الجمهورية العربية السورية

وزارة التعليم العالي

المعهد العالي للبحوث البحرية

قسم البيولوجيا البحرية

استخدام التقانات الحيوية لمعالجة المخلفات البحرية الشاطئية بهدف انتاج الكتلة الحيوية Biomass لاستخدامها كأعلاف حيوانية

رسالة أعدت لنيل درجة الماجستير في البيولوجيا البحرية

إعداد

ربيع رمضان ريَا

بإشراف

د . ازدهار عمار

أستاذة مساعدة في المعهد العالي للبحوث البحرية

د . مفيد ياسين

أستاذ في كلية الصيدلة

لجنة الحكم :

د. مفيد ياسين	أستاذ في قسم الكيمياء التحليلية والغذائية	كلية الصيدلة – جامعة تشرين	عضواً ومشرفاً
د. أحمد قره علي	مدرس في قسم الكيمياء البحرية	المعهد العالي للبحوث البحرية– جامعة تشرين	عضواً
د. بدر العلي	مدرس في قسم البيولوجيا البحرية	المعهد العالي للبحوث البحرية– جامعة تشرين	عضواً

اللاذقية 2014

نوقشت هذه الرسالة بتاريخ 2014 /3/9 وأجيزت، وتم الالتزام بكل التعديلات والتصويبات المقترحة من لجنة الحكم.

لجنة الحكم

أ . د . مفيد ياسين

أستاذ في قسم الكيمياء التحليلية والغذائية في كلية الصيدلة – جامعة تشرين

د. أحمد قره علي

مدرس في قسم الكيمياء البحرية في المعهد العالي للبحوث البحرية– جامعة تشرين

د. بدر العلي

مدرس في قسم البيولوجيا البحرية في المعهد العالي للبحوث البحرية – جامعة تشرين

شهادة

نشهد بأن العمل الموصوف بهذه الرسالة بعنوان:

استخدام التقانات الحيوية لمعالجة المخلفات البحرية الشاطئية بهدف انتاج الكتلة الحيوية (Biomass) لاستخدامها كأعلاف حيوانية

هو نتيجة بحث علمي قام به الطالب **ربيع رمضان ريا** تحت إشراف الأستاذ الدكتور **مفيد ياسين** والدكتورة **ازدهار عمار**، لم يسبق أن قدم لأي شهادة ، ولا هو مقدم حالياً للحصول على أي شهادة ، وأن أي رجوع إلى بحث آخر تم توثيقه في النص.

المشرف

أ . د مفيد ياسين

أستاذ في كلية الصيدلة

المشرف المشارك

د. ازدهار عمار

أستاذة مساعدة في المعهد العالي للبحوث البحرية

CERTIFICATION

It is hereby certified that the work described in thesis entitled

The Use Of Biotechnology To Treatment Of Coastal Remains Of Marine Organisms Aim Of Producing Biomass To Be Used As Fodder

Is a results of the work done by the student **Rabee .R. Raya** and carriedout by supervision of **Dr . Moufid Yassin and Dr. Izdihar Ammar** Has not been accepted for any degree and it is not being submitted concurrently for any other degree , any use of other research work has been acknowledged in the text

Dr . Moufid Yassin

professor, Faculty of Pharmacy

Dr. Izdihar Ammar

Associate professor, Dept of Marine biology at HIMR

تصريح

أصرح بأن هذا البحث الذي بين أيديكم بعنوان :

استخدام التقانات الحيوية لمعالجة المخلفات البحرية الشاطئية بهدف انتاج الكتلة الحيوية (Biomass) لاستخدامها كأعلاف حيوانية

المسجل في قسم البيولوجيا البحرية – المعهد العالي للبحوث البحرية ، لم يسبق أن قدم للحصول على أي شهادة وهو نتيجة عملي المخبري والمرجعي منذ 2011/7/26، وإن أي رجوع إلى بحث آخر في هذا الموضوع موثق ضمن نص الدراسة

الطالب

ربيع رمضان ريا

جامعة تشرين

كلية الآداب والعلوم الإنسانية

قسم اللغة العربية

السيد الدكتور عميد كلية الدراسات العليا للبحوث الجوية

بجامعة تشرين

عملا بقرار مجلس قسم اللغة العربية رقم / ٨٨ / تاريخ ١٨ / ٢ / ٢٠١٤ المتضمن

مدققا لغويا لرسالة **الماجستير** لمؤلفها الطالب سهيل [illegible]

وهي بعنوان (استخدام المضادات الحيوية لمعالجة التهابات الضرع عند الأبقار بهدف إنتاج الكتلة الحيوية (Biomass) لاستخدامها كأعلاف حيوانية)

وتم تصويب الرسالة وتدقيقها بعد المناقشة النهائية ، كما تم الالتزام بملاحظات المدقق اللغوي أصولا

وتفضلوا بقبول الاحترام

اسم المدقق وتوقيعه : د. وضحى يونس

رئيس قسم اللغة العربية

الدكتور عدنان أحمد

عميد كلية الآداب والعلوم الإنسانية

الدكتور يوسف جابر

كلمة الشكر

أتوجه بالشكر والامتنان إلى

رئاسة جامعة تشرين ممثلة بالأستاذ الدكتور هاني شعبان رئيس الجامعة

كما أتقدم بجزيل الشكر والامتنان إلى

عمادة المعهد العالي للبحوث البحرية ممثلة بالأستاذ الدكتور حامد ميهوب

وإلى أساتذتي الكرام في المعهد

وخالص الاحترام لأستاذي

الأستاذ الدكتور مفيد ياسين و الدكتورة ازدهار عمار

اللذين يعود لهما كبير الفضل في إنجاز هذه الدراسة وسبباً رئيسياً لإخراجها وتقديمها بأفضل أسلوب

والشكر كل الشكر للجنة الحكم

الدكتور أحمد قره علي و الدكتور بدر العلي

لتفضلها قبول الحكم على هذه الأطروحة

كما أشكر كل العاملين والمخبريين في مخبر الكيمياء الغذائية في كلية الصيدلة وفي المعهد العالي للبحوث البحرية على كل الجهود التي قاموا بها .

فهرس المحتويات

الموضوع	الصفحة
فهرس المحتويات	I
فهرس الأشكال الواردة في البحث	III
فهرس الجداول الواردة في البحث	IV
الإختصارات والمصطلحات الواردة	V
الملخص العربي	VI
مقدمة عامة :	1
الفصل الأوّل	
أهمية الأحياء البحرية ومخلفاتها ودور التقانات الحيوية في معالجة المخلفات	
1.1 مقدمة:	4
1. 2 لمحة عن الأحياء البحرية القاعية (أهم الوحدات التصنيفية، الأشكال المورفولوجية):	4
1. 3 التركيب الكيميائي الحيوي للأحياء البحرية المقذوفة على الشاطئ	6
1 . 4 الأهمية البيئية والتطبيقية للمتعضيات البحرية	10
1. 5 إنتاج الكتلة الحيوية الغنية بالمادة البروتينية من المخلفات باستخدام التقانات الحيوية	13
1 . 5 . 1 أهمية إنتاج الكتلة الحيوية والبروتين وحيد الخلية بواسطة الأحياء الدقيقة	14
1. 5 . 2 إنتاج الكتلة الحيوية من المخلفات الزراعية والزراعية الصناعية	16
1 . 5 . 3 إنتاج الكتلة الحيوية والبروتين وحيد الخلية من مصادر أخرى مختلفة	20
1. 5 . 4 استخدامات الكتلة الحيوية الناتجة عن معالجات المخلفات	22
الفصل الثاني المواد والطرائق	
2. 1. مناطق الدراسة :	25
2. 2 مادة البحث الحية	26
2. 2. 1 المخلفات الشاطئية من الأحياء البحرية	26
2. 2 . 2 الأحياء الدقيقة المعزولة المستخدمة في عمليات المعالجة الحيوية للمخلفات :	31
2. 2. 3 عزل مجموعة من الأحياء الدقيقة من المخلفات المتراكمة على الشاطئ لاستخدامها في عملية التخمر المخبرية:	34
2 . 2 . 4 . تحضير معلق الأبواغ (البادئ)	34
2. 3 تحضير أوساط التخمير السائلة والصلبة :	35
2. 3. 1 الزراعة السائلة و تحضير وسطي التخمير الأول والثاني	35
2 . 3 . 2 تحضير وسط التخمير الثالث:	35

2. 3 . 3 وسط التخمير بماء الحنفية(الشرب) فقط : 36
4. 3. 2 الزراعة الصلبة وتحضير أوساط التخمير 36
4-2 تجهيزات البحث 36
1-4-2 الأدوات والأجهزة المستخدمة 36
2-4- 2 المواد الكيميائية والكواشف المستخدمة : 37
5 . 2 الطرائق التحليلية 37
6 .2 تطبيق خلطة علفية وتجريبها على مجموعة من (فراخ الدواجن) 37

الفصل الثالث

معالجة المخلفات البحرية مخبرياً وتطبيقها على الدواجن

1-3 التركيب الكيميائي الحيوي للمخلفات المقذوفة على الشاطئ : 38
2-3 اغناء المخلفات البحرية الشاطئية عن طريق عمليات التخمير: 39
3- 2-1 تأثير الفترات الزمنية المختلفة للتحضين على انتاج البروتين: 39
2-2-3 تغيرات درجة الحموضة pH خلال مراحل إنتاج البروتين 42
3-2-3- تأثير شروط الوسط التخمري الثالث على نمو الأحياء وإنتاج البروتين في المزرعة 44
3- 2- 4 تأثير وسط التخمير بماء الحنفية على إنتاج البروتين : 46
3-2 -5 الزراعة الصلبة و أوساطها التخمير : 46
3– 3 تطبيق خلطة علفية تجريبية على فراخ فروج اللحم 47
3- 4 النتائج 52
5-3 التوصيات 53
المراجع الأجنبية 54
الملخص الأجنبي 68

فهرس الأشكال الواردة في البحث

الشكل	عنوان الشكل	الصفحة
الشكل(1)	منطقة جمع العينات في المدينة الرياضية	25
الشكل(2)	منطقة جمع العينات شاليهات الدراسات شمال اللاذقية	25
الشكل(3)	منطقة جمع العينات شاطئ مريديان اللاذقية	26
الشكل(4)	مخلفات بحرية متراكمة على شواطئ المدينة الرياضية وشاليهات الدراسات	30-29
الشكل(5)	خلايا الخميرة *S. cerevisiae*	32
الشكل(6)	الفطر *A. niger* على وسط Czapeck Dox's agar	32
الشكل(7)	الفطر *G. candidum* على وسط PDA	33
الشكل(8-a)	الخميرة X_1 المعزولة من المخلفات الشاطئية	34
الشكل(8-b)	الخميرة X_2 المعزولة من المخلفات الشاطئية	34
الشكل(9)	تغيرات pH خلال مراحل انتاج البروتين في مزارع الأحياء النامية على الوسط التخمري الثاني قبل الحلمهة	43
الشكل(10)	تغيرات pH خلال مراحل انتاج البروتين في مزارع الأحياء النامية على الوسط التخمري الثاني بعد الحلمهة	43
الشكل(11)	الخلطة العلفية التجريبية	48
الشكل(12)	العلف التجاري المحبحب	48
الشكل(13)	الزيادة اليومية في الوزن (غ) للمجموعتين المتغذيتين على لخلطة العلفية التجريبية والعلف التجاري من عمر 3-16 يوم	51
الشكل(14)	الزيادة اليومية في الوزن (غ) للمجموعتين المتغذيتين على الخلطة العلفية التجريبية والعلف التجاري من عمر 3-31 يوم	51

فهرس الجداول الواردة في البحث

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
جدول (1)	الوضع التصنيفي للأحياء البحرية النباتية المتراكمة على الشاطئ في مناطق الدراسة	30
جدول (2)	الوضع التصنيفي للأحياء البحرية الحيوانية المتراكمة على الشاطئ في مناطق الدراسة	31
جدول (3)	تصنيف الأحياء الدقيقة المستخدمة في عمليات المعالجة للمخلفات الشاطئية	33
جدول (4)	نتائج التحاليل الكيميائية الحيوية للعينات المدروسة ونسبها المئوية في المادة الجافة	38
جدول (5)	تأثير الفترات الزمنية المختلفة على انتاج البروتين بواسطة الأحياء المستخدمة قبل الحلمهة على الوسط الأول (غ/ 100غ مادة جافة) بعد مرور 15 يوم	39
جدول (6)	تأثير الفترات الزمنية المختلفة على انتاج البروتين بواسطة الأحياء المستخدمة بعد الحلمهة (غ/ 100غ مادة جافة) على الوسط الأول بعد مرور15 يوم	40
جدول (7)	تأثير الفترات الزمنية المختلفة على انتاج البروتين بواسطة الأحياء المستخدمة قبل الحلمهة على الوسط الثاني (غ/ 100غ مادة جافة) بعد مرور 15 يوم	41
جدول (8)	تأثير الفترات الزمنية المختلفة على انتاج البروتين بواسطة الأحياء المستخدمة بعد الحلمهة (غ/ 100غ مادة جافة) على الوسط الثاني بعد مرور 15 يوم	41
جدول (9)	تأثير شروط الوسط التخمري الثالث على انتاج البروتين بواسطة الأحياء المستخدمة (غ/ 100غ مادة جافة) بعد مرور 25 يوم	44
جدول (10)	تأثير الفترات الزمنية المختلفة على انتاج البروتين بواسطة الأحياء المستخدمة(غ/ 100غ مادة جافة) بعد مرور 15 يوم على المزارع المحضرة بماء الحنفية	46
جدول (11)	نتائج تحليل البروتين بالزراعة الصلبة	46
جدول (12)	مكونات العلف التجاري المحبحب (بيليت) في 1 كغ علف جاهز	48
جدول (13)	مكونات الخلطة العلفية التجريبية في 1 كغ علف جاهز	49
جدول (14)	متوسطات الوزن اليومي لمجموعة الدواجن الخاضعة للخلطة العلفية التجريبية	49
جدول (15)	متوسطات الوزن اليومي لمجموعة الدواجن الخاضعة للعلف التجاري	50
جدول (16)	متوسط نتائج تطبيق الخلطة العلفية والعلف التجاري على فراخ فروج اللحم	50

الاختصارات والمصطلحات الواردة

SCP	Single Cell protein	بروتين وحيد الخلية
UNEP	United Nation Environment Program	برنامج البيئة للأمم المتحدة
FAO	Food and Agriculture Organization	منظمة الأغذية والزراعة
YPC	Yeast protein concentrate	البروتين الخميري المركز
SCO	Single cell Oil	زيت وحيد الخلية
PDA	potato dextrose agar	
AOAC	Association of Official Analytical Chemists	جمعية الكيميائيين التحليلية الرسمية
Rpm	Rotation per minute	دورة في الدقيقة
X_1		سلالة الخميرة الأولى المعزولة
X_2		سلاة الخميرة الثانية المعزولة
%غ م. ج	غ / 100 غ مادة جافة	

ملخص

تناولت هذه الدراسة معالجة بقايا الأحياء البحرية المتراكمة على الشاطئ باعتبارها مواداً أولية عالية القيمة الغذائية، شكلت وسطاً تخمرياُ تم استعماله للحصول على كتلة حيوية (Biomass) غنية بالمادة البروتينية باستخدام سلالات من الخمائر والفطور المعزولة من أوساطها الطبيعية وهي *Saccharomyces cerevisiae* و *Aspergillus niger* و*Geotrichum candidum*، وسلالتين من الخمائر المعزولة من نفس المخلفات المتراكمة على الشاطئ. جمعت المخلفات الشاطئية من الأحياء البحرية في عدة مواقع من الشاطئ السوري وبعد انتهاء المرحلة الحقلية بدأت الدراسة المخبرية، والتي تضمنت دراسة مورفولوجية وتصنيفية لهذه الأحياء البحرية الحيوانية والنباتية وتم تحديد أنواع المخلفات الحية حتى مستوى الجنس والنوع، ومن ثم حدد التركيب الكيميائي الحيوي لهذه الأحياء لمعرفة محتواها من السكريات والبروتينات والمواد الدسمة. لوحظ ارتفاع نسبة السكريات في العينات مما يخولها أن تكون مصدراً كربونياً وحيداً في الأوساط الزرعية التي ستنمو عليها الفطريات والخمائر وستستخدمها في بناء كتلتها الحيوية، كما أظهرت العينات انخفاضاً لنسب البروتينات والمواد الدسمة بشكل عام وخاصة في العينات النباتية.

بدأت مرحلة المعالجات الحيوية للمخلفات المدروسة حيث تم غسلها وتجفيفها وطحنها لتكون جاهزة كأوساط تخميرية بدون معالجة كيميائية (حلمهة) في البداية، ومن ثم لغرض المقارنة حلمهت حمضياً بوساطة حمض الكبريت بتركيز 2% بهدف تحرير أعلى نسبة من السكريات الموجودة في هذه المخلفات لتكون بمتناول الفطريات في عملية النمو وبناء الكتلة الحيوية.

حضرت أوساط التخمير بطريقتي الزراعة السائلة والصلبة وحددت فيها معطيات مختلفة لعملية التخمير من المصدر الآزوتي والأملاح المعدنية المضافة ودرجة الحرارة وتركيز ونوع المخلفات وتركيز البادئ وفترات التخمير المختلفة. بينت النتائج أن كمية البروتين تتناسب طرداً مع زيادة الفترة الزمنية للحضن حتى اليوم الخامس عشر، حيث بلغ أعلى محتوى من البروتين (28.52، 25.13، 20.46 غ/100غ مادة جافة) بالنسبة للفطر *Aspergillus niger* و *Saccharomyces cerevisiae* و*Geotrichum candidum* على الترتيب مقارنة مع محتوى بروتيني 3.44% مادة جافة في المادة الأولية، وذلك في الوسط التخمري الثاني للزراعة السائلة بعد الحلمهة الحامضية. تزايدت نسب البروتين بشكل ملحوظ بعد عملية الحلمهة الحامضية مقارنة مع النسب قبل الحلمهة، وبالتالي فإن المعالجة الأولية باستخدام الحلمهة الحامضية للمخلفات زادت من نسبة السكريات المتخمرة المستقلبة من هذه المخلفات، والتي استخدمت كمصدر للكربون في عملية النمو وبناء الكتلة الحيوية.

بعدئذ تم تطبيق خلطة علفية على الدواجن استبدل فيها المصدر البروتيني النباتي (فول الصويا) في العلف التجاري بشكل كامل بالكتلة الحيوية الناتجة عن التخمير والتي احتوت على أعلى نسبة من البروتين الحيوي الناتج، حيث كان معدل النمو اليومي 18.67غ ومعامل تحويل الغذاء 2.05 لصيصان التجربة من عمر3–16 يوم. ومن ثم استكملت التجربة ذاتها بالعلف التجاري من عمر(16–31 يوم)، ولم يلحظ أي تغير كبير على مستوى الحجم والمظهر الخارجي أصاب صيصان التجربة التي تغذت في مراحل مبكرة على الكتلة الحيوية المتخمرة .

أثبتت هذه الدراسة إمكانية ودور المعالجات الحيوية في تحويل واحدة من المشكلات البيئية (مخلفات الأحياء البحرية المتراكمة على الشاطئ) إلى منتجات غذائية .

الكلمات المفتاحية : *Saccharomyces cerevisiae* ، *Aspergillus niger*، *Geotrichum candidum* ، الكتلة الحيوية ، علف ، مخلفات الأحياء البحرية .

مقدمة عامة General Introduction:

تتحدر التقانة الحيوية من سلف قديم من أول مشروب مخمر وأول كوب من اللبن وأول قطعة جبن، فمنذ آلاف السنين استخدم أناس من مختلف الحضارات هذه العمليات البيولوجية في شكل منظم لصناعة الأغذية والأصبغة والأدوية والوقود والمواد اللاصقة والورق..... (Bekatorou *et al*., 2006).

يمكن أن تعرف التقانات الحيوية بمفهومها الواسع بأنها مجمل العمليات التي تستخدم النظم الحيوية والكائنات الحية أو مكوناتها لإنتاج أو تحوير أو تطوير منتجات أو عمليات من أجل استخدامات معينة تكون ذات قيمة وفائدة للإنسان، قدمت التقانات الحيوية عموماً خدمات عديدة في مختلف المجالات من خلال زيادة إنتاج المحاصيل ومقاومة الأمراض والإنتاج الغذائي والدوائي والتحسين البيئي وغيرها (Steinhäusler, 2011) من الممكن أن تكون الكائنات الحية الدقيقة هي مصنع كيميائي يستطيع تحت ظروف معينة ومحددة أن ينتج المئات من المنتجات الغذائية والصناعية والطبية نتيجة للتغيرات الكيميائية التي تحدثها على بعض المواد الخام (Walsh, 2007). وقبل الإقدام على استخدام الكائنات الحية الدقيقة في إنتاج أي من المنتجات الغذائية أو الصناعية بمردود اقتصادي يجب أن يتوفر الكائن الحي القادر على إنتاج المنتج الاقتصادي إضافة إلى البيئة المناسبة وهي المادة الخام التي يعمل عليها الكائن الحي.

من أكبر المشكلات التي تواجه العالم حالياً هي نقص الغذاء وخاصة المنتجات البروتينية لذلك اتجهت أنظار الباحثين إلى محاولة إيجاد مصادر غذائية رخيصة الثمن مثل البروتين وحيد الخلية (Single Cell protein) وذلك بتنمية الأحياء الدقيقة كالبكتيريا والفطريات والخمائر والطحالب التي تتميز بسرعة نموها على المخلفات والمواد رخيصة الثمن مثل بقايا المنتجات والصناعات المختلفة

(Abo-Hamed , 1993; Puniya *et al*., 1995; Gashgari, 1999).

من أهم المعايير لإنتاج البروتين من المخلفات هي أن تكون هذه المخلفات وفيرة غير سامة، رخيصة وغير ملوثة و قادرة على دعم النمو السريع للأحياء وتضاعفها مما يؤدي بالنتيجة إلى كتلة حيوية نوعية، (Dhanasekaran *et al*., 2011).

تشير الإحصائيات الأخيرة الصادرة عن منظمة الأمم المتحدة أنه في عام 2050 سيصل تعداد سكان الكرة الأرضية إلى حوالي 9.10 مليار نسمة وتؤكد الدراسات والأبحاث الصادرة من منظمة الزراعة والأغذية العالمية أن العالم سيشهد مجاعة خطيرة جداً بسبب نقص مادة البروتين والتي قد تصل إلى 30 مليون طن وأن التطور الصناعي في المجال الزراعي سوف يسهم في رفع الإنتاج الزراعي بمقدار 2.5% وهذا بكل تأكيد لا يعالج مشكلة النقص الحاد لمادة البروتين (Tengerdy , 2000)

تحوي المخلفات الناتجة سواء عن الزراعة أو الصناعة أو تلك المتراكمة على الشاطئ بشكل عام على كميات قليلة من المادة البروتينية غير كافية لسد النقص في الأعلاف الحيوانية في حال تم استخدامها بصورة مباشرة، إضافة إلى إحتوائها على السكريات المركبة مثل السللوز ومرافقات السللوز والتي تسبب صعوبة إضافية في عمليات الهضم والإمتصاص من قبل الحيوانات، وبالتالي فإن التخلص من هذه المخلفات هو واحدة من كبرى المشاكل البيئية، ولحل تلك المعضلة كان لا بد من البحث عن وسيلة طبيعية آمنة صحياً ولا تمثل عبئاً جديداً على البيئة المثقلة بالملوثات، وتكون في الوقت نفسه زهيدة الثمن بسيطة التجهيز. هذا ما دفع إلى إمكانية الإستفادة القصوى منها واستخدامها كركيزة في التحويل البيولوجي عبر الأحياء الدقيقة، حيث تبدأ معالجات التقانة الحيوية من مواد رخيصة مثل المخلفات وتنتهي بمنتجات إقتصادية هامة عبر مجموعة من الأحياء الدقيقة مثل الخمائر والفطريات التي تحتاج في مزارعها إلى مصدر للكربون والطاقة بالإضافة إلى مصدر للآزوت والأملاح المعدنية مثل الفوسفور والكبريت لتنتج الكتلة الحيوية التي تستخدم كغذاء (Ugalde and Castrillo, 2005).

نتطرق في هذا البحث إلى المخلفات البحرية الشاطئية التي يعتبر تراكمها على الشواطئ بكميات كبيرة مشكلة بيئية ذات علاقة بصحة البيئة والإنسان مثل انتشار الأمراض وتوالد الحشرات والبعوض إضافة إلى تأثيرها السلبي على السياحة والمنظر العام، لذلك يتم التخلص من هذه المخلفات قبيل وخلال أشهر الصيف ولكن بطريقة غير علمية كغيرها من المخلفات ولا يتم الاستفادة من هذه المكونات الحية المتراكمة على الشاطئ والتي تحتوي على نسبة من المعادن والألياف والمواد الغذائية والعضوية والتي تقارب في قيمتها الغذائية قيمة العناصر الموجودة في المصادر التقليدية للغذاء. أثبتت أبحاث عديدة الأهمية الكبيرة لهذه المخلفات البحرية وإمكانية استخدامها في مجال الزراعة بشكل أساسي كمخصب حيوي، وأيضاً على الإستفادة منها في مجال الطب والتغذية بعد تبسيط المحتوى الكيميائي لها، أو يتم جمعها بشكل منفصل ومعالجتها عبر بعض أنواع من البكتريا والطحالب الدقيقة التي لها القدرة على التغذية على المواد العضوية وتحويلها إلى أسمدة عضوية. لكن التوجه في هذا البحث كان نحو معالجة المخلفات البحرية الشاطئية بما تحويه من بقايا نباتية وحيوانية في الشاطئ السوري وتحويلها إلى أعلاف مغذية غنية بالعناصر الأساسية والفيتامينات والبروتينات وإغناء هذه المخلفات العضوية عن طريق التخمير وزراعة الأحياء الدقيقة.

جمعت الأحياء البحرية المخلفة على الشاطئ بما تحتويه من موادً قابلة للتخمُّر والتحلل وتم معالجتها باستخدام مجموعة من الأحياء الدقيقة تحت شروط معينة وذلك لتحسين قيمتها الغذائية وزيادة قابليتها للهضم ورفع محتواها من الطاقة والبروتين الخام فضلاً عن تحسين درجة استساغتها مما يؤدى إلى زيادة استهلاكها وبالتالي توفير جزء من العليقة المركزة، حيث أن إنتاج الكتلة الحيوية يجعل الأحياء المجهرية ومكوناتها جزءاً من الغذاء أو الغذاء بكامله.

أهمية البحث وأهدافه Importance and Aims of research :

أهمية البحث Importance of research :

تأتي أهمية هذا البحث من كونه بحث تطبيقي يعتمد مجال استخدام التقانات الحيوية والإستفادة من تطبيقاتها في إنتاج أعلاف حيوانية للمزارع السمكية وللدواجن، والبحث عن مصادر أخرى غير تقليدية لإنتاج العلف من بعض الخامات المتوفرة محلياً دون اللجوء إلى إستيراد مكونات هذه الأعلاف، وزيادة الحاجة إلى الثروة الحيوانية وبالتالي زيادة الحاجة إلى كميات إضافية من العلف، وأيضاً المساهمة بتنظيف الشواطئ من هذه المخلفات وتحسين المنظر العام للشاطئ .

أهداف البحث Aims of research :

- دراسة مورفولوجية وتصنيفية للأحياء البحرية المقذوفة على الشاطئ
- دراسة التركيب الكيميائي الحيوي لهذه للأحياء.
- معالجة المخلفات البحرية باستخدام التقانة الحيوية لزيادة المحتوى من البروتين .
- تطبيق خلطة علفية تجريبية.

الفصل الأول

أهمية الأحياء البحرية ومخلفاتها ودور التقانات الحيوية في معالجة المخلفات

Importance Of Marine Organisms And Their Remains And The Role Of Biotechnology In Waste Treatment

1.1. مقدمة Introduction :

تبدي الأحياء البحرية تنوعا كبيراً سواء من النواحي التصنيفية أو من حيث الشكل والحجم والمعيشة والتكاثر وتحوي البحار على ممثلين لأغلب المجموعات التصنيفية النباتية والحيوانية وبالتالي يمكننا القول إن التنوع المورثي والكيميائي الحيوي والفيزيولوجي مرتفع جداً في البحار، حيث تتكيف الكائنات البحرية مع الحياة في البحار والمحيطات التي تحكمها شروط بيئية قاسية مثل الملوحة العالية، درجة الحرارة المنخفضة، الضغط العالي، قلة الغذاء كل هذا يدفعها الى اتباع وسائل للتكيف وإلى تطوير وإفراز منتجات طبيعية تختلف عن تركيبة المواد التي تنتجها الكائنات الأرضية التي تعيش في شروط مختلفة (Faulkner, 2000).

عزل حوالي 7000 منتج طبيعي بحري من الأحياء البحرية، 25% منها عزل من الطحالب و33% من الاسفنجيات و24% من اللافقاريات البحرية الأخرى (Kijjoa and Sawangwong, 2004).

يعتمد استخدام الأحياء البحرية النباتية والحيوانية كأعلاف أو كمواد أولية في الصناعات المختلفة على مدى توفرها المحلي وتركيبها الكيميائي الحيوي وقيمتها الغذائية والطاقة الناتجة عنها، إضافة إلى نسبة الكتلة العضوية من الوزن الجاف والتي تتراوح في الطحالب البحرية من30– 80% على شكل ألياف ومكونات هيكلية. (Torbatinejad and Sherlock, 2008).

1. 2. لمحة عن الأحياء البحرية القاعية (أهم الوحدات التصنيفية، الصفات المورفولوجية):

Background On Taxonomy And Morphology Of Marine Organisms

تتكون المخلفات البحرية الشاطئية في معظمها من كائنات قاعية نباتية (طحالب بحرية كبيرة) وحيوانية مثل الرخويات والقشريات والإسفنجيات وبكميات تتناسب مع انتشار ووجود أنواع هذه المجتعات في البيئة البحرية، حيث تغزر هذه الأحياء في المنطقة الشاطئية حتى عمق 200 م، تعد شعبة الرخويات من أهم الشعب الحيوانية في البحار وتضم أكثر من 110.000 نوع أي أكثر مرتين من عدد أنواع الفقاريات. تتصف أجسام الرخويات كما تدل التسمية بأنها رخوة القوام، يغطى الجسم الرخو عادة بغطاء صلب يسمى الصدفة أو القوقعة

وهي تتركب من كربونات الكالسيوم وتكون مؤلفة من صدفة واحدة أو صدفتين بأشكال مختلفة لحماية الحيوان (Cosentino and Giacobbe, 2006).

تختلف الرخويات من حيث النوع والحجم بالنسبة للأصداف التي تحملها إذ تتراوح أطوالها بين عدة مليمترات وبين بضعة أمتار كما في سواحل البحر الأحمر (حيث توجد أصداف يبلغ طول قطرها الكبير بين 70–80 سنتيمتراً)، نجد أن هنالك تبايناً من ناحية الوزن حيث يتراوح بين بضع غرامات إلى عدة كيلوغرامات كما هو الحال في المحيط الهادي حيث عثر على أصداف بلغ وزن الواحدة منها أكثر من (12) كيلوغرام. ومن أكثر صفوف الرخويات انتشاراً هي بطنيات القدم وثنائيات المصراع (Dekker and Orlin, 2000). من المجاميع الكبيرة ايضاً في البحار القشريات التي تشتمل السرطانات (Crabs)، الجمبريات (Shrimp)، براغيث الماء، مجدافيات الأرجل، والدرقيات وغيرها كثير (Ngoc-Ho, 2003). تم توصيف وتسمية 000 38 نوع من القشريات حتى الوقت الحاضر. وقد طرأ على عملية التصنيف التي اعتمدت على Bowman and Abele عام (1982) تغيرات لجهة بروز تجمعات قشرية جديدة وظهرت رتب وفصائل جديدة. يتضمن التصنيف الحالي للقشريات 849 فصيلة و42 رتبة و6 صفوف مع زيادة مقدارها 200 فصيلة منذ تصنيفهما (Martin and Davis, 2001)، كما تم حصر وتصنيف233 فصيلة من عشاريات الأرجل (Decapods) و2725 جنس، و17635 نوعاً موجود حالياً ومنقرض (Degrave *et al*., 2009).

تغزر الإسفنجيات في المياه على مختلف الأعماق وخاصة في المياه الشاطئية وفي مناطق التيارات البحرية الغنية بالبلانكتون وتعيش حياتها مثبتة على الصخور أو الأصداف أوالشعاب المرجانية أو على الأخشاب الطافية أوالأجسام الغارقة أو بجوار السفن وأعمدة الموانى. بعض الأنواع تنمو على رمال أو طين القاع، تضم شعبة الإسفنجيات /5000/ نوعاً حالياً، تصنف هذه الاسفنجيات تبعاً لطبيعة هياكلها وأحياناً تبعاً لبنيتها الداخلية إلى ثلاث صفوف: صف الإسفنجيات الكلسية والسيليسية والغروية (Hopper and VanSoest, 2002).

بدأت دراسة القاعيات على الشواطئ السورية منذ الثمانينات، بدراسة تصنيفية لشعبة الرخويات (كروم وآخرون، 1989) ثم تتالت الأبحاث في المنطقة الشاطئية وتحت الشاطئية والتي تناولت دراسة التركيب النوعي والكتلة الإحيائية للقاعيات الحيوانية ونظامها البيئي (صقر، 1992) ودراسة القشريات ونظامها البيئي في شاطئ مدينة اللاذقية (صقر، 1996) كما تم دراسة القاعيات الحيوانية وتأثير الهيدروكربونات البترولية عليها وقد تم تحديد 592 نوعاً تعود إلى 16 وحدة تصنيفية كبيرة أهمها Crustacea, Gastropoda, Porifera و(19) نوعاً تنتمي إلى وحدات تصنيفية صغيرة مختلفة (عمار، 2002).

ركزت دراسات عديدة تمت في المناطق الشاطئية وتحت الشاطئية على تحديد أنواع عديدة تنتمي إلى وحدات تصنيفية كبيرة مثل بطنيات القدم وثنائيات المصراع أغلبها يعود إلى قاعيات البحر المتوسط والأطلسي إضافة لأنواع عديدة هاجرت من المحيط الهندي عبر البحر الاحمر تضمنت49 نوعاً مهاجراً

(Bivalvia 12 Crustacea 15 , Gastropoda 21) (Ammar, 2004). كما بلغ عدد أنواع القاعيات الحيوانية في دراسة أخرى في المنطقة تحت الشاطئية 241 نوعاً و13 جنساً تنتمي إلى 13 وحدة تصنيفية كبيرة (عربية، 2011)، ووصل العدد الإجمالي لأنواع القراصيات إلى11 نوعاً وشوكيات الجلد 16 نوعاً في دراسة لتجمعات هذه الأحياء والأسماك المرافقة لها شمال مدينة اللاذقية (سويد ، 2009)

تتمثل الأحياء النباتية في البحار بالطحالب المجهرية والطحالب الكبيرة والأعشاب البحرية، الطحالب البحرية الكبيرة نباتات لا تملك جذوراً أو سوقاً أو أوراقاً إنما توصف بأنها مشريات تشمل الطحالب الخضراء والسمراء والحمراء تعيش في المناطق الشاطئية وتحت الشاطئية وإلى الأعماق التي تتوافر فيها الإضاءة اللازمة لعملية التركيب الضوئي، تتميز كل منها بالأصبغة اليخضورية والكاروتينية التي تعطي كل منها اللون المميز لها، تتنوع مشراتها بين المشرات الصفيحية والشريطية والحلزونية والورقية والحويصلية والشجيرية وغيرها (Gupta *et al* ., 2010)، تعتبر الطحالب السمراء من أكثر الطحالب تواجداً على الشاطئ وهي نباتات كبيرة الخلايا من نمط كلا دومي وأحياناً من نمط خيطي، يعتبر طحلب *Laminaria* أو مايسمى Kelp أ كبر هذه الطحالب فقد يصل طوله لـ 60 متراً .

تتلون الطحالب الحمراء باللون الأحمر أو البنفسجي نتيجة غزارة أصبغة الفيكوبيلين، وهذه الأصبغة تمكنها من العيش على أعماق كبيرة وامتصاص الضوء الخفيف الواصل الى تلك الأعماق. تتنوع مشراتها بين المشرات الرقيقة الضعيفة مثل *Porphyra* وبين المشرات المتكلسة القاسية مثل *Corallina*. وتبدو الطحالب الخضراء الأقرب الى النباتات الأرضية بسبب تشابه الأصبغة فيما بينها، تتثبت على الصخور بركيزة أو قاعدة قرصية تتنوع اشكالها المورفولوجية مابين الشكل الخيطي الشريطي عند *Enteromorpha* والشكل الاسفنجي المتفرع عند *Codium* والشكل الخيطي المنتهي بمظلة صغيرة عند *Acetabularia* (Kabbash. And , 2012 . (Shoeib

بدأت الدراسة المرتبطة بالطحالب في السبعينات على الشواطئ السورية وأنجز (Mayhob , 1976) أول دراسة للنباتات البحرية السورية تضمنت تصنيف (400 نوع) وتوصيفاً لبيئاتها وأشار إلى أنواع غازية كثيرة وذكر الخصائص المميزة لكل جنس (ميهوب، 1990). ودرس التنوع الحيوي للفلورا البحرية على شاطئ اللاذقية مع الإشارة الى الأنواع الغريبة والاقتصادية منها (عراج، 2012) .

1 . 3 . التركيب الكيميائي الحيوي للأحياء البحرية المقذوفة على الشاطئ : Biochemical Composition Of Thrown Marine Organisms On Sea Shore

تعد الأحياء البحرية مصدراً غنياً بالمنتجات الطبيعية استعملت منذ أزمنة قديمة كغذاء للإنسان والحيوان لغناها بالأحماض الأمينية والسكريات والمعادن والفيتامينات (Demirel *et al*., 2012)، بين الباحثين Wagdy و Shaarawy (1994) أن الأحماض الأمينية والسكريات من أهم المجموعات التي تدخل في تركيب خلايا

الطحالب وخضعت هذه الأحماض الامينية لتطبيقات واسعة في مجال الصناعات الغذائية للإنسان والحيوانات، وتم دراسة الطحالب التي وجدت في المناطق الشاطئية من منطلق كونها مصدر رخيص للكربون العضوي والبروتينات من أجل استخدامها كأعلاف للدواجن والأسماك. وتأتي أهمية الطحالب البحرية من كونها مصدر بروتيني بديل في مزارع السمك خصوصاً في المناطق الاستوائية و شبه الاستوائية حيث يكون إنتاج الطحالب عالٍ ومحتواها متميز من البروتينات والفيتامينات والحموض الدسمة (Tartiel *et al*., 2008).

أجرى الباحث Manivannan وزملاؤه عام (2008) دراسة لتحديد نسب البروتينات والسكريات والدسم لـ12 نوعاً من الطحالب البحرية وتراوحت النسب بين (3.25–17.08%) للبروتينات و(20.47– 23.9%) للسكريات و (1.33– 4.6%) للدسم وكانت أعلى نسبة بروتين في الطحلب *Padina gymnospora* وبلغت (0.28±17.08%)، كما تمت دراسة تراكيب البروتينات والسكريات لطحالب البحر المتوسط في تركيا حيث لوحظ تغيرات في النسب تبعاً للمكان والفصل فكانت أعلى نسبة للبروتين في الطحالب الحمراء بين (25.5-31 %) في طحلبي Polysiphonia، Ceramium وأخفض نسبة كانت (0.94%)، تستخدم السكريات المستخرجة من الطحالب في الغذاء وفي إعداد مستحضرات التجميل والورق والطلاء والنسيج ومواد البناء إضافة إلى استعمالاته في الأدوية الصيدلانية والمضادات الحيوية والمضادات الفيروسية (Dere *et al* ., 2003).

تتميز السكريات الموجودة في الطحالب بوجود الكبريتات لذلك تسمى السكريات الكبريتية مثال الآغار الذي يتكون من آغاروز وآغارو بكتين ويحوي كمية بسيطة من الكبريتات، والكاراجينان الذي يتألف من وحدات من الغالاكتوز، وسكر اللامينارين الموجود في الطحالب السمراء المكون من الغليكوز (Jiao *et al*., 2011).

تختلف كمية البروتين في الطحالب باختلاف الظروف الفصلية، فعلى سبيل المثال تمت المراقبة السنوية لكمية البروتين للطحلب *Palmaria palmate* الذي جمع من السواحل الاطلسية الفرنسية فكانت بين 9–25% بالنسبة للوزن الجاف وكانت أعلى قيمة خلال نهاية فصل الشتاء والربيع وأخفض نسبة خلال أشهر الصيف كما سجلت هذه الفروق الفصلية ايضاً في أنواع مثل *Laminaria digitata* , *Ulva lactuca* , تضم معظم الطحالب البحرية حمض الأسبارتيك والغلوتاميك معاً ليشكلا القسم الأكبر من الأحماض الأمينية ففي طحلب *Fucus sp* من الطحالب السمراء يشكل هذان الحمضان مابين 22–44% من مجموع الأحماض الأمينية وفي الطحالب الخضراء يشكلان بين 26–32% من المجموع الكلي للأحماض الأمينية (Fleurence, 1999). يتميز البروتين الطحلبي باحتوائه على نسب عالية من حمض الاسبارتيك والغلوتاميك والليزين والآلانين والأرجنين والفينيل الانين (Wagdy and Shaarawy, 1994).

قام كل منArporn وChirapart (2006) بتحليل لنسب البروتين والأحماض الأمينية والفيتامينات والمعادن والأحماض الدسمة لنوعين من الطحالب الخضراء هما *Ulva reticulate* و *Caulerpa lentillifera* حيث وصلت نسب البروتين إلى 21.06% و12.49% على التتالي، كما وجد أن طحلب *Ulva* غني بالبوتاسيوم

والمغنزيوم والحديد في حين أن *Caulerpa* غني بالفوسفور والكالسيوم والمغنزيوم والنحاس وحدد وجود العديد من الفيتامينات مثل A, E , C والتيامين والريبوفلافين والنياسين في كل منها.

تراوحت نسبة البروتين في الطحالب السمراء كمعدل وسطي بين(5–15%) من الوزن الجاف أما في الطحالب الحمراء والسمراء تراوحت بين (10-30 %)، وبلغت نسبة البروتين في خس البحر بين (6.92- 11.64%) ونسبة المواد الدسمة (0.28-1.06%) ونسبة الكربوهيدرات (24.33- 48.38%) (Banerjee *et al*., 2009)، وفي دراسة قام بها الباحث Demirel وزملاؤه (2012) لتحديد التراكيب البيوكيميائية لعدد من طحالب البحر المتوسط في تركيا كنسب السكريات والبروتينات والفينول وكانت أعلى نسبة من السكريات في الطحلب الأسمر *Scytosiphon lomentaria* (4.72±86.88%) وأعلى نسبة للبروتينات في الطحلب *Padina pavonia* (0.13±6.68%). وفي دراسة مماثلة قام بها Burtin (2003) سجلت نسب البروتينات في الطحالب السمراء قيماً تراوحت بين (5–11%) من الوزن الجاف، وفي دراسة أخرى (Marsham *et al*., 2007) وجد أن أعلى نسبة للبروتينات كانت (15.9%) في الطحلب *Laminaria digitata* و(17.4%) في*Fucus serratus* من الوزن الجاف.

شملت دراسة التراكيب البيوكيميائية مجموعة من الطحالب في شواطئ الهند أظهرت التحاليل أعلى نسبة من السكريات في طحلب *Sargassum* وبلغت 25,5% وأقل محتوى في *Caulerpa racemosa* وبلغت النسبة 8.5% (Murugaiyan *et al*., 2012) وتراوحت نسبة السكريات لمجموعة أخرى من الطحالب (4.5 - 39.9%) (Mohammadi *et al*., 2013) وسجل Akhtar وSultana (2002) قيماً مختلفة بلغت عند *Caulerpa* 32.9% و49.1% في *Colpomenia* بينما لاحظ Mcdermid وStuercke (2003) أن نسبة الدسم كانت3.1% في *Colpomenia sinosa* و1.4% في *Jania rubens* .

خضعت ايضاً مجموعة من الطحالب البحرية في المحيط الهندي لدراسات عديدة لتقييم قيمتها الغذائية وذلك على أساس محتواها من البروتين الكلي والسعرات الحرارية والسكريات والليبيدات والرماد فتبين أن للطحالب الخضراء قيمة غذائية تفوق الطحالب السمراء وأن لهذه الأخيرة قيمة وأهمية غذائية تفوق الطحالب الحمراء (Sethi, 2012) ومن خلال برنامج يهدف إلى عمل مسح كيميائي لطحالب البحر الأحمر فقد تم اختيار عشرة طحالب تنتمي إلى ثلاث مجموعات رئيسية على ساحل البحر الأحمر في منطقة شمال جدة لمعرفة المركبات الكيميائية المختلفة ومحتواها من الفوسفات، اليود، البروتين الكلي، الدسم، السكريات، المانيتول وقد أوضحت النتائج التركيزات التالية: بروتين (6.35 –34.25%)، مواد دسمة (1.3–7.46%) والمانيتول في الطحالب السمراء (25–39 ملغ /غ)، فوسفات(0.32–1.55 ملغ /غ)، اليود (0.01– 0.47 ملغ /غ)، كما تبين أن هناك علاقة عكسية بين محتوى البروتين ومحتوى الدسم في الطحالب ويوجد الفوسفات بنسبة عالية في الطحالب الخضراء ثم السمراء وبكميات أقل في الطحالب الحمراء وتبين احتواء الطحلب *Jania rubens* على نسب مرتفعة من السكريات والعناصر المعدنية (Khalil And EL-Tawil, 1982).

تعد الطحالب البحرية مصدراً هاماً للمعادن حيث تصل نسبة العناصر المعدنية في بعض الأنواع إلى أكثر من40% من المادة الجافة، وفي بعض الحالات تفوق النسب الموجودة فيها ما هو موجود في النباتات الأرضية والمنتجات الحيوانية. (Subba *et al.*, 2007). تحتوي الطحالب البحرية على العناصر المعدنية الأساسية بنسب (8.083− 17.875 ملغ/100غ) ومن هذه العناصر الكالسيوم والصوديوم والبوتاسيوم والمغنزيوم إضافة لعناصر الأثر بنسب (5.1− 15.2ملغ/100غ) مثل الحديد والنخاس والزنك والمنغنيز(Rupe´rez, 2002)، أما في طحلب *Jania rubens* وصلت نسبة المعادن إلى(0.99±31.47%) (Demirel *et al.*, 2012) .

تحوي الكائنات البحرية بشكل عام على نسب منخفضة من الدهون ولا تعتبر مصدراً هاماً للفيتامينات القابلة للذوبان في الدهون مثل A, D, K, E بينما تكون الفيتامينات القابلة للذوبان في الماء مثل B_1 B_6 , B_{12} موجودة بكميات مناسبة مع قليل من فيتامين C وهي مصدر غني بالمعادن مثل الحديد والمغنزيوم واليود والكالسيوم والفوسفور والكبريت والنحاس والبوتاسيوم (Anantharaman *et al.*, 2008).

تعتبر الرخويات البحرية وقواقعها أبرز ما يقذفه البحر على الشاطئ من مخلفات لأحياء حيوانية، فهي مصدر هام للبروتينات والدهون والسكريات وخاصة ثنائيات المصراع والتي هي على قيمة غذائية هامة كونها تقدم مجموعة من العناصر المعدنية التي تؤمن توازن الغذاء، حيث يشكل الغلكوجين المصدر الأساسي للطاقة بينما الليبيدات تعتبر منتجاً احتياطياً مغذياً في المناسل وتدخل في تركيب أغشية الخلايا وهي هامة للعمليات الفيزيولوجية والتكاثرية فيها وتعكس الشروط البيئية والكيميائية للبيئات البحرية وتقدم الطاقة أثناء النمو في شروط نقص الغذاء والمستوى المنخفض للسكريات (Anand *et al.*, 2010).

تشكل الرخويات 9% من مجمل إنتاج الحيوانات البحرية في أوروبا لكونها تمثل جزءاً هاماً من غذائهم، وفي دراسة لتراكيب المواد الدسمة في بلح البحر سجلت أخفض قيمة في أواخر الصيف والخريف وكانت (1.45 - 1.52 %) بالنسبة للوزن الجاف وأعلى نسبة للمواد الدسمة في أواخر الربيع وبداية الصيف وكانت (4.44-4.93 %) من الوزن الجاف (Zlatanos, 2008) وضح الباحث Brazao وزملاؤه (2003) أن كمية ونوعية الغذاء التي تصل للرخويات والتي تؤمن نموها تحدد بالضرورة نسب البروتينات والدهون والسكريات التي تدخل في تركيب أجسام هذه الرخويات إذ ترتبط التغيرات في نسب الدهون والماء في الجسم بشكل أساسي بالتغيرات في وفرة الطاقة في الغذاء، بينما ترتبط التغيرات في نسب بروتينات الجسم بكفاية مصدر النتروجين في الغذاء بالإضافة للطاقة المتوفرة فيه. ونظراً للأهمية الطبية والحيوية للأحماض الدسمة الموجودة في الرخويات وبسبب احتوائها على بعض المركبات الهامة في معالجة أمراض الأوعية القلبية فهي تشكل محور اهتمام العديد من الدراسات (Ekin and Başhan, 2010).

تعد القشريات البحرية في المنطقة الشاطئية بأنواعها هامة اقتصادياً بالنسبة للإنسان لكونها مصدراً من مصادر الغذاء كما تشكل غذاءاً رئيساً للعديد من أنواع الأسماك والحيتان. يرتبط التركيب البيوكيميائي للقشريات

بالشروط الفصلية والغذائية ومراحل التطور ففي دراسة لتحديد نسبة البروتينات والسكريات والكتين والدهون عند القشري *Mesopodopsis slabberi* درست عند الأفراد الفتية وعند الذكور والإناث الناضجة خلال دورة الحياة وأظهرت النتائج اختلافات فصلية واختلافات متعلقة بالشروط البيئية (Azeiteiro *et al*., 2003)، كذلك تم ربط التركيب البيوكيميائي لعدد من القشريات (الليبيدات والغليكوجين والكوليسترول) بالشروط البيولوجية والبيئية مثل فترة النضج الجنسي والتكاثر وتوفر الغذاء والعمق الذي تعيش فيه حيث أظهرت مستويات مرتفعة من الليبيدات خلال فترات النضج الجنسي ومستويات منخفضة من البروتينات خلال فترات الصوم (Rosa and , 2003 Nunes)، كما وجد في القشريات القابلة للإستهلاك نسب عالية من البروتينات والأحماض الدسمة والمعادن والفيتامينات لذلك هي في المستقبل محط أنظار الصناعات الدوائية (Hamdi, 2011).

تشكل الاسفنجيات جزءاً من الأحياء البحرية الهامة من ناحية التركيب البيوكيميائي واحتوائها على نسب عالية من البروتينات مثل إسفنج *Axinella polypoides* التي تصل فيه نسبة البروتين إلى 51.76% وتعد مصدراً للصادات الحيوية والعقاقير الطبية والمركبات الفعالة ضد مرض السرطان (Kumar and Zi- , 2004 rong). تأتي عموماً قيمتها الغذائية من احتوائها على العناصر الغذائية والفيتامينات والنسبة العالية للبروتينات التي تتراوح بين (44 - 52%) والليبيدات بنسبة تتراوح بين (10-11%) والسكريات بنسبة (6%) والفوسفور بنسبة تتراوح (0.3- 0.5%) (Hadas *et al*., 2005).

1. 4. الأهمية البيئية والتطبيقية للمتعضيات البحرية :

Applications And Environmental Aspects Of Marine Organisms

تعتبر البيئة البحرية التي تغطي أكثر من71% من مساحة الارض وسطاً بالغ التعقيد والغموض والتنوع إذ تحتوي على80% من الأحياء النباتية والحيوانية الموجودة على الأرض ومعظم هذه الأحياء تعيش في المنطقة الشاطئية التي لا تمثل إلا حوالي 9 % من مساحة قاع البحار إلا أنها الأكثر حيويةً وتقسم هذه المنطقة الى عدة طبقات متتالية الطبقة الشاطئية العليا : وتقع إلى الحد الأعلى للمد لا تغمر بالمياه وإنما تبللها الامواج والرذاذ المتطاير منها، الطبقة الشاطئية المتوسطة : وهي تمثل منطقة المد والجزر الحقيقية، والطبقة الشاطئية السفلى التي تمتد من المستوى الأدنى للجزر وحتى الأعماق التي تختفي معها الأحياء المحبة للإضاءة (Subramanian, 2005)، إن الشاطئ كنظام بيئي موطن لعدد كبير من الرخويات والقشريات والطحالب والأعشاب البحرية أما بالنسبة للأسماك فهي تتواجد بهياكلها العظمية لأن الاسماك النافقة لا تبقى طويلاً على الشاطئ حتى تلتقط من قبل الطيور، جولة شاطئية واحدة تظهر العديد من الأحياء البحرية من بطنيات القدم وثنائيات المصراع وقواقعها الفارغة أو الحاوية على الكائن الحي الأصلي مختبئ داخلها(Jacobson, 2005).

تؤدي العوامل الهيدرولوجية في البحار مثل درجة الحرارة والإضاءة والملوحة والكثافة دوراً مؤثراً على الحياة البحرية وخاصة في المنطقة الشاطئية التي تكون عرضةً لتغيرات كثيرة تلعب حركات المد والجزر الدور

الأكبر في هذه التغيرات لجهة ما تحمله من تبدلات في الشروط البيئية، ومن العوامل الأخرى المؤثرة على الحياة البحرية التيارات البحرية حيث تنتقل كثير من الأحياء البحرية مع مياه المحيطات والبحار من مكان لآخر بواسطة هذه التيارات (Kennedy *et al*., 2002).

تخضع الأحياء البحرية التي تشكل أهم مكونات النظام البيئي البحري إلى تأثيرات خارجية حادة ومزمنة بفعل التبدلات البيئية الناجمة عن إدخال مواد سامة مثل هيدروكربونات بترولية عطرية، هيدروكربونات كلورية، معادن ثقيلة، أسمدة ازوتية، صرف صحي وغيرها من النفايات الناجمة عن الأنشطة البشرية إلى البيئة البحرية وتتركز هذه الملوثات عند مصبات الأنهار وقرب المناطق الشاطئية حيث تؤثر هذه الملوثات على الخواص الكيميائية والفيزيائية لمياه المصبات والبحار وهذا بدوره ينعكس على الكائنات الحية التي تعيش في هذه المناطق الملوثة والأدلة على ذلك واضحة منها زيادة المواد العضوية في الرسوبيات الشاطئية، ازهرار الطحالب، بقايا النفط والمعادن الثقيلة في مياه البحار والرسوبيات وداخل الكائنات الحية (Lardicci and Rossi, 1997).

إن التلوث بات يشكل تهديداً خطيراً للأحياء البحرية وخصوصاً القاعية منها التي لا تستطيع الهرب أو الابتعاد عن الوسط الذي تعيش فيه وبالتالي هي نماذج حيوية عالية الحساسية للتغيرات البيئية مما يجعلها مؤشرات حيوية لحالات بيئية مثل التلوث والتغيرات في درجة الحرارة ومستوى المياه (Pezzoli, 2010)، تستجيب الكثير من الرخويات البحرية لضغوط التلوث من الناحية الشكلية والتكاثرية ففي دراسة على أنواع الرخوي *Patella* ظهر عنده مؤشر نضج جنسي أبكر وطول قوقعة أكبر في المناطق الاكثر تلوثاً بالمواد العضوية (Liu, 1994). لذلك اعتمد على بعض أنواع القاعيات البحرية القريبة من مصادر التلوث في برامج مراقبة التلوث في أغلب دول العالم وبخاصة بعض أنواع ثنائيات المصراع أو ما يسمى المراقبة بالبلح وهو برنامج عالمي لمراقبة ملوثات المنطقة الشاطئية استخدم فيه رخويات ثنائيات المصراع بما فيها البلح البحري من فصيلة Mytilidae والمحاريات من فصيلة Ostriedae حيث أصبحت الطريقة المعتمدة لتقييم مستوى التلوث في الأوساط المائية، إن لهذه الأحياء القدرة على مراكمة الملوثات بتركيز أعلى من المياه البحرية الموجودة فيها وبذلك تكون دليلا على التلوث المحلي وذلك لأنها تتغذى بالترشيح مما يعرضها لكميات كبيرة من الماء (Beldi *et al*., 2006).

تحتل القاعيات الحيوانية مكانة هامة في النظام البيئي البحري حيث تتغذى عليها بعض الكائنات البحرية بينما تتغذى هي على بعض الأنواع الأخرى مثل العوالق النباتية والحيوانية وبعض الأسماك لتدخل في منظومة السلسلة الغذائية بالإضافة لأهميتها الاقتصادية، حيث تصنع من أصدافها الأزرار وأنواع أخرى تنتج اللؤلؤ وغيرها يؤكل، تقوم بعض الرخويات باستقلاب بعض الملوثات وتحويلها إلى مركبات غير ضارة بالإضافة إلى أنها تقوم بتركيز بعض الملوثات داخل الجسم ومن خلالها ندرك مقدار التراكم عبر السلسلة الغذائية، يعد بلح ومحار البحر مصدراً غذائياً هاماً للإنسان وكثيراً ما أدى هذا الى صيدها بشكل جائر(Tëmkin, 2010)، وتستهلك القشريات بشكل كبير من قبل الانسان، والغالبية العظمى من الاستهلاك يكون سرطانات وجمبريات، كما

تستخدم هياكل شوكيات الجلد كمصدر للكالسيوم من قبل المزارعين في المناطق التي تعاني من نقص فيه وتعد شوكيات الجلد مؤشراً بيئياً على مدى الصحة البيئية حيث يدل وجودها في بيئة ما على نظافة تلك البيئة ولها دور في عملية التوازن البيئي بين مختلف الأنواع (Reich *et al*., 2010).

توصل فريق من العلماء إلى إنتاج مادة جديدة من محار البحر تشبه في تأثيرها هرمون الأنسولين البشري المنظم للسكر في الدم والأنسجة. ووجد الباحثون بعد تحليل هذه المادة التي استخلصت من محار البحر وحيوانات رخوية تعيش في البحار والمحيطات أنها تحتوي على عناصر حيوية كالصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم والكبريت والفوسفور والزنك والسيلينيوم ومشتقات تشبه هرمون الأنسولين الضروري لمرضى السكري (Gopal *et al*., 2008). كما اكتشفت مادة مسكنة مستخرجة من سم محارة موجودة في حاجز المرجان على السواحل الأسترالية وهي اكثر فاعلية بآلف مرة من المورفين كمادة مسكنة للألم التي قد يتم وصفها للمصابين بالسرطان أو التهاب المفاصل أو الإيدز وتستخدم هذه المحارة سمها لشل فريستها قبل التهامها، وتوصل باحثون أستراليون إلى أن أحد أنواع المحارات البحرية التي تعيش في مياه نيوزيلندا تستطيع إنتاج مواد بإمكانها قتل الخلايا السرطانية (Alonso *et al*., 2003).

تعد الإسفنجيات حيوانات مضيفة لعدد كبير من الكائنات الحية الدقيقة مثل البكتريا والطحالب الصغيرة وقد عرف استخدام الإسفنجيات من زمن بعيد في التنظيف والطلاء وصناعة السيراميك وتعد المركبات الطبيعية البحرية مصدراً هاماً للمبيدات الحشرية وتستخدم في صناعات الزجاج ورقائق الكمبيوتر والألياف البصرية وغيرها من الصناعات (Hassan, 2004).

للطحالب البحرية أهمية بيئية وحيوية عالية لكونها تقدم الغذاء لغيرها من الكائنات وبفضل إنتاجيتها العالية تؤمن استقرار النظام البيئي البحري إضافة لقيامها بعمليات التركيب الضوئي وإمداد الوسط المائي بالأوكسجين الضروري لتتنفس غيرها من الكائنات (Wilson, 2002)، ارتبط اسم الطحالب البحرية منذ القدم في البلدان الأسيوية باستعمالات طبية للتداوي من الجروح كما كان يفعل البحارة على السفن وكانت تستعمل لحالات السعال والنقرس وأمراض الغدة الدرقية ولتخفيض نسب الكولسترول في الدم(Dhargalkar and Pereire , 2005) وتشير الدراسات الحديثة إلى وجود الكثير من المركبات الحيوية في الطحالب ونذكر منها لامينارين (Laminarin)، وهي إحدى السكريات العديدة التي تخزن هذه الطحالب الطاقة فيها. وهي مواد مفيدة في الوقاية والعلاج لأمراض شرايين القلب، عبر مجهودها في إحداث توازن في عمليات تجلط الدم، مواد فيكودان (Fucoidan) التي تشكل أهم فوائد الطحالب البحرية، وحولها تدور اليوم غالب الدراسات الطبية، مواد الألجينات (Alginate) وهي المواد اللزجة في تراكيب جدران خلايا الطحالب وخاصة السمراء منها. وكثيرة هي استخداماتها اليوم ولعل أطباء الأسنان هم أكثر من يدرك أهميتها في تراكيب الأسنان وغيرها وأطباء التجميل عبر استخدامات شتى أبسطها تغطية الحروق الجلدية لشفائها بواسطة ألجينات الكالسيوم(Gupta and Abu-Ghannam, 2011)،

إضافة الى العديد من المركبات المستخرجة من الطحالب البحرية لها وظائف واستعمالات عديدة كصادات حيوية ومضادات للأورام الخبيثة (Wang *et al*., 2011).

إن لبعض الطحالب البحرية القدرة على إنتاج العديد من الصادات الحيوية كردة فعل على الضغوط البيئية مثل التنافس مع أنواع أخرى أو رداً على الإفتراس أو لمنع استغلال سطحها من كائنات أخرى أو نتيجة وجودها في حالة تكاثر هناك دراسات عديدة أجريت على الطحالب وعن غناها بالمواد الطبيعية التي تصلح لأغراض طبية وعقاقير(Bouhlal *et al*., 2010)، لذلك تعتبر الطحالب البحرية محط أنظار الباحثين لما لها من مكونات وتراكيب كيميائية تبشر بأبحاث مستقبلية واعدة في مجالات الطب والصيدلة والتقانات الحيوية، على سبيل المثال استخلصت مضادات حيوية من الطحلبين *Halimeda opuntia, Sarconema filiforme* ضد أنواع من الأحياء الدقيقة الممرضة للإنسان مثل *Staphylococcus aureus* و*Candida albicans* (Selim, 2012)، كما استخلصت مواد مضادة للفيروسات من الطحلب *Delisea pulchra* ومواد مضادة لسرطان الرئة من الطحلب *Bryopsis* (Smit, 2004)، يدخل حوالي 250 نوع من الطحالب البحرية في الصناعات التجارية حول العالم كما يستهلك حوالي 150 نوع كغذاء للإنسان .(Kumari *et al*., 2010) .

5.1. إنتاج الكتلة الحيوية الغنية بالمادة البروتينية من المخلفات باستخدام التقانات الحيوية:

Production Of Biomass Enriched Protein From Waste By Biotechnology

لا يشكل إنتاج الكتلة الحيوية من المخلفات المتراكمة أهمية اقتصادية من حيث تأمين مصدر غذائي بديل وجديد فحسب إنما يشكل أهمية بيئية لأنه يحل مشكلة تراكم هذه المخلفات ويخلص البيئة من آثارها السلبية (Silva *et al*., 2011).

اعتمدت أول محاولة لإنتاج البروتين في الستينات من القرن العشرين على حضن نوع من البكتريا *Cellulomonas sp* النامية على مخلفات تصنيع السكر و تم الحصول على إنتاجية للبروتين بلغت 1.17غ/ل واحتوت على جميع الأحماض الأمينية الأساسية وبنسب أعلى مما حددتها منظمة الغذاء العالمية ماعدا الحمض الأميني المثيونين، وتوصل أيضاً عند استخدام الحضانة المختلطة من بكتريا *Cellulomonas* و*Alsaligenes* على زيادة ملحوظة في إنتاجية البروتين بلغت 6.24 غ/ل وكانت تحتوي على جميع الأحماض الأمينية (Singh *et al*., 1990).

أول من استخدم مصطلح البروتين وحيد الخلية الذي يعني خلايا الخمائر أو الفطر أو البكتريا أو الطحالب المفردة النامية على المخلفات والحاوية على نسبة عالية من البروتين هو البروفسور كارول ونستون قبل أكثر من أربعين عاماً (1966) عوضاً عن الكلمة المستخدمة سابقا البروتين المكروبي (Vasile *et al*., 2000)، انتج البروتين وحيد الخلية بواسطة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* في المانيا خلال الحرب العالمية الأولى واستخدم فيه المولاس كمصدر للكربون وأملاح الامونيوم كمصدر نتروجيني، ولطالما استخدمت الخمائر

في غذاء الانسان ولكنها تدخل اليوم في الأعلاف الحيوانية كمصدر بروتيني لسد النقص في فول الصويا وزيت السمك (Jaganmohan *et al*., 2013)

1 . 5 . 1 . أهمية إنتاج الكتلة الحيوية والبروتين وحيد الخلية بواسطة الأحياء الدقيقة : Production Of Biomass And SCP By Microorganisms

تعد الفطريات والخمائر أفضل الكائنات في إنتاج البروتين وحيد الخلية وتتفوق بذلك على الجراثيم والطحالب المجهرية في سهولة حصادها وانخفاض محتواها من الحموض النووية والمحتوى العالي من البروتين الذي يشكل حوالي 50% من الوزن الجاف، وقدرتها على النمو في المستويات الحمضية المختلفة والتاريخ التخميري الطويل (الذي يعود إلى المصريين القدامى من خلال استعمال الخميرة في تخمر الايتانول وصناعة الخبز) وجدرانها بسيطة سهلة الهضم مقارنة مع خلايا الطحالب المجهرية صعبة الهضم (Hamdy, 2013)

إن إنتاج البروتين وحيد الخلية يجعل الأحياء الدقيقة ومكوناتها جزءاً من الغذاء أو الغذاء بكامله ويتم التركيز حالياً لإستعماله كعلف حيواني، لذلك روج لإستعمال مخلفات متعددة ومتنوعة في إنتاج هذا البروتين (Lafi *et al*., 2008).

تكون الكتلة الحيوية الناتجة عن الخمائر والفطريات أغنى نسبياً بالحموض الأمينية بالمقارنة مع مصادر البروتين التقليدية الأخرى، وأظهرت الأسماك الحاوية في أعلافها على هذه الكتل الحيوية مقاومة لبعض الأمراض التي تجتاح مزارع الأسماك (Ugalde and Castrillo, 2005).

أثبتت التجارب أفضلية استخدام الخمائر من بين الأحياء الدقيقة لإنتاج البروتين وحيد الخلية وخاصة من مصادر رخيصة الكربون كالبترول ومنها أنواع تتبع جنس *Candida* والتي تستخدم في دعم الأعلاف الحيوانية وبالتالي تتحول إلى بروتين حيواني لتغذية الإنسان، حيث تستخدم *Candida utilis* بسبب قدرتها على استعمال عدة مصادر كربونية ودعمها لإنتاج كتلة حيوية عالية البروتين إضافة إلى المنتجات الصناعية الصالحة للاستهلاك الحيواني والإنساني والتي تدخل هذه الخمائر في تكوينها (Nigam, 2000) وتعد الخميرة *S. cerevisiae* مهمة جداً لإنتاج البروتين وحيد الحلية بسبب حجمها الأكبر وسهولة حصادها واحتوائها على كميات أقل من الأحماض النووية والمزيج الفعال من الأحماض الأمينية وهذا يعتبر أحد الحلول في بلدان العالم الثالث والدول النامية التي تعاني من نقص الغذاء ومشاكل سوء التغذية (Bacha and Nasir, 2011) .

ومن مساوئ استخدام البكتريا في إنتاج الـ SCP حجمها الصغير وكثافتها المنخفضة كلاهما يجعل حصادها صعباً، وفيها نسبة عالية من الأحماض النووية مقارنة بالخمائر والفطريات إضافة إلى عدم استساغتها من قبل الإنسان والإعتقاد السائد بأن للجراثيم مفرزات سامة وخطيرة وهذا يتطلب وعياً لجعل الناس تتقبل البروتين الجرثومي، أما مساوئ الطحالب المجهرية فهي تركيزها للسللوز في جدرانها الذي لا يهضم من قبل البشر إضافة إلى تركيزها للمعادن الثقيلة (Nasseri *et al*., 2011).

يعد اختيار الكائنات الحية الدقيقة أساسياً في نجاح عملية الزراعة من حيث كونها قابلة للاستهلاك وملائمة اقتصادياً وتكنولوجياً وتنمو بسرعة وحيوية ونشاط (Callihan and Dunlap, 2000). إن التحويل البيولوجي (المعالجات الحيوية) للمخلفات الزراعية والصناعية عبر التخمير الميكروبي هو الطريق الطبيعي لاستعادة المصادر (Irshad *et al.*, 2008)، وبالتالي فإن إعادة تدوير المخلفات والبقايا العضوية الحية من خلال عملية التخمير لن تحد من التلوث فقط بل تعد مصدر الطاقة المحتمل لإنتاج البروتين عالي النوعية والأقل تكلفة .(Athar *et al*., 2009).

إن معالجة المخلفات المختلفة باستخدام التقانات الحيوية تؤدي إلى تحسين قيمتها الغذائية نتيجة لزيادة قابليتها للهضم وارتفاع محتواها من الطاقة ومن البروتين الخام فضلاً عن تحسين درجة استساغتها مما يؤدى إلى زيادة استهلاكها وبالتالي الإستفادة القصوى منها، تتميز الفطريات بقدرتها العالية على تشكيل وإنتاج تشكيلة من البروتينات الخارج خلوية والأحماض العضوية إضافة إلى مواد استقلابية عدة وأحماض امينية ومركبات غير عضوية ومركبات نتروجينية غير بروتينية كالفيتامينات (Seung-Moon, 2001).

إن الكائنات الحية الدقيقة المستخدمة في إنتاج البروتين هي البكتريا مثل *Cellulomonas* و *Alacligenes* والطحالب المجهرية *Spirulina* و *Chlorella* والفطريات *Trichoderma* و *Fusarium* والخمائر *Candida* و *Saccharomyces* ، والعامل الأساسي في نجاح إنتاح البروتين هو غياب المواد السامة والمسرطنة من المخلفات المعالجة (Huang and Kinsella, 1986).

لا تتطلب صناعة البروتين وحيد الخلية تقنية يصعب توفيرها فهي تتلخص بزراعة كائنات دقيقة حية كالبكتريا والخمائر والفطريات في وسط يحتوي على المخلفات وبذلك تتكاثر هذه الخلايا بسرعة كبيرة وبانقسامها المتواصل يتضاعف وزنها في مدة قصيرة وهذه الخلايا الناتجة غنية بالبروتين ويمكن إضافتها بعد التجفيف إلى العلف لتعويض النقص في الأحماض الأمينية وزيادة القيمة الغذائية لبعض المواد الغذائية في علائق الحيوانات وأهميته تأتي من تكلفته القليلة لكثرة المادة الخام وإمكانية الحصول على ناتج أكبر وكما أن قيمته عالية إلى جانب خلوه من السمية عند تجربته كغذاء للحيوانات (Gashgari, 2000)،

يمكن أن نعتبر أن أهم الميزات لإنتاج البروتين وحيد الخلية هو التشكيلة الواسعة من المواد الأولية والأحياء الدقيقة المستخدمة والمنهجيات المختلفة التي تستعمل لهذا الغرض والكفاءة العالية في تحويل الركيزة (المخلف) والإنتاجية العالية العائدة إلى معدل النمو السريع للأحياء واستقلالية الإنتاج عن العوامل الفصلية المتعلقة بحالات الجو (Roth, 1980; Parajo *et al*., 1995 ; Nasseri *et al*., 2011) .

إن المكون الأكثر أهمية للفلورا الموجود في الاجبان والألبان هو فطر *Geotrichum candidum* الذي يتميز بأهمية عالية في المعالجات الحيوية من خلال قدرته على استخدام عدة مصادر للكربون في النمو (الغالاكتوز والغلوكوز والفروكتوز والمانوز) وفعاليته في إنتاج الليباز الميكروبي خلال عمليات التخمير (Boutrou and Gueguen, 2005) .

تعتبر سرعة إنتاج البروتين وحيد الخلية من الأحياء المجهرية أكبر بكثير من نمو الخلايا الحيوانية والنباتية وهي لا تحتاج إلى مساحات كبيرة وتحتوي على بروتين ذي قيمة غذائية عالية (Singh *et al*., 1990). ومن وجهة نظر غذائية فإنَ احتواء البروتين وحيد الخلية على الأحماض النووية هو أحد العوامل الرئيسة التي تعيق استخدامه كغذاء للإنسان لأن الكميات الزائدة من الأحماض النووية يعد عاملاً لتشكل حمض البول وهذا بدوره يسبب اضطرابات صحية كتشكل الحصى في الكلى ومرض النقرس، وعلى كل حال فإن الحمض النووي ليس ضاراً بالمطلق ولكنه يسبب اضطرابات عندما يؤخذ بكميات كبيرة كغيره من المواد. نستنتج مما تقدم أن القيمة العالية للأحماض النووية وانخفاض قابلية الهضم للجدر الخلوية هما العاملان اللذان يحددان القيم الغذائية والسمية للخمائر المستخدمة في الغذاء الإنساني والحيواني (Parajo *et al*., 1995; Nasseri *et al*., 2011).

زاد الإهتمام في الآونة الأخيرة بالبروتين وحيد الخلية كنتيجة لنقص المواد الغذائية وأصبح يسوق على شكل منتجات مثال منتج يسمى Quorn (كورن) وهو بروتين وحيد الخلية اشتق من مسيليوم الفطر *Fusarium venenatus* وهومنتج يباع في الأسواق ومصدق من الاتحاد الأوروبي إضافة الى منتج آخر يسمى Torutein (توروتاين) وهو بروتين وحيد خلية مشتق من *Candida utilis* وهو يستعمل الآن في كندا والسويد كمكمل غذائي غني بديل لبروتين اللحم والحليب والبيض (Hamdy, 2013).

1. 5. 2. إنتاج الكتلة الحيوية من المخلفات الزراعية والزراعية الصناعية :

Production Of Biomass From Agricultural And Agro-Industrial Wastes

أدى الإزدياد في الإنتاج الزراعي في السنوات الأخيرة إلى تطوير تركيبة الغذاء والبحث الدائم عن بديل لبعض الأعلاف التقليدية (وجبة السمك ، زيت السمك) بمنتجات نباتية وحيوانية (Boucher *et al*., 2011) وكان من هذه البدائل المخلفات الناتجة عن الزراعة والصناعة بعد معالجتها لتتناسب مع تكوين علف ذي مصدر للطاقة الغذائية التي نحتاجها في تربية الثروة الحيوانية. ينتج في العالم140 بليون طن متري مكعب سنوياً من الكتلة العضوية الناتجة عن الزراعة والتي باستطاعتها أن تولد كميات هائلة من الطاقة والمواد الأولية قابلة لأن تنتج 50 بليون طن من الطاقة وهذا التحويل يمكن أن يحل مكان الوقود المستخرج (الاحفوري) وبالتالي يقلل من انبعاث غازات الاحتباس الحراري و يزود حوالي 1.6 بليون شخص بالطاقة (UNEP, 2007).

سخرت تطبيقات التقانات الحيوية في سبيل إنتاج الكثير من المركبات الهامة، حيث يستخدم نوع *Aspergillus niger* في عدة تطبيقات كإنتاج البروتين وإنتاج فيتامينات B_1,B_2,B_3 وإنتاج حمض الستريك وفي

إفراز الأنزيمات الخارجية، ويستعمل كمضيف تحويلي في التقانات الحيوية الصناعية فالمعالجة بـ*A. niger* على سبيل المثال أدت إلى نقص الألياف الخام وزيادة نسبة الرماد والمادة الجافة المأكولة وارتفاع معامل هضم المركبات الغذائية وزيادة نسبة البروتين الخام في المخلفات الزراعية المعالجة (Frisvad *et al*., 2007).

في دراسة استخدم فيها الفطر *Aspergillus terreus* لإنتاج الكتلة الحيوية من مسحوق الرز أظهرت إمكانية استخدام الكتلة الناتجة كأعلاف مغذية، وتم تحسين الشروط المختلفة لعملية التخمر أو الحضن مثل نسب الماء ومصدر للنتروجين والكربون وقيم pH وفترة الحضن وبنتيجة التقييم الكيميائي والحيوي للكتلة الحيوية الناتجة أظهرت احتواءها على 43.7% بروتين خام ,وعلى عناصر معدنية يمكن أن نستبدل بها فول الصويا دون أن يظهر أي تأثير على نمو أفراخ الدواجن (Shahzad *et al*., 2011) ، وفي دراسة أخرى مشابهة عولجت ايضاً مخلفات الرز (نخالة الرز) بواسطة الفطر *A. niger* وتم الحصول على أعلى قيمة من البروتين عندما أضيفت نترات الصوديوم كمصدر للنتروجين وعندما دعمت المخلفات بالأملاح المعدنية والمصادر النتروجينية الإضافية سواء كلاً على حدة أو معاً، نستنتج أن البروتين الناتج عن عملية التخمير يتناسب مع تعدد مصادر النتروجين فكلما تعددت مصادر النتروجين ازدادت الكتلة الحيوية ونسبة البروتين فيها (Anupama and Ravindra, 2001). كما تم إنتاج الكتلة الحيوية من نخالة القمح بزراعة *Candida utilis* فكانت الكتلة الحيوية الناتجة غنية بالبروتين (35,97% بروتين خام و30,18% بروتين صافي) واستخدمت هذه الكتلة كغذاء بديل لمسحوق السمك حتى نسبة 50% (Saima and Abu Saeed , 1999)، وتم استخدام نوع أخر من جنس *Aspergillus* هو *A. niveus* لإنتاج الأنزيمات الفطرية بعد تنميته على أوساط حاوية على المخلفات الزراعية كمصدر للكربون لغناها بالسكريات والمواد المغذية الأخرى في شروط الزراعة الصلبة والسائلة (Maller *et al*., 2012).

جرى اختبار لسلالات *Geotrichum candidum* لمعرفة قدرتها على إنتاج أنزيم الليباز الخارجي الخلوي وذلك في وسط يحوي زيت الذرة بنسبة 2% أو 3% كمصدر للكربون وعن مسؤوليتها في إنتاج وتخليق مركبات كيميائية جديدة في نفس الظروف ولوحظ فعالية استخدام هذا الليباز في إنتاج الديزل الحيوي (Rywińska *et al*., 2008)، وتبين عند استخدام الفطرين *Aspergillus niger* و*Chaetomium spp* في وسط صلب تحت شروط زراعة ومعطيات مختلفة أن الرطوبة 40% وتركيز المخلفات حوالي 10 غرام مع بادئ تركيزه 10^6 و 10^8 بوغ/مل في درجة حرارة 25 درجة مئوية تعطي أعلى نسبة من البروتين وهي 39.46% وذلك عند استخدام فطر *Chaetomium spp* بـ تركيز 10^8 بوغ/مل بينما بـ *Aspergillus niger* كان نتاج البروتين 31.7% بتركيز 10^6 بوغ/مل (Yalemtesfa *et al*., 2010).

تمكن Dhanasekaran وزملاؤه (2011) من إنتاج البروتين من مخلفات الأناناس باستخدام الخمائر وتوصلوا الى أعلى كتلة حيوية باستخدام الخميرة *S. cerevisiae* بعد عملية تخمر استمرت لمدة 7 أيام كان

تركيز المخلفات فيها5% في حين سجلت أعلى نسبة من البروتين بعد 3 أيام مع العلم أن نسبة البروتينات تتناقص في الكتلة الحيوية الناتجة مع تزايد فترة التخمر، وفي دراسة مماثلة قام بها Khaled وزملاؤه (1985) بين أن خميرة *S. cerevisiae* أعطت أعلى نسبة من البروتين الخلوي بعد تنميتها على البيئة المغذية المتكونة من محلفات قش الأرز مقارنة بسلالات الخميرة الأخرى وهذا ما يتفق مع نتائج Abo-Hamed (1993) حيث أعطت خميرة *S.cerevisiae* أعلى نسبة من البروتين الخلوي بعد إنمائها على المنبت الغذائي المكون من مخلفات قش الذرة (بنسبة15%سكر) والمولاس (بنسبة2غ/لتر)، وعلى ذلك اعتبر المولاس مصدراً كربونياً ونتروجينياً مناسباً للتمثيل بواسطة خلايا الخميرة، في حين حصل الباحث Gashgari (2000) على نسبة مئوية من البروتين المنتج وصلت إلى 61.22% من المادة الأولية المستعملة وهي قشور التمور بعد المعالجة بخميرة *S. cerevisiae* عند تراكيز معينة بإضافة حبة البركة كمحفز لنموها .

تملك الفطريات القدرة والقابلية العالية في إنتاج المعقد الأنزيمي المحلل للمواد السليلوزية وهذا ماكان سبباً مباشراً في سرعة نمو الكتلة الحيوية الغنية بالمادة البروتينية وكذلك في احتوائها على فيتامينB، الأمر الذي يشجع استغلال الكتلة الحيوية للفطريات كعلف حيواني والإستغناء عن الحبوب الزراعية في تصنيع الأعلاف والتي يحتاجها الإنسان في غذائه اليومي (Kim *et al.*, 1985)، ويذكر أهم الفطريات الأخرى المستخدمة في المعالجات الحيوية وهي فطر *Rhizopus oligosporus* الذي عالج مخلفات الفاكهة (قشور الموز والليمون والخيار والرمان والأناناس) كطريق للحصول على البروتين الذي يضاف للعلف لزيادة قيمته الغذائية (Khan *et al*., 2010) كما تمت معالجة مخلفات قشر الموز بواسطة الفطر *Trichoderma harzianum* مع إضافات لمصادر نترجينية وكربونية مكملة (نترات الصوديوم والبوتاسيوم والأمونيوم) وكانت النتيجة الأفضل عند تركيز 80×10^6 (أبواغ فطرية/مل) (Ravisnkar *et al*., 2011) ، وفطر *Neurospora sitophila* الذي استخدم لتحويل المخلفات الحاوية على السللوز (قصب السكر والذرة والخشب السللوزي) إلى مواد غنية بالبروتين وكان التحويل المثالي على درجة الحرارة 35−37 درجة مئوية ودرجة pH=5.5 (Moo-Young *et al*., 1992)، وفطر *Penicillium expansum* الذي عولجت به المخلفات الزراعية من بقايا قصب السكر وقشر البرتقال وقش القمح وبقايا بذور القطن ووصلت أعلى نسبة للبروتين إلى 30.10% عند استخدام قش الذرة كمصدر للكربون (Khan and Dahot, 2010).

استخدمت في نطاق آخر مجموعة من الأحياء الدقيقة في مزارع مختلطة وهذا ما حصل عند استخدام *Arachniotus sp, C. utilis* مع إضافات من كلوريد الكالسيوم المائية وكبريتات المغنزيوم المائية وفوسفات البوتاسيوم لإنتاج الكتلة الحيوية من مسحوق الذرة والمولاس بواسطة التخمر المتسلسل ووصلت نسب البروتين في بعض التخميرات إلى 23.% من وزن الكتلة الحيوية الناتجة (Sibtain *et al*., 2010) .

واستطاع العالمان Bhalla و Joshi (1994) إغناء محتوى بروتين تفل التفاح من 0.6 إلى 20% عبر استخدام مزرعة مشتركة من *Aspergillus niger* و*Candida utilis* ولم تقتصر المعالجات الحيوية على الفطريات والخمائر بل استخدم لنفس الغرض الطحالب المجهرية ومنها الطحلب الأخضر وحيد الخلية (*Chlorella*) لإنتاج البروتين وحيد الخلية من مخلفات صناعية زراعية مختلفة واستهلكت الكتلة الناتجة واستخدمت كغذاء للإنسان (Zafaralla *et al* ., 1990).

وفي دراسة لتأثير درجة الحرارة وpH على انتاج الكتلة الحيوية وتركيب البروتين في *Spirulina* sp تبين أن درجة الحرارة 30 درجة مئوية و(pH =9) أعطت أعلى نتيجة وهي 4.9 ملغ/مل و 48.2 غ/100غ كتلة حيوية وبروتين على التوالي (Ogbonda *et al*., 2007) . استمرت الأبحاث التي تتناول المخلفات الزراعية الصناعية بالمعالجة الحيوية ومنها قشور البطاطا التي عالجها Akintomide وAntai (2012) وتم الحصول على انتاجية للبروتين بلغت 21.30% و16.78% باستخدام *S. cerevisiae* و *A. niger* على التوالي عند درجة الحرارة 28 درجة مئوية وذلك عند استعمال كبريتات الأمونيوم [$(NH_4)_2SO_4$] كمصدر وحيد للنتروجين وضبطت درجة الحموضة pH على 5.5 لـ *S. cerevisiae* و 3.5 بالنسبة لـ*A. niger* كماحصل الباحث Yousufi (2012) على أعلى نسبة للبروتين اعتباراً من مخلفات الفاكهة بعد 7 أيام على الدرجة 28 درجة مئوية عندما استعمل $(NH_4)_2 HPO_4$ كمصدر نتروجيني وكانت النسب 57.3 ملغ لكل 100غ ركيزة من المخلفات 61.2 ملغ لكل 100 غ بالنسبة للفطرين *Aspergillus oryzae* و*Rhizopus oliogosporu* على التوالي، وكذلك الباحث Abalak وزملاؤه (2011) الذي حصل على أعلى نسبة من البروتين من مخلفات الذرة وكانت النسب هي (22.55% و20.%) باستخدام *S. cerevisiae* و خميرة *Candida tropicalis* على االترتيب، وصلت نسبة البروتين لـ 58.62% من بعض مخلفات الفاكهة باستخدام خميرة *S .cerevisiae* (Khan *et al* ., 2010).

يعد بحث Hamdy (2013) من أحدث الأبحاث التي تتناول المخلفات الزراعية بالمعالجة حيث عولجت قشور البرتقال بواسطة الفطر *A. niger* و *S. cerevisiae* وكانت نسب البروتين الناتجة 27.0% و29% على التتالي مراعياً مجموعة من الشروط مثل درجة pH وكانت بالنسبة للخميرة (5.5−6)، وهذا يتوافق مع الدرجة المثالية للخمائر والفطريات اما بالنسبة لـ *A. niger* فكانت (pH= 7) ودرجة الحرارة المثالية كانت27.5 درجة مئوية لكل الأحياء المستخدمة، حيث أنه في درجات الحرارة المنخفضة تقل نسب البروتين وتتعطل النشاطات الخلوية وتصل لأدنى مستوياتها بينما في درجات الحرارة العالية تؤثر على العمليات الإستقلابية التي تؤثر بدورها على نسب النمو وإنتاج الكتلة الحية. واستخدم الباحث Jaganmohan وزملاؤه (2013) الفطر *Aspergillus terreus* لإنتاج البروتين وحيد الخلية من قشور الموز ايضاً .

1 . 5 .3. إنتاج الكتلة الحيوية والبروتين وحيد الخلية من مصادر أخرى مختلفة :

Production Of Biomass And SCP From Potential Sources

لم تكن المخلفات الزراعية والزراعية الصناعية المصدر الوحيد لإنتاج البروتين بل تم التعامل مع مخلفات حيوانية مثل روث الدواجن الحاوي على حمض البول الذي يعتبر مصدراً للنتروجين في إنتاج بروتين وحيد الخلية من أجل استخدامه كأعلاف للدواجن (El-Deek *et al.*, 2009).

ونذكر ايضاً خليط الأحياء (*Geotrichum candidum* و *Hansenula anomala* و *Candida krusei*) التي زرعت مشتركة لإنتاج الكتلة الحيوية من مخلفات صناعات المشروبات الكحولية ووصلت نسبة البروتين في الكتلة الناتجة إلى55% من وزنها (Barker *et al*., 1982). أما مخلفات الورق فقد خمرت بفطر *Scytalidium acidophilum* بعد تهضيمها بحمض الكبريت حيت تم استخدام السكاكر مثل الغلوكوز والغالاغتوز كمصادر للكربون لإنتاج كتلة حيوية جديدة وصلت نسب البروتينات فيها إلى 43–47% وأعطت نتائج جيدة مقارنة مع خمائر *Candida utilis* من حيث احتواؤها على الأحماض الامينية الأساسية وانخفاض نسبة الأحماض النووية (Ivarson and Morita, 1982).

وفي إحدى الدراسات تم استغلال المخلفات الصناعية الخارجة من معامل تصنيع المنسوجات القطنية والغنية بالمواد السللوزية بواسطة الفطر *Trichoderme reesei* لغرض إنتاج الكتلة الحيوية الغنية بالمادة البروتينية ذات القيمة الغذائية العالية والاستفادة منها كعلف حيواني وتوصل الباحثون في اليوم الخامس من عمليات التخمير بواسطة المفاعل الحيوي إلى أعلى إنتاجية للبروتين بلغت 10غ/لتر، رافق ذلك زيادة في درجة استهلاك السللوز وكانت بمقدار 55% وبعد إجراء المعالجات الفيزوكيميائية على المخلفات الصناعية أجريت حضانة الفطر *T.reesei* حيث لوحظ هناك زيادة في إنتاجية البروتين بلغت الضعف عما كانت عليه في المراحل الأولى من إنجاز البحث وهذه الزيادة جاءت في اليوم الثالث من التخمير مما يدعم مرة أخرى الجدوى الاقتصادية لإنتاج الكتلة الحيوية مع زيادة ملحوظة في درجة استهلاك السللوز بلغت 60% (Al- Temimi, 2000).

وباستخدام المفاعل الحيوي تم إنتاج البروتين وحيد الخلية من الفطر *A. niger* النامي على المخلفات الورقية حيث بلغت الإنتاجية 9.06 غ/لتر في اليوم الخامس بدون معاملة كيماوية للمخلفات، وبعد إجراء المعاملات الكيماوية لوحظ حصول زيادة في إنتاجية البروتين بلغت 18.90 غ/لتر وفي اليوم الثالث من عمليات التخمير أي بزيادة بلغت الضعف مع اختصار فترة عمليات التخمير من اليوم الخامس إلى اليوم الثالث وهذا يعطينا مردوداً اقتصادياً (Al- Temimi, 2010).

وقام الباحث Coman وزملاؤه (2012) بإنتاج البروتين وحيد الخلية بعد معالجة مخلفات الاوراق بالفطر *Geotrichum candidum* بعد فترة حضن 10 أيام ودرجة pH أولية 5.0، وفي الستينات قامت شركة I.C.I البريطانية بتحويل المنتجات الجانبية لصناعة تكرير البترول من مصادر رخيصة لبروتين غذائي للحيوانات من

خلال نمو البكتيريا والخمائر على الميثانول أو الميثان وبات بالإمكان حصد البقايا الجافة ليسوق المنتج كبروتين يستخدم في تغذية الحيوانات وذلك على النحو التالي :

تنمية الفطر *Candida spp* أو غيره على النفط الخام أو بعض مشتقاته أو النواتج الجانبية له يؤدي إلى تكسير الروابط الهيدروجينية الطويلة بفعل الأنزيمات الفطرية وبالتالي استخدامها كمصدر غذائي وهذا يؤدي إلى التكاثر وإنتاج البروتين (كتل من الخميرة) ثم يغسل وينقى ويستخدم في العليقة (العلف حيواني).(Hoogerheide *et al*., 1979)، وهذا ما ركزت عليه دراسة على إنتاج البروتين الوحيد الخلية من المشتقات النفطية وذلك بتنمية نوعين من الأحياء المجهرية *Candida sp., Bacillus Subtilis* على هذه المواد حيث تعتبر كمصدر للطاقة و الكربون لنمو تلك الأحياء (Abduljabbar *et al*., 2009) ، ويذكر أن اليابان من أولى الدول التي منعت إنتاج البروتين البتروكيماوي بسبب ارتفاع أسعار النفط ومشتقاته.

في سياق آخر تم التعامل مع مخلفات الجمبري قبل التخمير بـ ($NaOH3\%$, $H_2O_25\%$) ومن ثم بواسطة فطر *Aspergillus niger* لاستخدامها كغذاء للدواجن فلوحظ ازدياد نسبة البروتينات الخام بعد المعالجة وتناقصت الألياف الخام و الكتين الموجود في المخلفات وازدادت الليبيدات والمعادن ايضاً . (Septinova *et al*., 2011)

وفي دراسة على مصل الألبان والأجبان التي تطرح من المعامل هدفت إلى الاستفادة من هذه المخلفات في إنتاج بعض المركبات الضرورية مثل الأحماض العضوية والأمينية والبنسلينات والفيتامينات والتي يمكن الحصول عليها بتنمية فطر *A. niger* أو فطر *Penicillium* والتي وجدت في هذه المخلفات بيئة ملائمة للنمو لما تحتويه من سكريات وفيتامينات وأملاح مغذية (Al-Bahra *et al*., 2003). واستغل بعض الباحثين المياه الملوثة لإنتاج الكتلة الحيوية بواسطة الخمائر التي تستخدم هذه الملوثات كمصادر للكربون فلوحظ احتواء خلايا الخميرة C. utilis النامية على 26% بروتين و 9% ليبيد و55% سكريات ومحتوى متوازن من الأحماض الأمينية . (Zheng *et al* ., 2005)

1. 5 . 4 . استخدامات الكتلة الحيوية الناتجة عن المعالجات الحيوية :

Uses Of Biomass Resulting From Bio-Treatments

قدمت لغرض المقارنة مخلفات الحبوب المحتوية على كميات قليلة من البروتينات كغذاء للمجترات فكانت ذات طاقة غير كافية لقلة قابلية الهضم وعدم تقبلها للأكل بعد عمليات المعالجة الكيماوية، ولكن التقنيات التي اعتمدت على عمليات التخمر لبناء الكتلة الحية كانت غنية بالمادة البروتينية وذات قابلية عالية للهضم والامتصاص ولقيت استساغةً من الحيوانات، وحسب منظمة الزراعة والأغذية العالمية (FAO) فإن القيمة الغذائية للكتلة الحيوية تراوحت بين (60–90%) واحتوت على جميع الأحماض الامينية وبكميات كبيرة عدا الحامض الأميني المثيونين، وتبينَّ أنّ إضافة هذا الحمض الأميني إلى الكتلة الحيوية للفطريات وبكميات تتراوح بين(0.2–0.4%) سبب زيادة في هضم البروتينات وصل إلى 100% (Battaglino *et al*., 1991)، وفي تقييم لأثر البروتين وحيد الخلية الخميري على نمو إصبعيات الأسماك تبين أن الغذاء الحاوي على 50% بروتين وحيد الخلية أعطى أعلى نمو نوعي ويومي مع زيادة في الوزن وفي نسبة التحويل الغذائي ووصلت نسبة البروتين في الأسماك إلى 55.35% وتناقصت نسبة الدهون (Bob-Manuel and Alfred-Ockiya، 2011)، وأظهر الغذاء المكون من البروتين الخميري المركز (YPC) وحبيبات (YPC) تحسينات واضحة على الوزن الحي للكائنات وخاصة الدواجن بشكل أفضل مما أبدته إضافات الخميرة التقليدية حيث أن البروتين الخميري الناتج غني بالبرولين والليسين والفينيل الانين (Haldar *et al*., 2011) .

استعملت بروتينات وحيدة الخلية في تغذية الأسماك مثل الكارب العادي *Cyprinus carpio* التي تتطلب مستوى بروتيني بحدود37 %، كما استعملت في تغذية اسماك البلطي *Orechromes nilficus* والتي تحتاج في غذائها إلى مستوى بروتيني بحدود 35%، وتم إنتاج خميرة *Candida utilis* بعد تنميتها على مخلفات مصانع الأسماك واستعملت الكتلة الحيوية الناتجة مصدراً بروتينياً في تغذية أسماك البلطي *Oncorhnchus mykiss*. (Martin *et al*.,2006)، ولاحظ Assaffii وزملاؤه (2009) أن أفضل معدل لوزن الأسماك تحقق عند استبدال بروتين فول الصويا بالبروتين وحيد الخلية المنتج من قبل *A.niger* بنسبة 50% اذ بلغ معدل الوزن 26.22 غ/ سمكة بعد 35 يوماً من بدء التجربة، كما استخدم البروتين وحيد الخلية الناتج عن تنمية *Geotrichum candidum* كمتممات في تغذية اسماك الكارب ولم تحدث أي تبدلات خطيرة على نمو الأسماك .(Dabrowski *et al* ., 1980)

هناك انخفاض في استخدام الخمائر في تغذية الحيوانات لعدم تفهم الفوائد العديدة لها إلا أن الأبحاث أثبتت أن إضافة خميرة *S. cerevisiae* إلى علائق الدجاج لم يغير من جودة اللحم بل ازدادت القيمة الغذائية له (Sokolova *et al*., 1985). وعلى هذا النحو تمت الإستفادة من الكتلة الناتجة عن عملية التخمر بـ *Aspergillus niger* كعلف للدواجن حيث أن إفراز الأنزيمات (الاميلاز والسيلولاز) من قبل الفطر فككت

المخلفات إلى جزيئات أبسط قابلة للهضم، مما زاد من استهلاك المواد المغذية مثل بروتينات الركيزة وزاد من قابلية الهضم والإمتصاص فساهم في زيادة وزن الدواجن إضافة إلى التأثيرات الإيجابية للمواد المختمرة في تحسين الحالة المعوية من خلال تخفيض pH الأمعاء ومنع نشاط الميكروبات المرضية وتحسين حالة الغشاء المخاطي لأمعاء الدواجن .(Mathivanan *et al*., 2006).

لوحظ في اختبار لكفاءة الأغذية المتخمرة على نمو الدواجن أن معدل زيادة الوزن الكلية للدواجن في كل يوم كان 8.63غ للعلف التجاري 2.5 غ لقشور الذرة المتخمرة 4.72 غ لنخالة الذرة الصفراء المتخمرة، ولوحظ ارتباط المحتوى البروتيني للعلف بنمو الدواجن، فكلما زادت نسبة البروتين في العلف كلما كانت الزيادة في الوزن أكبر(Abalaka and Daniyan, 2010). وأدى استعمال البروتين وحيد الخلية المنتج بالتخمرات السائلة من الفطر *A. niger* في تغذية ذبابة الفاكهة بنسبة استبدال 100% إلى تحقيق أعلى معدل لعدد الحشرات الكاملة (Lafi *et al*., 2008)، كما وجد أن السمك الذي يحتوي في غذائه على15% من الخلايا الطحلبية المجهرية (*Chlorella* و*Scenedesmus*) ازدادت قابلية هضمه للمادة الجافة بنسبة (92%) وللبروتين الخام (87%) .كما وأظهرت النتائج ان كفاءة النمو والتحويل الغذائي والاستفادة من البروتين كانت أفضل في المعاملة التي تحتوي على مسحوق الطحالب المجهرية، وبالتالي فإن احتواء علائق الأسماك على الطحالب الجافة يؤدي إلى الحصول على أفضل أداء إنتاجي للأسماك (Tartiel *et al*., 2008)، حيث تتعلق احتياجات الأسماك الغذائية باحتوائها على الحموض الدسمة غير المشبعة وعلى أوميغا −3 وعلى الحموض الأمينية الأساسية مثل الميتيونين والليزين (Jacobs *et al*., 2010).

توصلت دراسة علمية حديثة إلى أن إضافة الطحالب السمراء وإدخالها في أعلاف الدجاج اللاحم والبياض يؤدي لإستجابة الدجاج البياض خلال المراحل البحثية وإعطاء نتائج طبيعية وممتازة لكل المقاييس التي درست مثل وزن الجسم وإنتاج البيض ووزنه وكتلته وجودته وكذلك معدل النفوق دون أي تأثير سلبي على المبيض وقناة البيض والغدد اللمفاوية، كما انخفض الكولسترول في البيض الناتج . وتعد مساحيق الطحالب السمراء الجافة سواء الخام أو المعاملة بضغط البخار أو الغليان مصدراً ممتازاً للصبغات الكاروتينية ومشتقاتها التي تعمق من لون الصفار (EL-Deek *et al*., 2011). كما أجرى الباحث (Torbatinejad) وزميله (2008) دراسة مقارنة بين آثار العلف المنتج من الأعشاب البحرية والعلف التقليدي على صحة الحيوانات وعلى نوعية الصوف فأثبت جدوى وأهمية علف العشب البحري، كما يمكن الحصول على نتائج أفضل بإيجاد خليط علفي مشترك من النوعين.

تجمع في بعض الدول الآسيوية الأحياء البحرية من على الشواطئ بعد يوم عاصف ويتم غسلها وتجففها وتقديمها كأعلاف للحيوانات وقد أثبتت تأثيراتها النوعية على الحيوانات حديثة الولادة ولوحظ نقص الفضلات الناتجة عن أطعمة هذه الأسماك حينما أضيف مسحوق بعض الأعشاب إلى أحواض الأسماك وقد

أظهر تحسناً كبيراً على صحة الأسماك وهو اليوم يقدم كغذاء للجمبريات والمحاريات، وجرت دراسات لإستبدال مسحوق السمك بالبروتين النباتي سواء فول الصويا أو القمح كما تم أيضاً اختيار كتلة الطحالب البحرية المجهرية كبديل آخر وإنتاج مواد غذائية من الطحالب بواسطة التخمر(Uchida and Miyoshi, 2010)، ولن ننسى استخدام الأصداف البحرية (Oystershells) وخاصة في المناطق الساحلية من العالم أو تلك التي يصعب فيها توفير المواد المالئة من مصادرها الطبيعية كأعلاف أو كمصادر طبيعية للكالسيوم والفسفور في علائق الحيوان والدواجن (Waldroup, 2001) .

ومن جهة أخرى يمكن تحويل المخلفات الزراعية والزراعية الصناعية عبر مجموعة من الأحياء الدقيقة إلى زيت وحيد الخلية (Single cell Oil) عبر تجميع الليبيدات، حيث يمكن للخمائر الزيتية وبفضل معدل نموها السريع ومحتواها العالي من الزيت في خلاياها أن يستفاد منها كمصدر للديزل الحيوي (Katre *et al.*, 2012) كما يمكن لسلالات الخميرة *S.cerevisiae* ان تنتج الإيتانول من المخلفات النشوية (السكرية) بسبب قدرتها على إفراز أنزيمات الاميلاز والغليكواميلاز (Sharma *et al*., 2002).

نشير أخيراً إلى أن العائدات المتعلقة بصناعات التقانات الحيوية وصلت إلى 54.6 بليون دولار، حيث أن 100 باون (Ibs) من الخميرة ينتج 250 طن من البروتين في 24 ساعة (Alvarez and Enriquez, 1988).

الفصل الثاني

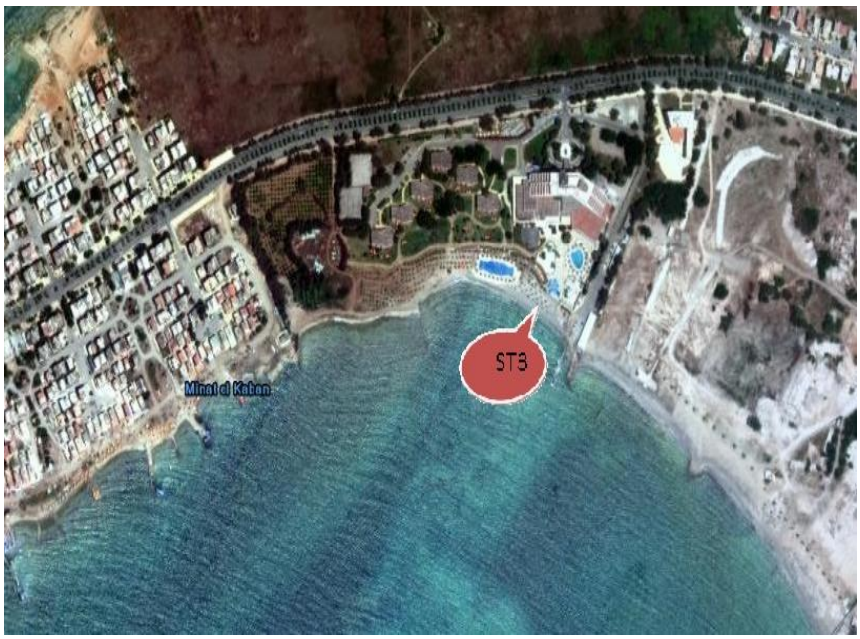
مواد البحث وطرائقه Materials and Methods

2. 1. مناطق الدراسة Study Sites :

تم جمع العينات من مواقع مختلفة شملت شاطئ المدينة الرياضية الشكل (1)، شاطئ شاليهات الدراسات شمال اللاذقية الشكل (2)، وشاطئ مريديان اللاذقية الشكل(3) . تميزت منطقة المدينة الرياضية بتنوع كبير وغنى بمخلفات الأحياء البحرية شملت القشريات (Crustacea) والاسفنجيات (Porifera) والرخويات (Mollusca) وقواقعها طيلة العام بالإضافة للطحالب (Algae) وخاصة الطحلب الأحمر *Jania* والطحلب الأسمر *Colpomenia* في فصل الصيف، تميز شاطئ منطقة الميريديان بوجود كميات كبيرة من المخلفات خلال الصيف و شكلت الطحالب الحمراء (Rhodophyta) النسبة الأكبر من هذه المخلفات والتي تزال بشكل مستمر من الشاطئ في مواسم السياحة، تميزت منطقة شاليهات الدراسات بطيف واسع من الأحياء المقذوفة والمتراكمة على الشاطئ وخاصة الطحلب *Galaxuara* والسرطانات البحرية.

الشكل (1)منطقة جمع العينات المدينة الرياضية

الشكل (2) شاليهات الدراسات شمال اللاذقية



الشكل(3) شاطئ مريديان اللاذقية

2. 2. مادة البحث الحية Biomaterials:

2. 2. 1. المخلفات الشاطئية من الأحياء البحرية Marine Organisms Remains :

تم جمع الأحياء البحرية وبقاياها المتراكمة على الشاطئ فمنها المخلفات النباتية التي تتبع لصف الطحالب السمراء (Phaeophyceae) وشعبتي الطحالب الخضراء (Chlorophyta) والحمراء (Rhodophyta)، والحيوانية والتي تنتمي لمجموعات مختلفة مثل أفراد ميتة من الرخويات بطنيات قدم (Gastropoda) وثنائيات مصراع (Bivalvia) والقشريات (سرطانات وبرنقيلات) وإسفنجيات ميتة من مناطق الدراسة، جمعت هذه المخلفات خلال الفترة الممتدة من 1-7-2011 ولغاية1-11-2012، تلى جمع العينات إجراء الدراسة المخبرية التي تمت في مخابر المعهد العالي للبحوث البحرية ومخابر كلية الصيدلة في جامعة تشرين، والتي تضمنت دراسة مورفولوجية وتصنيفية لهذه الأحياء البحرية وتم تحديد كل من أنواع المخلفات الحية بالإعتماد على عدة مراجع ومفاتيح تصنيفية حتى مستوى الجنس والنوع (Ribera *et al*., 1992; Holthuis, 1987 ; Riedl, 1983 ;

(Zenetos *et al* ., 2003; Galil *et al*., 2002 ; Giaccone and Dimartino, 2000 وتم توصيفها وهي :

- ***Eriphia verrucosa*** (Forskal,1775)

سرطان بحري الدرقة صلبة وسطحها املس خصوصاً في نصفها الخلفي، يلاحظ في القسم الأمامي وخلف الحافة الجبهية تخطيطات عرضانية ،تتلون الأفراد بألوان مختلفة بني محمر أو بني بنفسجي مع وجود بقع مائلة للأصفر يبلغ الطول الاعظمي للدرقة 8 سم وعرضها 10 سم، ووزنها (5.9-90.3)غرام يعيش هذا النوع في المنطقة الشاطئية وفوق الشاطئية بين الحجارة وعلى الرمال وبين الطحالب على الصخور على عمق 30سم وهو من الأنواع الموجودة على مدار العام ويستهلك طازجاً في بعض بلدان العالم .

- (Milne-Edwards. A, 1867) ***Charybdis hellir***

السرطان البحري السابح يتميز بأشعار خشنة يعيش في التربة الرملية والرملية الطينية يتراوح طول الدرقة بين (1.8 –5) سم عرضها (2.6– 7) سم يتراوح الوزن بين (2.5 –78) غرام .

- (Fischer P.,1870***)*** ***Brachidontes pharaonis***

بلح البحر قوقعته ثنائية المصراع، غير متناظرة جانبياً، اللون بني غامق إلى أسود والسطح الداخلي بنفسجي فاتح إلى أسود ، الطول الشائع 40 ملم، يعيش على شكل مستعمرات مثبتة بواسطة خيوط النسالة على المستندات الصلبة الصخرية والحجرية في المنطقة الشاطئية الضحلة، يستهلك نيئاً تصل مستويات الكتلة الحيوية لهذا النوع في بعض مناطق المتوسط إلى 6224 غ/م^2.

- (Linne, 1758) ***Bolinus brandaris***

يسمى أيضاً Murex brandaris، القوقعة كروية ذات قناة أمامية طويلة وأشواك تنشأ من العروق، لها خطوط حلزونية رفيعة تلتف بشكل مستمر حول اللفات، اللون كريمي إلى رمادي الأبعاد الاعظمية (6.6 x 9.2) سم يعيش على القاع الرملي _الطيني في المنطقة الشاطئية ويستهلك نيئاً، تغزر كتل بيوضه على طول الشاطئ .

- ***(***Swainson, 1821) ***Strombus persicus***

رخوي له قوقعة سميكة ثقيلة، يملك غطاء جلدياً خشناً له حواف مثل المنشار وهذا النوع عاشب ينتشر بغزارة في المنطقة تحت الشاطئية على القيعان المغطاة بالرمال. وهو نوع مهاجر من البحر الأحمر يصل طوله الأعظمي إلى 6,3 سم في المتوسط في أغلب الأحيان تكثر قواقعه الفارغة على الشاطئ .

- (Born, 1780) ***Monodonta turbinate***

حلزون نباتي يتغذى على الطحالب ينتشر بغزارة فوق القاع الصخري وعلى الحجارة في برك المناطق الشاطئية وتحت الشاطئية ، القوقعة كروية خشنة وثخينة أبعاده بين (3.3 x 3.5 سم) تصل مستويات الكتلة الحيوية لهذا النوع في بعض مناطق البحر المتوسط إلى 1غ/م^2.

- **الإسفنج *Spongia officinalis*** (Linnaeus, 1758)

إسفنج له شكل كتلي مع نموات مزودة بسطح خشن ومشوك، الفتحات الزفيرية ذات قطر 3– 15 مم و تتوضع غالباً على السطح ، لونه مابين الأبيض المائل للأصفر إلى اللون الأسود يزيد قطره الاعظمي على 35 سم، تصل نسبة البروتينات فيها إلى 28.20% .

- **الإسفنج *Axinella Polypoides* (Schmidt, 1862)**

إسفنجيات منتصبة ذات نموات متفرعة تمتد لعدة سنتمترات، لونها برتقالي ذات فوهات شهيقية و زفيرية دقيقة جداً موزعة على كامل الجسم، تصل نسبة البروتينات فيها إلى 51.76%.

- **الإسفنج *Ircinia sp.***

إسفنج ضخم سطحه الخارجي خشن، مزود بفتحات كبيرة متباعدة ، لونه أسود رمادي، يعيش على المستندات الصلبة والحصوية في المنطقة تحت الشاطئية على عمق 15– 20 م .

- ***Balanus balanus*** (Linne 1758)

من القشريات التي تتواجد مقذوفة على الشاطئ بشكل كتل، قوي متماسك وكثيف مخروطي الشكل مغطى بقشيرة خارجية رقيقة ،هذا النوع منتشر في المنطقة تحت الشاطئية وفي القاع الرملي الصخري حيث يصل متوسط الكتلة الحيوية الى 650 غ/م^2.

- **الطحلب Sargassum**

يقسم إلى شبه ساق وأوراق تحمل بعض أنواعها في أعضاء التكاثر والعوم، الساق قصيرة تحمل مجموعة فروع أولية وثانوية والأوراق مسننة ذات ضلع رئيسي وحيد، يوجد بكميات كبيرة على الصخور والشواطئ أو عائماً على سطح الماء، تقدم بقاياه كأعلاف للحيوانات .

- ***الطحلب* Jania**

المشرة قاسية ومتكلسة متفرعة ومفصلية الفروع اسطوانية، يتراوح اللون بين البنفسجي والزهري، الأوراق رفيعة بشكل وردي وتتفرع ثانويًا بشكل ابري أو ريشي تعيش الأنواع المعمرة في البيئات المحمية تحت الشاطئية وتنمو مع غيرها من الطحالب *Cystoseira, Cladostephus, Stypocaulon, Digenea, Posidonia*، يوجد بغزارة بشكل عناقيد أو خصل مدورة حرة تعتبر من أكثر الطحالب تراكماً على الشاطئ .

- **الطحلب Galaxuara**

المشرة مشربة بالكلس قائمة متفرعة بانتظام أو بشكل غير منتظم، وهي من نمط متعدد المحاور ويمكن أن يكون النبات بدون أشعار أو مكسو بأشعار.

- **الطحلب Colpomenia**

من الطحالب السمراء مشراتها بشكل حويصلات مجوفة اسفنجية وهي ذات لون بني مصفر الى أسمر يوجد على أعماق ضحلة وفي البرك الشاطئية وعلى الشواطئ المكشوفة مقذوفاً بأمواج المد العالي تحوي على العديد من

المواد المهمة صيدلانياً ، هذا الطحلب يقدم كأعلاف للحيوانات أو يستخدم كأسمدة للحدائق إذا توافر بكميات كبيرة .

- **الطحلب Liagora**

ينتشر على الشاطئ بكثرة، له مشرة اسطوانية مشرشرة، تتفرع بشكل ثنائيات، السطح قوي ومرن ومتكلس، يصل ارتفاع الطحلب من 150–250 مم، يتراوح لونه بين الأبيض والأخضر مع حواف محمرة ينتمي إلى جنس Liagora 64 نوعاً تقريباً من أهمها *Liagora distenta* من نمط الكلادوم متعدد المحاور.

- **الطحلب Ulva:**

يطلق على هذا الجنس اسم خس البحر، المشرة صفيحية كيسية واسعة الإنتشار في المناطق الشاطئية تتثبت بمجموعة من الجذيرات، هذا الجنس غني باليود والحديد والفيتامينات A, B, C وله فوائد طبية عديدة .

- **الطحلب Padina :**

المشرة صفيحية ورقية مروحية الشكل، لونها ذهبي إلى أسمر داكن، غنية بالألجينات واليود وهي مصدر هام جداً للكالسيوم، يستخدم الخل أو عصير الليمون لإزالة التكلس عن سطح المشرة وهي تجمع وتستخدم كأعلاف للحيوانات بعد أن تجفف تحت أشعة الشمس .

ويظهر الشكل (4) بعض الصور لمخلفات بحرية متراكمة على الشاطئ في مناطق مختلفة من الشاطئ السوري

الشكل (4) مخلفات بحرية متراكمة على شواطئ المدينة الرياضية وشاليهات الدراسات

ويوضح الجدولان(1، 2) الوضع التصنيقي للأحياء البحرية النباتية والحيوانية المتراكمة على الشاطئ

جدول(1) الوضع التصنيفي للأحياء البحرية النباتية المتراكمة على الشاطئ في مناطق الدراسة

Genus	***Family***	***Order***	***Class***	***Phylum***	**Kingdom**
Liagora	Liagoraceae	Nemaliales	Florideophyceae	Rhodophyta	Plantae
Galaxaura	Galaxauraceae				
Jania	Corallinaceae	Corallinales			
Padina	Dictyotaceae	Dictyotales	Phaeophyceae	Ochrophyta	
Sargassum	Sargassaceae	Fucales			
Colpomenia	Scytosiphonaceae	Ectocarpales			
Ulva	Ulvaceae	Ulvales	Ulvophyceae	Chlorophyta	

جدول(2) الوضع التصنيفي للأحياء البحرية الحيوانية المتراكمة على الشاطئ في مناطق الدراسة

Species	***Family***	**Order**	***Class***	***Phylum***	**Kingdom**
Monodonta turbinata	Trochoidae	Archaegastropoda	Gastropoda	Mollusca	Animalia
Bolinus brandaris	Muricidae	Neogastropoda			
Strombus persicus	Strombidae	Caenogastropoda			
Brachidontes pharaonis	Mytilidae	Mytiloida	Bivalvia		
Charybdis hellir	Portunidae	Decapoda	Crustacea	Arthropoda	
Eriphia verrucosa	Xanthidae				
Balanus balanus	Balanidae	*Sessilia*			
Axinella polypoides	Axinellidae	Halichondrida	Demospongia	Porifera	
Spongia officinalis	Spongidae	Dictyoceratide			
Ircinia sp	Irciniidae				

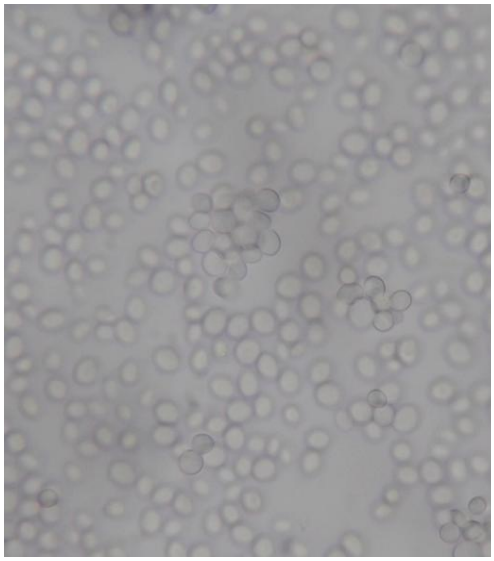
2. 2 . 2. الأحياء الدقيقة المعزولة المستخدمة في عمليات المعالجة الحيوية للمخلفات :

Isolated Microorganisms And Using In Biotechnology

عزلت مجموعة الأحياء المستخدمة من أوساطها الطبيعية، حيث عزل *Geotrichum* candidum من اللبن والمخللات وثمار البرتقال المصابة، وعزل الـ*Aspergillus niger* من التربة ومن البصل أما بالنسبة إلى خميرة *Saccharomyces cerevisiae* فاستعملت خميرة الخبز الجافة، بعد عزل هذه الأحياء تمت تنميتها على أوساط زرع جاهزة وهي وسط Czapeck و PDA. وحضنت الأطباق في الحاضنة عند الدرجة 28 درجة مئوية لمدة بين (5–7) أيام ، ثم تم تحديد هويتها بناءاً على الخصائص المورفولوجية للمزارع والدراسة بالمجهر الضوئي ثم حفظت في البراد عند الدرجة الحرارة 4+ درجة مئوية، وتمت عمليات تنشيطها ثم تحضير البادئ منها واستخدامها في المعالجة الحيوية . وفيما يلي توصيف للفطور والخمائر المستخدمة في المعالجات الحيوية للمخلّفات الشاطئية

- **الخميرة *Saccharomyces cerevisiae***

خلاياها مفردة مستديرة أو بيضوية الشكل. وتتصل أحياناً خلايا الخميرة ببعضها وتكون سلاسل تسمى بالغزل الفطري الكاذب. هي واسعة الانتشار (في كل مكان) شائعة في الألبان والمنتجات اللبنية بأنواعها وعلى أسطح الفواكه. ليس لها غزل فطري (ميسليوم). تتكاثر بالانقسام البسيط وبالتبرعم ويظهر الشكل (5) خلايا الخميرة تحت المجهر الضوئي. أهميتها: في المجال الصناعي في صناعة الخميرة وعمليات التخمر عامةً.



الشكل(5) خلايا الخميرة *S. cerevisiae* في معلق الخلايا

- **الفطر *Aspergillus niger***

من الفطريات الأسكية الأكثر انتشاراً في الطبيعة. الميسليوم مقسم بحواجز عرضية، تنتفخ نهاية كل حامل على شكل رأس مستدير تسمى الحوصلة الكونيدية ينبثق منها تفرعات أولية طويلة (ميتولا) وتفرعات ثانوية قصيرة (فاليدات) تحمل الأبواغ الكونيدية، والكونيدات كروية وحيدة الخلية جدارها الخارجي خشن. يستعمل هذا النوع في إنتاج الأحماض كحمض الليمون وبعض الفيتامينات والمضادات الحيوية، تم عزله من أوساطه الطبيعية من التربة ومن البصل، ويظهر الشكل (6) الفطر على وسط Czapeck .

الشكل(6) الفطر *A. niger* على وسط Czapeck Dox's agar

- **الفطر *Geotrichum candidum***

الشكل (6) الفطر *G. candidum* على وسط PDA

من الفطريات الزقية العارية، يتكون من خيوط فطرية واضحة تتقطع الأجزاء النهائية منها إلى أبواغ مفصلية صغيرة Arthrospores ذات شكل خاص اسطوانية قصيرة أو مكعبيه. وهو فطر شائع فوق الأطعمة التي تحتوي حمض اللبن وعلى المخللات حيث يشكل نمواً قشرياً على السطح كما ويتواجد على الثمار الناضجة وعلى المنتجات اللبنية، تم عزله من أوساطه الطبيعية من اللبن ومن المخللات ومن الفاكهة المتعفنة. ويظهر الشكل (7) الفطر على وسط PDA.

ويبين الجدول (3) الوضع التصنيفي للأحياء الدقيقة المستخدمة في عمليات المعالجة الحيوية للمخلفات

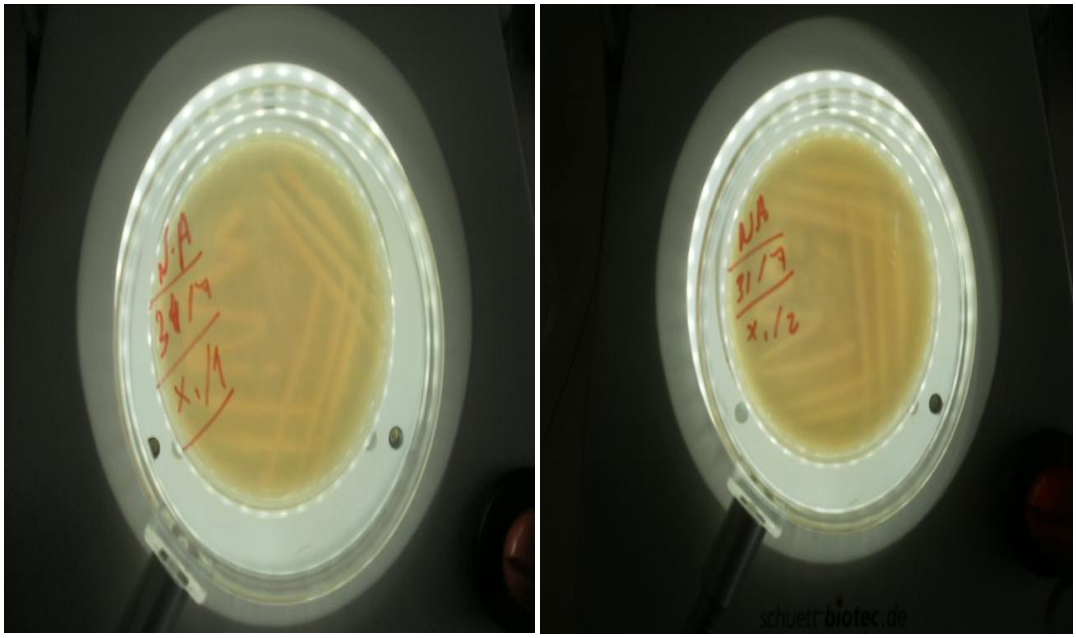
جدول(3) تصنيف الأحياء الدقيقة المستخدمة في عمليات المعالجة للمخلفات الشاطئية

Species	Genus	Family	Order	Class	Kingdom
Saccharomyces cerevisiae	Saccharomyces	Saccharomycetaceae	Saccharomycetales	Ascomycetes	Fungi
Aspergillus niger	Aspergillus	Moniliaceae	Moniliales	Deuteromycetes	
Geotrichum candidum	*Geotrichum*	Endomycetaceae	Endomycetales	Ascomycets	

2 .2 .3. عزل مجموعة من الخمائر من المخلفات المتراكمة على الشاطئ لاستخدامها في عملية التخمر المخبرية:

Isolation Some Yeasts From Marine Waste For Use In Fermentation

تم عزل سلالتين من الخمائر بناءاً على الخصائص المورفولوجية للمزارع، وتنميتها على وسط الأغار المغذي بهدف زراعتها مجدداً على المخلفات ولكن ضمن شروط التخمر المخبرية، تم نقل هذه الأحياء إلى مصل فيزولوجي لإعداد بادئ منها بهدف الزراعة السائلة وجرى تلقيح الأوساط التخميرية بها مع باقي الفطريات المستخدمة في البحث، ويظهر الشكل (8) صورتين لنوعي الخمائر المعزولة من المخلفات الشاطئية .



الشكل (8-b) الخميرة X_2 المعزولة من المخلفات الشاطئية الشكل (8–a) الخميرة X_1 المعزولة من المخلفات الشاطئية

2 . 2 . 4 . تحضير معلق الأبواغ (البادئ) Spore Suspension(Initiator) Preparation

تم تحضير معلق الأبواغ أو الخلايا على الشكل التالي : أضيف الى طبق البتري الحاوي على المستعمرات النقية من الفطريات من (10–30 مل) ماء مقطر معقم وتركت الأبواغ حتى تطفو على السطح حركت جيداً ثم رشح السائل على ورقة ترشيح للحصول على معلق حاوي على الأبواغ فقط دون الأجزاء الأخرى من الفطر ثم أخذت قطرة من معلق الأبواغ وحسب التركيز على النحو التالي :

وضعت القطرة على الشريحة المخصصة لعد الأبواغ (Neubauer counting chamber) فوق المربع المقسم وغطت بساترة وجفف السائل الزائد من جوانب الساترة بورق نشاف ثم تم عد الأبواغ في المربع المقسم، يحسب حجم القطرة بحساب حجم المربع يضرب عدد الأبواغ بـ 10000 فنحصل على عدد الأبواغ في 1 مل معلق أبواغ ثم يحسب عدد الأبواغ في ثلاث مربعات على الأقل ويؤخذ المتوسط.

2- 3- تحضير أوساط التخمير السائلة والصلبة:

Preparation of liquid and solid fermentation media

تم تحضير أوساط التخمير من المخلفات البحرية الشاطئية الحيوانية والنباتية بعد غسلها وتجفيفها وطحنها لتكون جاهزة كأوساط تخميرية مع تقديم بعد الإضافات من مصادر نتروجينية إضافية وبعض الأملاح المعدنية التي تضم أهم العناصر التي تحتاجها الأحياء الدقيقة في تغذيتها.

2. 3 .1. الزراعة السائلة و تحضير وسطي التخمير الأول والثاني :

Liquid Culture And Preparation Of The First And Second Fermentation Medium

يتم مزج محلول 1 لتر ماء مقطر يحوي :(2 غ نترات الصوديوم ($NaNo_3$)، 1 غ فوسفات البوتاسيوم احادية الهيدرجين (k_2Hpo_4)، 0.5 غ كبريتات المغنزيوم المائية ($MgSO_4.7H_2O$)، 0.5 غ كلوريد البوتاسيوم (KCl) ، 0.01 غ كبريتات الحديد المائية ($FeSO_4 .7H_2O$)، أضيف إليها 70غ مخلفات شاطئية مختلطة نباتية وحيوانية، العينة المختلطة (1) شكلت الوسط الأول، والعينة المختلطة (2) شكلت الوسط الثاني، و/أو حللت حامضياً بشكل جيد بواسطة حمض الكبريت المركز(2%)، مزجت جيداً ووزعت على ارلنمايرات سعة 250 مل، في كل منها 100 مل وسط تخمير بتركيز مخلفات(مصدر كربوني) 7% وأغلقت جيداً بالقطن وورق الالمنيوم وعقمت بالأوتوغلاف عند درجة الحرارة 121 درجة لمدة ربع ساعة ثم تركت لتبرد وحقنت بالبادئ من(تركيز 10^6 خلية /مل) ضعت في الحاضنة بمقدار هز 125 rpm و pH الابتدائي (5.5) عند الدرجة 28 درجة مئوية لمدة 15 يوم.

2 . 3 . 2 تحضير وسط التخمير الثالث Preparation Of The Third Fermentation Medium

يتم مزج محلول 1 لتر ماء مقطر يحوي : 2 غ كبريتات الامونيوم ($(NH_4)_2S0_4$) ،1غ فوسفات البوتاسيوم احادية الهيدرجين (k_2Hpo_4) ، 0.5 غ كبريتات المغنزيوم المائية ($MgSO_4.7H_2O$) ، 0.1 غ كبريتات الزنك المائية ($ZnSO_4 .7H_2o$) ، أضيف إليها 100غ مخلفات شاطئية (العينة المختلطة 4) محلمهة بوساطة حمض الكبريت بتركيز (2%)، مزجت جيداً ووزعت على ارلنمايرات سعة 250 مل في كل منها 100 مل وسط تخمير بتركيز مخلفات 10% ومن ثم عقمت بالأوتوغلاف على درجة الحرارة 121 درجة لمدة ربع ساعة ثم تركت لتبرد وحقنت بالبادئ تركيز 10^6(خلية /مل) ووضعت في الحاضنة عند الدرجة 30 درجة مئوية بمقدار هز 140 rpm و pH الابتدائي 6 لمدة 25 يوم. أخذت عينات بعد مرور و5 أيام و9 و15 و25 يوماً وجرى تعيين الكتلة الحيوية الناتجة بعد انتهاء عملية التحضين، وضعت الكتلة المتخمرة في بياشر موزونة مسبقاً وهي فارغة ثم جففت العينات في حمام مائي عند الدرجة 100 درجة مئوية، ثم وضعت في الفرن على الدرجة 105 وتركت العينات لتبرد ثم تم وزن كل عينة على حدة لحساب الكتلة الحيوية الناتجة بعد الزراعة .

2 . 3 . 3. وسط التخمير بماء الحنفية (الشرب) فقط Tap Water Fermentation Medium

يتم مزج 1 لتر ماء حنفية يحوي : 100غ مخلفات شاطئية (العينة 4) محلمهة بوساطة حمض الكبريت بتركيز (2%) ومع مراعاة شروط التخمير(الفقرة 2-3-2) بدون اضافات المصادر النتروجينية والأملاح المعدنية .

2 .3 .4. الزراعة الصلبة وتحضير أوساط التخمير

Preparation Of Solid Fermentation Media

تم تحضير ثلاث أوساط تخميرية للزراعة الصلبة على الشكل التالي :

- **الوسط الأول:** 40 مل ماء حنفية أضيف اليها 20 غ مخلفات مختلطة من العينة رقم (1) يحوي كل 10 مل وسط تخميري 5غ مخلفات للوصول للحالة الصلبة بنسبة مخلفات: ماء (2:1)
- **الوسط الثاني:** 50 مل وسط Czapeck أضيف اليها 25 غ مخلفات من العينة(2) محلمهة بحمض الكبريت
- **الوسط الثالث:** 50 مل وسط Czapeck + 30 غ مخلفات العينة(3) غلفت جيداً بورق الالمنيوم عقمت بالأوتوغلاف على الدرجة 121 لمدة ربع ساعة وبعد التبريد حقنت بالبادئ ووضعت في الحاضنة (زراعة ساكنة) عند الدرجة 28 درجة مئوية لمدة أسبوع.

2 . 4. تجهيزات البحث Equipments :

2. 4. 1 . الأجهزة والأدوات المستخدمة Equipment And Instruments

جهاز كيلدال لتحديد محتوى البروتين يتضمن جهاز التهضيم مع الأنابيب وجهاز التقطير مع توصيلاته (Buchi Digest system K-437)، الأوتوكلاف(nuve steamArT ، OT4oL)، حاضنة شيكر(InfoRs)، حاضنة فطرية (napco)، غرفة عزل جرثومي (JSCB-1200SB)، جهاز تحديد الرطوبة (Precisa)، ميزان حساس(Precisa-XB22oA)، فرن تجفيف(JANATinstRuEMents)، مجهر ضوئي(motic) ، شريحة تعداد الكريات الدموية (Neubauer counting chamber)، وحمام مائي(K.F.T LaB.EouiPMENT)، جهاز قياس pH، ميزان حرارة، مصباح بنزن ، مطحنة وبراد وأدوات مثل ارلنمايرات، بياشر، أنابيب اختبار، بالون معايرة، أقماع، أوراق ترشيح، ورق المنيوم، أطباق بتري، أبرة ذات عقدة، ميزان حرارة، سحاحة، قمع فصل، جفنات بورسلان، هاون، قطن .

2 . 4 . 2 . المواد الكيميائية والكواشف المستخدمة Materials And Reagents

محلات عضوية (الهكسان)، حمض كلور الماء10%، حمض كلور الماء المركز، محلول فهلنغA (كبريتات النحاس المائية) ومحلول فهلنغ B (طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم وماءات الصوديوم)، محلول سكر مرجع حمض الكبريت، حمض البور، كاشف أزرق الميتيلين، أحمر الفينول، ماءات الصوديوم 33%، كبريتات الصوديوم اللامائية، وسيط كلداهل(كبريتات البوتاسيوم وعنصر السيلينيوم Se)، ماء مقطر، وأوساط الزرع العامة

الجاهزة: وسط شابيك Czapeck Dox's agar ، وسط potato dextrose agar (PDA) ، وسط الآغار المغذي (Nutrient Agar) المكون من (مستخلص لحم، ببتون، اغار، ملح الطعام).

2 . 5 الطرائق التحليلية Analytical Methods

جرت التحاليل باستخدام مجموعة من الطرق لمعرفة التركيب الكيميائي الحيوي للعينات المدروسة وحللت بشكل عينات مختلطة حيث تم :

- **تحديد السكريات الموجودة في العينات باستعمال طريقة فهلنغ** (AOAC, 2005)
- **تحديد نسبة البروتينات : (طريقة كلدال Kjeldahl method)** (AOAC, 2005)
- **تحديد نسبة المواد الدسمة :باستخدام طريقة قمع الفصل.** (AOAC, 2005)
- **تم تحديد الرطوبة باستخدام جهاز تحديد الرطوبة (Precisa) وبطريقة التجفيف حتى الوزن الثابت على درجة الحرارة 105 درجة مئوية لمدة 12 ساعة .**

2. 6 تطبيق خلطة علفية وتجريبها على مجموعة من (فراخ الدواجن):

Feeding A Group Of Poultries With Modified Mixture Of Fodder

تم استبدال المصدر البروتيني في مكونات العلف التجاري (فول الصويا) والحموض الأمينية بشكل كامل بالخليط الناتج عن معالجة المخلفات الشاطئية المتخمرة بعد الحلمهة الحامضية وزراعة الأحياء الدقيقة المدروسة وتطبيق هذه الخلطة على مجموعة من الدواجن(3 أفراد من نوع **Hubbard Classic**) تم بتربيتها من عمر 3–16يوماً، ثم تم اكمال التجربة حتى شهر كامل 31 يوماً بالعلف التجاري، وجرت مقارنتها مع مجموعة ثانية تغذت على العلف التجاري من بداية التجربة حتى نهايتها، وذلك في شروط المدجنة النظامية من درجة الحرارة والماء المعقم والرطوبة المناسبة وحددت مجموعة من المعاملات وهي:

الوزن الناتج (غ).(Weight gain per chick)= الوزن في نهاية التجربة- الوزن البدائي

معامل تحويل الغذاء.(Feed conversion) = كمية العلف الجاف المأخوذ/الزيادة في وزن الفرد.

معدل النمو اليومي(غ/اليوم) (daily gain Average) = الوزن النهائي- الوزن البدائي/مدة التجربة

(Boujard *et al*.,2004)

الفصل الثالث

معالجة المخلفات البحرية مخبرياً وتطبيقها على الدواجن
Tteatment Of Marine Wastes And Application As Poultry Fodder

3-1 التركيب الكيميائي الحيوي للمخلفات على الشاطئ :
Biochemical composition Of Marine Waste

تم دراسة مجموعة من العينات المأخوذة من الشاطئ وتحليلها على شكل عينات مختلطة تضم بقايا حيوانية ونباتية وذلك تبعاً لمنطقة وتاريخ الجمع وهي عينات مغسولة بمياه الحنفية من آثار الملوحة ومجففة وبعضها تركت بملوحتها وبدون غسيل وتجفيف كما وتم تحليل عينات نباتية لوحدها وعينات حيوانية ويظهر الجدول(4) هذه النتائج :

جدول (4) نتائج التحاليل الكيميائية الحيوية للعينات المدروسة ونسبها المئوية في المادة الجافة

اسم العينة	نسبة السكريات %	نسبة البروتينات %	نسبة الدسم %
عينة المختلطة1 (بدون غسيل وتجفيف)	26.49	1.81	0.93
العينة المختلطة2 (مغسولة ومجففة)	43.73	3.44	0.39
طحالب بدون غسيل وتجفيف *Jania*	40.51	1.42	0.27
العينة المختلطة 3	37.83	1.06	0.09
بيوض Bolinus	20.28	11.44	1.89
Galaxuara	25.50	1.35	0.69
Liagora	21.56	1.45	0.97
Ulva	43.83	6.92	0.74
Colpomenia	*25.84*	3.39	3.15
Sargassum	36.22	3.0	1.0
العينة المختلطة 4	33.84	5.65	1.22

يبين الجدول(4) نتائج التحاليل الكيميائية الحيوية للعينات المدرسة ونلاحظ فيها ارتفاع نسبة السكريات (20.28-43.83%) في العينات المختلطة وفي الطحالب المدروسة، مما يخولها أن تكون مصدراً كربونياً وحيداً في الأوساط الزرعية التي ستنمو عليها الفطريات والخمائر وستستخدمها في بناء كتلتها الحيوية، كما اظهرت العينات انخفاضاً لنسبة البروتينات فيها باستثناء بيوض *Bolinus* التي بلغت نسبة 11.44 % في المادة الجافة، أما نسب المواد الدسمة فكانت منخفضة بشكل عام وخاصة في العينات النباتية .

3-2 إغناء المخلفات البحرية عن طريق عمليات التخمير:

Enrichment Of Marine Wastes By Fermentation

تمت عملية الزراعة على مرحلتين الأولى دون إجراء معالجة كيميائية للمخلفات الشاطئية (بدون حلمهة) والمرحلة الثانية أجريت عملية الحلمهة الحامضية للمخلفات بواسطة حمض الكبريت بتركيز 2%، وتم تعقيم أوساط التخمير وحقنها بمعلق الأبواغ والخلايا، كما حقنت بـ 1غ مخلفات متخمرة على الشاطئ، وشاهد ترك بدون حقن بالبادئ، ومن ثم تمت عملية الحضانة تحت شروط التحضين لمدة 15 يوماً للوسطين الأول (الذي يضم المخلفات من العينة المختلطة1) والوسط الثاني (مخلفات من العينة المختلطة 2).

3- 2-1 تأثير الفترات الزمنية المختلفة للتحضين على إنتاج البروتين:

The Effect Of Incubation Time On Protein Production

قدرت نسبة البروتين خلال فترات زمنية مختلفة (3, 7, 11 , 15) يوم وذلك بأخذ 5 مل عند كل فترة وتمت المقارنة بين الأوساط قبل و بعد الحلمهة، إنتاجية البروتين = كمية البروتين الحيوي x 100/ الوزن الجاف

تعد الفطريات من أفضل الأحياء الدقيقة المنتجة للأنزيمات المحللة للمركبات السكرية المعقّدة إذ تقوم بتحويلها لمركبات أبسط ومن ثم استقلابها وتحويلها إلى بروتين وبذلك يتم رفع القيمة الغذائية لهذه المخلفات بعدما كانت نسبة البروتينات في الوسط الأول (1.81%) وفي الوسط الثاني (3.44 %) قبل المعالجة الحيوية، كما هو موضح في الجداول (5) و(6) و(7) و(8)

الجدول (5) تأثير الفترات الزمنية المختلفة على انتاج البروتين بواسطة الأحياء المستخدمة قبل الحلمهة على الوسط الأول غ/ 100غ مادة جافة بعد مرور 15 يوم

اسم المزرعة	البروتين الكلي							
	3أيام		7 أيام		11 يوم		15 يوم	
	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج
Geotrichum . candidum	0.14	3.36	0.25	6.13	0.29	7.61	0.33	9.12
Saccharomyces. cerevisiae	0.18	4.32	0.28	7.01	0.32	8.46	0.37	10.39
Aspergillus. niger	0.20	4.79	0.29	7.29	0.36	9.41	0.42	11.58
1غ مخلفات	0.16	3.85	0.24	6.07	0.30	7.80	0.34	9.59
شاهد	0.12	2.84	0.12	3.08	0.12	3.16	0.11	3.08

الجدول (6) تأثير الفترات الزمنية المختلفة على انتاج البروتين بواسطة الأحياء المستخدمة بعد الحلمهة غ/ 100غ مادة جافة على الوسط الأول بعد مرور 15 يوم

اسم المزرعة	البروتين الكلي							
	3 أيام		7 أيام		11 يوم		15 يوم	
	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج
Geotrichum . candidum	0.31	5.80	0.55	10.93	0.70	18.08	0.78	21.53
Saccharomyces. cerevisiae	0.28	6.64	0.53	12.97	0.69	17.67	0.82	22.45
Aspergillus. niger	0.32	7.37	0.55	13.54	0.76	19.90	0.91	24.89
1 غ مخلفات	0.38	8.92	0.50	12.27	0.51	13.40	0.53	14.65
شاهد	0.19	4.43	0.19	4.69	0.19	4.99	0.19	4.66

يبين الجدول (5) تزايداً بطيئاً لنسب البروتين في المزارع مع مرور الزمن وعدم قدرة الفطريات على تلبية احتياجاتها من المخلفات ويمكن أن يعزى ذلك إلى وجود مركبات سكرية معقدة عديدة في المخلفات البحرية مميزة للأحياء البحرية وعجز الفطريات عن تفكيكها واستخدامها في نموها، حيث سجلت أعلى نسبة مئوية للبروتين قبل الحلمهة عند المعالجة بالفطر *A. niger* وكانت 11.58 غ/ 100غ مادة جافة، في حين كانت قدرة الخميرة *S. cerevisiae* والفطر *G . candidum* على إنتاج البروتين أقل من ذلك، بينما يظهر الجدول (6) نتائج المعالجة بعد الحلمهة على الوسط التخمري الأول فلوحظ أن نسبة البروتين كانت تتزايد مع مرور الزمن في مزرعة الفطر *A. niger* وصلت إلى نسبة 24.89 غ/100غ مادة جافة بعد 15 يوماً، أما الخميرة *S. cerevisiae* فحققت نسبة 22.45 غ/ 100غ مادة جافة والفطر *G . candidum* إلى نسبة 21.53 غ/ 100غ مادة جافة، مقارنة مع نسبة بروتين (1.81%) في المادة الأولية، ولوحظ زيادة في الوسط بعد اضافة 1غ من بقايا متخمرة على الشاطئ والحاوية على مجموعة من الخمائر ساهمت في زيادة نسبة البروتين إلى 14.65 غ/ 100غ مادة جافة، بمقارنة الجداول (5) و(6) يلاحظ تزايد نسب البروتين بشكل ملحوظ بعد عملية الحلمهة الحامضية مقارنة مع النسب قبل الحلمهة، وبالتالي فإن المعالجة الأولية باستخدام الحلمهة الحامضية للمخلفات زادت من نسبة السكريات المتخمرة المستقلبة من هذه المخلفات والتي تكون بمتناول الفطريات التي تستخدمها كمصدر للكربون في عملية النمو وبناء الكتلة الحيوية، كما أن تدعيم مكونات الوسط بالأملاح والمواد الاضافية تزيد من قدرة الفطريات على النمو واستهلاك المصدر الكربوني المتوفر في المخلفات الشاطئية لزيادة انتاج الكتلة الحيوية وبالتالي نسبة البروتين .

الجدول (7) تأثير الفترات الزمنية المختلفة على إنتاج البروتين بواسطة الأحياء المستخدمة قبل الحلمهة على الوسط الثاني غ/ 100غ مادة جافة بعد مرور 15 يوم

اسم المزرعة	البروتين الكلي							
	3 أيام		7 أيام		11 يوم		15 يوم	
	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج
Geotrichum . candidum	0.19	3.55	0.31	6.22	0.40	8.45	0.47	10.53
Saccharomyces. cerevisiae	0.25	4.81	0.37	7.42	0.43	9.18	0.48	10.70
Aspergillus. niger	0.28	5.34	0.49	9.78	0.56	11.78	0.64	14.38
1غ مخلفات	0.18	3.47	0.38	7.67	0.39	8.25	0.42	9.43
شاهد	0.18	3.43	0.18	3.63	0.17	3.70	0.17	3.85

الجدول (8) تأثير الفترات الزمنية المختلفة على انتاج البروتين بواسطة الأحياء المستخدمة بعد الحلمهة غ/ 100غ مادة جافة على الوسط الثاني بعد مرور 15 يوم

اسم المزرعة	البروتين الكلي							
	3 أيام		7 أيام		11 يوم		15 يوم	
	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج
Geotrichum . candidum	0.31	7.15	0.52	10.40	0.71	15.08	0.74	20.46
Saccharomyces. cerevisiae	0.34	6.43	0.73	14.58	0.92	19.48	1.12	25.13
Aspergillus. niger	0.40	7.55	0.81	16.12	0.95	20.17	1.27	28.52
1غ مخلفات	0.42	8.00	0.64	12.80	0.84	17.76	0.96	21.50
شاهد	0.24	4.50	0.19	3.87	0.19	4.13	0.19	4.36

يبين الجدولان (7) و(8) تفاوتاً واضحاً في نسب البروتين الناتجة، على الوسط التخمري الثاني بين قبل وبعد الحلمهة، حيث سجلت أعلى نسبة للبروتين قبل الحلمهة عند المعالجة بالفطر *A. niger* وكانت 14.38 غ/ 100غ مادة جافة وتفوق الفطر بعد الحلمهة ايضاً طيلة فترة التجربة في الزيادة المطردة في البروتين، فكانت النسب(7.55 , 16.12 , 20.17 %) بعد 3 , 7, 11 يوماً على التتالي، وبلغت أعلى كمية من البروتين بعد مرور خمسة عشر يوماً وكانت 28.52 غ/100غ مادة جافة، ومن ثم الخميرة *S. cerevisiae* بنسبة 25.13 غ/ 100غ مادة جافة والفطر *G. candidum* ووصلت النسبة 20.46 غ/ 100غ مادة جافة بعد الحلمهة وحققت العينة المدعمة بمخلفات شاطئية متخمرة نسبة وصلت إلى 21.50 غ/ 100غ مادة جافة، وإن إرتفاع نسبة البروتين يمكن أن يعزى الى الأنزيمات الخارج خلوية المفرزة من الميسليوم الفطري

(Oboh & Akindahunsi, 2003 ; Nelson *et al* ., 2000)

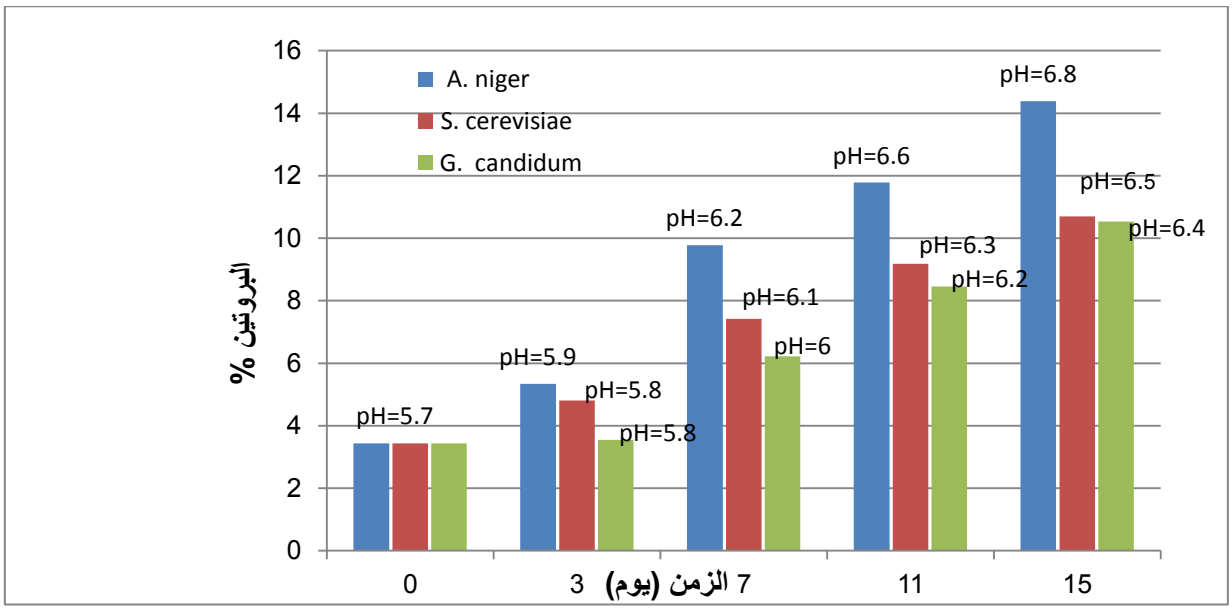
يعزى تفوق الفطر *A. niger* لافرازه مجموعة واسعة من الأنزيمات هي Cellulase , Amylase Phytase التي تحلمه الجزيئات المعقدة للركيزة (المخلفات) إلى جزيئات أبسط تسهل عملية هضمها وامتصاصها، حيث أن التخمر بـ*A. niger* يزيد نسبة الأحماض الأمينية الأساسية وغير الأساسية على حد سواء مما يحقق التوازن في نسبهما (Widjastuti *et al*., 2012)، كما أن الفطر *G . candidum* يفرز مجموعة من الأنزيمات هي Cellulase, Xylanase, Protease ,Peroxidase التي تساهم في عملية تفكك المخلفات وزيادة البروتينات فيها (Coman *et al* ., 2012)، كذلك تفرز الخميرة العديد من الأنزيمات أهمها Cellulase و Pectinase ، والتي تؤدي دوراً مهماً في جعل السكريات متوفرة في الوسط ، كما أن تزايد نسب البروتين يمكن أن يعزى الى النمو والإنتشار الواسع للخميرة والفطر في الركيزة المتخمرة وهذا ما يسبب ايضاً زيادة في بروتينات المخلفات (Akintomide and Antai, 2012 ; Akingbala *et al*., 1995 ;Antai and Mbongo, 1994).

عند دراسة الفترة الزمنية المناسبة لإنتاج البروتين بواسطة الأحياء المستخدمة تبين أنها تنتج أعلى كمية من البروتين بعد مرور خمسة عشر يوماً، وتبدو هذه الدراسة مطابقة للنتائج التي توصل اليها (Abdul-Nour, 1984) وتقارب هذه النتيجة ماجاء به (Gibriel *et al*., 1981) عند دراستهم إنتاج بروتين وحيد الخلية من مسحوق نخالة القمح بواسطة الفطر *A. terreus_ niger* ، حيث تبين أن أفضل فترة زمنية لإنتاج البروتين وحيد الخلية هو اليوم الخامس عشر وتتعارض هذه النتيجة مع ماتوصل اليه Yalemtesfa وزملاؤه (2010) أن أفضل فترة هي 4 أيام، وقد ترجع هذه الاختلافات إلى الاختلاف في نوع السلالة المستخدمة أو إلى نسبة السكريات والمغذيات الأخرى المضافة للوسط وكذلك طبيعة التحضين .

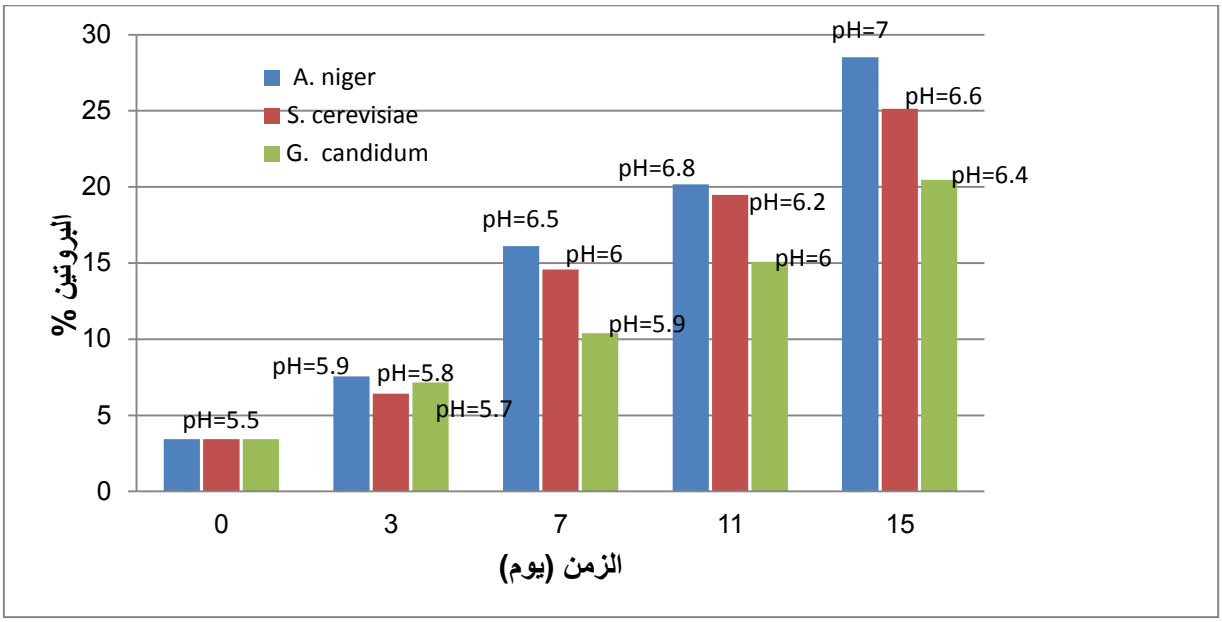
3-2-2 تغيرات درجة الحموضة (pH) خلال مراحل إنتاج البروتين:

The Effect Of pH On Protein Production

تعد درجة الحموضة من العوامل المهمة لنمو الأحياء وإنتاج الكتلة الحيوية حيث يتميز كل فطر بمدى معين من تركيز (pH) والذي من خلاله يعطي أفضل نمو، أظهرت التجارب أن معدل النمو تناسب طرداً مع زيادة الـpH في مزرعة الفطر *A. niger* والخميرة *S. cerevisiae* والفطر *G. Candidum*. وهذا مايبينه الشكلان (9) و (10) من قيم الـpH عند مراحل النمو وإنتاج البروتين الحيوي.



الشكل (9) تغيرات pH خلال مراحل انتاج البروتين في مزارع الأحياء النامية على الوسط التخمري الثاني قبل الحلمهة



الشكل (10) تغيرات pH خلال مراحل انتاج البروتين في مزارع الأحياء النامية على الوسط التخمري الثاني بعد الحلمهة

ويظهر الشكلان (9) و(10) ارتفاعاً ملحوظاً عن درجة pH الابتدائية وهذه الزيادة كانت مترافقة مع نمو الفطر وإنتاج البروتين. ويمكن أن يعزى ذلك إلى أن الفطر عند نموه ينتج بعض النواتج العرضية نتيجة للعمليات

الاستقلابية وأن معدل إنتاج هذه النواتج يكون ذا علاقة مباشرة مع معدل استهلاك السكر فبارتفاع استهلاكه ترتفع قيمة درجة الـpH .

3-2-3- تأثير شروط الوسط التخمري الثالث على نمو الأحياء وإنتاج البروتين في المزرعة.

The Effect Of Condition Of Second Fermentation Medium On The Growth Of Microorganisms And Protein Production

حضر وسط التخمير الثالث بشروط تخمر مختلفة من رفع تركيز المخلفات في الوسط الى10% (من العينة المختلطة4) وتم تغيير المصدر النتروجيني إلى كبريتات الأمونيوم كمصدر جديد، واضافة كبريتات الزنك كملح جديد، كما تم رفع درجة الحرارة إلى 30 درجة، وزيادة مقدار الهز في حاضنة شيكر إلى 140 (rpm) وإطالة فترة التخمر إلى 25 يوماً، وإضافة بادئين من سلالات الخمائر(X_1 , X_2) والتي سبق عزلها من المخلفات المتخمرة على الشاطئ. ويظهر الجدول (9) النتائج المتعلقة بانتاج البروتين في الوسط التخمري الثالث.

الجدول(9) تأثير شروط الوسط التخمري الثالث على انتاج البروتين بواسطة الأحياء المستخدمة غ/ 100غ مادة جافة بعد مرور 25 يوم

اسم المزرعة	البروتين الكلي							
	5 أيام		9 أيام		15 يوم		25 يوم	
	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج
Saccharomyces. cerevisiae	0.72	8.25	0.98	11.95	1.28	16,43	1.65	22.34
Aspergillus. niger	0.67	7.65	1.05	12.77	1.03	13.22	0.84	11.45
Geotrichum . candidum	0.40	4.46	0.64	7.78	1.19	16.16	0.99	13.43
سلالة خميرة X_1	0.46	5.25	0.75	9.11	0.55	7.07	0.18	2.58
سلالة خميرة X_2	0.47	5.39	0.68	8.33	0.66	8.49	0.25	3.59
شاهد	0.26	3.02	0.36	4.36	0.29	3.81	0.18	2.60

يبين الجدول (9) تفوق الخميرة *S. cerevisiae* بنسبة 16.43غ/100غ مادة جافة والفطر *G . candidum* بنسبة 16.16غ/100غ مادة جافة حتى فترة 15 يوم ثم تناقص هذه النسبة بعد ذلك في مزرعة الفطر في حين تواصل الخميرة *S. cerevisiae* زيادتها المطردة حتى اليوم 25 حيث وصلت لنسبة 22.34 غ/ 100غ مادة جافة في حين تناقصت النسب مع الأحياء الأخرى، أما فيما يخص سلالتي الخمائر المعزولة من نفس المخلفات فقد تحققت أعلى نسبة من البروتين بعد مرور 9 أيام بنسبة 9.11 غ/ 100غ ، وبعد ذلك يقل انتاج البروتين وقد يعزى السبب في النقص التدريجي للبروتين بعد هذه الفترة من الحضانة الى نفاذ المصدر النتروجيني في الوسط الغذائي، مما يؤدي الى تحلل البروتين الذي تنتجه انزيمات البروتيناز (Protinase)، كما أن توقف النمو قد يعود إلى نفاذ المصدر الكربوني أو نتيجة التغير في درجة الحموضة للوسط التخميري مما يؤدي الى تراكم بعض المواد الكيميائية الضارة الناتجةعن بعض التفاعلات الاستقلابية للفطر، أوعدم ملاءمة شروط الوسط للأحياء المستخدمة في المعالجة.

استطاعت الخميرة أن تتفوق في الوسط التخميري الثالث وتحقق أعلى نسبة بعد 25 يوماً ، يتضح وجود زيادة في معدل نمو الفطر وإنتاج البروتين وفعالية الأنزيمات بمرور فترة الحضن لغاية اليوم الخامس عشر يلاحظ بعدها حدوث انخفاض يستمر لعدة أيام، مما يدل على أن فترة الحضن 15 يوم هي الفترة الأفضل.

ومن ملاحظتنا للجداول نلاحظ حدوث تباين قي قدرة الفطريات على استهلاك التراكيز المختلفة للمخلفات. من المعروف أن الفطريات بصورة عامة تحتاج الى تراكيز سكريات منخفضة وبالتالي يزداد النمو عندما يتوفر المصدر الكربوني والمغذيات الأخرى المضافة للوسط، فبالإضافة للسكر المتحرر تضاف المغذيات لتدعيم نمو الفطر وكفاءته في إنتاج البروتين، ويمكن أن يعزى ذلك إلى أن الفطر ينمو في الوسط عندما تتوافر فيه كمية كافية من المصدر الكربوني وبقية المغذيات الناتجة عن تحلل المخلفات ويستمر في النمو الى أقصى ما يمكن في الطور الأسي، لكن عند وصول النمو للطور الثابت يكون قد استهلك المصدر الكربوني والمغذيات وتراكمت النواتج الاستقلابية ويحصل تحلل ذاتي لخلايا الفطر وهذا التحلل يؤدي الى إنخفاض معدل النمو وانخفاض للبروتين وفعالية الأنزيمات وتصبح إطالة فترة الحضن عملية غير مجدية، لا بل تسبب خفض إنتاج الفطر للبروتين وهذه النتائج تتوافق مع دراسات عديدة كانت فيها التراكيز 4 , 5 , 6 % أفضل التراكيز، في حين أن التركيز 10% ومافوق لم يحقق نتائج جيدة، ويفسر ذلك بأنه في بداية فترة الحضن تكون كمية السكريات المتاحة في الوسط قليلة وينمو الفطر بشكل بطيء لذلك تكون قدرته على إفراز الأنزيمات ضعيفة ومع مرور الوقت تزداد هذه المقدرة على إفراز الأنزيمات وتحرير السكريات الى الوسط ليصار إلى تمثيلها في عملية النمو.

بالنسبة لعملية الطحن للمخلفات باعتبارها معاملة فيزيائية تسبق المعاملة الكيميائية المتمثلة بالحلمهة الحامضية فتعتبر عملية مهمة جداً تزيد من قابلية المخلفات للتحلل الأنزيمي وذلك لأن الطحن يقلل من حجم القطع ويزيد المساحة السطحية المعرضة للأنزيم وبالتالي يسمح للماء والأنزيم بالتغلغل الى التركيب الدقيق للمخلفات وتحليلها، كما أن نترات الصوديوم ($NaNO_3$) كانت أفضل مصدر نتروجيني لنمو الأحياء المستخدمة في المعالجة وخاصة الفطر *A. niger* وهذا يتوافق مع ماتوصل اليه (Anupama and Ravindra, 2001)

كما أن لدرجة حرارة المزرعة أهمية كبرى في تحقيق معدل نمو عالٍ، فتبين أن الدرجة 28 درجة مئوية هي الأفضل بالنسبة لكل الأحياء المستخدمة وهذا يتوافق مع دراسات عديدة استخدمت فيها الأحياء نفسها المستخدمة في البحث (Akintomide and Antai, 2012; Yousufi , 2012) وتقارب ما توصل اليه (Hamdy, 2013) من أن الدرجة المثالية لنمو وإنتاج البروتين هي 27.5 درجة مئوية .

3- 2- 4 تأثير وسط التخمير بماء الحنفية على إنتاج البروتين

The Effect Of Tap Water-Fermentation Medium On Protein Production

حضر وسط التخمير من ماء الحنفية والمخلفات الشاطئية (العينة 4) ومع مراعاة شروط التخمير بدون إضافات المصادر النتروجينية والأملاح المعدنية وكانت النتائج كما هي في الجدول (10)

الجدول (10) تأثير الفترات الزمنية المختلفة على انتاج البروتين بواسطة الأحياء المستخدمة غ/ 100غ مادة جافة بعد مرور 15 يوم على المزارع المحضرة بماء الحنفية

اسم المزرعة	البروتين الكلي						الكتلة الحيوية الناتجة غ/100مل	البروتين في الكتلة الناتجة%
	5 أيام		9 أيام		15 يوم			
	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج	غ/100مل	%غ م. ج		
Saccharomyces. Cerevisiae	0.33	3.74	0.40	4.89	0.66	8.52	7.18	9.19
Aspergillus. niger	0.31	3.57	0.46	5.60	0.89	11.43	7.22	12.18
Geotrichum . candidum	0.27	3.11	0.38	4.70	0.43	5.58	5.03	8,54
سلالة الخميرة X_1	0.30	3.45	0.59	7.21	0.98	12.53	7.62	12.86
سلالة الخميرة X_2	0.27	3.11	0.37	4.49	0.71	9.13	5.71	12.43
شاهد	0.25	2.86	0.24	2.94	0.29	3.75	6.37	4.55

يبين الجدول (10) تراجع واضح في نسب البروتين الناتج وعدم قدرة الفطريات على تحقيق نسب مقبولة مقارنة مع الأوساط السابقة، فقد أعطى الوسط المدعم بالمصادر النتروجينية والأملاح المعدنية نتائج أفضل من الوسط غير المدعم بتلك المصادر فحققت سلالة الخميرة الأولى أعلى نتيجة ووصلت لنسبة 12.86غ/100غ مادة جافة في حين تراجعت الفطريات الأخرى وقد يعزى ذلك لفقر الوسط بالمواد والعناصر الأساسية لنمو الفطريات كالكربون و النيتروجين و الفوسفور و المغنيسيوم و البوتاسيوم وغيرها.

3-2 -5 الزراعة الصلبة و أوساطها التخميرية Solid Culture And Fermentation Media

تم تحضير ثلاث أوساط تخميرية للزراعة الصلبة ويبين الجدول (11) نتائج الزراعة على هذه الأوساط

جدول (11) نتائج تحليل البروتين بالزراعة الصلبة

اسم المزرعة	النسبة المئوية للبروتين %					
	3 أيام			7 أيام		
	الوسط الأول	الوسط الثاني	الوسط الثالث	الوسط الأول	الوسط الثاني	الوسط الثالث
Saccharomyces. Cerevisiae	1.37	4.42	3.01	4.22	8.79	7.72
Aspergillus. niger	2.20	2.75	3.06	6.10	8.04	7.58
Geotrichum . candidum	1.88	2.64	2.21	5.23	7.64	6.03

نلاحظ من الجدول (11) تزايداً قليلاً لنسب البروتينات في المزارع الصلبة مقارنة مع المزارع السائلة، حيث سجلت أعلى قيمة في مزرعة الخميرة *S. cerevisiae* بعد أسبوع ووصلت إلى 8.79% في الوسط التخميري الثاني، يمكن تفسير ذلك من بأن المستوى المنخفض للماء في الركيزة يعيق نمو واستقلاب الكائنات الحية حيث يتحكم بذلك السطح الصلب بينما في الزراعة السائلة تدخل عوامل هيدروديناميكية حيث تنمو الفطريات بشكل حبيبات دون تشكيل ميسليوم (Papagianni *et al* .,2001) ، إن تنظيم إفراز البروتياز من خلال مصدري الكربون والنتروجين مهم لإنتاج البروتين كما يتناقص إفراز أنزيم البروتياز من الفطريات عندما تنمو الخلايا الفطرية على شكل حبيبات بدلاً من تكوين الميسليوم حيث يتأثر الإفراز بمورفولوجية الفطر كما ويتأثر بالحرارة العالية (Sharma *et al* ., 2009).

3– 3 تطبيق الخلطة العلفية التجريبية على فراخ فروج اللحم :

Application Of Test Fodder Mixture To Chicks

بعد انتهاء عمليات التخمر لمخلفات الأحياء البحرية تم انتقاء أفضل المزارع التي وصلت لأعلى محتوى من البروتينات وذلك لاستبدال المصدر البروتيني في العلف التجاري (فول الصويا) بهذه الكتل الحيوية المتخمرة وتطبيقها كعلف على مجموعة من فراخ فروج اللحم، لذلك تم اختيار مزرعة الفطر *A. niger* (28.52 غ/ 100غ مادة جافة) في الوسط التخمري الثاني(العينة المختلطة2) ومزرعة الخميرة *S. cerevisiae* بنسبة 25.13 غ/ 100غ مادة جافة ايضاً في الوسط التخمري نفسه، تم إعادة تخمير المزرعتين السابقتين للحصول على كميات كبيرة من الكتلة الحيوية الناتجة وصلنا الى خليط من المزرعتين بنسبة بروتين (26.18%) وجرى خلطها مع بقية مكونات العلف باستخدام مطحنة كهربائية، وتم استبدال بروتين فول الصويا مع الأحماض الأمينية الأخرى (ميثيوئين، كولين ،لايسين) والتي تضاف للعلف التجاري لتعويض ماينقص البروتين النباتي (فول الصويا) من الأحماض الأمينية بهذا الخليط الناتج . ويبين الشكلان (11) و(12) صوراً توضيحية للخلطة العلفية التجريبية والعلف التجاري المستخدم في تغذية الدواجن .

الشكل (11) الخلطة العلفية التجريبية

الشكل(12) العلف التجاري المحبحب

تختلف احتياجات الدواجن للبروتين باختلاف فترات النمو، ففي الأسبوع الأول تحتاج فراخ الدواجن لنسبة من البروتين تصل الى 23% ثم تنخفض بعد ذلك بتقدم العمر، ويجب ألا تقل النسبة المئوية للبروتين الخام في بداية عمر الصوص عن 20% ويمكن ان تقل كل شهر بمقدار 2% حتى يصل الى 15% وذلك حسب برنامج التغذية لتسمين النوع **Hubbard Classic**، إن احتياجات النوع من البروتين بعمر 1–15 يوم هو 23% بروتين، ومن 16–30 يحتاج الى21 %، يجب أن يكون معدل كمية العلف خلال 15 يوم حوالي (500–600) غ يحصل من خلالها على كل احتياجاته من البروتين والسكريات والأملاح المعدنية والفيتامينات، ويظهر الجدولان (12) و (13) هذه المكونات في العلف التجاري والخلطة العلفية التجريبية.

جدول(12) مكونات العلف التجاري المحبحب (بيليت) في 1كغ علف جاهز

اسم المادة	الوزن (غ)	اسم المادة	الوزن (غ)
ذرة صفراء	534	فيتامينات فروج	1
كسبة الصويا	**420**	أملاح معدنية	1
زيت الصويا	5	**ميثيونين**	**1.8**
ديكالسيوم فوسفات	20	**كولين**	**1.2**
كربونات الكالسيوم	10.6	**لايسين**	**0.8**
ملح الطعام	3	مضاد فطور	1
		مضاد كوكسيديا	0.6

جدول(13) مكونات الخلطة العلفية التجريبية في 1كغ علف جاهز

اسم المادة	الوزن (غ)	اسم المادة	الوزن (غ)
ذرة صفراء	534	ملح الطعام	3
الكتلة الحيوية المتخمرة	**423.8**	أملاح معدنية	1
زيت الصويا	5	مضاد فطور	1
ديكالسيوم فوسفات	20	مضاد كوكسيديا	0.6
كربونات الكالسيوم	10.6	فيتامينات فروج	1

يبين الجدولان (14،15) والشكلان (13،14) الزيادة اليومية في الوزن للأفراد المتغذية على علف التجربة والعلف التجاري والفروقات اليومية بينها

الجدول (14): متوسطات الوزن اليومي لمجموعة للدواجن الخاضعة للخلطة العلفية التجريبية

العمر(باليوم)	الوزن (بـ غ)	العمر (باليوم)	الوزن (بـ غ)
3 أيام	**99.99**	**17(اكملت بالعلف التجاري)**	377.26
4	113.34	18	401.09
5	128.06	19	431.87
6	143.97	20	474.25
7	156.75	21	510.62
8	177.14	22	550.29
9	189.22	23	594.48
10	213.03	24	639.63
11	226.01	25	686.69
12	247.23	26	734.69
13	265.55	27	781.04
14	289.17	28	833.38
15	312.32	29	883.95
16	**342.71**	30	930.89
		31	**986.62**

الجدول (15): متوسطات الوزن اليومي لمجموعة الدواجن الخاضعة للعلف التجاري

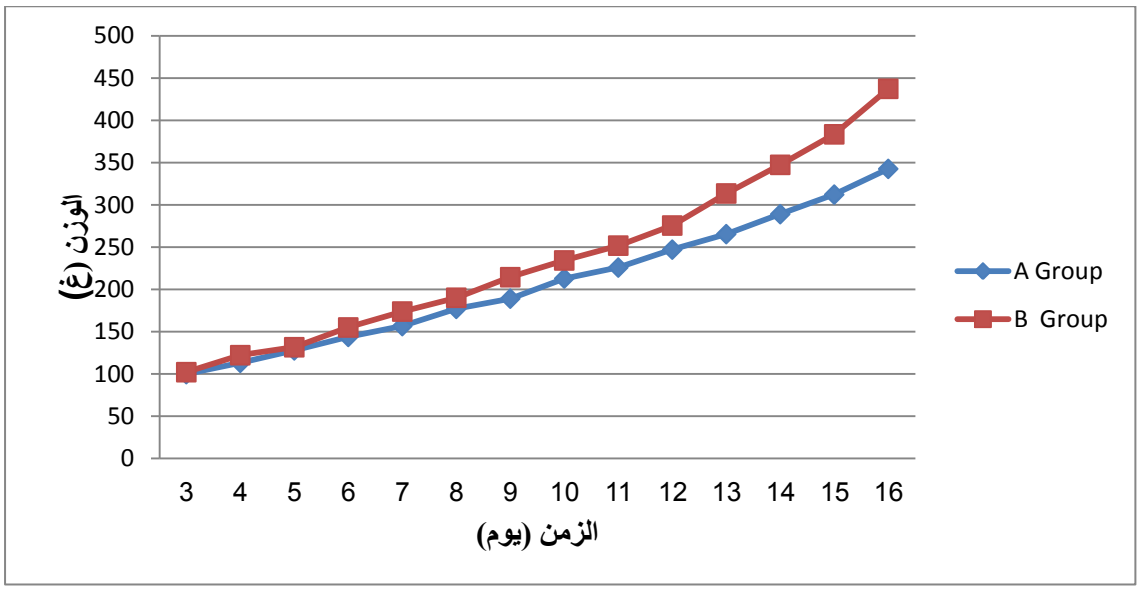
العمر (باليوم)	الوزن (بـ غ)	العمر (باليوم)	الوزن (بـ غ)
3 أيام	**102.31**	17	497.43
4	122.42	18	537.14
5	131.82	19	583.11
6	155.17	20	624.50
7	174.02	21	665.41
8	190.32	22	718.57
9	214.61	23	762.99
10	234.44	24	813.70
11	251.97	25	858.84
12	275.72	26	918.19
13	313.65	27	972.97
14	347.48	28	1037.27
15	383.57	29	1103.53
16	**437.40**	30	1157.82
		31	**1225.28**

يبين الجدول (16) المتوسط الحسابي لعدد من المعاملات التي درست في التجربة

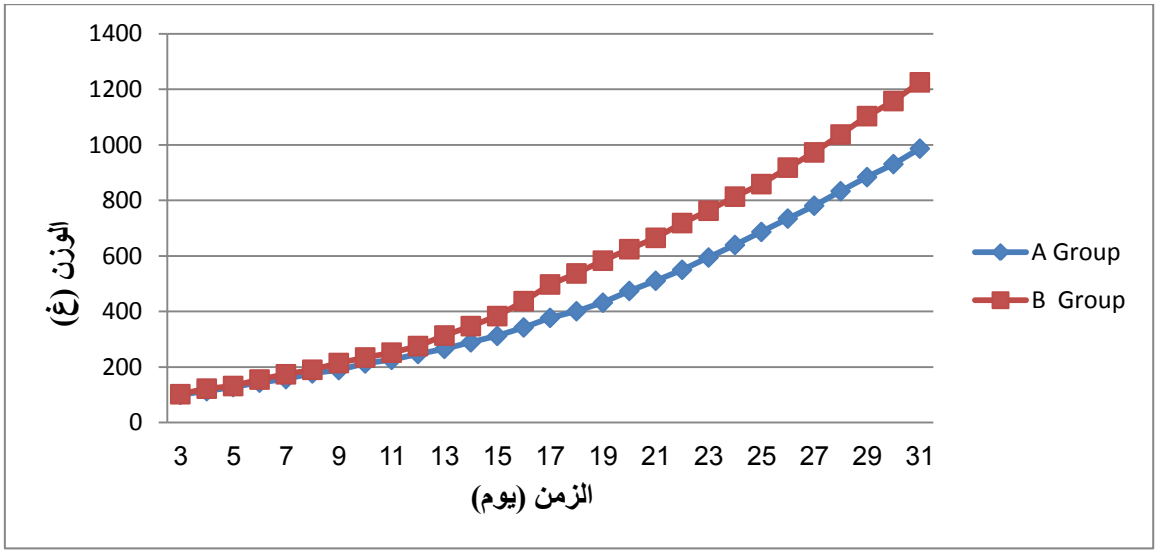
الجدول (16) متوسط نتائج تطبيق الخلطة العلفية والعلف التجاري على أفراخ الدواجن

المعاملات	المجموعة الأولى خضعت للخلطة العلفية الجديدة GroupA		المجموعة الثانية خضعت للعلف التجاري Group B	
	حتى عمر 16	حتى عمر 31	حتى عمر 16	حتى عمر 31
الوزن الناتج (غ)	242.72 ± 3.17	886.63 ± 30.28	335.09 ± 27.7	1122.97 ± 39.90
معدل النمو اليومي (غ/اليوم)	18.67 ± 0.25	31.66 ± 1.08	25.77 ± 2.13	40.10 ± 0.51
معامل تحويل الغذاء	2.05 ± 0.03	2.36 ± 0.03	1.76 ± 0.05	2.25 ± 0.03

حيث نلاحظ من خلالها زيادة واضحة في وزن الصيصان الخاضعة للخلطة التجريبية عن الوزن في بداية التجربة ، حيث كان متوسط معاملات التحويل 2.05 حتى عمر 16 يوم وهي معاملات تحويل جيدة اذا ما قورنت بمعاملات العلف التجاري المدعم بكافة العناصر الضرورية لنمو الدواجن من الأملاح المعدنية والفيتامينات والأحماض الأمينية المكملة لتلك الموجودة في بروتين فول الصويا.



الشكل (13) الزيادة اليومية في الوزن (غ) للمجموعتين المتغذيتين على الخلطة العلفية التجريبية والعلف التجاري من عمر 3–16 يوم



الشكل (14) الزيادة اليومية في الوزن (غ) للمجموعتين المتغذيتين على الخلطة العلفية التجريبية والعلف التجاري من عمر 3–31 يوم

كما كان متوسط معدل النمو اليومي لفراخ التجربة 18.67غ/ اليوم في كل يوم وأن هذه الخلطة لم تؤثر على نمو فراخ الدواجن فبدت متقاربة من الفراخ الخاضعة للعلف التجاري على مستوى الحجم والمظهر الخارجي، واستمرت التجربة حتى اليوم 31 عندما أكمل تغذية المجموعة الأولى بالعلف التجاري بعد عمر(16 يوم) فكان معدل النمو اليومي 31.66 غ/ اليوم في حين ارتفع معدل نموالمجموعة الثانية وبلغ 40.10غ/ اليوم، متفوقاً ايضاً بمعامل التحويل (2.25) مقارنة بمعامل تحويل (2.36) للمجموعة الأولى.

3- 4 النتائج Conclusions

1. تبين الدراسة غنى الشاطئ في المناطق المدروسة بمخلفات الأحياء البحرية النباتية والحيوانية المتنوعة وتوفر هذه المخلفات المتراكمة لفترة طويلة وعلى مدار العام.
2. تميزت هذه المخلفات باحتوائها على نسب عالية من السكريات (20.28–43.73%)، ونسب قليلة من المادة البروتينية (1.06–11.44%) غير كافية لسد النقص في الأعلاف الحيوانية في حال تم استخدامها بصورة مباشرة، إضافة إلى احتوائها على نسب قليلة من المواد الدسمة.
3. إجراء معالجات فيزيوكيميائية للمصدر الكربوني الوحيد وهو بقايا الأحياء البحرية بهدف تحريره للوسط وجعله في متناول الفطريات التي تستخدمه في عمليات النمو وتكوين الكتلة الحيوية الغنية بالمادة البروتينية، وضرورة تجفيف المخلفات بعد جمعها وغسلها بماء الحنفية وتخليصها من الملوحة الزائدة والشوائب الأخرى.
4. عزز استخدام أوساط حاوية على بقايا نباتية وحيوانية من محتوى وسط التخمير بالعناصر الضرورية لنمو الفطريات وبالتالي إعطاء كتلة حيوية أغنى بالمادة البروتينية .
5. سجلت أعلى نسبة من البروتين عند معالجة المخلفات الشاطئية بالفطر *A. niger* بعد مرور خمسة عشر يوماً وكانت النسبة 28.52 غ/ 100غ مادة جافة مقارنة مع محتوى بروتيني3,44 % مادة جافة في المادة الأولية في الوسط التخمري الثاني(العينة المختلطة 2) .
6. زادت نسب البروتينات في الوسط التخميري بعد إجراء عملية الحلمهة الحامضية بالمقارنة مع النسب قبل الحلمهة التي زادت من نسبة السكريات المتخمرة المستقلبة من هذه المخلفات والتي تكون بمتناول الفطريات التي تستخدمها كمصادر للكربون في عملية النمو وبناء الكتلة الحيوية .
7. زادت نسبة البروتينات في الزراعة السائلة مقارنة مع الزراعة الصلبة .
8. تحققت زيادة وزنية ومعامل تحويل جيد 2.05، ولم يتأثر نمو فراخ الدواجن عند استبدال المصدر البروتيني في العلف التجاري بالكتلة الحيوية الناتجة عن التخمر.

4- 5 التوصيات Recommendations:

تقود نتائج البحث الحالي إلى التوصية بـ :

- توسيع أو تطوير استخدامات التقانات الحيوية في مجال معالجة البيئة البحرية وخاصة معالجة البقايا من الأحياء البحرية المتراكمة على الشاطئ.

- ضرورة الاستفادة من الأحياء البحرية المتراكمة على الشاطئ فهي مواد أولية عالية القيمة شكلت وسطاً تخمرياُ يمكن البناء عليه للوصول الى كتلة حيوية غنية بالمادة البروتينية .

- تخليص الشواطئ من تراكمها وآثارها السلبية على البيئة والسياحة .

- تطوير وتحسين تركيبة الأعلاف الحيوانية والبحث الدائم عن بدائل لبعض مكوناتها وخاصة ما يمكن أن يحتاجه الإنسان منها في غذائه أو استخدام هذه البدائل كمكملات غذائية لزيادة القيمة الغذائية للعلف.

المراجع الأجنبية References:

1- ABALAKA, M.E. & DANIYAN,S.Y. *Assessment of the Performance of Chicks Fed with Cereal Wastes Enriched with Single Cell Protein - Candida tropicalis*. Assumption University Journal of Technology. Vol.13, No. 4 , 2010 , 261-264 .

2- ABALAKA, M.E.; ADEYEMO, S.O.; & DANIYAN, S.Y**.** *Production of Protein Rich Animal feed from Spent Sorghum (a waste material)by Solid State Fermentation using Strains of Candida tropicalis and Saccharomyces cerevisiae* **,** Fermentation Technology and Bioengineering. Vol.1, 2011, 71-76**.**

3- ABDUL NOUR, A. B**.** *Single cell protein production from cellulose waste*. National committee for biological science. Sep.29th-4th Oct , 1984.39-46.

4- ABDULJABBAR, A. H.; RAOUF, S. R.& ALHELU, J. *Petroleum Single Cell Protein Production*, Engineering. & Technology Journal.Vol.27, No.3, 2009,468-472.

5- ABO-HAMED . *Microbial utilization of some agricultural and agro- industrial waste products for the production of single cell protein (SCP).* Qatar University. Science Journal. Vol.13, No.2 , 1993, 226.

6- AKHTAR, P. & SULTANA, V**.** *Biochemical Studies of Some Seaweed Species From Karachi coast*. Records Zoological Survey of Pakistan. Vol.14, 2002, 1-4.

7- AKINGBALA, J. O.; OGUNTIMEIN, G. B.& SOBANDE, A.O. *Physicochemical properties and acceptability of yam flour substituted with soy flour*. In Plant Foods for Human Nutrition. Vol. 48, 1995, 73-80.

8- AKINTOMIDE ,M.J. & ANTAI .S . *P. inorganic nitrogen supplementation and micro-fungal fermentation of white yam peels (flour) into single cell protein* Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences . Vol. 2 ,No. 3 , 2012, 820-832.

9- AL- TEMIMI, A. A. *Production of SCP from cellulose by Trichoderme reesei*, Faculty of Medicine University of Babylon. IRAK, ,2000, 64-72.

10- AL- TEMIMI, A. A. *Production of Single Cell Protein From Industrial Waste by Aspergillus Niger*. Faculty of Medicine University of Babylon. IRAK .Vol.28, No.9, 2010, 865-869.

11- AL-BAHRA,M.; DAGHESTANI, M.; AL-SHAAL,S. & AL-HAMWI,B. *The Whey Utilization for The Production of Some Important Economic Compounds*, Damascus University Journal for Studies and Scientific Research-Basic Science Series, Syria, Vol.19 , No.2, 2003, 37-58 .

12- ALONSO, D.; KHALIL, Z.;SATKUNANATHAN, N.& LIVETT, B.G. *Drugs from the sea: conotoxins as drug leads for neuropathic pain and other neurological conditions*. Mini Reviews in Medicinal Chemistry. Vol.3 ,2003,785-787.

13- ALVAREZ, R. & ENRIQUEZ, A. *Nucleic acid reduction in yeast*. Applied Microbiol. Biotechnol. Vol.29,1988, 208-210.

14- AMMAR , I. *Benthic Fauna of the Syrian coast , assessment of the state migrant and invader species* , 37Th Ciesm Congress Barcelona –confernce Abstraactes ,6 - 11 June , 2004, 437.

15- ANAND,P.; CHELLARAM, C.; KUMARAN, S.; SHANTHINI,F. *Biochemical composition and antioxidant activity of Pleuroploca trapezium meat* . Journal Of Chemical And Pharmaceutical Research. Vol. 2, No.4, 2010, 526-535.

16- ANANTHARAMAN, P.;MANIVANNAN, K.; KARTHIKAI. G.; DEVI, G.& THIRUMARAN. *Mineral Composition of Marine Macroalge from Mandapam Coastal Regions; Southeast Coast of India*, American-Eurasian Journal of Botany. Vol.1, No.2, 2008, 58-67.

17- ANTAI, S. P. & MBONGO, P. M. *Utilization of cassava peels as substrates for crude protein formation*. In *Plant Foods for Human Nutrition*, Vol. 46, 1994, 345 - 351.

18- ANUPAMA & RAVINDRA, P.. *Studies on production of single cell protein by Aspergillus niger in solid state fermentation of rice bran*. Brazilian Archives of Biology and Technology. Vol. 44, No. 1, 2001, 79-88.

19- AOAC, Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, 2005.

20- -ARPORN,P.R & CHIRAPART,A . *Nutritional Evaluation of Tropical Green Seaweeds Caulerpa lentillifera and Ulva reticulate* , Kasetsart Journal Science . Vol. 40, 2006, 75 – 83.

21- ASSAFFII, I .A.; AL-ISSA, A. K.; AL-RAWII, D. F. & A LAFI, A. S. *Produce the single cell protein (SCP) by the solid culture method from Schanginia aegyptiaca wastes with Aspergillus niger and use in feeding of carp fish (Cyprinus carpi)* . Folder Anbar University of Science Pure. Vol. 1, No. 3, 2009 ,1-11.

22- ATHAR, M. AHMED,S AND HASHMI,A . *Bioconversion of beet pulp to microbial biomass protein by Candida utilis.* Journal Chemistry. Soc. Pakstan. Vol. 31, 2009, 115-121.

23- AZEITEIRO, U. M.; FONSECA, J. C.; PASTORINHO, R.; MORGADO, F.& MARQUES, J. C. *Patterns of variation in the biochemical composition of Mesopodopsis slabberi (Van Beneden, 1861) (Crustacea: Mysidacea),* Boletn. Instituto Espaol De Oceanografa. Vol.19, No. (1-4), 2003,433-442.

24- BACHA, U.; NASIR,M. *Single cell protein: Production & evaluation for food use: Saccharomyces cerevisiae, a good quality protein for human consumption* , Journal Agriculture. Food Chemistry. Vol.5, 2011,7-22.

25- BACHA, U. & NASIR, M.; KHALIQUE ,A. ; ANJUM ,A.A.; JABBAR , M. *Acomparative assessment of various agro-industrial wastes for saccharomyces cerevisiae biomass production and its quality evaluation as single cell protein* , The Journal of Animal & Plant Sciences. Vol.2, No.14 , 2011 , 844-849.

26- BANERJEE,K.; GHOSH, R.; HOMECHAUDHUR,N.& MITRA,A. *Biochemical Composition of Marine Macroalgae from Gangetic Delta at the Apex of Bay of Bengal* , African Journal of Basic & Applied Sciences . Vol.1, No. (5-6), 2009, 96-104.

27- BARKER, T.W.; QUINN, J.P. & MARCHANT, R . *The use of a mixed culture of Geotrichum candidum, Candida krusei and Hansenula anomala for microbial protein production from whiskey distillery spent wash.* European Journal Applied Microbiol Biotechnol.Vol. 14, 1982,247–253.

28- BATTAGLINO, R.A.; .PILOSOF, A.M.& BARTHOLONA, G.B. *Biotechnol*, Applied. Microbiobial , Vol. 35, 1991. 292.

29- BEKATOROU, A.; PSARIANOS, C. & KOUTINAS, A. A. *Food grade yeasts.* Journal Food Technol. Biotechnol.. Vol. 44, No. 3, 2006 ,407–415.

30- BELDI, H.;GIMBERT, F.; MAAS, S.; SCHEIFLER, R.& SOLTANI, N. "*Seasonalvariations Of Cd, Cu, Pb and Zn in the edible mollusc Donax trunculus (Mollusca,Bivalvia) From the gulf of Annaba*" Algeria African. Journal of Agricultural Research. Vol. 1, No. 4, 2006, 085-090.

31- BHALLA, T.C.; & JOSHI, M.. *Protein enrichment of apple pomace by co-culture of cellulohytic mould and yeast*. World Journal of Microbiology and Biotechnology. Vol.10, No. 1, 1994, 7-16.

32- BOB-MANUEL, F. G. & ALFRED-OCKIYA, J. F. *Evaluation of yeast single cell protein (SCP) diets on growth performance, feed conversion and carcass composition of TilapiaOreochromis niloticus(L.)* fingerlings. African Journal of Biotechnology. Vol. 10, No. 46, 2011, 9473- 9478.

33- BOUCHER,R.; QUILLET,E.; VANDEPUTTE, M.& MICHEL,J . *Plant-based diet in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss W.): Are there genotype-diet interactions for main production traits when fish are fed marine vs. plant-based diets from the first meal*, British Journal of Nutrition.Vol. 92, 2011, 71-80.

34- BOUHLAL, R.; RIADI, H.; MARTÍNEZ, J.& BOURGOUGNON, N**.** *The antibacterial potential of the seaweeds (Rhodophyceae) of the Strait of Gibraltar and the Mediterranean Coast of Morocco* . African Journal of Biotechnology .Vol. 9, No.38 , 2010, 6365-6372.

35- BOUJARD,T.;GÉLINEAU,A.;COVÈS,D.; CORRAZE,G.& DUTTO,G GASSET,E. ; KAUSHIK,S. *Regulation of feed intake, growth, nutrient and energy utilisation in European sea bass (Dicentrarchus labrax) fed high fat diets* . Archimer http://www.ifremer.fr/docelec/. Vol. 231, No. (1-4) , 2004 , 529-545.

36- BOUTROU, R. & GUEGUEN, T.M. *Interests in Geotrichum candidum for cheese technology* , International Journal of food Microbiology,2005, 102,120

37- BOWMAN, T. E. & L. G. ABELE. *Classification of the Recent Crustacea. In: Abele, L. G. (ed.), Systematics, the fossil record, and biogeography*. The Biology of Crustacea. New York, Vol.1, 1982, 1-27 .

38- BRAZAO,S.; MORAIS, S.; BOAVENTURA, D.;PEDRO, R.; NARCISO, L.& HAWKINSB, J. *Spatial and temporal variation of the fatty acid composition of Patella spp.(Gastropoda: Prosobranchia) soft bodies and gonads*, Comparative Biochemistry and Physiology Part B. Vol. 136 , 2003, 425–441.

39- BRTEK, J. & MURA, G. *Revised key to families and genera of the Anostraca with notes on their geographical distribution. Crustaceana* .Vol.73 ,2000, 1037–1088.

40- BURTIN, P. Nutritional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental*, Agricultural and Food Chemistry. Vol. 2, 2003, 498-503.

41- CALLIHAN, C.D. & DUNLAP, C.E. *Construction of a Chemical-Microbial Pilot Plant for Production of Single-Cell Protein from Cellulosic Wastes*, Report SW-24c, U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, USA, 2000,1-16.

42- COMAN,G.; LEUSTEAN,I.; GEORGESCU,L.& BAHRIM,G . *Optimization of protein production by Geotrichum candidum miug 2.15 by cultivation on paper residues,using response surface methodology* ,Fungal protein production , BioResources. Vol. 7 ,No. 4, 2012, 5290-5303.

43- COSENTINO, A. & GIACOBBE, S. A .*case study of mollusc and polychaete soft -bottom assemblages submitted to sedimentary instability in the Mediterranean Sea*. Marine. Ecology. Vol. 27, 2006, 170-183.

44- DABROWSKI, K.; HASSARD, *S.;* QUIN, J.; PITCHER, TJ. & FLINN, A.M. *Effect of Geotrichum candidum prolein substitution in pelleted fish feed on the growth of rainbow trout (Salmo gairdneri Rich) and on utilization of the diet*. Aquaculture .Vol. 21, 1980 ,213.

45- DEGRAVE, S . DEAN PENTCHEFF, N. AHYONG3, S.T .; CHAN,*T. Y . A Classification Of Living And Fossil Genera Of Decapod Crustaceans* , Raffles Bulletin Of Zoology Supplement .No. 21, 2009, 1–109.

46- DEKKER, H.& ORLIN . Z. *Check list of Red Sea Mollusca*. Spirula. Vol. 47, 2000 , 1-46.

47- DEMIREL, Z.; YILMAZ-KOZ, F. F.; KARABAY-YAVASOGLU, N. U.; OZDEMIR ,G & SUKATAR , A. *Biochemical Analysis of Some Brown Seaweeds from the Aegean Sea,* Journal. Serbica. Chemistry. Vol. 36, No.2 , 2012, 91-95 .

48- DERE,U.S ; DALKIRAN, N.; KARACAO,D; YILDIZ,G & DERE,D. *The determination of total protein, total soluble carbohydrate and pigment contents of some macroalgae collected from Gemlik-Karacaali (Bursa)and Erdek-Ormanlı(Balıkesir) in the Sea of Marmara, Turkey* , Oceanologia. Vol.45 , No.3, 2003. 453–471.

49- DHANASEKARAN,D.;LAWANYA,S.;SAHA,S.;THAJUDDIN,N.;PANNEERSE & LVAM,A. *production of single cell protein from pineapple wasteusing yeast,* Innovative Romanian Food Biotechnology. Vol.8, 2011, 26 -32.

50- DHARGALKAR, V. K.; PEREIRE , N. *Seaweed : Promising Plant Of The Millennium* . Vol. 71, No.S., 2005, 3-4

51- EKIN,İ.& BAŞHAN,M. *Fatty Acid Composition of Selected Tissues of Unioelongatulus(Bourguignat,1860)(Mollusca:Bivalvia)CollectefromTigrsRiver, Turkey* , Turkish Journal of Fisheries and Aquati Sciences. Vol. 10, 2010 , 445-451.

52- EL-DEEK , A.A.; GHONEM, K.M.; HAMDY, S. M ; ASER, M.A.; ALJASSAS, F. M.; & OSMAN, M.M. *Producing Single Cell Protein from Poultry Manure and Evaluation for Broiler Chickens Diets.* International Journal of Poultry Science. Vol.8 No. 11, 2009 , 1062-1077.

53- EL-DEEK, A.A.; AL-HARTHI, M.A.; ABDALLA, A.A. & ELBANOBY, M.M. *The use of brown marine algae (sargassum dentifebium) meal in finisher broiler diets*. Egypt Poultry Science Journal.Vol.31,2011,767-781.

54- FAULKNER, D.J. *Highlights of marine natural products chemistry (1972- 1999)* ,Natural products Rep . Vol.17 , 2000, 1-6 .
55- FLEURENCE, J. *Seaweed proteins:biochemical,nutritional aspects and potential uses*. Trends in Food Science & Technology. Vol.10, 1999, 25- 28.
56- FRISVAD,J.C.; SMEDSGAARD,C.; SAMSON, R.A. ; LARSEN, T.O. AND THRANE,U. *Fumonisin B2 Production by Aspergillus niger*, Journal Agriculture and Food Chemistry. Vol.55, 2007, 9727–9732 .
57- FUESETANI, N. In *Drugs from the Sea*. Fuesetani, M., Ed.; Basel: Karger, 2000; Chapter 1, 1-5.
58- GALIL, B.& FROGLIA, C. ; NOEL, P.. *CIESM Atlas of exotic species in the Mediterranean*, Crustaceans, Vol 2, 2002.
59- GASHGARI, R. *Single cell protein production by dates in Saudi Arabia, apreliminary study. Egypt*. Journal. of Bot. Vol.39, No. 2, 1999, 209-217.
60- GASHGARI, R.M. *Single Cell Protein Production by Adding Whey or Nigella sativa to Dates Extract***.** Agriculture. Wastes. Vol. 9, No. 2, 2000.1-14.
61- GIACCONE,G.& DIMARTINO,V. *Past, Present, And future of Vegeational.Diversity and assemblages on Medeiterranean sea* , 2000, 34-95.
62- GIBRIEL, A. Y.; MAHMOUD, R. M.; GOMA, M. & ABOU-ZIED, M**.** *Production of single cell protein from cereal by-products*. Agriculture. Wastes. Vol. 3 ,1981, 229-240.
63- GOPAL, R.; VIJAYKUMARAN, M.; VENKATESAN, R. & KATHIROLI, S . *Marine organisms in Indian medicine and their future prospects* , Natural Product Radiance , Vol 7, No.2 , 2008 , 139-145 .
64- GUPTA, S.; RAJAURIA, G.; & ABU-GHANNAM, N. *Study of the microbial diversity and antimicrobial properties of Irish edible brown seaweeds*. International Journal of Food Science and Technology . Vol. 45, 2010, 482-489.
65- GUPTA, S.& ABU-GHANNAM, N. *Bioactive Potential and Possible Health Effects of Edible Brown Seaweeds,* Trends in Food Science & Technology xx ,2011, 1- 12 .
66- HADAS,E.; SHPIGEL, M.& ILAN ,M. . *Sea ranching of The marine Sponge Negombata magnifica (Demospongia, Latrunculiidae) as a first step for Latrunculin B mass production*. Aquaculture .No .244, 2005, 159-169
67- HALDAR, S.; GHOSH, T.K.; TOSHIWATI & BEDFORD, M.R. *Effects of yeast (Saccharomyces cerevisiae) and yeast protein concentrate on production performance of broiler chickens exposed to heat stress and challenged with Salmonella enteritidis,* Animal Feed Science and Technology . Vol. 168 ,2011, 61–71.
68- HAMDI, S A. H. *Muscle and exoskeleton extracts analysis of both fresh and marine crustaceans Procambarus clarkii and Erugosquilla massavensis*, African Journal of Pharmacy and Pharmacology. Vol. 5, No.13, 2011, 1589-1597.
69- HAMDY, H. S. *Production of mini-food by Aspergillus niger, Rhizopus oryzae and Saccharomyces cerevisiae using orange peels.* Romanian Biotechnological Letters Vol. 18, No.1, 2013,7929- 7946.
70- HASSAN ,W. *Isolation &Structure Elucidation of Bioactive Secondary Metabolites from Marine Sponges a thesis* , Dusseldorf, 2004, 160 .

71- HOLTHUIS, L. B. *In: Mediterranean et Mer- Zone de peche 37,* Vol.1. Fiches FAO D'ldentification des especes pour les besions de la peche FAO& ECCE, Rome 1987, 191-367.

72- HOOGERHEIDE J. C.; YAMADA, K.; LITTLEHAILES, J. D. & OHNO, K. .*Guidelines For Testing Of Single Cell Protein Destined As. Protein Source For Animal Feed—II* , Pure and Applied Chemistry. Vol.51, 1979, 2537-2560.

73- HOPPER, J.N.A.& VAN SOEST, R.W.M . *Systema Porifera A guide to The classification of Sponges* . Klewer Academic /Plenum Publishers . New York , 2002, 1700 .

74- HUANG, Y.T. & KINSELLA, J.E. *Functional properties of phosphorylated yeast protein: Solubility, water-holding capacity and viscosity*. Journal Agriculture and Food Chemistry, Vol. 344 ,1986, 670-674.

75- IRSHAD, M. S.; LATIF, A. F. & RAJOKA, M.I. *Regulation of Endo- β-D-Xylanase and β- Xylosidase synthesis in Humicola lanuginosa*. Journal of chemical Society Pakistan. Vol. 30, 2008, 913-918.

76- IVARSON, K. C. & MORITA, H. *Single-Cell Protein Production by the Acid-Tolerant Fungus Scytalidium acidophilum from Acid Hydrolysates of Waste Paper* Applied and Environmental Microbiology. Vol. 43 , No. 3 ,1982, 643–647**.**

77- JACOBS, A., BOTHA, A. & VAN ZYL, W.H. *Aquaculture and the utilisation of plant wastes in fish feeds,* Mortierella. Bioresources. Vol. 5, No. 2, 2010, 1232 – 1243**.**

78- JACOBSON,A. *Beach Exploration* , Grades 3-4 , Wetlands Institute. Stone Harbor Blvd .2005, 1-16.

79- JAGANMOHAN, P.; PURUSHOTTA, M.; DAAS, B. & PRASAD , S.V. *Production of Single Cell Protein (SCP) with Aspergillus terreus Using Solid State Fermentation.* European Journal Biology. Science Direct. Vol. 5 ,No. 2, 2013 **,** 38-43 **.**

80- JIAO, G.; YU, G.; ZHANG, J.& EWART, S.E. *Chemical structure and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae*. Marine Drugs, Vol. 9,2011, 196–223.

81- KABBASH,. A. & SHOEIB,N **.** *Bio-Screening of Some Marine Algae from the Coasts of Egypt.* Journal of Scientific Research in Pharmacy. Vol. 1, No. 2, 2012 , 17-21.

82- KATRE, G.; JOSHI, C.; KHOT,M.; ZINJARDE,S.& RAVIKUMAR, A . *Evaluation of single cell oil (SCO) from a tropical marine yeast Yarrowia lipolytica NCIM 3589 as a potential feedstock for biodiesel.* AMB Express, Vol. 2, 2012, 1-36.

83- KENNEDY, V. S.; TWILLEY, R. R.; KLEYPAS, J. A.; COWAN, J. H.& HARE, S. R. *Coastal and marine ecosystems & Global climate change* Potential Effects on U.S. Resources August 2002,1-38.

84- KHALED,G.; FRANCIS,R. ; RAMADAN,M. & WASEF,R. *Amino acids content of single cell protein produced from rice husks hydrolysate medium*. Annals of Agaicultural.Sciences. Vol. 30, No.1 ,1985 ,63-73.

85- KHALIL ,A.N.& EL-TAWIL ,B.A.H. *PHytochemical studies on marine Algae from JEDDAH,Red sea***,** Bulletin of the.Faculty of Science ,K.A.U,Jeddah. Vol.6, 1982, 49-60.

86- KHAN, M .; KHAN ,S.S.; AHMED ,Z. ; TANVEER,A. *Production of Single Cell Protein from Saccharomyces cerevisiae by utilizing Fruit Wastes***.** Nanobiotechnica Universale. Vol. 1, No.2, 2010, 127-132.

87- KHAN, M. Y. & DAHOT**,** M. U**.** *Effect of Various Agriculture Wastes and Pure Sugars on the Production of Single Cell Protein by Penicillium Expansum*. World Applied. Science Journal, (Special Issue of Biotech. & Genet. Engineer.). Vol.8, 2010, 80-84.

88- KIJJOA, A. & SAWANGWONG , P . *Drugs and cosmetics from the sea* , Marine Drugs . Vol.2 , 2004 , 73-82.

89- KIM, J.H.; HOSOBCHI, M.; KISHIMOTO, M.; SEKI, T. & RYN, D. *Biotchnol.* Bioengineering . Vol. 27 ,1985, 1442.

90- KUMAR JHA,R. & ZI-RONG,X. *Biomedical Compounds from Marine organisms,* Marine. Drugs . Vol. 2, 2004,123-146 .

91- KUMARI, P.; GUPTA, V.; REDDY, C.R.K. & JHA, B. *Tropical marine macroalgae as potential sources of nutritionally important PUFAs*. Food Chemistry. Vol.12, 2010, 749–757.

92- LAFI, A .S .A.; AL-RAWII, D. F.; KHALIL,S.S.& AL-ASSAFFII ,A.A. *Produce the single cell protein (SCP) by the liquid cultures methods from Schanginia aegyptiaca powder by the use Aspergillus niger and testing Biological*, Folder Anbar University of Science Pure.Vol. 2, No. 2, 2008.1-13.

93- LARDICCI, C.& ROSSI, F. *Analysis of Macrozoobenthic CommunityStructure after severe Dystrophic Crises in a Mediterranean coastal Lacoon*, Marine Pollution Bulletin. Vol.34, No.7, 1997, 536-547.

94- LIU, J.H. *The Ecology of Hong Kong Limpetes Cellana grata (Gould,1859) and Patelloida pygmea (Dunker,1860), distribution and population dynamics,* Journal of Molluscan studies. Vol. 60, 1994, 55-67.

95- MALLER, T. M.; DA SILVA, A. R. L.; DAMÁSIO, V. R. A.; REIS, J. A. ;JORGE, M. L.& POLIZELI**,** T. M. *Production of Pectin Lyase by Aspergillus niveus under Submerged and Solid State Fermentations Using Agro- Industrial Residues as Carbon Sources* ,International Research Journal of Microbiology. Vol. 3, No. 1, 2012, 029-035.

96- MANIVANNAN,K.;THIRUMARAN,G.; KARTHIKADEVI ,G.; HEMALATHA ,A. & ANANTHARAMAN,*P. Biochemical Composition of Seaweeds from Mandapam Coastal Regions along Southeast Coast of India.* American-Eurasian Journal of Botany. Vol.1, No. 2, 2008, 32-37.

97- MARSHAM, S.; SCOTT, G.W.& TOBIN, M.L. *Comparison of nutritive chemistry of a range of temperate seaweeds.* Food Chemistry. Vol. 100, 2007, 1331-1336. .

98- MARTIN, J.W.& DAVIS, G. E. *An Updated Classification Of The Recent Crustacea.* Science Series Natural History Museum Of Los Angeles County, No. 39 , 2001,1-132.

99- MARTIN, M. A.; GODDARD,S. & BEMIBSTER,P. *Production of Candida utilis biomass as aquaculture feed*. Journa of science food Agriculture. .Vol. 61, No.3, 2006 , 363-370.

100- MATHIVANAN, R.; SELVARAJ,P.& NANJAPPAN,K. *Fedding of Fermented Soybean Meal on Broiler Performance*. International Journal of Poultry Science, Vol.5 No. 9 , 2006, 868 -872.

101- Mayhoob,H. Recherchs Sur la vegetation marine de la cote syrinne Etudexpermentate sur la morphogense et le development de quelques esece peuconnues , uineviersity cean , france ,1976, 286

102- MCDERMID, K. J. & STUERCKE, B**.** *Nutritional composition of edible Hawaiian seaweeds.* Journal of Applied Phycology. Vol.15, 2003, 513–524.

103- MOHAMMADI, M.; TAJIK, H.& HAJEB, P. *Nutritional composition of seaweeds from the Northern Persian Gulf Iranian*. Journal of Fisheries Sciences Vol.12, No. 1, 2013, 232- 240.

104- MOO-YOUNG, M.; CHISTI, Y. & VLACH, D **.** *Fermentative conversion of cellulosic substrates to microbial protein by Neurospora sitophila*. Biotechnology Letters. Vol. 14, No. 9, 1992, 863-868.

105- MURUGAIYAN, K.; NARASIMMAN, S. & ANATHARAMAN, P**.** *Proximate composition of marine macro algae from Seeniappa Dharka, Gulf of Mannar region, Tamil Nadu*. International Journal of Research in Marine Sciences. Vol. 1, No.1, 2012, 1-3 ..

106- NASSERI, A.T.; RASOUL-AMINI,S.; MOROWVAT, M.H. & GHASEMI, M.H. *Single Cell Protein: Production and Process*. American Journal of Food Technology. Vol. 6, 2011, 103-116.

107- NELSON, D. L. ; LEHNINGER, A. L. & COX, M. M. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Third edit. New York: Worth Publisher, 2000, 55.

108- NGOC-HO ,N. *European and Mediterranean Thalassinidea (Crustacea, Decapoda*). Zoosystema. Vol. 25 , No.3 ,2003, 439-555.

109- NIGAM, J.N. *Cultivation of Candida langeronii in sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolyzate for the production of single cell protein*. World Journal of Microbiol and Biotechnology. Vol. 16, 2000 ,367-372.

110- OBOH, G. & AKINDAHUNSI, A. A. *Biochemical changes in cassava products (flour and garri) subjected to S. cerevisiae solid medium fermentation*. Food Chemistry, Vol. 82, 2003, 599 – 602.

111- OGBONDA, K.H.; AMINIGO, R.E & ABU, G.O. *Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative Spirulina species*. Bioresource. Technology. Vol. 98, 2007, 2207-2211.

112- PAPAGIANNI,M.; NOKES,S.E & FILER,K. *Submerged and Solid-State Phytase Fermentationby Aspergillus niger: Effects of Agitation and Medium Viscosity on Phytase Production, Fungal Morphology and Inoculum Performance*. Food Technoloy and Biotechnology. Vol.39 , No. 4, 2001, 319–326 .

113- PARAJO, J.C.; SANTOS, V.; DOMNGUEZ, H. & ZQUEZ, M. V. *NH_4OH-based pretreatment for improving the nutritional quality of single cell protein*. Applied Biochemistry and Biotechnology. Vol. 55,1995, 133-149.

114- PEZZOLI, E. *Notes on new or rare taxa of Crustaceans and Molluscs from a "fontanile" in Arzago d'Adda, Bergamo, Italy (Crustacea, Mollusca*) . Biodiversity Journal. Vol.1, No. (1-4) , 2010, 45-55.

115- PUNIYA, A.K.; SINGH,S.; KUMAR,C.G. & SINGH,K. *Single cell protein: a promising dietary subtitute*. Indian Journal of Experimental. Biology. Vol. 33, No. 8, 1995, 545.

116- RAVISNKAR ,N .;KIRAN KUMAR ,V .; SHAILAJA,R.; SARITHA,K & NAIDU ,N.V *Single cell protein production by Trichoderma harzianum using waste Bananapell,* International Journal of Microbicloogicl Research .Vol.2, No.1, 2011, 78-81.

117- RIEDL, R. *Fauna And Flora Des Mittelmeeres*. Verlag Paul Pareg, HamBurge Berlin, 1983, 832.

118- REICH, M.; REITNER,J.; RODEN,V.& THUY,B. *Echinoderm Research 2010*. European Conferenceon Echinoderms, Göttingen, October 2-9, 2010.

119- RIBERA, M.A.; GARRET, A.G; GALLARDO,T.; CORMACIY, M.; FURNARI,G. & GIACCONE, G . *Check-list of Mediterranean seawwed Fucophceae,* BLMAR, Vol.35, 1992,109-130 .

120- ROSA, R. & NUNES, M.L. *Biochemical composition of deep-sea decapod crustaceanswith two different benthic life strategies off the Portuguese south coast.* Deep-Sea Research I. Vol.50 , 2003 , 119–130.

121- ROTH, F.X.. *Micro-organisms as a source of protein for animal nutrition*. Animal Research and Development , Vol.12 ,1980 , 7-19.

122- RUPE´REZ, P**.** *Mineral content of edible marine seaweeds*. Food Chemistry. Vol. 79 , 2002, 23–26 **.**

123- RYWIŃSKA, A.; WITKOWSKA, D.; JUSZCZYK, P.; RYMOWICZ, W.& KITA, A. *Waste Frying Oil as Substrate for Lipase Production by Geotrichum candidum Strains.* Polish J. of Environmental Studies. Vol. 17, No. 6, 2008, 925-931.

124- SAIMA, M.A. & ABU SAEED, H. *Bioconversio of weat Bran to Biomass protein through Metabiosis and Biological Evaluation in Broiler Chicks* . Internatioal.Journal of Agriculture and Biology. Vol.1, No.1,1999.1-16.

125- SELIM, S. A. *Antimicrobial, Antiplasmid and Cytotoxicity Potentials of Marine Algae Halimeda opuntia and Sarconema filiforme collected from Red Sea Coast* . International Journal of Medical and Biological Sciences. Vol. 6, 2012 ,79-80.

126- SEPTINOVA, D.;KURTINI, T. & TANTALO, S. *Evaluation the Usage of Treated Shrimp Waste as Protein Source in Broiler Diet,* Animal Production ,Vol.12, No.1,2011, 1-5.

127- SETHI, P. *Biochemical Composition Of Marine Brown Algae, Padina Tetrastromatica Hauck* . International Journal of Current Pharmaceutical Research. Vol. 4, No. 2, 2012 , 117-118.

128- SEUNG-MOON PARK**,** *Improved Transformation of the Filamentous Fungus Aspergillus niger Using Agrobacterium tumefaciens*, Mycobiology Vol.29, No. 3, 2001, 132-134.

129- SHAHZAD, M.A .; NAWAZ, H.; RAJOKA, M.I.; SARWAR, M.; SULTAN, J.I ; NISA, M. ; TAUQIR, N.A. & SHARIF,M. *Use of Aspergillus terreus for microbial biomass production and its biological evaluation in broiler chicks*. International Conference on Food Engineering and Biotechnology . Vol.9,2011, 255-260.

130- SHARMA, R.; KATOCH , M P.. SRIVASTAVA, S . & QAZ, G. N. *Approaches for refining heterologous protein production in filamentous fungi*. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2009,1-12.

131- SHARMA, K.S.; KALRA, K.L. & GREWAL, H. S., *Enzymat saccharification of pre-treated sunflower stalk*. Biomass and Bioenergy, Vol. 23, 2002, 237-243.

132- SIBTAIN,A.; FAYYAZ, A. & ABU SAEED ,H. *production of microbial biomass protein by sequential culture fermentation of arachniotus sp., and candida utilis.* Pakistan Journal of Botany. Vol.42 , No.2 , 2010, 1225-1234.

133- SILVA,C.F.; ARCURI, S.L.; CAMPOS ,C.R .; VILELA, D. M.; ALVESJOSE ,G.L.F.& SCHWAN,R.F. *Using the residue of Spirit producing and bio-ethanol for protein production by yeasts* .Waste Management .Vol. 31, 2011, 108-114 .

134- SINGH, A.B.; ABIDI, A.B; DRANWAL, N.S. & AGRAWEL, A.K. *Biotechnol,* Journal .Applied. Microbiology. Vol. 5, No. 94, 1990, 451.

135- SMIT, A. J. *Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review.* Journal of Applied Phycology. Vol.16, 2004, 245–262.

136- SOKOLOVA, L.; ZHAKOVSKAYA, Z.; MIKHAILLOVA, N. & YUNOV, K. *Influence of ,Saccharomyces yeast biomass on meat quality of broiler chickens*. SNTLV Institute.Vol. 83, 1985, 127-131.

137- STEINHÄUSLER**,** F. *Biotechnology I* , Paris Lodron University of Salzburg Austria 1-22, 2011.

138- SUBBA RAO, P.V.; VAIBHAV, A. M. & GANESAN, K. *Mineral composition of edible seaweed Porphyra vietnamensis* . Food Chemistry. Vol.102, 2007, 215–218.

139- SUBRAMANIAN, A.N. *Introduction : Marine Environment Centre for Marine Environmental,* Studies Ehime University, Japan. UNESCO,2005, 25-31.

140- TARTIEL. BADWY, M. ; IBRAHIM, E. M. & ZEINHOM, M. M.. *Partial Replacement Of Fish Meal With Dried Microalga (Chlorella Spp And Scenedesmus Spp) In Nile Tilapia (Oreochromis Niloticus) Diets,* International Symposium on Tilapia in Aquaculture8th , 2008, 801-811.

141- TËMKIN, I. *Molecular phylogeny of pearl oysters and their relatives (Mollusca, Bivalvia, Pterioidea).* BMC Evolutionary Biology, Vol.10, No. 342, 2010, 1-28 .

142- TENGERDY, R. P. *Wastes from Crop Plants as Raw Materials for Conversion by Fungi to Food or Live stock Feed* . Journal of Scientific and Indestrial Research . Vol.55, No.5, 2000, 313-322.

143- TORBATINEJAD, N. & SHERLOCK, R. *Comparison of feeding value of a treated sea plant,Posidonia australis, with lucerne, pasture and wheat.* International Journal of Plant Production. Vol.2, 2008, 47-56.

144- UCHIDA,M. & MIYOSHI ,T. *Development a New Dietary Material from untilized Algel Resources Using fermentation Skills* , Bulletin .Fisheries .Research . Agency . No.31 , 2010, 25-29.

145- UGALDE, O.& CASTRILLO, J. *Single Cell Proteins from Fungi and Yeast* ,Applied Mycology and Biotechnology. Agriculture and Food Production ,Vol.2, Elsever, London, 2005, 123-150.

146- UNEP, Climate Change Environmental Governance Geoengineering to Combat Global Warming , 2007

147- VASILE, L.; SIMONA, V.; IOANA, P.& CORNELIA, P. D. *The Stimulating Effect Of Vitamin B1 On The Production Of Biomass In Saccharomyces Cerevisiae Lolvin D 47,* Analele Universitatii Din Oradea, Fascicula Ecotoxicologie, Zootehnie si Tehnologii de Industrie Alimentara.2000,1-8.

148- WAGDY, M. & SHAARAWY, G**.** *Chemical composition of some marine Algae from the Mediterranean sea of ALExandria EGYPT* .The Bulletionof the H.I.P.H . Vol. xxiv .No .3, 1994

149- WALDROUP, P. W. *Dietary nutrient allowances for chickens and turkeys.* Feedstuffs. Vol. 73, No. 29, 2001, 56-65.

150- WALSH, G**.** *Pharmaceutical Biotechnology Concepts and Applications,* John Wiley & Sons Ltd. Limerick, Ireland , 2007, 499.

151- WANG, H.& ZHANG,X.; CHENG,F. *Antioxidant Activity of Bioactive Polysaccharides Isolated from Natural Sources*. Journal of Animal Science and Biotechnology. Vol. 2, No. 4 , 2011,230-238.

152- WIDJASTUTI, T.; AISYAH, T. & NOVIADI, R . *utilization of fermented cassava waste- cassava leaf meal by Aspergillus niger in the ration on final body weight, carcass percentage and feed conversion of broiler,* International Seminar Biotechnology. Vol.OIII , No.46, 2012.

153- WILSON, S. *Nutritional value of detritus and algae in blenny territories on the Great Barrier Reef,* Journal Experimental Marine Biology and Ecology. Vol.271, 2002, 155–169.

154- YALEMTESFA, B.; ALEMU,T. & SANTHANAM, A. *Solid substrate fermentation and conversion of orange waste in to fungal biomass using Aspergillus niger KA- 06 and Chaetomium Spp KC-06* **,** African Journal of Microbiology Research. Vol. 4, No.12 , 2010, 1275-1281**.**

155- YOUSUFI,M.K. *to determine protein content of single cell protein produced by using various combinations of fruit wastes and two standard food fungi* **.** International Journal of Advanced Biotechnology and Research**,** Vol. 3, No. 1, 2012, 533-536.

156- ZAFARALLA, M .T.; VIDAL, L .R.& TRAVINA, L .E.*Agroindustrial waste products as sources of cheap substrates for algal single-cell protein production,,* http://hdl.handle.net/10862/178,1990. 1-13.

157- ZENETOS, A.; GOFAS, S.; RUSSO, G.& TEMPLADO, J. *CIESM Atlas of exotic species in the Mediterranean,* Vol 3, Molluscs. 2003.

158- ZHENG, S.;YANG, M. & YANG, Z. *Biomass production of yeast isolate from salad oil manufacturing wastewater*. Bioresource Technology. Vol. 96, 2005, 1183–1187.

159- ZLATANOS, S. *Seasonal Variation In The Fatty Acid Composition Of The Mediterranean Mussel (Mytilus Galloprovinciallis) Cultured In N. Greece,* Electronic Journal of Environmental Agriculture and food Chemistry , Vol.7, No. 6, 2008, 3015-3019.

160- سويد، ص . دراسة التنوع الحيوي لتجمعات القراصيات وشوكيات الجلد ولأسماك المرافقة لها شمال مدينة اللاذقية ، جامعة تشرين ، رسالة ماجستير ، 2009،131.

161- عمار ، ا . دراسة القاعيات الحيوانية وتأثير الهيدروكربونات النفطية عليها في شاطئ مدينة بانياس . جامعة تشرين ، اطروحة دكتوراه ، 2002 .

162- صقر ، ف . الدراسة الكيفية للقاعيات الحيوانية وأماكن توزعها في عدة مناطق من المياه الاقليمية السورية مجلة جامعة تشرين ، سلسلة العلوم الاساسية ، المجلد (32) العدد (7-13) ، 1992 .

163- صقر، ف . دراسة تصنيفية بيئية للقشريات العليا في مياه اللاذقية. منشورات العلم السادس والثلاثون ،1996، 609-630.

164- عربية، ع . دراسة تغيرات تراكيب التجمعات القاعية البحرية في الشاطئ السوري باستخدام المؤشرات القاعية التقليدية والمتطورة، جامعة تشرين ، رسالة ماجستير ، 2011، 158.

165- عراج ، هـ . مساهمة في دراسة التنوع الحيوي للفلورا البحرية على شاطئ اللاذقية مع إشارة خاصة اللى الأنواع الغريبة والإقتصادية ،جامعة تشرين ، رسالة ماجستير ، 2012.

166- كروم ، م. قصاب ، م ، ي . بطل ، م . مساهمة في الدراسة التصنيفية لشعبة الرخويات في الساحل السوري ، مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية ، المجلد 11 ، العدد4، 1989 .

167- ميهوب ، ح. طحالب سوريا حول الطحالب الحمراء الجديدة بالنسبة للبحر المتوسط , مجلة جامعة دمشق ، المجلد 6 ، العدد 33 ، 1990، 12-37 .

This study also affirmed the potential of bioprocessing in utilization of environmental pollutants of accumulated marine organism remains in order to obtain food products.

Keywords— *Saccharomyces cerevisiea , Aspergillus niger, Geotrichum candidum* , biomass , fodder , coastal remains of marine organisms

Abstract

This research concentrates on utilization of marine organisms remains accumulated on sea shore to be used as a culture medium for fermentation in purpose of obtaining biomass –rich in protein using strains of microorganisms *Saccharomyces cerevisiea*e, *Aspergillus niger* and *Geotrichum candidum* and two strains of yeasts were isolated from remains of marine organisms. The samples were collected from several sites of Syrian coast. After sampling living and non-living zoo and phyto-organims were morphologically studied and taxonomized into genus and species. The biochemistry of these samples were also identified in terms of carbohydrates, protein and fats. While it was noticeably detected higher content of carbohydrates in the studied samples to be considered a unique source of carbon among culture media for the growth of fungi and yeast that would be used to produce biomass, a decline in contents of protein and fats especially for phyto samples.

Biochemical treatment of the studied samples of remains was comparatively done at two stages starting with washing ,drying, and grinding to prepare fermenting media first without chemical digestion and in the second acidic hydrolysis was applied to the samples using sulfuric acid 2% to yield higher content of carbohydrates in the samples that would be consumed by fungi upon growth and biomass construction.

Fermentation media were prepared by both liquid and solid cultures. parameters of fermentation of nitrogen, added minerals, temperature, concentration of the studied remains , content of initiator and period of fermentation were defined. The results revealed that protein content was directly proportional to the period of fermentation that extended to the fifteenth day the maximum content protein was recorded as 20.46, 25.13, 28.52g/100g of dry weight in *Geotrichum candidum*, *Saccharomyces cerevisiea*e, and *Aspergillus niger* respectively in comparison to 3.44% of protein content of dry weight of essential material in fermentation liquid culture medium after acidic hydrolysis. ratios of protein were noticeably increased after acidic hydrolysis comparing to those prior to hydrolysis therefore primary treatment of the samples using acidic hydrolysis led to increase in metabolized fermented carbohydrates in the studied remains to be used as a carbon source in producing and enriching biomass.

Fodder mixture wholly replaced with biomass resulted from fermentation which contained higher content of the resulted bio protein. Daily gain average (18.67g) and factor of feed conversion(2.05) were determined. The experiment was applied to chicks of (Hubbard classic) at ages ranged from 3-16 days. and then completed with commercial Fodder at ages ranged from 16-31 days , Besides it was not observed any different in size and form of the experimented chicks that were fed by fermented biomass at early stages.

السيرة الذاتية للطالب: ربيع رمضان ريا

- حصل على إجازة في البيولوجيا قسم العلوم الحيوية البيئية من جامعة تشرين في العام الدراسي 2008
- حصل على دبلوم تأهيل تربوي من جامعة تشرين في العام الدراسي 2009.
- سجل في السنة الأولى ماجستير في المعهد العالي للبحوث البحرية قسم البيولوجيا البحرية اختصاص البيولوجيا البحرية ونجح في امتحانات السنة الأولى ماجستير للعام الدراسي 2009/ 2010 .
- سجل موضوع بحث رسالة الماجستير باختصاص البيولوجيا البحرية في المعهد العالي للبحوث البحرية في جامعة تشرين في 2011/7/26 .
- حصل على موافقة نشر بحث محكم في Journal of Entomology and Zoology Studies في نيودلهي– الهند بعنوان : **Enrichment Of The Protein Content Of Biomass Derived From Coastal Remains Of Marine Organisms To Be Used As Poultry Fodder**
- حصل على موافقة نشر بحث محكم في مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية بعنوان: **إنتاج علف حيواني غني بالبروتين بوساطة التخمرات السائلة لمخلفات الأحياء البحرية المتراكمة على الشاطئ البحري.**
- شارك في الندوة العلمية (طاقة الكتلة الحية في سوريا – الواقع والآفاق المستقبلية) التي أقامتها الهيئة العليا للبحث العلمي –الشبكة الوطنية لتقانات الطاقات المتجددة، في جامعة دمشق، عنوان المشاركة: **إنتاج الكتلة الحيوية (Biomass) من المخلفات البحرية الشاطئية لاستخدامها كأعلاف للأسماك والدواجن وإنتاج الطاقة.**

The Syrian Arab Republic

Tishreen University

High Institute Of Marine Researches

Department Of Marine Biology

THE USE OF BIOTECHNOLOGY TO TREATMENT OF COASTAL REMAINS OF MARINE ORGANISMS AIM OF PRODUCING BIOMASS TO BE USED AS FODDER

Thesis Submitted In According With The Requirement Of Tishreen University For The Degree Master In Marine Biology

Prepared By

Rabee .R. Raya

Supervised By

Dr. Izdihar Ammar

Associate professor, Dept of Marine biology at HIMR

Dr . Moufid Yassin

professor, Faculty of Pharmacy

Judgment stuff

- **Dr . Moufid Yassin - Dept of Food Biotechnology - professor- Faculty of Pharmacy, Tishreen University**
- **Dr. Ahmad Kara Ali - Marine Chemistry- Lecturer- High Institute of Marine Researches- Tishreen University**
- **Dr. Badr Al-Ali -Marine Microbiology - Lecturer- High Institute of Marine Researches- Tishreen University**

Lattakia 2014