

إنتاج إنزيم الأسبارجيناز من بكتريا *Bacillus spp* واستخدامه في الحد من الأكريلاميد المتشكل في الأغذية المقلية

Asparaginase production by *Bacillus spp* and its application in reducing acrylamide formation in fried food.

اسم الطالب: فيفيان رمزي ضيف الله
اسم المشرف: أ.د. صباح اليازجي
أ.د. م. لينه الأمير

الملخص

قيست كمية الأكريلاميد المتشكلة بعد عملية القلي بجهاز HPLC في العينات المعاملة بالأسبارجيناز وقورنت بالكمية المتشكلة في عينات الشاهد غير المعاملة بالإنزيم. وقد أظهرت النتائج انخفاض كمية الأكريلاميد المتشكل في العينات المعاملة بالأسبارجيناز بنسب 50.17% و 46.76% و 40.63% في كل من البطاطا المقلية والشيبس والدونات على التوالي بالمقارنة مع عينات الشاهد غير المعاملة.

القسم النظري

نالت قدرة الأحياء الدقيقة على إنتاج مواد ذات أهمية تطبيقية كالإنزيمات والمضادات الحيوية، وغيرها من المركبات اهتمام العديد من الباحثين لعزل واكتشاف سلالات مختلفة من هذه الأحياء ذات الكفاءة العالية في إنتاج الإنزيمات واستخدامها في العديد من المجالات. شهدت العقود الأخيرة من القرن الماضي تطوراً كبيراً في إنتاج الإنزيمات، وخاصة ذات المصادر الميكروبية، وبرغم محدودية الأحياء الدقيقة المستخدمة في الإنتاج الصناعي للإنزيمات إلا أن التوجه يزداد يوماً بعد آخر في استغلال التطورات الهائلة في مجالات التقانات الحيوية لإنتاج إنزيمات بمواصفات وكميات تلبي احتياجات الأسواق العالمية. تعد الإنزيمات عوامل محفزة ذات طبيعة بروتينية، تكون مسؤولة عن عدد من التحولات الكيميائية الضرورية لاستمرارية الحياة لما لها دوراً هاماً في كافة التقانات الحيوية فهي تستخدم في الصناعات المختلفة الغذائية والدوائية والتجميلية والنسيجية...إلخ. يتبع إنزيم الأسبارجيناز إلى أنزيمات الحلمهة، فهو يعمل على حلمهة الحمض الأميني الأسبارجين إلى حمض الإسبارتيك والأمونيا. يتمتع إنزيم الأسبارجيناز ذو المصدر الميكروبي بأهمية قصوى لما يمتاز به من خصائص متعددة جعلته يؤدي دوراً مهماً في التطبيقات المختلفة من النواحي الغذائية والدوائية، إذ يعمل الإنزيم في المجال الغذائي على تقليل كمية الأكريلاميد المتشكل في الأغذية الحاوية على السكريات عند تعريضها للحرارة العالية، والذي يعد إحدى المسببات الرئيسية لحدوث السرطان ولاسيما أغذية الأطفال أما في المجال الدوائي فيستخدم الإنزيم من أجل الحصول على أدوية لمعالجة مرض السرطان.

النتائج والمناقشة

- 1- قدرة جنس *Bacillus* على إنتاج إنزيم الأسبارجيناز بكميات كبيرة.
- 2- تفوق النوع (*Bacillus licheniformis*) في إنتاج إنزيم الأسبارجيناز حيث بلغت الفعالية الإنزيمية 1064.51 وحدة/مل.
- 3- أمكن التوصل إلى الظروف المثلى للحصول على أعلى إنتاجية إنزيمية للعزلة *Bacillus licheniformis* حيث بلغت الفعالية الإنزيمية عندها 1481.92 وحدة / مل عند استخدام البرنامج الإحصائي Minitab والتصميم الإحصائي (RSM) Response Surface Methodology.
- 4- كانت درجة الحرارة المثلى لنشاط إنزيم الأسبارجيناز النقي 60°م، وبقي الإنزيم مستقراً في مجال من درجات الحرارة 30-60°م.
- 5- كان الرقم الهيدروجيني الأمثل لنشاط الإنزيم 9 وبقي الإنزيم مستقراً في مجال من الأرقام الهيدروجينية 8-9.
- 6- ازدادت الفعالية الإنزيمية عند استخدام الركيزة (الأسبارجين) بتركيز 1 مول.
- 7- نشطت شوارد الـ (Mg+2، Zn+2، Mn+2، Ag+، Na+، Fe+3) بتركيز 1mM عمل إنزيم الأسبارجيناز، أما شوارد (Co+2، Hg+2، Ca+2، Zn+2) بتركيز 1mM فقد لعبت دور مثبط للإنزيم.
- 8- ازدادت الفعالية الإنزيمية للإنزيم بوجود مركب MgCl2 بتركيز 1 مول.
- 9- انخفضت الفعالية الإنزيمية للإنزيم بوجود مركب EDTA بتركيز 0.8 مول.
- 10- أمكن تنقية الإنزيم باستخدام الترسيب بالأسيتون والفصل على أعمدة الكروماتوغرافيا باستخدام هلامتي Sephadex G-100 و DEAE-sepharose.
- 11- أمكن تعيين الوزن الجزيئي لبروتين إنزيم الأسبارجيناز باستخدام SDS-PAGE وبلغ 34.4 كيلو دالتون.
- 12- أمكن باستخدام إنزيم الأسبارجيناز النقي تقليل كمية الأكريلاميد في كلاً من البطاطا المقلية والشيبس والدونات بنسبة 50.17% و 46.76% و 40.63% على التوالي.

المراجع

- Abdelrazek ,N.; Elkhatib, W.; Raafat ,M and Aboulwafa, M.(2019). Experimental and bioinformatics study for production of l-asparaginase from *Bacillus licheniformis*: a promising enzyme for medical application .Springer Journal .9(39).
- Aghaiypour, K.; Wlodawer, A.; and Lubkowski, J. (2001). Structural basis for the activity and substrate specificity of *Erwinia chrysanthemi* L-asparaginase. *Biochemistry* . 40: (56):55-64.
- Jimat, D.N; Jamal, P; Azmi, A.(2017). Purification and partial characterization of L-asparaginase enzyme produced by newly isolated *Bacillus Sp*. *International Islamic University Malaysia Engineering Journal*. 18(2).
- Moorthy, V.; Aishwarya, R.; Alagarsamy, S.; and Rajesh, T. (2010). Production, purification and characterization of extracellular L-asparaginase from a soil isolate of *Bacillus sp*. *African Journal of Microbiology Research* . 4(18): 1862-1867.
- Zyzak, D.V.; Sanders, R.A.; and Stojanovic, M.(2003). Acrylamide formation mechanism in heated foods. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 51(16):4782-4787.