دراسة أنتاج أنزيم البروتيز من بعض الأحياء المجهرية+ STUDY OF PROTEASE PRODUCE BY SOME جندي علك مهدي* محمد رفيق علي** تم عزل بعض الأنواع من الأحياء المجهرية المنتجة لأنزيم البروتيز وشخصت هذه العزلات باجراء الفحوصات الشكليه والبايوكيميائيه المعتمده في التشخيص ولم يجرى فحص API لعدم توفره لدينا Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Pseudomonas aeroginosa , Shigella flexnerie , Aspergillus niger تم قياس أنزيمات البروتيز لهذه الأجناس حيث بينت النتائج أن بكتريا Bacillus subtilis اعطت أعلى أنتاجية للبروتيز تلتها E. coli و Shigella و Pseudomonas بكلا الوسطين الطبيعي والصناعي كما وجد ان في الوسط الصناعي كانت أفضل في الانتاجيه من الوسط الطبيعي . التابعة لنفس الجنس . Abstract Some protease prolytic microorganism which were isolated and identified Bacillus subtilis Staphylococcus aureus , Staphylococcus epidermidis , Pseudomonas aeroginosa , Shigella flexnerie , E. coli and Aspergillus niger . coli, shigella, the synthetic medium is best than natural medium . Also we was found from results difference in enzyme activity in species Staphylococcus aureus according to isolates belong to same genus . + تاريخ استلام البحث ٢٠ / ١٠/ ٢٠٠٩ . تاريخ قبول البحث ٢٩ / ٣/ ٢٠٠٩ * استاذ مساعد ـ المعهد الطبي التقني / بغداد ** مدرس مساعد ـ المعهد الطبي التقني / بغداد found the fungus Aspergillus was gave more activity for enzyme in compare with bacteria . This result show Aspergillus niger was gave production more than species of bacteria in this study . المقدمة يعتبر انزيم البروتيز من الأنزيمات الداخلية الخارجية المحللة للبروتينات ، الأنزيمات التي لاتفرز للوسط الا بعد تحلل الخلية ،]1[أن لأنزيمات البروتيز دور وأهمية كبيرة وذلك لدخولها بالعديد من الصناعات)الصناعات الغذائية كالأجبان وتطرية اللحوم(وكذلك في المعالجات الطبيعية كمعالجة الحروق الجلدية ولوحظ أن أنزيمات البروتيز المنتجة من الأحياء المجهرية تلعب دور كبير ومهم في مقاومة هذه الأحياء للظروف غير الطبيعية وفي الأمراض التي تحدثها .]2[أن جنس Bacillus له القدرة على أنتاج أنزيمات البروتيز الخارجية في بداية طور الثبوت وأن هذه الأنزيمات تنتج دون الحاجة الى مادة محفزه .]4[أن أفضل الأحياء المجهرية التي يعتمد عليها في أنتاج أنزيمات البروتيز في الصناعة هي Bacillus subtilis و Aspergillus niger و Aspergillus oryzus أذ تنتج هذه الأنواع أنزيمات مأمونة من الناحية الصحية أضافة الى كفاءة أنتاجها العالي .]5[المواد وطرائق العمل الأوساط الزرعية ١- وسط المرق Nutrient agar (OXOID) (٢- وسط أغار الدم Blood (OXOID agar(٣- وسط أغار الحليب Milk agar(OXOID)(. الوسط المستخدم من قبل]6[، 01 ، (NH4)2HPO4 3 .3 .0 Cacl2 6H2O 0. 002 ، ماء مقطر ١لتر(٧- الوسط الطبيعي المستخدم لأنتاج أنزيمات البروتيز الخارجية هو مستخلص التمر وحضر كالآتي :)أضافة لتر من الماء المقطر الساخن)٧٥- ٨٠ C(لكل ١ كغم من التمر المنزوع النوى وترك لمدة ٢٤ ساعة لغرض النقع وتسهيل أستخلاص السكريات منه ، KH2PO4 ,٠ ٢٥ ، Trypton ,٠ ٥% كما أشار اليها]10[. تقدير كمية البروتين قدرت حسب Haltree المحورة لطريقة]12[. تعيين الوزن الجاف استخرج الوزن الجاف)غم/١٠٠مل(على اساس النسبة المئوية بعد تلقيح الوسط الزرعي بالكائن المجهري وبعد فترة تنميه محدوده يرشح الوسط الغذائي خلال اوراق ترشيح مجففه معلومة الوزن . حيث يستخدم للبكتريا اوراق دقيقة الثقوب وللفطريات اوراق ترشيح)واتمان رقم ٢(. في ميزان حساس ويستخرج الوزن الجاف)غم /١٠٠ مل (او على اساس نسبه مئويه)13[)AOAC تقدير السكريات المتبقية بالوسط قدرت باستخدام الطريقة المتبعة من قل بيرسون لتقدير كمية السكر المتبقي وتعتمد الطريقه على اختزال المركب)Dinitro Salycilic acid (DNS 3, 5 الى 3-amino , 5 nitro salycilic acid وتتلخص الطريقه كالاتي: ١-يوخذ ٢٠ مل من المحلول المراد تعيين كمية السكر فيه ويوضع في دوارق سعة ٢٥٠مل ويضاف اليه ١٥ مل من حامض الهيدروكلوريك)١ عياري (بعدها يكمل الحجم الى ١٥٠ مل باستعمال الماع المقطر . ٢-يسخن الدورق ثم تحسب دقيقتين عند بدء الغليان ثم يبرد مباشره باستخدام حمام ثلجي . ٣- تضاف قطرتين من صبغة الفينونفثالين ويسحح المحلول ضد محلول قاعدي من هيدروكسيد الصوديوم)١٠ /(ويوقف التسحيح عنداختفاع لون الصبغه . بعدها يكمل الحجم الى ٢٠٠ مل . ٤-يؤخذ ١ مل من المحلول السكري)الفقره ٣(ويضاف اليه ١ مل من ال)DNS (ويحضر محلول ٦ ، ٠, ١ملغم /مل (وتقرأ ضد السيطرة الذي يحوي ١ مل من الماء المقطر على طول موجي ٥٤٠ نانوميتر . تم التعبير عن تركيز السكر بوحدة) غم / ١٠٠ مل ()14[. النتائج والمناقشة تم عزل أكثر من)٩٠(عزلة وبعد أختبار قابليتهاعلى أنتاج أنزيمات البروتيز ظهرت هناك)٦(شخصت العزلات البكتيرية بدراسة الصفات المظهرية وبعض

lakhasly.com © تم تلخيص النص بواسطة موقع لخصلي

الفحوصـات الكيميائيـة الحياتيـة وبالاعتماد على Bergys manual حيث حددت هي العزلات وعلى التوالي : Staphylococcus epidermidis ، =A٣ ، Staphylococcus aureus=A2 ، Shigella flexnerie =A5 ، Pseudomonas aeroginosa =A4 E. السبورية جدول)١(الصفات المظهرية والفحوصات الكيميائية الحياتية لعزلات البكتريا المنتجة لأنزيم البروتيز بنية برتقالي بيضاء مضيئة شاحبة وردية غامق)عديمة اللون(٢ الشكل ٣ صبغة غرام ٤ أنتـــاجأنـــزيم + + d + + + + كاتليزcatalyase ٥ الانـــزيمالمحلـــل + d – – d d للنشأ amylase ٨ استهلاك المانيتول ١٠ أستهلاك الارجنين ١١الحركة ١٦ تكوين السبورات)+(تفاعل أيجابي)–(تفاعل سلبي +++–ddd ++++++ –––––+ –++––+ ++++–– –+–+–+ –++++– +dd 1 35 d+. ٢٤ 25 .0 العزلات ١ ٢ ٣ ٤ ٥ ٦ ٧ ٢٤ 0. 11 البروتين

)ملغم/مل(3. 24 48 0. 64 8. 20 0. 18 Bacillus subtilis ٢ Pseudomonas aeroginosa ٣ E. coli ٤ Shigella flexnerie ٥ Staphylococcus aureus ٦ Staphylococcus epidermidis ٧ Bondarchuk, V., Academic press, A.J. A. Ya. Biochem . P. N., Stoeva S. A., M. Biochem . 56(6) : 543–544. K. and Egorov, N., Pillal K. F. and Subbar B. Al–Hilli, 6(3): 57–69. 11–Kundo, Microbiol. 30(4): 507–513. 1975 N. J., R. J. 14– Pearson D . ,15–Kimura, T. and Tsuchiya

lakhasly.com © تم تلخيص النص بواسطة موقع لخصلي