مجلة الزراعة العراقية مجلد١٠ عدد٢ ص١٦٦-١٧٩ أيلول/٢٠٠٥

تحديد الظروف المثلى لانتاج بروتين وحيد الخلية باستخدام العفن *Trichoderma viride* والعفن *Mucor heimalis* من مخلفات التمور

علي احمد ساهي* غياث حميد مجيد* خالد جاسم الجبوري **

الملخص

استهدفت الدراسة عزل ستة أنواع من الاعفان من مخلفات معامل تصنيع التمور واختير العفن *T. viride* والعفن *M. heimalis* لعدم إنتاجهما السموم . درست العوامل المؤثرة في نمو هذين العفنين حيث وجد ان افضل الظروف لنمو العفن *T. Viride* والـ *M. heimalis* كانت في وسط تنمية يحتوي على المستخلص المائي لمخلفات التمور بتركيزي ٣% و٥% مواد صلبة، على التوالي، وقيم أس هيدروجيني ٣,٥و٤ ودرجة حرارة ٢٥م و٣٠م على التوالي. كما وجد ان افضل مصدر هيدروجيني للعفن *T. viride* هو كبريتات الامونيوم وتركيز ٢%، اما افضل مصدر نتروجيني للعفن *M. heimalis* فكان السماد اللاعضوي NPK وبتركيز ٠,٢ % . كما ثبت ان طريقة المزرعة الهزازة هي الافضل من الساكنة في تنمية العفنين حيث أعطت أعلى أنتاج من البروتين والكتلة الحيوية . كما وجد ان افضل نسبة من الشرش التي حققت نسبة من البروتين والكتلة الحيوية هي ١٥% للعفن *T. viride* و ٥% للعفن *M. heimalis* عند اضافتها للاوساط الزراعية المحلية .

المقدمة

بروتين وحيد الخلية (SCP) Single cell protein تعبير عام عن البروتين الخام او المنقى الذي يستخلص من الاحياء الوحيدة الخلية او المتعددة الخلايا مثل سلالات البكتريا والخمائر والاعفان والطحالب (٤٢) حيث تمتاز هذه الاحياء بسرعة النمو والتكاثر وسهولة التحكم في ظرف انتاجها وتعدد وتنوع المواد الاولية الخام التي تستخدم بوصفها مصادر للكاربون والطاقة (٤١) وقد قسمت هذه المواد الى الهيدروكاربونات السائلة والغازية والميثانول والايثانول و CO_2 والمولاس والشرش والمخلفات الزراعية والصناعية (١٩) وقد ذكر الباحث (٢٩) ان احدى الشركات البريطانية طورت طريقة لاستغلال بكتريا *Methylophius methyotrophus* لانتاج البروتين من الميثانول اطلق عليه Pruteen الذي احتوى (٧٠-٧٢)% بروتين . كما استخدم الباحث (٨)مخلفات صناعة البيرة لإنتاج بروتين وحيد الخلية باستخدام *C. utilis* و *T. reesle* . وأشار الباحث (٩) الى امكانية استخدام البرك القاعدية ومياه المجاري لإنتاج بروتين ذي قيمة اقتصادية لتغذية الحيوانات وهي طرائق اقتصادية لأنها تعتمد على التغذية الذاتية وبعملية التركيب الضوئي . ان المركبات النتروجينية العضوية واللاعضوية تعد ضرورية لهذه الأحياء المجهرية ويمكن استخدام املاح الامونيوم او النترات او اليوريا حسب نوع الكائن الحي (٥). ان كل الاحياء المجهرية لها أس هيدروجيني ودرجة حرارة ملائمة للنمو .وبصورة عامة فان الخمائر والاعفان اكثر مقاومة للحموضة من البكتريا. واكثر انواع البكتريا تنمو في أس هيدروجيني مقارب للتعادل او اكثر الخمائر المستخدمة في عمليات التخمر تنمو بصورة جيدة في

جزء من رسالة دكتوراه للباحث الثالث

* كلية الزراعة –جامعة البصرة –البصرة ،العراق

** كلية الزراعة –جامعة الانبار – الانبار، العراق

تاريخ تسلم البحث:آيار /٢٠٠١

تاريخ قبول البحث:نيسان /٢٠٠٢

أس هيدروجيني (٤-٤,٥) اما الاعفان فتنمو في أس هيدروجيني واسع (١٩) . اما درجة الحرارة فان الخمائر تفضل درجة حرارة ٣٠ مْ لانتاج البروتين والاعفان تفضل (٢٠-٣٠) مْ كمدى مثالي (٢٨، ٤٣) . ان استخدام مخلفات التمور التي وصل انتاجها في العراق الى ٨٦٠ الف طن حسب احصاء وزارة الزراعة عام ١٩٩٧ كمصدر لانتاج بروتين الخلية الواحدة يعد ذا فائدة اقتصادية خاصة وان هذه المخلفات تباع باسعار زهيدة او تبقى في المعامل مما يسبب مشكلة بيئية . وقد استخدمت التمور في انتاج خميرة *C. utilis* (٢٣) وخميرة التوريلا (٣٢) وكان الانتاج مرتفعا كذلك استخدم الشرش وهو الناتج العرضي في صناعة الجبن والذي بلغ انتاجه ٢٠٠ طن عام ١٩٩٠ (٣٦) كمصدر انتاج بروتين وحيد الخلية . وقد درس (٣٨) الظرف المناسبة لانتاج البروتين من *Helminthosporium oryzae* باستخدم الشرش لانتاج اعلى كتلة حيوية . اما المولاس وهو الناتج العرضي لانتاج السكر فقد استخدم ايضاً في انتاج SCP حيث استخدم الباحثون (١٧) خميرة *Saccharomyces uvarum* لانتاج البروتين من مولاس البنجر بوصفه مصدراً كاربونياً وكان انتاج البروتين ٤١,٥% ونظراً لكثرة ما تطرحه معامل تصنيع التمور كمعامل الدبس والخل والسكر السائل وغيرها من المخلفات الثانوية الفائضة عن الحاجة على شكل نوى والياف تحتوي على نسبة عالية من السليلوز وانصاف السليلوز ونسبة بسيطة من الدهون والبروتينات والسكريات التي تلتصق بهذه المخلفات يمكن الاستفادة منها كمصدر لانتاج البروتين الوحيد الخلية . تهدف الدراسة الحالية وهي بشقين الاول هو انتاج البروتين من الاعفان المعزولة محليا من مخلفات التمور والشرش بعد تدعيمها بمصادر نتروجينية وكاربونية ودارسة افضل الظروف لانتاج اعلى نسبة من البروتين والكتلة الحيوية . اما الشق الثاني فستتناوله دراسة لاحقة حول القيمة الغذائية والخواص الكيميائية والفيزيائية (الوظيفية) للبروتين المنتج .

المواد وطرائق البحث

استخدم في البحث مخلفات التمور جمعت من معامل تصنيع التمور في محافظة البصرة (معمل التمور في الهارثة، معمل الخل في ابي الخصيب، معامل التعبئة في العشار) وقد شملت المخلفات تمور تالفة ودبس تالف ومخلفات اخرى و الشرش حصل عليه من معمل البان البصرة وهو من نوع الشرش الانزيمي ثم ركز على درجة حرارة ٦٠مْ الى٢٥ المواد صلبة ذائبة و مصادر النتروجين شملت كبريتات الامونيوم (٢١,٢N%) ، اليوريا (٤٦N%)والسماد اللاعضوي السائل NPK (١٠N%، ٦% P_2O_5 ٨% K_2O) وحصل عليه من الاسواق المحلية .

عزل انواع من الاعفان المحلية:

عزلت عدة انواع من الاعفان المحلية من مخلفات التمور باستخدام طريقة Pelczar و Chan (٣٣) وحفظت المستعمرات النقية في بدرجة حرارة الثلاجة لحين استخدامها وكانت المزارع النقية تنشط مرة واحدة كل شهر طلية مدة البحث. وقد صنفت هذه المزارع الفطرية باستخدام صيغة اللاكتوفينول الزرقاء ومطابقتها مع المصادر (١٥، ٣٠، ٣٥) .

الكشف عن المواد السامة Mycotxins :

تم الكشف عن المواد السامة التي تنتجها الاعفان باستخدام طريقة كروماتاغرافيا الطبقة الرقيقة TLC واستخدم هذا الاختبار كاساس لاختبار الاعفان المستخدمة وحسب طريقة (٢١).

تحضير عصير التمر ومخلفات التمور الجافة :

تم تحضير التمر بخلط المخلفات مع الماء المقطر بنسبة ١:٣ وتسخينها الى درجة حرارة ٨٠ °م لمدة ساعة ثم رشح العصير بقماش الململ بعدها اجريت عملية طرد مركزي بسرعة ٣٠٠٠دورة /دقيقة لمدة ٣٠دقيقة للحصول على

عصير رائق. ركز العصير الى ٢٠%مواد صلبة ذائبة بدرجة حرارة ٨٠م اما النوى والالياف المتبقية فقد جففت وطحنت طحناً ناعماً كلاً على حدة وخلطت بنسبة ١:١ للحصول على مخلفات التمور الجافة

تحضير وسط النمو:

استخدمت دوارق زجاجية سعة ٥٠٠ مل حاوية على ١٠٠ مل من عصير التمر تركيزه ١،٣،٥،٧،١٠ % اغلقت الدوارق الزجاجية بسدادات قطنية وعقمت بالموصدة بدرجة حرارة ١٢١ م لمدة ١٠دقائق وعدل الأس الهيدروجيني الى ٣,٥ باستخدام IN HCL و IN NaOH ثم لقحت بالاعفان المنتخبة كل منها على حدة يأخذ مسحة Ioop مملوء لمرتين من المزارع النقية . استخدمت طريقة المزرعة الساكنة للمقارنة ولدراسة افضل أس هيدروجيني ودرجة حرارة ومصدر نتروجيني فقد استخدمت خمس قيم للأس الهيدروجيني (٣، ٣,٥، ٤، ٤,٥ ، ٥) وخمس قيم لدرجات الحرارة هي (٢٠، ٢٥، ٣٠، ٣٥، ٤٠) اما المصادر النتروجينية فقد استخدمت التراكيز (٠,١، ٠,٢ ، ٠,٣، ٠,٥) بعد تعقيمها بطريقة الترشيح واضيفت بعد التعقيم .

التنمية على مخلفات التمور:

استعملت مخلفات التمور (النوى +الالياف) بنسب (٠,٢٥، ٠,٥، ٠,٧٥، ١,٠، ١,٢٥)%مع عصير التمر تركيز ٣%و٥%وعقمت بدرجة حرارة ١٢١م لمدة ١,٥ دقيقة وعدل الأس الهيدروجيني الى ٣,٥و٤ واضيف المصدر النتروجيني المناسب لكل عفن على حدة ولقحت بالاعفان المنتخبة وحضنت في درجة الحرارة (٢٥م و٣٠م) لمدة ٤ ايام باستخدام طريقة المزرعة المهتزة .

التنمية على عصير التمر ومخلفات التمور والشرش:

استخدم الشرش بتركيز (٥، ١٠ ، ١٥، ٢٠، ٢٥) %مع عصير التمر (تركيز ٣%و ٥%) ومخلفات التمور الجافة (٠,٥%) وعقمت النماذج بالموصدة بدرجة حرارة ١٢١م لمدة ١٥ دقيقة وعدل الأس الهيدروجيني الى ٣,٥و٤ واضيف المصدر النتروجيني المناسب ولقحت بالاعفان المنتخبة وحضنت بدرجة حرارة (٢٥، ٣٠) °م لمدة ٤ ايام باستخدام طريقة المزرعة الهزازة.

استخدم التصميم العشوائي التام لتحليل البيانات (٤) لمعرفة معنوية الفروق للمعاملات المختلفة كذلك مقارنة المتوسطات لتحديد معنوية الفروق بينهما وتعيين متوسط المعاملة الافضل باختيار اقل الفروق المعنوية على مستوى ٠,٠٥.

النتائج والمناقشة

عزلت سلالات الاعفان:

عزلت ستة انواع من العزلات المحلية للاعفان من مخلفات التمور وهي ***Mucor heimalis*** و **Penicillium** و ***Asperigillus flavus*** و ***Asperigillu s niger*** و ***Rizopus SPP*** و ***Trichoderma viride*** وتم فحصها فحصاً خاصاً بانتاج السموم (جدول ١) والذي اتبعت فيه طريقة TLC (كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة) حيث اعطت الاعفان الوانا مختلفة تحت الكاشف المظهر الخاص بكل عفن وتحت الاشعة فوق البنفسجية ما عدا العفن ***T. viride*** والعفن ***M. heimalis*** واللذين اعطيا نتائج سلبية ولم تظهر اية الوان تحت الكواشف المظهرة والاشعة فوق البنفسجية وفي ضوء هذا الفحص اختير هذان العفنان كاساس للدراسة .

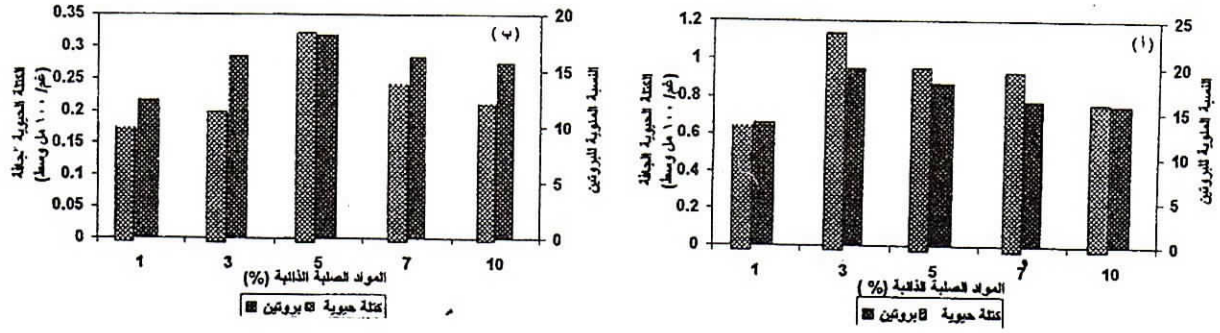
جدول ١: نتائج فحص انتاج السموم من قبل الاعفان المعزولة

اسم العفن	اسم الكاشف		الاشعة UV	
	2.5 DNP	كلوريد الالمنيوم	250nm	366 nm
M . heimalis	–	–	–	–
Penicillum	اصفر	بني	وردي	–
A.niger	بني	اصفر	–	–
Rhizopus spp	برتقالي	بني	–	ازرق
T . viride	–	–	–	–
A.flavus	برتقالي	اصفر	ازرق	ازرق

العوامل المؤثرة في نمو الاعفان :-

تاثير تركيز المصدر الكاربوني:

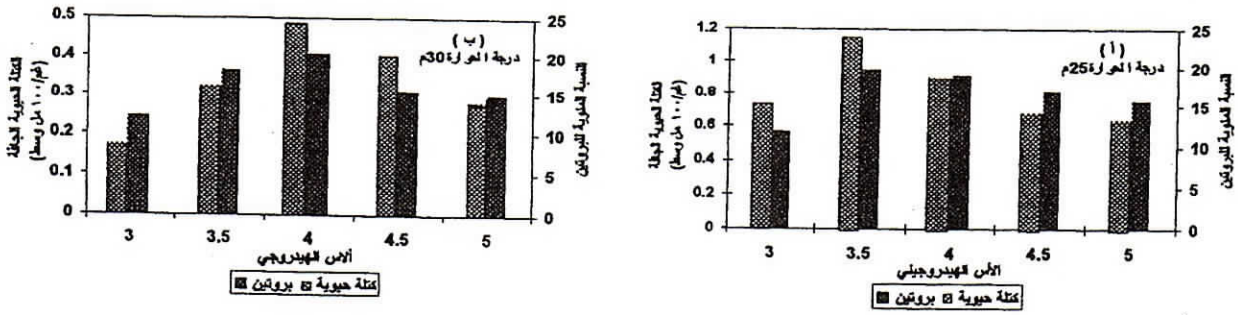
استعمل عصير التمر الذي تم الحصـــول عليه من مخلفات التمور كمصدر كاربوني حيث يلاحظ من الشكل (١) ان العفن *T. viride* اعطى اعلى نسبة من البروتين (١٩,٧٥%) في تركيز ٣% مواد صلبة ذائبة كلية في حـــين انخفض عند التركيز ١٠% مواد صلبة ذائبة بسبب تأثير الضغط التنافذي للوسط مما يؤثر في الفعاليات الحيوية داخـــل العفن (٢٢) . التحليل الاحصائي للقراءات اظهر ان نسبة البروتين عند استخدام التركيز ٣% اعلى معنويا من بـــاقي نسب البروتين ما عدا نسبة البروتين (١٨,١٧%)الناتجة من استخدام التركيز ٥% امـــا بالنسبة للعفن ***M. heimalis*** فقد اعطى اعلى نسبة من البروتين (١٨,٣١%) في تركيز ٥% مواد صلبة ذائبة وهذه النتيجة هي اعلى معنويا مـــن باقي نسب البروتين للتراكيز الاخرى من عصير التمر عدا التركيز ٧% مواد صلبة ذائبة الذي اعطى نســـبة بـــروتين ١٧,٦%. ان النسب اعلاه مطابقة لما ذكره (٢٤) الذي استخدم عصير تمر تركيزه (٤-٥)% مواد صلبة ذائبة كلية (١١) والذي استخدم الدبس بتركيز ٥% مواد صلبة ذائبة في تنمية العفن *A. oryzae* اما الباحثـــان (٧، ٢٣) فقـــد استخدما عصير تمر تركيز١٥ % و٢% مواد صلبة ذائبة على التوالي في تنمية الخمائر. كذلك يوضح لنا الشكل (١) ان العفن *T. viride* و *M.* heimalis اعطيا اعلى كتلة حيوية جافة عند التركيز ٣%و٥% مواد صلبة ذائبـــة علـــى التوالي وكانت ١,١٢ مل وسط ٠,٣٢ غم /١٠٠ مل وسط على التوالي . ويلاحظ من الشكل (١) انه لاتوجد علاقة بالمدى نفسه بين ارتفاع الوزن الجاف ونسبة البروتين وهذا ينسجم مع ما ذكره الباحث (٢٢) بـــان ارتفـــاع تخليـــق البروتينات من العفن لايمثل بالضرورة الناتج من الوزن الجاف للعفن نفسه.



شكل ١: تاثير المواد الصلبة الذائبة من المستخلص المائي لمخلفات التمور في انتاج الكتلة الحيوية ونسبة البروتين للعفـــن *T. viride* (أ) والعفن *M. heimalis* (ب) باستخدام المزرعة الهزازة على أس هيـــدروجيني ٣,٥ ودرجـــة حرارة ٣٠ °م

الأس الهيدروجيني:

يلاحظ من الشكل (٢) ان اعلى نسبة من البروتين للعفن *T. viride* كانت ١٩,٧٥ %عند الأس الهيدروجيني ٣,٥ وهذه القراءة اعلى معنوياً من باقي النسب عدا نسبة البروتين ١٩,٠٣% الناتجة عند أس هيدروجيني ٤. كانت نموات العفن على شكل كتلة كروية في وسط رائق صاف وبعضها اعطت كتلاً متجمعة طافية سهلة الفصل وذات لون بني ورائحة مقبولة . اما العفن *M. heimalis* فان اعلى نسبة من البروتين (٢٠,٢٨%) عند أس هيدروجيني ٤ وهي اعلى معنويا من باقي النسب ولايوجد فرق معنوي بينها وبين الأس الهيدروجيني ٣,٥ الذي اعطى نسبة من البروتين مقدرها ١٨,١٣%وقد كان وسط النمو عكر ذو لون ابيض مزرق مع رائحة واضحة غير مقبولة .هذه القيم من الأس الهيدروجيني مطابقة لما ذكره بعض الباحثين ومنهم (١٨)عند تنمية العفن *T. harzianum* في وسط مخلفات معامل القهوة ومطابقة لما ذكره الباحثان (٣٤) الذان استخدما *Asperillus fumigatus* وسط يحتوي على الكازافا ومطابقة لما ذكره (٢٦)عند تنمية العفن *A. niger* وعلى مخلفات صناعة البذور ومطابقة مع ما ذكره احد الباحثين (١٠) على ان العفن *M. heimalis* فضل الأس الهيدروجيني (٤) في نموه وهذا يوضح بان اغلب الاعفان تفضل ظروف حامضية (١٩) وان هذه القيم من الأس الهيدروجيني (٣,٥و٤) تمنع نمو البكتريا الملوثة. اعلى كتلة حيوية جافة كانت ١,١٢غم/١٠٠ مل وسط بالنسبة للعفن *T. viride* و٠,٤٧غم/١٠٠مل وسط العفن *M. heimalis* وعند أس هيدروجيني ٣,٤ و ٤ على التوالي.

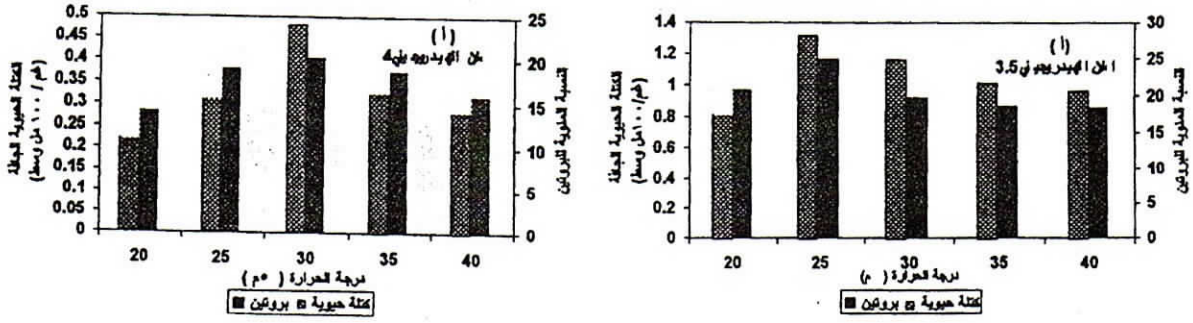


شكل ٢: تأثير الأس الهيدروجيني في انتاج الكتلة الحيوية الجافة ونسبة البروتين للعفن *T.viride* و(أ) العفن *M. heimalis* (ب) باستخدام المزرعة الهزازة في وسط المستخلص المائي لمخلفات التمور.

درجة الحرارة:

يوضح الشكل (٣) ارتفاع نسبة البروتين (٢٤,٩٤%)للعفن *T . viride* عند درجة ٢٥ °م وعند تحليل القيم احصائيا وجد ان هذه النسبة اعلىمعنوياً على مستوى (٠,٠٥%) عن باقي النسب اما العفن *M . heimalis* فقد حقق اعلى نسبة بروتين (٢٠,٢٨%) عند درجة ٣٠م وهي اعلى معنويا من باقي النسب ولكن لايوجد فرق معنوي بينها وبين درجة حرارة ٢٥مالتي اعطيت نسبة بروتين (١٩,٠١%) وان هذا المدى من الحرارة يعد مثالياً للاعفان كما اوضح ذلك الباحث (١٩) بان اغلب الاعفان تنمو وبصورة جيدة بدرجة حرارةما بين ٢٥م الى ٣٠ °م وهي مطابقة لما ذكره (٢٧) اللذان استخدما *Scytalidium acidophilum* في وسط يحتوي على المخلفات الزراعية

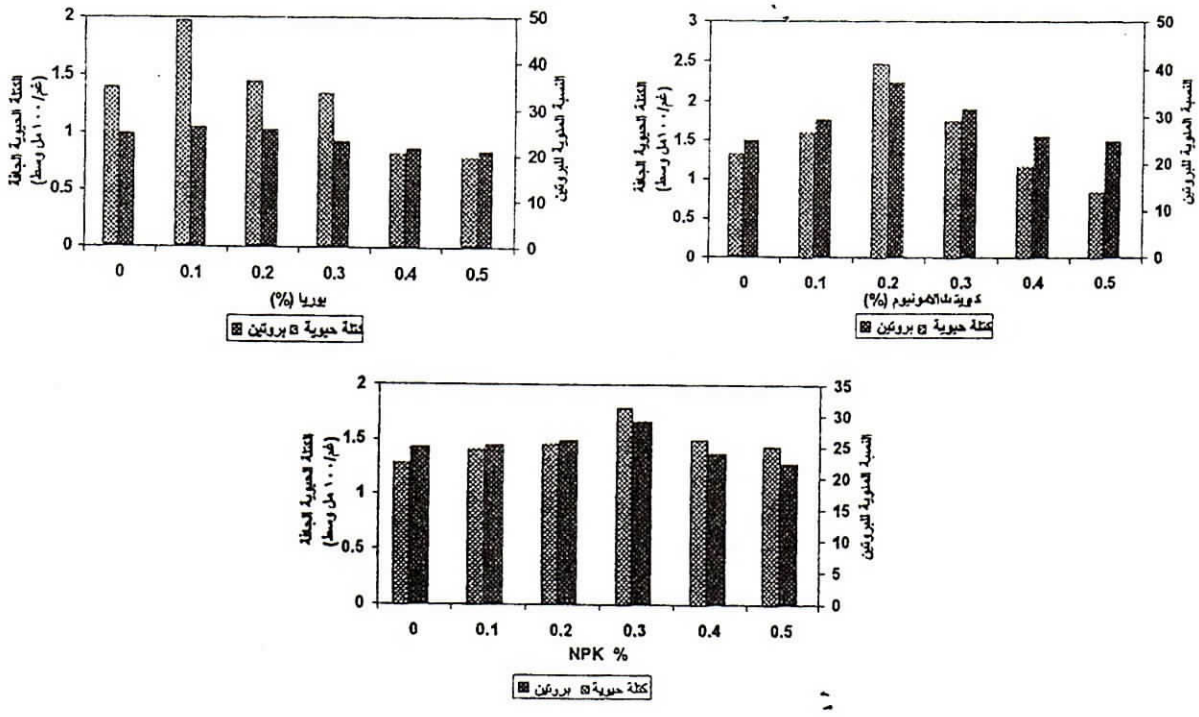
وبـــــدرجة حـــرارة ٢٥م ومطابقـــة لـــــما أوضـــحه (٣٨) الـــــذي درس الظـــروف الملائمـــة لنمـــو العفـــن *Helminthosporium oryzae* باستخدام الشرش وبدرجة حرارة ٣٠ °م. اعلى كتلة حيوية جافة حصل عليهـــا مـــن العفن *T.* viride والعفن *M. heimalis* كانت ١,٢٧غم /١٠٠مل وسط ٠,٤٧ غم /١٠٠م وسط وعنـــد درجـــة حرارة ٢٥م وعلى التوالي.



شكل ٣ : تاثير درجة الحرارة في انتاج الكتلة الحيوية الجافة ونسبة الـــبروتين *T. viride* (أ)والعفـــن *M . heimalis* (ب) باستخدام المزرعة الهزازة في وسط المستخلص المائي لمخلفات التمور

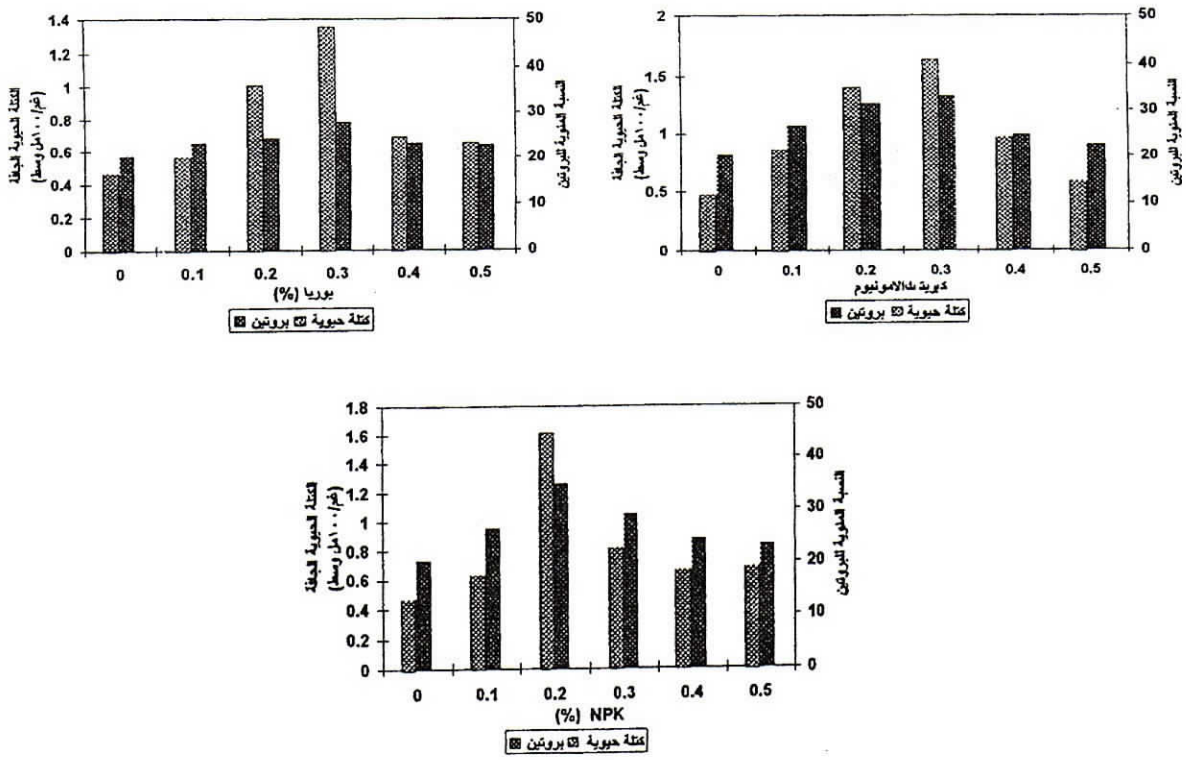
المصدر النتروجيني :

يوضح الشكل (٤) ارتفاع نسبة البروتين للعفن *T. viride* حيث كانت ٣٧,٢٤% وعند تركيز ٠,٢ % كبريتات الامونيوم. ان زيادة تركيز كبريتات الامونيوم تؤدي الى زيادة ايـــون SO_4 الـــذي يســـبب انخفـــاض الأس الهيدروجيني الى حد يؤثر في الفعاليات الحيوية ونسبة البروتين (٣٤) وعند استخدام اليوريا في تنمية العفـــن وجـــد ان اعلى نسبة بروتين كانت ٢٦,٢١% عند تركيز ٠,١% يوريا وهذه النسبة اعلى معنوياً من باقي النسب مـــا عـــدا النسبة ٠,٢% التي حققت نسبة بروتين بمقدار ٢٥,٨١ % ويلاحظ ان زيادة تركيز اليوريا تؤدي الى تأثير سمـــي في الاعفان بسبب تراكم ايوان NH4 المتحرر من تحلل اليوريا بواسطة انزيم Urease المفرز مـــن العفـــن (٣٩) وعنـــد استخدام NPK فان اعلى نسبة من البروتين كانت ٢٩,١١% عند تركيز ٠,٣ % NPK للعفن *T. viride* وهـــذه *النسبة* اعلى معنوياً من باقي النسب . ويظهر ان اضافة هذه الاملاح NPK ليست لها تأثير ايجابي في نمو العفن مقارنـــة بكبريتات الامونيوم لان ذلك قد يعتمد على الفعالية الحيوية للعفن وهذا يؤكد ماذكره باحثون (١٢) عند اســـتخدامه هذه الاملاح في تنمية خميرة *C. utilis* وفي ضوء هذه النتائج والموضحة في الشكل (٤) نجد ان كبريتـــات الامونيـــوم حققت اعلى نسبة من البروتين للعفن *T. viride* وعند تركيز ٠,٢% وهي نسبة مطابقة لما ذكره (١١) الذي استخدم العفن *A. oryzae* في وسط تنمية يحتوي على الدبس والشرش ومطابقة لما ذكره (١) الذي استعمل الدبس والشـــرش لانتاج البروتين باستخدام خميرة *K. fraglis* وهي اقل مما ذكره (٧) الذي استخدم (٠,٦)% كبريتات الامونيوم مـــع ٠,٣١ % فوسفات الامونيوم في وسط يحتوي على عصير التمر لانتاج البروتين من الخميرة واعلى ممـــا ذكـــره (٢٤) الذي استخدم ٠,١% كبريتات الامونيوم في وسط يحتوي على عصير التمر.



شكل ٤: تأثير المصدر النيتروجيني في انتاج الكتلة الجافة ونسبة البروتين للعفن *T. viride* باستخدام المزرعة الهـــزازة في وسط المستخلص المائي لمخلفات التمور وأس هيدروجيني ٣,٥ ودرجة حرارة٢٥°م

اما بالنسبة للعفن *M. heimalis* وعند استخدام كبريتات الامونيوم (شكل ٥) فان اعلى نسبة من البروتين كانـــت ٣٢,٨٦% عند تركيز ٠,٣% من كبريتات الامونيوم ولم توجد فروق معنوية مع باقي النسب عنـــد تحليـــل القـــيم احصائياً وعند استخدام اليوريا في وسط التنمية فان اعلى نسبة من البروتين كانت ٢٧,٨٥% تحققت عنـــد تركيـــز ٠,٣% يوريا ولم توجد فروق معنوية بين هذه النسب عند تحليل القيم احصائياً . وعنـــد اســـتخدام NPK كمصـــدر نتروجيني في وسط التنمية فان اعلى نسبة من البروتين تحققت لهذا العفن كانت ٣٤,٩٢% وعنـــد تركيـــز ٠,٢% NPK وكانت هذه النسبة اعلى معنوياً من بـــاقي النسب وللتراكيز المختلفة . وهذه النتيجة متفقة مع ما توصل اليهـــا باحثون (٢، ٣، ٦) حيث اكدوا ان افضل مصدر نتروجيني لنمو الخمائر والاعفان هو فوسفات الامونيوم لانـــه يعـــد مصدراً للنتروجين والفسفور . وفي ضوء النتائج الموضحة في شكل (٥) اختير NPK كمصدر للنتـــروجين للعفـــن *M. heimalis* لانه اعطى اعلى نسبة من البروتين (٣٤,٩٢%) عند تركيـــز ٠,٢% NPK . يظهـــر ان العفـــن *M. heimalis* قد استفاد من NPK كمصدر للنتروجين فضلاً عن الفسفور والبوتاسيوم ولكن زيادة كميتـــه ادت الى زيادة ايون البوتاسيوم الذي يتصرف تصرف الاملاح الاعتيادية مما اثر في الضغط الازموزي للوسط وفي الفعالية الحيوية للعفن (٣١) . اعلى كتلة حيوية جافة للعفن *M. heimalis* كانت ٢,٤٥ غم/١٠٠ مل وسط ١,٥٧ /١٠٠ مـــل وسط عند التركيز ٠,٢% كبريتات الامونيوم ٠,٢% NPK. على التوالي.

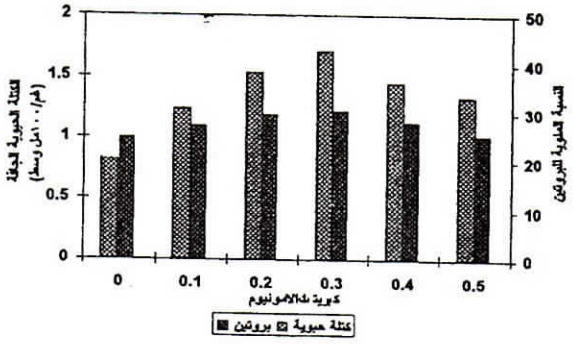


شكل ٥: تأثير المصدر النيتروجيني في انتاج الكتلة الحيوية الجافة ونسبة البروتين للعفن *M. heimalis* باستخدام المزرعة الهزازاة في وسط المستخلص المائي لمخلفات التمور وأس هيدروجيني ٤ ودرجة حرارة ٣٠ °م

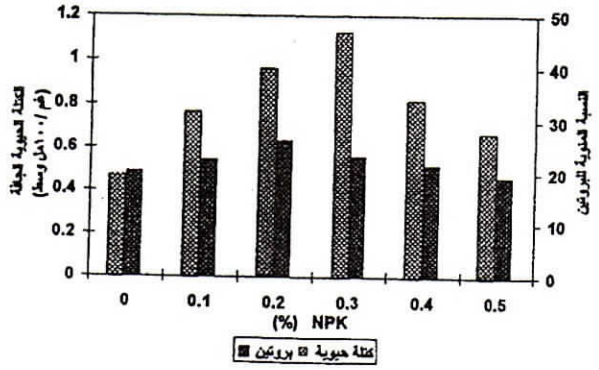
طريقة التنمية :

بالرغم من ان بعض الفطريات يفضل المزرعة الهزازة وان معدل نموها يتضاعف قياساً الى المزارع الساكنة الا ان بعض الفطريات لا تشجع هذه الطريقة وقد يتعذر النمو كلياً في البعض الآخر (١٣) لذلك استخدمت الطريقة الساكنة في البحث لمعرفة تأثيرها في نمو الاعفان المدروسة ومقارنتها بالمزرعة الهزازة . يلاحظ من الشكل (٦) ان العفن *T. viride* حقق اعلى نسبة من البروتين (٣٠,٩٤%) عند تركيز ٠,٣% كبريتات الامونيوم باستخدام المزرعة الساكنة وكانت هذه النسبة اعلى معنوياً من باقي النسب ما عدا النسبة ٠,٢ مما حققته المزرعة المهتزة شكل (٤) وعند استخدام كبريتات الامونيوم كمصدر نتروجيني واعطت نسبة من البروتين مقدارها (٣٧,٢٤%) عند تركيز ٠,٢% من كبريتات الامونيوم .

وكذلك العفن *M. heimalis* شكل (٧) اعطى اعلى نسبة من البروتين (٢٩,٢٩%) في تركيز ٠,٢ . NPK في طريقة المزرعة الساكنة في حين كانت نسبة البروتين اعلى في المزرعة المهتزة والتي كانت (٣٤,٩٢%) ومن هذا نستدل ان المزرعة الهزازة كانت افضل من المزرعة الساكنة في تنمية العفن *T. viride* و *M. heimalis* وفي اعطاء اعلى نسبة من البروتين والكتلة الحيوية ويعود ذلك الى ان الاعفان بطبيعتها هوائية وتحتاج الى الاوكسجين في فعاليتها الفسيولوجية وهذا يتوفر في المزرعة الهزازة في حين ان خلايا العفن المغمورة في المزرعة الساكنة تعاني من ظروف لاهوائية جزئية وتعاني نقص من الاوكسجين (٢٥) وهذا يتفق مع ما ذكره باحثون (١١، ٢٧) اللذان استخدما المزرعة الهزازة لانتاج البروتين المايكروبي من الاعفان.



شكل ٦: تأثير كبريتات الامونيوم في انتاج الكتلة الحيوية ونسبة البروتين للعفن *T. viride* باستخدام المزرعة الساكنة في وسط المستخلص المائي لمخلفات التمور وأس هيدروجيني ٣,٥ ودرجة حرارة ٢٥ °م.

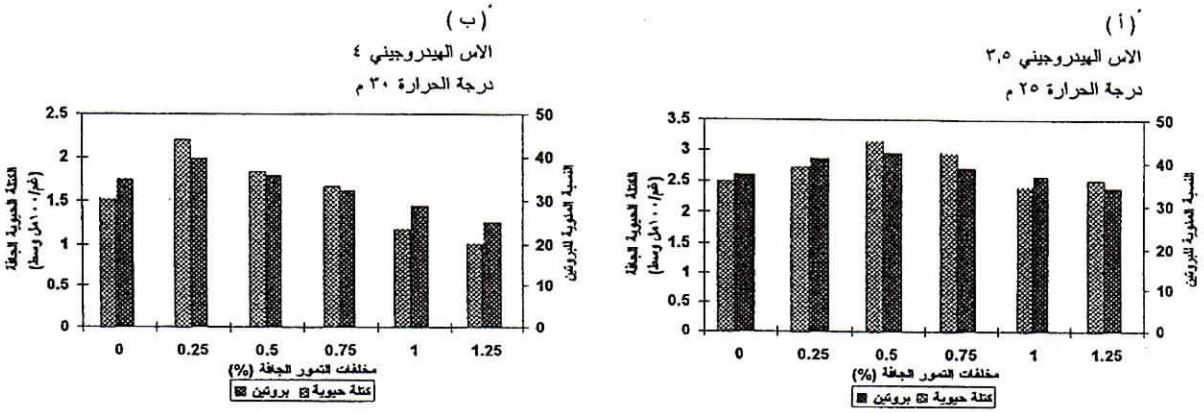


شكل ٧: تأثير NPK في انتاج الكتلة الحيوية ونسبة البروتين *M. heimalis* للعفن باستخدام المزرعة الساكنة في وسط المستخلص المائي لمخلفات التمور وأس هيدروجيني ٤ ودرجة حرارة ٣٠ °م

التنمية في وسط مخلفات التمور الجافة :

تحتوي مخلفات التمور على نسبة عالية من الالياف تتراوح بين ٤٥% الى ٦٢% اغلب هذه الالياف تحتوي على السليلوز وانصاف سليلوز التي يمكن للعفن الاستفادة منها (٣٢) كذلك تحتوي على بروتينات ودهون وعناصر معدنية مما يؤثر بصورة متباينة في الفعاليات الايحائية للعفن . يلاحظ من الشكل (٨) ان اعلى نسبة من البروتين للعفن *T. viride* كانت ٤٢,٢٠% وعند استعمال ٠,٥% مخلفات التمور وعند تحليل القيم احصائياً وجد بان هذه النسبة اعلى معنوياً من باقي النسب عدا النسبة ٠,٢٥% مخلفات تمور جافة والتي حققت نسبة من البروتين مقدارها

٤١,٠١%. اما بالنسبة للعفن *M. heimalis* فان اعلى نسبة من البروتين كانت (٣٩,٧٨%) عند استعمال ٠,٢٥% مخلفات تمور جافة في وسط التنمية وكانت هذه النسبة اعلى معنوياً من باقي النسب عند تحليلها احصائياً. ان زيادة نسبة البروتين للعفنين تعود الى احتواء مخلفات التمور على نسبة عالية من السليلوز وانصاف السليلوز والتي استفادت منها الاعفان كمصدر كاربوني وبزيادة نسبتها ازداد تركيزها مما اثر في الفعاليات الحيوية وبالتالي قلة نسبة البروتين وهذا يتفق مع ما كره الباحث (٣٢) عند استعماله مخلفات التمور (النوى والالياف) في تنمية خميرة *C. utilis* لانتاج بروتين العلف . ان نسبة مخلفات التمور الجافة المستخدمة (٠,٢٥ و٠,٥)% هي اقل مما ذكره (١٤) الذين استخدموا السليلوز بنسبة ١% واقل مما ذكره (٢٠) اللذين استخدما البكاز بنسبة ١% . اعلى كتلة حيوية جافة تحققت للعفن *T. viride* كانت ٢,٩٨ غم / ١٠٠ مل عند استعمال ٠,٥% مخلفات تمور جافة وللعفن *M. heimalis* (٢,١٨ غم/١٠٠ مل وسط) عند استعمال ٠,٢٥ % مخلفات تمور جافة.

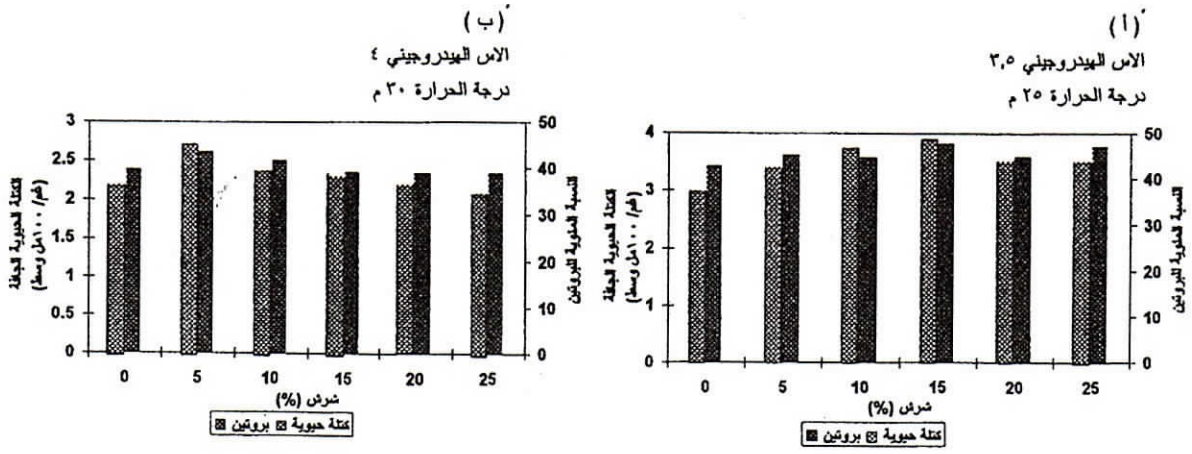


شكل ٨: تأثير اضافة مخلفات التمور الجافة في انتاج الكتلة الحيوية ونسبة البروتين للعفن *T. viride* (أ) والعفن *M. heimalis* (ب) باستخدام المزرعة الهزازة في وسط المستخلص المائي لمخلفات التمور.

التنمية على وسط المستخلص المائي لمخلفات التمور الجافة والشرش:

يلاحظ من الشكل (٩) ان العفن *T. viride* قد حقق اعلى نسبة من البروتين وكانت ٤٧,٨٩% وعندما اضيف اليه ١٥% شرش وهذه القيمة اعلى معنوياً من باقي النسب ماعدا النسبة ١٠% التي اعطت نسبة بروتين ٤٦,٣٢٧% . هذه النسب المرتفعة هي نتيجة قدرة العفن على الاستفادة من السكريات والمواد النتروجنية للشرش (٣٧) اما العفن *M. heimalis* فقد اعطى اعلى نسبة من البروتين ٣٤,٥٧% عندما اضيف الى وسط التنمية ٥% شرش . ولم تظهر فروق معنوية لجميع النسب الاخرى . ويلاحظ ان زيادة نسبة الشرش ادت الى نقصان نسبة البروتين بسبب زيادة تركيز سكر اللاكتوز في وسط التنمية والتي سببت زيادة في الضغط الازموزي التنافذي في الوسط مما يؤثر في العمليات الحيوية داخل العفن وهذا ينسجم مع ما ذكره الباحث (٢٢) الذي استخدم الدبس والشرش في تنمية العفن *A. oryzae* ان هذه النسبة من البروتين والتي تحققت من العفنين هي اعلى مما حصل عليه (٤٠) الذين استخدموا مخلفات معامل الاغذية لتنمية العفن *T. viride* وحصلوا على (٣٥-٤٠)% بروتين واعلى مما وجده (١٦) الذي

استخدم قش الرز لانتاج بروتين من العفن ٣,٨٦ غم / ١٠٠ مل وسط وعند اضافة ١٥% شرش ٢,٦٩ غم/١٠٠ مل وسط للعفن *M. heimalis* عند اضافة ٥% شرش الى وسط التنمية.



شكل ٩: تأثير اضافة الشرش في انتاج الكتلة الحيوية ونسبة البروتين للعفن *T. viride* (أ)والعفن *M. heimalis* (ب) باستخدام المزرعة الهزازة في وسط المستخلص المائي لمخلفات التمور.

يمكن الاستنتاج من الدراسة الحالية امكانية انتاج بروتين وحيد الخلية خالي من السموم باستخدام مخلفات التمور والشرش بعد ضبط الظروف المثلى للحصول على اعلى كتلة حيوية وذات نسبة بروتين مرتفعة.

المصادر

1- الاتروشي، نشتيمان محمد نجيب (١٩٨٧). تخمر الشرش لانتاج بروتين احاديات الخلية . رسالة ماجستير ، كلية الزراعة – جامعة صلاح الدين، العراق.

2- الجبوري، شمال يونس (١٩٩٧). التحلل الحامضي لمسحوق نبات الكلفات لانتاج بروتين احاديات الخلية بواسطة خميرة *C. utilis*. رسالة ماجستير، كلية التربية– جامعة الموصل، العراق.

3- الطائي، ورقاء سعيد (٢٠٠٠). التحلل السليلوزي لمسحوق نبات الكلفان لانتاج بروتين الخلية الواحدة بواسطة عزلة الفطر *F. solani* . رسالة ماجستير، كلية العلوم– جامعة الموصل، العراق.

4- الراوي، خاشع محمود (١٩٨٠). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي– جامعة الموصل، العراق.

5- العاني، فائز عزيز (١٩٩٣). التكنولوجيا الحيوية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي– جامعة الموصل، العراق.

6- العبيدي، صفاء اسماعيل (١٩٩٨). ظروف انتاج وطبيعة السكر المتعدد (البوليولان) المنتج بواسطة احدى العزلات المحلية للفطر *Au. pululns*، رسالة ماجستير، كلية التربية–جامعة الموصل، العراق.

7- العكيدي، حسن خالد حسن؛ ثريا صادق جعفر و ميسون منذر حمندر (١٩٨٢). انتاج سلالات من الخمائر النامية على عصير التمر (صنف الزهدي). مجلة علوم الحياة، ١٣(١):٨–٩٤.

8- المشهداني، يونس علي (١٩٩٥). انتاج بروتين احاديات الخلية من مخلفات صناعة السبيرة باستخدام *C. utilis* و *T. reesie*. رسالة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل، العراق.

9- دلالي، باسل كامل (١٩٩٣). موضوعات مختارة من التكنولوجيا الحيوية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي– جامعة الموصل، العراق.

10- فليح، انوار سالم (١٩٨١). بعض المحاولات لرفع مستوى انتاج بروتين وحيد الخلية من مخلفات بنجر السكر المحلية. رسالة ماجستير، كلية العلوم – جامعة الموصل، العراق.

11- نعمة، جاسم حلو (١٩٧٩). انتاج البروتين من العفن *Aspergillus oryza* باستخدام الدبس والشرش اطروحة ماجستير، كلية الزراعة–جامعة بغداد، العراق.

12- Ali, A. H. (1977). Growth of *Candida utilis* on date industrial remains (cake) for elevation of its nutritional value and production. M. Sc. Thesis, Baghdad Univ., Iraq.

13- Calam, C. T. (1969). The Culture of microorganisms in liquid media In. "Method in microbiology" Vol. 1. Academic press, Londen and New York.

14- Chalal, D. S.; G. D. Munshi and A. K. Chopra (1975). Levels of protein and essential amino acids in *Rizoctonia solahi*, growth on wood pulp. Biol. Sci., 41(2):161-168.

15- Domsch, K. H.; W. Gams and T. Enderson (1980). Compenedium of soil fungi. Vol. I, Acadamic Press, London, USA.

16- El-Masry, M. G. (1984). Utilization of Egyptian rice straw in production of cellulose and microbial protein. Indust. Appl. Micro., 19(5):2725-2733.

17- El-Refai, A. H.; K. M. Ghanem and M. El-Gazaerly (1986). Optimization of the production of single cell protein by *saccharomyces uvarum* from beet molasses. J. Microbiol. Abst., V. 21,No.5.

18- Espinosa, R.; O. Maldonad; J. F. Mechu and C. Rol (1977). Aerobic nonseptic growth of *Verticillium* on coffee waste water and cane blackstrap molasses at pilot plant scale. Biotech. Bioeng. Symp. 7:35-42.

19- Frazeir, W. C.; D. C. Westhoff (1978). "Food microbiology" McGraw-Hill Book Co., New York, London.

20- Garge, S. K. and S. Neelakeantan (1983). Production of single cell protein and cellulose by *A. terreus* from Bagass substrate. Indust. Appl. Micro., 18(2):1826-1832.

21- Gorst, C. P. and P. S. Steyn (1979). Screening methods for the detection of thirteen common mycotoxins. J. of chromatography. 195:325-331.

22- Gray, W. D. and M. Abou Elseoud (1966). Fungal protein for food and feeds. Econ. Bot., 20:251-259.

23- Hameed, K.; W. Fritsche and M. Al-Douri (1975). Growth of the yeast *Candida utilis* on a by –product of date industry. Second Sci. conference, Baghdad, Agric. Res. paper.

24- Kamel, B. S. (1979). Dates as a potential substrate for single cell protein production. Enzyme micro. Tech., 1(3):180-182.

25- Kusnetzow, S. J. (1985). In: "Physiology of Fungi". John Wiley and Sons. Ins. USA, Toppan company, LTD, Japan.
26- John, H. L. (1980). Microbiol protein protein production. Bio. Sci., 30:387-401.
27- Martin, A. M. and M. B. White (1986). Growth of the acid tolerant fungus *Scytalidium acidophilum* as potential source of single cell protein. Indust. Appl. Micro., 21(1):236-240.
28- Mateles, R. I. And S. R. Tannenbaum (1986). Single cell protein "MIT Press. Cambridge, Massachusetts, London.
29- McNairney, J. (1984). Modification of noval protein product. J. Chem. Tech. Biotechnol. 34B:205-214.
30- Morinaga. T.; M. Minoura and S. Udagaw (1979). New species of microfungi from South East Asian Soil. Trans. Mycol. Soc. Japan, 19:135-148.
31- Moyer, A. J. and O. E. May (1958). In: "Physiology of Fungi". John Wiley and sons, In., USA, Toppan Company, LTD. Japan.
32- Nores, R. A. K. (1976). Production of torula yeast (*Candida utilis*) from date and date-by products. M. Sc. Thesis. Univ. of Baghdad, College of Agric.
33- Pelczar, M. J. and E. C. S. Chan (1977). Laboratory exercises in microbiology. Fourth ed. Mc Graw-Hill Book Company. New York London.
34- Read, A. E. and K. F. Gregory (1976). High temperature production of protein enriched feed from cassava by fungi. J.Appl. Microbiol, 25:785-779
35- Rifai, M. A. (1982) A revision of the genus *Trichoderma mycological* paper, 116:22-31.
36- Robinson, R. K. (1994). Dairy Tecchnology. Elsevier Applied Science publishers, London
37- Rose, A. M. and J. S. Harrios (1989). The Yeeast Vol .3,Acadamic press Inc .New York .
38- Sadler, M. (1989). Studies on single cell protein production by *Helminthosporium oryzae* from whey. J. food Sci. and Tech. Abst. Vol .21.No.
39- Singh, A.; M. S. Kalar (1980). Single cell protein production from crops .Indust .Appl .Micro, 9(4):351-356.
40- Sloneker J. H.; R. W. Jones; H. L. Griffin; K. Eskins; B. L. Bucher and G. E. Inglett (1973). Processing animal wastes for feed and indust rial products. Inglett, Avi-pudlishing Co. West port, Conn. Chap., 3:13 -28.
41- Snyder, H. E. (1970). Microbial sources of protein. In:"Advances in feed research .Academic press, New York and London.
42- Steven, H. E. (1970). Microbial sources of protein. In "food protein", John. R. w. and T. R .Steven. p. 315 Avi-publishing Company. Eng.

Iraqi J. Agric. Vol.10 No.2 pp.166-179 Sep./2005

43- Tauk, S. M. (1983). Culture of *Candida* in vinasse and molasses Effect of acid and salt addtition on biomass and raw productein. J. Indust. Appl Microbial, 18(7):5628-5634.

OPTIMIZATION OF THE PRODUCTION OF SINGLE CELL PROTEIN BY *Trichoderma viride* and *Mucor heimalis* FROM DATE WASTE

A. A. Sahi* K. H. Majed* K. J. Al– Janaby**

ABSTRACT

Six mold strains were isolated from, the waste of date-processing factories. *Trichoderma viride* and *Mucor heimalis* were chosen after it was asserted that they were non toxic . The factors affecting their growth were studied to find the highest rate of protein and biomass production .The Best conditions for growth of *T. viride* were in date syrup containing 3% total soluble solid (TSS),PH3.5 at 25C, whereas the best growth of *M. heimalis* were in media containing 5%TSS and pH4at 30 C . The best nitrogen source for *T. viride* was 0.2% ammonium sulphate while the best nitrogen source for *M. heimalis 0.2%* inorganic liquid fertilizer NPK Moreover. the best concentration of whey which resulted in the highest rate of protein and biomass was 15% for *T. viride* and 5% *M. heimalis.* The shaking culture was better than stable culture to reproduce *T. viride* and *M. heimalis* which gave the highest production of protion and biomass.

Part of ph. D. thesis of the third author

*College of Agric- Univ. of Basrah – Basrah ,Iraq .

** College of Agric- Univ. of Al –Anbar –Al-Anbar ,Iraq .