بهینه‌سازی تولید پروتئین قارچی با استفاده از *Fusarium solani* PTCC5285

مهشید هاشمیه انارکی[۱]، محمد فائزی قاسمی*[۲]، آرش چایچی نصرتی[۳]

۱، ۲*و۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

faezi_m@yahoo.com

چکیده

پروتئین قارچی یک ماده غذایی جدید برای مصرف انسان می‌باشد که تولید آن از سال ۱۹۸۵ در انگلستان تحت نام تجاری (Quorn) آغاز شده است و به عنوان جایگزین گوشت در بسیاری از فرآورده‌های غذائی استفاده می‌شود. هدف از این تحقیق بهینه سازی ترکیبات غذایی محیط و شرایط کشت جهت بهبود تولید مایکوپروتئین توسط قارچ *Fusarium solani* PTCC585 بود. ابتدا با استفاده از روش تغییر یک فاکتور در زمان (One- Factor- at- a- time) اثر منابع کربنی و نیتروژنی مختلف همچنین اثر زمان انکوباسیون، pH ،دور همزن و اندازه مایه تلقیح در تولید بررسی گردید. سپس بهینه‌سازی بهترین منابع غذایی به روش آرایه‌های متعامد (Taguchi method) انجام پذیرفت. ابتدا اثر منابع کربنی مختلف مانند گلوکز، ساکارز، نشاسته، مالتوز، فروکتوز و همچنین از ضایعات سیب‌زمینی، آب پنیر، سبوس برنج و سبوس گندم بررسی شد. پس از آن اثر منابع نیتروژنی معدنی و آلی مختلف نظیر نیترات آمونیوم، سولفات دی آمونیوم، دی آمونیوم هیدروژن فسفات، اوره، پپتون گوشت، پپتون سویا، عصاره مخمر و عصاره گوشت در تولید پروتئین توسط این قارچ بررسی شد. نتایج نشان داد که از میان منابع کربنی نشاسته به عنوان بهترین منبع کربن بوده و از میان ضایعات و منابع کربنی ارزان قیمت بکار گرفته شده، ضایعات سیب‌زمینی و سبوس برنج بیشترین میزان تولید را داشت و از میان منابع نیتروژنی اوره به عنوان بهترین منبع شناخته شد. بهترین زمان، pH، دور همزن و اندازه مایه تلقیح به ترتیب عبارت بودند از ۲ روز، ۵، ۲۰۰rpm و ۹٪ (حجمی/ حجمی). بهینه‌سازی به روش تاگوچی در سه مرحله انجام شد. با توجه به نتایج به دست آمده میزان تولید پروتئین در شرایط اولیه ۴/۳۵ درصد در گرم وزن خشک بود که با بهینه‌سازی شرایط تولید پس از انجام روش تغییر یک فاکتور در یک زمان و تاگوچی تولید به ترتیب به میزان ۶/۴۲ و ۱۸ درصد در گرم رسید.

کلمات کلیدی: *Fusarium solani* PTCC5285، مایکوپروتئین، بهینه‌سازی، روش تاگوچی.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

در دهه۱۹۶۰به دلیل کمبود منابع پروتئینی رایج، علاقه به مصرف پروتئین میکروبی به عنوان غذای انسان و دام افزایش یافته است. این وضعیت باعث افزایش خواستار تولید منابع غذایی پروتئینی جدید و جایگزین شده است (۲، ۸، ۱۱و ۱۲).

در طی سال‌های اخیر تولید پروتئین قارچی یا مایکوپروتئین با ویژگی‌های فیزیکی، شیمیائی و تغذیه‌ای قابل توجه به عنوان افزودنی پروتئینی به غذای انسان توسعه یافته است. پروتئین قارچی یک ماده غذایی جدید برای مصرف انسان می‌باشد که تحت نام تجاری (Quorn) بیش از یک دهه است که در انگلستان تولید و به عنوان جایگزین گوشت در بسیاری از فرآورده‌های غذائی استفاده می‌شود. اداره کل غذا و داروی آمریکا (FDA) در سال ۱۹۹۸ استفاده از پروتئین قارچی به عنوان ماده غذایی تایید کرد و برابر آمار منتشر شده بیش از ۲۰ میلیون نفر مصرف کننده دارد (۵، ۶، ۷و ۱۰).

پروتئین قارچی با تخمیر هوازی قارچ *Fusarium venenatum* بر روی سوبستراهای کربوهیدراتی ساده و مرکب تولید می‌شود (۱۱، ۱۳و ۱۵).

ارزش تغذیه‌ای پروتئین قارچی ناشی از ترکیب شیمیایی آن است، دیواره سلولی هیف منبع فیبر رژیمی، غشاء سلولی منبع چربی غیر اشباع و سیتوپلاسم منبع پروتئین با کیفیت بالا می‌باشد. فیبر آن که از ٪۶۵ بتاگلولان و ٪۳۵ کیتین تشکیل شده بر چربی‌های خون اثر نموده، کلسترول تام و LDL را کاهش و HDL را افزایش می‌دهد. همچنین فیبر به عنوان پری بیوتیک در رودهٔ کوچک عمل می‌نماید. پروتئین قارچی فاقد فیتات می‌باشد، در نتیجه مانع جذب مواد معدنی نمی‌شود. ترکیب اسیدهای چرب آن شبیه چربی گیاهی است و فاقد کلسترول می‌باشد. پروتئین قارچی منبع خوبی از ویتامین B، بیوتین، ریبوفلاوین، نیاسین و B_6 می‌باشد. پروتئین آن نیز دارای همه اسیدهای آمینه ضروری بوده و ارزش تغذیه‌ای آن مانند پروتئین شیر بدون چربی بالاست (۷، ۱۰، ۱۱، ۱۵ و ۱۶).

ترکیب مایکوپروتئین شامل ٪۷۵ آب، پروتئین تقریباً ٪۱۲، چربی ٪۳، کربوهیدرات ٪۱/۳، فیبر ٪۶ و خاکستر ٪۲ می‌باشد (۷، ۱۰و۱۱).

Banerjee و همکاران (۳) در تحقیقی پروتئین قارچی را از قارچ *N.sitophila* و ضایعات لیگنوسلولزی به عنوان منبع کربن تولید کردند.

Rodger (۱۰) در تحقیقی تولید پروتئین قارچی از قارچ *F.venenatum* را مورد بررسی قرار داد. گلوکز به عنوان منبع کربن بود، تخمیر مداوم هوازی در فرمانتور انجام شد. نتایج نشان داد که پروتئین قارچی به عنوان جایگزین گوشت، چربی، غلات می‌تواند بکار رود و ساختار شبیه رشته‌های ماهیچه حیوانی دارد.

Wiebe (۱۵) تولید پروتئین قارچی از قارچ *F. venenatum* در راکتور سیکل فشاری ۱۵۰۰۰۰lit با جریان مداوم را بررسی کرد. در این تحقیق از گلوکز به عنوان منبع کربن و آمونیوم به عنوان منبع نیتروژن استفاده شد.

Ahangi و همکاران (۱) تولید پروتئین قارچی با استفاده از قارچ *F. oxysporum* را گزارش کرده‌اند. فرآیند تخمیر هوازی روی محیط کشت وگل صورت گرفت و از گلوکز به عنوان منبع کربن استفاده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

به دلیل اینکه تاکنون از قارچ *Fusarium solani* برای تولید پروتئین قارچی استفاده نشده است، در این تحقیق امکان تولید پروتئین قارچی با استفاده از این گونه هدف قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

میکروارگانیسم و شرایط کشت: قارچ *Fusarium solani* PTCC5285 از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی عفونی ایران تهیه گردید و بر روی محیط کشت شیب‌دار SDA کشت داده شد تا استوک قارچی فراهم آید. زمان انکوباسیون ۶ روز و دمای ^{o}C ۲۸ بود.

تهیه مایه تلقیح: جهت تهیه مایه تلقیح از سوسپانسیون اسپورها استفاده شد. به طوری‌که کونیدی‌های تشکیل شده بر سطح محیط کشت شیب‌دار SDA، توسط سرم فیزیولوژی حاوی Tween 80 ۰/۱ درصد (V/V) (به منظور جدا شدن بهتر اسپورها) و یا محیط کشت مایع سوسپانسیون گردید و پس از شمارش توسط لام نئوبار، میزان ۵ml به ارلن حاوی ۱۰۰ml محیط کشت مایع سابوروبراث حاوی کلرامفنیکل منتقل شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ^{o}C ۳۰ در rpm ۲۰۰ انکوبه گردید (۱).

محیط کشت: پس از آماده‌سازی مایه تلقیح و رسیدن به حداکثر شدت رشد ویژه μ_{max}، فاز لگاریتمی، از کپک بدست آمده به محیط کشت تولید منتقل شد. در تولید بیوماس از محیط کشت وُگل (vogel) به همراه گلوکز (۱۰ گرم در لیتر) به عنوان منبع کربن استفاده شد (۱۴). ترکیبات محیط کشت در یک لیتر عبارت است از: سیترات سدیم ۲/۶ گرم، نیترات پتاسیم ۲/۵۲ گرم، فسفات دی هیدروژن آمونیوم ۲/۸۸ گرم، فسفات دی هیدروژن پتاسیم ۱/۶ گرم، سولفات منیزیم ۷ آبه ۰/۲ گرم، کلرید کلسیم ۲ آبه ۰/۱ گرم، بیوتین ۰/۲۵ میلی‌گرم، اسید سیتریک ۵ میلی‌گرم فروسولفات آمونیوم ۶ آبه ۱ میلی‌گرم، سولفات روی ۷ آبه ۵ میلی‌گرم، سولفات مس ۵ آبه ۰/۲۵ میلی‌گرم، سولفات منگنز مونوهیدرات ۰/۰۵ میلی‌گرم، اسید بوریک ۰/۰۵ میلی‌گرم، مولیبدات سدیم ۲ آبه ۰/۰۵ میلی‌گرم. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون توده زیستی تولید شده توسط سانتریفوژ با دور ۴۰۰۰rpm و زمان ۲۰ دقیقه جداسازی شد، سپس با آب مقطر استریل با سانتریفوژ به شرح فوق در دو مرحله شستشو داده شد و در فور ^{o}C ۵۵ به مدت یک شبانه روز قرار داده شد تا خشک شود (۱).

روش سنجش پروتئین: در این تحقیق، برای اندازه‌گیری پروتئین تام، از روش برادفورد (BradFord) استفاده شد (۴). به طوری‌که نمونه بیوماس قارچی پس از خشک شدن به وسیله هاون سائیده شد. سپس ۱۰۰mg نمونه را در ۵ml الکل ٪۲۰ مخلوط کرده و به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب جوش ^{o}C ۱۰۰ قرار داده شد. به نمونه‌ها بعد از سرد شدن ۰/۵ml کلروفورم اضافه شد. از محلول بدست آمده برای اندازه‌گیری میزان پروتئین استفاده شد.

زمان ماکزیمم تولید پروتئین (Time Course) در محیط کشت پایه: قبل از شروع بهینه‌سازی محیط کشت طی یک مرحله، چگونگی تولید توده زیستی و میزان پروتئین آن توسط قارچ *F. solani* در محیط کشت تعریف شده دارای گلوکز بررسی گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

بررسی اثر منابع کربنی و نیتروژنی مختلف بر تولید پروتئین در محیط کشت غوطه‌ور: منابع کربنی مختلف شامل گلوکز، نشاسته، سوکروز، مالتوز، فروکتوز و منابع ارزان قیمتی نظیر ضایعات سیب‌زمینی، آب پنیر، سبوس برنج، سبوس گندم استفاده شد. به طوری‌که به میزان ۱ درصد (۱۰g/l) از هر یک از موارد به ۵۰ml محیط کشت پایه اضافه شد و پس از بررسی نتایج و به دست آوردن بهترین منبع کربن، مقادیر آن نیز بهینه شد. جهت بررسی اثر منابع نیتروژنی بر تولید پروتئین، به ۵۰ml از محیط کشت غوطه‌ور، (۰/۱۴gr) منابع نیتروژنی مختلف شامل اوره و منابع پیچیده (complex) شامل پیتون گوشت، پیتون سویا، عصاره مخمر، عصاره گوشت و منبع ازت معدنی شامل سولفات دی آمونیوم و نیترات آمونیوم و دی آمونیوم هیدروژن فسفات اضافه شد.

بررسی اثر زمان انکوباسیون و pH بر تولید بهینه پروتئین در محیط کشت غوطه‌ور: پس از تعیین منابع بهینه کربن و نیتروژن، محیط‌های کشت برای مدت زمان‌های مختلف ۲ تا ۶ روز انکوبه شدند و اثر مدت زمان بر تولید بهینه پروتئین بررسی گردید.

پس از بدست آوردن منابع بهینه کربن و نیتروژن، میزان تولید پروتئین در pH های مختلف (۴، ۵، ۶، ۷و ۸) جهت بدست آوردن pH بهینه مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی اثر دور همزن و اندازه مایه تلقیح بر تولید پروتیئن در محیط کشت غوطه‌ور: برای این منظور، محیط‌های کشت در دورهای متفاوت همزن ۱۵۰–۲۰۰–۲۵۰rpm قرار داده شد. در این مرحله، محیط‌های کشت با اندازه‌های مختلف مایه تلقیح ٪۱۵، ٪۱۳، ٪۱۱، ٪۹، ٪۵، ٪۳، ٪۱ مورد بررسی قرار گرفت تا اثر اندازه مایه تلقیح بر تولید پروتئین مشخص شود.

بهینه‌سازی محیط کشت به روش تاگوچی

مرحله اول: تا این مرحله بهینه‌سازی تولید پروتئین به روش کلاسیک one-factor-at-a-time انجام گرفت و تغییری در فرمولاسیون محیط کشت بهینه انجام نشد. عوامل و سطوح مورد استفاده در روش آماری تاگوچی جهت تهیه محیط‌های کشت غوطه‌ور به شرح ذیل می‌باشد. در این مرحله دو سطح از فاکتورهای موثر محیط کشت در تولید پروتئین را در نظر گرفته شد. با این شرایط از یک آرایه ۱۲ تائی (L_{12}) استفاده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱: سطوح و مقادیر فاکتورهای محیط کشت در بهینه‌سازی به روش تاگوچی (مرحله اول) مقادیر جدول بر حسب gr/100ml

سطوح / فاکتورها	۱	۲
نشاسته	۱	۲
اوره	۰/۳۸	۰/۷۶
سیترات سدیم	۰/۲۳	۰/۴۷
نیترات پتاسیم	۰/۲۲	۰/۴۴
فسفات دی هیدروژن پتاسیم	۰/۱۴	۰/۲۹
سولفات منیزیم	۰/۰۱۸	۰/۰۳۶
بیوتین	۰/۰۱	۰/۰۲
کلرید کلسیم	۰/۰۱۲	۰/۰۲۴

بهینه‌سازی محیط کشت به روش تاگوچی مرحله دوم: با توجه به آنالیز نتایج به دست آمده از مرحلهٔ اول چهار فاکتور نشاسته، اوره، نیترات پتاسیم، سولفات منیزیم که بیشترین تأثیر را در تولید پروتئین داشتند انتخاب شد و در سه سطح بررسی گردید. بقیه فاکتورها در همان میزان بهینه اضافه شدند. در این مرحله از آرایه نه تائی L_9 استفاده شد.

جدول۲: سطوح و مقادیر فاکتورهای محیط کشت در بهینه‌سازی به روش تاگوچی (مرحله دوم) مقادیر جدول بر حسب gr/100ml

سطوح / فاکتورها	۱	۲	۳
نشاسته	۲	۳	۴
اوره	۰/۷۶	۱/۵۲	۲/۲۸
نیترات پتاسیم	۰/۴۵	۰/۹	۱/۳۵
سولفات منیزیم	۰/۰۳۶	۰/۰۷۲	۰/۱۰۸

بهینه‌سازی محیط کشت به روش تاگوچی مرحله سوم: با توجه به نتایج بدست آمده از مرحله دوم تاگوچی سه سطح دیگر از فاکتورهای موثر محیط کشت در تولید پروتئین را در نظر گرفته و با این روش مورد بررسی قرار دادیم. در این مرحله نیز از آرایه نه تائی L_9 استفاده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

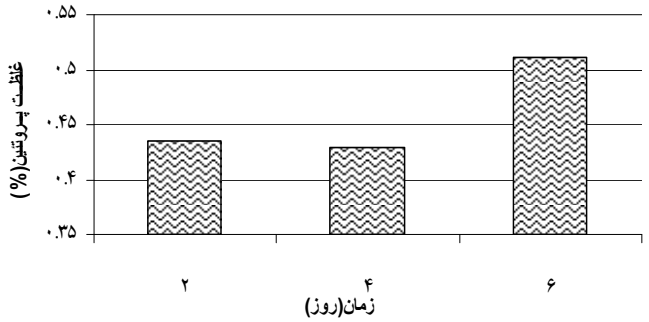
جدول۳: سطوح و مقادیر فاکتورهای محیط کشت در بهینه‌سازی به روش تاگوچی (مرحله سوم) مقادیر جدول بر حسب gr/100ml

سطوح / فاکتورها	۱	۲	۳
نشاسته	۲/۵	۳	۳/۴
اوره	۱/۱۴	۱/۵۲	۱/۹
سولفات منیزیم	۰/۰۵۴	۰/۰۷۲	۰/۰۹
کلرید کلسیم	۰/۰۰۶	۰/۰۱۲	۰/۰۱۸

نتایج

بررسی زمان ماکزیمم تولید (Time course) پروتئین در محیط کشت پایه:

بررسی محیط‌های کشت طراحی شده در روزهای مختلف نشان دادکه پس از گذشت ۶ روز از زمان انکوبه شدن میزان تولید پروتئین افزایش یافته است (نمودار ۱).



نمودار ۱: منحنی ماکزیمم رشد و تولید پروتئین (Time course) توسط سویه *Fusarium solani* PTCC 5285 در محیط کشت پایه

بهینه‌سازی منابع کربنی و مقادیر آن

طبق تحقیقات به عمل آمده از میان منابع کربنی مختلف، نشاسته ٪۱ به عنوان بهترین منبع کربنی در تولید بهینه پروتئین انتخاب گردید. از میان ضایعات و منابع کربنی ارزان قیمت بکار گرفته شده در تولید پروتئین، ضایعات سیب‌زمینی و سبوس برنج به عنوان منابع کربنی ارزان قیمت و مناسب در تولید پروتئین انتخاب شدند (نمودارهای ۲و۳).

Archive of SID

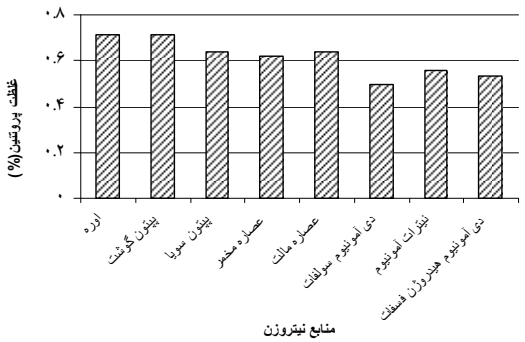
www.SID.ir

نمودار ۲: مقایسه تولید پروتئین در حضور منابع مختلف کربنی

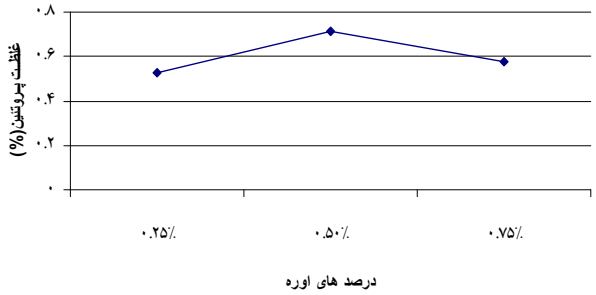
نمودار ۳: تأثیر درصدهای مختلف نشاسته در تولید پروتئین

بهینه‌سازی منابع نیتروژنی و مقادیر آن

بررسی نتایج حاصل از تأثیر منابع نیتروژنی آلی و معدنی مختلف بر تولید پروتئین توسط قارچ فوزاریوم سولانی نشان داد که در محیط کشت غوطه‌ور اوره ۰/۵٪ به عنوان بهترین منبع نیتروژنی است (نمودارهای ۴ و ۵).



نمودار ۴: مقایسه تولید پروتئین در حضور منابع مختلف (معدنی و آلی) ازت



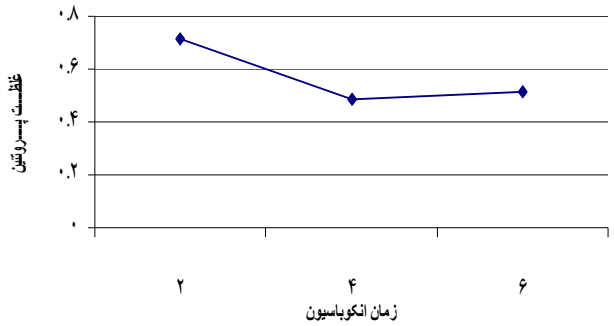
نمودار ۵: تأثیر درصدهای مختلف اوره در تولید پروتئین

زمان ماکزیمم تولید (Time course) پروتئین در محیط بهینه شده از نظر منبع کربن و نیتروژن:

پس از بهینه‌سازی محیط کشت از لحاظ منابع کربن و نیتروژن زمان ماکزیمم (Time course) تولید پروتئین به ۴۸ ساعت رسید (نمودار ۶).

Archive of SID

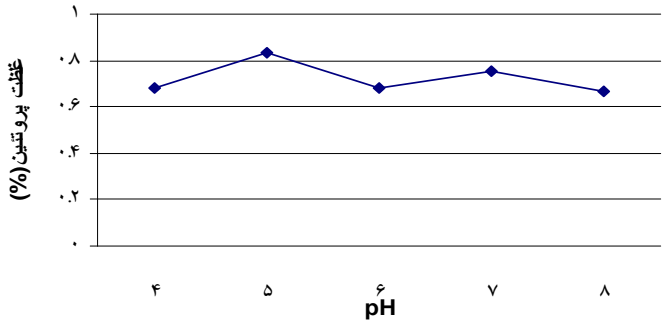
www.SID.ir



نمودار ۶: زمان ماکزیمم تولید پروتئین (Time course) توسط سویه *Fusarium solani* PTCC5285

نتایج بهینه‌سازی pH بر تولید پروتئین در محیط کشت غوطه‌ور:

طی بررسی pH های مختلف، نتایج حاصل نشان داد که بیشترین میزان تولید پروتئین در pH = ۵ در محیط کشت غوطه ور بود (نمودار ۷).



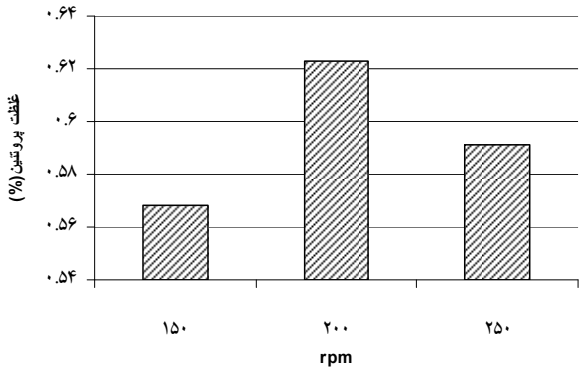
نمودار ۷: بررسی اثر pHهای مختلف در تولید پروتئین توسط قارچ *Fusarium solani* PTCC5285

نتایج بهینه‌سازی دور همزن بر تولید پروتئین در محیط کشت غوطه ور:

طی بررسی rpm های مختلف، نتایج حاصل نشان داد که بیشترین میزان تولید پروتئین در ۲۰۰rpm بود (نمودار ۸).

Archive of SID

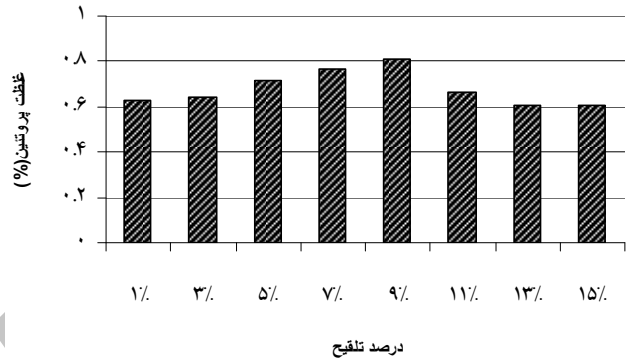
www.SID.ir



نمودار ۸: بررسی اثر rpmهای مختلف در تولید پروتئین توسط قارچ *Fusarium solani* PTCC5285

نتایج بهینه‌سازی اندازه مایه تلقیح بر تولید پروتئین در محیط کشت غوطه‌ور

طی بررسی درصدهای مختلف مایه تلقیح بر تولید پروتئین، نتایج حاصله نشان داد که بیشترین میزان تولید پروتئین در ٪۹ (حجمی/ حجمی) از مایه تلقیح بود (نمودار ۹).



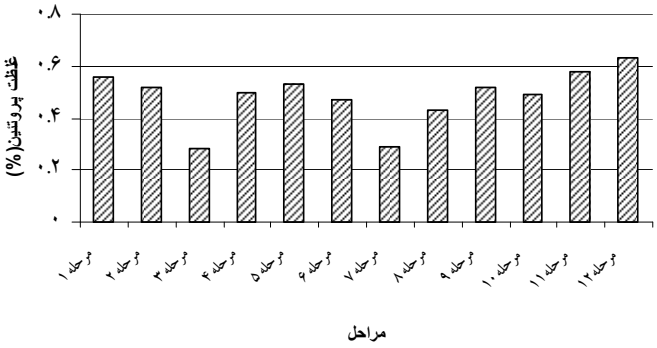
نمودار ۹: بررسی اثر درصدهای مختلف مایه تلقیح در تولید پروتئین توسط قارچ *Fusarium solani* PTCC5285

بررسی تأثیر شرایط بهینه‌سازی محیط کشت با فرمولاسیون پیشنهادی تاگوچی (مرحله اول)

از ۱۲ ارلن طراحی شده محیط کشت غوطه‌ور طبق فرمولاسیون پیشنهادی روش تاگوچی، ارلن شماره ۱۲ با میزان تولید ٪۹/۲۹ درگرم بیشترین مقدار را در تولید بهینه پروتئین دارد. بر اساس جدول ۴ تحلیل نتایج به وسیلهٔ آنالیز واریانس انجام پذیرفت. چهار فاکتور، KNO_3، Urea ، Starch و $MgSO_4$ بیشترین اثر را در تولید پروتئین دارند (نمودار ۱۰).

Archive of SID

www.SID.ir



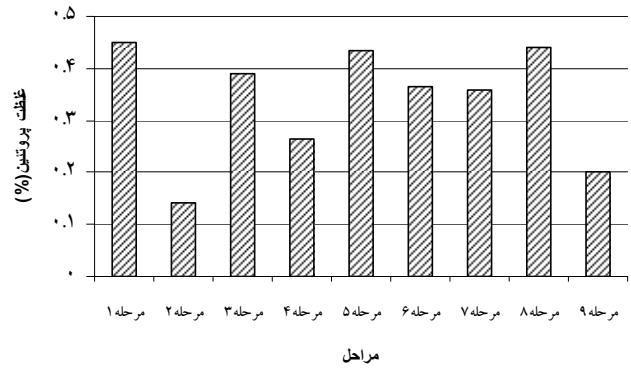
نمودار ۱۰: مقایسه تولید پروتئین توسط *Fusarium solani* PTCC5285 به روش تاگوچی (Taguchi) مرحله اول

جدول ۴: آنالیز واریانس اثر فاکتورهای مختلف در تولید پروتئین (تاگوچی مرحله اول)

Factors	DF	Seq SS	MS	F Value	P
نشاسته	۱	۰/۰۵۳۸۶۸	۰/۰۵۳۸۶۸	۳۱/۵۰	۰/۰۱۱
اوره	۱	۰/۰۲۹۶۰۱	۰/۰۲۹۶۰۱	۱۷/۳۱	۰/۰۲۵
سیترات سدیم	۱	۰/۰۰۰۴۳۲	۰/۰۰۰۴۳۲	۰/۲۵	۰/۶۵۰
نیترات پتاسیم	۱	۰/۰۲۲۵۳۳	۰/۰۲۲۵۳۳	۱۳/۱۸	۰/۰۳۶
فسفات دی هیدروژن پتاسیم	۱	۰/۰۰۰۰۱۶	۰/۰۰۰۰۱۶	۰/۰۱	۰/۹۲۸
سولفات منیزیم	۱	۰/۰۰۷۳۰۱	۰/۰۰۷۳۰۱	۴/۲۷	۰/۱۳۱
بیوتین	۱	۰/۰۰۱۲۰۰	۰/۰۰۱۲۰۰	۰/۷۰	۰/۴۶۴
کلرید کلسیم	۱	۰/۰۰۰۶۱۶	۰/۰۰۰۱۶۱	۰/۳۶	۰/۵۹۱
خطا	۳	۰/۰۰۵۱۳۰	۰/۰۰۱۷۱۰		
مجموع	۱۱	۰/۱۲۰۶۹۹			

نتایج بررسی تأثیر شرایط بهینه‌سازی محیط کشت با فرمولاسیون پیشنهادی تاگوچی: (مرحله دوم)

نمودار ۱۱ نشان می‌دهد که ارلن شمارهٔ ۱ بیشترین میزان تولید پروتئین را داشت.



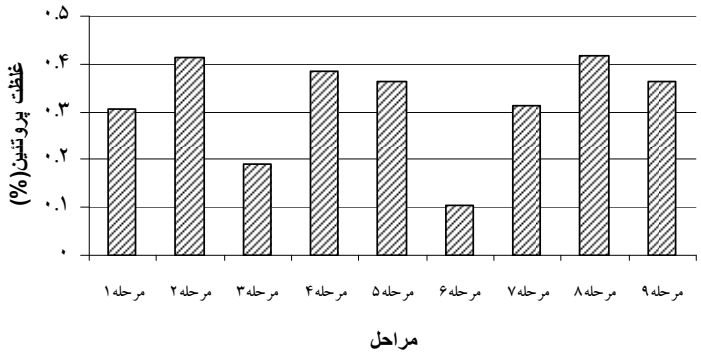
نمودار ۱۱: مقایسه تولید پروتئین توسط *Fusarium solani* PTCC5285 به روش تاگوچی (Taguchi) (مرحله دوم)

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج بررسی تاثیر شرایط بهینه سازی محیط کشت با فرمولاسیون پیشنهادی تاگوچی: (مرحله سوم)

نمودار ۱۲ نشان می‌دهد که ارلن شمارهٔ ۸ بیشترین میزان تولید پروتئین را دارد.



نمودار ۱۲: مقایسه تولید پروتئین توسط *Fusarium solani* PTCC5285 به روش تاگوچی (Taguchi) (مرحله سوم)

مقایسه میزان تولید پروتئین به روش یک فاکتور در یک زمان باروش تا گوچی:

پس از انجام مراحل مختلف بهینه‌سازی به روش تاگوچی میزان تولید پروتئین تا ٪۳ افزایش یافت. با توجه به نتایج به دست آمده میزان تولید پروتئین در شرایط اولیه ۴/۳۵ درصد در گرم وزن خشک بود که با بهینه‌سازی شرایط تولید پس از انجام روش تغییر یک فاکتور در یک زمان و تاگوچی تولید به ترتیب به میزان ۶/۴۲ و ۱۸ درصد در گرم رسید.

بحث

در این تحقیق با استفاده از روش تغییر یک فاکتور در یک زمان (one- Factor- at-a- time) اثر منابع کربنی و نیتروژنی مختلف همچنین اثر دوره انکوباسیون، دما، pH، دور همزن، درصد تلقیح و درصد منابع بررسی گردید. سپس بهینه‌سازی بهترین منبع غذایی به روش آنالیز آماری تاگوچی انجام پذیرفت. نتایج نیز از طریق آنالیز واریانس با کمک نرم‌افزار Minitab 15 تحلیل و بررسی شد.

ابتدا اثر منابع کربنی مختلف مانند گلوکز، سوکروز، نشاسته، مالتوز، فروکتوز و ضایعاتی نظیر آب پنیر، سبوس برنج، سبوس گندم و سیب زمینی در تولید پروتئین توسط این قارچ بررسی گردید و پس از به دست آوردن بهترین منابع میزان آن بهینه شد که نتایج نشان داد نشاسته بهترین اثر را در تولید دارد و از میان ضایعات و منابع کربنی ارزان قیمت بکار گرفته شده، ضایعات سیب‌زمینی و سبوس برنج بیشترین میزان تولید را داشت. پس از آن اثر منابع نیتروژنی پیچیده و معدنی مختلف نظیر نیترات آمونیوم، سولفات دی آمونیوم، دی آمونیوم هیدروژن فسفات و اوره، پپتون گوشت، پپتون سویا، عصاره مخمر و عصاره گوشت در تولید پروتئین توسط این قارچ بررسی شد. از میان منابع نیتروژنی اوره به عنوان بهترین منبع شناخته شد و در اولویت بعدی پپتون گوشت بیشترین میزان تولید را داشت.

Moo-Young و همکاران (۹) پروتئین قارچی را از قارچ *N. Sitophila* و ضایعات سلولزی به

Archive of SID

www.SID.ir

عنوان منبع کربن تولید کردند که دور همزن بهینه rpm ۲۵۰ و pH = ۵/۵ بود.

شرایط بهینه از نظر تولید پروتئین توسط قارچ *Fusarium solani* PTCC5285 شامل دوره انکوباسیون؛ ۴۸ ساعت، دمای 28^0C، pH=۵، دور همزن؛ rpm۲۰۰، اندازه مایه تلقیح؛ ٪۹ و درصد منبع کربن و نیتروژن به ترتیب ٪۲/۵ و ٪۰/۵ شناخته شد.

در تحقیقی که Ahangi و همکارانش (۱) بر روی قارچ *F.oxysporum* انجام دادند، توده زیستی پس از ۳۱ ساعت برداشت شد و اندازه مایه تلقیح ۵ درصد و دور همزن بهینه rpm۱۵۰ تعیین شد.

تحقیقات صورت گرفته بر روی قارچ *F. venenatum* بیشتر تحت شرایط سیستم کشت مداوم صورت گرفته است. به طوری‌که Wiebe (۱۵) تولید پروتئین قارچی از *F. venenatum* را تحت جریان مداوم بررسی کرد. در این تحقیق ۳۵۰-۳۰۰ کیلوگرم توده زیستی به ازای هر ساعت تولید شد.

بهینه‌سازی به روش تاگوچی در سه مرحله انجام شد. که در مرحلهٔ اول ترتیب اثر فاکتورها به شکل ذیل بود:

Starch> Urea> KNO_3> $Mgso_4$> Biotin> $Cacl_2$> Na_3citrate

نتایج بهینه‌سازی در تاگوچی مرحلهٔ اول نشان داد که ارلن ۱۲ بیشترین میزان تولید را دارد. پس از تحلیل واریانس نتایج مرحلهٔ اول تاگوچی چهار فاکتور موثرتر در مرحلهٔ اول انتخاب و در سه سطح بررسی شد که نتایج نشان داد ارلن شمارهٔ ۱ بیشترین تولید پروتئین را دارد. ترتیب اثر فاکتورها به شکل ذیل بود:

KNO_3 > $Mgso_4$> urea> Starch

بر اساس نتایج مرحلهٔ دوم تاگوچی چهار فاکتور موثرتر در مرحلهٔ دوم انتخاب و در سه سطح بررسی شد که نتایج نشان داد ارلن شمارهٔ ۸ بیشترین تولید پروتئین را دارد. ترتیب اثر فاکتورها به شکل ذیل بود:

urea > Starch > $Cacl_2$> KNO_3

با توجه به نتایج به دست آمده میزان تولید پروتئین در شرایط اولیهٔ ۴/۳۵ درصد در گرم بود که با بهینه‌سازی شرایط تولید پس از انجام روش تغییر یک فاکتور در یک زمان (one-factor-at-a-time) و تاگوچی تولید به ترتیب به میزان ۶/۴۲ و ۱۸ درصد در گرم رسید.

سپاسگزاری

بدینوسیله از جناب آقای دکتر مهدی آسمار مدیر گروه محترم کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، خانم کتایون داستان مسئول محترم آزمایشگاه کارشناسی ارشد که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند و جناب آقای مهندس شکری که در انجام تحلیل آماری به ما کمک نمودند بسیار سپاسگزاریم.

منابع

1. Ahangi, Z.; Sho jaosadati, S.A. and Nikoopour, H., 2005. Study of mycoprotein production using *Fusarium oxysporum* PTCC 5115 and Reduction of its RNA content. Pakistan Journal of Nutrition; 7 (2): 240-243.
2. Anupama, P. and Ravindra, P., 2000. Value-added Food: Single cell protein: Biotechnology advances; 18: 459-479.
3. Banerjee, U.C.; Chisti, Y. and Moo-Young, M., 1995. Effects of substrate particle size and alkaline pretreatment on protein enrichment by *Neurospora sitophila.* Resources, conservation and recycling; 1: 139 -146.

Archive of SID

www.SID.ir

4. Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive for the quantitiation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding; 72: 248-254.
5. Deacon, J., 2006. Fungal Biology, 4th ed, Black well publishing; 1-370.
6. Hunter, B.T., 2001. Make way for mycoprotein in U.S food supply. Consumers Research magazine; 24-27.
7. Miller, S.A. and Dwyer, J.T., 2001. Evaluating the safety and nutritional value of mycoprotein. Food.Technol; 55:36-38.
8. Moore-landecker, E., 1996. Fundamentals of the Fungi. prentice Hall; 1-574.
9. Moo-Young, M.; Chisti, Y. and Vlach, D., 1993. Fermentation of celluloseic materials to mycoprotein foods. Biotech Adv; 11:469-479.
10. Rodger, G., 2001. Production and Properties of Mycoprotein as a meat alternative. Food Technology; 55:36-41.
11. Samson, R.A. and Diyksterhuis, J., 2006. A multifaceted Approch to Fungi and Food; 1-420.
12. Samson, R.A.; Hoekstra, E.S.; Frisvad, J.C. and Filtenborg, O., 2007. Introduction to Food and airborne Fungi, Sixthed. Central bureau VOOR schimmel cultures Utrecht; pp : 1-400.
13. Trinci, A.P.J., 1994. Evolution of the Quorn® myco-protein fungus, *Fusarium graminearum* A3/5. Microbiology; 140: 2181-2188.
14. Vogel, H.J., 1956. A convenient medium for *Neurospora*(medium N). Microb. Genet. Bull; 13:42-43.
15. Wiebe, M.G., 2002. Myco-protein from *Fusarium venenatum*:a well-established product for human consumption. Applied Microbiology and Biotechnology; 58:421-427.
16. Wiebe, M.G., 2004. Quorn Mycoprotein-overview of a successful fungal product. Mycologist; 18(1): 17-20.

Archive of SID

www.SID.ir