بسم الله الرحمن الرحيم
﴿ قالوا سبحانك لا علم لنا إلا
ما علمتنا إنك أنت العليم الحكيم ﴾
سورة البقرة (آية ٣٢)
صدق الله العظيم

الإهداء

- إلى أمي الحبيبة عرفاناً مني بالجميل وتقديراً لجهودها .

- إلى أخوتي الأعزاء وأزواجهم وأبنائهم لتشجيعهم المستمر لي.

- إلى أصدقائي وزملائي لوقوفهم إلى جانبي ومساندتهم لي.

منى سرور

الملخص العربى

فى السنوات الأخيرة ظهر اتجاه لاستخدام الأنزيمات وخصوصا فى المجالات الصناعية بصورة أكثر وأكفأ كمصادر لإنتاج مواد ذات قيمة اقتصادية ومن هذه الإنزيمات إنزيم البيتاجلاكتوسيديز والذى يقوم بتحليل سكر اللاكتوز إلى شراب الجلوكوز والجالاكتوز. ويعتبر هذا الأنزيم ذات أهمية كبيرة عند استهلاك اللبن ومنتجاته خاصة للأشخاص الذين يعانون من نقص هذا الأنزيم فى الأمعاء الدقيقة والتى يتسبب عنها بعض المتاعب الصحية. ونظرا لارتفاع ثمن الأنزيمات وتكلفتها العالية فقد أمكن إنتاج إنزيم البيتاجلاكتوسيديز من الكائنات الحية الدقيقة (من خميرة *Kluyveromyces marxianus*) وكذلك دراسة السلوك الحركى للأنزيم المنتج وتقييمه ودراسة الظروف المختلفة التى تؤثر على درجة النشاط للأنزيم فى صورته الحرة. بالإضافة إلى ذلك إمكانية تحميل هذا الأنزيم على دعامات مختلفة وبطرق مختلفة للتحميل وذلك لتحويله من الصورة الذائبة والتى تفقد فى نهاية التفاعل إلى صورة غير ذائبة immobilized form والتى يسهل فصلها من مخلوط التفاعل وإعادة استخدامها أكثر من مرة فى النظام المستمر Recycling وذلك لتفادى عملية التثبيط الناتجة من استخدام نظام Batch وكذلك تقليل نفقات استخدام الأنزيم.

لذلك فهذه الدراسة تتضمن الآتى:

الجزء الأول: إنتاج إنزيم البيتاجالاكتوسيديز من خميرة *K. marxianus* ودراسة أنسب الظروف للإنتاج ثم دراسة الظروف المثلى لنشاط الأنزيم المنتج:

- حيث أنه تم اختيار سلالة الخميرة السابق ذكرها للإنتاج وتقييم الظروف المناسبة التى تعطى أعلى معدل لنشاط الأنزيم تحت ظروف مختلفة من أوقات التحضين وكذلك درجات الحرارة المختلفة.
- أظهرت نتائج تأثير دراسة الوقت على معدل إنتاج الأنزيم أن أعلى مستوى كان عند الوقت ٩ أيام حيث كانت كمية الأنزيم المنتجة ٥,٣٦ وحدة

دولية/ملليليتر إنزيم وكانت كمية بروتين الأنزيم ٠,٩٦ ملجم/ملليليتر إنزيم ودرجة النشاط النوعى للأنزيم فكانت ٥,٥٨ وحدة دولية/ملجم بروتين أنزيم.

- بينما أوضحت نتائج تأثير درجات التحضين المختلفة لإنتاج الأنزيم أن درجة الحرارة ٣٠°م هى أنسب درجة حرارة لأعلى معدل للإنزيم المنتج.

وقد أجرى تقييم الإنزيم المنتج وذلك بدراسة الظروف المختلفة التى تؤثر على نشاط الأنزيم.

- تم دراسة تأثير درجات مختلفة من الحرارة على الإنزيم المنتج بواسطة خميرة *K. marxianus* فى صورته الحرة وهى ٣٥، ٤٠، ٤٥، ٥٠، ٥٥، ٦٠، ٦٥، ٧٠°م.

أوضحت النتائج المتحصل عليها أن الحرارة المثلى لنشاط الإنزيم هى ٥٥°م حيث أعطت أعلى معدل نشاط إنزيمى يساوى ١٤٥٦,٩ ملجم جلوكوز/ملليليتر (٧٢,٨٥ ميكرومول جلوكوز/ملليليتر/دقيقة).

- وأيضا دراسة تأثير درجات مختلفة من الـ pH حيث وجد أن أفضل معدل نشاط لإنزيم البيتاجالاكتوسيديز عند pH ٦,٢ فوجدت ٧٣,٦٨ ملجم جلوكوز/ملليليتر/دقيقة.
- وكذلك تم دراسة تأثير تركيز الأنزيم على معدل النشاط الإنزيمى وأظهرت النتائج أن أعلى معدل لتحلل اللاكتوز كانت مع ٤ ملليليتر إنزيم وكانت ٨٢,٦ ملجم جلوكوز/ملليليتر/دقيقة.
- تم دراسة تأثير تركيزات مختلفة من المادة المتفاعلة على نشاط الأنزيم باسخدام اللاكتوز كمادة متفاعلة بتركيزات ٠,٥، ١,٠، ١,٥، ٢,٠، ٣,٠، ٣,٥، ٤,٠، ٥,٠ جرام لاكتوز/لتر. حيث وجد أن أعلى معدل تفاعل للإنزيم هى عند تركيز ٣,٥ جرام/لتر وتم إستنتاج ثابت ميكاليس- منتن من المنحنى التجريبى فكان ١,٣ جرام/لتر.

الجزء الثانى: دراسة تأثير الطرق والدعامات المختلفة لتحميل إنزيم البيتا جالاكتوسيديز المنتج:

- تم تحميل الأنزيم على أربع دعامات ذات طبيعة تركيبية مختلفة وهى ألجينات الصوديوم والرمل والكيتين والكونيكانافلين-أ-سيفاروز وذلك باستخدام طرق مختلفة وهى إدمصاص الإنزيم على كل من الرمل والكيتين وذلك بعد التنشيط لهذه الدعامات أو بنظام الحبس داخل جل ألجينات الكالسيوم. وكذلك دراسة تأثير تركيزات مختلفة من دعامات الصوديوم-ألجينات على أعلى معدل لحبس الإنزيم داخل كبسولة جل الكالسيوم ألجينات.
- أظهرت النتائج المتحصل عليها أن تركيز الصوديوم ألجينات الذى أعطى معدل للحبس للإنزيم داخل الجل كان ٤% بينما نسبة إحتفاظ المعقد (جل الكالسيوم ألجينات – إنزيم) فكانت ٦٧,٠٦% من نشاطه الأنزيمى. بينما نسب الارتجاع لمعقدات الإنزيم مع كل من الرمل والكيتين والكونيكانافلين-أ-سيفاروز وجدت ٧٥,٠، ٧٠,٨٣، ٨٥,٠% على التوالى.
- وقد أجرى أيضا دراسة الظروف المختلفة لمعدل نشاط الأنزيم المحمل على جل الكالسيوم-ألجينات. وكذلك درجة الثبات لمعقدات الأنزيم مع الدعامات المختلفة إمكانية استخدام هذه المعقدات أكثر من مرة.
- أظهرت الدراسة أن درجة الـ pH المثلى للأنزيم المحمل كانت ٦,٤ وكمية الجلوكوز الناتجة تساوى ٢١٥,٢ ملجم/ملليلتر حيث كانت مع الأنزيم الحر ٦,٢. بينما أظهرت النتائج أن درجة الحرارة المثلى هى ٥٠°م بينما كانت مع الأنزيم الحر ٥٥°م.
- أوضحت نتائج دراسة تأثير تركيز المادة المتفاعلة للأنزيم المحمل على جل الكالسيوم- ألجينات أن السرعة القصوى لنشاط الإنزيم المعقد عند تركيز من المادة المتفاعلة يساوى ٤ جرام/لتر فكانت ٧٣٤,٨٤ أما ثابت ميكاليس-منتن لمعقد الأنزيم فكان ١,٥ جرام/لتر بينما كانت قيمته مع الأنزيم الحر ١,٣ جرام/لتر.