وزارت جهاد کشاورزی
سازمان ترویج، آموزش و تحقیقات کشاورزی
مؤسسه تحقیقات شیلات ایران ـ پژوهشکده اکولوژی دریای خزر

عنوان :

دستیابی به دانش فنی تولید پروتئین تک یاخته از باقیمانده ماهیان دریایی و پرورشی

مجری:
رضا صفری

شماره ثبت

۸۷/۳٤

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان ترویج ، آموزش و تحقیقات کشاورزی
مؤسسه تحقیقات شیلات ایران ـ پژوهشکده اکولوژی دریای خزر

عنوان پروژه / طرح : دستیابی به دانش فنی تولید پروتئین تک یاخته از باقیمانده ماهیان دریایی و پرورشی

شماره مصوب : ۸۴۰۲۷ ـ ۰۰۰۰ ـ ۰۳ ـ ۲۰۰۰۰۰ ـ ۰۳۲ ـ ۲

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارنده گان : رضا صفری

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) : ـ
نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : رضا صفری
نام و نام خانوادگی همکاران : علی سلمانی ـ فرامرز لالویی ـ رسول ارشد ـ سلیمان غلامی‌پور ـ زهرا یعقوب‌زاده ـ زهرا بانکه‌ساز ـ احمد غرقی ـ فریدون ملک‌زاده ـ محمدعلی آموزگار
محل اجرا : استان مازندران
تاریخ شروع : ۱۳۸۴/۶/۱
مدت اجرا : ۱ سال و ۲ ماه
ناشر : موسسه تحقیقات شیلات ایران
شمارگان (تیتراژ) : ۱۵ نسخه
تاریخ انتشار : سال ۱۳۸۷

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE

AGRICULTURE RESEARCH AND EDUCATION ORGANIZATION

IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION- CASPIAN SEA ECOLOGY RESEARCH CENTER

Title:

Single cell protein Production from culture and marine fish wastes

Executor:

Reza Safari

Registration Number

87.34

Ministry of Jihad – e – Agriculture

Agriculture Research and Education Organization Iranian Fisheries Research Organization – Caspian Sea Ecology Research Center

---

Title : Single cell protein Production from culture and marine fish wastes

Apprpved Number: 2-032-200000-03-0000-84027

Author: Reza Safari

Executor *:* Reza Safari

Collaborator *: A. Salmani; F. Laloei; R. Arshad; S. Gholamipour; Z. Yaghobzadeh; Z. Bankesaz; A. Ghoroghi; F. Malekzadeh; M.A. Amoozegar*

Location of execution : Mazandaran province

Date of Beginning : 2005

Period of execution : *1 year and 2 months*

Publisher : *Iranian Fisheries Research Organization*

Circulation : *15*
Date of publishing : *2008*

All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

بسمه تعالی

طرح / پروژه : دستیابی به دانش فنی تولید پروتئین تک‌یاخته از ضایعات آبزیان

کد مصوب: ۸٤۰۲۷ ـ ۰۰۰۰ ـ ۰۳ ـ ۲۰۰۰۰۰ ـ ۰۳۲ ـ ۲

با مسئولیت اجرایی : رضا صفری[1]

در کمیته علمی فنی مؤسسه تحقیقات شیلات ایران مورد تأیید قرار گرفت.

معاون تحقیقاتی موسسه تحقیقات شیلات ایران

---

[1]- آقای رضا صفری متولد سال ۱۳۵۰ در شهرستان ساری بوده و دارای مدرک تحصیلی فوق‌لیسانس در رشته میکروبیولوژی می‌باشد و در زمان اجرای پروژه / طرح : دستیابی به دانش فنی تولید پروتئین تک‌یاخته از ضایعات آبزیان

در ستاد ☐ پژوهشکده ☑ مرکز ☐ ایستگاه ☐

با سمت کارشناس ارشد آزمایشگاه میکروبیولوژی مشغول فعالیت بوده است.

به‌نام خدا

فهرست مطالب

چکیده ۱

۱ ـ مقدمه ۳

۱ـ ۱ ـ تاریخچه پروتئین تک‌یاخته (Single Cell Protein) ۳

۱ ـ ۱ ـ ۱ ـ محاسن استفاده از پروتئین تک‌یاخته‌ای ٤

۲ ـ ۱ ـ ۱ ـ معایب مربوط به کاربرد پروتئین‌های تک‌یاخته‌ای ٥

۳ ـ ۱ ـ ۱ ـ اختصاصات پروتئین تک یاخته‌ای مناسب برای تغذیه ٦

٤ ـ ۱ ـ ۱ ـ طبقه‌بندی منابع مختلف تولید SCP ۷

۱ ـ ٤ ـ ۱ ـ۱ ـ مخمرها ۷

۲ ـ ٤ ـ ۱ ـ۱ ـ فاکتورهای موثر بر فعالیت مخمرها ۱۰

۳ ـ ٤ ـ ۱ ـ۱ ـ باکتریها ۱۲

٤ ـ ٤ ـ ۱ ـ۱ ـ جلبکها ۱۳

٥ ـ ٤ ـ ۱ ـ۱ ـ قارچهای رشته‌ای ۱٦

٥ ـ ۱ ـ ۱ ـ مکانیسم تولید پروتئین تک یاخته ۱۸

٦ ـ ۱ ـ ۱ ـ منابع انرژی متداول در تولید SCP ۲۰

۷ ـ ۱ ـ ۱ ـ ماهی فیتوفاگ ۲۳

۸ ـ ۱ ـ ۱ ـ تون ماهیان ۲۳

۹ ـ ۱ ـ ۱ ـ آب پخت ۲٤

۲ ـ مواد و روش کار ۲٥

۱ ـ ۲ ـ مواد و دستگاههای مورد استفاده ۲٥

۲ ـ ۲ ـ نمونه‌های مورد بررسی ۲٦

۳ ـ ۲ ـ آماده سازی نمونه های امعاء و احشاء ۲۶
۱ ـ ۳ ـ ۲ ـ تیمار آنزیمی ۲۶

۲ ـ ۳ ـ ۲ ـ تیمار اسیدی ۲۷
۳ ـ ۳ ـ ۲ ـ میکرو ارگانیسمهای مورد استفاده ۲۷
٤ ـ ۳ ـ ۲ ـ مرحله آداپتاسیون ۲۷
الف ـ مقیاس آزمایشگاهی ۲۸
ب ـ مقیاس پایلوت یا فرمانتور ۳۰
٥ ـ ۳ ـ ۲ ـ آنالیز پارامترهای شیمیایی ۳۱
۱ ـ ٥ ـ ۳ ـ ۲ ـ چربی کل ۳۱
۲ ـ ٥ ـ ۳ ـ ۲ ـ رطوبت ۳۲
۳ ـ ٥ ـ ۳ ـ ۲ ـ پروتئین کل ۳۲
٤ ـ ٥ ـ ۳ ـ ۲ ـ خاکستر ۳۲
٦ ـ ۳ ـ ۲ ـ تجزیه و تحلیل آماری ۳۲
۳ ـ نتایج ۳۳
٤ ـ بحث ونتیجه گیری ۸۹
۱ ـ ٤ ـ نوع سیستم و میکروارگانیسم مورد استفاده ۸۹
۲ ـ ٤ ـ مقایسه ارزش غذایی و مقیاسهای مورد استفاده ۹۰
۳ ـ ٤ ـ دما ، pH و زمان تخمیر و دور همزن ۹۱
٤ ـ ٤ ـ سوبسترای مورد استفاده ، میزان تلقیح و هواده ۹۳
٥ ـ ٤ ـ روش هضم ضایعات شیلاتی ۹٦
پیشنهادها **Error! Bookmark not defined.** ۹۸
منابع ۱۰۰
پیوست ۱۰۳
چکیده انگلیسی ۱۲۱

چکیده

پروتئین میکروبی به فرآورده‌ای اطلاق می‌شود که به دنبال رشد میکروارگانیسم‌ها روی سوبستراهای مختلف تولید می‌گردد. به منظور تولید پروتئین میکروبی از میکروبهای مختلف مثل باکتری، جلبک، قارچ استفاده شده و براساس نوع پروتئین تولید شده، ارزش غذایی آنها متفاوت می باشد. از سوبستراهای مورد استفاده میتوان به ضایعات کشاورزی، صنعتی و ضایعات آبزیان استفاده می‌گردد. ضایعات ماهی به لحاظ داشتن پروتئین نسبتاً بالا از نظر تولید پروتئین میکروبی حائز اهمیت می‌باشند. در این تحقیق تولید پروتئین میکروبی با استفاده از مخمرها و باکتریهای مختلف از امعاء و احشاء تن ماهیان، آب پخت تولید شده در کارخانجات تولید کننده کنسرو ماهی تن و امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ مورد استفاده قرار گرفته است.

به منظور انجام آزمایش از دو مقیاس آزمایشگاهی و فرمانتور استفاده شده و از ۶ جنس و گونه مخمر و دو گونه باکتری باسیلوس استفاده شده و تاثیر فاکتورهای مختلف نظیر pH، دما، سوبسترای اضافه ، دور همزن، روش استفاده از میکروارگانیسم و زمان تخمیر بر روند آزمایش مورد ارزیابی قرار گرفته و میزان تغییرات رشد میکروبها و پروتئین مصرف شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و روش ماکروکجلدال مورد ارزیابی قرار گرفته است. پس از به پایان فرآیند تخمیر، عمل استخراج انجام گرفته و در نهایت پروتئین تولید شده، لیوفیلیزه گردید.

نتایج نشان داد که درصد پروتئین در پروتئین باکتریایی نسبت به پروتئین مخمری بیشتر بوده ولی میزان رطوبت در پروتئین مخمری بیشتر از پروتئین باکتریایی بوده است. سایر فاکتورهای غذایی مثل چربی و خاکستر تفاوت چندانی با یکدیگر نداشته اند. میزان تولید محصول در امعاء و احشا تن ماهیان بیشتر از امعاء و احشاء فیتوفاگ بوده و آب پخت در ردیف سوم قرار داشته است. بهنگام استفاده از سوبسترای اضافی، میزان تولید محصول نیز بیشتر بوده است. در بین مخمرها، کاندید اوتیلیس (*Candida utilis*) (آزمایشگاهی، فرمانتور) بیشتر از مخمرهای دیگر عمل کرده و میزان محصول تولید شده در تیمار حاوی کاندیدا اوتیلیس بیشتر بوده است. در بین باکتریها نیز باسیلوس لیکنوفورمیس (*Bacillus liquinoformis*) بهتر از باسیلوس سوبتی‌لیس (*Bacillus subtilis*) بوده است. نتایج تاثیر فاکتورهای دما و pH نشان داده که مخمرها در pH = ۵/۴ و دمای ۳۲ بهتر از pH= ۶ و دمای ۲۵ عمل کرده و باکتریها نیز در دمای۳۵ و pH= ۶/۹ نیز بهتر از دمای ۳۲ و pH= ۶/۵ عمل کردند. زمان لازم برای کامل شدن آزمایش در فاز آزمایشگاهی ۵۴ ساعت بوده در صورتیکه

این زمان در فرمانتور ۲۱ ساعت بوده است. نتایج نشان داد که بهنگام افزایش دور همزن در شرایط فرمانتور، رشد میکروارگانیسم سریعتر انجام گرفته و در نتیجه محصول در زمان کوتاهتری تولید گردید.

نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داده که با انتخاب بهترین شرایط برای میکروارگانیسم مورد استفاده (دما، pH، دور همزن، نوع سوبسترا) می‌توان پروتئین میکروبی را با کیفیت بالا تولید نمود. پروتئین میکروبی تولید شده را می‌توان به عنوان ماده افزودنی در غذای دام، طیور و آبزیان استفاده نمود. بایستی توجه نمود که انجام آزمایشات تکمیلی نظیر پروفایل اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب، املاح معدنی، اسیدهای نوکلئیک در محصول تولید شده لازم و ضروری به نظر می‌رسد.

کلمات کلیدی: پروتیئن تک یاخته ـ ضایعات ماهیان دریایی و پرورشی ـ مخمر ـ باکتری.

۱ ـ مقدمه

۱ ـ ۱ ـ تاریخچه پروتئین تک یاخته (Single Cell Protein)

رشد روز افزون جمعیت در جهان و افزایش مصرف مواد غذایی ، بشر را بر آن داشته که به فکر منابع غـذایی جدید باشد که تولید آن ارزانتر و به صـرفه تـر باشـد. یکـی از منـابع ارزان قیمـت ، پـروتئین تـک یاختـه یـا SCP می‌باشد که فرآورده ای با پایه میکروبی می باشد. بنا به استناد تاریخ ، اولین قومی که به خواص و کاربرد دارویی پروتئین تک یاخته پی بردند و به احتمال زیاد به ارزش غذایی آن هم آشنایی مختصری داشتند ، یونانیـان بودنـد. اصطلاح SCP اولین بار در سال ۱۹۶۸ در انیستیتو ماساچوت Massachusetts Institute Technology(MIT) جایگزین کلمه پروتئین میکروبی و پتروپروتئین شد(Giec *et al.*, 1988).

ممکن است استفاده از میکروبها بعنوان منابع غـذایی بـرای برخـی از اشـخاص غیـر قابـل اسـتفاده باشـد ولـی استفاده از میکروبها بعنوان ماده غذایی مورد مصرف انسان و یا حیوان میتواند راهگشای مـشکل مـواد غـذایی در جهان باشد. این موجودات میکروسکوپی از دوران گذشته قسمتی از غذای انسان را شامل می شدند و اسـتفاده از خمیر مایه در تهیه نان ، باکتری اسید لاکتیک در تهیه ماست ، کپکها در تهیه غذاهای تخمیری و تفالـه مالـت در تغذیـــه دام دلایـــل روشـــنی از کـــاربرد ایـــن گـــروه از تـــک ســـلولیها در زنـــدگی بـــشری اســـت (Giec *et al.*, 1988; Puniga *et al.*, 1995). مطالعات گسترده دلبـروک در سـال ۱۸۷۵ ارزش غـذایی حقیقـی خمیـر ترش را مشخص نمود. دلبروک و همکارانش با استفاده از املاح متفاوت آمونیم و نیز بکارگیری مـلاس چغنـدر قند ، به عنوان مواد کربوهیدراته ، بجای غلات کمیاب و گران قیمت (در جنگ جهانی اول) ، راههای تـازه ای جهت تولید انبوه مخمر بدست آورند که این در حقیقت اولین تولید واقعـی پـروتئین تـک سـلولی بـود. از سـال ۱۸۷۹ در انگلستان ، تکنولوژی جدید تولید پـروتئین تـک سـلولی از طریـق شـرایط هـوازی در تانکهـای حـاوی مخمر برای تولید خمیر مایه نانوایی شروع گردید. در سال ۱۹۰۰ ، کاربرد سانتریفوژ جهـت جداسـازی سـلولهای مخمر از محیط کشت معرفی شد که این جزئی از سیر تکاملی صنعت تولید پـروتئین تـک یاختـه بـشمار میـرود. اصطلاح پروتئین تک سلولی (SCP) بـه سـلولهای خـشک شـده میکروارگانیـسمهایی ماننـد باکتریهـا ، مخمرهـا، کپکها ، جلبکها ، آکتینومیست ها و قارچهای عالی تر اطلاق میشود که در مقیاس بزرگتری کشت داده شده و به عنوان منبع پروتئینی برای انسان یا حیوان مورد استفاده قرار میگیرند. در آلمان ، در جنگ جهانی دوم، بـا کـشت مخمر تورولا را روی ضایعات کاغذ ، پروتئین میکروبی تولید میکردند که بعنوان منبع پروتئین در تغذیه انـسان و حیوان مورد استفاده قرار می گرفت(Ashy *et al.*, 1982; Invarson *et al.*, 1982; Ghanem 1992).

در ایران، برای اولین بار در سال ۱۳۴۷ تولید پروتئین تک سلولی با بکار گیری منابع نفتی توسط شرکت ملی صنایع پتروشیمی و شرکت بی پی در ایران مورد مطالعه قرار گرفت. بررسیهای اولیه توسط کارشناسان شرکت ملی صنایع پتروشیمی ایران که تقریبا فاقد اطلاعات کافی و جامع در زمینه صنعت دام و طیور و احتیاجات غذایی آن موقع کشور بودند، انجام گرفت. در سال ۱۳۵۱ کمیته ای به نام کمیته عالی پروتئین در جهت تعیین راهکاری دقیق به منظور مطالعه و تولید صنعتی پروتئین میکروبی با عضویت دست اندرکاران بخش کشاورزی ، دانشگاهها و صنعت پتروشیمی تشکیل گردید . این کمیته تهیه طرح پروتئین با تکیه بر روی تولید پروتئین تک سلولی از هیدروکربورهای نفتی را در دستور کار خود قرار داد. در راستای تشکیل کمیته مذکور ، بنیاد مستضعفان و جانبازان انقلاب اسلامی به منظور خودکفائی کشور در زمینه تامین احتیاجات غذایی جامعه ، بمنظور تولید پروتئین کمک غذای دام و طیور ، نسبت به تاسیس شرکت پروتئین دامی لرستان اقدام نموده و در سال ۱۳۶۴ بر اساس قراردادی ، دانش فنی ، طراحی خط تولید و تجهیزات و ماشین آلات مورد نیاز کارخانه را به شرکت وکلپوش اتریش سفارش داده و از سال ۱۳۶۷ اقدام به احداث کارخانه مذکور (که در حال حاضر با ظرفیت اسمی حدود ۵ هزار تنی در سال مشغول به فعالیت میباشد) نمود.

۱ ـ ۱ ـ ۱ ـ محاسن استفاده از پروتئین تک یاخته ای

با توجه به رشد و تکثیر بسیار سریع میکروبهای مورد استفاده ، پتانسیل تولید SCP بمنظور استفاده در رژیم غذایی انسان و حیوان بسیار بالا میباشد. یک مخمر در شرایط مساعد محیطی در هر دو ساعت یک مرتبه تکثیر پیدا میکند. برخی از باکتریها در شرایط محیطی مناسب دارای سرعت رشد و تکثیر بسیار بالایی میباشند. براساس محاسبات انجام شده از کشت یک SCP به وسعت ۰/۹۳۷ کیلومتر مربع ، ۱۰ درصد نیازهای پروتئینی جهان تامین میگردد. به بیان دیگر از یک گوساله به وزن ۴۵۳ کیلوگرم ، روزانه ۴۵۳ گرم و از ۴۵۳ گرم سویا در حال رشد سریع ، روزانه ۳۶ کیلوگرم پروتئین تولید شده در حالیکه از ۴۵۳ کیلوگرم پروتئین تک سلولی، در شرایط تئوریک، می توان روزانه ۵۰ تن پروتئین تولید نمود. به لحاظ وجود سیستمهای بسته و قابل کنترل جهت تولید SCP، تقریبا هیچگونه محدودیتی از جهت شرایط جوی و اقلیمی جز در مورد جلبکهای سبز که نیازمند به پدیده فتو سنتز می باشند، وجود ندارد(Akman 1980 ; Ahmad *et al.*, 1995).

میکرو ارگانیسم ها دارای مقادیر متنابهی از پروتئین (در حدود ۳۵ تا ۷۵ درصد) در ماده خشک فرآورده‌هایSCP می باشند.امکان رشد و تکثیر موجودات میکروسکوپی مفید بر روی ضایعات و فرآورده‌های زائد کشاورزی و صنعتی وجود داشته که این مهم از سویی امکان تولید پروتئین مورد نیاز حیوان و انسان را

فراهم آورده و از سویی دیگر ضمن دفع ضایعات فوق ، ارزش افزوده بالایی را برای آنها فراهم می کند. همچنین استفاده از منابع مختلف کربن که اغلب بعنوان مازاد مصرف و ضایعات تولید، مطرح می باشند توسط میکروارگانیسمها نیز امکان پذیر می باشد.

از آنجائیکه میکرو ارگانیسمها جهت رشد و تکثیر نیاز چندانی به مواد غذایی پیچیده و فضای گسترده محیطی ندارند، صنایع تولید کننده SCP نیز معمولاً در فضای محدود تاسیس و مورد بهره برداری قرار می گیرند.

در بسیاری از موارد، فرآورده های SCP ، به لحاظ ارزش پروتئینی و کیفیت، قابل مقایسه با پروتئین موجود در گوشت بوده مضافاً اینکه قابلیت هضم و جذب آن نیز بالا می باشد (تقریبا بین ۸۰ تا ۹۰ درصد) (Elsaadany *et al.*, 1988 ; Kurbanoglu *et al.*, 2002 ; Shipman *et al.*, 1975 ; Kuzmanova *et al.*, 1998).

۲ ـ ۱ ـ ۱ ـ معایب مربوط به کاربرد پروتئین های تک یاخته ای

قابلیت هضم

قابلیت هضم پروتئینهای تک سلولی بسیار متفاوت میباشد. اگر میکروارگانیسمهای مورد استفاده ، قبل از تغذیه از بین نروند قابلیت هضم آنها توسط حیوان کاهش خواهد یافت. به منظور افزایش قابلیت هضم پروتئین تک سلولی راههای مختلفی وجود دارد. بعنوان نمونه اگر پروتئین تک سلولی با پایه جلبک قبل از تغذیه پخته شود، قابلیت هضم آن دو برابر افزایش می یابد(Storebakhen *et al.*, 1998).

خوشخوراکی

پروتئینهای میکروبی جهت خوشخوراک شدن ، باید عمل آوری گردند. مخمرها طعم تندی داشته و جلبکها و باکتریها هم دارای طعم نامطبوعی میباشند. از اینرو اگر پروتئین میکروبی، عمل آوری نشده و طعم نامطبوع میکروبی حذف نگردد از نظر خوشخوراکی در درجه پائینی قرار میگیرد(Callihan *et al.*, 1979).

کیفیت پروتئین

پروتئینهای تک سلولی از لحاظ وجود اسیدهای آمینه گوگرددار و احتمالا ایزولوسین ، فقیر بوده و از اینرو کیفیت این نوع پروتئین در مقایسه با پروتئین غلات ، بیشتر و در مقایسه با مکملهای پروتئینی تجارتی کمتر می باشد. به منظور جبران کمبود اسیدهای آمینه گوگرد دار در پروتئین تک یاخته از اسید آمینه میتونین استفاده میشود(Schulz *et al.*, 1974).

میزان اسید نوکلئیک

قسمت اعظم ازت موجود در پروتئین های تک سلولی به صورت اسیدهای نوکلئیک (هسته ای) بوده که در اثر متابولیسم به اسید اوریک تبدیل می گردد . در انسان، اسید اوریک تقریبا غیر محلول بوده و در اثر تجمع آن،

سنگهای کلیوی بوجود می آید. در پرندگان و بیشتر پستانداران، اسید اوریک تولید شده، تحت تاثیر آنزیم اوریکاز به آلانتونین تبدیل میشود. حلالیت آلانتونین نسبت به اسید اوریک بیشتر بوده و به آسانی از بدن دفع می گردد، به همین دلیل نشخوارکنندگان مشکلی در هضم پروتئین میکروبی ندارند. مصرف فرآورده های میکروبی در جیره غذایی بچه ماهیان عوارضی را بدنبال نخواهد داشت زیرا ماهیان دارای متابولیسم فعال بوده و متابولیتهای تولید شده از اسیدهای نوکلئیک را به مواد حدواسط تبدیل می نمایند.

یکی از روشهای کاهش میزان اسیدهای نوکلئیک در پروتئین میکروبی ، مصرف آنزیمهای نوکلئاز می باشد. این آنزیم در دمای بالاتر از ۳۹ درجه سانتی گراد غیرفعال میگردد. ولی ریبو آندو نوکلئاز میکروبهایی مانند استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) در حرارت ۴۵ درجه سانتیگراد هم قادر به فعالیت می باشند. به همین دلیل ، هیدرولیز اسیدهای نوکلئیک پروتئین تک یاخته ابتدا توسط ریبونوکلئاز و سپس به کمک آندونوکلئاز انجام گرفته تا در نهایت میزان اسید نوکلئیک به حد قابل قبولی کاهش یابد (Schulz *et al.*, 1974 ; Giec *et al.*, 1988).

مسمومیت ها

مسمومیتهای حاصل از مصرف پروتئین تک سلولی در دو بخش خلاصه میشوند:

۱- سمومی که بوسیله خود میکروارگانیسم تولید میگردند(افلاتوکسینهای قارچی و اگزوتوکسینهای باکتریایی).

۲- سوبستراهای مورد استفاده حاوی متابولیتهای سمی باشند.

درصد وقوع مورد دوم بیشتر است ، چون محیط کشت میکرو ارگانیسمهای مورد استفاده ، معمولا فاضلابها یا فرآورده های فرعی صنعتی می باشند. اگر مقدار مواد شیمیایی نظیر آفت کشها و یا مواد معدنی کمیاب (بخصوص فلزات سنگین) در محیطهای کشت بالا باشد ، میزان بیشتری از ترکیبات مذکور جذب میکروبهای مورد استفاده و در نهایت پروتئین میکروبی شده و از طریق تغذیه به حیوان یا انسان انتقال می یابد(Bennet *et al.*, 1997 ; Eaton *et al* .,1994 ; Lee *et al.*, 1992).

٤ ـ ١ ـ ١ ـ اختصاصات پروتئین تک یاخته ای مناسب برای تغذیه

۱- دارای ارزش غذایی بالا به لحاظ سطح انرژی قابل استفاده ، میزان پروتئین قابل جذب و بالانس مناسب اسیدهای آمینه و ... باشد.

۲- مواد پروتئینی تولید شده، از منابعی باشد که برای مصرف کننده (انسان یا دام) بیماریزا نباشد.

۳- قابلیت مصرف برای حیوان (به لحاظ وضعیت طعم و خوش خوراکی) را داشته باشد. همچنین مصرف آن ایجاد آلرژی یا اختلالات گوارشی نکند.

۴- فرآورده های نهائی بایستی فاقد هرگونه مواد مضر و سمی باشند. خواه این مواد ناشی از فرآیندهای متابولیکی موجود میکروسکوپی باشد (توکسین) و یا ناشی از نقص در برنامه و مکانیسم تولید باشد (مثلا وجود اوره در محصول نهائی).

۵- به لحاظ اقتصادی قابلیت تولید انبوه با هزینه تمام شده پائین را دارا باشد بطوریکه امکان رقابت با سایر منابع پروتئینی حیوانی و گیاهی را داشته باشد که در این رابطه عواملی همچون سرعت و میزان رشد حیوان، تبدیل غذای مصرفی به گوشت و... نقش خواهند داشت (Bennet *et al.*, 1997 ; Giec *et al.*, 1988; Puniga *et al.*, 1995).

۵ ـ ۱ ـ ۱ ـ طبقه بندی منابع مختلف تولید SCP

بطور کلی منابع مهم تولید SCP شامل موارد ذیل میباشد:

۱- مخمرها

۲- باکتریها

۳- جلبکها

۴- قارچهای رشته ایی

۱ ـ ۵ ـ ۱ ـ ۱ ـ مخمرها

کاربرد عملی مخمرها در زندگی بشری مربوط به قرنها پیش بوده که از آنها در عمل آوری خمیر نان و نیز تخمیر الکل استفاده شده است. در سال ۱۶۸۰ ایوان هوک به تعریف مخمرها پرداخت. در سال ۱۸۲۵ ، موضوع جوانه زدن مخمرها و در سال ۱۸۳۹ مراحل جوانه زدن مخمر آبجو از طرف عده ای از دانشمندان تایید و اعلام شد. مطالعات پاستور در سال ۱۸۵۹ میلادی با استفاده از روش کشت خالص نشان داد که تخمیر ، نتیجه زندگی فعالانه بعضی موجودات زنده میباشد .

تکنولوژی تولید صنعتی مخمرها در یک دوره زمانی نسبتاً طولانی (حدود یک قرن) شکل گرفته و در حال حاضر نیز دائما در حال پیشرفت و توسعه است.

مهمترین مخمرهائی که برای تولید پروتئین تک سلولی بکار گرفته میشوند شامل گونه های ذیل می باشد:

۱- ساکارومیسیس (*Saccharomyces*)

۲- تورولوپیسیس (*Torulopsis*)

۳-کاندیدا (*Candida*)

۴- دیدیوم (*Didium*)

از مزیتهای مهم مخمرها در تولید پروتئین های تک یاخته میتوان به نکات ذیل اشاره نمود:

۱- مخمرها دارای رشد نسبتا زیادی میباشند ولی با این وجود سرعت رشد آنها نسبت به باکتریها کمتر می باشد.

۲- مخمرها ، با عمل سانتریفوژ، براحتی از محیط کشت جدا میشوند.

۳- امکان آلودگی فرآورده های حاصل از مخمرها به باکتریهای پاتوژن کمتر بوده زیرا pH محیط رشد آنها بین ۳/۵ تا ۵ میباشد.

۴- میزان پروتئینهای موجود در مخمرها بین ۵۵ تا ۶۰ درصد و میزان اسیدهای نوکلئیک آنها نیز در حدود ۱۵ درصد بر حسب ماده خشک میباشد.

۵- اگر چه درصد برخی از اسیدهای آمینه نظیر لیزین در فرآورده های حاصل از مخمرها بالا بوده لیکن به لحاظ اسیدهای آمینه گوگرد دار نظیر متیونین نسبتا فقیر بوده که از طریق مکملهای مصنوعی نظیر متیونین جبران میگردد. مقادیر نسبی برخی از مواد مغذی در جدول ۱ نشان داده شده است (Mahnken *et al.*, 1980 ; Rhishipal *et al.*, 1998 ; Galvez *et al.*, 1990 ; Ashy *et al.*, 1982).

جدول ۱ : ترکیب مواد مختلف در پروتئین تولید شده از جلبک ها ، قارچها و باکتریها(۱)

(Schulz *et al.*, 1974; Anupama *et al.*, 2000)

فاکتور	درصد ترکیب وزنی		
	جلبک	قارچ	باکتری
پروتئین خام	۴۰–۶۰	۳۰–۷۰	۵۰–۸۳
نیتروژن توتال (پروتئین+ اسیدهای نوکلئیک)	۴۵–۶۵	۳۵–۵۰	۶۰–۸۰
لیزین	۴/۶–۷	۶/۵–۷/۸	۴/۳–۵/۸
متیونین	۱/۴–۲/۶	۱/۵–۱/۸	۲/۲–۳
چربی/لیپید	۵–۱۰	۵–۱۳	۸–۱۰
کربوهیدرات	۹	NA(۲)	NA
رنگدانه های صفرایی و کلروفیل	۶	NA	NA
اسیدهای نوکلئیک	۴–۶	۹/۷	۱۵–۱۶
املاح معدنی	۷	۶/۶	۸/۶
اسیدهای آمینه	NA	۵۴	۶۵
خاکستر	۳	NA	NA
رطوبت	۶	۴/۵–۶	۲/۸
فیبر	۳	NA	NA
فسفر	۲/۰	۳/۰	۰/۴–۴/۵۰
گوگرد	۰/۲–۱/۰	۰/۰۱–۰/۲۴	۰/۱–۰/۵
پتاسیم	۱/۰	۴/۵	۱/۲–۴/۵
سدیم	۰/۵–۱/۰	۰/۰۱–۰/۱	۰/۰۲–۰/۵
کلسیم	۱۰/۱	۰/۱–۰/۳	۰/۱–۱/۴

۱: درصد بر حسب نوع سوبسترای مورد استفاده ، نوع ارگانیسم و شرایط کشت متغیر می باشد

۲ : NA : غیر قابل دسترس

۲ ـ ۵ ـ ۱ ـ ۱ ـ فاکتورهای موثر بر فعالیت مخمرها

دما

مخمرها نسبت به سرما مقاومت زیادی داشته به نحوی که بعضی از آنها در سرمای بسیار زیاد قادر به فعالیت میباشند ولی با این وجود، نسبت به گرما حساسیت زیادی از خود نشان داده و در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد غیرفعال شده و در حرارت ۶۰-۵۰ درجه سانتیگراد از بین می روند. بایستی یادآور شد که دامنه حرارتی مخمرهای مختلف ، متفاوت بوده و هر مخمر دارای دامنه حرارتی اختصاصی میباشد (Rhishipal *et al.*, 1998 ; Ashy *et al.*, 1982).

غلظت اکسیژن

بطور کلی مخمرها هوازی بوده ولی برخی از آنها در حالت بیهوازی نیز قادر به رشد میباشند. نیاز مخمرها به اکسیژن ، در مقایسه با باکتریها ، بیشتر بوده زیرا میزان ذخیره چربیها در مخمرها بیشتر میباشد. جهت تولید محصولات تخمیری از شرایط بیهوازی استفاده شده ولی به منظور تهیه توده سلولی مخمری ، کشت میکروبی بایستی در شرایط هوازی صورت گیرد(Rhishipat *et al.*, 1998 ; Ashy *et al* .,1982).

مواد غذایی

مخمرها مانند سایر موجودات زنده توانایی سازش با محیط را دارا بوده و یکی از نشانه های این شباهت خصوصیتی است که در اثر کشت مخمرها در محیط های خاص بروز می کند. بعنوان مثال اگر مخمر آبجو از محیط کشت گلوکز به محیط حاوی قندی گالاکتوز انتقال داده شود، مشاهده می گردد که در ابتدا ، مخمر توانایی تخمیر گالاکتوز را نداشته اما با گذشت زمان ، توانایی تخمیر این قند را کسب میکند (Rhishipat *et al.*, 1998 ; Ashy., *et al.*, 1982).خصوصیات برخی از مخمرهای منتخب به منظور تولید صنعتی پروتئین تک یاخته در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲: خصوصیات برخی از مخمرهای صنعتی و میزان تولید پروتئین تک یاخته تولید شده از آنها

(Anupama *et al.*, 2000)

نوع مخمر	سوبسترا	دما	مقیاس مورد نظر و دور همزن	pH	زمان تقسیم (ساعت)	غلظت سلولی (گرم بر لیتر)	تولید سلولی (گرم وزن خشک در ۱۰۰ گرم)
Candida intermedia	گلوکز	۳۰	۱ لیتر با دور ۱۵۲۵	۵/۵	۲	۱۲	۳۵/۴
Candida guilliermondii	آلکانها	۳۰	۱۵ لیتر با دور ۶۲۵	۵	۷/۱	۵	۷۰
Candida lipolytica	آلکانها	۲۵	۱۴ لیتر با دور ۱۵۰۰	۵/۵	۴/۵	۱۳/۵	۹۰
Candida lipolytica	آلکانها	۲۸/۲۲	۱۵ لیتری با دور ۲۰۰۰	۳/۵	۲/۵	۱۲	۸۵
Candida utilis	پساب سولفیت	۳۲	۱ لیتر با دور ۵۰۰	۵	۲	۸/۱۹	۳۹/۱
Rhodotorula gracilis	گلوکز	۳۲	۱۸ لیتر با ۳ گرم اکسیژن در لیتر در ساعت	۴/۵	۲	۸/۵	۶۱/۱
Kluyvermyces fragilis	لاکتوز	۳۲	۲ لیتر با ۱۵ میلی مول اکسیژن در دقیقه	۵/۵	۱/۵	۱۴/۶	۵۵
Saccharomyces cerevisiae	گلوکز و گالاکتوز	۳۰	بچ ۳۰۰۰ لیتری	۴/۵	–	۱۵	–
Saccharomyces cerevisiae	ملاس	۳۰	بچ ۵۰۰۰۰ لیتری با ۲ میلی مول در دقیقه	۴/۵	۲/۵	–	۲۳,۵

نور

تاثیر نور بر روند رشد مخمرها در طول موجهای مختلف، متغیر بوده و بطور کلی اثر آن زیان آور بوده و برخی از طول موجها نظیر ماوراء بنفش خصوصیت ضد حیاتی دارند (Rhishipat *et al.*, 1998 ; Ashy., *et al.*, 1982).

اسیدیته

برای اپتیمم نمودن محیط کشت مخمرها از pH اسیدی استفاده شده که این شرایط، آلودگی ثانویه ناشی از باکتریها را بحداقل می رساند. دامنه pH برای فعالیت مخمرها بین ۳ تا ۵ بوده ولی با این وجود، مخمرها در pHهای مختلفی قادر به رشد میباشند(Rhishipat *et al.*, 1998 ; Ashy *et al.*, 1982).

۳ ـ ۵ ـ ۱ ـ ۱ ـ باکتریها

باکتریها گروه بزرگی از موجودات تک سلولی بوده که بواسطه بالا بودن سرعت رشد و تکثیرشان نسبت به انواع دیگر موجودات تک سلولی و همچنین امکان رشد آنها بر روی انواع مختلفی از محیط ها، از ارجحیت بالاتری در تولید پروتئین های تک یاخته برخوردار میباشند.

برخی از گونه های مهم باکتریها که در تولید SCP بکار می روند عبارتند از :

۱- متیلو فیلوس متیلوتروفوس(*methylotrophous Methylophilus*)

۲- ساکتومیوم سلولوتیکم(*celloluticum Sactomium*)

۳- آگروباکتریوم(*Agrobacterium*)

۴- باسیلوسها(*Bacillus*)

عمده مسائل مربوط به کاربرد باکتریها در تولیدSCP شامل موارد ذیل می باشد:

۱- باکتریها دارای سرعت رشد و تکثیر بسیار بالایی می باشند.

۲- احتمال آلودگی فرآورده های حاصل از باکتریها به عوامل پاتوژن بیشتر از سایر منابع تولید پروتئین تک یاخته بوده زیرا محیط کشت مورد استفاده باکتریها دارای pH ایی در حدود ۵ تا ۷ بوده که خود باعث بروز آلودگیهای ثانویه در محیط رشد و در نتیجه فرآورده نهایی می گردد. در مواردی که از باکتریهای گرم مثبت جهت تولید SCP استفاده میشود خطر تولید آندوتوکسین بطور قابل ملاحظه ایی افزایش می یابد.

۳- درصد پروتئین و اسیدهای نوکلئیک محصولاتی با پایه باکتریها بالا بوده و به ترتیب ۸۰ و ۲۰ درصد میباشد.

۴- میزان اسیدهای آمینه باکتریها نسبتا بالا بوده لیکن فرآورده نهایی، بایستی با اسیدهای آمینه گوگرددار مصنوعی غنی گردد.

۵- جداسازی باکتریها در مقایسه با سایر منابع تولید کننده پروتئین های تک یاخته نسبتاً مشکل بوده و نیاز به تکنولوژی بالاتری داشته که خود مستلزم صرف هزینه های بیشتری می باشد (Kim *et al.*, 2000 ; Kurbanoglu *et al.*, 2002 ; Sasikala *et al.*, 1995 ; Shipman *et al.*, 1975).

در جدول ۳ به گونه های مختلف باکتریایی که در تولید SCP مورد استفاده قرار گرفته اشاره شده است

جدول ۳ : پروتئین تک یاخته با منشاء باکتریایی(Kim., *et al* 2000; Anupama., *et al* 2000)

نوع باکتری	سوبسترا	منابع
گونه های باکتریایی	انواع مختلف سوبسترا	Tannenbaum and wang , 1975
باکتریهای *Methylococcaceae*	ترکیبات یک کربنه	Ekerott and villadseer , 1991
Brevibacterium SPP	ترکیبات یک تا ۴ کربنه	Singh,1998
Cellulomonas SPP.	ضایعات کشاورزی	Callihan and Clemmer 1979
گونه های مختلف باکتریایی	ضایعات ناشی از عمل آوری میوه	Litchfield ,1979
Methanomonas methanica	متان	Singh ,1998
Methylophilus methanotrophus	متانول	Singh ,1998
Pseudomonas fluorescens	ضایعات حیوانی ،کود کشاورزی	Shuler etal ., 1979
gelatinosus Rhodopseudomonas	پوست گندم	Shipman etal ., 1975
Streptomyces SPP.	متانول	Singh, 1998

٤ ـ ٥ ـ ١ ـ ١ ـ جلبک‌ها

جلبکها یکی از منابع با اهمیت در تولید پروتئین های تک یاخته ایی بشمار رفته که با استفاده از نور در محیط کشتی مشتمل بر منابع مواد معدنی و ترکیبات آلی (از طریق عمل فتوسنتز) رشد ونمو می یابند.

از جلبکها در تغذیه انسانی نیز استفاده شده که میتوان به جلبک اسپیرولینا اشاره نمود. تکنولوژی تولید SCP از جلبک همواره در حال تکامل و توسعه بوده بطوریکه در حال حاضر دانشمندان در برخی از کشورها با کمک نور خورشید ، جلبکها و مازاد آب ، از یکسو نسبت به تامین غذای با ارزش جهت مصرف حیوانات اقدام کرده و از سوی دیگر با استفاده بهینه از آنها، باعث تصفیه نمودن آب و استفاده از آنها در مصارف کشاورزی میشوند.

گونه های مختلفی از جلبکها که در تولید انبوه پروتئین های تک سلولی مورد استفاده قرار میگیرند شامل موارد ذیل است:

۱- اسپیرولینا (*Spirulina*)

۲- کلرولا (*Chlorella*)

۳- سندسموس (*Scenedesmus*)

کاربردی ترین روش جهت رشد و نمو جلبکها استفاده از حوضچه ها و استخرهای روباز و در معرض نور خورشید است و در واقع در تولید جلبکها بایستی اقتصادی ترین روش را در نظر گرفت (Akman 1980 ; Mahasneh 1997 ; Wong *et al.*, 1980).

در جدول ۴ مهمترین گونه های جلبکی که بعنوان ماده غذایی مورد استفاده قرار میگیرند نشان داده شده اند.

جدول ٤ : استفاده از جلبکها بعنوان منابع غذایی در نقاط مختلف دنیا

(Mahasneh., 1997 ; Anupama *et al.*, 2000)

نوع جلبک	ناحیه ومکان	استفاده
Alaria	ژاپن	اصطلاحا saumen نامیده شده و پس از خشک و نمک سود کردن بفروش میرسد
Ascophylluem,Fucus,Laminaria	ژاپن،آمریکا،نیوزیلند	بعنوان غذای دام ،طیور و خوک مورد استفاده قرار می گیرد.
Caulerpa rosemosa	فیلیپین	ماده غذایی
Durvillea antartica ,Ulva	شیلی	ماده غذایی
Laminaria	ژاپن	اصطلاحا Kombu نامیده شده و پس از خشک و نمک سود کردن بفروش میرسد.
Laminaria, Ecklonia Eisenia	انگلیس،فرانسه،اسکاندیناوی،سواحل آمریکا	بعنوان غذای جوجه و گوسفند مورد استفاد قرار میگیرد.
Nostoc	برزیل	کلنی های این جلبک جوشانده شده و مصرف میگردد
Pelvwtia	نروژ،فرانسه،آمریکا،دانمارک،نیوزیلند	بعنوان غذای دام مورد استفاده قرار میگیرد
Porphyra tenera, Laminaria Monostroma Undaria,Sargassum	انگلیس، کره،چین،ژاپن	ماده غذایی
Rhodomenia palmate	ژاپن	غذای نمک زده شده تحت عنوان dulse در رژیم غذایی دام مورد استفاده قرار می گیرد.
Rhodymenia	فرانسه	غذای دام
Rhodymenia palmate, Gelidium, Fucus, Goateloupia	ایسلند	ماده غذایی
Rhodymenia, Chlorella, Spirulina,Synechococas	ایسلند	ماده غذایی
Sargassum	چین	ماده غذایی
Spirogyra,Oedogonium	هند	خشک شده و برای تهیه سوپ استفاده میشود.
Ulva	اروپا	بطور منظم در جیره غذایی مورد استفاده قرار می گیرد
Ulva lactuca	اسکاتلند	بعنوان ماده افزودنی در سالادها و سوپها مورد استفاده قرار میگیرد.

در جدول ۵ به گونه های مختلف جلبکی که در تولید SCP مورد استفاده قرار میگیرند اشاره شده است.

جدول ۵ : جلبکها بعنوان منابع تولید SCP (Anupama., *et al* 2000)

نوع ارگانیسم	سوبسترا	منابع
Cauerpa yocemosa	دی اکسید کربن + نور خورشید	Vashista , 1989
Chlorella salinacu	جریان فاضلاب	Wong and chan , 1980
Chlorella SPP.	دی اکسید کربن	Singh , 1998
Chlorella SPP. (M109,M121,M122. M138,M150)	کربنات و ۷ ترکیب دیگر	Mahasneh , 1997
Dunaliella	دی اکسید کربن + نور خورشید	Treham,1993
Chlorella & Diatoms	دی اکسید کربن + نور خورشید	Treham,1993
Laminaria	دی اکسید کربن + نور خورشید	Vashista , 1989
Porphyra	دی اکسید کربن + نور خورشید	Vashista , 1989
Sargassum	دی اکسید کربن + نور خورشید	Vashista , 1989
Spirulim maxime	دی اکسید کربن + نور خورشید	Sing , 1998
Spirulina SPP.	دی اکسید کربن	Sing , 1998

از مهمترین مسائل مربوط به تولید SCP از جلبکها میتوان به موارد ذیل اشاره نمود:

۱- با توجه به روش معمول در تولید توده جلبکها (استفاده از استخرهای روباز) رعایت نکات لازم در ایجاد محیط عاری از عوامل آلوده کننده ثانویه بسیار ضروری است.

۲- با توجه به عامل محدود کننده نور در رشد و نمو جلبکها ، میزان تراکم آنها در واحد حجم محیط کشت، کمتر از سایر منابع صنعتی تولید کننده SCP بوده (حدود دو گرم جلبک بر حسب ماده خشک در یک لیتر محیط رشد) و در نتیجه تولید پروتئین از جلبکها ، هزینه بر میباشد.

۳- میزان پروتئین درون سلولی جلبکها حدود ۶۰ درصد بوده و دارای مقادیر نسبتا بالایی از اسیدهای آمینه می باشند، اگر چه میزان برخی از اسیدهای آمینه گوگرددار نظیر متیونین در این گروه پائین میباشد. (Akman 1980 ; Mahasneh 1997 ; Wong *et al.*, 1980)

۵ ـ ۵ ـ ۱ ـ ۱ ـ قارچهای رشته ای

بطور کلی رشد قارچها از باکتریها و مخمرها کندتر بوده ، گرچه درصد رشد آنها به نوع ماده اولیه بستگی دارد. محدوده رشد برخی از قارچهای رشته ایPH=3-8 بوده و این امر شرایط را برای آلودگی باکتریایی

بحداقل می رساند. یکی از تکنولوژیهای تولید SCP از قارچهای رشته ای ، تبدیل ضایعات لیگنوسلولزی به SCP از طریق قارچهای مذکور بوده است.

نتاج تحقیقات نشان داد که بهنگام استفاده از قارچ آسپرژیلوس نیجر (هضم کننده سلولز) جهت تولید پروتئین تک یاخته ، میزان تولید پروتئین خام ۳۰/۴ درصد بوده و میزان اسید آمینه لیزین، متیونین و تریپتوفان در محصول نهایی نسبتاً بالا بوده است. میزان چربی در محصول تولید شده ۱۲/۹ درصد و میزان ماده خشک نیز ۷۷ درصد بوده است.

به جهت تولید میکوتوکسین ها توسط تعداد زیادی از قارچها ، ضروری است سویه ایی که به منظور مصرف انسانی و دامی مورد استفاده قرار میگیرد از نظر تولید میکوتوکسین مورد ارزیابی قرار گیرد (Elsaadany *et al.*, 1988 ; Akman 1980 ; Singh *et al.*, 1991 ; Ivarson *et al.*, 1982).

در جدول ۶ به مهمترین گونه های قارچی (کپک و مخمر) که در تولید SCP مورد استفاده قرار گرفته اند اشاره شده است.

جدول ٦ : مهمترین قارچهای مورد استفاده در تولید SCP (Anupama *et al.*, 2000)

نوع قارچ	سوبسترا	منابع
Aspergillus niger AS101	تفاله غلات	Singh *et al*., 1991
A. niger, Sporotrichum pulverulentum	تفاله ذرت و ساقه پنبه	El- saadany *et al* ., 1988
Candida Krusei SO1 ,Saccharomyces spp.LK3G	هیدرولیزات Sorghum	Kolani *et al* ., 1996
Candida tropicalis ceppo 571	پساب سولفیت	Guven and Cansunar.,1989
Chaetomium cellulolyticum	پساب سلولزی	Singh,1998
Chrysonilia sitophilia	لیگنین	Rodriguez *et al*.,1997
Fusarium graminearum	هیدرولیزات نشاسته	Singh,1998
مخمرهای دریایی	ضایعات پوسته میگو	Rhishipal and Philip,1998
مخلوطی از مخمرها	ضایعات و پساب فرآوری لبنی	Saliceti-piazza *et al*.,1992
Paecilomyces variolii	پساب سولفیت	Singh,1995
Penicillium cyclopium	آب پنیر	Kim and Lebeault,1981
Penicillium roqueforti p. camemberti	پوست لیمو	Scerra *et al*.,1999
Pichia pastoris	متانول	Wagner,1990
Saccharomyces cereviceae	ملاس	Singh , 1998
Schwanniomyces occidentalis	نشاسته	Deibel *et al*., 1988
Scytalidium acidophilm	پساب کاغذ	Invarson and Morita.1982
Ttichoderma album	_	Staron,1981
Trichoderma reesi , Kluyveromyces marxianus	تفاله چغندر	Ghanem , 1992
White rot fungi	تفاله نیشکر	Zadrazil and puniya,1995
مخمر	پساب با منشاء گیاهی	Chanda and chakrabarti 1996

٦ ـ ١ ـ ١ ـ مکانیسم تولید پروتئین تک یاخته

بطور کلی SCP با کشت میکروارگانیسم های مختلف بر روی منابع متفاوت از جمله ضایعات کشاورزی و یا پساب های صنعتی تولید می گردد. تولید بیوماس میکروبی با استفاده از فرآیند تخمیر در شرایط جامد و یا غوطه ور انجام میگردد. بعد از تخمیر ، بیوماس میکروبی با انجام فرآیندهایی نظیر شستشو ، تخریب سلولی و سانتریفوژ استخراج شده و در نهایت خالص سازی میگردد(Griffits 1992).

چرخه تولیدSCP عموما طی مراحل ذیل صورت می گیرد.

منابع اولیه محیطی

منبع ازت: نوع ازت مصرفی در خط تولید SCP عمدتا" از نوع آلی و یا معدنی بوده که ازت نوع اول عمدتا" بواسطه سازگاری با پروفیل جسمی ارگانیسم های کشت داده شده ، باعث رشد سریعتر در آنها خواهد شد.

منبع کربن: منبع تامین انرژی در موجوداتی که در تولید SCP بکار می روند اغلب از طریق اکسیداسیون مواد موجود در محیط کشت حاصل می شود. در بین میکروارگانیسمهای مورد استفاده، جلبکها استثنا بوده و از طریق نور خورشید، انرژی مورد نیاز جهت فعالیتهای بیوشیمیائی را دریافت می کنند. نوع منبع کربنی انتخابی در فرآیند تولید SCP ، تاثیر مستقیم بر تولید محصول و در نتیجه قیمت تمام شده آن خواهد داشت (Liu *et al*., 1995).

مواد معدنی : میکروارگانیسم های مورد استفاده در تولیدSCP ، به مقادیر متفاوتی از املاح معدنی نظیر گوگرد، فسفر ، منیزیم و همچنین عناصر کمیاب مثل روی، آهن ، مس، منگنز، کبالت ، بر و مولیبدن نیاز دارند (Liu *et al*., 1995).

آب : به دلیل اینکه آب یکی از ارکان مهم محیط رشد میکرو ارگانیسمها را تشکیل می دهد بایستی از کمیت و کیفیت کافی برخوردار باشد (Liu *et al*., 1995).

تامین اکسیژن: با توجه به اینکه اغلب ارگانیسمهای مورد استفاده در تولید پروتئین تک یاخته در شرایط هوازی قادر به ادامه فعالیت هستند، بایستی نسبت به تامین مقادیر کافی اکسیژن از طریق نصب سیستم های هواده در چرخه تولید اقدام نمود (Liu *et al*., 1995).

سیستم تخمیر: سیستم تخمیر در واقع محفظه ایی با شرایط قابل کنترل بوده که در آن فرآیند رشد و تکثیر میکروارگانیسمها و در واقع تخمیر صورت میگیرد. محفظه تخمیر را اصطلاحاً بیوراکتور و یا فرمانتور می گویند. در این محفظه شرایط طوری تنظیم می شود که میکروارگانیسم ها در حداقل زمان ممکن و با صرف حداقل مواد مغذی محیطی نظیر مواد آلی و معدنی، به حداکثر توده سلولی خود برسند (Ahmad *et al*., 1995 ; Liu *et al*., 1995) .

سیستم استریل: عمل استریل با استفاده از حرارت خشک و مرطوب ، اشعه ماورای بنفش ، اشعه ایکس ، گاما ، محلولهای شیمیائی و یا روش فیلتراسیون صورت می گیرد (Liu *et al*., 1995; Corbett 1985).

جداسازی میکروارگانیسم ها از محیط کشت

بعد از پایان یافتن مرحله تخمیر ، اولین مرحله، جداسازی مواد جامد معلق بوده که اکثر سلولها را شامل می‌شود ، اگرچه در مواردی ، آنزیمها و دیگر متابولیت ها در این گروه قرار میگیرند (Liu *et* al., 1995).

در جدول ۷ برخی از خصوصیات میکروارگانیسمها که در عمل جداسازی موثرند ، نشان داده شده است.

جدول ۷: خصوصیات فیزیکی برخی از میکروارگانیسمها(Akman 1980; Anupama *et al*., 2000)

صفت	باکتری	مخمر	قارچ
شکل	کروی/میله ایی/زنجیره ایی	کروی/بیضی/رشته ایی	رشته ایی
اندازه(میکرومتر)	۳-۰/۵	۱-۵۰	۵-۱۵ (قطر) ۵۰۰-۵۰(طول)
وزن مخصوص	۱/۰۵-۱/۱	۱/ ۰۵-۱/۱	۱/۰۵-۱/۱
وزن سلولی (گرم)	۱۰-۱۲	۱۰-۱۱	-

خشک کردن

به منظور ایجاد شکل مقاوم و مناسب جهت انتقال و نگهداری فرآورده های بیولوژیک ، از روش خشک کردن استفاده میگردد. بدین منظور از روشهایی استفاده میشود که با حداقل افزایش درجه حرارت ، آب موجود را از فرآورده جدا نمایند. در برخی از موارد،با اضافه کردن مقداری شکر و یا سایر مواد تقویت کننده خنثی به فرآورده های تولیدشده (مانند آنزیمها و یا محصولات دارویی)، مقاومت حرارتی آنها را افزایش میدهند. انتقال حرارتی به روش تماسی (مستقیم) ، کنوکسیون (انتقال از طریق گازها) ، تابشی (انتقال به کمک اشعه) و یا مجموعه ایی از این روشها انجام میگیرد (Liu *et al*., 1995).

۷ ـ ۱ ـ ۱ ـ منابع انرژی متداول در تولید SCP

از اهم منابع تامین کربن در فرآیند تولید پروتئین از میکروارگانیسم ها ، ترکیبات مختلف هیدروکربنی بوده که به دو گروه منابع هیدرو کربنی فسیلی و منابع هیدروکربنی غیر فسیلی نظیر ملاس ، آب پنیر ، لیکور سولفیت تقسیم بندی میشوند.

ملاس

ملاس سرشار از قند ساکارز بوده که از لحاظ اقتصادی و در شرایط معمول ، استخراج آن مقرون به صرفه نمی باشد. این ماده جزء فرآورده های فرعی کارخانجات قند و شکر بوده و از چغندر قند و نیشکر تولیدمی شود. میزان خاکستر ملاس در حدود ۱۳-۱۲ درصد بوده که عناصر کلر ، کلسیم و پتاسیم بیشترین درصد آن را

تشکیل می دهند. در بین عناصر معدنی کمیاب ، مقدار کبالت نسبت به سایر عناصر بیشتر میباشد. ویتامینهای موجود در ملاس، بیشتر از نوع ویتامینهای محلول در آب میباشند.

مزایای کاربرد ملاس در مقایسه با مواد نفتی در تولید پروتئین تک یاخته:

الف . با توجه به حلالیت بیشتر قند ملاس در آب ، سرعت رشد و بازده کار بالاتر است.

ب. بواسطه اینکه ملاس براحتی به اجزاء اولیه خود قابل تجزیه است ، فرآورده نهایی فاقد ماده اولیه (خود ملاس) میباشد.

ج. با توجه به تولید داخلی بسیار بالای ملاس ، میتوان از آن بعنوان مکمل غذایی ، خواه به شکل مستقیم و یا غیر مستقیم، در تغذیه دام و طیور استفاده نمود(Anupama *et al*., 2000).

گازوئیل

برخی از موجودات تک سلولی خصوصاً باکتریها قادر به رشد بر روی مشتقات نفتی از جمله گازوئیل میباشند. عموما میکروارگانیسمها ، هیدروکربنهایی با نقطه جوش بالاتر را بهتر جذب می کنند، به بیان دیگر هر چه مقدار کربن در زنجیره آلکان بیشتر باشد، بهتر مورد استفاده موجودات تک سلولی قرار می گیرد. هیدرو کربنهای مایع که در تولید پروتئین تک یاخته مورد استفاده قرار میگیرند، حاوی ۲۰-۱۰ اتم کربن هستند (Anupama *et al*., 2000).

محقیقن پدیده تجزیه پارافینهای نرمال با فرمول کلی $C_nH_{2n}+2$ را در نفت گاز با استفاده از میکروارگانیسمهای مختلف مورد تجزیه و تحلیل قرار داده و به این نتیجه رسیدند که درصد پروتئین خام و ویتامین های موجود در مخمرهایی که بر روی نفت گاز کشت داده شده اند بیشتر از آنهایی است که بر روی سایر محیط کربنی کشت داده شدند. مخمر کاندیدا تروپیکالیس جزء اولین گروههای تک سلولی بوده که برروی پارافین نرمال کشت داده شد (Anupama *et al*., 2000).

سلولز

سلولز جزء قندهای پلی ساکاریدی بوده و میکروبهای مختلف بواسطه دارا بودن آنزیم سلولاز قادر به تجزیه آن به قندهای ساده تر نظیر گلوکز میباشند. امروزه در صنعت تولید فرآورده های تخمیری، در طی فرآیندهای خاص با استفاده از خاک اره و ضایعات صنایع چوب نسبت به تولید پروتئینهای تک یاخته اقدام می شود (Callihan et al 1979 و آشورنیا ۱۳۸۳)

سولفیت مایع

این ماده حاصل هیدرولیز اسیدی ـ گرمایی چوب ، تحت فشار و در حضور بی سولفیت یا اسید سولفورو است . در این سیستم به ازای هر تن سلولز حدود ۸-۶ متر مکعب سولفیت مایع تولید می گردد. در این سیستم تولید SCP از طریق رشد و تکثیر کاندیدا اوتیلیس انجام می گیرد. این سویه قادر است بخوبی گلوکز ، سلولز و D ـ گزیلوز را مورد استفاده قرار دهد . هر چند که تولیدات هیدرولیزی مواد سلولزی دارای مقادیر زیادی ناخالصی غیرمفید میباشند، با این وجود مایع سولفیت به عنوان ماده اولیه در تولید مخمر بکار برده میشود. این ماده بوسیله مخمرها مصرف شده و از محیط حذف می گردد (Gtuven *et al*., 1989).

متانول

متانول به عنوان یک ماده اولیه اقتصادی و فراوان در تولید پروتئین تک یاخته مطرح میباشد. مقادیر قابل توجهی از گاز متان از جایگاههای تولید مواد نفتی بعنوان ضایعات بدست می آید. تبدیل متان به متانول به کمک بعضی واکنشهای شیمیائی مناسب، براحتی و با قیمت ارزان انجام می گردد. البته متانول از منابع دیگری مثل فاضلابها و منابعی نظیر زغال سنگ ، نفت خام ، چوب و گازوئیل هم حاصل می شود(Bornstain *et al*., 1982 ;Anupama *et al*., 2000).

آب پنیر

در صنعت پنیر سازی ، آب پنیر محصول فرعی بوده و در مقادیر بسیار بالایی تولید میشود. مقدار تولید آب پنیر در جهان در سالهای اخیر تقریبا ۱۲۰ میلیون تن برآورد شده است. تکثیر برخی از مخمرها نظیر کلاوورومایسس مارکسیانوس (*Kluyveromyces marxianus*) بر روی آب پنیر منعقد شده، باعث تبدیل مواد قندی آن به پروتئین تک یاخته شده است. پودر خشک حاصله سرشار از پروتئین بوده و حاوی مقدار زیادی اسید آمینه گوگرد دار تریپتوفان می باشد. معمولا توده های سلولی تولید شده با ماده اولیه آب پنیر، به منظور مصرف انسانی مورد استفاده قرار میگیرند(Galvez *et al*., 1990 ; Moeini *et al*., 2004).

متان

قسمت اعظم گاز طبیعی را متان تشکیل داده و بعنوان ماده اولیه در تولید SCP مطرح میباشد.

مزایای کاربرد متان در تولید پروتئین تک یاخته شامل موارد ذیل است:

الف: به مقدار زیاد و خالص در دسترس بوده و دارای بهای کمتری نسبت به سایر منابع هیدروکربن می باشد.

ب- این ماده براحتی در مخزن تخمیر تجزیه و مورد استفاده قرار می گیرد و در فرآورده نهائی باقی نمی ماند.

از عیوب قابل توجه بکارگیری از متان در تولید SCP میتوان به نکات ذیل اشاره نمود:

رشد میکروارگانیسمها در محیط متان به کندی انجام می گیرد. البته شاید بتوان میزان کم رشد را با افزایش تراکم در مخزن تخمیر جبران نمود(Yazdian *et al*., 2005).

۸ ـ ۱ ـ ۱ ـ ماهی فیتوفاگ

تولید کپور ماهیان پرورشی در کشور در سال ۱۳۸۴ ، در حدود ۷۳۳۹۶ تن بوده و پیش بینی های شیلات حاکی از آن است که میزان تولید این ماهیان تا ۵ سال آینده به ۱۰۰۰۰۰ تن برسد. در بین کپور ماهیان، ماهی کپور نقره ای یا فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) بیشترین صید را به خود اختصاص داده و ۶۵ درصد از کل کپور ماهیان متعلق به این ماهی می باشد. ضایعات مربوط به سر و دم و امعاء و احشاء ماهیان پرورشی در حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد بوده که با توجه به صید آنها بین ۷۳۳۹ تا ۱۱۰۰۹ تن مربوط به ضایعات آن بوده و با توجه درصد صید فیتوفاگ، میزان ضایعات آن نیز بین ۴۷۷۰ تا ۷۱۵۵ تن خواهد بود. امعاء و احشاء تولید شده یا دور ریخته شده و یا آنکه جمع آوری شده و سپس به پودر ماهی و بعنوان ماده افزودنی به جیره غذایی دام، طیور و آبزیان اضافه میشود(معاونت صید و صیادی ۱۳۸۵).

۹ ـ ۱ ـ ۱ ـ تون ماهیان

تون ماهیان وگونه های وابسته به آن تنها ازیک خانواده Scombridae تشکیل یافته اند که دارای ۱۵ جنس و ۴۹ گونه می باشند. از مهمترین گونه های این گروه میتوان به گیدر ، هوور ، هوور مسقطی ، تون منقوس ، زرده، شیر و قباد اشاره نمود. به منظور تولید کنسرو ماهی تون عموماً از ماهیان گونه گیدر ، هوور و هوور مسقطی استفاده میگردد(دریانبرد و همکاران ۱۳۸۳). میزان تولید تون ماهیان در سال ۱۳۸۴ در حدود ۱۶۵۴۲۰ تن بوده که سهم سه گونه مورد استفاده در تولید کنسرو ۱۴۲۷۵۰ تن میباشد(جدول شماره ۱ ضمیمه). اگر ضایعات مربوط به این گونه ها بین ۲۰ تا ۲۵ درصد در نظر گرفته شود(ضایعات مربوط به سر و دم و امعاء و احشاء) ضایعات تولید شده بین ۲۸۵۵۰ و ۳۵۶۸۷ تن خواهد بود. ضایعات حاصله، مانند ماهیان پرورشی، جمع آوری شده و به پودر تبدیل میگردد. اگر ضایعات تولید شده بطور صحیح مدیریت شده و بعنوان سوبسترا غنی از

پروتئین جمع آوری شده و پس از آماده سازی اولیه و هضم های شیمیایی یا آنزیمی به یک بیوراآکتور بیولوژیک هدایت گردد میتوان محصولات متنوع با پایه میکروبی تولید نمود و با اهداف گوناگون نیز مورد استفاده قرار داد(معاونت صید و صید صیادی ۱۳۸۵).

۱۰ ـ ۱ ـ ۱ ـ آب پخت

از مواد و پساب ثانویه تولیدی در کارخانجات تولید کننده کنسرو ماهی تن میتوان به آب پخت تولید شده در مرحله اتوکلاو نمودن قوطیهای کنسرو اشاره نمود که با استفاده از لوله های رابط به محیط اطراف ریختنه شده و یا وارد پساب خروجی میشود. آب پخت تولید شده حاوی درصدی پروتئین بوده ولی میزان پروتئین آن قابل مقایسه با امعاء و احشاء نمی باشد. این سوبسترا نیاز به آماده سازی اولیه جهت تلقیح میکروبی نداشته و با آداپتاسیون اولیه ، میتوان میکروب یا میکروبهای اختصاصی را تلقیح نموده و در نتیجه پروتئین میکروبی تولید نمود. اطلاعات اولیه نشان میدهد که متوسط تولید آب پخت در کارخانجات کنسرو ماهی بطور متوسط بین ۱۵۰ تا ۳۰۰ لیتر در روز بوده که با جمع آوری آنها میتوان حجم بسیاری زیادی از آن را بعنوان سوبسترا در اختیار میکروارگانیسم قرار داده و با طراحی بیوراکتور ساده و غنی نمودن محیط کشت میکروبی توسط سایر مواد هیدروکربنی ، پروتئین میکروبی با کیفیت بالا تولید نمود.

هدف از اجرای این پروژه استفاده از ضایعات آبزیان دریایی و پرورشی (امعاء و احشاء ماهی تون و فیتوفاگ و همچنین آب پخت کارخانجات تولید کننده کنسرو ماهی تون) بعنوان سوبسترای اولیه در جهت تولید پروتئین میکروبی و استفاده از میکرارو گانیسمهای مختلف مثل مخمر و باکتری در جهت تولید پروتئین تک یاخته میباشد.

۲ ـ مواد و روش کار

۱ ـ ۲ ـ مواد و دستگاههای مورد استفاده

۱- دستگاه انکوباتور شیکردار (مدل JTSL ۲۰ - شرکت ژال تجهیز)

۲- دستگاه سانتریفوژ یخچالدار (مدل N۱۰۳-H – شرکت Kokusan)

۳- بن ماری شیکردار (مدل BSL ۲۲ - شرکت اختریان)

۴- ترازو دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ (مدل D&A)

۵- اتوکلاو (شرکت ALP)

۶- انکوباتور معمولی (شرکت دنا)

۷- دستگاه میکسر

۸- هود میکروبیولوژی کلاس II (شرکت آرش آزما)

۹- میکروسکوپ نوری(مدل Nikon)

۱۰- آون (شرکت بهداد)

۱۱- دستگاه فرمانتور CSTR به همراه قطعات و وسایل جانبی(شرکت Flo In آمریکا)

۱۲- دستگاه لیوفیلیزه یا فریز درایر (شرکت ژال تجهیز)

۱۳- دستگاه اسپکتروفتومتر(مدل ۱۰۲۰- شرکت Ciecil)

۱۴- دستگاه سوکسله و شیشه آلات جانبی

۱۵- سمپلر در اندازه های مختلف(Ependorf)

۱۶- فیلترهای ۰/۴۵ و ۰/۲۲

۱۷- روغن سیلیکون بعنوان ماده ضد کف(Merck)

۱۸- آنزیم های پروتامکس و فلیورزیم(Merck)

۱۹- پپسین(Merck)

۲۰- اسید فرمیک(Merck)

۲۱- معرفهای رنگ آمیزی(Merck)

۲۲- محیطهای کشت میکروبی(Merck)

۲۳- مواد و معرفهای شیمیایی جهت اندازه گیری پروتئین(Merck & Oxoide)

۲۴- امعاء و احشاء ماهیان تن و فیتوفاگ

۲۵- آب پخت کارخانجات کنسرو ماهی تن

۲۶- آنتی اکسیدان

۲۷- شیشه آلات و سایر لوازم مصرفی

۲۸- پروپیلن گلیکول(Merck)

۲۹- سوشهای لیوفیلیزه میکروبها(مرکز قارچها و باکتریهای صنعتی و عفونی ایران)

۲ ـ ۲ ـ نمونه های مورد بررسی

نمونه های مورد بررسی شامل امعاء و احشاء دو نوع ماهی فیتو فاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*)و ماهیان تن از گونه های هوور(*Thannus tonggol*) ، گیدر (*Thannus albacares*) و هوور مسقطی (*Katsuwonus pelamis*)و آب پخت تولید شده در کارخانجات تولید کننده کنسرو ماهی تن بوده است. نمونه برداری از کارخانجات تولید کننده کنسرو در شهرک های میرود و امیر آباد استان مازندران انجام گرفته و برای تهیه امعاء و احشاء ماهی فیتو فاگ نیز به مزارع پرورش ماهیان گرمابی ساری مراجعه گردید. پس از انتقال امعاء و احشاء و آب پخت به آزمایشگاه ، ابتدا روند آماده سازی نمونه ها انجام گرفته سپس تولید پروتئین تک یافته در دو مقیاس آزمایشگاهی و فرمانتور مورد ارزیابی قرار گرفت.

۳ ـ ۲ ـ آماده سازی نمونه های امعاء و احشاء

نمونه های امعاء و احشاء با استفاده از تیمارهای آنزیمی و اسیدی آماده سازی شده و سپس مورد ارزیابی تکمیلی قرار گرفتند. قبل از انجام تیمار آنزیمی یا اسیدی، امعاء واحشاء از نظر ارزش غذایی مورد آزمایش قرار گرفتند (رطوبت ، پروتئین ، خاکستر و چربی).

۱ ـ ۳ ـ ۲ ـ تیمار آنزیمی

ابتدا امعاء و احشاء دو ماهی را بطور مجزا چرخ کرده و هم حجم آن از آب مقطر استفاده گردید. پس از بهم زدن و تهیه ماده همگن ، دمای آن را افزایش داده(55-50 درجه سانتیگراد) که این عمل با استفاده از قرار دادن نمونه در بن ماری جوش انجام گرفت. pH نمونه در این مرحله در دامنه ۷/۲-۶/۸ تنظیم گردید. پس از رسیدن دمای نمونه به ۵۵ درجه ، از دو آنزیم پروتوماکس و فلیورزیم به میزان ۰/۱ درصد به منظور هیدرولیز آنزیمی و همچنین از بین رفتن بوی ماهی استفاده گردید. پس از اضافه نمودن آنزیم ، دما در محدوده ۵۵ درجه سانتیگراد بمدت ۴-۲ ساعت تنظیم شده تا هضم پروتئین بطور کامل انجام گرفته که این فرآیند با جدا شدن دو لایه کاملا

متمایز از یکدیگر ، مشخص میگردید. بعد از کامل شدن هیدرولیز آنزیمی ، دما را تا ۹۵ درجه سانتیگراد افزایش داده و زمان مورد نیاز برای این مرحله ۵ دقیقه در نظر گرفته شد. این تیمار حرارتی به منظور غیر فعال نمودن آنزیمهای مورد استفاده لحاظ شد. به منظور جدا نمودن محلول هموژن از رسوب ناشی از هیدرولیز، از دکانتور استفاده شده و محلول هموژن جدا گردید. محلول فوق جهت آزمایشهای تولید SCP مورد استفاده قرار گرفت (Gildberg 1992).

۲ ـ ۳ ـ ۲ ـ تیمار اسیدی

پس از چرخ نمودن امعاء و احشاء، از اسید فرمیک ۷۵ درصد آمونیه شده به میزان ۳/۵ درصد وزن نمونه (به منظور یکنواخت کردن نمونه) استفاده شد. بعد از این مرحله، پپسین خام به میزان ۱ گرم در کیلوگرم به نمونه اضافه شده و مخلوط آنتی اکسیدان ابتدا در پروپیلن گلیکول حل شده و به میزان ۰/۰۱درصد به مخلوط اولیه اضافه گردید. مخلوط حاوی آنتی اکسیدان بمدت ۱۶ ساعت در دمای ۲۵ درجه قرار داده شده و بطور مداوم هم زده شد تا آنزیم در تمام قسمتهای آن نفوذ کند. بعد از اتمام زمان مورد نظر ، از هیدروکسید سدیم خشک به منظور غیر فعال نمودن آنزیم پپسین استفاده گردید(تمدنی ، ۱۳۸۱ و Ferrer *et al*., 1996)

۳ـ ۳ـ ۲ ـ میکرو ارگانیسمهای مورد استفاده

در این پروژه از ۶ جنس و گونه مخمر شامل کاندیدا اوتیلیس(*Candida utilis*) ، ساکارومیس سرویزیه (*Saccharomyces cerevisia*) ، رودوتورولا گلوتیس(*Rhodotorula glutinus*)، کلاوروماسس ماریکسانسوس (*Klyveromyces marxianus*)، زیگوساکارومیس روکسیی (*Zygosaccharomyces rouxii*)، ساکارومیس کارلبرجنسیس(*Saccharomyces carlsbergensis*) و ۲ گونه از باسیلوس شامل سوبتی لیس (*Bacillus subtilis*)و لیکنوفورمیس(*B.liceniformis*)استفاده گردید. مخمرها و باکتریهای مورد استفاده همگی از موسسه بیوتکنولوژی عصر انقلاب مرکز پژوهشهای علمی و صنعتی ایران (مرکز کلکسیون باکتریها و قارچها) تهیه گردیدند.

٤ ـ ۳ ـ ۲ ـ مرحله آداپتاسیون

به منظور آداپتاسیون باکتریها و مخمرهای شاخص، ابتدا نسبت‌های مختلفی از آب پخت و یا امعاء و احشاء هموژن با آب مقطر تهیه شده (نسبت آب پخت و امعاء و احشاء به آب مقطر به ترتیب ۱۰۰ به ۴۰۰ ، ۲۰۰ به ۳۰۰ ، ۳۰۰ به ۲۰۰ ، ۴۰۰ به ۱۰۰ و نمونه خالص و فاقد آب مقطر بود). میکروبهای رشد یافته در نسبتهای اولیه به نسبتهای بعدی انتقال یافته و بدین ترتیب مرحله آداپتاسیون کامل گردید.

الف - مقیاس آزمایشگاهی

به منظور تولید SCP در شرایط آزمایشگاهی ، از تیمارها و تکرارهای مختلفی استفاده شده و روند آزمایش در زمانهای مختلف و تا حداکثر زمان ۵۳ ساعت مورد آزمایش قرار گرفت. تیمارهای لحاظ شده شامل ۵ تیمار میکروبی (کاندیدا اوتیلیس ، ساکارومیسس سرویزیه ، مخلوط مخمرها ، باسیلوس لیکنوفورمیس و باسیلوس سوبتی لیس)، pH (دو pH ۵/۴ و ۶ برای مخمرها و دو pH ۶/۵ و ۶/۹ برای باسیلوسها) ، زمان انکوباسیون (از زمان صفر تا ۵۳ ساعت بواصل زمانی هر ۶ ساعت) ، دما (دو دمای ۲۵ و ۳۰ برای مخمرها و دو دمای ۳۰ و ۳۵ برای باکتریها)و سوبسترای اختصاصی (استفاده از مالت براث و ترپیتوز سویا براث به ترتیب برای مخمرها و باکتریها بهمراه محیط اختصاصی اولیه) بودند. بعد از اضافه کردن دوز ۵ درصد از میکروبها به محیط های اختصاصی، نمونه ها بر روی انکوباتور شیکردار قرار داده شده و در زمانهای صفر تا ۵۳ ساعت از نظر تغییرات پروتئینی و میکروبی(قرائت جذب نوری در طول موج ۶۲۰ نانومتر) مورد ارزیابی قرار گرفتند. پس از رسیدن میکروب به فاژ ثابت (ثابت ماندن میزان جذب آن) واکنش متوقف شده و عمل استخراج انجام شد. به منظور استخراج اولیه SCP از سانتریفوژ یخچالدار با دور ۵۰۰۰ بمدت ۱۵-۱۰ دقیقه استفاده و پس از دور ریختن مایع رویی، رسوب پروتئین جمع آوری شده و سپس لیوفیلیزه گردید. عمل لیوفیلیزه با استفاده از دستگاه فریز درایر و در دانشگاه مازندران انجام گرفت. پروتئین میکروبی تولید شده به مانند نمونه اولیه از نظر درصد رطوبت ، پروتئین و خاکستر مورد آزمایش قرار گرفت.

(Ferrer *et al*., 1996 ; Kurbanoglu *et al*., 2002; Ogbonda *et al*., 2007 ; Rhishipal *et al*., 1998 ; Shipman *et al*., 1975) .

تیمارهای مورد استفاده در مرحله آزمایشگاهی شامل موارد ذیل بوده است:

۱- مخمر کاندیدا اوتیلیس، دمای ۳۲ درجه ، دوز مورد استفاده ۵ درصد ، pH = ۵/۴ ، سوبسترای اختصاصی

۲- مخمرساکارومیسس سرویزیه ، دمای ۳۲ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۵/۴ ، سوبسترای اختصاصی

۳- مخلوط مخمرها ، دمای ۳۲ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۵/۴ ، سوبسترای اختصاصی

۴- مخمر کاندیدا اوتیلیس، دمای ۳۲ درجه ، دوز ۵ درصد، pH = ۵/۴ ، سوبسترای اختصاصی + ۵۰ درصد محیط کشت تجاری

۵- مخمر ساکارومیسس سرویزیه ، دمای ۳۲ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۵/۴ ، سوبسترای اختصاصی + ۵۰ درصد محیط کشت تجاری

۶- مخلوط مخمرها ، دمای ۳۲ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۵/۴ ، سوبسترای اختصاصی + ۵۰ درصد محیط کشت تجاری

۷- مخمر کاندیدا اوتیلیس ، دمای ۲۵ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۶ ، سوبسترای اختصاصی

۸- مخمر ساکارومیسس سرویزیه ، دمای ۲۵ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۶ ، سوبسترای اختصاصی

۹- مخلوط مخمرها ، دمای ۲۵ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۶ ، سوبسترای اختصاصی

۱۰- مخمر کاندیدا اوتیلیس ، دمای ۲۵ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۶ ، سوبسترای اختصاصی+ ۵۰ درصد محیط کشت

۱۱- مخمر ساکارومیسس سرویزیه ، دمای ۲۵ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۶ ، سوبسترای اختصاصی+ ۵۰ درصد محیط کشت

۱۲- مخلوط مخمرها ، دمای ۲۵ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۶ ، سوبسترای اختصاصی+ ۵۰ درصد محیط کشت

۱۳- باسیلوس لیکنوفورمیس ، دمای ۳۵ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۶/۹ ، سوبسترای اختصاصی

۱۴- باسیلوس سوبتی لیس ، دمای ۳۵ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۶/۹ ، سوبسترای اختصاصی

۱۵- باسیلوس لیکنوفورمیس ، دمای ۳۵ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۶/۹ ، سوبسترای اختصاصی+ ۵۰ درصد محیط کشت

۱۶- باسیلوس سوبتی لیس ، دمای ۳۵ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۶/۹ ، سوبسترای اختصاصی+ ۵۰ درصد محیط کشت

۱۷- باسیلوس لیکنوفورمیس ، دمای ۳۰ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۶/۵ ، سوبسترای اختصاصی

۱۸- باسیلوس سوبتی لیس ، دمای ۳۰ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۶/۵ ، سوبسترای اختصاصی

۱۹- باسیلوس لیکنوفورمیس ، دمای ۳۰ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۶/۵ ، سوبسترای اختصاصی+ ۵۰ درصد محیط کشت

۲۰- باسیلوس سوبتی لیس ، دمای ۳۰ درجه ، دوز ۵ درصد ، pH = ۶/۵ ، سوبسترای اختصاصی+ ۵۰ درصد محیط کشت

ب- مقیاس پایلوت یا فرمانتور

به منظور انجام آزمایشات در مقیاس پایلوت یا فرمانتور از فرمانتور (Continuously Stirred Tank Reactor) CSTR استفاده شده و سیستم مورد استفاده از نوع هوازی بوده است. این قسمت از آزمایش در کارخانه آنتی بیوتیک سازی ایران انجام گرفت. در مقیاس پایلوت نیز از میکروارگانیسم مورد استفاده در شرایط آزمایشگاهی (با اندکی تغییر) مجددا استفاده گردید با این تفاوت که دراین حالت تمامی فاکتورها بطور دقیق قابل کنترل بودند. فاکتورهای دخیل در فرمانتور شامل pH و دما (مشابه مقیاس آزمایشگاهی) ، میزان دور همزن یا ایمپلیر در دقیقه یا rmp (۳۰۰ و ۶۰۰ دور در دقیقه برای هر دو گروه)، Flow rate یا میزان ورودی هوا (۱۵ میلی لیتر در دقیقه برای هر دو گروه)، PO_2 یا غلظت اکسیژن محلول در هنگام آزمایش (۳۲ برای هر دو گروه) و روغن سیلیکون بعنوان آنتی فوم یا ضد کف بودند. پس از تنظیم فاکتورهای ذکر شده و تلقیح میکروارگانیسم با تیمار ۵ درصد، واکنش آغاز شده و بفواصل زمانی هر ۳ ساعت، دو نمونه جهت ارزیابی میزان OD یا میزان جذب ارگانیسم ها و تغییرات پروتئینی اخذ شده که نمونه اولی پس از رقیق سازی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در جذب ۶۲۰ نانومتر قرائت شده و نمونه دومی نیز با استفاده از صافی ۰/۴۵ فیلتر شده و درصد پروتئین در مایع فیلتر شده با استفاده از روش ماکروکجلدال اندازه گیری شد (روش اندازه گیری توده میکروبی و تغییرات پروتئین در فازهای آزمایشگاهی و فرمانتور مشابه بوده است). مانند روش آزمایشگاهی، پروتئین میکروبی، استخراج شده و لیوفیلیزه گردید. ارزش غذایی پروتئین تولید شده در این مرحله با روش آزمایشگاهی مقایسه شده و از نظر آماری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (Ferrer *et al*., 1996 ; Kurbanoglu *et al*., 2002; Ogbonda *et al*., 2007 ; Rhishipal *et al*., 1998 ; Shipman *et al*., 1975 ;Ahmad *et al*., 1995). تیمارهای مورد استفاده در مرحله فرمانتور یا پایلوت شامل موارد ذیل بوده است:

۱- مخمر کاندیدا اوتیلیس ، دمای ۳۲ درجه ، دوز مورد استفاده ۵ درصد ، pH = ۵/۴ ، rpm =۶۰۰ ، سوبسترای اختصاصی

۲- مخلوط مخمرها ، دمای ۳۲ درجه ، دوز مورد استفاده ۵ درصد ، pH = ۵/۴ ، rpm =۶۰۰ ، سوبسترای اختصاصی

۳- مخمر کاندیدا اوتیلیس ، دمای ۳۲ درجه ، دوز مورد استفاده ۵ درصد ، pH = ۵/۴ ، rpm =۳۰۰ ، سوبسترای اختصاصی

۴- مخلوط مخمرها ، دمای ۳۲ درجه ، دوز مورد استفاده ۵ درصد ، pH = ۵/۴ ، rpm =۳۰۰ ، سوبسترای اختصاصی

۵- باسیلوس لیکنوفورمیس، دمای ۳۵ درجه ، دوز مورد استفاده ۵ درصد ، pH = ۶/۹ ، rpm =۶۰۰ ، سوبسترای اختصاصی

۶- باسیلوس لیکنوفورمیس، دمای ۳۵ درجه ، دوز مورد استفاده ۵ درصد ، pH = ۶/۹ ، rpm =۳۰۰ ، سوبسترای اختصاصی

تصویر ۱ : نمایی از فرمانتور CSTR و قسمتهای مختلف

۵ ـ ۳ ـ ۲ ـ آنالیز پارامترهای شیمیایی

۱ ـ ۵ ـ ۳ ـ ۲ ـ چربی کل

مقدار ۲۰ گرم از نمونه چرخ شده امعاء و احشاء به داخل دکانتور ۵۰۰ میلی لیتری منتقل شده و سپس ۱۶۰ میلی لیتر متانول و به همین میزان کلروفرم به دکانتور اضافه شد. با اضافه کردن آب مقطر به مجموعه فوق ، فازها از یکدیگر جدا گردیده (نسبت متانول ، کلروفرم و آب ۲: ۲: ۱/۶ بود) سپس لایه کلروفرمی محتوی چربی به وسیله دستگاه روتاری خارج شد . با خروج حلال و توزین مجدد بالن ، مقدار چربی نمونه ماهی بر حسب درصد محاسبه شد (Hollingworth *et al.*, 1990).

۲ـ ۵ـ ۳ـ ۲ـ رطوبت

حدود ۱۰- ۵ گرم از نمونه چرخ شده امعاء و احشاء ، در داخل آون یا دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرارگرفته و پس از ۴ ساعت از آن خارج و به داخل دسیکاتور انتقال یافت . نمونه پس از سرد شدن مجدداً توزین گردید و عمل خشک شدن تا زمانی ادامه یافت که تغییر وزن محسوسی در نمونه دیده نشده و در نهایت میزان رطوبت بر حسب درصد محاسبه شد (Hollingworth *et al.*, 1990).

۳ـ ۵ـ ۳ـ ۲ـ پروتئین کل

برای اندازه گیری پروتئین کل ، ۱ گرم امعاء و احشاء چرخ شده و ۸ گرم کاتالیزور پروتئین (شامل ۱۰۰ گرم سولفات سدیم یا پتاسیم و۱۰ گرم سولفات مس و ۱ گرم پودر سلنیوم) و ۲۰ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ را داخل بالن هضم کجلدال ریخته روی حرارت گذاشته شد ، درانتها مایع بی رنگی در ته بالن ماند. عمل هضم زیر محوطه سرپوشیده مجهز به وانتیلاتور انجام شد. به نمونه حاوی نمونه هضم ، ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر و سود ۵۰ درصد و متعاقب آن نیز ۵۰ میلی لیتر اسید بوریک وچند قطره معرف متیل رد اضافه شده و ارلن در زیر رفریژران محل تقطیر قرارداده شده به طوری که انتهای لوله متصل به رفریژران در حدود ۲ میلی لیتر در محلول اسیدی غوطه ور گردد . میزان نیتروژن آزاد درارلن جمع شده و وارد محلول اسیدی ۰/۱ نرمال شد. درانتها ، این عمل آنقدر ادامه یافت تا هیچگونه تغییر رنگی در لوله رفریژران مشاهده نشد . در پایان محتوای ارلن توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتر شده و بر اساس آن درصد پروتئین محاسبه شد(Hollingworth *et al.*, 1990).

٤ـ ۵ـ ۳ـ ۲ـ خاکستر

به کروزه آماده سازی و وزن شده در آون ، حدود ۵-۲ گرم نمونه اضافه کرده و بر روی شعله سوزانده شد بطوریکه در انتهای فرآیند ماده سیاهرنگی باقی ماند. ماده باقیمانده را به کوره (^{oc} ۵۵۰-۵۰۰) انتقال داده و عمل حرارت دادن تا حصول خاکستر سفید ادامه یافت. ماده حاصله را در داخل دیسیکاتور قرار داده و پس از سرد شدن ، وزن شده و در نهایت با استفاده از فرمول ، درصد خاکستر محاسبه شد (Hollingworth *et al.*, 1990).

٦ـ ۳ـ ۲ـ تجزیه و تحلیل آماری

به منظور مقایسه تیمارهای مختلف نظیر دما ، زمان ، نوع میکروارگانیسم و روش مورد استفاده آنها (منفرد و یا ترکیبی)، سوبسترای مورد استفاده ، pH ، دور همزن از تست آنالیز واریانس چند طرفه استفاده شده و در نهایت ارزش p تعیین گردید.

۳ ـ نتایج

نتایج آنالیز فاکتورهای غذایی نظیر پروتئین ، چربی ، رطوبت و خاکستر در امعاء و احشاء ماهیان تون (قبل از شروع فرآیند و بدون در نظر گرفتن نوع گونه) به ترتیب ۱۴/۱۲٪ – ۱۳/۲۵٪ ، ۷/۲٪ – ۶/۵٪ ، ۷۶/۰۱ ٪ – ۷۳/۳۱٪ و ۱/۳۸٪ – ۱/۱۱٪ ، در ماهی فیتوفاگ به ترتیب ۱۲/۸ ٪ ، ۶/۵۴٪ ، ۷۸/۲۳٪ و ۲/۰۱٪ و در آب پخت نیز به ترتیب ۸/۲– ۶/۵٪ ، ۱/۵ – ۱ ٪ ، ۸۶٪ و ۳ ـ ۱/۵٪ بوده است ($P<0.05$).

پس از انجام فرآیند ، بسته به نوع تیمار مورد استفاده (۲۰ تیمار در شرایط آزمایشگاهی و ۶ تیمار در شرایط فرمانتور) ، نتایج ترکیبات غذایی آنها متفاوت بوده است (جدول ۸). همانطوریکه در جدول نشان داده شده میانگین پروتئین و چربی در تیمارهای باکتریایی بیشتر از تیمارهای حاوی مخمر بوده ولی میزان رطوبت در پروتئین مخمری بیشتر از پروتئین باکتریایی بوده است. نتایج جدول ۸ نشاندهنده این موضوع نیز میباشد که با اضافه نمودن محیط کشت تجاری در کنار سوبستراهای اختصاصی ، درصد پروتئین تولید شده بیشتر بوده و از طرفی با تغییر دما و pH ، میزان پروتئین میکروبی نیز تغییر نشان داده است. نتایج میانگین و انحراف معیار فاکتورهای غذایی (پروتئین ، چربی ، خاکستر و رطوبت) در تیمارهای مخمری و قارچی به ترتیب در نمودارهای ۱ و ۲ آمده است.

جدول ۸ : تعیین ارزش غذایی پروتئینهای میکروبی تولید شده (مخمر و باکتری) در تیمارهای مختلف در مقیاس آزمایشگاهی(بر حسب درصد)($P<0.05$) (جدول ٤ ضمیمه)

پارامتر / تیمار	پروتئین	چربی	خاکستر	رطوبت	پارامتر / تیمار	پروتئین	چربی	خاکستر	رطوبت
تیمار۱	۵۸/۶	۷/۳۴	۰/۵۴	۴/۶	تیمار۱۱	۵۴/۲۶	۵/۹	۲/۳۲	۶/۲۵
تیمار۲	۵۳/۶	۶/۵۶	۱/۴۶	۵/۳	تیمار۱۲	۵۲/۸۳	۶/۲۱	۲/۲۱	۳/۱۴
تیمار۳	۶۰/۲۶	۷/۲۶	۱/۲۵	۳/۲۵	تیمار۱۳	۷۳/۲۶	۹/۰۲	۱/۷۳	۱/۲۶
تیمار ۴	۶۵/۲۵	۷/۲۹	۰/۵۶	۴/۲۵	تیمار۱۴	۷۰/۴۵	۸/۳۴	۰/۶۵	۱/۱۷
تیمار۵	۵۷/۲۹	۶/۸۵	۱/۲۹	۴/۴۵	تیمار۱۵	۷۶/۴۲	۸/۲۹	۱/۲۵	۱/۴۲
تیمار۶	۶۵/۲۱	۶/۴۹	۱/۶۷	۳/۷۲	تیمار۱۶	۷۲/۲۱	۸/۱۱	۱/۴۶	۱/۲۶
تیمار۷	۵۳/۱۱	۷/۴۲	۱/۲۶	۳/۲۹	تیمار۱۷	۷۱/۱۶	۸/۲۲	۱/۲۵	۱/۱۶
تیمار۸	۵۰/۲۶	۵/۲۹	۲/۲۸	۵/۱۱	تیمار۱۸	۶۸/۲۳	۸/۴۶	۱/۷۲	۱/۳۷
تیمار۹	۵۶/۱۶	۶/۱۹	۱/۴۶	۲/۲۹	تیمار۱۹	۷۴/۲۶	۸/۰۶	۱/۳۲	۱/۲۲
تیمار۱۰	۵۶/۴۹	۶/۲۶	۰/۹۲	۴/۲۷	تیمار۲۰	۷۰/۴۵	۸/۵۶	۱/۴۹	۱/۴۱

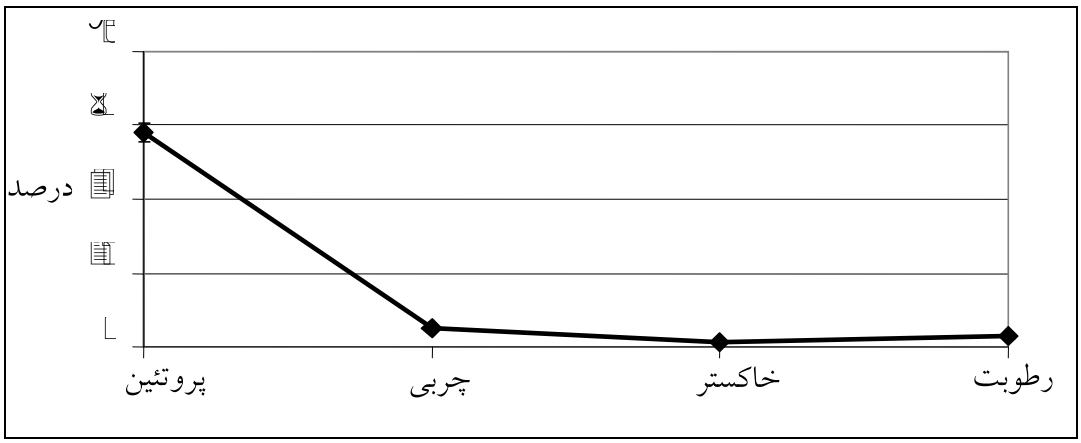
نمودار۱ : میانگین و انحراف معیار تغییرات پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت در پروتئین مخمری (فاز آزمایشگاهی)

نمودار۲: میانگین و انحراف معیار تغییرات پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت در پروتئین باکتریایی (فاز آزمایشگاهی)

نتایج آنالیز پروتئین میکروبی در فاز فرمانتور در جدول ۹ نشان داده شده است. نتایج این مرحله تقریبا" شبیه به فاز آزمایشگاهی بوده ولی با این وجود بهنگام افزایش دور همزن و تنظیم اکسیژن محلول در سوسپانسیون مربوطه ، میزان تولید بیشتر بوده است. بایستی یادآور شد که در سیستم فرمانتور، زمان لحاظ شده به منظور تولید پروتئین، ۲۱ ساعت بوده در صورتیکه این زمان برای فاز آزمایشگاهی ۵۴ ساعت بوده است. نتایج میانگین و انحراف معیار فاکتورهای غذایی (پروتئین ، چربی ، خاکستر و رطوبت) در تیمارهای مخمری و قارچی به ترتیب در نمودارهای ۳ و ۴ نشان داده شده است.

جدول ۹ : تعیین ارزش غذایی پروتئینهای میکروبی تولید شده (مخمر و باکتری) در تیمارهای مختلف در مقیاس فرمانتور (بر حسب درصد)($P<0.05$) (جدول ۱۱ ضمیمه)

پارامتر / تیمار	پروتئین	چربی	خاکستر	رطوبت
تیمار۱	۶۱/۲	۵/۳۱	۱/۵۱	۳/۱۶
تیمار۲	۵۷/۸	۴/۵۱	۱/۲۱	۴/۲۶
تیمار۳	۵۸/۲۱	۵/۲۶	۱/۴۱	۲/۱۱
تیمار ۴	۵۴/۴۶	۵/۴۱	۱/۱۲	۳/۳۵
تیمار۵	۷۶/۳۵	۴/۵۳	۱/۵۱	۱/۶۲
تیمار۶	۷۳/۲۴	۴/۴۱	۱/۱۳	۲/۰۴



نمودار۳: میانگین و انحراف معیار تغییرات پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت در رطوبت مخمری (فاز فرمانتور)

نمودار٤: میانگین و انحراف معیار تغییرات پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت در پروتئین مخمری (فاز فرمانتور)

میزان تولید پروتئین میکروبی در حضور امعاء و احشاء ماهی تون (۳۰ تا ۴۵ گرم به ازای یک لیتر از سوبسترای اختصاصی) بوده که این میزان بیشتر از امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ(۲۵ تا ۲۹ گرم به ازای یک لیتر از سوبسترا ی اختصاصی) و آب پخت (۱۰ تا ۱۵ گرم به ازای یک لیتر از سوبسترای اختصاصی) بوده است. هنگام استفاده از تیمارهای مختلف نظیر pH ، دما، تغییر دور همزن فرمانتور و هوادهی و افزودن سوبسترا اضافی، سرعت فرآیند تغییر یافته و در نتیجه بر میزان تولید محصول نهایی نیز تاثیر گذاشته است. برای مثال اضافه نمودن سوبسترای اضافی (۵۰ درصد محیط پایه میکروبی) ، نه تنها روند واکنش را سریعتر نموده بلکه میزان پروتئین میکروبی تولید شده را در زمان مشخص افزایش داده و به ترتیب ۵۲ تا ۵۵ گرم (امعاء و احشاء ماهی تون) ، ۳۲ تا ۳۶ گرم (امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) و ۲۰ تا ۲۶ گرم (آب پخت) رسانده است. نتیجه دیگر آنکه هنگام استفاده از فرمانتور، تولید محصول در زمان کوتاهتری انجام گرفته است(۲۱ ساعت) در صورتیکه در فاز آزمایشگاهی، این زمان ۵۴ ساعت بوده است. در تصاویر ۲ و ۳ ، نمونه هایی از پروتینهای میکروبی تولید شده نشان داده شده است.

تصویر ۲ : نمونه‌ای از پروتئین میکروبی لیوفیلیزه شده آب پخت

تصویر ۳ : نمونه‌ای از پروتئین میکروبی لیوفیلیزه شده امعاء و احشاء ماهی تن

نتایج آزمایشهای تغییرات پروتئین و OD در دو مقیاس آزمایشگاهی و فرمانتور انجام گرفته که با جزیئات بیشتر در ذیل توضیح داده میشود.

فاز آزمایشگاهی

تعداد نمونه های مورد استفاده در مقیاس آزمایشگاهی برای سوبستراهای اختصاصی (۳ تیمار) هر کدام ۱۶۰ نمونه ، برای میکروارگانیسمهای مورد استفاده (۵ تیمار) هر کدام ۹۶ نمونه ، برای سوبستراهای اضافه (۲ تیمار) هر کدام ۲۴۰ نمونه و برای pH (۲ تیمار) برای تیمار اول ۲۸۸ نمونه و برای تیمار دوم ۱۹۲ نمونه بوده است(جدول ۲ ضمیمه). جزئیات نتایج تغییرات OD (جذب نوری) و پروتئینی در زمانهای مختلف و تاثیر تیمارهای متفاوت بر روند آزمایش ، در جداول ۱۰ تا ۴۹ نشان داده شده است.

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD مخمر به ترتیب از ۱/۵۳ به ۳/۶۳ (۵۷/۸٪) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ)، ۱/۶۲ به ۳/۷۵ (۵۶/۸ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۱۲ به ۲/۹۲ (۶۱/۶ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است(جدول ۱۰). لازم به ذکر است که تغییرات pH در مقیاس آزمایشگاهی برای تمامی تیمارها معنی دار بوده است ($P<0.05$) (جداول ۴ و ۶).

جدول ۱۰ : تغییرات OD (Optical Density) کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، دمای ۳۲ درجه سانتیگراد و pH= 5/4 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۵۳	۱/۶۲	۱/۱۲
۶	۱/۵۸	۱/۶۹	۱/۲۰
۱۶	۲/۲۵	۲/۴۳	۱/۸۵
۲۴	۲/۸۳	۲/۸۵	۲/۱۵
۳۶	۳/۱۸	۳/۳۵	۲/۶۲
۴۲	۳/۵۲	۳/۵۱	۲/۸۳
۴۸	۳/۶۲	۳/۷۳	۲/۸۹
۵۴	۳/۶۳	۳/۷۵	۲/۹۲

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از ساکارومیسس سرویزیه در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD مخمر به ترتیب از ۱/۵۳ به ۳/۲۲ (۵۲/۴ درصد)(برای امعاء و احشاء ماهی

فیتوفاگ) ، ۱/۶۲ به ۳/۳۷ (۵۱/۹ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تـن) و ۱/۱۲ بـه ۲/۴۶ (۵۴/۴ درصـد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است (جدول ۱۱).

جدول ۱۱ : تغییرات OD (Optical Density) ساکارومیسس سرویزیه در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، دمای ۳۲ درجه سانتیگراد و pH= 5/4 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۵۳	۱/۶۲	۱/۱۲
۶	۱/۵۴	۱/۶۶	۱/۱۴
۱۶	۱/۹۶	۱/۸۵	۱/۳۵
۲۴	۲/۳۴	۲/۱۴	۱/۶۳
۳۶	۲/۷۶	۲/۳۶	۱/۸۵
۴۲	۲/۹۵	۲/۷۳	۲/۱۴
۴۸	۳/۲۲	۳/۳۶	۲/۴۶
۵۴	۳/۲۲	۳/۳۷	۲/۴۶

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگـام اسـتفاده از مخلـوط مخمرهـا (رودوتـورولا، کلاوورومایـسس، زیگوساکارومیـسس، ساکارومیسس کارلبرجنسیس) در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، از زمان صفر تـا ۵۴ سـاعت، میـزان OD مخمرها به ترتیب از ۱/۵۳ به ۳/۵۱ (۵۶/۴ درصد) (برای امعـاء و احـشاء مـاهی فیتوفـاگ)، ۱/۶۲ بـه ۳/۶۵ (۵۵/۶ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۱۲ به ۲/۵۱ (۵۵/۳ درصد) (آب پخت کنـسرو مـاهی تـن) افـزایش یافته است(جدول ۱۲).

جدول ۱۲ : تغییرات OD (Optical Density) مخلوط مخمرها در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، دمای ۳۲ درجه سانتیگراد و pH= 5/4 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۵۳	۱/۶۲	۱/۱۲
۶	۱/۵۴	۱/۶۵	۱/۱۷
۱۶	۲/۱۲	۲/۲۵	۱/۵۳
۲۴	۲/۹۴	۲/۷۹	۱/۹۵
۳۶	۳/۱۶	۳/۲۰	۲/۱۴
۴۲	۳/۴۶	۳/۵۲	۲/۳۶
۴۸	۳/۵۱	۳/۶۵	۲/۵۰
۵۶	۳/۵۱	۳/۶۵	۲/۵۱

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط کشت سنتتیک (مالت براث)، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD مخمر به ترتیب از ۱/۱۳ به ۴/۴۶ (۷۴/۶ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۱۶ به ۴/۷۵ (۷۵/۶ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۰۳ به ۴/۲۴ (۷۵/۷ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است (جدول ۱۳).

جدول۱۳ : تغییرات OD (Optical Density) کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی+ ۵۰ درصد محیط کشت مالت براث ، دمای ۳۲ درجه سانتیگراد و pH= 5/4 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۱۳	۱/۱۶	۱/۰۳
۶	۱/۵۳	۱/۸۳	۱/۲۱
۱۶	۲/۴۵	۲/۶۵	۲/۳۴
۲۴	۳/۲۵	۳/۵۳	۳/۱۲
۳۶	۳/۹۳	۳/۹۹	۳/۸۲
۴۲	۴/۵۶	۴/۷۳	۴/۲۵
۴۸	۴/۴۵	۴/۷۶	۴/۲۴
۵۴	۴/۴۶	۴/۷۶	۴/۲۴

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش: آزمایشگاهی محیط پایه: سوبسترای خالص+ ۵۰ درصد مالت براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از ساکارومیسس سرویزیه در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط کشت سنتتیک (محیط کشت مالت براث)، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD مخمر به ترتیب از ۱/۱۳ به ۴/۳۳ (۷۳/۹ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۱۶ به ۴/۵۳ (۷۴/۳ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۰۲ به ۳/۹۴ (۷۴/۱ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است (جدول ۱۴).

جدول ١٤: تغییرات OD (Optical Density) ساکارومیسس سرویزیه در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی+ ٥٠ درصد محیط کشت مالت براث ، دمای ٣٢ درجه سانتیگراد و pH= 5/4 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
٠	١/١٣	١/١٦	١/٠٢
٦	١/٥٥	١/٤٦	١/٣٥
١٦	٢/٣٥	٢/١٤	١/٧٦
٢٤	٣/٠٦	٣/١٦	٢/٤٣
٣٦	٣/٩٣	٤/٢٣	٣/١٥
٤٢	٤/١٣	٤/٤٦	٣/٦٨
٤٨	٤/٣٢	٤/٥٢	٣/٩٣
٥٤	٤/٣٣	٤/٥٣	٣/٩٤

* دوز مورد استفاده میکروب: ٥ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص+ ٥٠ درصد مالت براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از مخلوط مخمرها (رودوتورولا،کلاورومایسس، زیگوساکارومیسس، ساکارومیسس کارلبرجنسیس) در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط سنتتیک (مالت براث)، از زمان صفر تا ٥٤ ساعت، میزان OD مخمرها به ترتیب از ١/١٣ به ٤/١٧ (٧٢/٩ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ١/١٦ به ٤/٤٦ (٧٣/٩ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ١/٠٣ به ٣/٢٥ (٦٨/٣ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است(جدول ١٥).

جدول ۱۵: تغییرات OD (Optical Density) مخلوط مخمرها در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی+ ۵۰٪ محیط کشت مالت براث ، دمای ۳۲ درجه سانتیگراد و pH= 5/4 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۱۳	۱/۱۶	۱/۰۳
۶	۱/۵۹	۱/۵۱	۱/۳۲
۱۶	۲/۳۶	۲/۵۴	۱/۶۳
۲۴	۳/۲۵	۳/۱۹	۲/۳۲
۳۶	۳/۷۲	۳/۷۲	۲/۸۲
۴۲	۴/۱۲	۴/۱۵	۳/۱۴
۴۸	۴/۱۷	۴/۴۶	۳/۲۵
۵۴	۴/۱۷	۴/۴۶	۳/۲۵

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص+ ۵۰ درصد مالت براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و دما و pH متفاوت ، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD مخمر به ترتیب از ۱/۵۲ به ۳/۱۱ (۵۱/۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۶۴ به ۳/۲۷ (۴۹/۸ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۱۲ به ۲/۶۱ (۵۷/۰۷ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است (جدول ۱۶).

جدول۱۶ : تغییرات OD (Optical Density) کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و pH= 6 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۵۲	۱/۶۴	۱/۱۲
۶	۱/۵۷	۱/۶۷	۱/۱۷
۱۶	۱/۹۳	۱/۹۹	۱/۴۶
۲۴	۲/۱۱	۲/۲۶	۱/۸۵
۳۶	۲/۵۶	۲/۷۳	۲/۱۰
۴۲	۲/۹۵	۳/۱۴	۲/۳۶
۴۸	۳/۱۲	۳/۲۷	۲/۶۱
۵۴	۳/۱۱	۳/۲۷	۲/۶۱

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از ساکارومیسس سرویزیه در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و دما و pH متفاوت ، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD مخمر به ترتیب از ۱/۵۳ به ۳/۱۱ (۵۰/۸ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۶۲ به ۳/۲۲ (۴۹/۶ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۱۱ به ۲/۲۵ (۵۰/۶ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است (جدول ۱۷).

جدول ۱۷: تغییرات OD (Optical Density) ساکارومیسس سرویزیه در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و pH= 6 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۵۳	۱/۶۲	۱/۱۱
۶	۱/۵۹	۱/۶۷	۱/۱۶
۱۶	۱/۸۲	۲/۰۱	۱/۲۹
۲۴	۲/۲۵	۲/۴۳	۱/۵۰
۳۶	۲/۵	۲/۸۳	۱/۹۳
۴۲	۲/۷۵	۳/۱۱	۲/۱۴
۴۸	۳/۱۱	۳/۲۱	۲/۲۵
۵۴	۳/۱۱	۳/۲۲	۲/۲۵

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از مخلوط مخمرها (رودوتورولا،کلاورومایسس، زیگوساکارومیسس، ساکارومیسس کارلبرجنسیس)در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و دما و pH متفاوت ، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD مخمرها به ترتیب از ۱/۵۳ به ۳/۲۲ (۵۲/۴ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۶۲ به ۳/۴۲ (۵۲/۶ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۱۲ به ۲/۳۷ (۵۲/۶درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است(جدول ۱۸).

جدول ۱۸ : تغییرات OD (Optical Density) مخلوط مخمرها در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و pH= 6 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۵۳	۱/۶۲	۱/۱۲
۶	۱/۵۷	۱/۶۴	۱/۱۴
۱۶	۱/۸۳	۱/۸۵	۱/۳۵
۲۴	۲/۰۴	۲/۱۶	۱/۷۳
۳۶	۲/۳۶	۲/۴۴	۱/۹۳
۴۲	۲/۵۳	۲/۷۵	۲/۱۶
۴۸	۳/۲۱	۳/۴۳	۲/۳۷
۵۴	۳/۲۲	۳/۴۲	۲/۳۷

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط کشت سنتتیک (مالت براث) در دما و pH متفاوت، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD مخمر به ترتیب از ۱/۱۴ به ۳/۶۵ (۶۸/۷ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۱۶ به ۳/۸۴ (۶۹/۸ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۰۳ به ۳/۱۱ (۶۶/۸ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است (جدول ۱۹)

جدول ۱۹ : تغییرات OD (Optical Density) کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی+ ۵۰درصد محیط کشت مالت براث ، دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و pH= 6 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۱۴	۱/۱۶	۱/۰۳
۶	۱/۳۲	۱/۴۱	۱/۲۵
۱۶	۱/۸۳	۱/۹۶	۱/۴۳
۲۴	۲/۱۱	۲/۲۵	۱/۷۵
۳۶	۲/۵۶	۲/۸۲	۲/۴۵
۴۲	۳/۱۱	۳/۲۴	۲/۷۳
۴۸	۳/۶۵	۳/۸۳	۳/۱۱
۵۴	۳/۶۵	۳/۸۴	۳/۱۱

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص+ ۵۰ درصد مالت براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از ساکارومیسس سرویزیه در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط کشت سنتیک (مالت براث) در دما و pH متفاوت، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD مخمر به ترتیب از ۱/۱۳ به ۳/۲۳ (۶۵/۰۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۱۷ به ۳/۴۵ (۶۶/۰۸ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۰۳ به ۲/۴۵ (۵۷/۹ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است (جدول ۲۰).

جدول ۲۰ : تغییرات OD (Optical Density) ساکارومیسس سرویزیه در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی+ ۵۰ درصد محیط کشت مالت براث ، دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و pH= 6 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۱۳	۱/۱۷	۱/۰۳
۶	۱/۲۵	۱/۳۲	۱/۱۵
۱۶	۱/۴۹	۱/۵۴	۱/۳۶
۲۴	۱/۹۳	۲/۲۵	۱/۶۴
۳۶	۲/۳۲	۲/۸۳	۱/۹۲
۴۲	۲/۶۵	۳/۱۲	۲/۲۷
۴۸	۳/۲۲	۳/۴۵	۲/۴۲
۵۴	۳/۲۳	۳/۴۵	۲/۴۲

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص+ ۵۰ درصد مالت براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از مخلوط مخمرها (رودوتورولا، کلاورومایسس، زیگوساکارومیسس، ساکارومیسس کارلبرجنسیس)در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و دما و pH متفاوت ، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD مخمرها به ترتیب از ۱/۱۳ به ۳/۲۴ (۶۵/۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۱۷ به ۳/۵۲ (۶۶/۷ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۱۲ به ۲/۹۳ (۶۱/۷ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است(جدول ۲۱)

جدول ۲۱ : تغییرات OD (Optical Density) مخلوط مخمر در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی+ ۵۰ درصد محیط کشت مالت براث ، دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و pH= 6 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۱۳	۱/۱۷	۱/۱۲
۶	۱/۳۵	۱/۴۲	۱/۲۰
۱۶	۱/۷۴	۱/۹۳	۱/۵۳
۲۴	۲/۱۲	۲/۲۹	۱/۸۵
۳۶	۲/۴۶	۲/۷۶	۲/۳۵
۴۲	۲/۹۵	۳/۰۴	۲/۵۳
۴۸	۳/۲۵	۳/۵۳	۲/۹۳
۵۴	۳/۲۴	۳/۵۲	۲/۹۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص+ ۵۰ درصد مالت براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس لیکنوفورمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD باکتری به ترتیب از ۱/۵۳ به ۳/۳۶ (۵۴/۴ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۶۲ به ۳/۶۷ (۵۵/۸ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۱۲ به ۲/۵۳ (۵۵/۷ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است (جدول ۲۲)

جدول ۲۲ : تغییرات OD (Optical Density) باسیلوس لیکنوفورمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، دمای ۳۵ درجه سانتیگراد و pH= 6/9 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۵۳	۱/۶۲	۱/۱۲
۶	۱/۵۵	۱/۶۷	۱/۱۵
۱۶	۱/۹۳	۲/۱۳	۱/۴۵
۲۴	۲/۳۶	۲/۶۶	۱/۹۳
۳۶	۲/۷۱	۳/۱۰	۲/۱۳
۴۲	۲/۹۸	۳/۴۶	۲/۳۶
۴۸	۳/۳۶	۳/۶۵	۲/۵۳
۵۴	۳/۳۶	۳/۶۷	۲/۵۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس سوبتی لیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD باکتری به ترتیب از ۱/۵۳ به ۳/۱۲ (۵۰/۹ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۶۲ به ۳/۵۳ (۵۱/۶ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۱۲ به ۲/۴۳ (۵۳/۹ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است(جدول ۲۳).

جدول ۲۳ : تغییرات OD (Optical Density) باسیلوس سوبتی لیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، دمای ۳۵ درجه سانتیگراد و pH= 6/9 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۵۳	۱/۶۲	۱/۱۲
۶	۱/۵۴	۱/۶۸	۱/۱۵
۱۶	۱/۷۶	۱/۷۳	۱/۳۲
۲۴	۲/۰۲	۲/۱۱	۱/۵۸
۳۶	۲/۳۵	۲/۵۳	۲/۰۳
۴۲	۲/۶۹	۲/۹۳	۲/۲۷
۴۸	۳/۱۱	۳/۳۵	۲/۴۳
۵۴	۳/۱۲	۳/۳۵	۲/۴۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس لیکنوفورمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط سنتتیک (تریپتوز سویا براث)، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD باکتری به ترتیب از ۱/۱۳ به ۳/۹۶ (۷۱/۴ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۱۶ به ۴/۳۵ (۷۳/۳ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۰۳ به ۳/۷۶ (۷۲/۶ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است (جدول ۲۴).

جدول ۲٤ : تغییرات OD (Optical Density) باسیلوس لیکنوفورمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی+ ۵۰ درصد محیط کشت تریپتوز سویا براث، دمای ۳۵ درجه سانتیگراد و pH= 6/9 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۱۳	۱/۱۶	۱/۰۳
۶	۱/۳۲	۱/۴۲	۱/۳۵
۱۶	۱/۸۳	۲/۲۵	۱/۹۳
۲۴	۲/۳۲	۲/۹۳	۲/۲۵
۳۶	۲/۹۵	۳/۲۶	۲/۶۶
۴۲	۳/۳۵	۳/۷۰	۳/۱۱
۴۸	۳/۹۶	۴/۳۵	۳/۷۷
۵۴	۳/۹۶	۴/۳۵	۳/۷۶

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص+ ۵۰ درصد محیط کشت تریپتوز سویا براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس سوبتی لیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط سنتتیک، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD باکتری به ترتیب از ۱/۱۳ به ۳/۸۸ (۷۰/۸ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ)، ۱/۱۶ به ۴/۲۵ (۷۲/۷ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۰۲ به ۳/۲۶ (۶۸/۷ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است (جدول ۲۵).

جدول۲۵ : تغییرات OD (Optical Density) باسیلوس سوبتی لیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی + ۵۰ درصد محیط کشت تریپتوز سویا براث، دمای ۳۵ درجه سانتیگراد و pH= 6/9 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۱۳	۱/۱۶	۱/۰۲
۶	۱/۲۶	۱/۳۷	۱/۱۹
۱۶	۱/۶۸	۱/۹۳	۱/۵۶
۲۴	۲/۱۱	۲/۴۲	۲/۱۴
۳۶	۲/۷۳	۳/۲۶	۲/۵۶
۴۲	۳/۴۲	۳/۸۳	۲/۹۵
۴۸	۳/۸۷	۴/۲۵	۳/۲۶
۵۴	۳/۸۸	۴/۲۵	۳/۲۶

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص+ ۵۰ درصد محیط کشت تریپتوز سویا براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس لیکنوفورمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و دما و pH متفاوت، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD باکتری به ترتیب از ۱/۵۲ به ۳/۰۵ (۵۰/۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۶۴ به ۳/۱۹ (۴۸/۶ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۱۲ به ۲/۵۳ (۵۵/۷ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است (جدول ۲۶).

جدول ۲۶ : تغییرات OD (Optical Density) باسیلوس لیکنوفرمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی ، دمای ۳۰ درجه سانتیگراد و pH=6/5 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۵۲	۱/۶۴	۱/۱۲
۶	۱/۵۹	۱/۶۵	۱/۱۶
۱۶	۱/۷۹	۱/۸۳	۱/۳۷
۲۴	۲/۰۳	۲/۱۳	۱/۷۳
۳۶	۲/۴۲	۲/۳۷	۲/۰۴
۴۲	۲/۷۳	۲/۹۶	۲/۲۷
۴۸	۳/۰۶	۳/۱۸	۲/۵۳
۵۴	۳/۰۵	۳/۱۹	۲/۵۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش: آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس سوبتی لیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و دما و pH متفاوت ، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD باکتری به ترتیب از ۱/۵۳ به ۲/۹۶ (۴۸/۳ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ)، ۱/۶۲ به ۳/۲۶ (۵۰/۳ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۱۲ به ۲/۲۶ (۵۰/۴۴ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است (جدول ۲۷).

جدول ۲۷ : تغییرات OD (Optical Density) باسیلوس سوبتی لیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، دمای ۳۰ درجه سانتیگراد و pH=6/5 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۵۳	۱/۶۲	۱/۱۲
۶	۱/۵۶	۱/۶۶	۱/۱۵
۱۶	۱/۷۲	۱/۷۹	۱/۲۶
۲۴	۱/۹۶	۲/۰۶	۱/۵۲
۳۶	۲/۱۲	۲/۳۶	۱/۸۸
۴۲	۲/۵۳	۲/۷۹	۲/۱
۴۸	۲/۹۵	۳/۲۶	۲/۲۶
۵۴	۲/۹۶	۳/۲۶	۲/۲۶

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس لیکنوفورمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، محیط سنتتیک (تریپتوز سویا براث)و دما و pH متفاوت، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD باکتری به ترتیب از ۱/۱۴ به ۳/۲۹ (۶۵/۳ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۱۶ به ۳/۴۵ (۶۶/۳ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۰۲ به ۲/۹۴ (۶۵/۳ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است (جدول ۲۸).

جدول ۲۸ : تغییرات OD (Optical Density) باسیلوس لیکنوفرمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی + ۵۰ درصد محیط کشت تریپتوز سویا براث، دمای ۳۰ درجه سانتیگراد و pH=6/5 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۱۴	۱/۱۶	۱/۰۲
۶	۱/۲۹	۱/۳۵	۱/۱۸
۱۶	۱/۷۶	۱/۸۸	۱/۳۲
۲۴	۲/۰۹	۲/۱۶	۱/۸۲
۳۶	۲/۴۷	۲/۶۶	۲/۳۴
۴۲	۲/۸۶	۲/۹۸	۲/۵۷
۴۸	۳/۲۹	۳/۴۶	۲/۹۴
۵۴	۳/۲۹	۳/۴۵	۲/۹۴

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص + محیط کشت تریپتوز سویا براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس سوبتی لیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، محیط سنتتیک (تریپتوز سویا براث)و دما و pH متفاوت ، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، میزان OD باکتری به ترتیب از ۱/۱۳ به ۳/۱۲ (۶۳/۷ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۱۷ به ۳/۲۵ (۶۴ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۱/۱۲ به ۲/۷۲ (۵۸/۸ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش یافته است(جدول ۲۹).

جدول ۲۹ : تغییرات OD (Optical Density) باسیلوس سوبتی لیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی + ۵۰ درصد محیط کشت تریپتوز سویا براث، دمای ۳۰ درجه سانتیگراد و pH=6/5 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۱/۱۳	۱/۱۷	۱/۱۲
۶	۱/۲۱	۱/۳۶	۱/۱۸
۱۶	۱/۶۲	۱/۷۹	۱/۴۲
۲۴	۱/۹۹	۲/۱۶	۱/۷۳
۳۶	۲/۳۲	۲/۵۲	۲/۲۱
۴۲	۲/۷۶	۲/۹۸	۲/۴۳
۴۸	۳/۱۱	۳/۲۵	۲/۷۲
۵۴	۳/۱۲	۳/۲۵	۲/۷۲

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص + محیط کشت تریپتوز سویا براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۸۳ به ۲/۲۲ (۷۴/۸ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ)، ۱۰/۷۹ به ۲/۱۲ (۸۰/۳ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۸۴ به ۱/۶۳ (۷۲/۱ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است (جدول ۳۰).

جدول ۳۰: تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و کاندیدا اوتیلیس، دمای ۳۲ درجه سانتیگراد، pH=5/4 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۸/۸۳	۱۰/۷۹	۵/۸۴
۶	۸/۸۲	۱۰/۷۷	۵/۸۲
۱۶	۷/۵۲	۹/۲۶	۴/۱۱۲
۲۴	۵/۳۵	۷/۳۹	۳/۵۶
۳۶	۴/۲۶	۴/۴۹	۳/۰۶
۴۲	۳/۱۱	۳/۱۹	۲/۲۵
۴۸	۲/۲۵	۲/۱۴	۱/۶۳
۵۴	۲/۲۲	۲/۱۲	۱/۶۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از ساکارومیسس سرویزیه در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی ، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۸۳ به ۲/۷۲ (۶۹/۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۰/۷۹ به ۲/۲۶ (۷۹ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۸۴ به ۲/۱۶ (۶۳/۱ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است(جدول ۳۱).

جدول ۳۱ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و ساکارومیسس سرویزیه ، دمای ۳۲ درجه سانتیگراد، pH=5/4 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۸/۸۳	۱۰/۷۹	۵/۸۴
۶	۸/۸۰	۱۰/۲۵	۵/۷۳
۱۶	۸/۱۲	۸/۱۲	۴/۲۶
۲۴	۶/۱۱	۷/۱۶	۳/۵۱
۳۶	۵/۲۵	۵/۲۲	۳/۱۱
۴۲	۳/۳۲	۳/۲۷	۲/۴۲
۴۸	۲/۷۳	۲/۲۵	۲/۱۶
۵۴	۲/۷۲	۲/۲۶	۲/۱۶

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از مخلوط مخمرها در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۸۳ به ۳/۱۴ (۶۴/۴ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۰/۷۹ به ۳/۱۵ (۷۰/۸ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۸۴ به ۲/۲۵ (۶۱/۴ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است (جدول ۳۲).

جدول ۳۲: تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و مخلوط مخمرها ، دمای ۳۲ درجه سانتیگراد، pH=5/4 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۸/۸۳	۱۰/۷۹	۵/۸۴
۶	۸/۸۰	۱۰/۷۳	۵/۸۰
۱۶	۸/۰۳	۸/۸۵	۴/۸۴
۲۴	۶/۲۵	۷/۶۸	۴/۰۴
۳۶	۵/۸۲	۵/۷۴	۳/۵۴
۴۲	۴/۳۶	۴/۶۵	۲/۸۱
۴۸	۳/۲۵	۳/۱۵	۲/۲۵
۵۴	۳/۱۴	۳/۱۵	۲/۲۵

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط کشت سنتتیک (مالت براث)، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۹/۲۵ به ۲/۱۰ (۷۷/۲ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ)، ۱۱/۶۵ به ۲/۱۶ (۸۱/۴ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۷/۲۵ به ۱/۳۳ (۸۱/۶ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است(جدول ۳۳).

جدول ۳۳ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی+۵۰ درصد محیط کشت مالت براث و کاندیدا اوتیلیس ، دمای ۳۲ درجه سانتیگراد، pH=5/4 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۹/۲۵	۱۱/۶۵	۷/۲۵
۶	۸/۸۵	۱۰/۳۶	۶/۷۳
۱۶	۷/۳۵	۸/۳۹	۵/۴۲
۲۴	۶/۲۰	۷/۱۱	۳/۶۲
۳۶	۴/۱۶	۵/۳۴	۳/۰۴
۴۲	۳/۵۶	۴/۴۷	۲/۲۵
۴۸	۱/۲۱	۲/۳۵	۱/۴۶
۵۴	۲/۱۰	۲/۱۶	۱/۳۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص+۵۰ درصد محیط کشت مالت براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از ساکارومیسس سرویزیه در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی ، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۹/۲۵ به ۲/۰۲ (۷۸/۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۱/۶۵ به ۲/۱۵ (۸۱/۵ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۷/۲۵ به ۱/۲۷ (۸۲/۴ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است(جدول ۳۴).

جدول ٣٤ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی+٥٠ درصد محیط کشت مالت براث و ساکارومیسس سرویزیه ، دمای ٣٢ درجه سانتیگراد، pH=5/4 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
٠	٩/٢٥	١١/٦٥	٧/٢٥
٦	٨/٨١	١٠/٣٦	٦/٤٨
١٦	٧/٠١	٨/١١	٥/١٣
٢٤	٥/٤٦	٦/٤٢	٣/٢٥
٣٦	٤/٢٦	٥/٢٦	٢/٤٥
٤٢	٣/١١	٣/٥٢	٢/١١
٤٨	٢/٠١	٢/١٤	١/٢٥
٥٤	٢/٠٢	٢/١٥	١/٢٧

* دوز مورد استفاده میکروب: ٥ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص+٥٠ درصد محیط کشت مالت براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از مخلوط مخمرها در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط کشت سنتتیک ، از زمان صفر تا ٥٤ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ٩/٢٥ به ٢/٢٤ (٧٥/٧ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ١١/٦٥ به ٢/٨٦ (٧٥/٤ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ٧/٢٥ به ١/٨٢(٧٤/٨ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است(جدول ٣٥).

جدول ۳۵ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی+۵۰ درصد محیط کشت مالت براث و مخلوط مخمرها ، دمای ۳۲ درجه سانتیگراد، pH=5/4 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۹/۲۵	۱۱/۶۵	۷/۲۵
۶	۸/۹۰	۱۰/۷۲	۶/۸۹
۱۶	۷/۴۲	۸/۹۲	۵/۶۸
۲۴	۶/۱۴	۷/۲۵	۴/۰۵
۳۶	۵/۱۱	۵/۶۷	۳/۵۳
۴۲	۳/۲۵	۴/۳۲	۲/۵۹
۴۸	۲/۲۵	۳/۱۱	۱/۸۸
۵۴	۲/۲۴	۲/۸۶	۱/۸۲

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص+۵۰ درصد محیط کشت مالت براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و دما و pH متفاوت، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۸۳ به ۳/۷۰ (۵۸/۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ)، ۱۰/۷۹ به ۳/۴۳ (۶۸/۲ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۸۴ به ۲ (۶۵/۷ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است (جدول ۳۶).

جدول ۳۶ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و کاندیدا اوتیلیس ، دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، pH=6 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۸/۸۳	۱۰/۷۹	۵/۸۴
۶	۸/۸۳	۱۰/۷۶	۵/۸۰
۱۶	۷/۷۹	۹/۸۷	۵/۱۱
۲۴	۶/۳۶	۸/۱۹	۴/۲۲
۳۶	۵/۱۷	۶/۶۹	۳/۴۶
۴۲	۴/۲۶	۴/۸۸	۲/۵۳
۴۸	۳/۷۲	۳/۴۷	۲/۰۳
۵۴	۳/۷۰	۳/۴۳	۲/۰۰

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از ساکارومیسس سرویزیه در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و دما و pH متفاوت، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۸۳ به ۳/۵۷ (۵۹/۵ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۰/۷۹ به ۳/۲۲ (۷۰/۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۸۴ به ۲/۱۲ (۶۳/۶ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است(جدول ۳۷).

جدول ۳۷ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و ساکارومیسس سرویزیه ، دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، pH=6 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۸/۸۳	۱۰/۷۹	۵/۸۴
۶	۸/۷۱	۱۰/۶۴	۵/۷۱
۱۶	۸/۱۲	۹/۱۲	۴/۴۶
۲۴	۶/۵۴	۷/۵۶	۴/۰۱
۳۶	۵/۶۷	۶/۲۹	۳/۱۲
۴۲	۴/۴۱	۵/۱۰	۲/۵۶
۴۸	۳/۵۷	۳/۲۱	۲/۱۴
۵۴	۳/۵۷	۳/۲۲	۲/۱۲

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از مخلوط مخمرها در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و دما و pH متفاوت ، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۸۳ به ۴/۱۲ (۵۳/۳ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۰/۷۹ به ۴/۳۳ (۵۹/۸ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۸۴ به ۲/۰۳ (۶۵/۲ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است(جدول ۳۸).

جدول ۳۸ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و مخلوط مخمرها ، دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، pH=6 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۸/۸۳	۱۰/۷۹	۵/۸۴
۶	۸/۸۱	۱۰/۷۶	۵/۸۱
۱۶	۸/۳۶	۹/۵۱	۵/۰۳
۲۴	۷/۱۳	۸/۲۶	۴/۵۹
۳۶	۶/۲۵	۷/۱۶	۳/۸۹
۴۲	۵/۲۹	۶/۲۶	۲/۶۳
۴۸	۴/۱۶	۴/۳۵	۲/۱۲
۵۴	۴/۱۲	۴/۳۳	۲/۰۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط کشت سنتتیک (مالت براث) با دما و pH متفاوت، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۹/۲۵ به ۳/۸۸ (۵۸/۰۵ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۱/۶۵ به ۳/۴۳ (۷۰/۵ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۷/۲۵ به ۲/۷۳ (۶۲/۳ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است (جدول ۳۹).

جدول ۳۹ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی +۵۰ درصد محیط کشت مالت براث و کاندیدا اوتیلیس ، دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، pH=6 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۹/۲۵	۱۱/۶۵	۷/۲۵
۶	۸/۹۸	۱۰/۸۹	۶/۹۶
۱۶	۸/۰۲	۹/۲۵	۵/۸۳
۲۴	۷/۲۵	۸/۱۶	۴/۵۹
۳۶	۶/۴۲	۶/۶۹	۳/۸۷
۴۲	۵/۶۸	۴/۳۶	۳/۰۴
۴۸	۳/۹۲	۳/۴۶	۲/۷۶
۵۴	۳/۸۸	۳/۴۳	۲/۷۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص +۵۰ درصد محیط کشت مالت براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از ساکارومیسس سرویزیه در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط کشت سنتتیک (مالت براث) با دما و pH متفاوت، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۹/۲۵ به ۳/۴۷ (۶۲/۴ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۱/۶۵ به ۳/۱۴ (۷۳/۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۷/۲۵ به ۲/۲۶ (۶۸/۸ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است (جدول ۴۰).

جدول ٤٠ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی +٥٠ درصد محیط کشت مالت براث و ساکارومیسس سرویزیه ، دمای ٢٥ درجه سانتیگراد، pH=6 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
٠	٩/٢٥	١١/٦٥	٧/٢٥
٦	٨/٤٢	١٠/٥٤	٦/٧٦
١٦	٧/١٢	٨/٧٨	٥/٧٢
٢٤	٦/١١	٧/٦٦	٤/٨٤
٣٦	٥/٧٨	٦/٥٩	٤/٠١
٤٢	٤/٧٤	٥/٦	٣/٤٥
٤٨	٣/٤٦	٣/١٦	٢/٢٦
٥٤	٣/٤٧	٣/١٤	٢/٢٦

* دوز مورد استفاده میکروب: ٥ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص +٥٠ درصد محیط کشت مالت براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از مخلوط مخمرها در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط کشت سنتتیک (مالت براث) با دما و pH متفاوت، از زمان صفر تا ٥٤ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ٩/٢٥ به ٣/٣ (٦٤/٣ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ١١/٦٥ به ٣/١٢ (٧٣/٢ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ٧/٢٥ به ٢/٢٣ (٦٩/٢ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است (جدول ٤١).

جدول ٤١ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی +۵۰ درصد محیط کشت مالت براث و مخلوط مخمرها ، دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، pH=6 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۹/۲۵	۱۱/۶۵	۷/۲۵
۶	۸/۹۳	۱۰/۶۸	۶/۹۰
۱۶	۷/۸۲	۹/۲۵	۶/۰۲
۲۴	۶/۵۳	۸/۴۶	۵/۳۲
۳۶	۵/۷۵	۶/۳۶	۴/۱۱
۴۲	۴/۱۲	۵/۲۲	۳/۳۹
۴۸	۳/۳۰	۳/۱۴	۲/۲۵
۵۴	۳/۳۰	۳/۱۲	۲/۲۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص +۵۰ درصد محیط کشت مالت براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس لیکنوفورمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی ، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۸۳ به ۲/۸۶ (۶۷/۶ درصد (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۰/۷۹ به ۳/۲ (۷۰/۳ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۸۴ به ۲/۰۰ (۶۵/۷ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است(جدول ۴۲).

جدول ٤٢ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و باسیلوس لیکنوفورمیس ، دمای ۳۵ درجه سانتیگراد، pH=6/9 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۸/۸۳	۱۰/۷۹	۵/۸۴
۶	۸/۷۵	۱۰/۶۷	۵/۷۳
۱۶	۸/۰۶	۹/۸۳	۴/۹۶
۲۴	۶/۴۸	۸/۳۶	۳/۸۹
۳۶	۵/۶۷	۷/۷۳	۳/۰۲
۴۲	۳/۴۱	۵/۴۳	۲/۴۶
۴۸	۲/۹۳	۳/۲۳	۲/۰۳
۵۴	۲/۸۶	۳/۲۰	۲/۰۰

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس سوبتی لیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی ، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۸۳ به ۳/۶ (۵۹/۲ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ)، ۱۰/۷۹ به ۴/۱۲ (۶۱/۸ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۸۴ به ۲/۱۸ (۶۲/۶ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است (جدول ۴۳).

جدول ٤٣ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و باسیلوس سوبتی لیس ، دمای ۳۵ درجه سانتیگراد، pH=6/9 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۸/۸۳	۱۰/۷۹	۵/۸۴
۶	۸/۷۳	۱۰/۶۵	۵/۷۶
۱۶	۷/۹۳	۹/۳۶	۴/۹۶
۲۴	۶/۵۹	۸/۱۳	۴/۱۳
۳۶	۵/۹۸	۷/۲۱	۳/۷۰
۴۲	۴/۸۷	۵/۳۹	۲/۸۴
۴۸	۳/۶۹	۴/۱۳	۲/۲۰
۵۴	۳/۶۰	۴/۱۲	۲/۱۸

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس لیکنوفورمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط کشت سنتتیک (تریپتوز سویا براث)، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۹/۲۵ به ۲/۱۶ (۷۶/۶ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۱/۶۵ به ۳/۶ (۶۹/۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۷/۲۵ به ۱/۸۳ (۷۴/۷ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است (جدول ۴۴).

جدول ٤٤ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی +۵۰ درصد محیط کشت تریپتوز سویا براث و باسیلوس لیکنوفورمیس ، دمای ۳۵ درجه سانتیگراد، pH=6/9 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۹/۲۵	۱۱/۶۵	۷/۲۵
۶	۸/۹۴	۱۰/۷۸	۶/۸۹
۱۶	۷/۶۹	۹/۳۵	۵/۷۳
۲۴	۶/۵۶	۸/۳۹	۴/۳۲
۳۶	۴/۴۶	۶/۶۹	۳/۴۲
۴۲	۳/۸۳	۵/۳۸	۲/۳۶
۴۸	۲/۱۷	۳/۶۹	۱/۸۹
۵۴	۲/۱۶	۳/۶۰	۱/۸۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص+۵۰ درصد محیط کشت تریپتوز سویا براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس سوبتی لیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط کشت سنتتیک (تریپتوز سویا براث)، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۹/۲۵ به ۳/۱۲ (۶۶/۲ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۱/۶۵ به ۲/۹ (۷۵/۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۷/۲۵ به ۲/۳۲ (۶۸ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است (جدول ۴۵).

جدول ٤٥ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی +۵۰ درصد محیط کشت تریپتوز سویا براث و باسیلوس سوبتی لیس ، دمای ۳۵ درجه سانتیگراد، pH=6/9 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۹/۲۵	۱۱/۶۵	۷/۲۵
۶	۸/۹۶	۱۰/۸۳	۶/۹۰
۱۶	۷/۸۳	۹/۴۲	۶/۰۱
۲۴	۶/۶۹	۷/۳۴	۵/۲۵
۳۶	۵/۸۷	۵/۲۳	۴/۱۶
۴۲	۴/۶۶	۳/۷۲	۳/۲۹
۴۸	۳/۱۶	۲/۹۳	۲/۳۶
۵۴	۳/۱۲	۲/۹۰	۲/۳۲

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص+۵۰ درصد محیط کشت تریپتوز سویا براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس لیکنوفورمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی با دما و pH متفاوت ، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۸۳ به ۳/۷۳ (۵۷/۷ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۰/۷۹ به ۳/۷ (۶۵/۷ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۸۴ به ۲/۴۲ (۵۸/۶ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است (جدول ۴۶).

جدول ٤٦ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و باسیلوس لیکنوفورمیس ، دمای ۳۰ درجه سانتیگراد، pH=6/5 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۸/۸۳	۱۰/۷۹	۵/۸۴
۶	۸/۸۰	۱۰/۷۲	۵/۷۶
۱۶	۷/۹۱	۹/۹۶	۵/۳۲
۲۴	۶/۶۸	۸/۵۶	۴/۷۳
۳۶	۵/۶۸	۷/۱۱	۳/۸۳
۴۲	۴/۵۴	۵/۳۲	۲/۷۶
۴۸	۳/۷۹	۳/۷۶	۲/۴۴
۵۴	۳/۷۳	۳/۷۰	۲/۴۲

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد بهنگام استفاده از باسیلوس سوبتی لیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی با دما و pH متفاوت ، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۸۳ به ۴/۳۲ (۵۱/۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۰/۷۹ به ۵/۶۴ (۴۷/۷ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۸۴ به ۲/۴۷ (۵۷/۷ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است (جدول ۴۷).

جدول ٤٧ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و باسیلوس سوبتی لیس ، دمای ۳۵ درجه سانتیگراد، pH=6/9 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۸/۸۳	۱۰/۷۹	۵/۸۴
۶	۸/۷۶	۱۰/۷۰	۵/۸۰
۱۶	۸/۴۹	۹/۷۳	۵/۲۶
۲۴	۷/۵۲	۸/۷۹	۴/۸۳
۳۶	۶/۴۳	۷/۷۰	۴/۰۱
۴۲	۵/۴۹	۶/۷۳	۳/۷۸
۴۸	۴/۳۶	۵/۶۶	۲/۴۹
۵۴	۴/۳۲	۵/۶۴	۲/۴۷

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس لیکنوفورمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط کشت سنتتیک با دما و pH متفاوت ، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۹/۲۵ به ۴/۳۶ (۵۲/۸ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۱/۶۵ به ۴/۳ (۶۳/۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۷/۲۵ به ۲/۹۱ (۵۹/۸ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است (جدول ۴۸).

جدول ٤٨ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی +۵۰ درصد محیط کشت تریپتوز سویا براث و باسیلوس لیکنوفورمیس، دمای ۳۰ درجه سانتیگراد، pH=6 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۹/۲۵	۱۱/۶۵	۷/۲۵
۶	۹/۰۰	۱۰/۹۷	۷/۰۱
۱۶	۸/۴۶	۹/۷۱	۶/۴۵
۲۴	۷/۷۳	۸/۵۳	۵/۳۹
۳۶	۶/۸۳	۷/۲۵	۴/۷۱
۴۲	۵/۹۲	۵/۳۷	۳/۶۹
۴۸	۴/۳۹	۴/۳۰	۲/۹۴
۵۴	۴/۳۶	۴/۳۰	۲/۹۱

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه : سوبسترای خالص+۵۰ درصد محیط کشت تریپتوز سویا براث

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس سوبتی لیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و محیط کشت سنتتیک با دما و pH متفاوت، از زمان صفر تا ۵۴ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۹/۲۵ به ۳/۴۲ (۶۳ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۱/۶۵ به ۳/۷ (۶۸/۲ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۷/۲۵ به ۲/۴ (۶۶/۸ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است (جدول ۴۹).

جدول۴۹ : تغییرات پروتئین در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی +۵۰ درصد محیط کشت تریپتوز سویا براث و باسیلوس سوبتی لیس، دمای ۳۰ درجه سانتیگراد، pH=6 *

نوع سوبسترا / زمان (ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ	امعاء و احشاء ماهی تن	آب پخت کنسرو ماهی تن
۰	۹/۲۵	۱۱/۶۵	۷/۲۵
۶	۸/۹۹	۱۰/۸۳	۶/۹۹
۱۶	۷/۹۵	۹/۶۶	۶/۴۹
۲۴	۶/۷۸	۸/۷۰	۵/۶۲
۳۶	۵/۹۲	۶/۷۸	۴/۴۷
۴۲	۴/۸۴	۵/۴۸	۳/۸۰
۴۸	۳/۴۵	۳/۷۹	۲/۴۵
۵۴	۳/۴۲	۳/۷۰	۲/۴۰

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : آزمایشگاهی محیط پایه: سوبسترای خالص+۵۰ درصد محیط کشت تریپتوز سویا براث

فاز فرمانتور

تعداد نمونه مورد استفاده در مقیاس فرمانتور برای سوبستراهای اختصاصی (۳ تیمار) هر کدام ۴۸ نمونه ، برای میکروارگانیسمهای مورد استفاده (۳ تیمار) هر کدام ۴۸ نمونه و برای دور همزن (۲ تیمار) هر کدام ۷۲ نمونه بوده است (جدول ۷ ضمیمه). نتایج آزمایشات تغییرات پروتئین و OD در جداول ۵۰ تا ۶۱ نشان داده شده است.

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و فرمانتور اختصاصی(rpm=۶۰۰)، از زمان صفر تا ۲۱ ساعت، تغییرات OD به ترتیب از ۱/۰۲ به ۴/۰۲ (۷۴/۶ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۱۶ به ۴/۴ (۷۳/۶ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۰/۹۲ به ۳/۴۶ (۷۳/۴ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش داشته است. تغییرات مصرف اکسیژن در زمانهای مختلف نیز روند نزولی داشته بطوریکه در زمان ۲۱ ساعت به کمترین مقدار خود رسیده است (جدول ۵۰). لازم به ذکر است که تغییرات دور همزن در تیمارهای انتخاب شده در مقیاس فرمانتور معنی دار بوده است ($P<0.05$) (جداول ۹ و ۱۱).

جدول ۵۰ : تغییرات OD (Optical Density) و اکسیژن محلول (PO_2) در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و کاندیدا اوتیلیس (دما : ۳۲ درجه ، pH= 5/4 و ۶۰۰ = rpm)*

نوع سوبسترا / زمان(ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ		امعاء و احشاء ماهی تن		آب پخت کنسرو ماهی تن	
	OD	PO2	OD	PO2	OD	PO2
۰	۱/۰۲	۱۰۰	۱/۱۶	۱۰۹	۰/۹۲	۱۰۵
۳	۱/۱۹	۹۴	۱/۲۹	۱۰۰	۰/۹۶	۱۰۳
۶	۲/۲۱	۸۵	۲/۴۵	۹۱	۱/۱۷	۹۰
۹	۲/۶۵	۷۳	۲/۹۶	۸۴	۱/۶۹	۸۱
۱۲	۳/۱۱	۶۹	۳/۴۶	۶۷	۲/۳۶	۷۴
۱۵	۳/۴۶	۵۲	۳/۸۳	۴۳	۲/۹۱	۵۳
۱۸	۳/۹۶	۳۶	۴/۳۸	۳۰	۳/۴۲	۳۴
۲۱	۴/۰۲	۳۲	۴/۴۰	۲۸	۳/۴۶	۳۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : فرمانتور محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از مخلوط مخمرها در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و فرمانتور اختصاصی (rpm=۶۰۰)، از زمان صفر تا ۲۱ ساعت، تغییرات OD به ترتیب از ۱/۰۲ به ۳/۶۸ (۷۲/۲ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ)، ۱/۱۶ به ۴/۱۷ (۷۲/۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۰/۹۲ به ۳/۲۷ (۷۱/۸ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش داشته است. تغییرات مصرف اکسیژن در زمانهای مختلف نیز روند نزولی داشته بطوریکه در زمان ۲۱ ساعت به کمترین مقدار خود رسیده است (جدول ۵۱).

جدول ۵۱ : تغییرات OD (Optical Density) و اکسیژن محلول (PO_2) در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و مخلوط مخمرها (دما : ۳۲ درجه ، pH= 5/4 و ۶۰۰ = rpm)*

نوع سوبسترا / زمان(ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ		امعاء و احشاء ماهی تن		آب پخت کنسرو ماهی تن	
	OD	PO2	OD	PO2	OD	PO2
۰	۱/۰۲	۱۰۰	۱/۱۶	۱۰۸	۰/۹۲	۱۰۶
۳	۱/۱۵	۹۸	۱/۲۵	۱۰۳	۰/۹۳	۱۰۵
۶	۲/۱	۸۸	۲/۱۳	۹۴	۱/۲۵	۹۳
۹	۲/۳۶	۷۹	۲/۶۷	۸۶	۱/۶۵	۸۶
۱۲	۲/۹۹	۷۰	۳/۰۴	۷۳	۲/۱۸	۷۸
۱۵	۳/۴۵	۴۶	۳/۵۳	۴۸	۲/۵۳	۵۰
۱۸	۳/۶۸	۳۵	۴/۱۸	۳۲	۳/۲۶	۳۶
۲۱	۳/۶۸	۳۴	۴/۱۷	۳۳	۳/۲۷	۳۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : فرمانتور محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و فرمانتور اختصاصی(rpm=۳۰۰) ، از زمان صفر تا ۲۱ ساعت، تغییرات OD به ترتیب از ۰/۰۲ به ۳/۴ (۷۰ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۱۶ به ۳/۵۸ (۶۷/۶ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۰/۹۲ به ۲/۸۳ (۶۷/۴ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش داشته است. تغییرات مصرف اکسیژن در زمانهای مختلف نیز روند نزولی داشته ولی در مقایسه با تیمارهای اولیه(rpm=۶۰۰) زیاد مشهود نبوده است (جدول ۵۲).

جدول ۵۲ : تغییرات OD (Optical Density) و اکسیژن محلول (PO_2) در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و کاندیدا اوتیلیس (دما : ۳۲ درجه ، pH= 5/4 و rpm = ۳۰۰)*

نوع سوبسترا / زمان(ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ		امعاء و احشاء ماهی تن		آب پخت کنسرو ماهی تن	
	OD	PO2	OD	PO2	OD	PO2
۰	۱/۰۲	۱۰۰	۱/۱۶	۱۰۹	۰/۹۲	۱۰۵
۳	۱/۱۰	۱۰۰	۱/۱۸	۱۰۹	۰/۹۲	۱۰۵
۶	۱/۴۶	۹۳	۱/۵۹	۹۰	۱/۰۹	۹۵
۹	۱/۸۹	۸۵	۱/۹۶	۸۱	۱/۳۶	۹۳
۱۲	۲/۲۳	۷۶	۲/۳۹	۶۵	۱/۹۶	۷۸
۱۵	۲/۸۲	۶۲	۲/۹۶	۵۳	۲/۳۲	۶۶
۱۸	۳/۳۶	۴۱	۳/۵۸	۳۶	۲/۸۲	۴۷
۲۱	۳/۴۰	۴۱	۳/۵۸	۳۵	۲/۸۳	۴۶

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : فرمانتور محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از مخلوط مخمرها در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و فرمانتور اختصاصی(rpm=۳۰۰) ، از زمان صفر تا ۲۱ ساعت، تغییرات OD به ترتیب از ۱/۰۲ به ۳/۲۴ (۶۸/۵ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۱۶ به ۳/۵۳ (۶۷/۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۰/۹۲ به ۲/۳۷ (۶۱/۱ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش داشته است. تغییرات مصرف اکسیژن در زمانهای مختلف نیز روند نزولی داشته ولی در مقایسه با تیمارهای اولیه(rpm=۶۰۰) زیاد مشهود نبوده است (جدول ۵۳).

جدول ۵۳ : تغییرات OD (Optical Density) و اکسیژن محلول (PO_2) در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و مخلوط مخمرها (دما : ۳۲ درجه ، pH= 5/4 و rpm = ۳۰۰)*

نوع سوبسترا / زمان(ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ		امعاء و احشاء ماهی تن		آب پخت کنسرو ماهی تن	
	OD	PO2	OD	PO2	OD	PO2
۰	۱/۰۲	۱۰۰	۱/۱۶	۱۰۸	۰/۹۲	۱۰۶
۳	۱/۰۳	۱۰۰	۱/۱۷	۱۰۴	۰/۹۴	۱۰۶
۶	۱/۱۸	۹۷	۱/۳۸	۹۲	۱/۰۸	۱۰۰
۹	۱/۶۹	۹۰	۱/۹۲	۸۴	۱/۱۷	۹۶
۱۲	۲/۱۷	۸۵	۲/۳۴	۷۲	۱/۶۶	۹۳
۱۵	۲/۶۸	۷۳	۲/۸۶	۶۳	۲/۰۴	۷۳
۱۸	۳/۲۳	۵۲	۳/۵۳	۴۵	۲/۳۶	۶۰
۲۱	۳/۲۴	۵۰	۳/۵۳	۴۳	۲/۳۷	۶۱

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : فرمانتور محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس لیکنوفورمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و فرمانتور اختصاصی(rpm=۶۰۰) ، از زمان صفر تا ۲۱ ساعت، تغییرات OD به ترتیب از ۱/۰۲ به ۳/۳۱ (۶۹/۱ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۱۶ به ۳/۵۵ (۶۷/۳ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۰/۹۲به ۲/۸۷ (۶۷/۹ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش داشته است. تغییرات مصرف اکسیژن در زمانهای مختلف نیز روند نزولی داشته است (جدول ۵۴).

جدول ٥٤ : تغییرات OD (Optical Density) و اکسیژن محلول (PO_2) در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و باسیلوس لیکنوفورمیس (دما : ۳۵ درجه ، 6/9 =pH و ٦٠٠ = rpm)*

نوع سوبسترا / زمان(ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ		امعاء و احشاء ماهی تن		آب پخت کنسرو ماهی تن	
	OD	PO2	OD	PO2	OD	PO2
۰	۱/۰۲	۱۰۰	۱/۱۱	۱۰۹	۰/۹۲	۱۰۵
۳	۱/۱۴	۹۸	۱/۲۰	۹۶	۰/۹۴	۱۰۴
۶	۱/۲۶	۸۶	۱/۳۴	۸۳	۱/۱۶	۹۲
۹	۱/۹۳	۷۶	۲/۳۹	۷۲	۱/۳۶	۸۱
۱۲	۲/۵۰	۵۸	۲/۸۷	۵۳	۱/۹۳	۶۹
۱۵	۲/۹۸	۴۹	۳/۳۲	۴۵	۲/۴۲	۵۴
۱۸	۳/۳۱	۳۶	۳/۵۵	۳۴	۲/۸۷	۴۲
۲۱	۳/۳۱	۳۶	۳/۵۵	۳۴	۲/۸۷	۴۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : فرمانتور محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس لیکنوفورمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و فرمانتور اختصاصی(rpm=۳۰۰) ، از زمان صفر تا ۲۱ ساعت، تغییرات OD به ترتیب از ۱/۰۲ به ۲/۶۴ (۵۷/۷ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱/۱۶ به ۲/۶۲ (۵۵/۷ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۰/۹۲ به ۲/۲ (۵۸/۱ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) افزایش داشته است. تغییرات مصرف اکسیژن در زمانهای مختلف نیز روند نزولی داشته ولی در rpm=۶۰۰ ، روند فوق سریعتر بوده است (جدول ۵۵).

جدول ۵۵ : تغییرات OD (Optical Density) و اکسیژن محلول (PO_2) در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و باسیلوس لیکنوفورمیس (دما : ۳۵ درجه ، pH= 6/9 و ۳۰۰ = rpm)*

نوع سوبسترا / زمان(ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ		امعاء و احشاء ماهی تن		آب پخت کنسرو ماهی تن	
	OD	PO2	OD	PO2	OD	PO2
۰	۱/۰۴	۱۰۰	۱/۱۳	۱۰۸	۰/۹۴	۱۰۲
۳	۱/۰۹	۹۵	۱/۱۱	۱۰۰	۰/۹۳	۱۰۲
۶	۱/۱۷	۹۰	۱/۳۲	۸۳	۱/۰۴	۹۶
۹	۱/۵۳	۷۶	۱/۶۸	۷۰	۱/۲۰	۸۷
۱۲	۱/۸۲	۶۳	۲/۰۶	۵۵	۱/۴۳	۷۴
۱۵	۲/۱۰	۵۴	۲/۳۶	۴۶	۱/۷۲	۶۶
۱۸	۲/۴۵	۴۱	۲/۶۲	۳۴	۲/۲۰	۵۳
۲۱	۲/۴۶	۴۱	۲/۶۲	۳۴	۲/۲۰	۵۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : فرمانتور محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و فرمانتور اختصاصی(rpm=۶۰۰) ، از زمان صفر تا ۲۱ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۵۴ به ۲/۰۱ (۷۶/۴ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۰/۹ به ۲/۳۲ (۷۸/۷ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۶۴ به ۱/۵۳ (۷۲/۸ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است. تغییرات مصرف اکسیژن در زمانهای مختلف مشابه تیمارهای اولیه بوده است (جدول ۵۶).

جدول٥٦: تغییرات پروتئین و اکسیژن محلول (PO_2) در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و کاندیدا اوتیلیس

(دما : ۳۲ درجه ، pH= 5/4 و ٦۰۰ = rpm)*

نوع سوبسترا / زمان(ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ		امعاء و احشاء ماهی تن		آب پخت کنسرو ماهی تن	
	پروتئین	PO2	پروتئین	PO2	پروتئین	PO2
۰	۸/۵۴	۱۰۰	۱۰/۹۰	۱۰۹	۵/۶۴	۱۰۵
۳	۸/۱۲	۹۴	۱۰/۶۶	۱۰۰	۵/۳۶	۱۰۳
۶	۷/۳۵	۸۵	۸/۳۹	۹۱	۴/۱۳	۹۰
۹	۵/۳۱	۷۳	۶/۴۳	۸۴	۳/۲۵	۸۱
۱۲	۴/۵۴	۶۹	۴/۶۶	۶۷	۲/۱۶	۷۴
۱۵	۳/۲۶	۵۲	۳/۴۵	۴۳	۱/۷۳	۵۳
۱۸	۲/۱۱	۳۶	۲/۳۲	۳۰	۱/۵۲	۳۴
۲۱	۲/۱۰	۳۲	۲/۳۲	۲۸	۱/۵۳	۳۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : فرمانتور محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از مخلوط مخمرها در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و فرمانتور اختصاصی(rpm=۶۰۰) ، از زمان صفر تا ۲۱ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۵۴ به ۲/۳۲ (۷۲/۸ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۰/۹ به ۳/۲۴ (۷۰/۲ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۶۴ به ۱/۸۳ (۶۷/۵ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است. تغییرات مصرف اکسیژن در زمانهای مختلف مشابه تیمارهای اولیه بوده است (جدول ۵۷).

جدول۵۷ : تغییرات پروتئین و اکسیژن محلول (PO_2) در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و مخلوط مخمرها

(دما : ۳۲ درجه ، 5/4 =pH و ٦۰۰ = rpm)*

نوع سوبسترا / زمان(ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ		امعاء و احشاء ماهی تن		آب پخت کنسرو ماهی تن	
	پروتئین	PO2	پروتئین	PO2	پروتئین	PO2
۰	۸/۵۴	۱۰۰	۱۰/۹۰	۱۰۸	۵/۶۴	۱۰۶
۳	۸/۴۳	۹۸	۱۰/۸۲	۱۰۳	۵/۲۵	۱۰۵
۶	۷/۶۸	۸۸	۹/۳۶	۹۴	۴/۳۵	۹۳
۹	۶/۲۱	۷۹	۷/۵۹	۸۶	۳/۶۳	۸۶
۱۲	۵/۰۶	۷۰	۵/۳۵	۷۳	۲/۷۴	۷۸
۱۵	۳/۸۳	۴۶	۶/۲۱	۴۸	۲/۰۶	۶۱
۱۸	۲/۳۲	۳۵	۳/۲۴	۳۲	۱/۸۳	۳۶
۲۱	۲/۳۲	۳۴	۳/۲۴	۳۳	۱/۸۳	۳۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : فرمانتور محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از کاندیدا اوتیلیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و فرمانتور اختصاصی(rpm=۳۰۰) ، از زمان صفر تا ۲۱ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۵۴ به ۳/۴۵ (۵۹/۶ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۰/۹ به ۳/۱۲ (۷۱/۳ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۶۴ به ۱/۷ (۶۹/۸ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است. تغییرات مصرف اکسیژن در زمانهای مختلف مشابه تیمارهای اولیه بوده است (جدول ۵۸).

جدول ۵۸ : تغییرات پروتئین و اکسیژن محلول (PO_2) در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و کاندیدا اوتیلیس

(دما : ۳۲ درجه ، pH= 5/4 و rpm = ۳۰۰)*

نوع سوبسترا / زمان(ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ		امعاء و احشاء ماهی تن		آب پخت کنسرو ماهی تن	
	پروتئین	PO2	پروتئین	PO2	پروتئین	PO2
۰	۸/۵۴	۱۰۰	۱۰/۹۰	۱۰۹	۵/۶۴	۱۰۵
۳	۸/۴۲	۱۰۰	۱۰/۸۱	۱۰۹	۵/۵۳	۱۰۵
۶	۷/۹۱	۹۳	۹/۳۶	۹۰	۴/۹۱	۹۵
۹	۷/۰۲	۸۵	۷/۲۵	۸۱	۳/۷۲	۹۳
۱۲	۶/۴۳	۷۶	۵/۶۹	۶۵	۲/۶۸	۷۸
۱۵	۴/۸۸	۶۲	۴/۰۶	۵۳	۱/۹۳	۶۶
۱۸	۳/۴۶	۴۱	۳/۱۱	۳۶	۱/۷۰	۴۷
۲۱	۳/۴۵	۴۱	۳/۱۲	۳۵	۱/۷۰	۴۶

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : فرمانتور محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از مخلوط مخمرها در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و فرمانتور اختصاصی(rpm=۳۰۰) ، از زمان صفر تا ۲۱ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۵۴ به ۳/۳۵ (۶۰/۷ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۰/۹ به ۳/۶۴ (۶۶/۶ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۶۴ به ۲/۱۶ (۶۱/۷ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است. تغییرات مصرف اکسیژن در زمانهای مختلف مشابه تیمارهای اولیه بوده است (جدول ۵۹).

جدول ۵۹ : تغییرات پروتئین و اکسیژن محلول (PO_2) در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و مخلوط مخمرها

(دما : ۳۲ درجه ، pH= 5/4 و ۳۰۰ = rpm)*

نوع سوبسترا / زمان(ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ		امعاء و احشاء ماهی تن		آب پخت کنسرو ماهی تن	
	پروتئین	PO2	پروتئین	PO2	پروتئین	PO2
۰	۸/۵۴	۱۰۰	۱۰/۹۰	۱۰۹	۵/۶۴	۱۰۶
۳	۸/۴۸	۱۰۰	۱۰/۸۱	۱۰۹	۵/۵۹	۱۰۶
۶	۷/۹۱	۹۷	۹/۳۶	۹۰	۵/۰۲	۱۰۰
۹	۶/۸۳	۹۰	۷/۲۵	۸۱	۴/۵۳	۹۶
۱۲	۵/۴۶	۸۵	۵/۶۹	۶۵	۳/۴۸	۹۳
۱۵	۴/۱۱	۷۳	۴/۰۶	۵۳	۲/۷۲	۷۳
۱۸	۳/۳۵	۵۲	۳/۱۱	۳۶	۲/۱۶	۶۰
۲۱	۳/۳۵	۵۰	۳/۱۲	۳۵	۲/۱۶	۶۱

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : فرمانتور محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد هنگام استفاده از باسیلوس لیکنوفورمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و فرمانتور اختصاصی(rpm=۶۰۰) ، از زمان صفر تا ۲۱ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۵۴ به ۲/۷ (۶۸/۳ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۰/۹ به ۳/۶۲ (۶۶/۷ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۶۴ به ۱/۸۵ (۶۷/۲ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است. تغییرات مصرف اکسیژن در زمانهای مختلف مشابه تیمارهای اولیه بوده است(جدول ۶۰).

جدول ٦٠ : تغییرات پروتئین و اکسیژن محلول (PO_2) در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و باسیلوس لیکنوفورمیس (دما : ۳۵ درجه ، pH= 6/9 و ٦٠٠ = rpm)*

نوع سوبسترا / زمان(ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ		امعاء و احشاء ماهی تن		آب پخت کنسرو ماهی تن	
	پروتئین	PO2	پروتئین	PO2	پروتئین	PO2
۰	۸/۵۴	۱۰۰	۱۰/۹۱	۱۰۹	۵/۶۶	۱۰۵
۳	۸/۴۶	۹۸	۱۰/۷۳	۹۶	۵/۴۶	۱۰۴
۶	۷/۷۹	۸۶	۹/۲۱	۸۳	۵/۰۲	۹۲
۹	۶/۶۲	۷۶	۸/۱۳	۷۲	۴/۲۳	۸۱
۱۲	۵/۲۶	۵۸	۶/۲۶	۵۳	۲/۲۵	۶۹
۱۵	۳/۴۵	۴۹	۴/۷۸	۴۵	۲/۱۱	۵۴
۱۸	۲/۷۰	۳۶	۳/۶۲	۳۴	۱/۸۵	۴۲
۲۱	۲/۷	۳۶	۳/۶۲	۳۴	۱/۸۵	۴۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : فرمانتور محیط پایه : سوبسترای خالص

نتایج نشان میدهد بهنگام استفاده از باسیلوس لیکنوفورمیس در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و فرمانتور اختصاصی(rpm=۳۰۰) ، از زمان صفر تا ۲۱ ساعت، تغییرات پروتئین به ترتیب از ۸/۵۴ به ۳/۴۹ (۵۹/۱٪) (برای امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) ، ۱۰/۹ به ۳/۷۳ (۶۵/۷ درصد) (برای امعاء و احشاء ماهی تن) و ۵/۶۴ به ۲/۳۴ (۵۸/۵ درصد) (آب پخت کنسرو ماهی تن) کاهش داشته است. تغییرات مصرف اکسیژن در زمانهای مختلف مشابه تیمارهای اولیه بوده است (جدول ۶۱).

جدول ٦١ : تغییرات پروتئین و اکسیژن محلول (PO_2) در محیط حاوی سوبستراهای اختصاصی و باسیلوس لیکنوفرمیس (دما : ۳۵ درجه ، pH= 6/9 و ۳۰۰ = rpm)*

نوع سوبسترا / زمان(ساعت)	امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ		امعاء و احشاء ماهی تن		آب پخت کنسرو ماهی تن	
	پروتئین	PO2	پروتئین	PO2	پروتئین	PO2
۰	۸/۵۴	۱۰۰	۱۰/۹۱	۱۰۸	۵/۶۶	۱۰۲
۳	۸/۴۹	۹۵	۱۰/۸۷	۱۰۰	۵/۶۰	۱۰۲
۶	۷/۹۳	۹۰	۹/۸۶	۸۳	۵/۳۴	۹۶
۹	۶/۹	۷۶	۸/۴۲	۷۰	۴/۶۵	۸۷
۱۲	۵/۶۱	۶۳	۶/۴۸	۵۵	۳/۷۳	۷۴
۱۵	۴/۲۶	۵۴	۵/۲۶	۴۶	۲/۹۱	۶۶
۱۸	۳/۴۹	۴۱	۳/۷۳	۳۴	۲/۳۴	۵۳
۲۱	۳/۴۹	۴۱	۳/۷۳	۳۴	۲/۳۴	۵۳

* دوز مورد استفاده میکروب: ۵ درصد مقیاس آزمایش : فرمانتور محیط پایه : سوبسترای خالص

٤ ـ بحث و نتیجه‌گیری

پروتئین تک یاخته از منابع مختلف قابل تهیه و تولید می باشد . محققین مطالعات مختلفی را در ارتباط با تولید پروتئین تک یاخته از سوبستراهایی نظیر ضایعات کشاورزی (ملاس ، برنج ، مرکبات)، محصولات جانبی شیمیایی (متان و مشتقات نفتی) و ضایعات شیلاتی (نظیر پوست میگو) انجام داده اند (Blancou *et al.*, 1978 ; Bornstain *et al.*, 1982 ; Ferrer *et al.*, 1996 ; Elsaadany *et al.*, 1988; Fujii 1989; Sivalingam P.M . 1989). در هر یک از مطالعات انجام شده ، از میکروب یا میکروبهای مختلف استفاده شده و شرایط مهیا نمودن محیط رشد میکروارگانیسم های مورد استفاده نیز متفاوت بوده است. در این تحقیق از ضایعات ماهیان دریایی (امعاء و احشاء تن ماهیان و آب پخت کارخانجات کنسرو ماهی تن) و پرورشی (امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ) استفاده شده و فاکتورهای مختلف مرتبط با تولید محصول نظیر دما ، نوع میکروارگانیسم ، سوبسترای مورد استفاده ، سوبستراهای افزودنی ، pH ، میزان تلقیح ، زمان تخمیر ، هواده ، میزان اکسیژن ، دور همزن مورد ارزیابی قرار گرفته است.

١ ـ ٤ ـ نوع سیستم و میکروارگانیسم مورد استفاده

سیستم مورد استفاده در این تحقیق از نوع هوازی ممتد و فرمانتور مورد استفاده نیز CSTR بوده است. Griffiths فرآیندهای مختلفی که برای تولید فرآوری میکروبی مورد استفاده قرار می گیرند را به کشت غیر مداوم ، نیمه مداوم ، کشت غیر مداوم خوراک دهی شده ، کشت غیر مداوم خوراک دهی شده ، کشت مداوم تزریقی و کشت مداوم تقسیم نمود(Griffits 1992) . هر یک از فرآیندهای مذکور بصورت هوازی و بی هوازی قابل انجام می باشد. در شرایط هوازی میزان مشخصی از هوا (برحسب vvm) وارد سیستم شده و میزان اکسیژن مصرفی (PO_2) در زمانهای مختلف مشخص میگردد. سیستم مورد استفاده در تحقیق حاضر از کشت غیر مداوم در شرایط آزمایشگاهی و فرمانتور استفاده شده و میزان مشخصی از سوبسترا در اختیار میکروارگانیسم قرار گرفته و در زمانهای مختلف روند رشد میکروب و تغییرات پروتئین اندازه گیری شد. Ahmad و همکارانش در سال ۱۹۹۵ روند رشد مخمر را در فرمانتور بسته آزمایش کرده و تاثیر فاکتورهای مختلف را بر روند تخمیر مورد ارزیابی قرار دادند. آنها در تحقیقات خود ، روند رشد مخمر را با استفاده از سه روش Teissier , Levenpid, Monod مورد تجزیه و تحلیل قرار داد. نتایج آنها نشان داد که فاکتورهای مختلف تاثیر متفاوت بر رشد مخمر داشته و روند تولید SCP نیز متغیر میباشد. نتایج این تحقیق موضوع فوق را تایید میکند (Ahmad *et al.*, 1995). Ferrer و همکارانش در سال ۱۹۹۶ از دو روش بسته وکشت مداوم به منظور تولید پروتئین تک یاخته از پوسته

میگو استفاده نمودند. میکروارگانیسم مورد استفاده در تحقیقات آنها ساکارومیسس سرویزیه بوده و نتایج نشان داد که میزان رشد اختصاصی و ضریب تولید محصول به ترتیب ۰/۳۸۹ در ساعت و ۰/۴۴۷ کیلو گرم وزن خشک سلول بوده است(Ferrer *et al*., 1996). میکروارگانیسمهای مورد استفاده در این تحقیق از گروه مخمرها و باکتریها بوده که در گروه مخمرها کاندیدا اوتیلیس نسبت به سایر مخمرهای مورد استفاده از توانایی و پتانسیل بالاتری برخوردار بوده و در مرحله بعد ساکارومیسس سرویزیه ، رودوتورولا ، کلاورمایسس ، زیگوساکارومیسس قرا داشته و در جنس باسیلوس، گونه لیکنوفورمیسس بهتر از سوبتی لیس بوده است. نتایج آنالیز واریانس چند طرفه نشان دادکه انتخاب تیمارهای مختلف قارچی و باکتریایی تاثیر معنی داری در میزان تولید محصول نداشته است.Kurbanoglu و همکارانش در سال ۲۰۰۲ از باسیلوس سرئوس(*Bacillus cereus*)، باسیلوس سوبتی لیس و اشریشیا کلی (*Escerichia coli*)به منظور تبدیل شاخ گاو به پروتئین تک یاخته در سیستم بسته استفاده نموده اند . نتایج نشان داد که میزان پروتئین کل برای باکتریهای مورد استفاده به ترتیب ۶۶درصد (اشریشیا کلی) ، ۶۸ درصد (باسیلوس سرئوس) و ۷۱ درصد (باسیلوس سوبتی لیس) بوده است (Kurbanoglu *et al*., 2002). نتایج این تحقیق نشان میدهد که میانگین درصد پروتئین در SCP تولید شده از باسیلوس سوبتی لیس ۷۰/۳۳ درصد بوده که تفاوت چندانی با تحقیق Kurbanoglu و همکارانش نداشته است. Mahasneh در سال ۱۹۹۷ از پنج سویه جلبک کلرولا در جهت تولیدSCP استفاده کرد. میزان تولید بیوماس و SCP تولید شده به ترتیب۲۶۰-۱۵۰ mg/l و ۴۹/۷-۱۲/۴ وزن خشک بوده است (Mahasneh 1997). Ashy و همکارانش در سال ۱۹۸۲ پتانسیل تولید پروتئین تک یاخته را در ۶۷ جنس از مخمر مورد بررسی قرار داده و نتایج نشان داد که دو مخمر کاندیدا تروپیکالیس (*Candida tropicalis*)و یارودویا لیپولیتیکا (Yaro*duwia lipolitica*) بیشترین جنس غالبی هستند که قادر به تولید پروتئین تک یاخته از منابع مختلف می‌باشند. در این تحقیق میزان رشد کاندیدا و تغییرات پروتئینی نسبت به تیمارهای مورد استفاده بیشتر بوده است. (Ashy *et al*., 1982)

۲ ـ ٤ ـ مقایسه ارزش غذایی و مقیاسهای مورد استفاده

نتایج این تحقیق نشان میدهد که میزان تولید پروتئین خام تولید شده در شرایط آزمایشگاهی برای تیمارهای سه گانه ، متفاوت بوده و بین ۱۰ تا ۴۵ گرم متغیر بوده است. Kim وهمکارانش در سال ۲۰۰۰ از باکتری فتوسنتیک رودوسودوموناس پالوستریس (*Rodopseudomonas palostris*) پروتئین تک یاخته تولید کرده و از سه روش تخمیر بی هوازی استفاده نموده اند. محیط کشت مورد استفاده جهت انجام فرآیند ، محیط کشت

آزمایشگاهی بوده است. ماکزیمم میزان رشد اختصاصی و تولید بیوماس در حدود ۰/۱۲ در هر ساعت و ۵۵ میلی گرم در لیتر / ساعت و میزان پروتئین خام تولید شده نیز ۷-۷۲ درصد بوده است (Kim *et al*., 2000).

Akman در مطالعه خود به مقایسه پروتئین تولید شده از مخمرها ، کپکها و جلبکها پرداخته و مزایا و معایب هر یک را مورد ارزیابی قرار داد (Akman 1980). پروفسور Israelidis نیز در مطالعه خود به تعریف پروتئین تک یاخته ، منابع مختلف میکروبی تولید کننده آن و مقایسه آنها با یکدیگر ، مقایسه ارزش غذایی پروتئین میکروبی اشاره نمود (Israelidis 2000). نتایج این تحقیق نشان میدهد که درصد پروتئین در SCP باکتزیایی(۷۲/۰۵ درصد) بیشتر از مخمرها (۵۷/۹۱ درصد) میباشد.

همچنین نتایج حاصله نشان میدهد که میزان درصد پروتئین در شرایط فرمانتور بهتر از شرایط آزمایشگاهی بوده است . علت این امر کنترل نمودن فاکتورهای مختلف در فرآیند فرمانتور بوده است. در شرایط آزمایشگاهی ، فاکتورهای مختلف محیطی بر روند انجام فرآیند تأثیر گذاشته و نمیتوان تمام فاکتورها ی دخیل در تخمیر را بطور کامل کنترل نمود. بهنگام استفاده از فرمانتور ، با افزایش یا کاهش pH ، بطور اتوماتیک اسید و باز اضافه شده و یا آنکه با افزایش کف در سطح محیط کشت ، آنتی فوم یا ضد کف که اغلب از سیلیکونها میباشند استفاده شده و از اختلال در واکنش جلوگیری می گردد. در شرایط فرمانتور میزان هوای ورودی اکسیژن محلول در واکنش کنترل شده در حالیکه پارامترهای مذکور در شرایط آزمایشگاهی و بهنگام انجام فرآیند در ارلن آزمایشگاهی، قابل کنترل نمی باشد (Ahmad *et al*., 1995). نتایج مطالعات Schulz وهمکارانش نشان داده که میزان پروتئین خام در SCP تولید شده از مخمرها بین ۶۸-۳۹ درصد بوده در صورتیکه این میزان در SCP باکتریایی در حدود ۸۲ درصد می باشد. میزان اسیدهای آمینه ضروری پروتئین مخمر بین ۶/۶ -۸/۴g/16gN بوده است. ولی با این وجود ، میزان چربی کل در پروتئین با منشاء میکروبهای مختلف ، متغیر بوده است(Schulz *et al*., 1974). نتایج تحقیق حاضر نتایج فوق را تایید میکند.

۳ ـ ٤ ـ دما ، pH و زمان تخمیر و دور همزن

دما و pH از فاکتورهایی هستند که بر رشد و تکثیر میکروارگانیسم های مختلف تأثیر بسزائی دارند. میکروبهای مختلف دارای ماکزیمم ، مینیمم و اپتیمم رشد بوده وهر یک در دما و pH خاصی ، بیشترین رشد را از خود نشان میدهند (Ogbonda *et al*., 2007). در این تحقیق از pH = 5/4, 6 و دو دمای ۳۲ و ۲۵ درجه برای رشد مخمرها و PH = 6/5,6/9 و همچنین دماهای ۳۵ و ۳۰ درجه برای رشد باکتریها استفاده گردید. نتایج نشان داد که میزان جذب نوری مخمرها و در رأس آنها کاندیدا اوتیلیس بیشترین مقدار را در دمای ۳۲ و pH = 5/4 داشته و

در دمای ۲۵ درجه و pH=6 رشد کمتری از خود نشان داده است . همچنین باسیلوس لیکنوفورمیس در دمای ۳۵ درجه و pH=6/9 نسبت به دمای ۳۲ درجه pH=6/5 رشد بهتری از خود نشان داده است. با توجه به نتایج بدست آمده در شرایط آزمایشگاهی ، از pH و دمای مناسب رشد مخمرها (۵/۴ و ۳۲) و باکتریها (۳۵ و ۶/۹) در فاز فرمانتور استفاده شده است. نتایج آزمایشات در فاز فرمانتور نیز حاکی از رشد بسیار خوب میکروبهای مورد استفاده بر روی سوبستراهای مختلف بوده است . مقایسه pH در تکرارهای مختلف معنی دار بوده ولی تغییرات دما فاقد ارزش معنی دار بوده است . بعبارت دیگر با افزایش یا کاهش pH، رشد میکروب نیز دچار تغییر میشود.بدنبال افزایش یا کاهش pH در دستگاه فرمانتور ، با اضافه شدن اسید یا سود میزان آن کنترل میشود. از طرفی رشد باکتریها وتولید SCP باعث تولید گرما شده که خود باعث افزایش دمای محیط کشت مورد استفاده شده که خود از موانع رشد میکروبها در ادامه فرآیند تخمیر می باشد(Ahmad *et al.*, 1995). یکی دیگر از فاکتورهای دخیل در فرآیند تخمیر، میزان دور همزن بوده که باعث همزن زدن محیط کشت مورد استفاده شده و از این طریق سوبسترا آسانتر در اختیار میکروارگانیسم قرار گرفته و در نتیجه میزان رشد وتولید SCP افزایش می یابد(Ahmad *et al.*, 1995). میزان دور همزن در این تحقیق ۳۰۰ و ۶۰۰ بوده و نتایج نشان داد که در دور ۶۰۰ ، میزان رشد میکروارگانیسم بیشتر از دور ۳۰۰ بوده و این امر هم در تخمیر باکتریایی و هم تخمیر مخمری صادق بوده است. محققین میزان دور همزن در سیستم های مختلف تخمیر را بین rpm ۶۰۰-۵۰۰ در نظر میگیرند (Griffits 1992). یکی دیگر از فاکتورهای مهم در فرآیند ، زمان تخمیر بوده که میکروبها در زمانهای مختلف اقدام به تولید پروتئین می نمایند. در این تحقیق ، به هنگام انجام فرآیند در شرایط آزمایشگاهی ، ماکزیمم زمان تخمیر ۵۴ ساعت بوده که در این زمان میکروب از نظر تغییرات جذب نوری تقریباً ثابت بوده است. لازم به ذکر است که میکروبهای مورد استفاده در حضور سوبستراهای مورد استفاده تقریبا در زمان ۵۴ ساعت به فاز ثابت رشد رسیده اند. به هنگام انجام فرآیند در سیستم فرمانتور ، زمان تخمیر کوتاهتر شده و به ۲۱ ساعت کاهش یافت. با انجام واکنش در فرمانتور ، به لحاظ کنترل شدن شرایط ، میکروب سریعتر به مصرف سوبسترا پرداخته وتکثیر می نماید. محققین بر این عقیده اند که با وارد نمودن میکروب به یک محیط جدید ، به لحاظ متفاوت بودن شرایط محیطی ، فاز سکون (Lag phase) باکتری طولانی تر شده ولی با گذشت زمان ، میکروب با شرایط جدید خود را آداپته نموده و شروع به رشد لگاریتمی می نماید (Liu *et al.*, 1995 ; Griffits 1992). در تحقیق حاضر ، میکروبها پس از آداپتاسیون اولیه و افزایش تدریجی سوبستراهای اصلی ، با شرایط جدید آداپته شده

اند. بهمین دلیل اضافه کردن میکروب به سیستم فرمانتور ، فاز سکون را بسیار کوتاهتر نموده و بسرعت وارد فاز لگاریتمی شده اند. توقف واکنش و مراحل استخراج آن زمانیست که میکروب وارد فاز رشد ثابت میگردد. در این مرحله میزان سلولهای زنده و مرده تقریباً یکسان بوده و میزان مواد غذایی در دسترس میکروبها کاهش می یابد. بهمین دلیل اگر مرحله ثابت ادامه پیدا کند تعداد میکروبها کمتر شده و در نتیجه میزان پروتئین تولید شده نیز کمتر خواهد بود(Liu *et al.*, 1995 ; Griffits 1992). Ahmad و همکارانش به فاکتورهای مختلف از جمله سرعت دور همزن، میزان ورودی هوا، دما و pH محیط که به نوعی در فرآیند تخمیر تاثیرگذار می‌باشند اشاره نموده و اشاره کردند که با افزایش دور همزن و افزایش نسبی دما، میزان رشد میکروبها افزایش می یابد. فاز سکون رشد مخمرها با کاهش فاکتورهای ذکر شده افزایش یافته و بیانگر آنست که رابطه مستقیم بین دما و دور همزن با رشد میکروبها وجود دارد (Ahmad *et al.*, 1995). نتایج تحقیق Ahmad و همکارانش مشابه این مطالعه میباشد. Mahasneh در سال ۱۹۹۷ تاثیر فاکتورهایی نظیر دما، نور و املاح معدنی را بر روند تولید پروتئین میکروبی (جلبک) را مورد ارزیابی قرار داده و اشاره نمود که با تغییر فاکتورهای مختلف می‌توان، درصد پروتئین میکروبی را افزایش یا کاهش داد. بعنوان مثال حذف برخی از املاح معدنی مانع از رشد مخمر شده و یا آنکه با افزایش نور، می‌توان رشد جلبک را افزایش داد (Mahasneh 1997). Gildberg به فاکتورهای دخیل در فرآیند تخمیر در محصولات دریایی مثل ماهی، خرچنگ و سخت پوستان اشاره نموده و فاکتورهایی نظیر انتخاب نوع میکروارگانیسم، دوز مورد استفاده آنها و روش استفاده بصورت منفرد و ترکیبی را مورد تجزیه و تحلیل قرار داد (Gildberg 1992). Ogbonda و همکارانش در سال ۲۰۰۷، تاثیر دما و pH را بر تولید پروتئین در جلبک اسپیرولینا مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که جلبک مذکور بیشترین تولید را در دمای $30^{o}C$ و pH=۹ داشته و میزان بیوماس میکروبی و پروتئین خام به ترتیب ۴/۹mg/ml و ۴۸/۲g/۱۰۰g بوده است (Ogbonda *et al.*, 2007). Kurbanoglu و همکارانش در تحقیقات خود از باکتریهای مختلف در جهت تولید پروتئین میکروبی از شاخ گاو استفاده کرد و دما، هوادهی و میزان دور همزن به ترتیب $30^{o}C$، ۱۵v/v/min و ۱۵۰ دور بوده است (Kurbanoglu et al 2002).

٤ ـ ٤ ـ سوبسترای مورد استفاده ، میزان تلقیح و هواده

به منظور تولید پروتئین تک یاخته از سوبستراهای مختلفی نظیر ملاس، متان، آب پنیر، پودر ذرت ، هیدروکربنهای نفتی، ضایعات مرکبات و ضایعات فرآورده‌های شیلاتی استفاده می‌گردد (Galvez *et al.*, 1990 ;Blancou *et al.*, 1978 ; Bornstain *et al.*, 1982; Ferrer *et al.*, 1996; Elsaadany *et al.*, 1988).

در این تحقیق سه سوبسترای امعاء و احشاء ماهی تن، امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ و آب پخت کارخانجات کنسرو ماهی مورد استفاده قرار گرفته است. میزان پروتئین و سایر فاکتورهای غذایی در سه سوبسترای مورد استفاده متفاوت بوده و به ترتیب ۱۴/۱۲ درصد-۱۳/۲۵درصد (ماهی تن)، ۱۲/۸ درصد (ماهی فیتوفاگ) و ۸/۲-۶/۵ درصد (آب پخت) بوده است . پس از انجام تخمیر در شرایط آزمایشگاهی میزان پروتئین آنالیز شده در ماده خشک بسیار بالا بوده ولی با این وجود میزان پروتئین تولید شده از باکتریها بیشتر از مخمرهای مورد استفاده بوده است. از طرفی میزان تولید محصول به ازای یک لیتر از سوبسترای مورد استفاده متفاوت بوده و میزان آن بهنگام استفاده از امعاء و احشاء ماهی تن، فیتوفاگ و آب پخت به ترتیب ۴۵-۳۰ گرم، ۲۹-۲۵ گرم و ۱۵-۱۰ گرم بوده است. به لحاظ بالا بودن میزان پروتئین اولیه در امعاء و احشاء تن ماهیان، بالطبع میکروارگانیسم سوبسترای بیشتری را در اختیار داشته و سریعتر تکثیر یافته و میزان بیشتری از پروتئین تک یاخته را تولید می‌نماید. بهنگام اضافه نمودن سوبسترای اضافه به محیط کشت اولیه نظیر اضافه کردن ۵۰ درصد تریپتوز سویا براث به محیط حاوی باکتریها و یا محیط کشت مالت براث (محیط پایه مخمرها)، میزان تولید محصول بیشتر شده بطوریکه برای تن ماهیان، فیتوفاگ و آب پخت به ترتیب به ۵۵-۵۲ گرم، ۳۶-۳۲ گرم و ۲۶-۲۰ گرم در لیتر میرسد. اضافه نمودن سوبسترای اضافی باعث افزایش رشد مضاعف میکروارگانیسم‌های مورد استفاده شده و سوبسترای سهل و آسانی در اختیار میکروب قرار می گیرد. محققین تاثیر سوبستراهای مختلف بر روند انجام فرآیند را در سیستم‌های متفاوت مورد بررسی قرار دارند. Ahmad و همکارانش در سال ۱۹۹۵، تاثیر غلظت گلوکز را بر روند رشد مخمر در فرمانتور بسته مورد ارزیابی قرار داده و نتایج نشان داد که کاهش قند گلوکز، باعث افزایش فاز سکون میکروب شده و در نتیجه واکنش کندتر انجام می گیرد (Ahmad *et al*., 1995). نتایج تحقیق حاضرنشان میدهد که بهنگام اضافه نمودن محیط کشت به سوبسترای اولیه ، روند رشد و در نتیجه تولید SCP افزایش می یابد. Puniga و همکارانش در سال ۱۹۹۵ استفاده از سوبستراهای مختلف نظیر هیدروکربنهای نفتی، ضایعات کشاورزی و باقی‌مانده‌های جنگل به منظور تولید پروتئین میکروبی را مورد بررسی قرار داده و به فاکتورهای مختلف نظیر نوع میکروارگانیسم و مزایا و معایب هر یک از آنها اشاره نمودند (Puniga *et al*., 1995). Ashy و همکارانش از دو مخمر کاندیدا تروپیکالیس و یاروریا لیپولیتکا به منظور تولید پروتئین میکروبی از روغن دیزل استفاده نموده و نتایج نشان داد که ماکزیمم رشد مخمر بعد از ۱۶۸ ساعت بوده و با افزایش میزان سوبسترای کربنی، رشد مخمر روند نزولی به خود می گیرد (Ashy *et al*., 1982). نتایج مطالعات Samuels و

همکارانش در سال ۱۹۹۲ نشان داد که بهنگام استفاده از میکروبها، میانگین پروتئین خام در ضایعات ماهی و خرچنگ به ترتیب درصد ۶۰/۴ و درصد۴۴/۱ بوده است. وی در تحقیقات خود از ملاس خشک شده به میزان ۵ درصد و اسید فرمیک به میزان ۱ درصد به عنوان مواد افزودنی در جهت بهینه سازی فرآیند استفاده نمود. نتایج نشان داد که با اضافه نمودن مواد افزودنی فوق، میزان تولید پروتئین میکروبی بطور معنی‌داری افزایش نشان می‌دهد(Samuels *et al.*, 1992). نتایج مطالعه حاضر نشان میدهد که میزان تولید SCP از امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ ، امعاء و احشاء ماهی تن و آب پخت به ترتیب ۴۵-۳۰ ، ۲۹-۲۵ و ۱۵-۱۰ درصد بوده که با اضافه نمودن سوبسترای اضافه به ۵۵-۵۲ ، ۳۶-۳۲ و ۲۶-۲۰ درصد افزایش یافته است. Gildberg در مطالعه خود از ضایعات ماهی، خرچنگ و سخت پوستان در جهت تولید پروتئین میکروبی استفاده نمود و تاثیر فاکتورهای مختلف بر روند انجام تخمیر را مورد ارزیابی قرار داد (Gildberg 1992) . Ferrer و همکارانش از پوسته میگو در جهت تولید پروتئین میکروبی استفاده نمود و از مخمرهای دریایی به منظور دستیابی به این هدف بهره گرفته است. نتایج نشان داد که میزان رشد اختصاصی و ضریب تولید محصول به ترتیب ۰/۳۸۹ در ساعت و ۰/۴۴۷ کیلوگرم وزن خشک سلول بوده است (Ferrer *et al.*, 1996).یکی دیگر از فاکتورهای موثر در فرآیند تخمیر و تولید پروتئین میکروبی میزان تلقیح اولیه و هوای ورودی و میزان اکسیژن مصرفی یا PO_2 می‌باشد. در این تحقیق میزان تلقیح مخمرها و باکتریها ۵ درصد بوده و هوای ورودی در فرمانتور ۰/۱۵VVm (حجم هوا/ حجم مایع در دقیقه) و PO_2 سوسپانسیون جهت انجام تخمیر بین ۱۰۴-۳۲ متغیر بوده است. در اکثر مطالعات تلقیحی میزان تلقیح میکروبها بین ۱۵-۱ درصد در نظر گرفته و هر چه میزان تلقیح بیشتر باشد فاز سکون میکروارگانیسم کمتر خواهد بود(Griffits 1992). Kim در مطالعه خود از غلظت $۱/۱ \times ۱۰^{۱۰}$ باکتری در میلی لیتر استفاده نموه و میزان رشد باکتری و تولید بیوماس را در حدود ۰/۱۲ درساعت و ۵۵ میلی گرم بر لیتر/ساعت گزارش نموده است. تلقیح ۵-۳ درصد تقریباً بین ضریبی از $۱۰^{۹}-۱۰^{۸}$ از میکروارگانیسم می‌باشد(Kim 2000).

میزان هوای ورودی در حقیقت میزان اکسیژن محلول در سوسپانسیون در حال تخمیر را نشان می‌دهد. محققین میزان هوای ورودی به فرمانتوررا بین ۲vvm-۰/۱ در نظر می‌گیرند (Griffits 1992). میکروارگانیسم هوازی با تکثیر خود و استفاده نمودن از سوبسترا، میزان اکسیژن محصول را کاهش داده و در نتیجه میزان PO2 که از طریق دستگاه نشان داده می‌شود کاهش می‌یابد. با افزایش بیشتر رشد میکروارگانیسم، میزان PO_2 کمتر شده که خود عامل ممانعت کننده رشد میکروب می باشد، زیرا میکروارگانیسم هوازی در حضور اکسیژن قادر

به انجام واکنش تخمیر می باشد. برای رفع چنین مشکلی میزان هوای ورودی در ابتدای واکنش تنظیم شده و بهنگام کاهش PO_2 بطور اتوماتیک به داخل فرمانتور تزریق می گردد. میزان حداقل PO_2 که میکروارگانیسم (مخمر و یا باکتری)، قادر به ادامه رشد میباشد ۳۲ است. پایین تر از این مقدار روند رشد بطور چشمگیری کاهش یافته که با قرائت میزان جذب نوری میکروارگانیسم مشخص می گردد (Griffits 1992).

۵ ـ ٤ ـ روش هضم ضایعات شیلاتی

بطور کلی از دو روش هضم آنزیمی و اسیدی در جهت یکنواخت نمودن ضایعات شیلاتی استفاده می گردد. در روش آنزیمی از دو آنزیم فلیورزیم و پروتوماکس استفاده شده که اولی بوی ماهی را از سوسپانسیون حذف نموده و دومی هیدرولیز آنزیمی را انجام می‌دهد. با افزایش نسبی دما دو آنزیم فوق فعال شده و پس از هضم کامل، با افزایش بیشتر دما در سوسپانسیون مربوطه، غیر فعال می‌شوند. در مرحله آخر، مایع تقریباً همگنی بدست آورده که آماده تلقیح میکروبی می‌باشد. در هیدرولیز اسیدی از اسید فرمیک و پپسین استفاده شده که فرآیندی شبیه تهیه سیلاژ می باشد. روش اخیر زمان بر بوده و تا ۱۶ ساعت بطور می‌انجامد در صورتیکه زمان مورد نیاز برای هیدرولیز آنزیمی بین ۵-۲ ساعت می‌باشد. در این تحقیق از هر دو روش جهت هیدرولیز امعاء و احشاء فیتوفاگ و تن استفاده شده و نتایج تفاوت چندانی با یکدیگر نداشته است. Ferrer و همکارانش از روش اسیدی به منظور هیدرولیز پوست میگو استفاده نموده و از هیدرولیزات حاصله در جهت تولید پروتئین میکروبی استفاده نموده‌اند (Ferrer *et al.*, 1996). Gildberg نیز از روش آنزیمی در جهت هضم محصولات دریایی نظیر ضایعات ماهی، خرچنگ و سخت پوستان استفاده نمود(Gildberg 1992). نتایج تیمارهای مختلف در دو مقیاس آزمایشگاهی حاکی از آن است که تغییرات pH با نوع سوبسترای مورد استفاده معنی دار بوده و سوبستراهای مختلف میزان pH را افزایش یا کاهش میدهند.

کاربرد پروتئین میکروبی تولید شده

پروتئین میکروبی تولید شده در این تحقیق کاربرد فراوانی داشته و می‌توان از آن بعنوان یک ماده افزودنی و پروبیوتیک در جیره غذایی دام، طیور آبزیان استفاده نمود. اما بایستی به این نکته توجه داشت که ارزیابی سایر فاکتورهای غذایی از جمله وجود اسیدهای نوکلئیک، پروفایل اسیدهای آمینه، میزان املاح معدنی، ارزیابی بیماریزایی میکروبهای مورد استفاده و در نهایت انجام کامل تست فارمی لازم و ضروری به نظر می‌رسد. به منظور معرفی پروتئین تک یاخته بعنوان یک پروبیوتیک بایستی بسیاری از آزمایشات اختصاصی را انجام داده که در این تحقیق برخی از آنها انجام گرفته و آنالیز کامل محصول تولید شده نیاز به اعتبار مالی جداگانه داشته تا

بتوان آنرا بعنوان یک Platent معرفی نمود. امروزه از پروتئین میکروبی بعنوان ماده غذایی جایگزین پودر ماهی در آبزیان استفاده می گردد. برتری که پروتئین میکروبی نسبت به پودر ماهی دارد آنست که پروتئین میکروبی اولاً مقرون به صرفه‌تر بوده ثانیاً سرشار از پروتئین بوده ثالثاً بعنوان پروبیوتیک عمل کرده و بواسطه داشتن میکروب یا میکروبهای مفید باعث افزایش مقاومت آبزیان، تقویت سیستم ایمنی، افزایش رشد و بازماندگی ، متعادل نمودن دستگاه گوارش و ... می گردد (Puniga *et al*., 1995 ; Mahnken *et al*., 1980 ; Storebakhen *et al*., 1998).

نتایج مطالعات Kiessling و همکارانش در سال ۱۹۹۲ نشان داده که با افزایش درصد پروتئین تولید شده از *Breibacterium lactofermentum* مورد استفاده در جیره غذایی ماهی قزل آلا می‌توان رشد، بازماندگی و سایر فاکتورهای ایمنی ماهی را افزایش داده و این در حالیست که با اضافه نمودن پروتئین تولید شده از باکتریوم گلوتامینوم (*Bacterium glutaminium*) به جیره غذایی ماهی، رشد ماهی متوقف می‌شود(Kiessling *et al*., 1993). مطالعات انجام گرفته توسط Mahnken و همکارانش حاکی از آنست که با اضافه نمودن پروتئین میکروبی بعنوان غذای جایگزین پودر ماهی، در جیره غذایی، میزان رشد ماهی بطور معنی‌داری افزایش نشان می‌دهد (Mahnken *et al*., 1980). مطالعه انجام شده توسط Dabrowsk و همکارانش نشان داد که پروتئین میکروبی تولید شده از ژئوتریکوم کاندیدوم (Geotrichum candidum) با تیمارهای ۵۰ ، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بعنوان جایگزین پودر ماهی در جیره غذایی ماهی قزل آلا تغییرات معنی داری در رشد و بقاء این ماهی نشان داده است (Dabrowsk *et al*., 1980). محققین مختلف از SCP بعنوان غذای جایگزین سایر مواد در رژیم غذایی ماهیان مختلف استفاده نمودند(Perera *et al*., 1995; Bayourthe *et al*., 1988; Davis *et al*., 1988 ; Voss 1988 ; Kant *et al*., 1996).

پیشنهادها

۱- انجام آزمایشات تکمیلی پروتئین میکروبی تهیه شده نظیر آنالیز اسیدهای نوکلئیک، املاح معدنی، پروفایل اسیدهای آمینه و ...

۲- انجام تست فارمی پروتئین میکروبی تهیه شده و ارزیابی تاثیر آنها بر روند رشد، بازماندگی و سیستم ایمنی انواع ماهیان سردآبی و گرم آبی

۳- استفاده بهینه از سایر ضایعات شیلاتی نظیر Steak water تولید شده از کارخانجات پودر ماهی در جهت تولید پروتئین میکروبی

۴- استفاده از میکروارگانیسم های مختلف در جهت تولید پروتئین میکروبی و مقایسه آنها با یکدیگر و معرفی میکروارگانیسم‌های شاخص

۵- طراحی سیستمهای ساده فرمانتور با همکاری متخصصین بیوتکنولوژی و نصب در کارخانجات فرآوری آبزیان و هدایت ضایعات به فرمانتورهای طراحی شده در جهت تولید پروتئین میکروبی

۶- ارزیابی میکروبهای مورد استفاده به منظور طراحی پروبیوتیکهای میکروبی و استفاده روتین از پروبیوتیکهای مذکور در دامداریها، مرغداریها و کارگاههای پرورش آبزیان

۷- برگزاری کارگاه آموزشی به منظور آشنایی صاحبان صنایع شیلاتی با دانش فنی تولید پروتئین تک یاخته از ضایعات و By products آبزیان

تشکر و قدرانی

وظیفه خود میدانم که از حمایتهای بیدریغ ریاست محترم موسسه آقای دکتر مطلبی و ریاست محترم بخش بیوتکنولوژی آقای دکتر غروقی ، ریاست محترم پژوهشکده اکولوژی دریای خزر آقای دکتر پورغلام ، معاونت محترم تحقیقاتی و مسئول بخش بیوتکنولوژی آقایان دکتر حسن فضلی و فرامرز لالویی و همچنین همکاران محترم بخش بیوتکنولوژی آقایان سلیمان غلامی پور ، علی کفشدار و خانمها زهرا یعقوب زاده و زهرا بانکه ساز تشکر و قدردانی نمایم.

از حمایتهای بی شائبه کارخانه مدیریت محترم آنتی بیوتیک سازی ایران جناب آقای مهندس سلیمانی ، مهندس قاسمی ، مهندس سیفی ، مهندس علیزاده و خانم ملک آرا نیز تشکر می نمایم.

از همکاران محترم تایپ و تکثیر خانم علوی و آقای رازقیان نیز تشکر می نمایم.

منابع

– آشورنیا ، ع . ۱۳۸۳. تولید پروتئین تک یاخته از پس مانده های لیگنوسلولزی برای تغذیه دامها . ترجمه . ش ۸۳ ص ۱۴ تا ۱۹ .

– دریانبرد ، غ . حسینی ، ع . کیمرام ، ف . ۱۳۸۳. تعیین اثرات دو شیوه صید سنتی و صنعتی تون ماهیان بر یکدیگر در دریای عمان . گزارش نهایی شماره فروست ۸۲/۹۵۹. موسسه تحقیقات شیلات ایران

– دفتر طرح و توسعه شیلات ایران. ۱۳۸۵. سالنامه آماری شیلات ایران ۱۳۸۴–۱۳۷۵ . سازمان شیلات ایران.

– تمدنی ، ج ۱۳۸۱ . تهیه سیلاژ از اندامهای باقیمانده تون ماهیان . گزارش نهایی ، شماره فروست ۸۱/۵۱۸. موسسه تحقیقات شیلات ایران

- Ahmad, M.N., Holland, C.R.,1995. Growth Kinetics of single cell protein in batch fermenter . J .Food .Eng, 26: 443-52.

Akman , M., 1980. Single cell protein , Introduction , the use of algae, fungi and yeasts for SCP production . Microbiol Bul 14, 2, 141-55.

- Anupama, P., Ravindra, D., 2000. Value-added food: Single Cell Protein. Biotechnology Advances 18, 459-479.

-Ashy, M.A., Abou- Zeid, A .,1982. Potentialities of yeasts in production of single cell proteins (SCP). Zentralbl Mikrobiol: 137 (5) :387– 94.

-Bayourthe, C., Vellas, F., 1988. Nutritive value of bacterial proteins (PBOL) in rainbow trout (*Salmo gairdnerii Rich.*) diets . AQUACULT. ENG. VOL.12 , pp. 61-70 .

-Bennett, J.W., Keller,N.P .,1997. Mycotoxins and their prevention . In : Anke T , editor. Fungal Biotechnology . Weinheim : International Thompson publishing Company . pp . 265-73.

-Blancou, J., Calvet, H., Riviere, R., 1978. Single cell protein production from Peanut shell. Rev . Elev. Med . Vet . pays. Trop .31(3): 363 -8.

-Bornstein, S., Plavnik, I., Lipstein, B .,1982. Evaluation of methanol grown bacteria and hydrocarbon grown yeast as sources of protein for poultry : trials With egg laying birds . Br Poult Sci. 23(6) :487-99.

-Callihan, C.D. , Clemmer, J.E .,1979. Biomass from cellulosic materials . In : Rose A, editor . Microbial biomass- economic microbiology , vol . 4 New York : Academic Press. pp . 271-88 .

-Corbett, K., 1985 , " Desing, Preparation and Sterilizantion of Fermentation Media ", In Moo_Young , M.(ed), Comprehensive Biotechnology, Vol. 1, Pergamon Press , Oxford, pp.127-139.

-Dabrowsk, K ., Hassard, S., Auinn, J., 1980. Effect of *Geotricum condidum* protein substitution in pelleted fish feed on the growth of Rainbow trout and on utilization of diet. 21, 3 , 213-232 .

-Davies, S. J .,Wareham , H ., 1988 , A preliminary evaluation of an industrial single-cell protein in practical diets for Tilapia (*Oreochromis mossambicus Peters*) . Aquaculture. Vol .73, no 1-4, pp. 189-199.

-Eaton, D.L., Groopman, J.D.,1994. The toxicity of aflatoxins. Human health , veterinary and agricultural significance. San Diego , CA:Academic Press.

-El Saadany, R ., Khalaf, H., Manawaty, H., Salom, F.,1988. The Production of single cell protein from agricultural wastes by fungi . Acta – Aliment . Acad Sci Hung: 17(4):376-7.

-Ferrer , J., Paez,G., Marmol, Z., 1996 . Acid hydrolysis of shrimp shell wastes and the production of single cell protein from the hydrolysate. Bioresource . Technology 57, 1 , 55-60.

-Fujii. T.,1989. Production of single-cell protein from stickwater. J.-TOKYO-UNIV. Fish. Tokyo. Suisandai.Kempo. Vol. 76,No. 1-2,PP.1-6 .

-Galvez, A., Ramirez, M.J., Garcia,G.M., 1990. Chemical composition of a mixture of single cell protein obtainned from Kluyveromyces fragilis and whey proteins . Arch – Latinoam – Nutr: 40(2) : 252 -62 .

-Giec, A., Skupin, J., 1988. Single cell protein as food and feed . Nahrung:32(3) : 219-29.

-Gildberg , A., 1992 . Enzymic processing of marine raw material . Process Biochemistry, 28 , 1, 1-15.

-Ghanem, K.M.,1992. Single cell protein production from beet – pulp by mixed Culture. Microbiologia: 8(1):39-43 .

-Griffits, J.B., 1992.Animal cell processes- batch or continuous. J.Biotechnol. 22, pp 21-30.

-Gtuven, M., Cansunar, E., 1989. Single cell protein production and reduction of pollutants in waste sulphite liquor . Mikrobiyol Bul 1989 :n 253(4) : 329-35.

-Hollingworth, T ., Wekell, M.,1990. Association of official analytical chemists (AOAC). Washington D.C.V.S.A.

-Invarson, K.C., Morita, H., 1982. Single cell protein production by the acid tolerant fungus , *Scytalidium acidophilum* from acid hydrolysates of waste paper . Appl Environ Microbiol: 43:643-7.

-Israelidis , C.J., 2000. Nutrition of single cell protein , Twenty years later . Food Technology Institute Greece.

-Kant,- S ., Sahu, N .P ., Pandey- P.K. 1996 – Potentiality of single-cell protein (SCP) for aquafeed - FISH. – CHIMES. VOL .16, no . 3, pp. 35-37.

-Kiessling , A ., Askbrandt , S., 1993 . Nutritive value of two bacterial strains of single cell protein for Rainbow trout (O*ncorhynchus mykiss*) . Aquaculture. 109, 2, 119-130.

-Kim , H.K ., Lee , B.K., 2000 . Mass Production of *Rhodopseudomonas palustris* as diet for Aquaculture . Aquaculture Engineering . 23, 4, 281-293.

-Kurbanoglu, E.B., and Algur,O.F., 2002. Single cell protein production from ram born hydrolysate by bacteria. Bioresource Technology 85 , 125 – 129.

-Kuzmanova, S., Vandeaka, E., Dimitrovski, A., Doneva, D., 1998. Microbial procedure for utilization of food industry wastes . Dechema Bioechnology Conferences 3- VCH Vertagsgesellschaff . pp . 985 – 8 .

-Lee, L.S ., Bayman, P ., Bennett, J.W ., 1992. Mycotoxins. In : Finkelstein B, Ball C, editors. Biotechnology of filamentous fungi : technology and products . Boston , MA : Butterworth & Heinemann . pp . 463-502.

-Liu, G., Zheng, Z., Song, D., Cen, P., 1995. Kinetic models of batch and fed – batch culture of single cell protein with double carbon sources . Chin J Biotechnol: 11(3) :163-70.

-Mahasneh, L.A .,1997. Production of single cell protein from five strains of *Chlorella* spp. (Chlorophyta) . Cytobios :90:153-61.

-Mahnken , C.V ., Spinelli , J ., Waknitz , F.W .,1980. Evaluation of an yeasts as a substitute for fish meal. Feeding trials with Coho salmon and Rainbow trout . 20, 1, 41-56.

-Moeini, H., Vallian, S., Nahvi, I., 2004. Isolation and identification of yeaste strains capabale of producing SCP from whey in co-culture with Saccharomyces cerevisiae. Iranian Journal of Biotechnology 2, 1 , 13-18.

-Ogbonda , K.H ., Aminigo , R.E ., Abu , G.O .,2007. Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *spirulina* SP. Bioresource Technology. 98 . 2207 – 2211.

- Perera – W. M.K., Carter C.G., Houlihan , D.F.1995 . Apparent absorption efficiencies of amino acids in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) , fed diets containing bacterial single-cell protein . Aquaculture. Nutrition. vol. 1, no.2 , pp. 95-103 .

-Puniga , AK ., Singh , S., Kumar , C.G ., Singh, K., 1995 . Single cell protein . apromising dietary substitute. Indian J Exp Biol , 33, 8 , 545-51 .

-Rhishipat, R., Philip, R., 1998. Selection of marine yeast for generation of single cell protein from Prawn shell wastes. Biores Technol :65:255-6.

-Samuels , W.A ., Fontenot. G.P ., Allen, V.G., Flick , G.J., 1992. Animal Feed Science and Technobgy . 38 , 4 , 305-317.

-Sasikala, C., Ramana, C.V .,1995. Biotechnological potentials of anoxygenic phototrophic bacteria . I . production of single cell protein , vitamins , ubiquinones, hormones and use in waste treatment . Adv Appl Microbiol: 41:173-226.

-Schulz , E., Oslage , H.J .,1974. Composition and nutritive value of single cell protein . Animal Feed Science and Technology 1, 1, 9-24.

-Shipman, R.H., Kao, I.C., Fan, L.T .,1975. Single cell protein production by photosynthetic bacteria cultivation in agricultural byproducts . Biotechnol Bioeng: 17:1561 – 70.

-Sivalingam, - P.M ., 1989, Microbial bioconversion of discarded aquatic proteins into quality proteins. PROGRAM-OF-THE-FIRST-INTERNATIONAL-MARINE- BIOTECHNOLOGY-CONFERENCE-IMBC-89.P.13.

-Singh, A., Abidi, A.B., Agarwal, A.K., Dharmwal, N.S., 1991. Single cell protein production from *Aspergillus niger* and its evaluation . Zentralbl – Mikrobiol: 146(3):181-4.

-Singh, BD., 1998. Biotechnology. New Delhi: Kalyani Publishers,498-510.

-Storebakken, T ., Kvien, I.S., Shearer, D.D., Grisdale, H.B., Helland, S.J., Berge, G.M ., 1998. The apparent digestibility of diets containing fish meal , soybean meal or bacterial meal fed to the Atlantic salmon (*Salmon salar*) . Aquaculture: 169: 195-210.

-Voss,B., 1988 . Replacement of fishmeal in a diet for O-group turbot by a single-cell protein probion and a mixture of poultry offal and hydrolysed feathermeal respectively. ARCH.- FISCHEREIWISS . VOL. 38, NO .3, PP. 203-213.

-Wong, P.K., Chan, K., 1980. Algal single cell protein production from sewage effluents with high salinity . Experientia: 36(9):1065-6.

-Yazdian, F ., Hajizadeh, S., Shojasadati, S.A., 2005. Production of SCP from neutural gas , parameter optimizing and RNA evaluation . Iranian Journal of Biotechnology. 3 , 4 , 235-242.

-Zafaralla, M.T., Vidal, L.R ., Travina, L.E., 1990. Agroindustrial waste products as sources of cheep substractes for algal single-cell protein production . Asian. Fisheries. Development.Center. PP.67-76

پیوست

جدول ۱ : آمار صید تون ماهیان در آبهای جنوب کشور

نام گونه	خوزستان	بوشهر	هرمزگان	سیستان و بلوچستان	جمع
تون منقوش	۳	۲۳۵	۱۳۷۴	۴	۱۶۱۶
زرده	۴۴	۵۴۲۹	۶۱۶۱	۱۶۹	۱۱۸۰۳
شیر	۲۰۲	۱۷۴۹	۳۱۰۵	۱۱۰۸	۶۱۶۴
قباد	۴۶۲	۵۵۱	۲۰۵۳	۲۱	۳۰۸۷
گیدر	۰	۰	۸۵۱۹	۳۵۰۵۳	۴۳۵۷۲
هوور	۱	۲۴۳۳	۱۲۴۶۴	۳۶۲۹	۱۸۵۲۷
هوور مسقطی	۰	۰	۲۸۳۲	۷۷۸۱۹	۸۰۶۵۱
جمع	۷۱۲	۱۰۳۹۷	۳۶۵۰۸	۱۱۷۸۰۳	۱۶۵۴۲۰

جدول ۲ : تعداد تیمارهای مورد استفاده (سوبسترای اولیه ، میکروارگانیسمهای مورد استفاده، سوبستراهای اضافی و pH) در مقیاس آزمایشگاهی

		N
SUBSTRA	1	160
	2	160
	3	160
MIC	1	96
	2	96
	3	96
	4	96
	5	96
SUB_SUBS	1	240
	2	240
PH	1	288
	2	192

جدول ۳ : میانگین و انحراف معیار تغییرات پروتئین در حضور تیمارهای متفاوت در مقیاس آزمایشگاهی

Dependent Variable: PROTEIN

SUBSTRA	MIC	SUB_SUBS	PH	Mean	Std. Deviation	N
1	1	1	1	5.2950	2.78897	8
			2	6.0825	2.18769	8
			Total	5.6888	2.45535	16
		2	1	5.3350	3.03557	8
			2	6.6638	2.07477	8
			Total	5.9994	2.60382	16
		Total	1	5.3150	2.81612	16
			2	6.3731	2.08144	16
			Total	5.8441	2.49452	32
	2	1	1	5.7350	2.64548	8
			2	6.1775	2.21468	8
			Total	5.9562	2.36794	16
		2	1	5.2413	2.88605	8
			2	6.0437	2.14338	8
			Total	5.6425	2.49051	16
		Total	1	5.4881	2.68663	16
			2	6.1106	2.10656	16
			Total	5.7994	2.39579	32
	3	1	1	6.0600	2.34422	8
			2	6.6188	1.97033	8
			Total	6.3394	2.11174	16
		2	1	5.5700	2.83055	8
			2	6.1250	2.41402	8
			Total	5.8475	2.55746	16
		Total	1	5.8150	2.52338	16
			2	6.3719	2.14388	16
			Total	6.0934	2.32057	32
	4	1	1	6.0594	2.28504	16
			Total	6.0594	2.28504	16
		2	1	6.0075	2.79924	8
			2	6.9925	1.95315	8
			Total	6.5000	2.38656	16
		Total	1	6.0421	2.40638	24
			2	6.9925	1.95315	8
			Total	6.2797	2.30923	32
	5	1	1	6.4638	1.89914	16
			Total	6.4638	1.89914	16
		2	1	6.1925	2.42090	8
			2	6.3250	2.31700	8
			Total	6.2587	2.29019	16
		Total	1	6.3733	2.03789	24
			2	6.3250	2.31700	8
			Total	6.3613	2.07218	32
	Total	1	1	6.0195	2.26584	56
			2	6.2929	2.04643	24
			Total	6.1015	2.19305	80
		2	1	5.6693	2.68094	40
			2	6.4300	2.10226	40
			Total	6.0496	2.42416	80
		Total	1	5.8735	2.43990	96
			2	6.3786	2.06622	64
			Total	6.0756	2.30436	160

2	1	1	1	6.2688	3.73801	8
			2	7.2600	3.10323	8
			Total	6.7644	3.35807	16
		2	1	6.4788	3.52313	8
			2	7.2363	3.27454	8
			Total	6.8575	3.30899	16
		Total	1	6.3738	3.51068	16
			2	7.2481	3.08189	16
			Total	6.8109	3.27975	32
	2	1	1	6.1650	3.43803	8
			2	6.9913	3.05164	8
			Total	6.5781	3.16921	16
		2	1	6.2013	3.61854	8
			2	7.1400	3.14812	8
			Total	6.6706	3.31216	16
		Total	1	6.1831	3.40981	16
			2	7.0656	2.99612	16
			Total	6.6244	3.18911	32
	3	1	1	6.8425	3.13320	8
			2	7.6775	2.60335	8
			Total	7.2600	2.81602	16
		2	1	6.8125	3.38382	8
			2	7.2350	3.28306	8
			Total	7.0238	3.22816	16
		Total	1	6.8275	3.15038	16
			2	7.4563	2.87140	16
			Total	7.1419	2.98226	32
	4	1	1	7.4475	2.94118	16
			Total	7.4475	2.94118	16
		2	1	7.4413	3.09480	8
			2	7.7600	2.92152	8
			Total	7.6006	2.91202	16
		Total	1	7.4454	2.92517	24
			2	7.7600	2.92152	8
			Total	7.5241	2.88010	32
	5	1	1	7.8450	2.38321	16
			Total	7.8450	2.38321	16
		2	1	6.7525	3.56650	8
			2	7.5738	3.09784	8
			Total	7.1631	3.25488	16
		Total	1	7.4808	2.80218	24
			2	7.5738	3.09784	8
			Total	7.5041	2.82745	32
	Total	1	1	7.1230	2.97888	56
			2	7.3096	2.81265	24
			Total	7.1790	2.91351	80
		2	1	6.7373	3.28799	40
			2	7.3890	2.99166	40
			Total	7.0631	3.14053	80
		Total	1	6.9623	3.10035	96
			2	7.3592	2.90347	64
			Total	7.1211	3.02017	160
3	1	1	1	3.4875	1.68956	8
			2	3.8738	1.60855	8
			Total	3.6806	1.60605	16

		2	1	3.8875	2.31885	8
			2	4.6288	1.84961	8
			Total	4.2581	2.06212	16
		Total	1	3.6875	1.97082	16
			2	4.2513	1.71929	16
			Total	3.9694	1.84167	32
	2	1	1	3.6488	1.50042	8
			2	3.7450	1.50443	8
			Total	3.6969	1.45233	16
		2	1	3.6488	2.34689	8
			2	4.5688	1.91289	8
			Total	4.1088	2.12218	16
		Total	1	3.6488	1.90288	16
			2	4.1569	1.71603	16
			Total	3.9028	1.80100	32
	3	1	1	3.9213	1.46560	8
			2	3.9925	1.57546	8
			Total	3.9569	1.47039	16
		2	1	4.2113	2.16591	8
			2	4.6838	1.98691	8
			Total	4.4475	2.02264	16
		Total	1	4.0662	1.79277	16
			2	4.3381	1.76863	16
			Total	4.2022	1.75722	32
	4	1	1	3.9394	1.49936	16
			Total	3.9394	1.49936	16
		2	1	4.2113	2.19870	8
			2	5.0438	1.76286	8
			Total	4.6275	1.97258	16
		Total	1	4.0300	1.71889	24
			2	5.0438	1.76286	8
			Total	4.2834	1.75862	32
	5	1	1	4.1306	1.38343	16
			Total	4.1306	1.38343	16
		2	1	4.6925	1.95596	8
			2	4.9338	1.94846	8
			Total	4.8131	1.89012	16
		Total	1	4.3179	1.57663	24
			2	4.9338	1.94846	8
			Total	4.4719	1.66582	32
	Total	1	1	3.8854	1.45190	56
			2	3.8704	1.49746	24
			Total	3.8809	1.45619	80
		2	1	4.1303	2.11596	40
			2	4.7718	1.80372	40
			Total	4.4510	1.98005	80
		Total	1	3.9874	1.75305	96
			2	4.4338	1.73957	64
			Total	4.1659	1.75594	160
Total	1	1	1	5.0171	2.97897	24
			2	5.7387	2.68902	24
			Total	5.3779	2.83093	48
		2	1	5.2338	3.06460	24
			2	6.1763	2.63081	24
			Total	5.7050	2.86526	48

	Total	1	5.1254	2.99177	48
		2	5.9575	2.64089	48
		Total	5.5415	2.83789	96
2	1	1	5.1829	2.76997	24
		2	5.6379	2.64584	24
		Total	5.4104	2.68949	48
	2	1	5.0304	3.05821	24
		2	5.9175	2.58578	24
		Total	5.4740	2.83721	48
	Total	1	5.1067	2.88747	48
		2	5.7777	2.59186	48
		Total	5.4422	2.74993	96
3	1	1	5.6079	2.62769	24
		2	6.0962	2.55023	24
		Total	5.8521	2.57341	48
	2	1	5.5312	2.92038	24
		2	6.0146	2.71916	24
		Total	5.7729	2.80205	48
	Total	1	5.5696	2.74845	48
		2	6.0554	2.60818	48
		Total	5.8125	2.67626	96
4	1	1	5.8154	2.69627	48
		Total	5.8154	2.69627	48
	2	1	5.8867	2.93140	24
		2	6.5987	2.46344	24
		Total	6.2427	2.70265	48
	Total	1	5.8392	2.75632	72
		2	6.5987	2.46344	24
		Total	6.0291	2.69379	96
5	1	1	6.1465	2.44425	48
		Total	6.1465	2.44425	48
	2	1	5.8792	2.75837	24
		2	6.2775	2.63122	24
		Total	6.0783	2.67430	48
	Total	1	6.0574	2.53687	72
		2	6.2775	2.63122	24
		Total	6.1124	2.54857	96
Total	1	1	5.6760	2.66918	168
		2	5.8243	2.59927	72
		Total	5.7205	2.64384	240
	2	1	5.5122	2.91901	120
		2	6.1969	2.57420	120
		Total	5.8546	2.76759	240
	Total	1	5.6077	2.77220	288
		2	6.0572	2.58316	192
		Total	5.7875	2.70443	480

جدول ۴ : ارزیابی معنی دار بودن تغییرات پروتئین در حضور تیمارهای مختلف در مقیاس آزمایشگاهی

Dependent Variable: PROTEIN

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	826.352(a)	53	15.592	2.481	.000
Intercept	14688.103	1	14688.103	2337.337	.000
SUBSTRA	657.277	2	328.638	52.297	.000
MIC	36.942	4	9.235	1.470	.210
SUB_SUBS	.429	1	.429	.068	.794
PH	32.264	1	32.264	5.134	.024
SUBSTRA * MIC	3.461	8	.433	.069	1.000
SUBSTRA * SUB_SUBS	10.476	2	5.238	.834	.435
MIC * SUB_SUBS	3.105	4	.776	.124	.974
SUBSTRA * MIC * SUB_SUBS	6.433	8	.804	.128	.998
SUBSTRA * PH	1.724	2	.862	.137	.872
MIC * PH	2.702	4	.676	.107	.980
SUBSTRA * MIC * PH	2.639	8	.330	.053	1.000
SUB_SUBS * PH	.840	1	.840	.134	.715
SUBSTRA * SUB_SUBS * PH	1.552	2	.776	.123	.884
MIC * SUB_SUBS * PH	.573	2	.287	.046	.955
SUBSTRA * MIC * SUB_SUBS * PH	.287	4	.072	.011	1.000
Error	2677.035	426	6.284		
Total	19581.177	480			
Corrected Total	3503.387	479			

a R Squared = .236 (Adjusted R Squared = .141)

جدول ۵ : میانگین و انحراف معیار تغییرات OD در حضور تیمارهای متفاوت در مقیاس آزمایشگاهی

Dependent Variable: ODBA

SUBSTRA	MIC	SUB_SUBS	PH	Mean	Std. Deviation	N
1	1	1	1	2.6425	.80979	8
			2	2.3587	.66604	8
			Total	2.5006	.73110	16
		2	1	3.0950	1.34288	8
			2	2.4212	.98663	8
			Total	2.7581	1.19032	16
		Total	1	2.8688	1.09644	16
			2	2.3900	.81384	16
			Total	2.6294	.98047	32
	2	1	1	2.4400	.70283	8
			2	2.3325	.64100	8
			Total	2.3862	.65218	16
		2	1	3.1000	1.28722	8
			2	2.1525	.83875	8
			Total	2.6262	1.15799	16
		Total	1	2.7700	1.05826	16
			2	2.2425	.72711	16
			Total	2.5063	.93248	32
	3	1	1	2.7213	.86241	8
			2	2.2863	.67016	8
			Total	2.5038	.77919	16
		2	1	3.0638	1.22096	8
			2	2.2800	.83224	8
			Total	2.6719	1.08752	16
		Total	1	2.8925	1.03636	16
			2	2.2831	.72995	16
			Total	2.5878	.93453	32
	4	1	1	2.3731	.67690	16
			Total	2.3731	.67690	16
		2	1	2.6025	1.12471	8
			2	2.2738	.84503	8
			Total	2.4381	.97590	16
		Total	1	2.4496	.83427	24
			2	2.2738	.84503	8
			Total	2.4056	.82682	32
	5	1	1	2.2156	.60253	16
			Total	2.2156	.60253	16
		2	1	2.5100	1.12877	8
			2	2.1575	.80121	8
			Total	2.3338	.96296	16
		Total	1	2.3137	.80289	24
			2	2.1575	.80121	8
			Total	2.2747	.79244	32
	Total	1	1	2.4259	.70582	56
			2	2.3258	.63062	24
			Total	2.3959	.68172	80
		2	1	2.8743	1.18935	40
			2	2.2570	.82381	40
			Total	2.5656	1.06293	80
		Total	1	2.6127	.95839	96
			2	2.2828	.75262	64
			Total	2.4807	.89416	160

2	1	1	1	2.8663	.87037	8
			2	2.4963	.69636	8
			Total	2.6813	.78506	16
		2	1	3.4263	1.40776	8
			2	2.5638	1.03646	8
			Total	2.9950	1.27457	16
		Total	1	3.1462	1.16704	16
			2	2.5300	.85371	16
			Total	2.8381	1.05342	32
	2	1	1	2.3863	.70686	8
			2	2.5125	.67724	8
			Total	2.4494	.67191	16
		2	1	3.2075	1.43794	8
			2	2.3913	.95237	8
			Total	2.7994	1.25134	16
		Total	1	2.7969	1.17386	16
			2	2.4519	.80077	16
			Total	2.6244	1.00386	32
	3	1	1	2.7912	.85693	8
			2	2.4138	.73387	8
			Total	2.6025	.79500	16
		2	1	3.1487	1.29728	8
			2	2.4575	.90635	8
			Total	2.8031	1.13848	16
		Total	1	2.9700	1.07802	16
			2	2.4356	.79699	16
			Total	2.7028	.97127	32
	4	1	1	2.5569	.76428	16
			Total	2.5569	.76428	16
		2	1	2.9275	1.23114	8
			2	2.3875	.89418	8
			Total	2.6575	1.07621	16
		Total	1	2.6804	.93494	24
			2	2.3875	.89418	8
			Total	2.6072	.91961	32
	5	1	1	2.3813	.68477	16
			Total	2.3813	.68477	16
		2	1	2.8088	1.25997	8
			2	2.3100	.82421	8
			Total	2.5594	1.06028	16
		Total	1	2.5238	.91178	24
			2	2.3100	.82421	8
			Total	2.4703	.88263	32
	Total	1	1	2.5600	.75879	56
			2	2.4742	.67308	24
			Total	2.5342	.73097	80
		2	1	3.1038	1.27831	40
			2	2.4220	.88085	40
			Total	2.7629	1.14341	80
		Total	1	2.7866	1.03768	96
			2	2.4416	.80396	64
			Total	2.6486	.96344	160
3	1	1	1	2.1975	.74250	8
			2	1.9100	.60903	8
			Total	2.0537	.67262	16

			2	1	3.0312	1.35421	8
				2	2.1075	.84498	8
				Total	2.5694	1.19020	16
			Total	1	2.6144	1.13950	16
				2	2.0088	.71881	16
				Total	2.3116	.98639	32
		2	1	1	1.7688	.54914	8
				2	1.7038	.49269	8
				Total	1.7363	.50511	16
			2	1	2.6575	1.18324	8
				2	1.7763	.56495	8
				Total	2.2169	1.00469	16
			Total	1	2.2131	1.00236	16
				2	1.7400	.51345	16
				Total	1.9766	.81944	32
		3	1	1	1.9100	.57086	8
				2	1.7713	.52031	8
				Total	1.8406	.53250	16
			2	1	2.3450	.90927	8
				2	2.0550	.73356	8
				Total	2.2000	.81202	16
			Total	1	2.1275	.76705	16
				2	1.9131	.63161	16
				Total	2.0203	.69970	32
		4	1	1	1.8719	.56781	16
				Total	1.8719	.56781	16
			2	1	2.4825	1.03279	8
				2	2.0163	.78678	8
				Total	2.2494	.91903	16
			Total	1	2.0754	.78826	24
				2	2.0163	.78678	8
				Total	2.0606	.77554	32
		5	1	1	1.7425	.51335	16
				Total	1.7425	.51335	16
			2	1	2.2425	.90637	8
				2	1.9419	.66570	8
				Total	2.0922	.78376	16
			Total	1	1.9092	.69272	24
				2	1.9419	.66570	8
				Total	1.9173	.67550	32
		Total	1	1	1.8721	.57608	56
				2	1.7950	.52617	24
				Total	1.8490	.55939	80
			2	1	2.5517	1.07078	40
				2	1.9794	.69731	40
				Total	2.2656	.94288	80
			Total	1	2.1553	.88107	96
				2	1.9102	.64045	64
				Total	2.0573	.80053	160
Total		1	1	1	2.5687	.82374	24
				2	2.2550	.67887	24
				Total	2.4119	.76336	48
			2	1	3.1842	1.31963	24
				2	2.3642	.93724	24
				Total	2.7742	1.20570	48

		Total	1	2.8765	1.13178	48
			2	2.3096	.81144	48
			Total	2.5930	1.02013	96
	2	1	1	2.1983	.70069	24
			2	2.1829	.68113	24
			Total	2.1906	.68364	48
		2	1	2.9883	1.27232	24
			2	2.1067	.80881	24
			Total	2.5475	1.14489	48
		Total	1	2.5933	1.09169	48
			2	2.1448	.74071	48
			Total	2.3691	.95493	96
	3	1	1	2.4742	.84614	24
			2	2.1571	.68080	24
			Total	2.3156	.77643	48
		2	1	2.8525	1.16325	24
			2	2.2642	.80802	24
			Total	2.5583	1.03444	48
		Total	1	2.6633	1.02425	48
			2	2.2106	.74111	48
			Total	2.4370	.91789	96
	4	1	1	2.2673	.72190	48
			Total	2.2673	.72190	48
		2	1	2.6708	1.09900	24
			2	2.2258	.82112	24
			Total	2.4483	.98568	48
		Total	1	2.4018	.87917	72
			2	2.2258	.82112	24
			Total	2.3578	.86416	96
	5	1	1	2.1131	.65148	48
			Total	2.1131	.65148	48
		2	1	2.5204	1.08479	24
			2	2.1365	.74886	24
			Total	2.3284	.94231	48
		Total	1	2.2489	.83639	72
			2	2.1365	.74886	24
			Total	2.2208	.81301	96
	Total	1	1	2.2860	.74308	168
			2	2.1983	.67192	72
			Total	2.2597	.72219	240
		2	1	2.8433	1.19440	120
			2	2.2195	.81835	120
			Total	2.5314	1.06838	240
		Total	1	2.5182	.99426	288
			2	2.2115	.76497	192
			Total	2.3955	.92101	480

جدول ٦ : ارزیابی معنی دار بودن تغییرات OD در حضور تیمارهای مختلف در مقیاس آزمایشگاهی

Dependent Variable: ODBA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	77.867(a)	53	1.469	1.906	.000
Intercept	2487.996	1	2487.996	3226.963	.000
SUBSTRA	26.326	2	13.163	17.072	.000
MIC	6.829	4	1.707	2.214	.067
SUB_SUBS	7.761	1	7.761	10.067	.002
PH	14.328	1	14.328	18.584	.000
SUBSTRA * MIC	.870	8	.109	.141	.997
SUBSTRA * SUB_SUBS	1.034	2	.517	.670	.512
MIC * SUB_SUBS	.825	4	.206	.268	.899
SUBSTRA * MIC * SUB_SUBS	.085	8	.011	.014	1.000
SUBSTRA * PH	.110	2	.055	.071	.931
MIC * PH	1.991	4	.498	.646	.630
SUBSTRA * MIC * PH	.929	8	.116	.151	.997
SUB_SUBS * PH	5.404	1	5.404	7.009	.008
SUBSTRA * SUB_SUBS * PH	.011	2	.006	.007	.993
MIC * SUB_SUBS * PH	1.078	2	.539	.699	.498
SUBSTRA * MIC * SUB_SUBS * PH	.112	4	.028	.036	.997
Error	328.447	426	.771		
Total	3160.828	480			
Corrected Total	406.314	479			

a R Squared = .192 (Adjusted R Squared = .091)

جدول ۷ : تعداد تیمارهای مورد استفاده (سوبسترای اولیه ، میکروارگانیسمهای مورد استفاده و دور همزن) در مقیاس فرمانتور

		N
SUBSTRA	1	48
	2	48
	3	48
MIC	1	48
	3	48
	4	48
RPM	1	72
	2	72

جدول ۸ : میانگین و انحراف معیار تغییرات پروتئین در حضور تیمارهای متفاوت در مقیاس فرمانتور

Dependent Variable: ODBA

SUBSTRA	MIC	RPM	Mean	Std. Deviation	N
1	1	1	2.7025	1.16010	8
		2	2.1600	.95650	8
		Total	2.4312	1.06465	16
	3	1	2.5538	1.07549	8
		2	2.0300	.94146	8
		Total	2.2919	1.01319	16
	4	1	2.1813	.97338	8
		2	1.7075	.58938	8
		Total	1.9444	.81493	16
	Total	1	2.4792	1.04888	24
		2	1.9658	.83167	24
		Total	2.2225	.97166	48
2	1	1	2.9913	1.27493	8
		2	2.3000	.99241	8
		Total	2.6456	1.15999	16
	3	1	2.7663	1.19047	8
		2	2.2362	.99109	8
		Total	2.5012	1.09301	16
	4	1	2.4163	1.06489	8
		2	1.8625	.63970	8
		Total	2.1394	.89551	16
	Total	1	2.7246	1.15307	24
		2	2.1329	.87298	24
		Total	2.4288	1.05497	48
3	1	1	2.1112	1.07169	8
		2	1.7775	.81414	8
		Total	1.9444	.93541	16
	3	1	1.9988	.96437	8
		2	1.5675	.62250	8
		Total	1.7831	.81513	16
	4	1	1.8088	.82874	8
		2	1.4588	.52759	8
		Total	1.6337	.69504	16
	Total	1	1.9729	.92622	24
		2	1.6012	.65011	24
		Total	1.7871	.81358	48
Total	1	1	2.6017	1.18061	24
		2	2.0792	.91149	24
		Total	2.3404	1.07627	48
	3	1	2.4396	1.08428	24
		2	1.9446	.87648	24
		Total	2.1921	1.00689	48
	4	1	2.1354	.95279	24
		2	1.6763	.58638	24
		Total	1.9058	.81629	48
	Total	1	2.3922	1.07904	72
		2	1.9000	.81107	72
		Total	2.1461	.98270	144

جدول ۹ : ارزیابی معنی دار بودن تغییرات OD در حضور تیمارهای مختلف در مقیاس فرمانتور

Dependent Variable: ODBA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	24.376(a)	17	1.434	1.589	.077
Intercept	663.234	1	663.234	734.857	.000
SUBSTRA	10.302	2	5.151	5.707	.004
MIC	4.685	2	2.342	2.595	.079
RPM	8.722	1	8.722	9.664	.002
SUBSTRA * MIC	.276	4	.069	.076	.989
SUBSTRA * RPM	.298	2	.149	.165	.848
MIC * RPM	.024	2	.012	.013	.987
SUBSTRA * MIC * RPM	.068	4	.017	.019	.999
Error	113.719	126	.903		
Total	801.329	144			
Corrected Total	138.095	143			

a R Squared = .177 (Adjusted R Squared = .065)

جدول ۱۰ : میانگین و انحراف معیار تغییرات پروتئین در حضور تیمارهای متفاوت در مقیاس فرمانتور

Dependent Variable: PROTEIN

SUBSTRA	MIC	RPM	Mean	Std. Deviation	N
1	1	1	5.1663	2.60945	8
		2	6.1388	1.97831	8
		Total	5.6525	2.29265	16
	3	1	5.5488	2.57103	8
		2	6.0038	2.23119	8
		Total	5.7763	2.33733	16
	4	1	5.6900	2.51149	8
		2	6.0888	2.16806	8
		Total	5.8894	2.27585	16
	Total	1	5.4683	2.46068	24
		2	6.0771	2.03471	24
		Total	5.7727	2.25470	48
2	1	1	6.1412	3.52229	8
		2	6.7875	3.28510	8
		Total	6.4644	3.30716	16
	3	1	7.0887	3.10020	8
		2	7.3163	3.05019	8
		Total	7.2025	2.97334	16
	4	1	7.1575	3.01160	8
		2	7.4075	3.01937	8
		Total	7.2825	2.91610	16
	Total	1	6.7958	3.11220	24
		2	7.1704	2.99476	24
		Total	6.9831	3.02731	48
3	1	1	3.1650	1.70422	8
		2	3.4763	1.70503	8
		Total	3.3206	1.65465	16
	3	1	3.4163	1.53783	8
		2	3.9125	1.47153	8
		Total	3.6644	1.47642	16
	4	1	3.5538	1.70155	8
		2	4.0713	1.42755	8
		Total	3.8125	1.54064	16
	Total	1	3.3783	1.58490	24
		2	3.8200	1.49334	24
		Total	3.5992	1.53959	48
Total	1	1	4.8242	2.88684	24
		2	5.4675	2.73904	24
		Total	5.1458	2.80272	48
	3	1	5.3513	2.83243	24
		2	5.7442	2.65626	24
		Total	5.5477	2.72364	48
	4	1	5.4671	2.80103	24
		2	5.8558	2.60567	24
		Total	5.6615	2.68338	48
	Total	1	5.2142	2.81417	72
		2	5.6892	2.63485	72
		Total	5.4517	2.72687	144

جدول ۱۱ : ارزیابی معنی دار بودن تغییرات پروتئین در حضور تیمارهای مختلف در مقیاس فرمانتور

Dependent Variable: PROTEIN

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	301.064(a)	17	17.710	2.927	.000
Intercept	4279.776	1	4279.776	707.439	.000
SUBSTRA	282.249	2	141.125	23.328	.000
MIC	7.045	2	3.522	.582	.560
RPM	8.122	1	8.122	1.343	.249
SUBSTRA * MIC	1.951	4	.488	.081	.988
SUBSTRA * RPM	.349	2	.175	.029	.972
MIC * RPM	.510	2	.255	.042	.959
SUBSTRA * MIC * RPM	.837	4	.209	.035	.998
Error	762.259	126	6.050		
Total	5343.099	144			
Corrected Total	1063.323	143			

a R Squared = .283 (Adjusted R Squared = .186)

Abstract

The alarming rate of population growth has increased the demand for food production in third-world countries leading to a yawning gap in demand and supply. This has led to an increase in the number of hungry and chronically malnourished people. This situation has created a demand for the formulation of innovative and alternative proteinaceous food sources. Single cell protein production is a major step in this direction. SCP is the protein extracted from cultivated microbial biomass. Algae, fungi and bacteria are the chief sources of microbial protein that can be utilized as SCP. Produced proteins from these microbes have various nutrition values. SCP is the manufacture of cell mass using microorganisms by culturing on available agriculture, industrial wastes and fisheries by products. Fish wastes due to high protein are the most important substrates for SCP production. In this study, SCP production was done from Silver carp and tuna fish wastes (head, tail and vise versa) and cooked water of canned tuna factories. The used microbes were six genus and species of yeasts include *Candida utilis, Saccharomyces cereviceae, Rhodotorula, Khyveromyces marxians, Zygosaccharomyces rouxii and Bacillus subtilis and B.licheniformis*. The examination was done in bench scale and CSTR bioreactor (Continuous Stirred Tank Reactor). The effects of various parameters such as pH, temperature, time, supplemented substrates, method of inoculation of microbes, rpm were evaluated. Changes of microbial growth and protein contents were tested by using Optical Density (OD) and Makrokjeldal methods respectively. In end of examination, produced protein were extracted and lyophilized.

The results showed that protein percentage in bacterial protein was than yeast protein but wet percentage in bacterial protein was low. Production value produced from tuna fish wastes was higher than (30-45 g/l) to Silver carp wastes (25-29 g/l) and cooked water (10-15 g/l). By adding supplemented substrates, production value has been increased. *Candida utilis*, in comparison other yeasts, has high activation. *B.licheniformis* has also had more activation than *Bacillus subtilis*. The results of the effect some parameters on fermentation showed that yeasts and Bacillus in pH= 5.4 and 32^{o}C and pH=6.9 and 35^{o}C were better than growth pH=6 and 25^{o}C and pH=6.5 and 30^{o}C respectively. Time of fermentation in batch and bioreactor was 54 and 21 hours respectively. High rpm has been caused increasing of microbial growth in bioreactor.

The conclusion showed that with optimizing of the growth condition such as some parameters (pH, temperature, substrates and so on) produced SCP with high efficiency. However, produced SCP should be exanimated with other specific tests such as amino acid and fatty acid profiles, minerals, nucleic acids and so on. After full examination, this SCP as probiotic could be used in fish and poultry feed.

Key words: single cell protein, marine and culture fish wastes, yeast, bacteria

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.