تخمرات عملي
المختبر السابع

انتاج الانزيمات باستخدام تخمرات الحالة الصلبة

الانزيمات :

- عبارة عن مادة عضوية تفرز بواسطة الكائنات الحية سواء حيوانية او نباتية او كائنات دقيقة ، تساعد على تنشيط التفاعلات الكيموحيوية لذلك تعتبر ضرورية للحياة لذلك تعتبر مواد بروتينية لها وظائف متخصصة إذ تعتبر كعوامل مساعدة للتفاعلات الانزيمية وتقسم الانزيمات حسب نوع الانزيم الى انزيمات أساسية وانزيمات مستحثة ، اما من حيث مكان انتاج الانزيم من الخلية الى انزيمات داخلية وانزيمات خارجية .

طبيعتها :

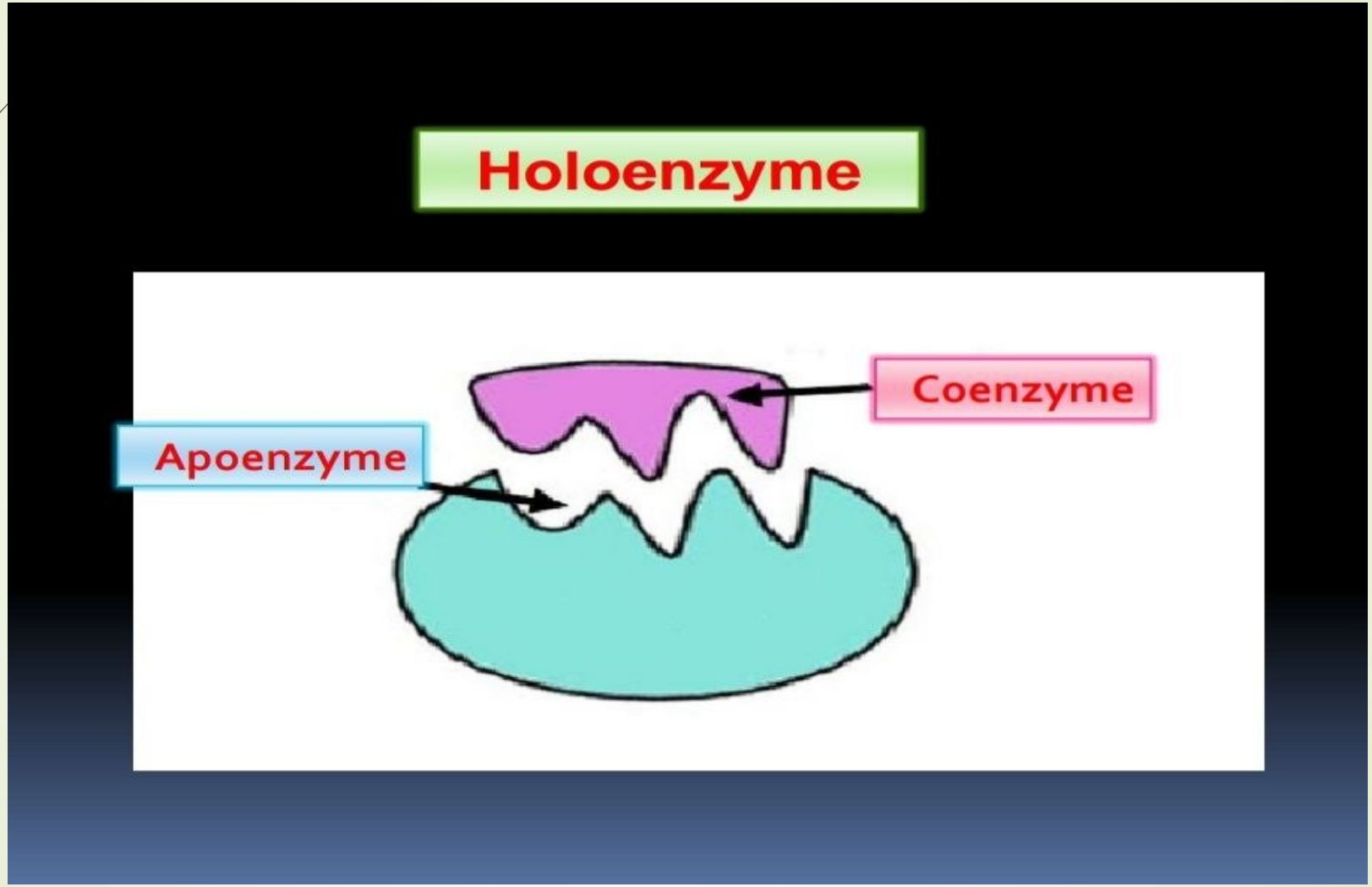
- ذات طبيعة بروتينية وتتكون من جزئين :

1 – (Apoenzyme) له طبيعة بروتينية ويعرف بالانزيم المحدد .

2 – (Coenzyme) غير بروتيني ويعرف بالمرافق الانزيمي او المجموعة الفعالة .

- يمكن لهذين الجزئين ان ينفصلا عن بعضهما وفي هذه الحالة يكون غير فعالين في سير التفاعلات .
- إذن نشاط الانزيم يتمثل في اتحاد الجزئين معا ويعرف التركيب الكامل للانزيم (Holoenzyme) .
- من امثلتها :

- تحلل النشأ ، تحلل الجيلاتين ، تحلل الكازين ، تحلل الدهون ، تحلل اليوريا


Holoenzyme
Coenzyme
Apoenzyme

انتاج انزيم Amylase

المواد :

- دورق سعة 500 مل مزود بسداد قطني .
- ذرة مطحونة كمادة أساس .
- لقاح فطري (فطر منتج لانزيم الاملیز) تركيزه 8×10^{6} سبور/ غم .
- املاح :
- $Cacl_2 . 2H_2o$
- K_2Hpo_4
- $Mgcl_2.6H_2o$
- $(NH)4So_4$
- ماء مقطر (1) لتر

طريقة العمل :

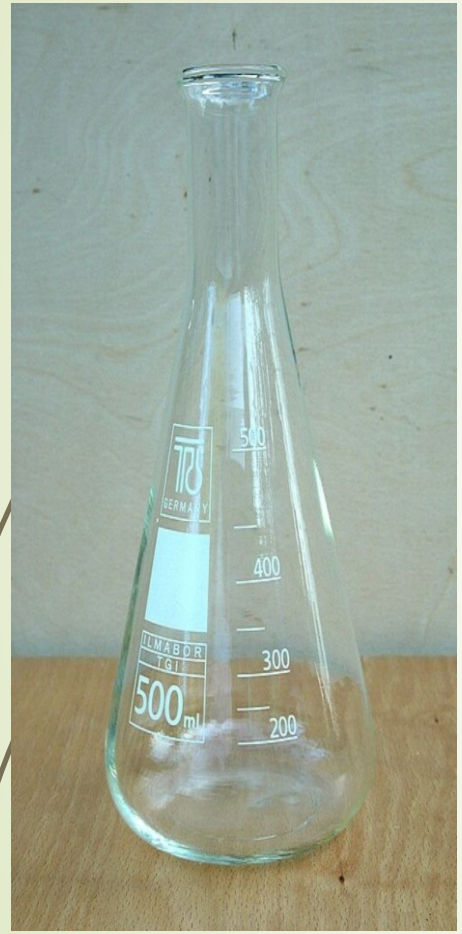
1 – نوزن 30 غم من الذرة ونضعها في الدورق .

2 – نأخذ (1) غم من كل ملح ونمزجها في (1) لتر ماء مقطر ومن ثم نعقمها في الاوتوكليف .

3 – نأخذ 40 مل من المحلول الملحي أعلاه ونضعه في الدورق الحاوي على مطحون الذرة .

4 – نلقح الدورق الحاوي على المزيج باللقاح الفطري .

5 – التحضين في درجة حرارة 40 مْ لمدة ثلاث أيام .



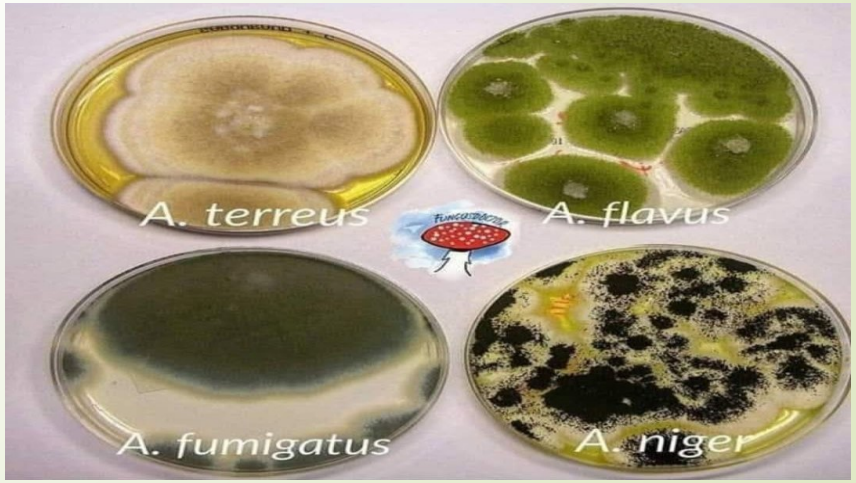
$Cacl_2 . 2H_2o$ -

K_2Hpo_4 -

$Mgcl_2.6H_2o$ -

$(NH)4So_4$ -

- ماء مقطر (1) لتر



انتاج انزيم Protease

المواد :

- دورق سعة 500 مل مزود بسداد قطني .
- نخالة الحنطة كمادة أساس .
- ماء مقطر معقم .
- لقاح فطري (فطر منتج لانزيم البروتيز) تركيزه 8×10^6 سبور / غم .

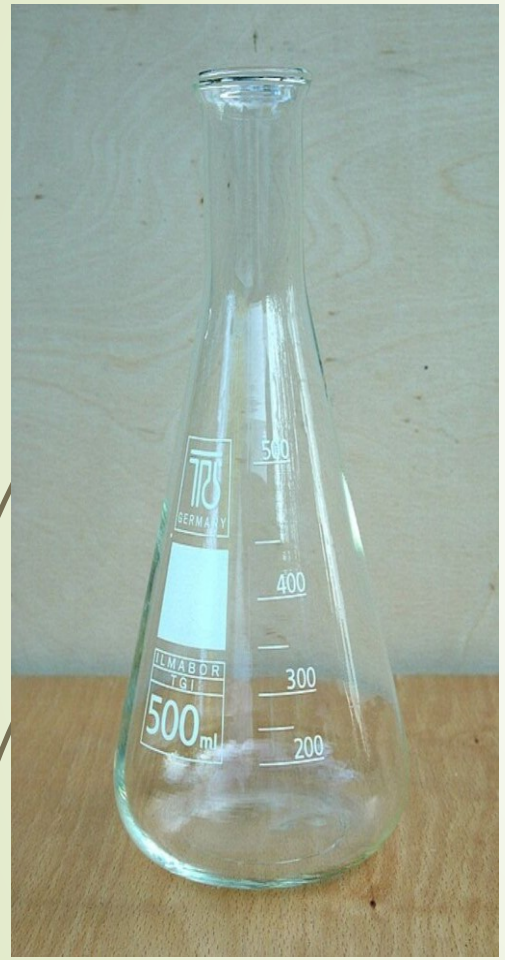
طريقة العمل :

1 – نوزن 10 غم من نخالة الحنطة ونضعها في الدورق .

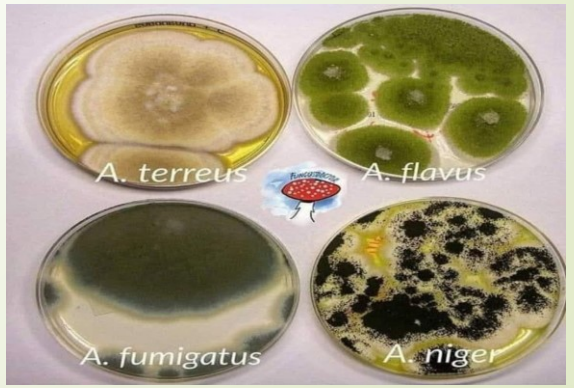
2 – نضع 30 مل من الماء المقطر المعقم في الدورق الحاوي على نخالة الحنطة .

3 – نلقح الدورق الحاوي على المزيج باللقاح الفطري .

4 – التحضين في درجة حرارة 40 مْ لمدة ثلاث أيام .



يضاف 30 مل ماء مقطر معقم



انتاج انزيم Cellulase

المواد :

- دورق سعة 500 مل مزود بسداد قطني .
- كوالح مجروشة كمادة اساس
.
- محلول Czapek - Dox السائل .
- لقاح فطري (منتج لانزيم السليلوز) تركيزه 1×10^{6} سبور / غم .

طريقة العمل :

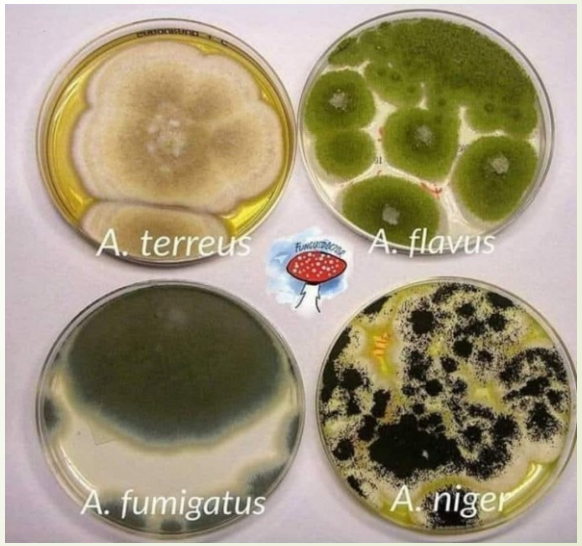
1 – نوزن 10 غم من الكوالح بعد جرشها ونضعها في الدورق .

2 – نضع 30 مل من المحلول أعلاه في الدورق الحاوي على الكوالح المجروشة .

3 – نلقح الدورق باللقاح الفطري .

4 – التحضين في درجة حرارة من 30 مْ الى 40 مْ لمدة 7 أيام .

يضاف Czapek . Dox



الاستخلاص

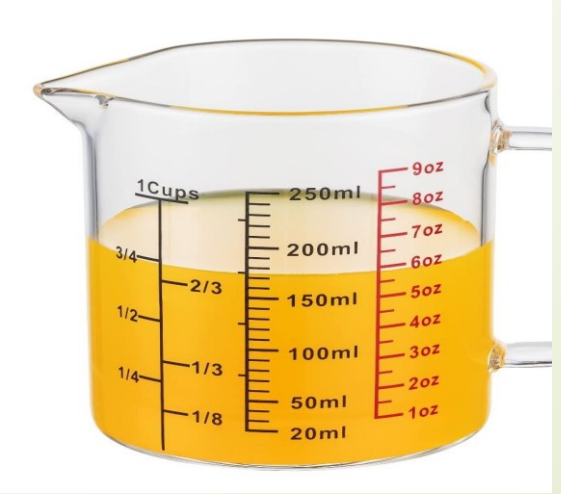
بعد الانتهاء من مدة الحضن تجري عملية الاستخلاص .

- يضاف 50 مل من محلول الفوسفات الداريء ذو تركيز 0.2 مولاري الى الدورق الحاوي على المزيج ومن ثم مزجه بواسطة المازج المغناطيسي لمدة 15 دقيقة .

- بعد انتهاء مدة المزج يتم ترشيحه بواسطة القطن ومن ثم يرشح مرة أخرى بواسطة ورق الترشيح واستخدام جهاز الفاكيوم لتسهيل عملية الترشيح ومن ثم الحصول على الرائق الانزيمي او المستخلص الانزيمي الخام .

QTY : 100 CIRCLES
SIZE : 15 CM.
QUALITATIVE
FILTER PAPER

1000ml


1Cups
3/4
2/3
1/2
1/3
1/4
1/8
250ml
200ml
150ml
100ml
50ml
20ml
9oz
8oz
7oz
6oz
5oz
4oz
3oz
2oz
1oz

قياس فعالية الانزيم

انزيم الاملیز :

- يحضر محلول النشأ المنظم من خلال اذابة 6.95 غم نشأ في 50 مل ماء مقطر معقم ثم يضاف تدريجيا الى 200 مل ماء مقطر مغلي لغرض اذابة النشأ تماما ثم ينقل بعد تبريده الى دورق حجمي سعة 1 لتر يحتوي على 35 مل من المحلول المنظم الملحي ويكمل الى 1 لتر ماء مقطر

طريقة العمل :

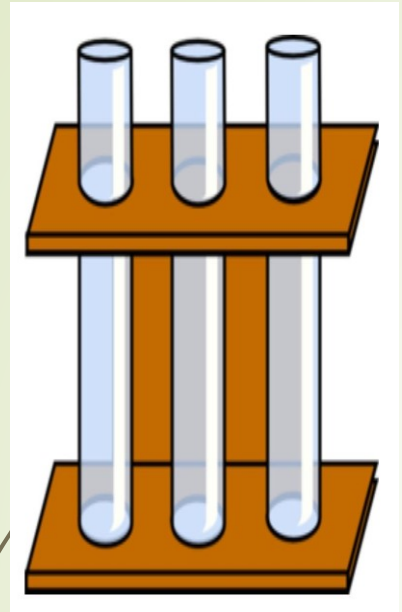
1 – يضاف محلول النشأ المنظم في انابيب اختبار لكل انبوبة 20 مل

2 – توضع الانابيب في حمام مائي بدرجة حرارة 45 مْ لمدة بضع دقائق

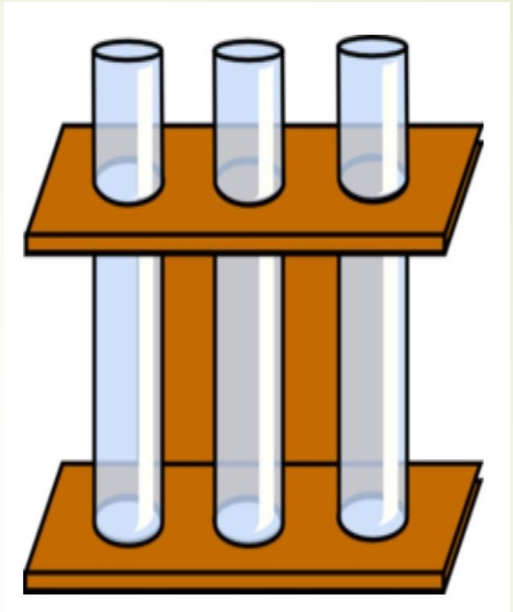
3 – بعد الانتهاء من الحمام المائي نضيف لكل انبوبة 10 مل من المستخلص الانزيمي المحضر مسبقا ونمزجه جيدا

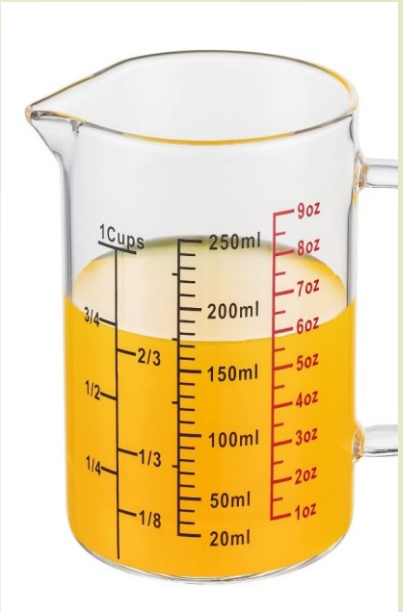
4 – بعد عملية المزج نأخذ 1 مل ونضيفه في انبوبة اختبار أخرى حاوية على 5 مل من محلول يود مخفف وبذلك يصبح باللون الأزرق ومن ثم نتركه لمدة 10 دقائق ليتحلل النشأ ليصبح اللون باللون الأصفر وبعد ذلك تتم المقارنة

5 – تحضير انبوبة المقارنة من خلال اذابة 6 غم دكسترين في كمية من الماء المقطر ويكمل الحجم الى 1 لتر من المحلول ويوضع في انبوبة المقارنة .



NANBEI Instrument company




1Cups
250ml
200ml
150ml
100ml
50ml
20ml
3/4
2/3
1/2
1/3
1/4
1/8
9oz
8oz
7oz
6oz
5oz
4oz
3oz
2oz
1oz

انزيم البروتيز :

- يتم اذابة 12 غم حليب فرز مجفف الى 100 مل من محلول كلوريد الكالسيوم ذو تركيز 0.01 مولاري ويعدل الرقم الهيدروجيني الى 6.5 ثم يوضع في حمام مائي بدرجة حرارة 45 مْ لمدة 30 دقيقة ثم يوزع في انابيب اختبار بواقع 10 مل لكل انبوبة يضاف 1 مل من المستخلص الانزيمي الخام الذي تم الحصول عليه الى انبوبة الاختبار الحاوية على الحليب وتحضن في الحمام المائي بدرجة حرارة 46 مْ لمدة نصف ساعة مع التحريك الشديد .

- في حال وجود انزيم البروتيز سوف تحدث خثرة في الحليب نتيجة تحلل بروتين الكازينات من قبل انزيم البروتيز .