بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه آزاد اسلامی

واحد شاهرود

دانشکده فنی و مهندسی، گروه مهندسی شیمی

پایان نامه براي دريافت درجه کارشناسي ارشد «M.Sc.»
گرایش: مهندسی بیوتکنولوژی

عنوان:

بررسی سینتیک رشد قارچ *آسپرژیلوس* نایجر و روند مصرف سوبسترا در کشت غوطه ور ناپیوسته

استاد راهنما:

دکتر فاطمه اردستانی

استاد مشاور:

دکتر علیرضا رفیعی

نگارش:

رکسانا کاسب کار

پاییز ۱۳۹۱

ISLAMIC AZAD UNIVERSITY

Shahrood Branch

Faculty of of Engineering - Department of

Chemical Engineering

((M.Sc.)) Thesis on biotechnology

Subject:

Investigation of Growth Kinetics and Substrate Utilization Rate of Aspergillus niger in a Batch Submerged Culture

Thesis Advisor:

Fatemeh Ardestani PH.D.

Consulting Advisor:

Alireza Rafiee PH.D.

By:

Roxana Kasebkar

Autumn 2013

سپاس گذاری

به مصداق « من لم یشکرالمخلوق یشکرالخالق »

بسی شایسته است از اساتید فرهیخته و فرزانه سرکار خانم دکتر فاطمه اردستانی و جناب آقای دکتر علیرضا رفیعی که با کرامتی چون خورشید، سرزمین دل را روشنی بخشیدند و گلشن سرای علم و دانش را با راهنمایی های کارساز و سازنده بارور ساختند، تقدیر و تشکر نمایم.
همچنین از پدر و مادر عزیزم و پدر که همیشه در تمامی مراحل زندگی حامی و راهنمای من بوده‌اند و برایم آرامش روحی و آسایش فکری فراهم نمود تا با حمایت های همه جانبه در محیطی مطلوب، مراتب تحصیلی و نیز پایان نامه درسی را به نحو احسن به اتمام برسانم سپاسگزاری می کنم.

شکرخداکه هرچه طلب کردم از خدا بر منتهای همت خود کامران شدم

تقدیم به

آفریدگاری که خویشتن را به ما شناساند و درهای علم را بر ما گشود و عمری و فرصتی عطافرمود تا بدان، بنده ضعیف خویش را در طریق علم و معرفت بیازماید.

تقدیم به پدرم که عالمانه به من آموخت تا چگونه در عرصه زندگی، ایستادگی را تجربه نمایم وتقدیم به مادرم، دریای بی کران فداکاری و عشق که وجودم برایش همه رنج بود و وجودش برایم همه مهر.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده ۱

فصل اول:کلیات

۱-۱. مقدمه ۳

۱-۲. مروری بر تاریخچه تکاملی قارچ ها ٤

۱-۳. خصوصیات کلی قارچ ها ٤

۱-٤. اهمیت قارچ ها در زندگی بشر ٥

۱-٥. مرفولوژی قارچ رشته ایدر سیستم های تخمیریغوطه ور ٥

۱-۶ . معیارها و شناسایي كپك ها ٦

۱-۷. مزیت کشتناپیوسته برای قارچهای رشته ای(کپک) ۷

۱-۸ . آشنایی با قارچ *آسپرژیلوس* ۸

۱-۹. تولید مثل غیر جنسی در قارچ های *آسپرژیلوس* ۱۰

۱-۱۰. تولید مثل جنسی در قارچ های *آسپرژیلوس* ۱۱

۱-۱۱. عوامل و انتشار بیماری گونه های *آسپرژیلوس* ۱۲

۱-۱۲. مشخصات ظاهری *آسپرژیلوس* نیجر ۱٤

۱-۱۳. اثرات pH بر روی رشته قارچ *آسپرژیلوس* نیجر ۱٥

۱-۱٤. کاربرد *آسپرژیلوس* در صنعت ۱٥

۱-۱٥. تولید تجاری اسیدهای آلی توسط قارچ رشته ای *آسپرژیلوس نیجر* ۱٥

۱-۱٥-۱. اسید سیتریک ۱٦

۱-۱٥-۲. اسید گلوکونیک ۱۷

۱-۱۶. بیان مسئله تئوری ۱۷

۱-۱۷. ضرورت انجام تحقیق ۱۸

۱-۱۸. اهداف اصلی تحقیق ۱۸

۱-۱۹. فرضیه های تحقیق ۱۸
۱-۲۰. تعاریف واژه ها و اصطلاحات ۱۹

فصل دوم: ادبیات و پیشینه تحقیق

۲-۱. مدل‌های سینتیکی رشدریزسازواره ها ۲۱
۲-۲. الگوها و سینتیک رشد در کشت ناپیوسته ۲۱
۲-۲-۱. فاز تاخیر ۲۲
۲-۲-۲. شتاب با فاز نمایی ۲٤
۲-۲-۳. فاز سکون ۲٤
۲-۲-٤. فاز مرگ ۲٤
۲-۲-٥. فازهای تاخیر چندگانه. ۲٥
۲-۳. فاکتورهای محیطی موثر بر سینتیک های رشد ۲٥
۲-۳-۱. فعالیت ترمودینامیکی آب و فشار هیدرواستاتیکی ۲٥
۲-٤. الگوهای سینتیکی رشد و تولید محصول در تخمیر ناپیوسته ۲٦
۲-٤-۱. محصولات همراه با رشد ۲٦
۲-٤-۲. محصولاتی که همراه با رشد تولید نمی‌شوند ۲٦
۲-٤-۳. محصولاتي که هم همراه با رشد و هم در فاز عدم رشد تولید می‌شوند ۲۷
۲-٥. ارتباط بین غلظت اولیه موادمغذی و بیشینه جمعیت سلولی در کشت ناپیوسته ۲۸
۲-٦ . آزمایشات کشت ناپیوسته یا روش کشت ناپیوسته ۲۹
۲-۷. مدلهای سینتیکی ۲۹
۲-۸ . مدل‌های رشد ارگانیسم‌های رشته‌ای ۲۹

فصل سوم: مواد و روش ها

۳-۱. مواد ٤٤

۳-۱-۱. ریزسازواره ٤٤

۳-۱-۲. مواد مورد استفاده در محیط های کشت ٤٤

۳-۱-۳. مواد مورد استفاده برای اندازه گیری های آزمایشگاهی ٤٥

۳-۲. تجهیزات ٤٥

۳-۲-۱. تجهیزات مورد استفاده در فرایند تخمیری ٤٥

۳-۲-۲. سایر تجهیزات مورد استفاده ٤٦

۳-۲-۳. تجهیزات مورد استفاده جهت اندازه گیری ٤٨

۳-۳. روش ها ٤٩

۳-۳-۱. کشت اولیه و آماده سازی مایه تلقیح ٥٠

۳-۳-۲. آماده سازی محیط کشت ٥١

۳-۳-۳. فرایند رشد ٥١

۳-۳-۳-۱. شرایط عملیاتی فرایند ٥١

۳-۳-۳-۲. نمونه برداری و آماده سازی نمونه ها ٥١

۳-۳-٤. روش های اندازه گیری ٥٢

۳-۳-٤-۱. اندازه گیری غلظت گلوکز ٥٢

۳-۳-٤-۲. اندازه گیری وزن خشک سلولی ٥٣

فصل چهارم: تجزیه و تحلیل داده ها

٤-۱. بررسی نمودار رشد قارچ *آسپرژیلوس نیجر* در شرایط کشت فلاسک ٥٤

٤-۱-۱. بررسی تغییرات غلظت گلوکز در شرایط کشت فلاسک ٥٥

٤-۱-۲. مدلهای سینتیک رشد سلولی ٥٥

٤-۱-۳. سینتیک رشد سلول در سیستم ناپیوسته ٥٦

٤-۲. بررسی سینتیک رشد قارچ و مصرف سوبسترا توسط *آسپرژیلوس نیجر* ٥٦

٤-۲-۱. بررسی برازش رشد قارچ و مصرف سوبسترا با مدل سینتیکی مونود ٥٧

٤-٢-٢. بررسی برازش رشد قارچ و مصرف سوبسترا با مدل سینتیکی کونتویس ٥٩
٤-٢-٣. بررسی برازش رشد قارچ و مصرف سوبسترا با مدل سینتیکی ورهالست..... ٦١
٤-٢-٤. بررسی برازش رشد قارچ و مصرف سوبسترا با مدل سینتیکی موزر ٦٢
٤-٢-٥. بررسی برازش رشد قارچ و مصرف سوبسترا با مدل سینتیکی نمایی ٦٤
٤-٣. بررسی برازش شدت مصرف سوبسترا با معادله دیفرانسیلی درجه اول ٦٥
٤-٤. شبیه سازی قارچ *آسپرژیلوس نیجر* در محیط کشت غوطه ور ٦٧
٤-٤-١. شبیه سازی تولید توده سلولی بر اساس مدل سینتیکی مونود ٦٧
٤-٤-٢. شبیه سازی تولید توده سلولی بر اساس مدل سینتیکی کونتویس ٦٨
٤-٤-٣. شبیه سازی تولید توده سلولی بر اساس مدل سینتیکی ورهالست ٦٩
٤-٤-٤. شبیه سازی تولید توده سلولی بر اساس مدل سینتیکی موزر ٧٠

فصل پنجم: نتیجه گیری و پیشنهادات

٥-١. نتیجه گیری..... ٧٣
٥-٢. پیشنهادات ..... ٧٤.

منابع و مآخذ

فهرست منابع فارسي..... ٧٥
فهرست منابع غیرفارسي..... ٧٦
چکیده انگلیسي..... ٧٧

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

۲-۱: تعدادی از متداول ترین مدل‌های رشد غیر ساختاری..... ۲۳

٤-۱: داده های تجربی مورد نیاز برای رسم نمودار لینویور-بارک..... ٥٨

٤-۲: اطلاعات حاصل از رسم نمودار برازش خطی داده های تجربی با مدل مونود..... ٥٩

٤-۳: اطلاعات حاصل از رسم نمودار برازش خطی داده های تجربی با مدل کونتویس..... ٦١

٤-٤: اطلاعات حاصل از رسم نمودار برازش خطی داده های تجربی با مدل ورهالست..... ٦١

٤-٥: اطلاعات حاصل از رسم نمودار برازش خطی داده های تجربی با مدل موزر ٦٣

٤-٦: اطلاعات حاصل از رسم نمودار برازش داده های تجربی با مدل سینتیکی نمایی..... ٦٥

٤-۷: مقایسه برازش رفتار مدل های سینتیکی رشد *آسپرژیلوس* نیجر ٦٥

٤-۸: اطلاعات حاصل از برازش داده های تجربی با معادله دیفرانسیلی درجه اول ٦٧

٤-۹: مقادیر تجربی و محاسبه شده غلظت توده سلولی با مدل های سینتیکی مختلف..... ٦٨

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

۱-۱: تصویری از ساختار رشته ای *آسپرژیلوس* نیجر ۷

۱-۲: تصویری از رشد *آسپرژیلوس* ۷

۱-۳: *آسپرژیلوس نیجر* رشد کرده روی پنیر ۹

۱-٤: تصویر چند سویه از قارچ *آسپرژیلوس* ۹

۱-٥: تصویر رشد توده ای *آسپرژیلوس* نیجر ۹

۱-٦: تصاویری از ساختار میسلیومی قارچ *آسپرژیلوس* ۱۲

۱-۷: بیماری های ناشی از قارچ و کپک ها ۱٤

۱-۸: ساختار میسیلیومی قارچ *آسپرژیلوس* نیجر ۱٥

۱-۹: تصویری از کپک *آسپرژیلوس* نیجر ۱٥

۲-۱: دل های رشد ریز سازواره ها ۲۲

۳-۱: نمایی از دستگاه شیکر انکوباتور مورد استفاده در تحقیق ٤٥

۳-۲: نمایی از فلاسک های محتوی محیط کشت تلقیح شده در دستگاه شیکر انکوباتور ٤٥

۳-۳: نمایی از دستگاه pH متر مورد استفاده در تحقیق ٤٦

۳-٤: نمایی از دستگاه اتوکلاو مورد استفاده در تحقیق ٤۷

۳-٥: نمایی از دستگاه بن ماری مورد استفاده در تحقیق ٤۷

۳-٦: نمایی از دستگاه همزن مغناطیسی مورد استفاده در تحقیق ٤۷

۳-۷: نمایی ازدستگاه اسپکترو فتو متر مورد استفاده در تحقیق ٥۰

۳-۸ : بشقابک حاوی اسپورهای سه روزه سیاه رنگ *آسپرژیلوس* نیجر ٥۰

۳-۹: توده های کروی شکل*آسپرژیلوس نیجر* در شرایط کشت فلاسک ٥۰

۳-۱۰: تصویری از محلول دی نیترو سالسیلیک اسید ۱% مورد استفاده در تحقیق ٥۱

فهرست نمودارها

عنوان صفحه

۲-۱: توده سلولی بر حسب زمان..... ۲۴

۲-۲: زمان تولید مثل بر حسب دما ۲۶

۲-۳: غلظت محصول یا توده سلولی بر حسب زمان ۲۷

۲-٤: غلظت توده سلولی یا محصول بر حسب زمان..... ۲۸

۲-٥: غلظت توده سلولی یا محصول بر حسب زمان..... ۲۹

۲-٦: جمعیت بیشینه بر حسب غلظت ۲۹

۳-۱: منحنی استاندارد گلوکز در طول موج ٥٤٠ نانومتر..... ٥۲

٤-۱: تغییرات غلظت گلوکز، توده سلولی توسط *آسپرژیلوس* نیجردر شرایط کشت فلاسک..... ٥۸

٤-۲: برازش دادههای تجربی رشد قارچ ومصرف سوبسترا با معادله سینتیکی مونود..... ٦۰

٤ -۳: برازش داده های تجربی رشد قارچ و مصرف سوبسترا با معادله سینتیکی کونتویس..... ٦۱

٤ -٤: برازش داده های تجربی رشد قارچ و مصرف سوبسترا با معادله سینتیکی ورهالست ٦۱

٤-٥: برازش داده های تجربی رشد قارچ و مصرف سوبسترا با معادله سینتیکی موزر..... ٦۳

٤-٦: برازش داده های تجربی رشد قارچ و مصرف سوبسترا با معادله سینتیکی نمایی..... ٦۴

٤-۷: نمودار خطی برازش شدت مصرف سوبسترا با معادله دیفرانسیلی درجه اول..... ٦٦

٤-۸: شبیه سازی تغییرات غلظت *آسپرژیلوس نیجر* براساس مدل سینتیکی مونود..... ٦۷

٤-۹: شبیه سازی تغییرات غلظت *آسپرژیلوس نیجر* براساس مدل سینتیکی کونتویس..... ٦۹

٤-۱۰: شبیه سازی تغییرات غلظت *آسپرژیلوس نیجر* براساس مدل سینتیکی ورهالست..... ۷۰

٤-۱۱: شبیه سازی تغییرات غلظت *آسپرژیلوس نیجر* براساس مدل سینتیکی موزر ۷۰

چکیده

طراحی فرایندهای تولید محصولات زیستی با استفاده از سویه های مختلف قارچ مستلزم آگاهی از سینتیک رشد این میکروارگانیسم ها و همچنین چگونگی مصرف سوبسترا توسط آنها است. *آسپرژیلوس نیجر* به عنوان یک قارچ رشته ای پر کاربرد در صنایع تخمیری مورد استفاده قرار می گیرد. در این تحقیق مدل سینتیکی رشد قارچ و مصرف سوبسترا در یک کشت غوطه ور ناپیوسته با پنج مدل سینتیکی مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی میزان انطباق داده های آزمایشگاهی مربوط به رشد سلول با مدل ها، با استفاده از ابزار Curve-fitting در نرم افزار Excel و Mat Lab انجام شد. نتایج نشان داد که مدل سینتیکی موزر می تواند در بین مدل های بررسی شده در این مطالعه، بهترین مدل برای بیان رفتار این قارچ باشد. بیشینه سرعت رشد ویژه ۰/۰۲۲ و سایر ثوابت سینتیکی تعیین خواهند شد. همچنین چگونگی مصرف سوبسترا توسط قارچ و مطابقت آن با معادله دیفرانسیلی درجه اول نیز بررسی شد. برازش داده های تجربی با معادله دیفرانسیلی با رگرسیون ۰/۹۶۵۸ برقرار شد. بنابراین تغییرات غلظت گلوکز با زمان در این فرایند تخمیری از معادله دیفرانسیلی درجه اول فوق تبعیت می کند.

کلمات کلیدی: *آسپرژیلوس* نیجر، مدل های سینتیکی، کشت غوطه ور ناپیوسته، بیشینه سرعت رشد ویژه.

فصل اول

کلیات

۱-۱ مقدمه

میکروارگانیسم ها به عنوان بیوکاتالیست ها در فرایند های تخمیر مورد استفاده قرار می گیرند که در آن ها یک محصول و بیومس از قند های قابل تخمیر بدست می آید [۸ و۴۵]. این ارگانیسم ها که به طور بیولوژیکی فعال هستند، سهم قابل توجهی در تولید نوشیدنی های تخمیری و صنایع غذایی دارند [۹].

رشد یک ارگانیسم به شدت توسط ترکیب محیط کشت تأثیر می پذیرد. بنابراین بهینه سازی ترکیب محیط رشد و پارامتر های محیط کشت کار اصلی در یک فرایند تخمیر است [۲۶].

قارچ یک واژه کلی است و به گروههای مختلف مخمر و کپک اطلاق میشود .قارچها به دلیل نداشتن کلروفیل قادر به ساختن مواد غذایی خود نیستند و براي ادامه حیات به موجودات زنده دیگر نیاز دارند [۱۶]. شیوه زندگی ساپروفیتی بسیاری از قارچ های رشته ای به واسطه توانایی آنها در ایجاد میسلیوم پیش رونده، ترشح آنزیم های تجزیه کننده جهت بهره برداری از مواد غذایی پیچیده (نظیر پلی مرها) موجود در محیط خارج و جذب مواد قابل مصرف آنها، امکان پذیر شده است. قابلیت تولید و ترشح فراوان آنزیم های مختلف و همچنین تولید مقادیر انبوه متابولیت هایی مانند آنتی بیوتیک ها (متابولیت های ثانویه) و اسیدهای آلی در شرایط خاص موجب توجه بسیار زیاد صنعت به این قارچ ها شده است.

فرایند تولید اسید های آلی نمونه بسیار مناسبی از کاربرد قارچ ها در بیوتکنولوژی است. در این میان قارچ *آسپرژیلوس* نیجر[1] از جمله مهم ترین قارچ های رشته ای است که از آن برای تولید اسید های مختلف از جمله اسید سیتریک و اسید گلوکونیک استفاده می شود. نحوه رشد رشته ای قارچ ها عامل تعیین کننده ای در کاربرد صنعتی آن هاست [۶].

آسپرژیلوس نیجر منبع تولید سه اسید آلی یعنی اسیدگلوکونیک، اسیدسیتریک و اسید اگزالیک است. برای مثال در تولید تجاری اسیدسیتریک توسط *آسپرژیلوس نیجر* در دستگاه های تخمیر هوادهی شونده، گلوکز با بازدهی بیش از ۹۰ درصد به اسید سیتریک تبدیل می شود که در مقیاس صدها گرم در لیتر می باشد.

[1] Aspergillus niger

تاکنون بیشترین مقدار تولید صنعتی اسیدهای آلی قارچی مربوط به اسیدسیتریک و اسیدگلوکونیک بوده است که هر دو آنها حاصل تخمیر گلوکز یا ساکاروز توسط *آسپرژیلوس نیجر* می باشد [٤٦].

در مباحث بیولوژیکی، بهینه سازی کلی فرایند کشت قارچ یک عامل کلیدی است. به این معنا که نسبت بازده به هزینه باید حداکثر باشد. عده ای از متغیرهای دخیل در این روند نظیر میزان اکسیژن، pH، غلظت نمک، ترکیب محیط کشت و دما قابل کنترل می باشند. همچنین رفتار میکروارگانیسم در دستگاه تخمیر (فرمانتور یا بیوراکتور) و پایداری سویه مورد نظر نیز حائز اهمیت است [٣٠].

١-٢ مروری بر تاریخچه تکاملی قارچ ها

قارچ ها مانند حیوانات و گیاهان در گروه یوکاریوت ها قرار می گیرند. با وجود ساختار ژنتیکی مشابه با حیوانات و گیاهان تفاوت هایی در شیوه زندگی طبیعی آن ها وجود دارد که مطالعه این ارگانیسم ها را حائز اهمیت می کند.

علل جذابیت مطالعه قارچ ها عبارتند از:

١. نقش بسیار مهم آن ها در حفظ حیات بر روی کره زمین
٢. کاربرد فراوان آن ها در صنایع امروزی و قابلیت های کاربردی جدیدتر در آینده
٣. فراهم آوردن اطلاعات با ارزشی از روند تکامل به عنوان قدیمی ترین شاخه یوکاریوتی

قارچ ها با ترشح آنزیم های هضمی ترکیبات آلی ودر برخی موارد ترکیبات غیر آلی موجود در محیط را تجزیه کرده و سپس مواد مغذی آن را جذب می کنند.

کشف اسپور قارچ هایی مشابه قارچ های امروزی در صمغ هایی به قدمت ٢٢٠ میلیون سال حکایت از تکامل دیرین این ارگانیسم ها دارند.

قارچ ها نخستین ارگانیسم های عالی بوده که تکامل یافته اند و سپس با پیدایش اولین گیاهان، این امکان را به آن ها دادند تا به خاک زمین تهاجم نموده و سرانجام طبیعت امروزی را ایجاد نمایند. با وجود این که قارچ ها به شکلی تطابق یافته اند که بتوانند محیط خود را به نحو مؤثری تغییر دهند، ولی خود تکامل بسیار کندی داشته اند بطوریکه قارچ های امروزی بسیار شبیه به قارچ های دیرین می باشند [٤٤و١٧].

١-٣ خصوصیات کلی قارچ ها

قارچ ها ارگانیسم های غیرمتحرک با هسته واقعی و دارای دیواره سلولی مشخص هستند که فاقد رنگدانه کلروفیل بوده و به وسیله اسپور یا هاگ تکثیر می یابند. اسپور یا کونیدهای آن ها به طریق

جنسی و یا غیر جنسی تولید شده، کوچک(میکروسکوپیک) بوده و فاقد جنین است. اسپور یا کونیدهای قارچ ها در صورتی که در محیط و شرایط مناسب قرار گیرند، رشد و تکثیر یافته، اشکال مخمری و یا رشته ای(کپکی) را به وجود می آورند. اگرچه دراکثر قارچ ها ارگانیسم تنها به یک شکل تکثیر می یابد، ولی تعدادی از آنها قارچ های دوشکلی بوده و بسته به شرایط زیستی، ارگانیسم را می توان به هر دو شکل فوق مشاهده نمود.

در مخمر ها پس از آن که اسپور در شرایط مناسب قرار گرفت، شروع به تکثیر نموده، ایجاد سلول های گرد، بیضی و یا کشیده ای را می کند که غالباً توسط جوانه زدن و در پاره ای موارد از راه تقسیم دوتایی، تکثیر یافته، ایجاد کلنی های مرطوب و خامه ای شکل می نماید. از آنجایی که اکثر قارچ های این گروه دارای خاصیت تخمیر بوده و از آن ها در کارخانه های مواد غذایی استفاده می شود، آن ها را مخمر گویند، ولی این قابلیت را نمی توان در مورد آن ها صادق دانست.

۱-٤ اهمیت قارچ ها در زندگی بشر

قارچ ها عوامل زنده ای هستند که قادر به تجزیه و تخریب مواد آلی می باشند و مواد غذایی یا پارچه، حتی چرم و به طور کلی کالاهای مصرفی که در ساختمان آنها ماده خام آلی به کار رفته باشد را تجزیه نموده و باعث فاسد شدن آن ها می گردد، اکثر بیماری های گیاهی و بعضی از امراض انسانی و حیوانی در اثر قارچ ها ایجاد می شود، در صنایع تخمیری حائز اهمیت می باشند، در داروسازی از وجود قارچ ها برای تهیه اسید های آلی، ویتامین ها و آنتی بیوتیک ها استفاده می شود. در کشاورزی قارچ ها ار طرفی مضر بوده و سالیانه میلیون ها تومان خسارت به محصولات کشاورزی وارد می کنند و از طرفی مفید هستند و باعث حاصلخیزی خاک می گردند [٤].

۱-۵ مرفولوژی قارچ رشته ای در سیستم های تخمیری غوطه ور

از خصوصیات بارز قارچ های رشته ای تنوع مرفولوژیکی(شکل ظاهری قارچ) آنها است. در سیستم های تخمیری غوطه ور، قوانین فیزیکی حاکم بر سیال (محیط کشت مایع) به شدت تحت تأثیر نوع مرفولوژی قارچ قرار می گیرند. بطورکلی دو نوع مرفولوژی مشخص شناخته شده است که به ترتیب نوع پلتی[1] و نوع رشته ای آزاد نام گرفته اند. مثلاً در تولید اسیدسیتریک از *آسپرژیلوس نیجر* رشد پلتی مدنظر می باشد. در شرایطی که قارچ در محیط مایع به صورت پلت رشد می کند، ویسکوزیته مایع تخمیر پایین بوده و به همین دلیل محیط کشت از نظر خصوصیات فیزیکی کم و بیش

[1] plati

از قوانین نیوتنی پیروی می نماید. در این وضعیت محیط تخمیر بخوبی مخلوط می شود و مشکلاتی نظیر انتقال نامناسب گاز و مایع و همچنین عدم جابجایی مؤثر توده سلولی بر طرف می گردد [۲۳].
لازم به ذکر است که شدت تلاطم (بهم خوردن) محیط هم مرفولوژی قارچ و هم انتقال توده سلولی را در دستگاه تخمیر تحت تأثیر قرار می دهد [٤٢].

١-٦- معيارها و شناسايي كپك ها [٦]

١. داشتن یا نداشتن دیواره عرض یا هیف

٢ . روشن یا تیره (دودی) بودن مسیلیوم

٣. رنگي یا بي رنگ بودن مسیلیوم

٤. توانايي توليد اسپور جنسی

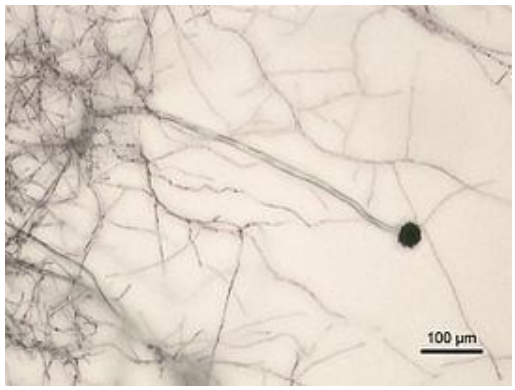
٥- نوع اسپورهای غیر جنسي

٦- خصوصیات کلاهك اسپوری

٧- شکل ظاهری اسپورانژیوفور یاکونیدیوفور

٨- ظاهر میکروسکوپی اسپوهای غیر جنسی

٩- وجود ساختارهای ویژه مانند استولن، ریزوئید، سلولهای پایه ،اسکلروتیا وغیره.



شکل ۱-۱: تصویری از ساختار رشته ای *آسپرژیلوس* نیجر

شکل۱-۲: تصویری از رشد *آسپرژیلوس*

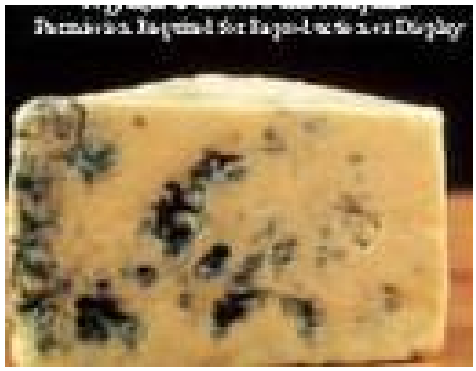
۱-۷ مزیت کشت ناپیوسته برای قارچ های رشته ای(کپک)

این نوع فرایندها (کشت ها) در تولید محصولاتی که شکل گیری آنها با روند رشد قارچ در محیط وابستگی ندارد، کاراتر بوده و بدلیل پایداری ژنتیکی ارگانیسم و خطر آلودگی کمتر بد فرایندهای پیوسته ارجعیت دارند. در این سیستم ها یک یا چند ماده غذایی (نظیر ازت یا کربن) به دستگاه تخمیر وارد می شود در حالی که محصول مورد نظر و همچنین سلول ها تا انتهای فرایند در سیستم باقی می مانند. بارگاوا و همکارانش سیستم های ناپیوسته خوراک دهی شده را در کنترل مرفولوژی قارچ بکار گرفته اند و به این وسیله نشان داده اند که ورود کنترل شده منبع کربن در سیستم ناپیوسته خوراک دهی شده موجب کاهش قوام (ویسکوزیته) محیط کشت می شود [۱۹و۲۰].

۱ـ ۸ آشنایی با قارچ *آسپرژیلوس*

تام و رپر[1] در سال ۱۹٤٥ هفتاد و هشت گونه از *آسپرژیلوس* ها را شرح داده اند. گرده *آسپرژیلوس نیجر* که بنام کپک سیاه موسوم است از قطب شمال تا استوا انتشار دارد و در اغلب نقاط کنیدی آن مشاهده می شود با قرار دادن پتری دیش محتوی محیط مناسب، در معرض هوا رشد کاملی از *آسپرژیلوس* را می توان مشاهده کرد. اسپور این قارچ در خاک نیز فراوان دیده می شود. آنزیم های متعدد و مختلفی که در *آسپرژیلوس* ها وجود دارد آنان را قادر می سازد تا از انواع مختلف مواد غذایی تغذیه کنند. بنابراین *آسپرژیلوس* ها به طریق مختلفی در زندگی ما مؤثر هستند. *آسپرژیلوس نیجر* و چندگونه دیگر را می توان بر روی مواد غذایی رو باز به خوبی مشاهده کرد. این قارچ ها مایه فساد مواد غذایی محسوب می شوند بعلاوه قادر هستند که در اغلب محیط های کشت باکتری ها و قارچ ها آلودگی ایجاد نمایند. برخی از گونه ها بر روی چرم و پارچه رشد کرده و به مرغوبیت آنها لطمه می زنند. در نقاط گرم و معتدل که *آسپرژیلوس* به وفور رشد می کند در داخل قفسه های لباس یک یا دو لامپ برق را دائم روشن می گذارند تا هوای داخل آنها خشک بماند تا *آسپرژیلوس* نمو نکند [۳].

کونیدیای آنها جهت دارا بودن خاصیت آنتی ژنیکی و انتشار وسیع محیطی، می توانند ایجاد بیماری های ازدیاد حساسیت را در افراد مستعد بنمایند. در عین حال بعضی از گونه های آن چون فومیگاتوس[2] و فلاووس[3] قادرند نه تنها در افراد مستعدی چون بیماران گرفتار نقائص سیستم ایمنی ایجاد بیماری کنند، بلکه در کسانی هم که به دلائل شغلی (فروشندگان غلات، کشاورزان، آسیابانان، قالیبافان، پسته چینان) و یا به هر دلیل دیگر در معرض تماس با مقادیر زیاد کونیدیا قرار دارند نیز ایجاد عفونت های حاد را بنمایند [٤].



شکل ۱ـ۳: *آسپرژیلوس نیجر* رشد کرده روی پنیر

[1] Tam and Rapper
[2] Fumigates
[3] Flavus