ۳. سوبستراهایی که باعث رشد سلول و تولید پلیمر می شوند. حال با توجه به نوع سوبسترا روشهای غذادهی برای تهیه‌ی بیوپلیمر مطلوب باید طراحی شوند. نشان داده شده است که استفاده از مخلوط منابع کربن نظیر نیترات / آن نداشت یا گلوکز / آکتانوئیک اسید که به ترتیب باعث رشد سلول و تولید پلیمر می شوند برای تولید MCL –poly3HA فعال روش مناسبی است. بدین ترتیب کربوهیدرات ها برای تامین نایز انرژی سلول و اسیدهای چرب برای تامین سوبسترای تولید پلیمر استفاده میشوند.

روش دیگر استفاده از فرایندهای دو مرحله ای است که مثالی از آن نیز پیشتر درمورد p.oleovosan آمد. در مرحله اول ترکیبات کمک کننده به رشد درمحیط کشت داده

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

شده و در مرحله دوم سوبستراهای پلیمر با کمک این روش تولید انواعی از MCL – poly3HA با گروههای چند فلئوره ، سیانو و نیتروفنوکسی تولید شده اند .

رشد باکتری و تولید MCL –poly3HA روی حلال های آلی روش های دیگری را می طلبد . مثلا برای ۱- هگزن ، ابتدا این حلال توسط حلال غیر متابولیت دیگری رقیق شده و سپس توسط p.oleovoram تبدیل به MCL –poly3HA شده است . در این مورد شرایط کشت پیوسته بود . نشان داده شده که محدود شدن منبع کردن به تولید بیشتر MCL –poly3HA کمک می کند.

انتقال اکسیژن

انتقال اکسیژن در فرایند تولید MCL –poly3HA اهمیت بسزایی دارد . نرخ مصرف اکسیژن در فرایند بسیار بالا و در حدد $۲۰۰mm\ l^{-۱}h^{-}$ تا $۲۲۰mm\ l^{-۱}h^{-}$ است هنگامی که از ترکیبات احیا شده ای نظیر آلکان ها و اسیدهای چرب به عنوان سوبستر استفاده می شود، مقدار زیادی اکسیژن برای آن و تبدیل آن ها به مونومرهای MCL – poly3HA مورد نیاز است.در فرمانتاسیون fed-batch توسط p.putida که بیشتر در مورد آن بحث شده انتقال اکسیژن محدود کننده ی رشد و productivity و غلظت بیومس نهایی است . پس از مدتی رشد بیومس متوقف می شود چون تمام اکسیژن برای حفظ حالت موجود سلول ها مصرف می شود. تمامی فاکتورهای فرایند نظیر، productivity، علظت نهایی بیومس، علظت نهایی poly3HA و غیره ، حداکثر میزان

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

انتقال اکسیژن در طی فرمانتاسیون وابسته اند. از طریق دیگر افزایش بیش از حد انتقال اکسیژن باعث مصرف زیاد از حد آن و تولید حرارت اضافه میشود که مشکلات جدیدی را ایجاد می کند.

برای کاهش مصرف اکسیژن روش های مختلفی پیشنهاد شده اند که در اینجا دو مورد را که از بقیه موفق تر بوده اند را آورده ایم. نخست، با افزایش محتوای poly3HA بیومس میزان اکسیژن سلول کاهش می یابد. دوم ، با استفاده از ترکیبات اکسید شده نیاز به مصرف اکسیژن کاهش می یابد. به عنوان مثال، امکان استفاده ی همزمان از نیترات و اکتانوئیل اسید یا گلوکز و اکتانوئیک اسید در شرایط fed-batch برای p.putida وجود دارد . این یافته نشان یم دهد که pseudcmcnas ها توانایی مصرف سوبستراهای بی ارتباط را حق در شرایط وجود منبع مازاد بر نیاز دارند.

ژنتیک مولکولی و سویه های نوترکیب

روش دیگری که برای افزایش تولید و محتوای MCL –poly3HA به کار گرفته شده است، دستکاری ژنتیکی باکتری ها بوده است . با این هدف سویه های نوترکیب از pseudemenad ها و : E.ccli تهیه شده است .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

pseudemenad های نوترکیب

po2 ، p.pleovorans ، p.putida kt2442 و p.aeroginosa pao1 از لحاظ تولید MCL –poly3HA بیشتر از دیگر سویه ها از لحاظ ژنتیکی مطالعه شده اند. نتایج مطالعات ژنتیک مولکولی نشان می دهد که این باکتری ها دارای دو poly3HA پلیمراز هستند که در cluster ژنی pha با عنوان phac 1,phac2 که شده اند. درمورد p.oleovorans نشان داده شده است که این دو آنزیم تفاوت اندکی از لحاظ اختصاصیت با یکدیگر دارند. و هر کدام به تنهایی می توانند کار سنتز را به تنهایی انجام دهند. اضاله کردن کپی های اضافی از این ژن ها به باکتری باعث دو برابر شدن محتوای poly3HA– MCL در شرایط منابع نامحدود می شود. ولی در شرایط منابع محدود تغییر چندانی در محتوای poly3HA دیده نمی شود. آزمایش مشابه در مورد p.putida نتایج مشابهی رسیده اند و نشان می دهند که سویه های نوترکیب pseudemonas که تاکنون تولید شده اند رقیب خوبی برای سویه های وحشی در تولید poly3HA– MCL نیستند.

اما این سویه ها برای تولید پلیمرهایی با مونومرهای غیر عادی به خوبی قابل استفاده هستند. مثلا سویه ای از p.putida که ژن poly(BHA) سنتاز : Thiocapsa pfennung را بیان می کند در شرایط fed-batch توانسته است از ۵- هیدروکسی هگزانوئیک اسید ، ۵- هیدورکسی هپتانوئیک اسید و ۵- هیدورکسی اکتانوئیک اسید است poly3HA از

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

همین مونومرها بسازد و فاکتورهای فرمانتاسیون هم در حد خوبی بوده اند . آزمایش های مشابه نیز موقعیت این سویه ها را در تولید MCL –poly3HA غیر معمول تایید می کنند.

E.coli نوترکیب

فرایندهای Downstrean

روش های جداسازی که برای MCL –poly3HA به کار گرفته می شوند. شبیه روش های جداسازی PBH هستند . این روش ها با استفاده از حلال های کلردار نظیر کلروفرم با متیلن کلراید انجام می شوند . گزارش های تازه تر حاکی از آن هستند که می توان از هگزان یا استون به جای حلال های کلردار استفاده کرد و سپس رسوب دهی را با کمک حلال دیگری (که پلیمر در آن نامحلول است) مثل متانول انجام داد. بدین طریق MCL –poly3HA با خلوص جداسازی می شود.

روش دیگری که برای جداسازی ارائه شده و به جای حلال ها بر سانتریفیوژ متکی است بدین صورت می باشد. ابتدا سلول ها به کمک سانتریفیوژ از محیط کشت جدا می شوند سپس با استفاده از آن مخلوط پروتئاز و شوینده (detergent) اعضای سلولی از یکدیگر جدا می شوند. گرانول ها MCL –poly3HA چگالی نزدیک آب دارند و در طی سانتریفیوژ دوباره رسوب نمی کنند و درعوض روی آب تشکیل یک لانکس با خلوص

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

٪۹۵ را می دهند. از آنجا که وجود DNA کروموروومی باعث افزایش شدید ویسکوزیته ی آب می شود یک ژن که کننده ی نوکلئاز aureus staphylococcus به باکتری وارد شده و به فضای پری پلاسی هدف گیری شده است تا بعد از لیز شدن سلول DNA کروموزومی شکسته شده و تاثیری روی ویسکوزیته نداشته باشد.

علاوه بر روش های ارائه شده در بالا، CO_2 فوق بحرانی هم می توانند با خلوص ٪۱۰۰ در یک مرحله پلیمر را از سلول ها خالص سازی کند.

تولید

MCL –poly3HA در مقابل poly3HA هنوز به مرحله ی تولید انبوه و اقتصادی نرسیده است. ولی کاربردهای فراوانی برای آن ارائه شده اند. در زیر ابتدا تفاوت های تولید MCL –poly3HA در مقابل DCL –poly3HA آورده شده و سپس خلاصه ای از کاربردهای MCL –poly3HA آمده است.

تولید MCL –poly3HA در مقابل تولید DCL –poly3HA

پارامترهای تولید SCL –poly3HA نسبت MCL –poly3HA مورد توجه بیشتری قرار گرفته است . لذا مقایسه همین دو پلیمر با یکدیگر جالب به نظر می رسد. لیستی از تفاوت های این دو پلیمر در جدول آمده است. با نگاهی به این جدول می توان دریافت که نخستین تفاوت محسوس و سهم بین این دو کمتر بودن محتوای پلیمری در – MCL poly3HA است که Productivity و yeild را کاهش داده و هزینه های Downstream

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

و مواد زائد را افزایش می دهد . poly3HA در نسبت وزنی $1/24\ m\,gl^{-1}$ نسبت به بیومس کل تولید می شود در حالی که این عدد در مورد MCL –poly3HA بسته به نوع مونومرها در حدود $1/00 m\,gl^{-1}$ است . همچنین درصد وزنی نیز همانطور که در جدول امده اختلاف فاحشی دارد که از علل توجه به MCL –poly3HA محسوب می شود.

کاربردها و patent ها

از آنجا که مونومرهای MCL –poly3HA مانند پلیمرهای شیمیایی قابل تغییر و طراحی هستند. این پلیمر case بسیار خوبی برای کاربردهای خاص می باشد. این پلیمر را به شکل ها و یا ساختمان های مختلف می توان ساخت .A,B علاوه بر آن به علت یکی بودن چگالی دانه های MCL –poly3HA با آن این ترکیبات در آب تشکیل لاتکس داده و در اب و دیگر حلال ها قابل تغییر شیمیایی هستند.

A) MCL –poly3HAهای غیر اشباع از لحاظ شیمیایی فعال و بی شکل هستند . B) به طور کلی به علت ویژگی های بیان شده این پلیمرها برای استفاده در انواع مواد بسته بندی کننده ی تجزیه پذیر و یا لوازم بهداشتی یک بار مصرف بسیار مناسب هستند. در کنار اینها رد محیط های دریایی که لوازم تجزیه ناپذیر تخریب فراوانی را به محیط ها وارد کرده اند استفاده از تورهای ماهیگیری یا دیگر وسائل نظیر از – MCL poly3HA گزینه ی بهتری است.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

استفاده از MCL –poly3HA در بیوتکنولوژی پزشکی بسیار امیدوار کننده است و همچنین گزارش ها و Patent هایی درمورد استفاده از این پلیمرها در PSA ها ، Rubbe تجزیه پذیر ، چسب های رنگ (که اکنون استفاده ی انواع روغنی آنها در بسیاری از کشورها ممنوع و یا محدود شده است) و یا در بسته بندی پنیر ارائه شده است که لیست آنها در جدول آمده است.

آینده و دیدگاهها

ویژگی های یکتا و ژاوان MCL –poly3HA نظیر تجزیه پذیری و سازگاری با طبیعت ، عدم حساسیت به آب و فعالیت شیمیایی پتانسیل بالایی به آن برای انواع تولیدات صنعتی می کنند .

MCL –poly3HA همانطور که گفته شد گروه بزرگی از پلیمرها است نه یک پلیمر . محتوای مونومری آن متغیر و قابل کنترل و تعیین است. پلیمرهای فعال و آماده ی تغییر شیمیایی قابل تولید هستند. این پلیمر برخلاف poly3HA نمی توانند در مقیاس انبوه استفاده شوند. بلکه گزینه های خوبی برای استفاده ی خاص در شرایط خاص و برای موارد خاص هستند و این امر را مدیون تغییر و تنظیم پذیری محتوای مونومری شان هستند . به عبارت دیگر می توان این پلیمرها را برای استفاده های خاص درمقیاس انبوه تولید کرد.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

هزینه های فرمانتاسیون MCL –poly3HA مربوط به خاطر مواد تغذیه ای هستند ولی قسمت عمده ای نیز مربوط به خنک کردن و دفع مواد زائد می شود. در حال حاضر تلاش برای بهینه کردن این سه فاکتور وجود دارد و همچنین افزایش محتوای پلیمری درون سلول ها می تواند اهمیت بسزایی در کاهش همزمن هزینه های مربوط به تغذیه ی محیط کشت فرایندهای dewnstream خنک کردن و دفع زائد داشته باشد.

راه حل مقابل تولید MCL –poly3HA از طریق فرمانتاسیون ، اصلاح ژنتیکی گیاهان است. تلید MCL –poly3HA در Arabidepsis thaliana مطالعه شده است و محتوای پلیمری ٪٤٠ بدست امده است . برای اقتصادی شدن کشت در گیاهان حدود ۱۵-۱۰ سال بر آورده می شود. گرچه تولید پلیمرها در گیاهان هزینه های کمتری دارد ولی از انعطاف پذیری تنوع مونومرها کاسته خواهد شد.

به طور کلی به دو دلیل MCL –poly3HA هنوز به بازار عرضه نشده است .نخست آنکه هزینه های تولید آن با DCL –poly3HA مقایسه می شود در حالی که این در ترکیبات کاملا متفاوتی هستند MCL –poly3HA برخلاف SCL –poly3HA (که با پلاستیک های معمولی نظیر پلی اتیلن و پلی پروپیلن رقابت می کند) با موادی نظیر اورقان ، ایزوپرن ها و استیرن بوتادی ان ها و کلروپرن ها رقابت می کند. قیمت این مواد در بازار اکنون حدود Kg^{-1} ۵-۲ است درحالی که پلاستیک های معمولی قیمتی در حدود٠/٨٤ تا Kg^{-1} ۱/۱ دارند .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

MCL –poly3HA با قیمت ۳/۵ تا ۶Kg^{-1} توسط فرمانتاسیون قابل تولید است و می بینیم که با این ترکیبات توانایی رقابت دارد.

دلیل دومی برای عدم عرضه ی MCL –poly3HA به بازار وجود دارد. توانایی – MCL poly3HA برای گرفتن شکل های متنوع علاوه بر آن که برتری بزرگی است برای تولید کننده ها یک مشکل نیز محسوب می شود. چرا که طراح فرایند باید در ارتباط نزدیکی با تولید کننده باشد تا کیفیت و ویژگی محصول تامین شود.از طرف دیگر تولید کننده برای آنکه بتواند بازار مناسبی را برای فروش محصول خود به طور عمده و درمقیاس بزرگ تامین کند باید با شبکه ای طراحان فرایند در ارتباط باشد. (همانطور که گفته شد MCL –poly3HA کاربردهای خاص دارند نه عام) اما از طرف دیگر این تنوع محصول ریسک سرمایه گذاری را کاهش می دهد چرا که محصولاتی که طی فرایندهای مختلف تولید شده باشند توسط میان خریدارهای مختلف نیز بازار فروش دارند.

E.Coil نوترکیب

در دسترس بودن E.Coil و فراوانی اطلاعات و امکانات برای مهندسی ژنتیک این باکتری امکان طراحی آن به عنوان یک تولید کننده ی MCL –poly3HA را فراهم ساخته است. سویه های متنوعی از E.Coil نوترکیب قادر تولید MCL –poly3HA ساخته شده اند . به طور کلی برای تولید انبوه این پلیمر مهار کننده ها پاک کننده های به

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

بتا – اکسیداسیون برای در دسترس قرار دادن حد واسط های آن برای ژن های نوترکیب PHA سنتتاز بسیار سفید هستند . همین طور با اضافه کردن آنزیم های اضافی و مهندسی متابولیسم E.Coil می توان تولید MCL –poly3HA خاص را طراحی و تولید کرد و یا وزن مولکولی و طول زنجیره و حتی تا حدودی محتوای پلیمری را تغییر داد. به طور کلی در مهندسی ژنتیک و طراحی متابولیسم E.Coil است ، بازتر و محصولات انعطاف پذیر هستند.

ولی در مقابل مشکل بزرگی که برای E.Coil و دیگر باکتریهای نوترکیب وجود دارد عدم پایداری آنها و از دست دادن پلازمید حاوی ژن نوترکیب است . راه حل کلاسیک استفاده از آنتی بیوتیک ها در مقیاس صنعتی باعث افزایش قابل توجه هزینه ها شده و به صرفه نمی باشد . روش جالبی که به تازگی پیشنهاد شده است استفاده از مینی ترانسپوزون ها برای تخمین انتقال پایدار قابل تنظیم و ارزان ژن phac در باکتری ها است. این روش در بیورآکتورها به کار گرفته شده و بر خلاف سویه های پلازمیدی پایداری سویه ی نوترکیب ٪۱۰۰ حفظ شده است.

به طور کلی آنطور که به نظر می آید E.Coil به علت آسانی فرایندهای فرمانتاسیون و dewnotream ، همچنین سهولت دستکاری ژنتیکی کاندیدای بسیار مناسبی برای تولید انبوه MCL –poly3HA در آینده به شمار می آید.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

خصوصیات پلی –۳– هیدروکسی آلکانوات تولید شده در سویه های E. Coil. نوترکیب مشخص شده است که PHA توسط پلیمرازسیون اسیدهای چرب {R} –۳– هیدورکسی متصل به کوآنزیم A به کمک PHA پلیمرازهای مختلف ، از جمله phac سنتز می شوند.

سنتز چنین مونومرهای متصل به کوآنزیم A می توانند از راههای مختلف ساخته شوند که ساده ترین آنها در Ralstomia entropha دیده می شود. در این مورد β –ketohiolase (phba) و استواستیل – Coa ردوکتاز (phbB) ، مسئل ساختن سوبسترای لازم برای آنزیمهای scl-PHA پلیمراز مانند پلی –۳– هیدورکسی بوتیرات سنتتاز (phba) هستند . سوبستراهای لازم برای ساخت mcl-PHA می توانند از طریق β – اکسیداسیون اسیدهای چرب تولید شوند. طی این مسیرحد واسطهای اسیل C O A – مانند 3-Ketoacyl-coa , eniyl- coa و یا s-3 – hydroxyacyl – coa ساخته می شوند.

تولید PHA با مونومرهای مختلف نشان داده است که ترکیب واحدهای مونومری به طور مشخص بر خواص نهایی پلیمر تاثیر می گذارد. برای کنترل این خواص ، لازم است که بتوان تولید پیش سازهای PHA کنترل و جهت دهی کرد.

روشهای مختلفی برای تغییر ترکیب مونومرهای PHA به کار رفته است. یک نمونه از این روشها ، تغذیه با سوبستراهای مختلف است ، از جمله تولید پلی – ۳– هیدروکسی

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

و همچنین تولید پلیمر انعطاف پذیر پلی ۳- هیدروکسی -۵- فنیل والرات . با این وجود تغییر ترکیب مونومرهای mel – PHA ها به راحتی انجام پذیر نیست، چرا که پیش سازها آنها از مسیر متابولیسم رسیدهای چرب مشتق شده و کنترل تراکم آنها که دشواری است.

بیوسنتز این پلی مرها در ارگانیسم هایی که به صورت طبیعی PHA تولید نمی کنند ، امکان تنظیم آنزیمهای بیوسنتزی و در نتیجه تنظیم سطح سوبستراها را فراهم می کند.

سویه هایE. Coil که دارای نقص و در مسیر β – اکسیداسیون هستند . قادر به تولید mcl-PHA در حضور PHA پلیمراز می باشند. حضور یکی از دو PHA پلیمراز phac1 , phac2 برای تولید PHA در E. Coil جهش یافته کافی است. ذخیره مشخص شده است که مهار مرحله تیولاز در مسیر β اکسیداسیون منجر به افزایش سوبسترهای لازم برای سنتز PHA می شود.

پژوهشی که درسال ۲۰۰۰ بر روی جهش یافته های E. Coil با نامهای IMU193 ,IMU194 انجام گرفت . نشان داد که کتواسیل – COA ها به عنوان حد واسطهای چرخه β – اکسیداسیون ، پیش سازهای اصلی سنتز PHA هستند. در این پژوهش از تغییر آنزیمهای مناسب و تراکم سوبستراها برای جهت دهی کتواسیل – COA ها به مسیر سنتز mcl-PHA استفاده شد و پلیمرهایی با ترکیبات جدید و خواص فیزیکی متفاوت بدست آمد.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

جهش یافته های fad a fad R(IMU194) و همچنین fad B fad R(IMU193) قادر به انجام کامل مسیر β- اکسیداسیون نیستند.

ژن fad R پروتینی که می کند که کنترل منفی بر اکسیداسیون اسیدهای چرب دارد. جهش در fad. R رونویسی از این ژن را مهار می کند. که منجر به تجلی مستمر ژنهای fad می شود . ژن fad A۳- کتواسیل – COA تیولاز را کد می کند و ژن fad B مسئول چهار فعالیت آنزیمی است: انویل . COA هیدراتاز ، ۳- هیدورکسی – COA دهیدروژناز ، $\Delta^3 - cis - \Delta^2 - trans$ اندیل – COA ایزومراز و ۳- هیدروکسی اسیل – COA پلیمراز جهش در fad A و fad B از اکسیداسیون اسیدهای چرب جلوگیری کرده و منجر به تجمع حدواسطهای خاص می شود.

- استفاده از سوبستراهای متفاوت برای سنتز PHA در Coil. E جهش یافته fad R,fad B منفی به جهش یافته IMU193 که فاقد ۳- هیدروکسی اسیل – COA و هیدروژناز است، PHA پلیمراز ۲ از باکتریP. oleovorans Gpol وارد شد و تشکیل PHA از اسیدهای چرب مختلف (C_6 تا C_{18}) مورد بررسی قرار گرفت . بیشترین مقدار PHA در طول رشد با حضور آلکا نوات های بلند زنجیره (C_{16} تا C_{18}) دیده شد. با این حال ترکیب PHA های تولید شده با تغییر طول زنجیره آلکانوات استفاده شده تعیین محسوسی نکرد. پلیمرهای تولید شده از اسیدهای چرب دارای تعداد کربن فرد ، بیشتر از ۳- هیدروکسی هپتانوات (C_7) و ۳- هیدروکسی نونانوات (C_9) تشکیل می شوند و

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

مونومرهای اصلی دارای تعداد کربن زوج از ۳- هیدورکسی هگزانوات (C_6): ۳- هیدروکسی اکتانوات (C_8) و ۳- هیدروکسی دکانوات (C_{10}) .

- تشکیل PHA توسط سویه های نوترکیب E .Coil دارای نقص درمراحل مختلف β- اکسیداسیون :

در این مطالعه ، IMU194 ،E .Coil که فاقد فعالیت ۳- کتودسیل COA- تیولاز است با IMU193 مقایسه شد. برای کنترل تجلی phac2 ، پلازمید BTC2 که حاوی Phac2 است وارد این دو سویه شده و سویه های نوترکیب در محیط حاوی هگزوکانوات کشت داه شدند.

هر دو سویه با سرعت رشد نهایی h^{-1} ۰/۱٤ رشد کردند . با این حال E .Coil IMU194(Pbtc2) حدود هفت برابر سریعتر قادر به استفاده از مونومرها بود . همچنین پس از ۳٦ h از شروع کشت ، IMU194 حاوی ٪۱۵ PHA بود ، در حالی که IMU193 تنها ٪۵ PHA تولید کرده بود. PHA تولید شده توسط IMU194 به وضوح دارای مونومرهای C_6 و C_{10} بیشتری بود.

تولید و استخراج PHB از A.eutroph.us و E .Coil نوترکیب

هم چنانکه گفته شد ، PHA یک پلیمر زیست تجربه پذیر است که توسط بسیاری از میکروارگانیسم و ذخیره می شود و به تولیدات انبوه صنعتی هم رسیده است (توسط ZENECA با استفاده از A. euboph.us) . با وجود تحقیقات و مقالاتی که در مورد

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

ساختار داخل سلولیPHA صورت گرفته : حالت فیزیکی PHA در داخل سلول هنوز به درستی شناخته شده نیست . PHA ساخته شده در گرانولهایی ذخیره می شود . این گرانولها سخت شرایط مناسب به سرعت توسط و پلیمرازهای داخل سلولی تجزیه می شوند . نتایج حاصل از C-NMR سلولهای حاوی PHB نشان از حضور PHB به فرمی متحرک و بی شکل دارند که دسترسی سریع دپلیمرازها به این گرانولها را توجیه می کند. انجماد و نگهداری گرانولها در دمای پایین ، یا تیمار آنها با استون یا یک محلول هیپوکلریت و یا حتی سانتریفوژ کردن شدید باعث تبدیل این گرانولها به کریستال می شود. عکسبرداری های انجام شده توسط TEM نشان می دهند که گرانولهای خشک – منجمد شده دارای پوسته ای کریستالی و داخلی بی شکل دارد .

در باکتری E .Coil ، مولکولهای PHB در داخل غشا ، شناسایی شده اند ولی اثری از گرانولهای PHB وجود ندارد . با وارد کردن سه ژن اصلی آنزیمهای تولید PHB از A.eubophas به E .Coil ، سو نوترکیبی بدست اورده اند که توانایی تولید PHB80 در لیتر را در مدت 40H دارند(در محیط های fed- batch)

روشهای مختلفی برای استخراج PHB وجود دارد که در بخش عمده ای از آنها در قدم اول جدا کردن PHB از سلولها با حلال انجام می گیرد. در تعداد دیگری از روشها تجزیه جز به جز صورت می گیرد که در آنها از سدیم هیپوکلریت استفاده می شود .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

برای استفاده همزمان از حلال و سدیم هیپوکلریت روش دیگری به وجود آمد که در ان از محلولهای کلروفرم و سدیم هیپوکلریت برای استخراج PHB استفاده می شود.

- استخراج PHB

پساز پایان تخمیر ، محیط رشد A. eutrophos حاوی ٪۶۲ وزنی و محیط E .Coil نو ترکیب محتوی ٪۵۹ وزنی PHB می باشد. پس از منجمد خشک کردن سلولها ، پودر حاصل در مجاورت سدیم هیپوکلریت قرار میگیرد که درهر یک از محیطهای بالا به ترتیب ۸۶ ، ۹۵٪ استخراج PHB صورت می گیرد.

PHB بدست آمده از .Coil A. E نوترکیب به ترتیب ۱/۲۰۰/۰۰۰ و ۴/۵۳۰/۰۰۰ گزارش شده است و این البته در حالیست که تنها از کلروفرم برای استخراج PHB استفاده کنیم . در صورت استفاده از محلول هیپوکلریت ، وزن مولکولی PHB در کاهش می یابد . ولی تغییر چندانی در Coil. E نوترکیب دیده نمی شود . این فرایند نشان می دهد که هیپوکلریت بر تجزینه PHB تاثیر مثبت می گذارد .

در آخرین روش برای استخراج PHB از محلولهای کلروفرم و هیپوکلریت به صورت همزمان استفاده می شود . علت بعتر عمل کردن این عمل در این مفهوم پوشیده است که کلروفرم بخش کریستانه گرانولهای PHB را بیشتر می کند و نتایج بدست آمده نشان می دهند که کریستال شدن PHB آن را در برابر محیط مقاوم تر می سازد .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

درکل برای استخراج PHB ابتدا سلولها را خشک – منجمد کـرده و پـودر حاصـله را در مجاورت کلروفرم و هیپوکلریت سدیم قرار می دهیم . نیتجه این فرایند اسـتخراج PHB با در صد بهینگی نسبتا مناسب می باشد.

www.kandoocn.com
www.kandoocn.com
www.kandoocn.com

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

Filename: Document1
Directory:
Template: C:\Documents and Settings\hadi tahaghoghi\Application Data\Microsoft\Templates\Normal.dotm
Title: MCL- Poly (3HA)
Subject:
Author: H.H
Keywords:
Comments:
Creation Date: 4/15/2012 11:30:00 AM
Change Number: 1
Last Saved On:
Last Saved By: hadi tahaghoghi
Total Editing Time: 0 Minutes
Last Printed On: 4/15/2012 11:30:00 AM
As of Last Complete Printing
Number of Pages: 28
Number of Words: 4,388 (approx.)
Number of Characters: 25,018 (approx.)

www.kandoocn.com
www.kandoocn.com
www.kandoocn.com