الملخص العربي

تعتبر البكتينات من أكثر المواد البناءة التي تتواجد داخل خلايا النباتات و التي تنتمي إلي مجموعة عديد السكريات، و التي تتميز بشكلها الهيكلي المعقّد ، و تقع عادةً في الطبقة الرقيقة الوسطى لجدر خلايا النباتات الراقية، و هي من الأهمية بمكان في إعطاء القوام للفاكهه و الخضراوات حيثُتعزى التغيرات في القوام أثناء النضج و التخزين إلي التغير الحادث في تركيبة المواد البكتينية و الذي يتمً بواسطة الإنزيمات المحللة للبكتين المتواجدة بشكل طبيعي داخل خلايا النبات .

وقد تم في هذه الدراسة فصل عدد مائة عزلة مِنْالفطريات والبكتيريا المختلفِة ذات النشاط المحلل للبكتين، و قد تم فصل تلك العزلات من الثمار ، الخضروات والبذور المتحللة ، وذلك على بيئة تحتوي علي مادّة البكتين كمصدر وحيد للكربون. و بتقدير إنتاجية هذه العزلات لإنزيم البكتينيز الميكروبي وُجد أن اثنتين و ستين عزلة تتميز بإنتاجية عالية نسبياً. و عند الكشف عن إنزيمات التحلل المائي للبكتين في المجموعة السابقةُوجد أن إحدى وعشرين عزلة منها تتميز بإنتاجيتها العالية وعلي ذلك تم إختيارها لمزيد من الدراسة.

وبتقدير إنتاجية هذه العزلات لمختلف الإنزيمات المحللة للبكتين، والتي شملت إنزيمات مثل إنزيم البولي جلاكتيورنيز، إنزيم البولي جلاكتيورنيز ليبز، إنزيم البولي ميثيل جلاكتيورنيز ، إنزيم البولى ميثيل جلاكتيورنيز ليبز و إنزيم البكتين استيرز، و قد وُجد أن تلك العزلات قد أنتجت هذه الإنزيمات بكميات متباينة. و قد تم إختيار العزلات ذات الإنتاجية العالية لإنزيمي البولى جلاكتيورنيز و البولي ميثيل جلاكتيورنيز و هي العزلات أرقام 94، 98 و100 ، بينما العزلات أرقام 60، 97 و العزلات أرقام 19، 38 هي من أفضل العزلات المنتجة لإنزيمي البولى جلاكتيورنيز و البولي ميثيل جلاكتيورنيز علي التوالي.

وبتعريف العزلات المختارة تبين ما يلي:

1 - ثلاث عزلات فطرية تنتمي الي جنس الأسبرجيليس فيوميجيتس أرقام 19، 97 و.98

2 - ثلاث عزلات فطرية تنتمي الي جنس الأسبرجيليس نيجر أرقام 38، 94 و.100

3 - عزلة فطرية واحدة تنتمي الي جنس الأسبرجيليس كربونريس رقم 60.

و قد تمت دراسة مختلف العوامل المؤثرة علي إنتاجية الفطريات المختارة لكلا الإنزيمين، و شملت العوامل التالية التأثر بنوع مصدر الكربون و النيتروجين والأس الهيدروجيني لبيئة التخمر ، معدل التقليب، زمن التخمر و درجة حرارة التخمر.

و بدراسة تأثير نوع مصدر الكربون ُوجد أن إنتاج إنزيمي البولي جلاكتيورنيز و البولي ميثيل جلاكتيورنيز يتوقف بدرجة كبيرة علي نوع المصدر، و بإجراء التجارب علي سبعة عشر مصدر للكربون لتعيين إنتاجية كلا الإنزيمين وُجد أن السكروز و محلول النشا القابل للذوبانُ أعطي أعلي إنتاج لإنزيم البولي جلاكتيورنيز في جميع العزلات المختارة. أما بالنسبة لإنزيم البولي ميثيل جلاكتيورنيز فقد أدي إستخدام الكربوكسي ميثيل سليولوز إلى زيادة ملحوظة في إنتاجية بعض العزلات، كذلك عند إستخدام خليط البكتين مع حمض الأوكساليكِ أدي إلى زيادة ملحوظة في إنتاجيه إنزيم البولي ميثيل جلاكتيورنيز المفرز مِن قِبل الأسبرجيليس فيوميجيتس عزلات أرقام 19 و 98 علي وجه التحديد.

أما فيما يتعَلُّق بتأثير مصدر النتروجين علي إنتاج كلاًّ من إنزيمي البولي جلاكتيورنيز و البولى ميثيل جلاكتيورنيز فلقد ُوجد أن إستخدام أي من الجيلاتين ، خلاصة الخميرة ، نترات أمونيوم، كبريتات أمونيوم والبيبتون كمصدر للنتروجين قد أعطي أعلي إنتاج لإنزيم البولي جلاكتيورنيز في بعض العزلات، بينما وجد أن إستخدام أي من الحمض الأميني الألنين ، الجليسين، نترات صوديوم، قد سبَبَ إنتاجية عاليةً من إنزيم البولي ميثيل جلاكتيورنيز المفرز من بعض العزلات.

أما فيما يتعَلُّق بتأثير الأس الهيدروجيني الأولي لبيئة التخمر علي إنتاجية العزلات المختارة لإنزيمي البولي جلاكتيورنيز و البولي ميثيل جلاكتيورنيز، فقد وُجد أن الأس الهيدروجيني 4.0 و 7.0 مثاليانَ لإنتاج البولي جلاكتيورنيز و البولي ميثيل جلاكتيورنيز علي التوالي.

و عند تعيين تأثير معدل التقليب علي إنتاجية كلا الإنزيمين. وُجدت علاقة طردية بين معدل التقليب و إنتاجية كلا الإنزيمين بواسطة العزلات المختارة حيث وُجدت زيادة في الإنتاج عند معدل تقليب 150 لفة في الدقيقة.

أما عند دراسة تأثير زمن التخمر علي إنتاج إنزيم البولي جلاكتيورنيز المفرز من العزلة رقم 98 الأسبرجيليس فيوميجيتس فقد وُجد أن الفترة من أربعة إلى ثمانية أيام مثالية للحصول علي أعلي إنتاج، و لم تؤثر إطالة زمن التخمر إلى زيادة في الإنتاج. بينما في حالة إنتاج إنزيم البولي ميثيل جلاكتيورنيز فقد وجد أن أعلي إنتاج تم الحصول عليه كان في اليوم الثامن و ذلك في جميع العزلات المختارة.

أما فيما يتعَلُّق بتأثير درجة حرارة التخمر علي إنتاج كلاَ الإنزيمين. فقد وُجد أنه عند درجتي حرارة 25 °و 30° م تكون إنتاجية بعض العزلات في أعلي مستوياتها. ففي العزلات المنتجة لإنزيم البولي جلاكتيورنيز، ُوجد أن درجة حرارة 30° م مُثلي لعزلات

الأسبرجيليس فيوميجيتس أرقام 97 و 98. أما بالنسبة لإنزيم البولي ميثيل جلاكتيورنيز فقد كانت عزلات الأسبرجيليس نيجر أرقام 38، 94 علي مستوى عالي من الإنتاجية في درجة 25° م، بينما عزلات الأسبرجيليس فيوميجيتس أرقام 19 و 98 عند درجة 35° م.

وفي دراسة العوامل المؤثرة علي نشاط الإنزيم الخامّ اتضحت بعض النتائج التّالية:

فيما يتعَلُّق بتأثير الأس الهيدروجيني علي خَلِيْط تفاعل الإنزيم، وُجد أن الأس الهيدروجيني له تأثيراً كبيراً على نشاط الإنزيم الخام المنتج من مختلف أنواع العينات المختارة. فعلى سبيل المثال وُجد أن الأس الهيدروجيني المناسب لنشاط إنزيم البولي جلاكتيورنيز في عزلات مثل الأسبرجيليس فيوميجيتس عزلة رقم 98 و الأسبرجيليس كربونريس عزلة رقم 60 عند 4.6 ، ومن ناحية أخرى كان الأسبرجيليس نيجر عزلة رقم 100 أعلى نشاطاً في الأس الهيدروجيني المتعادل.

أما الأس الهيدروجيني في المدى ما بين 4 و8 كان مثاليَاً لنشاط إنزيم البولي ميثيل جلاكتيورنيز الخامّ المفرز من الأسبرجيليس فيوميجيتس عزلة رقم 98، في حين أن عزلات الأسبرجيليس نيجر أرقام 94 و 100 كانت عند الأس الهيدروجيني 6.6.

و عند دراسة تأثير درجة حرارة الاحتضان علي فاعلية الإنزيم وُجد أنه عند درجة حرارة 45°م كانت نشاطات إنزيم البولى جلاكتيورنيز المفرزة من الأسبرجيليس فيوميجيتس عزلة رقم 98 مثالية، بينما كانت نشاطات ذات الإنزيم المفرز من عزلات الأسبرجيليس كربونريس عزلة رقم60، و الأسبرجيليس نيجر عزلة رقم 100 مثالية عند درجات الحرارة 50°م - 55°م علي التوالي. كما وُجد أن درجة 45° م كانت مثالية لنشاطات إنزيم البولى ميثيل جلاكتيورنيز المفرز من الأسبرجيليس فيوميجيتس عزلة رقم 98 و الأسبرجيليس نيجر عزلة رقم 100. بينما كانت درجة حرارة 50°م من أفضل الدرجات لنشاطات إنزيم البولى ميثيل جلاكتيورنيز المفرز من الأسبرجيليس نيجر عزلة رقم 94.

أما فيما يتعلق بتأثير الأملاح الذائبة على نشاط إنزيميِ البولى جلاكتيورنيز و البولى ميثيل جلاكتيورنيز الخامّ ، فلقد إتضح أن أيون عنصر الحديدوز قد سبب تنشيطاً لكلا الإنزيمين و ذلك بالنسبة لجميع العزلات، في حين أظهرت أيونات مثل النيكل، الألومنيوم، المنجنيز، الصوديوم، الماغنسيوم، الليثيوم و الكروميوم نشاطاً بدرجات متفاوتة في العزلات المختلفة ، بينما كانت أيونات عناصر مثل الكالسيوم، النحاس، الزئبق، الزنك لها تأثير مثبطاً لفاعلية كلا الإنزيمين في مختلف العزلات.

وبناء علي النتائج فلقد تم إختيار الأسبرجيليس فيوميجيتس العزلة رقم 98 لمزيد من الدراسات.

و عند إجراء عملية تنقية لإنزيم البولى جلاكتيورنيز الخام المُفرز خارجياً من خلايا فطر الأسبرجيليس فيوميجيتس، وذلك بإستعمال تقنية الفصل الكروماتوجرافي على السيفادكس و الداي ايثيل أمينو ايثيل السيليلوز. فقد تم فصل إنزيمين و تنقيتهما بمقدار 21.5 مرة للأول، و19.3مرة للثاني ، هذان الإنزيمان لهما نفس الوزن الجزيئي تقريباً (78.75 كيلو دالتون). و قد وجد أن إنزيمي البولي جلاكتيورنيز المفصولين يحللان حمض البولي جلاكتيورونيك و كذلك البكتين و لكن بدرجة أقل. و هذا دليل علي كونهما ينتميان إلى مجموعة البولى جلاكتيورنيز و ليس البولى ميثيل جلاكتيورنيز. و بدراسة نتائج التحليل الكروماتوجرافي لخليط التفاعل ُوجد أن ناتج التحلل الوحيد هو وحدات من حمض الجلاكتيورونيك فقط، مما يدل علي أن ميكانيكية عمل الإنزيمين تنتمي إلى النوع إكسو. كذلك وُجد أن الإنزيمين لهما فاعلية عالية عند رقمي الأس الهيدروجيني 5.6 و8.3 على التوالي. كذلك ُوجد أن الحرارة المقابلة لأعلي فاعلية هي 45°م و 55°م على التوالي. كما لوحظ أن آيونات الأمونيوم، الكرميوم، الزئبقيك، الزنك، الكالسيوم ، النحاسيك و الألومنيوم ذات تأثير مثبط لفاعلية كلاَ الإنزيمين. كذلك لوحظَ أن آيوناتِ مثل الليثيوم، الصوديوم، الحديديك، الماغنسيوم، الباريوم، النيكل، البوتاسيوم و المنجنيز لها درجات متفاوته في تثبيط الفاعلية. و علي العكس من ذلك سبب أيون الحديدوز أثراً فعالاً علي زيادة فعالية كلاَ الإنزيمان.

بسم الله الرحمن الرحيم

قالوا سبحانك لا علم لنا

إلا ما علمتنا إ نك

أنت العليم الحكيم

صدق الله العظيم

سورة البقرة (الأية 32)