ملخـــــص

تهدف هذه الدراسة الى هدفين الاول يتعلق بتقييم امكانية استخدام النواتج الثانوية لصناعة سكر البنجر المتمثلة فى لب البنجر والمولاس فى انتاج الانزيمات الميكروبية خاصة الانزيمات المحللة للبكتين ٠

والهدف الثانى لهذه الدراسة هو تقييم البروتين الفطرى الناتج من كتلة النمو الحيوى Biomass للفطر
(ميروثيسيوم فريوكاريا) والمستخدم فى انتاج الانزيمات البكتينية بغرض تقييم جودته الحيوية كبروتين ٠

وفيما يلى الاطار العام للبحث وملخص ماتم التحصل عليه من نتائج :

(١) تم عمل دراسة لاختيار انسب السلالات الفطرية المنتجة للانزيمات البكتينية من بين تسعة سلالات اتم استيرادها من عدة مراكز تجميع للميكروبات فى كل من هولندا ، والمملكة المتحدة ، وكندا ، والولايات المتحدة الامريكية ، بالاضافة الى سلالة محلية ٠ وقد استخدمت بيئة Czapek المعدلة فى هذه الدراسة وذلك باحلال الجلوكوز أو بكتين التفاح أو لب البنجر محل السكروز فى البيئة الاصلية وذلك بنسبة ١٪ ٠

(٢) أثبتت النتائج أن هناك ثلاثة سلالات من بين السلالات المختبرة لها القدرة على افراز الانزيمات المحللة للبكتين وهى السلالات Myrothetium verrucaria CBS 28846, CBS 17627 بالاضافة الى السلالة المحلية وذلك فى بيئات تحتوى على لب البنجر ٠ بينما

أظهرت جميع السلالات انتاجية ضعيفة جدا أوعدم قدرة على انتـــاج الانزيمات البكتينية حينما نميـت فيى بيئات تحتوى على بكتين التفـاح أو الجلوكـــوز ٠

(٣) تم اختبار السلالات ذات القدرة العالية على انتاج الانزيمات المحللة للبكتين فى دراســة مقارنة لمعرفة قدرتها على افراز انزيمـــــــات Polygalacturonase (PG) وانزيمات Pectin lyase وقد أثبتت النتائج أن هذه السلالات الفطرية تنتج انزيمـــــــات Polygalacturonase (PG) بينما لا تنتج انزيمـــــــات Pectin lyase (PL)

(٤) تم عمل دراسة تاليــة لتحديـد نوع انزيمات (PG) الناتجة وقد ثبت انها من النوع الذى يعمل علـــــى تكســـــر سلسلة البكتين داخليا endo- PG .

(٥) تم عمل دراسات فسيولوجية للتعرف على انسب الظروف الملائمـــــة لانتاج الانزيمات البكتينية المذكورة باستخدام بيئات نـمو تحتوى علـى لب البنجر ٠ وقد تمت الدراسة على النحو التالى : —

أ — وجد أن فترة التحضين الملائمة للفطر لانتاج الانزيم تبلغ ٣ — ٤ أيام بالنسبة للـسلالتين M. verrucaria CBS 28846 CBS 17627 بينما بلغت هذه الفترة ٨ أيـــام بالنسبة للسلالة المحلية ٠

ب — وجد أن تحضين المزارع بدون هز ، أنسب لانتاج الانزيم باستخدام السلالتين

وذلك بالمقارنة بالمزارع المهزوزة حيث وجد أن المزارع غير المهزوزة تنتج انزيما ذو درجة نشاط أعلى خصوصا عند مستويات تهوية (٥٤ : ٦) (هواء : بيئة) . لكن انتاجية الانزيمات تحت ظروف التحضين الاهتزازى كانت أيضا عالية .

وقد وجد أيضا أن مدى تجانس المزارع تحت ظروف التحضين الاهتزازى قد يكون له دوره فى التأثيرعلى انتاج الانزيم جنبا الى جنب مع مستويات التهوية المستخدم .

جـ — كما درس تأثير التركيز الابتدائى لأيون الهيدروجين وقد وجد أن الاس الهيدروجينى الامثل لانتاج الانزيم يقع فى المدى من ٣ — ٢ر٥ بالنسبة للسلالة M. verrucaria CBS28846

بينما كان المدى المناسب للسلالة M.verrucaria CBS 17627 يتراوح من ٦ر٢ الى ٦ر٤ . وقد وجد أن الانزيم يفرز فى مدى يتراوح من ٦ر٢ الى ٧ (pH) س هيدروجينى . ولكن البيئة كانت فى النطاق الحامضى (أس هيدروجينى منخفض) فى نهاية فترة التحضين عند التحصل على الانزيم .

د — اختبرت عده مصادر كربونية للتعرف على مدى قدرتها على تشجيع افراز الانزيم وقد شملت كل من الآرابينوز ، والزيلور ، والفركتوز ، والجلاكتوز ، وحامض الجلاكتويورونيك ، والجلوكوز واللاكتوز ، والمالتوز ،

والسكروز ، والسلوبايوز ، والرافينوز ، والسليلوز ، والبكتين ، والنشا ، ومولاس البنجر ، ولب البنجر . وقد ثبت أن لب البنجر يتفوق على هذه المصادر الكربونية جميعا فى تشجيعه لافراز الانزيم فى بيئات النمو التى تحتوى عليه . بينما أثبتت بقية المصادر ضعف قدرتها على تشجيع افراز الانيزيم أو انعدامها ، . ويلى لب البنجر وبفارق كبير حامض الجلاكتيورونيك والذى اعطى درجة نشاط بلغت ٣ر١٤ ، ٢ر١٥ ٪ (مقدرة بمقياس انخفاض اللزوجة) فى مقابل ٨ر٦٥ ، ٥٣ ٪ لكل من السلالتين M. verrucaria CBS 28864 , CBS 17627 على الترتيب . —

هـ — فى دراسة تأثير تركيز لب البنجر فى بيئة انتاج الانزيم لم توجد فروق واضحة بين مستويات نشاط الانزيم المفرز فى مدى تركيز يتراوح من ١ — ٤ ٪ ر(وزن / حجم) . لكن وجد أن تركيز ٥ر٪ (وزن/حجم) من لب البنجر فى بيئة النمو أعطى أقل درجة نشاط الانزيم سجلت فى هذه التجربة .

و — وجد أن مستويات نشاط الانزيم تتأثر بشكل طفيف بزيادة حجم اللقاح ، وقد وجد أن حجم ٤ ٪ (حجم/حجم) لقاح لبيئة النمو يمثل حجما مناسبا لكل من السلالتين المختبرتين .

ز — اختبرت عدة مصادر نيتروجينية لمعرفة مدى تأثيرها على افراز الانزيم وشملت كل من نترات الصوديوم ، وكبريتات الامينوم وكلوريد الامونيوم واليوريا والبيتون ، ومستخلص الخميرة . وقد وجد أن نسبة الانزيم

المفرز لا تتأثر كثيرا بنوع المصدر النيتروجيني في بيئة النمـــو ، ولكن كانت أعلى نسبة لنشاط الانزيم تم التحصل عليها . كانـت باستخدام كبريتات الامونيوم .

(٦) في دراسة حركيات الانزيم الخام (غير المنقى) المفرز بواسطة كل من السلالتين M. verrucaria CBS 28846, CBS 17627. ثبت مايلي :—

أ — كانت درجة الحرارة المثلى لنشاط الانزيم المفرز بواسطة كلتـــا االسلالتين المذكورتين هي ٦٠م . كما أظهر الانزيمين ثباتـــا حراريا حتى ٦٠م بالنسبة للسلالة M. verrucaria CBS 28846 بينما اظهرت السلالة الأخرى (M. verrucaria CBS 17627) ثباتا حراريا حتى ٥٠م . بينما تدهور نشاط الانزيمين بشكل سريع على درجات حرارة أعلى من المذكورة .

ب — بالنسبة لتأثير تركيز الانزيم البروتيني كانت العلاقة خطية بيـــن نشاط الانزيم وتركيز البروتين حتى تركيز ٠٫٤٨ مجم بروتين / مل لكل من انزيمي PG المفرزين عن السلالتين موضع الدراسـة . وقد ازداد النشاط بزيادة تركيز البروتين ولكن ليس بصـــورة خطيـــه .

جـ — في دراسة علاقة نشاط الانزيم وزمن التفاعل وجد أن هنـــاك علاقة خطية بينهما لمدة زمنية مقدارها عشر دقائق ثم استمـــر تقدم نشاط الانزيم مع زيادة زمن التفاعل لمدة خمسة عشـــر

دقيقه اخرى تالية ولكن بصورة غير خطية ثم توقفت الزيـــادة في نشاط الانزيم بعد مضى ٣٥ — ٤٠ دقيقة من بدء التفاعل ٠

د — أوضحت الدراسة أيضا وجود علاقة خطية بين معدل التفاعـــل وتركيز مادة التفاعل (بكتين التفاح) حتى تركيز ٨ر٠٪ وبزيـادة التركيز حتى ٢٪ ، ٢ر١٪ بالنسبة للسلالتين M. verrucaria CBS 28846 , CBS 17627 على الترتيب كانت العلاقـة غير خطية ثم ثبت معدل التفاعل تقريبا عن التركيزات الاعلى مـن مادة التفاعل ٠

(٧) تمت التنقية الجزئية للانزيم المفرز من السلالـة M. verrucaria CBS 28846 باستخدام الترسيب التجزيئي بواسطـــة الأسيتون ثم باستخدام التنقية من خلال الترشيح في أعمـــــدة السيفادكس G 100 ٠ ثم جرى عمل فصل كهربائي للبروتينـــات المنقاه في عمود السيفادكس للتأكد من مدى نقاوة الانزيم ومن خـلال ذلك تم التعرف على أن تنقية الانزيم تمت بطريقة جزئية ٠

(٨) بدراسة حركيات الانزيم المنقى جزئيا والمفرز بواسطة السلالة الفطريـــة M. verrucaria CBS 28846 وجد الاتي :

أ — درجة الحرارة المثلى لنشاط الانزيم كانت تماثل درجة الحـــرارة المثلى لنشاط الانزيم الخام أي ٦٠م ٠ ، وقد اظهر الانزيـــم ثباتا حراريا حتى درجة حرارة ٦٠م أيضا ثم تناقص معدل نشاطه بشدة عند درجات الحرارة الاعلى من ذلك ٠

ب — بالنسبة لتركيز الانزيم وجد أن هناك استجابة خطية لزيادة تركيز البروتين الانزيمى حتى تركيز ٠٣ر مجم / مل . وقد استمرت الزيادة مع زيادة تركيز البروتين عن القدر المذكور ولكن بطريقة غير خطية .

ج — فى علاقة نشاط انزيم بزمن التفاعل وجد أن هناك علاقة خطية بينهما لمدة زمنية مقدارها عشر دقائق (بقياس نقص لزوجة مادة التفاعل) . بينما كانت الزيادة خطية لمدة ١٥ دقيقة وذلك من خلال تتبع التفاعل بقياس المجاميع المختزلة المنفصلة ثم قل معدل زيادة التفاعل فى خلال الخمس دقائق التالية قبل أن يصل الى معدل ثابت .

د — وجدت علاقة خطية بين تركيز مادة التفاعل بكتين التفاح ومعدل التفاعل فى وجود الانزيم حتى تركيز ٨ر٠٪ (تركيز وزن / حجم)

هـ — بدراسة تأثير الاس الهيدروجينى ، (pH) لبيئة التفاعل على نشاط الانزيم وجد أن درجة ٥ر٤ هى درجة الاس الهيدروجينى المثلى لنشاط الانزيم .

(٩) أدى التقييم الكيميائى والبيولوجى لبروتينات فطر M. verrucaria للتعرف على أن هذا النوع من البروتين يفتقر الى وجود نسبة كافية من الميثايونين حيث كان يمثل الحامض الامينى الحدى الأول بينما كان الهستدين والثريونين يمثلان الحامضى الامينى الحدى الثانى والثالث على الترتيب بينما وجدت الاحماض الامينية الاساسية الاخرى