



Production of Protein Hydrolysate by Chemical Method from Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) Viscera and its Application as a Culture Media for *Pseudomonas aeruginosa*

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Asgharnia M.¹ MSc,
Yeganeh S.* Ph.D,
Jafarpour S.A.¹ Ph.D,
Safari R.² Ph.D

How to cite this article

Asgharnia M, Yeganeh S, Jafarpour S A, Safari R. Production of Protein Hydrolysate by Chemical Method from Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) Viscera and its Application as a Culture Media for *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Fisheries Science and Technology. 2018;7(2):101-107.

*Fisheries Department, Animal Sciences & Fisheries Faculty, Sari Agricultural Sciences & Natural Resources University, Sari, Iran

¹Fisheries Department, Animal Sciences & Fisheries Faculty, Sari Agricultural Sciences & Natural Resources University, Sari, Iran

²Caspian Sea Ecology Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Sari, Iran

Correspondence

Address: Animal Sciences & Fisheries Faculty, Sari Agricultural Sciences & Natural Resources University, 9 Kilometers Sea Road, Sari, Iran.
Postal Code: 4818768984
Phone: +98 (11) 33687574
Fax: +98 (11) 33687715
skyeganeh@gmail.com

Article History

Received: September 23, 2017
Accepted: January 1, 2018
ePublished: June 21, 2018

ABSTRACT

Aims Wastes related to the fisheries industry include 50% of the weight of fish. Using these raw materials to produce protein hydrolysate results in the production of peptides with functional properties. The aim of this study was to produce protein hydrolysate by chemical method from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) viscera and its application as a culture media for *Pseudomonas aeruginosa*.

Materials & Methods The present experimental research on silver carp was conducted at the Caspian Sea Ecology Research Institute. After freeze-thawing of viscera at 4°C, acidic and alkaline hydrolysis was done at 2 pH of 3.3 and 12, and 2 temperatures of 70°C and 85°C. Peptones produced from these treatments (3 replicates for each treatment) were used as a nitrogen source of *Pseudomonas aeruginosa* culture media at 48 hours and compared with commercial Nutrient Broth culture media. The data were analyzed by SPSS 17, using two-way analysis of variance, Independent T-test, and Duncan test.

Findings The lowest and the highest Degree of Hydrolysis were related to alkaline hydrolysis at 70°C and 85°C, respectively ($p < 0.05$). Bacteria growth trend in culture media containing peptone at 85°C did not show any significant difference during 48 hours except 24 hours ($p > 0.05$), but these treatments showed significant difference with the control at all of times ($p < 0.05$). Treatments of culture media had no significant differences at 70°C during 48 hours ($p > 0.05$).

Conclusion The alkaline hydrolysis in higher temperature is better than acidic hydrolysis and growth of *Pseudomonas aeruginosa* in the produced peptone can be done as well as that of commercial culture media.

Keywords *Pseudomonas aeruginosa*; Chemical Hydrolysis; Peptone; Protein Hydrolysate

CITATION LINKS

[1] A new marine medium: Use of different fish ... [2] Utilization as peptone for glycerol production ... [3] Fishery by-product as ... [4] Fish protein hydrolysates: Production ... [5] Transformation of vegetable waste into ... [6] Fish protein hydrolysate production from ... [7] Methods review to make ... [8] Growth of young rats on diets based on ... [9] Protein composition and process for isolating ... [10] Enzymatic hydrolysis of ... [11] The shelf-life of conventional surimi and ... [12] IUse of hydrolysates from ... [13] Investigation of protective effects ... [14] Comparison of two culture media for selective ... [15] A novel chromogenic medium for isolation of *Pseudomonas* ... [16] Studies on nutritional requirements of ... [17] Growth and laboratory maintenance of *Pseudomonas* ... [18] The state of world fisheries and aquaculture ... [19] Vise-presidency for science and Technology ... [20] Relationships among ... [21] Biochemical and functional properties of ... [22] Kinetics of the hydrolysis of Atlantic salmon ... [23] Quality of fish protein hydrolysate ... [24] IChemical and biochemical hydrolysis of persian sturgeon ... [25] Fish protein hydrolysates production from yellowfin tuna ... [26] Biochemical properties of Fish Protein Isolate ... [27] Protein isolates from jumbo squid ... [28] Preparation and testing of an autolysate of fish viscera ... [29] Peptones from Atlantic Cod ... [30] Evaluation of nitrogenous substrates such as peptones ... [31] Use of hydrolysates from ... [32] Hydrolysates from Atlantic cod ... [33] Growth and metabolic features ... [34] Evaluation of different cod viscera fractions and ... [35] Use of hydrolysates from Yellowfin ... [36] Production of lipase and biomass by ... [37] Tracing growth of staphylococcus ... [38] Official methods of analysis of ... [39] Spectrophotometric and Turbidimetric Methods ... [40] Production and characteristics of protein ... [41] Protein Hydrolysates from Agricultural Crops—Bioactivity ... [42] Production of lipase and biomass by ... [43] Solubilization of fish protein ... [44] Functional fish protein ingredients ... [45] Alkali-aided protein extraction ... [46] Comparative study on the ... [47] The acid and alkaline solubilization ... [48] The effect of nitrogen and carbon ...

تولید پروتئین آبکافت شده به روش شیمیایی از امعا و احشای ماهی کپور نقره‌ای و استفاده از آن به عنوان محیط کشت باکتری سودوموناس آئروژینوز

ماریا اصغرینیا MSc

گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

سکینه یگانه PhD*

گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

سیدعلی جعفرپور PhD

گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

رضا صفری PhD

پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، ساری، ایران

چکیده

اهداف: ضایعات مربوط به صنایع شیلاتی شامل ۵۰٪ وزن ماهی است. استفاده از این مواد خام برای تولید پروتئین آبکافتی موجب تولید پپتیدهایی با ویژگی‌های عملکردی می‌شود. هدف پژوهش، تولید پروتئین آبکافت شده به روش شیمیایی از امعا و احشای ماهی کپور نقره‌ای و استفاده از آن به عنوان محیط کشت باکتری سودوموناس آئروژینوز بود.

مواد و روش‌ها: پژوهش تجربی حاضر روی ماهی کپور نقره‌ای در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انجام شد. پس از انجمادزایی امعا و احشای ماهی کپور نقره‌ای در دمای ۴°C، آبکافت در pH اسیدی ۳/۳ و قلیایی ۱۲ و دمای ۷۰ و ۸۵°C انجام شد. از پپتون‌های تولید شده از هر تیمار (با ۳ تکرار) به عنوان منبع ازت در محیط کشت باکتری سودوموناس آئروژینوز به مدت ۴۸ ساعت استفاده و با محیط کشت تجاری نوترینت برات مقایسه شد. داده‌ها با نرم افزار SPSS 17 طریق تحلیل واریانس دوطرفه، آزمون T مستقل و آزمون دانکن تحلیل شدند.

یافته‌ها: کمترین و بیشترین درجه آبکافت به ترتیب مربوط به آبکافت قلیایی در دمای ۷۰ و ۸۵°C بود. روند افزایشی رشد باکتری در تیمارهای محیط کشت حاوی پپتون در دمای ۸۵°C در طول ۴۸ ساعت به جز در زمان ۲۴ ساعت اختلاف معنی‌داری نداشتند، اما با تیمار شاهد در همه زمان‌ها اختلاف معنی‌داری داشتند ($p < 0.05$). تیمارهای محیط کشت در دمای ۷۰°C در طول ۴۸ ساعت تفاوت معنی‌داری نداشتند.

نتیجه‌گیری: در تولید پروتئین آبکافت شده از امعا و احشای ماهی کپور نقره‌ای، آبکافت قلیایی در دمای بالا بهتر از آبکافت اسیدی است و رشد باکتری سودوموناس آئروژینوز در پپتون تولیدی به خوبی رشد آن در محیط کشت تجاری است.

کلیدواژه‌ها: سودوموناس آئروژینوز، آبکافت شیمیایی، پپتون، پروتئین آبکافت شده

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۱

*نویسنده مسئول: skyeganeh@gmail.com

مقدمه

بسیاری از میکروارگانیسم‌ها به منابع آلی ازت نیاز دارند که به شکل پروتئین آبکافتی یا پپتون‌ها با درجه هیدرولیز متفاوت شامل باکتوپپتون‌ها، تریپتون، سیستون، عصاره گوشت یا عصاره مخمر در محیط کشت تجاری گنجانده شده‌اند^[1]. پپتون‌های تجاری برای میکروبیولوژی از کازئین، سویا، ژلاتین و گوشت تهیه می‌شود^[2]. منبع ازت گران‌ترین بخش در تولید باکتری‌ها به شمار می‌آید^[3]. ضایعات صنایع غذایی منابع آلاینده مهم زیست‌محیطی هستند و تحقیقات نسبتاً خوبی در ارتباط با تبدیل این ضایعات به

فرآورده‌های مفید انجام شده است^[4, 5]. ضایعات مربوط به صنایع شیلاتی شامل پوست، استخوان، امعا و احشا، سر و بخشی از بافت‌های عضلانی است که بیش از ۵۰٪ وزن یک ماهی را شامل می‌شوند^[4]. این مواد به عنوان منبع پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری با ارزش غذایی بالا به شمار می‌روند^[6] و استفاده از این مواد خام برای تولید پروتئین آبکافتی منجر به تولید پپتیدهایی با ویژگی‌های عملکردی می‌شود^[3]. آبکافت می‌تواند با استفاده از حلال‌های آلی^[7]، اسیدها و قلیاها^[8, 9]، پروتئازهای خارجی^[10] یا اتولیز آنزیمی^[4] انجام شود. به کارگیری فرآیند تغییر pH با شرایط اسیدی و قلیایی برای افزایش بازیابی پروتئین، روش مناسبی برای استفاده از این نوع مواد خام و تولید پروتئین آبکافت شده است^[9]. اگر چه پروتئین آبکافتی به دلیل ضعف مزه (تلخی) برای استفاده انسانی محدودیت دارد، اما منبع خوبی برای جانوران یا باکتری‌ها محسوب می‌شود^[3] و پپتون‌های حاصل از آبکافت ضایعات شیلاتی می‌تواند منبع جایگزینی برای پپتون‌های تجاری باشد^[2] و از آلودگی محیط زیست به دلیل دورریز شدن ضایعات جلوگیری نماید^[12].

سودوموناس آئروژینوز (*Pseudomonas aeruginosa*) باسیل گرم منفی فرصت طلب است که به عنوان دومین عامل بیماری‌زای رایج در جراحی‌ها و سومین باکتری مطرح در پزشکی است^[13]. اعضای این گونه در طبیعت متداول است و از منابع وسیعی در طبیعت جداسازی شده‌اند. این باکتری در مدفوع جانوری، مواد غذایی و آب آشامیدنی یافت می‌شود^[14]. برای کشت این باکتری از محیط‌های کشت نوترینت برات، ال‌بی برات، سیتیمیدآگار و مک‌کنکی‌آگار استفاده می‌شود^[14-16]، اما این باکتری می‌تواند از دامنه وسیعی از منابع کربن یا ازت استفاده کند^[17].

بر اساس آمار ارائه شده توسط سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO)، تولیدات جهانی شیلات (صید و آبی‌پروری) در سال ۲۰۱۴، ۱۶۷۲۲۸۹۵۹ تن (۷۳۷۸۳۷۲۵ تن آبی‌پروری و ۹۳۴۴۵۲۳۴ تن صید) است. ایران دارای سهم ۹۴۷۳۵۴ تن است که ۳۲۰۱۷۴ تن آن مربوط به آبی‌پروری است^[18] و در سال ۱۳۹۲ پرورش ماهیان گرمابی ۱۶۷۸۸۳ تن (کل آبی‌پروری سال ۱۳۹۲، ۳۷۰۸۷۶ تن) بوده است^[19]. تولید ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) در ایران ۸۵۱۷۱ تن بوده است^[18] که در ماهی کپور نقره‌ای با وزن متوسط ۹۱۲/۰۴ گرم، وزن متوسط فیله، وزن متوسط امعا و احشا، کاهش وزن متوسط ناشی از فیله کردن و درصد امعا و احشا به ترتیب ۷۱۲/۰۸ گرم، ۷۷/۸۶ گرم، ۱۹۹/۷۴ گرم و ۸/۶۸٪ محاسبه شده است^[20]. در نتیجه با توجه به میزان تولید، ضایعات حاصل نیز بخش زیادی را تشکیل می‌دهد. مطالعات در ارتباط با تولید پروتئین آبکافت شده با روش‌های مختلف آنزیمی^[4, 6, 21-25]، بررسی خصوصیات ایزوله پروتئین ماهی تولید شده با روش شیمیایی اسیدی-قلیایی^[26, 27] و استفاده از پپتون تولید شده از ضایعات برخی ماهیان در محیط کشت باکتریایی انجام شده است^[1, 12, 28-37]. طبق بررسی‌های انجام شده، تحقیقی در ارتباط با تولید پپتون از طریق آبکافت شیمیایی امعا و احشای ماهی کپور نقره‌ای و استفاده از آن به عنوان منبع ازت در محیط کشت باکتری سودوموناس آئروژینوز انجام نشده است. بنابراین هدف پژوهش حاضر بررسی تولید پروتئین آبکافت شده به روش شیمیایی از امعا و احشای ماهی کپور نقره‌ای و استفاده از آن به عنوان محیط کشت باکتری سودوموناس آئروژینوز بود.

۵۴۰ نانومتر خوانده شد. از مخلوط ۰/۵ سی‌سی آب مقطر و ۴/۵ سی‌سی معرف بیورت به‌عنوان نمونه شاهد در دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده و غلظت پروتئین مستقیماً از منحنی استاندارد محاسبه شد [39].

استفاده از پروتئین آبکافت شده در محیط کشت باکتری

آماده‌سازی میکروارگانیزم: باکتری سودوموناس آئروژینوز مورد استفاده در این تحقیق به‌صورت انجماد خشک از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. پس از کشت اولیه باکتری در محیط کشت نوترینت‌براث و انکوباسیون در دمای ۳۰°C به مدت ۱۸ ساعت و سپس رساندن باکتری به رشد لگاریتمی، شست‌وشوی متوالی با سرم فیزیولوژی و متعاقب آن سانتریفیوژ در ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه انجام و در نهایت تعداد مشخصی (۱×۱۰^۵/۳ کلونی در گرم نمونه) از باکتری به محیط‌های تجاری و محیط‌های تهیه‌شده از ضایعات ماهی کپور نقره‌ای اضافه شد. برای ارزیابی رشد باکتری سودوموناس آئروژینوز در زمان‌های مختلف از دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده و جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت شد [12].

تهیه محیط کشت: محیط کشت نوترینت‌براث با استفاده از عصاره گوشت گاو (اگرم)، عصاره مخمر (۲اگرم) و پیتون ژلاتین (۵اگرم) به‌عنوان جزء پروتئینی تهیه و پیتون تولیدشده از امعا و احشای ماهی کپور نقره‌ای جایگزین جزء پروتئینی محیط کشت شد و با افزودن ۵ گرم نمک سدیم، مقدار ۱۳ گرم از محیط کشت در یک لیتر آب مقطر تهیه و pH محیط کشت تهیه‌شده در محدوده ۷/۴ تنظیم شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 17 از طریق آزمون لون برای بررسی همگنی واریانس‌ها، تحلیل واریانس دوطرفه برای بررسی درجه آبکافت اسیدی و قلیایی در دو دمای مختلف و جذب نوری باکتری در محیط کشت‌ها و زمان‌های مختلف و آزمون T مستقل برای مقایسه میانگین‌های درجه آبکافت و پروتئین محلول و آزمون دانکن برای بررسی تغییرات جذب نوری صورت گرفت.

یافته‌ها

کمترین مقدار درجه آبکافت در شرایط شیمیایی امعا و احشای ماهی کپور نقره‌ای مربوط به آبکافت قلیایی و دمای ۷۰°C (۴۰/۹۵±۱۵٪) و بیشترین مقدار آن مربوط به آبکافت قلیایی و دمای ۸۵°C بود (۳۷/۳±۲۱٪) بود. در آبکافت اسیدی و قلیایی، افزایش دما موجب افزایش معنی‌دار درجه آبکافت شد و اثر متقابل دما و pH نیز معنی‌دار بود (جدول ۱).

میزان کل پروتئین در نمونه امعا و احشای کپور نقره‌ای ۱۸/۰±۰/۴۱٪ بود. کمترین مقدار پروتئین محلول در آبکافت شیمیایی امعا و احشای ماهی کپور نقره‌ای مربوط به آبکافت اسیدی و دمای ۷۰°C بود و بیشترین مقدار پروتئین مربوط به آبکافت قلیایی و دمای ۸۵°C بود. تفاوت دما در میزان پروتئین حاصل از هر کدام از آبکافت اسیدی یا قلیایی تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد و اثر متقابل دما و pH نیز معنی‌دار نبود (جدول ۱).

رشد سودوموناس آئروژینوز در محیط کشت حاوی پپتون: تغییرات جذب نوری سودوموناس آئروژینوز در محیط حاوی پروتئین از زمان صفر تا ۴۸ ساعت در هر ۳ تیمار (اسیدی ۸۵°C، قلیایی ۸۵°C و نمونه شاهد) روند صعودی داشت ولی این روند در تیمار قلیایی ۸۵°C بهتر از دو تیمار دیگر بود (۴/۸۶۷±۰/۱۷). روند افزایشی باکتری در تیمارهای اسیدی و قلیایی تنها در زمان ۲۴ ساعت اختلاف معنی‌داری داشتند، اما با تیمار شاهد تنها در زمان

پژوهش حاضر از نوع تجربی روی ماهی کپور نقره‌ای در بهار سال ۱۳۹۲ در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انجام شد. امعا و احشای ماهی کپور نقره‌ای به‌عنوان ماده خام اولیه از بازار ماهی‌فروشان شهرستان ساری تهیه و در مجاورت یخ (با نسبت ۳ به ۱) به آزمایشگاه منتقل شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نمونه‌ها به‌منظور جلوگیری از فرآیند اتولیز آنزیمی و میکروبی در ظرف پلاستیکی و در دمای ۲۰°C تا شروع آزمایش نگهداری شدند. برای انجام آزمایش، نمونه‌ها در دمای ۴۰°C انجمادزدایی شدند. مقدار ۱۰۰ گرم از امعا و احشا در مولینکس (SANIA؛ ایران) کاملاً خرد و به نسبت ۱ به ۲ (وزنی/حجمی) سوپسترا به آب) با آب مقطر مخلوط و سپس برای غیرفعال کردن آنزیم‌های داخلی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۸۵°C قرار داده شدند. واکنش‌ها در ۴ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار صورت گرفت. آبکافت اسیدی و قلیایی در دو pH برابر با ۳/۳ و ۱۲ و در دو دمای ۷۰ و ۸۵°C انجام شد. برای انجام آبکافت اسیدی از هیدروکلریک اسید (HCL) و برای پایان‌دادن به این واکنش از هیدروکسید سدیم (NaOH) ۲ نرمال استفاده شد. برای انجام آبکافت قلیایی از هیدروکسید سدیم و برای پایان‌دادن به این واکنش، واکنش‌ها در هیدروکلریک اسید ۲ نرمال مورد استفاده قرار گرفت. واکنش‌ها در ظرف‌های شیشه‌ای ۲۵۰ میلی‌لیتری در حمام بخار لوزان به مدت ۱۸ ساعت صورت گرفتند. بعد از خنثی‌سازی و پایان‌دادن به واکنش‌ها، نمونه‌ها در سانتریفیوژ (Hermle GmbH Z206A) در ۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴°C به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شدند و سوپرناتانت جمع‌آوری شد. سوپرناتانت در آون (SHIMAS؛ ایران) با دمای ۸۵°C به مدت ۲۴-۱۸ ساعت قرار گرفت و پروتئین آبکافت‌شده به‌صورت پودر حاصل شد [24].

درجه آبکافت: درجه آبکافت با استناد بر روش هویله و مریت [23] و بر مبنای این روش اندازه‌گیری، درصد نسبت پروتئین‌های محلول در تری کلرواستیک اسید ۱۰٪ به کل پروتئین‌های موجود در نمونه محاسبه شد. برای این منظور بعد از انجام آبکافت مخلوط ۰/۵ سی‌سی نمونه (فاز محلول حاوی پروتئین آبکافت) با ۰/۵ سی‌سی تری کلرواستیک اسید در میکروسانتیریفیوژ با ۶۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. سپس ۰/۵ سی‌سی از نمونه حاصل با ۴/۵ سی‌سی معرف بیورت مخلوط و در اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد. از مخلوط ۰/۵ سی‌سی آب مقطر و ۴/۵ سی‌سی معرف بیورت به‌عنوان نمونه شاهد در دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده شد. درجه آبکافت طبق رابطه زیر به دست آمد:

$$DH\% = \frac{\text{نیتروژن محلول در تری کلرواستیک اسید } 10\%}{\text{کل نیتروژن موجود در نمونه (فاز محلول حاوی پروتئین آبکافت)}} \times 100$$

مقدار پروتئین: میزان کل پروتئین مواد خام به روش کلدال [38] و میزان پروتئین محلول در سوپرناتانت به روش بیورت اندازه‌گیری و سرم آلبومین گاوی به‌عنوان پروتئین استاندارد به کار برده شد [39]. برای تعیین غلظت پروتئین محلول، بعد از آبکافت و قبل از سانتریفیوژ، اسی‌سی از نمونه در میکروسانتیریفیوژ (ایندورف؛ آلمان) با ۶۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. سوپرناتانت جمع‌آوری و ۰/۵ سی‌سی از آن با ۴/۵ سی‌سی معرف بیورت مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس در اسپکتروفوتومتر ۶۳۰۵ (Jenway؛ انگلستان) در طول موج

صفر اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول ۲).

تغییرات جذب نوری سودوموناس آئروژینوز از زمان صفر تا ۴۸ ساعت در هر ۳ تیمار (اسیدی 70°C ، قلیایی 70°C و نمونه شاهد) روند صعودی داشت ولی این روند در تیمار قلیایی 70°C بهتر از دو تیمار دیگر بود ($4/70.3 \pm 0.416$). نتایج روند افزایشی باکتری در تیمارهای اسیدی و قلیایی و تیمار شاهد در زمان‌های ۲۴ و ۳۶ ساعت اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند، اما در زمان ۱۲ و ۴۸ ساعت تیمار اسیدی و قلیایی افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند (جدول ۳).

جدول ۱) میانگین آماری درجه آبکافت و میزان پروتئین امعا و احشای ماهی کپور نقره‌ای آبکافت‌شده به روش اسیدی و قلیایی در دمای 70°C و 85°C

متغیر	70°C	85°C
درجه آبکافت (درصد)		
آبکافت اسیدی ($\text{pH}=3/3$)	$16/29 \pm 0.35 \text{Aa}$	$19/51 \pm 0.26 \text{Bb}$
آبکافت قلیایی ($\text{pH}=12$)	$15/92 \pm 0.4 \text{Aa}$	$21/30 \pm 0.37 \text{Ba}$
پروتئین محلول (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)		
آبکافت اسیدی ($\text{pH}=3/3$)	$33/54 \pm 0.81 \text{Aa}$	$38/43 \pm 0.81 \text{Ba}$
آبکافت قلیایی ($\text{pH}=12$)	$35/97 \pm 0.22 \text{Aa}$	$42/30 \pm 0.43 \text{Ba}$

حروف کوچک و بزرگ متفاوت در مورد هر شاخص به ترتیب نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون و ردیف است ($p < 0.05$)

جدول ۲) جذب نوری سودوموناس آئروژینوز در محیط حاوی پروتئین آبکافت‌شده امعا و احشای ماهی کپور نقره‌ای به روش اسیدی و قلیایی در دمای 85°C و محیط کشت شاهد (نوترینت برات)

زمان (ساعت)	آبکافت اسیدی	آبکافت قلیایی	شاهد
صفر	$0.034 \pm 0.001 \text{aE}$	$0.037 \pm 0.005 \text{aE}$	$0.034 \pm 0.002 \text{aE}$
۱۲	$0.652 \pm 0.02 \text{aD}$	$0.711 \pm 0.03 \text{aD}$	$0.341 \pm 0.024 \text{bD}$
۲۴	$2/962 \pm 0.12 \text{bC}$	$3/126 \pm 0.20 \text{aC}$	$2/735 \pm 0.18 \text{cC}$
۳۶	$3/832 \pm 0.15 \text{aB}$	$3/914 \pm 0.32 \text{aB}$	$3/531 \pm 0.27 \text{bB}$
۴۸	$4/735 \pm 0.13 \text{aA}$	$4/867 \pm 0.17 \text{aA}$	$4/412 \pm 0.26 \text{bA}$

حروف کوچک و بزرگ متفاوت به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ردیف و ستون است ($p < 0.05$)

جدول ۳) جذب نوری سودوموناس آئروژینوز در محیط حاوی پروتئین آبکافت‌شده امعا و احشای ماهی کپور نقره‌ای به روش اسیدی و قلیایی در دمای 70°C و محیط کشت شاهد (نوترینت برات)

زمان (ساعت)	آبکافت اسیدی	آبکافت قلیایی	شاهد
صفر	$0.038 \pm 0.003 \text{aE}$	$0.035 \pm 0.002 \text{aE}$	$0.029 \pm 0.005 \text{aE}$
۱۲	$0.542 \pm 0.02 \text{aD}$	$0.563 \pm 0.023 \text{aD}$	$0.261 \pm 0.008 \text{bD}$
۲۴	$2/825 \pm 0.23 \text{aC}$	$2/995 \pm 0.093 \text{aC}$	$2/654 \pm 0.055 \text{aC}$
۳۶	$3/643 \pm 0.09 \text{aB}$	$3/733 \pm 0.09 \text{aB}$	$3/468 \pm 0.067 \text{aB}$
۴۸	$4/583 \pm 0.045 \text{aA}$	$4/703 \pm 0.046 \text{aA}$	$4/217 \pm 0.071 \text{bA}$

حروف کوچک و بزرگ متفاوت به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ردیف و ستون است ($p < 0.05$)

بحث

پژوهش حاضر با هدف تولید پروتئین آبکافت‌شده به روش شیمیایی از امعا و احشای ماهی کپور نقره‌ای و استفاده از آن به عنوان محیط کشت باکتری سودوموناس آئروژینوز انجام شد. یکی از روش‌های متداول در آبکافت، روش آنزیمی است که در آن از پروتئازها با منشأ خارجی یا با منشأ درونی استفاده می‌شود [40]. اگر چه پروتئین آبکافت‌شده حاصل از روش آنزیمی دارای خصوصیات کارکردی بهتری است، اما در روش آنزیمی مستلزم هزینه زیاد (به دلیل استفاده از آنزیم) و مدت بالای آبکافت حدود دو ساعت (در مقابل زمان ۲۰ دقیقه در روش شیمیایی) است. در مقابل در روش شیمیایی امکان کنترل کیفیت پروتئین آبکافتی

وجود ندارد و پروتئین آبکافتی حاصل از این روش، خصوصیات شیمیایی و کارکردی متغیر [41] و ضعیف‌تری دارد، اما بازیابی بالای پروتئین، فراوری سریع و هزینه کم این روش، آن را برای تولید پروتئین آبکافتی به منظور استفاده در فرآورده‌های با ارزش کمتر مانند کودها و منبع نیتروژن برای رشد باکتری‌ها مناسب ساخته است [42]. در روش شیمیایی، باندهای پپتیدی با استفاده از اسید یا باز می‌شکنند و روشی ساده و کاملاً ارزان است [43].

این مطالعه، اولین مطالعه در مورد آبکافت اسیدی و قلیایی امعا و احشای ماهی کپور نقره‌ای و تاثیر پیتون تولیدشده به عنوان منبع ازت در محیط کشت باکتری سودوموناس آئروژینوز بود. مطالعات بسیار اندکی در ارتباط با استفاده از روش‌های شیمیایی برای تهیه پروتئین آبکافت‌شده از امعا و احشای ماهی انجام شده است. مطالعه حاضر با نتایج ویسی‌پور و همکاران [24] در ارتباط با آبکافت شیمیایی امعا و احشای تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در دو pH برابر با ۳/۳ و ۱۲ و دو دمای 70°C و 85°C همخوانی نداشت، به طوری که در آن مطالعه بیشترین محتوای پروتئین ($32/6 \pm 2/76\%$) و درجه آبکافت ($3/5 \pm 0/1\%$) مربوط به pH برابر با ۳/۳ و دمای 85°C بود. در تحقیق حاضر با افزایش دما محتوای پروتئین و درجه آبکافت افزایش یافت، اما pH قلیایی موثرتر بود و بیشترین محتوای پروتئین ($42/30 \pm 0/43\%$) میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و بیشترین درجه آبکافت ($21/30 \pm 0/37\%$) مربوط به دمای 85°C بود. سلطان‌مردی و هداپتی‌فرد [37]، درجه آبکافت اسیدی امعا و احشای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) را در دمای 85°C ، $43/25 \pm 0/55$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آورده‌اند. جعفرپور و همکاران [26] گزارش کرده‌اند که استفاده از تکنیک تغییر pH (قلیایی و اسیدی) در بازیابی پروتئین از عضله ماهی کپور نقره‌ای، قابلیت جایگزینی با روش‌های معمول بازیابی پروتئین از عضله را دارد. تانن‌بام و همکاران [43] فرایند آبکافت قلیایی (pH برابر با ۱۲/۵) کنسانتره پروتئین ماهی را در دمای 95°C در مدت ۲۰ دقیقه انجام داده‌اند و محصول ایجادشده دارای خواص کارکردی بهتری از کنسانتره پروتئین بوده است. پالافوکس و همکاران [27] در تولید ایزوله پروتئین ماهی مرکب (*Dosidicus gigas*) با تغییر pH نشان داده‌اند که در pH برابر با ۳ و ۱۱، 85% از پروتئین اولیه عضله به صورت محلول درآمد و صرف نظر از pH مورد استفاده، در حدود 90% پروتئین بعد از ته‌نشینی در pH برابر با ۵/۵ به دست آمد. حلالیت پروتئین با باردارشدن پروتئین‌ها (مثبت یا منفی) در pH اسیدی یا قلیایی ایجاد می‌شود و ته‌نشینی آن در pH ایزوالکتریک به دلیل باردارنبودن پروتئین اتفاق می‌افتد. محتوای پروتئین در آبکافت اسیدی ماهی ماکرل اسپانیایی (*Scomberomorus maculatus*) بیشتر از قلیایی ($73/6\%$ در مقابل $69/3\%$) [44] و محتوای پروتئین حاصل از آبکافت اسیدی ماهی تیلپیا (*Oreochromis niloticus*)، $56-61\%$ و سالمون اطلس (*Salmo salar*)، $71/5\%$ به دست آمده است [21، 4]. در مطالعه ومانا و همکاران [45]، مقدار پروتئین بازیابی‌شده از آبکافت گوشت جوجه در pHهای برابر ۱۱/۵ و ۱۲ بیشتر از pHهای برابر با ۱۰/۵ و ۱۱ بوده است. آبکافت اسیدی و قلیایی گوشت بوقلمون در pHهای ۲/۵، ۳/۵، ۱۱/۵ و ۱۲ نشان داده است که میزان پروتئین به دست‌آمده در pHهای ۲/۵، ۱۱/۵ و ۱۰/۵ تفاوت چندانی نداشته و در pH ۳/۵ از همه کمتر بوده است [46]. تفاوت نتایج به دست‌آمده از مطالعات مختلف ممکن است به خصوصیات ماده اولیه مورد

بیشتر در زی‌توده باکتریایی موثر بوده و استفاده از پپتون‌های تولیدشده از ماهی تون زردباله (*Thunnus albacares*) برای رشد باکتری‌های بیماری‌زا و پروبیوتیک (سودوموناس، ویبریو و روزتوباکتر) موجب رشد بیشتر آنها در مقایسه با محیط‌های کشت تجاری معمول شده است. باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) در محیط کشت محتوی پپتون تولیدشده از آبکافت اسیدی امعا و احشای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان رشد کمتری از محیط کشت تجاری نشان داده است که احتمالاً به دلیل عدم توانایی باکتری در استفاده از پپتون حاصله از آبکافت اسیدی بوده و وزن مولکولی و طول زنجیره پپتیدی پپتون برای استفاده توسط باکتری مناسب نبوده است، اما با این وجود استفاده از پپتون به‌عنوان یک محصول با ارزش افزوده و ارزان قیمت پیشنهاد شده است [37].

نتایج به‌دست‌آمده از شش گونه باکتری *اشرشیا کلی* (*Escherichia coli*)، *لاکتوباسیلوس کازئی* (*Lactobacillus casei*)، مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* (*Saccharomyces cerevisiae*)، *اسپوروبولومایسس* / *اودوروس* (*Sporobolomyces odoratus*) و *قارچ پنیسیلیوم روکوفورتی* (*Penicillium roqueforti*) و *آسپرژیلوس نایجر* (*Aspergillus niger*) در محیط کشت‌های محتوی منابع پپتونی تولیدشده از ماهیان مختلف (کاد، تون و سالمون) نشان داده است که در اکثر موارد، استفاده از پپتون‌های تولیدشده از ماهی نتایج خوبی به‌همراه داشته است، اما باید درجه آبکافت مناسب برای هر گونه باکتریایی مشخص شود [30]. *آسپمو* و همکاران [32] مشاهده کرده‌اند که پروتئین آبکافت‌شده امعا و احشای ماهی کاد آتلانتیک به‌عنوان منبع نیتروژن بر رشد باکتری‌های لاکتیک‌اسید اثر بیشتری نسبت به پپتون‌های تجاری داشته است. *اویسی‌پور* و همکاران [35] در استفاده از پپتون حاصل از آبکافت آنزیمی (آلکالاز و پروتامکس) سر ماهی تون زردباله در محیط کشت باکتری‌ها از قبیل *سودوموناس پوتیدا* (*Pseudomonas putida*)، *سودوموناس آئروژینوز*، *استرپتوکوکوس فسیوم* (*Streptococcus faecium*)، *لیستریا مونوسیتوژنز* (*Listeria monocytogenes*) و غیره مشاهده کرده‌اند که محیط کشت حاوی پپتون مورد آزمایش در رشد باکتری‌ها موثرتر بوده است. همچنین پپتون حاصل از درجه آبکافت بالاتر (آلکالاز) منجر به تولید پپتیدها با اندازه کوچکتر و رشد بیشتر باکتری‌ها شده است، بنابراین عنوان شد که انتخاب روش مناسب برای تولید پپتون در استفاده از آن در محیط کشت باکتریایی موثر بوده است. *سوئیسی* و همکاران [36] در استفاده از پروتئین آبکافت‌شده تولیدی از ماهی ساردین در محیط کشت باکتری *استافیلوکوکوس سیمولانس* (*Staphylococcus simulans*) مشاهده کرده‌اند که پپتون‌های ساردین برای رشد این باکتری مناسب بوده است. *کلوزن* و همکاران [28] از پپتون حاصل از آبکافت اتولتیک امعا و احشای ماهی در محیط کشت باکتریایی *ویبریو آنگوئیلاروم* (گونه *پروتئوس*؛ *Vibrio anguillarum*) استفاده کرده‌اند و رشد بهتر باکتری‌ها را در پپتون‌های تولیدی گزارش نموده‌اند. استفاده از پپتون تهیه‌شده از سر ماهی تون (با آزیم‌های آلکالاز و پروتامکس) به‌عنوان جایگزین پپتون محیط کشت MRS (برای انواعی از لاکتوباسیلوس) نشان داده که رشد باکتری‌ها در محیط کشت حاوی پپتون ماهی نسبت به محیط کشت تجاری بهتر بوده است [12]. در مطالعه حاضر نیز نتایج *اویسی‌پور* و همکاران [35] در ارتباط با تاثیر بیشتر پپتون حاصل از درجه آبکافت بالاتر در رشد باکتری‌ها و انتخاب روش مناسب در

آبکافت از جمله محتوای بافت پیوندی مرتبط باشد [24] و ماده اولیه در تولید پروتئین آبکافتی یک فاکتور بحرانی محسوب می‌شود [30].

آبکافت اسیدی پروتئین‌ها در مقایسه با آبکافت قلیایی رایج‌تر است. استفاده از pH قلیایی به‌منظور بازیابی پروتئین و افزایش حلالیت در دامنه وسیعی از پروتئین‌ها در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما آبکافت قلیایی منجر به تولید پروتئین با خصوصیات کارکردی و ارزش مغذی ضعیف می‌شود. در طول آبکافت قلیایی پروتئین‌های ماهی، شکست سریع پروتئین‌ها به پلی‌پپتیدهای بزرگ محلول در آب اتفاق می‌افتد [47]، در نتیجه ممکن است تاثیر بیشتر شرایط قلیایی در مطالعه حاضر نیز، به‌دلیل ذکرشده باشد. محتوای پروتئین در روش آنزیمی بیشتر از روش شیمیایی (اسیدی و قلیایی) است. یکی از علل محتوای پایین پروتئین در آبکافت شیمیایی، توانایی پایین بازیابی پروتئین در آبکافت شیمیایی مواد با پیوستگی بالای بافتی مانند امعا و احشا است [24].

منابع نیتروژن و کربن در محیط کشت معمولاً با عصاره‌های گوشت و مخمر تامین می‌شوند که یون‌های ضروری، مواد معدنی و ویتامین‌ها را نیز تامین می‌کنند [48]. هدف از این مطالعه استفاده از پپتون حاصل از ضایعات ماهی به‌عنوان منبع آلی نیتروژن و کربن در محیط کشت باکتری *سودوموناس آئروژینوز* بود. موفقیت پپتون در رشد باکتری به جذب بهینه منابع آمینواسیدی در دسترس توسط فعالیت پروتئازهای درونی و سیستم جذب پپتیدی باکتری وابسته است [31]. اندازه پپتیدهای حاصل و محتوای گروه‌های آلفا آمینو نیز در این امر موثر است، اگر چه ممکن است پپتون‌های محتوی پپتیدها روی برخی از سویه‌های باکتریایی اثر بازدارندگی داشته باشند [32]. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که باکتری *سودوموناس آئروژینوز* در پپتون‌های تولیدشده از آبکافت اسیدی و قلیایی در زمان ۳۶ ساعت فقط در دمای ۸۵°C با محیط کشت تجاری نوترینت‌براث تفاوت معنی‌داری داشت، اما در زمان ۴۸ ساعت در هر دو دمای ۷۰ و ۸۵°C، رشد بیشتری نسبت به محیط کشت تجاری نوترینت‌براث نشان داد. محتوای مواد مغذی بالاتر (آمینواسیدهای مورد نیاز) در پپتون‌ها ممکن است دلیلی برای رشد بیشتر باکتری *سودوموناس* باشد [34]. *مارتون* و همکاران [3] گزارش کرده‌اند که پروتئین آبکافتی ضایعات حاصل از فیله کردن ماهی هیک (*Merluccius hubbsi*) با اندازه پپتید ۱/۵ تا ۲۰ کیلودالتون می‌تواند به‌عنوان منبع آلی نیتروژن و کربن در محیط کشت باکتری‌های گرم‌منفی *باسیلوس سوبتیلیس* (*Bacillus subtilis*) و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* (*Staphylococcus epidermidis*) و گرم‌مثبت *هالوباکتریوم سالیناریوم* (*Halobacterium salinarum*) و *اشرشیا کلی* (*Escherichia coli*) استفاده شود و تفاوت معنی‌داری در محیط کشت حاوی پروتئین آبکافتی مشاهده نکرده‌اند. *واسکوئر* و همکاران [33] رشد باکتری‌های گروه لاکتیک‌اسید را در محیط‌های کشت مختلف و محیط کشت حاوی پروتئین آبکافت‌شده امعا و احشا بررسی نموده و گزارش کرده‌اند که محیط کشت‌های حاوی پروتئین آبکافت‌شده تاثیر زیادی بر رشد باکتری‌ها داشته و پپتون توانسته است تا مصرف پروتئین توسط باکتری‌ها را تقویت کند، اما توازن و بالانس مواد مغذی در محیط کشت را از عوامل موثر در رشد باکتری بیان داشته‌اند. در نتایج آزمایشات *واژکوئر* و همکاران [1] مشخص شده است که pH زمان آبکافت در تولید باکتریایی تاثیر معنی‌داری نداشته است و وجود تنوعی از پپتیدهای بزرگ‌تر و مواد مغذی

- as a nutrient source for bacteria and archaea growth media. *Bioresour Technol.* 2005;96(3):383-7.
- 4- Kristinsson HG, Rasco BA. Fish protein hydrolysates: Production, biochemical, and functional properties. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2000;40(1):43-81.
- 5- Laufenberg G, Kunz B, Nystroem M. Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept, (B) practical implementations. *Bioresour Technol.* 2003;87(2):167-98.
- 6- Benhabiles MS, Abdi N, Drouiche N, Lounici H, Pauss A, Goosen MFA, et al. Fish protein hydrolysate production from sardine solid waste by crude pepsin enzymatic hydrolysis in a bioreactor coupled to an ultrafiltration unit. *Mater Sci Eng, C.* 2012;32(4):922-8.
- 7- Durand H. Methods review to make protein concentrates and fish oil. *Science et Pêche.* 1976;261:1-20. [French]
- 8- Espe M, Haaland H, Njaa LR, Raa J. Growth of young rats on diets based on fish silage with different degrees of hydrolysis. *Food Chem.* 1992;44(3):195-200.
- 9- Hultin HO, Kelleher SD. Protein composition and process for isolating a protein composition from a muscle source [Internet]. Suwon: Advanced Protein Technologies Inc; 2001 [cited 2017 Sep 17]. Available from: <https://encrypted.google.com/patents/EP1019433A4?cl=en>.
- 10- Guérard F, Dufossé L, De La Broise D, Binet A. Enzymatic hydrolysis of proteins from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) wastes using Alcalase. *J Mol Catal B Enzym.* 2001;11(4-6):1051-9.
- 11- Shabanpour B, Etemadian Y. The shelf-life of conventional surimi and recovery of functional proteins from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) muscle by an acid or alkaline solubilization process during frozen storage. *Iran J Fish Sci.* 2016;15(1):281-300.
- 12- Safari R, Motamedzadegan A, Ovissipour MR, Regenstein JM, Gildberg A, Rasco B. Use of hydrolysates from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) heads as a complex nitrogen source for lactic acid bacteria. *Food Bioprocess Technol.* 2012;5(1):73-9.
- 13- Arzanloo M, Sattari M, Zavarani Hosseini A, Faezi S. Investigation of protective effects of *Pseudomonas aeruginosa* anti-flagellar antibodies in burned-induced infection on BALB/c mice. *Pathobiol Res.* 2010;12(4):1-10. [Persian]
- 14- Tsoreava A, Martínez CR. Comparison of two culture media for selective isolation and membrane filter enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* in water. *Revista Latinoamericana de Microbiología.* 2000;42:149-54.
- 15- Laine L, Perry JD, Lee J, Oliver M, James AL, De La Foata C, et al. A novel chromogenic medium for isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from the sputa of cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros.* 2009;8(2):143-9.
- 16- Kathiravan T, Marykala J, Sundaramanickam A, Kumaresan S, Balasubramanian T. Studies on nutritional requirements of *Pseudomonas aeruginosa* for lipase production. *Adv Appl Sci Res.* 2012;3(1):591-8.
- 17- LaBauve AE, Wargo, MJ. Growth and laboratory maintenance of *Pseudomonas aeruginosa*. *Curr Protoc Microbiol.* 2012;Chapter 6:Unit 6E.1.
- 18- Food and Agriculture Organization, editor. The state of world fisheries and aquaculture 2014: Opportunities and challenges. Rome: FAO; 2014. p. 243.
- 19- Iran Marine Statistics. Vice-presidency for science and Technology, Marine Industry Technology

تولید پپتون برای استفاده از آن در محیط کشت باکتریایی مورد تایید قرار گرفت. بنابراین نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نیز حاکی از رشد مناسب باکتری *سودوموناس آئروژینوز* در محیط کشت حاوی پپتون بود که با نتایج به دست آمده از مطالعات فوق مطابقت داشت. به نظر می رسد درجه آبکافت بالاتر موجب جذب بهتر پپتون ها از محیط کشت می شود. گیلدبرگ و همکاران [29] گزارش کرده اند که باکتری های لاکتیک اسید در پپتون حاصل از درجه آبکافت بالاتر، رشد بیشتری داشته اند. نوع ماده خام اولیه برای تولید پپتون موثر بوده و در رشد باکتری های مختلف، درجه آبکافت مناسب پپتون متفاوت است. به علاوه وجود مقادیر زیاد نیتروژن به تنهایی دلیلی بر رشد باکتری نخواهد بود، بلکه عوامل غیرنیتروژنه مانند مواد معدنی، ویتامین ها، نوکلئوتیدها، لیپیدها و عناصر کمیاب نیز موثرند [30]. نتایج این تحقیق نشان داد که آبکافت اسیدی و قلیایی با توجه هزینه پایین تر آن از نظر اقتصادی قابل استفاده است و در آبکافت امعا و احشای ماهی کپور نقره ای به روش شیمیایی، شرایط قلیایی در دمای بالا نسبت به شرایط اسیدی، نتیجه بهتری دارد.

از محدودیت های پژوهش حاضر این بود که آبکافت تنها با دو متغیر دما و pH مد نظر قرار گرفت، بنابراین پیشنهاد می شود پپتون هایی با درجه آبکافت متفاوت تهیه و تاثیر آن بر رشد باکتری سنجیده شود. همچنین مشخص شد که پپتون های تولید شده از آبکافت شیمیایی امعا و احشای ماهی کپور نقره ای قابلیت استفاده در محیط کشت نوترینت برات را دارد. بنابراین می توان با استفاده از ضایعات ماهی برای تولید پپتون ها علاوه بر اینکه از آلودگی محیط زیست جلوگیری کرد، منبعی قابل استفاده در محیط های کشت باکتریایی نیز تولید کرد.

نتیجه گیری

در تولید پروتئین آبکافت شده به روش شیمیایی از امعا و احشای ماهی کپور نقره ای، آبکافت قلیایی در دمای بالا بهتر از آبکافت اسیدی است و رشد باکتری *سودوموناس آئروژینوز* در پپتون تولیدی به خوبی رشد آن در محیط کشت تجاری است.

تشکر و قدردانی: موردی از سوی نویسندگان ذکر نشده است.

تأییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان ذکر نشده است.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان ذکر نشده است.

سهم نویسندگان: ماریا اصغر نیا (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/روش شناس/پژوهشگر اصلی (۲۵٪)؛ سکینه یگانه (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/روش شناس/پژوهشگر اصلی (۲۵٪)؛ سیدعلی جعفرپور (نویسنده سوم)، تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۲۵٪)؛ رضا صفری (نویسنده چهارم)، تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۲۵٪)

منابع مالی: موردی از سوی نویسندگان ذکر نشده است.

منابع

- Vázquez JA, González MP, Murado MA. A new marine medium: Use of different fish peptones and comparative study of the growth of selected species of marine bacteria. *Enzyme Microb Technol.* 2004;35(5):385-92.
- Kurbanoglu EB, Kurbanoglu NI. Utilization as peptone for glycerol production of ram horn waste with a new process. *Energy Convers Manag.* 2004;45(2):225-34.
- Martone CB, Borla OP, Sánchez JJ. Fishery by-product

- bacteria. *Enzyme Microb Technol.* 2007;40(5):1328-34.
- 35- Oveissipour M, Safari R, Motamedzadegan A, Rasco B, Pourgholam R, Mohagheghi E, et al. Use of hydrolysates from Yellowfin tuna *Thunnus albacares* fisheries by-product as a nitrogen source for bacteria growth media. *Int Aquat Res.* 2009;1(1):73-7.
- 36- Souissi N, Bougatef A, Triki-Ellouz Y, Nasri M. Production of lipase and biomass by *Staphylococcus simulans* grown on sardinella (*Sardinella aurita*) hydrolysates and peptone. *Afr J Biotechnol.* 2009;8(3):451-7.
- 37- Soltanmoradi F, Hedayatifard M. Tracing growth of *staphylococcus aureus* in a medium containing peptone derived from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) viscera. *J Appl Environ Biol Sci.* 2015;5(4):156-60.
- 38- Association of Official Analytical Chemists International. Official methods of analysis of AOAC international. 16th Edition. Gaithersburg MD: AOAC International; 1999.
- 39- Layne, E. Spectrophotometric and Turbidimetric Methods for Measuring Proteins. In: Colowick PS, Kaplan NO., Editors. *Method in enzymology*. New York: Academic Press; 1957. pp. 447-54.
- 40- Shahidi F, Han XQ, Synowiecki J. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chem.* 1995;53(3):285-93.
- 41- McCarthy AL, O'Callaghan YC, O'Brien NM. 2013. Protein Hydrolysates from Agricultural Crops—Bioactivity and Potential for Functional Food Development. *Agric.* 2013;3,112-30.
- 42- He S, Franco C, Zhang W. Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). *Food Res Int.* 2013;50(1):289-97.
- 43- Tannenbaum SR, Ahern M, Bates RP. Solubilization of fish protein concentrate. 1. an alkaline process. *Food Technol.* 1970;24(5):604.
- 44- Kristinsson H, Demir N. Functional fish protein ingredients from fish species of warm and temperate waters: Comparison of acid - and alkali - aided processing vs conventional surimi processing. In: Bechtel PJ, editor. *Advances in seafood byproducts 2002 conference proceedings: Proceedings of the 2nd international seafood byproduct conference, november 10-13, 2002, Anchorage, Alaska, USA.* Fairbanks: Alaska Sea Grant College Program, University of Alaska Fairbanks; 2003. pp. 277-95.
- 45- Omana DA, Xu Y, Moayed V, Betti M. Alkali-aided protein extraction from chicken dark meat: Chemical and functional properties of recovered proteins. *Process Biochem.* 2010;45(3):375-81.
- 46- Hrynets Y, Omana DA, Xu Y, Betti M. Comparative study on the effect of acid - and alkaline - aided extractions on mechanically separated turkey meat (MSTM): Chemical characteristics of recovered proteins. *Process Biochem.* 2011;46(1):335-43.
- 47- Nolsøe H, Undeland I. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: State of the art. *Food Bioprocess Technol.* 2009;2(1):1-27.
- 48- Costa E., Teixidó N, Usall J, E. Atarés E, Viñas I. The effect of nitrogen and carbon sources on growth of the biocontrol agent *Pantoea agglomerans* strain CPA-2. *Lett Appl Microbiol.* 2002;35,117-20.
- Development council. Tehran: Department of Marine Industry Technology Development council; 2015. p. 106. [Persian]
- 20- Mahboob Sh, Sheri AN. Relationships among gonad weight, liver weight and body weight of major, common and some Chinese carps under composite culture system with special reference to pond fertilization. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2002;15(5):740-4.
- 21- Kristinsson HG, Rasco BA. Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. *J Agric Food Chem.* 2000;48(3):657-66.
- 22- Kristinsson HG, Rasco BA. Kinetics of the hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins by alkaline proteases and a visceral serine protease mixture. *Process Biochem.* 2000;36(1-2):131-9.
- 23- Hoyle NT, Merritt JH. Quality of fish protein hydrolysate from Herring (*Clupea harengus*). *J Food Sci.* 1994;59(1):76-9.
- 24- Oveissipour M, Safari R, Motamedzadegan A, Shabanpour B. Chemical and biochemical hydrolysis of persian sturgeon (*Acipenser persicus*) visceral protein. *Food Bioprocess Technol.* 2012;5(2):460-5.
- 25- Oveissipour M, Benjakul S, Safari R, Motamedzadegan A. Fish protein hydrolysates production from yellowfin tuna (*Thunnus albacores*) head using Alcalase and Protamex. *Int Aquat Res.* 2010;2(2):87-95.
- 26- Jafarpour SA, Shabanpour B, Shirvani Filabadi S. Biochemical properties of Fish Protein Isolate (FPI) from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) by application of acid-alkali processes compared to traditional prepared Surimi. *Ecopersia.* 2013;1(3):315-27.
- 27- Palafox H, Córdova-Murueta JH, Navarrete Del Toro MA, García-Carreño FL. Protein isolates from jumbo squid (*Dosidicus gigas*) by pH-shift processing. *Process Biochem.* 2009;44(5):584-7.
- 28- Clausen E, Gildberg A, Raa J. Preparation and testing of an autolysate of fish viscera as growth substrate for bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 1985;50(6):1556-7.
- 29- Gildberg, A, Dahl, R, Mikkelsen, H, Nilsen, K. Peptones from Atlantic Cod Stomach as Nitrogen Sources in Growth Media to Marine Bacteria. *J Aquat Food Prod Technol.* 2010;19(2):75-83.
- 30- Dufossé L, De La Broise D, Guérard F. Evaluation of nitrogenous substrates such as peptones from fish: A new method based on Gompertz modeling of microbial growth. *Curr Microbiol.* 2001;42(1):32-8.
- 31- Aspomo SI, Horn SJ, Eijsink VG. Use of hydrolysates from Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera as a complex nitrogen source for lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Lett.* 2005;248(1):65-8.
- 32- Aspomo SI, Horn SJ, Eijsink VGH. Hydrolysates from Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera as components of microbial growth media. *Process Biochem.* 2005;40(12):3714-22.
- 33- Vázquez JA, Docasal SF, Prieto MA, González MA, Murado MA. Growth and metabolic features of lactic acid bacteria in media with hydrolysed fish viscera, an approach to bio-silage of fishing by-products. *Bioresour Technol.* 2008;99(14):6246-57.
- 34- Horn SJ, Aspomo SI, Eijsink VGH. Evaluation of different cod viscera fractions and their seasonal variation used in a growth medium for lactic acid