



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، گروه زیست‌شناسی  
سلولی و مولکولی، آزمایشگاه میکروبیولوژی

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

# آزمایشگاه میکروب شناسی صنعتی (بیوتکنولوژی میکروبی)

## تولید میکروبی گلیسرول

دکتر سهیلا عباسی

دکتر سهیلا عباسی

“

## تولید میکروبی گلیسرول

❖ تهیه پری کالچر برای تولید میکروبی گلیسرول

❖ تولید میکروبی گلیسرول

❖ شناسایی گلیسرول

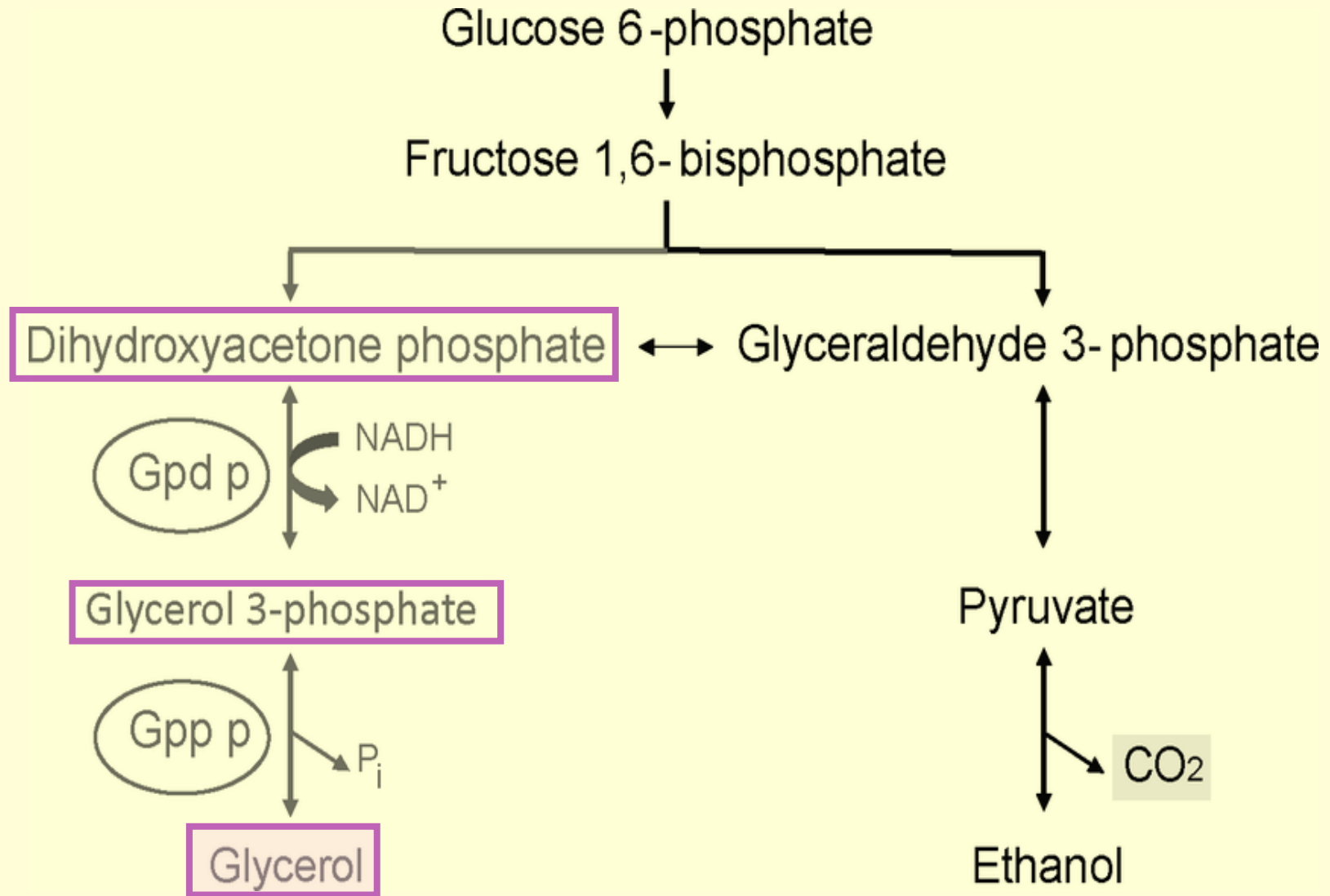
”

## مقدمه

**گلیسرول** یک محصول فرعی تخمیر الکلی است که توسط گونه‌های ساکارومايسس تولید می‌شود که تحت شرایط خاصی از قبیل شرایط قلیایی و یا حضور بی‌سولفیت سدیم تولید میکروبی گلیسرول یک محصول اصلی می‌شود.

در شرایط قلیایی دی‌هیدروکسی استون فسفات تولید می‌شود و  $NADH_2$  در شرایط قلیایی هیدروژن خود را به استالدئید نمی‌دهد. در نتیجه استالدئید به اتانول تبدیل نمی‌شود بلکه باعث تبدیل دی‌هیدروکسی استون فسفات به **گلیسرول ۳ فسفات** می‌شود.

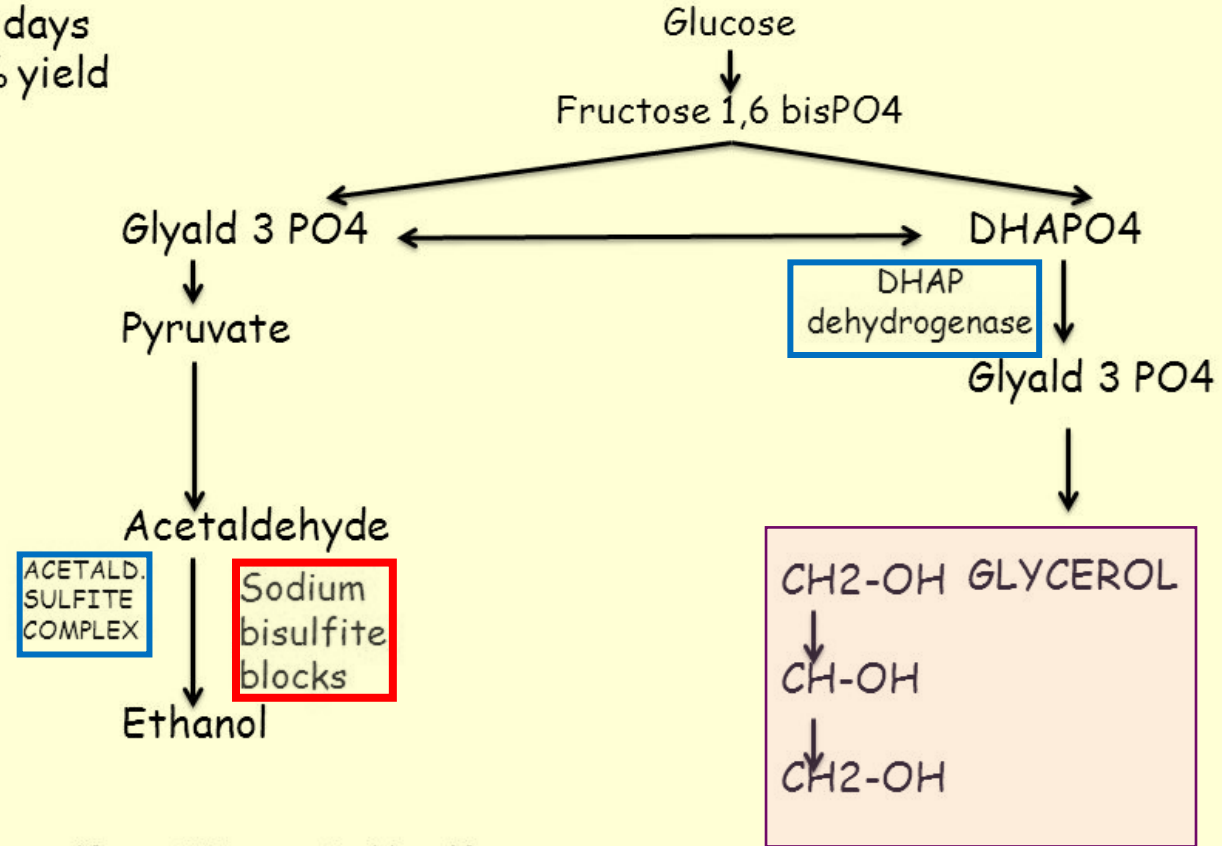
اگر ما در محیط کشت بی‌سولفیت سدیم داشته باشیم. با استالدئید ترکیب و یک ترکیب اضافی تولید می‌شود و در نتیجه استالدئید نمی‌تواند هیدروژن را از  $NADH_2$  بگیرد و به اتانول تبدیل کند و هیدروژن  $NADH_2$  به دی‌هیدروکسی استون فسفات داده می‌شود و به گلیسرول ۳ فسفات تبدیل می‌گردد. ماده‌ی نهایی گلیسرول ۳ فسفات که در هر دو مرحله تشکیل شده دفسفریله می‌شود و به گلیسرول تبدیل می‌شود.



## PRODUCTION

Produced by yeast during alcoholic fermentation  
Sodium bisulfite blocks alcohol production and large scale glycerol production

2-3 days  
50% yield



Sodium sulfite + CO<sub>2</sub> ---> Sod bisulfite

## A biotech view on GLYCEROL



### Applications:

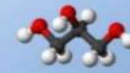
-medical

- Drugs
- Cosmetic
- Toothpaste

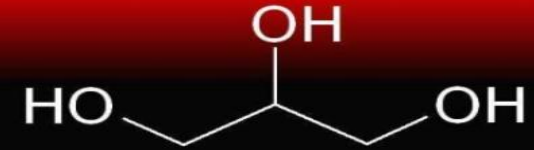
-chemical

- Paints
- Cellophane
- Dynamite

-food industry



### Structure



The molecular formula for glycerine is



### Production by yeast

- $NaHSO_3$
- $pH=7$
- osmotolerant yeasts



*Saccharomices  
cerevisiae*



## کاربرد گلیسرول

این ماده کاربردهای بسیاری در غذاها، شربت‌ها، روغن‌ها، داروها و مواد آرایشی و بهداشتی و مواد منفجره داراست و در ساختن بسیاری مواد دیگر که خود دارای کاربردهای زیادی در صنعت می‌باشند دخیل است.



# Production:

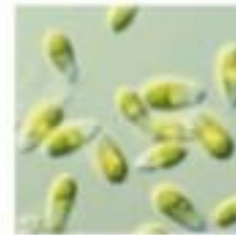
- Chemical



- Biotech



*Saccharomyces cerevisiae*  
other yeasts



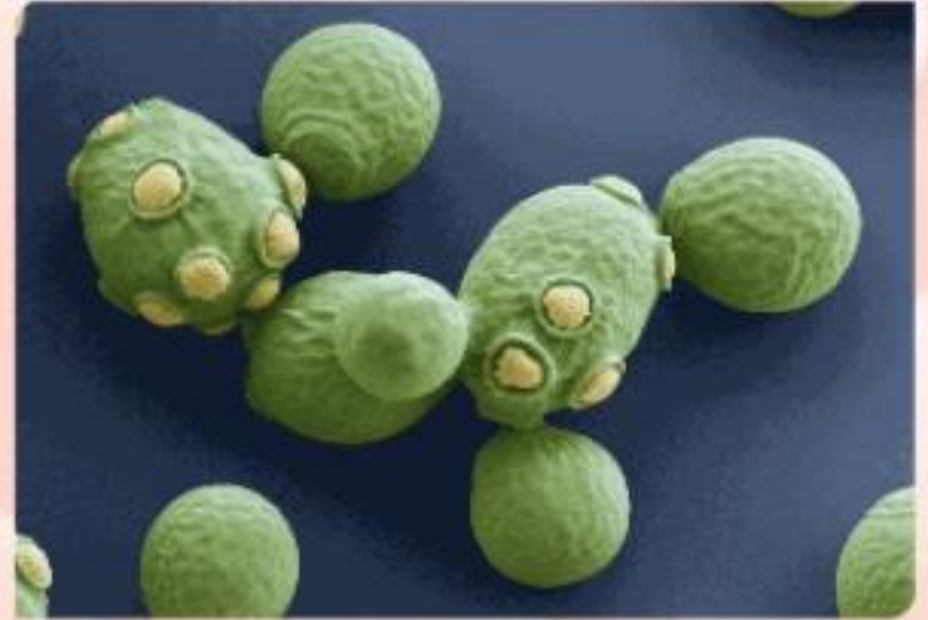
*Dunaliella*  
Green algae

23th Feb 2012

Greta Dalle Luche



# Saccharomyces Cerevisiae (*yeast*)



- GRAS
- Flexible metabolism
- Easily genetically modifiable
- Simple growth media
- High ethanol content resistant

- *Schizosaccharomyces pombe*
- *Kluyveromyces lactis*
- *Pichia-Hansenula*
- *Yarrowia lipolytica*

# Protol® process

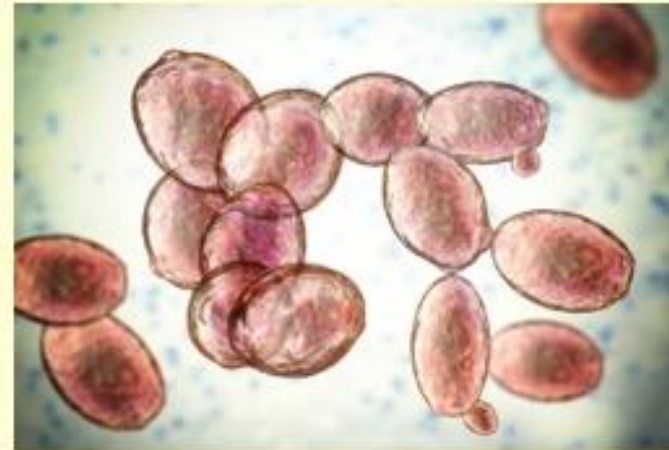
Connstein and Luidecke (Germany, 1919)

- Anaerobic conditions
- Substrate=100g/L saccharose
- Inocule=1% v/v

Time=2-3gg

T=30-35 °C

Conversion efficiency= 25% (glycerol/amount of sugar consumed)



*Saccharomyces  
cerevisiae*



## مواد و وسایل لازم جهت آزمایش «الف»:

کشت خالص مخمر ساکارومایسس سرویزیه

محیط کشت PDA

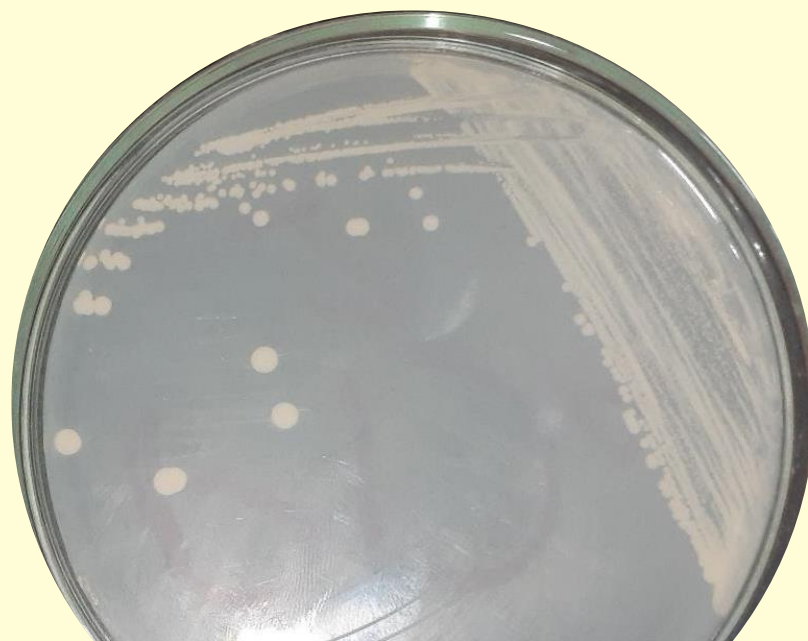
سوآپ پنبه‌ای

انکوباتور



## روش کار آزمایش «الف» :

مخمر ساکارومایسس سرویزیه را بر روی محیط PDA با  
استفاده از سوآب پنبه‌ای و به روش چمنی کشت می دهیم. ✓  
پلیت‌ها به مدت یک هفته در دمای آزمایشگاه قرار می دهیم. ✓



## مواد و وسایل لازم جهت آزمایش «ب»:

○ ارلن‌های حاوی ملاس چغندر

○ شیکر

○ لوپ

○ کشت خالص مخمر ساکارومايسس سرويزيه

○ لوله‌ی آزمایش بزرگ استریل

○ پارافین

○ انکوباتور



## روش کار آزمایش «ب» :

**توجه :** برای این کار می‌توان از سه محیط زیر استفاده کرد:

۱- لاکتوز برات همراه با محلول سه درصد بی سولفیت سدیم

۲- ملاس چغندر همراه با محلول سه درصد بی سولفیت سدیم

۳- محیط حاوی مواد معدنی مغذی همراه با محلول سه درصد بی سولفیت سدیم

ما در آزمایشگاه از ملاس چغندر با بریکس ۱۵ و  $\text{pH} = 5/4$  همراه با محلول سه درصد بی سولفیت سدیم استفاده می‌کنیم.

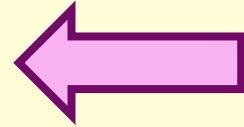
## روش کار آزمایش «ب» :



- ✓ با استفاده از لوپ مخمرهای رشد یافته را به داخل محیط تولید تلقیح می‌نماییم.
- ✓ محیط‌ها را داخل انکوباتور شیکردار به مدت ۵ روز در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد قرار می‌دهیم.
- ✓ پس از مرحله‌ی هوازی، به منظور انجام مرحله‌ی بی‌هوازی نمونه‌ها را کنار شعله به داخل لوله‌ی آزمایش استریل ریخته و روی نمونه‌ها مقداری پارافین می‌ریزیم.
- ✓ نمونه‌ها را در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت یک هفته قرار می‌دهیم.
- ✓ بعد از یک هفته نمونه‌ها را خارج و تولید گلیسرول را بررسی می‌کنیم.







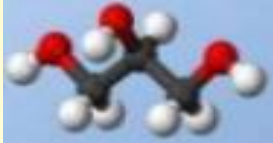
# مواد و وسایل لازم جهت آزمایش ج:

○ ارلن‌های حاوی محیط تولید



## روش کار آزمایش «ج»:

- ✓ پارافین لوله را خارج می‌کنیم.
- ✓ مقداری از مایع داخل ارلن را پشت دست بمالید و دستانمان را زیر آب شیر می‌شوئیم.
- ✓ ایجاد حالت چربی بر روی پوست را بررسی می‌کنیم.



# Grades of Glycerin



**Stage 1  
Crude  
Glycerin**



**Stage 2  
Glycerin**



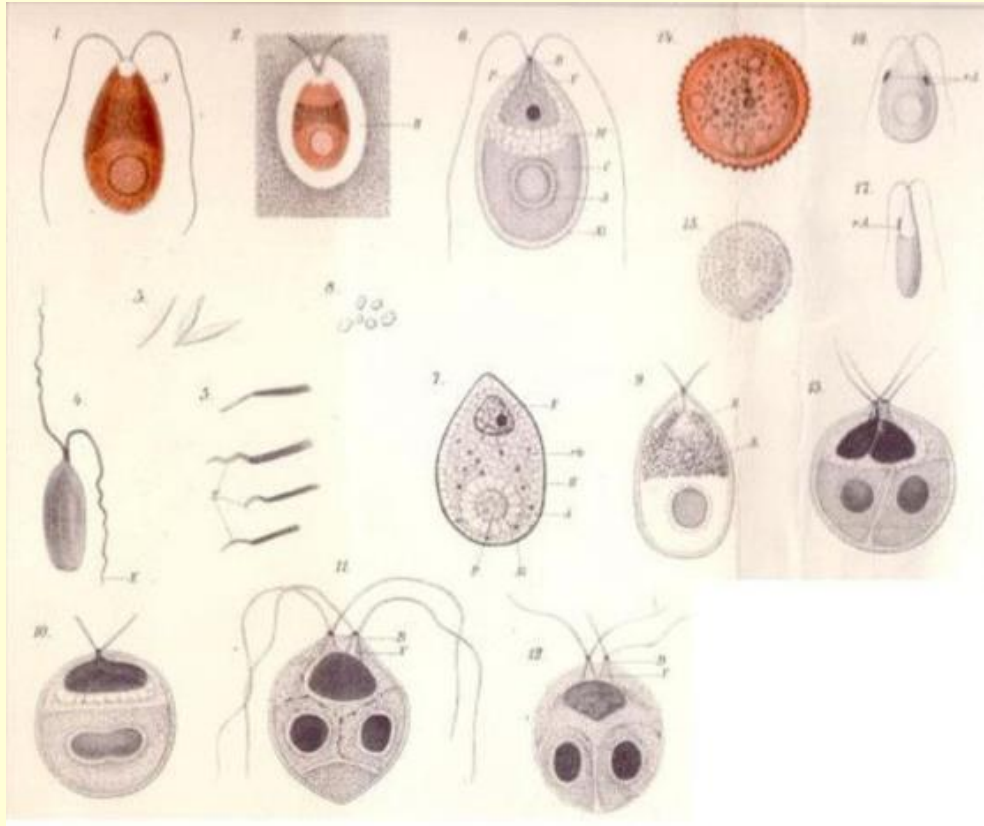
**Stage 3  
Glycerin**



**Stage 4  
Tech Grade  
Glycerin**

# Dunaliella

- massive accumulation of  $\beta$ -carotene
- hypersaline environments



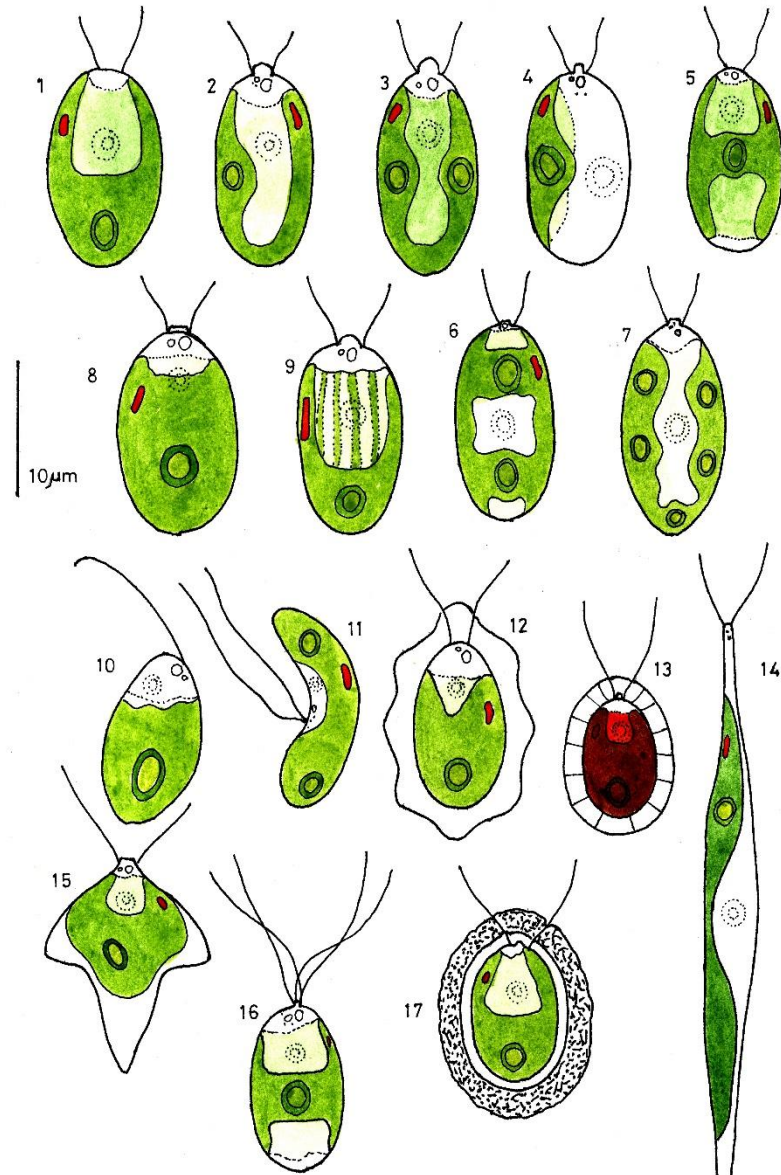
# Dunaliella

- growing phase NaCl 1,5M
- storing phase: NaCl 4 M
- recovery: osmotic shock

pH= 9-10

Substrate=NaCl, CO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, PO<sub>3</sub>

T=10-40 °C



UNICELLULAR VOLVOCALES

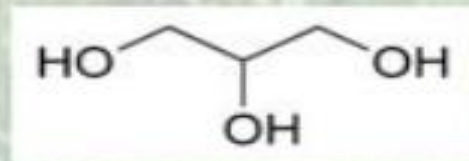
- |                   |                |                  |
|-------------------|----------------|------------------|
| 1-9 Chlamydomonas | 5 Pseudagloë   | 10 Pedinomonas   |
| 1 Euchlamydomonas | 6 Amphichloris | 11 Mesostigma    |
| 2 Chlamydella     | 7 Pleiochloris | 12 Lobomonas     |
| 3 Bicocca         | 8 C. braunii   | 13 Haematococcus |
| 4 Chlorogoniella  | 9 C. suboogama | 14 Chlorogonium  |
|                   |                | 15 Brachiomonas  |
|                   |                | 16 Carteria      |
|                   |                | 17 Phacotus      |

# Gly-Ethanol

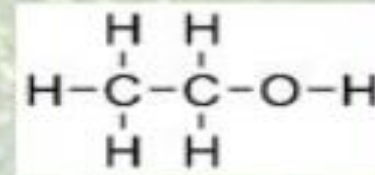
Ethanol fermentation from glycerin is an anaerobic fermentation. The process uses yeast to convert glycerin into ethanol.

Reagents used-

- 20% glycerin
- 5g baker's yeast
- Distilled water
- 20g Broken wheat



Glycerin



Ethanol





با تشکر از توجه شما  
با آرزوی موفقیت و سلامتی

