بسم الله الرحمن الرحيم

المُلَّخَصُ الْعَرَبِيُ

تم في هذا البحث دراسة المواد اللجنوسِلولوزية لكل من قش القمح ، قوالح وحطب الأذرة ، ومصاصة القصب وذلك بهدف إستخدامها كمصدر غير تقليدي لإنتاج شراب الفراكتوز High-Fructose Syrup وكذلك معرفة الملامح والمكونات الكيميائية لهذه المخلفات . وقد تم أيضاً تقييم إنزيمات : مخلوط السِلوليز ، بيتا-جلوكوسيديز ، مخلوط هيميسِلوليز والزيلانيز ، جلوكوز أيزوميريز وذلك لمعرفة السلوك الحركي Kinetics والظروف المثلى لعمل هذه الإنزيمات . وقد أجريت عمليتي التسكر والتشابه بإستخدام الإنزيمات السابقة لمعرفة أفضل الظروف لتحويل المواد اللجنوسِلولوزية السالفة الذكر إلى شراب الفراكتوز. بالإضافة إلى ذلك أجريت محاولات لتحميل إنزيم بيتا - جلوكوسيديز لتحويله إلى صورة غير ذائبة ودراسة السلوك الحركي للأنزيم المحمل لإمكانية إستخدامه عديد من المرات لتقليل نفقات إنتاج ذلك الشراب.

أوضحت النتائج إحتواء كل من قش القمح ، قوالح وحطب الأذرة ، ومصاصة القصب على نسب عالية من السِلولوز حيث كانت هذه النسب كالتالي : ٣٥,٩٪ و ٣٣,١٪ و ٣٦,٥٪ و ٣٨,٥٪ بينما كان محتواها من الهيميسِلولوز كما يلي : ٣٢,٩٪ و ٢٥,٨٪ و ٢٧,٢٪ و ٣١,٥٪ . وقد أجريت معاملة أولية (Pretreatments) للمواد اللجنوسِلولوزية من المصادر المختلفة سابقة الذكر بإستخدام الصودا الكاوية تحت الظروف المختلفة وكانت أعلى النتائج المتحصل عليها بإستخدام الصودا الكاوية ذات تركيز ١٠٪ على درجة ٨٠ °م ولمدة ثلاث ساعات وذلك بهدف تحويل التركيب البللوري للسِلولوز إلى صورة غير بللورية يسهل مهاجمتها إنزيمياً .

وقد أُجري تقييم الإنزيمات المختلفة المستخدمة في تحويل المركبات السِلولوزية إلى شراب الفراكتوز ويمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها على النحو التالي :-

أ)- تأثير تركيز المادة المتفاعلة (Substrate) :

أوضحت النتائج بإستخدام مادة كربوكسي ميثايل سِلولوز كمادة متفاعلة قياسية وبإستخدام السِلولوز المستخلص على إنزيم السِلوليز أن السرعة

القصوى (V max) للمادة القياسية (٢٥٢,٣ ملليمول/لتر) كانت أعلى من السرعة القصوى للمواد الأخرى حيث أعطت هذه المواد سرعات قصوى كالتالي: ٢٠١,٤ ملليمول/لتر (قش القمح) ، ٢٠٨,٢ ملليمول/لتر (قوالح الأذرة) ٢٠٤,٢ ملليمول/لتر (حطب الأذرة) و ٢٢٩,٢ ملليمول/لتر (مصاصة القصب) . أما بالنسبة لثابت ميكاليس (Km) فكانت ٤,٤جم/لتر ، ٣,٠٩جم/لتر ، ٣,٠جم/لتر ، ٢,٦جم/لتر للمواد السابقة ، ٢,٥جم/لتر في حالة الكربوكسي ميثايل سلولوز.

أظهرت نتائج تأثير إستخدام تركيزات مختلفة من سكر السليوبيوز Cellobiose على نشاط إنزيم بيتا-جلوكوسيديز (Novozym-188) أن السرعة القصوى (V max) ٥٥,٨٤ ميكرومول جلوكوز/ دقيقة / ٠,١ ملليلتر محلول إنزيمي وثابت ميكاليس ٠,٤٥ ملليمول . أما دراسة عامل تأثير تركيز المادة المتفاعلة (الزيلان) على إنزيم مخلوط هيميسلولوز- زيلانييز فأوضحت النتائج أن السرعة القصوى (V max) ، ثابت ميكاليس (Km) كانت ٩٣,٣ ملليمول/لتر و ١٢,٣جم/لتر عند فترة تحضين ٦٠ دقيقة . بينما أوضحت نتائج تأثير الجلوكوز على نشاط إنزيم جلوكوز أيزوميريز(Sweetzyme type-T) أن السرعة القصوى لهذا الإنزيم ٧٥٠ ميكرومول فراكتوز ، وكان ثابت ميكاليس ٢,٣ ملليمول عند فترة تحضين ٦٠ دقيقة .

ب)- تأثير درجة الحموضة (pH):

أوضحت نتائج دراسة تأثير درجة الحموضة (pH) على نشاط الإنزيمات الأربعة السابقة أن درجة الحموضة المثلى (optimum pH) لإنزيمات السلولييز والبيتا-جلوكوسيديز تساوي ٤,٨ بينما درجة الحموضة المثلى لإنزيم هيميسلولييز- زيلانييز فكانت ٥,٠ لكل من الزيلان القياسي والزيلان المستخلص من الهيميسلولوز من المخلفات الزراعية المستخدمة في هذه الدراسة . أما أقصى درجة نشاط إنزيمي لإنزيم جلوكوآيزوميريز (المحمل) فكانت عند درجة حموضة تساوي ٧,٥ .

أوضحت نتائج دراسة السلوك الحركي لإنزيم بيتا-جلوكوسيديز المحمل أن معدل التفاعل إزداد مع الصور المختلفة المحملة حتى وصل إلى نقطة معينة مع زيادة تركيز المادة المتفاعلة . أظهرت النتائج أيضاً أن ثابت ميكاليس للإنزيم الحر (٠,٤٥ ملليمول) قد تناقص بعد تحميله إلى ٠,٤٠ ملليمول و ٠,٣٥ ملليمول لكل من صورتي الإنزيم المحملة على كل من كونيكانافالين أ-سيفاروز وجِل أكريلاميد . وعلى العكس من ذلك قد تزايدت هذه القيمة (١,٨ ، ٠,٥٥ ملليمول) مع إستخدام صور الإنزيم المحمل على جِل الجِنات كالسيوم ومشتق السيانوجين بروميد سيفاروز المنشط . وقد يعزى هذا الإختلاف في قيم (Km) لكل من الإنزيم الحر والصور المحملة إلى حدوث بعض التغيرات في طبيعة الإنزيم الحر (Conformationally) بعد إرتباطه بالدعامات المختلفة مما يؤثر على زمن الإرتباط بين الأنزيم والمادة المتفاعلة (Substrate) ومن ثم تأثيره على ثابت ميكاليس (Km) .

وأوضحت دراسة ثابت معقدات (المادة المتفاعلة - الإنزيم) للإنزيم المحمل في صوره المختلفة أن معقد (مشتق السانوجين بروميد سيفاروز-إنزيم) كان أكثر الصور ثباتاً حيث كان نشاط الإنزيم المحمل ٩٦,٧٪ بالمقارنة مع الإنزيم الحر لفترة تحضين ١٢٠ ساعة . وقد احتفظ معقد (الرمل-الإنزيم) بـ ٨٦,٣٪ من نشاطه الإنزيمي بعد نفس فترة التحضين السابقة وتعتبر هذه النتيجة هامة حيث أن الرمل يعتبر أرخص هذه الدعامات كما أنه دعامة غير عضوية ليست سهلة التحلل بالميكروبات التي قد تلوث بيئة التفاعل .

وقد أعطت النتائج المتحصل عليها من تحميل الإنزيم على مادتي مشتق السيانوجين بروميد سيفاروز والرمل نتائج هامة ومعقولة . حيث أن الأول إحتفظ بمعدل نشاط بعد إرتباطه بالرمل ٨٠٪ مقارنة بالصورة الحرة للإنزيم . ومن ثم فقد تم دراسة التحضيرات المختلفة لكل من الصورتين وكذلك الظروف المثلى المؤثرة على ثبات هذه الإنزيمات ومعدل نشاطها . وقد أوضحت النتائج أن درجة الحموضة المثلى (Optimum pH) لكل من الإنزيم الحر والمحمل على مشتق السيانوجين بروميد سيفاروز المنشط تساوي ٤,٥ بينما الصورة المحملة على الرمل فأظهرت أقصى نشاط إنزيمي (٤٥,٦ ملليمول / لتر) عند درجة pH تساوي ٤,٨ . بينما أظهر النشاط الإنزيمي أن درجة الحرارة المثلى للإنزيم الحر و المحمل على مشتق السيانوجين بروميد

جـ)- تأثير درجة الحرارة :

أظهرت نتائج الدراسة تأثير درجة الحرارة على نشاط الإنزيمات المذكورة سابقاً أن درجة الحرارة المثلى (Optimum temperature) لإنزيم السلوليز والبيتا-جلوكوسيديز وكذلك هيميسلوليز/زيلاتييز كانت ٥٠ °م بينما كان إنزيم الآيزوميريز أعلى نشاط إنزيمي عند درجة ٦٠ °م .

د)- تأثير الإنزيم على النشاط الإنزيمي :

دُرِسَ تأثير الإنزيمات السابق ذكرها على معدل النشاط الإنزيمي وقد أوضحت النتائج أنه في حالة إنزيم السلولييز وجد أن معدل النشاط الإنزيمي ٤,٣١ ملليمول/لتر/دقيقة ووصل أقصاه عند ٢٠٠ميكرولتر/١٠٠ملليلتر محلول منظم مع الكربوكسي ميثايل سلولوز بينما أعطى الإنزيم معدل نشاط يساوي ٣,٦١ و ٢,٩٢ ، ٣,٠١ ، ٣,٠١ ملليمول/لتر/دقيقة مع تركيزات من الإنزيم تساوي ٣٥٠ ، ٣٥٠ ، ٣٠٠ ، ٢٥٠ ميكرولتر/١٠٠ملليلتر محلول منظم للسلولوز المستخلص لكل من قش القمح ، قوالح الأذرة ، حطب الأذرة ، ومصاصة القصب على التوالي . بينما إنزيم بيتا-جلوكوسيديز أعطى أعلى معدل نشاط إنزيمي ٨٣,٠ ميكرومول جلوكوز/دقيقة عند تركيز إنزيمي يساوي ٢٠٠ ميكرولتر/١٠٠مللي محلول منظم أما إنزيم جلوكوز آيزوميريز فأعطى أعلى معدل نشاط إنزيمي ٦٠,٧٤ ميكرولتر/دقيقة عند تركيز إنزيمي مساوياً ٥٠٠ ملليجرام/١٠مللي مخلوط تفاعل .

تحميل إنزيم بيتا - جلوكوسيديز :

أجريت هذه العملية على إنزيم بيتا-جلوكوسيديز لتحويله من صورة ذائبة إلى صورة غير ذائبة وذلك لإمكانية إستخدامه في النظام المستمر Recycling وذلك لتفادي عملية التثبيط الناتجة من إستخدام نظام الوجبة Batch . وقد تم تحميل الإنزيم على ٦ دعامات ذات طبيعة تركيبية مختلفة وهي كونيكانافالين أ-سيفاروز Concanavalin- A-Sepharose ، مشتق السيانوجين بروميد للسيفاروز المنشط (Cyanogen bromide-activated Sepharose) ، وجل الجنات الكالسيوم (Calcium alginate gel) ، وجل البولي أكريلاميد (Polyacrylamide gel) ، بوفين سيرم البيومين Bovine serum albumin والرمل كدعامة غير عضوية .

سيفاروز المنشط تساوي ٥٠ °م . أما الإنزيم المحمل على المادة الأخرى فأظهر نشاط إنزيمي على درجة حرارة ٥٥ °م . ومن ثم يتضح أن معقد (الإنزيم - رمل) أكثر ثباتاً من معقد (الإنزيم - سيانوجين بروميد سيفاروز) والإنزيم الحر .

عملية التسكر الإنزيمي لمختلف المواد السلولوزية المعاملة :

أوضحت نتائج عملية التسكر لمختلف المواد السلولوزية أن أعلى قيم تم التحصل عليها كانت ٧٩ ، ٨٩ ، ٨١ ، ٧٩٪ لكل من قش القمح ، قوالح وحطب الأذرة ومصاصة القصب على تركيزات ٢٥ ، ٥٠ ، ٥٠ ، ٥٠ جم/لتر وفترات تحضين ٩٦ ، ٩٦ ، ٣٦ ، ٧٢ ساعة . وقد أظهرت النتائج أيضاً أن أعلى قيمة للتسكر الإنزيمي كانت مع قوالح الأذرة وقد يعزى ذلك إلى أن هذه المادة اللجنوسلولوزية إحتوت على أعلى نسبة من السلولوز وأقل الهيميسلولوز نسبياً.

عملية أوحدة سكر السليوبيوز (Monomerization) والتشابه (Isomerization) :

أجريت عملية التنقية لمخلوط السكريات الأحادية والسكريات الأوليجو الناتج من عملية التسكر الأنزيمي لمختلف المواد السلولوزية قبل إجرارها على عمود يحتوي على إنزيم بيتا-جلوكوسيديز (المُحَمَّل) حيث أن وجود بعض الشوائب يؤثر على نشاط وثبات إنزيم جلوكوز آيزوميريز المحمل . ثم تم إمرار الجلوكوز النقي الناتج على عمود حاملاً لإنزيم التشابه . وقد أظهرت النتائج أن أقصى قيم لعملية التحويل باستخدام إنزيم بيتا-جلوكوسيديز المحمل على مشتق السيانوجين بروميد سيفاروز لإجراء عملية monomerization المتبوعة بعملية التشابه isomerization مع مختلف المواد السلولوزية كانت أعلى من قيم التحويل بإستخدام إنزيم بيتا-جلوكوسيديز المحمل على الرمل . وقد يعزى ذلك إلى الإختلاف في درجة ثبات كلتا صورتي الإنزيم المحمل تحت نفس ظروف التفاعل . وقد وجد أيضاً أن أعلى قيم في عملية إنتاج شراب الفراكتوز (٧٨,٧٪) تم الحصول عليها مع المواد السلولوزية المسكرة الخاصة بقوالح الأذرة . وقد يعزى ذلك إلى أن هذه المادة إحتوت على أعلى نسب ناتجة من عملية التسكر .