Modares Journal of Biotechnology
Volume 9, Issue 2, Spring 2018
Pages: 207-212
Type: Original Research

Characteristics of Productive Thermotolerant Acetic Acid Bacteria; Acetobacter sp. A10

Moghadami F. * ***MSc*****, Soudi M.R.**[1] ***PhD***

*Biology Department, AbharBranch, Payam-e-Noor University, Abhar, Iran
[1]Microbioloy Department, Biology Faculty, Alzahra University, Iran

Abstract

Aims: Adaptation of native bacterial strains in every climate is considerable. Evaluation of native thermotolerant acetic acid bacteria effectively influence their optimal and beneficial use. The aim of this study was to evaluate the characteristics of productive thermotolerant acetic acid bacteria with focusing on Acetobacter sp. A10.

Materials & Methods: In the present experimental study, the native thermotolerant strain of Acetobacter sp. A10 was used. For preparation of fresh culture and maintenance of thermotolerant strain glucose yeast extract calcium carbonate was used, which contained 50g glucose, 10g yeast extract, 30g calcium carbonate, and 25g agar per liter. In order to produce acetic acid by the strain of Acetobacter sp. A10, ethanol yeast extract broth culture was used. Effect of initial concentrations of ethanol and acetic acid on the production of acetic acid by Acetobacter sp. A10 was investigated, using a culture meda containing 2% to 9% ethanol and 2% to 9% acetic acid.

Findings: This strain could produce 40g/l acetic acid from 4% (WV) ethanol in baffled shake-flasks in 24h under optimized conditions of pH 4, at 33°C, and 150rpm. The strain at 37 °C was able to produce acetic acid in the presence of a 4% and 8% initial concentration of acetic acid a. The rate of fermentation was 2.5 times more than mesophilic ones.

Conclusion: Acetobacter sp. A10 is active in a different temperature range compared to mesophilic strains and it is able to withstand ethanol and acetic acid to more concentrations. In addition, it has higher efficiency, as well as greater rate and power of fermentation.

Keywords
Acetobacter [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68000091];
Thermotolerance [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/2016475];
Acetic Acid [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68019342];
Alcohol Dehydrogenase [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68000426]

*Corresponding Author
Tel: +98 (28) 33356887
Fax: +98 (24) 35226932
Post Address: Payam-e-Noor University, Daneshgah Boulevard, Abhar, Zanjan. Postal Code: 4561934365
fouziehm@yahoo.com
Received: August 5, 2016 Accepted: March 15, 2018 ePublished: June 21, 2018

www.SID.ir

ویژگی‌های باکتری گرماپای مولد استیک‌اسید Acetobacter sp. A10

فوزیه مقدمی* MSc
گروه زیست‌شناسی، واحد ابهر، دانشگاه پیام نور، ابهر، ایران
محمدرضا صعودی PhD
گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا(س)، تهران، ایران

چکیده
اهداف: سازگاری سویه‌های میکروبی بومی هر منطقه از لحاظ آب‌وهوای خاص آن مناطق بسیار مورد توجه است. بررسی سویه‌های بومی باکتری‌های تولیدکننده استیک‌اسید می‌تواند در استفاده بهینه از آنها بسیار موثر باشد. هدف این مطالعه، بررسی ویژگی‌های باکتری گرماپای مولد استیک‌اسید Acetobacter sp. A10 بود.
مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر، از سویه بومی گرماپای Acetobacter sp. A10 استفاده شد. برای تهیه کشت تازه و نگهداری سویه گرماپای از محیط کشت GYC و به‌منظور تولید استیک‌اسید توسط سویه Acetobacter sp. A10، از محیط کشت EYB استفاده شد. اثر غلظت‌های اولیه اتانول و استیک‌اسید بر تولید استیک‌اسید توسط سویه Acetobacter sp. A10 با کمک محیط‌های کشت حاوی ۹-۲% اتانول و ۵-۲% استیک‌اسید مورد بررسی قرار گرفت.
یافته‌ها: سویه Acetobacter sp. A10 توانست در شرایط بهینه یعنی دمای ۳۳°C، pH برابر ۴ و در فلاسک شیاردار با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه با غلظت اولیه ۴۰% اتانول در مدت ۲۴ ساعت به مقدار ۴۰گرم بر لیتر استیک‌اسید تولید کند. این سویه در دمای ۳۷°C نیز قادر بود در حضور غلظت اولیه ۴% استیک‌اسید و غلظت اولیه ۸% اتانول، استیک‌اسید تولید کند. سرعت فرمنتاسیون در سویه Acetobacter sp. A10 ۲/۵برابر بیش از سویه‌های مزوفیل بود.
نتیجه‌گیری: سویه Acetobacter sp. A10 در دامنه دمایی متفاوتی نسبت به سویه‌های مزوفیل دارای فعالیت است و قدرت تحمل اتانول و استیک‌اسید را نیز تا غلظت‌های بیشتری دارا است. به‌علاوه، دارای بازدهی بالاتر و نیز سرعت و توان فرمنتاسیون بیشتری است.
کلیدواژه‌ها: Acetobacter، گرماپای، استیک‌اسید، الکل‌دهیدروژناز

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۵/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۲۴
*نویسنده مسئول: fouziehm@yahoo.com

مقدمه

طبقه‌بندی باکتری‌های استیک‌اسید در سال‌های اخیر توسعه یافته و این میکروارگانیزم‌ها به ۱۵ جنس تقسیم شده‌اند[1]. یک گروه از آنها جنس استوباکتر (Acetobacter) است که موضوع مورد بحث این مقاله است.

باکتری‌های جنس استوباکتر باکتری‌های مزوفیلی هستند که دمای بهینه ۲۳۰°C-۲۸ دارند[1]. در سال ۱۹۹۷ برای اولین بار *ساکی* و همکاران سویه‌هایی از استوباکتر را توصیف کردند که قادر به رشد و تولید استیک‌اسید در دمای ۴۰°C-۳۷ بودند و دمای بهینه ۳۳°C-۳۲ داشتند. از این رو این سویه‌ها، گرماپای (Thermotolerant) نام گرفتند[2].

در سال‌های بعد مطالعات بیشتری روی سویه‌های گرماپای انجام گرفت و کارآیی و ویژگی‌های بیشتری از آنها معرفی شد[3-5]. از جمله ویژگی‌های خاص این سویه‌ها توانایی رشد و تولید استیک‌اسید در غلظت‌های اولیه ۹% اتانول و ۵% استیک‌اسید است[6]. گرم‌شدن کره زمین به‌دلیل اثر گلخانه‌ای از نظر صنایع تخمیری بسیار مهم است، چرا که باید طی فرآیند تولید، دما را ثابت نگه دارند و در صورت افزایش دمای فرمنتاسیون باید مبالغ زیادی را برای خنک‌کردن دستگاه‌ها صرف کنند. این در حالی است که اگر بتوان از سویه‌های گرماپای با عملکرد بهینه در دمای ۴۰°C-۳۷ استفاده کرد، در هزینه خنک‌کردن صرفه‌جویی خواهد شد[7].

سویه‌های متعلق به جنس استوباکتر دارای چندین آنزیم دهیدروژناز وابسته به غشا هستند که سبب می‌شود آنها بتوانند برخی قندها و قندالکل‌ها را به‌طور ناقص اکسید کنند و محصولات اکسایش را به بیرون از سلول تراوش نمایند. به همین دلیل چنین فرآیندهایی را اکسیداسیون ناقص یا فرمنتاسیون اکسیداتیو می‌نامند[8].

آنزیم‌های دهیدروژناز در این جنس در غشای سیتوپلاسمی به زنجیره تنفسی باکتری متصل هستند. این باکتری‌ها حاوی چندین زنجیره تنفسی مختلف هستند. یکی از آنها زنجیره تنفسی استیک‌اسید است که دو آنزیم الکل‌دهیدروژناز (ADH) و آلدئیددهیدروژناز (ALDH) در آن فعال هستند[9]. الکل‌دهیدروژناز که یک کوئینوپروتئین وابسته به پیرولوکوئینولین‌کوئینون (PQQ) است می‌تواند اتانول را به استالدئید، اکسید کند و آلدئیددهیدروژناز نیز استالدئید حاصل را به استیک‌اسید اکسید می‌کند[10]. آنزیم الکل‌دهیدروژناز متصل به غشا برای اولین بار در سال ۱۹۷۸ توسط *آداچی* و همکاران جداسازی و توصیف شد[11]. فعالیت این آنزیم مانند سایر آنزیم‌ها در اثر افزایش برخی فاکتورهای محیطی مانند دما افزایش می‌یابد[5]. در مقابل، افزایش برخی فاکتورهای دیگر مانند افزایش اسیدیته و هوادهی که سبب ایجاد فرم غیرفعال آنزیم می‌شود، می‌تواند اثر عکس بر فعالیت آن داشته باشد[12].

تاکنون مطالعات زیادی روی سویه‌های بومی استوباکتر گرماپای در ایران انجام نشده است. هدف این پژوهش توصیف ویژگی‌های سویه باکتری گرماپای مولد اسید استیک Acetobacter sp. A10 بومی ایران و بررسی فرمنتاسیون سرکه توسط این سویه بود. تحمل حرارتی آنزیم الکل‌دهیدروژناز نیز از طریق بررسی عصاره سلولی حاوی آنزیم جداشده از این سویه در دماهای مختلف مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

سویه باکتریایی و محیط‌های کشت: سویه استفاده‌شده در مطالعه تجربی حاضر، در پژوهش قبلی از سرکه‌های خانگی جداسازی و براساس خصوصیات بیوشیمیایی (اکسیداسیون استات و لاکتات) در حد جنس، شناسایی شده بود[13].

برای تهیه کشت تازه و نگهداری سویه گرماپای از محیط کشت عصاره مخمر گلوکز کلسیم‌کربنات (GYC) استفاده شد که در هر لیتر آن ۵۰گرم گلوکز، ۱۰گرم عصاره مخمر، ۳۰گرم کربنات‌کلسیم و ۲۵گرم آگار موجود بود. تولید استیک‌اسید و تحمل سویه در برابر غلظت‌های اولیه اتانول و استیک‌اسید، اثرات هوادهی، دما و pH و همچنین اندازه‌گیری فعالیت آنزیم در محیط کشت مایع عصاره مخمر اتانول (EYB) مورد بررسی قرار گرفت که در هر لیتر آن ۳۰گرم عصاره مخمر و ۴۰میلی‌لیتر اتانول موجود بود.

تولید استیک‌اسید توسط سویه Acetobacter sp. A10: به‌منظور تولید استیک‌اسید توسط سویه Acetobacter sp. A10، از محیط کشت EYB استفاده شد. به‌منظور تلقیح لوله‌های پیش‌کشت از کلنی‌های ۲۴ساعته موجود در محیط GYC استفاده شد. پس از ۲۴ ساعت از محیط پیش‌کشت، به میزان ۲% به فلاسک‌های ۲۵۰میلی‌لیتری حاوی ۵۰میلی‌لیتر محیط کشت EYB تلقیح شد. بعد از ۲۴ ساعت محتوای فلاسک‌ها با سرعت ۱۰۰۰۰ دور

Archive of SID
www.SID.ir

در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴°C سانتریفوژ شده و محلول رویی آن برای بررسی میزان تولید استیک‌اسید استفاده شد. کلیه مراحل آزمایش با ۵ تکرار انجام شد و میانگین نتایج گزارش شد.

اثر فاکتورهای مختلف بر تولید استیک‌اسید: اثر غلظت‌های اولیه اتانول و استیک‌اسید بر تولید استیک‌اسید توسط سویه Acetobacter sp. A10 با کمک محیط‌های کشت حاوی ۹-۲% اتانول و ۵-۲% استیک‌اسید مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور بررسی اثر دماهای مختلف، ارلن‌های کشت در دماهای ۴۵-۱۵°C گرماگذاری شدند. برای مطالعه اثر pH بر واکنش، محیط‌های کشت در pHهای ۹-۲ با کمک محلول‌های یک‌نرمال هیدروکلریک‌اسید (HCl) و سدیم‌هیدروکسید (NaOH) تنظیم شدند. بررسی اثر هوادهی با کمک ارلن ساده و شیاردار انجام شد. تولید استیک‌اسید توسط سویه مورد نظر در فرمانتور STR (Biostat B.Braun؛ آلمان) با گنجایش ۲لیتر حاوی ۵۰۰میلی‌لیتر محیط کشت EYB مورد بررسی قرار گرفت. غلظت اولیه ۴% اتانول، pH برابر ۶/۸، دمای ۳۳°C، سرعت همزن ۲۵۰rpm و تراکم اکسیژن ۱vvm (حجم هوا به حجم محیط در دقیقه) در نظر گرفته شد.

آنالیز محصول: مقدار اسید و اتانول با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی گازی (Buck scientific؛ ایالات متحده) با ستون شیشه‌ای کاپیلاری (Altech؛ آلمان) سنجش شد. اندازه ستون ۰/۲۵میکرومتر× ۳۰متر و از نوع AT Wax با آشکارساز یونش شعله‌ای (FID) بود. دمای تزریق ۲۰۰°C، دمای آشکارساز ۲۵۰°C و دمای شروع ۷۰°C بود که در مدت ۵ دقیقه به ۲۰۰°C می‌رسید. گاز حامل هلیوم و فشار سر ستون ۱۳psi بود. مقدار تزریق‌شده از هر نمونه هم ۳میکرولیتر بود[14].

آماده‌سازی عصاره آنزیمی: به‌منظور آماده‌سازی محلول آنزیمی کشت باکتری در محیط EYB در شرایط ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از شست‌وشو با آب، یک‌گرم از رسوب حاصل در ۱۰میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۱مولار، با pH برابر ۶ به‌صورت سوسپانسیون درآمد[15]. سپس سلول‌ها با استفاده از سونیکاتور ۱۰۰وات (۱۰ دقیقه با فواصل استراحت یک دقیقه) شکسته شدند و عصاره حاصل برای بررسی آنزیمی استفاده شد.

بررسی آنزیمی: به‌منظور بررسی فعالیت آنزیم الکل‌دهیدروژناز از محلول آنزیمی (قطعات شکسته غشا) استفاده شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم با روش کالریمتری با اسپکتروفتومتر انجام گرفت [15, 16]. فعالیت آنزیمی در دماهای مختلف از ۱۰°C- تا ۶۰°C+ بررسی شد. تحمل حرارتی آنزیم الکل‌دهیدروژناز با استفاده از عصاره آنزیمی به‌دست‌آمده از سویه Acetobacter sp. A10 مورد بررسی قرار گرفت. بعد از قرارگرفتن سوسپانسیون به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای مورد مطالعه، واکنش آنزیمی اندازه‌گیری شد. کلیه مراحل آزمایش با ۵ تکرار انجام شد و میانگین نتایج گزارش شد. برای مقایسه، فعالیت آنزیم الکل‌دهیدروژناز از یک سویه مزوفیل نیز مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور بهینه‌سازی تولید استیک‌اسید توسط سویه Acetobacter sp. A10 از روش بررسی یک فاکتور در هر زمان استفاده شد

فعالیت و پایداری حرارتی آنزیم الکل‌دهیدروژناز از طریق بررسی عصاره سلولی مورد مطالعه قرار گرفت. به‌منظور مقایسه منحنی فعالیت آنزیم الکل‌دهیدروژناز از سویه Acetobacter sp. A10، این آنزیم از یک سویه مزوفیل نیز مورد بررسی قرار گرفت.

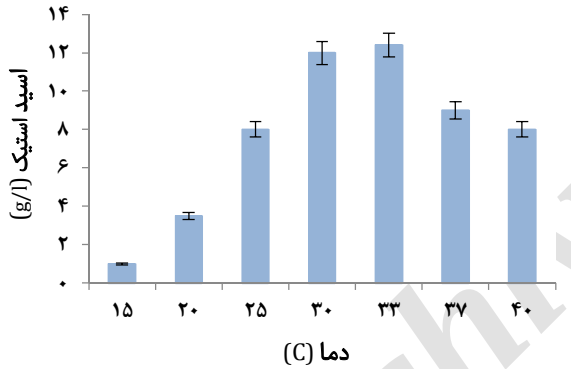
یافته‌ها

اصلاح شرایط تولید سرکه توسط Acetobacter sp. A10:

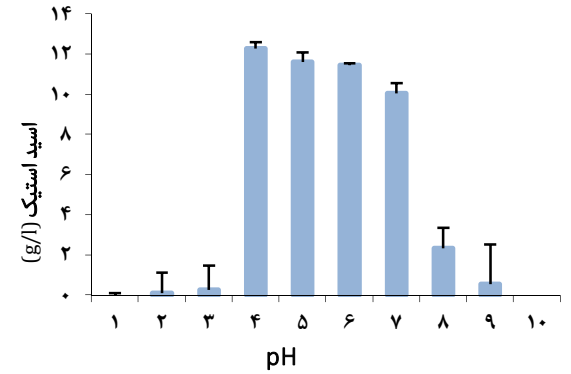
به‌کارگیری شرایط بهینه باعث شد میزان تولید استیک‌اسید توسط سویه Acetobacter sp. A10 تا ۴۰گرم بر لیتر افزایش یابد. دمای بهینه برای سویه مورد نظر، ۳۳°C یعنی ۳°C بالاتر از دمای بهینه انواع مزوفیل (۳۰-۲۸°C) بود و در دمای ۳۳°C قادر بود ۱۲گرم بر لیتر استیک‌اسید تولید کند (نمودار ۱).

pH مناسب برای تولید اسید ۴ بود (نمودار ۲). در بهینه‌سازی میزان هوادهی، استفاده از فلاسک شیاردار بازدهی تولید استیک‌اسید را تا ۹۰% افزایش داد، در حالی که در فلاسک‌های ساده، بازدهی ۴۰% بود. بهترین شرایط برای تولید استیک‌اسید توسط سویه Acetobacter sp. A10، دمای ۳۳°C (نمودار ۱)، pH برابر ۴ (نمودار ۲) و هوادهی با ارلن‌های شیاردار با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه بود.

مقایسه تحمل حرارتی سویه Acetobacter sp. A10 با یک سویه مزوفیل و میزان تولید اسید در دماهای مختلف با رعایت شرایط بهینه انجام شد (نمودار ۳). سویه Acetobacter sp. A10 توانست با رعایت شرایط بهینه (pH برابر ۴ و هوادهی با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه در ارلن‌های شیاردار) در دمای ۳۳°C و ۳۷°C در حضور غلظت اولیه ۸% اتانول، رشد و ۴۰گرم بر لیتر استیک‌اسید تولید کند (نمودار ۴).

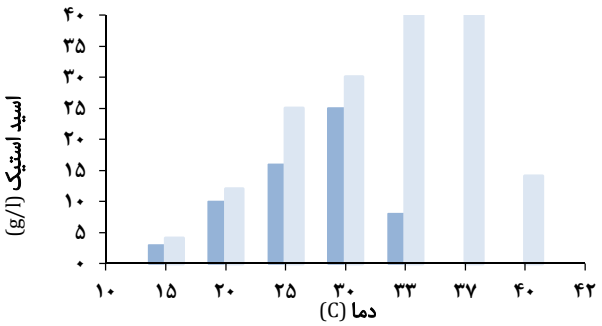


نمودار ۱) اثر دما بر میزان تولید استیک‌اسید توسط سویه Acetobacter sp.10 در فلاسک‌های ارلن‌مایر ۲۵۰میلی‌لیتری با ۵۰میلی‌لیتر محیط کشت EYB در مدت ۲۴ ساعت

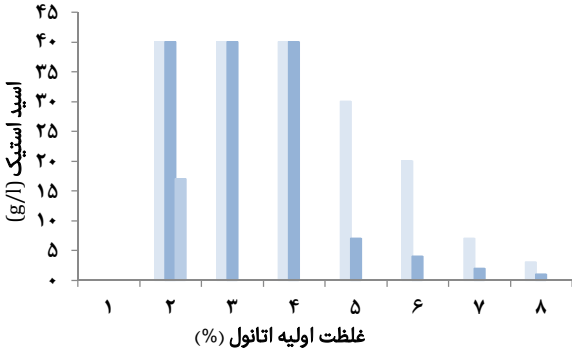


نمودار ۲) اثر pH بر میزان تولید استیک‌اسید توسط Acetobacter sp.10. pH محیط کشت‌های EYB (۵۰میلی‌لیتر در فلاسک‌های ۲۵۰میلی‌لیتری) از طریق افزودن هیدروکلریک‌اسید (HCl) و سدیم‌هیدروکسید (NaOH) تنظیم شد. دمای ۳۰°C به‌مدت ۲۴ ساعت

Archive of SID
www.SID.ir

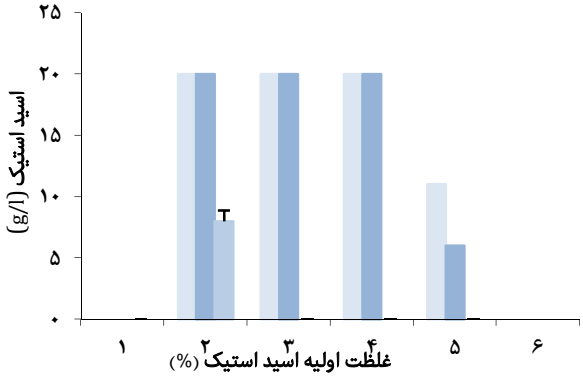


نمودار ۳) مقایسه تحمل دمایی دو سویه گرماپای و مزوفیل. سویه مزوفیل سویه گرماپای Acetobacter sp.10. با لحاظ شرایط بهینه pH برابر ۴ و هوادهی با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه در ارلن‌های شیاردار حاوی محیط‌های کشت EYB (۵۰میلی‌لیتر در فلاسک‌های ۲۵۰میلی‌لیتری) در مدت ۲۴ ساعت



نمودار ۴) اثر غلظت اولیه اتانول بر تولید استیک‌اسید توسط سویه Acetobacter sp.10 در ۳ دمای متخلف: ۳۳°C، ۳۷°C و ۴۰°C با رعایت شرایط بهینه. با لحاظ شرایط بهینه pH برابر ۴ و هوادهی با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه در ارلن‌های شیاردار حاوی محیط‌های کشت EYB (۵۰میلی‌لیتر در فلاسک‌های ۲۵۰میلی‌لیتری) در مدت ۲۴ ساعت

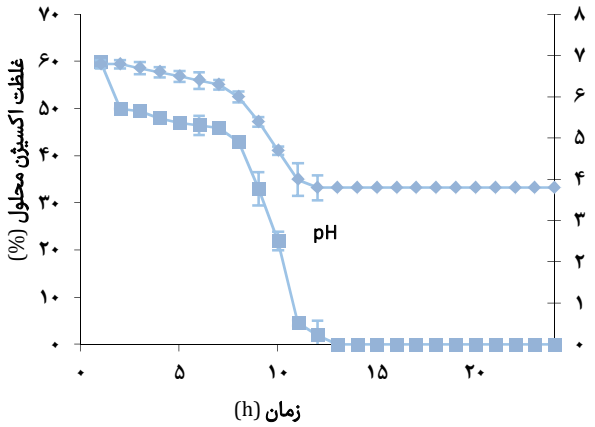
با افزایش مقدار اتانول توانایی سویه در رشد و تولید استیک‌اسید کاهش یافت. سویه Acetobacter sp. A10 در حضور غلظت‌های مختلف استیک‌اسید قرار گرفت. در حضور ۵% غلظت اولیه استیک‌اسید در شرایط بهینه در دو دمای ۳۳°C و ۳۷°C قادر به رشد و تولید استیک‌اسید بود (نمودار ۵). در حضور ۴% غلظت اولیه استیک‌اسید این سویه توانست رشد کند و ۴۰گرم بر لیتر استیک‌اسید تولید کند.



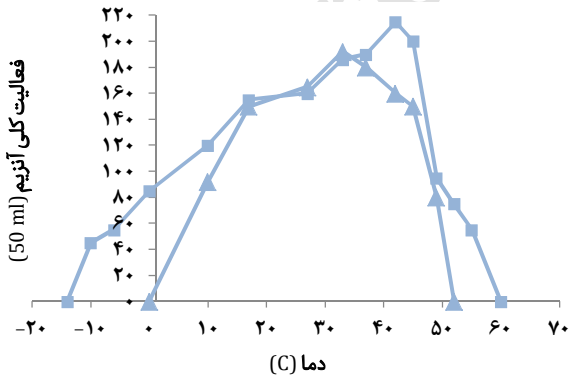
نمودار ۵) اثر غلظت اولیه استیک‌اسید بر تولید استیک‌اسید توسط سویه Acetobacter sp.10 در ۳ دمای متخلف: ۳۳°C، ۳۷°C و ۴۰°C به محیط‌های کشت EYB (۵۰میلی‌لیتر در فلاسک‌های شیاردار ۲۵۰میلی‌لیتری) غلظت‌های مختلف استیک‌اسید افزوده شد. بعد از تلقیح کشت‌ها در ۳ دمای مختلف ۳۳، ۳۷ و ۴۰°C به‌مدت ۲۴ ساعت باسرعت ۱۵۰ دور در دقیقه گرماگذاری شدند

تولید استیک‌اسید در فرمانتور: شرایط بهینه مشابه در فرمانتور نیز اعمال شد، ولی فقط ۱۹/۴گرم بر لیتر استیک‌اسید تولید شد. کاهش میزان اکسیژن محلول در محیط کشت از ساعت ۸ شروع و در ساعت ۱۲ میزان اکسیژن به حداقل رسیده و ثابت ماند (نمودار ۶). همزمان، pH محیط که در ۶/۸ تنظیم شده بود از ساعت ۸ رو به کاهش گذاشته و در ساعت ۱۲ در pH برابر ۴ ثابت ماند. هم‌پوشانی این دو منحنی (اُفت pH و اُفت اکسیژن محلول) نشانگر زمان آغاز و پایان تولید استیک‌اسید توسط سویه Acetobacter sp. A10 بود. میزان استیک‌اسید تولیدشده در این مرحله ۱۹/۴گرم بر لیتر از ۴۰گرم بر لیتر اتانول بود که با توجه به توانایی این سویه در تولید استیک‌اسید مقدار ناچیزی است.

فعالیت و پایداری حرارتی الکل‌دهیدروژناز: آنزیم الکل‌دهیدروژناز در سویه گرماپای Acetobacter sp. A10 در دامنه وسیعی از دماهای مختلف حتی زیر صفر درجه سانتی‌گراد فعال بود و بیشترین فعالیت را در دمای ۴۲ °C از خود نشان داد (نمودار ۷). سویه مزوفیل در دامنه دمایی کمتری نسبت به سویه گرماپای دارای فعالیت بود (نمودار ۷).



نمودار ۶) تولید استیک‌اسید توسط سویه Acetobacter sp.10 براساس تغییرات pH و اکسیژن در شرایط ثابت کشت در یک فرمانتور ۲لیتری حاوی ۵۰۰میلی‌لیتر محیط کشت EYB در دمای ۳۳°C به‌مدت ۲۴ ساعت با غلظت اولیه اتانول ۴%، سرعت همزن ۲۵۰ دور در دقیقه و حجم اکسیژن ۱vvm



نمودار ۷) فعالیت آنزیمی کل و تحمل حرارتی آنزیم الکل‌دهیدروژناز (ADH) در سویه گرماپای Acetobacter sp.10 و یک سویه مزوفیل در دماهای مختلف

بحث

در حضور ۴% غلظت اولیه استیک‌اسید این سویه توانست رشد کند و ۴۰گرم بر لیتر استیک‌اسید تولید کند. در مطالعات مشابهی که

www.SID.ir

انجام شده است سویه‌های گرماپای قادر به تحمل همین مقدار از اتانول و استیک‌اسید بوده‌اند[2, 17].

بین عوامل مختلفی که بر تولید استیک‌اسید توسط سویه گرماپای Acetobacter sp. A10 اثر دارند، هوادهی و میزان اکسیژن محلول در محیط کشت بیشترین اثر را دارد. در این پژوهش، بهترین شرایط هوادهی زمانی به دست آمد که از ارلن شیاردار استفاده شد، در حالی که این نتیجه در فرمانتور به دست نیامد که می‌تواند به‌دلیل عدم هوادهی کافی در حجم‌های بالا باشد. به این معنی که اکسیژن به‌طور یکنواخت در محیط حل نمی‌شود. زمانی که غلظت اکسیژن بسیار کم باشد، فرآیند به‌آهستگی پیش رفته و برخی واکنش‌های ثانویه نظیر تشکیل اتیل‌استات از طریق استریفیکاسیون اتانول و استیک‌اسید[14, 18] انجام می‌گیرد و زمانی که هوادهی بسیار بالا باشد، فرآیند به‌دلیل غیرفعال‌شدن آنزیم الکل‌دهیدروژناز به‌طور کامل متوقف می‌شود[19]. این موضوع می‌تواند از نظر صنعتی مورد توجه واقع شود زیرا در عمل، سرکه‌سازی در استاتورهای بزرگ با حجم‌های بسیار بالا یعنی بالاتر از ۱۵۰۰۰لیتر انجام می‌گیرد.

از دیگر ویژگی‌های سویه گرماپای بومی که می‌توان به آن به‌عنوان یکی از نتایج این مقاله توجه نمود، رشد آهسته و عدم توانایی تولید استیک‌اسید در دمای پایین نسبت به سویه‌های مزوفیل است که این عدم توانایی مربوط به عدم فعالیت آنزیم الکل‌دهیدروژناز نیست، چرا که آنزیم در دمای ۱۰°C- نیز فعال بوده است، ولی در واقع باکتری در دمای پایین‌تر از ۱۵°C قادر به رشد نیست. این موضوع نشانگر عدم تولید اسید توسط سویه گرماپای در دمای پایین به‌دلیل عدم رشد باکتری است. در سویه‌های مزوفیل، باکتری در دمای پایین‌تر از ۱۰°C نیز رشد و تولید استیک‌اسید می‌کند[14].

به نظر می‌رسد استفاده از سویه‌هایی چون Acetobacter sp. A10 در صنعت مقرون‌به‌صرفه‌تر است، زیرا می‌توانند تغییرات ناگهانی دما در فرمانتورها، که یکی از معضلات صنایع تخمیری است، و بالابودن غلظت‌های اتانول و استیک‌اسید را بهتر از سویه‌های مزوفیل تحمل کنند و بازدهی بالاتری داشته باشند. استفاده از این سویه‌ها در صنعت می‌تواند سبب صرفه‌جویی در هزینه‌های انرژی شود.

از جمله محدودیت‌هایی که برای استفاده از سویه‌های گرماپای در صنعت وجود دارد، یافتن سویه‌هایی است که بازده تولید بالایی داشته باشند و از طرفی میزان تغییر ژنتیکی در آنها کم باشد.

به همین منظور برای رفع این مشکل پیشنهاد می‌شود که در طیف وسیع‌تری اقدام به جداسازی سویه‌های بومی و سپس غربالگری سویه‌های گرماپای کرده تا بتوان از میان یک جمعیت وسیع از سویه‌های استوباکتر، سویه مناسبی برای استفاده صنعتی یافت.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی سویه گرماپای Acetobacter sp. A10 در دامنه دمایی متفاوتی نسبت به سویه‌های مزوفیل دارای فعالیت است و قدرت تحمل اتانول و استیک‌اسید را نیز تا غلظت‌های بیشتری داراست. به‌علاوه، دارای بازدهی بالاتر و نیز سرعت و توان فرمنتاسیون بیشتری است.

تشکر و قدردانی: با تشکر از دانشگاه پیام نور مرکز ابهر و دانشگاه الزهرا دانشکده علوم زیستی گروه میکروبیولوژی.

تاییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسنگان گزارش نشد.

تضاد منافع: تضاد منافع در این مطالعه وجود ندارد.

سهم نویسندگان: فوزیه مقدمی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۵۰%)؛ محمدرضا صعودی (نویسنده دوم)، پژوهشگر کمکی (۵۰%).

منابع مالی: این مطالعه از جانب هیچ سازمان یا نهادی حمایت مالی نشد.

منابع

1- Garrity G, Berner DJ, Krieg NR, Staley JT, editors. Bergy's manual of systematic bacteriology, part C. 2nd Volume. New York City: Springer US; 2005. pp: 41-95.

2- Saeki A, Theeragool G, Matsushita K, Toyama H, Lotong N, Adachi O. Development of thermotolerant acetic acid baeteria useful for vinegar fermentation at higher temperatures. Biosci Biotechnol Biochem. 1997;61(1):138-45.

3- Kanchanarach W, Theeragool G, Yakushi T, Toyama H, Adachi O, Matsushita K. Characterization of thermotolerant Acetobacter pasteurianus strains and their quinoprotein alcohol dehydrogenases. Appl Microbiol Biotechnol. 2010;85(3):741-51.

4- Saichana I, Moonmangmee D, Adachi O, Matsushita K, Toyama H. Screening of thermotolerant Gluconobacter strains for production of 5-keto-D-gluconic acid and distruption of flavin adenine dinucleotide-containing D-gluconate dehydrogenase. Appl Environ Microbiol. 2009;75(13):4240-7.

5- Hattori H, Yakushi T, Matsutani M, Moonmangmee D, Toyama H, Adachi O, et al. High-temperature sorbose fermentation with thermotolerant Gluconobacter frateurii CHM43 and its mutant strain adapted to higher temperature. Appl Microbiol Biotechnol. 2012;95(6):1531-40.

6- Moonmangmee D, Adachi O, Ano Y, Shinagawa E, Toyama H, Theeragool G, et al. Isolation and characterization of thermotolerant Gluconobacter strains catalyzing oxidative fermentation at higher temperatures. Biosci Biotechnol Biochem. 2000;64(11):2306-15.

7- Adachi O, Moonmangmee D, Toyama H, Yamada M, Shinagawa E, Matsushitak K. New developments in oxidative fermentation. Appl Microbiol Biotechnol. 2003;60(6):643-53.

8- Adachi O, Yakushi T. Membrane-bound dehydrogenases of acetic acid bacteria. In: Matsushita K, Toyama H, Tonouchi N, Okamoto-Kainuma A, editors. Acetic acid bacteria: Ecology and physiology. Tokyo: Springer Japan; 2016. pp. 273-97.

9- Matsushita K, Toyama H, Adachi O. Respiratory chains and bioenergetics of acetic acid bacteria. Adv Microb Physiol.1994;36:247–301.

10- Yakushi T, Matsushita K. Alcohol dehydrogenase of acetic acid bacteria: Structure, mode of action, and applications in biotechnology. Appl Microbiol Biotechnol. 2010;86(5):1257-65.

11- Adachi O, Miagawa E, Shinagawa E, Matsushita K, Ameyama M. Purification and properties of particular alcohol dehdrogenas from Acetobacter aceti. Agric Biol Chem. 1978;42(12):2331-40.

12- Matsushita K, Yakushi T, Takaki Y, Toyama H, Adachi O. Generation mechanism and purification of an inactive form convertible in vivo to the active form of quinoprotein alcohol dehydrogenas in Gluconobacter

Archive of SID

www.SID.ir

suboxydans. J Bacteriol. 1995;177(22):6552-9.
13- Moghadamy F, Souodi MR, Rezvaniyan Zadeh MR, Shayesteh S. Isolation of acetic acid producing bacteria from domestic vinegar and assessment of their thermal stability. J Sci Univ Tehran. 2004;30(3):541-9. [Persian]
14- De Ory I, Romero LE, Cantero D. Modeling the kinetics of growth of Acetobacter aceti in discontinuous culture: Influence of the temperature of operation. Appl Microbiol Biotechnol. 1998;49(2):189-93.
15- Adachi O, Tayama K, Shinagawa E, Matsushita K, Ameyama M. Purification and characterization of particulate alcohol dehydrogenase from Geluconobacter suboxydans. Agric Biol Chem. 1978;42(11):2045-56.
16- Tamaki N, Nakamura M, Kimura K, Hama T. Purification and properties of aldehyde dehydrogenase from Saccharomyces cerevisiae. J Biochem. 1977;82(1):73-9.
17- Trcek J, Toyama H, Czuba J, Misiewicz A, Matsushita K. Correlation between acetic acid resistance and characteristics of PQQ-dependent ADH in acetic acid bacteria. Appl Microbiol Biotechnol. 2006;70(3):366-73.
18- Gupta A, Singh VK, Qazi GN, Kumar A. Gluconobacter oxydans: its biotechnological applications. J Mol Microbiol Biotechnol. 2001;3(3):445-56.
19- Adachi O, Hours RA, Shinagawa E, Akakabe Y, Yakushi T, Matsushita K. Enzymatic synthesis of 4-pentulosonate (4-keto-D-pentonate) from D-aldopentose and D-pentonate by two different pathways using membrane enzymes of acetic acid bacteria. Biosci Biotechnol Biochem. 2011;75(12):2418-20.

Archive of SID

www.SID.ir