بسم الله الرحمن الرحيم

١٠٤٩٨٠

دانشگاه پیام نور

دانشگاه پیام نور – کتابخانه مرکزی
بخش نشریات
QH
۶۲۷
۱۹ م۲۱۱

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

تولید پروتئین میکربی از ضایعات لیگنوسلولزی

پایان نامه:

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته زیست شناسی (بیوشیمی)

مولف

مهری آرش

۱۳۸۷ /۲/ ۱۱

استاد راهنما

دکتر علیرضا احمدی

دکتر هدایت اله قورچیان

استاد مشاور

دکتر بهزاد لامع راد

شهریور ماه ۱۳۸۵

۱۰۲۹۸۰

دانشگاه پیام نور

تصویب نامه

پایان نامه تحت عنوان

تولید پروتئین میکروبی از ضایعات لیگنوسلولزی

تاریخ دفاع :۸۵/۹/۲۱ نمره: ۱۹/۶ درجه: عالی

اعضای هیات داوران

نام و نام خانوادگی	هیات داوران	مرتبه علمی	امضاء
۱- جناب آقای دکتر علیرضا احمدی	استاد راهنما۱	استادیار	
۲- جناب آقای دکتر قورچیان	استاد راهنما۲	دانشیار	
۳-جناب آقای دکتر لامع راد	استاد مشاور	استادیار	
۴- خانم دکتر خدیجه عنصری	استاد داور خارجی	استادیار	
۵- جناب آقای دکتر ماچ مسینی	استاد داور داخلی		
۶-جناب آقای دکتر بخشی خانیکی	مدیر گروه		

سپاسگزاری و تقدیر

با کمک خداوند متعال و یاری خانواده ام به خصوص پدر و برادر عزیزم توانستم در این راه قدم گذاشته و موفق شوم. با تشکر از اساتید مهربان و دلسوزم که مرا در این راه یاری نمودند و صمیمانه از دوستانی سپاسگزاری می کنم که در این مدت در سختی ها به من قوت قلب داده و مرا همراهی نمودند.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه

چکیده فارسی

مقدمه ۱

فصل اول: کلیات

۱-۱ پروتئین سلولی (*SCP*) و اهمیت آن ۵

۱-۲ میکروارگانیسم های تولیدکننده *SCP* ۵

۱-۲-۱ باکتریها ٦

۱-۲-۲ مخمرها ٦

۱-۲-۳ قارچها ۷

۱-۲-٤ جلبکها ۷

۱-۳ سوبستراهای مورد استفاده در تولید *SCP* ۷

۱-۳-۱ آلکانها ۷

۱-۳-۲ متان ۸

۱-۳-۳ متانول ۸

۱-۳-٤ اتانول ۸

۱-۳-۵ لیگنوسلولز ۸

۱-۳-٦ ضایعات ۹

۱-٤ مزایا و معایب *SCP* ۹

۱-۵ ارزش غذایی انواع *SCP* ۱۱

۱-٦ تخمیر حالت جامد ۱٤

۱-۷ دیواره سلول گیاهی و ترکیبات آن ۱٤

۱-۸ سنتز سلولز ۱٦

۱-۹ هیدرولیز سلولز ۱۸

۱-۱۰ تجزیه آنزیمی بیومس گیاهی ۱۸

۱-۱۰-۱ ساختار سلولازها ۱۹

۱-۱۰-۲ مکانیسم عمل سلولازها ۱۹

۱-۱۱ میکروارگانیسم های سلولولیتیک ۲۰
۱-۱۲ کاربرد سلولازها در صنعت ۲۱
۱-۱۳ پروسه بیومس سلولزی ۲۱
۱-۱٤ تیمارهای مقدماتی سلولز و ضایعات لیگنوسلولزی ۲۲
۱-۱٤-۱ لیگنین زدایی ۲٤
۱-۱٤-۲ فرآوری با متورم کردن ۲٤
۱-۱٤-۳ تغییر دادن قابلیت کریستالی مولکولهای سلولز ۲۵
۱-۱٤-٤ جداسازی سلولز از ترکیبات لیگنوسلولزی ۲٦
۱-۱٤-۵ تغییر درجه پلیمریزاسیون مولکول سلولز ۲۷
۱-۱٤-٦ پروسه های ترکیبی ۲۷
۱-۱۵ ارزش غذایی کاه ۲۷
۱-۱٦ ساختمان کاه ۲۸
۱-۱۷ خصوصیات میکروارگانیسم های مورد استفاده در تولید پروتئین میکربی ۲۹
۱-۱۷-۱ سلولوموناس اودا ۲۹
۱-۱۷-۲ تریکودرما ۳۰
۱-۱۷-۳ چائوتومیوم ۳۱
۱-۱۷-٤ پلئوروتوس ۳۲
۱-۱۸ روش های سنجش پروتئین ۳۵
۱-۱۹ روش های سنجش قند ۳٦
۱-۲۰ اهداف تحقیق ۳٦

فصل دوم: مواد و روشها

۲-۱ میکروارگانیسم های مورد استفاده ۳۸
۲-۲ مواد شیمیایی مورد نیاز ۳۸
۲-۳ وسایل و دستگاههای مورد استفاده ۳۹
۲-٤ محلول ها و محیط کشت های مورد استفاده و طرز تهیه آنها ٤۰
۲-٤-۱ طرز تهیه محیط کشت *PDA* ٤۰
۲-٤-۲ طرز تهیه محیط کشت مندلز ٤۰
۲-٤-۳ طرز تهیه محیط کشت *preculture* برای فعال شدن میکروارگانیسم ها ٤۲
۲-٤-٤ طرز تهیه محیط گلوکز آگار ٤۲
۲-٤-۵ روش تهیه سوسپانسیون اسپور ٤۲

۲-٤-٦ اندازه گیری پروتئین به روش لوری ٤٣
۲-٤-۷ اندازه گیری پروتئین به روش برادفورد ٤٥
۲-٤-۸ اندازه گیری قند گلوکز به روش آنزیمی ٤٨
۲-٥ شناسایی سویه سلولولیتیک برتر جهت تولید پروتئین میکربی ٥٠
۲-٦ تولید پروتئین میکربی از کاه گندم با قارچ پلئوروتوس فلوریدا در تخمیر حالت جامد ٥٠
۲-٦-۱ طرز تهیه مایه تلقیح ٥٠
۲-٦-۲ بررسی تاثیر توام درجه حرارت و غلظت سدیم هیدروکسید بر روی کاه گندم ٥٠
۲-٦-۳ بررسی تاثیر غلظت نیتروژن و کاه تیمار شده با استفاده توام سود و حرارت در تولید پروتئین میکربی..... ٥٢
۲-٦-٤ طرز تهیه محیط کشت تخمیر حالت جامد..... ٥٢
۲-٦-٥ آماده سازی نمونه ها جهت سنجش قند و پروتئین..... ٥٣

فصل سوم: نتیجه گیری و بحث

۳-۱ انتخاب سویه سلولولیتیک برتر جهت تولید پروتئین میکربی ٥٥
۳-۲ تولید پروتئین میکربی از ضایعات لیگنوسلولزی در تخمیر حالت جامد..... ٦٣
۳-٤-۱ اثر درجه حرارت بر تولید پروتئین میکربی..... ٦٨
۳-٤-۲ اثر غلظت $NaOH$ بر تولید پروتئین میکربی..... ٦٨
۳-٤-۳ اثر منبع نیتروژنی بر تولید پروتئین میکربی..... ٦٩
بحث ٧٩
فهرست منابع
چکیده انگلیسی

فهرست جداول

عنوان | صفحه

جدول ۱-۱ زمان دو برابر شدن سلولها ۱۰

جدول ۱-۲ مقایسه راندمان تولید پروتئین از چندین منبع پروتئینی در ۲٤ ساعت ۱۰

جدول ۱-۳ میانگین ترکیبات سلولی بر حسب (وزن خشک ٪) در گروههای اصلی میکروارگانیسمها.....۱۲

جدول ۱-٤ مقدار آمینواسید های ضروری پروتئین سلولی در مقایسه با چندین منبع پروتئینی (گرم آمینواسید در هر ۱۰۰ گرم پروتئین).....۱۲

جدول ۱-۵ مقدار ویتامین میکروارگانیسم های غذایی مختلف(*mg/100g* وزن خشک) ۱۳

جدول ۱-٦ مواد تشکیل دهنده کاه گندم..... ۲۸

جدول ۲-۱ محیط کشت مندلز برای یک لیتر محلول ٤۱

جدول ۲-۲ طرز تهیه *trace element stock*..... ٤۱

جدول ۲-۳ محلول استاندارد ٤۳

جدول ۲-٤ تهیه غلظت های مختلف *µg/ml* از *BSA* با استفاده از سود ۰/۵ نرمال و خواندن جذب آنها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج *nm* ۵۹۵ ..... ٤٦

جدول ۲-۵ انواع فرآوری کاه با تاثیر توام درجه حرارت و غلظت *NaOH*..... ۵۱

جدول ۳-۱ اندازه گیری میزان گلوکز تولید شده توسط سویه های سلولولیتیک مختلف(*µg/ml*)به روش گلوکز اکسیداز..... ۵٦

جدول۳-۲ اندازه گیری میزان پروتئین تولید شده توسط سویه های سلولولیتیک مختلف(*µg/ml*) به روش لوری ۵۷

جدول ۳-۳ مقدار پروتئین و قند به دست آمده در آزمایش اول..... ٦٤

جدول ۳-٤ مقدار پروتئین و قند به دست آمده در آزمایش دوم..... ٦۵

جدول ۳-۵ مقدار میانگین پروتئین و قند به دست آمده در آزمایش دوم..... ٦٦

جدول ۳-٦ مقدار پروتئین و قند به دست آمده بعد از مخلوط کردن نمونه ها در آزمایش دوم..... ٦۷

جدول ۳-۷ مقدار کربن و نیتروژن در ضایعات سلولزی مختلف ۷۰

فهرست اشکال و نمودارها

عنوان | صفحه

شکل ۱-۱ ساختار مولکولی سلولز و سایر ترکیبات دیواره سلولی ۱۷
شکل ۱-۲ سینرژی بین سلولازها ۲۰
شکل ۱-۳ استراتژی های عمومی برای هیدرولیز سلولز ۲۳
شکل ۱-٤ سلولوموناس اودا ۳۳
شکل ۱-٥ تریکودرما ویریده ۳۳
شکل ۱-٦ کلونی های چانوتومیوم ۳٤
شکل ۱-۷ پلئوروتوس ۳٤
نمودار ۲-۱ منحنی استاندارد پروتئین به روش لوری ٤٤
نمودار ۲-۲ منحنی استاندارد پروتئین به روش برادفورد ٤۷
نمودار ۲-۳ منحنی استاندارد قند گلوکز به روش آنزیمی گلوکز اکسیداز ٤۹
نمودار ۳-۱ مقدار قند تولید شده توسط میکروارگانیسم های مختلف بعد از ٤۸ ساعت ٥۸
نمودار ۳-۲ اندازه گیری مقدار پروتئین تولید شده توسط میکروارگانیسم های مختلف به روش لوری ٥۹
نمودار ۳-۳ مقایسه مقدار قند و پروتئین تولید شده بعد از ٤۸ ساعت ٦۰
نمودار ۳-٤ مقایسه مقدار قند و پروتئین تولید شده بعد از ٤۸ ساعت ٦۱
نمودار ۳-٥ مقایسه مقدار پروتئین تولید شده در دو دوره ٤۸ ساعت و بیش از ٤۸ ساعت ٦۲
نمودار۳-٦ مقایسه اثر درجه حرارت و غلظت *NaOH* بر تولید پروتئین در محیط کشت *A1* ۷۱
نمودار ۳-۷ مقایسه اثر درجه حرارت و غلظت *NaOH* در محیط کشت *A2* ۷۲
نمودار ۳-۸ مقایسه مقدار پروتئین تولید شده در محیط کشت *A1* و *A2* ۷۳
نمودار ۳-۹ مقایسه مقدار پروتئین در محیط کشت *A1* و *A2* ۷٤
نمودار ۳- 10 مقایسه اثر درجه حرارت و درصد غلظت *NaOH* در محیط کشت *A1* ۷٥
نمودار ۳-۱۱ مقایسه اثر درجه حرارت و درصد غلظت *NaOH* در محیط کشت *A2* ۷٦
نمودار ۳-۱۲ مقایسه اثر درجه حرارت و درصد غلظت *NaOH* در محیط کشت *A1* ۷۷
نمودار ۳-۱۳ مقایسه اثر درجه حرارت و درصد غلظت *NaOH* در محیط کشت *A2* ۷۸

نام خانوادگی دانشجو : آرش نام : مهری

عنوان پایان نامه : تولید پروتئین میکربی از ضایعات لیگنوسلولزی

اساتید راهنما : دکتر علیرضا احمدی - دکترهدایت اله قورچیان

استاد مشاور : دکتر بهزاد لامع راد

مقطع تحصیلی : کارشناسی ارشد رشته : زیست شناسی گرایش : بیوشیمی

دانشگاه : پیام نور - مرکز تهران دانشکده : علوم تاریخ فارغ التحصیلی : شهریور ۸۵

تعداد صفحه : ۹۱ صفحه

کلید واژه ها : پروتئین میکربی – پیش تیمار- سلولز- آنزیم های سلولولیتیک- کاه گندم- پلئوروتوس فلوریدا

چکیده :

میکروارگانیسم های ***Pleurotus florida*** . ***Pleurotus eryngii.*** ***Trichoderma reesei*** (سویه خریداری شده از هلند)، ***Trichoderma reesei*** (سویه ای ازمیکروفلور ایران)، ***Chaetomium virescens*** و ***Cellulomonas uda*** تهیه گردید. در اثر رشد سویه های مورد نظر روی سلولز و انتخاب بهترین سویه برای تولید آنزیم های سلولولیتیک به مدت ۷۲ ساعت در محیط کشت مایع مندلز در شیکر، فعالترین آنها از لحاظ تولید پروتئین انتخاب گردید.در محیط کشت مزبور تنها منبع کربن آنها سلولز در نظر گرفته شد. فعالیت این سویه ها و توانایی آنها در شکستن ترکیبات سلولزی و تولید ترکیبات ساده تر را می توان ارزیابی کرد. در مرحله بعد از بهترین سویه به عنوان میکروارگانیسم برتر برای تولید پروتئین میکربی از کاه گندم در تخمیر حالت جامد استفاده شد. کاه گندم با استفاده توام از سود و حرارت آماده سازی شد. کاه آماده سازی شده با قارچ پلئوروتوس فلوریدا در محیط کشت تخمیر حالت جامد تلقیح گردید.مقدار ۶۳/۲۴ درصد پروتئین در شرایطی به دست آمد که کاه در حرارت $100^{\circ}C$ و $2\%\ NaOH$ آماده سازی شد و در محیط کشت مندلز با غلظت اوره ۰/۳ ***g/lit*** قرار گرفت که بیشترین مقدار پروتئین به دست آمده در این آزمایش می باشد.

مقدمه

جمعیت جهان در حال حاضر ٦ میلیارد نفر است و تا سالیان دیگر افزایش چشمگیری خواهد داشت [۱].این ازدیاد جمعیت نتیجه ای غیر قابل اجتناب و فوری دارد: از طرفی نیاز ما به تولید غذا از گیاهان و جانوران افزایش پیدا خواهد کرد و از سوی دیگر منابع طبیعی موجود روی کره زمین محدود هستند[۲].با توجه به این مسئله و درک اهمیت آن تاکنون فعالیت های بین المللی زیادی جهت مطالعه احتیاج های آینده و هم چنین جهت اتخاذ پیشگیری های لازم و انجام تحقیقات برای غلبه بر این مسئله انجام شده است[۳].صنعت غذا طی پیشرفت ها و یافتن راههای جدید جهت تولید مواد غذایی، سوبستراهایی را به کار برده است که در گذشته برای تولید غذا استفاده نمی شد[۲].

امروزه تکنیک های جدیدی توسعه پیدا کرده تا از بیومس و ضایعات حاصل از کشاورزی، صنعت و زباله های شهری استفاده موثری شود.ماده اصلی اکثر این بیومس ها و ضایعات، مواد سلولزی است[٤].

پروتئین تک یاخته از منابع پروتئینی با کیفیت بالایی است که می تواند در جیره های غذایی جانوران و انسان وارد گردد[۱].

انواع میکروارگانیسم ها (باکتری، قارچ، مخمر و جلبک ها) با استفاده از منابع ارزان قیمت حاوی کربوهیدراتها (ملاس چغندر، نیشکر، شیره خرما و مواد زاید سلولزی) رشد و تکثیر یافته و فرآورده ای تولید می کند که تا میزان ۵۵ تا ۷۰ درصد آن حاوی پروتئین است.پروتئین تولید شده از این روش در وهله اول برای تغذیه دام و طیور و بعد از خالص سازی می تواند در تهیه غذا های گوشتی استفاده شود.پروتئین به دست آمده هم از نظر اقتصادی و هم از نظر ارزش غذایی قابل رقابت با پودر ماهی و آرد سویا است[۳].

بیومس با منشا گیاهی، لیگنوسلولز نامیده می شود که حاوی ٪٥٦-٤٥ سلولز، ٪۲۹-۱۰ همی سلولز و ٪۳۰-۱٤ لیگنین است.به نظر می رسد که تبدیل کربوهیدراتها (٪۷۵-۵۰) به غذای جانوری غنی از پروتئین، میلیونها دلار در هزینه های تامین غذای دام و طیور صرفه جویی خواهد داشت[۵،٦].

سلولز فراوانترین پلیمر کربوهیدرات روی کره زمین است و از واحدهای تکرار شونده β-٤،۱-گلوکوزیدیک تشکیل شده است[۷،۸،۹].سلولازها آنزیم هایی هستند که قادر به هیدرولیز این پیوندها در سلولز می باشند[۱۰،۱۱].

مواد لیگنوسلولزی مانند چوب و کاه منابع برگشت پذیری هستند که از آنها می توان به طور مستقیم یا غیر مستقیم، بیومولکولها، مواد شیمیایی و یا غذا و خوراکی تولید کرد[۱۲].تولید پروتئین میکربی یا بیوپروتئین ها از تخمیر ضایعات کشاورزی یکی از مهمترین دستاوردها جهت افزایش پروتئین مورد نیاز در جهان است[۱۳].

تخمین زده می شود که در جهان، سالانه دو میلیارد تن کاه از محصولات کشاورزی تولید می شود[۱٤].کاه گندم یک سوبستراست که به فراوانی در دسترس است و دفع آن از محیط زیست مشکلات محیطی ایجاد می کند.تبدیل زیستی کاه گندم از هر نظر مطلوب است چون مقدار لیگنین آن پایین است در حالیکه مقدار کربوهیدراتهای آن بالاست[۱۵].

مخدودیت اصلی استفاده از کاه به عنوان غذای جانوری قابلیت هضم کم و مقدار پایین پروتئین آن است[۱۶].همراه بودن سلولز با لیگنین مانع هضم کامل میکربی کاه در نشخوارکنندگان می شود[۱۷].سالهاست که روش های مختلف شیمیایی و بیوشیمیایی ارائه می شود تا قابلیت هضم و کیفیت تغذیه ای کاه افزایش یابد[۱۸].لیگنین که به طور کووالانسی با پلی ساکاریدهای سلولزی بیومس در لیگنوسلولز همراه است به شدت در برابر تجزیه با بسیاری از میکروارگانیسمها مقاوم است[۱۹].لیگنین پلی ساکاریدها را در برابر حمله آنزیم های هیدرولیتیک و دیگر فاکتورهای خارجی محافظت می کند و ساختار کمپلکس لیگنوسلولز را ثابت نگه می دارد[۲۰].

کاه را می توان با تیمار میکربی مورد استفاده مفید قرار داد[۲۱].از طرف دیگر ضایعات لیگنوسلولزی را می توان قبل از تیمار میکربی با عوامل شیمیایی یا بیوشیمیایی فرآوری کرد[۲۲،۲۳].در حال حاضر استفاده از مواد لیگنوسلولزی فرآوری شده با قلیا به عنوان سوبسترا جهت تولید پروتئین تک یاخته مورد توجه قرار گرفته است [۲۴].

ضایعات لیگنوسلولزی را می توان در تخمیر حالت جامد با قارچ های پوسیدگی سفید تیمار کرد.تخمیر حالت جامد نیاز به انرژی کمتر نسبت به تخمیر حالت غوطه ور دارد[۲۵].حجم فرمنتور مورد نیاز در تخمیر حالت جامد یک دهم حجم فرمنتور مورد نیاز در حالت غوطه ور است[۲۶].

به منظور تبدیل مواد لیگنوسلولزی به محصولات با ارزش غذایی بالا، لازم است که میکروارگانیسم یا مجموعه ای از میکروارگانیسمها انتخاب شود که قادر باشند پروتئین هایی با ارزش غذایی بالا تولید کنند[۱۵].تجزیه لیگنین کاه گندم با قارچ پوسیدگی سفید از جنس پلئوروتوس مورد مطالعه وسیع قرار گرفته است[۲۷،۲۸،۲۹].

در کشور ما محصولات جانبی، پسابها و فاضلاب کارخانجات که دارای مقادیر قابل توجهی مواد غذایی می باشند اکثرا مورد استفاده قرار نگرفته و باعث تخریب محیط زیست نیز می گردند در حالی که می توان از آنها در تولید پروتئین های تک یاخته بهره برد[۱].

اقدامات اولیه برای تولید این پروتئین در کشور ما به قبل از انقلاب شکوهمند اسلامی برمی گردد[۱].اولین طرح جهت تولید پروتئین میکربی از ضایعات لیگنوسلولزی در سال ۱۳۵۶ ارائه گردیده است.در این طرح هدف، شناخت میکروارگانیسم های تجزیه کننده مواد سلولزدار و سپس ارزیابی توانایی آنها در تجزیه مواد سلولزدار و بویژه تولید پروتئین سلولی است[۳۰] و در این زمینه کارهایی انجام شد[۳۱،۳۲].

در بعد از انقلاب نیز تولید پروتئین میکربی از ضایعات مختلف مانند پسمانهای فرآورده های کشاورزی[۳۳]، آب پنیر[۳۴]، ضایعات انگور[۳۵]، جلبک ها[۳۶]، متانل[۳۷]، تفاله مرکبات[۳۸]، سیب زمینی[۳۹]، باگاس نیشکر[۴۰] و...مورد بررسی قرار گرفته است.

در این تحقیق هدف شناسایی سویه های قوی در تولید آنزیم های سلولاز و انتخاب بهترین میکروارگانیسم جهت تجزیه کاه گندم تیمار شده با سود و حرارت می باشد.

فصل اول

کلیات

۱-۱ پروتئین سلولی و اهمیت آن

اصطلاح پروتئین سلولی به سلولهای خشک و مرده میکروارگانیسم هایی مانند مخمر ، باکتریها ، قارچها و جلبک هایی اطلاق می شود که روی منابع کربنی مختلف رشد می کنند[٤١].

برای اولین بار این نام توسط پروفسور کارول ویلسون در سال ١٩٦٦ به کار برده شد[٤١].امروزه نیاز برای منابع اضافی جهت تامین غذای جهانی گرسنه با جمعیتی رو به افزایش، به شدت احساس می شود[٤٢].کمبود جهانی غذا و پروتئین، تحقیقات را به سمت استفاده از منابع متداول و غیر متداول جهت تامین غذا هدایت کرده است[٤٣].

امروزه مرگ ناشی از گرسنگی ، سوء تغذیه و بیماریهای وابسته به آن در بسیاری از کشورها واقعیتی انکارنشدنی است. سازمان بهداشت جهانی[1] تخمین زده است که هر سال ١٢ میلیون نفر به علت گرسنگی و بیماریهای مربوط به آن می میرند و نیمی از آنها کودکان زیر پنج سال هستند[٤١].

اگر چه انسان طی قرن ها از میکروارگانیسم ها برای مصرف خوراکی و غذا استفاده می کرد اما تکنولوژی *SCP* برای تولید غذا طی صد سال پیشرفت کرد و تولید در مقیاس وسیع، در قرن بیستم، بعد از جنگ جهانی اول گسترش پیدا کرد. این در برلین با رشد *S. cerevisiae* آغاز شد. هم چنین مخمرهای *Candida arborea* و *C.utilis* سهم مهمی در تأمین غذا در آلمان، طی جنگ جهانی دوم داشتند[٤١].

در دهه ١٩٥٠ بعضی از کارخانجات نفتی علاقه مند به رشد میکروارگانیسم ها روی آلکانها شدند[٤١،٤٤]. میکرو ارگانیسم هایی که استفاده شد برای تولید خوراک و غذا توسعه پیدا کرد. بسیاری از کارخانجات تولید کننده *SCP* شامل *Kanegafuichi* (ژاپن) و *Liquichimica* (ایتالیا) در صحنه ظاهر شدند. دیگر سوبستراهای مناسب برای تولید *SCP* شامل باگاس، ضایعات مرکبات، لیکور ضایعات سولفیت، ملاس ها، کودهای حیوانی، آب پنیر، نشاسته، فاضلاب و ... می باشد[٤١].

۱-۲ میکروارگانیسم های تولید کننده *SCP*

طبق نظر پلسزار و همکاران در سال ١٩٩٦ چندین مزیت در استفاده از میکروارگانیسم ها برای تولید غذا از ضایعات وجود دارد: میکروارگانیسم ها سریع رشد می کنند و مقادیر زیادی پروتئین تولید می کنند. مقدار بالای پروتئین در سلولهای میکروبی حدود ٦٠٠ *g/kg* می باشد[٢]. از قارچها، باکتریها و جلبک ها که در مقیاس وسیع کشت داده می شوند، می توان به عنوان خوراکی استفاده کرد. این میکروارگانیسم ها مواد مغذی جالب

---

[1] *World Health Organisation*

توجهی هستند چون می توان آنها را روی ضایعات صنعتی کشت داد و مقادیر زیادی سلولهای غنی از پروتئین تولید کرد که معمولاً این سلولها حاوی آمینو اسیدهای ضروری ،مقادیر قابل توجهی ویتامین و عناصر معدنی ضروری نیز هستند[۲].

میکروارگانیسم های مورد استفاده در تولید *SCP* عبارتند از:

۱-۲-۱ باکتریها:

مهمترین ویژگی باکتریها توانایی تبدیل کربن سوبسترا به کربن سلولی است و این مسئله از نظر اقتصادی حائز اهمیت است.محصولاتی با راندمان بالا[جدول ۱-۲]، نیاز کمتر به اکسیژن در واحد سلول تولید شده، مقدار کمتر حرارت در واحد سلول تولید شده ، موجب کارایی بیشتر تبدیل مواد در باکتریها می گردد[٤٥].

دلایل عدم استفاده از باکتریها شامل:

۱- دارای تعداد محدودی گونه در تولید *SCP* هستند.

۲- اندازه کوچک آنها

۳- تولید مقادیر بالای اسیدهای نوکلئیک (۱٦۰-۸۰ گرم اسید نوکلئیک در کیلوگرم ماده خشک)[٤٦].

٤- بوی ناخوشایند بعضی از آنها

٥- عدم اطمینان از غیر بیماری زا بودن گونه های آن[٤٥].

باکتریها در محیط کشتی حاوی آب ، نمکهای معدنی و یک منبع نیتروژنی می توانند تکثیر یابند. اولین محصول این کشت پس از ۳ روز برداشت می شود که محتوی ۱۲ گرم محصول پروتئین تک سلولی زنده به ازاء هر لیتر از محیط کشت می باشد. این پروتئین شامل ٪۸۰-۷۰ اسیدهای آمینه متعادل است[٤٦].

۱-۲-۲ مخمرها

دارای اسیدهای آمینه گوگردی کم، مقادیر زیادی اسیدهای آمینه *Lys* ، *Trp* و *Tre* می باشند. منبع خوبی از ویتامین های گروه *B* و تا اندازه ای *E* و پرووِیتامین *D* هستند ولی تعداد کمی واجد ویتامین *A* می باشند . مقادیر کم اسید نوکلئیک (۱۲۰-۵۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک) ، سمیت کمتر از قارچ ها، اندازه بزرگتر، پذیرش بهتر توسط مصرف کنندگان مزایای آن نسبت به باکتریها می باشند[٤٥].

مخمر *Troulopsis utilis* از رشد زیادی برخوردار است. روی انواعی از مواد ، شامل عصاره های حاصل از پرس در صنایع کاغذ سازی و ضایعات میوه جات رشد می کند. اما معروفترین نوع مخمر که در تغذیه دام هم کاربرد دارد *Saccharomyces cerevisiae* یا مخمر آبجو می باشد که بیشتر با هدف تولید الکل در صنایع تخمیری مورد استفاده قرار می گیرد و استفاده از توده زنده مخمر به عنوان یک فرآورده فرعی مطرح می شود. از انواع دیگر مخمرها *Candida lipolytica* را می توان نام برد که بر روی بخش پارافینی نفت خام رشد می کند[٤٦].

۱-۲-۳ قارچها

تحقیقات بر روی *SCP* قارچها نشان می دهد که:

- میزان رشد قارچها معمولا آهسته تر از باکتریها و مخمرهاست.
- مقدار پروتئین آنها کم است.
- پروتئین های قارچی غالباً فاقد اسیدهای آمینه گوگردی بوده و یا درصد کمی از آنها را دارا هستند.
- مشکل هضم و تجزیه دیواره سلولی آنها باید مورد توجه جدی قرار بگیرد.
- از نقطه نظر غذایی و سم شناسی قارچها کاملا شناخته شده نیستند[٤٥].

مزایای قارچها عبارتند از:

- بیشتر قارچها قادر به تولید طیف گسترده ای از آنزیم های هیدرولیز کننده کربوهیدراتها هستند و بر روی ترکیبات خام پیچیده ای چون سلولز، همی سلولز، لیگنوسلولز، نشاسته و ... می توانند رشد کنند.
- قارچ ها به راحتی قابل جداسازی هستند[٤٥].

از این کپک های رشته ای در تهیه *SCP* استفاده می شود:

Agaricus spp.، Fusarium spp،Penicillium spp ،Trichosporon cutaneum ،Saccharomycopsis fibuligera.[٤٧]

۱-۲-٤ جلبک ها:

یکی از کاربردهای جلبک ها و سیانوباکتریها به دست آوردن پروتئین از آنهاست. عموماً از سیانوباکتریهایی نظیر *Spirulina* و از جلبک هایی مانند *Chlorella* و *Scendesmus* پروتئین تک یاخته تهیه شده است [٤٦،٤٧،٣٦].

برای رشد جلبک ها، نور خورشید، املاح و CO_2 مورد نیاز است. پودر جلبک به خاطر اعمال هزینه گزاف در تغذیه دام چندان مورد توجه قرار نگرفته است با این وجود ارزش غذایی آن قابل مقایسه با پودر گوشت و پودر استخوان می باشد[٤٦].

۱-۳ سوبستراهای مورد استفاده در تولید *SCP*

۱-۳-۱ آلکانها:

هیدروکربن های موجود در نفت خام به ٥ گروه n – آلکانها، ایزو آلکانها، آلکانها، سیکلو آلکانها و آروماتیک ها تقسیم می شوند. در بین این مواد n-آلکانهای مایع به عنوان منبع کربن و انرژی بیش از همه برای تولید *SCP* به کار برده شده است[٣٧].

آلکانها را می توان با کمک بسیاری از مخمرها و بعضی قارچها (مثلاً قارچهای دسته *Mucorales* و *Moniliales*) و بعضی باکتریها (به طور جزئی از طریق اکسیداسیون) تجزیه کرد. گونه های دیگری از مخمر به مقدار زیاد برای تولید *SCP* مورد مطالعه قرار گرفته اند که عبارتند از:

Saccharomycopsis lipolytica، Candida tropicalis،Candida oleophila

[٤٨].

۱-۳-۲ متان

متان ترکیب اصلی گاز طبیعی است که در بسیاری از نقاط جهان می توان از آن به عنوان یک منبع مطلوب انرژی برای تولید *SCP* استفاده کرد. البته هنگامی که از متان استفاده می شود باید معیارهای امنیتی قابل توجهی در نظر گرفته شود چون خطر انفجار وجود دارد[٤٨].

باکتریهای اکسید کننده متان در دسته متیلوتروفهای اجباری طبقه بندی می شوند. این گروه فقط می تواند در سوبستراهای یک کربنه از قبیل متان، متانول، متیل آمین و فرمالدهید یا فرمات رشد کند. از میان این باکتریها می توان *Methylomonas methanica* ، *Methylococcus capsulatus* ، *Methylovibrio soehngenii* ، *Methanomonas margaritae* و بعضی از ارگانیسم های طبقه بندی نشده را نام برد[٤٨].

۱-۳-۳ متانول:

زمانی مهمترین سوبسترا برای تولید *SCP* متانول بود و تحقیقات پر هزینه ای برای شناسایی ارگانیسم های استفاده کننده از متانول انجام شد. هر چند در حال حاضر با در نظر گرفتن فاکتورهای اقتصادی استفاده از متانول به عنوان ماده آغازین به صرفه نیست اما هنوز دارای امتیازات فراوانی به عنوان سوبسترا برای تولید *SCP* است. از باکتریها، مخمرها و قارچها می توان برای تولید *SCP* از متانول بهره برد. غیر از باکتریهای متیلوتروف اجباری که فقط روی سوبسترای یک کربنه رشد می کنند، باکتریهای متیلوتروف اختیاری، مخمرها و قارچهایی که هیدروکربن های بلند زنجیره را متابولیزه می کنند نیز در این لیست جای می گیرند[٤٨].

۱-۳-٤ اتانول:

اگر چه اتانول گران است اما به عنوان سوبسترا برای تولید *SCP* استفاده شده است . پروسه در ابتدا توسط کمپانی آموکو در ایالات متحده انجام گردید که از یک مخمر به نام تورولا استفاده می کرد. محصول با نام توروتین فروخته شد. این مخمر حدود ٥٢٪ پروتئین دارد و دارای متیونین کمی است[٤١].

۱-۳-٥ لیگنوسلولز

ضایعات لیگنوسلولزی به خصوص ضایعات کشاورزی، سوبسترای بسیار فراوانی را برای *SCP* فراهم می کند که قابل جایگزینی هم می باشند. در حال حاضر تنها مصرف اقتصادی ضایعات لیگنوسلولزی در تولید قارچ است. در کنار قارچ معروف *Agaricus bisporus* نمونه های مهم دیگری نیز وجود دارد که حاوی آنزیم های سلولولیتیک هستند و برای تولید غذا به خصوص در آفریقا و آسیا کشت داده می شوند. بعضی از

نمونه های خیلی به صرفه و اقتصادی که در مقیاس صنعتی کشت داده می شوند شامل گونه های *Volvariella sp*، *Lentinus edodes* و *Pleurotus sp.* می باشند[٤١].

۱-۳-٦ ضایعات

فاضلاب خانگی هنوز برای تولید *SCP* در مقیاس وسیع مناسب نیست اما ممکن است برای تولید متان در آینده مهمتر باشد. تا اندازه ای آب ضایعات صنعتی حاصل از پروسه سلولز، تولید قهوه، تولید نشاسته و پروسه غذا برای تولید *SCP* به کار می روند. مایع ضایعات سولفیت حاصل از تولید کاغذ و سلولز نیز سوبسترای مناسبی برای به دست آوردن *SCP* است[٤٨].تبدیل صنعتی مرکبات انواعی از ضایعات دور ریختنی را تولید می کند که مشکلات فراوانی را به وجود می آورد.تولید*SCP* از این ضایعات نیز مورد توجه قرار گرفته است[٤٩].

میکروارگانیسم های مناسب برای رشد روی ضایعات سولفیت *C.tropicalis* ،*Candida utilis* ،*Chaetomium cellulolyticum* و *Paecilomyces varioti* می باشند[٤٨].

۱-٤ مزایا و معایب *SCP*

الف- مزایا

یکی از بزرگترین امتیازات *SCP* در مقایسه با دیگر انواع پروتئین زمان کوتاه دو برابر شدن سلولهاست که در جدول [۱-۱] نشان داده شده است. در نتیجه کوتاه بودن زمان دو برابر شدن، سود حاصل از تولید پروتئین از این میکروارگانیسم ها بیشتر از تولید پروتئین به روشهای معمول است[٤١].در حالیکه بذر های کشاورزی را در یک سال یک بار می توان کشت داد، یک مخمر یا قارچ هر هفته قابل کشت است و یک محصول باکتریایی را روزانه می توان برداشت کرد[٥٠].

دیگر امتیازات *SCP* عبارتند از:

۱- مستقل از زمین و شرایط آب و هوایی است.

۲- به طور ژنتیکی قابل کنترل است.

۳- آلودگی کمتری تولید می کند[٤١].

٤- سمی نبودن و بالا بودن کیفیت و طعم و مزه آنها

٥- دارا بودن مواد دیگر غیر از پروتئین شامل کربوهیدرات ، چربی با کیفیت بالا، فیبر و مواد معدنی و بعضی از ویتامین ها[٥١].

٦- استفاده از ضایعات که سبب کم شدن آن و بهبود بهداشت محیط زیست می گردد[٥١].

ب- معایب:

پنج عامل هستند که در مصرف *SCP* ایجاد اشکال می کنند:

۱- دیواره سلولی غیر قابل هضم (به خصوص در جلبک ها)

۲- مقدار اسید نوکلئیک بالا

۳- رنگ غیر قابل قبول (در جلبک ها)

٤- طعم ، مزه و بوی نامطبوع (در بعضی از جلبک ها و مخمر ها)

٥- سلولها باید قبل از مصرف کشته شوند[٤١].

جدول۱-۱ زمان دو برابر شدن سلول ها[٤١]

Organism	*Mass Doubling Time*
Bacteria and yeast	۱۰-۱۲۰ *min*
Mold and algae	۱۰-۱۲۰ *min*
Grass and some plants	۱-۲ *wk*
Chickens	۲-۴ *wk*
Pigs	۴-۶ *wk*
Cattle	۱-۲ *mo*
people	۰/۲ - ۰/۵ *yr*

جدول۱-۲ مقایسه راندمان تولید پروتئین از چندین منبع در ٢٤ ساعت[٤١]

Organism[۱۰۰۰kg]	*Amount of protein*
Beefcattle	۱/۰ *kg*
Soybeans	۱۰/۰ *kg*
Yeast	۱۰۰/۰ *tn*
bacteria	۱۰۰x۱۰/۰۰۰. *tn*