

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی کرمان

دانشکده داروسازی و علوم دارویی

مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس

پایان نامه دکترای داروسازی

عنوان:

بیوانکیسولاسیون سودوموناس آئروژینوزا PTCC1074

مولد بیوسورفاکتانت در هیدروژل آلژینات

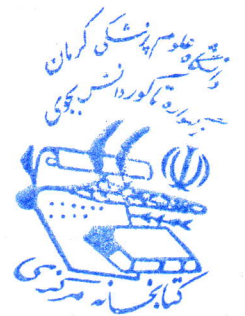
نگارش:

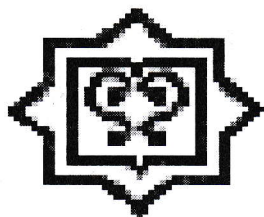
امیر سنایی نسب

اساتید راهنما:

دکتر غلامرضا دهقان

دکتر محمدحسن مصحفی





**Kerman University of Medical Sciences**  
**Faculty of Pharmacy**  
**Pharmaceutics Research Center**  
**For The Certificate of Pharm. D. Degree**

**Title:**

**Bioencapsulation of Biosurfactant-Producing *Pseudomonas aeruginosa* PTCC1074 in Alginate Hydrogel**

**By:**

**Amir Sanaee Nasab**

**Supervisors:**

**Dr. Gholamreza Dehghan**  
**Dr. Mohhamadhassan Moshafi**



**February 2018**

**Thesis:968**

## خلاصه فارسی:

مقدمه: سورفاکتانت مولکول‌هایی آمفی پاتیک هستند که می‌توانند باعث کاهش کشش سطحی شوند. ویژگی‌های منحصر به فرد سورفاکتانت باعث شده است که آنها کاربردهای عملی فراوانی در فرآیندهای پتروشیمی سیستم‌های بیولوژیک، فرآورده‌های بهداشتی، غذایی و آرایشی پیدا کنند. بیوسورفاکتانت متعلق به گروهی از مشتقات ساختاری مولکول‌های سطحی هستند که توسط میکروارگانیسم‌های تولید می‌شوند و به عنوان یک جایگزین مناسب برای سورفاکتانت شیمیایی، در 5 دهه اخیر کاربردهای گسترده‌ای پیدا کرده‌اند. در مقایسه با سورفاکتانت‌های شیمیایی، بیوسورفاکتانت‌ها از مزایای فراوانی برخوردارند. از جمله سمیت کم، زیست تخریب پذیری بالا، سازگاری بهتر با محیط و فعالیت ویژه در شرایط دمایی، pH های مختلف و غلظت‌های متفاوت نمک. از طرفی، تثبیت سلولی یکی از روش‌های پیشرو در آزاد سازی فرآورده‌های بیولوژیک و آلژینات پر کاربردترین ماتریکس برای رسیدن به این هدف است. در واقع، کلسیم آلژینات، یک ساختار ژل مانند را فراهم می‌نماید و با بارگیری تعداد زیادی باکتری در خود، به افزایش میزان کارایی و تولید بیوسورفاکتانت کمک می‌کند.

در این تحقیق با استفاده از تثبیت کردن سویه ی *pseudomonas aeruginosa* (PTCC1074) در هیدروژل‌های کلسیم آلژینات و همین‌طور بهینه‌سازی روند تثبیت، افزایش احتمالی بازدهی تولید و کارایی بیوسورفاکتانت حاصل را در حالت تثبیت شده، نسبت به حالت سلول‌های آزاد آن مورد بررسی قرار گیرد.

روش ها: ابتدا این باکتری ها در حالت آزاد کشت داده شدند و سپس در ساعات مختلف مورد ارزیابی های گوناگون از جمله optical density، کشش سطحی سوپرناتانت محیط کشت قرار گرفتند. در ادامه، شیوه ی تثبیت در بیدهای کلسیم آلزینات به کار گرفته شد، برای بهینه سازی تثبیت سویه ی باکتریایی *P. aeruginosa* (PTCC1074) در بیدهای کلسیم آلزینات، از روش طراحی آزمایش استفاده شد. این روش به یک سری آزمایش براساس داده ها و مدل آماری انتخاب شده طراحی می کند و سپس نتایج آزمایش ها را مورد آنالیز دقیق قرار داده و در نهایت، یک مدل معتبر ریاضی بدست می دهد. لازم به ذکر است که بررسی خصوصیات ریخت شناسی و فیزیکی بیدها نیز طی فرایند کشت و پس از اتمام آزمایش ها مورد توجه و ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: تولید بیوسورفاکتانت از سویه ی *P. aeruginosa* (PTCC1074) ابتدا پس از کشت سلولهای آزاد و سپس براساس شیوه ی ارائه شده در طراحی آزمایش، مورد اندازه گیری و ارزیابی های متفاوت واقع شد. با استفاده از داده های به دست آمده یک مدل آماری معتبر به دست آمد. نهایتاً مشخص شد که سطح 4٪ برای متغیر غلظت سدیم آلزینات، سطح 1٪ برای متغیر غلظت کلسیم کلراید و سطح 15 دقیقه برای زمان هم زدن، بهترین پاسخ را به همراه دارد که به معنای رسیدن کشش سطحی به میزان  $41 \text{ mN.m}^{-1}$  که در مقایسه با حالت آنها کاهش بیشتر نشان داد.

نتیجه گیری: این مطالعات نشان داد که سویه ی *P. aeruginosa* (PTCC1074) به صورت احاطه شده در بیدهای کلسیم آلزینات قادر به حفظ حیات خود و تولید بیوسورفاکتانت است و پس از 24 ساعت به بیشترین مقدار تولید بیوسورفاکتانت خواهد رسید.

کلمات کلیدی: احاطه کردن، بید آلزینات، سودوموناس، بیوسورفاکتانت.

**Abstract**

**Background:** surfactants are amphipathic molecules that Reduce surface tension. The unique properties of surfactants head to a vast array of practical applications.

Which are illustrated in terms of petroleum processing, biological systems, health products, food, and cosmetic protectants.

Biosurfactants belong to a structurally diverse group of surfact-active molecules synthesizes by microorganisms and their applications have been greatly extended over the past five decades as improved alternatives to chemical surfactants. There are many advantages to the biosurfactants as compared to their chemically synthesized counterparts. These include lower Toxicity, higher biodegradability, better environmental compatibility and specific activity at different temperatures, pH ranges and salinities.

Cell encapsulation resents one of the current leading methodologies aimed at the delivery of biological products and alginate is the most frequently employed material for the purpose.

In this study, the attempt was on using Calcium alginate hydrogel entrapment method and entrapment optimization as well, in order to increase productivity and efficiency of biosurfactant produced by *pseudomonas aeruginosa*, in comparison with free cells.

**Methods:** the bacterial free cells were cultured and then at definite intervals, various measurements were evaluated like optical density ( $E_{24}$ , foam activity) and surface tension of culture medium supernatant. In following, the entrapments of calcium alginate beads were used. In order to have a more precise statistical analysis of the results and providing a valid mathematical model, the experimental design method to optimize entrapment. The technique was used exclusively for this particular strain. The resulting data were put together and analyzed. It should be noted that the morphology and physical properties of beads during the culture process after competing experiments were evaluated.

**Results:** Biosurfactant produced by *P. aeruginosa* (PTCC1074) were evaluated after free cell cultures and then after culturing on the basis of a method proposed by design of the experiment. Using data obtained, a validate methodical model was achieved. The

levels of three variable, Sodium alginate 4%, CaCl<sub>2</sub> 1%, hardening time 15 min were found to be optimum for maximum production of biosurfactant it was given the surface tension 41 mN.m<sup>-1</sup> which compared to free cells.

This study showed that *P. aeruginosa* (PTCC1074) entrapped in calcium alginate beads is able to preserve its viability and produce biosurfactant as a secondary metabolite. Maximum biosurfactant production was achieved during the first 24h.

Key words: entrapment, alginate beads, optimizations, *P.aeruginosa* .



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان  
دانشکده داروسازی

پایان نامه آقای امیر سنایی نسب دانشجوی داروسازی ورودی ۹۰ شهری به پرداز به شماره ۹۶۸  
تحت عنوان:

"سواکپولاسیون سودوموناس آئروژینوزا PTCC1074 مولد بیوسورفاکتانت در هیدروژل آلژینات"

اساتید راهنما:

۱- دکتر غلامرضا دهقان

۲- دکتر محمدحسن مصحفی

هیئت محترم داوران به ترتیب حروف الفبا:

۱- دکتر محمد احمدی نژاد

۲- دکتر مهدی انصاری

۳- دکتر پیام خزائلی

۴- دکتر صالحه صبوری

در تاریخ ۹۷/۱/۲۷ مورد ارزیابی قرار گرفت و با نمره (با عدد) ۱۹/۲۶ .....  
(با حروف) نوزده و دو دهم رسید. به تصویب رسید.

دکتر یعقوب پور شجاعی  
رئیس اداره پایان نامه

دکتر محمود رضا حیدری  
رئیس دانشکده

