ARABIC SUMMARY

الملخص العربي

ناقشت هذه الدراسة أنسب الظروف الغذائية والبيئية لتنمية الخميرة بغرض إنتاج البروتين وحيد الخلية عن طريق تنميتها على بعض المواد الخام المتوفرة والرخيصة الثمن مثل مولاس قصب السكر ومولاس بنجر السكر وسرس الأرز وكذلك الشرش الناتج من صناعة الجبن بطريقة الترشيح الفائق. وقد تمت الدراسة على مرحلتين: المرحلة الأولى تم فيها تنمية الخمائر فى دوارق على هزاز على درجة ٣٠°م لمدة ٤٨ ساعة وذلك للإختبارات الأولية. المرحلة الثانية تم فيها تنمية الخمائر فى مخمر مزود بتحكم فى درجة الحرارة والـ pH وإزالة الرغوة.

ويمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها فى النقاط التالية:

١- تم إختبار ١٦ سلالة خميرة تابعة لأجناس *Saccharomyces, Candida, Kluyveromyces*. وذلك لمحتواها من البروتين وإنتاج الكتلة الحيوية (الوزن الجاف) على خمس بيئات مختلفة لإنتخاب أحسن السلالات وإنتخاب أنسب البيئات الغذائية التى تلائم هذه السلالات وقد وجد أن أحسن البيئات الخمس هى بيئة Sekeri-Pataryas *et al.* (1973). وأظهرت الدراسة أن هناك خمس سلالات خميرة أعطت قيم عالية على بيئة Sekeri-Pataryas *et al.* (1973) وهذه السلالات هى *Candida scottii* NBIMCC 633، *Candida utilis* NBIMCC 608، *Candida lipolitica* NBIMCC 688، *Saccahromyces cerevisiae* (Rehab Co. Matroh)، *Saccharomyces cerevisiae* (Alexanderia Co.).

٢- السلالات الجيدة التى أنتخبت سابقا تم إختبارها على بيئة Sekeri-Pataryas *et al.* (1973) والتى ظهرت على أنها أحسن بيئة وذلك بإستبدال الجلوكوز بالمولاس كمصدر للكربون لتصبح بيئة نصف تركيبية Semi-synthetic وإختيار أحسن السلالات فى محتواها من البروتين والكتلة الحيوية. أظهرت الدراسة أن *Candida utilis* NBIMCC 608، (Alexanderia Co.) *Saccharomyces cerevisiae* أعطت كمية عالية من الكتلة الحيوية ونسبة مرتفعة من البروتين بالمقارنة بما أنتجته هاتين السلالاتين على البيئة التركيبية ومن جهة أخرى أعطت الثلاث سلالات الأخرى قيم منخفضة على البيئة نصف تركيبية ولذلك فإن هاتين السلالاتين *Saccharomyces*

Candida utilis NBIMCC 608 ،*cerevisiae* (Alexanderia Co.) تـم إستخدامهما فى التجارب التالية:

٣- أستخدم العديد من مصادر الكربون المختلفة لدراسة أفضل مصدر كربون على بيئة Sekeri-Pataryas *et al.* (1973) ووجد أن الجلوكوز أفضل مصدر كربون للسلالتين *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis* NBIMCC 608 يليه المالتوز وأظهرت الدراسة أيضا أن أنسب تركيز جلوكوز لكلا السلالتين كان ٢,٥٪ جلوكوز لإعطاء أعلى معدل من الكتلة الحيوية والمحتوى البروتينى.

٤- أستخدمت مصادر الكربون الطبيعية مثل مولاس قصب السكر ومولاس بنجر السكر والشرش وناتج تحليل سرس الأرز بدلا من الجلوكوز. أظهرت الدراسة أن أفضل إنتاج من الكتلة الحيوية والمحتوى البروتينى للسلالتين تم الحصول عليه عند إستخدام مخلوط مولاس قصب السكر مع مولاس بنجر السكر بنسبة (٤٠ : ٦٠) بينما أعطى الشرش أقل ناتج كتلة حيوية ومحتوى بروتينى لكلا السلالتين.

٥- أستخدمت مصادر نيتروجينية مختلفة عضوية وغير عضوية لإختيار أفضلها ووجد أن سائل منقوع الذرة أعطى أعلى إنتاجية من البروتين والكتلة الحيوية لكلا السلالتين *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis* NBIMCC 608 يليه كبريتات الأمونيوم ثم فوسفات الأمونيوم. بينما كان الكازين والبيتون أقل المصادر النيتروجينية إنتاجية للبروتين والكتلة الحيوية بالنسبة للـ *Saccharomyces cerevisiae* وكذلك كانت أكسالات الأمونيوم بالنسبة لـ *Candida utilis* NBIMCC 608.

٦- أظهرت الدراسة أنه بزيادة معدل إضافة سائل منقوع الذرة إلى بيئة النمو حتى تركيز ٢٠٠ سم^3/لتر من البيئة أدى إلى زيادة عالية فى إنتاج البروتين والكتلة الحيوية لكلا السلالتين.

٧- تم ضبط بيئة مخلوط مولاس قصب السكر والبنجر المضاف إليها سائل منقوع الذرة على درجات pH مختلفة لمعرفة أنسب درجة pH لنمو الخمائر المختبرة. وأظهرت الدراسة أن pH ٤,٥ أعطى أعلى إنتاجية من الكتلة الحيوية لكلا السلالتين. بينما أعطت سلالة *Saccharomyces cerevisiae* أعلى نسبة بروتين عند pH ٥,٠ وأعطت سلالة *Candida utilis* NBIMCC 608 أعلى نسبة بروتين عند pH ٤,٠. وكان أقل إنتاج من الكتلة الحيوية والبروتين عند pH ٦,٥ لكلا السلالتين.

٨- أظهرت الدراسة أن أنسب درجة حرارة لإنتاج البروتين لكل من *S. cerevisiae*، *C. utilis* NBIMCC 608 كانت عند درجة حرارة ٣٠°م.

٩- كان أفضل حجم لقاح مضاف إلى بيئة مخلوط مولاس قصب السكر وبنجر السكر مع سائل منقوع الذرة هو ٥٪ (٢,٥ مل لقاح/٥٠ مل بيئة) حيث أعطى أعلى إنتاج من البروتين والكتلة الحيوية لكل من *S. cerevisiae*، *C. utilis* NBIMCC 608 بينما كان أقل إنتاج عند إضافة لقاح بنسبة ١٪ (٠,٥ مل/٥٠ مل بيئة).

١٠- أظهرت الدراسة أن أفضل معدل رج كان ١٥٠ لفة/دقيقة حيث أعطى أعلى معدل إنتاج الكتلة الحيوية والبروتين لكل من *S. cerevisiae*، *C. utilis* NBIMCC 608.

١١- أوضحت النتائج أن أنسب فترة تحضين لإنتاج البروتين والكتلة الحيوية لـ *S. cerevisiae* كانت ٦٠ ساعة ولـ *C. utilis* NBIMCC 608 كانت ٧٢ ساعة، وذلك عند إستعمال الدوارق فى التنمية.

١٢- عند إستخدام المخمر لإستكمال التجارب على ظروف تقترب من ظروف الصناعة وجد أن أعلى إنتاج من الكتلة الحيوية والمحتوى البروتيني لكل من *S. cerevisiae*، *C. utilis* NBIMCC 608 كان عند إستخدام معدل تهوية ٢,٥ لتر/دقيقة (٠,٨٣ حجم هواء/حجم بيئة).

١٣- أوضحت النتائج أن أنسب فترة تحضين فى المخمر تحت أنسب الظروف السابقة كان ٦٠ ساعة لكل من *S. cerevisiae*، *C. utilis* NBIMCC 608 حيث أعطت أعلى معدل إنتاج من الكتلة الحيوية والبروتين، وأعلى معدل إستهلاك سكر وكذلك أقل معامل إقتصادى وأعلى معدل إستخدام للمادة الخام.

١٤- عند تحليل الكتلة الحيوية الناتجة من *S. cerevisiae* وجدت أنها تحتوى على نسبة مرتفعة من البروتين ٥٩,٧٣٪ والكربوهيدرات ١٩,٤٨٪ بينما أعطت الكتلة الحيوية لـ *C. utilis* NBIMCC 608 نسبة بروتين ٥١,٨٧٪ والكربوهيدرات ٢٤,٣٥٪. كلا السلالتين أعطت نسبة جيدة من الفوسفور والكالسيوم والبوتاسيوم والماغنسيوم والصوديوم وكذلك العناصر الصغرى مثل النحاس والحديد والمنجنيز والزنك. أما بالنسبة للأحماض النووية فكانت نسبتها عالية فى كل من السلالاتين حيث أعطت كل من *S. cerevisiae*، *C. utilis* NBIMCC 608 أحماض نووية بنسبة ٩,٤٢٪، ٨,٧٩٪ على التوالى.

وإرتفاع نسبة الأحماض النووية يسبب مشاكل صحية للإنسان عند إستهلاك الخميرة بكمية كبيرة. لذلك وجب معالجة الخميرة لتقليل محتواها من الأحماض النووية، وهذا ما سوف نتعرض له فى جزء لاحق من هذه الدراسة.

١٥- أظهرت التحاليل أيضا أن هناك ١٦ حامض أمينى فى كلا السلالتين منهم ٩ أحماض أمينية أساسية وهى سيستين، ليسين، مثيونين، أيزوليوسين، ليوسين، فنيل ألانين، تيروزين، ثريونين وفالين.

١٦- كل من السلالتين أعطت Chemical score مرتفع للحامض الأمينى الكبريتى السيستين عن بروتين الـ FAO. حيث أعطى ١٠٠٪، ١٢٨٪ لكل من *S. cerevisiae*، *C. utilis* NBIMCC 608 على التوالى.

١٧- أظهرت النتائج أيضا أن معامل الأحماض الأمينية الأساسية (EAAI) وكذلك القيمة الحيوية للبروتين (B.V.) كان ٨٢,٤٨، ٧٨,١٧ لـ *S. cerevisiae* بينما كان ١٠٠,٥٩، ٩٧,٩١ لـ *C. utilis* NBIMCC 608 على التوالى.

١٨- نتيجة لإرتفاع محتوى الكتلة الحيوية لكلا السلالتين من الأحماض النووية كان لابد من إستخدام طريقة لخفض محتواها من الأحماض النووية حتى لا تكون حصوات بالكلى أو المجارى البولية أو يترسب حمض اليوريك فى الأنسجة والمفاصل مسببا مرض النقرس. ولتحقيق هذه الغاية فى خفض الأحماض النووية إستخدمت طريقة الصدمة الحرارية. وأوضحت النتائج أن أكبر إنخفاض فى الأحماض النووية لـ *S. cerevisiae* كان ٧٠٪ عند إستخدام الصدمة الحرارية على درجة ٦٠°م لمدة ٣٠ ثانية على pH ٤,٠ مع نسبة فقد فى البروتين ١٣,٧٪. بينما كان أكبر إنخفاض فى الأحماض النووية لـ *C. utilis* NBIMCC 608 كان ٧٣,٢٪ عند إستخدام الصدمة الحرارية على درجة ٦٠°م لمدة ٦٠ ثانية على pH ٤,٠ مع نسبة فقد فى البروتين ٨,٤٪.

١٩- ورغبة فى رفع إنتاج هذه السلالات تم محاولة إستخدام أشعة جاما فى إستحداث طفرات أو الوصول إلى جرعات تنشيطية تؤدى إلى زيادة إنتاج الخمائر المختبرة من البروتين والكتلة الحيوية فقد تم تعريض السلالتين لجرعات محتلفة من أشعة جاما من ٥ إلى ٧٠ كيلو راد لدراسة تأثير الإشعاع على المحتوى البروتينى والكتلة الحيوية وقد وجد أنه زادت الكتلة الحيوية لـ *S. cerevisiae* عند تعريضها لـ ٤٠ كيلو راد مع ظهور بعض المستعمرات الفردية فى بعض المعاملات (١٠، ٣٠، ٦٠ كيلو راد) التى أعطت

زيادة فى الكتلة الحيوية والمحتوى البروتينى عن غيرها من العزلات وكذلك عن الغير معاملة بالأشعة (المقارنة). وبالنسبة لـ *C. utilis* NBIMCC 608 أدى تعريضها إلى ٥، ٣٠، ٥٠ كيلو راد إلى زيادة فى محتواها من البروتين والكتلة الحيوية وكان أعلى زيادة عند ٥٠ كيلو راد.

٢٠- عند إعادة تنمية كل العزلات الممتازة من الإختبار السابق والتى أظهرت زيادة واضحة عن الخميرة غير المعاملة بالأشعة فإن هذه العزلات عادت إلى مستواها قبل التشعيع فى محتواها من البروتين والكتلة الحيوية. مما يدل على أن هذه الطفرات لم تكن دائمة ولكن التغيير كان مؤقتا وتمكنت هذه السلالات أن تصلح ما تم تدميره من الحمض النووى DNA بالإشعاع لتعود لحالتها الطبيعية قبل التشعيع.

ولكن تجارب التشعيع تفيدنا بأن الجرعة ٤٠ كيلو راد يمكن إستخدامها كجرعة تنشيطية لزيادة إنتاج الخميرة من الكتلة الحيوية ومحتواها من البروتين فى حالة *Saccharomyces cerevisiae* والجرعة ٥٠ كيلو راد يمكن إستخدامها كجرعة تنشيطية لـ *Candida utilis* NBIMCC 608.

دراسات ميكروبيولوجية على بعض البروتين بواسطة الكائنات الدقيقة

رسالة مقدمة من

حامد السيد أبوعلى

بكالوريوس فى العلوم الزراعية (علوم أغذية) - جامعة الزقازيق (١٩٨٢)
ماجستير فى الميكروبيولوجيا الزراعية (ميكروبيولوجى) - جامعة الزقازيق (١٩٩٢)

للحصول على
درجة دكتوراه الفلسفة فى العلوم الزراعية
«ميكروبيولوجى»

قسم النبات الزراعى
كلية الزراعة بمشتهر
جامعة الزقازيق/فرع بنها

١٩٩٦