مجله دنیای میکروب‌ها
سال هشتم شماره چهارم (پیاپی ۲۵) زمستان ۱۳۹۴
صفحات ۳۱۹-۳۰۸

Original Article

شبیه سازی فرآیند تولید پروتئین های تک یاخته از قارچ *آسپرژیلوس نایجر* بر اساس مدل های سینتیکی غیر ساختاری

فاطمه اردستانی*[1]، رکسانا کاسب کار[2]

[1] استادیار، گروه مهندسی شیمی، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، [2] کارشناس ارشد، گروه مهندسی شیمی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی

چکیده

سابقه و هدف: طراحی فرآیندهای تولید پروتئین های تک یاخته مستلزم تعیین الگوهای رشد میکروارگانیسم های تولید کننده می باشد. این مطالعه با هدف ارزیابی تولید پروتئین های تک یاخته قارچ *آسپرژیلوس نایجر* و شبیه سازی تولید توده سلولی بر اساس چند مدل غیر ساختاری انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه آزمایشی تولید پروتئین های تک یاخته در کشت غوطه ور ناپیوسته با فرمولاسیون بهینه محیط کشت در دمای ۲۵ درجه سلیسیوس، pH ٦ و سرعت همزدن ۳۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰۰ ساعت در انکوباتور شیکردار انجام شد. در پایان فرآیند، محتویات فلاسک ها به عنوان نمونه برای اندازه گیری غلظت گلوکز، وزن خشک توده سلولی و درصد پروتئین در توده سلولی استفاده شد.

یافته ها: شبیه سازی نتایج با مدل مونود به طور متوسط دارای ۹۲ درصد و برای مدل های موزر و لجستیک به ترتیب ٦۳ و ۸۳ درصد تطابق بودند. با افزایش pH از ۳/۵ به ٦، محتوی پروتئین توده سلولی، ۷۱ درصد افزایش یافت. در دامنه های pH بالاتر از ٦ محتوی پروتئین توده سلولی کاهش یافت و در pH ۷/۵، ۲۹ درصد کمتر شد. افزایش غلظت اولیه گلوکز از ۱۰ تا ۵۰ گرم در لیتر، تاثیر قابل توجهی بر محتوی پروتئین توده سلولی نداشت. همچنین در محیط کشت محتوی ۵۰ گرم در لیتر گلوکز، محتوی پروتئین در توده سلولی تنها ۵/٦۷ درصد بیشتر از محیط کشت با ۱۰ گرم در لیتر گلوکز بود.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، مدل سینتیکی مونود به عنوان یک مدل مناسب برای شبیه سازی رفتار قارچ *آسپرژیلوس نایجر* پیشنهاد می گردد. pH محیط کشت بر محتوی پروتئین های تک یاخته در توده سلولی موثر است. اما غلظت اولیه گلوکز در محیط کشت قارچ، تاثیری بر میزان تولید پروتئین های تک یاخته ندارد.

واژگان کلیدی: *آسپرژیلوس نایجر*، پروتئین های تک یاخته، مدل های غیر ساختاری.

دریافت مقاله: خرداد ماه ۹٤ پذیرش برای چاپ: مرداد ماه ۹٤

مقدمه

کمبود منابع پروتئینی، منجر به معرفی منابع جدید پروتئین با تولید انبوه از میکروارگانیسم ها شده است (۱). طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها قادر به تولید پروتئین با استفاده از محیط کشت های ارزان قیمتی مانند ملاس، ضایعات نشاسته ای، آب پنیر و غیره می باشند. پروتئین های تک یاخته ای تولید شده در گونه های قارچی و باکتریایی، به دلیل رشد بر روی مواد زائد ارزان قیمت، مقرون به صرفه تر از پروتئین های تک یاخته جلبکی می باشند. جلبک ها نیز می توانند به عنوان منبع غذایی سرشار از پروتئین با روش های مختلفی به کار آیند.

پروتئین های تک یاخته از مزایایی مانند قابلیت تکثیر سریع، استفاده از مواد زاید و عدم وابستگی به شرایط فصلی برخوردار می باشند (۲). تولید پروتئین تک یاخته ممکن است اثرات

* آدرس برای مکاتبه: قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه مهندسی شیمی.
تلفن: ۰۱۱٤۲۱۵۵۰۲۵ پست الکترونیک: F.ardestani@qaemshahriau.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

سمی بسیاری نیز داشته باشد. گذشته از محتوی اسیدهای نوکلئیک، چندین نوع سم و ترکیب ناخواسته که در طول دوره رشد در زیر لایه ها به وجود می آیند باید برطرف شوند. در مقایسه با منابع پروتئینی معمول، میکروب ها حاوی ۸ تا ۵۲ گرم اسید نوکلئیک به ازای هر۱۰۰ گرم پروتئین می باشند که بیشتر آن اسید ریبونوکلئیک است.

جذب اسید نوکلئیک در رژیم غذایی انسان (مصرف بیش از ۳ گرم در هر روز) باعث می شود که در اثر شکسته شدن اسیدهای نوکلئیک، غلظت اسید اوریک در پلاسما و کلیه افزایش یابد. این ماده می تواند در مفاصل، کریستالیزه شده و منجر به تشکیل سنگ کلیه و نقرس گردد. میزان اسیدهای نوکلئیک در پروتئین های تک یاخته به دست آمده از منابع مختلف باید تا حد قابل پذیرش کمتر از ۲ درصد کاهش یابد. برای کاهش این ترکیبات از روش هایی مانند فعال کردن به وسیله فرآیند حرارتی بالا (حرارت دهی تا دمای ٦۰ تا ۷۰ درجه سلیسیوس به مدت ۲۰ دقیقه)، هیدرولیز قلیایی یا اسیدی اسیدهای نوکلئیک، تغییر شرایط کشت، رسوب دادن با اسید، استخراج شیمیایی و حذف اسیدهای نوکلئیک استفاده می شود (۲). *آسپرژیلوس* نایجر (*Aspergillus niger*) از مهم ترین قارچ های رشته ای با کاربردهای صنعتی متعدد در تولید اسیدهای آلی و آنزیم های صنعتی می باشد (۵-۳). در فرآیندهای تولید بیولوژیکی، بهینه سازی فرآیند کشت دارای اهمیت زیادی است. متغیرهای مانند میزان اکسیژن، pH، غلظت نمک ها، فرمولاسیون محیط کشت و دما قابل کنترل می باشند. همچنین رفتار سینتیکی و سرعت رشد میکروارگانیسم در بیوراکتور نیز بسیار مهم می باشد (٦).

طراحی فرآیندهای صنعتی تولید پروتئین های تک یاخته نیاز به آگاهی از سینتیک رشد میکروارگانیسم ها دارد. اولین گام در طراحی و کاربرد، تعیین معادلات سینتیکی رشد میکروارگانیسم ها است. مطالعات سینتیکی محدودی در رابطه با قارچ *آسپرژیلوس نایجر* صورت گرفته است. بررسی رفتار سینتیکی رشد قارچ می تواند در طراحی و کاربرد این فرآیندها موثر باشد (۷). در مدل های غیر ساختاری، توده سلولی به صورت یک مجموعه واحد در نظر گرفته شده و از مجموعه پیچیده واکنش‌های درون‌سلولی در تشریح رفتار رشد سلول صرف‌نظر می‌شود (۸). تاکنون گزارشی در رابطه با شبیه سازی الگوی رشد *آسپرژیلوس نایجر* با مدل های سینتیکی، ارایه نشده است. نتایج نشان داده که بازده تولید توده سلولی *آسپرژیلوس نایجر* مستقل از مقدار منبع کربنی بوده است. در حالی که شدت رشد ویژه با افزایش مقدار منبع کربنی کاهش می یابد (۹).

در تحقیق دیگری یک مدل سینتیکی برای جوانه زنی اسپورهای *آسپرژیلوس نایجر* بر روی چند سوبسترای متفاوت ارایه شده است (۱۰). در مطالعه ای دیگر، مدل کاردینال برای سینتیک رشد *آسپرژیلوس نایجر* پیشنهاد شده و این مدل به خوبی قادر به پیش بینی تغییرات شدت رشد ویژه و مدت زمان فاز تاخیری با تغییر در دمای کشت قارچ می باشد (۱۱).

مطالعه اردستانی (Ardestani) و کاسب کار (Kasebkar) نشان داده که مدل های موزر و گامپرتز مدل های مناسبی برای پیش بینی رفتار رشد *آسپرژیلوس نایجر* و مصرف سوبسترا توسط این قارچ می باشند (۱۲). در تحقیق دیگری اردستانی (Ardestani) و علیشاهی (Alishahi) جنبه های مختلف فرآیند تولید پروتئین های تک یاخته از قارچ *آسپرژیلوس نایجر* را مورد بررسی قرار دادند و فرمولاسیون بهینه محیط کشت تعیین گردید. نتایج نشان داد که غلظت منبع کربنی، اثرگذارترین عامل در تولید پروتئین های تک یاخته بوده است (۱۳). یک مدل ساختاری بر اساس مورفولوژی رشد *آسپرژیلوس نایجر* و با در نظر گرفتن مقدار منبع کربنی و نیتروژنی نیز ارایه شده است (۱٤). هدف از این مطالعه شبیه سازی الگوی تولید پروتئین های تک یاخته از توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در یک محیط کشت سنتزی غوطه ور ناپیوسته بر اساس مدل های سینتیکی غیر ساختاری مونود، موزر و لجستیک بود.

مواد و روش ها

الف) سویه میکروبی و مواد شیمیایی: در این مطالعه سویه

Archive of SID

www.SID.ir

استاندارد قارچ *آسپرژیلوس نایجر* (PTCC5012) از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم های صنعتی ایران در سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران به صورت پودر لیوفلیزه در ویال های سترون تهیه شد. مواد شیمیایی از مارک های معتبر شرکت های مرک و سیگما آلدریچ تهیه گردید.

ب) کشت های اولیه آسپژیلوس نایجر: برای تهیه کشت های اولیه و ذخیره از *آسپرژیلوس نایجر*، از محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار در تشتک های سترون یکبار مصرف و کشت های شیب دار استفاده شد. ابتدا یک سوسپانسیون از پودر لیوفلیزه *آسپرژیلوس نایجر* در ۲ میلی لیتر آب مقطر سترون تهیه گردید. از این سوسپانسون به عنوان مایه تلقیح برای تهیه کشت های ذخیره استفاده شد. تشتک ها و محیط های شیب دار تلقیح شده به گرمخانه ۲۵ درجه سلیسیوس منتقل و به مدت ٤۸ ساعت گرمخانه گذاری شدند. پس از ۲٤ ساعت، رشد رشته های رویشی سفید رنگ قارچ بر روی سطح آگار مشاهده شد. اسپورهای سیاه رنگ پس از ٤۸ ساعت ظاهر شدند. و محیط های شیب دار در دمای ۲۰- درجه سلیسیوس ذخیره شدند. تشتک ها به عنوان کشت های اولیه و مصرفی برای استفاده در مراحل بعدی در دمای ٤ درجه سلیسیوس نگهداری شدند (۱۲).

ج) آماده سازی سوسپانسیون اسپوری: پس از سه روز گرماگذاری تشتک ها در دمای ۲۵ درجه سلیسیوس، یک سوسپانسیون اسپوری تهیه شد. اسپورها با استفاده از لوپ آزمایشگاهی سترون در شرایط سترون، از روی سطح تشتک برداشته شده و به ۵ میلی لیتر آب مقطر سترون وارد شدند. سوسپانسیون اسپوری بلافاصله پس از تهیه، به عنوان مایه تلقیح مورد استفاده قرار گرفت. شمارش تعداد اسپورها با استفاده از لام توما (Thoma lam) انجام شد. تعداد تقریبی اسپورها برابر با ۵×۱۰^{۸} سلول در هر میلی لیتر بود (۱۲).

د) تهیه محیط کشت: از شیکر فلاسک هایی به حجم ۲۵۰ میلی لیتر برای بررسی فرآیند تولید پروتئین های تک یاخته *آسپرژیلوس نایجر* استفاده شد. محیط کشت سنتزی با فرمولاسیون معین (جدول ۱) با حل کردن مواد در آب مقطر، تهیه گردید. به منظور جلوگیری از بروز واکنش های ناخواسته بین گلوکز و نمک های معدنی، محلول گلوکز به طور جداگانه تهیه و سترون شد. محیط کشت آماده شده و همچنین محلول گلوکز پس از تنظیم pH در محدوده ۵/۵ تا ٦ با استفاده از محلول ۲ نرمال سود سوزآور و اسید کلریدریک، در دمای ۱۲۱ درجه سلیسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سترون شدند. پس از سرد شدن، محلول گلوکز و محیط کشت اصلی در شرایط سترون در مجاورت شعله با هم مخلوط شدند. سپس ۱۰۰ میلی لیتر از محیط کشت آماده و سترون به هر یک از شیکر فلاسک های سترون اضافه گردید (۱۳).

ه) تولید پروتئین های تک یاخته: تولید پروتئین های تک یاخته *آسپرژیلوس نایجر* در شیکر فلاسک های محتوی ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت سترون با تلقیح ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون اسپوری آغاز شد. محیط های کشت تلقیح شدند. سپس به دستگاه انکوباتور شیکردار (LABTECH LST3016-R، ساخت کره جنوبی) منتقل و گرماگذاری در شرایط هوازی به مدت ۲۰۰ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلیسیوس و سرعت همزدن ۳۰۰ دور در دقیقه انجام شد. نمونه برداری از فلاسک ها به طور متوالی انجام گرفت. پس از صاف کردن نمونه ها با استفاده از کاغذ صافی، محتویات بر جای مانده بر روی کاغذ صافی جهت تعیین وزن خشک توده سلولی مورد استفاده قرار گرفتند. محلول عبوری از کاغذ صافی با استفاده از سانتریفیوژ (HERMLE, Z233 M-2) با سرعت ۲۰۰۰ دور در

جدول ۱: ترکیب محیط کشت سنتزی مورد استفاده برای تولید پروتئین های تک یاخته از قارچ *آسپرژیلوس نایجر*.

نوع ماده	گلوکز	پپتون	عصاره مخمر	پتاسیم هیدروژن فسفات	سولفات منیزیم	سولفات آهن	سولفات مس	سولفات روی	سولفات منگنز	سولفات کبالت
	گرم در لیتر						میلی گرم در لیتر			
غلظت	۲۰	۵	۵	٤	۱/۵	۲/۵	۰/۵	۱	۰/۵	۰/۵

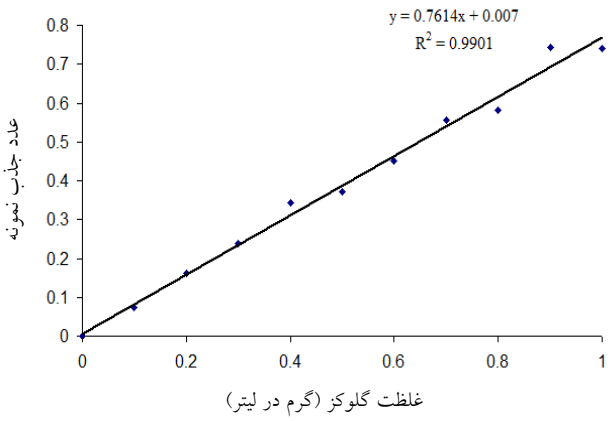
Archive of SID

www.SID.ir

دقیقه به مدت ۵ دقیقه شفاف شد. ماده خشک موجود در قسمت زیرین لوله های سانتریفیوژ به توده سلولی جامد روی کاغذ صافی اضافه گردید. محلول شفاف به منظور اندازه گیری غلظت گلوکز مورد استفاده قرار گرفت.

و) اندازه گیری غلظت گلوکز: برای این منظور از یک محلول ۱ درصد از دی نیترو سالیسیلیک اسید شامل ۱۰ گرم بر لیتر دی نیتروسالیسیلیک اسید، ۰/۵ گرم بر لیتر سولفیت سدیم، ۱۰ گرم بر لیتر هیدروکسید سدیم و ۲ گرم بر لیتر فنل استفاده شد. با توجه به غلظت نمونه های استاندارد (بین صفر تا ۱ گرم در لیتر گلوکز)، نمونه ها در صورت لزوم با آب مقطر رقیق سازی شدند. سپس ۱ میلی لیتر از هر نمونه با ۱ میلی لیتر محلول ۱ درصد دی نیترو سالیسیلیک اسید مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند. پس از سرد شدن، به هرکدام از نمونه ها ۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید. در ادامه جذب آن ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico2100 Spectrophotometer) در طول موج ٥٤٠ نانومتر خوانده شد (۱۳). عدد جذب هر نمونه سه بار خوانده شده و میانگین اعداد در نظر گرفته شدند. منحنی استاندارد گلوکز در شکل ۱ نشان داده شده است.

ز) اندازه گیری وزن خشک توده سلولی: توده سلولی در آون با دمای ٦٥ درجه سلیسیوس به مدت ۲۰-۲٤ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت خشک شد. با توجه به حجم نمونه گیری، میزان وزن خشک سلولی بر حسب گرم در لیتر محاسبه شد.



شکل ۱: منحنی استاندارد گلوکز در طول موج ٥٤٠ نانومتر.

ح) اندازه گیری مقدار پروتئین های تک یاخته: برای اندازه گیری مقدار پروتئین در توده سلولی از روش کجلدال (Kjeldahl) استفاده شد (۱۵). هضم نمونه در بالن هضم با استفاده از قرص های کاتالیزور شامل ۲/۸ درصد سولفات مس دو ظرفیتی با پنج مولکول آب، ۲/۸ درصد اکسید تیتانیوم و ۹٤/۳ درصد سولفات پتاسیم و همراه با ۲۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۱۸ مولار در دمای ٤۲۰ درجه سلیسیوس به مدت ۲ ساعت انجام شد. پس از عیارسنجی با اسید سولفوریک، میزان نیتروژن با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید (۱۵).

(رابطه ۱):

$$W_n=\frac{(V1-V0)\times T\times 0.014\times 100}{m}\times\frac{100}{100-wh}=\frac{140T(V1-V0)}{m\,(100-wh)}$$

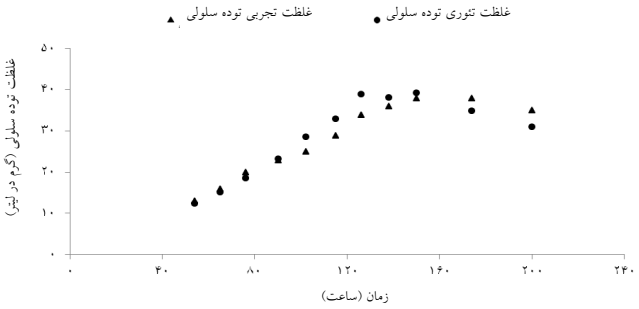
در این رابطه W_n درصد جرمی نیتروژن در ماده خشک، V_0 و V_1 به ترتیب میلی لیتر حجم اسید سولفوریک مصرفی برای عیارسنجی شاهد و نمونه توده سلولی *آسپرژیلوس نایجر*، **T** نرمالیته اسید سولفوریک مصرفی در عیارسنجی، **m** وزن نمونه بر حسب گرم و **wh** میزان رطوبت نمونه می باشند. با ضرب کردن مقدار نیتروژن، در ضریب ٦/۲٥ مقدار پروتئین موجود در توده سلولی به دست آمد (۱۵).

ط) تعیین تطابق داده های تجربی با مدل های سینتیکی: برای محاسبه درصد تطابق بین داده های آزمایشگاهی مربوط به غلظت توده سلولی و مقادیر تئوری به دست آمده بر اساس هر یک از مدل های سینتیکی، ابتدا درصد تطابق بین یکایک داده های تجربی با مقادیر تئوری مربوطه محاسبه و سپس میانگین آنها تعیین گردید.

یافته ها

در طی فرآیند ۲۰۰ ساعته تخمیر هوازی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* با شرایط محیطی و ترکیب محیط کشت به کار رفته در این تحقیق، فرایند تغییرات وزن خشک توده سلولی با زمان بررسی شد. نتایج مربوط به این بررسی ها در گزارش قبلی نویسندگان ارایه شده است (۱۲). نتایج مربوط به بررسی

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۲: شبیه سازی تولید توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در کشت غوطه ور ناپیوسته در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و سرعت همزدن ۳۰۰ دور در دقیقه بر اساس مدل سینتیکی مونود.

میزان مصرف سوبسترا توسط قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در فازهای مختلف رشد توده سلولی نیز در گزارش قبلی نویسندگان ارایه شده است (۱۲). بر اساس نتایج به دست آمده، رشد قارچ تقریباً پس از ۲٤ ساعت به صورت توده های کروی مشاهده شدند.

از روز هفتم (پس از ۱۵۰ ساعت از شروع فرآیند تخمیر) به تدریج توده ها شکسته و سلول های قارچی تخریب شدند. در زمان ۱۵۰ ساعت پس از تلقیح، وزن خشک سلولی به مقدار بیشینه خود (۳۸ گرم در لیتر) رسیده است. تقریباً ۷۸ درصد از سوبسترای اصلی (گلوکز) موجود در محیط کشت در فاز رشد نمایی توسط قارچ *آسپرژیلوس نایجر* به مصرف رسید. بیشترین شدت مصرف گلوکز در ۱۰۲ ساعت اول گرماگذاری (فاز تاخیر و بخشی از فاز رشد نمایی) بود. سپس شدت مصرف گلوکز تا پایان فاز رشد نمایی (۱۵۰ ساعت پس از گرماگذاری) کاهش یافت و در فاز سکون، میزان مصرف گلوکز بسیار کند گردید. در پایان فرآیند به ۰/۲۱ گرم در لیتر رسید.

الف) شبیه سازی تولید توده سلولی با مدل سینتیکی مونود:

برای شبیه سازی غلظت توده سلولی از رابطه ۲ و همچنین مدل سینتیکی مونود (رابطه ۳) استفاده شده است.

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \qquad \text{(رابطه ۲)}$$

$$\mu \equiv \mu_{max} \frac{S}{K_s + S} \qquad \text{(رابطه ۳)}$$

با انتگرال گیری از رابطه ۲ به رابطه ٤ دست می یابیم که برای شبیه سازی تولید توده سلولی بر اساس مدل مونود استفاده می شود.

$$LnX = LnX_0 + \left[\left(\frac{\mu_{max} \cdot S}{K_s + S}\right)(t - t_0)\right] \qquad \text{(رابطه ٤)}$$

در این مطالعه با جایگزینی مقادیر K_s و μ_{max} به دست آمده از برازش داده های تجربی با معادله مونود (۱۲) به ترتیب برابر با ۰/۲۹۱ گرم بر لیتر و ۰/۰۱۹ بر ساعت و فرض t_0 برابر با ۳۰ ساعت و X_0 برابر با ۸ گرم در لیتر، مقادیر تئوری متوسط غلظت توده سلولی در هر زمان از فرآیند با استفاده از رابطه ۵ محاسبه گردید (جدول ۲).

$$LnX_{ave} = Ln\,8 + \left[\left(\frac{0.019\,S_{ave}}{0.291 + S_{ave}}\right)(t - 30)\right] \qquad \text{(رابطه ۵)}$$

نتایج مربوط به شبیه سازی رشد توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* بر اساس مدل سینتیکی مونود در شکل ۲ ارایه شده است. در فواصل زمانی ۵۰ تا ۹۰ ساعت از گرماگذاری، تطابق بسیار خوبی بین غلظت واقعی توده سلولی قارچ در محیط کشت و غلظت تئوری توده سلولی بر اساس مدل مونود وجود داشت. اما این تطابق به تدریج در ادامه گرماگذاری، کمتر شده و دوباره در زمان ۱۵۰ ساعت، کامل گردید. اما در فاز سکون که پس از ۱۵۰ ساعت از گرماگذاری اتفاق افتاد، دوباره تطابق بین داده های تجربی و تئوری مربوط به غلظت توده سلولی، کاهش یافت.

ب) شبیه سازی تولید توده سلولی با مدل سینتیکی موزر: از ترکیب رابطه ۲ و مدل سینتیکی موزر (رابطه ٦) و جایگزینی مقادیر معلوم K_s و μ_{max} به دست آمده از برازش داده های تجربی با معادله موزر (۱۲) به ترتیب برابر با ۱/۷٤۷ گرم بر لیتر و ۰/۰۲٤ بر ساعت، رابطه ۷ به دست آمد که برای محاسبه غلظت متوسط تئوری توده سلولی بر اساس مدل موزر (جدول ۲) استفاده گردید.

$$\mu = \mu_{max} \frac{S^n}{k_s + S^n} \qquad \text{(رابطه ٦)}$$

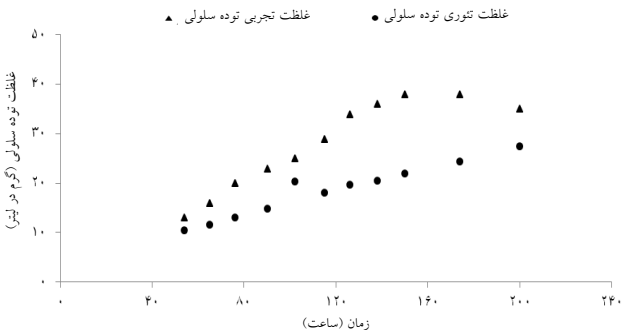
Archive of SID
www.SID.ir

$$LnX_{ave} = Ln8 + \left[\left(\frac{0.024\, S_{ave}^{0.18}}{1.747 + S_{ave}^{0.18}}\right)(t-30)\right] \quad \text{(رابطه ۷)}$$

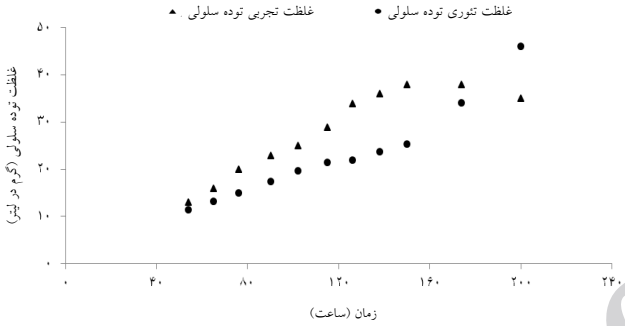
نتایج مربوط به شبیه سازی رشد توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* بر اساس مدل سینتیکی موزر در شکل ۳ ارایه شده است. در این مطالعه تقریباً در هیچ یک از مراحل و فازهای رشد توده سلولی و در هیچ زمانی تطابق کامل بین غلظت واقعی توده سلولی قارچ در محیط کشت و غلظت تئوری توده سلولی بر اساس مدل موزر وجود نداشت. بیشترین مقدار ناسازگاری پس از گذشت ۱۲۰ ساعت از گرماگذاری مشاهده شد.

ج) شبیه سازی تولید توده سلولی با مدل سینتیکی لجستیک: برای شبیه سازی غلظت توده سلولی از از ترکیب رابطه ۲ و مدل سینتیکی لجستیک (رابطه ۸) و جایگزینی مقادیر معلوم μ_{max} و X_{max} به دست آمده از برازش داده های تجربی با معادله لجستیک (۱۲) به ترتیب برابر با ۰/۰۱۸ بر ساعت و ۸۱/٦٦ گرم در لیتر، رابطه ۹ به دست آمد که برای محاسبه غلظت متوسط تئوری توده سلولی بر اساس مدل لجستیک (جدول ۲) استفاده شد.

$$\mu = \mu_{max}\left[1 - \frac{X}{X_m}\right] \quad \text{(رابطه ۸)}$$



شکل ۳: شبیه سازی تولید توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در کشت غوطه ور ناپیوسته در دمای ۲۵ درجه سیلیسیوس و سرعت همزدن ۳۰۰ دور در دقیقه بر اساس مدل سینتیکی موزر.



شکل ۴: شبیه سازی تولید توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در کشت غوطه ور ناپیوسته در دمای ۲۵ درجه سلیسیوس و سرعت همزدن ۳۰۰ دور در دقیقه بر اساس مدل سینتیکی لجستیک.

جدول ۲: مقادیر تجربی و محاسبه شده غلظت توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در کشت غوطه ور ناپیوسته در دمای ۲۵ درجه سلیسیوس و سرعت همزدن ۳۰۰ دور در دقیقه بر اساس مدل های سینتیکی مختلف.

زمان (ساعت)	غلظت متوسط گلوکز (گرم بر لیتر)	غلظت متوسط تجربی توده سلولی (گرم بر لیتر)	غلظت متوسط تئوری توده سلولی (گرم بر لیتر)		
			مونود	موزر	لجستیک
۳۰	۱٤/٦۳	۸	–	–	–
٥٤	۲۳/۱۰	۱۳	۲۱/٤۷	۱۰/٤٦	۱۱/٥٤
٦٥	۷/٤۲	۱٦	۱٥/۱۸	۱۱/٦۹	۱۳/۲۸
۷٦	٦/٦٥	۲۰	۱۸/٤۹	۱۳/۰۹	۱٤/۹٦
۹۰	٤/٤۲	۲۳	۲۳/۳۲	۱٤/۸۲	۱۷/۳۹
۱۰۲	۳/۸۹	۲٥	۲۸/٥۸	۲۰/۳۳	۱۹/٦۷
۱۱٥	۲/۳۲	۲۹	۳۲/۹٥	۱۸/۰۹	۲۱/٤۷
۱۲٦	۱/۹	۳٤	۳۸/۹۳	۱۹/۷۱	۲۱/۹٥
۱۳۸	۰/۹۸	۳٦	۳۸/۱۷	۲۰/٤٦	۲۳/۷٤
۱٥۰	۰/۷	۳۸	۳۹/۲۷	۲۱/۹۱	۲٥/٤۰
۱۷٤	۰/۳٥	۳۸	۳٤/۹٥	۲٤/۳۱	۳٤/۱۰
۲۰۰	۰/۲۱	۳٥	۳۰/۹۹	۲۷/٤۲	٤٥/۹۹

Archive of SID
www.SID.ir

$$LnX_{theo} = Ln\,8 + \left[0.018\left(1-\frac{X_{ave}}{81.66}\right)(t-30)\right] \quad \text{(رابطه ۹)}$$

نتایج مربوط به شبیه سازی رشد توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* بر اساس مدل سینتیکی لجستیک در شکل ٤ ارایه شده است. در این مورد نیز مشابه با مدل موزر، تقریباً در هیچ یک از مراحل و فازهای رشد توده سلولی و در هیچ زمانی تطابق کامل بین غلظت واقعی توده سلولی قارچ در محیط کشت و غلظت تئوری توده سلولی بر اساس مدل لجستیک وجود نداشت. بیشترین مقدار ناسازگاری در محدوده زمانی ۱۲۰ تا ۱۵۰ ساعت (فاز رشد نمایی) در طول دوره گرماگذاری مشاهده شد.

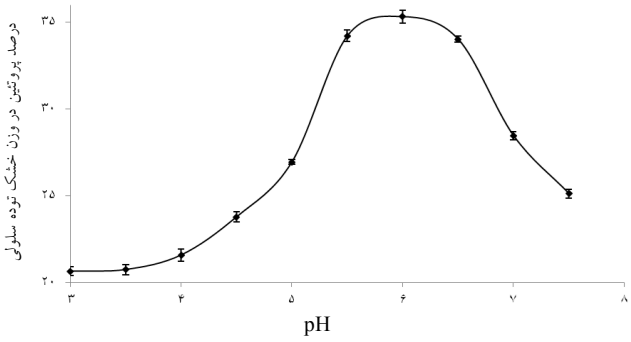
د) ارزیابی تولید پروتئین های تک یاخته: درصد پروتئین در وزن خشک سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در شرایط کشت غوطه ور ناپیوسته در طی فرآیند تخمیر هوازی ۲۰۰ ساعته با غلظت های متفاوت سوبسترا و در دامنه های مختلف pH بررسی و تعیین گردید (شکل ۵). بر اساس نتایج به دست آمده، بیشترین میزان درصد پروتئین در توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در pH ٦ به دست آمد. با کاهش یا افزایش pH، در هر صورت درصد پروتئین در توده سلولی نیز کاهش یافت. محدوده pH بین ۵/۵ تا ٦/۵ به عنوان محدوده قابل قبول بر طبق نمودار ارایه شده در شکل ۵، به نظر می رسد.

در مرحله بعد، تاثیر غلظت اولیه منبع کربنی (گلوکز) موجود در محیط کشت قارچ بر میزان تولید پروتئین های تک یاخته در pH ٦ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج و نمودار ارایه شده در شکل ٦ نشان می دهد که غلظت اولیه منبع کربنی در محیط کشت، تاثیر چندانی در مقدار درصد پروتئین در توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* نداشته است.

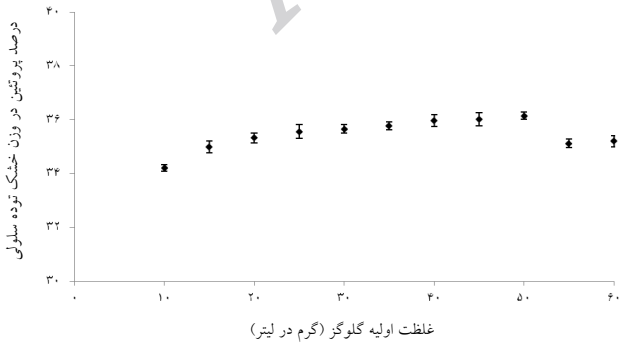
بحث

فرآیند تخمیری تولید پروتئین های تک یاخته از قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در کشت غوطه ور ناپیوسته در دمای ۲۵ درجه سلیسیوس و با سرعت همزدن ۳۰۰ دور در دقیقه انجام شد. نتایج آزمایشگاهی مربوط به رشد توده سلولی بر اساس مدل های سینتیکی غیر ساختاری مونود، موزر و لجستیک شبیه سازی شدند. محتوی پروتئین توده سلولی با توجه به تغییرات pH محیط کشت و مقدار گلوکز اولیه در محیط کشت، ارزیابی گردید.

در این مطالعه بین داده های تجربی مربوط به غلظت توده سلولی *آسپرژیلوس نایجر* (که در شرایط آزمایشگاهی با ترکیب محیط کشت و شرایط محیطی به کار رفته در این تحقیق به دست آمد) و داده های تئوری مربوط به غلظت توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* (که بر اساس شبیه سازی نتایج با مدل سینتیکی مونود به دست آمد) به طور متوسط، ۹۲ درصد تطابق وجود داشت. نتایج همچنین نشان دادند که این تطابق در زمان های آغازین فاز رشد نمایی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* (محدوده زمانی ٥٤ تا ۹۰ ساعت پس از گرماگذاری) تقریباً



شکل ۵: محتوی پروتئین توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در کشت غوطه ور ناپیوسته در دمای ۲۵ درجه سلیسیوس و سرعت همزدن ۳۰۰ دور در دقیقه و دامنه های pH متفاوت.



شکل ۶: محتوی پروتئین توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در کشت غوطه ور ناپیوسته در دمای ۲۵ درجه سلیسیوس و سرعت همزدن ۳۰۰ دور در دقیقه و pH ٦ با غلظت های اولیه متفاوت گلوکز.

Archive of SID
www.SID.ir

نزدیک به ۱۰۰ درصد بود. به عبارت دیگر در این دامنه زمانی از تخمیر، تطابق کامل بین رفتار سینتیکی واقعی قارچ با مدل مونود وجود داشت. اما پس از آن و تا پایان فاز رشد نمایی (۱۵۰ ساعت پس از گرماگذاری) اختلاف بین رفتار سینتیکی واقعی قارچ با رفتار پیشنهادی توسط مدل سینتیکی مونود به تدریج بیشتر شد. در مجموع با توجه به نتایج به دست آمده و مقدار متوسط تطابق موجود، به نظر می رسد که مدل سینتیکی مونود یک مدل مناسب برای شبیه سازی رفتار قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در کشت های غوطه ور ناپیوسته در مقیاس های نیمه صنعتی و تجاری باشد.

نتایج تحقیق پیشین نویسندگان مقاله در رابطه با بررسی سینتیک رشد قارچ *آسپرژیلوس نایجر* و مصرف سوبسترا توسط توده سلولی قارچ نشان داد که مدل مونود، مدل سینتیکی قابل قبولی برای رشد قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در کشت های غوطه ور ناپیوسته نمی باشد (۱۲). در حالی که نتایج این تحقیق نشان دادند که این مدل اگرچه برای بیان و تفسیر رفتار سینتیکی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* مناسب نمی باشد، اما در هر حال مدل خوبی برای شبیه سازی رفتار قارچ در مقیاس های صنعتی است.

یافته های ما نشان دادند که بین داده های تجربی مربوط به غلظت توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* (که در شرایط آزمایشگاهی با ترکیب محیط کشت و شرایط محیطی به کار رفته در این تحقیق به دست آمد) و داده های تئوری مربوط به غلظت توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* (که بر اساس شبیه سازی نتایج با مدل سینتیکی لجستیک به دست آمد) به طور متوسط، تنها ٦۳ درصد تطابق وجود دارد. همچنین نتایج نشان داد که در هیچ یک از محدوده های زمانی فازهای رشد و سکون در فرآیند تخمیر هوازی و رشد قارچ *آسپرژیلوس نایجر*، تطابق تقریباً کامل بین رفتار سینتیکی واقعی قارچ با مدل موزر وجود نداشته است. در مجموع با توجه به نتایج به دست آمده و مقدار متوسط تطابق موجود، به نظر می رسد که مدل سینتیکی موزر مدل مناسبی برای شبیه سازی رفتار قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در کشت های غوطه ور ناپیوسته در مقیاس های نیمه صنعتی و تجاری نمی باشد. نتایج تحقیقات پیشین نویسندگان مقاله در رابطه با بررسی پارامترهای سینتیکی رشد قارچ *آسپرژیلوس نایجر* نشان داده بود که مدل موزر مدل مناسبی برای تفسیر و بیان سینتیک رشد قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در کشت های غوطه ور ناپیوسته است (۱۲). اما نتایج این تحقیق نشان داد که این مدل با وجود مناسب بودن برای بیان و تفسیر رفتار سینتیکی قارچ *آسپرژیلوس نایجر*، اما مدل خوبی برای شبیه سازی رفتار قارچ در مقیاس های صنعتی نمی باشد.

تجزیه و تحلیل نتایج نشان دادند که بین داده های تجربی مربوط به غلظت توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* و داده های تئوری مربوط به غلظت توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* (که بر اساس شبیه سازی نتایج با مدل سینتیکی لجستیک به دست آمد) به طور متوسط، ۸۳/۸ درصد تطابق وجود دارد. نتایج شبیه سازی بر اساس مدل لجستیک نیز همانند شبیه سازی بر اساس مدل موزر مبین این حقیقت بوده است که در هیچ یک از محدوده های زمانی فازهای رشد و سکون در فرآیند تخمیر هوازی و رشد قارچ *آسپرژیلوس نایجر* تطابق تقریباً کاملی بین رفتار سینتیکی واقعی قارچ با مدل لجستیک وجود نداشته است. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده و مقدار متوسط تطابق موجود، به نظر می رسد که مدل سینتیکی لجستیک نیز مدل مناسبی برای شبیه سازی رفتار قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در کشت های غوطه ور ناپیوسته در مقیاس های نیمه صنعتی و تجاری نمی باشد. البته این مدل نسبت به مدل موزر، نتایج قابل قبولتری را نشان داده است. اما در هر صورت قابلیت کاربرد آن برای شبیه سازی رفتار سینتیکی قارچ *آسپرژیلوس نایجر*، در مقایسه با مدل مونود بسیار کمتر است. این نتایج در تطابق با نتایج به دست آمده در تحقیقات قبلی نویسندگان مقاله در رابطه با بررسی پارامترهای سینتیکی رشد قارچ *آسپرژیلوس نایجر* می باشد. این تحقیقات نشان داده بود که مدل لجستیک مدل مناسبی برای تفسیر و بیان سینتیک رشد قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در کشت های غوطه ور ناپیوسته است (۱۲). همچنین نتایج تحقیق ویلنا (Villena) و

Archive of SID

www.SID.ir

همکاران در سال ۲۰۱۱ در رابطه با بررسی سینتیک رشد قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در یک بیوراکتور کوچک هوادهی شده با اکسیژن خالص، نشان داد که مدل لجستیک، مدل مناسبی برای بیان رفتار سینتیکی رشد قارچ *آسپرژیلوس نایجر* است. به طوری که بیشینه شدت رشد ویژه قارچ در سیستم غوطه ور برابر با ۰/۰٤۵ بر ساعت به دست آمد (۱٦). در پژوهش حاضر، بیشینه شدت رشد ویژه بر اساس مدل لجستیک برابر با ۰/۰۱۸ بر ساعت به دست آمد. این تفاوت مربوط به اختلاف در ترکیب محیط کشت به کار رفته و شرایط محیطی مانند دما و سرعت همزدن می باشد.

در مطالعه حاضر، با افزایش pH محیط کشت قارچ از ۳/۵ تا ٦، محتوی پروتئین در توده سلولی نیز به میزان ۷۱ درصد افزایش یافت. از آنجایی که در pH ٦، رشد بهینه این سویه قارچی انجام می شود، نتایج به دست آمده قابل انتظار بود. در دامنه های pH بالاتر از ٦ به تدریج محتوی پروتئین در توده سلولی قارچ کاهش یافت. به طوری که در pH ۷/۵، میزان پروتئین توده سلولی در مقایسه با pH ٦ کاهش ۲۹ درصدی داشت. یکی از دلایل احتمالی این مساله می تواند دناتوره و هیدرولیز شدن پروتئین های سلولی در دامنه های pH اسیدی یا بالاتر از ۷ باشد. این پدیده در نتایج برخی از تحقیقات قبلی نیز گزارش شده است (۱۷).

تحقیقات این گروه در مورد قارچ *آسپرژیلوس نایجر* نشان داد که در pH ٦، میزان و محتوی پروتئین توده سلولی قارچ تا ۱۰ برابر نسبت به pH ۳ افزایش می یابد. در تحقیق حاضر، میزان پروتئین توده سلولی در pH ٦، ۳۵/۳۲ درصد تعیین گردید. این میزان، قابل مقایسه با نتایج ارایه شده در برخی از تحقیقات قبلی می باشد (۱۸). گروه یاد شده در تحقیقی که در رابطه با تولید پروتئین های تک یاخته قارچ *آسپرژیلوس نایجر*، به این نتیجه رسیدند که بیشترین محتوی پروتئین و وزن خشک توده سلولی قارچ پس از ٦ روز (۱۵۰ ساعت) گرماگذاری برابر با ۳۰/٤ درصد بوده است. نتایج تحقیق حاضر در مقایسه با نتایج گروه یاد شده ۱٦/۲ درصد بهتر بوده است. بنابراین pH ٦، به عنوان pH بهینه برای تولید پروتئین های تک یاخته قارچ *آسپرژیلوس نایجر* درشرایط کشت مورد بررسی تعیین گردید.

در مطالعه حاضر با افزایش غلظت اولیه گلوکز در محیط کشت قارچ از ۱۰ تا ۵۰ گرم در لیتر، افزایش محتوی پروتئین در توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* مشاهده شد. اما این افزایش چندان قابل توجه نبود. به طوری که در محیط کشت با ۵۰ گرم در لیتر غلظت اولیه گلوکز، محتوی پروتئین در توده سلولی تنها ۵/٦۷ درصد بیشتر از محیط کشت با ۱۰ گرم در لیتر غلظت اولیه گلوکز بوده است. بنابراین می توان نتیجه گرفت که غلظت اولیه منبع کربنی در دسترس قارچ، تاثیر قابل ملاحظه ای بر محتوی پروتئین در توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* نداشته است.

نتایج تحقیق قالی (Ghaly) و همکاران در سال ۲۰۰٤ در رابطه با تاثیر مقدار سوبسترا (گلوکز) بر رشد توده سلولی مخمر *کلیوروومایسس فراژیلیس* (*Kluyveromyces fragilis*) نشان داد که مقدار لاکتوز کمتر از ۱/۹ گرم در لیتر می تواند موجب محدود شدن رشد توده سلولی گردد. همچنین در غلظت های لاکتوز بیشتر از ۷۵ گرم در لیتر نیز بازدارندگی رشد توده سلولی مشاهده شد. در یک بازه زمانی ۲۰ ساعته، وزن خشک توده سلولی برابر با ۳۷ گرم در لیتر، بازده تولید توده سلولی برابر با ۰/۷۹ گرم وزن خشک سلولی به گرم سوبسترای مصرف شده و بهره دهی فرآیند برابر با ۱/۸۵ گرم در لیتر در ساعت به دست آمد (۷). در تحقیق حاضر، وزن خشک توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در یک بازه زمانی ۱۲۰ ساعته، به ۳۸ گرم در لیتر رسید. دلیل طولانی تر بودن زمان به ویژگی های مورفولوژیکی و تفاوت نوع سویه ها بر می گردد. زیرا *کلیوروومایسس فراژیلیس* یک مخمر است و سرعت رشد و سرعت تکثیر آن بسیار بیشتر از *آسپرژیلوس نایجر* (کپک رشته ای) می باشد.

در تحقیق حاضر بازده تولید توده سلولی معادل ۱/۹۷ گرم وزن خشک سلولی به گرم سوبسترای مصرف شده بود. این میزان ۳ برابر بازده تولید توده سلولی *کلیوروومایسس فراژیلیس* می باشد. بهره دهی تولید توده سلولی *آسپرژیلوس نایجر*، ۰/۳۱۷ گرم در لیتر در ساعت بود که تقریباً ۵ برابر کمتر از

Archive of SID

www.SID.ir

کلیورومایسس فراژیلیس است. طولانی تر بودن زمان تولید توده سلولی (سرعت رشد و تولید مثل پایین تر کپک های رشته ای در مقایسه با مخمرها) موجب شده که بهره دهی تولید توده سلولی *آسپرژیلوس نایجر* کمتر از *کلیورومایسس فراژیلیس* باشد.

نتیجه گیری

این تحقیق اولین گزارش در رابطه با شبیه سازی رفتار سینتیکی رشد و تولید توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* و میزان مصرف سوبسترا توسط قارچ در کشت غوطه ور ناپیوسته بر اساس مدل های سینتیکی مونود، موزر و لجستیک می باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که در بین مدل های بررسی شده، مدل سینتیکی مونود مدل مناسبی برای شبیه سازی رفتار این قارچ در فرآیندهای تخمیری در مقیاس های نیمه صنعتی و تجاری می باشد. بیشترین میزان محتوی پروتئین در توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* تحت شرایط تخمیر هوازی و ترکیب محیط کشت به کار رفته در این تحقیق، در pH ٦ به دست آمد. تغییر در pH محیط کشت قارچ به عنوان یک عامل بسیار موثر و البته غلظت اولیه گلوکز در محیط کشت به عنوان یک عامل غیر تاثیرگذار بر روی محتوی پروتئین در توده سلولی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* شناخته شد. در بهترین شرایط مورد بررسی، توده سلولی قارچ دارای ۳۵/۳۲ درصد پروتئین بود. بنابراین قارچ *آسپرژیلوس نایجر* به عنوان گزینه مناسبی با قابلیت خوب به منظور کاربرد در فرآیندهای تولید پروتئین های تک یاخته مصرفی در فرآورده های غذایی انسان یا خوراک دام و طیور و آبزیان پرورشی معرفی می گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر به دلیل حمایت و همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Nasseri AT, Rasoul-Amini S, Morowat MH, Ghasemi Y. Single cell protein: production and process. Am J Food Technol. 2011; 6: 103-116.
2. Najafpour Gh. Chapter 14 –Single-Cell Protein. Biochemical Engineering and Biotechnology. 2th ed. 2015; pp: 417-434.
3. Zhou JM, Ge XY, Zhang WG. Improvement of polygalacturonase production at high temperature by mixed culture of *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*. Bioresource Technol. 2011; 102(21): 10085-10088.
4. Majumder L, Khalil I, Munshi MK, Alam K, Rehana Begum HOR, Alam N. Citric acid production by *Aspergillus niger* using molasses and pumpkin as substrates. Eur J Biol Sci 2010; 2(1): 1-8.
5. Mrazek H, Benada O, Man P, Vanek O, Kren V, Bezouska K, Weignerova L. Facile production of *Aspergillus niger* α-N-acetylgalactosaminidase in yeast. Protein Expres Purif 2012; 81(1): 106-114.
6. Honda R, Fukushi K, Yamamoto K. Optimization of wastewater feeding for single-cell protein production in an anaerobic wastewater treatment process utilizing purple non-sulfur bacteria in mixed culture condition. J Biotechnol. 2006; 125(4): 565-573.
7. Ghaly AE, Kamal M, Correia LR. Kinetic modelling of continuous submerged fermentation of cheese whey for single cell protein production. Bioresource Technol. 2004; 96(10): 1143-1152.

Archive of SID
www.SID.ir

8. Almquist J, Cvijovic M, Hatzimanikatis V, Nielsen J, Jirstrand M. Kinetic models in industrial biotechnology – Improving cell factory performance. Metab Eng. 2014; 24: 38-60.

9. Volke-Sepulveda T, Gutierrez-Rojas M, Favela-Torres E. Biodegradation of high concentrations of hexadecane by *Aspergillus niger* in a solid-state system: Kinetic analysis. Bioresource Technol. 2006; 97(14): 1583-1591.

10. Bizukojc M, Ledakowicz S. Morphologically structured model for growth and citric acid accumulation by *Aspergillus niger*. Enz Microb Technol. 2003; 32(2): 268-281.

11. Gougouli M, P. Koutsoumanis K. Modelling growth of *Penicillium expansum* and *Aspergillus niger* at constant and fluctuating temperature conditions. Int J Food Microbiol. 2010; 140: 254-262.

12. Ardestani F, Kasebkar R. Non-structured kinetic model of *Aspergillus niger* growth and substrate uptake in a batch submerged culture. Brit Biotechnol J. 2014; 4(9): 970-979.

13. Ardestani F, Alishahi F. Optimization of single cell protein production by *Aspergillus niger* using Taguchi approach. J Food Biosci Technol. 2015; 5(2): 73-79.

14. Bizukojc M, Ledakowicz S. A kinetic model to predict biomass content for *Aspergillus niger* germinating spores in the submerged culture. Process Biochem. 2006; 41(5): 1063-1071.

15. Iranian National Standardization Organization, Cereals and pulses–Determination of the nitrogen content and calculation of the crude protein content–kjeldahl method. ISIRI no19052. 1rd revision, Karaj: ISIRI; 2105 [In Persian].

16. K. Villena G, Gutierrez-Correa M. Assessment of *Aspergillus niger* biofilm growth kinetics in minibioreactors by carbon dioxide evolution. Afr J Biotechnol. 2011; 10(62): 13495-13504.

17. O'Donnell D, Wang L, Xu J, Ridgway D, Gu T, Moo-Young M. Enhanced heterologous protein production in Aspergillus niger through pH control of extracellular protease activity. Biochem Eng J. 2001; 8: 187-193.

18. Singh A, Abidi AB, Aqrawal AK, Darmwal NS. Single cell protein production by *Aspergillus niger* and its evaluation. ZBL Mikrobiol. 1991; 146(3): 181-184.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Microbial World
Volume 8, No. 4, January 2016

Original Article

Simulation of the production process of *Aspergillus niger* single cell protein base on un-structured kinetic models

Fatemeh Ardestani[1], **Roxana Kasebkar**[2]

[1]Assistant Professor, Department of Chemical Engineering, Qaemshahr branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran.
[2]M.Sc., Department of Chemical Engineering, Shahrood branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Design of the production of single cell proteins depends on definition of the growth template of the producer microorganisms. This study was aimed to evaluate the production of *Aspergillus niger* single cell protein and simulation of cell biomass production based on several un-structured models.

Materials & Methods: In this experimental study, the fermentative process of single cell protein production was conducted in batch submerged culture with optimum culture medium formulation at 25^0C, pH 6 and 300 rpm for 200 h in an incubator shaker. At the end of process, the content of shaker flasks was used to analysis glucose concentration, cell dry weight and protein content in cell biomass.

Results: The result simulation by Monod, Moser and Logistic models showed 92% 63% and 83% similarity, respectively. Increase in the pH from 3.5 to 6 caused 71% enhancement in protein content in cell biomass. However, pH more than 6 led to decrease in the cell biomass protein content and this values reached to 29% a pH 7. Increases in the initial glucose concentration from 10 to 50 g. L^{-1} did not show considerable effects on the cell biomass protein content. Cell biomass protein content of the media containing 50 g. L^{-1} initial glucose was only 5.67% more than the medium contained of 10 g. L^{-1} initial glucose.

Conclusion: The Monod kinetic model was proposed as a suitable model to simulate *A. niger* behaviour. Furthermore, pH of the media affects cell biomass protein content. However, initial glucose concentration in the media did not show significant effects on the cell biomass protein content.

Keywords: *Aspergillus niger*, Single cell protein, Un-structured models.

Correspondence to: Fatemeh Ardestani

Tel: +98 1142155025

E-mail: F.ardestani@qaemshahriau.ac.ir

Journal of Microbial World 2016, 8(4): 308-319.

Archive of SID

www.SID.ir