بسم الله الرحمن الرحيم

تأییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیئت داوران نسخه نهائی پایان نامه خانم‌صفر بی‌بی‌کم

تحت عنوان: تولید پروتئین تک‌یاخته‌از پساب کارخانجات تولید پودر ماهی با استفاده ازکشت باکتری *Lactobacillus acidophilus* ، قارچ *Aspergillus niger* وجلبک *Chlorella sp.*

را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی‌ارشد پیشنهاد می‌کنند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضا
۱- استاد راهنما	دکتر عبدالمحمد عابدیان	دانشیار	
۲- استاد مشاور	دکتر حبیب ا... یونسی	استادیار	
۳-نماینده‌شورای‌تحصیلات‌تکمیلی	دکتر مسعود رضایی	دانشیار	
۴- استاد ناظر	دکترمحمدرضا کلباسی	دانشیار	
۵- استاد ناظر	دکترقاسم نجف پور	استاد	

شماره:.....

تاریخ:.....

پیوست:.....

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

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

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

ماده ۲) در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

((کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده در رشته **شیلات** است که در سال **۱۳۸۰** در دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور به راهنمایی جناب آقای **دکتر عبدالمحمد عابدیان** و مشاوره استاد محترم آقای **دکتر حبیب ا... یونسی** از آن دفاع شده است.))

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

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

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

ماده ۶) اینجانب **صفربی‌بی کم** دانشجوی رشته شیلات در مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

دستورالعمل حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی
دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی که با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه‌ها / رساله‌های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هرگونه بهره‌برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین‌نامه‌ها و دستورالعمل‌های مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما مسئول مکاتبات مقاله باشند.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه / رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آئین نامه های مصوب انجام می‌شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸۴/۴/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هرگونه تخلف از مفاد این دستورالعمل، از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

نام و نام خانوادگی
تاریخ و امضا

دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی

گروه شیلات

پایان‌نامه کارشناسی ارشد

تولید پروتئین تک یاخته از پساب کارخانجات تولید پودر ماهی با استفاده از کشت باکتری *Lactobacillus acidophilus*، قارچ *Aspergillus niger* و جلبک *Chlorella* sp.

نگارش

صفربی‌بی کم

استاد راهنما

عبدالمحمد عابدیان کناری

استاد مشاور

حبیب ا... یونسی

بهار ۸۸

تقدیم به پدر و مادر عزیزم که

مهرشان گرمی بخش

یادشان آرامش بخش

نگاهشان، امید لحظه لحظه زندگی من

تشکر و قدردانی

ستایش خدایی که لطفش راشامل حالم نمود تا به یاری او بتوانم این پایان نامه را به اتمام برسانم ؛ که اگر لطف و یاری او نبود بی شک هرگز قادر به انجام این مهم نبودم. گرچه زبان و قلم ناتوان من عاجز از بیان زحمات، بزرگواری ها و مهربانیهای عزیزانی است که مرا در انجام این تحقیق یاری دادند؛ امابر خود لازم می دانم که در این مجال اندک یاد و خاطره این دوستان رابرای همیشه زنده و جاوید نگه دارم.

- ✓ استاد راهنمای ارجمندم، جناب آقای دکتر عابدیان به پاس راهنمائیشان در طول دوره تحصیل که همواره باروی گشاده مرا پذیرا بودند و تا پایان مراحل پایان نامه یاور و مشوق اصلی بنده بودند.
- ✓ مشاور گرامی جناب آقای دکتر یونسی که در مراحل مختلف این تحقیق مرا راهنمایی کردند.
- ✓ اساتید گرامی جناب آقای دکتر کلباسی و نجف پور که باداوری این اثر مرا مفتخر نمودند.
- ✓ جناب آقای مهندس کمالی، بورو خانم حقدوست که در انجام آزمایشهای مختلف مرا راهنمایی نمودند.
- ✓ و دیگر دوستان عزیزم که هریک به نوعی در انجام این تحقیق مرا یاری دادند.

چکیده

در این تحقیق اثر ضایعات کارخانه پودرماهی (Stickwater) به عنوان محیط کشت بر تولید پروتئین تک یاخته با استفاده از باکتری *Lactobacillus acidophilus*، قارچ *Aspergillus niger* و جلبک *Chlorella* sp. بررسی شد. مقادیر متفاوتی از جایگزینی استیک‌واتر به جای محیط کشت استاندارد (درباکتری و قارچ ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۱۰۰٪ و در جلبک ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪) استفاده شد. از روش Batch culture برای تولید میکروارگانیسم‌ها در مقیاس آزمایشگاهی استفاده گردید. بیوماس و COD در باکتری و قارچ هر ۱۲ ساعت یک‌بار و پارامتر OD نیز در باکتری هر ۱۲ ساعت یک‌بار سنجش شد. میزان OD و بیوماس در جلبک هر ۲۴ ساعت یک‌بار اندازه‌گیری شد. کلروفیلa در زمان حداکثر رشد و نیز سرعت دو برابر شدن و نرخ رشد ویژه تعیین گردید. میزان RNA در تیمار شاهد و تیمارهای۶۰ و ۱۰۰جایگزینی (باکتری و قارچ) و ۲۰٪ جایگزینی (جلبک) در پیک رشد انجام شد. همچنین در زمان حداکثر رشد ترکیب اسیدهای آمینه نمونه‌های باکتری و قارچ نیز در تیمار شاهد و تیمار ۶۰ و ۱۰۰٪ جایگزینی مورد مقایسه قرار گرفت. میزان بیوماس در باکتری در تیمار شاهد، ۶۰ و ۱۰۰٪ استیک‌واتر به ترتیب ۳/۱۶، ۵/۱۳ و ۵/۱۲ گرم در لیتر به دست آمد. میزان OD در باکتری در تیمار شاهد، ۶۰ و ۱۰۰٪ استیک‌واتر به ترتیب ۳/۱۴، ۵/۱۵ و ۵/۱۴ بود. میزان کاهش COD در باکتری در تیمار شاهد، ۶۰ و ۱۰۰٪ استیک‌واتر به ترتیب ۳۳۲۷۰، ۵۴۴۷۰ و ۵۳۳۳۰ میلی گرم در لیتربه دست آمد. میزان بیوماس در قارچ در تیمار شاهد، ۶۰ و ۱۰۰٪ استیک‌واتر به ترتیب ۶/۳۱، ۷/۲۲ و ۷/۲۸ گرم در لیتر، میزان کاهش COD در تیمار شاهد، ۶۰ و ۱۰۰٪ استیک‌واتربه ترتیب ۴۷۸۰۰، ۵۴۴۰۰ و ۵۵۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. میزان بیوماس بر حسب گرم در لیتر در جلبک در تیمار شاهد و ۲۰٪ استیک‌واتر به ترتیب ۱/۳۱ و ۱/۲۵ به دست آمد. میزان OD در جلبک در تیمار شاهد و ۲۰٪ استیک‌واتر به ترتیب ۱/۳۶ و ۱/۳۱ بود. میزان کلروفیل a در جلبک در دو تیمار ذکر شده به ترتیب۱/۶۵ و ۱/۵۹ میکروگرم در لیتر به دست آمد. نرخ رشد ویژه در جلبک در تیمارهای ذکر شده به ترتیب ۰/۹۰ و ۰/۸۷ بود. سرعت دو برابر شدن در جلبک در تیمار شاهد و ۲۰٪ استیک‌واتر به ترتیب ۰/۷۶ و ۰/۷۷ روز بود. میزان RNA در تیمار شاهد، ۶۰ و ۱۰۰٪ استیک‌واتر در باکتری به ترتیب ۱۵/۲۷، ۱۵/۱۵ و ۱۵/۰۴٪ ،RNA در قارچ در تیمارهای شاهد، ۶۰ و ۱۰۰٪ استیک‌واتر به ترتیب ۹/۳۶، ۹/۲۲ و ۹/۰۹٪ و در جلبک در تیمار شاهد و ۲۰٪ استیک‌واتر به ترتیب۵/۱۷ و ۵/۰۶٪ بود. در هر دو باکتری و قارچ بیشترین و کمترین مقدار اسیدآمینه در تیمار شاهد، ۶۰ و ۱۰۰٪ استیک‌واتر به ترتیب اسیدگلوتامیک و متیونین بود. میزان متیونین در باکتری نسبت به پودر ماهی و رفرانس FAO تفاوت چندانی نداشت. میزان متیونین در قارچ از رفرانس FAO کمی کمتر بود. مطابق نتایج حاصله در این تحقیق جایگزینی ۶۰ و ۱۰۰٪ استیک‌واتر برای تولید باکتری و قارچ مناسب می‌باشد. برای تولید جلبک حداکثر ۲۰٪ استیک‌واتر قابل جایگزینی است.

کلمات کلیدی: پروتئین تک یاخته، *Lactobacillus acidophilus*، *Aspergillus niger*، *Chlorella* sp.، پساب کارخانه پودرماهی (استیک‌واتر)، اسیدآمینه، RNA، بیوماس، COD

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و کلیات

۱-۱ مقدمه و کلیات ۱

۱-۲ لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۳

۱-۳ جلبک کلرلا ۴

۱-۴ قارچ آسپرژیلوس نایگر ۴

۱-۵ پساب کارخانه پودر ماهی ۵

۱-۶ سوالات تحقیق ۶

۱-۷ فرضیه/ پیش فرض‌ها ۶

فصل دوم: سابقه تحقیق

۲-۱ مروری بر مطالعات انجام شده در خارج کشور ۷

۲-۲ مروری بر مطالعات انجام شده در داخل کشور ۱۱

۲-۳ جمع‌بندی کلی ۱۲

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱ مقدمه ۱۳

۳-۲ تهیه پساب کارخانه تولیدکننده پودر ماهی (Stickwater) ۱۳

۳-۳ اندازه‌گیری BOD ۱۴

۳-۴ روش سنجش چربی و پروتئین ۱۵

۳-۵ روش تعیین COD ۱۵

۳-۵-۱ تهیه محلول هضم a (Digestion Solution) ۱۵

۳-۵-۲ تهیه محلول اسیدسولفوریک غلیظ و سولفات نقره (محلول b) ۱۵

۳-۵-۳ تهیه محلول استاندارد Potassium Hydrogen phthalate (KHP) (محلولc) ۱۵

۳-۶ تهیه منحنی کالیبراسیون جهت تعیین میزان COD ۱۶

۳-۷ روش تولید پروتئین تک یاخته (SCP) ۱۷

۳-۷-۱ کشت اولیه باکتری *Lactobacillus acidophilus* ۱۷

۳-۷-۲ تیماربندی و تولید باکتری ۱۸

۳-۷-۳ روش تعیین OD و بیوماس ۱۹

۳-۷-۴ اندازه گیری پروتئین و اسیدهای آمینه نمونه‌ها ۱۹

۳-۷-۵ اندازه گیری RNA ۲۰

۳-۷-۶ اندازه گیری اسیدهای آمینه ۲۱

۳-۷-۶-۱ سیستم دستگاهی مورد استفاده برای تجزیه اسیدهای آمینه ۲۱

عنوان **صفحه**

۳-۷-۶-۲ هیدرولیز نمونه ۲۱
۳-۷-۶-۳ مشتق سازی اسیدهای آمینه ۲۲
۳- ۷ - ۷- محاسبه درصد رطوبت و خاکستر در باکتری ۲۳
۳-۸ - کشت اولیه قارچ *Aspergillus niger* ۲۳
۳- ۸- ۱- شرایط تهیه محیط کشت قارچ ۲۴
۳- ۸- ۲ - تیمار بندی و تولید قارچ ۲۴
۳- ۹ - کشت اولیه جلبک *Chlorella* sp. ۲۴
۳-۹-۱- تیمار بندی و رشد جلبک ۲۶
۳- ۹- ۲- روش اندازه‌گیری کلروفیل a ۲۷
۳-۹- ۳- برآورد نرخ رشد و شمارش جلبک ۲۷
۳- ۱۰ - روش تجزیه و تحلیل داده ها ۲۸

فصل چهارم: نتایج

۴-۱ خصوصیات فیزیکوشیمیایی استیک واتر ۲۹
۴-۲- رشد باکتری روی تیمارهای مختلف استیک‌واتر ۳۰
۴-۳- تولید قارچ در تیمارهای مختلف ۳۸
۴-۴- تولید جلبک در تیمارهای مختلف ۴۳

فصل پنجم: بحث، جمع‌بندی و پیشنهادها

۵-۱- باکتری *Lactobacillus acidophilus* ۴۹
۵-۱-۱- رشد ۴۹
۵-۱-۲- ترکیب پروتئین، اسیدهای آمینه و RNA ۴۹
۵-۲- قارچ *Aspergillus niger* ۵۲
۵-۲-۱- رشد ۵۲
۵-۲-۲- ترکیب پروتئین، اسیدهای آمینه و RNA ۵۳
۵-۳- جلبک کلرلا ۵۴
۵-۳-۱- رشد ۵۴
۵-۳-۲- میزان RNA و پرونئین ۵۵
۵-۴- نتیجه گیری کلی ۵۶
۵-۵- پیشنهادات ۵۷
۵-۵-۱- پیشنهادات مستخرج از پایان‌نامه ۵۷
۵-۵-۲- پیشنهادات پژوهشی ۵۷
منابع ۵۹
چکیده انگلیسی

فهرست نمودارها

عنوان **صفحه**

نمودار ۳-۱- منحنی کالیبراسیون جهت تعیین میزان COD ۱۶
نمودار۴-۱- الف - حداکثر میزان تولید بیوماس باکتری*L. acidophilus* در تیمارهای مختلف ۳۰
نمودار۴-۱- ب - حداکثر کاهشCOD در باکتری*L. acidophilus* در تیمارهای مختلف ۳۱
نمودار۴-۱- ج - حداکثر میزان OD در باکتری*L. acidophilus* در تیمارهای مختلف ۳۱
نمودار ۴-۲- الف - میزان تولید باکتری *L. acidophilus* در تیمار شاهد و تیمار استیک واتر ۳۳
نمودار ۴-۲- ب - میزان OD در باکتری *L. acidophilus* در تیمار شاهد و تیمار استیک واتر ۳۳
نمودار ۴-۲- ج- میزان کاهش COD در یاکتری *L. acidophilus* در تیمار شاهد و تیمار استیک واتر ۳۳
نمودار۴-۳- الف - همبستگی بین COD و بیوماس در باکتری *L. acidophilus* ۳۴
نمودار۴-۳ – ب- رابطه بین OD و بیوماس در باکتری *L. acidophilus* ۳۴
نمودار۴- ۴- میزان RNA در باکتری*L. Acidophilus* ۳۵
نمودار۴-۵- الف - حداکثر تولید بیوماس در قارچ*A.niger* در تیمارهای مختلف ۳۸
نمودار۴-۵- ب - حداکثر کاهشCOD در قارچ*A.niger* در تیمارهای مختلف ۳۸
نمودار ۴-۶- الف - میزان تولید قارچ *A. niger* در تیمار شاهد و تیمارهای استیک واتر ۳۹
نمودار ۴-۶- ب- میزان کاهش COD در قارچ *A. niger* در تیمار شاهد و تیمار استیک واتر ۴۰
نمودار۴-۷ - رابطه بین COD و بیوماس در قارچ *A. niger* ۴۰
نمودار۴-۸ - میزان RNA در قارچ *A. niger* در تیمار شاهد و استیک‌واتر ۴۱
نمودار۴-۹ – الف - حداکثر میزان تولید بیوماس در جلبک .*Chlorella* sp در تیمارهای مختلف ۴۴
نمودار ۴- ۹- ب - حداکثر میزان OD در جلبک.*Chlorella* sp در تیمارهای مختلف ۴۴
نمودار۴-۹- ج - میزان کلروفیل a در جلبک .*Chlorella* sp در تیمارهای مختلف ۴۴
نمودار۴-۹ – د - میزان رشد ویژه در جلبک *Chlorella* sp در تیمارهای مختلف ۴۵
نمودار۴-۹- ه - میزان سرعت دو برابر شدن در جلبک *Chlorella* sp در تیمارهای مختلف ۴۵
نمودار ۴-۱۰ - الف - میزان تولید در جلبک.*Chlorella* sp در تیمار شاهد و تیمار استیک واتر ۴۶
نمودار۴- ۱۰- ب - میزان OD در جلبک.*Chlorella* sp در تیمار شاهد و تیمار استیک واتر ۴۶
نمودار۴-۱۱- رابطه بین بیوماس و OD در جلبک .*Chlorella* sp ۴۷
نمودار۴-۱۲- میزان RNA در جلبک .*Chlorella* sp ۴۷

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱ مواد شیمیایی مورد استفاده در محیط کشت استاندارد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس..... ۱۷
جدول ۳-۲ مواد شیمیایی مورد استفاده در محیط کشت استاندارد قارچ آسپرژیلوس نایگر..... ۲۳
جدول ۳-۳ مواد شیمیایی مورد استفاده در محیط کشت استاندارد جلبک کلرلا..... ۲۵
جدول ۳-۴ مواد شیمیایی مورد استفاده در محیط کشت استاندارد جلبک کلرلا..... ۲۵
جدول ۴-۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی استیک‌واتر..... ۲۹
جدول۴-۲ - میزان درصد رطوبت، ماده خشک، خاکستر و پروتئین در باکتری*L. Acidophilus*..... ۳۵
جدول ۴- ۳ - میزان اسیدهای آمینه در باکتری*L. acidophilus* در تیمارهای مختلف و مقایسه با اسیدهای آمینه لاشه برخی از آبزیان و رفرانس FAO..... ۳۷
جدول۴-۴- درصد رطوبت، ماده خشک، خاکستر و پروتئین در قارچ *A. niger*..... ۴۱
جدول ۴ – ۵ - میزان اسیدهای آمینه درقارچ *A. niger* در تیمارهای مختلف و مقایسه با اسیدهای آمینه لاشه برخی آبزیان و رفرانسFAO..... ۴۲
جدول ۴-۶- درصد رطوبت،ماده خشک، خاکستر و پروتئین در جلبک کلرلا..... ۴۸
جدول۴-۷- مقایسه پروتئین در سه گونه باکتری *L. acidophilus*، قارچ *A. niger* و جلبک *Chlorella* sp..... ۴۸

فهرست ضمائم

عنوان **صفحه**

الف ۱ نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه در باکتری در تیمار شاهد و استیک واتر در پارامترهای مختلف اندازه‌گیری شده..... أ
الف ۲ آنالیز واریانس درباکتری در تیمار شاهد و استیک واتر در اسیدهای آمینه اندازه گیری شده .....ب
ب ۱ آنالیز واریانس در قارچ در تیمار شاهد و استیک واتر در پارامترهای مختلف اندازه گیری شده.....ج
ب ۲ آنالیز واریانس در قارچ در تیمار شاهد و استیک واتر در اسیدهای آمینه اندازه گیری شده.....د
ج آنالیز واریانس در جلبک کلرلا در پارامترهای مختلف در تیمار شاهد و تیمار استیک واتر.....ه
جدول د آنالیز واریانس جهت مقایسه سه گونه باکتری، قارچ و جلبک از نظر پروتئین.....و

۱- ۱- مقدمه و کلیات

امروزه در جهان کمبود مواد غذایی مسئله بسیار مهمی است و اکثر جوامع به نوعی در پی یافتن راهی برای حل این مشکل هستند. با افزایش جمعیت جهان، روز به روز نیاز به مواد غذایی به ویژه مواد پروتئینی افزایش می‌یابد. به همین جهت دانشمندان در جستجوی منابع ارزان قیمت پروتئین می-باشند. یکی از این منابع، پروتئین تک یاخته است. در حال حاضر پروتئین تک یاخته، در جیره دام و طیور استفاده می‌شود. در صورت کاهش اسید نوکلئیک، پروتئین تک یاخته قابلیت استفاده در غذای انسان را نیز دارد. وجود اسیدنوکلئیک موجب تولید اسیداوریک و در نهایت سبب ایجاد سنگ کلیه می-شود (Mølck و همکارن،۲۰۰۲؛ Abou- Zeid و همکاران، ۱۹۹۴). با توجه به کمبود غذا به خصوص در کشورهای جهان سوم و نیز افزایش آلودگی محیط ناشی از ضایعات آبزی‌پروری و صنعتی، زمینه لازم برای تولید مواد غذایی پروتئینی از طریق تبدیل مواد زاید به تولیدات با ارزش به وجود آمده است (Paraskevopoulou و همکاران، ۲۰۰۳؛ Nigam، ۱۹۹۸؛ Rajoka، ۲۰۰۵). استفاده از میکروب‌ها به عنوان منبع غذایی در ذهن بیشتر افراد غیر قابل قبول به نظر می‌رسد، اما مصرف میکروب‌ها به عنوان غذا برای انسان و حیوان مطمئناً ابتکاری برای حل مشکل جهانی غذا است. اولین نوشته در مورد مصرف میکروب‌ها به ۲۶۰۰ سال قبل از میلاد در Babylonia برمی‌گردد (Anupama و Ravindra، ۲۰۰۰؛ Jamal و همکاران، ۲۰۰۷). شواهد نشان می‌دهد که تولید مواد غذایی پروتئینی با کیفیت بالا و هزینه پایین امری ضروری برای موفقیت در صنایع آبزی‌پروری است. پودرماهی منبع اصلی پروتئینی برای تغذیه ماهیان می‌باشد. با توجه به افزایش نیاز به پودرماهی، تولید جهانی این محصول در دهه گذشته تا اندازه‌ای ثابت باقی مانده است. و بعید به نظر می‌رسد تولید آن افزایش یابد. افزایش آبزی-

پروری جهت رفع نیازهای جهانی گوشت نیاز به فرمولاسیون جیره‌های با هزینه مناسب و پایدار دارد (Lunar و همکاران، ۲۰۰۶). در واقع منبع پروتئینی اصلی برای غذاهای آبزیان پودرماهی است که به طور معمول ۴۰۰-۲۵۰ گرم بر کیلوگرم غذاهای فرموله شده برای میگو و ماهیان گوشتخوار را تشکیل می‌دهد. با توجه به هزینه در حال افزایش تولید پودرماهی و ناپایداری آنها در ذخیره‌سازی طولانی مدت، ضروری است منبع پروتئینی جایگزین شناسایی شود. استفاده از پروتئین میکروبی برای جایگزینی قسمتی از پروتئین مورد نیاز غذای ماهی مورد توجه قرار گرفته و راه حلی جدید برای برطرف نمودن این مشکل می‌باشد. مطابق گزارشات موجود انواع میکروجلبک‌ها به عنوان SCP همانند *Chlorella*، *Scenedesmus* و *Spirulina* به عنوان غذای ماهی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Lee و Kim، ۲۰۰۱؛ Kim و Lee، ۲۰۰۰). میکروارگانیسم‌ها از قرن‌ها قبل از میلاد مسیح توسط بشر بدون اینکه شناخته شده باشند، در تولید آشامیدنی‌ها، غذاها، آنتی بیوتیک‌ها و ... به کار گرفته شده-اند. پروتئین تک یاخته اصطلاحی پذیرفته شده برای تولید سلول میکروبی است که به عنوان غذای انسان و خوراک حیوان‌ها به کار می‌رود. این اصطلاح برای اولین بار توسط پروفسور کارول ویلسون در انستیتوماساچوست به کار برده شد. این اصطلاح برای جلوگیری از به کارگیری کلمات میکروبی یا باکتریایی در اصطلاح تغذیه‌ای بوده است. تولید صنعتی پروتئین تک یاخته در نیمه دوم قرن بیستم از اهمیت بالایی برخوردار بود (Bu'lock , kristiansen، ۱۹۸۷؛ Greenshield، ۱۹۸۸).

پروتئین تک یاخته یا (SCP)[1] ، اصطلاحا"به سلول‌ها یا پروتئین‌های استخراج شده از میکروارگانیسم-هایی اطلاق می‌شود، که در مقیاس بزرگ (Large Scale) رشد داده شده‌اند، و برای مصرف غذایی انسان و یا خوراک دام، طیور و ماهیان (آبزیان) مورد استفاده قرار می‌گیرند. برای تولید SCP از میکروارگانیسم‌های مختلف تک سلولی نظیر باکتری‌ها، جلبک‌های تک‌سلولی، جلبک‌های رشته‌ای، قارچ‌های تک کلونی یا مخمرها و قارچ‌های رشته‌ای استفاده می‌گردد (Mølck و همکارن، ۲۰۰۲؛ Ponsano و همکاران، ۲۰۰۳؛ Jamal، ۲۰۰۷؛ Kurbanoglu و Algur، ۲۰۰۲). ارزش SCP تولید شده مرتبط با میزان پروتئین تولیدی می‌باشد. از خواص مهم SCP می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: الف)

[1] Single Cell Protein

قابل تجزیه شدن در طبیعت، ب) حمل و نقل آسان، ج) بی بو، د) مزه مطلوب، و) غیر سمی، ه) متعادل در اسیدهای آمینه (Goldberg، ۱۹۸۵؛ Sharp، ۱۹۸۹). از خصوصیات میکروارگانیسم‌ها این است که اولا" باید نسبت به انسان یا حیوانی که آن را مصرف می‌کند غیربیماری‌زا باشد، ثانیا"ارزش غذایی بالا و غنی از پروتئین باشد، ثالثا" فاقد ترکیبات سمی یا آلرژی‌زا باشد و همچنین باید هزینه‌های تولید آن پائین و مقرون به صرفه بوده و از طرفی تهیه محیط کشت و دستگاه تولید آن و سایر فرایندهای جداسازی و تخلیص همگی ارزان باشند (Levente و همکاران، ۱۹۹۹؛ Hamdan و همکاران، ۱۹۸۴). البته لازم است توجه داشت که استفاده از SCP به عنوان غذای انسان مشکلاتی را به همراه دارد و برای استفاده مطلوب آن نیاز به فرایندهای متعددی مانند فرایند حرارتی و یا افزودن باز یا اسید به منظور کاهش درصد RNA سلول برای مصرف نهایی است (Abou- Zeid و همکاران، ۱۹۹۴).

۱-۲- لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس[1]

از باکتری‌های گرم مثبت و جز گونه‌های غیرهوازی یا میکروب‌های هوازی محسوب می‌شود. آنها گروه اصلی از باکتری‌های اسید لاکتیک هستند، که با تولید اسید لاکتیک در محیط باعث جلوگیری از رشد بعضی باکتری‌های مضر می‌شوند. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس از لاکتیک، *Bacillus* به معنی شکل میله-ای و *Acidophilus* به معنی اسیددوست گرفته شده است (این باکتری در محیط‌های اسیدی رشد بیشتری دارد). این باکتری به وسیله گرما، رطوبت بیش از اندازه و نور مستقیم خورشید از بین می‌رود. همچنین *L. acidophilus* از باکتری‌های مفید و غالب در بخش فوقانی روده است. که موجب کاهش در باکتری‌های مضر و قارچ در روده کوچک می‌شود. تجزیه مواد مغذی به وسیله *L. acidophilus*، اسید لاکتیک، پراکسید هیدروژن و دیگر محصولات فرعی در محیط تولید می‌کند که برای ارگانیسم‌های مضر، نامطلوب می‌باشد. اسید تولید شده توسط *L. acidophilus* در روده به کنترل رشد قارچ *Candida albicans* کمک می‌کند که از عفونت‌های مخمر در روده جلوگیری می‌کند. این باکتری لاکتاز و آنزیم-

[1] - *Lactobacillus acidophilus*

هایی که در هضم شیر مهم هستند را تولید می‌کند، همچنین *L. acidophilus* در طول فرایند هضم ویتامین گروه B (نیاسین، اسید فولیک و پیردوکسین) تولید می‌کند. بعضی از گونه‌های *L. acidophilus* به عنوان باکتری‌های پروبیوتیک محسوب می‌شوند. خصوصیاتی که باعث می شود *Lactobacilli* به عنوان پروبیوتیک استفاده می‌شود عبارتند عملکرد مفید، کشت آسان، غیر پاتوژنی، به هم چسبندگی، پایداری جمعیت می‌باشد (De Vos و همکاران، ۱۹۸۴).

۱-۳ - جلبک کلرلا[1]

کلرلا متعلق به شاخه کلروفیتا (*Chlorophyta*)، رده کلروفیسه (*Chlorophycae*)، راسته کلروکوکال (*Chlorococcales*) و تیره اووسیستاسه (*Oocystaceae*) و خانواده کلرلاسه است که به جلبک‌های سبز خوانده می‌شود. فقط ۱۰ درصد از ۷۰۰۰ گونه جلبک سبز دریایی هستند (Huber و Castro، ۲۰۰۰). یک غشای هسته‌ای در این جلبک‌ها هسته را احاطه کرده است و دیواره سلولی از جنس سلولز است. دارای کلروفیل a و b هستند. رنگدانه‌های دیگر در این جلبک‌ها کاروتن و گزانتوفیل است. این خانواده گروه متنوعی با اشکال تک‌سلولی، کلنی، رشته‌ای، ورقه‌ای و کروی هستند (Laskin و Lechevalier، ۱۹۷۸). کلرلا به تغییر شرایط محیط زیست خیلی مقاوم است (Khatun و همکاران، ۱۹۹۴).

۱-۴- قارچ آسپرژیلوس نایگر[2]

A. niger در جنس *Aspergillus* و زیر شاخه *Circumdat* و بخش *Nigri* است که بخش *Nigri* شامل ۱۵ گونه با اسپورهای سیاه به هم مرتبط می‌باشد. گونه‌های آسپرژیلوس از گروه قارچ ریسه‌ای هستند که در همه جا، به خصوص در خاک، ضایعات گیاهی و محیط‌های در پوشیده یافت می‌شوند. مکان‌هایی که کلونی‌های سیاه وجود دارد ممکن است با *Stachybotrys* (گونه‌ای که Blackmold نامیده می‌شود) اشتباه گرفته شود. به طور معمول قارچ‌ها در سوبستراهای غنی از کربن همانند مونوساکاریدها (مانند گلوکز) و پلی‌ساکاریدها (همانند آمیلاز) رشد می‌کنند. علاوه بر رشد در منابع کربن، بسیاری از گونه‌های

[1] - *Chlorella* sp.
[2] - *Aspergillus niger*

آسپرژیلوس در مکان‌های الیگوتروف رشد می‌کنند (محیط‌های دارای مواد غذایی اندک). *A. niger* به سرعت در انواع مختلف سوبستراهای مصنوعی رشد می‌کند و کلونی‌هایی را تشکیل می‌دهد که شامل پایه سفید یا زرد که با لایه متراکمی از قهوه‌ای تیره که به سمت سر مخروطی تیره هستند را تشکیل می-دهند. توانایی تحمل دماهای مختلف را دارند و در مقابل یخ زدگی تحمل قابل ملاحظه‌ای را نشان می-دهند. ترکیب اسیدهای آمینه *A.niger* بر اساس استاندارد FAO متعادل شناخته شده است (Usal و همکاران، ۲۰۰۲؛ Kuzmanova و همکاران، ۱۹۸۹). گونه‌های مختلف *A. niger* در صنعت برای تولید اسید سیتریک و اسیدگلوکونیک استفاده می‌شود (Baker، ۲۰۰۶؛ Chiou و همکاران، ۲۰۰۱). که با بررسی‌های انجام گرفته توسط WHO[1] مورد قبول واقع شده است و سالانه یک میلیون تن اسید سیتریک توسط *A. niger* در جهان تولید می‌شود. همراه با اعضای معین جمعیت میکروبی که در خاک یافت می‌شود ، *A. niger* نقش مهمی را در چرخه کربن جهانی ایفا می‌کند. گونه‌های آسپرژیلوس به شدت هوازی هستند و در محیط‌های غنی از اکسیژن یافت می‌شود (Laskin و Lechevalier، ۱۹۷۸).

۱-۵- پساب کارخانه پودرماهی[2]

استیک‌واتر به پساب کارخانجات پودرماهی یا برخی فراورده‌های غذایی دیگر گفته می‌شود. برای تهیه پودر ماهی ابتدا ماهی یا محصولات جنبی فراورده‌های ماهی آسیاب و در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد پخت می‌شوند. مواد جامد با استفاده از پرس یا سانتریفیوژ جدا شده که پس از خشک شدن به پودرماهی تبدیل می‌شوند. فاز مایع پس از برداشت روغن، استیک‌واتر نامیده می‌شود. که معمولا ۷۰-۵۰٪ وزن ابتدایی مواد خام را تشکیل می‌دهد (Peter، ۲۰۰۴؛ Peter، ۲۰۰۵). مقدار زیادی از این پساب در فرایند تولید پودرماهی تولید و به دریا رها می‌شود. استیک‌واتر از جمله پساب‌هایی است که مستقیما وارد محیط زیست شده و با داشتن COD بالا باعث آلودگی محیط زیست می‌شود. بنابراین هزینه‌های تصفیه این

[1] - World Health Organization
[2] - Stickwater

پساب بالا است. با توجه به موارد ذکر شده و تولید مقادیر زیاد استیک‌واتر در کارخانجات تولید پودرماهی در ایران، استفاده از آنها برای تولید بیوپروتئین حائز اهمیت به نظر می‌رسد.

۱-۶- سوالات تحقیق

تحقیق حاضر سعی بر آن دارد با انجام آزمایشات و ارائه نتایج آن نشان دهد که اولاً امکان تولید پروتئین تک یاخته (باکتری، قارچ و جلبک) با استفاده از پساب کارخانجات پودرماهی وجود دارد همچنین مقایسه‌ای از روند تولید و ارزش هر یک از آنها ارائه نماید. علاوه بر این چگونگی کاهش بار آلی ناشی از ضایعات از طریق میکروارگانیسم‌ها و نهایتاً کاهش آلودگی محیط زیست را بررسی نماید. دراین راستا تحقیق حاضر سعی بر ارائه پاسخهای مناسب به ابهامات زیردارد:

۱- وضعیت تولید پروتئین تک یاخته توسط هر یک از ارگانیسم‌های باکتری، قارچ و جلبک چگونه است؟

۲- میزان اسیدهای آمینه در باکتری و قارچ مورد بررسی در تیمار شاهد و در تیمار استیک‌واتر چه تغییراتی را نشان می‌دهد؟

۳- آیا تفاوت معنی‌داری بین باکتری و قارچ در کاهش مقادیر COD در تیمار شاهد و در تیمار استیک‌واتر وجود دارد؟

۱-۷- فرضیه‌ها / پیش فرض‌ها

۱- میزان تولید پروتئین تک یاخته توسط باکتری به طور معنی‌داری بیشتر از قارچ و جلبک می‌باشد.

۲- میزان اسیدهای آمینه تولیدی در باکتری و قارچ در تیمار استیک‌واتر تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد ندارد.

۳- تفاوت معنی‌داری در کاهش مقادیر COD در باکتری و قارچ در تیمار استیک‌واتر با تیمار شاهد وجود دارد.

۲-۱- مروری بر مطالعات انجام شده در خارج کشور

در بررسی انجام شده توسط Passera و Ferrari (۱۹۷۳)، از *Chlorella vulgaris* برای تولید SCP استفاده شد. میزان پروتئین و RNA به ترتیب ۵۸٪ و ۵/۳۹٪ گزارش گردید. Wong و Chan (۱۹۸۰)، با کشت *Chlorella salina* CU- 1 روی ضایعات با شوری بالا SCP تولید کرد. میزان پروتئین و RNA به ترتیب ۵۱٪ و ۱/۳۷٪ بود. پروفیل اسیدهای آمینه نسبتا کامل این سلول، بیانگر این مطلب است که این میکروارگانیسم برای تولیدSCP مناسب می‌باشند. در مطالعه انجام گرفته توسط Ivarson و همکاران (۱۹۸۲)، مشخص شد که قارچ *Scytalidium acidophilum* در محیط کشت حاوی ضایعات کاغذ هیدرولیز شده قادر به رشد بوده و پروتئین تولید می‌شود. آنالیز پروتئین این قارچ نشان داد که ترکیب اسیدهای آمینه تا اندازه‌ای ثابت بوده به جز متیونین که در هیدرولیز اسیدی نمی‌توان تعیین کرد. میزان تولید بیوماس ۵/۶-۴/۳ گرم در لیتر و میزان پروتئین تولید شده ۴۷-۴۴٪ بود. در تحقیقی که توسط Fabregas و Herrero (۱۹۸۵)، برای تولید SCP با استفاده از ۴ گونه میکروجلبک دریایی صورت گرفت مشخص شد که میزان پروتئین در *Tetrasemis suecica* (۴۱/۳۹٪)، *Isochrysis galbana* (۳۹/۲۳٪)، *Dunaliella tertiolecta* (۵۴/۲۵٪) و *Chlorella stigmatophora* (۳۹/۱۳٪) بود. همچنین میزان RNA در گونه‌های ذکر شده به ترتیب ۴/۸۳، ۴/۳۶، ۴/۱۸ و ۶/۱۶٪ حاصل شد. پروفیل اسیدهای آمینه در ۴ گونه خیلی مشابه و مشابه پروتئین اعلام شده توسط FAO بود. اما میزان متیونین و سیستئین پائین و مقدار لیزین بالاتر بود. Laborbe و همکاران (۱۹۸۹)، با استفاده از کشت *Candida rugosa* بر روی روغن خرما، پروتئین تک یاخته تولید کردند. میزان بیوماس ۸/۵ g/l و میزان RNA و DNA، ۱۰٪ وزن خشک مخمر گزارش شد. از نظر ترکیب اسیدهای آمینه بسیاری از مخمرها، میزان