بررسی امکان تولید امولسیفایرمیکروبی (بیو امولسیفایر) از میکرو ارکانیسمهای موجوددرپساب های صنعتی استان گلستان

۱- سمیرا کاشانی

۲- سارینا مختاریان

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی دانشگاه پیام نور واحدتفت

۲-دانشجوی کارشناسی رادیولوژی دانشگاه علوم پزشکی بابل

Email: s.kashani2020@yahoo.com
Email:Sarinamokhtarian@gmail.com

چکیده

بیو امولسایرهامولکول های امفی فیلیک ترشحی توسط برخی میکروارگانیسم ها بوده که به منظورتسهیل جذب سوبستراهای نامحلول تولید می گردد.این مولکول ها کشش سطحی و بینابینی راهمدر محیط های آبی وهم در ترکیبات هیدروکربنی که پتانسیل بالایی جهت افزایش باز یافت ترکیبات روغنی به آنها می دهد کاهش میدهد .هدف از ایت تحقیق بررسی وجود یا عدم وجود میکرو ارگانیسم های تولید کننده ی بیو امولسیفایردر پساب تصفیه خانه ی آق قلا تعیین گردید.و برای رسیدن به این هدف ابتدا نمونه گیری از پساب انجام شد و سپس تست های همولیز،لیپاز،کسترش روغن و بررسیفعالیت امولسیفیه کنندگی و شاخص امولسیفیکاسیونجهت بررسی تولید بیو امولسیفایر انجام شد.نمونه هاییکه این تست ها برای آنها مثبت بود جهت شناسایی ایزوله ها مورد ارزیابی ماکروسکوپی ،میکروسکوپی ،بیوشیمیایی مولکولی قرار گرفتند.تست های مولکولی که شامل استخراج DNA و PCR والکتروفورزمی باشد .با تکثیر توالی ۱۶ SrRNA توسط تکنیک PCR وتطابق آن با بانک ژنی وآنالیز های فیلوژنی دیگر مورد شناسایی و تعین هویت قرار گرفتند.در نتیجه دو گونه باکتری مولد بیوامولسیفایر شامل یک استرین میله ای گرم منفی (سیتروباکترمورلینیا)و یک استرین میله ای گرم مثبت (باسیلوس سوبتیلیس)از پساب دفعی مجتمع ذر تصفیه خانه شهرک صنعتی آق قلا جدا سازی و شناسایی شد از این رو اهداف این پژوهش محقق گشته و پیشنهاد می گردد جهت بکار گیری مناسب این ترکیبات بیو پلیمری و شناسایی ایزوله های دیگر مولد،تحقیقات بیشتری در این زمینه صورت گیرد .

۱. مقدمه

۲. خصوصیات امولسیفایر ها :

زیست بسپار ها یا بیوپلیمر ها گروهی متنوع از ترکیبات آلی هستند که توسط طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها ،به صورت خارج سلولی ویا بر روی سطح سلول تولید می شوند .

ترکیبات میکروبی شامل اجزای هیدروفیل (مونو-،الیگو-یا پلی ساکاریدها و پپتیدها)و هیدروفوب (اسید ها یا الکل های چرب هیدروکسیله،ا شباع یا غیر ا شباع)بوده که به عنوان بیو پلیمر های دو گانه آمفی فیلیک شناخته می شوند .این ترکیبات بسیاری از فعالیت های سطحی و امولسیفیهکننده مشخص را ارائه می دهند .

بیو پلمرها براساس وزن مولکولی در دو دسته قرار می گیرند :

۱-دارای وزن مولکولی پایین

۲-داری وزن مولکولی بالا

ترکیباتی که کشش سطحی و بینابینی در فضاهای مولکولی به حالت جامد،مایع یا گاز را کاهش می دهند ،بیو سورفکتانتو آنهایی که اساسا"کشش بینابینی را در بین مایع های غیر قابل امتزاج یا فضاهای به وجود آمده بین یک مایع و جامد کاهش داده و منجر به تشکیل امولسیو نهای پایدار می شوند بیوامولسیفایریا بیوامولسان مامگذاری شده اند.
بیوسورفکانت هاترکیباتی با وزن مولکولی پایین شامل پروتئن ها ،لیپوپپتید ها،گلیکولیپیدهاو ترکیبات مشابه دیگر بوده در حالی که بیوامولسیفایر ها،پلیمر های دارای وزن مولکولی بالامی باشندو ترکیباتی نظیر پلی سا کار ید ها ،پروتئین های لیپوپلی ساکاریدی،لیپوپروتئین ها و موارد دیگر را شامل می شوند .

۲. ارسال مقالات کامل

طی ۱۰سال گذشته بیو امولسیفایر های بسیار ی از میکرو ارگانیسم های مختلف و طی استفاده از سوبستراهای ضروری گوناگون برای رشد سلولی نظیر کربوهیدرات ها،هیدروکربن ها، ،روغن های گیاهی و گلیسرول ،کشف شده اند .

به طور کلی SAC ها دو نوع اصلی دارند :بیوسورفکتانت های دارای وزن مولکولی کم و بیوپلمر های با وزن مولکولی بالا.آنهایی که دارای وزن مولکولی پایینی می باشند به صورت ساختاری با گلیکولیپید ها و گلیکوپپتید ها در ارتباط اند در حالی که بیوپلیمر های سنگین تر به لحاظ وزن مولکولی ،با لیپوپلی ساکاریدها و لیپوپروتئن ها و یا هر دوی آنها به صورت توأم،در تامل می باشند .این ترکیبات دارای وزن مولکولی بالابا تولید امولسیون های پایدار می باشند ،اما کاهش کشش سطحی یا بینابینی جزو صفات بارز این ترکیبات نبوده و اغلب تحت عنوان بیو امولسیفایرر نامیده می شوند

همه میکرو ارگانیسم های موجود در خاک یا آب قادر به رشد در محیط های آلوده و بهره مندی از هیدرو کربن های موجود در آن محیط ها نبوده و بعضا"توسط اندکی از سویه ها و با توجه به مکانیسم و فیزیولوژی آنها ، این امر صورت می پذیرد

.این امر در مورد نفت و ترکیبات روغنی دیگر به دلیل ماهیت آبگریزی آنها و نیز ویژگی های مربوط به شناوری آنها در آب قابل توجیه است .

تولید بیو امولسیفایر ها توسط میکرو ارگانیسم ها به جهت بقاء آنها برروی محیط های دارای سوبسترای هیدروفوبیک و حذف آن سوبسترا طی فرآیند جذب ،به منظور افزایش دسترسی زیستی به سوبسترا های نامحلول ، صورت می گیرد.

اجتماعات میکروبی همچون اسینتوباکتر،آرتروباکتر،سودوموناس،هالوموناس ،باسیلوس ،رودوکوکوس،انتروباکترومخمرها ،به عنوان شاخص ترین میکرو ارگانیسم های تولید کننده بیو امولسیفایر در مطالعات مختلف به چشم می خورند

علاوه برآن در برخی تحقیقات به عنوان افزایش دهند بازیافت نفت، جایگزین حلال های کلره در از بین بردن جرم های تشکیل شده بر جدار لوله های انتقال نفت و نیز پایدارسازی امولسیون روغن در آب برای مواد غذایی گزارش شده است .

نخستین تحقیقات در زمینه تجزیه میکروبی محصولات نفتی ،به عنوان سوبسترایی نسبتا"ارزان قیمت برای تولید بیومس ،در سال ۱۹۶۰ گزارش گردید.

بیو امولسیفایر ها قادرند در پروسه افزایش باز یافت میکروبی نفت (MEOR) ،با جایگزینی در حلال های کلرینه مورد استفاده برای تنظیف لوله های آلوده نفتی ،مخازن و ماشین آلات ،سیستم های انتقال نفت خام سنگین ، آلودگی زدایی از خاک و آب مناطق نفت خیز ، استفاده در صنایع پاک کننده ،تهیه فرمولاسیون علف کش ها و حشره کش ها و صنایع غذایی ، دارویی و آرایشی –بهداشتی ،اثر گذار باشند.

کاربرد امولسیفایر ها:

WATERSو همکاران(۱۹۹۴) طی تحقیقی مانو پروپئن تولیدی توسط مخمر ساکارومایسس سرویزیه را از مشروبات الکی ایزوله نمودند.در ادامه توانستند این امولسیفایر را با به کارگیری ترکیبی از مبادله کننده های آنیونی ، کانکاوالین A ،مبادله های کاتیونی و ژل کروماتوگرافی تراوا خالص ساز ی نمایند.این ترکیب در مقایسه با استاندارد پلولان که وزن مولکولی معادل 420kDa داشت ،وزن مولکولی قابل سنجشی ارائه نمود.

با بررسی موارد دیگر مشخص گردید که این بیوامولسیفایر قادر است مشروبات الکلی را از فساد خفیف پروتئینی حفظ نماید .لذا کشف این مانو پروتئین مخمری با ویژگی حفاظتی خاص خود ،به عنوان نوعی نگهدارنده صنعتی برای کاربردهای تجاری معرفی گردید.

Shepherd و همکاران در سال ۱۹۹۵ ، طیفی از میکرو ارگانیسم های مختلف را به منظور بررسی تولید بیو امولسیفایر های خارج سلولی مورد مطالعه قرار دادند.از مجموع ۲۴ گونه میکروبی ،۷ گروه هیچگونه فعالیتی امولسیفیه نداشتند فاین در حالی است که ۹ گروه دادای قدرت تولید امولسیفیرهای خارج سلول یبه خوبی صمغ عربی و همچنین کربوکسی متیل سلولز به عنوان نمونه های کنترل مثبت بودند .

هشت ارگانیسم از بین بهترین تولید کننده ها دراین گروه شامل مخمرهای Candida Utilis ,candida Validaو, Rhodospiridium diobovatum, Hansenula anomala و , Rhodotorula graminis جلبک قرمز Porophiridium cruentum و با کتری های گونه Kiebsiella و نیز Acinetobacter caloaceticus بودند.

آماده ساز ی مقدماتی بیو امولسیفایر تولیدی از C..utilis نشان داد که این ترکیب دارای ویسکوزیته پایین و محتوای کربو هیدراتی بالا (بیش از ۸۰درصد) می باشد. آز مایشات اولیه همچنین حاکی از آن بود که بیو امولسیفایر تولید شده توسط این مخمر ،پتانسیل استفاده در کرم ها و سس های سالادی را نیز دارا است .

کار بردهای عملی این بیوامولسیفایر برای تولید سس مایونز با چندین فرمولاسیون متفاوت ،حاکی از آن بود که این مانو پروتئین را می توان برای تولید صنعتی مایونز در کنار کربو کسی متیل سلولز (CMC) و به جای زانتان ،مورد استفاده قرار داد.

Thammakiti و همکارانش در سال ۲۰۰۴ توسط آزمایشات خود متوجه شدند که بتا–گلوکان به دست آمده از مخمر تولید آب جو ،دارای تثبیت امولسونی است .این آزمایش و نتیجه حاصل از آن نشان داد که می توان از این بیو پلیمر در فرآورده های غذایی به عنوان حجم دهنده ،عامل جذب آب یا اتصال به روغن و نیز تثبیت کننده های امولسیفیه کننده استفاده نمود. متعاقب آن Worrasinchari و همکاران (۲۰۰۵) ، به کارگیری بتا–گلو کان را به عنوان جایگزین چربی در مایونزها ، مورد بررسی قرار دادند که طی آن چربی تا حدودی توسط بتا –گلوکان جایگزین گردید .سطوح جایگزینی ثبت شده برای این فرآیند بیشتر از ۵۰درصد قابل قبول در مقایسه با استفاده از روغن به عنوان چربی ،نبود .

علاوه برموارد فوق ،می توان امولسیفایر ها را در تکنیک ریز پوشینه دار کردن ،به عنوان یک پروسه خاص برای پوشش اجزایی شامل مواد حساس یا فعال زیستی توسط یک لایه نازک فیلم ساخته شده از مواد پوشش ،مورد استفاده قرار داد.

مواد کپسوله شده (نظیر چربی ها ،روغن ها ،رایحه ها و طعم ها)معمولا"به عنوان مواد مرکزی (مواد هسته ای)مطرح می باشند ،در حالی که فیلم احاطه کننده هسته ، غالبا"تحت عنوان مواد دیواره ای شناخته می شوند .

دو مرحله اصلی پردازش در فرآیند کپسولاسیون طعم دهنده های مایع شامل موارد زیر می باشد :

۱) امولسیفیکاسیون مواد کپسوله شده در یک محیط آبی از مواد ریز پوششی ،که به عنوان نوعی امولسیفایر عمل می کنند. مواد هسته ای هیدروفوب اغلب در حضور یک محلول آبی شامل امولسیفایر(همچون سورفکتانت،فسفو لیپید ها یا بیوپلیمر ها)که تشکیل نوعی لایه پوششی محافظ در اطراف قطرات روغن را می دهد ،و نیز ترکیبات دیواره ای که با امولسیون های منتج شده مخلوط گشته اند ،هموژنیزه میشوند .

۲) خشک کردن امولسیون های ریز پوشینه دار شده تحت شرایطحداقلی برای رکاهش مواد کپسوله ،توسط فرآیند تبخیر و متعاقب آن افزایش پایداری شیمیایی موادکپسوله شدهخ ، در مرحله دوم این پروسه خواهد بود .

از میان روش های بسیار موجود ،متد خشکاندن –اسپری به عنوان غالب ترین روش ها برای فرآیند صنعتی کپسولاسیون طعم ها به کار می رود .

Shaikh و همکاران (۲۰۰۵) میکرو کپسولاسیون اولئورسین فلفل سیاه را توسط فرآیند خشکاندن اسپری ،با استفاده از صمغ عربی و نیز نشاسته بهینه شده به عنوان مواد دیواره ای ،گزار ش نمودند.

اولئورسین های طعم دهنده و چاشنی نسبت به نور ،حرارت و اکسیژن حساس می باشند .علاوه بر آن زمان نگهداری کوتا هی دارد اگر به درستی محافظت نگردد.

پروتکل میکروکپسولاسیون اولئورسین در برابر چنین تغییرات مخربی مقاومت می کند .علاوه بر آن طعم ها را از تعامل نامطلوب با مواد غذایی محافظت می کند و اثرات متقابل سوء عطر و طعم را به حداقل می رساند.

نتیجه گیری :

قبل از اجرای این مطالعه میدانی و آزمایشگاهی ،فرضیه ای با مضمون اینکه باکتری های مولد بیو امولسیفایر در پساب های دفعی مجتع در تصفیه خانه شهرک صنعتی آق قلا وجود دارند ، در راستای اهداف تبیین شده در این خصوص ،مطرح گردید .اهداف نیز شامل بررسی وجود یا عدم وجود باکتری های مولد بیو امولسیفایر

در پساب صنعتی و شناسایی باکتری های تولید کننده ،در نظر گرفته شد .تحقیقات و بررسی های به عمل آمده در فاز عملیاتی این پروژه هم فرضیه طرح را اثبات نموده و هم ما را به اهداف تعیین شده در ابتدای امر رسانید .

بیو امولسیفایر ها مولکول های آمفی فیلیک ترشحی توسط برخی میکرو ارگانیسم ها بوده که به منظور تسهیل جذب سوبستراهای نامحلول تولید می گردند این مولکول ها کشش سطحی و بینابینی را هم در محیط های آبی و هم در ترکیبات هیدرو کربنی ،که پتانسیل بالایی به جهت افزایش بازیافت ترکیبات روغنی به آنها می دهد ،کاهش می دهد .

ترکیبات فعال سطحی معمولا"بر تاساس خواص شیمیایی و یا وزن مولکولی شان ،طبقه بندی می شوند .براساس بار شیمیایی چهار گروه اصلی از این ترکیبات فعال سطحی وجود دارد که شامل مواد آنیونی ،کاتیونی ،غیر یونی و زوئیترونی می باشند .این ۴ گروه بر حسب بار غالب موجود بر روی مولکول های سور فکتانت که تو سط گروهی از ترکیبات شیمیایی قطبی اراءه می گردد ،تعریف می شوند .

هنگامی که عوامل سطحی از نوع آنیونی هستند،گروههای قطبی غالب می تواند کربوکسیلات،فسفات ،سولفات ،سولونات و یا یک ترکیب از اینها باشد ،که یک بار منفی خالص را به مولکول های فعال سطحی می دهد .این گروه متداول ترین ترکیبات فعال سطحی می باشند که در شاخه های مختلف صنعت مورد استفاده قرار می گیرند .

یک مثال آشنا برای گروه آنیونی این ترکیبات،صابون می باشد که یک سولفونات آلکین بنزن نظیر سدیم استیرات در آن نقش اساسی دارد .در سوی دیگر امولسیفایر ها و سورفکتانت های کاتیونی ،یک بار مثبت خالص را حمل می کنند .متداول ترین آنها پلیمر های آمینی و آمونیومی چها وجهی می باشد که در برخی صنایع کاربرد دارد.

به طور کلی، این ترکیبات دونوع اصلی دارند :

بیوسورفکتانت های دارای وزن مولکولی کم و بیوپلیمر های با وزن مولکولی بالا.آنهایی که دارای وزن مولکولی پایینی می باشند به صورت ساختاری با گلیکولیپیدها و گلیکوپپتید ها در ارتباط اند در حالی که بیو پلممرهای

سنگین تر به لحاظ وزن مولکولی ،با لیپو پلی ساکارید ها و لیپو پرو تئین ها و یا هر دوی آنها به صورت توام ، در تعامل می باشند .

این ترکیبات دارای وزن مولکولی بالا با تولید امولسیون های پایدار مرتبط می باشند ،اما کاهش رکشش سطحی یا بینابینی جزو صفات بارز این تر کیبات نبوده و اغلب تحت عنوان بیو امولسیفایر نامیده می شوند .

تخمین زده شده است که بیش از ۷۰درصد تولیدات جهانی با مشار کت سهم عمده ای از سور فکتانت ها و امولسیفایر ها می باشد .

این موارد همگی حاکی از اهمیت ترکیبات اشاره شده داشته و میزان بهره وری آنها را در صنایع و پرو تکل های مختلف بیان می دارد.لذا با استناد به گزارشات موجود که همگی حاصل تحقیقات گسترده پزوهشگران در اقصی نقاط جهان میباشد،می توان استنتاج نمود که ترکیات فعال سطحی بسیار کار بردی بوده و ممکن است فرآیند های زیاددی را در آزمون و اجرا تسهیل نمایید.

در این میان ،متا بولیت های تولیدیتوسط میکرو ارگانیسم ها درحوزهترکیبات فعال سطحی و گروههایآمفی فیلیک نیز در خور

توجه می باشد چرا که با داشتن تمامی خصوصیات ترکیبات شیمیایی و سنتتیک مشابه د، ویزگی سازگاری با محیط زیست نیز به آن افزوده خواهد شد .در این میان ،متابولیت ها ی تولیدی توسط میکرو ارگانیسم ها در حوزه ترکیبات فعال سطحی و گروههای آمفی فیلیک نیز در خور توجه می باشد چرا که با داشتن تمامی خصوصیات تر کیبات شیمیایی و سنتتیک مشابه ،ویزگی سازگاری با محیط زیست نیز به آن افزوده خواهد شد.

امولسیفایر های میکروبی (بیو امولسیفایر ها)از جمله این ترکیبات دوگانه دوست به دست آمده از میکرو ارگانیسم ها بوده که اغلب موارد اشاره شده برای آنها ، صدق می کند .

در این مطالعه بررسی نوع امولسیفای های میکروبی به دست آمده از باکتری های ایزوله شده از پساب مورد بررسی قرار نگرفت اما وجود این متا بولیت های باکتر یایی به اثبات رسید .این خود شروعی برای ادامه روند مطالعات به صورت تخصصی در این حوزه خواهد بود .

بیو امولسیفایر ها طی دهه های اخیر علاقه مندی های زیادی را در پرو ژه های تحقیقاتی به خود معطوف داشته اند که این

موضوع به سمیت پایین آنها ،تجزیه پذیری بالا،سازگاری مناسب با محیط زیست ،فعالیت های اختصاصی و انتخابی بالا در دماهای مطلق ،PH و محیط های شور ،ارتباط تنگاتنگ دارد.

همه میکرو ارگانیسم های موجود در خاک یا آب قادر به رشد در محیط های آلوده و بهره مندی از هیدرو کربن های موجود در آن محیط ها نبوده و بعضا"توسط تعداد اندکی از سویه ها و با توجه به مکانیسم و فیز یولوزی آنها این امر صورت می پذیرد .این امر در مورد نفت و ترکیبات روغنی دیگر به دلیل ماهیت آبکریزی آنها و نیز ویژگی مربوط به شناوری آنها در آب قابل توجیه است .

تولید بیو امولسیفایر ها توسط میکرو ارگانیسم ها به جهت بقاء آنها برروی محیط های دارای سوبسترای هیدروفوبیک و حذف آن سوبسترا طی فر آیند جذب ،به منظور افزایش دسترسب زیستی به سوبستراهای نا محلول ،صورت می گیرد .

اجتماعات میکروبی همچون اسینتوباکتر ،آرتوباکتر ،سو دوموناس،هالوموناس ،باسیلوس ،رودوکوکوس،آنتروباکتر و مخمر

ها ،به عنوان شاخص ترین میکروارگانیسم های تولید کننده بیو امولسیفایر در مطالعات مختلف به چشم می خورند .

طی این مطالعه دوکونه باکتریایی مولد بیو امولسیفایر شامل سیتروباکترمورلینیا و باسیلوس سوبتیلیس از پساب موجود در تصفیه خانه شهرک صنعتی آق قلا جدا سازی گردید که برای هر یک از آنها به تناسب تست های تشخیصی انجام گرفته ،تولید امولسیفایر تایید و ثبت گردید .در راستای داده ها ی به دست آمده از مطالعات ما ،تحقیقات بسیاری صورت گرفته است که برخی از آنها از تطبق و برخی عدم تطابق نتایج مطالعات حکایت دارد.

Ibrahimدر سال ۲۰۱۶ مشخصات بیو سور فکتانت های تولیدی از دو سویه باکتریایی شامل Ochrobactrum anthropic HM-1 و Citrobacter freundii HM-2را که از خاک های آلوده به سوخت انومبیل های ایزوله شده بودند ،مورد بررسی قرار داده و مقایسه عملکرد آنها را تحت شرایط مختلف فیزیولوزیک به انجام رساندند. در گزارشات آنها گونه سیترو باکتر یکی از استرین های قوی در تولید ترکیبات

آمفی فیلیک در شرایط گوناگون و استرس های متفاوت محیطی ،در نظر گرفته شد .

Mandel و همکاران نیز در سال ۲۰۱۳ ،جدا سازی لیپو پپتید های تغییر یافته تولیدی توسط سویه های با کتری حاضر در خانواده آنترو باکتریاسه شامل سیترو باکتر را که دارای خاصیت ضد میکروبی نیز بودند ،در دستور کار قرار دادند .آنها در آزمایشات خود ،لیپو پپتید هایی چند گانه را با استفاده از تکنیک HPLC،تخلیص نموده و اثرات آنتی میکروبی آنها را برروی چند سویه میکروبی اعمال نمودند .

از این رو می توان با همسو فرض نمودن داده های حاصل از این تحقیق و مطالعات Mandelو همکاران ،بیو پلیمرهای تولیدی توسط سویه های شناسایی شده در مطالعه ما را نیز به عنوان ترکیباتی ضد میکروبی معرفی نمود .البته قطعیت این موضوع نیاز به تحقیقات بیشتر و آزمون های تاییدی در این حوزه خواهد داشت .

رفرانس :

۱) اخوان سپهی ع ،و پاسدار ه-بررسی تولید بیوسور فکتانت توسط Bacillus Licheniformis BCRC و Bacillus subtilis HAZ2 ،مجله علوم دانشگاه تهران 35 (۱) 1388:،صفحات :67-74.

۲)صفری افاکبر زاده خیاوی م .،رعایانی اردکانی م ،و معتمدی ح ،جداسازی با کتری های تولید کننده بیو سور فکتانت از اکو سیستم های دریای خزر و تعیین فعالیت بیو سور فکتانتی آنها .فصلنامه فیض ،15(4):1390 :صفحات :332-337.

۳)کارگر م ،کفیل زاده ف ،گودر زیان ن ،و نوحی ا .شناسایی با کتری های مولد بیوسور فاکتانت و کار برد آنها در حذف آلاینده های نفتی .غلوم و تکنولوژی محیط زیست ،1385:29: صفحات :109-111.

۴)کیانی پ ،و محمودی م م ،تولید بیو سور فکتانت توسط لاکتو باسیلوس جهت استفاده در صنایع غذایی به عنوان جایگزینی برای امولسیفایر های سنتزی .مجله تازه های بیو تکنولوژی سلولی – مولکولی .5(19) : 1394 : 61-68 .

۵)گلی ا ،زارعی م ، و طلایی ار . بررسی کارایی میکرو ارگانیسم های خالص سازی شده از خاکهای حاوی گازوئیل در تولید بیو سور فکتانت .طلوع بهداشت (دو ماهنامه علمی پژوهشی دانشکده بهداشت یزد) .13(6):1393 :صفحات :45-35.

۶)مصطفی پور ر می م ج ،احمدی اسبچین س .و صفری م .جداسازی و شناسایی سویه تولید کننده بیو سور فکتانت از جنس آسینتوباکتر و بررسی اثرات ضد باکتریایی بیو سور فکتانت تولید شده از آن بر روی برخی از با کتری های گرم مثبت و منفی در محیط آزمایشگاه .مجله تازه های بیو تکنولوزی سلولی و مولکولی 4(14) 1393 :صفحات :91-79 .

7) Abalos A . Pinazo A.Infante M.R. Casals M . Garcia F. Manresa A . (2001)

Physicochemical and antimicrobial Properties of new rhamnolipids produced by Pserudomonas aeruginosa AT 10 from soybean oil refinery wastes. Langmuir. 17. 1367-1371 .

8) Amaral . P .F .F . Silva . J.M .D . Leehocky .M . Barros-Timmons .A. M .V . Coelho . M .A . Z .Marrucho. i. m AND Coutinho .J .A .P. 2006. Production and characterization of a bioemulsifier from Yarrowia Lipolytica. Process Biochem .41:1894-1898.

9) Anal . A .K .and Singh .H . 2007 .Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial application and targeted delivery. Trends Food . Sci. Technol .18:240-251.

10) Anaukwu CG . Ekwealor AI . Ezemba CC.Anakwenze VN . Okafor UC .and Archibong E J .2015 .Pseudomonas monteilii and Citrobacter muriliniae. Biosurfactant-Producing Bacteria Isolated from Nigerian Soil .BRITISH microbiology Research Journal 10(1): 1-9.