مقارنه كفاءة المعالجه الاوليه الكيميائيه والبايوكيميائيه للمخلفات القطنيه لانتاج (SCP) بوساطة الفطر Aspergillus niger

د. علي عبدالله التميمي* د.أحمد عبدالامير العامري* و جزائرعبدالله جويعد*

تاريخ الاستلام: 2009/4/15
تاريخ القبول: 5 /2009/11

الخلاصه

أجريت مقارنه كفاءة المعالجه الاوليه بالطرق الكيميائيه والبايوكيميائيه (الانزيميه) على المخلفات القطنيه كمصدر للطاقه ونمو الفطر A.niger . حققت عمليات التخمير في اليوم العاشر أكبر نسبه أنتاج بروتينى بلغت 13.13 % ودرجة أستهلاك سيليلوزي حوالي 58% عند أستخدام المعالجه الاوليه بالطرق الكيميائيه بوساطة هيدروكسيد الصوديوم وبتركيز 0.20 [عياري] . بينما أعطت المعالجه الانزيميه في اليوم السابع من عمليات التخمير أقصى نسبة أنتاج بروتيني بلغت 8.93 % ودرجة أستهلاك سيليلوزي حوالي 53 % عند أستخدام الراشح الانزيمي Cellulase المستخلص من الفطر Trichoderme viride وبتركيز 30 [ملغم/مل].

الكلمات المرشدة: المعالجه الاوليه, المخلفات القطنيه, هيدروكسيد الصوديوم

Comparison primary treatment study for chemical and biochemical process on cotton waste products as energy source for A.niger

Abstract

This study was designed for chemical and biochemical processes on waste cotton as energy resource by Aspergillus niger. In the tenth day the high percentage in protein production 13.13% and Cellulose degree consumption 58% by chemical and biochemical process. The chemical process was done by the use of sodium hydroxide 0.20N, but the biochemical process is very carriage use the enzymatic extraction of Trichoderme viride.30 mg per mL. At the seventh day it is found that the biochemical process gives highest degree of protein production in cellulose consumption 8.93%.

المقدمة

يعد *البروتين* من المواد المهمة في تغذية الإنسان والحيوان، وأن التزايد الضخم في عدد السكان دفع المختصين للبحث عن وسائل غير تقليدية لإنتاج البروتين (1). حيث أتجه العديد من المؤسسات الى أنتاج البروتين بأستخدام الأحياء المجهرية وهو ما يطلق عليه بروتين احادي الخلية[2]. تعد الفطريات من أفضل الأحياء المجهرية المنتجة لأنزيم السيليوليز المحلل للمركبات السيليوزية والمستعملة في أنتاج بروتين

*قسم العلوم التطبيقية,الجامعة التكنولوجية/ بغداد

https://doi.org/10.30684/etj.28.2.18
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

احادي الخلية (2). تعاني العمليات التصنيعية للتحولات الحيوية للمواد السيليلوزية من مشاكل عديدة اهمها أن الجزيئات السيليلوزية هي معقدة التركيب غير قابلة للذوبان في الماء بسبب ارتفاع درجة التبلور والتركيب الشعري للمادة السيليلوزية مما يجعلها غير خاضعة لعمل الانزيم السيليلوزي, وبالتالي تؤدي الى تثبيط عمليات التهشيم للسلاسل السيليلوزية, لذا تم الاستعانة بالمعالجات الاولية بالطرائق الكيميائية والفيزيائية والكيموفيزيايئية الهدف منها تحديث الجزيئة السيليلوزية لكي تكون اكثر خضوعا للعمل الانزيمي والتخلص من المواد المرافقة للسيليلوز والتقليل المساحات الكرستالية (3) ومن مساوئ هذه المعالجات تكون بطيئة الإنتاج, مكلفة اقتصاديا, وتسهم في سرعة أندثار الاجهزه وتسبب في زيادة عوامل التلوث البيئي, لذا اهتم العلماء والباحثين باستخدام المعالجات الأولية بالطرائق البايوكيميائية (الإنزيمية) كونها رخيصة الثمن, وسريعة الإنتاج وتقلل من عوامل التلوث البيئي (4). تعاني كثير من الدول من أرتفاع في درجات الحراره وقلة الامطار وزياده في مساحات التصحر لذا فان استغلال المخلفات الزراعية والصناعية لإنتاج بروتين احادي الخلية ذو القيمة البايولوجية العالية بوساطة الفطريات الخيطية هي بارقة أمل واعده تساهم وبشكل كبير في تامين المادة البروتينية وتقديمها كعلف حيواني دون المساس بالحبوب الزراعية التي يكون الإنسان بأمس الحاجة إليها في تامين غذائه اليومي وخصوصا في الدول الناميه الفقيره والتي تعاني من مشكلة المجاعه بسبب النقص الحاد في مادة البروتين, هذا من جهة ومن جهة أخرى اختزال مليارات الأطنان من المخلفات الزراعية والصناعية يساهم وبشكل كبير في تقليل التلوث البيئي (5) .

الجزء العملي:

1. **الفطر المستخدم في البحث**: استخدمت عزلة الفطر *Aspergillus niger* التي تم عزلها وتنقيتها و حفظها من كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد والذي يمتاز بقابلية عالية في إنتاج المعقد الإنزيمي السليلوزي ذو الفعالية العالية في تحلل المواد السيليلوزية للحصول على الكلوكوز كمصدر ونمو الكتلة الحيوية للفطر *Aspergillus niger*.
2. **المواد الكيميائية**: تم استخدام الوسط المعدني كاساس للاستنبات كما نشر من نشر في المصدر(6) والذي يتكون من المركبات التالية بتركيز [غم/ لتر].

تم استخدام المخلفات القطنية الخارجة من معمل تصنيع الألبسة القطنية من معمل واسط كمصدر كربوني وحيد لنمو الفطر *Aspergillus niger* ومعالجته بالطرائق الكيميائية الحوامض والقواعد إضافة للطرائق البايوكيميائية (الانزيميه). وبعد المعالجة تم إضافتها إلى الوسط المعدني وبتركيز 2% وإضافة مادة الكلوكوز 1% لغرض اغناء الوسط ألزرعي. وتم وضع المحاليل في جهاز الاوتوكليف عند درجة حرارة 121[مئوي] لمدة 30[دقيقة] وبعد عملية التبريد بدرجة حرارة الغرفة تم زرع الوسط ألزرعي 2[مل] من عالق سبورات *Aspergillus niger* من مزرعة عمرها 7[أيام] واجريت عمليات التخمير عند درجة حرارة 30] مئوي[في دوارق حجمية سعة 250 مل تحتوي على 100[مل] من الوسط الزرعي.

عمليات التخمير اجريت بطريقة الحضانة السطحية المستقرة خلال فترة زمنية استغرقت 12 [يوم] وبعد فصل الراشح الانزيمي عن الكتلة الحيوية باستخدام جهاز الطرد المركزي تم احتساب دوريا الاتي.

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

كمية الوزن الجاف تم احتساب بوساطة الطريقة الوزنية (7) .
كمية البروتين ثم احتسابها بطريقة كلدال (8).
كمية السيليلوز حسب طريقة زايفرت (9).

المعالجة الكيمياوية:

تم معالجة 10 [غم] من المخلفات القطنية بتراكيز (0.1, 0.2, 0.3, 0.4) عياري من الحوامض (حامض الكبريتيك وحامض الهيدروكلويك) والقواعد (هيدروكسيد الصوديوم وهيدروكسيد الامونيوم), تم تسخين الخليط على اللهب جيدا ولمدة [ساعة] مع المحافظة على مستويات المحلول ثابتة. برد المحلول بدرجة حرارة الغرفة وغسلت المخلفات القطنية المعالجة بالماء المقطر لغرض معادلته الى الرقم الهيدروجيني 7 وتم وضعها في الفرن للتجفيف عند درجة 101[مئوي] ولمدة 24 [ساعة].

المعالجة الانزيمية

تم معالجة 10 [غم] من المخلفات القطنية مع 800 [مل] من الراشح الانزيمي cellulase والمستخلص من *viride Trichoderme* وبتراكيز مختلفة (0.3, 0.4, 0.5, 0.6) [ملغم / مل] ثم حفظ الخليط في حمام مائي هزاز عند درجة حرارة الغرفة ولمدة 24 [ساعة] ثم وضع الخليط في جهز الاوتوكليف عند درجة حرارة 121 [مؤوي] و لمدة [دقيقة]. وبعد تبريدها عند درجة حرارة الغرفة تم إيداعها في الفرن لغرض تجفيفها عند درجة حرارة 101[مئوي] لمدة 24[ساعة].

النتائج والمناقشه

أن المعالجه الاوليه بالطرق الكيميائيه وبأستخدام حامض الكبريتيك وحامض الهيدروكلوريك وبتركيز (0.40, 0. 30) [عياري] على التوالي أعطت في اليوم العاشر والحادي عشر من عمليات التخمير للفطر *A.niger* أكبر محتوى بروتيني , بينما كانت المعالجه الاوليه بوساطة هيدروكسيد الصوديوم وهيدروكسيد الامونيوم وبتركيز (0. 20, 0.40) [عياري] على التوالي , قد اعطت ايضا في اليوم العاشر والحادي نموا أكبر للكتله الحيويه وطبقا للنتائج الوارده في الشكل (3) والشكل (4) . ونظرا لطول الفتره الزمنيه التي تحتاجها عمليات التخمير هذا مما يساهم في تحمل المنتوج اعباء اقتصاديه اضافيه تنعكس على المستهلك . الحقائق التي توصل اليها البحث منحتنا فرصه للبحث عن مصادر جديده سريعه الانتاج رخيصة الثمن ولا تسبب في زياده عوامل التلوث البيئي . تم دراسة كفاءة المعالجه الاوليه بالطرق الانزيميه للمخلفات القطنيه وعندما عوملت بالراشح الانزيمي Cellulase والمستخلص من الفطر *T.viride* وبتركيز *30 [ملغم/مل]* وهذا ما أكدته النتائج المشار أليها في الشكل رقم (5) أن اقصى نمو تحقق للكتله الحيويه كانت في اليوم السابع من عمليات التخمير اي اقل بثلاثة ايام عما توصلت اليها المعالجات الاوليه بأستخدام الطرائق الكيميائيه .

النتائج الوارده في الجدول (1) هي مقارنه لكفاءة المعالجات بالطرق الكيميو - أنزيميه , حيث لوحظ أن أفضل النتائج التي توصلت اليها المعالجه بالطرق الكيميائيه بوساطة هيدروكسيد الصوديوم وبتركيز 0.20 [عياري] أعطت في اليوم العاشر من عمليات التخمير أعلى نسبه أنتاج بروتيني ودرجة أستهلاك سيليلوزي بلغت (13.13% , 58%) على التوالي ، بينماأعطت المعالجه الانزيميه في اليوم السابع من عمليات التخمير أعلى نسبة أنتاج بروتيني ودرجةأستهلاك سيليلوزي بلغت (8.93%,53%) على التوالي . النتائج التي توصل اليها البحث كانت مشجعه للغايه وأكدت المعالجه الانزيميه كفاءه عاليه وحققت نجاحا ملموسا في أختزال

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

الفتره الزمنيه من اليوم العاشر الى اليوم السابع من عمليات التخمير للفطر *A. niger* , ومن جهه أخرى حصلت المعالجه الانزيميه على نسبة أنتاج بروتيني جيده مقارنة مع النتائج التي توصلت اليها المعالجات بالطرق الكيميائيه .

يعقوب وجماعته [10] قاموا بتنمية الفطر *P.javanicum* على قشور الرز المعالجه بالطرق الكيمياويه والبايوكيميائيه , وقد توصل الباحثين في اليوم السادس من عمليات التخميرعلى أعلى نسبة أنتاج بروتيني بلغت 18.25% عند معالجة المصدرالكاربوني بحامض الكبريتيك وبتركيز 0.30 [عياري] , وعند أستخدام المعالجه الانزيميه توصل الباحثين الى أقصى نسبة أنتاج بروتيني بلغت 2.68 % في اليوم العاشر من عمليات التخمير. ومقارنة مع النتائج التي توصلنا اليها لوحظ أن البحث حقق قفزه نوعيه في نسبة الانتاج البروتيني بلغت أكثربثلاث مرات عما توصل اليها الباحثين أعلاه , ومن جهة أخرى أستطاع البحث أن يحقق أختزالا كبيرا في الفتره الزمنيه التي تحتاجها عمليات التخمير بلغت 72 [ساعه] وهذا يعطي للبحث جدوى أقتصاديه أضافيه واعده . النتائج التي تم توصلنا اليها هي مشجعه للغايه وتؤكد على أرجحية وكفاءة أستخدام المعالجات بالطرق البايوكيميائيه والتي تمتاز برخص ثمنها وتوفرمواد الاساس وسرعة الانتاج وتساهم في أختزال مليارات الاطنان من المخلفات الزراعيه والصناعيه , والتي أصبحت خطرا يهدد سلامة البيئه وما ينجم عنها من ألامراض والاوبئه الخطيره و التي تفتك بصحة الانسان وخصوصا في الدول الناميه الفقيره . أن تنمية الفطريات الخيطيه على المخلفات الزراعيه والصناعيه الغنيه بالمواد السيليلوزيه لانتاج الكتله 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]- Ben-Hassan, R.M. and Ghaly, A.E. (1995) Continuous production of Single Cell Protein from cheese whey lactose using *Kluyveromyces fragilis*. American Soc. of Agric. engi. 38(4): 1121-1127.

[2]- Litchfield, J.H. (1992). Single Cell Proteins. J. Encyclo. Microbiol. 4: 11-22.

[3]- Han, Y.W.; Cheeke, P.R.; Anderson, A.W. and Lekprayoom, C. (1976). Growth of *Aureobasidium pullulans* on straw hydrolysate. App. and Environ. Microbiol. American Society for Microbiology. 32(6): 799-802.

[4]- El-Refai, A.H.; Atalla, M.M. and El-Safty, H.A. (1984). Microbial formation of cellulases and proteins from some cellulosic residues. Agricultural wastes, 11: 105-113.

[5]- Khan YM , Dahot MU : Proceed Natl Chem Conf, 1990.

[6]- Mandels M., Weber J. The production of Cellulase. J. Adv. Chem. Ser., 1969, 391

[7]- Polska Norma PN-37/A -79005 Drzodze, Methody badinic 1993

[8]- Budslawski, J., Drobent Z.; Metody analizy Zywnosei, ;Wnt, Warszawa 1992

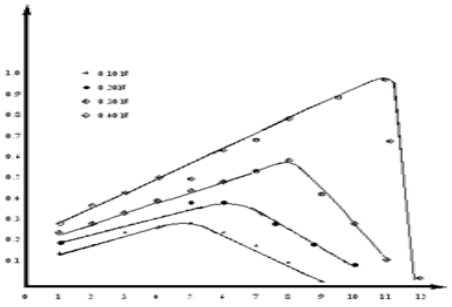
[9]- Seifert Z. Znr Fraga der Cellulose- Schnell Bestimmung nach der Acetyloacton Meth. Papier, 1966, 14, 104

[10]- M. Yakoub K. ; Singel cell protein production by Penicillium javanicum from pretreated Rice Husk J. Microbiology, 1992.

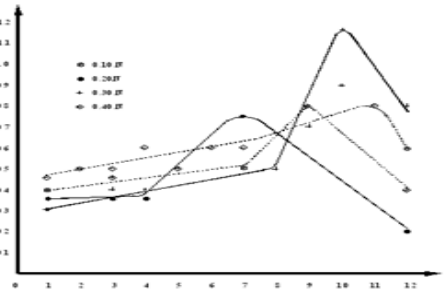
PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

جدول رقم (1): مقارنة للمحتوى البروتيني في الكتلة الحيوية للفطر *Aspergillus niger* النامي على المخلفات القطنية والمعالجة بالطرائق الكيموانزيمية

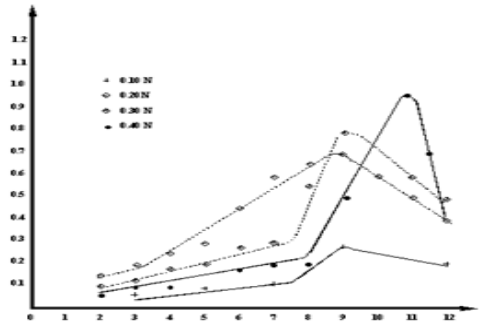
نوع المعالجة الكيموانزيمية	فترة عملية التخمير(باليوم)	% نتروجين	%بروتين	درجة الاستهلاك الميليلوزي
المعالجة الحامضية بـ (HCl 0.4N)	11	0.45	2.81	%15
المعالجة الحامضية بـ (H_2SO_4 0.1N)	10	1.08	6.75	%20
المعالجة القاعدية بـ (NaOH 0.2N)	10	2.10	13.13	%58
المعالجة القاعدية بـ (NH_4OH 0.3N)	11	1.55	9.70	%35
المعالجة الانزيمية بـ (Cellulase 30mg/ml)	7	1.43	8.93	%53



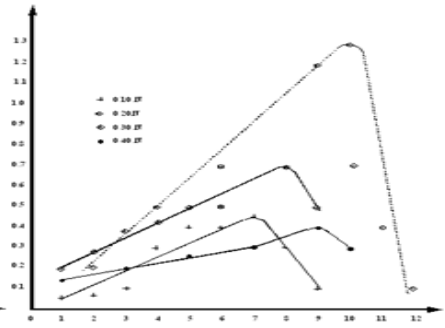
شكل رقم (2): انتاج البروتين احادي الخلية بوساطة الفطر *Aspergillus niger* النامي على المخلفات القطنية والمعالجة أوليا وبتراكيز مختلفة من حامض الهيدروكلوريك



شكل رقم (1): انتاج البروتين احادي الخلية بوساطة الفطر *Aspergillus niger* النامي على المخلفات القطنية والمعالجة أوليا وبتراكيز مختلفة من حامض الكبريتيك

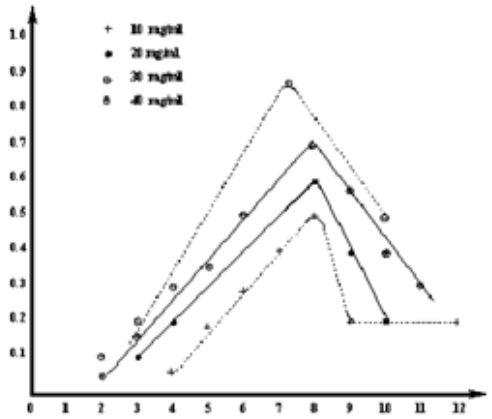


شكل رقم (4): انتاج البروتين احادي الخلية بوساطة الفطر *Aspergillus niger* النامي على المخلفات القطنية والمعالجة أوليا وبتراكيز مختلفة من هيدروكسيد الامونيوم



شكل رقم (3): انتاج البروتين احادي الخلية بوساطة الفطر *Aspergillus niger* النامي على المخلفات القطنية والمعالجة أوليا وبتراكيز مختلفة من هيدروكسيد الصوديوم

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



شكل رقم (5): انتاج البروتين احادي الخلية بوساطة الفطر *Aspergillus niger* النامي على المخلفات القطنية والمعالجة أوليا وبتراكيز مختلفة من الزيم Cellulase .

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