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

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


اسماء صباح احميد | اكرم ثابت الراوي | طارق ناصر موسى

مدرس | استاذ مساعد | استاذ مساعد

قسم علوم الاغذية-كلية الزراعة-جامعة بغداد



**المستخلص**

درست الظروف المثلى لانتاج الدكستران من عزلة محلية *Leuconostoc mesenteroides* والتي شملت المصدر الكربوني والمصدر النتروجيني 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 للكاربون في وسط الانتاج والتربتون، الببتون، متحلل الخميرة الحراري، كبريتات الامونيوم، نترات الامونيوم، كلوريد الامونيوم، نترات الصوديوم كمصادر للنتروجين. استخدمت مستويات لقاح ($1\times10^3$، $1\times10^4$، $1\times10^5$، $1\times10^6$، $1\times10^7$، $1\times10^8$)خلية/مل من وسط التخمر. تم اختيار درجات حرارية مختلفة هي 10و 25 و 30 و35 و40 م، اما مدة التخمر فكانت (24 و 48 و 72 و96) ساعة وبالنسبة للاس الهيدروجيني فكان (8،7،6.5،6،5). 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 $1\times10^6$ 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 MESENTEROIDES*) AND ITS UTILIZATION IN SOME FOOD APPLICATION

## 2-STUDING OPTIMUM CONDITIONS FOR DEXTRAN PRODUCTION FROM *LEUCONOSTOC MESENTEROIDES*


**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 1x$10^6$ 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, Dextransucrase enzyme.**


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

**المقدمة**

يعد الدكستران(Dextran) من السكريات العديدة المتجانسة (homopolysaccharide) اذ يتكون من عدة وحدات من الكلوكوز ترتبط مع بعضها بأواصر كلايكوسيدية من نوع α1,6 وتشكل أكثر من 50% من مجموع الارتباطات مع وجود ارتباطات متفرعة بأواصر كلايكوسيدية من نوع α−1,3 و α −1,4 او α−1,2 (24). يعتمد التركيب الكيميائي الدقيق للدكستران على نوع السلالة الميكروبية المنتجة له ونوع الأنزيم(Dextransucrase) الذي يسهم في تخليقه ومن أهم الأجناس الميكروبية المنتجة هي *Leuconostoc Lactobacillus, Streptococcus,* *Saccharomyces* كما يختلف انزيم extransucrase تبعا لنوع الكائن المجهري المنتج له اذ يكون من نوع الانزيمات الدائمية(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 الحاثة لانتاج انزيم دكستران سكريز والمستعمل في تخليق الدكستران(34،22)، وكذلك تتباين مصادر النتروجين المستعملة لانتاج 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 الببتون ومستخلص الخميرة معا كان الافضل في انتاج 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 في هذا الشان (30,31) والذين أكدوا ان استعمال هذين النوعين معا كان الأفضل لانتاج الدكستران unique (dextran) باستعمال كل من( *Lm* , *Lm* AB326298 CMG 713 لذا )، كما درست مصادر نتروجينية اخرى كالببتون (14) والتربتون (9)، فيما استعمل Kocharin وجماعته (16) عدة مصادر نتروجينية في انتاج الدكستران منها مستخلص المالت، الببتون ومستخلص الخميرة باستعمال العفن *Ophiocordyceps dipterigena* BCC 2073 اذ وجد ان افضل مصدر نتروجيني لانتاج 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 35−30 ْ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 لانتاج الدكستران استعمل Shamala وPrasad (33) الاس الهيدروجيني الابتدائي7.2في وسط إنتاج الدكستران. أما Karthikeyan وجماعته (15) فقد أوضحوا أن أفضل اس هيدروجيني لإنتاج الدكستران كان8.3. وقد استعمل Faurie وجماعته (10) الاس الهيدروجيني الابتدائي6.5 في وسط تنمية البكتريا .لقد اجري هذا البحث بهدف تحديد الظروف المثلى لانتاج الدكستران والمتضمنة المصادر الكربونية والنتروجينية مع امكانية استغلال منتجات عرضية في انتاج الدكستران.

**المواد وطرائق:** تمت دراسة عدد من العوامل المؤثرة في انتاج الدكستـــــــران

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

**1-تحديد المصدر الكربوني الامثل:** 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 بتراكيز مختلفة (5،10،15،20،5 ،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 سكروز2–75 غم فركتوز:25غم سكروز 3 –50غم فركتوز: 50غم سكروز4–25غم فركتوز : 75غم سكروز5 –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 سكروز4 – 25 غم كلوكوز:75غم سكروز5– 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 (غم:غم) 1–100 غم مالت:0غم سكروز2 –75 غم مالت : 25غم سكروز 3 –50غم مالت: 50غم سكروز 4– 25 غم مالت: 75غم سكروز 5 – 0 غم مالت : 100غم سكروززز

**د** – عصير التمر

**ذ** – الشرش.

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

**3- تحديد حجم اللقاح الامثل** : استخدمت مستويات لقاح متدرجة من بكتريا *Lm* والمتمثلة بالمقادير $1\chi^{3}$ 10 ،$1\chi^{4}$ 10، $1\chi^{5}$ 10 ، $1\chi^{6}$ 10 ، $1\chi^{7}$ 10، $\chi^{8}$ 10 خلية/ مل من وسط التخمر.

**4-درجة الحرارة:** اجريت عملية التخمر لانتاج الدكستران بدرجات حرارية مختلفة شملت درجات الحرارة 10 ،25 ،30 ، 35، 40 مْ 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:**

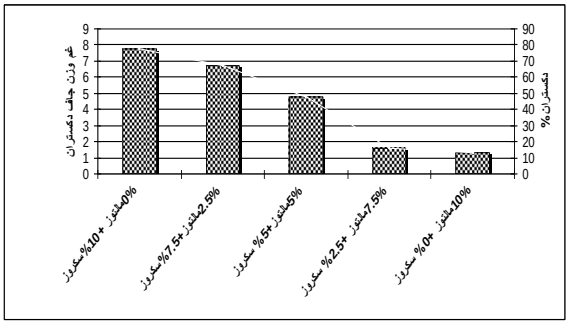
**1- المصدر الكربوني:أ-السكريات (السكروز، المالتوز، الفركتوز، الكلوكوز، سكرالمائدة):** يوضح الشكل (1) نتائج استعمال السكروز مصدرا كربونيا بتراكيز مختلفة (5 و10 و 15و20 و25 و30 %) في وسط التخمر العام والتي أعطت كمية دكستران بلغت 3.4، 7.2، 5.6، 4.7 ، 1.8، 0.77 غم كوزن جاف على التوالي، إذ تبين إن أفضل تركيز لإنتاج الدكستران كان باستعمال 10% سكروز وان زيادة تركيزه في وسط الإنتاج تسبب في خفض الإنتاج بمقدار84.2 % وقد يعزى سبب هذا الانخفاض إلى إن هذا التركيز من السكروز ربما يعمل في خفض وتثبيط فعالية إنزيم الدكستران سكريز والذي بدوره يؤثر سلبا في تخليق

الدكستران (15) ويتضح هذا جليا عند استعمال تركيز 20%، وتدعى هذه الظاهرة بالفعل المثبط للمادة الأساس (substrate inhibitory effect)، كما إن الزيادة في تركيز السكروز يرافقها زيادة ملحوظة في ريولوجية وسط التخمر والذي ينعكس بدوره سلبا على عملية الإنتاج ومنها على سبيل المثال صعوبة فصل الخلايا لاحقا 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 السكروز إلى ضعف مقدرة البكتريا قيد الدراسة في تحمل الضغوط الازموزية العالية والناتجة 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 السكروز بالمالتوز وبنسب 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 سكريز بل إن إضافة المالتوز إلى وسط التخمر تعدخ طوة محددة لتخليق الدكستران(26) وهذا ما أكده Santos وجماعته(28). يوضح الشكل(3)وجود تناسب عكسي بين زيادة تركيز الفركتوز وإنتاج الدكستران في وسط التخمر العام وان أعلى إنتاج للدكستران كان بغياب الفركتوز واقتصار الوسط على 10%سكروز اذ بلغت كميته 7.56غم كوزن جاف وهذا ما أكده Dols وجماعته(8) من ان استعمال السكروز يؤدي إلى إنتاج أعلى من الدكستران مقارنة بالفركتوز وذلك لان إنتاج الدكستران سكريز 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 السكروز وصولا الى افضل نسبة والمتمثلة ب 2.5% كلوكوز و 7.5% سكروز، اذ بلغت كمية الدكستران المنتجة 7.8غم كوزن جاف وبنسبة تحويل 78% وهذه النتيجة متوافقة مع ماذكره Hamdy وجماعته(12) في أن زيادة تركيز الكلوكوز إلى السكروز يؤدي إلى انخفاض كمية الدكستران 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 الدكستران4.3، 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 والناتجة عن استعمال مثل هذه المستويات من السكر.

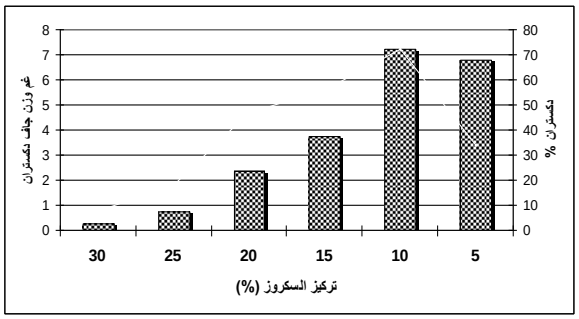
**ح–مستخلص المالت:** يوضح الشكل(6) إن أعلى إنتاج للدكستران كان عند تركيز مستخلص المالت : سكروز (2.5: 7.5%)، إذ بلغت قيمة الدكستران 5.8غم كوزن جاف. يعد مستخلص المالت من المصادر الكربونية والنتروجينية الغنية بالاحماض الامينية المتنوعة والفيتامينات والتي تعد عوامل نمو فضلا عن احتوائه على انزيمات الاميليز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

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

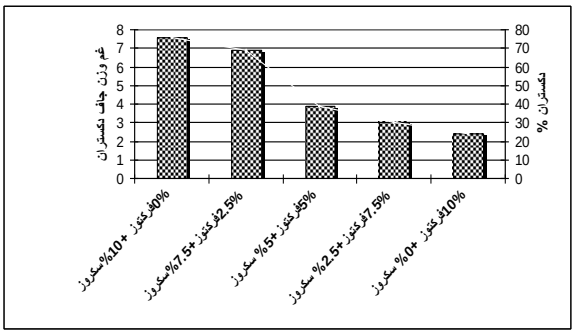
**د–عصير التمر:** وضح الشكل(8) إن إنتاج الدكستران يتناسب تناسبا طرديا مع الزيادة في تركيز السكروز المضاف الى عصير التمر(استخلاص حار) وقد يعزى إلى ندرة السكروز في عصير التمر وهو يعد المادة المحثة لإفراز إنزيم الدكستران سكريز(37) واحتوائه في الوقت نفسه على السكريات الأحادية والفيتامينات والأملاح المعدنية 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.



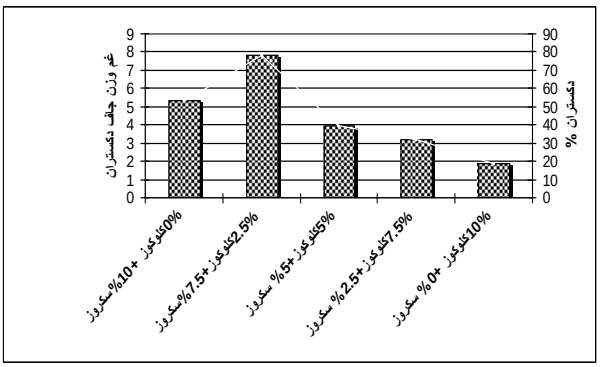

**شكل1 .تأثير تراكيز مختلفة من السكروز في انتاج الدكستران**



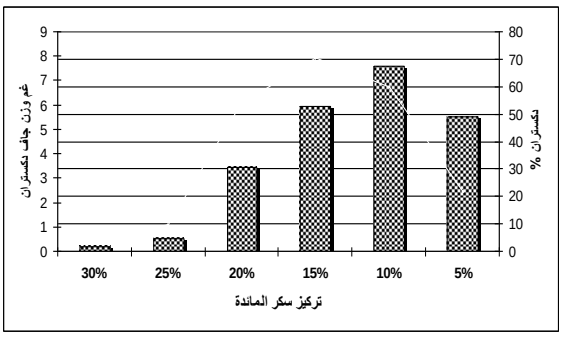

**شكل 2.تأثير استخدام تراكيز مختلفة من المالتوز في انتاج الدكستران.**




**.شكل3.تأثير استخدام تراكيز مختلفة من الفركتوز والسكروز في انتاج الدكستران**

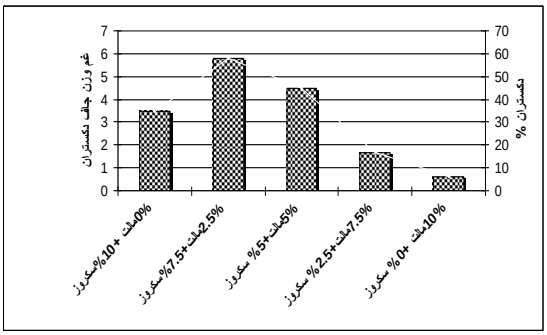



**شكل4. تأثير استخدام تراكيز مختلفة من الكلوكوز والسكروز في انتاج الدكستران**

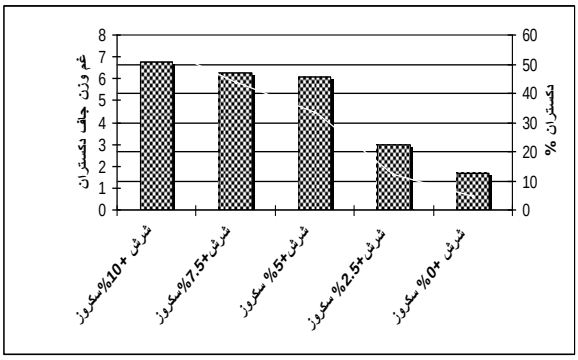



**شكل5. تأثير استخدام تراكيز مختلفة من سكر المائدة في إنتاج الدكستران.**

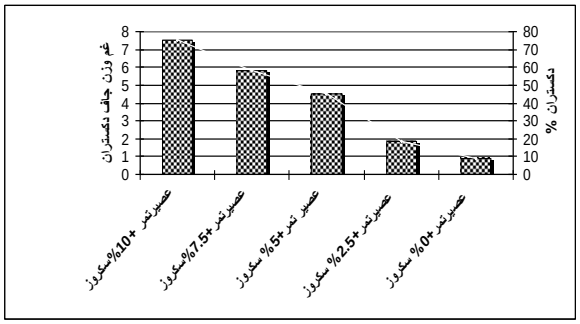
**2-المصدر النتروجيني:** تظهر النتائج في الشكل(9) تفوق مستخلص الخميرة والبيتون ومستخلص الخميرة الحراري على المصادر النتروجينية الاخرى المستعملة يليه كبريتات الامونيوم، نترات الامونيوم، التربتون، ونترات الصوديوم على الترتيب اذ بلغت كمية الدكستران المنتجة 6.68، 5.79، 5.62، 1.6، 0.74، 0.92 ،0.25، 0.09غم كوزن جاف على الترتيب.




**شكل6. تأثير استخدام تراكيز مختلفة من مستخلص المالت والسكروز في إنتاج الدكستران..**

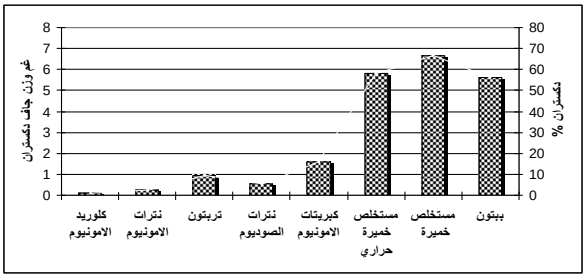



**شكل7. تأثير استخدام الشرش مع نسب مختلفة من السكروز في سكروز في إنتاج انتاج الدكستران**




**شكل8. تأثير استخدام عصير التمر مع نسب مختلفة من السكروز في إنتاج الدكستران .**

مما سبق نلاحظ تفوق المصادر العضوية على المصادر اللاعضوية (المستعملة في الدراسة الحالية) وربما يعود ذلك لكون المصادر العضوية اكثر تنوعا وغنى اذ تحتوي على حوامض امينية يمكن ادماجها في تركيبة البروتينات الخلوية مما يوفر الجهد و الطاقة المتطلبة 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 ان تستغل في عمليات النمو الأخرى ولكن عند دخول النواحي الاقتصادية في الحسبان يلاحظ ان استعمال المصادر اللاعضوية يكون أكثر اقتصادا ، فضلا عن كونها مصدرا للنتروجين و قد أكد ذلكAbedin وجماعته (4) في دراستهم لإنتاج الدكستران من بكتريا *Lactobacillus acidophilus* ST 7648001 و كانت نتائجهم مماثلة للنتائج.

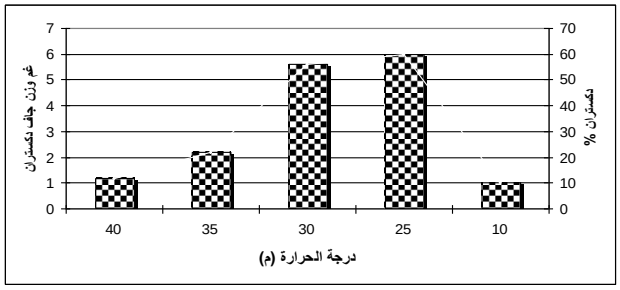



**شكل9. تأثير نوع المصدر النتروجيني في إنتاج الدكستران**

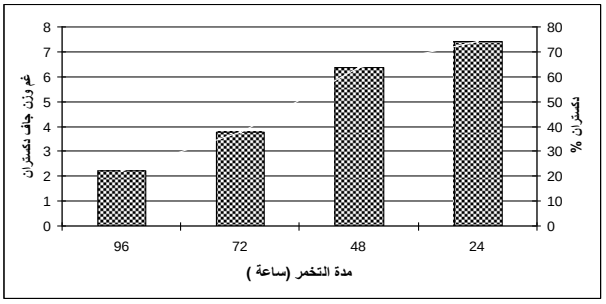
المستحصل عليها في الدراسة الحالية من ان الببتون و مستخلص الخميرة من أفضل المصادر النتروجينية العضوية للحصول على كمية جيدة من الدكستران المنتج و هذا يعود لاحتوائها على مجموعة لا بأس بها من الحوامض الامينية الاساسية و مدعمات النمو و الفيتامينات و الأملاح وبذلك تكون ذات جاهزية أعلى من المصادر اللاعضوية في وسط التخمر ومن ثم إنتاج أعلى من الدكستران وهذه النتائج مماثلة لما حصل عليه عدد من الباحثين (30،31).

**3-درجة حرارة التخمر:** يوضح الشكل (10) إن أفضل درجة حرارة لإنتاج الدكستران هي 25 مْ تليها درجة حرارة 30 مْ وانخفض إنتاج الدكستران بشكل ملحوظ بدرجة حرارة 10 مْ و40 مْ وقد اتفقت هذه النتائج مع عدد من البحوث من إن الدرجة الحرارية المثلى لإنتاج الدكستران من بكتريا *Lm* هي 25 مْ (33، 35 ،36 ،38 )، اذ تعد درجة الحرارة عاملا أساسيا ومؤثرا في النمو والفعاليات الحيوية للأحياء المجهرية وهي أيضا وسيلة أساسية للسيطرة على الفعاليات الايضية بشقيها الهدمي والبنائي خصوصا في الصناعات التخمرية (2) ويتطلب الحصول على إنتاج عال نسبيا من الدكستران في درجة حرارة 10مْ زيادة المدة الزمنية لعملية التخمر ويتوافق هذا مع ما حصل عليه Shamala وPrasad(33).

**4- مدة التخمر:** يظهر الشكل (11) ان افضل مدة تخمر لانتاج الدكستران من بكتريا Lm هي 24 ساعة. اذ بلغت كمية الدكستران المنتجة 7.3 غم لكل 10 غم سكر في حين انخفض الإنتاج بزيادة مدة التخمر وقد يعزى سبب هذا إلى إن نفاذ المواد الأساس في وسط التخمر وعلى وجه التحديد المصدر الكربوني وعلى كفاءة التحويل خلال هذه المدة ونوع طريقة التخمر المستخدمة في الإنتاج (2) اذ بلغت نسبة التحويل 73% وانخفضت هذه النسبة بعد48 ساعة لتبلغ 65,2، في حين وجدت الاسدي (1) ان افضل مدة تخمر لانتاج الدكستران من نفس البكتريا هي 48 ساعة اذ حصلت على 6,2غم دكستران. إن المدة اللازمة لإتمام التخمر وإنتاج الدكستران ترتبط بعدة عوامل منها: نوع العزلة المنتجة، درجة حرارة الحضن ،الاس الهيدروجيني النهائي، حجم اللقاح، تركيب وسط الإنتاج والتهوية(3).

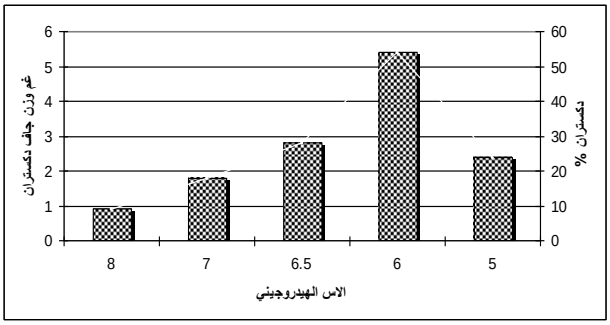



**شكل 10. تأثير درجة حرارة التخمر في إنتاج الدكستران**




**شكل11. تأثير مدة التخمر في انتاج الدكسترات.**

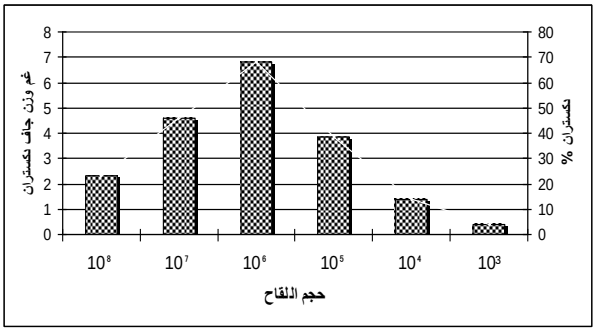
**5-الاس الهيدروجيني** تشير النتائج في الشكل (12) إلى إن امثل أس هيدروجيني لإنتاج الدكسترات من البكتريا *Lm* قيد الدراسة هو 6.0، إذ تم الحصول على إنتاجية للدكسترات تقدر بواقع 5,4 غم كوزن جاف، في حين انخفض الإنتاج بارتفاع وانخفاض الأس الهيدروجيني عن هذه القيمة وقد يعزى سبب هذا إلى إن الأس الهيدروجيني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




**شكل12. تأثير الأس الهيدروجيني في إنتاج الدكسترات.**

**6- حجم اللقاح الابتدائي.** استعملت مستويات مختلفة من حجم اللقاح في تلقيح وسط التخمر العام ودرس تاثيرها في انتاج الدكسترات للوقوف على حجم اللقاح الامثل في الانتاج، اذ يعد حجم اللقاح من العوامل المهمة في الإنتاج فكماهو معلوم فان أي عملية إنتاجية يجب التحكم في ظروف الإنتاج ومنها حجم اللقاح المستعمل وصولا إلى أعلى إنتاج فضلا عن تقصير مدة التطبع قدر الإمكان(3).

يشير الشكل (13) تزامن زيادة انتاج الدكسترات مع الزيادة في حجم اللقاح المضاف وصولا الى $1\times10^{6}$ خلية/ مل اذ بلغت كمية الدكسترات 6,8غم كوزن جاف، وقد حصل انخفاض واضح في الكمية المنتجة من الدكسترات عند استعمال مستويات منخفضة من حجم اللقاح ($1\times10^{5}$ خلية/ مل) من وسط التخمر اذ بلغت كمية الدكسترات المنتجة كوزن جاف 3.8 غم، ويمكن تفسير هذا الانخفاض ان حجم اللقاح المضاف قد يكون غير مناسب لحجم وسط التخمر مما يؤدي التاخير في وقت انتاج الدكسترات التي نحاول قدر المستطاع اختصارها لتلافي ظهور الطفرات وحدوث التغيرات والتلوث (2)، و حصل الامر ذاته عند استعمال حجم لقاح ($1\times10^{7}$ خلية/مل) اذ بلغت كمية الدكسترات 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 ايض البكتريا و من ثم انخفاض في انتاج الدكسترات وذكرت الخفاجي (3) ان حجم العملية الانتاجية ونوعها هو الذي يحدد حجم اللقاح المستعمل، اذ ان حجم اللقاح يجب ان يكون بكمية كبيرة تناسب حجم الوسط الغذائي المعد للتخمر بهدف التقليل من وقت التاخير في بدء الانتاج.




**شكل13. تأثير استخدام مستويات مختلفة من حجم اللقاح في إنتاج الدكسترات.**

## REFERENCES

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

2.Al-Haedery, N.K. A and R. M.Al-Mosleh.1989. Industerial 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.Optimizationand statis - tical evaluation of medium component affecting dextran and dextran sucrase 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. Micro-biology, Vol.18, pp:1-44 (Bushel M.E. ed.) Elsevier, London .UK

6.Bailey,R.W.; S.A. Barker , E. ; Boourne; M. Stacey,and O.Theander,1957. Immuno-polysaccharides. 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 conse-quences 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 mesenteroid* 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 Determin-ative of 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 production. Bioprocess Engineering, Vol. 15, pp: 247-251.

16.Kocharin,K. ; P. Rachathewee , J. Sanglier, and W. Prathumpai, 2010.Exo –bioplymer 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 syn-thesis using immobilized Leuconostoc mesenteroides

dextransucrase. 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 : dextransucrase and dextran: production, properties and applications. J. Chem. Technol. Biotechno .80:845- 860.

25.Nam, S. H.2008. Maximization of dextransucrase 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 dextransucrase 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 andfructose from carob pod extract and cheese whey by *Leuconostoc mesentrroides* 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 mesentroides* CMG 713 . Int . J. Biol. Sci. 4(6) : 379-386

.31.Sawale , S.D. and S.S. Lele ,2010. Statistical optimjzation 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. Carbohyder . Chem. Biochem. 222:739 – 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. Biotechnolo. 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.; Benmechernene, 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.Microbio l.Res .6(13):3192-3201.

41.Zhang,H.B.; C.B. Zhu, and Y.J. Hu, 2008.Construction and culture conditions of dextransucrase secreting engineered strain Acta. Microbiol.Sci.48:492-497