تأثير مصادر مختلفة من النتروجين على نسبة البروتين الخام في المركز العلفي كوالح الذرة الصفراء

*د.جبار فرحان المعاضيدي، **مصطفى طالب الخطيب،** شيماء رجب فرحان,** هدى فاهم كامل

*كلية مدينة العلم الجامعة /قسم علوم الحياة

**مركز الهندسة الوراثية,قسم الاحياء المجهرية الصناعية

دائرة البحوث الزراعية وتكنولوجيا الغذاء

وزارة العلوم والتكنولوجيا , ص.ب 765

الخلاصة

تمت دراسة تأثير مصادر مختلفة من النتروجين (اليوريا ،احادي فوسفات الأمونيوم(AMP) , سماد فوسفاتي نتروجيني (NP) , يوريا فوسفاتية وكبريتات الامونيوم)على نمو خميرة *Saccharomyces cerevisiae* في وسط يحتوي على كوالح الذرة المعاملة كيميائيا وميكانيكيا والمولاس كمصدر للكاربون باستخدام تقانة التخمر الهوائي لانتاج بروتين احادي الخلية .اظهرت النتائج ان استخدام اليوريا بنسبة 5% والمولاس 4% اعطى اعلى نمو للخميرة أدى إلى زيادة نسبة البروتين الخام من2,4 الى22%في المركز العلفي.جاءت في المرتبة الثانية توليفة (MAP+كبريتات الامونيوم)حيث بلغت نسبة البروتين 17%ثم توليفة(MAP +يوريا) حيث بلغت نسبة البروتين 13.125%.نفذت التجارب في حاضنة هزازة بدرجة حرارة 30°م وPH(5)وتهوية150دورة\دقيقة لمدة 72 ساعة.

Effect of different nitrogen Sources Supplement on the final crude protein Yield from fermented Corn cob.

Jabbar F. Al. maadhidi[*], Mustafa T.Al-Khatib [**]& Shaimaa R. Farhan[**] , Huda Fahim

[*]Dept.of Biol .,Madenat Al elem Univ. College .

[**]Dept.of Appli. Microbiol.,Genetic Engineering Center,M.O.S.T.

Abstract

Defferent nitrogen Sources (Urea,monoammonium phosphate (MAP),Compound Nitrogen Phosphate Fertilizer (NP) ,Ammonium Sulphate (NH4)2SO4 and phosphate urea)were used as supplements for growing yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)on fermentation medium containing 10%crushed,processed corn cob and molasse as carbon source.Results revealed supplementation the medium with5% urea and 4% molasse gave the highest growth yield of yeast and increased the crude protein from2.4%(in the untreated corncob) to 22% after fermentation. The second nitrogen source effect was MAP+ammonium sulfate yealding 17%crude protein, while MAP+Urea yield 13.125%. The experiments were conducted in shaker incubator at 30c^{o},pH5,150rpm for 72hrs.

المقدمة

يعد البروتين الاحادى الخلية من منتجات التكنولوجيا الرائدة والجديدة للصناعة الكيماوية الإحيائية .وجد أن خلايا البكتريا والخميرة والطحالب التى تنتج بكميات كبيرة(Biomass) يمكن استخدامها كمادة غذائية للحيوانات وكذلك للإنسان. كما تعتبر هذه الخلايا مصادر غذائية يمكن تنميتها على فضلات صناعية(industrial wastes) أو نواتج جانبية (by-products) ويكون الناتج محصول كبير من الخلايا الغنية بمحتواها البروتينى يطلق عليها بروتين احادي الخلية. ان لهذة الاحياء المجهرية القابليةعلى تحسين نوعية المواد ذات القيمة الغذائية المنخفضة وتحويلها الى مواد نافعة ذات قيمة غذائية عالية فضلا عن تكاثرها السريع وسهولة تنميتها والتحكم في ضروف انتاجها وتعدد الموادالاولية التي تستخدمها كمصدر للطاقة(١,٢,٣و4). تعود اهمية ذلك البروتين الناتج من خلايا وحيدة الخلية الى محتواها العالي من البروتين و الحصول على بروتينات رخيصة لتغذية الحيوانات، فإن الفضل يرجع أساساً إلى التقدم السريع في علم التقانة الحيوية، لما له من وسائل جديدة لإنتاج هذه البروتينات بصورة اقتصادية رخيصة الثمن، فلقد كانت شركة أى- سي-أى(I.C.I) بالمملكة المتحدة البريطانية أول من أنشأ مصنعاً لإنتاج بروتين يصلح كغذاء للحيوانات، ولقد كان المنتج التجاري يسمى باسم البروطين، معتمداً على تحويل المنتجات الجانبية لصناعة تكرير البترول إلى مصادر بروتينية رخيصة تستخدم لتغذية الحيوانات. لقد حظيت تقنيات إنتاج البروتين وحيد الخلية من مصادر بترولية في الآونة الأخيرة باهتمام بعض الدول العربية، كما قامت منظمة الأقطار العربية المصدرة للبترول بإجراء بعض دراسات الجدوى الاقتصادية التي توضح ضرورة الاهتمام بهذا الجانب من جوانب التقنية الحيوية، وذلك في ضوء الفجوة الغذائية التي يعيشها الوطن العربي بالنسبة للبروتين وتوقعات العجز في المستقبل سواء بالنسبة للحوم البيضاء أو بالنسبة للألبان ومنتجاتها (4). تحتوى الخلايا المجففة لبكتريا*Pseudomonas* النامية على نواتج بترولية على حوالى 69% من وزنها بروتين، كما تحتوى خلايا الخميرة الجافة على حوالى 40-50% من وزنها بروتين بينما تكون النسبة حوالى 20-40% فى حالة الطحالب اخذين بنظر الاعتبار أن البروتينات من تلك الكائنات الدقيقة تحتوى على اغلب الأحماض الأمينية الأساسية essential aminoacids مقارنة بما تحتوية اللحوم،حيث نجد أن اللحوم تحتوى فقط على 20% من وزنها الجاف بروتين بينما يحتوى فول الصويا على حوالى 35% بروتينات من وزنه الجاف. استخدام البروتين الناتج عن خلايا بكتيرية نامية على فضلات هيدروكربونية hydrocarbon wastes فى فرنسا واليابان وتايوان...الخ.وعلى الرغم من هذة الخصائص للبروتين وحيد الخلية كمادة غذائية للحيوان، إلا أن هناك مشكلات تحد من استخدامه على نطاق واسع.نتيجة احتوائة على نسبة عالية من الأحماض النووية قد ينتج عنه بعض الخلل المعوى فى بعض الحيوانات. تختلف القيمة الغذائية لها حسب الوسط المنمى عليه الأحياء الدقيقة وحسب نوع الكائنات الحية الدقيقة المستخدمة . تتراوح نسبة البروتين فيها من 60-70 %بشكل عام , إلا أنه عند مقارنة هذه البروتينات مع بروتين فول الصويا ومصادر البروتين الحيواني تبين انخفاض محتواها من المثيونين والسيستين ,بينما تتفوق في محتواها من اللايسين.كما أن هذه البروتينات مرتفعة في محتواها من فيتامينات Bعدا B12 وكذلك غناها بالأنزيمات .ما يتطلب ضرورة مراعاة محتوى الاحماض الأمينية الأساسية كالمثيونين في حالة الخميرة و الأرجنين والتربتوفان في حال البكتيريا(5) . يهدف هذا البحث الى استخدام بعض النواتج العرضية الزراعية والصناعية (مسحوق عرانيص الذرة الصفراء و المولاس) كمصدر كاربوني لتنمية الخميرة بعد تعزيزه بمصادر نتروجينية مختلفة ودراسة تأثير ذلك على نسبة البروتين الخام المنتج .

المواد و طرائق البحث

الاحياء المجهرية المستخدمة:-

تم استخدام خميرة نوع *Saccharomyces cervisiae* المعزولة من الخميرة التجاريةsanayi.Amasya تركية المنشأ.حضر اللقاح الأبتدائي بتنمية 0,35غم من الخميرة التجارية في الوسط الغذائي المكون من 0,75غم سكر مذاب في 100مل ماء وعدل الاس الهادروجيني الى (5)وحضن بدرجة حرارة 30 ˚م لمدة 24ساعة.

الوسط المستخدم:-

استخدم دورق حجمي 250 مل يحتوي على 10غم كوالح الذرة مطحونة و0,3 غم NaoH(هضم الالياف كيمياويا)و30مل ماء مقطر عقم الخليط بدرجة حرارة 121°م لمدة15دقيقة وترك ليبرد وعدل الاس الهدروجيني الى5. اضيف الى مكونات الدورق 5مل من اللقاح المنشط و 0,5 غم مصدر نتروجيني و0,4غم مصدر السكر(المولاس) واكمل الحجم الى100مل , وضعت الدوارق في الحاضنة الهزازة(Shaking incubator)بسرعة100دورة/دقيقةلمدة72ساعة درجة حرارة30°م لجميع المعاملات. جففت المعاملات بفرن كهربائي عند درجة حرارة 70°م لمدة 24ساعة وتم تقدير النسبة المئوية للنتروجين بطريقة مايكرو كلدالMicrokjeldahlhgjd (6)تم تقدير المحتوى البروتيني من خلال ضرب المحتوى النتروجيني بالمعامل6,25.

المصادر النتروجينية المستخدمة :

استخدمت المصادر النتروجينية الاتية المنتجة من قبل الشركة العامة للفوسفات العراقية

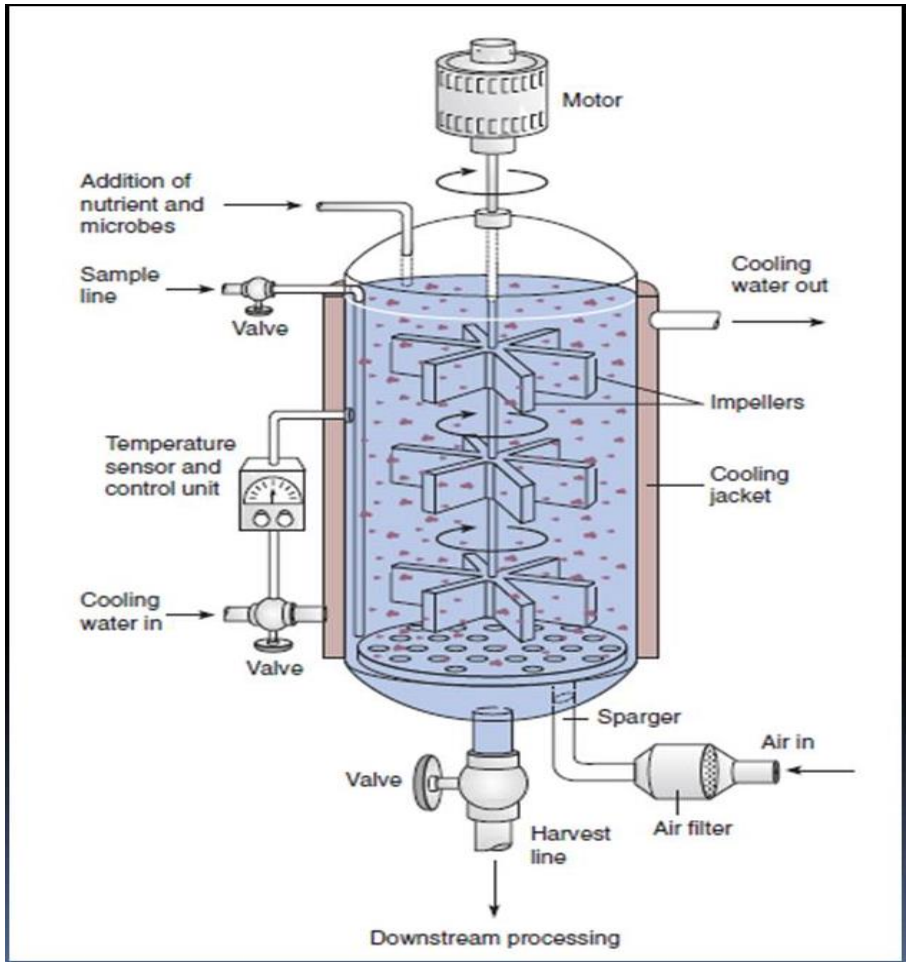
(1)سماد فوسفاتي نتروجيني NP،(2)احادي فوسفات الامونيوم MAP ،(3)كبريتات الامونيوم ،(4) يوريا،(5) يوريا فوسفاتية .

المصدر الكاربوني المستخدم:

استخدم المولاس كمصدر كاربوني (مخلفات تصنيع البنجر السكري,معمل انتاج السكر في الموصل), بين التحليل الكيمياوي له احتوائه على 48%وزن\حجم سكروز و1%رافينوز و1%سكر متحول 10,8%رماد و20,7% مواد عضويةغير سكرية و18%ماء و1,7%نتروجين .

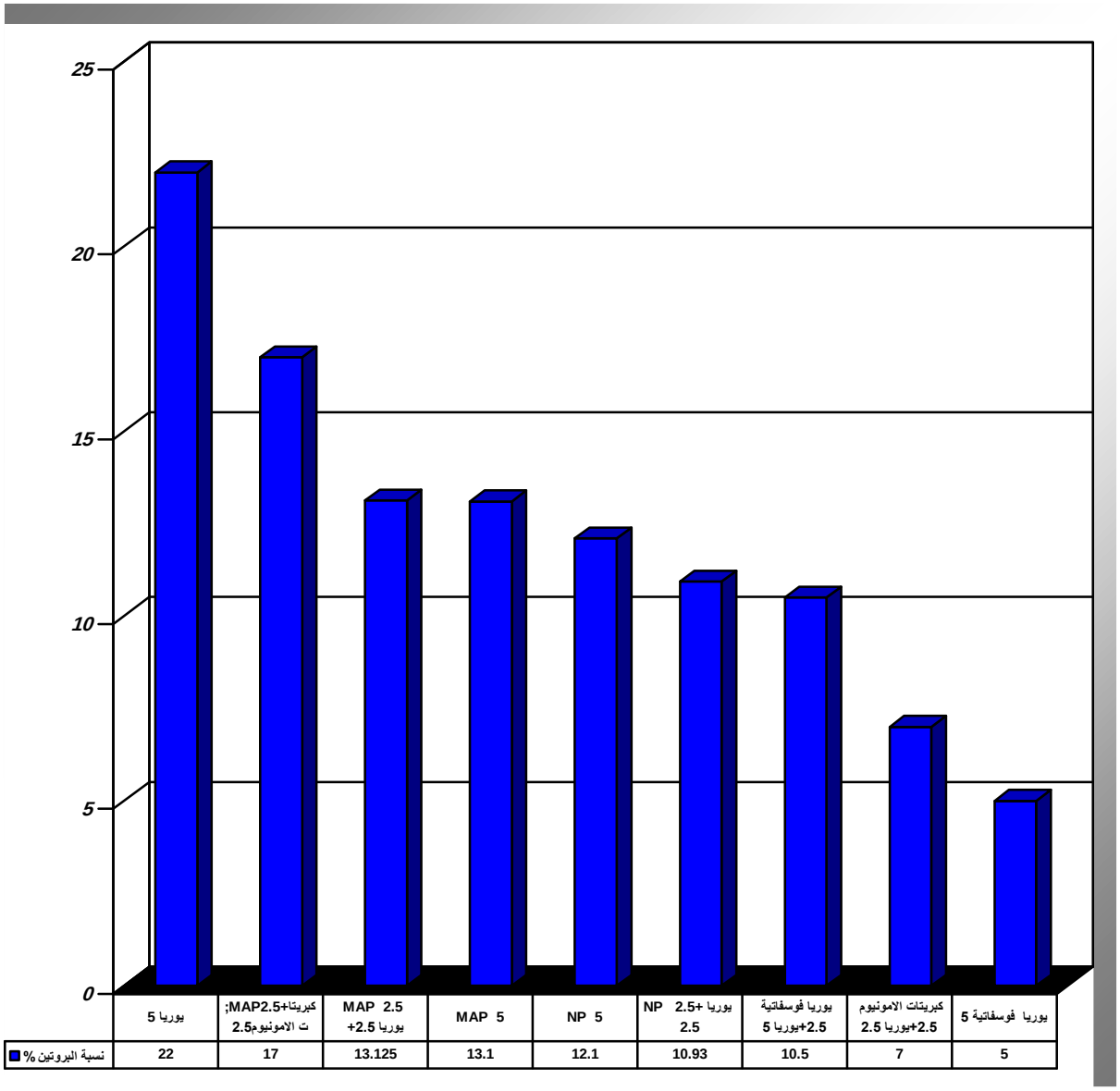
النتائج والمناقشة

لغرض الاستفادة من كوالح الذرة الصفراء الفقيرة في محتواهاالبروتيني والغنية بالمحتوى السليلوزي في تغذية المجترات تم وضع برنامج بحثي لغرض رفع محتواهاالبروتيني باستخدام تقانة التخمر الهوائي ، إذ اعتمدت على العوامل الاساسية –الكاربون –والنتروجين –المؤثرة في نمو الخمائر وانتاج الكتلة الحيوية فقد تمكن (7)من رفع نسبة البروتين في الكوالح المعاملة بهدروكسيد الصوديوم (هضم كيميائي) وتنمية خميرة الخبز (*Saccharomyces cerevisiae*) وادخالها في علائق المجترات.

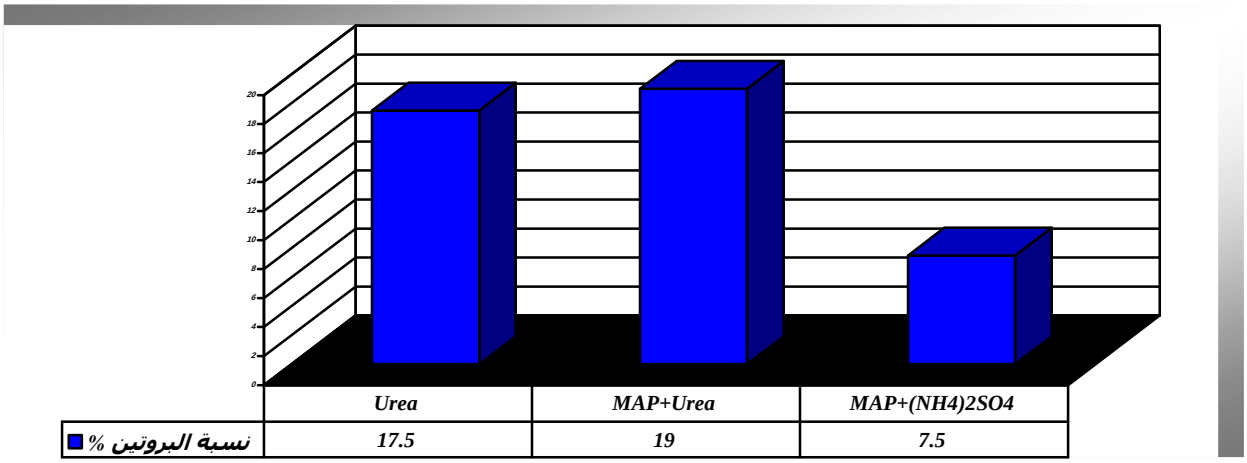


الشكل(1) مخطط المخمر المستخدم لانتاج بروتين احادي الخلية

فقد اشار (8) إن هذا التغير في التركيب الكيميائي والبيولوجي للكوالح ادى الى تحسين بعض مظاهر الاداء وزيادة الوزن الكلي للحملان المغذاة على المركز الميكروبي العلفي .



شكل (2) تأثير مصادر مختلفة من النتروجين الصناعي على زيادة نسبة البروتين الخام في كوالح الذرة المعاملة كيمياويا باستخدام مولاس4%



شكل(3):تأثير مصادر نتروجينيةمختلفة على زيادة نسبة البروتين باستخدام مولاس 2%في كوالح الذرة المعاملة كيمياويا

بينت النتائج المستحصل عليها ان افضل مصدر نتروجيني لنمو الخميرة *(Saccharomyce s cerevisiae)*وانتاج الكتلة الحية هوبتوليفة اليوريا بنسبة 5% مع المولاس بنسبة 4% مما ادى الى زيادة نسبة البروتين في المركز العلفي المتكون من مسحوق كوالح الذرة الصفراء اذ بلغت نسبة البروتين 22%(شكل2) وهي متفقة مع ماتوصل اليه (7). ان استخدام MAP كمصدر نتروجيني بتركيز 2,5غرام/لتر بالاضافة الى نفس التركيزمن كبريتلت الآمونيوم ادى الى تحقيق نسبة زيادة في البروتين بلغت 17%, وفي حالة استخدام MAPبتركيز 2,5غم/لترمع نفس التركيز من اليوريا فقد بلغت نسبة البروتين الخام في الخليط 13,125% ، وكانت ادنى نسبة بروتين قد تحققت عند استخدام اليوريا الفوسفاتية كمصدر نتروجيني حيث بلغت نسبة الزيادة (5%).من خلال ما تقدم فان استخدام اليوريا كمصدر نتروجيني، كان الافضل في الحصول على اعلى زيادة في نسبة البروتين الخام اذ بلغت (22%), وان التقليل من نسبة المولاس في الوسط الزرعي (2%)كمصدر للكاربون ادى الى انخفاض في نسبة البروتين لنفس المصدر النتروجيني (شكل 3), فقد تم الحصول على اعلى نسبة للبروتين (19%)عندما استخدمت اليوريا واحادي فوسفات الامونيوم كمصدر نتروجيني , في حين اليوريا لوحدها قد حققت (17,5%)بروتين في الوسط الزرعي المستخدم وكانت كبريتات الامونيوم مع احادي فوسفات الامونيوم الاضعف في زيادة نسبة البروتين(7,5%) . ان استخدام مصادر اخرى للسكريات من قبل الباحثين مثل بذور التمر بتركيزات مختلفة(6,4,2%) ادت الى زيادة نسبة البروتين (9) , وكذالك عند اضافة بول البعير بنفس النسب لانتاج البروتين احادي الخلية حيث ادت الى زيادة بالكتلة الحية وزيادة البروتين (10). في دراسة اخرى قام بها (11)لأنتاج بروتين احادي الخلية من المشتقات النفطية (الكحول الاثيلي والنفط الابيض وزيت الغاز كمصدر للسكر والطاقة من ارضيات محطات الوقود والمصافي ومراب السيارات)وذالك بتنمية نوعين من الاحياء المجهرية (*Candida sp,Bacillus Sabtilis*). اشارت (12) ان استخدام شرش الجبن (المزال منة البروتين)كوسط زرعي لانتاج بروتين احادي الخلية باستخدام تقنية المزارع المختلطة المتكون من باديء الجبن المتكون من بكتريا(*Streptococcus lactis* + *Streptococcus cremoris* مع الخميرة*Saccharomyces cerevisiace* و *Candidia utilis* • *Aurobasidium pullulans*،وباستخدام المزارع المفردة حيث كانت النتائج تفوق المزرعة المختلطة بانتاج بروتين احادي الخلية على المزرعةالمفردة.ان اهميةانتاج بروتين احادي الخلية تكون في كلفة الانتاج القليلةوذلك لكثرة المادة الخام وامكانية الحصول على ناتج اكبر ،كما ان قيمة البروتين الغذائية عالية الى جانب خلوة من السمية عند تجربتة كغذاء للحيوانات، كما اثبت الباحثين ان البروتين الأحادي الخلية اقل كلفة ويقلل من تلوث البيئة (13و14), وقد قام(15) بتنمية *Aspergillus niger* على الوسط ألتخميري الصلب الذي يحوي على قشور الرز حيث لاحظ إن أفضل مصدر للنتروجين للحصول على أعلى نسبة بروتين باستخدام نترات الصوديوم.

المصادر :

1-Litchfield, J. H., 1992. Single cell protein. J. Encyclo. Microbiol. 4: pp. 11-22.

2- دلالي ،باسل كامل ،1994.بروتينات الخلية الواحدة . مجلة الزراعة والتنمية في الوطن العربي .13(4):15-12.

3- Ben-Hassen,R.M.andGhaly,A.E.1995.continuous production of single cell protein from cheese Whey lactase using Kluyvermyces fragilis. American Society of agricultural Engineers.38(4): pp.1121-1127.

4- قنديل ، صالح عبدالحميد. التقنية الحيوية في حياتنا المعاصرة2007، جامعة الملك سعود ،إدارة النشر العلمي والمطابع .

5- أبو ريشة ، جابر وحماد ،عادل محمود وعبد الحافظ ، عبد الوهاب 2002 . أساسيات الميكروبيو لوجيا الصناعية . دار العربية للنشر والتوزيع .

6- A.O.A.C. 1975. official Methods(10)Assoc.of Ana .Chem. Washington.D.C.

7- المعاضيدي ،جبار فرحان عبد الرزاق (1999).معاملة كوالح الذرة الصفراء بالخمائر لرفع قيمتها الغذائية تقرير موثق ،منظمة الطاقة الذرية العراقية (سابقا).

8-الخزرجي ، عبد الجبار عبد الحميد ؛احمد حسين خطار ؛ محمد طالب ؛جبار فرحان عبدالرزاق المعاضيدي(2009)تأثير إحلال نسب تصاعدية من كوالح الذرة الصفراء المعاملة كيميائيا وميكروبيا محل الشعير في بعض مظاهر الاداء للحملان العواسية .؛ مجلة الزراعة العراقية (عدد خاص)(14)1: 41- 46.

9- قشقيري ،رقية ،محمد(1999): انتاج بروتين وحيد الخلية من التمور بالمملكة العربية السعودية،دراسة اولية ،المجلة المصرية للنبات 39(2)217-209.

10- قشقيري ،رقية ،محمد (2000): بول الابل كمصدر نتروجيني لانتاج البروتين احادي الخلية من التمور بالمملكة العربية السعودية .المؤتمر الدولي الاول للعلوم البيولوجية .جامعة طنطا ، جمهولرية مصر العربية المجلد(1)ص.685-7،695-8مايو.

11- عبد الجبار ،عبد الحميد،رؤوف، شهرزاد،الحلو،جاسم(2008):انتاج البروتين احادي الخلية من المشتقات النفطية. مجلة الهندسة والتكنولوجيا.المجلد(27).

12- التكريتي ،نجلاء طارق حسن،البرهاوي ،رياض خليل(2007):استخدام مزارع مختلطة من البكتريا وفطريات الخميرة لانتاج بروتين الخلية الواحدة والسكريات المتعددة من شرش الجبن. مجلة جامعة الشارقة للعلوم البحتةو التطبيقية الجلد4، العدد 3

13- سميث ،جون ترجمة عبد العزيز ابو زنادة (1987): اساسيات التقنية الا حيائية . عمادة الشؤن المكتبات – جامعة الملك سعود –الرياض – المملكة العربية السعودية.

14- تقشو ،نسرين(2000):اكثار الخمائر العلفية من نوع *Candida utilis* على المولاس والمخلفات النشوية .المؤتمر العربي الثاني للوراثة والتكنولوجيا الحيوية المنيا –جمهورية مصر العربية ،العدد2،ص329-343.

15-Anupam and Pogaku Ravindra. 2001. Studies on production of single cell protein by Vol. 44, N. 1 : pp. 79 - 88, *Aspergillus niger* in Solid State Fermentation of Rice Bran, ISSN 1516-8913 Printed in Brazil .