إنتاج بروتين أحادي الخلية (SCP) من المخلفات الصناعية بوساطة الفطرAspergillus niger

د.علي عبدالله التميمي* و سهاد عدنان أحمد*

تاريخ التسلم:2009/10/5
تاريخ القبول:2010/1/7

الخلاصه

تم إنتاج بروتين أحادي الخلية (SCP) باستخدام المفاعل الحيوي من الفطر A. niger النامي على المخلفات الورقية حيث بلغت الإنتاجية 9.06 غم/لتر في اليوم الخامس بدون معاملة كيمياوية للمخلفات، وبعد إجراء المعاملات الكيمياوية لوحظ حصول زيادة في إنتاجية البروتين بلغت 18.90 غم/لتر وفي اليوم الثالث من عمليات التخمير أي بزيادة بلغت الضعف مع اختصار فترة عمليات التخمير من اليوم الخامس إلى اليوم الثالث وهذا يعطينا مردودا اقتصادياً إضافياً.

الكلمات المرشدة : المعالجه الاوليه, المخلفات القطنيه, هيدروكسيد الصوديوم

Production of Single Cell Protein From Industrial Waste by Aspergillus Niger

Abstract

Single cell protein (SCP) was yield by using of bioreactor from*A. niger* which is grown on the waste paper. The yields for both cases; in the fifth day was 9.06gm/L regardless chemical treatment and third day was 18.90 with chemical treatment.

المقدمة:

نقص البروتين إحدى المشاكل الأكثر تعقيدا، والتي يجب على رجال الدولة والباحثين على حد سواء إيجاد الحلول البديلة الناجعة وفي أقرب وقت ممكن . الانفجار السكاني في دول العالم الثالث كان سببا مباشرا في تهديد ملايين سكان تلك الدول إلى خطر المجاعة وانتشار الأوبئة والأمراض بسبب النقص الحاد في تناول المادة البروتينية في غذائهم اليومي فعلى سبيل المثال يتناول المواطن في الدول المتطورة في غذائه اليومي 100غم/يوم من المادة البروتينية في غذائه اليومي نصف تلك الكمية هي مادة بروتينية ذات قيمة غذائية عالية، بينما المواطن في دول العالم الثالث يتناول في غذائه اليومي 60 غم/يوم حيث تشكل كمية البروتين من الغذاء اليومي فقط 10 غم/يوم (1) .

لذا زاد اهتمام كثير من الباحثين في إيجاد حلول بديلة لمشكلة النقص الحاد في المادة البروتينية وتوصلوا إلى مصادر متجددة غير مطروقة سابقا للتصنيع البروتيني الداخل في عليقة العلف الحيواني. إن البحث عن مصادر بروتينية جديدة استغرقت أكثر من 30 سنة حتى توصلوا إلى إنتاج بروتين أحادي الخلية Single Cell Protein (SCP) هو المصدر الوحيد الذي سوف يسهم وبشكل كبير في معالجة النقص الحاد في المادة البروتينية (1) .

تطرح الولايات المتحدة الأمريكية سنويا مليار طن من االفضلات، نصف هذه الكمية هي عبارة عن مواد سيللليلوزية يمكن الاستفادة منها مجددا (2). يتوقف نجاح

* قسم العلوم التطبيقية , الجامعة التكنولوجية/ بغداد

https://doi.org/10.30684/etj.28.9.20
2412-0758/University of Technology-Iraq, Baghdad, Iraq
This is an open access article under the CC BY 4.0 license http://creativecommons.org/licenses/by/4.0

عملية استغلال هذه المخلفات على تنمية الأحياء المجهرية ذات القدرة والقابلية العالية على إنتاج المعقد الانزيمي Cellulase، والذي يقوم بمهاجمة السلاسل السيلليلوزية وتهشيم الأواصرالكلايكوسيدية محررا الكلوكوز الذي يعتبر مصدر طاقة ونمو لتلك الأحياء المجهرية (3) .

تمتلك البكتريا والخمائر والفطريات الخيطية على كمية بروتينية عالية حوالي 50% (الوزن الجاف) وكذلك تمتاز هذه الكائنات المجهرية بسرعة كبيرة على إنتاجية البروتين دون الحاجة إلى مساحات شاسعة من الأراضي وعدم تأثير الأحوال المناخية على العملية التصنيعية وكذلك عدم حاجتها إلى الأسمدة الكيمياوية كما هو الحال عند استخدام الطرق التقليدية وهذا ما يدعم الجدوى الأقتصادية لإنتاج بروتين أحادي الخلية (4) .

على الكلوكوز كمصدر ونمو الكتلة الحيوية للفطر*Aspergillus niger* .

المواد **الكيميائية**: تم إذابة هذه المكونات (KH_2PO_4 1gm/l, $(NH_4)_2SO_4$.51gm/l, $MgSO_4$.7H2O, 0.5gm/l, KCl 0.1gm, $CaCl_2.2H_2O$ 0.1gm/l, $FeSO_4.7H_2O$ 0.1gm/l, $CuSO_4.5H_2O$ 0.1gm/l) في كمية مناسبة من الماء المقطر بعدها تم تعديل الأس الهيدروجيني إلى 5 ثم أكمل الحجم إلى 1 لتر من الماء المقطر وعقم بجهاز المؤصدة بدرجة 121°م مدة 15 دقيقة.

المعالجات الكيموفيزيائية للمصادر الكاربونية تمت معالجة المصدر الكاربوني (المخلفات الورقية) تحت ظروف معينة من تراكيز المواد الكيميائية والمعاملة الحرارية بالحمام المائي وكالآتي جدول 1.

انتاج البروتين باستخدام جهاز الـ Bioreactor

تم تصميم جهاز مفاعل حيوي Bioreactor عمودي مختبري من الزجاج حسب (Raimbault and Alazard) (6) وبالأبعاد الموضحة في شكل (1-1) وبظروف تنمية 2غم مصدر كاربوني، 2.5 مل وسط معدني، pH = 4.5 ، مصدر نايتروجيني (فوسفات الأمونيوم الثنائية بتركيز 0.04 غم/مل ، درجة حرارة 50م وحجم لقاح 1 × 107 بحضانة 5 أيام لغرض إنتاج بروتين أحادي الخلية Single Cell Protein (SCP).

قياس بروتين الكتلة الحيوية تُقدر كمية البروتين في الكتلة الحيوية (SCP) بطريقة كلداهل(7)

قياس كمية السليلوز المتبقي ودرجة استهلاك السليلوز تقاس كمية السيلليلوز المتبقي(8) بطريقة الاستخلاص القاعدي الساخن Hot Alkaline-Extraction

قياس معدل الوزن الجاف والنمو الفطري وإنتاجية البروتين.

تم الحصول على الوزن الجاف للكتلة الحيوية بعد استخلاص الراشح الانزيمي منها من خلال غسل الكتلة الحيوية بالماء المقطر وعمل الطرد المركزي على 4000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقيقة للتخلص من السوائل العالقة بها، ثم تجفف الكتلة الحيوية بالفرن لمدة 24 ساعة بدرجة 105°م للحصول على وزن ثابت(9) (وزن حيوي جاف).

أما معدل النمو الفطري = معدل الوزن الجاف – كمية السليلوز المتبقي

بالإضافة إلى أن إنتاجية البروتين = كمية البروتين الحيوي / 100 × الوزن الجاف

النتائج والمناقشه:

لقد أوضحت النتائج أن ذات المعالجة القاعدية المنتجة لفعالية انزيمية عليا، أدت إلى إعطاء كمية عالية البروتين أحادي الخلية 33.28 وإنتاجية 18.90 مقارنة بكمية البروتين وانتاجيته بدون المعاملة 23.60 و 9.06 على التوالي. جدول (1-1).

إن عملية انتاج البروتين يتم السيطرة عليها من خلال اختيار الكائن المجهري الملائم والوسط الملائم للنمو، ففي دراسة لإنتاج SCP بوساطة مزرعة مختلطة لكل من *Trichderma reesei* و Kluyveromyces marxianus منماة على

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

مخلفات البنجر السكري بلغت الإنتاجية 51% ونسبة التحلل للمخلفات كانت 39.4% ولاحظو أيضا عند زيادة تركيز المخلفات في الوسط من 2 إلى 4% وإضافة Yeast extract للوسط أدى إلى زيادة انتاجة البروتين إلى 54% ونسبة التحلل للمخلفات وقد أشار (Raimbault and Alazard)(6) في دراسة أجراها لإنتاج SCP من Aspergillus niger المنمى على مخلفات نبات Cassava باستخدام Bioreactor عمودي إلى كمية البروتين بلغت 10 غم/100 غم مادة أساس وبظروف تنمية pH = 4.5 ودرجة حرارة 35°م ومصدر نايتروجيني كبريتات الأمونيوم ونسبة الترطيب 50% وحجم لقاح 2 × 107 وحضانة 30 ساعة.

وقد أوضحت دراسة أجريت لإنتاج السيلليليز باستخدام مخلفات قصب السكر المعالجة بالأمونيا حيث بلغت أعلى فعالية للإنزيم في اليوم الرابع للحضانة 18.7 وحدة/مل ودرجة استهلاك السيلليلوز 46% ونسبة انتاج البروتين 13% من الفطر Trichoderma. reesie (10)، في حين توصلت دراسة أجريت لإنتاج انزيمات الـ Xylose و Cellulase من الفطر Trichoderma reesie إلى كتلة حيوية بلغت 4.54 كغم/م3 (11).

الحيويه الغنيه بالماده البروتينيه ذو قيمه الغذائيه العاليه والتي تصلح كعلف حيواني سوف تساهم وبشكل كبير في معالجة أحدى المشاكل التي تهدد الحياة على هذا الكون .

المصادر:

[1]Miller, G.T. Jr. (1985). Living in the Environment (4th edition) wadswork publishing Co., Belmont, California.

[2]Nwodo, C.S; Okochi, V.I.; Smith, H.A.; Omidiji, O. (2005). Isolation of cellulolytic microfungi involved in wood-waste decomposition: prospects for enzymatic hydrolysis of cellulosic wastes. Int. J. Med. Health Sci. 1(2):41-51.

[3]Immannel, G.; Bhagarath, A.M.C; Raj,L.P., Esakkiraj P.; Palavesam, A. (2007). Production and Purification of cellulose by *Aspergillus niger* and *Aspergillus fumigatus* fermented in coir waste and saw dust. The Intemet Journal of Microbiology.

[4]Coughlan, M.P. (1985). The properties of fungal and bacterial cellulases with comments on their production and applications. Biotechnol. Genet. Engineering Rev. 3: 39-109.

[5]Nillson, T. (1974). The degredation of cellulose and the production of cellulase. Xylanase.manase and Amylase by wood attacking microfungi. Stud.for suec.

[6]Raimbault, M. and Alazard, D. (1980). Culture method to study in fungal growth in solid fermentation Appl. Microbiol. Biotechnol. 9:199-209.

[7]Harold, V. (1969) Practical

[8]Biochemistry. Fourth Ed, Reprinted and published by vazirani for Arnold Heineman, PVT,LTD New Delhi India,pp.254,472.

[9]Updegraff, D.M. (1969). Semi microdetermination of cellulose biological materiales. Analyt.Biochemistry.32:420-424.

[10]Oshom, E.C. and Ikenebomeh, J. M. (2005). Production of *Aspergillus niger* Biomass from Rice bran. Pakistan Journal of nutrition, 4(1): 32-36.

[11]Liming, X. and Xueliang, S. (2004). High yield cellulase production by *Trichoderma reesei* Zu-02 on corn cob residue. Bioresource Tech. 91:259-262.

Toledo, T.R. and Schafuer, W.D. (2005). Cellulase production in continous culture by *Trichoderma*

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

reesei on xylose-based media, Journal of Biotechnology and Bioengineering, Vol. 39(8):865-869.

جـــدول (1) المعالجـــات الكيموفيزياويـــة للمصـــدر الكـــاربوني (المخلفـــات الورقيـــة)

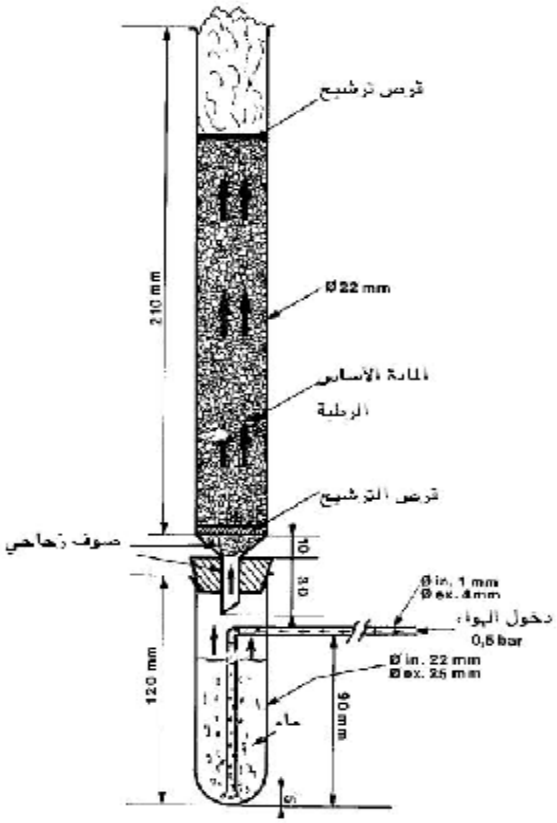
ت	المادة	التركيز المولاري	درجة الحرارة م°	زمن المعاملة(دقيقة)
.1	NaOH	0.02	80	15
.2	NaOH	0.02	80	30
.3	NaOH	0.02	100	15
.4	NaOH	0.10	25	90
.5	NaOH	0.10	100	30
.6	NaOH	0.30	100	15
.7	NaOH	0.50	100	30
.8	H_3PO_4	0.125	100	60
.9	H_3PO_4	0.250	100	60
.10	H_3PO_4	0.500	100	60
.11	HCL	0.05	80	15
.12	HCL	0.250	80	15
.13	HCL	0.500	100	60
.14	HCL	0.750	100	60

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

جدول(2) إنتاج بروتين أحادي الخلية SCP باستخدام المفاعل الحيوي Bioreactor من الفطر *A. niger*

قبل إجراء المعالجات الكيموفيزياوية						بعد إجراء المعالجات الكيموفيزياوية					
مدة عمليات التخمير	الوزن الجاف[غم/لتر]	كمية البروتين الحيوي	إنتاجية البروتين[غم/ لتر]	الزيادة في كمية البروتين الحيوي	كمية السيليلوز[الوزن الجاف%]	درجة استهلاك السيليلوز%	الوزن الجاف[غم/لتر]	كمية البروتين الحيوي	إنتاجية البروتين[غم/لتر]	الزيادة في كمية البروتين الحيوي	كمية السيليلوز[الوزن الجاف%]	درجة استهلاك السيليلوز%
0	20.17	1.10	0.22	.....	80.80	.....	22.47	1.93	----	----	80.80	----
1	22.63	8.61	1.95	7.51	72.13	10.73	37.53	12.60	4.73	10.67	66.17	18.11
2	24.27	12.60	3.10	10.37	63.24	21.73	45.81	20.73	4.50	18.80	50.36	37.67
3	25.93	14.82	3.84	12.59	59.81	24.98	56.73	33.28	18.90	31.35	40.74	49.58
4	27.31	16.71	4.56	14.48	56.78	29.73	50.37	30.36	15.29	28.43	48.16	40.40
5	38.40	23.60	9.06	21.37	48.96	39.41	43.16	25.60	11.10	23.67	50.76	37.18
6	37.66	21.76	8.19	19.53	49.76	38.42	40.13	17.60	7.06	16.50	50.93	37.00

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



شكل (1) مخطط لوحدة المفاعل الحيوي Bioreactor حسب (Raimbault and Alazard, 1980)

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com