مقایسه اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری در پروتئین میکروبی حاصل از کشت پلوروتوس فلوریدا بر روی ضایعات لیگنوسلولزی

ژاله خنیفر [۱] علیرضا احمدی [۲] هدایت‌الله قورچیان [۳] رضا حاجی حسینی [۴] محمدحسن شیخها [۵] بی‌بی‌فاطمه حقیرالسادات [۶]

[۱] کارشناس ارشد گروه بیوشیمی، [۴] دانشیار گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور تهران [۲] استادیار گروه بایومدیکال، دانشگاه الزهرا [۳] دانشیار گروه بیوفیزیک، [۶] دانشجوی دکترای نانوبیوتکنولوژی، دانشگاه تهران [۵] دانشیار گروه ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی شهیدصدوقی یزد

مجله پزشکی هرمزگان سال هفدهم شماره دوم خرداد و تیر ۹۲ صفحات ۱۲۰-۱۱۳

چکیده

مقدمه: *کاه و کلش کشاورزی حاوی سلولز و همی سلولز ولیگنین می‌باشند که فراوانترین بیوپلیمرهای زیستی قابل تجدید محسوب می‌شوند. استفاده از قارچ های پوسیدگی سفید یکی از راههای موثر در تبدیل این ضایعات به پروتئین میکروبی است در این پژوهش میزان پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری و غیر ضروری پروتئین میکروبی بدست آمده از کشت پلوروتوس فلوریدا بر روی کاه گندم بررسی شده است.*

روش کار: *در این مطالعه تجربی، کاه گندم توسط حرارت ۱۰۰ درجه سانتی گراد و هیدروکسید سدیم ۲٪ تیمارفیزیکی و شیمیایی شد. سپس توسط قارچ پلوروتوس فلوریدا در شرایط کشت تخمیر حالت جامد تیمار بیولوژیکی گشت. بعد از یک ماه پروتئین آن استخراج و به روش برادفورد مورد سنجش قرار گرفت. قسمتی از پروتئین استخراج شده از محصول با HCl ٦ نرمال و قسمتی برای اندازه‌گیری تریپتوفان با هیدروکسید باریم ٤ نرمال به طور جداگانه در حرارت ۱۱۰ درجه سانتیگراد به مدت ٤٨ ساعت هیدرولیز اسیدی و قلیایی گشت. سپس توسط دستگاه آنالایزرآمینو نوا اسیدهای آمینه ضروری و غیر ضروری آن از نظر کیفی و کمی مورد بررسی قرار گرفت.*

نتایج: *میزان پروتئین حاصل از تحقیق پس از ٤ بار تکرار به طور میانگین ٦/٢٨ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک پروتئین میکروبی محاسبه شد. میزان اسیدهای آمینه غیر ضروری و ضرری بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم از پروتئین استخراج شده عبارتند از: اسید اسپارتیک = ٥/٢٢، سرین = ٣/٦، اسیدگلوتامیک = ٦/٢٨، پرولین = ٣/٢، گلیسین = ٤/٢١، آلانین = ٦/٢٣، سیستئین = ١/١٨، تیروزین = ٢/٦١، ترئونین = ٠/٦، والین = ٦/٦، متیونین = ٢/١، ایزولوسین = ١/٣، لوسین =٦/٨، فنیل آلانین =٤/٣، هیستیدین =١٩/٨، لیزین =٩/٥، آرژنین =٨/٣ میزان اسیدهای آمینه ضروری نسبت به اسیدهای آمینه غیر ضروری ٦٥/٦٧٪ بدست آمد.*

نتیجه‌گیری: *در پروتئین میکروبی حاصله مقادیر قابل توجهی از اسیدهای آمینه: تریپتوفان، لیزین، هیستیدین، لوسین، ایزولوسین، آلانین و آرژنین وجود دارد. به دلیل بکارگیری از روشهای برتر زیست فناوری پروتئین میکروبی حاصل از این تحقیق را می‌توان به عنوان یک جایگزین ارزشمند و مطلوب در جیره غذایی دام و طیور در نظر گرفت.*

کلیدواژه‌ها: *اسیدهای آمینه - پلوروتوس فلوریدا -لیگنوسلولز - تخمیر*

نویسنده مسئول:
ژاله خنیفر
گروه بیوشیمی دانشگاه پیام نور
تهران- ایران
تلفن: ۲۲۸۲٤۰۳۲ ۲۱ ۹۸+
پست الکترونیکی:
Jal.khanifar@yahoo.com

دریافت مقاله: ۹۰/۵/۱ اصلاح نهایی: ۹۰/۱۰/۵ پذیرش مقاله: ۹۰/۱۱/۱۰

مقدمه:

به توده خشک و مرده میکروارگانیسم‌هایی نظیر مخمر، باکتری، جلبک و قارچ که بر روی منابع کربنی متفاوت رشد و تکثیر یابند، پروتئین میکروبی می‌گویند (۱). بیشتر این مواد توسط سوزاندن از بین می‌روند که آلودگی محیط زیست را به دنبال دارد و فقط قسمت محدودی از آن به عنوان خوراک حیوانات در نظر گرفته می‌شود که دارای انرژی کم، پروتئین کم و قابلیت هضم پایین می‌باشند (۲).

با توجه به افزایش ضایعات کشاورزی و لیگنوسلولزی، محققان در پی راهکارهایی جدید برای ارتقاء کیفیت غذایی این ضایعات می‌باشند (۳). کاه غلات از بیشترین ضایعات لیگنوسلولزی قابل تجدید هستند که می‌توان به وسیله تیمار میکروبی از آنها استفاده بهتری کرد و بیشتر این ضایعات حاوی مقادیر ناچیز از پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری و لازم برای جانوران هستند (٤).

پروتئین میکروبی یا پروتئین تک یاخته از سلولهای خشک و مرده حاصل از رشد میکروارگانیسم‌ها بر روی سوبستراهای آلی مناسب حاصل می‌شود که منبع پروتئین مناسبی برای جانوران محسوب می‌شود (۱).

این فرآیند میکروبی با بالا بردن میزان پروتئین، افزایش قابلیت هضم و افزایش میزان اسیدهای آمینه ضروری در ضایعات کشاورزی همراه است (٥).

قارچ‌های پوسیدگی سفید قابلیت لیگنین‌زدایی بالایی در کاه کلش غلات دارند و کارهای قابل توجهی بر روی این قارچ‌ها صورت گرفته است. قارچ‌های پلوروتوس که به عنوان قارچ‌های صدفی شناخته شده‌اند، دارای میزان بالایی از آنزیم‌های لیگنینولیتیک می‌باشند که توانایی تخریب لیگنین و باز کردن حلقه‌های فنلی‌اش را دارند (٦). این قارچ‌ها در شرایط تخمیر حالت جامد قادرند میزان بیشتری از این آنزیم‌های اکسیداتیو و برون سلولی را تولید کنند (۷). در نتیجه به علت ایجاد سوبسترای مناسب می‌توانند پروتئین بیشتری تولید کنند. استفاده توأم از تیمارهای فیزیکی شیمیایی و بیولوژیکی برای بهبود کیفیت ضایعات کشاورزی می‌تواند از دغدغه‌های آلودگی محیط زیست نیز بکاهد (۸).

در این تحقیق ما از قارچ پلوروتوس فلوریدا بر روی کاه گندم تولید پروتئین میکروبی کرده و سپس میزان پروتئین و اسیدهای آمینه آن را سنجش و مقایسه کردیم.

روش کار:

تهیه سوسپانسیون اسپور: ابتدا اسپور پلوروتوس فلوریدا از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی خریداری شد و روی محیط کشت PDA در شرایط استریل کشت داده شد، پس از ۷ الی ۹ روز اسپورها توسط آب مقطر شسته و جمع‌آوری گردید.

برای تهیه مایه تلقیح ابتدا گندم‌ها جوشانیده و صاف گردید و کربنات کلسیم و سولفات کلسیم به ترتیب جهت تنظیم PH و جلوگیری از به هم چسبیدن دانه‌ها اضافه گشت و پس از اتوکلا و اسپورها به گندم‌های تیمار شده اضافه شد و به مدت ۳ هفته در ظروف استریل در محیط تاریک در دمای اتاق نگهداری گردید.

تهیه سوبسترا: کاه گندم به قطعات ۲ تا ۳ سانتی‌متری خرد شد و سپس توسط محلول سدیم هیدروکساید ٪۲ در حرارت ۱۰۰ درجه سانتیگراد اتوکلاو گردید و بعد از شستشو با آب مقطر در ۸۰ درجه سانتیگراد خشک شد سپس کاه تیمار شده با محیط کشت مندل با غلظت اوره ۳/۰ گرم در لیتر رطوبت‌دهی شد. پس از اتوکلاو در ۱۰۰ درجه سانتیگراد به میزان ٪٥ وزن سوسبترا مایه تلقیح در زیر دستگاه لامینوایرفلور به کاه اضافه گردید و بعد از ٤ هفته نگه‌داری در حرارت اتاق و محیط تاریک پروتئین میکروبی تولید شد. سپس در حرارت ٦۰ درجه سانتیگراد به مدت ٢٤ ساعت خشک و پودر نرمی از آن تهیه شد (۹).

استخراج پروتئین: بافری از محلول تریس با PH =۸ و گلیسرول، سدیم دو دسیل سولفات، ۲- مرکاپتواتانول و آب مقطر تهیه کرده و به میزان ٥/۰ گرم از پروتئین میکروبی را درون بافر به مدت ۷-۱۰ دقیقه جوشاندیم و بعد از خنک شدن در سانتریفور یخچال‌دار در دور g ۱٤۰۰۰ قرار داده و محلول رویی را برداشته و بعد از صاف کردن در استن سرد ۲۰- درجه سانتیگراد رسوب دادیم. سپس رسوب حاصله را مجدداً در محلول تریس حل نمودیم و به روش برادفورد میزان پروتئین آن را سنجش کردیم (۱۰). در این روش از سرم آلبومین گاوی (۱ میلی‌گرم بر میلی لیتر) برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد.

آنالیز اسیدهای آمینه پروتئین میکروبی: مقداری از رسوب خشک توسط HCl ٦ نرمال و ۲- مرکاپتواتانول و فنل و مقداری توسط هیدروکسید ٤ نرمال در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد به مدت ٤۸ ساعت هیدرولیز اسیدی و قلیایی شد. سپس اسیدهای آمینه آن توسط دستگاه Amino Nova – 200 آنالایرز مشتق سازی و جداسازی گردید. در این دستگاه از آمینو کنترل ۳۲ بایت به عنوان نرم‌افزار کنترلی و از آمینو پیک به عنوان نرم‌افزار کروماتوگرافی استفاده شد. پس از سه بار تکرار آنالیز و مقایسه

کروماتوگرام های پروتئین میکروبی با استاندار نوع و تعداد اسیدهای آمینه آنها مشخص گردید.

نتایج:

بعد از تیمار کاه گندم با حرارت ۱۰۰ درجه سانتیگراد و سود ۲٪ پروتئین میکروبی توسط قارچ پلوروتوس فلوریدا در شرایط کشت تخمیر حالت جامد حاصل شد و میزان پروتئین آن پس از ۳ بار تکرار ٦/٦٢ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک پروتئین میکروبی محاسبه گردید (شکل شماره ۱).

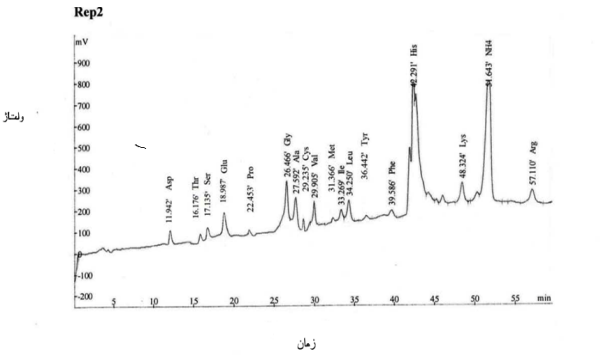
جدول شماره ۱- میزان اسیدهای آمینه در ۱۰۰ گرم پروتئین استخراج شده از پروتئین میکروبی این تحقیق

اسیدهای آمینه (* اسیدهای آمینه ضروری)	میانگین
Asp (D)	٥/٢٢
Thr (T)*	٠/٦٤
Ser (S)	٣/٦٠
Glu (E)	٦/٣٨
Pro (P)	٣/٢٠
Gly (G)	٤/٢١
Ala (A)	٦/٢٣
Cys (C)	١/١٨
Val (V)*	٦/٦٨
Met (M)*	٢/١١
Ile (I)*	٧/٣٢
Leu (L)*	٦/٨٢
Tyr (Y)*	٢/٦١
Phe (F)*	٤/٣٧
His (H)*	١٩/٨٨
Lys (K)*	٩/٥٥
Arg (R)*	٨/٣٠

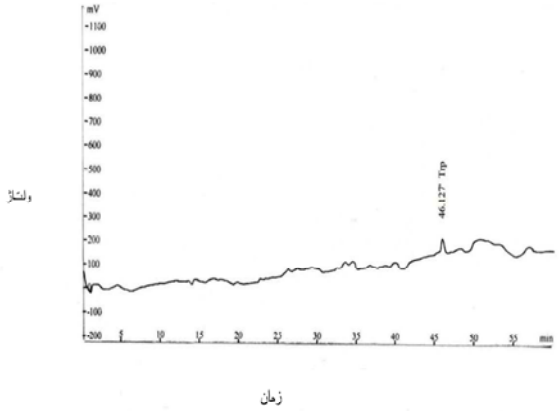
پس از آنالیز پروتئین استخراج شده حاصل از هیدرولیز اسیدی میزان اسیدهای آمینه آن در ۱۰۰ گرم پروتئین محاسبه و میانگین آنها پس از ۳ بار تکرار گزارش گردید. میزان اسیدهای آمینه ضروری نسبت به اسیدهای آمینه غیرضروری ٦٧/٦٥٪ بدست آمده که با توجه به اهمیت اسیدهای آمینه ضروری این مقدار بسیار ارزشمند است (جدول شماره ۱). چون در هیدرولیز اسیدی اسید آمینه تریپتوفان تخریب می‌شود بنابراین در هیدرولیز قلیایی می‌توان آن شناسایی و تعیین مقدار کرد. در این نمونه میزان تریپتوفان ٩٦/٠ گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین استخراج شده محاسبه گردید. پیک منحنی تریپتوفان در پروتئین میکروبی در برابر پیک منحنی استاندارد از اسید آمینه تریپتوفان با غلظت مشخص سنجیده شد. نتیجه حاصل پس از سه بار تکرار، گزارش شده است (شکل شماره ۲).

جدول شماره ۲- مقایسه اسیدهای آمینه در ۱۰۰ گرم از پروتئین میکروبی با تخم‌مرغ، پلوروتوس و آگاریکوس

اسیدهای آمینه	پروتئین میکروبی	آگاریکوس بیسپوروس (۱۸)	پلوروتوس استرایتوس (۱۷)	تخم مرغ (۱۶)
Asp D)	٥/٢	٢/٢	٥	٩/٢
Thr (T)	٠/٦	٢/٦	–	٤
Ser (S)	٣/٦	١/٤	٣/٦	٨/٥
Glu (E)	٦/٣	٢/٨	١٧	١١/٢
Pro (P)	٣/٢	١/٩	٢/٨	٢/٩
Gly (G)	٤/٢	١/٦	٣/٨	٣/١
Ala (A)	٦/٢	١/٣	٣/٣	٥/٢
Cys (C)	١/١	١/٨	–	٢/٢
Val (V)	٦/٦	٣/٣	٣/٤	٦/٣
Met M)	٢/١	١	–	٣/١
Ile (I)	٧/٣	٢	٣/٦	٤/٨
Leu (L)	٦/٨	٠/٧	٤/٧	٧/٦
Tyr (Y)	٢/٦	١/٢	–	٣/٣
Phe (F)	٤/٣	١/٦	٢/٥	٥/٤
His (H)	١٩/٨	٣/٣	٤/٢	٢/٢
Lys (K)	٩/٥	٣/٢	٦/١	٦/٤
Arg R)	٨/٣	٢/٦	–	٥



شکل شماره ۱- کروماتوگرام اسیدهای آمینه پروتئین میکروبی



شکل شماره ۲- کروماتوگرام اسید آمینه تریپتوفان در پروتئین میکروبی حاصل از تحقیق

جدول شماره ۳- مقایسه اسیدهای آمینه در ۱۰۰ گرم پروتئین استخراج شده حاصل از پروتئین‌های میکروبی

اسیدهای آمینه	پروتئین میکروبی	آگاریکوس بیسپوروس(۱۸)	پلوروتوس استرایتوس(۱۷)	تخم مرغ (۱۶)
Asp D)	٥/٢	١٢/٥	٩/١	٨/٣
Thr (T)	٠/٦	٥/١	٤/٤	٧/٤
Ser (S)	٣/٦	٥/٢	٣/٤	٤/١
Glu (E)	٦/٣	١١/٣	١٧	١٨/٤
Pro (P)	٣/٢	٥/١	٤/٤	٧/٥
Gly (G)	٤/٢	٥/٧	٥/١	٤/١
Ala (A)	٦/٢	٦/٣	٨/٩	٨/١
Cys (C)	١/١	٤/١	٠/٤	٠/٤
Val (V)	٦/٦	٦/٧	٧	٦/٧
Met M)	٢/١	١/٩	٢/٧	١/٦
Ile (I)	٧/٣	٥/٥	٥/٤	٤/١
Leu (L)	٦/٨	٨/٤	٧/٦	٨/٦
Tyr (Y)	٢/٦	٣/٧	٣	٢/٤
Phe (F)	٤/٣	٥/٧	٤/١	٣/٦
His (H)	١٩/٨	٢/٥	٢/٥	٢/٩
Lys (K)	٩/٥	٦/٧	٩/٩	٨
Arg R)	٨/٣	٥/٥	٤/٨	٦/١

بحث و نتیجه‌گیری:

امروزه کاربرد و تأثیر پروتیئن و اسیدهای آمینه آن در تغذیه انسانها، دام و طیور بیش از پیش مورد مطالعه پژوهشگران است که در اکثر اعمال حیاتی ضروری بدن نقش‌آفرینی می‌کنند. در این تحقیق سعی بر آن داشتیم تا با ایجاد شرایط بهینه به بیشترین میزان پروتئین میکروبی دست یابیم. بالا بودن میزان پروتئین بر روی رشد اندامها و ترمیم بافتها و عملکرد صحیح سیستم ایمنی به خصوص در اوایل رشد جانوران تأثیر بسزایی دارد.

مویانگ و همکاران او توانستند از رشد جائوتومیوم سلولولیتیکوم بر روی کاه گندم در شرایط هیدروکسید سدیم ١٪ و حرارت ١٢١ درجه سانتیگراد به عنوان تیمار فیزیکی و شیمیایی به ٥٦٪ وزن خشک پروتئین برسند (١١).

وانگ و همکاران او از کشت تخمیر حالت جامد قارچ پلوروتوس استرایتوس بر روی تفاله‌های جو حاصل از کارخانجات آبجوسازی همراه با سبوس گندم توانستند به ٥٣٪ پروتئین دست یابند. وانگ در این تحقیق به جای سبوس گندم از سبوس برنج و ذرت استفاده کرد و به ترتیب ٥/٤١٪ و ١/٤٤٪ پروتئین تولید کرد (١٢). با توجه به تحقیقات انجام شده در این زمینه، میزان پروتئین تولید شده در این پژوهش از جایگاه مناسبی برخوردار است که می‌تواند در تغذیه سالم و ارزان و پرکیفیت دام و طیور نقش مهمی را ایفا کند. در این تحقیق نقش آماده سازی کاه غلات برای تولید بیشتر آنزیم‌های لیگنینولیتیکی بی‌تأثیر نبوده است (١٣). حرارات سبب آزاد شدن ترکیبات فنلی موجود در کاه می‌شود و هیدروکسید سدیم سبب متورم و هیدرولیز شدن کربوهیدرات‌های موجود در دیواره سلولی کاه گندم به خصوص لیگنین شده، بنابراین قارچها قندهای قابل حل بیشتری برای رشد خود در اختیار خواهند داشت (١٤). در این پژوهش غلظت پایین اوره در محیط کشت مندل شرایط اسیدی مناسب جهت رشد قارچ پلوروتوس فلوریدا را فراهم کرد. با افزایش اوره میزان اسیدیته محیط کشت افزایش می‌یابد که خود باعث کندی رشد میکروارگانیسم‌ها خواهد شد (١٥). از مقایسه اسیدهای آمینه ضروری و غیر ضروری این محصول به میزان قابل توجهی از اسیدهای آمینه ضروری پی می‌بریم که بر مرغوبیت آن صحه می‌گذارد.

اسیدهای آمینه موجود در پروتئین میکروبی حاصل از این تحقیق با اسیدهای آمینه تخم مرغ به عنوان یک ماده غذایی با پروتیئن ایده آل و اسید های آمینه قارچ صدفی خوراکی پلوروتوس استرایتوس و قارچ دکمه‌ای آگاریکوس مقایسه شده است (جدول شماره ٢).

جدول شماره ۴- مقایسه مقادیر تریپتوفان در ۱۰۰ گرم از پروتئین میکروبی این تحقیق با پروتئین‌های دیگر

اسید آمینه	میسیلیوم در سلولیتیکوم (۲۴)	قارچ پلوروتوس (۲۲)	گندم (۲۳)	تخم مرغ (۲۲)	پروتئین میکروبی تحقیق
تریپتوفان	۱/۵۱	۰/۹۰	۱/۳٤	۲/۱۲	۰/۹۲

از این مقایسه بر می‌آید که مصرف این ماده غذایی برای خوراک دام و طیور به عنوان یک منبع غنی از پروتئین که حاوی مقادیر کافی از اسیدهای آمینه مورد نیاز بدن می‌باشد، بسیار مناسب است. همچنین مقادیر موجود در پروتئین تک یاخته حاصل از این تحقیق در نسبت به اسیدهای آمینه موجود در پروتئین‌های میکروبی حاصل از پژوهش محققان دیگر نیز مقایسه شده است و نشانگر جایگاه مناسب محصول پروتئین میکروبی ما می‌باشد (جدول شماره ۳). از لحاظ اهمیت اسیدهای آمینه می‌توان به میزان قابل توجه از لیزین در این محصول اشاره کرد که ۵۵/۹ گرم در ۱۰۰ گرم از پروتئین استخراج شده بدست آمد. افزایش غلظت لیزین در جیره غذایی باعث بهبود هماگلوتیناسیون و افزایش ایمنوگلوبولین‌های G و M می‌شود (۲۰). هیستیدین از اسیدهای آمینه ضروری در این محصول به مقدار ۸/۱۹ گرم درصد بالاترین مقدار را در بین اسیدهای آمینه دیگر دارا می‌باشد. این اسید آمینه نقش اساسی در ساخت غلات میلین سلولهای عصبی به خصوص در اوایل رشد دارد و از نظر متابولیکی در بدن پیش ساز هیستامین و کارنوزین می‌باشد. هیستیدین در ساخت گلبولهای سفید و قرمز و آزاد سازی فلزات سنگین در بدن نقش مهمی دارد (۲۱).

تریپتوفان معمولاً در تمام مواد غذایی پروتئینی وجود دارد اما نسبت به سایر آمینواسیدهای ضروری مقدار کمتری دارد. در جدول شماره۵، میزان تریپتوفان در پروتئین میکروبی حاصل از این تحقیق با میزان آن در تخم مرغ و قارچ‌های خوراکی صدفی و دکمه‌ای مقایسه شده است که نشان دهنده این است که تریپتوفان به میزان مناسبی در این پروتئین میکروبی وجود دارد (جدول شماره ٤).

استفاده از غذاهایی با کمبود تریپتوفان علائمی شبیه کمبود پروتئین،کاهش وزن بدن و تأخیر در رشد را به دنبال دارد و آزمایشات نشان داده است که این افراد میزان سروتونین پایینی داشته‌اند (۲۵). تریپتوفان به عنوان پیش ساز سروتونین عمل می‌کند. سروتونین خود یک نورو ترانسمیتر است که در تنظیم خواب و خلق و خوی افراد نقش مهمی دارد و به این دلیل است که از تریپتوفان برای درمان افسردگی و بیماریهای روحی استفاده می‌کنند (٢٦).

محققان دریافته‌اند که استفاده کافی از لیزین و تریپتوفان در غذای روزانه موجب ثبات در میزان کلسترول و تری گلیسیرید پلاسمای خون می‌شود (۲۷). هارمز و راسل متوجه شدند که افزایش تریپتوفان در جیره غذایی پرندگان باعث افزایش وزن تخم‌های آنها می‌شود (۲۸). محققان دیگر نشان دادند که افزایش تریپتوفان در جیره غذایی باعث افزایش وزن و افزایش اشتها می‌شود (۲۹). هان و همکارانش نیز میزان هیستیدین و تریپتوفان در جیره غذایی را بررسی کردند، دیدند که با افزایش هر دو اسید آمینه در جوجه‌های گوشتی افزایش وزن و اشتها مشاهده شد (۳۰). دو اسید آمینه تیروزین و فنیل آنالین برای جذب با تریپتوفان رقابت می‌کنند بنابراین تریپتوفان باید در جیره غذایی به اندازه کافی وجود داشته باشد (۳۱).

از اسیدهای آمینه دیگر به میزان بالای آلانین می‌توان اشاره کرد ۲۳/٦ گرم در ۱۰۰ گرم پروتیئن استخراج شده می‌باشد. آلانین منبع مهمی برای تأمین انرژی ماهیچه‌ها است. علاوه بر نقش آن در متابولیسم قندها و تولید آنتی بادی‌ها در سیستم ایمنی، اهمیت به سزایی در بافت همبند نیز دارد. کاهش آلانین باعث کاهش قندخون و تحلیل ماهیچه‌ها و خستگی مفرط می‌گردد و نیز ابتلا به عفونت‌های ویروسی را افزایش می‌دهد (۳۲).

مقادیر اسیدهای آمینه شاخه دار لوسین، ایزولوسین و والین که به ترتیب ۳/۷،۸/٦،٦/٦ گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین استخراج شده به دست آمده است، از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. این اسید آمینه‌ها اثرات آنتاگونیستی را در عملکرد سیستم ایمنی کاهش می‌دهند (۳۳).

دو اسید آمینه گوگرددار سیستئین و متیونین به ترتیب ۱۸/۱، ۱/۲ گرم درصد گرم این پروتئین میکروبی شناسایی و اندازه‌گیری شد. این دو اسید آمینه در تولید پوسته‌های محکم تخم پرندگان و رشد پرها نقش به سزایی دارند (۳٤).

در مجموع با توجه به میزان بالای پروتئین و مقادیر قابل توجه اسیدهای آمینه ضروری در پروتئین میکروبی حاصله، می‌توان آن را به عنوان جیره غذایی دام و طیور مناسب و ارزشمند دانست. این محصول ضمن برخورداری از کیفیت بالا، ساده و مقرون به صرفه نیز می‌باشد. همچنین این فرآیند بیوتکنولوژیکی در جهت رفع آلودگی‌های زیست محیطی نقش ارزنده‌ای دارد. تولید پروتئین با کیفیت بالا دغدغه پژوهشگران عصر حاضر می‌باشد و امید است که این پژوهش راهی تازه برای پیشرفت‌های مهم اقتصادی کشورمان باشد.

References منابع

1. Anupama, Ravinda P. Value-added food: Single Cell Protein. *Biotechnol Adv*. 2000;18:459-479.
2. Zadrazil F, Brunnert H. Investigation of physical parameters important for the solid state fermentation of straw by white rot fungi. *European J Appl Microbiol Biotechnol*. 1981;11:1880-1893.
3. Sànchez C. Lignocellulosic residues: Biodegradation and Bioconversion by fungi. *Biotechnology Advanced*. 2009;27:185-194.
4. Kumar R, Singh S, Singh OV. Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives. *J Ind Microbial Biotechnol*. 2008;35:377-391.
5. Kamara DN, Zadrazil F. Microbiological improvement of lignocellulosic in animal feed production. Essex: Elsevier Press; 1988:56-63.
6. Villas-Boas SE, Esposito E, Mitchel DA. Microbial conversion of lignocellulosic residues for production of animal feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 2002;98:1-12.
7. Bennett JW, Wunch KG, Faison BD. Manual of Environmental Microbiology.Washington: AMS Press; 2002:960-971.
8. Hadar Y, Kerem Z, Gorodecki B. Biodegradation of lignocellulosic agricultural wastes by Pleurotus ostreatus. *Journal of Biotechnology*. 1993;30:133-139.
9. Pandey A, Soccol CR, Larroche C. Current Developments in Solid-state Fermentation, New Dwlhi: Asiatech Press; 2007.
10. Bridge PD, Kokubun T, Simmonds MS. Protein extraction from fungi. *Methods Mol Biol*. 2004;244:37-46.
11. Moo-Young MA, Chahal SDS, Vlach D. Single Cell Protein from various chemically pretreated wood stubstates using chaetomium cellulolyticum. *Biotechnology and Bioengineering*. 1978;20:107-118.
12. Wang D, Sakoda A, Suzuki M. Biological efficiency and nutritional value of pleurotus ostreatus cultivated on spent beer grain. *Bio Resour Technol*. 2001;78:293-300.
13. Zadrazil F. Screening of fungi: for lignin decomposition and conversion of straw into feed. *Angewandte Botanic*. 1985;59:443-452.
14. Carrillo F, Lis MJ, Colom X, Lopez-Mescas M, Valldeperas J. Effect of alkali pretreatment on cellulose hydrolysis of wheat straw: Kenetic study. *Process biochemistry*. 2005;40:3360-3364.
15. Kutlu HR, GöRGülü M, Baykal L, Ozcan N. Eeffects of pleurotus Florida inoculation or urea treatment on feeding value of wheat straw. *Turk J Vet Anim Sci*. 2000;24:169-175.
16. Kassis NM, Beamer SK, Matak KE, Tou JC. Nutritional composition of novel nutraceutical egg products deveioped with omega -3-rich oils. *Food Science and Technology*. 2010;43:1204-1212.

17. Mendez LA, Sandoval Castro CA, Belmar Casso R, Capetillo Leal CM. Effect of substrate and harveste on the amino acid profile of Oyser mushroom (Pleurotus ostreatus). *Journal of Food Composition and Analysis*. 2005;18:447-450.

18. Kurbanoglu EB, Algur OF, Zulkadir A. Submerged production of edible mushroom Agaricus bisporus mycelium in ram horn hydrolyate. *Industrial Crops and Products*. 2004;19:225-230.

19. Han YW. Microbial fermentation of rice straw: Nutritive composition and In vitro digestibility of the fermentation products. *Appl Microbiol*. 1974;29:510-514.

20. Coleman RA, Bertolo RF, Moehn S, Leslie MA, Ball RO, Korver DR. Lysine requirements of pre-lay broiler breeder pullets; determination by indictator amino acid oxidation. *J Nutr*. 2005;133:2826-2829.

21. Osborne TB. Amino acids in nutrition and grow. *The Jourral of Biological Chemistry*. 1974;17:325-330.

22. Bano Z, Srinivasan KS, Srivastava HC. Amino Acid composition of the protein from a mushroom (pleurotus sp.). *Appl Microbial*. 1963;11:184-187.

23. Abdel-Aal ESM, Hucl P. Amino acid composition and invitro protein digestibility of selected ancient wheat and their end production. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2002;15:737-747.

24. Gao P, Qu Y, Zhu M, Duan Y. Screening microbial strain for improving the nutritional value of wheat and corn straws as animal feed. *Enzyme and Microbial Technology*. 1997;20:581-584.

25. Vander Der Does AJ. The effects of Tryptophan depletion on mood and psychiatric symptom. *J Affect Disord*. 2001;64:107-119.

26. Moore P, Landolt HP, Srifritz E. Clinical and physiological consequences of rapid Tryptophan depletion. *Neuropsychopharmacology*. 2000;23:601-622.

27. Raja PK, Jarowski CI. Utility of fasting essential amino acid plasma levels in formolatian of nutritionally adequate diets. Lowering of human plasma cholesterol and triglyceride levels by lysine and tryptophan supplementation. *J Pharm Sci*. 1975;64:691-692.

28. Harms RH, Russell GB. Evaluation of Tryptophan requirement of the commercial layer by using a corn-soybean meal basal diet. *Poult Sci*. 2000;79:740-742.

29. Peisker M. Efficiency of a Lysine-Tryptophan blend as a Tryptophan source in animal nutrition. *Adv Exp Med Biol*. 1999;467:743-747.

30. Han YM, Suzuki H, Baker DH. Histidine and Tryptophan requirement of growing chicks. *Poult Sci*. 1991;70:2148-2153.

31. Winder B, Wirleitner B, Baier Bitterlich G, Weiss G, Fuchs D. Cellular immune activation, neopterin production, Tryptophan degradation and the development of immunodeficiency. *Arch Immunol the Exp (warsz)*. 2000;48:251-258.

32. Aletor VA, Hamid II, Nieb E, Pfeffer E. Low-protein amino acid supplemented diets in broiler chickens: effect on performance, carcass characteristics, whole-body composition and efficiencies of nutrient utilization. *Science of Food Agriculture*. 2000;80:547-554.

33. Peganova S, Eder K. Interaction of various supplies of isoleucine, valin, Leucine and tryptoohan on the performance of laying hens. *US National Instites of Health*. 2003;82:100-105.

34. Kalinowski A, Moran ET Jr, Wyatt CL. Methionin and cystine requirmwnts of slow and fast feathering broiler males from three to six weeks of age. *Poult Sci*. 2003;82:1428-1437.

Comparison of Essential and Non Essential Amino Acids in the Microbial Protein of Pleurotus Florida from the Lignocellulosic Wastes

J. Khanifar, MSc [1] A.R. Ahmadi, PhD [2] H.A. Ghoorchian, PhD [3] R. Haji Hosseini, PhD [4] M.H. Sheikhha, PhD [5,] F. Haghirosadat, PhD [6]

MSc of Biochemistry [1] , Associate Professor Department of Biochemistry [4] , Payamenoor University, Tehran, Irann. Assistant Professor Department of Biomedical [2] , Alzahra University, Tehran, Iran. Associate Professor Department of Biophysics [3] , PhD Student of Nano Biotechnology [6] , Tehran University , Tehran, Iran. Associate Professor Department of Genetics [5] , Shahid Sadughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

(Received 23 July, 2011 Accepted 30 Jan, 2012)

ABSTRACT

Introduction: Cereal straws contain Cellulose, Hemicelluloses and Lignin and are most available renewable biopolymers. White rot fungi is used to convert these wastes into microbial protein. Pleurotus Florida are having the most delignification ability amongst other micro-organisms. We determined the amounts of protein, essential and non essential amino acids of the produced microbial protein from the wheat straw.

Methods: Wheat straw was pretreated with NaOH 2% at 100^0C temperature on autoclave condition. Then it was inoculated with Pleurotus Florida which provided by Mandel's media with 0.3 g/lit Urea and incubated for 4 weeks under room temperature. Protein concentration of microbial protein was determined. The extracted protein partly hydrolyzed with HCl 6 Normal and the other part hydrolyzed with $Ba(OH)_2$ 4 Normal for 48 hours under 110^0C temperature condition and its amino acids analyzed by using A-200 Amino Nova analyzer.

Results: The amount of protein extracted after 4 full test runs were 62.8 % per 100 g of dried microbial protein and the profile concentration of Non essential and Essential amino acids was: Aspartic acid=5.22, Serine=3.6, Glutamic acid=6.38, Prolin=3.2, Glycine=4.21, Alanine=6.23, Cycteine=1.18, Tyrosine=2.61 Threonine=0.6, Valine=6.6, Methionine=2.1, Isoleucine=7.3, Leucine=6.8, Phenylalanine=4.3, Histidine=19.8, Lysine=9.5, Arginine=8.3, Tryptophan=0.96 g/100g of extracted protein. The ratio of essential amino acids to the total amino acids was 65.6%.

Conclusion: Eessential and non essential amino acids obtained are indicative of its high quality. In the microbial protein produced by our study, considerable amounts of amino acids such as Lysine, Histidine, Lucine, Isolucine, Alanine, Arginine and Tryptophan were detected and as such it can be a proper replacement for the current available animal feed in the market.

Correspondence:
J. Khanifar, MSc.
Department of Biochemistry
Payamenoor University.
Tehran, Iran
Tel:+98 21 22824032
Email:
Jal.khanifar@yahoo.com

Key words: Amino Acids - Pleurotus Florida - Lignocellulose - Fermentation