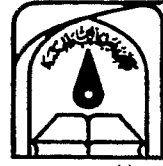


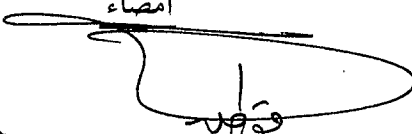




بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه تربیت مدرس

## تاییدیه هیات داوران

آقای ایوب آرپنائی پایان نامه ۹ واحدی خود را با عنوان غنی سازی پروتئین سبوس گندم توسط قارچ نئوروسپورا سیتوفیلا در کشت غوطه ور در تاریخ ۷۸/۳/۵ ارائه کردند. اعضای هیات داوران نسخه نهائی این پایان نامه را از نظر فرم و محتوی تایید و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد رشته مهندسی شیمی باگرایش بیوتکنولوژی پیشنهاد می کنند. ۳ ب ۲

| امضاء   | نام و نام خانوادگی        | اعضای هیات داوران |
|---|---------------------------|-------------------|
|   | آقای دکتر شجاع الساداتی   | ۱- استاد راهنما:  |
|   | آقای دکتر حق طلب          | ۲- استاد مشاور:   |
|  | آقای دکتر واشقانی فراهانی | ۳- استادان ممتحن: |
|  | آقای دکتر بنکدار پور      |                   |
|  | آقای دکتر پهلوانزاده      | ۴- مدیر گروه:     |

(یا نماینده گروه تخصصی)

این نسخه به عنوان نسخه نهایی پایان نامه / رساله مورد تأیید است.

امضای استاد راهنما:





شماره:.....

تاریخ:.....

پیوست:.....

## آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱ در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به مرکز نشر دانشگاه اطلاع دهد.

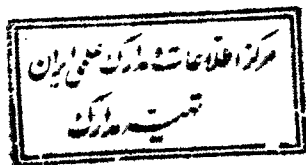
ماده ۲ در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:  
«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد / رساله دکتری نگارنده در رشته مهندسی مبرهنه‌نگاری است که در سال ۱۳۷۸ در دانشکده فنی مهندسی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم / جناب آقای دکتر شجاع‌الساداتی و مشاوره سرکار خانم / جناب آقای دکتر حق طلب از آن دفاع شده است.»

ماده ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه‌های نشریات دانشگاه تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به مرکز نشر دانشگاه اهدا کند دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵ دانشجوی تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶ اینجانب **ایوب آریانی** دانشجوی رشته مهندسی مبرهنه‌نگاری مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.



دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده فنی و مهندسی

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد مهندسی شیمی - بیوتکنولوژی

غنی سازی پروتئین سبوس گندم توسط قارچ  
نئوروسپورا سیتوفیلا در کشت غوطه‌ور

ایوب آرینائی

استاد راهنما

دکتر سید عباس شجاع‌الساداتی

۳۷۱۷,۲

استاد مشاور

دکتر علی حق‌طلب

بهار ۱۳۷۸

## تقدیم به

\* پدر و مادر فداکار و مهربانم زیرا آنچه که دارم

از وجود مبارک ایشان است

\* همسر پر مهر و وفایم بخاطر تمام همدلیها و

مهربانی هایش

\* محمد مهدی عزیز، گل زیبای زندگیم

## تشکر و قدردانی

الحمد لله رب العالمین بارع الخلائق اجمعین سیدنا و نبینا محمد (ص) و

آیه طاهرین

تمام موفقیت‌هایی که در طول زندگی نصیبم شده، پس از لطف خداوند  
مرهون زحمات عزیزانی بوده که تشکر و قدردانی از آنها مطمئناً با ذکر چند  
جمله بدرستی ادا نخواهد شد.

با تشکر و قدردانی فراوان از همه این عزیزان،

از استاد عزیز و ارجمندم جناب آقای دکتر شجاع الساداتی که در طول  
تحصیل در دوره کارشناسی ارشد از دانش ایشان بسیار استفاده کردم و افتخار  
داشتم تا با راهنمایی ایشان این پایان‌نامه را انجام دهم، تشکر و قدردانی می‌کنم.  
از زحمات آقای دکتر حق طلب که از مشاوره‌های بسیار خوب ایشان در طی این  
تحقیق استفاده‌های زیادی کردم، سپاسگزارم. از اساتید بزرگوار بخش مهندسی  
شیمی و اساتید مدعوی که در طی تحصیل در این دوره مطالب زیادی را به این  
حقیر و دیگر دانشجویان انتقال دادند، مراتب قدردانی و سپاس خود را اعلام  
می‌دارم. از آقای مهندس فاطمی دوست عزیز و مهربانم که نه تنها از جنبه علمی  
بلکه بسیاری از جنبه‌های اخلاقی، مطالب فراوانی از ایشان آموختم،  
سپاسگزارم. از دیگر عزیزان، همکلاسی‌های مهربان و مسئولین محترم دانشگاه  
به خصوص مسئولین آموزش و پژوهش دانشکده قدردانی کرده و برای همه این  
عزیزان آرزوی موفقیت می‌کنم.

در پایان از پدر و مادرم به خاطر زحمات زیادشان در طول تمام زندگیم و  
از همسرم که تکیه‌گاه و سنگ صبور زندگی مشترکمان بوده تشکر و قدردانی  
می‌کنم. هر چند می‌دانم با ذکر این جملات قدردانی از این عزیزان امکان‌پذیر  
نیست.

## چکیده

در این تحقیق محتوای پروتئین سبوس گندم با روش تبدیل زیستی<sup>(۱)</sup> بخش کربوهیدراتی و سلولزی و با استفاده از قارچ رشته ای نئوروسپورا سیتوفیلا<sup>(۲)</sup> و در شرایط کشت غوطه ور از ۱۵/۳٪ به ۳۸/۳٪ وزنی افزایش یافت. سبوس غنی شده می تواند به عنوان افزودنی به خوراک دام و طیور مورد استفاده قرار گیرد.

در این تحقیق اجزاء محیط کشت شامل: سبوس گندم، اوره، سولفات آمونیم، پتاسیم دی هیدروژن فسفات، عناصر کم مقدار؛ و پارامترهای محیطی شامل: pH، دما، دور همزن و اندازه ذرات بهینه شدند. برای بهینه سازی از روش تاگوچی<sup>(۳)</sup> طی دو مرحله استفاده شد. در مرحله اول اثر پارامترهای مهم و تعدادی از اثرات متقابل بررسی شد. در پایان این مرحله، پارامترهای میزان سبوس، اندازه ذرات سبوس، مقدار اوره و سولفات آمونیم برای بررسی در سطوح بیشتر در مرحله بعد انتخاب شدند.

در مرحله نهایی مقدار بهینه سبوس، ۲۰ گرم بر لیتر؛ اندازه ذرات سبوس، ۳۰؛ مقدار اوره، ۰/۸۶ گرم بر لیتر؛ و مقدار بهینه سولفات آمونیم، ۰/۷ گرم بر لیتر بدست آمد. در پایان با استفاده از برازش منحنی<sup>(۴)</sup> رابطه ای برای میزان محتوای پروتئین سبوس گندم بر حسب چهار متغیر ذکر شده بدست آمد.  $R sq.$  این رابطه برابر با ۰/۹۹۷۱۸ بوده و در مرحله تایید نیز تطابق بسیار خوبی با نتایج تجربی داشت. رابطه بدست آمده عبارتست از:

$$Y = 22.3341 - 7.1653 \ln x_A + \frac{11.2723}{x_B} + (118.5459) \exp\left(\frac{-0.0122}{x_C}\right) - 115.3093(0.9937)^{x_D}$$

**کلید واژه:** تبدیل زیستی، غنی سازی پروتئین، سبوس گندم، قارچ نئوروسپورا سیتوفیلا، کشت غوطه ور

## فهرست مطالب

صفحه

عنوان

### فصل اول: کلیات

- ۱-۱-۱- مقدمه ..... ۱
- ۲-۱-۱- کشت سویسترای جامد ..... ۲
- ۱-۲-۱- تعریف ..... ۲
- ۲-۲-۱- مقایسه کشت حالت جامد (SSC) و کشت  
سویسترای جامد معلق (SSSC) ..... ۳
- ۱-۲-۲-۱- مزایای SSSC نسبت به SSC ..... ۳
- ۲-۲-۲-۱- معایب SSSC نسبت به SSC ..... ۴
- ۳-۲-۱- مراحل یک فرآیند SSSC ..... ۵
- ۳-۱-۱- تولید توده سلولی میکروبی ..... ۷
- ۱-۳-۱- مراحل یک عملیات تولید توده سلولی میکروبی ..... ۱۰
- ۲-۳-۱- سویستراهای مورد استفاده در تولید توده سلولی  
میکروبی ..... ۱۰
- ۱-۲-۳-۱- ترکیبات لیگنوسلولزی ..... ۱۲
- ۱-۱-۲-۳-۱- ساختمان ..... ۱۳
- ۲-۱-۲-۳-۱- ترکیب شیمیایی ..... ۱۶
- ۳-۱-۲-۳-۱- تیمار اولیه و هیدرولیز ..... ۱۶
- ۴-۱-۲-۳-۱- کشتهای مورد استفاده ..... ۱۸

الف



## فهرست مطالب (ادامه)

| صفحه | عنوان   |
|------|---|
|      | ۱-۳-۲-۲-۲- سایر سویستراهای مورد استفاده در        |
| ۲۰   | تولید توده سلولی میکروبی                          |
| ۲۳   | ۱-۳-۳- میکرواورگانیسم مناسب                       |
| ۲۴   | ۱-۳-۳-۱- باکتریها                                 |
| ۲۴   | ۱-۳-۳-۲- مخمرها                                   |
| ۲۸   | ۱-۳-۳-۳- قارچها                                   |
| ۳۳   | ۱-۳-۳-۴- جلبکها                                   |
|      | ۱-۳-۳-۵- تقسیم بندی میکرواورگانیسمها              |
| ۳۴   | بر اساس نوع سویسترا                               |
|      | ۱-۳-۳-۶- تقسیم بندی میکرواورگانیسمها بر اساس      |
| ۳۷   | دمای بهینه رشد و نیاز به اکسیژن                   |
| ۴۱   | ۱-۴-۱- جنبه های مهندسی                            |
|      | ۱-۴-۱- تأثیر مورفولوژی میسلیومی بر رئولوژی کشتهای |
| ۴۲   | تخمیری رشته ای                                    |
|      | ۱-۴-۲- اثر شدت همزدن بر مورفولوژی قارچی تخمیر     |
| ۴۶   | غوطه ور   |
| ۴۹   | ۱-۴-۳- انتقال جرم                                 |
|      | ۱-۴-۳-۱- انتقال اکسیژن در توده های بهم فشرده      |
| ۵۰   | قارچی   |

## فهرست مطالب (ادامه)

| صفحه | عنوان   |
|------|---|
|      | ۴-۴-۱- طراحی بیوراكتور برای کشتهای حساس به              |
| ۵۲   | نیروی برشی .....  |
| ۵۵   | ۵-۱- طراحی آزمایشها .....                               |
| ۵۵   | ۱-۵-۱- روش یک فاکتور در یک زمان .....                   |
| ۵۶   | ۲-۵-۱- روش فاکتوریل کامل .....                          |
| ۵۷   | ۳-۵-۱- روش کسری از فاکتوریل کامل .....                  |
| ۵۸   | ۴-۵-۱- مقایسه روشهای طراحی آزمایشها .....               |
| ۶۰   | ۵-۵-۱- روش تاگوچی .....                                 |
| ۶۶   | ۶-۱- مروری بر مطالعات انجام شده پیرامون هدف تحقیق ..... |

### فصل دوم : مواد و روشها

|    |                                   |
|----|-----------------------------------|
| ۶۹ | ۱-۲- سبوس گندم .....              |
| ۷۳ | ۲-۲- میکرواورگانیزم .....         |
| ۷۵ | ۳-۲- مواد شیمیایی .....           |
| ۷۵ | ۴-۲- دستگاهها .....               |
| ۷۶ | ۵-۲- روشها .....                  |
| ۷۶ | ۲-۵-۱- محیط کشت تلقیح .....       |
| ۷۶ | ۲-۵-۲- تهیه کشت تلقیح و بذر ..... |

## فهرست مطالب (ادامه)

| صفحه | عنوان   |
|------|---|
| ۷۷   | ۲-۵-۳ - تهیه کشت تولید.....                           |
| ۷۹   | ۲-۵-۴ - آماده سازی توده سلولی تولید شده.....          |
| ۸۱   | ۲-۵-۵ - اندازه گیری نیتروژن کل به روش میکروکلدال..... |
| ۸۳   | ۲-۵-۶ - تعیین میزان سلولز.....                        |
| ۸۵   | ۲-۵-۷ - تعیین میزان کربوهیدرات کل.....                |
| ۸۶   | ۲-۶ - طراحی آزمایشها.....                             |

### فصل سوم : نتایج و بحث

|     |  |
|-----|--|
| ۸۸  | ۳-۱ - غربال کردن.....                                      |
| ۹۱  | ۳-۱-۱ - بررسی اثرات عمده فاکتورها در مرحله غربال کردن..... |
| ۹۳  | ۳-۱-۲ - بررسی اثرات متقابل در مرحله غربال کردن.....        |
| ۹۶  | ۳-۱-۳ - بررسی ANOVA در مرحله غربال کردن.....               |
| ۹۸  | ۳-۱-۴ - تعیین شرایط بهینه در مرحله غربال کردن.....         |
| ۱۰۰ | ۳-۲ - مرحله نهایی، بهینه سازی فاکتورها.....                |
| ۱۰۲ | ۳-۲-۱ - بررسی اثرات عمده فاکتورها در مرحله نهایی.....      |
| ۱۰۵ | ۳-۲-۲ - بررسی ANOVA در مرحله نهایی.....                    |
| ۱۰۶ | ۳-۲-۳ - تعیین شرایط بهینه در مرحله نهایی.....              |
| ۱۰۷ | ۳-۳ - سینتیک رشد در شرایط بهینه.....                       |

## فهرست مطالب (ادامه)

۵۹

| صفحه | عنوان                                       |
|------|---|
| ۱۱۰  | ۳-۴- محاسبه بازدهی، بهره‌دهی و شدت رشد ویژه |
| ۱۱۱  | ۳-۵- مقایسه دو سیستم SSC و SSSC             |
| ۱۱۳  | ۳-۶- برازش منحنی                            |
| ۱۱۶  | ۳-۶-۱- رابطه کلی همبستگی                    |
| ۱۱۷  | ۳-۶-۲- ارزیابی رابطه همبستگی                |
| ۱۱۹  | نتیجه گیری                                  |
| ۱۲۰  | پیشنهادها                                   |
| ۱۲۱  | فهرست منابع و مراجع                         |

# فصل اول

## کلیات

در جهان مقادیر قابل توجهی از مواد بعنوان ضایعات کشاورزی و محصولات جانبی کارخانه‌های تولید آرد از غلات و ... تولید می‌شود. این مواد عموماً شامل سلولز، همی سلولز و لیگنین هستند. به همین دلیل آنها را مواد لیگنوسلولزی می‌نامند. به دلیل وجود کربوهیدرات در ساختمان این مواد، بعنوان منابع تجدیدپذیر با ارزش مورد توجه قرار گرفته‌اند. با تبدیل بیولوژیکی<sup>۱</sup> می‌توان این مواد را به خوراک دام تبدیل کرد [۱]، و یا به عنوان سوسترای اصلی در تولید آنزیم‌های سلولولیتیک<sup>۲</sup> و یا اتانل بکار برد [۲ و ۳]. هر چند از این مواد گاهی به عنوان خوراک دام یا طیور استفاده می‌شود ولی به دلیل قابلیت هضم پائین، ارزش غذایی کم و طعم نه چندان مطلوب، خوراک مناسبی محسوب نمی‌شوند [۴].

با توجه به حجم بالای تولید این مواد در کشور و نامناسب بودن آنها برای مصرف بطور مستقیم بعنوان خوراک دام و طیور از یک طرف و از طرف دیگر نیاز شدید به وارد کردن مقادیر قابل توجهی افزودنی‌های پروتئینی مانند کنجاله سویا و پودر ماهی، تحقیق در زمینه تولید پروتئین افزودنی با خصوصیات مطلوب، لازم و ضروری به نظر می‌رسد.

در این تحقیق سبوس گندم بدلیل فراوانی و محتوای شیمیایی مناسب جهت غنی سازی پروتئین آن مورد استفاده قرار گرفت.

در طی این تحقیق در مقیاس آزمایشگاهی، اثر پارامترهای مهم محیطی و مقادیر بهینه اجزاء محیط کشت مورد مطالعه قرار گرفت. میکرواورگانیسم مورد استفاده در این تحقیق قارچ رشته‌ای *Neurospora sitophila*<sup>۳</sup> است.

## ۱-۲- کشت سوبسترای جامد<sup>۱</sup>

### ۱-۲-۱- تعریف

تعریف دقیق تخمیر سوبسترای جامد مشکل است. خصوصیت بارز این تخمیر رشد میکرواورگانیسم‌ها بر روی سوبسترای نامحلول در آب در حضور مقادیر متفاوتی از آب آزاد است. در این مورد مویانگ<sup>۲</sup> و همکارانش اصطلاح تخمیر حالت جامد<sup>۳</sup> را برای همه فرآیندهایی در نظر گرفتند که در آنها از سوبسترای نامحلول در آب برای رشد میکروب در غیاب آب آزاد استفاده می‌شود. با افزایش میزان آب، تخمیر حالت جامد به تخمیر دوغابی<sup>۴</sup> تبدیل می‌شود. در این حالت آب آزاد وجود دارد. با افزایش مجدد میزان آب، ذرات جامد سوبسترا در محیط کشت بصورت معلق در آمده، که در این حالت تخمیر سوبسترای جامد معلق<sup>۵</sup> نامیده می‌شود. باید توجه داشت که برای هر سوبسترای مشخصی اگر میزان رطوبت از حد معینی تجاوز کند، آب آزاد ظاهر می‌شود. بطور مثال آب آزاد برای پوست درخت افرا اگر محتوی ۴۰٪ رطوبت باشد، قابل مشاهده است، ولی در مورد کاه گندم با ۷۵٪ رطوبت، آب آزاد ظاهر می‌شود. به دلیل عدم امکان یک مرز بندی دقیق گاهی تخمیر حالت جامد به تخمیر دارای آب آزاد نیز اطلاق شده است [۵].

با توجه به مبهم بودن مفهوم اصطلاح تخمیر، در این مورد بهتر است، از

اصطلاح کشت<sup>۶</sup> به جای تخمیر استفاده شود [۵].

بنابراین می‌توان کشتهای سوبسترای جامد را به سه دسته کلی تقسیم کرد:

### ۱- کشت حالت جامد (SSC)<sup>۷</sup>؛

1-Solid substrate cultivation  
4-Slurry fermentation  
6-Culture

2-Moo-Young  
5-Suspended solid substrate fermentation  
7-Solid state culture

3-Solid state fermentation