نشریه علوم و مهندسی جداسازی
دوره دوم ، شماره دوم ، سال ۱۳۸۹، صفحه ۱۳ تا ۲۰

Journal of Separation Science and Engineering
Vol. 2, No. 2, , pp. 13 -20

جداسازی یک میکروارگانیسم تولید کننده بیوسورفاکتانت، آزمایشهای سینتیکی و جداسازی بیوسورفاکتانت از محیط کشت

بهمن همایون[۱]، محمد حسن فضائلی پور[۲*]،مهین شفیعی[۳]

۱. کارشناس ارشد مهندسی شیمی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

۲. استادیار مهندسی شیمی، دانشگاه شهید باهنر کرمان (fazaelipoor@mail.uk.ac.ir)*

۳. دانشیار مهندسی شیمی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

مشخصات مقاله

تاریخچه مقاله :
دریافت ۱۳ اسفند ۱۳۸۷
دریافت پس از اصلاحات ۲٤ اسفند ۱۳۸۸
پذیرش نهایی ۱۷ شهریور ۱۳۸۹

کلمات کلیدی :
بیوسورفاکتانت
کشش سطحی
جداسازی میکروارگانیسم بازیابی با نمک
بازیابی با کاهش pH

چکیده

در این پژوهش یک گونه باکتریایی تولید کننده بیوسورفاکتانت، که قادر بود از روغن زیتون بعنوان تنها منبع کربن و انرژی استفاده کند، از خاک جدا شد. این باکتری، که با آزمایشهای بیوشیمیایی *Pseudomonas aeruginosa* تشخیص داده شد، کشش سطحی محیط کشت را از mN/m ۵۱ به mN/m ۲۷ کاهش داد. نتایج حاصل از آزمایشهای سینتیکی نشان داد که وجود منبع کربنی نامحلول در آب باعث تحریک میکروارگانیسم برای تولید مقادیر بالای بیوسورفاکتانت می شود. روشهای اشباع کردن محیط کشت با نمک، و تغییرpH برای جداسازی بیوسورفاکتانت مورد بررسی قرار گرفت.درروش اول در بهترین حالت، اشباع کردن هر لیتر از محیط کشت با ۳٤۰ گرم سولفات آمونیوم منجر به جدا سازی ۷/۲گرم بیوسورفاکتانت خشک شد. در روش دوم در بهترین حالت با کاهش pH به عدد۲مقدار ۳/۲گرم بیوسورفاکتانت خشک بدست آمد. بیوسورفاکتانت بدست آمده کشش سطحی آب مقطر را تا mN/m ۳٦ کاهش داد.

* عهده دار مکاتبات

حقوق ناشر محفوظ است.

۱- مقدمه

بیوسورفاکتانتها گروهی از مواد فعال سطحی هستند که توسط گونه های مختلفی از میکروارگانیسمها تولید می شوند. مانند سورفاکتانتهای شیمیایی، مولکولهای بیوسورفاکتانتها نیز ازدو بخش آبدوست و آب گریز تشکیل شده است. بخش آبدوست یک بیوسورفاکتانت یک کربوهیدرات، اسید آمینه، و یا یک پپتید است، و بخش آب گریز آن یک اسید چرب اشباع یا غیر اشباع است. بر این اساس بیوسورفاکتانتها در گروههای گلیکولیپیدها، لیپوپروتئین ها، لیپوپپتیدها، و بیوسورفاکتانتهای پلیمری و ذره ای تقسیم بندی می شوند[۱].

بدلیل نگرانیهای محیط زیستی موجود در باره استفاده از سورفاکتانتهای شیمیایی، در سالهای اخیر علاقمندی روزافزونی برای جایگزینی سورفاکتانتهای شیمیایی با بیوسورفاکتانتها ایجاد شده است. پتانسیل کاربرد بیوسورفاکتانتها در حوزه های مختلف بررسی شده است. بیوسورفاکتانتها در فلوتاسیون برای جدا سازی یونهای فلزی [۲]، در پالایش بیولوژیک محیط زیست [۳]، در ازدیاد برداشت نفت [٤]، در انتقال ژن [٥]، و در صنایع غذایی، دارویی، و آرایشی [٦] مورد بررسی قرار گرفته است.

فرضیه های مختلفی در مورد نقش طبیعی بیوسورفاکتانتها در اکوسیستم های میکربی ارائه شده است که از جمله آنها می توان به نقش ضد باکتریایی و ضد قارچی، کمک به جذب سوبستراهای نامحلول، و کمک به چسبیدن و رها شدن از سطوح اشاره کرد [۷].

گونه های میکربی متعددی برای تولید بیوسورفاکتانتها استفاده شده اند. از میان گونه هایی که در مقالات علمی به آنها اشاره شده است می توان به *سودوموناس پوتیدا* [۸]، *آکتینو میست ها* [۹]، *باسیلوس سابتیلیس* [۱۰]، *لاکتوکوکوس لاکتیس* [۱۱]، سویه های *لاکتوکوکوس* [۱۲]، *استرپتو کوکوس ترموفیلوس* [۱۳]، باسیلوس *لیچنفورمیس* [۱٤]، *سودوموناس آئروجینوسا* [۱٥،۱٦]، گونه های *نوکاردیوید* [۱۷]، *باسیلوس پامیلوس* [۱۸]، گونه های *آئروموناس* [۱۹]، گونه های *سراتیا* [۲۰]، سویه های *ردوکوکوس* [۲۱]، و *کاندیدا اینجنس* [۲۲] اشاره کرد.

از سوبستراهای محلول و غیر محلول در آب برای تولید بیوسورفاکتانت استفاده شده است. گلوکز، گلیسرول، آب پنیر، و ملا س سوبستراهای محلول، و روغن های گیاهی، و هیدروکربنها سوبستراهای نامحلولی هستند که برای تولید بیوسورفاکتانت استفاده شده اند [۱،۲۳].

هر چند پژوهشهای نسبتاً گسترده ای برای کشف جنبه های مختلف تولید بیوسورفاکتانت توسط میکروارگانیسم ها انجام شده است، اما تهیه مقرون بصرفه بیوسورفاکتانت نیازمند پژوهشهای بیشتری است. در این پژوهش جدا سازی یک سویه جدید باکتریایی تولید کننده بیوسورفاکتانت گزارش شده، و روشهای جداسازی بیوسورفاکتانت از محیط کشت با هم مقایسه شده است.

۲- روشها

۲-۱-تهیه محیط تخمیر

از یک محیط کشت معدنی پایه با ترکیب ذیل برای تخمیر استفاده شد:

KH_2PO_4; 3.4g/L, K_2HPO_4; 4.3g/L, $NaNO_3$; 4g/L, $MgCl_2.7H_2O$; 0.2g/L, $CaCl_2.2H_2O$; 0.04g/L, $FeSO_4$; 0.03g/L, $MnCl_2$; 0.001g/L, $NaMoO_4$; 0.002g/L, CuSO4; 0.0001g/L, H_3BO_3; 0.0003g/L, $ZnSO_4$; 0.0015g/L.

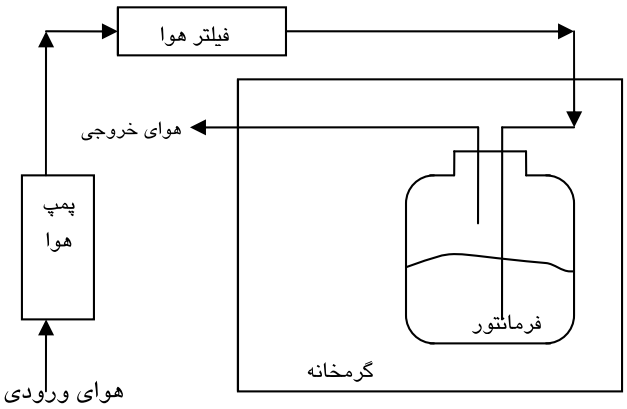
از روغن زیتون بعنوان منبع کربن استفاده شد. همه مواد به جز روغن زیتون با درجه آزمایشگاهی بودند. روغن زیتون مورد استفاده دارای درجه غذایی بود. قبل از تلقیح با میکروارگانیسم، محیط کشت معدنی همراه با روغن زیتون به مدت ۱٥ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس درون یک اتوکلاو استریل شد.

۲-۲ جداسازی میکروارگانیسم های تولید کننده بیوسورفاکتانت

نمونه های مختلفی از خاک باغچه در محوطه دانشگاه جمع آوری شد. حدود ۳ گرم نمونه از خاک با ۱۰۰میلی لیترآب مقطر مخلوط شده و پس از بهم زدن توسط پارچه صاف شد. یک میلی لیتر از هر یک از محلول های بدست آمده به ارلنی (به حجم ۲۵۰میلی لیتر) محتوی ۵۰ میلی لیتر محیط کشت و ۱ میلی لیتر روغن زیتون اضافه شد. ارلن ها سپس در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرما گذاری شدند. پس از گذشت ۳ روز، رشد میکربی در بعضی از ارلن ها مشهود بود. با انتقال نمونه هایی از این محلول های حاوی میکروارگانیسم به محیط کشت جامد آگار مغذی، کلنی های تک بدست آورده شدند. با کشت مجدد این کلنی ها تحت شرایط استریل، توانایی هریک از آنها برای رشد بر روی روغن زیتون بعنوان تنها منبع کربن و انرژی مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۳ تخمیر

از یک ظرف شیشه ای به حجم ۲ لیتر بعنوان بیوراکتور استفاده شد. این ظرف دارای مجاری برای ورود و خروج هوا بود. برای هر آزمایش بیوراکتور با مقدارمعینی محلول معدنی پایه و روغن زیتون پر شده و ا ستریل می شد (مقادیر محیط کشت معدنی و روغن مربوط به هر آزمایش درذیل آمده است) . محیط کشت سپس با یک لوپ پر از میکروارگانیسم تلقیح می شد. هوا با شدت جریان ٤۰۰میلی لیتربر دقیقه توسط یک پمپ کوچک (پس ازعبور از یک فیلتر) به محیط تخمیر وارد شده و بصورت حباب از محیط کشت بالا آمده و آنرا ترک می کرد. کل سیستم درون یک گرمخانه در دمای ۳۰ درجه سلسیوس قرار ذاده شد. نمونه گیری از محیط کشت توسط یک سرنگ انجام می شد. شکل (۱) سیستم مورد استفاده برای تخمیر را بطور ساده نشان می دهد.



شکل (۱) : شکل ساده ای از سیستم تخمیر

۲-۴ اندازه گیری توده زیستی

سلولهای میکربی توسط سانتریفوژ (۵۰۰۰دور در دقیقه معادل ۳۰۰۰gبه مدت ۲۰ دقیقه) از محیط کشت جدا شدند. توده زیستی جدا شده بعد از شستشو در یک آون تا رسیدن به وزن ثابت خشک شد.

۲-۵ اندازه گیری کشش سطحی

کشش سطحی محیط مایع توسط یک تنسیومتر دیجیتال اندازه گیری شد (Kruss K12).

۲-۶ بازیابی بیوسورفاکتانت از محیط کشت

بیوسورفاکتانت تولید شده بادو روش از محیط کشت جدا شد: روش اشباع با نمک، و کاهش pH. در روش اشباع با نمک، محیط کشت با سولفات آمونیوم و کلرید سدیم اشباع شده و ماده کرم مانندی که بر روی سطح تشکیل شد جدا شده و تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید. در روش دوم pH محیط تا ۲ کاهش داده شد و ماده کرم مانند جمع شده بر روی سطح جدا و تا رسیدن به وزن ثابت خشک شد.

همه اندازه گیریها با دو بار تکرار انجام شد. و اعداد قرائت شده توسط دستگاهها میانگیری شده و تا دورقم اعشار گرد شده و ارائه شدند.

۳- بحث و نتیجه گیری

۳-۱ جداسازی میکروارگانیسم های تولید کننده بیوسورفاکتانت

سه سویه متفاوت با توانایی رشد بر روی روغن زیتون بعنوان تنها منبع کربن و انرژی بدست آمد. توانایی این سه سویه برای کاهش کشش سطحی محیط کشت با یکدیگر مقایسه شد. هر سه سویه قادربودند تا کشش سطحی محیط کشت را به میزان قابل ملاحظه ای کاهش دهند. سویه ای که باعث بیشترین کاهش در کشش سطحی محیط کشت شد (۵۱ تا ۲۶/۳میلی نیوتن بر متر) برای ادامه آزمایشها انتخاب شد. این میکروارگانیسم یک گونه باکتری میله ای شکل، گرم منفی، و متحرک بود. کلنی های آن بر روی نوترینت آگاردایره ای شکل و سفید بودند. تستهای ذیل برای این باکتری مثبت بود: احیای نیترات به نیتریت، استفاده از سیترات، فعالیت اکسیداز،کاتالاز، و آرژینین دی هیدرولاز،تولید اسید از گلوکز، زایلوز و ومانوز.تستهای ذیل برای این باکتری منفی بود: رشد بر روی اسید مالونیک، تولید ایندول و سولفید هیدروژن، متابولیزه کردن اوره، فعالیت بتا گالاکتوزیداز،تولید اسید از آرابینوز، فروکتوز،مالتوز، رامنوز، و مانیتول. با استفاده از "دستورکار باکتری شناسی برگی" گونه باکتری، آئروجینوسا، و جنس آن سودوموناس تشخیص داده شد (*Pseudomonas aeruginosa*)[۲۴].

۳-۲ تولید بیوسورفاکتانت

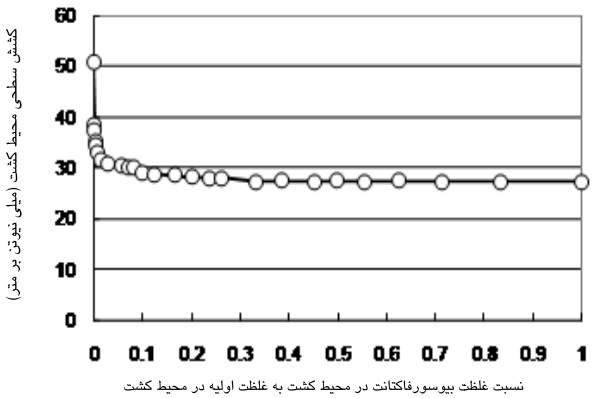
تولید بیوسورفاکتانت تحت شرایط هوادهی در فرمانتور حاوی ۵۰۰ میلی لیتر محیط کشت معدنی و مقادیر مختلف روغن زیتون مورد بررسی قرار گرفت. در همه آزمایشها تشکیل کف به میزان زیاد، شاهدی بر تولید بیوسورفاکتانت بود. جدول (۱) pH، کشش سطحی، و توده زیستی تولید شده را بعد ۴۸ ساعت نشان می دهد. هر چند در همه این آزمایشها قطرات روغن زیتون پس ازخاتمه تخمیر در محیط کشت وجود داشت (یعنی روغن زیتون به میزان اضافی مورد استفاده قرار گرفته بود)، با این وجود همانطور که جدول (۱) نشان می دهد استفاده ا ز مقادیر اولیه بیشتر روغن زیتون، تأثیر مثبت بر فعالیت باکتری داشته است. این را می توان با مقایسه میزان توده زیستی و pH محیط کشت پس از تخمیر در سه غلظت متفاوت استفاده شده برای روغن زیتون نتیجه گرفت.

جدول (۱) :تولید بیوسورفاکتانت تحت مقادیر اولیه متفاوت روغن زیتون

روغن زیتون(mL)	وزن توده زیستی خشک(g/L)	کشش سطحی (mN/m)	pH
۱	۱/۴۵	۲۸/۱۷	۷/۴۳
۳	۱/۸۴	۲۷/۸۴	۷/۹۲
۵	۳/۲۷	۲۷/۲۳	۹/۳۵

۳-۳ تخمین غلظت بیوسورفاکتانت در محیط کشت در مقایسه غلظت بحرانی مایسل

برای تخمین غلظت بیوسورفاکتانت در محیط کشت در مقایسه با غلظت بحرانی مایسل، محیط کشت، سانتریفوژ شده و محیط عاری از میکرب بطور متوالی با آب مقطر رقیق شده و پس از هر رقیق سازی کشش سطحی محیط اندازه گیری شد. نتایج حاصل در شکل (۲) آمده است.

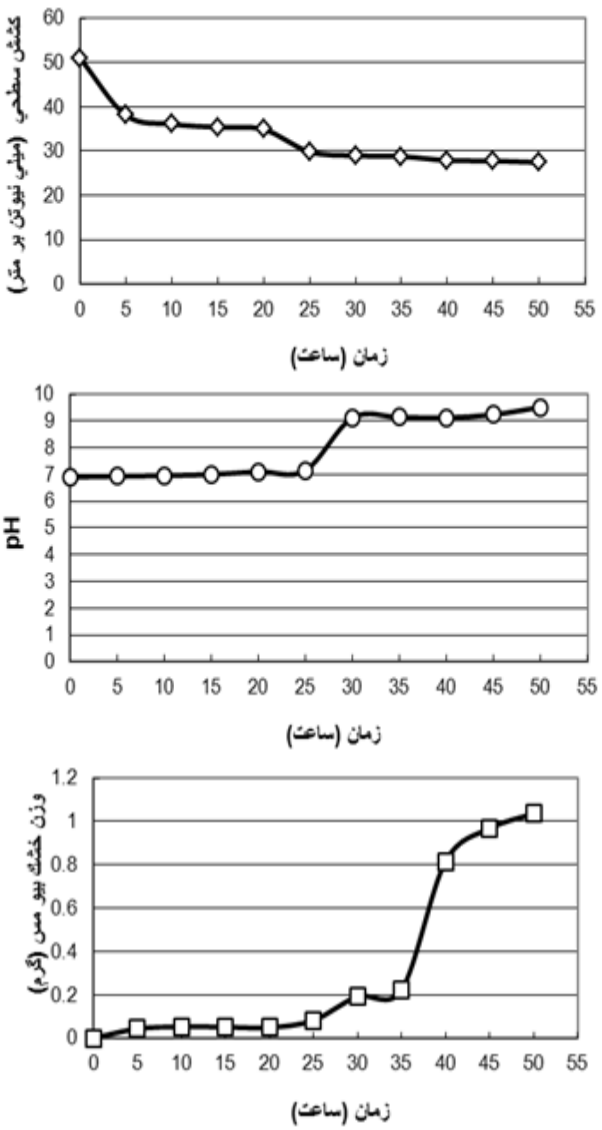


شکل (۲) : تخمین غلظت بیوسورفاکتانت در محیط کشت در مقایسه با غلظت بحرانی مایسل با استفاده از روش رقیق سازی متوالی محیط کشت سانتریفوژشده . اندازه گیری کشش سطحی در دمای اتاق انجام شد.

همانطور که شکل نشان می دهد غلظت بیوسورفاکتانت در محیط کشت حدود ۱۰ برابرغلظت بحرانی مایسل است.

۳-۴ آزمایشهای سینتیکی

کشش سطحی، pH، و رشد میکروارگانیسم در فاصله های زمانی ۵ ساعت در طول فرایند تخمیر اندازه گیری شد.حجم محیط کشت معدنی اولیه ۱لیترو روغن اضافه شده ۵mL بود. شکل (۳) نتایج را نشان می دهد.



شکل (۳) : تغییرات در کشش سطحی (الف)، pH(ب) و توده زیستی (ج) در طول تخمیر. دمای تخمیر:۳۰درجه سلسیوس

کشش سطحی محیط کشت در همان ساعات اولیه تخمیر به میزان قابل توجهی کاهش یافت در حالیکه تغییر میزان توده زیستی، و pH قابل توجه نبود. این موضوع بیان کننده این مطلب است که وقتی سوبسترای محلول در اختیار میکروارگانیسم نباشد متابولیسم آن به سمت تولید بیوسورفاکتانت هدایت می شود. یک کاهش ناگهانی در کشش سطحی بعد از ۲۰ ساعت نیز مشاهده شد که این احتمالاً بدلیل تمام شدن سوبسترای پخش شده اولیه بوده است. تغییر ناگهانی در pH و توده زیستی بعد از ۲۵ ساعت اتفاق افتاد زیرا در این زمان به اندازه کافی سوبسترای پخش شده در محیط وجود داشته تا میکروارگانیسم آنرا به آسانی جذب کند. از این موضوع می توان نتیجه گرفت شود که خاتمه فرآیند تخمیر در زمان حدود ۲۰ ساعت می تواند منجر به تولید بیوسورفاکتانت کافی شده بدون اینکه توده زیستی اضافی تولید شود.

هر چند تغییر pH درسیستم های تخمیر معمولاً سیری کاهشی دارد اما در اینجا این تغییر سیری افزایشی دارد. این تغییر بدلیل وجود یون نیترات در محیط است. کمبود اکسیژن منجر به استفاده میکروارگانیسم ها از یون نیترات بعنوان پذیرنده الکترون می شود. این پدیده مصرف کننده یون H^+ موجود در محیط است. افزایش pH در فرایند تخمیر برای تولید بیوسورفاکتانت در مرجع [۲۰] نیز گزارش شده است. نقش میزان اکسیژن محلول در محیط کشت و نوع منبع نیتروژن بر میزان تولید بیوسورفاکتانت نیازمند پژوهش جاگانه ای است.

۳-۵ اثر دما بر رشد میکروارگانیسم

رشد میکروارگانیسم در دماهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت و وزن توده زیستی خشک و کشش سطحی محیط کشت بعد از ۷۲ ساعت اندازه گیری شد. نتایج حاصل در جدول (۲) ارائه شده است.

جدول (۲) : اثر دما بر رشد و تولید بیوسورفاکتانت

کشش سطحی(mN/m)	وزن توده زیستی خشک(g/L)	دما (^oC)
۲۷/۹۵	۱/۵۸	۲۶
۲۷/۵۳	۱/٦۰	۳۲
۲۷/۱۱	۱/۹۸	۳۷
۲۷/٤٥	۱/۰۸	۴۱
۵۱	۰	۴۵

هرچند رشد قویاً تحت تاثیر دماست اما در همه دماهایی که امکان رشد وجود داشته است کشش سطحی به میزان قابل توجهی کاهش داشته است. بعنوان مثال میزان توده زیستی تولید شده در دمای ٤١ درجه سانتیگراد حدوداً نصف توده زیستی تولید شده در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد بوده است در حالیکه میزان کاهش در کشش سطحی در هر دو دما تفاوت زیادی نداشته است. از این پدیده می توان برای تولید بیوسورفاکتانت بدون تولید توده زیستی زیاد استفاده کرد.

۳-۶ جداسازی بیوسورفاکتانت از محیط کشت

توانایی نمکها برای جدا کردن ماکرومولکولها از محیط آبی پدیده شناخته شده ای است. اما این روش برای جداسازی بیوسورفاکتانتها، کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. در اینجا سولفات آمونیوم و کلرید سدیم بعنوان نمکهایی ارزان و غیر سمی برای جداسازی بیوسورفاکتانت استفاده شدند. محیط کشت سانتریفوژ شده (عاری از میکروارگانیسم) توسط هریک از نمکها اشباع شد. پس از اشباع، ماده ای کرم مانند بر روی سطح ظاهر شد. این ماده توسط قیف از محیط آبی جدا شده و خشک شد. نتایج حاصل در جدول (۳) آمده است.

جدول (۳) : مقایسه سولفات آمونیوم و کلرید سدیم برای جداسازی بیوسورفاکتانت

بیوسورفاکتانت خشک بدست آمده به ازای هر لیتر از محیط کشت(g)	مقدار استفاده شده به ازای هر لیتر از محیط کشت(g)	نمک
۷/۶۳	۳۴۰	سولفات آمونیوم
۵/۲۳	۵۰۰	کلرید سدیم

همانطور که ملاحظه می شود استفاده از سولفات آمونیوم منجربه نتایج بهتری شد. مقدار نمک استفاده شده کمتر و بیوسورفاکتانت جدا شده بیشتر بود. برای تایید وجود بیوسورفاکتانت در ماده خشک بدست آمده، کل مقدار بدست آمده در یک لیتر آب مقطر حل شده و کشش سطحی ان اندازه گیری شد. در هر مورد ماده حل شده کشش سطحی آب مقطر را از ۷۲میلی نیوتن بر متر تا حدود ۳٦میلی نیوتن بر متر کاهش داد.

کاهش pH روش دیگری بود که برای جدا کردن بیوسورفاکتانت از محیط آبی استفاده شد. در این روش pH محیط با استفاده از اسید کلرید ریک به ۲ کاهش داده شد. در اینحالت نیز ماده ای کرم مانند بر روی سطح محیط آبی تشکیل شد. با جدا کردن این ماده و خشک کردن آن ۳/۲۸گرم بیوسورفاکتانت خشک بدست آمد. حل کردن این مقدار ماده در یک لیترآب مقطر نیز کشش سطحی ان را تا حدود ۳٦میلی نیوتن بر متر کاهش داد.

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش نشان داده شد که با استفاده از یک روش انتخابی (استفاده از سوبسترای نامحلول در آب) می توان میکروارگانیسم های تولید کننده بیوسورفاکتانت را از خاک جدا کرد. باکتری جدا شده در این پژوهش قادر بود تا بیوسورفاکتانت به میزان ۱۰ برابر غلظت بحرانی مایسل در محیط کشت تولید کند. آزمایشهای سینتیکی نشان داد که وجود سوبسترای نامحلول در آب باعث تحریک باکتری برای تولید بیوسورفاکتانت شده و وجود سوبسترای محلول اثر کند کنندگی بر تولید بیوسورفاکتانت دارد. رشد باکتری تحت استرس دمایی منجر به تولید بیوسورفاکتانت بدون تولید توده زیستی زیاد گردید. در این پژوهش همچنین مشخص شد که اشباع سازی با نمک روش مناسبی برای جداسازی بیوسورفاکتانت از محیط کشت است. بهینه سازی شرایط تولید محیط کشت، مقایسه روشهای مختلف تخمیر (ناپیوسته، نیمه پیوسته، و پیوسته)،و استفاده از سوبستراهای ارزانتر مواردی است که در پژوهش های آینده ما مورد بررسی قرار می گیرد.

مراجع

[1] J.D. Desai, I.M., Banat, (1997) "Microbial production of surfactants and their commercial potential", *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 61(1), 47-64.

[2] A.I. Zouboulis, M.A. Matis, N.K. Lazaridis, P.N. Golyshin, (2003) "The use of biosurfactants in floatation: application for the removal of metal ions", *Mineral Eng*., 16, 1231-1236.

[3] N.M. Mulligan, (2005) "Environmental applications for biosurfactants", *Environ. Pollut*. 133, 183-198.

[4] G.C. Okpokwasili, A.A. Ibiene, (2006) "Enhancement of recovery of residual oil using a biosurfactant slug", *African J*. Biotechnol.,5(5), 453-456.

[5] Y. Inoh, D. Kitamoto, N. Hirashima, M. Nakanishi, (2004) "Biosurfactant MEL-A dramatically increases gene transfection via membrane fusion", *J. Control. Release*, 94, 423-431.

[6] D. Kitamoto, H. Isoda, T. Nakahara, (2002) "Functions and potential applications of glycolipid biosurfactants from energy saving materials to gene delivery carriers", *J. Biosci. Bioeng*. , 94(3), 187-201.

[7] E.Z. Ron, E. Rosenberg, (2001) "Natural roles of biosurfactants" *Environ. Microbiol*., 3(4), 229-236.

[8] Z.A. Raza, M.S. Khan, Z.M. Khalid, (2007) "Evaluation of distant carbon sources in biosurfactant production by a gamma ray- induced Pseudomonas mutant" *Process Biochem*., 42, 686-692.

[9] A. Etoumi, (2007) "Microbial treatment of waxy crude oils for mitigation of wax precipitation", *J. Pet. Sci. Eng*. 55,111-121.

[10] M. Yeh, Y. Wei, J. Chang, (2006) "Bioreactor design for enhanced carrier-assisted surfactin production with Bacillus subtilis" *Process Biochem*., 41, 1799-1805.

[11] L.R. Rodrigues, J.A. Teixeira, H.C. van der Mei, R. Oliveira, (2006) "*Physicochemical and functional characterization of a biosurfactant produced by Lactococcus lactis 53*", Colloid. Surf. B: Biointerf ., 49, 79-86.

[12] R. Rodrigues, A. Moldes, J. Teixeira, R. Oliveira, (2006) "Kinetic study of fermentative biosurfactant production by Lactobacillus strain" *Biochem. Eng. J*., 28, 109-116.

[13] L.R. Rodrigues, J.A. Teixeira, H.C. van der Mei, R. Oliveira, (2006) "*Isolation and partial characterization of a biosurfacant produced by Stereptococcus thermophilus A*", Colloid. Surf. B: Biointerf. 53, 105-112.

[14] M. Javaheri, G.F. Jenneman, M.J. McInerney, R.M. Knapp, (1985) "Anaerobic production of a biosurfactant by Bacillus licheniformis JF-2"Appl. *Environmen. Microbiol*., 698-700.

[15] Y. Wei, C. Chou, J. Chang, (2005) "Rhamnolipid production by indigenous Pseudomonas aeruginosa J4 originating from petrochemical waste water" ,*Biochem. Eng. J*., 27, 146-154.

[16] A. Tahzibi, F. Kamal, M. Mazaheri Asadi, (2004) "Improved production of rhamnolipids by a Pseudomomnas aeruginosa mutant" *Iranian Biomedical J*., 8 (1), 25-31.

[17] E. Vasilva-Tonkova, V. Gesheva, (2005) "Glycolipids produced by Antactic Nocardioides sp. during growth on n-paraffin" *Process Biochem*., 40,2387-2391.

[18] C. Calvo, F.L. Todelo, J. Gonzalez-Lopez, (2004) "Surfactant activity of a naphthalene degrading *Bacillus pumpilus* strain isolated from oil sludge", *J. Biotechnol.*, 109, 255-262.

[19] M.C. Ilori, C.J. Amobi, A.C. Odocha, (2005) "*Factors affecting biosurfactant production by oil degrading Aeromonas spp isolated from a tropical environment*", Chemosphere, 61, 985-992.

[20] C.D. Chuna, M. do Rosario, A.S. Rosado, Leite, S.G. F., (2004) "*Serratia sp.* SVGG16: a promising biosurfactant producer isolated from tropical soil during growth with ethanol- blended gasoline" Process Biochem., 39, 2277-2282.

[21] F.C. Bicca, L.C. Fleck, M.A.Z. Ayub, (1999) "*Production of biosurfactant by hydrocarbon degrading Rhodococcus rubber and Rhodococcus erithropolis*", Revista de microbiologia, 30, 231-236.

[22] C. Amezcua-Vega, H.M. Poggi-Varaldo, F. Esparza-Garcia, E. Roise-Leal, R. Rodrigues-Vasquez, (2007) "Effect of culture conditions on fatty acid composition of a biosurfactant produced by *Candida ingens* and changes of surface tension of culture media", *Biores. Technol*., 98, 237-240.

[23] A. Tabatabaee, M. Mazaheri Asadi, A. A. Noohi, V.A. Sadjadian, (2005) "Isolation of biosurfactant producing bacteria from oil reservoirs" *Iranian J. Env. Health Sci. Eng*., 2(1) 6-12.

[24] N.R. Krieg, ed. (1984). "*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*", editor-in-chief J.G. Holt, vol. 1. Baltimore, Maryland: Williams &Wilkins.

Isolation of a biosurfactant producing microorganism, kinetic experiments, and separation of the biosurfactant from liquid culture

Bahman Homayoon[1], Mohammad Hassan Fazaelipoor[2*], Mahin Schaffie[3]

1. MSc in Chemical Engineering, Shahid Bahonar University of Kerman.
2. Assiatant Professor of Chemical Engineering, Shahid Bahonar University of Kerman.
3. Associate professor of Chemical Engineering, Shahid Bahonar University of Kerman.

A R T I C L E I N F O

Article history :

Received 3 March 2009
Received in revised form 15 Mar. 2010
Accepted 8 September 2010

Keywords:

Biosurfactan
Surface tension
Isolation of microorganism
Salting out
Ácidification

A B S T R A C T

A biosurfactant producing bacterium, which was able to grow on olive oil as the sole source of carbon and energy, was isolated from soil. The bacterium, which was identified as *Pseudomonas aeruginosa*, reduced the surface tension of the culture medium from 51 mN/m to 27 mN/m. Kinetic experiments showed that the existence of a water insoluble carbon source stimulated biosurfactant production considerably. Two methods, namely salting out and change in pH, were examined for the separation of the biosurfactant from the liquid medium. Saturation of the liquid with 340 g ammonium sulfate resulted in 7.2 g solid biosurfactant, while reducing the pH of the medium to 2 resulted in 3.2 g solid biosurfactant. The solid biosurfactant reduced the surface tension of distilled water to 36 mN/m.

All rights reserved.

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.