

دراسة المحتوى الكيميائي والقيمة البيولوجية لعدد من الاحياء المجهرية

النامية على مصادر كربونية

أ.د حسن خالد العكدي

مجلس البحث العلمي - العراق سابقاً

مدير عام شركة الكرم للمنتوجات الزراعية-حاليا عمان-الاردن

Hassan.alogidi@yahoo.com

الخلاصة:

في هذه الدراسة تم تنمية عدد من الاحياء المجهرية ((خمائر وعفن) على اوساط زرعية مختلفة ((سعف النخيل المعامل، عصير التمر، ميثانول، ايثانول)) وبظروف بيئية ملائمة من درجة حرارة و PH وباستخدام الدوارق الهزازة. اجريت التحاليل الكيميائية والقيمة البيولوجية للكتل الحيوية المنتجة وتبين ان افضل النتائج من ناحية المحتوى البروتيني كانت السلالة *C. utilis* والنامية على الميثانول حيث اعطت نسبة 50% وتليها السلالة *Sacchromyces* sp والنامية على عصير التمر حيث اعطت 48% اما من ناحية القيمة البيولوجية فقد كانت السلالة *Hansunela* sp والنامية على الميثانول فقد اعطت اعلى قيمة 96,37% .

Chemical Study and Biological Value of Some Yeast and Fungus

Cultivated in Various Substrates

H. K. H. Al-Ogaedi

Consul of Scientific Research- IRAQ

General Director of Al Karam Co. for agricultural Products, Jordan

Abstract

In this study, we Cultivated of Some yeast and Fungus in Different Substrate "Date Palm Juice, Leaves, Methanol, Ethanol" in suitable conditions in Shake Flask Fermenter. The Chemical Composition and Biological Value Study for Biomass. The best result in protein content we got from *C. utilis* in Methanol 50% and 48% from *Sacchromyces* sp. In Date Juice, The best result in B.V it gives from *Hansunela* sp cultivated in Methanol 96,37%.

المقدمة

تتسابق دول العالم المتطور صناعياً على إنتاج بروتين الخلية الواحدة باستخدام الأحياء المجهرية النامية على مواد أولية ذات كلفة واطئة لسد حاجتها من البروتين للاستهلاك الحيواني، ولتغطية العجز الحاصل في مصادر البروتين التقليدية.

تقوم جهود مكثفة لتوفير البروتين المطلوب بتربية الكائنات المجهرية الحية على مواد أولية كمخلفات التصنيع الغذائي، المولاس، الشرش، مخلفات صناعة الورق والسليولوز، مخلفات مياه الصرف وبعض المنتجات النفطية والبرافينات والغاز الطبيعي ... الخ روبرتسن (5) هان (6) سنيورت (7).

إن اهتمام العديد من الهيئات والمؤسسات العلمية العالمية والاقليمية بهذا النوع من الانتاج واستخدام الأحياء المجهرية كالكائنات، البكتيريا والأعفان وباستخدام مصادر أولية مختلفة لذا كانت دراستنا هذه لمعرفة كفاءة استهلاك الأحياء المجهرية للمصدر الكربوني وكفاءة تحويله إلى بروتين ودراسة القيمة البايولوجية لهذا البروتين من المصادر المتنوعة والاستفادة من الطاقة الناتجة بأقصى درجاتها مع تعين الوسط الأمثل والظروف المثلى لانتاج الكتلة الحيوية Biomass (13,14,15) ابرنستين (13) مناسه (14) جيرج (15) المواد والطرق :

أولاً: الأحياء المجهرية : تم استخدام الأحياء المجهرية التالية :

Candida tropicalis, candida utilis, Asp.oryzae, Hansonila

والمعزولة والمشخصة والمستخدمه في معاملنا (مختبراتنا) والنامية على البيئات الغذائية المختلفة وبالظروف الملائمة لكل سلالة وباستخدام عصير التمر، ايثانول، ميثانول، سليولوز سعف النخيل المحمص، سليولوز سعف النخيل المعامل بالقاعدة، سليولوز كرب النخيل.

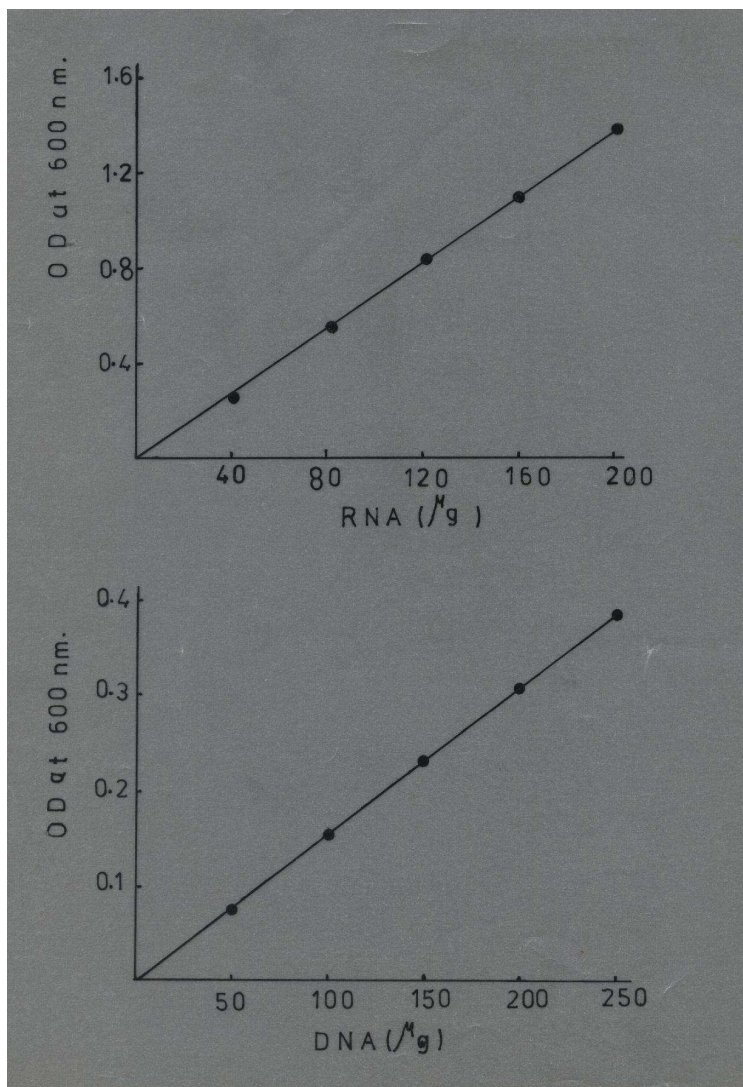
وقد تم استخدام الحاضن الهزاز Shake flask ferm وعند درجة حرارة 28-30م وعند pH 5.5 وحجم لقاحي 5% ح/ح من وسط المخمر وفترة التخمير 72 ساعة وسرعة 15 دورة /دقيقة .

تقدير الرطوبة - تم تقدير الرطوبة بأخذ وزن معين من السلالة وبتلات مكررات وحسب الطريقة الموصوفة في A,O,A,C وذلك بأخذ وزن معين من الكتلة الحيوية في وعاء خاص ثم تنقل إلى الفرن المفرغ وبدرجة حرارة 65م وضغط : 30. ملم زئبق لجنة نبات الوزن.

تقدير البروتين : تم تقدير نسبة البروتين للكتلة الحيوية بعد عملية التخمير بطريقة المايكروكلداهل وتعتمد على حساب N الكلي العضوي في النماذج وقد استخدم المعامل Nx6.25 لحساب البروتين الكلي (A.O.A.C) (8).

تقدير الدهون: تم تقدير نسبة الدهن بجهاز Fosstet الدنماركي الصنع وحسب الطريقة المرفقة مع الجهاز . تقدير الأحماض الأمينية : تم تقدير الأحماض الأمينية باستخدام جهاز محلل الأحماض الأمين Amino acid Anlyzer ماركة Hitachi KIAS ووقف التعليمات المرفقة مع الجهاز .

تقدير الأحماض النووية : تم تقدير كمية DNA بطريقة HUBSCHER -ETAL و RNA بطريقة (10 SCHMEDIE) بحسب المنحنى البياسي وعند 600nm كما هو موضح في شكل (1,2) .



المنحنى القياسي DNA, RNA لتقدير الحوامض النووية في الكتل الحيوية للسلاطات

تحضير اللقاح وتنمية المزارع:

تم تحضير اللقاح السلاطات الخميرية المنمأة على التمور كما هي موصوفة في (العكدي 1 و 12) أما السلاطات النامية على السليلوز كما هي مذكورة في (الكدي 1 و 12) أما تحضير اللقاح وتنمية المزارع بالسلاطات المنمأة في الميثانول كما هي مذكورة في (BaBEL) للايثانول كما هي مذكورة في بند (2) وقد تم ترميز السلاطات كما في جدول (1)

القيمة البايولوجية:

تم تقدير القيمة البايولوجية للكتل الحيوية المنتجة من مختلف الأحياء ومن مختلف (البيئات الغذائية) وحسب معادلة BV لتقييم القيمة البيولوجية لبروتين الأحياء والأعفان والتي تعتمد على كمية ونوعية الأحماض الأمينية

لبروتين بياض البيض مع كمية ونوعية الأحماض الأمينية الضرورية لبروتين كل كتلة حيوية وحسب المعادلة التالية :

$$B.V = \sqrt[8]{\frac{(AX1)(AX2)(AXN)}{(AY1)(AY2)(AYN)}} + 25\left(1 - \frac{CX - CY}{CY}\right)$$

حيث أن:

AX1 = نسبة الحامض الأميني الأساس (1) في النموذج.

AX2 = نسبة الحامض الأميني الأساس (2) في النموذج

AXN = نسبة الحامض الأميني الأساس (N) في النموذج

AY1 = نسبة الحامض الأساسي (1) في بروتين البيض

AY2 = نسبة الحامض الأميني الأساسي (2) في بروتين البيض

AY2 = نسبة الحامض الأميني الأساسي (N) في بروتين البيض

CX = نسبة الحوامض الأمينية الأساسية في النموذج

CY = نسبة الحوامض الأمينية الأساسية في بروتين البيض

النتائج والمناقشة:

من جدول رقم (1) يظهر بأن قيم المكونات الأساسية لأجسام هذه الأحياء المجهرية من النوع *Aspergillus* *Saccharmyecs* sp, *Candida* sp, والنمماة على الأوساط البيئية المثالية لكل كائن مجهري فالكتلة الحيوية للسلالة S.CERVISAE والنامية على عصير التمر تميزت بنسبة البروتين 48.9564 وبنسبة دهن 65% أما محتوياتها من DNA فكانت نسبتها 20.00 ملغم/مل ونسبة RNA 30.00 ملغم/مل.

وأما الكتلة الحيوية للسلالة *Candida tropicalis* والنامية على الوسط البيئية ايثانول فقد تميزت نسبة بروتين 47.42 أعلى من السلالة *S.cervisae* ونسبة الدهن كانت 1.59% وكذلك تميزت هذه السلالة بنسبة RNA، DNA وكانت 37.5 و 21.00% على التوالي.

بينما يشير الجدول رقم (1) إلى أن الكتلة الحيوية للسلالة *C. utilis* والنامية على الايثانول كانت نسبة البروتين في الكتلة الحيوية 50.6972% وهي نسبة جيدة مقارنة بالسلالات الأخرى وكذلك تميزت نسبة الدهن فقد كانت 2.15 أما نسب DNA، RNA فكانت 15.00%-32.00% ملغم/مل على التوالي.

أما العفن *Aspergillus oryzae* والنامي على سعف النخيل المحمض فقد اعطى نسبة بروتين ضعيف جداً 3.4479% ونسبة دهن 89% ونسبة DNA لا تذكر 20.00 RNA ملغم/مل.

جدول رقم (1) يوضح التحليل الكيماوي للكتل الحيوية المنتجة والثابتة على مختلف البيئات

RNAMOL ML	DNA	دهن %	البروتين %	الرطوبة %	الرمز	الوسط البيئي	نوع الكائن
30.00	20.00	0.65	48.9564	4.7785	A	عصير التمر	<i>S.CERVISAE</i>
21.11	37.5	1.59	47.4231	4.4689	B	ايتانول	<i>CANDIDA</i>
32.00	15.00	2.15	50.6972	7.1847	C	ايتانول	<i>C.UTILIS</i>
20.00	0.00	0.84	3.4479	4.7885	D	سعف النخيل المحمص	<i>A.ORYAE</i>
2.00	0.00	1.45	4.1779	0.4587	F	سيليلوز الكرب	<i>C.UTILIS</i>
36.00	30.00	0.82	37.5127	3.7347	G	عصير التمر	<i>C.UTILIS</i>
10.00	0.00	-	5.2875	4.8001	H	سعف النخيل معامل بقاعدة	<i>A.ORYZA</i>
30.00	22.50	-	35.0781	3.2924	I	ايتانول	<i>HONSENULA</i>
24.00	12.50	0.1	41.0694	41.0694	G	ميثانول	<i>HONSENULA</i>

المحتوى المعطى للكتلة الحيوية للأحياء النامية في البيئات الكربونية المختلفة ملغم/غم كائن مجهري جاف

Fe	Mg	Zn	Ca	k	Na	الأحياء
0.112	2.00	0.102	1.91	6.2	0.391	Hans
0.171	7.12	0.131	3.54	8.911	0.782	<i>C.utilis</i>
0.637	6.93	0.726	2.0	15.213	4.821	Ctrap

فقد كانت نسبة البروتين في الكتلة الحيوية 41.52%. أما نسبة الدهن فهي traces أيلا تذكر أما نسب RNA، DNA فقد كانت 15 و 23 ملغم/ مل على التوالي.

وكذلك توضح النتائج إلى أن الكتلة الحيوية للسلاطة *Candida utilis* والنامية على سيليلوز الكرب فهي الأخرى شبيهة بالعفن *A.oryzae* حيث لم يعطي نتائج مشجعة أما السلاطة *C.utilis* والنامية على عصير التمر فقد أعطت نتائج جيدة بنسبة البروتين حيث كانت 37.51% ونسبة دهن 0.82% ونسبة DNA، RNA 36.30 ملغم/مل على التوالي أما السلاطة *A.CRYZAE* والثانية على سعف النخيل والمعامل بقاعدة فلم يعطي نتائج

جيدة بينما أعطت السلالتين من *HANSENULA* والنامية على الايثانول والميثانول نتائج جيدة بنسب البروتين حيث كانت 35.07% و 41.06 على التوالي.

ومن كل هذا يظهر بأن السلالة *C.UTILIS* والنامية على الايثانول والميثانول نتائج جيدة بنسب البروتين حيث كانت 35.07% و 41.06 على التوالي.

ومن كل هذا يظهر بأن السلالة *C.UTILIS* والنامية على الايثانول قد أعطت أعلى النسب في كمية البروتين وتتبعها السلالة *S. CERVISAE* والنامية على عصير التمر.

أما الجدول رقم (2) فيوضح نسب الأحماض الأمينية الأساسية في نماذج بروتينات الأحياء المجهرية العشرة المستخدمة في البحث ويظهر بأن أفضل بروتين هو الأعلى قيمة بايولوجية حيث كانت الكتلة الحيوية للسلالة *HANSENUTA SP* والنامية على الميثانول أفضل بروتين حيث أعطت أعلى قيمة بايولوجية وهي 96.37 وتليها السلالة *HANSENULA* والنامية على الايثانول حيث حصلت على 95.28 وتليها السلالة *TROPICALES CANDIDA* والتي أعطت قيمة بايولوجية 94.12 وعلى العموم فإن القيم البايولوجية لبروتين السلالات الأخرى قد تراوحت ما بين 92.30 و 84.74 وهذه القيمة تعتبر جيدة مقارنة بالقيمة البايولوجية لبياض البيض.

ومن هذا يظهر بأن الأوساط البيئية التي استخدمت في البحث جيدة ما عدا سعف النخيل المعامل بالحامض وكذلك سعف النخيل المعامل بالقاعدة وكذلك بيئة سليلوز الكرب والمعامل بـ 4N HCL ومن كل ما تقدم يمكن القول على السلالات ذات الكتلة الكيوية والقيمة البايولوجية العالية هي السلالات *Hansenela Sp* النامية على الميثانول وتليها *Candida utilis* والنامية على الايثانول *Candida tropicalis* النامية على الايثانول *Saccharomyces* النامية على عصير التمر ذات الكفاءة العالية في استهلاك المصدر الكربوني وتحويله إلى كتلة حيوية وبروتين ، والجدول 2، 3، 4 توضح التحاليل الكيماوية ككتل الحيوية أما القيمة البايولوجية لبروتين السلالات فقد تراوحت ما يتم 92.30 و 84.74 وهذه القيمة تعبير جيدة مقارنة ببياض البيض، ومن هذا يظهر بأن الأوساط البيئية التي استخدمت في البحث جيدة ما عدا سعف النخيل المعامل بالحامض وكذلك سعف النخيل المعامل بالقاعدة وكذلك بيئة سليلوز الكرب والمعامل بـ HCL ومن كل ما تقدم يمكن القول على السلالات ذات الكتلة الحيوية والقيمة البايولوجية العالية هي السلالات ذات الكفاءة التالية في استهلاك المصدر الكربوني وتحويله إلى كتلة حيوية وبروتين.

جدول رقم (5) يوضع نسبة الحوامض الامينية الأساسية في نماذج بروتينات الإحياء المجهرية العشرة المستخدمة في البحث

B. V	مجمع الأحماض الأساسية	ثيرونين	فالين	تريتوفان	فيل النين	ميثونين	لايسين	كلاسين	ايسولوسين	نماذج بروتين الكتل الحيوية
100	51.2	4.30	7.2	1.50	6.3	4.00	7.00	9.20	7.7	بروتين البيض
100	51.2	4.30	7.2	1.50	6.3	4.00	7.00	9.20	7.7	<i>A. oryzae</i> نامي على سعف النخيل معامل بحامض 4NHCL
94.12	43.10	5.67	5.32	3.67	5.12	1.20	7.62	9.00	5.49	<i>Candida utilis</i> نامية على الايثانول
85.47	39.16	3.79	4.55	3.32	4.90	1.56	8.96	7.33	4.76	<i>Candida utilis</i> نامية على الايثانول
58.47	0.00	3.79	4.55	3.32	4.90	1.56	8.96	7.32	4.76	<i>A. oryzae</i> نامية على سعف النخيل المعامل بقاعدة
92.30	35.76	4.39	4.53	2.92	3.75	1.43	7.13	7.06	4.50	<i>Candida utilis</i> نامية على سعف نخيل معامل بحامض
92.30	0.00	4.39	4.53	2.97	3.75	1.43	7.13	7.06	4.50	<i>Candida utilis</i> نامية على السيليلوز الكرب المعامل بـ 4NHCL
84.74	31.74	3.06	3.67	2.28	3.00	1.06	9.14	5.87	3.66	<i>Candida utilis</i> نامية على عصير التمر
95.25	40.05	4.68	6.05	3.24	4.00	1.59	7.57	7.85	5.07	<i>Hanseinula</i> نامية على ايثانول التمر
92.22	38.04	4.14	4.88	2.55	4.57	1.77	8.92	6.24	4.97	<i>Sacehromyces</i> نامية على عصير التمر
96.37	47.28	5.30	6.52	3.75	5.06	1.92	9.85	8.86	6.01	<i>Hanseinula</i> نامية على الميثانول

جدول يوضح نسب الحوامض الأمينية الأساسية للسلاسل المختلفة والنامية على البيئات المختلفة

Theoretically possible growth yields and carbon conversion efficiencies of bacteria and yeast

Substrate	Pathway	Bacteria		Yeasts	
		Y	CCE	Y	CCE
Methanol	HuP:FBP-TK,TA,TK	0.60	75		
	FBP-TK,Ald,TK	0.56	70.8		
	KDPG-TK,TA,TK	0.53	67.1		
	Ser:ICL ⁺ via f-alde	0.48	60.7		
	via f-ate	0.44	55.4		
	RBP	0.41	51.0		
	DHA			0.41	55.2
Methane	HuP:FBP-TK,TA,TK	0.72	44.9	0	0
	KDPG-TK,TA,TK	0.64	40.3		
Glycerol		0.56	67.1	0.57	73
Glucose	EMP	0.52	61.4	0.53	63.4
Ethanol		0.83	75	0.78	75
Acetate		0.41	47.7	0.39	49.2
Hexadecane		1.33	75	1.27	75

Y (g.g⁻¹), CCE (%); "cell molecule"; bacteria C₄H₈O₂N₁, yeasts C₆H₁₀O₃N₁; Y_{ATP} = 10.5; P/O = 2
 For the calculation it was assumed that only 85 % of PGA-carbon is incorporated into the "cell molecule".

1. Al-Ogaidi H.K, S.Kalifa, Production of SCP from various parts of Dates Palm trees using single and mix culture of Candida utilis , Saccharomyces sp.p.p 225-236. J.of Agri. and Water Resources Research. Vol.4.No.1, 1985.
2. Bano I.S. Cellulytic microorganisms and their role in the production of Single Cell Protein from wasts of feed industries (thesis) Biol.Dept, the colloge of Sci., Baghdad.Univ., Iraq. pp.120, 1981.
3. Donovan, P., Woodward, W, Cherry W.R, Morse, F.G. & Herwing, L.O., An assessment of Solar energy as a national energy resource. International Biomass Energy Conference Winnipeg Manitoba May 15-16 In Dunlap, C.E. Products of Single Cell Protein from insoluble Agricultural Wastes by mesophiles, 1975.
4. Srinivasan, M.C. Cellulose-A source of Single Cell Protein production. Chem. Ind. Dev. 11(6): 26-30, 1977.
5. Robertson J.B. The detergent System of fiber analysis .chapt. I in "Topics in dietary fiber " Ed. Gene Spiller & R. Amen plenum Co. London, New York. 1978.
6. Han, Y.W. & Callihan, C.D. Cellulose fermentation effect of substrate pre-treatment on microbial growth. App. Microbiol 27: 159-165. 1974.
7. Stewart, B. & Leatherwood, J.M. Derepressed Synthesis of Cellulose by Cellulomonas, J. Bacteriol. 128(2): 609-615, 1976.
8. A.O.A.C. Official method of analysis. 12th ed. Washington. D.C. 20044. 1975.
9. Hubscher G, West G.R. and Brindley. Studies on the fractionation of Mucosal Homogenates from the small intestine. Biochem. J. 97: 629-642, 1965.
10. Schmeider W.C. Determination of nucleic acids in tissues by pentose analysis in "Methods of Enzymology Vol. 3, 680 Ed. Colowick. S.P; Kaplan, N.O. Academic press, New York. 1957.
11. Standard methods for the Examination of water and waste water. Elsevier publishing Company N.Y. Ed. 14th (APHA-AWWA) 1975.
12. Al-Ogaidi H.K. Production of Single cell protein from Datejuice, Thesis plovdiv. P 35-37, 1977.
13. Braunstein H.M., Paul Kanciruk, R. Dickinson Roop Frances, E. Sharples, etc.. Biomass energy system the Enviroment Perga-N.Y., 1981.
14. Manassah. T. Jamal, Ernest J. Briskey. "Advances in Food producing system from ARID and semiarid Load part A. p267, 1981.
15. Church D.C. Digestire physiology and nutrition of Ruminants. Vol. 3 practical nutrition Second Edition. 1972.
16. Norris J.R. & Ribbons D.W. Methods in Microbiology. Vol-58. 1871.