

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

*د.جبار فرحان المعاضدي، **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 للكربون 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 من 2,4 الى 22% 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 و PH (5) وتهوية 150 دورة/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., Madinat 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 with 5% urea and 4% molasse gave the highest growth yield of yeast and increased the crude protein from 2.4% (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 30°C, pH 5, 150 rpm for 72 hrs.

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 لهذه الاحياء المجهرية القابلة على تحسين نوعية المواد ذات القيمة الغذائية المنخفضة وتحويلها الى مواد نافعة ذات قيمة غذائية عالية فضلا عن تكاثرها السريع وسهولة تنميتها والتحكم في ظروف انتاجها وتعدد المواد الأولية التي تستخدمها كمصدر للطاقة (1, 2, 3, 4). 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 التقنية 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 البروتين، 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 تحتوى 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 هذه الخصائص للبروتين وحيد الخلية كمادة غذائية للحيوان، إلا أن هناك مشكلات تحد من استخدامه على نطاق واسع. نتيجة احتوائه على نسبة عالية من الأحماض النووية قد ينتج عنه بعض الخلل المعوى فى بعض الحيوانات. تختلف القيمة الغذائية لها حسب الوسط النمى 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 B12 و B و كذلك غناها بالأنزيمات. ما يتطلب ضرورة مراعاة محتوى الأحماض الأمينية الأساسية كالمثيونين في حالة الخميرة و الأرجنين والتربتوفان في حال البكتيريا (5). يهدف هذا البحث الى استخدام بعض النواتج العرضية الزراعية والصناعية (مسحوق عرائص 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 cerevisiae* المعزولة من الخميرة التجارية sanayi.Amasya تركية المنشأ. حضر اللقاح الابتدائي بتنمية 0,35غم من الخميرة التجارية في الوسط الغذائي المكون من 0,75غم سكر مزاب في 100مل ماء وعدل الاس الهادروجيني الى (5) وحضن بدرجة حرارة 30 °م لمدة 24 ساعة.

الوسط المستخدم:-

استخدم ورق حجمي 250 مل يحتوي على 10 غم كوالح الذرة مطحونة و 0,3 غم NaOH (هضم الالياف كيمياويا) و 30 مل ماء مقطر عقم الخليط بدرجة حرارة 121°م لمدة 15 دقيقة وترك ليبرد و عدل الاس الهيدروجيني الى 5. اضيف الى مكونات الدورق 5 مل من اللقاح المنشط و 0,5 غم مصدر نيتروجيني و 0,4 غم مصدر السكر (المولاس) و اكمل الحجم الى 100 مل ، وضعت الدورق في الحاضنة الهزازة (Shaking incubator) بسرعة 100 دورة/دقيقة لمدة 72 ساعة درجة حرارة 30°م لجميع المعاملات. جففت المعاملات بفرن كهربائي عند درجة حرارة 70°م لمدة 24 ساعة وتم تقدير النسبة المئوية للنيتروجين بطريقة مايكرو كلدال (Microkjeldahlhgjd) (6) تم تقدير المحتوى البروتيني من خلال ضرب المحتوى النيتروجيني بالمعامل 6,25.

المصادر النيتروجينية المستخدمة :

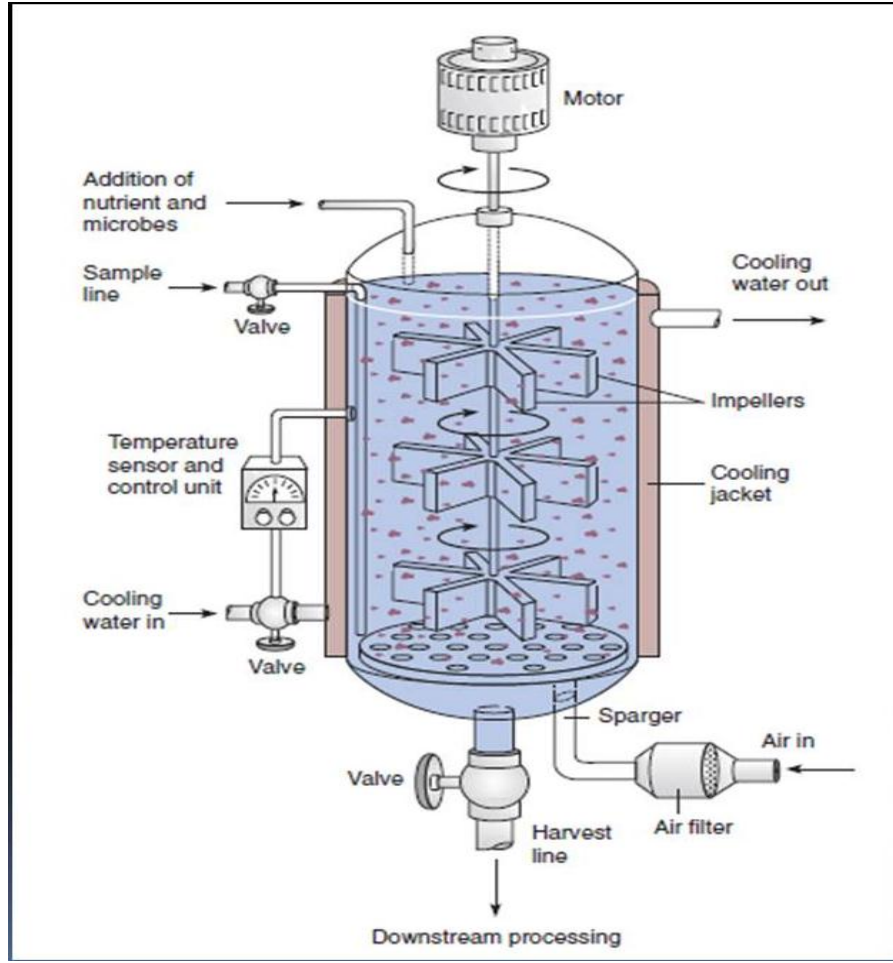
استخدمت المصادر النيتروجينية الاتية المنتجة من قبل الشركة العامة للفوسفات العراقية (1) سماد فوسفاتي نيتروجيني NP، (2) احادي فوسفات الامونيوم MAP ، (3) كبريتات الامونيوم ، (4) يوريا، (5) يوريا فوسفاتية .

المصدر الكربوني المستخدم:

استخدم المولاس كمصدر كربوني (مخلفات تصنيع البنجر السكري، معمل انتاج السكر في الموصل)، بين التحليل الكيماوي له احتوائه على 48% وزن احجم سكروز و 1% رافينوز و 1% سكر متحول 10,8% رماد و 20,7% مواد عضوية غير سكرية و 18% ماء و 1,7% نيتروجين .

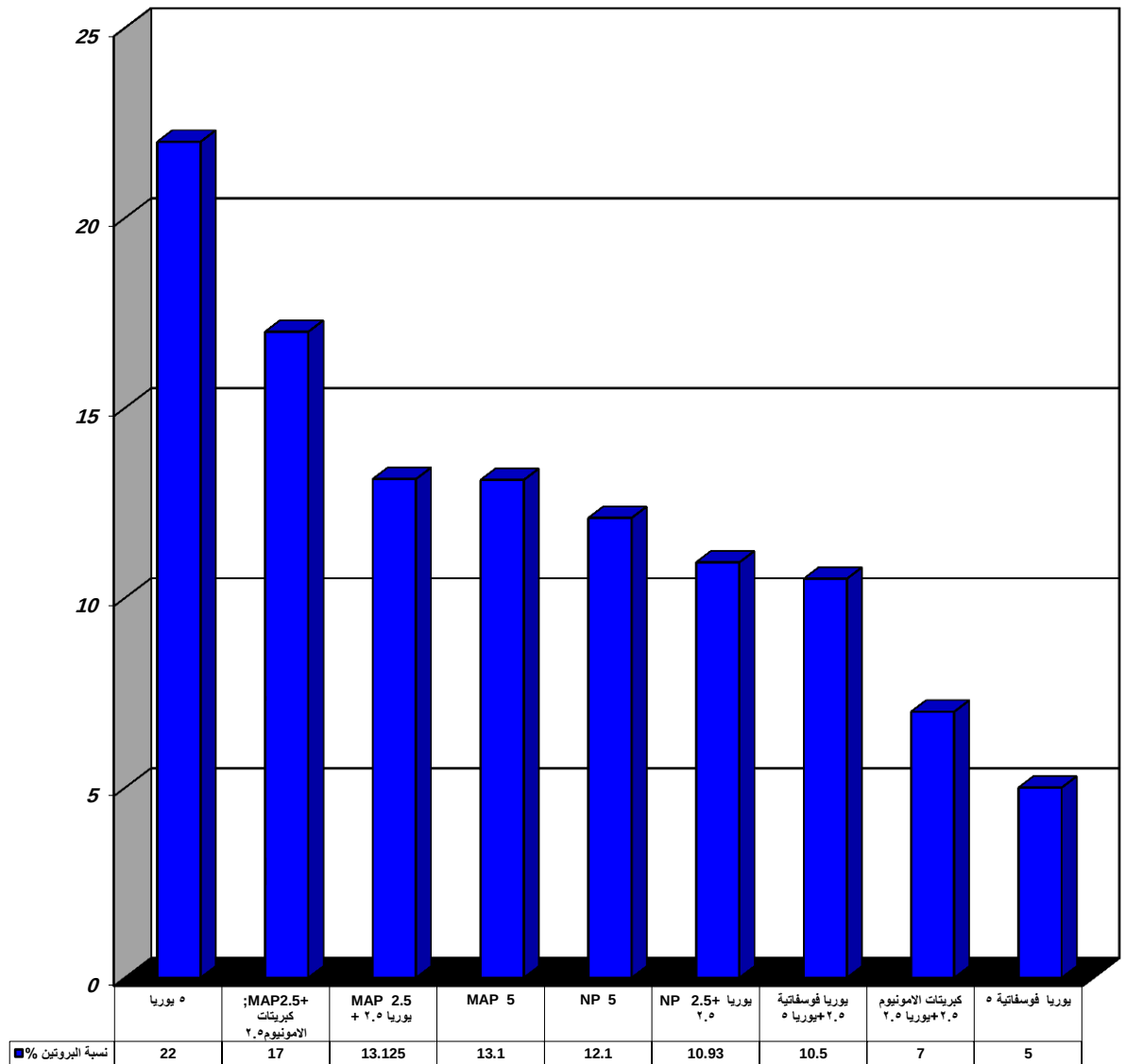
النتائج والمناقشة

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

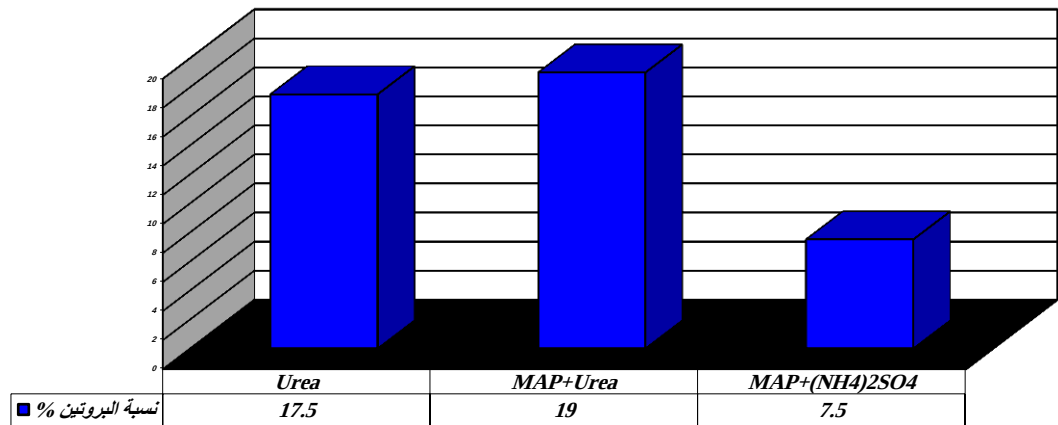


الشكل (1) مخطط المخمر المستخدم لانتاج بروتين احادي الخلية

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



شكل (2) تأثير مصادر مختلفة من النتروجين الصناعي على زيادة نسبة البروتين الخام في كوالح الذرة المعاملة كيميائيا باستخدام مolas 4%



شكل (3): تأثير مصادر نيتروجينية مختلفة على زيادة نسبة البروتين باستخدام مولات 2% في كوالح الذرة المعاملة كيميائياً

بينت النتائج المستحصل عليها ان افضل مصدر نيتروجيني لنمو الخميرة (*Saccharomyce cerevisiae*) هو/نتاج الكتلة الحية هوبتوليفة اليوريا بنسبة 5% مع المولات بنسبة 4% مما ادى الى زيادة نسبة البروتين في المركز العلفي المتكون من مسحوق كوالح الذرة الصفراء اذ بلغت نسبة البروتين 22% (شكل 2) وهي متفقة مع ماتوصل اليه (7). ان استخدام MAP كمصدر نيتروجيني بتركيز 2,5 غرام/لتر بالإضافة الى نفس التركيز من كبريتات الأمونيوم ادى الى تحقيق نسبة زيادة في البروتين بلغت 17%، وفي حالة استخدام MAP بتركيز 2,5 غم/لتر مع نفس التركيز من اليوريا فقد بلغت نسبة البروتين الخام في الخليط 13,125%، وكانت ادنى نسبة بروتين قد تحققت عند استخدام اليوريا الفوسفاتية كمصدر نيتروجيني حيث بلغت نسبة الزيادة (5%). من خلال ما تقدم فان استخدام اليوريا كمصدر نيتروجيني، كان الافضل في الحصول على أعلى زيادة في نسبة البروتين الخام اذ بلغت (22%)، وان التقليل من نسبة المولات في الوسط الزراعي (2%) كمصدر للكربون ادى الى انخفاض في نسبة البروتين لنفس المصدر النيتروجيني (شكل 3)، فقد تم الحصول على أعلى نسبة للبروتين (19%) عندما استخدمت اليوريا واحادي فوسفات الأمونيوم كمصدر نيتروجيني، في حين اليوريا لوحدها قد حققت (17,5%) بروتين في الوسط الزراعي المستخدم وكانت كبريتات الأمونيوم مع احادي فوسفات الأمونيوم الاضعف في زيادة نسبة البروتين (7,5%). ان استخدام مصادر اخرى للسكريات من قبل الباحثين مثل بذور التمر بتركيزات مختلفة (2,4,6%) ادت الى زيادة نسبة البروتين (9)، وكذلك 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) لانتاج بروتين احادي الخلية من المشتقات النفطية (الكحول الايثيلي والنفط الابيض وزيت الغاز كمصدر للسكر والطاقة من ارضيات محطات الوقود والمصافي ومراب السيارات) وذلك بتنمية نوعين من الاحياء المجهرية (*Candida sp*, *Bacillus Sabtilis*). اشارت (12) ان استخدام شرش الجبن (المزال مئة البروتين) كوسط زراعي لانتاج بروتين احادي الخلية باستخدام تقنية المزارع المختلطة المتكون من باديء الجبن المتكون من بكتريا (*Streptococcus lactis + Streptococcus cremoris*) مع الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* و *Aurobasidium pullulans*، وباستخدام المزارع المفردة حيث كانت النتائج تفوق المزرعة المختلطة بانتاج بروتين احادي الخلية على المزرعة المفردة. ان اهمية انتاج بروتين احادي الخلية تكون في كلفة الانتاج القليلة وذلك لكثرة المادة الخام وامكانية الحصول على ناتج اكبر، كما ان قيمة البروتين الغذائية عالية الى جانب خلوه من السمية عند تجربة كغذاء للحيوانات، كما اثبت الباحثين ان البروتين الأحادي الخلية اقل كلفة ويقلل من تلوث البيئة (13 و 14)، وقد قام (15) بتنمية *Aspergillus niger* على الوسط التخثيري الصلب الذي يحوي على قشور الرز حيث لاحظ ان أفضل مصدر للنيتروجين 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):12-15.
- 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 عبد الحميد. التقنية الحيوية في حياتنا المعاصرة 2007، 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- المعاضدي ،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 عبد الرزاق المعاضدي(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): 41- 46.
- 9- قشقيري ،رقية ،محمد(1999): انتاج بروتين وحيد الخلية من التمور بالمملكة العربية السعودية،دراسة اولية ،المجلة المصرية للنبات 39(2)209-217.
- 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 ، جمهورية مصر العربية المجلد(1)ص.685،7-695،8مايو.
- 11- عبد الجبار ،عبد الحميد،رؤوف، شهرزاد،الحو،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 البحتة والتطبيقية المجلد4، العدد 3
- 13- سميث ،جون ترجمة عبد العزيز ابو زنادة (1987): اساسيات التقنية الاحيائية . عمادة الشؤون المكتبات - جامعة الملك سعود -الرياض - المملكة العربية السعودية.
- 14- تقشو ،نسرين(2000):اكتثار 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 *Aspergillus niger* in Solid State Fermentation of Rice Bran, Vol. 44, N. 1 : pp. 79 - 88, ISSN 1516-8913 Printed in Brazil .