

انتاج الدكستران من عزلة محلية (*Leuconostoc mesenteroides*) واستخدامه في بعض التطبيقات الغذائية

2- دراسة الظروف المثلى لانتاج الدكستران من العزلة المحلية *Leuconostoc mesenteroides*

طارق ناصر موسى

اكرم ثابت الراوي

اسماء صباح احميد

استاذ مساعد

استاذ مساعد

مدرس

قسم علوم الاغذية-كلية الزراعة-جامعة بغداد

المستخلص

درست الظروف المثلى لانتاج الدكستران من عزلة محلية *Leuconostoc mesenteroides* والتي شملت المصدر الكربوني والمصدر النيتروجيني و حجم اللقاح الابتدائي، تحديد درجة الحرارة المثلى للإنتاج، مدة التخمر والاس الهيدروجيني الابتدائي. استخدمت كل من السكروز، المالتوز، الكلوكوز، الفركتوز، سكر المائدة، مستخلص المالت، عصير التمر (استخلاص حارواستخلاص بارد) والشرش كمصادر للكربون في وسط الانتاج والتربتون، البيبتون، متحلل الخميرة الحراري، كبريتات الامونيوم، نترات الامونيوم، كلوريد الامونيوم، نترات الصوديوم كمصادر للنيتروجين. استخدمت مستويات لقاح ($10^3 \times 1$ ، $10^4 \times 1$ ، $10^5 \times 1$ ، $10^6 \times 1$ ، $10^7 \times 1$ ، $10^8 \times 1$) خلية/مل من وسط التخمر. تم اختيار درجات حرارية مختلفة هي 10 و 25 و 30 و 35 و 40 م، اما مدة التخمر فكانت (24 و 48 و 72 و 96) ساعة وبالنسبة للاس الهيدروجيني فكان (5,6,6.5,7,8). اظهرت النتائج ان افضل ظروف لانتاج الدكستران من هذه العزلة هي استخدام الوسط الغذائي المتكون من 100مل شرش، 10غم سكر مائدة، 0.5غم مستخلص خميرة حراري، مدة تخمر 24 ساعة، أس هيدروجيني ابتدائي للوسط 6.0، حجم لقاح ابتدائي 1×10^6 خلية/مل ودرجة حرارة 25 م. يتبين من هذه النتائج انه يمكن اعتماد المصادر الطبيعية والمخلفات الصناعية لاستخدامها في وسط التخمر كمصادر كربونية لانتاج الدكستران، اذ ان استخدام هذه المصادر يحقق احد اهداف هذا البحث والمتمثل في تخليص البيئة من التلوث الذي قد تسببه هذه المصادر الطبيعية نتيجة تراكمها.

الكلمات المفتاحية: (*Leuconostoc mesenteroides* (Lm)، الدكستران، مستخلص المالت، انزيم الدكستران سكريز.

*البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الاول.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences – 46(5): 854-862, 2015

Ahmaed & et al.

DEXTRAN PRODUCTION FROM LOCALLY ISOLATED BACTERIA (*LEUCONOSTOC MESENEROIDES*) AND ITS UTILIZATION IN SOME FOOD APPLICATION

2-STUDING OPTIMUM CONDITIONS FOR DEXTRAN PRODUCTION FROM *LEUCONOSTOC MESENEROIDES*

Asmaa. S. Ahmaed Akram Th. Alrawi Tareq N.Musa
Dep.of food Science/College of Agriculture/ Univ. of Baghdad

ABSTRACT

A series of experiments were conducted to identify the optimal conditions for dextran production including carbon sources, nitrogen sources, initial inoculum size, temperature, fermentation time and initial pH. Sucrose, maltose, glucose, fructose, refine sugar, date syrup and whey were used as carbon sources ,and trypton, peptone, analyzed heated yeast, ammonium sulphate, ammonium nitrate, ammonium chloride and sodium nitrate were used as nitrogen sources. Different inoculum size were used ($10^3, 10^4, 10^5, 10^6, 10^7, 10^8$) cell/ml., also different degrees of temperature, were used (10, 25, 30, 35, 40)C. Fermentation time (24,48,72, 96)hrs. Different pH were used(5, 6, 6.5, 7, 8). It was found that the highest activity was achieved by using a medium containing: 100ml whey, 10g refine sugar, 0.5g heated yeast extract with 24 hr. and initial pH of 6.0. The preferred size of inoculum was 1×10^6 cell/ml with fermentation temp. of 25C. In conclusion, we can use natural sources and industrial wastes as carbon sources for dextran production to get the target to save the environment from pollution.

Key words: *Leuconostoc mesenteroides* (Lm), Dextran, Malt extract, Dextranase enzyme.

*Part of Ph.D. dissertation of the first author.

المقدمة

في هذا الشأن (30,31) والذين أكدوا ان استعمال هذين النوعين معا كان الأفضل لإنتاج الدكستران unique (dextran) باستعمال كل من (*Lm* AB326298 , *Lm* CMG 713 لذا)، كما درست مصادر نتروجينية اخرى كالبيتون (14) والتربتون (9)، فيما استعمل *Kocharin* وجماعته (16) عدة مصادر نتروجينية في إنتاج الدكستران منها مستخلص المالت، البيتون ومستخلص الخميرة باستعمال العفن *Ophiocordyceps dipterigena* BCC 2073 اذ وجد ان افضل مصدر نتروجيني لإنتاج الدكستران كان مستخلص المالت (Malt extract). تباينت نتائج الدراسات حول استعمال أفضل حجم لقاح لوسط إنتاج الدكستران وذلك لتداخل عوامل أخرى تؤثر في حجم اللقاح منها مكونات الوسط والأس الهيدروجيني والتهوية وطريقة التخمر، لذا فقد استعمل بعض الباحثين لقاحا بنسبة 10% من وسط إنتاج الدكستران (36.10.15)، أما *Landon* و *Webb* (19) فقد استخدمت لقاحا بنسبة 1% من وسط الإنتاج للدكستران، فيما استعمل (27) لقاحا بنسبة 4% أما *Santos* وجماعته (29) فقد استعمل لقاحا بنسبة 5% اما *Behravan* وجماعته (7) فقد استعمل حجم لقاح 10^5 مل من بكتريا *Lm*. أن مدى درجات الحرارة الذي باستطاعة بكتريا *Lm* النمو فيه يكون بين 5-30 م° الا إن درجة الحرارة المثلى للنمو يتراوح بين 30-35 م° (29)، وقد توصلت عدة دراسات إلى إن أفضل درجة حرارة لإنتاج الدكستران هي 25 م° (6)، 28 م° (25)، 29 م° (40)، 34 م° (17). اظهرت نتائج عديدة ان هناك اختلافا واضحا في قيم الاس الهيدروجيني لوسط الانتاج المستخدم لإنتاج الدكستران استعمل *Shamala* و *Prasad* (33) الاس الهيدروجيني الابتدائي 7.2 في وسط إنتاج الدكستران. أما *Karthikeyan* وجماعته (15) فقد أوضحوا أن أفضل اس هيدروجيني لإنتاج الدكستران كان 8.3. وقد استعمل *Faurie* وجماعته (10) الاس الهيدروجيني الابتدائي 6.5 في وسط تنمية البكتريا. لقد اجري هذا البحث بهدف تحديد الظروف المثلى لإنتاج الدكستران والمتضمنة المصادر الكربونية والنتروجينية مع إمكانية استغلال منتجات عرضية في إنتاج الدكستران.

يعد الدكستران (Dextran) من السكريات العديدة المتجانسة (homopolysaccharide) اذ يتكون من عدة وحدات من الكلوكوز ترتبط مع بعضها بأواصر كلايكوسيدية من نوع $\alpha 1,6$ وتشكل أكثر من 50% من مجموع الارتباطات مع وجود ارتباطات متفرعة بأواصر كلايكوسيدية من نوع $\alpha 1,3$ و $\alpha 1,4$ و $\alpha 1,2$ (24). يعتمد التركيب الكيميائي الدقيق للدكستران على نوع السلالة الميكروبية المنتجة له ونوع الأنزيم (Dextranase) الذي يسهم في تخليقه ومن أهم الأجناس الميكروبية المنتجة هي *Leuconostoc Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Saccharomyces* كما يختلف انزيم *extranase* تبعاً لنوع الكائن المجهرى المنتج له اذ يكون من نوع الانزيمات الدائمة (constitutive enzyme) في سلالات بكتريا *Streptococcus* بينما يكون في سلالات بكتريا *Leuconostoc* من الانزيمات المستحثة (inducible enzyme) (25). لقد استقطبت دراسة الظروف المثلى لإنتاج الدكستران من بكتريا *Lm* اهتمام الباحثين لما تتميز به هذه البكتريا من كفاءة عالية في إنتاج الدكستران فضلا عن مقدرتها على استهلاك مصادر كربونية متعددة لإنتاجه مع إمكانية استعمال مواد أولية رخيصة الثمن ومتوفرة على مدار السنة مما يسهم في تقليل كلف الإنتاج ويجعله اقتصاديا، اذ استخدمت لتحقيق هذا الهدف وفي دراسات متعددة مصادر الكربون كالكلوكوز، الفركتوز، المالتوز واللاكتوز (11) الا ان السكروز هو المادة الاساس الوحيدة الحاتة لإنتاج انزيم دكستران سكريز والمستعمل في تخليق الدكستران (34،22)، وكذلك تتباين مصادر النتروجين المستعملة لإنتاج الدكستران بين العضوية وغير العضوية فقد استخدم مستخلص الخميرة (yeast extract) ونقيع الذرة (corn steep liquor) (5,39) ومستخلص اللحم (31). لاحظ *Abdin* وجماعته (4) ان استعمال البيتون ومستخلص الخميرة معا كان الافضل في إنتاج الدكستران مقارنة مع استعمال مصادر نتروجينية اخرى عضوية ولا عضوية مثل كبريتات الامونيوم ونترات الصوديوم، الشرش، الكازين واليوريا، وهذا مشابه لما توصلت إليه دراسات أخرى

(غم:غم) 1-100 غم مالت:0غم سكروز 2-75 غم مالت : 25غم سكروز 3-50غم مالت: 50غم سكروز 4-25 غم مالت: 75غم سكروز 5- 0 غم مالت : 100غم سكروز

د - عصير التمر

ذ - الشرش.

2- **تحديد المصدر النتروجيني الأمثل:** اختبرت سبعة انواع من المصادر النتروجينية هي :التريتون، الببتون، متحلل الخميرة الحراري، كبريتات الامونيوم، نترات الامونيوم ، كلوريد الامونيوم، نترات الصوديوم اذ اضيف كل منها بنسبة 0.5%.

3- **تحديد حجم اللقاح الأمثل :** استخدمت مستويات لقاح متدرجة من بكتريا Lm والمتمثلة بالمقادير 10^3 ، 10^4 ، 10^5 ، 10^6 ، 10^7 ، 10^8 خلية/مل من وسط التخمر.

4- **درجة الحرارة:** اجريت عملية التخمر لانتاج الدكستران بدرجات حرارية مختلفة شملت درجات الحرارة 10، 25، 30، 35، 40 م° لتعيين درجة الحرارة المثلى.

5- **مدة التخمر:** حددت مدة التخمر الأمثل لإنتاج الدكستران بدراسة المدد الزمنية 24، 48، 72، 96 ساعة.

6- **الأس الهيدروجيني (pH):** لتعيين الأس الهيدروجيني الأمثل لإنتاج الدكستران فقد تم اختبار تأثير قيم مختلفة من الأس الهيدروجيني (5، 6، 6.5، 7، 8).

النتائج والمناقشة:

1- **المصدر الكربوني:**أ-السكريات (السكروز، المالتوز، الفركتوز، الكلوكوز، سكرالمائدة): يوضح الشكل (1) نتائج استعمال السكروز مصدرا كربونيا بتركيز مختلفة (5 و 10 و 15 و 20 و 25 و 30 %) في وسط التخمر العام والتي أعطت كمية دكستران بلغت 3.4، 7.2، 5.6، 4.7، 1.8، 0.77 غم كوزن جاف على التوالي، إذ تبين إن أفضل تركيز لإنتاج الدكستران كان باستعمال 10% سكروز وان زيادة تركيزه في وسط الإنتاج تسبب في خفض الإنتاج بمقدار 84.2% وقد يعزى سبب هذا الانخفاض إلى إن هذا التركيز من السكروز ربما يعمل في خفض وتنشيط فعالية إنزيم الدكستران سكريز والذي بدوره يؤثر سلبا في تخليق

المواد وطرائق: تمت دراسة عدد من العوامل المؤثرة في انتاج الدكستران

شملت نوع المصدر الكربوني والمصدر النتروجيني وحجم اللقاح ودرجة الحرارة وتأثير الاس الهيدروجيني لغرض تحديد امثل الظروف لانتاج الدكستران من العزلة المحلية قيد الدراسة مع اعتماد وسط التخمر العام كوسط اساسي المتكون من سكروز 10غم ،مستخلص خميرة 0.5غم ، بيتون 0.5غم ، كلوريد الكالسيوم 0.01غم في 100 مل ماء مقطر .

1- **تحديد المصدر الكربوني الأمثل:** اختبرت 8 مصادر كربونية هي السكروز و المالتوز والكلوكوز والفركتوز وسكر المائدة ومستخلص المالت وعصير التمر(استخلاص حار واستخلاص بارد) والشرش وبالتراكيز الاتية لكل منها :

أ- السكروز: أضيف بتركيز مختلفة (5،10،15،20، 30%) الى وسط التخمر العام .

ب - المالتوز: لبيان مدى تأثير تركيز المالتوز في إنتاج الدكستران فقد أضيف بالتراكيز الاتية مع السكروز (غم:غم) 1- 100 غم مالتوز: 0 غم سكروز، 2- 75 غم مالتوز: 25غم سكروز 3- 50غم مالتوز : 50غم سكروز 4- 25غم مالتوز: 75غم سكروز 5- 0غم مالتوز : 100غم سكروز

ت - الفركتوز: لبيان مدى تأثير تركيز الفركتوز في إنتاج الدكستران فقد أضيف بالتراكيز الاتية مع السكروز (غم:غم) 1-100غم فركتوز:0غم سكروز 2-75 غم فركتوز:25غم سكروز 3- 50غم فركتوز: 50غم سكروز 4-25غم فركتوز : 75غم سكروز 5- 0غم فركتوز :100غم سكروز

ث - الكلوكوز: لبيان مدى تأثير تركيز الكلوكوز في إنتاج الدكستران فقد أضيف بالتراكيز الاتية مع السكروز (غم:غم) 1-100 غم كلوكوز: 0 غم سكروز 2- 75 غم كلوكوز: 25غم سكروز 3- 50غم كلوكوز : 50غم سكروز 4- 25 غم كلوكوز:75غم سكروز 5- 0غم كلوكوز:100غم سكروز ح- سكر المائدة لبيان مدى تأثير تركيز سكر المائدة في إنتاج الدكستران فقد أضيف بتركيز 50 ، 100 ، 150 ، 200 ، 250 ، 300 غم/ لتر إلى وسط التخمر العام.

خ- مستخلص المالت: لبيان مدى تأثير تركيز المالت في إنتاج الدكستران فقد أضيف بالتراكيز الاتية مع السكروز

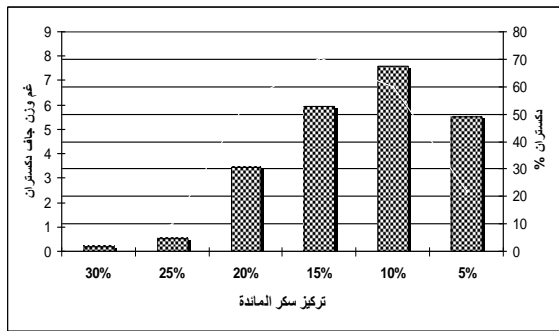
المنتج بينت هذه الدراسة إن مستوى سكر المائدة الذي يرافقه أعلى إنتاج من الدكستران كان 15غم/100 مل من وسط التخمر العام، إذ بلغت كمية الدكستران 7.93غم كوزن جاف(شكل5) وانخفض الإنتاج بشكل كبير عند التراكيز الأعلى والمتمثلة بالتراكيز 20 و25 و30 غم/100 مل إذ بلغت كمية الدكستران 4.3، 0.87، 0.21 غم على التوالي، وقد يعزى هذا الانخفاض في الإنتاج عند التراكيز العالية من سكر المائدة إلى ضعف مقدرة البكتريا قيد الدراسة في تحمل الضغوط الازموزية العالية والناجمة عن استعمال مثل هذه المستويات من السكر.

ح-مستخلص المالت: يوضح الشكل(6) إن أعلى إنتاج للدكستران كان عند تركيز مستخلص المالت : سكروروز (2.5: 7.5%)، إذ بلغت قيمة الدكستران 5.8غم كوزن جاف. يعد مستخلص المالت من المصادر الكربونية والنيتروجينية الغنية بالاحماض الامينية المتنوعة والفيتامينات والتي تعد عوامل نمو فضلا عن احتوائه على انزيمات الاميليز وبذلك يكون له تأثير ايجابي وفعال في انتاج الدكستران والكتلة الحيوية (16).

خ-الشرش: يلاحظ من الشكل(7) تفوق الشرش بعد تدعيمه بالسكروروز ونسبة 10% على بقية المعاملات قيد الدراسة، إذ كانت الزيادة مطردة مع ارتفاع نسبة التدعيم بالسكروروز وبلغت الزيادة في إنتاج الدكستران ما يساوي خمس مرات تقريبا الكمية المنتجة من الدكستران باستعمال الشرش لوحده (100مل) إذ بلغت كمية الدكستران 0.6 غم كوزن جاف وازدادت لتبلغ 7.5غم كوزن جاف عند اضافة 10% سكروروز وهذا يتفق مع ما ذكره Bodie و Schwartz (32).

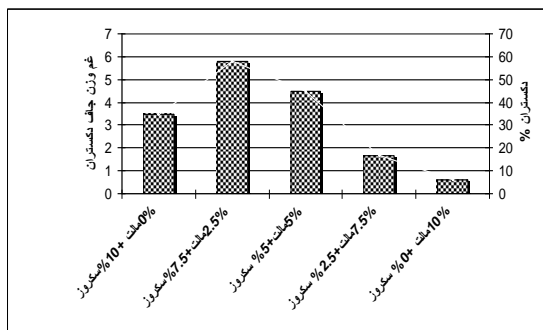
د-عصير التمر: وضح الشكل(8) إن إنتاج الدكستران يتناسب تناسباً طردياً مع الزيادة في تركيز السكروروز المضاف الى عصير التمر(استخلاص حار) وقد يعزى إلى ندرة السكروروز في عصير التمر وهو يعد المادة المحنة لإفراز إنزيم الدكستران سكروروز(37) واحتوائه في الوقت نفسه على السكريات الأحادية والفيتامينات والأملاح المعدنية كما انه يحتوي على نسب متساوية المولارية من سكري الكلوكوزو الفركتوز مما يدفع بالبكتريا نحو النمو وزيادة الكتلة الحيوية ومن ثم انخفاض قيمة الأس لهيدوجيني للوسط.

الدكستران (15) ويتضح هذا جليا عند استعمال تركيز 20%، وتدعى هذه الظاهرة بالفعل المثبط للمادة الأساس (substrate inhibitory effect)، كما إن الزيادة في تركيز السكروروز يرافقها زيادة ملحوظة في ريولوجية وسط التخمر والذي ينعكس بدوره سلباً على عملية الإنتاج ومنها على سبيل المثال صعوبة فصل الخلايا لاحقاً وتنقية المنتج (20 و21 و29)، وكذلك فانها تسهم في خفض حصول الخلايا على المواد المغذية والاستفادة منها (31). وقد يعزى هذا الانخفاض في الإنتاج عند التراكيز العالية من السكروروز إلى ضعف مقدرة البكتريا قيد الدراسة في تحمل الضغوط الازموزية العالية والناجمة عن استعمال مثل هذه المستويات من السكر. جاءت هذه النتيجة مشابهة لما حصل عليه كل من (33 و35 و38). يبين الشكل(2) كمية الدكستران المنتج من عملية استبدال السكروروز بالمالتوز وينسب متفاوتة إذ يلاحظ هناك تناسبا عكسيا بين ارتفاع تركيز سكر المالتوز وكمية الدكستران المنتج وقد يعود انخفاض إنتاج الدكستران باستعمال المالتوز مصدرا وحيدا للكربون والطاقة مرجعه إن المالتوز لا يمثل المادة الأساس الأكثر ملائمة لإنزيم الدكستران سكروروز بل إن إضافة المالتوز إلى وسط التخمر تعد خطوة محددة لتخليق الدكستران(26) وهذا ما أكدته Santos وجماعته(28). يوضح الشكل(3) وجود تناسب عكسي بين زيادة تركيز الفركتوز وإنتاج الدكستران في وسط التخمر العام وإن أعلى إنتاج للدكستران كان بغياب الفركتوز واقتصار الوسط على 10%سكروروز إذ بلغت كميته 7.56غم كوزن جاف وهذا ما أكدته DoIs وجماعته(8) من أن استعمال السكروروز يؤدي إلى إنتاج أعلى من الدكستران مقارنة بالفركتوز وذلك لان إنتاج الدكستران سكروروز يكاد يكون معدوما عند وجود الفركتوز في الوسط كمصدر وحيد للكربون والطاقة يتضح من الشكل (4) زيادة كمية الدكستران المنتجة مع خفض تركيز الكلوكوز وزيادة تركيز السكروروز وصولا الى افضل نسبة والمتمثلة ب 2.5% كلوكوز و 7.5% سكروروز، إذ بلغت كمية الدكستران المنتجة 7.8غم كوزن جاف ونسبة تحويل 78% وهذه النتيجة متوافقة مع ما ذكره Hamdy وجماعته(12) في أن زيادة تركيز الكلوكوز إلى السكروروز يؤدي إلى انخفاض كمية الدكستران

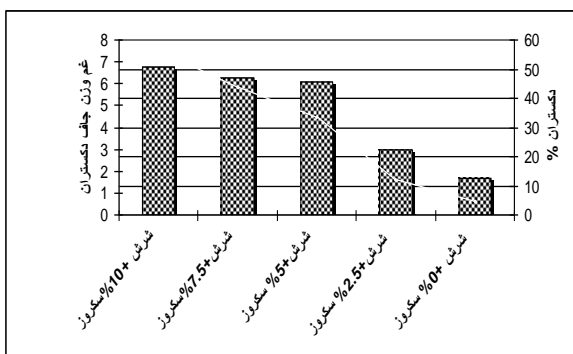


شكل 5. تأثير استخدام تراكيز مختلفة من سكر المائدة في إنتاج الدكستران.

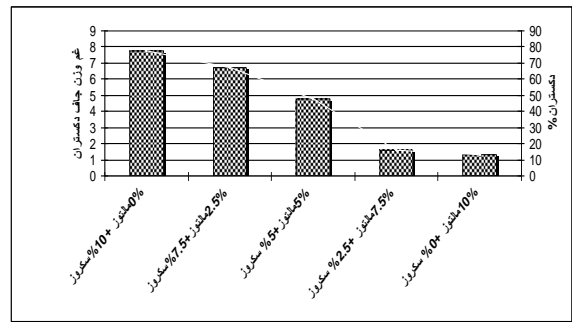
2-المصدر النتروجيني: تظهر النتائج في الشكل (9) تفوق مستخلص الخميرة والبيتون ومستخلص الخميرة الحراري على المصادر النتروجينية الاخرى المستعملة يليه كبريتات الامونيوم، نترات الامونيوم، التريتون، ونترات الصوديوم على الترتيب اذ بلغت كمية الدكستران المنتجة 6.68، 5.79، 0.09غم كوزن جاف على الترتيب.



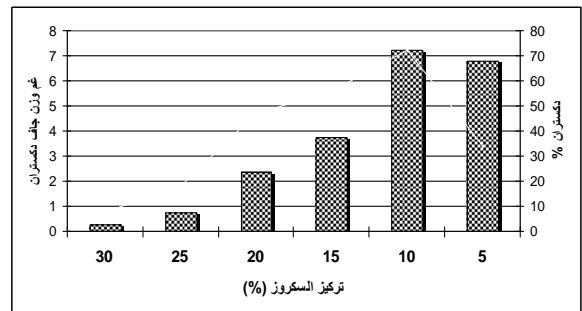
شكل 6. تأثير استخدام تراكيز مختلفة من مستخلص المالت والسكر في إنتاج الدكستران..



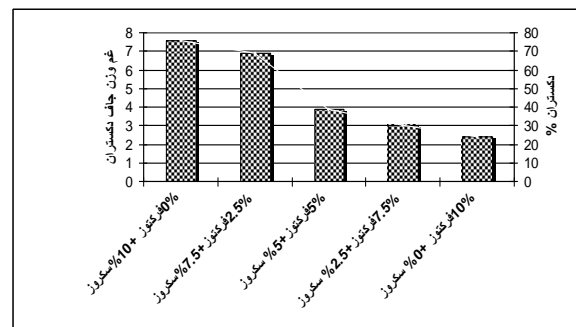
شكل 7. تأثير استخدام الشرش مع نسب مختلفة من السكر في إنتاج الدكستران



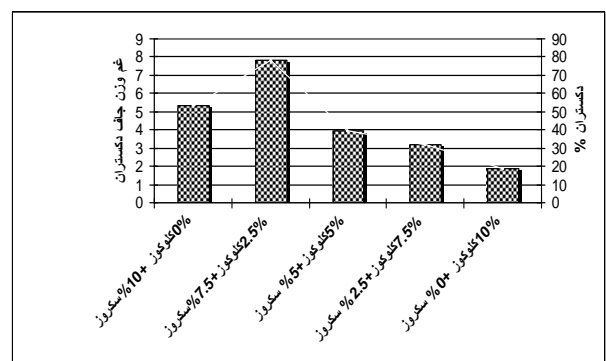
شكل 1. تأثير تراكيز مختلفة من السكر في إنتاج الدكستران



شكل 2. تأثير استخدام تراكيز مختلفة من المالت في إنتاج الدكستران.



شكل 3. تأثير استخدام تراكيز مختلفة من الفرنتوز والسكر في إنتاج الدكستران

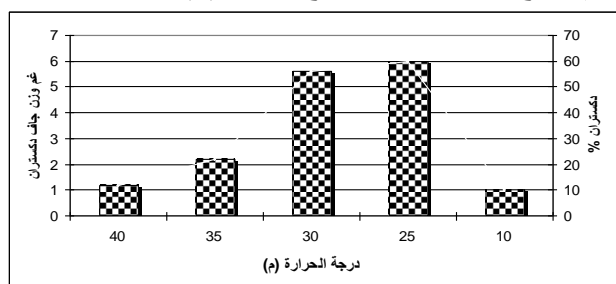


شكل 4. تأثير استخدام تراكيز مختلفة من الكلوكون والسكر في إنتاج الدكستران

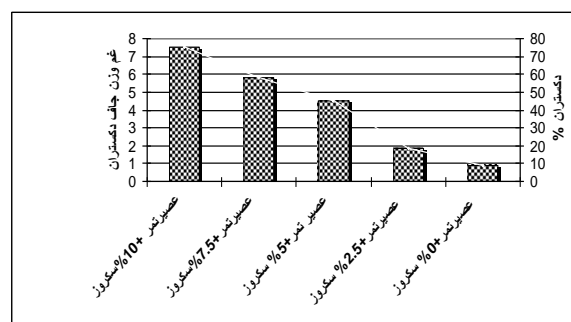
التخمير ومن ثم إنتاج أعلى من الدكستران وهذه النتائج مماثلة لما حصل عليه عدد من الباحثين (30،31).

3- درجة حرارة التخمير: يوضح الشكل (10) إن أفضل درجة حرارة لإنتاج الدكستران هي 25 °م تليها درجة حرارة 30 °م وانخفض إنتاج الدكستران بشكل ملحوظ بدرجة حرارة 10 °م و 40 °م وقد اتفقت هذه النتائج مع عدد من البحوث من إن الدرجة الحرارية المثلى لإنتاج الدكستران من بكتريا *Lm* هي 25 °م (33، 35، 36، 38)، إذ تعد درجة الحرارة عاملاً أساسياً ومؤثراً في النمو والفعاليات الحيوية للأحياء المجهرية وهي أيضاً وسيلة أساسية للسيطرة على الفعاليات الأيضية بشقيها الهدمي والبنائي خصوصاً في الصناعات التخمرية (2) ويتطلب الحصول على إنتاج عال نسبياً من الدكستران في درجة حرارة 10 °م زيادة المدة الزمنية لعملية التخمير ويتوافق هذا مع ما حصل عليه Shamala وPrasad (33).

4- مدة التخمير: يظهر الشكل (11) أن أفضل مدة تخمير لإنتاج الدكستران من بكتريا *Lm* هي 24 ساعة. إذ بلغت كمية الدكستران المنتجة 7.3 غم لكل 10 غم سكر في حين انخفض الإنتاج بزيادة مدة التخمير وقد يعزى سبب هذا إلى إن نفاذ المواد الأساس في وسط التخمير وعلى وجه التحديد المصدر الكربوني وعلى كفاءة التحويل خلال هذه المدة ونوع طريقة التخمير المستخدمة في الإنتاج (2) إذ بلغت نسبة التحويل 73% وانخفضت هذه النسبة بعد 48 ساعة لتبلغ 65.2، في حين وجدت الاسدي (1) أن أفضل مدة تخمير لإنتاج الدكستران من نفس البكتريا هي 48 ساعة إذ حصلت على 6.2 غم دكستران. إن المدة اللازمة لإتمام التخمير وإنتاج الدكستران ترتبط بعدة عوامل منها: نوع العزلة، المنتج، درجة حرارة الحضانة، الإلص الهيدروجيني النهائي، حجم اللقاح، تركيب وسط الإنتاج والتهوية (3).

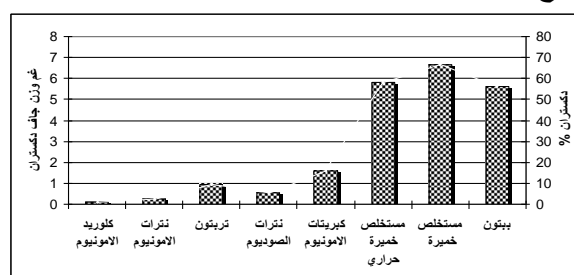


شكل 10. تأثير درجة حرارة التخمير في إنتاج الدكستران



شكل 8. تأثير استخدام صغير تمر مع نسب مختلفة من السكر في إنتاج الدكستران.

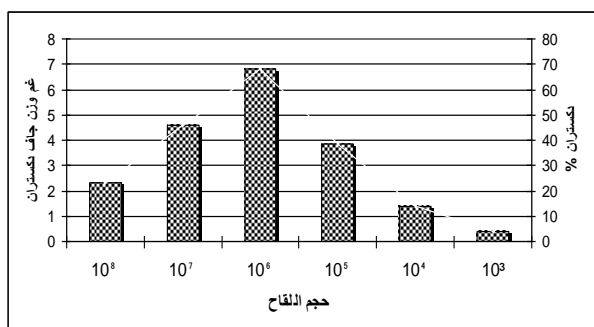
مما سبق نلاحظ تفوق المصادر العضوية على المصادر اللاعضوية (المستعملة في الدراسة الحالية) وربما يعود ذلك لكون المصادر العضوية أكثر تنوعاً وغنى إذ تحتوي على حوامض أمينية يمكن ادماجها في تركيب البروتينات الخلوية مما يوفر الجهد والطاقة المطلوبة من قبل الخلية البكتيرية والتي تحتاجها عبر العديد من الخطوات والتي تسلكها الخلايا مما يجعل الخلايا في غنى عن عدد من مسارات التخليق التي تصرف فيها كميات كبيرة من الطاقة التي يمكن أن تستغل في عمليات النمو الأخرى ولكن عند دخول النواحي الاقتصادية في الحسبان يلاحظ أن استعمال المصادر اللاعضوية يكون أكثر اقتصاداً، فضلاً عن كونها مصدراً للنتروجين وقد أكد ذلك Abedin وجماعته (4) في دراستهم لإنتاج الدكستران من بكتريا *Lactobacillus acidophilus* ST 7648001 وكانت نتائجهم مماثلة للنتائج.



شكل 9. تأثير نوع المصدر النيتروجيني في إنتاج الدكستران

المستحصل عليها في الدراسة الحالية من إن البيبتون و مستخلص الخميرة من أفضل المصادر النيتروجينية العضوية للحصول على كمية جيدة من الدكستران المنتج وهذا يعود لاحتوائها على مجموعة لا بأس بها من الحوامض الأمينية الأساسية ومدعمات النمو والفيتامينات والأملاح وبذلك تكون ذات جاهزية أعلى من المصادر اللاعضوية في وسط

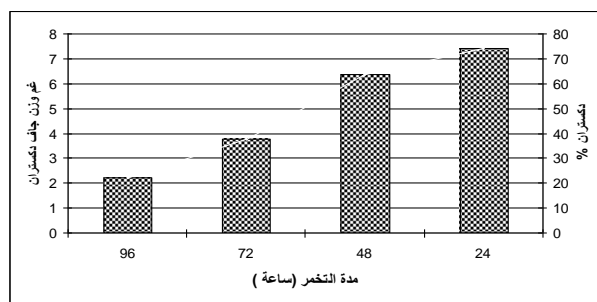
يشير الشكل (13) تزامن زيادة انتاج الدكستران مع الزيادة في حجم اللقاح المضاف وصولا الى $10^6 \times 1$ خلية/مل اذ بلغت كمية الدكستران 6,8 غم كوزن جاف، وقد حصل انخفاض واضح في الكمية المنتجة من الدكستران عند استعمال مستويات منخفضة من حجم اللقاح ($10^5 \times 1$ خلية/مل) من وسط التخمر اذ بلغت كمية الدكستران المنتجة كوزن جاف 3.8 غم، ويمكن تفسير هذا الانخفاض ان حجم اللقاح المضاف قد يكون غير مناسب لحجم وسط التخمر مما يؤدي للتأخير في وقت انتاج الدكستران التي تحاول قدر المستطاع اختصارها لتلافي ظهور الطفرات وحدثت التغيرات والتلوث (2)، و حصل الامر ذاته عند استعمال حجم لقاح ($10^7 \times 1$ خلية/مل) اذ بلغت كمية الدكستران 4.57 غم والذي يمكن تفسيره بنشوء حالة من التنافس الشديد على المكونات الغذائية في الوسط مما يجعل الظروف غير ملائمة للنمو و الانتاج وكذلك فان الكثافة العالية للبكتريا ادت الى انخفاض الاس الهيدروجيني بشكل سريع بسبب انتاج الحامض بفعل ابيض البكتريا و من ثم انخفاض في انتاج الدكستران و ذكرت الخفاجي (3) ان حجم العملية الانتاجية ونوعها هو الذي يحدد حجم اللقاح المستعمل، اذ ان حجم اللقاح يجب ان يكون بكمية كبيرة تتناسب حجم الوسط الغذائي المعد للتخمر بهدف التقليل من وقت التأخير في بدء الانتاج.



شكل 13. تأثير استخدام مستويات مختلفة من حجم اللقاح في إنتاج الدكستران.

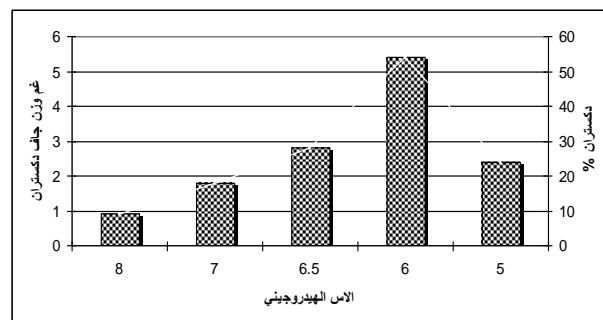
REFERENCES

1. Al-asady, A. K. G. 2003. Improvement of dextran production from a local isolated of *Leuconostoc mesenteroides*. Thesis . the College of Agriculture. University of Basrah. Iraq.



شكل 11. تأثير مدة التخمر في إنتاج الدكستران.

5-الاس الهيدروجيني تشير النتائج في الشكل (12) إلى إن امثل أس هيدروجيني لإنتاج الدكستران من البكتريا *Lm* قيد الدراسة هو 6.0، إذ تم الحصول على إنتاجية للدكستران تقدر بواقع 5,4 غم كوزن جاف، في حين انخفض الإنتاج بارتفاع وانخفاض الأس الهيدروجيني عن هذه القيمة وقد يعزى سبب هذا إلى إن الأس الهيدروجيني يؤثر تأثيراً مباشراً في نشاط الإنزيمات الخارجية وفي عمليات التمثيل الغذائي للكائن المجهرية وفي ذائبية الاملاح فضلا عن تأثيره في الحالة الأيونية للمادة الأساس ومن ثم جاهزيتها وتيسرها للكائن المجهرية النامي (3). تعد قيمة الأس الهيدروجيني من العوامل الأكثر تأثيراً بسبب المدى الضيق لثبات الإنزيم تجاه التغيير في الأس الهيدروجيني (39)، كما يلاحظ ان هناك انخفاض في قيم الاس الهيدروجيني لوسط الانتاج ترافق عملية تخليق الدكستران قد وصل إلى 4.8.



شكل 12. تأثير الأس الهيدروجيني في إنتاج الدكستران.

6- حجم اللقاح الابتدائي. استعملت مستويات مختلفة من حجم اللقاح في تلقيح وسط التخمر العام ودرس تأثيرها في انتاج الدكستران للوقوف على حجم اللقاح الامثل في الانتاج، اذ يعد حجم اللقاح من العوامل المهمة في الإنتاج فكما هو معلوم فان أي عملية إنتاجية يجب التحكم في ظروف الإنتاج ومنها حجم اللقاح المستعمل وصولاً إلى أعلى إنتاج فضلاً عن تقصير مدة التطبيع قدر الإمكان (3).

6. Bailey, R. W.; S. A. Barker, E.; Bourne; M. Stacey, and O. Theander, 1957. Immunopolysaccharides. Part VI. The isolation and properties of the dextransucrase of *Betacoccus arabinosaceous*. J. Chem. Soc. 3530-3536.
7. Behravan, J.; S. F. Bazzaz, and Z. Salimi, 2003. Optimization of dextran production by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512 using cheap and local sources of carbohydrate and nitrogen -38 :267-269.
8. Dols, M.; W., Chraibi; M., Remaud-Simeon; N. D., Lindley, and P. F. Mosan, 1997. Growth and energetics of *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-1299 during metabolism of various sugars and their consequences for dextransucrase production. Appl. Environ. Microbiol. 66: 2159-2165.
9. El-Sayed, A. M. M.; W. M. Mahmoud, and R. W., Coughlin, 1990. Production of dextransucrase by *Leuconostoc mesenteroides* immobilized in calcium-alginate beads: 1-batch and fed batch fermentations. Biotechnology and Bio-engineering, Vol. 36, pp: 338-345.
10. Faurie, J. M.; J. Z. Levean, and M. Bouix, 1997. Influence of dextrans on the adhesion of *Leuconostoc mesenteroides* hexadecane. Sciences des Aliments. 17:371-382.
11. Garvie, E. I., 1974. Genus *Leuconostoc*. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Eight edition Buchanan, R. E. and Gibbons, N. E., pp: 510-513.
12. Hamdy, M. K.; E., Gardner; G. L. Stahly, and H. H. Weiser, 1954. Factors affecting production and clarification of dextran. The Ohio Journal of Science. 54(5): 317-328.
13. Jeanes, A.; W. C. Haynes, C. A.; Wilham, J. C.; Pankin, E. H.; Melvin, M. J.; Austin, J. E.; Cluskey, B. E.; Fisher, H. M., Tsuchiya, and C. E., Rist, 1954. Characterization and classification of dextrans from ninety six strains of bacteria. J. Am. Chem. Soc. 76: 5041-5052.
14. Kaboli, H., and P. J., Reilly, 1980. Immobilization and properties of *Leuconostoc mesenteroides* dextransucrase. Biotechnol. Bioengineering, Vol. 22, pp: 1055-1069.
15. Karthikeyan, R. S.; S. K., Rakshit, and A., Baradarajan, 1996. Optimization of batch fermentation conditions for dextran
2. Al-Haedery, N. K. A and R. M. Al-Mosleh. 1989. Industrial Microbiology University of Baghdad. Iraq.
3. Al-Kaphgi, Z. M. 1990. Biotechnology. University of Baghdad. Iraq.
4. Abedin, R. M. A.; A. M. El-Borai, M. Shall; S. A., El-Assar, 2013. Optimization and statistical evaluation of medium component affecting dextran and dextransucrase production by *Lactobacillus acidophilus* ST76480.01. Life Sci. J. 10(1): 1746-1752.
5. Alsop, R. M., 1983. Industrial production of dextrans. In: Prog. Ind. Microbiology, Vol. 18, pp: 1-44 (Bushel M. E. ed.) Elsevier, London. UK
- production. Bioprocess Engineering, Vol. 15, pp: 247-251.
16. Kocharin, K.; P. Rachathewe, J. Sanglier, and W. Prathumpai, 2010. Exo-biopolymer production of *Ophiocordyceps dipterigena* BCC2073: optimization, production in bioreactor and characterization. BMC Biotech. 10:51-62.
17. Kobayashi, M., and K., Matsuda (1974). The dextransucrase isoenzymes of *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-1299. Biochemica and Biophysica Acta, Vol. 370, pp: 441-449.
18. Koepsell, H. J., and H. M., Tsuchiya, 1952. Enzymatic synthesis of dextran. J. Bacteriology, Vol. 63, pp: 293-295.
19. Landon, R. S., and V., Webb, 1990. Separating enzyme (dextransucrase) production and product (dextran) synthesis within a traditional fermentation process. Process Biochemistry, 25: 19-23.
20. Lopretti, M. and L. Martinez, 1999. Influence of nitrogen/carbon ratio and complementary sugars on dextransucrase production by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512F. Process Biochemistry. 34: 879-884.
21. Michelena, G. L.; A. Martinez, A. Bell; E. Carrera, and R. Valencia, 2003. Scale-up of dextransucrase production by *Leuconostoc mesenteroides* in fed batch fermentation. Brazilian Archives of Biology and Technology. 46(3): 455-459.
22. Monsan, P.; F. Paul; D. Aunol, and A. Lopez-Munguia, 1987. Dextran synthesis using immobilized *Leuconostoc mesenteroides*

- dextranase. *Methods of Enzymology*, Vol. 136, pp: 239-254.
23. Morris, G. and S. Harding, 2009. *Polysaccharides*, Microbial. Elsevier Inc. University of Nottingham, Sutton Bonington, UK. *Applied Microbiology*. pp: 482-494.
24. Naessens, M.; A. Cerdobbel; W., Soetaert, and E.J. Vandamme, 2005. *Leuconostoc* : dextranase and dextran: production, properties and applications. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 80: 845- 860.
25. Nam, S. H. 2008. Maximization of dextranase activity expressed in *E. coli* by mutation and its functional characterization. *Biotechnol. Lett.*, 30: 135-143.
26. Paul, F.; E., Oriol; D., Auriol, and P. Monsan, 1986. Acceptor reaction of a highly purified dextranase with maltose and oligosaccharides. Application to the synthesis of controlled-molecular-weight dextrans. *Carbohydr. Res.* 149: 433-441.
27. Plihon, F.; P. Taillandier, and P., Strehaiano, 1995. Oxygen effect on batch cultures of *Leuconostoc mesenteroides*: relationship between oxygen up-take growth and products. *Applied Microbial biotechnology*, Vol. 43, pp: 117-122.
28. Santos, M.; A. Rodriguse, and J. A. Teixeira, 2005. Production of dextran and fructose from carob pod extract and cheese whey by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512(f). *25*: 1-6.
29. Santos, M.; J.A. Teixeira, M. Lopretti, and A. Rodrigues, 2000. Dextran and fructose production using *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512 F with sucrose as substrate. *Biochem. Eng. J.* 4: 177-188.
30. Sarwat, F; S.A., Ul-Qader; A., Aman, and N. Ahmed, 2008. Production and characterization of a unique dextran from an indigenous *Leuconostoc mesenteroides* CMG 713. *Int. J. Biol. Sci.* 4(6): 379-386.
31. Sawale, S.D. and S.S. Lele, 2010. Statistical optimization of media for dextran production by *Leuconostoc* sp., isolated from fermented Idli batter. *Food Sci. Biotechnol.* 19(2): 471-478.
32. Schwartz, R.D. and E.A. Bodie, 1984. Production of viscous dextran containing whey-sucrose broths by *Leuconostoc mesenteroides* ATCC 14935. *Applied and Environ. Microbiol.* 48(3): 678-679.
33. Shamala, T. R., and M. S., Prasad, 1995. Preliminary studies on the production of high and low viscosity dextran by *Leuconostoc* spp. *Process Biochemistry.* 30(3): 237-241.
34. Sidebotham, R.L. 1974. Dextrans. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 22: 739 – 750.
36. Ul-Qader, S.A; L. Iqbal, A.; Aman, E. Shireen, and A. Azhar, 2005. Production of dextran by newly isolated strains of *Leuconostoc mesenteroides* PCSIR-4 and PCSIR-9. *Turkish Journal of Biochemistry* 31 (1): 21–26
37. Ul-Qader, S. A.; L. Iqbal, H. A. Rizvi, and R., Zuberi, 2001. Production of dextran from sucrose by a newly isolated strain of *Leuconostoc mesenteroides* (PCSIR-3) with reference to *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F. *Biotechnol. Applied Biochemistry*, Vol. 34, pp: 93-97.
38. Ward, O. P. 1989. *Fermentation Biotechnology*. Open University Press
39. Yousef, H. H.; S. A., El-Aassar, and S.M.F., Fathy, 1997. Optimization of culture conditions for the production of dextran by *Leuconostoc mesenteroides*. *Adv. Food Science (CMTL)*, Vol. 19, No. (5/6), pp: 152-158.
40. Zarour, K.; Z.; Benmecherrne, M. Hadadji, B.; Moussa-Boudjemaa, D. J. Henni, and M. Kihal, 2012. Bioprospecting of *Leuconostoc mesenteroides* strains isolated from Algerian raw camel and goat milk for technological properties useful as adjunct starters. *African J. Microbiol. Res.* 6(13): 3192-3201.
41. Zhang, H.B.; C.B. Zhu, and Y.J. Hu, 2008. Construction and culture conditions of dextranase secreting engineered strain. *Acta. Microbiol. Sci.* 48: 492-497