مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال چهارم، شماره۴، زمستان ۱۳۸۸، صفحات ۵۲-۴۵

تولید مایکوپروتئین با *فوزاریوم وناتوم* ATCC20334 به روش کشت سطحی با استفاده از طرح مرکب مرکزی

سیده مرضیه حسینی[۱]، کیانوش خسروی دارانی[۲]، محمد امین محمدی‌فر[۳]، هوشنگ نیکوپور[۴]، هدایت حسینی[۵]، ناصر ولائی[۶]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۲- نویسنده مسئول: استادیار گروه تحقیقات علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی پست الکترونیکی: kiankh@yahoo.com
۳- استادیار گروه علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۴- دانشیار گروه علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۵- دانشیار گروه تحقیقات علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۶- مربی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ دریافت: ۸۸/۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۸۸/۹/۱۰

چکیده

سابقه و هدف: پروتئین حاصل از رشد قارچ رشته‌ای به علت خواص تغذیه‌ای، فیزیکی و شیمیایی به عنوان یک افزودنی پروتئینی برای غذای انسان مطرح است. در این تحقیق، اثر مقدار تلقیح و غلظت اولیه منابع کربن و نیتروژن بر تولید مایکوپروتئین با قارچ *فوزاریوم وناتوم* ATCC20334 از قند خرما بررسی شد.

مواد و روش‌ها: درصد وزن خشک، نیتروژن، قند، رطوبت، خاکستر و pH سوبسترا اندازه‌گیری شد. محیط‌کشت اصلاح *وگل* شده برای نگهداری و تلقیح استفاده و گرمخانه‌گذاری مایه تلقیح در دمای ۳۰ °C به مدت ۷۲ ساعت انجام شد. تعیین وزن خشک سلولی با روش آون صورت گرفت. برازش داده‌ها با معادله چندجمله‌ای درجه دوم و بهینه‌سازی پاسخ با نرم افزار $Minitab_{14}$ صورت گرفت. در پایان شرایط بهینه تعیین و آزمایش تأییدی انجام شد.

یافته‌ها: مدل ارائه شده برای تولید مایکوپروتئین برحسب وزن خشک توده زیستی دارای ضریب همبستگی ۹۸٪ بود. مقادیر بهینه متغیرهای مقدار تلقیح، منابع کربن و نیتروژن به ترتیب ۱۵/۳۹ درصد حجمی، ۲۰ و ۴/۳۵ گرم در لیتر به دست آمد که در این شرایط، مقدار پیش‌بینی شده برای تولید وزن خشک توده زیستی ۵/۰۳۲ گرم در لیتر بود. آزمایش تأییدی در شرایط بهینه انجام و ۴/۸۴ گرم در لیتر توده زیستی به دست آمد. ضریب همبستگی زیاد مدل نمایانگر تطابق مناسب مدل محاسباتی با داده‌های آزمایشی و دقت مدل بود.

نتیجه‌گیری: با تغییر شرایط مایه تلقیح و ترکیب شیمیایی محیط کشت می‌توان به رشد بهینه *فوزاریوم وناتوم* و در نتیجه، حداکثر تولید توده زیستی دست یافت. همچنین استفاده از قند خرما به عنوان سوبسترای در دسترس و بومی ایران، جهت اصلاح محیط کشت *وگل* توجیه اقتصادی تولید را در مقیاس صنعتی در کشت سطحی ممکن می‌سازد.

واژگان کلیدی: مایکوپروتئین، کشت سطحی، *فوزاریوم وناتوم*، طرح مرکب مرکزی

• مقدمه

کمبود منابع غذایی غنی از پروتئین و افزایش روز افزون جمعیت بشر، جستجوی منابع پروتئینی را به منظور جایگزین کردن با منابع موجود ضروری می‌سازد. در این ارتباط، استفاده از میکروارگانیسم‌ها به دلیل رشد سریع، امکان مصرف ضایعات، عدم وابستگی رشد به فصل و اقلیم، کیفیت بالای پروتئین و قابلیت اصلاح ژنتیکی، مناسب است (۱). طی سال‌های اخیر، تولید پروتئین قارچی یا مایکوپروتئین با ویژگی‌های تغذیه‌ای، فیزیکی و شیمیایی جالب به عنوان افزودنی پروتئینی به غذای انسان توسعه یافته است. اولین بار، شرکت انگلیسی Ranks Hovis McDougall به تولید تجاری جایگزین گوشت با کمک قارچ رشته‌ای پرداخت. مراحل غربال،

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]

شناسایی و تأیید ریزسازواره توسط وزارت کشاورزی، شیلات و غذای انگلستان و اداره غذا و داروی آمریکا، انواع شکل نهایی و نحوه ورود محصول به بازار اروپا در مقالات دیگر تشریح شده است. (۸-۴). امروزه، پروتئین قارچی با نام تجاری *کورن* (Qourn)، بیش از ۲۰ میلیون نفر مصرف کننده دارد و فروش آن در سال ۲۰۰۱ در حدود ۱۵۰ میلیون دلار بود (۹ ، ۶ ، ۳).

میسل‌های قارچ شبیه بافت فیبری ماهیچه و شامل ۷۴٪ آب، ۱۲٪ پروتئین، ۳٪ چربی، ۳٪ کربوهیدرات، ۶٪ فیبر و ۲٪ خاکستر است. این محصول، حاوی اسیدهای آمینه ضروری است، ولی میزان اسید آمینه‌های سولفوردار آن کم است و نسبت به گوشت دانسیته انرژی پایین‌تری دارد (۸). میزان استفاده پروتئینی خالص NPU (Net Protein Utilization) قارچ ۷۵ است و پس از غنی‌سازی با ۰/۲٪ حجمی متیونین به ۱۰۰ می‌رسد که معادل NPU تخم مرغ می‌باشد (۴). ارزش تغذیه‌ای پروتئینی قارچ معادل پروتئین‌های شیر بدون چربی و حاوی ۲/۵ تا ۳٪ چربی و فاقد کلسترول است. ترکیب اسیدهای چرب آن شبیه چربی گیاهی است؛ به نحوی که نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع به اشباع آن ۳/۵، دی و تری‌گلیسرید ۶۵٪، کلسترول و لیپیدهای غیر صابونی شونده ۵٪ و فسفولیپیدها ۳۰٪ کل چربی آن را تشکیل می‌دهند (۸، ۱۰). همچنین، حاوی ۳۵ ٪ کیتین و ۶۵ ٪ گلوکان، اما فاقد فیتات است و بر جذب کلسیم، منیزیم، فسفر، روی و آهن اثر منفی ندارد و حتی باعث افزایش جذب آهن می‌شود (۱۱).

فیبر مایکوپروتئین به عنوان پری‌بیوتیک شناخته شده است (ترکیب غذایی مفید غیر قابل هضمی که رشد یک یا چند پروبیوتیک یا فعالیت متابولیسمی را در روده بزرگ تحریک می‌کند) (۸) و همچنین موجب سیری طولانی و کاهش وزن می‌شود (۱۲). پس از مصرف قارچ، کاهش گلایسمیا و انسولمیا مشاهده شده که برای بیماران دیابتی سودمند است (۱۳). همچنین، کلسترول تام و LDL را کاهش و HDL را افزایش می‌دهد. RNA مایکوپروتئین (۶ تا ۱۱٪ وزنی) توسط حرارت ۶۸°C به مدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه کاهش می‌یابد. بافت محصول (از لحاظ ویژگی‌های جویدن و آبدار بودن) همراه با آلبومین تخم مرغ، ادویه و چاشنی؛ شبیه گوشت می‌شود و رنگ و طعم آن حتی بعد از پخت باقی می‌ماند. مایکوپروتئین نسبت به سویا مطلوب‌تر و عاری از مزه است. از این رو می‌تواند به عنوان جایگزین چربی قابل کاربرد در فراورده‌های لبنی (۱۴) از قبیل ماست و بستنی به کار رود. همچنین می تواند به شکل اکسترووده شده مشابه غلات در صبحانه استفاده شود (۸، ۳). از سال ۱۹۹۰ تاکنون تحقیقات زیادی در زمینه تولید پروتئین قارچ با استفاده از گونه‌های جنس *فوزاریوم* انجام شده است (۱۹-۱۴، ۴). نتایج مطالعات قبلی حاکی از تأثیر ترکیب محیط کشت در تولید مایکو پروتئین با استفاده از *فوزاریوم وننـاتوم* است (۴).

در این تحقیق، که در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی مصوب دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی طراحی شد، تولید مایکوپروتئین در محیط کشت اصلاح شده *وگل* (با جایگزینی گلوکز تجاری با خرما به عنوان سوبسترای بومی ایران) مورد مطالعه قرار گرفت. با توجه به مطالعات قبلی (۴) متغیرهای مؤثر بر تولید مایکوپروتئین (تلقیح و غلظت اولیه منابع کربن و نیتروژن) در کشت *فوزاریوم وننـاتوم* ATCC20334 و با استفاده از طرح مرکب مرکزی سه سطحی بررسی شد.

• مواد و روش‌ها

ریزسازواره: قارچ *فوزاریوم وننـاتوم* به شماره *Fusarium venenatum* ATCC 20334 از کلکسیون میکروبی آمریکا به صورت لیوفیلیزه خریداری و در شرایط سترون به پلیت‌های حاوی محیط کشت *وگل* منتقل شد. گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰°C به مدت ۴۸ ساعت انجام گرفت. برای تهیه مایه تلقیح، از اسلنت ۴۸ ساعته به ۱۰۰ml محیط کشت استریل فاقد آگار *وگل* (۲۰) تلقیح شد و در شیکرانکوباتور ۲۰۰ rpm در دمای ۳۰°C به مدت ۴۸h قرار گرفت. ۵ ٪ حجمی تلقیح در شرایط سترون به محیط کشت تولید (شامل تمام ترکیبات محیط کشت تلقیح با جایگزینی قند خرما به جای گلوکز) اضافه شد. گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰°C به مدت ۷۲h بدون همزدن (حاکم کردن کشت سطحی) صورت گرفت. متغیرهای مورد مطالعه و سطوح مختلف آنها مطابق جدول ۱ طراحی شد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]

جدول ۱- طراحی CCD جهت بررسی اثر متغیرهای سه‌گانه بر وزن خشک توده زیستی

آزمایش	مقدار قند خرما g(/L)	منبع نیتروژن (g/L)	مقدار مایه تلقیح (٪ v/v)	وزن خشک سلولی تجربی (g/L)	وزن خشک سلولی پیش‌بینی شده (g/L)
۱	۱۰	۳	۸	۳/۲۲۲±۰/۰۴۵	۳/۲۵۳
۲	۲۰	۳	۸	۴/۷۷۹±۰/۰۶۹	۴/۷۷۹
۳	۱۰	۵	۸	۳/۱۸۵±۰/۰۵۵	۳/۱۷۵
۴	۲۰	۵	۸	۴/۶۵۷±۰/۰۷۵	۴/۷۰۲
۵	۱۰	۳	۱۶	۳/۲۴۴±۰/۰۷۲	۳/۱۸۲
۶	۲۰	۳	۱۶	۴/۶۶۸±۰/۱۲۲	۴/۷۰۸
۷	۱۰	۵	۱۶	۳/۴۴۳±۰/۰۲۳	۳/۳۰۶
۸	۲۰	۵	۱۶	۵/۱۱۷±۰/۰۰۱	۵/۰۳۴
۹	۱۰	۴	۱۲	۳/۴۱۴±۰/۰۸۲	۳/۳۹۱
۱۰	۲۰	۴	۱۲	۴/۹۱۹±۰/۱۳۸	۴/۹۱۷
۱۱	۱۵	۳	۱۲	۴/۱۴۹±۰/۰۵۲	۴/۱۴۱
۱۲	۱۵	۵	۱۲	۴/۲۸۲±۰/۱۵۰	۴/۲۶۵
۱۳	۱۵	۴	۸	۴/۲۶۸±۰/۰۹۷	۴/۲۴۹
۱۴	۱۵	۴	۱۶	۴/۲۹۲±۰/۰۷۳	۴/۳۷۹
۱۵	۱۵	۴	۱۲	۴/۳۵۸±۰/۰۸۴	۴/۳۱۴

سوبسترا: قند خرما از شرکت *دمباز جنوب* تهیه شد. اندازه‌گیری درصد خاکستر با کمک کوره الکتریکی با دمای ۵۲۵°C تا سفید شدن کامل صورت گرفت. pH محلول ۱۰٪ سوبسترا تهیه پس از نیم ساعت استقرار در دمای محیط قرائت شد. اندازه‌گیری ازت و قند سوبسترا به ترتیب به روش‌های کلدال (۲۱) و فنل سولفوریک اسید انجام شد (۲۲).

طراحی آزمایش: طی غربال‌گری اولیه متغیرها توسط روش *پلاکت برمن* PBD (Plackett-Burmann Design) (۴)، سه متغیر مقدار منابع کربن و نیتروژن و میزان تلقیح برای بررسی بیشتر در این مرحله انتخاب شدند. برای بیان وجود یا عدم وجود خمیدگی در نمودار پاسخ، از روش رویه پاسخ سطح RSM برای تعیین سطوح بهینه استفاده شد. از طرح مرکب مرکزی CCD (Central Composite Design) نوع مرکز وجه استفاده شد تا حداکثر اطلاعات با کمترین تعداد اجرا از طریق توزیع نقاط آزمایشی در محدوده مورد نظر استخراج شود. با توجه به محدودهٔ بهینهٔ به دست آمده از نتایج PBD، برای هر یک از متغیرهای مؤثر سه سطح لحاظ شد. سه متغیر و سطوح انتخابی هر یک در جدول ۱ آورده شده است. به این ترتیب ۱۵ آزمایش با برنامه آماری طرح مرکب مرکزی و نرم افزار $Minitab_{14}$ انجام شد. آرایه‌ها با رعایت اصل تصادفی کردن و دو تکرار و وزن خشک توده زیستی به عنوان پاسخ سیستم در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری وزن خشک توده زیستی: توده زیستی از محیط مایع جدا شد و پس از ۲۴ ساعت (زمان لازم برای ثبات وزن خشک سلولی) در آون ۶۰ °C و حصول تعادل دمایی با محیط در دسیکاتور توزین شد.

• یافته‌ها

همان‌طور که از جدول ۲ مشخص است، میزان قند احیاکنندهٔ موجود در محلول قند خرما ۷۱/۵ ٪ است. به این ترتیب، میزان قند خرمای اضافه شده به محیط کشت با احتساب درصد قند موجود در این محلول محاسبه شد. نتایج حاصل از طراحی CCD برای وزن خشک توده زیستی در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به نتایج به دست آمده برای وزن خشک توده زیستی حاصله، یافتن

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]

مدل مناسب برای تولید مایکوپروتئین با سه متغیر منبع کربن (C)، نیتروژن (N) و مقدار مایه تلقیح (S) هدف بعدی این تحقیق بود. مدل پیشنهادی اولیه برای در نظر گرفتن تمام پارامترها، مدل Full Quadratic به این صورت بود:

معادله ۱)

$$Y=\delta_0+\delta_1C+\delta_2N+\delta_3S+\delta_4C^2+\delta_5N^2+\delta_6S^2 +\delta_7CN+\delta_8CS+\delta_9NS$$

جدول ۲- آنالیز قند خرمای مورد استفاده

مواد موجود در ۱۰۰ گرم قند خرما	
ماده خشک (٪)	۷۷/۸۹
بریکس	۷۶
خاکستر (W/W٪)	۰/۰۷
اسیدیته (بر حسب اسید سیتریک)	۰/۰۵
pH	۴/۷۷
قند احیاءکننده (٪)	۷۱/۵

δ_i ضرایب معادله هستند که از رگرسیون به دست می‌آیند. برای تعیین ضرایب از نرم افزار $Minitab_{14}$ استفاده شد (۲۳). فرض اولیه بر مؤثر بودن همه پارامترها در مدل بود، ولی در عمل برخی از آنها قابل اغماض بودند و باید برای حصول یک معادله ساده و کامل در مراحل بعدی محاسبات از مدل حذف می‌شدند. بنابراین، برای مشخص کردن پارامترهای مؤثر تحلیل آماری نیاز است. برای انجام این تحلیل از آزمون فرض و پارامتر P-value استفاده شد. حذف پارامترها مرحله به مرحله صورت گرفت و در هر مرحله، پارامتر واجد بالاترین مقدار P-value حذف و سپس محاسبات دوباره تکرار می‌شد. این عمل تا زمانی ادامه می‌یافت که همه پارامترهای باقی‌مانده، P-value کمتر از ۰/۰۵ داشته باشند.

تحلیل آماری نهایی برای این متغیر پس حذف پارامترهای غیر مؤثر در جدول ۳ ارائه شده است. ضریب همبستگی مدل محاسبات R-Sq ۹۸/۰ ٪ بود که این مقدار نمایانگر تطابق خوب مدل محاسباتی با داده‌های آزمایش و دقت آن است. در بخش دیگری از آنالیز واریانس داده‌ها، پارامتر عدم تطابق یا Lak-of-fit (حاکی از تناسب مدل) محاسبه شد (جدول ۴). همان‌طور که جدول ۴ نشان می‌دهد، میزان F و P پارامتر عدم تطابق یا Lack-of-Fit به ترتیب ۰/۵۶ و ۰/۷۹۷ است. این مقادیر، نشان دهنده مناسب بودن مدل محاسباتی است. به عبارت دیگر، مقادیر کوچک P و بزرگ F بیانگر نامناسب بودن مدل است. در مقدار P کوچک‌تر از ۰/۰۵ به طور کلی مدل کنار گذاشته می‌شود. مدل ارائه شده برای تولید مایکو پروتئین با متغیر پاسخ وزن خشک توده زیستی با توجه به ضرایب جدول ۴ به این صورت بود:

معادله ۲)

$$Y=۴/۳۱۴۵۷+۰/۷۶۳۱C+۰/۰۶۲۲N+۰/۰۶۵۴۵S-$$
$$۰/۱۶۰۴۳C^2-۰/۱۱۱۴۳N^2+۰/۱۰۱NS$$

جدول ۳- تحلیل آماری اثر متغیرها بر وزن خشک توده زیستی*

پارامتر ها	ضرایب	انحراف معیار ضرایب	t- value	P-value
مقدار ثابت	۴/۳۱۴۵۷	۰/۰۳۸۵۹	۱۱۱/۷۹۹	۰/۰۰۰
کربن	۰/۷۶۳۱۰	۰/۰۲۴۰۷	۳۱/۷۰۸	۰/۰۰۰
نیتروژن	۰/۰۶۲۲۰	۰/۰۲۴۰۷	۲/۵۸۵	۰/۰۱۷
مقدار تلقیح	۰/۰۶۵۴۵	۰/۰۲۴۰۷	۲/۷۲۰	۰/۰۱۲
توان دوم کربن	-۰/۱۶۰۴۳	۰/۰۴۵۴۸	-۳/۵۲۷	۰/۰۰۲
توان دوم نیتروژن	-۰/۱۱۱۴۳	۰/۰۴۵۴۸	-۲/۴۵۰	۰/۰۲۲
نیتروژن * مقدار تلقیح	۰/۱۰۱۰۰	۰/۰۲۶۹۱	۳/۷۵۴	۰/۰۰۱

*S = 0.01034 R-Sq = 98.0% R-Sq(adj) = 97.5%

جدول ۴- آنالیز واریانس داده‌های مربوط به وزن خشک توده زیستی

منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F-value	P-value
رگرسیون	۶	۱۲/۳۲۲۴	۳/۰۵۳۷۳	۱۷۷/۲۹	۰/۰۰۰
خطی یا Linear	۳	۱۱/۸۰۹۵	۳/۹۳۶۴۹	۳۳۹/۸۳	۰/۰۰۰
توان دو یا Square	۱	۰/۳۴۹۷	۰/۱۷۴۸۵	۱۵/۰۹	۰/۰۰۰
اثر برهم‌کنش یا Interaction	۲	۰/۱۶۳۲	۰/۱۶۳۲۲	۱۴/۰۹	۰/۰۰۱
خطای باقی مانده یا Residual Error	۲۳	۰/۲۶۶۴	۰/۰۱۱۵۸		
عدم تطابق یا Lack-of-Fit	۸	۰/۰۶۱۰	۰/۰۰۷۶۲	۰/۵۶	۰/۷۹۷
خطای خالص یا Pure Error	۱۵	۰/۲۰۴۵	۰/۰۱۳۷۰		
کل	۲۹	۱۲/۵۸۸۸			

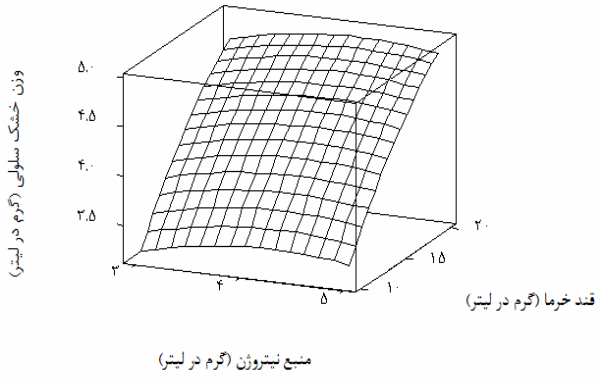
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]

مقایسه مقادیر پیش‌بینی‌شده برای وزن خشک توده زیستی (جدول ۱) با مقادیر تجربی تطابق این اعداد را نشان داد.

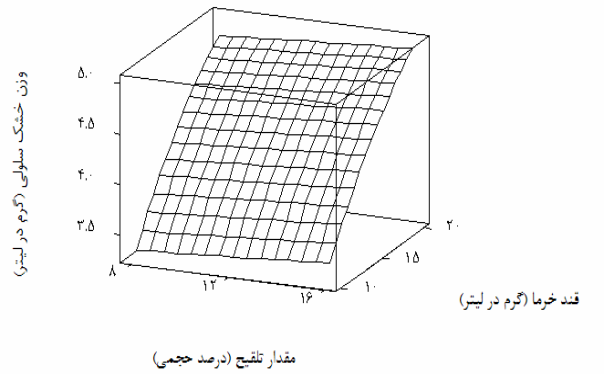
نمودارهای رویه سه بعدی، تغییرات متغیر وزن خشک توده زیستی را در برابر متغیرهای مستقل نشان می‌دهد. این نمودارها میزان پاسخ یا غلظت محصول تولیدی را در برابر تغییر متغیرها به صورت سه بعدی ارائه می‌دهد. شکل فضایی سه بعدی با استفاده از نقاط آزمایش شده و همچنین درون‌یابی سایر نقاط با استفاده از مدل محاسباتی به دست می‌آید. در این نمودارها متغیر سوم ثابت و در سطح متوسط خود در نظر گرفته شده است. شکل ۱-الف نمایانگر نمودار رویه سه بعدیِ تغییر وزن خشک توده زیستی در برابر تغییر غلظت منابع کربن و نیتروژن است. شیب زیاد منحنی در پی تغییرات منبع کربن حاکی از اثر معنی‌دار این متغیر بر میزان وزن خشک توده زیستی است. بیشترین وزن خشک توده زیستی در غلظت‌های g/L ۴ منبع نیتروژن و g/L ۲۰ منبع کربن حاصل می‌شود. خطوط موازی شکل (شیب مشابه نمودار در سطح کم و زیاد متغیرها) دال بر بی‌تأثیر بودن برهم‌کنش این متغیرها با یکدیگر است. این نکته با نتایج به دست آمده توسط مدل محاسباتی (معادله ۲) تطابق دارد.

شکل ۱-ب نمودار رویه سه بعدی منبع کربن و مقدار تلقیح در برابر وزن خشک توده زیستی را نشان می‌دهد. مقدار منبع نیتروژن در سطح ثابت g/L ۴ در نظر گرفته شد و بیشترین تولید در سطح g/L ۲۰ قند خرما و ۱۶ درصد حجمی مایه تلقیح به دست آمد. خطوط موازی این نمودار نیز بیانگر عدم وجود اثر برهم‌کنش بین این دو متغیر است. همان‌طور که مدل هم نشان می‌دهد، عامل اثر بر هم کنشی کربن - مقدار تلقیح با داشتن P-value بزرگتر از ۰/۰۵ از مدل حذف شده و این عامل، بی‌تأثیر است.

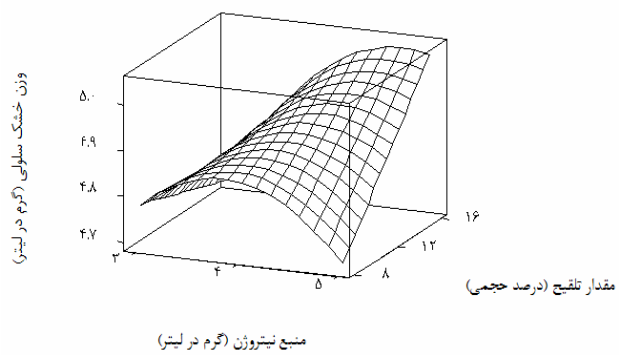
(الف)



(ب)



(ج)



شکل ۱- نمودار رویه وزن خشک سلولی بر حسب تغییرات الف)منبع کربن و نیتروژن، ب) منبع کربن و مقدار تلقیح و ج) منبع نیتروژن و مقدار تلقیح

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]

شکل ۱- ج نمودار رویه سه بعدی تأثیر منبع نیتروژن و مقدار تلقیح را بر وزن خشک توده زیستی در سطح ثابت ۱۵g/L قند خرما نشان می‌دهد. بیشترین تولید توده زیستی در سطح ۵ g/L منبع نیتروژن و ۱۶ درصد حجمی مایه تلقیح به دست آمد. نمودار بیانگر تأثیر معنی‌دار این اثر برهم‌کنشی بر تولید توده زیستی است. این نکته با نتایج به دست آمده توسط مدل محاسباتی نیز مطابقت دارد.

بهینه‌سازی پاسخ: بهینه‌سازی پاسخ برای رسیدن به حداکثر رشد با استفاده از نرم‌افزار Minitab انجام شد. مقادیر بهینه متغیرهای مقدار تلقیح، منابع کربن و نیتروژن به ترتیب ۱۵/۳۹ درصد حجمی، ۲۰ و ۴/۳۵ گرم در لیتر به دست آمد که در این شرایط، مقدار پیش‌بینی شده برای تولید وزن خشک توده زیستی ۵/۰۳۲ گرم در لیتر بود. آزمایش تأییدی در شرایط بهینه انجام و ۰/۱۷ ± ۴/۸۴ گرم در لیتر توده زیستی به دست آمد. ضریب همبستگی زیاد مدل نمایانگر تطابق مناسب مدل محاسباتی با داده‌های آزمایشی و دقت مدل است.

• بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش غلظت قند باعث افزایش تولید توده زیستی و درصد پروتئین می‌شود. این مشاهده به دلیل مصرف کربن به عنوان جزء اصلی ماده سلولی و منبع انرژی در سلول اتفاق افتاد. هرچند که در تولید پروتئین با استفاده از رشد مخمر بر شیره خرما مشاهده شده است که افزایش منبع قند تا یک درصد وزنی (معادل ۱۰ گرم در لیتر) به دلیل ظهور پدیده Crabtree و مهار کاتابولیکی ناشی از تولید اتانل در غلظت‌های زیاد گلوکز منجر به کاهش رشد می‌شود (۲۴). همچنین نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد مقدار متوسط نیتروژن بیشترین میزان تولید را به همراه دارد و با افزایش بیشتر مقدار نیتروژن میزان توده زیستی کاهش می‌یابد. *Zhan Ying* و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند با افزایش غلظت منبع نیتروژن ($(NH_4)_2SO_4$) تا ۱ گرم در لیتر رشد *آسپرژیلوس نایجر* افزایش و سپس کاهش می‌یابد (۲۵).

نتایج نشان داد که افزایش میزان تلقیح به طور قابل توجهی باعث افزایش تولید توده زیستی و مقدار درصد پروتئین آن می‌شود. این مشاهده به دلیل فراهم بودن تعداد کافی سلول (به عنوان واحد اصلی تولید) رخ می‌دهد. همچنین، افزایش مایه تلقیح باعث جلوگیری از افت‌های ناخواسته در نتیجهٔ نفوذ مواد واسطه یا فعال کننده‌ها می‌شود. سطح کم مقدار تلقیح باعث طولانی شدن فاز تأخیر شده و افزایش بیش از حد آن منجر به پیدایش زودرس فاز سکون به دلیل کمبود منابع غذایی موجود در محیط کشت می‌شود (۲۶). در این تحقیق، سطح مطلوب مایه تلقیح ۱۵/۳۹ درصد حجمی به دست آمد. *Bo Jin* و همکاران در سال ۱۹۹۹ دریافتند که افزایش میزان تلقیح تا ۷/۵ درصد حجمی باعث افزایش تولید پروتئین و وزن خشک توده زیستی توسط *آسپرژیلوس اوریزایی* می‌شود، ولی افزایش بیشتر مایه تلقیح باعث کاهش تولید می‌شود (۲۷). نتایج این تحقیق از نظر تولید پروتئین، با گزارش *آهنگی* و همکاران در سال ۲۰۰۸ در ارتباط با تولید پروتئین قارچی از قارچ *فوزاریوم اکسسپوریوم* قابل مقایسه است که در شرایط بهینه (دمای ° ۲۵، دور rpm ۱۵۰، غلظت گلوکز g/l ۵ و فسفات دی هیدروژن آمونیوم g/L ۳/۴) به g/L ۵ توده زیستی با ۴۲٪ پروتئین خام دست یافتند.

در این تحقیق، با استفاده از طرح مرکب مرکزی، تأثیر سه متغیر در سه سطح بر فرایند تولید پروتئین قارچی (وزن خشک توده زیستی به عنوان پاسخ) انجام شد. در این روش، امکان بهینه سازی پاسخ و درون‌یابی سایر نقاط و تخمین پاسخ احتمالی آن نقاط وجود دارد (۲۸). به این ترتیب با استفاده از میزان g/l ۲۰ قند خرما، g/l ۵ فسفات دی هیدروژن آمونیوم به عنوان منبع نیتروژن و v/v% ۱۵/۳۹ مایه تلقیح حداکثر وزن خشک توده زیستی معادل g/l ۴/۸۴ حاصل شد. برای ادامه کار و استفاده از نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌شود که محدوده غلظت قند خرما در بالاتر از g/L ۲۰ و تولید مایکوپروتئین با استفاده از قند خرما در مقیاس بزرگ‌تر و در فرمانتور انجام گیرد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]

سپاسگزاری

ضمن قدردانی از معاونت محترم پژوهشی انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور که انتقادات صحیح و راهنمایی‌های دقیق خود را صرف هدایت عالمانه تحقیق حاضر نمودند؛ از همکاری بی‌شائبه و بذل عنایت معاونت محترم مالی مراتب امتنان را ابراز می‌دارد.

• References

1. Bu'lock JD, Kristiansen B. Basic Biotechnology 1 th ed, London: Academic Press. 1987.
2. Trinci APJ. Mycoprotein: a twenty-year overnight success story. Biotechnol Bioeng 1992; 40: 1181-9.
3. Wiebe MG. Quorn mycoprotein, overview of a successful fungal product. Mycologist 2004; 18:17-20.
4. Hosseini SM, Khosravi-Darani K, Mohammadifar MA, Nikoopour H. Production of mycoprotein by *Fusarium venenatum* growth on modified vogel medium. Asian J Chem 2009; 21(5): 4017-22.
5. Hunter BT. Make way for mycoprotein in US food supply. Consumer Res Mag 2001; Sep: 24-27.
6. Rodger G. Mycoprotein: a meat alternative new to US. 2001; 55(7): 42-8.
7. Peregrin T. Mycoprotein: is America ready for a meat substitute derived from a fungus. J Am Diet Assoc 2002; 102: 628-9.
8. Rodger G. Production and properties of mycoprotein as a meat alternative. Food Technol, 2001b; 55(7): 36-41.
9. Wiebe MG. Mycoprotein from *Fusarium venenatum*: a well-established product for human consumption. Appl Microbiol Biotechnol 2002; 58(4): 421-7.
10. Miller SA, Dwyer JT. Evaluating the safety and nutritional value of mycoprotein. Food Technol 2001: 55: 42-7.
11. Karava NB, Shinde RM, Mahoney RR. Formation of dialyzable iron during in-vitro digestion and extraction of mycoprotein. Food Chem 2007; 105:1630-5.
12. Williamson DA, Geiselman PJ, Lovejoy J, Greenway F, Volaufova J, Martin CK, et al. Effects of consuming mycoprotein, tofu or chicken upon subsequent eating behavior, hunger and safety. Appetite 2006: 46:41-8.
13. Turnbull WH, Ward T. Mycoprotein reduces glycemia and insulinemia when taken with an oral-glucose-tolerance. Am J Clin Nutr 1995; 61(1):135-41.
14. Trinci APJ. Evolution of the Quorn mycoprotein fungus, *Fusarium graminearum* A3/5. Microbiol 1994; 140: 2181-8.
15. Turnbull WH, Leeds AR, Edward DG. Mycoprotein reduces blood lipids in free-living subjects. Am J Clin Nutr 1992; 55(2): 415-19.
16. Wiebe MG, Robson GD, Oliver SG, Trinci AP. Use of a series of chemostat cultures to isolate improved variants of the Quorn mycoprotein fungus, *Fusarium graminearum* A3/5. Microbiol 1994, 140(11): 3015-21.
17. Wiebe MG, Robson GD, Oliver SG, Trinci AP. pH oscillations and constant low pH delay the appearance of highly branched (colonial) mutants in chemostat cultures of the Quorn mycoprotein fungus, *Fusarium graminearum* A 3/5. Biotechnol Bioeng 1996; 51(1): 61-8.
18. Ward PN; inventor; Darlington, UK. Production of food. US Patent 5,739,030. 1998.
19. Ahangi Z, Shojaosadati SA, Nikoopour H. Study of mycoprotein production using *Fusarium oxysporum* PTCC 5115 and Reduction of its RNA Content. Pakistan J Nutr 2008; 7: 240-3.
20. Vogel HJ. A convenient growth medium for Neurospora (medium N). Microb Genet Bull. 1956; 13: 42-4.
21. AOAC. Official methods of analysis of association of official agriculture chemists. 18 th ed.Washington: Gaithersburg; 2005.
22. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. J Am Chem Soc. 1956; 28: 350-6.
23. Khosravi-Darani K, Farhadi Gh, Mohammadifar M, Hadian Z, Seyed Ahmadian F, Komeili R, et al. Comparison of bench-scale production of xanthan by xanthomonas campestris in solid state and submerged fermentation, Iran J Nutrition Sci Food Technol 2009; 4(1): 49-56 [in Persian]
24. Halász A, Lásztity R. Use of yeast biomass in food production, 1 th ed, Florida: CRC Press; 1991.
25. Zhang ZY, Jin B, Bai ZH, Wang XY. Production of fungal biomass protein using micro fungi from

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]

winery waste water treatment. Biores Technol 2008; 99:3871-87.

26. Morales H, Sanchis V, Coromines J, Ramos AJ, Marin S. Inoculum size and intraspecific interactions affects *Penicillium expansum* growth and patulin accumulation in apples. Food Microbiol 2008; 25:378-85.

27. Jin B, Van leeuwen J, Patel B. Mycelial morphology and fungal protein production from starch processing wastewater in submerged cultures of *Aspergillus oryzae*. Proc Biochem 1999; 34: 335-40.

28. Brereton RG, Netlibrary I. Applied Chemometrics for Scientists. England: John Wiley & Sons; 2007.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]