مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية
Journal of Misurata University for Agricultural Sciences
المجلد الخامس العدد الأول يونيو 2024
ISSN 2708-8588

استخلاص إنزيم الانفرتيز من بعض النباتات ذات الجذور التخزينية ودراسة بعض خواصه

*هدى محمد كندي، مروة العريق، نجاة عاشور، مودة احدود ، علياء الذويبي
قسم علم النبات، كلية العلوم/ الجامعة الأسمرية ،ليبيا
*h.kondi@asmarya.edu.ly

استلم البحث بتاريخ 2023/03/29م اجيز البحث بتاريخ 2024/1/31 نشر البحث بتاريخ 2024/2/4

الملخص

هدَفَ هَذَا البحث إلى استخلاص إنزيم الانفرتيز من الجزر واللفت والفجل الموجود في السوق المحلي وتحديد بعض خواصه ، تم تحضير المستخلص الخام باستخدام عصارة كهربائية وللتخلص من الرواسب أجري الطرد المركزي للعصير بسرعة 4000دورة /دقيقة لمدة 15 دقيقة، و باستخدام محاليل و معادلات خاصة قدرت الفعالية الإنزيمية للإنفرتيز في النباتات الثلاث وقد أظهر مستخلص الجزر أعلى نشاطا إنزيميا (28.8 وحدة/مل) لذلك تم اختيار نبات الجزر ليكون النبات قيد الدراسة لتوصيف خصائص الانفرتيز، وقد أوضحت هذه الدراسة أن الأس الهيدروجيني الأمثل لفعالية الانفرتيز هو (6 pH) و درجة الحرارة المثلى لعمل الإنزيم هي (35م)، و قد أظهر إنزيم الانفرتيز ثبوتا حراريا عند درجة (60م)حتى بعد 15 دقيقة ثم انخفضت الفعالية الإنزيمية، ومن خلال هذه الدراسة تبين أنه لا يمكن لإنزيم الانفرتيز أن يحتفظ بفعاليته عند تخزينه في درجة حرارة الغرفة لأكثر من 5 أيام.

الكلمات المفتاحية: الانفرتيز ، الجزر ، السكروز ، الجذور التخزينية ، الفعالية الإنزيمية.

1. المقدمة

الإنزيمات

الإنزيمات هي عوامل مساعدة حيوية ذات طابع غروي وتتميز بكونها بروتينات طبيعية تتشكل داخل الكائنات الحية نتيجة للعمليات الخلوية. تعمل هذه الإنزيمات بشكل مستقل وتشكل أساسًا حيويًا يعتمد عليه الحياة، حيث تلعب دوراً حاسماً في عمليات الهضم والتمثيل الغذائي وعمليات التنفس في الخلايا، بالإضافة إلى تنظيم تقلص العضلات. تُعتبر هذه العمليات الفسيولوجية المختلفة أمثلة حية على الاعتماد الكامل على فعالية الإنزيمات في دعم الحياة..

كما أن الإنزيمات متكونة من سلاسل من الأحماض الأمينية، فهي تعتبر من المركبات غير الثابتة والتي تفقد فعالياتها بعد التغير في صورتها الطبيعية شأنها في دلك شأن البروتينات ويتم تحديد وظيفة الأنزيم حسب تسلسل الأحماض الأمينية وأنواع الأحماض الأمينية في تلك السلسلة وشكل السلسلة (جاسم،2017).

معظم الإنزيمات لا تموت بعد القيام بعملها ويمكن استخدامها بشكل متكرر، العديد من الأدوية والسموم تعمل كمثبطات للإنزيمات ومنها سموم الثعابين، يتم استخدام الإنزيمات في التطبيقات الصناعية مثل الصناعات الغذائية وصناعة الورق والمنظفات.

ترتبط العديد من الإنزيمات الخاصة بالأيض الخلوي مع عضيات الخلية، وعلى الأرجح فإن أعلى التركيزات من الإنزيمات توجد في الميتوكندريا والبلاستيدات، فجميع إنزيمات دورة كربس وهي الإنزيمات التي تقوم بالأكسدة الكاملة لحمض

البيروفيك موجودة في الميتوكندريا، بالإضافة إلى إنزيمات النقل الالكتروني والتي ينتج من خلالها جزيئات ATP، أما البلاستيدات وتحديدا الخضراء منها فتحتوي على جميع الإنزيمات الضرورية لتثبيت ثاني أكسيد الكربون من خلال عملية البناء الضوئي ضمن الحشوة بالإضافة إلى الإنزيمات اللازمة لتخليق الصبغات، أما السيتوبلازم فيحتوي على كميات وافرة من الإنزيمات حيت توجد جميع أنزيمات التحلل السكري وأنزيمات التحلل المائي وأنزيمات أخرى (**سلوم و خليفة،2015**).

إنزيم الانفرتيز *Invertes Enzyme*

يستعمل الانفرتيز EC.3.2.1.26 , B-Fructofuranosidases لتفكيك جزيئه السكروز غير العكسي إلى جلوكوز وفركتوز ويعد هذا الإنزيم واحدا من الإنزيمات المفتاحية والذي يلعب دورا حيويا مهما في أيض السكروز(Marouf and Zeki, 1982) لتجهيز الأنسجة النامية بالسكريات سداسية الكربون (hexoses) مصدر للطاقة والكربون لادامة نمو الخلية وتطورها (Rhman et al., 2001).

تحوي النباتات الراقية عموما على مجموعة من إنزيمات الانفرتيز الموجودة بشكل دائمي تكون معظمها من نوع البيتا – فركتوسايدو– انفرتيز وبذلك تظهر تخصصا مشابها لتخصص إنفرتيز الخميرة (عبدالرحمن و عودة،2010)، تصنف إنزيمات الانفرتيز النباتية حامضية ومتعادلة وقاعدية اعتمادا على قيمة الأس الهيدروجيني لأقصي فعالية ومعظم هذه الإنزيمات التي توجد في أنسجة النباتات تكون من النوع الخارج خلوي أو بحالة ذائبة (Dahot and Noomrio, 1996).

يكون الانفرتيز الحامضي أما بروتين ذائب في الحويصلة أو مرتبط أيونيا مع جدار الخلية ويتراوح الأس الهيدروجيني الأمثل لفعاليته بين 4.5 إلى 5.5 .يعد الإنزيم الحامضي مهم لنمو النباتات وقد أُقترح أيضا انه يشترك في تنظيم النفاذية ورد فعل النباتات للإصابة أو الجروح (Ungez et al., 1994) ، توجد فعالية الانفرتيز الحامضي بشكل أساس في أعضاء النباتات غير الناضجة وتنخفض بسرعة مع تراكم السكروز عند النضج.

اما إنزيمات الانفرتيز المتعادلة أو القاعدية فهي ببتيدات متعددة سايتوبلازمية وقد أشارت البحوث إلى ارتباطها بالأنسجة الناضجة وأن وظيفتها هي تحليل السكروز في سايتوبلازم الخلايا، وقد بينت الدراسات الحديثة وجود إنزيمات الانفرتيز متعادلة وقاعدية ومتناظرات مختلفة من إنزيمات الانفرتيز الحامضية في نفس النسيج النباتي (Lee and Sturm, 1996).

للإنفرتيز دور مهم جدا في التصنيع الغذائي ويستخدم لإنتاج شراب سكري مركز يحتوي علي السكريات المختزلة والذي تكون درجة حلاوته أعلى من السكروز نفسه وللسكريات الأحادية الناتجة بفعل الانفرتيز درجة ذوبان عالية ولهذا أهمية كبيرة حيث لا تتبلور عند وجودها بتراكيز عالية (دلالي، 1982).

مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية

Journal of Misurata University for Agricultural Sciences

المجلد الخامس العدد الأول يونيو 2024

ISSN 2708-8588

إنزيم الانفرتيز يقوم بتحويل السكروز إلى جلوكوز و فركتوز، و أن زيادة معدل تراكم السكريات المختزلة في أثناء النضج تشير إلى فعالية إنزيم الانفرتيز، ففي دراسة قام بها (Sakri *et al*., 1975) حول العلاقة بين فعالية إنزيم الانفرتيز و تحلل السكروز في ثمار نخيل التمر صنفي الزهدي و الساير العراقي، وجد أن هناك ثلاثة أنواع من إنزيمات الانفرتيز، اثنان منها قابلة للاستخلاص بالمحاليل المنظمة و آخر غير قابل للاستخلاص بالمحاليل المنظمة أو العضوية أو الملحية، و قد سمي الإنزيم الأخير بالإنزيم الملتصق لوجوده ملتصقا بجدران الخلايا،أما (محمد،1977) فقد وجد بأن التغيير في فعالية إنزيم الانفرتيز في أثناء مراحل النمو و التطور و النضج تتبع سرعة تراكم السكروز، و أن أقصى فعالية وصلها الإنزيم تزامنت مع أعلى مستوى السكروز.

قد ترتبط فعالية الانفرتيز في النباتات بالمحتوى المائي حيث بين (Kanner *et al*., 1978) أن فعالية إنزيم الانفرتيز في ثمار النخيل صنفي الخضراوي و دقلة نور ترتبط بمحتوى الثمار من المحتوى المائي في أثناء مرحلة الخلال و أن العلاقة بينهما طردية، كما أكد على علاقة فعالية الإنزيم بتراكم السكريات المختزلة ، و تحوي النباتات الراقية عموما على مجموعة من إنزيمات الانفرتيز الموجودة بشكل دائم (Lee and Sturm, 1996) تكون معظمها من نوع البيتا-فركتوسايدو-انفرتيز و بذلك تظهر تخصصا مشابها لتخصص انفرتيز الخميرة (دلالي،1982).

كما و أكد (محي الدين وآخرون،2012) أنه يمكن استخلاص إنزيم الانفرتيز من بعض أنواع الخمائر ، حيث بين من خلال بحثه أن خمس عزلات من جنس *Candida sp* تميزت بقابليتها على إنتاج الإنزيم وقام بدراسة الظروف المثلى لإنتاج الانفرتيز من هذه الخمائر،كما و أكد (يازجي وآخرون،2014) على أنه يمكن استخلاص الانفرتيز من بعض أجناس الخمائر وتفوق النوع *Saccharomyces cerevisiae* في إنتاج الانفرتيز عن غيره من الأنواع التي شملتها تلك الدراسة.

السكروز

يتكون من إرتباط جزيء الجلوكوز مع جزيء الفركتوز برابطة جلايكوسيدية (1.2α) ويكون هذا الإرتباط بين مجموعة الألدهيد في الجلكوز(C1) مع الفركتوز(C2) لذلك لاتوجد أي مجموعة كربونيل حرة فعالة لذلك يفقد السكروز الصفة الاختزالية أي أنه سكر غير مختزل (سحر و الفاهوم،2009)، ويصاحب التحلل المائي للسكروز حدوث تغير في التحلل الضوئي من اليمين إلى اليسار ولذلك يسمي السكروز المحلل مائيا بالسكر المحول ويسمي الإنزيم المائي α-D-glucosidase أو إنزيم invertes.

ISSN 2708-8588

الجذور التخزينية

❖ الجزر *Daucus carota*

هو من محاصيل الخضر الشتوية المهمة والذي يمكن زراعته خلال السنة فهو عشب حولي ولكن غالبا ما يظهر في الشتاء، والجزر ذو قيمة غذائية مهمة فهو مصدر لفيتامين A ومصدر غني بالهيدروكربونات الذائبة في الدهون و يحتوي على الكربوهيدرات بنسبة 10.7% وتتألف من النشا والسكروز فضلا عن سكريات أحادية كالجلوكوز وجذوره تخزن السكروز بشكل رئيس، يمتاز الجزر برخص ثمنه وسهولة إنتاجه وطول مدة تخزينه إذ أشير إلى إمكانية تخزينه بعد إزالة القمم لأكثر من 5 أشهر بدون فقد النوعية أو الكمية (**عبد الرحمن وعودة، 2010**).

❖ الفجل *Raphanus sativus*

الفجل هو أحدُ الخضروات الجذريّة التي يتم تناولها في جميع أنحاء العالم، وهو يحمل الإسم العلميّ *Raphanus sativus*، وينتمي لعائلة الصليبيّات Brassicaceae ، وهو من الخضروات المستخدمة منذ القدم، حيثُ منحها الإغريقيّون القدماء شأناً عالياً فوق كلّ الخضروات الجذريّة، كما أنّه كان شائعاً لدى المصريّين القدماء وفي روما القديمة،ويمنح تناول الفجل الكثير من الفوائد الصحيّة حيث أنه يعتبر مفيداً في حالات مشاكل الكبد والمرارة ويستخدم الفجل لعلاج الصداع والأرق والإسهال المزمن، يستعمل الفجل كعلاج بديل في العديد من الحالات الصحيّة، مثل السرطان، ومرض نقص المناعة المكتسبة، والعديد من اضطرابات المناعة الأخرى وغيرها من الحالات يحتوي الفجل على العديد من المركبات متعدّدة الفينول ، كما أنّه يحتوي على كميّات عالية من مركبات الكاتيكين(الموسوي،1987) .

❖ اللفت *Brassica rapa*

يعتبر اللفت من الخضراوات الجذرية، والتي تنمو بشكل كبير في المناطق التي تسود فيها الأجواء المعتدلة، مثل حوض البحر الأبيض المتوسّط، حيث يتمّ استخدامه بكثرة في العديد من المطابخ العالميّة والعربيّة، ولكن ما قد يجهله البعض هو أنّ اللفت يحتوي على العديد من المواد الغذائيّة المفيدة لصحّة الإنسان، فهو يعمل على تنشيط الجهاز الهضمي وعلاج المشاكل والاضطرابات التي قد تصيبه مثل عسر الهضم والإمساك، وانتفاخ البطن بالغازات ، التأخير من ظهور علامات التقدّم في السنّ والتي تكون على شكل تجاعيد على الوجه واليدين، وذلك بسبب احتوائه على كميات كبيرة من المواد المضادّة للأكسدة، والوقاية من الإصابة بأمراض السرطان والأورام الخبيثة وذلك بسبب محاربته للجذور الحرّة والتي تعتبر المسبّب الرئيسيّ لهذا المرض، التقليل من نسبة الدهون الثلاثية والكولسترول الضارّ في الدم الأمر الذي من شأنه الوقاية من الإصابة بأمراض عديدة وخطيرة مثل تصلب الشرايين والنوبات القلبية بالإضافة إلى السكتات الدماغية (**جبر وآخرون، 2001**).

مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية
Journal of Misurata University for Agricultural Sciences
المجلد الخامس العدد الأول يونيو 2024
ISSN 2708-8588

2. مواد وطرق العمل

مصدر إنزيم الانفرتيز

تم استخدام ثلاث نباتات ذات الجذور التخزينية وهي الجزر *Daucus carota*، اللفت *Brassica rapa*، الفجل *Raphanus raphanisturm* و ذلك لاختيار المصدر الأمثل لإنزيم الانفرتيز ؛ حيث تم شراء هذه النباتات من السوق المحلي لمدينة زليتن في ربيع 2018، حيث تم اختيار الجذور الخالية من الأعطاب و الأمراض الفطرية وتم تنظيفها من الأتربة و الشوائب .

وبعد عملية التنظيف تم تحضير المستخلص الخام لكل نوع من النباتات المستخدمة و ذلك باستخدام عصارة كهربائية للحصول على عصير الجزر و للتخلص من الرواسب أجري الطرد المركزي للعصير بسرعة 4000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة وبعد جمع الراشح قدرت الفعالية الإنزيمية للانفرتيز في النباتات الثلاث لاختيار المصدر الأمثل للإنزيم (عبد الرحمن و عودة،2010).

المحاليل المستخدمة في هذه الدراسة

1. محلول 2 مولاري منظم الفوسفات(pH7) حضر المحلول وفقا للطريقة الموضحة من قبل (Chrostian,1980).
2. محلول السكروز 0.1 مولاري حضر وفقا للطريقة المتبعة من قبل (الطه و آخرون،2013).
3. محلول DNSA ، حضر المحلول وفقا للطريقة الموضحة من (Taya *et al.*, 1985)؛ ثم استخدمت هذه المحاليل لتقدير الفعالية الإنزيمية لإنزيم الانفرتيز وفقا لما أوضحه (الطه وأخرون, 2013).
4. محلول الخلات المنظم بقيم أس هيدروجيني(5، 5.5، 6) ومحلول الفوسفات المنظم بقيم أس هيدروجين (6.5, 7، 7.5، 8) بتركيز 0.1 مولاري (عبد الرحمن وعودة،2010).

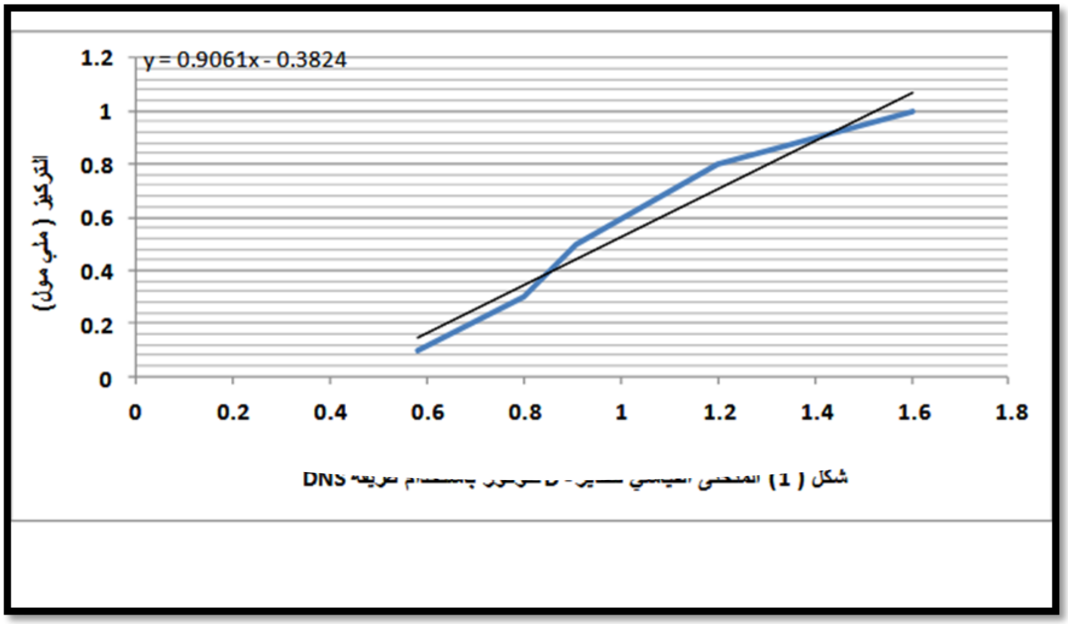
من الجدير بالذكر أنه تم تحضير هذه المحاليل بمعمل قسم الكيمياء، كلية العلوم الجامعة الأسمرية.

الطريقة المستخدمة لتقدير فعالية الانفرتيز

تم اختبار فعالية إنزيم الانفرتيز بأخذ 5 مل من محلول السكروز و هي مادة التفاعل لإنزيم الانفرتيز في أنبوبة اختبار و حضنت لمدة 5 دقائق عند درجة حرارة 35مْ، أضيف بعد ذلك إلى كل أنبوبة 0.5 مل من المستخلص الخام وبعد رج الأنابيب جيدا وضعت في حمام مائي عند درجة حرارة 35مْ وتركت لمدة 20 دقيقة، بعدها أضيف لكل أنبوبة 0.5 مل من محلول الاختبار DNSA، ثم تبرد الأنابيب بالماء البارد وثم تسجل القراءات لكل عينة في جهاز المطياف Spectrophotometerعند طول موجي 540 نانوميتر، بنفس الطريقة تم تحضير محلول الضبط أو المحلول الصفري Blank إذ أضيف 0.5 مل من محلول الفوسفات المنظم بدل من المستخلص الخام. وتعرف وحدة الفعالية الإنزيمية

مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية
Journal of Misurata University for Agricultural Sciences
المجلد الخامس العدد الأول يونيو 2024
ISSN 2708-8588

بأنها مقدار الإنزيم الذي يتسبب في تحرير مايكرومول واحد من السكريات المختزلة من السكروز في الدقيقة الواحدة تحت ظروف التجربة (الطه و أخرون،2013) ، وقد تم الرجوع إلى المنحنى القياسي الذي رسم باستخدام تراكيز معلومة من الجلوكوز تتراوح مابين 1-3مل مول كما في (الشكل.I) وباستخدامه حسبت السكريات المختزلة في العينات (الطه وأخرون،2013).



(شكل.I) المنحنى القياسي لتقدير الجلوكوز باستخدام طريقة **DNSA**

تعيين الأس الهيدروجيني الأمثل لفعالية الإنزيم

تم تقدير الأس الهيدروجيني الأمثل لفعالية إنزيم الانفرتيز في قيم أس هيدروجينية مختلفة (5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, و pH 8) باستخدام المحاليل المنظمة بتركيز 0.1 مولاري وفقا للطريقة المتبعة من قبل (El-Shora *et al.*, 2016) في تقدير الأس الهيدروجيني الأمثل لبعض الإنزيمات، ثم تم قياس الفعالية الإنزيمية عند كل أس هيدروجيني لتعيين الأس الهيدروجيني الأمثل لنشاط الإنزيم.

تعيين درجة الحرارة المثلى لفعالية الانفرتيز

تم تقدير درجة الحرارة المثلى لفعالية إنزيم الانفرتيز في مدى درجات حرارة مختلفة مختلفة(25،30،35،40،45،50،55،60 مْ) باستخدام الحمام المائي وفقا للطريقة المتبعة من قبل (عبد الرحمن و عودة،2010) ثم تم قياس الفعالية الإنزيمية عند كل درجة حرارة لتعيين الدرجة الأمثل لنشاط الإنزيم.

تعيين الثبات الحراري للإنفرتيز

تم تقدير الثبات الحراري لفعالية إنزيم الانفرتيز عند درجة حرارة60مْ لمدة نصف ساعة حيث قيست الفعالية كل 5دقائق ثم سجلت القراءات ورصدت ضمن النتائج.

تقدير فعالية الانفرتيز تحت ظروف التخزين عند درجة حرارة الغرفة

لدراسة تأثير التخزين عند درجة حرارة الغرفة على فعالية إنزيم الانفرتيز تم وضع جزء من المستخلص الخام في دورق زجاجي محكم الإغلاق وتم إظلامه باستخدام ورق الألمنيوم لمنع جزيئات الضوء من التأثير على النتائج وخزنه في درجة الغرفة لمدة 30 يوم وقيست الفعالية الإنزيمية كل 5أيام.

من الجدير بالذكر أنه في كل الاختبارات التي أجريت على فعالية انزيم الانفرتيز كنا نحضر أنبوب كنترول يحتوي على مادة التفاعل و المحلول المنظم ويحضن عند درجة حرارة 25مْ لمدة 20 دقيقة ثم يضاف له DNSA تبرد الأنابيب بعدها وتقاس الفعالية الانزيمية، تمت هذه الدراسة بمعمل قسم علم النبات /كلية العلوم الجامعة الأسمرية.

3. النتائج و المناقشة

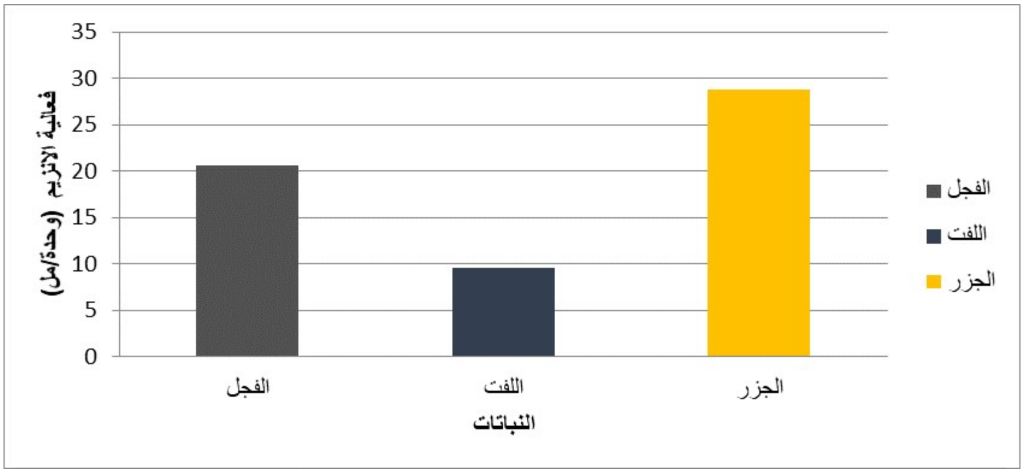
تقدير فعالية إنزيم الانفرتيز في النباتات المختارة للدراسة

تم تعيين فعالية إنزيم الانفرتيز في مستخلصات الجذور التخزينية للنباتات المستخدمة في هذا البحث وهي الجزر *Daucus carota*، اللفت *Brassica rapa*، الفجل *Raphanus raphanisturm* .

حيث بينت هذه النتائج في (**جدول.1**.) و (**الشكل.2**.) أن نبات الجزر قد سجل أعلى نشاطية لإنزيم الانفرتيز بقيمة 28.8 (وحدة/مل) يليه نبات الفجل بقيمة 20.6(وحدة/مل) و أخيرا نبات اللفت بقيمة 5.9 (وحدة/مل)، و بالتالي فقد تم اختيار نبات الجزر كمصدر لإنزيم الانفرتيز في هذا البحث.

جدول.1. تقدير فعالية الانفرتيز في النباتات المختارة للدراسة

النباتات	فعالية الانفرتيز
الفجل	20.6
اللفت	9.5
الجزر	28.8



شكل.2. تقدير فعالية الانفرتيز في النباتات المختارة للدراسة

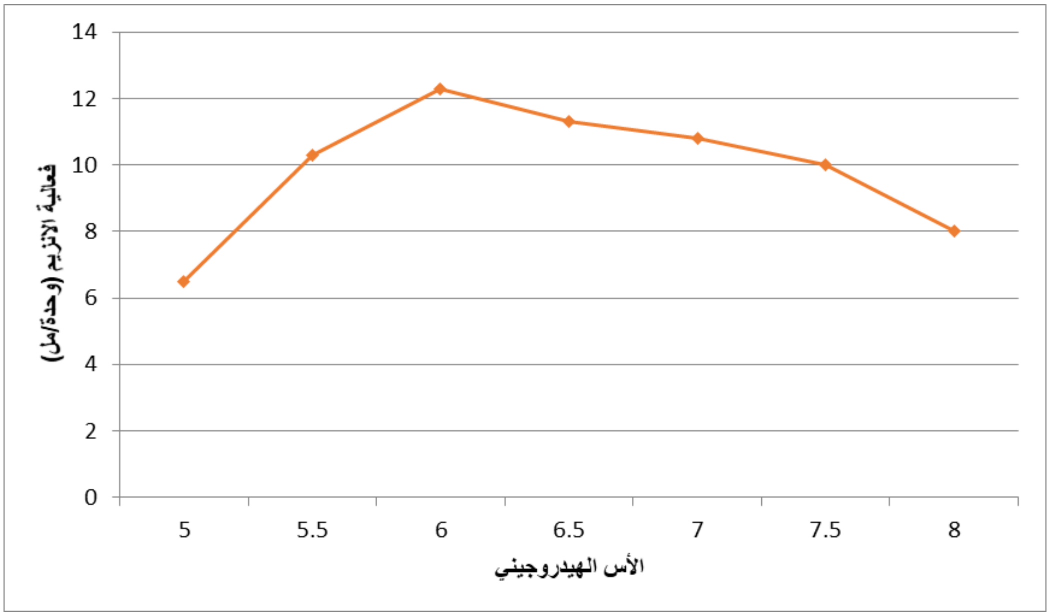
تعيين الأس الهيدروجيني الأمثل لفعالية إنزيم الانفرتيز

كما هو موضح في (**الجدول.2**.) و (**الشكل.3**.) فان نتائج هذه الدراسة قد بينت أن قيمة الأس الهيدروجيني الأمثل لفعالية الإنزيم كان (6 pH) حيث سجلت أعلى نشاطية للإنزيم عند هذه القيمة ثم بدأت فعالية الإنزيم بالانخفاض تدريجيا عند قيم الأس الهيدروجيني ما بعد القيمة المثلى لفعالية الانفرتيز و يعزى هذا الانخفاض إلى تأثير الأس الهيدروجيني في تركيب جزيئه الإنزيم و الذي يؤدي إلى حدوث تغير في التركيب الثلاثي للبروتين و تأين المجموعات الموجودة في الموقع الفعال للإنزيم بالتالي لا يمكنها العمل على نفس مادة التفاعل (Segel,1976).

أشارت البحوث إلى اختلاف الأس الهيدروجيني الأمثل لفعالية هذا الإنزيم طبقا لنوع النبات وبيئته و أيضا وفق النسيج المأخوذ منه و الطريقة المستخدمة لتقدير فعاليته، فقد استنتج(Lee and Sturm,1996) في بحث أجري على خلايا الجزر البري *Daucus carota* أنه يمكن أن يكون هناك نوعان من الانفرتيز أحدهما قاعدي كان الأس الهيدروجيني الأمثل له 8 و أنفرتيز أخر حامضي الأس الهيدروجيني الأمثل له 6.5 (Vorster and Botha, 1998)، و أن قيمة الأس الهيدروجيني المتعادل قد سجلت للأنفرتيز من درنة حرشف القدس و قصب السكر فكانت 7 و 7.2 عل التوالي (Whitaker,1972).

جدول.2. تعيين الأس الهيدروجيني الأمثل لعمل إنزيم الانفرتيز

pH	فعالية الانفرتيز
5	6.5
5.5	10.3
6	12.3
6.5	11.3
7	10.8
7.5	10
8	8



شكل.3. تعيين الأس الهيدروجيني الأمثل لعمل إنزيم الانفرتيز

قد اتفقت نتيجة الدراسة الحالية مع دراسة أجراها (عبد الرحمن و عودة، 2010) على الانفرتيز المنقى من الجزر العراقي حيث أن قيمة الأس الهيدروجيني الأمثل لعمل الانفرتيز كانت 6 في ذلك البحث، ومن جهة أخرى فان قيم الأس الهيدروجيني الأمثل لفعالية الإنزيم التي سجلت في دراسات أجريت على أنفرتيز بعض الأحياء الدقيقة لم تختلف عن قيمة الأس الهيدروجيني الأمثل الذي عُيّنَ في هذه الدراسة، ففي بحث أجراه (محي الدين و آخرون،2012) تم فيه تعيين الأس الهيدروجيني الأمثل لإنتاج الانفرتيز من *Candida sp* حيث كان 6pH.

مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية
Journal of Misurata University for Agricultural Sciences
المجلد الخامس العدد الأول يونيو 2024
ISSN 2708-8588

تعيين درجة الحرارة المثلى لعمل الإنزيم

يشير (**الجدول.3**.) و (**الشكل.4**.) إلى تأثير درجات الحرارة و التي تراوحت من (25،30،35،40،45،50،55، 60 مْ) في نشاطية إنزيم الانفرتيز حيث لوحظ ازدياد الفعالية الإنزيمية زيادة متدرجة مع ارتفاع درجة الحرارة حيث وصلت إلى أوجها عند درجة 35مْ ثم بدأت الفعالية الإنزيمية بالانخفاض تدريجيا مع ازدياد درجة الحرارة.

و سبب زيادة الفعالية بزيادة درجة الحرارة ضمن مدى معين يرجع إلى زيادة الطاقة الحركية لجزيئات الإنزيم و مادة التفاعل مما يؤدي إلى زيادة التصادمات بينهم، وسبب انخفاض الفعالية بعد ذلك يعود إلى أن الارتفاع بدرجة الحرارة يؤدي إلى تغير في تركيب الإنزيم نتيجة تأثير الحرارة في البنية الثالثية للبروتين و إلى تغير في تركيب الموقع الفعال للإنزيم مما يؤدي إلى صعوبة ارتباطه بمادة التفاعل بالتالي تناقص في فعاليته (عبد الرحمن و عودة، 2010).

جدول.3. تعيين درجة الحرارة المثلى لفعالية إنزيم الانفرتيز

درجة الحرارة	فعالية الانفرتيز(وحدة/مل)
25	10
30	11.3
35	12
40	11.5
45	9.6
50	8.4
55	5.6
60	2.7

شكل.4. تعيين درجة الحرارة المثلى لفعالية إنزيم الانفرتيز

مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية
Journal of Misurata University for Agricultural Sciences
المجلد الخامس العدد الأول يونيو 2024
ISSN 2708-8588

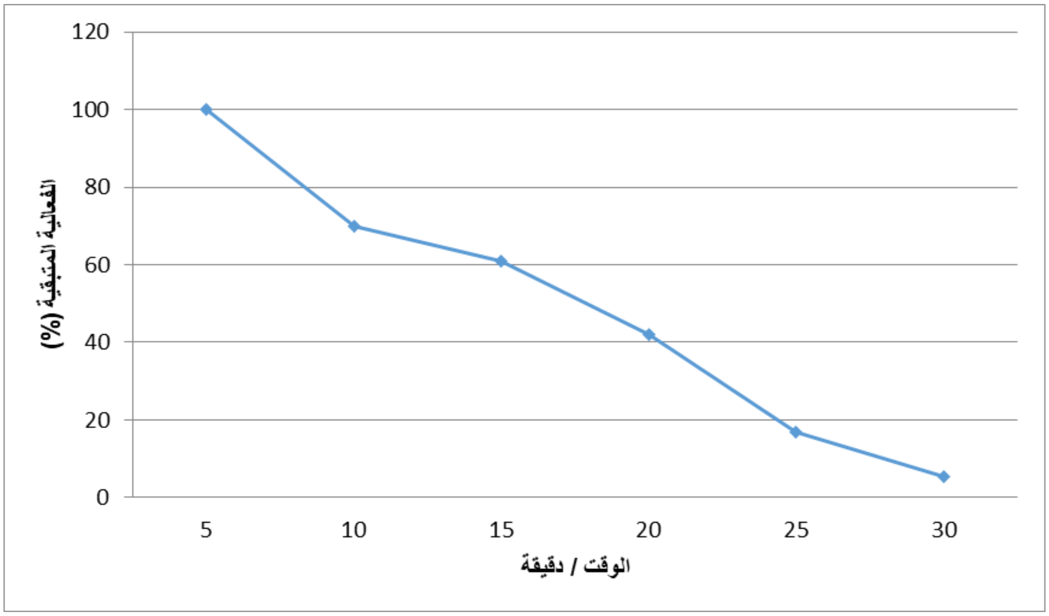
الثبات الحراري لإنزيم الانفرتيز

من المهم دراسة الثبات الحراري للإنزيم بوصفه أحد العوامل المهمة و الذي يمكن من خلاله تحديد درجات الحرارة التي يحتفظ فيها الإنزيم بنشاطه و تلك التي تؤثر فيه سلبا كما هو موضح في (**الجدول.4**) و(**الشكل.5**.) فقد أظهر الانفرتيز ثبوتا حراريا عند درجة 60مْ حتى بعد 15 دقيقة من تعرضه للحرارة المرتفعة ثم بدأت الفعالية بالانخفاض مع زيادة زمن تعرضه لدرجة 60مْ ثم انخفضت الفعالية تماما بعد نصف ساعة من تعرض الإنزيم لدرجة الحرارة المذكورة مسبقا، و عموما فان معظم الإنزيمات تكون أكثر ثبوتا بدرجات حرارة منخفضة لذا يفضل خزنها في تلك الدرجات المنخفضة للمحافظة عليها.

وتتوافق نتيجة هذه الدراسة مع ما ذكره (Rhman *et al.*, 2001) من أن انفرتيز ثمار المانغو يتصف بكونه ثابتا تجاه مدى واسع من درجات الحرارة و البالغ من 10إلى 75مْ (Rhman *et al.*, 2001) كما واتفقت نتيجة هذه الدراسة مع (El-Shora *et al.*, 2016) في بحث أجراه على إنزيم اليوركيز بيَن من خلاله أن الإنزيم الحر لا يمكنه الثبوت في درجات حرارة أعلى من الدرجة المثلى لفترة طويلة.

جدول.4. الثبات الحراري لإنزيم الانفرتيز عند درجة 60مْ

الوقت / دقيقة	الفعالية المتبقية (%)
5	100
10	70
15	61
20	42
25	17
30	5.5



شكل.5. الثبات الحراري لإنزيم الانفرتيز عند درجة 60مْ

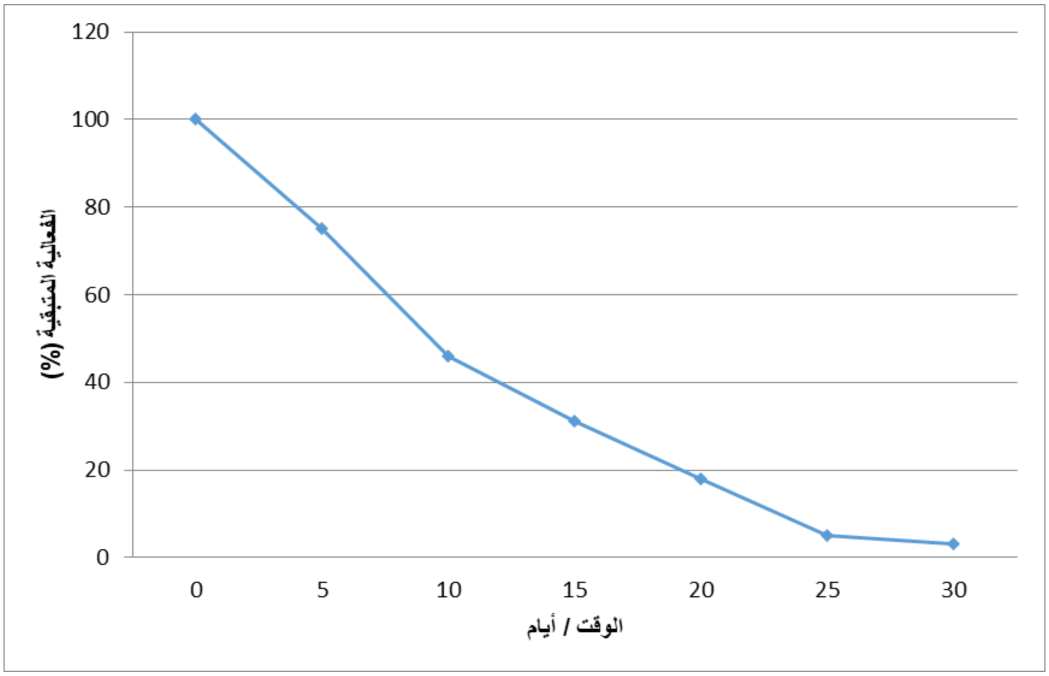
تختلف درجة الحرارة في الانفرتيزات باختلاف مصادرها قد اختلفت نتائج هذه الدراسة مع ما توصل له (Marouf and Zeki,1982) من أن أعلى فعالية لانفرتيز تمور زهدي الذائب و غير الذائب كانت عند درجة حرارة 45مْ أيضا في دراسة أجراها (عبد الرحمن و عودة،2010) على الانفرتيز المستخلص من الجزر العراقي كانت درجة الحرارة الأمثل لفعالية الانفرتيز45مْ ، و سجلت درجة الحرارة 40مْ بوصفها المثلى لفعالية الانفرتيز المنقى من درنات حرشف القدس (Jhon,1988 (Kim and ، أما (Noomiro and Dahot,1996) فوجدوا أن أعلى فعالية للانفرتيز المنقاة من ثمار *Achras sapota* كانت درجة الحرارة المثلى له 20مْ ثم بدأت تفقد الفعالية تماما عند 45-70 خلال 10 دقائق.

ثبوت فعالية الانفرتيز تحت ظروف التخزين

إن قدرة الإنزيم على الحفاظ على فعاليته تحت ظروف التخزين عند درجة حرارة الغرفة تعتبر من المعايير المهمة التي يهتم الباحثين في علم الإنزيمات بتقديرها وقد بينت نتائج هذه الدراسة كما هو موضح في (**الجدول.5**) و (**الشكل.6**.) أن الفعالية الإنزيمية تنخفض تدريجيا ابتداء من اليوم الخامس للتخزين إلى اليوم الثلاثين حيث فقد الإنزيم فعاليته تماما عند اليوم الثلاثين، يرجع هذا الانخفاض في الفعالية ومن ثم فقدها إلى حدوث تغير في تركيب البروتين و بالتالي تغير خواص الإنزيم و ذلك بسبب ظروف التخزين عند درجة حرارة الغرفة وقد اتفقت هذه النتيجة مع (El-Shora *et al.*, 2016).

جدول .5. ثبوت فعالية الانفرتيز تحت ظروف التخزين عند درجة 25مْ

الوقت / أيام	الفعالية المتبقية (%)
0	100
5	75
10	46
15	31
20	18
25	5
30	3



شكل.6. ثبوت فعالية الانفرتيز تحت ظروف التخزين عند درجة 25 مْ

4.المراجع

الطه، علي حسين محمد؛ عبد،عبد الكريم محمد؛ العيداني،طه ياسين(2013). دراسة بعض صفات الثمار و الفعالية الانزيمية لانزيمالانفرتيز و السليلوز و سرعة التنفس لسلالات من نخيل التمر البذرية المزروعة في منطقة البصرة. مجلة المثنى ببعلومالزراعية (1).

الفاهوم، سحر؛ الأخرس،غادة(2009). كتاب الكيمياء الحيوية المتكاملة (مترجم)، المركز العربي للتعريب و الترجمة و التأليف و النشر– دمشق.

الموسوي، علي حسين عيسى(1987). كتاب علم تصنيف النبات، وزارة التعليم العالي و البحث العلمي العراق – جامعة بغداد.

جبر، محمود محمد؛ كامل،إسماعيل محمد؛ شبانة،عفت فهمي(2001). أساسيات علم النبات العام الشكل الظاهري و التركيب التشريحي– تقسيم المملكة النباتية ووظائف أعضاء النبات، الطبعة الأولى، دار الفكر العربي– القاهرة.

حيدر اسماعيل جاسم(2017). دراسة تعريفيه عن الانزيمات\ جمهورية العراق–وزارة الزراعه

دلالي, باسل كامل. (1982).الانزيمات في التصنيع الغذائي .ترجمة عن جيرالد ريد . دار الكتب للطباعة والنشر | . جامعة الموصل . 112-118.

عبد الواحد، عقيل هادي ؛ عباس، مؤيد فاضل ؛ عباس، كاظم ابراهيم (2010). تأثير صنف اللقاح في التغييرات ببعض الانزيمات النباتية خلال نمو ونضج ثمار نخيل التمر صنف الحلاوي، كلية الزراعة– جامعة البصرة– العراق.

عبد الرحمن، سوسن مصطفى؛ عودة،جاسم محمد(2010). استخلاص الانفرتيز من الجزر وتنقيته جزئيا و توصيف بعض خواصه.كلية الزراعة– جامعة بغداد.

محي الدين، محمد عمر؛ جبر،حميد عبود؛ عودة،جاسم محمد(2012). دراسة الظروف المثلى لإنتاج الانفرتيز من عزلة محلية من *Candida spp* . مجلة كلية التربية الأساسية – العدد الرابع و السبعون، جامعة بغداد.

محمد, نوال عبدالله.(1977). بعض التغيرات الكيميائية والفيزيائية والنسيجية ونشاط بعض الانزيمات ودراسة ظاهرة ابي خشيم في تمور الحلاوي. رسالة ماجيستير –كلية الزراعة – جامعة بغداد : 64ص.

يازجي،صباح؛ مثلا،روضة؛ علي،أنور الحاج(2014).قياس فعالية الانفرتيز في عزلات خمائر من مواد سكرية محلية مختلفة. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية،المجلد30– العدد1، ص239-251.

Dahot, M.U and M.H. Noomrio. (1996).Purification and some properties of invertase from AchrasSapota Fruit. J. Islamic Academy Sci. 9(2):1-4.

El-Shora, H. M., Mohammed. A. F., Kondi, H. M., Biochemical studies on uricase and its regulation in som C3plants., Master Thesis , Mansoura University.

Kanner, J; Elmaleh, H.; Reuveni, O. and Ben – Gera, I. (1978). Invertase (B- Fructofuranosidase) Activity in three date.

Kim, M. and D. Y Jhon. (1988).Partial purification and properties of invertase from Jerusalem Artichoke Tuber, Korean Biochem .J. 21(4): 436-440

Lee, H. S and A Sturm. (1996).Purification and characterization of Neutral and Alkaline invertase from carrot. Plant physiol. 112:1513- 1522.

Marouf, B and L .Zeki. (1982).Invertase from date fruits. J. Agric. Food. Chem. 30: 990-993.

Rahman, M .H, A. H. Akand, T. Yeasmin, M.S.Uddin and M.Rahman. (2001). Purification and properties of invertasefrom Mango fruit. Pakistan. J. Biological Sci. 4(10):1271-1274.

Segel, I. H. (1976). Biocheinical Calculation. 2nd – edition, John Wiley & Sons, Inc, New York.

Sakri, F. A., N. D. Benjamin and N. J. Enwia (1975). Relationship to invertase activity sucrose content in dsate fruit during different stage. Tich-Bull.No.2/75. Palm and Date Res. Baghdad -Iraq.

Taya, M.; Hinok, H.; Suzuki, Y.; Yagi, T.; Yap, M.G. and Kobayashi, T. (1985). New termophilic anaerobes that decompose crystalline cellulose. J.Ferment. Tech., 63:383-387.

Ungez, C.M., Hardegger. S. Lienhrd and A. Sturm. (1994). C DNA cloning of carrot (Daucuscarota) soluble Acid B-Fructofuranosidases and comparison with the cell wall isoenzymes, plant physiol. 104: 1351- 1357.

Voster, D. J and F. C, Botha. (1998). Partial purification and characterization of sugarcane Neutral invertase, Phytochemstry. 49(3): 651-655.

Whitaker, R. (1972).Principlesof Enzymology for the food Science. Marcel Dekker, Inc. New York .USA. 65- 119

مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية
Journal of Misurata University for Agricultural Sciences
المجلد الخامس العدد الأول يونيو 2024
ISSN 2708-8588

Extraction of Invertase Enzyme from Selected Plants with Storage Roots and Investigation of Some of Its Properties

Huda Mohamed Kondi, Marwa Al-Areiq, Najat Ashour, Mawada Ahaddoud, Aliaa Al-Dhuwibi
Plant Science Department, Faculty of Science, Asmariya University, Libya
h.kondi@asmarya.edu.ly

Apstract

The aim of this research was to extract the invertase enzyme from carrots, turnip and radish present in the local market and to determine some of its properties. The crude extract was prepared using an electric juicer and to get rid of sediments, the juice was centrifuged at 4000 revolutions / minute for 15 minutes, and using special solutions and equations that estimated the enzymatic activity. For invertase in the three plants, the carrot extract showed the highest enzymatic activity (28.8 u/ml) Therefore, the carrot plant was chosen to be the plant under study to characterize the invertase properties The enzyme is (35C), and the invertase enzyme has shown thermal stability at (60C) even after 15 minutes, then the enzymatic activity decreased, and through this study it was found that the invertase enzyme could not maintain its effectiveness when stored at room temperature for more than 5 days. .

Key words: invertase, carrot, sucrose, storage roots, enzyme activity