

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

### ١- عزل وتشخيص بكتريا *Leuconostoc mesenteroides*

\*اسماء صباح احميد      اكرم ثابت الراوي      طارق ناصر موسى

مدرس      استاذ مساعد      استاذ مساعد

قسم علوم الاغذية/كلية الزراعة/جامعة بغداد

### المستخلص

عزلت بكتريا *Leuconostoc mesenteroides* المنتجة للدكستران الخارجي من مخلل الالهانة Sauerkraut وذلك بزرعها على وسط الصلب MRS الصلب الحاوي على ١٠% سكروز فظهرت مستعمرات بيضاء لزجة وتم تشخيصها وفق المفاتيح التصنيفية المعتمدة ، اذ ظهرت بشكل بكتريا موجبة لصبغة كرام ، ذات نهايات مستديرة بشكل ازواج وغير مكونة للابواغ ، وعند تنميتها في وسط Nutrient broth الحاوي على ١٠% سكروز ظهر نمو كثيف واصبح الوسط لزجا بعد ١٨-٢٠ ساعة اجريت عدد من الاختبارات الزرعية والكيموحيوية لتشخيص البكتريا اذ خمرت العزلة جميع السكريات ويعد تخمير سكر الارابينوز ( arabinose ) واختبار اختزال اللثموس يصنفها إلى *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* .

**Key words:** dextran, Dextranucrase, *Leuconostoc mesenteroides*

## المقدمة

يعد الدكستران (Dextran) من السكريات العديدة المتجانسة (homopolysaccharide) اذ يتكون عدة وحدات من الكلوكون ترتبط مع بعضها بأواصر كلايكوسيدية من نوع  $\alpha 1,6$  وتشكل أكثر من ٥٠% من مجموع الارتباطات مع وجود ارتباطات متفرعة بأواصر من نوع  $\alpha 1,3$  و  $\alpha 1,4$  أو  $\alpha 1,2$  .  
يعتمد التركيب الكيميائي الدقيق للدكستران على نوع السلالة الميكروبية المنتجة له ونوع الأنزيم (Dextranase) الذي يسهم في تخليقه ومن أهم الأجناس البكتيرية المنتجة هي:

*Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Saccharomyces* ، كما يختلف انزيم dextranase تبعاً لنوع الكائن المجهرى المنتج له اذ يكون من نوع الانزيمات البنائية (constitutive enzyme) في سلالات بكتريا *Streptococcus* بينما يكون في سلالات بكتريا *Leuconostoc* من الانزيمات المستحثة (inducible enzyme).

يدخل الدكستران في عدد من الصناعات الغذائية فضلا عن الصناعات الدوائية وعدد من المواد ذات الأهمية التجارية ، ومن الأحياء المجهرية المعروفة بإنتاجها للدكستران هي بكتريا *Leuconostoc mesenteroides* التي تتصف بان خلاياها ذات شكل كروي أو عدسي وعلى هيئة سلاسل قصيرة أو أزواج من الخلايا ، موجبة لصبغة كرام ، درجة الحرارة المثلى لنموها ٢٥-٣٠ م° ، من نوع متباينة الخمر (heterofermentative) .

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 ، وفي ضوء ذلك فقد تم تحديد أهداف هذه الدراسة بما يأتي : الحصول على عزلة محلية لبكتريا *Leuconostoc* منتجة للدكستران و دراسة كفاءة إنتاج الدكستران من العزلة المحصل عليها .

## المواد وطرائق العمل

### العزلات المستعملة في الدراسة :

استخدمت العزلات الآتية خلال الدراسة :

١- عزلة قياسية لبكتريا *Leuconostoc mesenteroides sp mesenteroides*

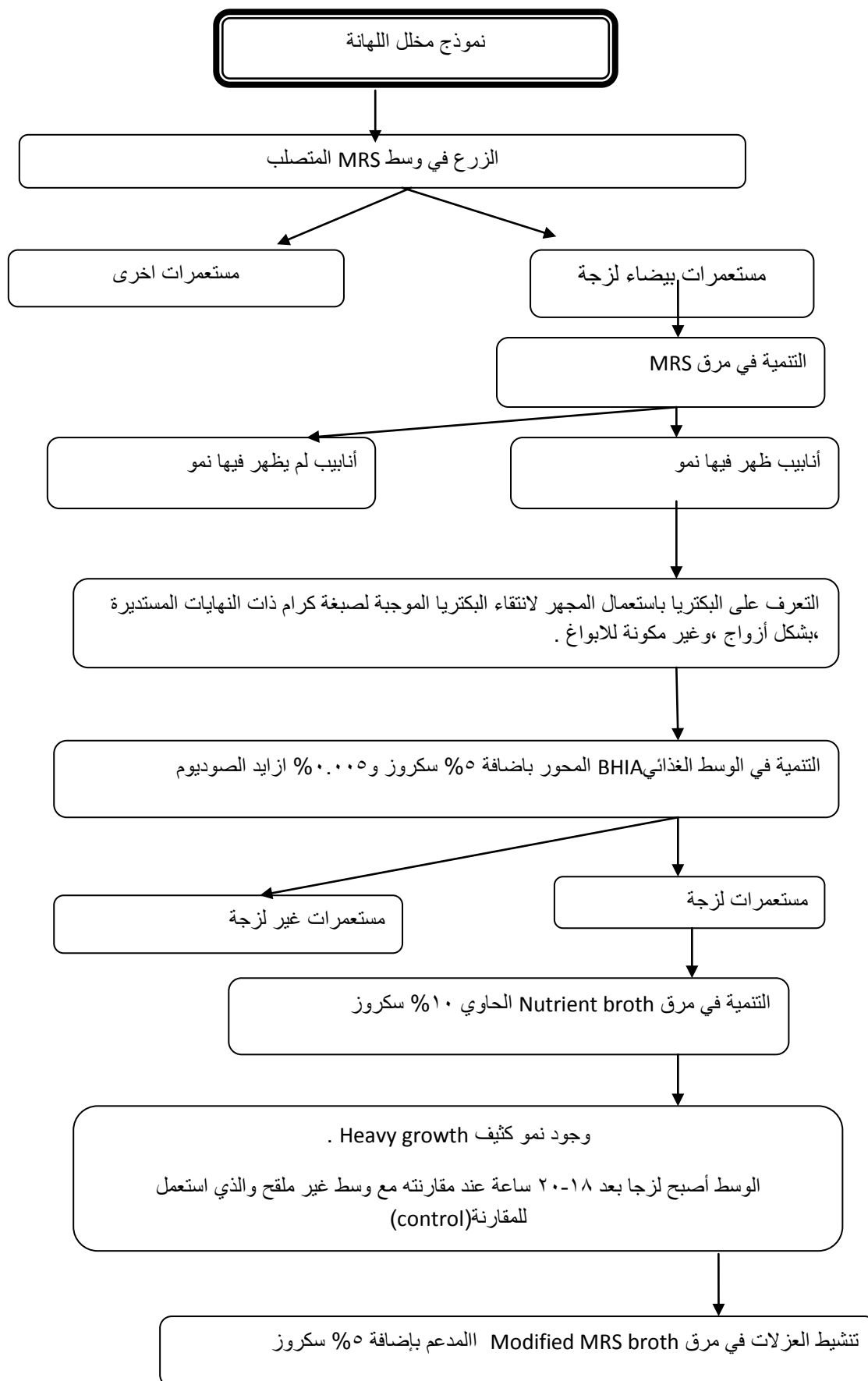
LMG 6893 والتي يقابلها ATCC8293 تم الحصول عليها من مختبرات collection /LMG bacteria BCCM<sup>Tm</sup> من جامعة GENT في بلجيكا

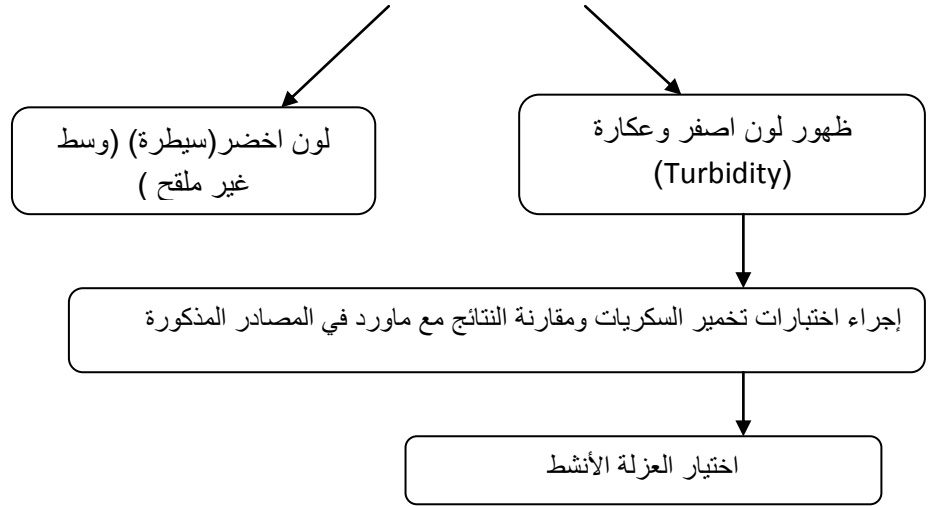
ب- عزلة محلية لبكتريا *Leuconostoc mesenteroides* تم الحصول عليها كما سيأتي ذكره لاحقا :

استخدم مخزل اللهانة Sauerkraut كمصدر لعزل البكتريا حيث قطعت الأوراق البيضاء من اللهانة *Brassica (oleracea var. capitata)* إلى شرائح بعد غسلها بالماء ثم وضعت في حاوية زجاجية معقمة وأضيف إليها ملح الطعام بنسبة ٢.٢٥% وذلك برشه بشكل متجانس على الأوراق المقطعة ثم جرى كبسها وذلك بتسليط ضغط بهدف خروج العصارة لتغطية سطح الأوراق ثم أعيد غطاء الحاوية وتم غلقها بصورة جيدة وتركت في الحاضنة بدرجة حرارة ٧ م لمدة ٢ يوم تخللها اخذ نماذج عن طريق سحب ١ مل من العصارة وزرعها في الوسط ( Pundir, and Jain, 2010) .

### خطوات عزل البكتريا *L.mesenteroides*

اتبعت الخطوات المبينة في الشكل رقم ١ لعزل وتشخيص بكتريا *Lm* من مخلل اللهانة . الشكل يبين خطوات عزل وتنقية بكتريا *Lm* من مخلل اللهانة





### الفحوصات التشخيصية

شخصت البكتريا المتحصل عليها على أنها *Leuconostoc mesenteroides* بدراسة صفاتها الشكلية وإجراء الاختبارات الكيموحيوية وفقا للمفاتيح التصنيفية المذكورة في المراجع العلمية المتخصصة (Holt, etal;1994).

### الصفات المظهرية (Morphological Characteristics)

سجلت الصفات المظهرية للمستعمرات النامية على كل من وسط BHIA ووسط MRS المحور من حيث شكل المستعمرات، حجمها، لونها، حافتها، ارتفاعها وقابليتها على إنتاج الدكستران من خلال تكون المستعمرات بشكل mucoid.

### الفحص المجهرى (Microscopic Examination)

أجري الفحص المجهرى لخلايا المستعمرات المعزولة بعد تصبيغها بصبغة كرام للتعرف على شكل الخلايا البكتيرية ونوعها بعبارة أخرى تفاعلها مع صبغة كرام (Cowan, and Steel; 1975).

### الاختبارات الكيموحيوية (Biochemical Tests)

اختبرت المستعمرات البكتيرية التي لها القابلية على إنتاج الدكستران والتي أظهرت صفات مقارنة لصفات بكتريا *Leuconostoc* وأجريت عليها الفحوصات الآتية لتحديد جنس البكتريا ونوعها وفقا للمفاتيح التصنيفية والتشخيصية والواردة في Bergey's Manual, 1986 : - إنتاج الحامض من الكربوهيدرات (Hardie, 1986) ،-فحص إنزيم الكاتاليز (Zarour,etal;2012) ، استهلاك السترات (Collee,etal;1996) ،تأثير درجات الحرارة على نمو البكتريا ، النمو عند 055 م لمدة 15 دقيقة وعند 060 م لمدة 30 دقيقة (Facklam,etal;1986) ، النمو في تركيز 3% و6.5% كلوريد الصوديوم (Facklam,etal;1986) ، النمو في وسط اللثوموس (Holt,etal;1994) و إنتاج الدكستران (Samelis,etal;1994) .

### الفحوص التأكيدية للبكتريا

تم إجراء فحص تأكيدي للصفات المظهرية (الشكل ، اللون) للمستعمرات النامية على الوسط BHI المدعم بالسكروروز كما درست قابليتها في إنتاج الدكستران من خلال ملاحظة صفة النمو اللزج عند نموها في الوسط المذكور آنفا. قورنت البكتريا المعزولة محليا مع بكتريا قياسية .