BIOTECHNOLOGICAL RECYCLING OF ABBATITOR WASTES BY MICROBIAL HYDROLYTIC ENZYMES

REHAM ALI HASSAN ALI ABADA

تضمنت هذه الدراسة ثلاث أجزاء ، الجزء الأول : عزل البكتريا من دم حيوانات الماشية (مخلفات المجازر) وتنقيتها وتعريفها وكذلك دراسة العوامل التى تؤثر على نموها معملياً ووزن قدرتها على إنتاج إنزيمات البيروتينيز والليبيز ، والجزء الثانى: إنتاج إنزيمات البروتينيز والليبيز ميكروبياً ودراسة درجة ثباتها وكذلك العوامل التى تؤثر على إنتاجها ميكروبياً، والجزء الثالث : استخدام الإنزيمات فى تكنولوجيا المنظفات الصناعية وكذلك إنتاج مادة الفبرينوجين من الدم . كذلك استهدفت الدراسة استخدام دم حيوانات الماشية (مخلفات المجازر) وعزل بكتريا وتنقيتها وتعريفها ودراسة العوامل البيئية والمزرعية المؤثرة على النمو . تم استخدام البكتريا المعزولة فى إنتاج إنزيمات البروتينيز والليبيز واستخدامها فى تكنولوجيا المنظفات الصناعية ودراسة بعض العوامل التى تؤثر على إنتاجية الإنزيمات وكذلك درجة ثبات الإنزيمات . وكذلك إنتاج المادة التى تساعد على تجلط الدم من الدم مباشرة . وذلك من خلال إجراء التجارب الآتية والحصول على النتائج كما يلى :- تم عزل وتنقية خمسون عزلة بكتيرية من مخلفات دم الحيوان . ثم عمل حصر للبكتريا المعزوزلة من خلال تقدير قدرتها على إنتاج إنزيمات البروتينيز والليبيز ، ومن هذه العزلات تم اختيار 10 عزلت ذات كفاءة عالية فى الإنتاج لإنزيم البروتينيز والليبيز ثم تم تنمية العزلات الأكثر انتاجية لإنزيم البروتييز والليبيز على وسط غذائى من مخلفات دم حيوان (مخلفات مجازر) رخيصة الثمن للحد من تلوث البيئة . -تم تعريف العزلات التى تم اختيارها بالطرق التقليدية على أنها B. cereus وPs. flyuorescens عزلة تعريف تم وكذلك ، عليها المتعارف العلمية المفاتيح باستخدام Ps. fluorescents على مستوى جين rRNA 16s عليها وجين الليبيز . ثم عمل تتابع نيكلوتيدى لجنين وتسجلهم فى تلك الجينات . ومقارنة التتابع النيكلوتيدى بالعزلات المسجلة ببنك الجينات. -تم دراسة العوامل التى تؤثر على إنتاجية بكتريا B. cereus لإنزيم البروتينيز وبكتريا Ps. fluorescens على إنتاج إنزيم الليبيز ، وكانت العوامل المثلى كما يأتى : * سجل كل من بكتريا Ps. Fluorescens, B. cereus على نشاط لإنزيم البروتينيز والليبيز عند درجة حرارة 35 ºم وعند اس هيدروجينى . * عند التركيزات المختلفة من مادة التفاعل (مخلفات الدم) ومصادر الكربون المختلفة ومصادر النتروجين . - تم إنتاج إنزيمات البروتينيز والليبيز بصورة خام من بكتريا B. cereus وPs. fluorescents على التوالى .- تم إنتاج إنزيم البروتينيز والليبيز بصورة نقية تركيزات عالية من بكتريا B. cereus وبكتريا Ps. fluorescents ، وقد اشتملت عملية الإنتاج الخطوات الآتية : أ – تنقية الراشح الخالى من خلايا البكتيرية . ب – ترسيب البروتين الإنزيمى بواسطة كبريتات الأمونوم المشبعة . جـ - الفصل الغشائى للبروتين الإنزيمى . د – فصل البروتين الإنزيمى باستخدام عمود السيفاديكس . وقد أدت عملية التنقية للإنزمات الى زيادة فى معدل النشاط التخصصى لها إلى : وكان أعلى معدل نشاط تخصصى 1900.28 ، 18.80 وحدة لكل ملليجرام بروتين تعادل درجة نقاوة 310.38 ، 18.90 لإنزيم البروتييز والليبيز على التوالى . -تم تحليل الأحماض الأمينية لمحتوى البروتين الإنزيمى النقى باستخدام جهاز الفصل الكروماتوجرافى HPLC . وكانت الأحماض الأمينية الحامضية تمثل النسبة العالية تقريباً. ولم يكتشف الحمض الأمينى مثيونين وتيروزين فى إنزيم الليبيز . - تم دراسة العوامل التى تؤثر على نشاط الإنزيمات النقية المنتجة بواسطة بكتريا B. cereus وبكتريا Ps. البروتينيز لإنزيم م30º انزيمات لنشاط المثلى الحرارة درجة – أ : يلى كما النتائج وكانت fluorescents والليبيز . ب – أفضل نشاط للإنزيمات عند pH 7 لكلا من إنزيم البروتينيز والليبيز . جـ - زيادة نشاط الإنزيمات بالزيادة المستمرة فى تركيز الإنزيم ومادة التفاعل على فترات التحضين حتى 36 ساعة . كما

تم دراسة ثبات نشاط الإنزيمات وكانت كالآتى : أ – درجة الثبات الحرارة للإنزيمات º60م. ب – أظهرت الإنزيمات ثبات عند رقم pH ، 9 و 7 إنزيم البروتينيز والليبيز على التوالى. جـ - زيادة فى درجة ثبات الإنزيمات عند الزيادة فى تركيزات الإنزيم ومادة التفاعل على الفترات المختلفة من التحضين . د – ثبات نشاط الإنزيمات عند تركزات أيونات المعادن ، الكلور (15 µl/ml) . هـ - يزداد نشاط الإنزيمات فى وجود العوامل المؤكسدة والمواد التى تقلل التوتر السطحى منها 100 X Triton وفوق أكسيد الايدروجين وكولات الصوديوم . لم يلاحظ أى تأثير للمنظفات الصناعية على نشاط إنزيمات البروتينيز والليبيز . - إضافة تركيزات مختلفة من كلوريد الكالسيوم لخليط من المنظف الصناعى لإنزيم (البروتينيز والليبيز) زيادة معدلات نشاطها . - استخدام الإنزيمات الخام والمنقاه كل على حدة كإضافات على المنظف الصناعى (اريال) فى مجال تصنيع منظفات بيولوجية لإزلة البقع للدم والشيكولاته والصلصة والفراولة . أظهرت النتائج أن جودة الإنزيمات تعطى درجة عالية من النظافة فى إزالة بعض الشوائب الملوثة لقطعة قماش فى بعض المعاملات. -تم استخلاص وتنقية بروتينات الفبرينوجين من دم الحيوانات (الأبقار والجاموس) من مخلفات المجازر لها درجة عالية من الاستفادة فى عملية تجلط الدم ، كما تم مقارنة خصائص كل الفبرينوجين الحيوانى والانسانى . وتم ترسيب مادة النيتروجين من بلازما الدم باستخدام كبريتات الأمونيوم المشبعة تم بالترشيح الدقيق . وتم تقدير نسبة تجلط لمادة فيبروجين الحيوانى وكانت 90% بمقارنتها بمادة نيتروجين الانسان بنسبة 91% والوزن الجزئى للسلاسل البروتين النيتروجن الحيوانى Y, , وكانت على التوالى 90 – 110 و 55 و 50 كيلو دالتون .