محور مقاله: فناوری‌های نوین در علوم خاک

تاثیر منابع مختلف کربن بر بیوسنتز سورفکتانت توسط باکتری Pseudomonas putida KT-2440

مهدی شهابی رکنی[1*]، اکرم حلاج نیا[2]، امیر لکزیان[3]، محدرضا حسین‌دخت[4]

[1] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

[2] استادیار گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

[3] استاد گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

[4] استاد گروه شیمی دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده

بیوسورفکتانت‌ها ترکیبات فعال سطحی با خاصیت آمفی فیلیکی هستند که توسط برخی میکروارگانیسم‌ها تولید شده و باعث کاهش کشش سطحی و بین سطحی مایعات می‌گردند. در این مطالعه تولید بیوسورفکتانت توسط باکتری Pseudomonas putida KT-2440 در منابع مختلف کربن (گلوکز، گلیسرول، روغن زیتون، ملاس چغندر قند) در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و زمان گرماگذاری ۸۴ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور تشخیص تولید بیوسورفکتانت از روش‌های کمی و کیفی غربالگری نظیر: آزمون پراکنش نفت، همولیز خون، درصد امولسیون کنندگی، کشش سطحی و فعالیت آمیزندگی استفاده شد. نتایج نشان داد P.putida توانایی رشد در هر چهار منبع کربن را دارد. بر اساس نتایج غربالگری سویه به کار رفته در این پژوهش دارای همولیز مثبت در محیط آگار خون‌دار بود. همچنین این باکتری بیشترین کاهش کشش سطحی را در منبع کربن روغن زیتون به میزان ۴۶/۵۶ میلی نیوتون بر متر دارا بود. بیشترین درصد امولسیون کنندگی در منبع کربن گلوکز (۴۸ درصد) بدست آمد. مقدار بیوسورفکتانت تولید شده در منابع کربنی گلوکز، گلیسرول، روغن زیتون و ملاس چغندر قند به ترتیب ۳/۸، ۲/۴، ۲/۶، و ۳/۶ گرم در لیتر بود.

کلمات کلیدی: بیوسورفکتانت، کشش سطحی، منابع کربن، امولسیون کنندگی

مقدمه

بیوسورفکتانت‌ها مولکول‌های میکروبی آمفیفیلکی[1] می‌باشند که دارای اجزاء آب‌دوست و آبگریز هستند و در سطح مایع/مایع، مایع/گاز و یا مایع/جامد پراکنده می شوند (Banat و همکاران، ۲۰۱۰). بخش هیدروفیلی (آب دوست) شامل اسید آمینه، فسفات یا پپتید حلقوی، آنیون یا کاتیون، پلی ساکارید و بخش هیدروفوب (آب گریز) شامل اسیدهای چرب اشباع شده یا اشباع نشده و یا هیدروکربن‌ها است (Georgiou و همکاران، ۱۹۹۲). در یک تقسیم بندی بر اساس جرم مولکولی، بیوسورفکتانت‌ها شامل چندین گروه، ترکیباتی با وزن مولکولی کم مانند لیپوپپتید، گلیکولیپید و فسفولیپید؛ و ترکیباتی با وزن مولکولی بالا مانند سورفکتانت‌های پلیمری و ذره‌ای هستند (Rosenberg and Ron، ۲۰۰۲).بیوسورفکتانت‌ها در مقایسه با سورفکتانت‌های سنتزی چندین مزیت دارند که عبارتند از: بیوسورفکتانت‌ها از نظر زیستی تخریب‌پذیر، مقرون به صرفه و دارای سمیت پایین بوده و قابلیت تولید از منابع تجدیدپذیر را با هزینه‌های اندک دارند (Banat، ۱۹۹۷).در سال‌های اخیر مطالعات متعددی در مورد تولید بیوسورفکتانت توسط میکروارگانیسم‌های مختلف و همچنین کاربرد آن در خاک‌های کشاورزی، صنایع غذایی، پزشکی، آرایشی بهداشتی صورت گرفته است. نتایج حاکی از آن است که بیوسورفکتانت‌ها وضعیت عناصر غذایی خاک را بهبود می‌بخشند، قابلیت حفظ رطوبت آن را افزایش داده و همچنین در آلودگی زدایی و زیست پالایی انواع محیط‌های آبی و خاکی کاربرد ویژه‌ای دارند (Pacwa و همکاران، ۲۰۱۱؛ Bustamante و همکاران، ۲۰۱۲).فاکتورهای محیطی مختلفی نظیر pH، درجه حرارت، زمان گرماگذاری و فاکتورهای شیمیایی نظیر نسبت کربن به نیتروژن، نوع منبع کربن و نیتروژن، غلظت سدیم کلراید و میزان استفاده از عناصری همچون نیتروژن، آهن و منگنز می‌تواند بر تولید بیوسورفکتانت تاثیرگذار باشد(Vijayakuma و Saravanan، ۲۰۱۵).مواد خام مورد استفاده در بیشتر پروسه‌های بیوتکنولوژی می‌تواند به طور قابل توجهی بر هزینه تمام شده و صرفه اقتصادی آن تاثیرگذار باشد؛ بنابراین استفاده از مواد خام در دسترس و ارزان قیمت حتی استفاده از ضایعات بخش‌های مختلف در تولید بیوسورفکتانت توجه ویژه‌ای

* ایمیل نویسنده مسئول: mahdishahabi21@gmail.com

[1] Amphiphilic

به خود جلب نموده است (El-Sheshtawy و Doheim، ۲۰۱۴).این پژوهش با هدف یافتن مناسب‌ترین منبع کربن جهت سنتز سورفکتانت توسط باکتری Pseudomonas putida KT-2440 صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۹۸-۱۳۹۷ به اجرا در آمد. تیمارهای آزمایشی شامل منابع مختلف کربن: گلوکز، گلیسرول، روغن زیتون و ملاس چغندر قند با منبع نیتروژن ثابت اوره جهت بررسی بهترین منبع کربن برای استحصال سورفکتانت میکروبی از باکتری Pseudomonas putida KT-2440 بود.علت استفاده از این باکتری غیرپاتوژن بودن آن به جهت استفاده در صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی، آرایشی بهداشتی و دارویی همچنین تولید نوع rhamnolipid بیوسورفکتانت (Reis و همکاران، ۲۰۱۳) به جهت گستره مطالعه صورت گرفته روی آن در مصارف کشاورزی اعم از آلودگی خاک و تغذیه گیاه می‌باشد.ابتدا جهت اطمینان از خلوص نمونه مورد استفاده، پس از دریافت ویال لیوفیلیزه شده و کشت در محیط Nutrient agar، نمونه جهت بررسی میله ای شکل و گِرَم منفی بودن به روش Gram رنگ آمیزی شد (شکل۱-a). جهت تلقیح باکتری به محیط کشت نمک‌های معدنی، باکتری یاد شده ابتدا در محیط Nutrient agar بازکشت و در روز بعد یک کلونی از آن به محیط کشت Nutrient Broth تلقیح شده و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد. در روز سوم پس از آماده سازی محیط کشت نمک‌های معدنی در یک لیتر آب مقطر شامل: ۲/۲ گرم دی سدیم مونوهیدروژن فسفات، ۱/۴ گرم پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات، ۰/۶ گرم منیزیم سولفات، ۰/۰۱ گرم سولفات آهن، ۰/۰۵ گرم کلرید سدیم، ۰/۰۲ گرم کلرید کلسیم، ۰/۰۲ گرم عصاره مخمر و اضافه نمودن ۱ میلی‌لیتر محلول عناصر غذایی به آن با ترکیبات داده شده در یک لیتر آب مقطر: ۲/۳۲ گرم سولفات روی، ۱/۷۸ گرم سولفات منیزیم، ۰/۵۶ گرم اسید بوریک، ۱ گرم سولفات مس، ۰/۳۹ گرم مولیبدات سدیم، ۰/۴۲ گرم ۰/۴۲ گرم کلرید کبالت، ۰/۰۰۴ گرم کلرید نیکل و ۱ گرم EDTA؛ و تعدیل pH به میزان ۷±۰/۲ تقسیط آن در ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری به میزان ۵۰ میلی‌لیتر انجام و پس از اضافه نمودن ۱ درصد کربن از منابع کربن یاد شده (میزان کربن ملاس چغندرقند ۴۳/۱ درصد و روغن زیتون ۷۶/۴۲ درصد اندازه گیری شد) و منبع کربن اوره با نسبت کربن به نیتروژن برابر۲۰، تیمارهای حاصل اتوکلاو گردیدند (Abouseoud و همکاران، ۲۰۰۸). سپس در شرایط استریل ۱ میلی‌لیتر از محیط کشت باکتریایی (پس از کدورت سنجی به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۰ نانومتر و رسیدن به رنج کدورت ۱ تا ۱/۳ به جهت رسیدن به فاز سکون و وارد کردن مقدار یکسان از باکتری) به ارلن‌های یاد شده تلقیح و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد با دور شیکر ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۸۴ ساعت گرماگذاری شد. پس از زمان یاد شده روشناور باکتریایی به فالکن‌های ۵۰ میلی‌لیتری انتقال داده شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با شتاب ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه جهت جداسازی سلول‌های باکتری سانتریفیوژ گردید. از روشناور حاصل جهت تعیین pH و آزمایشات بعدی استفاده شد.

سنجش کشش سطحی:

کشش سطحی سوپرناتانت فاقد باکتری به کمک دستگاه تنسیومتر به صورت میانگین ۳ تا ۹ تکرار برای بالا بردن دقت اندازه گیری گزارش شد. کشش سطحی با غوطه ور نمودن حلقه پلاتینی دستگاه در روشناور فاقد باکتری و بررسی نیروی لازم جهت خروج حلقه از حدفاصل محیط آبی و هوا توسط دستگاه تنسیومتر شرکت نوین شیمی‌یار در محل آزمایشگاه شیمی‌فیزیک دانشکده علوم دانشگاه فردوسی اندازه گیری گردید.

آزمون گسترش نفت:

به سطح یک پتری‌دیش حاوی آب مقطر، ۲۰ میکرولیتر ماده هیدروکربنی اضافه و سپس ایجاد ناحیه شفاف در نتیجه افزودن مقدار برابر از روشناور عاری از باکتری به مرکز پتری دیش بررسی گردید (شکل ۱-d).

آزمون همولیز خون

یک قطره محیط کشت باکتریایی بر روی سطح پلیت حاوی آگار خون‌دار قرار داده شد و پس از گرماگذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد فعالیت همولتیک با ایجاد هاله اطراف سوپرناتانت شناسایی شد (شکل ۱-c). این آزمون با توجه به ظاهر هاله ایجاد شده با آلفا، بتا و

گاما مشخص می‌شود؛ در همولیز آلفا هاله ایجاد شده به صورت یک منطقه با رنگ سبز، همولیز بتا یک هاله روشن و نوع گاما در صورتی گزارش می‌گردد که هیچ گونه تغییری در اطراف قطرات مشاهده نگردد (Bicca و همکاران، ۱۹۹۹).

شاخص امولسیون کنندگی

برای انجام این آزمون ۵ میلی‌لیتر از سوپرناتانت فاقد باکتری به حجم برابری از نفت سفید در لوله آزمایش‌های جداگانه افزوده و به مدت دو دقیقه به خوبی وورتکس شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت با اندازه گیری ارتفاع امولسیون داخل هر لوله و استفاده از فرمول زیر، این شاخص اندازه گیری گردید (Goldenberg and Cooper، ۱۹۸۷).

$$\%E_{24} = \frac{\text{لایه امولسیون شده}}{\text{کل ستون مایع}} \times 100$$

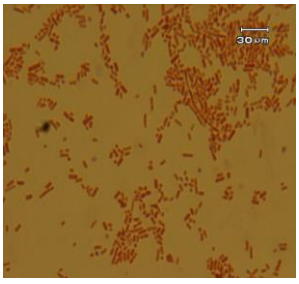
اندازه گیری وزن خشک سورفکتانت

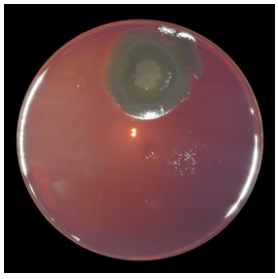
پس از توزین فالکن‌ها، به ۱۰ میلی‌لیتر از سوپرناتانت فاقد باکتری سه برابر حجم استون سرد اضافه و به مدت یک شب در یخچال نگهداری شد. پس از سانتریفیوژ با شتاب ۳۰۰۰ دور در دقیقه رسوب حاصل در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید و فالکن‌ها مجددا توزین شد؛ با محاسبه اختلاف وزن مقدار سورفکتانت اندازه گیری شد (Abouseoud و همکاران، ۲۰۰۸).

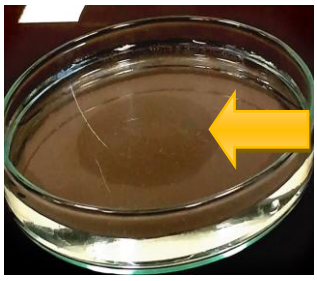
آزمون رنگ سنجی

در این روش از آبی تولوئیدن (یک رنگ کاتیونی) استفاده شد. این رنگ با داشتن بارهای مثبت قابلیت اتصال به rhamnolipid که دارای بار منفی است را دارد و جذب نور کمپلکس حاصل در طول موج ۶۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر بررسی شد (Chen و همکاران ۱۹۹۸).

جهت آماده سازی نمونه‌ها سوپرناتانت فاقد باکتری در کلروفرم با حجم برابری افزوده شد. رنگ (۱ گرم در لیتر) نیز به مقدار یک درصد حجم آن دو اضافه و به آرامی مخلوط گردید. پس از سکون و ایجاد حالت دو فازی به کمک سمپلر از فاز پایینی (بیوسورفکتانت حل شده در کلروفرم) جهت آزمون نمونه برداری شد. جهت حذف تاثیر محلول، برای نمونه شاهد دستگاه از آب به عنوان جایگزین روشناور باکتریایی استفاده شد (شکل۱-b).







شکل۱) a. رنگ آمیزی به روش Gram b. آزمون رنگ سنجی c. آزمون همولیز خون d. آزمون گسترش نفت

نتایج و بحث

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس آزمون‌های کمی انجام شده

منبع تغییرات	میانگین مربعات				
	E_{24} (%)	pH	ST (mN/m)	رنگ سنجی	وزن خشک رسوب (g/L)
تیمار	۱۳۱۵/۵۶**	۷/۲۱**	۱۹۴/۲۸**	۰/۰۵**	۰/۰۰۰۱*
خطا	۱/۰۵	۰/۰۰۳	۶/۹۲	۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۰۱

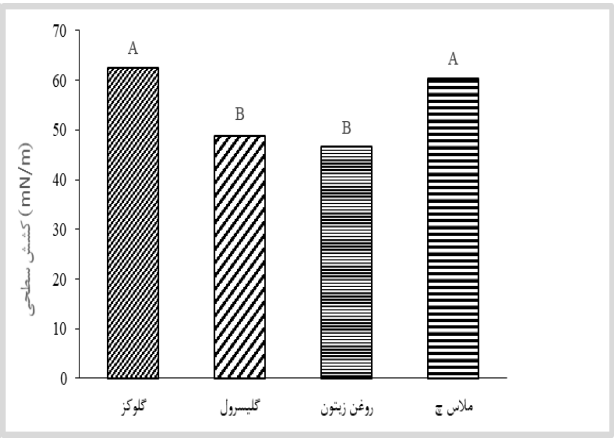
E_{24}: شاخص امولسیون کنندگی در ۲۴ ساعت، ST: کشش سطحی

* و ** : به ترتیب معنی‌دار در سطح پنج درصد و معنی‌دار در سطح یک درصد

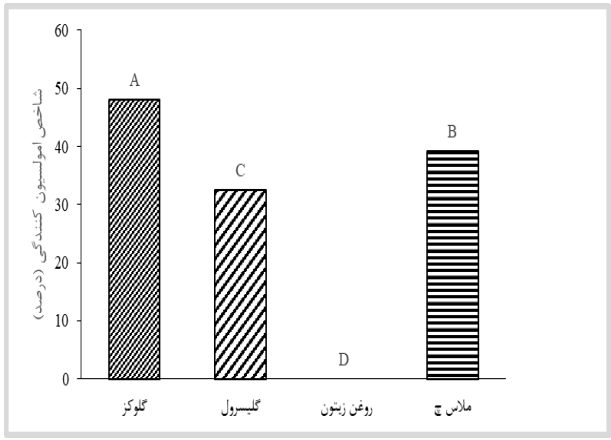
بررسی‌های کیفی نشان داد که گونه مورد استفاده در آزمون همولیز خون قابلیت همولیز مثبت را دارا بود (شکل۱-c) و در آزمون گسترش نفت، پراکندگی لایه نفتی به اطراف تاییدی بر وجود سورفکتانت در سوپرناتانت بود (شکل۱-d).

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، مشخص شد استفاده از منابع مختلف کربن تاثیر معنی‌داری بر مقدار تولید سورفکتانت با استفاده از آزمون‌های کمی صورت گرفته داشت.

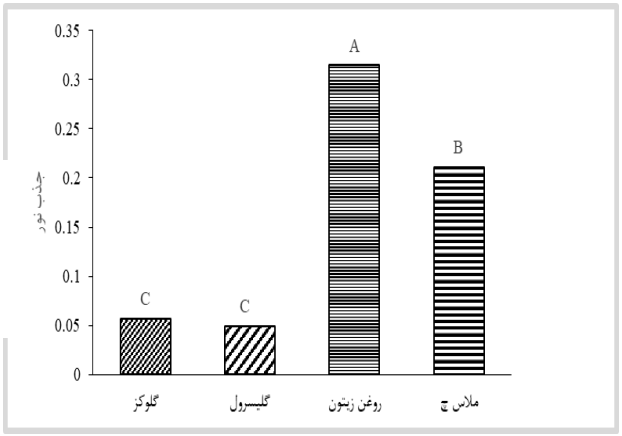
شکل‌های ۲ تا ۶ اثر منابع مختلف کربن بر آزمون‌های کمی ارزیابی سورفکتانت تولید شده را نشان می‌دهند. نتایج این بررسی نشان داد که P.putida توانایی رشد و تولید سورفکتانت در تمام منابع کربنی استفاده شده را دارا بود. نتایج نشان داد که تغییر منابع کربن موجب تغییر معنی دار شاخص امولسیون کنندگی در تیمارهای مورد آزمایش شد. در این خصوص بیشترین شاخص امولسیون کنندگی در تیمار گلوکز (به مقدار ۴۸ درصد) و کمترین مقدار آن در تیمار روغن زیتون (در حدود صفر) اندازه گیری شد (شکل ۲). این در حالی است که جذب نور در روش رنگ‌سنجی در تیمار روغن زیتون بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد (۰/۳۱) که احتمالا انحلال روغن در محلول به دلیل وجود سورفاکتانت و ایجاد حالت امولسیونی می تواند دلیل افزایش کدورت این تیمار نسبت به سایر تیمارها باشد. تیمار ملاس چغندر قند با مقدار جذب ۰/۲۱ نیز به طور معنی داری موجب افزایش جذب نسبت به دو تیمار گلیسرول و گلوکز گردید. دو تیمار گلوکز و گلیسرول در مقدار جذب تفاوت معنی داری نشان ندادند (شکل ۵). تیمار روغن زیتون بیشترین کاهش را در کشش سطحی به مقدار ۴۶/۵۵ میلی‌نیوتن بر متر (کاهش کشش سطحی آب به میزان ۲۸ واحد) موجب شد هرچند تفاوت معنی داری بین کشش سطحی در این تیمار و تیمار گلیسرول مشاهده نگردید (شکل ۳). کاهش بیشتر کشش سطحی در این دو تیمار می تواند نتیجه تولید مقدار سورفکتانت بیشتر در اثر استفاده از این منابع کربنی باشد. اگرچه نتایج حاصل با پژوهش‌های متعددی نظیر (Abouseoud و همکاران، ۲۰۰۸) و (Mseddi و همکاران، ۲۰۱۶) همخوانی داشت اما کاهش کشش سطحی با مقدار وزن خشک سورفکتانت تولید شده در این تیمارها هماهنگ نبود (شکل ۶). نتایج نشان داد که این دو تیمار موجب کاهش معنی دار کشش سطحی نسبت به دو تیمار گلوکز و ملاس چغندر شدند. این در حالی است که دو تیمار گلوکز و ملاس چغندر بیشترین وزن سورفاکتانت را تولید کردند. مقدار بیوسورفکتانت تولید شده در منابع گلوکز، گلیسرول، روغن زیتون و ملاس چغندر قند به ترتیب ۳/۸، ۲/۴، ۲/۶، و ۳/۶ گرم در لیتر بود (شکل ۶). این عدم انطباق احتمالا با توجه به قابلیت امولسیون کنندگی سورفکتانت که موجب انحلال فاز روغنی در محلول می گردد و نقش خود روغن در کاهش کشش سطحی می تواند قابل توجیه باشد. علاوه بر این احتمالا تفاوت pH محیط کشت‌های باکتری بعد از فعالیت باکتری تحت تاثیر منابع مختلف کربن می تواند بر استخراج سورفاکتانت تاثیرگذار باشد. این تفاوت pH محیط‌های کشت می‌تواند ناشی از تولید متابولیت‌های اسیدی ثانویه مثل یورونیک اسید باشد. منابع کربن مورد استفاده تاثیر معنی داری بر pH نهایی محیط کشت‌های باکتری داشتند به طوری که کمترین و بیشترین pH به ترتیب در تیمارهای گلیسرول و ملاس چغندر قند اندازه‌گیری شد. این تغییر pH نه تنها احتمالا بر استخراج سورفاکتانت تاثیر گذار است بلکه می تواند بر فعالیت باکتری و مقدار تولید سورفکتانت نیز موثر باشد.



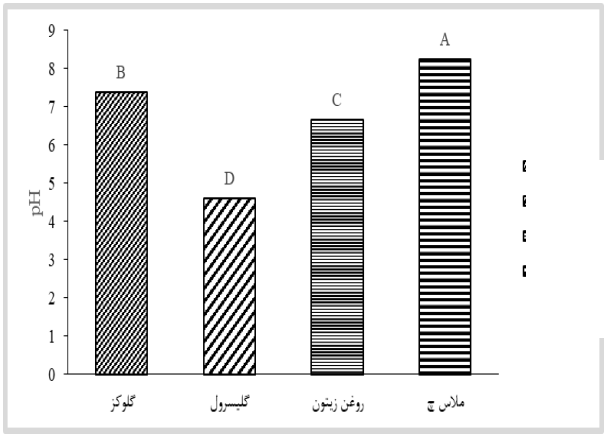
شکل۲- اثر منبع کربن بر امولسیون کنندگی سوپرناتانت فاقد باکتری



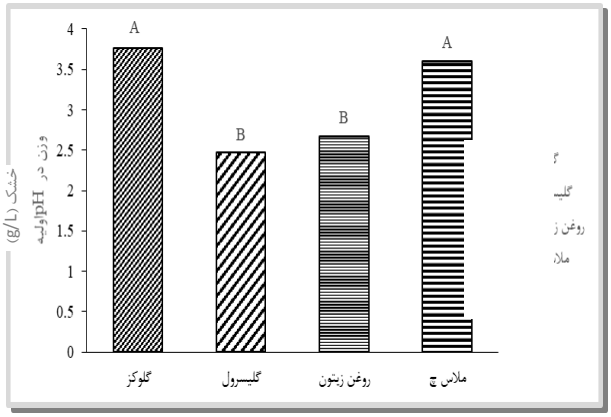
شکل۳- اثر منبع کربن بر کشش سطحی سوپرناتانت فاقد باکتری



شکل۴- اثر منبع کربن بر pH سوپرناتانت فاقد باکتر



شکل۵- اثر منبع کربن بر جذب نور کمپلکس رنگ- سورفکتانت



شکل۶- اثر منبع کربن بر وزن سورفکتانت

نتیجه‌گیری

این پژوهش نشان داد که منبع کربن تاثیر بسزایی بر تولید سورفکتانت باکتریایی دارد. از طرفی مشخص شد که تنها اکتفا به آزمون‌های کمی و کیفی موجود جهت برآورد خصوصیات سورفکتانت تولیدی روش مناسبی نمی‌باشد بلکه می‌بایست تاثیر طیف وسیعی از عوامل فیزیکی و شیمیایی مختلف بر نتایج حاصل بررسی گردد. همچنین مشاهده شد که منابع مختلف کربنی تاثیر معنی داری بر pH سوپرناتانت باکتریایی حاصل دارند که خود احتمالا می تواند بر میزان استخراج سورفکتانت تاثیرگذار است. با توجه به اهمیت سورفاکتانتهای میکروبی در زیست پالایی خاک‌ها همانطور که پیش‌تر گفته شد می‌بایست به صرفه اقتصادی تولید نیز توجه نمود پس استفاده از ملاس چغندر قند با توجه به اینکه این منبع کربنی وزن خشک سورفکتانت قابل قبولی را در پی داشت، نباید از نقش آن در تولید سورفکتانت میکروبی غافل شد. همچنین پیشنهاد می‌شود که تاثیر سایر منابع مختلف ضایعاتی نیز به عنوان منبع کربن بررسی شود.

منابع:

Abouseoud, M., Maachi, R., Amrane, A., Boudergua, S., & Nabi, A. 2008. Evaluation of different carbon and nitrogen sources in production of biosurfactant by Pseudomonas fluorescens. Desalination, 223, 143–151.

Banat, I. M. 1997. Microbial production of surfactants and their commercial potential. Fuel and Energy Abstracts, 38(4), 221.

Banat, I. M., Franzetti, A., Gandolfi, I., Bestetti, G., Martinotti, M. G., Fracchia, L., Marchant, R. 2010. Microbial biosurfactants production, applications and future potential. Applied Microbiology and Biotechnology, 87(2), 427–444.

Bicca, FC., Fleck, LC., Ayub, MA. 1999. Production of biosurfactant by hydrocarbon degrading Rhodococcus ruber and Rhodococcus erythropolis. Revista de Microbiologia, 30(3), 231-6.

Bustamante, M., Durán, N., & Diez, M. C. 2012. Biosurfactants are useful tools for the bioremediation of contaminated soil: a review. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 12(ahead), 0–0.

Chen, Y., Wang, S.-y., Wu, R.-f., Qi, D.-y. & Zhou, T.-z. 1998. Spectrophotometric determination of trace anionic surfactants such as SDS and SDBS in water after preconcentration on an organic solvent-soluble membrane filter. Analytical letters 31(4): 691-701.

Cooper, D.G., and Goldenberg, B.G. 1987. Surface-active agents from two Bacillus species, Appl. Environ. Microbiol., 53 (2), 224–229.

El-Sheshtawy, H. S., and M. M. Doheim. 2014. Selection of Pseudomonas aeruginosa for biosurfactant production and studies of its antimicrobial activity, Egyptian Journal of Petroleum, 23.1: 1- 6.

Georgiou, G., Lin, S. C., and Sharma, M. M. 1992. Surface-active compounds from microorganisms. Nature Biotechnology, 10(1), 60–65.

Mseddi, S., Chaari, L., Belaid, C., Chakchouk, I., and Kallel, M. 2016. Valorization of treated olive mill wastewater in fertigation practice. Environmental Science and Pollution Research, 23, 15792–15800.

Pacwa-Płociniczak, M., Płaza, G. A., Piotrowska-Seget, Z., & Cameotra, S. S. 2011. Environmental applications of biosurfactants: Recent advances. International Journal of Molecular Sciences, 12(1), 633–654.

Reis, R., Pacheco, G., Pereira, A. & Freire, D. 2013. Biosurfactants: production and applications. New York: InTech.

Ron, E. Z. and Rosenberg, E. 2002. Biosurfactants and oil bioremediation. Current Opinion in Biotechnology, 13(3), 249–252.

Vijayakuma, S., & Saravanan, V. 2015. Biosurfactants-Types, Sources and Applications. Research Journal of Microbiology, 10(5): 181–192.

Topic for submission: Novel Technologies in Soil Science

Evaluation of different carbon sources in Biosynthesis of surfactant by *Pseudomonas putida KT-2440*

Shahabi Rokni[*1], M., Hallajnia[2], A., Lakzian, A.[3] Housaindokht, M.R. [4]

[1] M. Sc. Student, Soil Science Department, Faculty of Agriculture University of Mashhad, Iran
[2] Assistant Prof., Soil Science Department, Faculty of Agriculture University of Mashhad, Iran
[3] Professor, Soil Science Department, Faculty of Agriculture University of Mashhad, Iran
[4] Professor, Chemistry Department, Faculty of Science University of Mashhad, Iran

Abstract

Biosurfactants are surface active compounds that are produced by some microorganisms which reduce the surface and interface tension of liquids. In this study, the production of biosurfactant was evaluated by *Pseudomonas putida KT-2440* in different Carbon sources (glucose, glycerol, olive oil, sugar beet molasses) at 30°C and 84 hours calcination time. Quantitative and qualitative screening methods such as: oil dispersion test, blood hemolysis, emulsification percentage, surface tension were used to estimate biosurfactant production. The results showed that *P.putida* has the ability to grow in all four carbon sources. Based on the screening results, the strain used in this study was positive in hemolysis or α in the blood-agar medium. The bacteria also had the highest reduction in surface tension in the carbon source of olive oil at 46.56 mN/m. The highest emulsification percentage was obtained in glucose (48%). The amount of biosurfactant produced in glucose, glycerol, olive oil and sugar beet molasses was 3.8, 2.4, 2.6 and 3.6 g/liter, respectively.

Keywords: Biosurfactant, Surface Tension, Carbon Source, Emulsification

[*] Corresponding author, Email: mahdishahabi21@gmail.com