ترجمه فا

TarjomeFa.Com

ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

بهینه سازی آماری القای تولید فیتاز با آرابینوز در یک E. coli نوترکیب با استفاده از روش سطح پاسخ

چکیده:

تولید فیتاز در یک E.coli نوترکیب با استفاده از سیستم بیان pBAD با استفاده از روش سطح پاسخ با طراحی کامپوزیت مرکزی فاکتوریل کامل رو به مرکز بهینه سازی گردید. غلظت آمپی سیلین و آرابینوز در محیط کشت و درجه حرارت انکوباسیون برای به حداکثر رسانی تولید فیتاز با استفاده از طراحی آزمایشی کامپوزیت مرکزی 2^3 بهینه سازی گردید. با این طراحی تعداد آزمایش حقیقی اجرا شده توانست کاهش یابد حین اینکه به توضیح تعاملات ممکن در میان این فاکتورها امکان می دهد. نشان داده شد که مهمترین پارامتر اثر خطی و درجه دوم درجه حرارت انکوباسیون است. مشخص گردید که شرایط بهینه برای تولید فیتاز شامل آمپی سیلین با غلظت 100 µg/ml، آرابینوز 0.2% و یک درجه حرارت انکوباسیون برابر با 37 درجه سانتیگراد می باشد. تولید فیتاز در E. coli نوترکیب تا 100 و 1000 میلی لیتر مقیاس بندی گردید.

کلیدواژه ها: فیتاز نوترکیب، بهینه سازی آماری، شرایط کشت.

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

1-مقدمه

اغلب غلات و حبوبات غنی از پروتئین و چربی بوده ولیکن وجود فیتات استفاده از آنها را در غذا و علوفه توصیه نمی کند. تقریبا 70 درصد از کل فسفر در دانه های غلات و دانه های حبوبات به شکل فیتات وجود دارد. فیتات توسط حیوانات تک معدی به نحو ضعیفی مصرف می شود و به عنوان یک ضدنوترینت عمل می کند که به دلیل شلات سازی انواع فلزات و باند شدن به پروتئین است. این امر باعث کاهش قابلیت دسترسی زیستی پروتئین ها و مواد معدنی مهم مغذی می شود. در رژیم غذایی حیوانات، تامین فسفر، که یک عنصر ضروری برای رشد و پرورش حیوانات می باشد از علوفه دامی یا از فسفات غیرآلی اضافه شده به رژیم های غذایی ناشی می شود. این نقص و مانع تغذیه ای منجر به رهایی فسفر فیتات غیرهضم شده در مدفوع و ادرار می شود. فسفر در محیط باعث تسریع اوتریفیکاسیون آبهای شیرین می شود و مشکل اصلی در کیفیت آبهای سطحی می باشد که منجر

به استفاده محدود از آب برای پرورش دهندگان آبزیان، تفریحات، صنعت و مصرف خانگی می باشد. آنزیم های تجزیه کننده فیتات یا فیتازها باعث تبدیل فیتات فسفاتهای میو-اینوزیتول تا حدی فسفریله شده و فسفات می شود و باعث قابلیت دسترسی فسفر برای جذب زیستی می شود. افزودن مکمل فیتاز میکروبی به رژیم غذایی حیوانات و دام باعث تغییر کمپلکس فیتات می شود و همچنین قابلیت دسترسی زیستی پروتئین ها و مواد معدنی ضروری را افزایش می دهد، که باعث فراهم سازی اکی والان عملکرد رشد می شود یا بهتر از موارد مربوط به مکمل فسفات است و نیز باعث کاهش میزان فسفر در کود حیوانی می شود.

اشرشیا کلی به عنوان مهمترین ارگانیسم میزبان برای تولید پروتئین نوترکیب استفاده می شود. بیان یک فیتاز باکتریایی در E. coli BL21 توسط القای آرابینوز تحت کنترل سیستم بیان pBAD حاصل شده است. امروزه بهینه سازی شرایط کشت برای بهره وری یکی از اهداف اصلی بیوتکنولوژی شده است. بهره وری هر کشت تحت تاثیر پارامترهای فرایند و ترکیب محیط کشت می باشد. ازمایشات اولیه در ازمایشگاه ما نشان داده است که غلظت آنتی بیوتیک، درصد آرابینوز و درجه حرارت انکوباسیون محیط های کشت نقش های مهمی را در تولید فیتاز نوترکیب ایفا می کنند. ازا ینرو، یک بررسی برای بهینه سازی آماری محیط کشت های تولید فیتاز انجام گردید. روش سطح پاسخ RSM اکنون به طور روزمره برای مطالعات بهینه سازی در چندین پروسه بیوتکنولوژیکی و صنعتی انجام می گیرد. RSM برای توضیح تعاملات و واکنش های میان پارامترهای تاثیرگزار ممکن با تعداد محدود آزمایش استفاده می شود.

در این مقاله، ما غلظت بهینه آمپی سیلین مکمل اضافه شده به محیط کشت، غلظت آرابینوز به منظور القا، و درجه حرارت انکوباسیون را طی کشت برای تولید فیتاز نوترکیب حداکثر با استفاده از روش طراحی کامپوزیت مرکزی فاکتوریل کامل رو به مرکز در RSM تعیین می کنیم. سپس تولید فیتاز تا 100 و 1000 میلی لیتر با استفاده از شرایط کشت بهینه سازی شده مقیاس بندی گردید.

2-مواد و روشها

2-1-میکروارگانیسم و شرایط کشت

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

ژن فیتاز از یک باکتری فاضلاب مالزی جداسازی گردید و به E. coli LMG194 با استفاده از سیستم E. coli قابل القای آرابینوز، که یک سیستم بیان pBAD TOP TA می باشد، منتقل گردید و فیتاز به عنوان یک انزیم درون سلولی بیان گردید.

سلولهای E.coli با پلاسمیدهای مناسبی منتقل شدند و به مدت یک شب در درجه حرارت 37 درجه سانتیگراد روی محیط کشت Luri Bertani (LB) حاوی امپی سیلین 100 µg/ml رشد کردند. کلنی های شبانه به یک فلاسک شیک حاوی محیط کشت LB بروث با آمپی سیلین 100 µg/ml منتقل شدند و برای مدت 18 ساعت روی یک شیکر انکوبه شده با سرعت 200 دور در دقیقه در درجه حرارت 37 درجه سانتیگراد رشد کردند. این کشت به عنوان تلقیح به نسبت 1 به 6 (v/v) استفاده گردید.

2-2-طراحی آزمایشی

بعد از بهینه سازی اولیه، مشاهده گردید که سه فاکتور به نام غلظت انتی بیوتیکی (X1)، غلظت آربینوز (X2) و درجه حرارت انکوباسیون (X3) اساسا کنترل تولید فیتاز را با E. coli نوترکیب تحت تخمیر دسته ای انجام می دهند. با درنظرگیری این فاکتورها و محدودیت زمانی، روش سطح پاسخ برای بهبود تولید فیتاز کل در E.coli نوترکیب اتخاذ گردید. ماده تلقیح (به نسبت 1 به 6 (v/v)) به 3 واحد از فلاسک های ارلن مایر 250 میلی لیتری حاوی 120 میلی لیتر محیط کشت LB بروث با انواع مختلف غلظت های آمپی سیلین (50، 100 و 150 µg/ml) برای بهینه سازی غلظت آنتی بیوتیک منتقل گردید. فلاسک ها در یک شیکر اوربیتال در دور 200 rpm و درجه حرارت 37 درجه سانتیگراد قرار داده شدند. وقتی که کشت در حال رشد نمایی به تراکم نوری برابر با OD مساوی 0.6 در 600nm رسید، محیط کشت کلنی دار به لوله های همه منظوره به نحو ضدعفونی شده توزیع گردید و القای آرابینوز در غلظتهای مختلف انجام گردید (1 و 2 و 3 µg/ml) و بعد فلاسک ها در درجه حرارت های مختلف در یک شیکر اوربیتال در دور 200 rpm انکوبه گردید (30 و 37 و 44 درجه سانتیگراد). نمونه گیری بعد از 6 ساعت انکوباسیون انجام شد. آزمایشات به شکل سه تایی انجام گردید.

طراحی آزمایشی کامپوزیت مرکزی با فاکتوریل کامل رو به مرکز برای بهینه سازی شرایط کشت برای تولید فیتاز توسط E.coli نوترکیب استفاده گردید. آزمایشات با استفاده از نرم افزار آماری مینی تب نسخه 14 طراحی

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

گردید. یک طراحی ازمایشی فاکتوریل 2^3 با چهار نقطه محوری (دارای α=1 و شش نسخه تکراری در نقطه مرکزی (n0=6) منجر به تعداد کل بیست آزمایش بکار رفته برای بهینه سازی غلظت آنتی بیوتیک (X1)، درصد آرابینوز (X2) و درجه حرارت انکوباسیون (X3) می شود.

ماتریس طراحی و سطح متغیرهای مستقل انتخابی برای مطالعه به شکل کدگذاری شده در جدول 1 امده است. متوسط فعالیت ماکزیمم فیتاز با مقادیر دو برابر بدست آمده به عنوان متغیر وابسته یا پاسخ Yi (U) درنظر گرفته شد. تحلیل رگرسیون روی داده های بدست آمده با استفاده از MINITAB 14 انجام گردید. میکروسافت اکسل 2003 برای محاسبه پاسخ های پیشگویی شده استفاده گردید. روایی سازی نهایی شیوه آماری نسبت به تولید فیتاز با E. coli نوترکیب سه بار انجام گردید. نمونه ها بعد از 6 ساعت انکوباسیون دور ریخته شد.

2-3-مقیاس بندی تولید فیتاز

تولید فیتاز در E. coli نوترکیب در شرایط بهینه سازی شده (غلظت آمپی سیلین برابر با 100 µg/ml، غلظت آرابینوز برابر با 2 µg/ml، درجه حرارت انکوباسیون 37 درجه سانتیگراد) در شیشه های همه منظوره حاوی 10ml محیط کشت LB بروث در فلاسک های ارلن مایر 250 ml حاوی 100 ml از LB بروث و در یک بیوراکتور 2L (برند Biostat شرکت Sartorius) حاوی 1000 ml از LB بروث به منظور مقیاس بندی انجام گرفت. فیتاز باکتریایی نوع وحشی به عنوان شاهد استفاده گردید (بدون آمپی سیلین). آزمایشات سه مرتبه انجام گردید.

2-4-روش تحلیلی

2-4-1-مواد شیمیایی

فیتیک اسید، نمک دودکاسدیم از شرکت شیمیایی سیگما (سنت لوییس میسوری) خریداری گردید. همه مواد شیمیایی دیگر و محیط کشت ها دارای درجه آنالیزی بودند.

2-4-2-تهیه نمونه

محیط کشت پرورش داده شده با سرعت 13000 rpm برای مدت 10 دقیقه سانتریفوژ گردیدند. لایه رویی بدون سلول جداسازی گردید و پلت باکتریایی مجددا در میزان 100 µl از بافر سدیم استات 0.1 M (با pH

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

برابر با 4.5) سوسپانسیون گردید. سلولها با 20 ثانیه عبور صوت در دور 0.5 با شرایط فراوانی 20 درصد تحت اختلال قرار گرفتند (دستگاه برند Labsonic P، شرکت B. Braun Biotech International المان با استفاده از یک پروب به قطر تقریبی 3 میلیمتر با طول 100 میلیمتر)، و در یک حمام یخ قرار گرفتند. لایه رویی و سلولهای مختل شده از لحاظ فعالیت فیتاز مورد آزمایش قرار گرفتند.

2-4-3-سنجش فیتاز استاندارد

فعالیت درجه بندی فیتات در 60 درجه سانتیگراد در میزان 399 µl از بافر سدیم استات 100 mM با pH برابر با 4.5 حاوی سدیم فیتات 1.03 mM تعیین گردید. واکنش انزیمی با افزودن 1 µl از محلول انزیم به مخلوط سنجش شروع گردید. بعد از انکوباسیون برای مدت 30 دقیقه در درجه حرارت 50 درجه سانتیگراد، فسفات آزادسازی شده طبق روش آمونیوم مولیبدات با کمی اصلاحات اندازه گیری گردید. میزان افزوده شده به مخلوط سنجش برابر با 1.5 ml از محلول آماده سازی شده تازه استون بود: 5N از H2SO4: 10 mM از آمونیوم مولیبدات (با نسبت 2:1:1 v/v) و میزان 100 µl سیتریک اسید. هر گونه تیرگی بوسیله سانتریفوژ قبل از اندازه گیری میزان جذب در 355 nm برداشته شد. برای محاسبه فعالیت انزیم، یک منحنی کالیبراسیون در دامنه 5-600 µmc ایجاد گردید. فعالیت (به واحد) به شکل 1µmc فسفات آزادسازی شده در هر دقیقه بیان گردید ($\varepsilon = 8.7\ cm^2/\mu mol$). جاهای خالی با افزودن محلول آمونیوم مولیبدات قبل از افزودن انزیم به مخلوط سنجش حرکت کردند.

3-نتایج و بحث

روشهای معمول برای طراحی ازمایش چندفاکتوری زمانبر بوده و قادر به نشان دادن بهینه حقیقی به دلیل بخصوص تعاملات و واکنش های میان فاکتورها نمی باشند. برای طراحی یک بیوپروسه مناسب برای تولید فیتاز حداکثر توسط یک E.coli نوترکیب، شیوه طراحی آماری با استفاده از روش سطح پاسخ توسط طراحی کامپوزیت مرکزی رو به مرکز FCCCD برای مطالعه اثرات تعاملی فاکتورهای تغذیه ای و فیزیکی روی تولید فیتاز استفاده گردید. فاکتورهایی که روی پاسخ نهایی سیستم تاثیر دارند، و از یک مطالعه اولیه انجام شده منفرد حاصل شده اند، عبارت بودند از غلظت انتی بیوتیک، درصد آربینوز و درجه حرارت انکوباسیون. این پاسخ در فعالیت فیتاز ماکزیمم صورت گرفته که بعد از مدت 6 ساعت القای آرابینوز مشاهده گردید. جدول 2 به خلاصه

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

سازی فعالیت فیتاز (پاسخ) آزمایشات با پاسخ پیشگویی شده پرداخته است. نتایج با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) به عنوان مناسب برای طراحی ازمایشی استفاده شده تحلیل گردید. ضرایب همبستگی معادله رگرسیون با استفاده MINITAB 14 محاسبه گردید و معادلات رگرسیون ذیل بدست آمد.

$$Y = -905 + 2.35\,X_1 + 146\,X_2 + 41.3\,X_3 - 0.00577\,X_1^2 - 18.1\,X_2^2 - 0.482X_3^2 - 0.439\,X_1X_2 - 0.0389\,X_1X_3 - 1.98\,X_2X_3 + 0.0129\,X_1X_2X_3$$

که در آن Y پاسخ در فعالیت فیتاز بوده است و X1 و X2 و X3 نمایانگر متغیرهای تست بوده است (غلظت آنتی بیوتیک مکمل در محیط کشت، غلظت آرابینوز برای القا و درجه حرارت انکوباسیون بعد از القای آرابینوز).

معنی داری هر ضریب با مقادیر T و مقادیر P که در جدول 3 به فهرست درآمده اند تعیین گردید. هرچه بزرگی مقدار T بیشتر باشد و مقدار P هم کوچکتر باشد نشان دهنده معنی داری بیشتر ضریب مربوطه است. می توان دید که متغیر با بالاترین اثر دارای اثر خطی درجه حرارت انکوباسیون (X3) است که بعد از آن هم اثر درجه دوم درجه حرارت انکوباسیون (X_3^2) در مقایسه با اثر درجه دوم غلظت آرابینوز (X_2^2) در پی می آید. بالاترین مقدار احتمالات ضریب همان اثر تعامل غلظت انتی بیوتیک و غلظت آرابینوز (0.231) می باشد که نشان می دهد حدود 76.9% از این مدل تحت تاثیر اینگونه متغیرها قرار دارند. چون اثرات خطی و درجه دوم درجه حرارت انکوباسیون از بیشترین معنی داری برخوردارند، بدان معناست که می تواند به عنوان یک عامل محدودکننده عمل کنند، که حتی تغییرات کوچک هم باعث تغییر سرعت تشکیل محصول خواهند شد.

معادله رگرسیون و ضریب همبستگی تعیین R^2 برای تست تناسب مدل ارزیابی گردید. این مدل یک ضریب تعیین بالایی را با تقریبا 94 درصد از تغییرپذیری در پاسخ ارائه کرده است (جدول 3). مقادیر ضریب همبستگی تعیین و ضریب همبستگی تعیین تنظیم شده خیلی بالا بوده و نشان دهنده یک معنی داری بالای این مدل می باشد که بیشتر متناسب برای مقایسه مدلها با تعداد مختلف متغیرهای مستقل می باشد. این امر نشان می دهد که یک توافق خوبی بین مقادیر تجربی و پیشگویی شده تولید فیتاز وجود دارد (جدول 2). تست ANOVAی مدل رگرسیون درجه دوم نشان می دهد که این مدل به شدت معنی دار است همانگونه که از F-test فیشر با مقدار احتمالات خیلی پایین هویداست (P>F=0.0001).

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

شکل 1a-c نشان دهنده نمودارهای اثرات نسبی دو عامل است وقتی همه عوامل در سطح مرکزی خود نگه داشته می شوند. نمودارها تعامل غلظت آنتی بیوتیک و آرابینوز (شکل Fig. 1a) ، غلظت انتی بیوتیک و درجه حرارت انکوباسیون (Fig. 1b) و غلظت آرابینوز و درجه حرارت انکوباسیون (Fig. 1c) را به ترتیب نشان می دهند. منحنی ها به وضوح نشان دهنده اشکال بیضی شکل هستند که در آن شرایط بهینه می تواند به سهولت تعیین گردد. این ها نشان می دهد که تعاملات اصلی میان متغیرهای مستقل مربوط به سطح پاسخ وجود دارد. در ناحیه مورد بررسی، نشان می دهد که میزان بهینه شرایط کشت که ایجاد بالاترین میزان فیتاز را می کند در محیط کشت LB بروث با میزان 100 µg/ml از آمپی سیلین، القا با آرابینوز 2µg/ml و انکوباسیون در درجه حرارت 37 درجه سانتیگرادی بعد از القا حاصل می شود. منحنی ها نمایشات گرافیکی معادله رگرسیون می باشند. هدف اصلی سطح پاسخ همان یافتن کارامد برای مقادیر بهینه متغیرهاست به نحوی که پاسخ به حداکثر برسد. هر منحنی نمایانگر یک تعداد معین ترکیب دو متغیر تست با دیگری می باشد که در سطح صفر مربوطه شان نگه داشته می شود. ماکزیمم مقدار پیشگویی شده با سطح محدود در کوچکترین بیضی در دیاگرام منحنی نشان داده شده است. منحنی های بیضوی زمانی بدست می آیند که یک تعامل کاملی میان متغیرهای مستقل وجود داشته باشد.

از روی چندین مطالعه درجه حرارت بهینه برای تولید فیتازها از اکثر میکروارگانیسم ها در دامنه 25 الی 37 درجه سانتیگراد بوده است. با استفاده از معادله رگرسیون، میزان بهینه پیشگویی شده محیط کشت برای تولید فیتاز بالاتر بنا به فرض در مقدار 87 µg/ml انتی بیوتیک، 2.1 µg/ml آرابینوز و انکوباسیون در درجه حرارت 37.4 درجه سانتیگراد بوده است.

مدل سطح پاسخ یک ابزار ارزشمندی برای پیشگویی و بهینه سازی محیط کشت برای بحداکثر رسانی تولید فیتاز می باشد. از این یافته ها، می توان نتیجه گیری کرد که تولید فیتاز توسط E. coli نوترکیب می تواند با کنترل انواع فاکتورها به شکل همزمان بهبود یابد.

مدل روایی سازی با داده های آزمایشی و نیز مقادیر پیشگویی شده از مدل سطح پاسخ تحت شرایط کشت بهینه سازی شده در جدول 5 آمده است. یک تولید فیتاز تحت محیط کشت بهینه سازی شده برای مدل روایی سازی در دامنه مقدار پیشگویی شده از مدل سطح پاسخ بوده است.

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

تولید مقیاس بندی فیتات با E.coli نوترکیب در حجم مختلف محیط کشت در جدول 6 نشان داده شده است.

نشان داده شده است که فعالیت انزیم با تجمع حجم کشت کاهش می یابد.

جدول 1-دامنه ازمایشی و میزان متغیرهای مستقل برای تولید انزیم درجه بندی شده فیتات

Variables	Symbol coded	Range and level		
		-1	0	+1
Antibiotic Concentration (µg/ml)	X_1	50	100	150
Arabinose Concentration (µg/ml)	X_2	1	2	3
Incubation Temperature (ºC)	X_3	30	37	44

جدول 2-طراحی ازمایشی سه متغیر مستقل که نشان دهنده پاسخ ازمایشی و پیشگویی شده است

Antibiotic Concentratior (µg/ml)	Arabinose Concentration (µg/ml)	Incubation Temperature (ºC)	Phytase Activity (U/ml)	
			Experimental	Predicted
50	3	44	29.41	29.57
50	2	37	66.18	71.26
150	3	30	22.31	21.33
100	3	37	55.15	63.42
100	2	44	44.12	56.27
50	1	30	10.42	10.83
100	2	37	84.57	77.35
50	3	30	33.09	34.03
100	1	37	44.12	55.08
100	2	37	80.40	77.35
100	2	37	88.24	77.35
100	2	30	44.12	51.20
150	2	37	40.44	54.59
100	2	37	77.21	77.35
150	1	44	7.35	5.05
50	1	44	44.12	43.75
100	2	37	84.57	77.35
150	1	30	10.05	8.52
150	3	44	18.38	16.59
100	2	37	73.54	77.35

جدول 3-برازش حداقل مربعات و تخمین های پارامتری (معنی داری ضریب رگرسیون)

Predictor	Coefficient	SE Coefficient	T	P
Constant	-904.7	171.1	-5.29	0.001
X_1	2.3468	0.9401	2.50	0.34
X_2	146.03	47.00	3.11	0.13
X_3	41.250	9.087	4.54	0.001
X_1^2	-0.005765	0.00232	-2.49	0.035
X_2^2	-18.089	5.800	-3.12	0.012
X_3^2	-0.4817	0.1184	-4.07	0.003
X_1X_2	-0.4394	0.3659	-1.20	0.260
X_1X_3	-0.03894	0.02173	-1.79	0.107
X_2X_3	-1.981	1.0896	-1.82	0.102
$X_1X_2X_3$	0.012911	0.009716	1.33	0.217

جدول 4-تست ANOVAی آزمایش

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	10	13125.5	1312.5	14.19	0.0001
Residual Error	9	832.7	92.5		
Total	19	13958.1			

S = 9.61859 R^2 = 94.0% R^2 (adj) = 87.4%

جدول 5-نتایج آزمایشی (مطالعات روایی سازی شده) و پیشگویی شده (از مدل سطح پاسخ) فعالیت فیتات (U/ml) تحت شرایط القای بهینه سازی شده

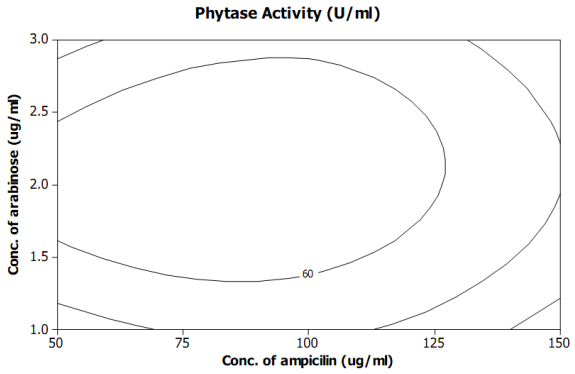
Experimental	Predicted
69.96 ± 1.93	77.35

جدول 6-مقیاس بندی تولید فیتاز با E. coli نوترکیب

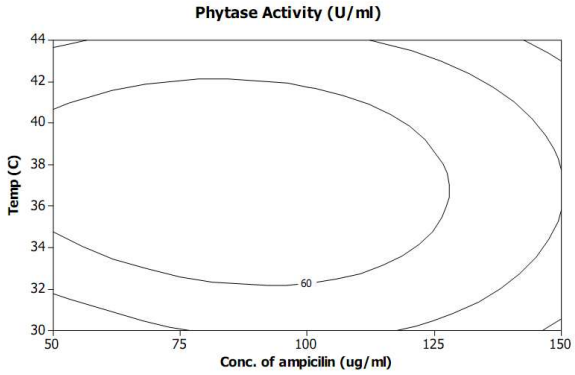
*نوع وحشی فیتاز باکتریایی

Volume of production (ml)	Phytase Activity (U/ml)	Relative Activity (%)
10 (Control)*	21.66 ± 3.91	22.3
10	97.18 ± 7.21	100
100	92.28 ± 6.45	95.0
1000	49.51 ± 8.49	51.0

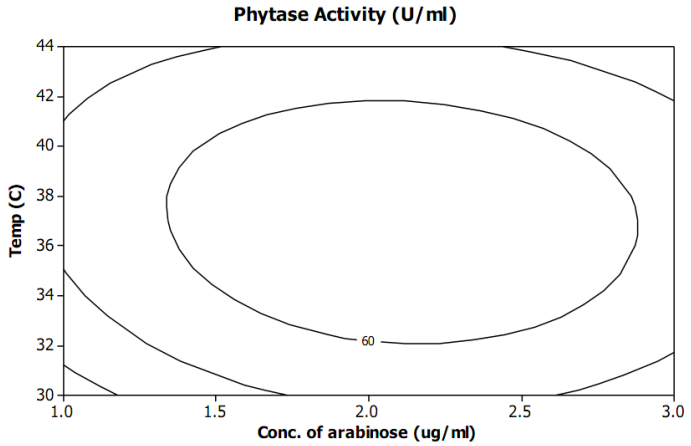
*Wild type bacterial phytase (Greiner and Farouk, 2007) strain



شکل 1a-منحنی تولید فیتاز با E.coli نوترکیب که نشان دهنده تعامل میان غلظت آمپی سیلین و آرابینوز می باشد.



شکل 1b: منحنی تولید فیتاز توسط E.cli نوترکیب که نشان دهنده تعامل میان غلظت امپی سیلین و درجه حرارت انکوباسیون می باشد.



شکل 1c: منحنی تولید فیتاز توسط E.cli نوترکیب که نشان دهنده تعامل میان غلظت آرابینوز و درجه حرارت انکوباسیون می باشد.

ترجمه فا

References

Akhnazarova, S., Kefarov, V., 1982. Experiment optimization in chemistry and chemical engineering. Moscow: Mir Publisher.

Beg, Q.K., Sahai, V., Gupta, R., 2003. Statistical optimization and alkaline protease production from Bacillus mojavensis in a bioreactor. Proc Biochem. 39, 203-209.

Beg, Q.K., Saxena, R.K., Gupta, R., 2002. Kinetic constants determination for an alkaline protease from Bacillus mojavensis using response surface methodology. Biotechnol Bioeng. 78, 289-295.

Berka, R.M., Rey, M.W., Brown, K.M., Byun, T. and Klotz, A.V., 1998. Molecular characterization and expression of a phytase gene from the thermophilic fungus Thermomyces lanuginosus. Appl Environ Mirobiol. 64, 4423-4427.

De Cornink, J., Bouquelet, S., Dumortier, V., Duyme, F., Denantes, V.I., 2000. Industrial media and fermentation process for improved growth and protease production by Tehrahymena thermophila BIII. J of Ind Mirobiol. Biotechnol. 24, 285-290.

Ghosh S. 1997. Phytase of a thermophilic mould Sporotrichum thermophile Apinis. M. Sc dissertation, Department of Microbiology, University of Delhi, Delhi.

Greiner, R., and Farouk, A. (2007). "Purification and Characterization of a Bacterial Phytase Whose Properties Make it Exceptionally Useful as a Feed Supplement", Protein J. 26(7):467-74.

Heinonen, J.K, Lahti, R.J., 1981. A new and convenient colorimetric determination of inorganic orthophosphate and its application to the assay of inorganic pyrophosphatase. Anal Biochem. 113, 313-317.

Idriss, E.E., Makarewicz, O., Farouk, A., Rosner, K., Greiner, R., Bochow, H., Richter, T. and Borris, R. 2002. Extracellular phytase activity of Bacillus amyloliquefaciens FZ45 contributes to its plant growth promoting effect. Microbiol. 148, 2097-2109.

Irvin, G.C.J. and Cosgrove, D.J., 1972. Inositol phosphate phophatase of microbiological origin: the inositol pentaphosphate products of *Aspergillus ficuum* phytase. J of Bacteriol. 112, 434-438.

Karthikeyan, R.S., Rakshit, S.K., Baradarajan, A., 1996. Optimization of batch fermentation conditions for dextran production. Bioproc Eng. 15, 247-251.

Khuri, A.I., Cornell, J.A., 1987. Response surfaces: design and analysis. New York: John Wiley and Sons: pp. 291-334.

Krishna, C. and Nokes, S.E., 2001. Predicting vegetative inoculum performance to maximize phytase production in solid-state fermentation using response surface methodology. J of Ind Microbiol Biotechnol. 26, 161-170.

Liu, B.L. and Tzeng, Y.M., 1998. Optimization of growth medium for production of spores from Bacillus thuringiensis using response surface methodology. Bioprocess Eng. 18, 413-418.

Muralidhar, R.V., Chirumamila, R.R., Marchant, R. and Nigam, P., 2001. A response surface approach for the comparison of lipase production by Candida cylindracea using two different carbon sources. Biochem Eng J. 9, 17-23.

Park, K.M. and Reardon, K.F., 1996. Medium optimization for recombinant protein production by Bacillus subtilis. Biotech Lett. 18, 737-740.

Pasamontes, L., Haiker, M., Wyss, M., Tessier, M., Van Loon A.P.G.M., 1997. Gene cloning, purification, and characterization of a heat-stable phytase from the fungus Aspergillus fumigatus. App. Environ Microbiol. 63, 1696–1700.

Poulsen, H.D., 2000. Phosphorus utilization and excretion in pig production. J of Environ Qual. 29, 24-27.

Puri, S., Beg, Q.K. and Gupta, R., 2002. Optimization of alkaline protease production from Bacillus sp. using response surface methodology. Current Microbiol. 44, 286-290.

Wodzinski, R.J., Ullah, A.M.J., 1996. Phytase. Adv in Appl Microbiol. 42, 263-302.

ترجمه ۳

TarjomeFa.Com

برای خرید فرمت ورد این ترجمه، بدون واتر مارک، اینجا کلیک نمائید.

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

✔ لیست مقالات ترجمه شده

✔ لیست مقالات ترجمه شده رایگان

✔ لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی