مجله علوم دانشگاه تهران
جلد بیست و هشتم (۱۳۸۱) شماره ۲ (۲۳۴-۲۲۵)

اثرروغن کوسه‌ماهی چانه‌سفید(*Carcharhinus dussumieri*) بر رشد *Saccharopolyspora erythraea* NUR001 و تولید اریترومایسین

جواد حامدی- فریدون ملک‌زاده
گروه زیست‌شناسی(بخش میکروبیولوژی)، دانشکده علوم، دانشگاه تهران
(دریافت: ۸۰/۱۱/۱۵ ؛ پذیرش:۸۱/٤/٤)

چکیده

اثـر روغـن کبـد کوسـه چانـه سـفید، کوسـه مـاهی غالـب خلـیج فـارس و دریـای‌عمـان (*Carcharhinus dussumieri*)، بر رشد *Saccharopolyspora erythraea* و تولید اریترومایسین درمحـیط کمـپلکس دارای آرد سـویا، دکسـترین و نمـک‌هـای معـدنی بررسـی شـد. طـول دوره فرمانتاسیون۲٦٤ ساعت، دور شیکر ۲٤۰ rpm، درجه حـرارت ۳۰°C و pH اولیـه ۶/۸ بـود. روزانـه مقدار اریترومایسین، بیوماس، pH، سوبستراهای باقیمانده(دکسترین و روغن) درمایع فرمانتاسیون اندازه‌گیری شد. همچنین نوع و فراوانی اسیدهای‌چرب روغن کوسه تعیین گردیـد. نتـایج پـژوهش نشان می‌دهد که تولید اریترومایسین درمحیط دارای روغن کوسه‌ماهی۲/۵۹ برابر بیشتر از محـیط بدون روغن بوده است. همچنین در محیط دارای روغن میزان مصـرف دکسـترین کمتـر از محـیط شاهد بوده است. بین تولید اریترومایسین و تولید بیوماس درمحیط دارای روغـن همراهـی وجـود داشته است. به نظر می‌رسد روغن کبد کوسه ماهی می‌توانـد بـه عنـوان بخشـی از منبـع کـربن و انرژی و احتمالا پیش ساز برای سنتز اریترومایسین در *S. erythraea* عمل کند.

واژه‌های کلیدی: *Saccharopolyspora erythraea*، *کوسه ماهی چانه سفید (Carcharhinus dussumieri)، روغن، اریترومایسین،خلیج فارس.*

مقدمه

منابع کربنی که بسرعت تجزیه می‌شوند در تولید آنتی بیوتیکها اثر منفی دارند و محققین از سالها قبل دریافته اند که برای تولید آنتی‌بیوتیک‌ها بهتراست از منابعی استفاده شود که دیرتر تجزیه شوند، به همین دلیل تولید صنعتی پنی‌سیلین با استفاده از لاکتوز انجام می‌شود که کندتر از گلوکز متابولیزه می‌گردد. روغن‌های گیاهی و جانوری معمولا درمحیط کشت نامحلول هستند و بنابراین می‌توان از آنها به عنوان مانعی در راه مهار کاتابولیک استفاده کرد. در همین رابطه Anderson و همکاران (۱۹۵۹) نشان داده‌اند که روغن خوک مناسب‌ترین محرک تولید پنی‌سیلین است. Vezina و همکاران(۱۹۷۹) برای تولید آنتی‌بیوتیک ماکرولیدی لوکومایسین توسط *Streptoverticillium kitasatoensis* از روغن نهنگ استفاده کرده‌اند. Eiki و همکاران (۱۹۸۹) نقش روغن خوک را در تولید خوزامایسین توسط *Streptomyces narbonensis var. Josamyceticus* بررسی کرده‌اند و نشان داده‌اند که خوزامایسین در محیط حاوی روغن خوک به میزان g/l ۱/ ۲تولید می‌شود ولی در محیط حاوی دکسترین(محیط شاهد) مقدارآن g/l۰/۳ است. همچنین مقالات متعددی در مورد استفاده از روغن‌های گیاهی در تولید آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد

کوسه چانه سفید(*Carcharhinus dussrumieri*) فراوانترین کوسه‌ماهی آبهای خلیج فارس و دریای عمان است و در فصل پائیز در این آبها ۵۷٪ کوسه ماهی‌ها را تشکیل می‌دهد(آفتاب سوار، ۱۳۷۲). روغن کوسه‌ماهی در تولید دارو، صابون، لوازم آرایش، دباغی‌چرم، جوهر نقاشی و پارچه مشمعی به کار می‌رود (Emokpae, *et al.,* 1983). با توجه به فراوانی این نوع ماهی و اهمیت روغن‌ها در تولید اریترومایسین، در این تحقیق‌اثر روغن کوسه ماهی خلیج فارس درتولید اریترومایسین توسط *Saccharopolyspora erythraea* بررسی شده‌است.

مواد و روش‌کار

سویه‌های باکتریایی و محیط‌های کشت: *Saccharopolyspora erythraea* NUR001 سویه مولد اریترومایسین از شرکت شفای‌ساری دریافت و در تولید اریترومایسین مورد استفاده قرار گرفته شده است. برای سنجش میکروبیولوژیک فعالیت آنتی بیوتیک تولید شده از *Micrococcus luteus* ATCC9341 به عنوان سویه حساس استفاده شده‌است.

برای کشت اکتینومایست در محیط جامد از محیط کشت اسپورزای Oat meal agar استفاده شد(Shirling and Gotteleib, 1966). ترکیب محیط پیش‌کشت (seeding) به شرح‌زیر بوده است(g/l): آرد سویا۳۰، گلوکز۱۰، گلیسرول۱۰، دی- آمونیوم هیدروژن فسفات۱، آمونیوم

سولفات۳/۵ و کربنات‌کلسیم۵ و pH محیط کشت با NaOH ٪۲۰ به۰/۱ ±۷/۰ تنظیم شده است برای محیط فرمانتاسیون از محیط کشت دارای ترکیبات زیر استفاده شده(g/l): آرد سویا ۳۵، دکسترین۷۰، آمونیوم سولفات۳، دی‌آمونیوم هیدروژن‌فسفات ۰/۵، کربنات کلسیم۱۲ و روغن کوسه ماهی۵۰ و pH محیط کشت با H_2SO_4 به۱/۰ ± ۶/۸ تنظیم شده‌است.

روغن کبد کوسه‌ماهی(*Carcharhinus dussumieri*) از شرکت شیلات ایران، بندرعباس، ایران تهیه شده است.

شرایط کشت

ابتدا*Saccharopolyspora erythraea* NUR001 درمحیط Oatmeal agarکشت و در۳۰°C تا ۱۰ روز گرماگذاری شد. ازاین‌کشت یک سوسپانسیون‌آبی حاوی$۱۰^{۸}$ -$۱۰^{۷}$ اسپور در هر ml تهیه و۱ ml ازآن درفلاسک‌های ارلن‌مایر با حجم ۱۰۰۰ ml حاوی۱۰۰ ml محیط پیش‌کشت تلقیح و در ۳۰°C به مدت۴۸ ساعت در شیکر دوار با دور ۲۲۰ rpm گرماگذاری شد. برای تولید اریترومایسین ٪۵ از محیط پیش کشت در فلاسک های ارلن مایر ۱۰۰۰ ml دارای ۱۵۰ ml محیط فرمانتاسیون تلقیح و در ۳۰° C به مدت ۲۴۰ ساعت در شیکر دوار با دور ۲۴۰rpm گرماگذاری گردید.

نمونه برداری: روزانه ۵ ml از هر فلاسک برداشت نموده و پس از سنجش pH و بیوماس در۷۰°C- نگهداری شد تا آزمایشهای لازم بموقع بر روی آن انجام شود.

سنجش‌ها

بیوماس: به علت رشد رشته‌ای اکتینومایست‌ها و کدورت محیط کشت، سنجش بیوماس به روش‌های متداول مانند کدورت‌سنجی یا شمارش باکتری‌های زنده در پلیت امکان‌پذیر نبود. از این رو بر اساس روش اصلاح شده Jones و Porter (۱۹۹۸) از نسبت وزن رسوب سلولی به وزن محیط‌کشت به‌عنوان تخمینی‌از رشد میسلیومی استفاده شد. برای این کار نمونه مایع فرمانتاسیون به مدت۲۰ دقیقه در۴۰۰۰rpm سانتریفوژ و درصد وزن رسوب سلولی به وزن مایع فرمانتاسیون محاسبه و به عنوان وزن ترسلولی درارزیابی کشت‌های پیش کشت و فرمانتاسیون استفاده شد.

دکسترین: سنجش دکسترین درنمونه‌ها طبق روش Bensliman و همکاران(۱۹۹۶) انجام شد. رقت‌های لازم از مایع فرمانتاسیون و نیز غلظت‌های ۱۰-۱۰۰ µg/ml از گلوکز بدون آب (Merck) تهیه شد، محلولهای آماده شده فوق با محلول ٪۵ فنل و اسید سولفوریک مجاور و

میزان جذب نمونه‌ها درطول موج۴۹۰ nm به کمک اسپکتروفتومترShimadzu (مدلUV160A ساخت‌ژاپن) اندازه‌گیری گردید. سپس غلظت تام قندها درنمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد حاصل‌از غلظت‌های ذکرشده گلوکز محاسبه گردید. درهر آزمایش یک منحنی استاندارد تهیه و هرآزمایش حداقل سه بار تکرار شد.

اریترومایسین: غلظت اریترومایسین تام طبق روش اصلاح شده Regosz و همکاران(۱۹۸۲) تعیین گردید. برای این‌کار نمونه مایع فرمانتاسیون‌در ۴۰۰۰rpm به مدت۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد تا روغن مصرف نشده، رسوب حاوی میسلیوم و اجزای حل نشده محیط کشت و مایع فرمانتاسیون حاوی اریترومایسین احتمالی از یکدیگر جدا شوند. بخش مایع فرمانتاسیون جدا شد و تا حد لزوم با بافر۰/۲Nکربنات-بی‌کربنات با pH ۹/۶ رقیق گردید. این محلول برای استخراج اریترومایسین با کلروفرم مخلوط شد و به مدت۳۰ دقیقه همزده شد. فاز کلروفرمی‌بدقت جدا شد و با حجم مساوی معرف بروموفنل بلو مخلوط گردید و مجددا۳۰ دقیقه همزده شد (معرف بروموفنل بلو شامل ۱ حجم از محلول با غلظت mg/ml ۴ /۰ بروموفنل بلو در اتانول۲۰٪ و ۴ حجم بافرسیترات – فسفات ۰/۲N با pH ۴/۲ بود). پس‌از جداکردن فاز آبی، جذب‌نوری فاز کلروفرمی به‌کمک اسپکتروفتومتر درطول‌موج ۴۱۵nm سنجیده شد. غلظت اریترومایسین درنمونه‌ها بااستفاده‌از منحنی استاندارد تهیه شده‌از غلظت‌های µg/ml۵۰-۰ اریترومایسین(Sigma)تعیین شد. برای تائید فعالیت بیولوژیک آنتی‌بیوتیک تولید شده، قدرت آنتی‌بیوتیکی مایع فرمانتاسیون بعداز هشت‌روز(حاوی بیشترین غلظت آنتی‌بیوتیک) با استفاده‌از سویه حساس *Micrococcus luteus* ATCC 9341 براساس روش USP24 تعیین گردید. همچنین غلظت اریترومایسینA دراین نمونه‌ها به‌روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا(HPLC) براساس روش Tsuji و همکاران(۱۹۷۸) اندازه‌گیری گردید. برای این‌کار ۲ml از مایع فرمانتاسیون روز هشتم به یک بشر منتقل و pH آن با NaOH N ۰/۱ به ۸/۹ رسانیده شد. محتویات بشر به صورت کمی به یک بالن ژوژه ۲۵۰ml منتقل و با آب مقطر به حجم رسانیده شد. محتویات بالن پس‌از هم‌زدن شدید در۲۰۰۰۰ rpm به‌مدت۲۰ دقیقه سانتریفوژ و مایع‌رویی ازصافیµm۰/۴۵گذرانیده شد. ml ۲۵ از مایع صاف شده با ml ۲۵ هپتان درجهUV دریک قیف جداکننده ریخته و ۵ دقیقه همزده شد. فاز آبی در یک لوله سانتریفوژ جمع‌آوری گردید. فاز آلی دوبار با آب مقطر شسته شد و آب شستشو به فاز آبی قبل اضافه شد. به این فاز ml۱۰ کلروفرم درجه UV افزوده شد و به مدت ۵ دقیقه بشدت به هم‌زده شد. لوله سانتریفوژ ۵ دقیقه در۲۵۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. لایه آبی بدقت جدا شد وml ۵ از فاز کلروفرمی دریک ویال درب‌دار ریخته و در حضور جریان ملایم گاز نیتروژن خشک شد.

۵۰µl از فاز متحرک شامل استونیتریل، متانول، آمونیوم استاتM ۰/۲، آب (۴۵:۱۰:۱۰:۳۵) در pH ۷/۸ بـه نمونـه اضـافه و بـا سونیکاسـیون مخلـوط شـد. ۵۰µl از نمونـه آمـاده شـده بـه دستگاه Knauer HPLC (ساخت آلمان) مجهز بـه دتکتـور UV (مـدل K-2001) و سـتون فـاز معکوسC18 تزریق شد. دمای آون ۴۰°C و طول موج دتکتورnm ۲۰۵ بود.

روغن باقیمانده: برای انـدازه‌گیـری روغـن باقیمانـده درمـایع فرمانتاسـیون ml ۲ از مـایع فرمانتاسیون با ۱۰ml آب مقطر مخلوط و سپس با ۱۰ml نرمال‌هگزان، مجاور و سپس ۵ دقیقه بشدت هم زده‌شد و۳۰ دقیقـه درrpm ۴۰۰۰ سـانتریفوژ گردیـد. لایـه‌رویـی جـدا و در ظـروف کریستالیزور که وزن آنها قبلا با ترازوی با دقت mg ۰/۱ سنجیده شده بود ریخته و تـا رسـیدن به وزن ثابت در۴۰°C نگهداری شد و وزن روغن باقیمانده و ظرف مجددا با تـرازوی فـوق‌انـدازه گیری شد(Junker, *et al.,* 1998).

تعیین نوع و فراوانی اسیدهای‌چرب در روغن کوسه‌ماهی: نوع و فراوانی اسیدهای چرب در روغن کوسه ماهی به روش کروماتوگرافی گـازی انجـام شـد. بـرای ایـن‌کـار اسـیدهای چـرب موجود در روغن پس از صابونی‌کردن با پتاس الکلی جدا شد و مشتق‌های استری این اسیدهای چـرب بـا اسـتفاده از معـرف تولـوئن- متـانول- سـولفوریک اسـید تهیـه گردیـد (Hamilton & Hamilton, 1992). آنـالیز اسـتر اسـیدهای‌چـرب بـا دسـتگاه کروماتوگراف‌گازی Shimadzu (مدلGC-16A ساخت‌ژاپن) انجام شد که به دتکتور یونیزاسیون شعله‌ای و ستون موئین (OV17) به ابعاد 50m×0.25mm تجهیز شده‌بود. درجه‌حـرارت۲۱۰°C و گاز حامل (N_2) با شدت‌جریان۲ml/min بوده‌است. پیک‌های منحنی‌هـا بـا مقایسـه زمانهـای تاخیر استانداردهای اسیدچرب(Sigma) مشخص و شناسایی شد.

نتایج

در این پژوهش اثر روغن‌کبد کوسه چانه سفید(*Carcharhinus dussumieri*) فراوان‌ترین کوسه مـاهی خلـیج فـارس، در تولیـد اریترومایسـین درکشـت‌هـای بسـته *Saccharopolyspora erythraea* NUR001 بررسی شده است. هرآزمایش۳ بـار تکـرار شـده و هرکشت شامل۶ فلاسک،۳ فلاسـک دارای محـیط کشـت روغـن‌دار و۳ فلاسـک شـاهد، دارای محیط‌کشت پایه و بدون روغن بوده‌است. نتایج ارائه شده حاصل میانگین ۹ تکرار پـس‌از آنـالیز واریانس یک طرفه است.

اسیدهای‌چرب روغن کوسه چانه‌سفید: در جدول(۱) اسیدهای‌چرب روغن‌کوسه چانه‌سفید نشان داده شده است. اسیدهای‌چـرب غالـب ایـن روغـن بـه‌ترتیـب فراوانـی عبارتنـداز: اسـید

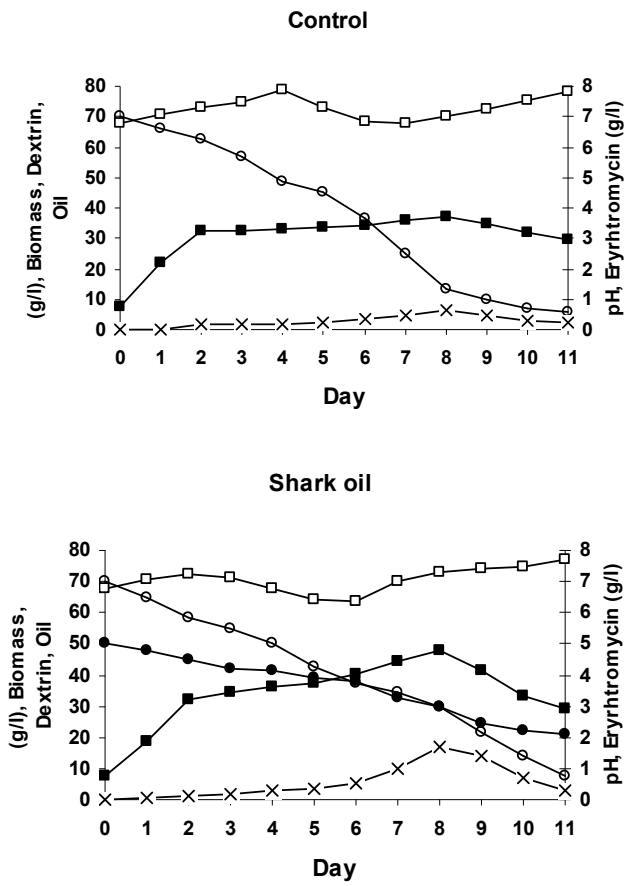
پالمیتیک، اسید لینولئیک، اسید اروسیک، اسید اولئیک، اسید پالمیتواولئیک، اسید استئاریک، اسید آراشیدیک و اسید میریستیک.

جدول۱- نوع اسیدهای‌چرب روغن کوسه‌ماهی و درصد فراوانی هریک نسبت به‌کل اسیدهای‌چرب.

نوع اسید چرب	درصد فراوانی	نوع اسید چرب	درصد فراوانی
اسیدهای چرب اشباع:	**۴۱/۳۱**	**اسیدهای چرب غیراشباع:**	**۳۹/۴۵**
اسید کاپروئیک	۰	اسید پالمیتواولئیک	۱۳/۷۲
اسید کاپریلیک	۰	اسید اولئیک	۰
اسید کاپریک	۰	اسید الائیدیک	۰
اسید آندسیلیک	۰	اسید لینولئیک	۱۸/۱۵
اسید لوریک	۰/۱۸	اسید لینولنیک	۰
اسید میریستیک	۶/۸۴	اسید آراشیدونیک	۷/۵۸
اسید پنتادکانوئیک	۱/۱۵	اسید اروسیک	۰
اسید پالمیتیک	۲۳/۸۹		
اسید مارگاریک	۱/۱		
اسید استئاریک	۷/۶۴		
اسید آراشیدیک	۰/۵۱		
اسید بهنیک	۰		
اسید لیگنوسریک	۰		

تاثیر روغن‌کوسه درتولید اریترومایسین: در شکل۱ تولید اریترومایسین در محیط‌های روغن‌دار و بدون روغن نشان داده شده است. بررسی این نمودارها نشان می‌دهد که در هر دو محیط‌کشت حداکثر تولید اریترومایسین در روز هشتم به دست آمده است، به‌همین دلیل درمقایسه نتایج دو رژیم به‌کار رفته پارامترهای روز هشتم بیشتر مورد توجه قرارگرفته است. همانگونه‌که درشکل(۱) مشاهده می‌شود غلظت اریترومایسین درروز هشتم درمحیط دارای روغن‌کوسه۱/۷۱g/l و درمحیط شاهد ۰/۶۶g/lبوده است، که نشان می‌دهد درمحیط دارای روغن‌کوسه‌ماهی تولید اریترومایسین۲/۵۹ برابر بیشتر از محیط شاهد بوده است.

اثر روغن‌کوسه بر رشد*Saccharopolyspora erythraea* NUR001: همانگونه‌که درشکل (۱) دیده می‌شود افزایش بیوماس در هر دو محیط کشت روغن‌دار و بدون روغن تا روز دوم سریع بوده است و سپس اگرچه سرعت رشد کاهش یافته، ولی افزایش بیوماس ولو با سرعت کم تا روز هشتم ادامه یافته و پس‌از آن احتمالا به علت تجمع متابولیت‌های ثانویه و مواد سمی کاهش یافته است.



شکل۱- اثرات روغن کوسه ماهی بر تولید اریترومایسین توسط *Saccharopolyspora erythraea*NUR001 در محیط شاهد (بدون روغن) و محیط دارای روغن کوسه ماهی. علائم : غلظت اریترومایسین (g/l) ×، غلظت بیوماس (g/l) ■، غلظت دکسترین (g/l) O، غلظت روغن (g/l) ● و مقدار pH □.

مصرف دکسترین: غلظت دکسترین باقیمانده روز هشتم درمحیط روغن‌دار ۲۹/۷۶ g/l و درمحیط شاهد ۱۳/۳۹g/l بوده است، که نشان می‌دهد در محیط روغن‌دار باکتری به علت استفاده از روغن کوسه‌ماهی دکسترین کمتری‌را مصرف کرده است. به نظر می‌رسد باکتری می‌تواند روغن کوسه‌ماهی را به عنوان بخشی از منبع کربن مورد استفاده قرار دهد و ضمناً تمایل بیشتری به تجزیه روغن کوسه‌ماهی نسبت به دکسترین نشان می‌دهد.

اثر روغن کوسه بر pH نهائی محیط‌کشت: محیط‌کشت به کار رفته برای تولید اریترومایسین حاوی کربنات‌کلسیم است که می‌تواند به عنوان بافر عمل کرده و متابولیت‌های اسیدی حاصل از تجزیه کربوهیدرات‌ها را خنثی نماید، ظاهراً به همین دلیل درمحیط کشت کاهش شدیدpH مشاهده نشده‌است. ولی با تولید مواد افزاینده pH، که احتمالا به‌علت تجمع متابولیت‌های حاصل‌از مصرف آرد سویا و آمونیوم است، pH نهایی درهر دو محیط‌کشت افزایش یافته است. در هر صورت، تفاوت pH محیط‌کشت‌های روغن‌دار و بدون روغن در روز هشتم معنی‌دار نیست و در روز هشتم pH محیط‌کشت بدون روغن۷/۲۹ و محیط‌کشت روغن‌دار ۷/۲۲ بوده‌است.

بحث

روغن‌ها با مکانیسم‌های مختلف می‌توانند موجب افزایش تولید آنتی بیوتیک‌ها شوند. به نظر می‌رسد در *S. erythraea* روغن‌ها علاوه بر اینکه با کاهش‌کف موجب افزایش تولید می‌شوند (Pan *et al.,* 1959)، به علت تهیه اسیدهای‌چرب زنجیره‌کوتاه که به عنوان مواد پیش‌ساز در تولید آنتی بیوتیک‌های لاکتونی مورد استفاده قرار می‌گیرند مستقیماً درتولید اریترومایسین نقش دارند. متیل مالونیل کوآنزیم A کربوکسی ترانسفراز در بیوسنتز بخش اریترونولاید مولکول اریترومایسین نقش کلیدی دارد(Hunaiti and Kulattukudi,1982). مقایسه غلظت آنزیم متیل مالونیل کوآنزیم A کربوکسی ترانسفراز درکشت *Streptomyces fradiae* برای تولید آنتی‌بیوتیک ماکرولیدی تایلوزین توسط Choi و همکاران(۱۹۹۸) نشان می‌دهدکه غلظت آنزیم فوق درمحیط دارای روغن‌کلزا ۲/۵ برابر بیشتر از محیط دارای گلوکز و۱/۳ برابر بیشتر از محیط دارای نشاسته است. ضمناً تولید تایلوزین درمحیط روغن‌دار به ترتیب ۲/۵ برابر و ۱/۵ برابر بیش‌از محیط کشت‌های دارای گلوکز و نشاسته بوده است.

درپژوهش کنونی غلظت بیوماس درمحیط روغن‌دار ۱/۲۷ برابر بیشتر از محیط شاهد بوده است. تفاوت دیگری که در دو محیط کشت دیده می‌شود این است که درمحیط کشت بدون روغن الگوی کلاسیک جدایی تولید متابولیت‌های ثانویه از تولید بیوماس بهتر دیده می‌شود، ولی درمحیط دارای روغن کوسه تا حدودی بین تولید اریترومایسین و تولید بیوماس همراهی دیده می‌شود. همراهی یا جدایی تولید متابولیت های ثانویه و بیوماس به شرایط کشت بستگی دارد. McDermott و همکاران (۱۹۹۳) نیز مشاهده کرده‌اند که تولید اریترومایسین درمحیط محدود از نظر نیترات نیز با رشد همراه، ولی درمحیط دارای گلوکز کم یا فسفات کم مستقل از رشد است. همچنین Clarck و همکاران(۱۹۹۵) نشان داده‌اند که تولید اریترومایسین توسط *S. erythraea* درمحیط‌های کشت گلوکز کم یا اکسیژن کم همراه با رشد است.

در این پژوهش برای اولین بار اثرروغن کوسه چانه‌سفید (*Carcharhinus dussumieri*)، فراوان‌ترین کوسه خلیج فارس و دریای عمان، درتولید اریترومایسین بررسی شده است و نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که درمحیط دارای روغن کوسه، تولید اریترومایسین توسط *S. erythraea* NUR001 ۲/۵۹ برابر بیشتر از محیط بدون روغن است. در تحقیق انجام شده توسط Davies و همکاران(۲۰۰۰) درمحیط‌کشت دارای روغن کلزا تولید اریترومایسین تقریباً ۳ برابر بیشتر از محیط کشت بدون روغن بوده است. دراین تحقیق تولید اریترومایسین در دو نوع محیط کشت متفاوت SCM (دارای گلوکز، عصاره مخمر، پپتون، گلیسین و املاح معدنی) و محیط‌کشت OBM (دارای آرد سویا، روغن کلزا، دکسترین و املاح معدنی) انجام شده است. ولی در تحقیق کنونی از یک محیط‌کشت پایه برای بررسی اثر روغن استفاده شده‌است.

نتایج این پژوهش می‌تواند درانجام تحقیقات بیشتر درمورد کارآمدی روغن کوسه‌ماهی (*Carcharinus dussumieri*) در تولید اریترومایسین مفید باشد. درهمین رابطه دراین آزمایشگاه پژوهش‌هایی درمورد مقایسه اثر این روغن با دیگر روغن‌های مهم درصنعت تولید آنتی‌بیوتیک و نیز بررسی اثر روغن کوسه‌ماهی در فرمانتور دردست انجام است.

تقدیر و تشکر

بخشی از هزینه این پژوهش با استفاده از اعتبارات شورای پژوهشی دانشگاه تهران طی‌طرح شماره ۵۱۳/۱/۱۲ تامین شده‌است، که بدینوسیله از مسئولین محترم معاونت پژوهشی دانشگاه تهران و دانشکده علوم قدردانی می‌شود. از مدیرعامل و کارکنان محترم شرکت شفای‌ساری برای همکاری صمیمانه دراین پژوهش و فراهم کردن سویه‌های باکتریایی و امکانات آزمایشگاهی و تأمین بخشی‌از هزینه‌ها و از همکاران محترم شرکت شیلات ایران درتهران و بندرعباس برای تهیه روغن کوسه‌ماهی سپاسگزاری می‌شود.

Reference

Anderson, RF., Törnqvist, E.G.M., and Peterson, W.H. (1956*) Effect of oil in pilot plant fermentation*, Agric. Food Chem., **4(6),** 556-559

Benslimane, C., Lebrihi, A., Lounes,A., Lefebvre, G., and Germain, P., (1995) *Influence of dextrin on the assimilation of yeast extract amino acids in culture of Streptomyces ambofaciens producer of spiramycin*, Enz. Microbial Technol., **17**, 1003-1013

Choi, D.B., Park, Y. and Okabe, M. (1998) *Effects of rapeseed oil on activity of methylmalonyl-CoA caroboxyltransferase in culture of Sreptomyces frediae*, Biosci., Biotechnol., Biochem., **62(5),** 902-906

Clarck, C.J., Langley, D. and Bushell, M.E., (1995) *Oxygen limitation can induce microbial secondary metabolite formation: investigation with miniature electrodes in shaker and bioreactor culture*, Microbiol., **141,** 663-669

Davies, J.L., Baganz, F., Ison. A.P., and Lye, G.J., (2000) *Studies on the interaction of fermentation and microfilteration operations: erythromycin recovery from Saccharopolyspora erythraea fermentation broths* , Biotechnol. Bioeng., **69(4),** 429-439

Eiki, H., Gushima, H., Saito, T., Ishida, H., Oka, Y. and Osono, T., (1988*) Product Inhibition and its removal on josamycin fermentation by Sterptomyces narbonensis var. josamyceticus*, J. Ferment. Technol., **66(5),** 559-565

Emokpae, A.O. and Anekw, G.E., (1983) *Characterization of the non-saponification fraction of the liver lipids of the Charcharhinus tourus by mass-specterometry*, Com. Biochem. Physiol. **74(B),** 661-665.

Hamilton, R.J. and Hamilton, S., (1992) *Lipid Analysis, A Practical Approach* , Oxford University Press, New York,pp 13-64

Hunaiti, A.R. and kolattukudy, P.E., (1982) *Isolation and characterization of an acyl-coenzyme A carboxylase from an erythromycin producing Streptomyces erythreus*, Arch. Biochem Biophys. **216,** 362-371

Jones, A.M. and Porter, M.A., (1998) *Vegetable oils in fermentation: beneficial effects of low-level supplementation*, J. Ind. Microbiol. Biotechnol., **21,** 203-207

Junker, B., Mann, Z., Gialliot, P., Byrne, K. and Wilson, J., (1998) *Use of Soybean oil and Ammonium sulfate additions to optimize secondary metabolite production*, Biotechnol. Bioeng., **60,** 581-588

McDermott, J.F., Lethbridge, G. and Bushell, M.E., (1993) *Estimation of the kinetic constants and elucidation of trends in growth and erythromycin production in batch and continuous cultures of Saccharopolyspora erythraea using curve-fitting techniques*, Enz. Micobial. Technol., **15,** 657-663

Pan, S. C., Bonanna, S., Wagam, G.H., (1959) *Efficient utilization of fatty oils as energy sources in penicillin fermentation*, Appl., Microbiol. **7,** 176-180

Regosz, A., Darbrowska, D., Babile, H. and Nestruk, H., (1982*) Methods of determination of erythromycin I*, Sci. Pharm., **50,** 17-25

Shiring, E.B. and Gotelieb, D., (1966) *Methods for characterization of Streptomyces species*, Int. J. Syst. Bacteriol., **16,** 313-340

The United States Pharmacopoeia (2000) ed. 24, Pharmacopoeial Convention Inc., Rockville

Tsuji, K. and Goetz, J.F., (1978) *High performance liquid chromatographic determination of erythromycin*, J. Chromatogr. **147,** 302-308

Vezina, C., Bolduc, C., Kudelski, A. and Audet, P., (1979) *Biosynthesis of Kitasamycin (leucomycin) analog resistant mutants of Streptomyces Kitasatoensis*, Antimicrob. Agents, Cjemother., **15,** 738-746

آفتاب‌سوار، ی.، (۱۳۷۲) مجله علمی شیلات ایران، جلد۴، شماره۴، ص. ۴۵-۳۳