استخدام شمع البارافين في ربط إنزيمات الببسين والبرومالين والتربسين والرنليز ودراسة خواصها وكفاءتها في بعض الأنظمة الغذائية

منير عبود جاسم *وسن كاظم عبد الرزاق المحسن

قسم علوم الأغذية والتقانات الاحيائية– كلية الزراعة– جامعة البصرة

بصرة– العرق

الخلاصـــة

تضمنت الدراسة ربط إنزيمات محللة للبروتين (الببسين ، البرومالين ، التربسين والرنليز) باستخدام شمع البارافين ودراسة خواص هذه الإنزيمات ومقارنتها بالإنزيمات الحرة. وأتضح من النتائج بان النسبة المئوية للارتباط في كل من الببسين والتربسين والبرومالين والرنليز هي (٨٤، ٨٩.٤٥، ٩٠، ٨٣.٢٧)% على الوالي، كما بينت النتائج أن لفترات الخزن تأثير معنوي على نسبة الإنزيم المرتبط. كما أتضح أن الفعالية التحللية للإنزيمات الحرة والمرتبطة (٩٦، ٧١، ٧٥) وحدة و (٨٢، ٨٠، ٨٣) وحدة لإنزيمات الببسين والتربسين والبرومالين على التوالي، بينما اظهر إنزيم الرنليز الحر والمرتبط فعالية تخثرية (١ و ١.٢٦)وحدة/مل على التوالي.

وأتضح أن الرقم الهيدروجيني الامثل لفعالية إنزيمات الببسين والبرومالين الحرة والمرتبطة (٢، ٦، ٨) و (٣، ٦، ٨) على الوالي، بينما كان الرقم الهيدروجيني الامثل لإنزيم الرنليز الحر والمرتبط (٥.٧ و ٦.٥) على التوالي.

في حين كانت درجة الحرارة المثلى لفعالية الإنزيمات المدروسة الحرة والمرتبطة هي ٣٥مْ. أظهرت الإنزيمات المرتبطة انخفاضاً قليلاً في فعاليتها بتقدم فترات الخزن وكانت أكثر وضوحاً في الفترة الأخيرة من الخزن (٣٠ يوماً).

*بحث مستل من رسالة الباحثة.

بلغت أعلى درجة تحلل للإنزيمات عند ١٢٠ دقيقة، كان مقدار الفقد في كمية الإنزيم المرتبطة قليلة خلال فترات خزن الإنزيم (٠، ١٠، ٢٠، ٣٠)يوماً. تم استعمال الإنزيمات المرتبطة (الببسين ، البرومالين والتربسين) كبديل جيد عن الإنزيمات الحرة في تحلل البومين البيض وتحضير مادة البلاستين. كما تم استعمال إنزيم الرنليز المرتبط كبديل جيد في صناعة الجبن، إذ أظهرت نتائج التقييم الحسي للجبن المصنع بإنزيم الرنليز المرتبط بعدم وجود فروق معنوية بتكرار استعماله.

المقدمـــة

نظراً لزيادة استعمال وصعوبة الحصول عليها بسبب التقنيات العالية لعملية الاستخلاص والتنقية وارتفاع أسعارها ، لذا ظهرت فكرة ربط الإنزيمات كيميائياً أو فيزيائياً (١٩٦٩) استعمل إنزيم البابين Olson و Jansenباستعمال مواد غير ذائبة بالماء. درس وآخرون Hornbyالمربوط مع كلوترالديهايد وبين إمكانية حصول تخثر للحليب، وبين (١٩٧٠) إمكانية ربط البرومالين كيميائياً باستعمال مادة كاربوكسي مثيل سليلوز، وأجرى دراسة حول تأثير ربط إنزيم التربسين على مادة Jams (1970) (١٩٧٠) و Weetal وآخرون (١٩٨٧) إمكانية ربط الإنزيمات المحللة للبروتين Jasimامينومثيل سليلوز. ودرس (البرومالين، البابين، الببسين، الفايسين و التربسين) باستخدام طريقة بروميد سنوجين Musa و Jasimوكلوترالديهايد إذ شملت الدراسة نسبة الارتباط وفعالية وثباتية الإنزيمات (١٩٨٧) باستخدام مادة البولين فينيل بروليدون في ربط إنزيم الببسين، إذ كانت نسبة الربط وآخرون (١٩٨٠) بربط إنزيم التربسين على كرات Mason٧٥% من الإنزيم الكلي. وقام مع mucor (١٩٧٨) من ربط المخثر من جنس Richardson و Taylarزجاجية وتمكن Nakai و Voutsinasكرات زجاجية واستعمله في صناعة الجبن بطريقة مستمرة. وتمكن (١٩٨٣) من ربط إنزيمي الكيموسين والببسين على الكاربـــون الفعال والفينوكسي استيل سليلوز وتم استخدامها في تخثير الحليب الفرز وأشار حسن (١٩٩٦) أن ربط إنزيم البروتيز باستعمـــال الاكاسيـــد المائيـــة للفلزات *Aspergillus oryzae*القاعدي المنتج من عفن الانتقالية يعد طريقة سريعة وغير مكلفة، وبين الخالدي (١٩٩٨) في دراسة حول إمكانية ربط إنزيم الببسين والتربسين المستخلص من مخلفات المجازر والأسماك، إذ استعمل طريقة الربط وآخرون (٢٠٠١) تضمن ربط إنزيم Sarahبالفلزات الانتقالية. وجرت دراسة من قبل لإنتاج حامض الاسبارتيك. ونظراً لما DEAE-Sephadex باستعمال Aspargenase تمتلكه عملية الربط من أهمية في سهولة فصل الإنزيم من مادة الأساس وإعطاء الثباتية

والحماية للإنزيم من المؤثرات الخارجية وإمكانية التحلل الإنزيمي، لذا تهدف الدراسة الحالية الى إمكانية ربط بعض الإنزيمات المحللة للبروتين ذات الأهمية الاقتصادية (الببسين والبرومالين والتربسين والرنليز) باستخدام مادة شمع البارافين ومن ثم احتساب نسبة الإنزيم المرتبط ومتابعة فعاليته وثباتيته تحت ظروف مختلفة ودراسة كفاءته في بعض التطبيقات والأنظمة الغذائية التي تعتمد على التحلل المائي أو بناء البروتين (البلاستين) واستخدام الرنليز في صناعة الجبن.

المواد وطرائق العمل

المواد:

استعمل إنزيم الببسين من شركة BOH البريطانية وبفعالية تحللية بلغت (٧٥) وحدة واستعمل إنزيم البروملين المجهز من شركة Merk Art 1651 for Biochemistry وبفعالية إنزيمية بلغت (٦٩) وحدة إنزيم التربسين المجهز من شركة Ruka AG Chemische farbrik وبعالية تحللية بلغت (٧١) وحدة إنزيم الرنليز المجهز من الشركة اليابانية وبفعالية تخثرية بلغت (١.٢٦) وحدة/مل. استعمل ألبومين البيض والكازين المجهز من شركة BDH البريطانية، أما المواد الكيميائية المستعملة فكانت من النوع التحليلي Analar .

طرائق العمل:

قـدرت الفعالية التحللية للإنزيمات الحرة حسب الطريقة التي أوصي بها Strenberg (١٩٧١) اعتماداً على منحني القياسي للتايروسين، قيست الامتصاصية على طول موجي (٢٨٠) نانوميتر باستعمال جهاز المطياف الضوئي. قدرت الفعالية التحللية للإنزيمات المرتبطة حسب الطريقة التي أوصي بها Kennedy و Cabral (١٩٨٧) وقيست الامتصاصية على طول موجي (٢٨٠) نانوميتر باستعمال المطياف الضوئي. وقدرت درجة التحلل للإنزيمات الحرة والمرتبطة بإتباع طريقة Beddows وآخرون (١٩٧٦) باستعمال الفورمالين. وقدرت الفعالية التخثرية للإنزيم الرنليز المرتبط حسب الطريقة التي أوصي بها Iwasaki وآخرون (١٩٦٨).

ربط الإنزيمات:

استعملت طريقة Savangikar و Joshi (١٩٧٨) في ربط الإنزيم مع شمع البارافين، إذ أجريت عملية الخلط بنسبة ١ إنزيم ، ٤ شمع وأضيف الإنزيم على الطبقة العلوية للشمع بعد إذابته بدرجة حرارة ٦٠°م، وضع الخليط على شريحة زجاجية (٧ × ٥)سم ترك

وآخرون (١٩٨٧)، تم تقدير البروتين Jasimليتصلب بدرجة حرارة الغرفة. اتبعت طريقة (١٩٧٠) والرطوبة حسب الطريقة Pearsonفي البلاستين حسب الطريقة التي أوصي بها Lees . (1975)التي أوصى بها

النتائج والمناقشة

يوضح الجدول (١) كمية الإنزيمات المرتبطة (الببسين والتربسين والبرملين والرنليز) بشمع البارافين، وتم التعرف على كمية الإنزيم في محلول الغسل المستعمل بحجم (١٠)مل من خلال المنحنيات القياسية في الأشكال (١، ٢، ٣ و ٤) بين الامتصاص وتراكيز الإنزيمات الحرة المستعملة ومن ثم حساب النسبة المئوية للارتباط. ويبين الشكل (٥) النسبة المئوية للإنزيمات المرتبطة الببسين والتربسين والبرملين والرنليز مع شمع البارافين وتأثير فترات الخزن (٠، ١٠، ٢٠ و ٣٠) يوماً بدرجة حراراة ٤°م في نسبة ربط، وكانت الربط للإنزيمات (٨٤، ٨٩.٤٥، ٩٠ و ٨٣.٢٧)% على التوالي، وكانت النتائج أعلى مما توصل إليه Jasim (١٩٨٠) عند دراسته للنسبة المئوية للإنزيم المرتبط بطريقة كلوتر الديهايد وبروميد السينوجين كما ظهر من خلال الشكل انخفاض تدريجي في نسبة الارتباط للإنزيمات مع تقدم وبلغ الانخفاض ($P<0.01$)فترات الخزن وكان هذا الانخفاض معنوياً عند مستوى احتمالية أقصاه عند (٣٠) يوماً من الخزن حيث بلغ (٨٣، ٨٩.١١، ٨٩.٢٣ و ٨٣.١٢)% للإنزيمات الببسين والتربسين والبرملين والرنليز على التوالي، وقد يعزى سبب الانخفاض في نسبة الإنزيم المرتبط الى استعمال الإنزيم مرات عديدة طيلة فترة الخزن. وعند تحديد الظروف المثلى للفعالية التحللية للإنزيم الحر والمرتبط ظهر أن الرقم الهيدروجيني الامثل لعمل الإنزيمات الحرة الببسين والبرومالين والتربسين الحرة (٢، ٦، ٨) وبلغت الفعالية (٧٥، ٦٩، ٧١) وحدة على التوالي، في حين الإنزيمات المرتبطة أظهرت أعلى فعالية تحللية عند الرقم الهيدروجيني (٣، ٦، ٨) وبلغت الفعالية (٨٠، ٨٢، ٨٣) وحدة لإنزيمات الببسين والتربسين والبرملين على التوالي. وأتضح أن الدرجة الحرارية المثلى لعمل الإنزيمات قيد الدراسة ٣٥°م بعد الأخذ بنظر الاعتبار الرقم الهيدروجيني الامثل لفعالية الإنزيمات (التحللية والتخثرية) وعند تحديد الظروف المثلى للفعالية التخثرية لإنزيم الرنليز الحر والمرتبط ظهر أن الرقم الهيدروجيني الامثل لعمل الإنزيم الحر هي (٥.٧) حيث بلغت الفعالية التخثرية (١.٢٦) وحدة/مل وان الرقم الهيدروجيني الامثل للفعالية التخثرية لإنزيم الرنليز المتوسط هو (٦.٥) إذ بلغت الفعالية التخثرية (١) وحدة/مل. توضح الأشكال (٦، ٧، ٨) درجة تحلل بروتين ألبومين البيض باستخدام الإنزيمات الثلاثة (الببسين والبرملين والتربسين) الحرة والمرتبطة حيث يلاحظ فعل الإنزيمات من خلال زيادة عدد مللترات القاعدة المستهلكة في

التسحيح (هيدروكسيد الصوديوم). كما تبين الإشكال وجود اختلافات قليلة في درجة التحلل عند استخدام الإنزيمات الحرة والمرتبطة. أظهرت نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية عند مستوى احتمالية ($P<0.01$) في الإنزيمات الحرة والمرتبطة مع تقدم الوقت وبلغت درجة التحلل أقصاه عند الفترة الأخيرة ١٢٠ دقيقة وكانت (٢.٩٨، ٢.١٤، ٢) مل و (٢.٨٩، ٢.١، ١.٩٩) مل للإنزيمات الببسين والبرملين والتربسين الحرة والمرتبطة على التوالي، كما أن درجة التحلل تختلف باختلاف نوع الإنزيم المستخدم في التحلل وجاءت هذه النتائج أعلى مما توصل إليه Jasim (1980) عند دراسته لدرجة تحلل البروتين باستخدام الإنزيمات المحللة للبروتين والمثبتة على كلوترلديهايد وبروميد السسنوجين. وتوضح الأشكال (٩، ١٠ و ١١) درجة تحلل بروتين ألبومين البيض باستعمال الإنزيمات الببسين والبرملين والتربسين المرتبطة بشمع البارافين والمخزنة لمدة ٣٠ يوماً على درجة حرارة ٤°م ومن ثم قياس درجة التحلل باستعمال الفورماليين. إذ أظهرت النتائج انخفاضاً قليلاً في كمية القاعدة المستعملة في التسحيح مع تقدم فترات الخزن وأكثر انخفاضاً كان عند الفترة الخزنية ٣٠ يوماً إذ بلغ (٢.١٢، ٢، ١.٨٨) مل لإنزيمات الببسين والبرملين والتربسين على التوالي، وكان هذا الانخفاض غير معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.01$).

يوضح الشكل (١٢) النسبة المئوية للفعالية التحللية لإنزيمات الببسين والتربسين والبروماليين المرتبطة والمخزنة لمدة ٣٠ يوماً وبدرجة حرارة ٤°م، إذ بينت النتائج أن النسبة المئوية للفعالية التحللية للإنزيمات بعد مرور ١٠ أيام خزن بلغت (٩٧.٤٠، ١٠٠، ٩٧.٤٠)% لإنزيمات الببسين والتربسين والبروماليين على التوالي، كما اظهر النتائج انخفاضاً تدريجياً بتقدم فترات الخزن في الفعالية التحليلية وكان هذا الانخفاض معنوياً عند مستوى احتمالية ($P<0.01$)، كما يوضح الشكل (١٢) النسبة المئوية للفعالية التحللية المتبقية لإنزيمات الببسين والتربسين والبروماليين المرتبطة والمخزنة لمدة ٣٠ يوماً وبدرجة حرارة ٤°م، إذ بينت النتائج ان النسبة المئوية للفعالية التحللية لإنزيمات بعد مرور ١٠ أيام خزن بلغت (٩٧.٤٦، ١٠٠، ٩٧.٤٠)% لإنزيمات الببسين والتربسين والبروماليين على التوالي، كما أظهرت النتائج انخفاضاً تدريجياً بتقدم فترات الخزن من الفعالية التحللية وكان هذا الانخفاض قد حصل عند الفترة الخزنية الأخيرة (٣٠) يوماً وكان (٨٣.٥٤، ٨٧.٨٣ و ٨٨.٣١)% لإنزيمات الببسين والتربسين والبروماليين على التوالي.

وبين الجدول (٢) النسبة المئوية لحاصل البلاستين باستعمال إنزيم الببسين والبروماليين إذ بلغت ٦٤.٩٦% لإنزيم الببسين الحر و (٥٩.٩، ٥٩.٥، ٥٩.١)% لإنزيم الببسين المرتبط بعد استعماله ثلاث مرات على التوالي، أما عند استخدام إنزيم البروماليين

الحر فبلغ الحاصل (٦٧.٤٦)%، في حين بلغ الإنزيم المرتبط حاصلاً (٦٤.٤٦، ٦٢.٣، ٦٢)% بعد ثلاث مرات من الاستعمال على التوالي.

وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي لعدد مرات الاستعمال عدم وجود فروق معنوية وكانت النسبة المئوية لحاصل البلاستين أعلى مما توصل (P<0.01)عند مستوى احتمالية (١٩٨٣). Jasimإليه

وبين الجدول (٣) نتائج التركيب الكيميائي للبلاستين المحضر من إنزيم الببسين والبرومالين الحر والمرتبط، إذا تراوح معدل نسبة البروتين (٩٤.٣٦، ٩٣.٤٦)% للبلاستين المحضر باستعمال إنزيم الببسين الحر والمرتبط. أما متوسط نسبة البروتين للبلاستين المحضر من إنزيم البرومالين الحر والمرتبط ، فقد بلغت (٩٤.٥٣، ٩٣.٩)% على التوالي. كما وضحت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية بين نسبة البروتين المحضر من البرومالين والببسين الحر والمرتبط، وبلغت (P<0.01) معدلات نسبة الرطوبة (٤.٧٤ و ٣.٦٣)% للبلاستين المحضر من إنزيم الببسين الحر والمرتبط على التوالي، وبلغ متوسط نسبة الرطوبة للبلاستين المحضر من الرومالين الحر والمرتبط (٣.٧٦ و ٤.٢٣)% على التوالي، أما الرماد فبلغ المتوسط (١.٦١، ١.٦١، ١.٧٣، ١.٧٧)% للبرستين المحضر من إنزيم الببسين والبرومالين الحر والمرتبط على التوالي، كما أشارت نتائج التحليل الإحصائي الى عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية بين البلاستين المحضر من الإنزيم الحر والمرتبط ولكلا الإنزيمين (الببسين (P<0.01) (١٩٩١) عند دراسته التركيب Jasimوالبرومالين) واتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه الكيميائي للبلاسين المحضر من مخلفات الأسماك. يوضح الجدول (٤) نتائج التقييم الحسي للجبن المصنع بالمخثر المايكروبي (الرنليز) الحر والمرتبط، إذ لوحظ عدم وجود فروق للتقييم الحسي للجبن المصنع بالإنزيم الحر والمرتبط، (P<0.01)معنوية عند مستوى احتمالية إذا كان الجبن المصنع بالإنزيم الحر متقاربة في جميع الصفات الحسية مع الإنزيم المرتبط. أما بالنسبة لعدد مرات استعمال الإنزيم المرتبط فقد أظهرت نتائج التحليل الإحصائي للتقييم لعدد مرات استعمال (P<0.01)الحسي الى عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية الإنزيم المرتبط والبالغة ثلاث مرات، وقد تفوق الإنزيم المرتبط في الاستعمال الأول على الاستعمال الثاني والثالث وكان الجبن المصنع باستعمال الإنزيم المرتبط مقارباً في الصفات الحسية للجبن المصنع بالإنزيم الحر. وهذا دليل على إمكانية استعمال الإنزيم المرتبط أكثر من مرة، واتفقت هذه النتائج مع ما توصل إليه El-Al.Arisy وآخرون (١٩٨٨) عند دراسته لصنيع الجبن الأبيض باستعمال إنزيم التربسين والببسين والمرتبطة بطريقة Agarose beads .

اتفقت هذه النتائج مع ما توصل إليه الخالدي (١٩٩٨) عند دراسته لتأثير فترات الخزن في الإنزيم المرتبط بطريقة الفلزات، إذ لاحظ تناقص الفعالية بتقدم فترات الخزن وأكثر انخفاض حصل عليه عند الفترة الزمنية الأخيرة.

ويشير الشكل (١٣) الى الفعالية التخثرية إذ أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً عند بتقدم فترات الخزن، إذ بلغت (٨٨، ٩١، ٩٥، ١٠٠)% وللفترة ($P<0.01$)مستوى احتمالية الخزنية (٠، ١٠، ٢٠، ٣٠) يوماً على التوالي.

المصادر

حسن، شذى سلمان (١٩٩٦). إنتاج وتنقية وتوصيف البروتين القاعدي من عفن Aspergillus oryzae بطريقة تخمر المواد الصلبة. أطروحة دكتوراة، كلية العلوم ، جامعة البصرة.

الخالدي، محمد رفيق علي (١٩٩٨). استغلال مخلفات المجازر والاسماك في انتاج المركزات البروتينية واختبار كفاءتها. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.

الراوي، خاشع محمود وخلف الله عبد العزيز محمد (١٩٨٠). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل.

A.O.A.C. (1975). Official methods of analysis. Association of official analytical chemists, 13th Ed. Washington.

Beddows, C. G.; Ismall, M. and Steinkraus, K. H. (1976). The use bromlain in the hydrolysis of mackerel and the investigation of fermented fish aroma. J. Food Technol., 11: 379-388.

Berridage, N. J. (1952). An improved method of observing clotting of milk containing rennin. J. Dairy Res., 14: 328-329.

Edward, J. H. and Shipe, W. F. (1978). Characterization of plastein rection products formed by pepsin, α- Chymotrypsin and papain treatment of egg albumin hydrolysate. Food. Sci., 43: 1215-1218.

Egan, H.; Kirk, R. S. and Sawyer, R. (1988). Pearson's chemical of analysis of food. 8th Ed. Reprinted by Longman Scientific and Technical,

El-Abassy, F.; Mashaly, R. I.; Saad, M. H. and Wahba, A. A. (1988). Coagulation of milk by calf rennet, pepsin and *Mucor Miehei* rennet immobilized on large a garose beads. Milchwissen schaft., 43 (2): 79-82.

Glassmyer, C. K. and James, J. D. (1971). Preparation and stability of trypsin immobilized on aminoethyl cellulose. J. of Biochem., 39: 927-929.

Ismal, A. A. (1985). Manufacture of cheese by rennet, pepsin and *Mucor Miehei* rennet immobilized entrapping in acrylamide gel and on

paraffin wax. M. S. C. Coll. of Agriculture, Univ. of Alexandria, Egypt.

Iwasaki, S.; Tamura, G. and Arima, K. (1968). Milk clotting enzyme from micro organisms. The enzyme production and the properties of curd enzyme. J. Biol. Chem. 31: 546-551.

Jansen, F. E. and Olson, A. C. (1969). Properties and enzymatic activities of papain insolubilized with glutaraldehyde. J. Biochem. And Biophy. 129: 221-227.

Jasim, M. A. (1980). The immobilization of proteases and their application of protein. Diploma in food Technology. College of Higher Eductation of Hummberside " Grimsby college of technology". U.K.

Jasim, M. A. (1983). Functional plastein from fish waste. Ph. D. thesis Loughborough Univ. of Technology. UK.

Jasim, M. A. (1991). Plastein Formation from fish waste. Basrah. J. Agric. Sci. 4: 182-185.

Jasim, M. A. and Musa, T. N. (1994). Activity and stability of immobilized pepsin on polyvinyl pyrrolidone (PVP). Basrah J. Sci. 12 (2): 73-77.

Jasim, M. A.; George, M. H.; John, M. and Keith, D. A. (1987). A comparison of immobilized protease activities. J. Chem. Tech. Biotechnology, 40: 251-258.

Less, R. (1975). Food analysis, analytical and quality control methods for the food manufacture and buyer. (3rd Ed.) Leonard-Hill B'ooks, London, 42pp.

Mason, R. D.; Detor, C. C. and Weetal, H. (1980). Protease covalently coupled to porous glass. Preparation and characterization. Bioeng. J., 17: 1019-1027.

Nelson, J. A. and Trout, G. A. (1964). Judging dairy products. The oslen publishing Co. Milwaukee, 53212. U.S.A.

Pearson, D. (1970). The chemical analysis of foods. 6th Ed. Chemical publishing company. Inc. New York.

Sarah, B.; Sommer, H.; Nate, M. and Deana, S. (2001). A separate production by enzymes immobilized in DEAE-sephadex, File Internet.

Savangikar, V. A. and Joshi, R. N. (1978). Immobilization of papain in active from in paraffin wax. J. Food Sci., 43: 1616-1618.

Taylar, M. J. and Richardson, T. (1978). Application of microbial. Enzyme in food systems and biotechnology. Adv. J. Apple. Microbial, 25: 7-31.

Voutsinas, L. P. and Nakai, S. (1983). Coagulation of skim milk with proteases immobilized on hydrophobic carries. J. Dairy Sci. 66: 694-703.

Weetal, H. (1970). Trypsin and papain covalently coupled to porous glass. Preparation and characterization. J. Sci., 166: 615-616.

USING PARAFFIN WAX IN IMMOBILIZATION OF PEPSIN, BROMALIN AND RENNILASE AND STUDYING THEIR PROPERTIES, AND EFFICIENCY IN SOME FOOD SYSTEM

M. A. Jasim W. K. A. Al-Muhsin
Department of food Science & Biotechnology. College ofAgriculture, Basrah Univ, Iraq

SUMMARY

The study aimed to prepare some proteolytic immobilized enzymes Pepsin, bromalin, trypsin and rennilase by using paraffin wax and studying the properties and efficiency of enzmes and comparing them to those of free enzymes, and possibility of utilizing these enzymes more than once in food make up instead of free enzymes. The result were:

The percentage of immobilization were (84, 89, 90 and 83.27)% for peosin, trypsin, bromalin and rennilase. It has been noticed that storage duration had significant effect on the immobilized percentage. The free and immobilized enzymes showed propteolytic activity by (75, 69 and 85) unit and rennliase, free and immobilized, respectively. The clotting activity for free and immobilized rennilase were (1.26) unit/ml and (1) unit/ml respectively.The optimum pH values for the activity of free and immobilized enzymes were (2, 8 and 6) and (3, 8 and 6) for peosin, trypsin and bromalin respectively, while the optimum pH for clotting activity of (free and immobilized) rennilase were (5.7 and 6.5) respectively. The ideal temperature for activation of free and immobilized enzymes was (35^{o}C) for peosin, trypsin, bromalin and rennilase. The immobilized enzymes showed decrease in their propteolytic activity through the progress storing intervals and the highest decreased was obtained in the final storing period (30 days). The highest degree of proteolysis for enzymes were at the time of 120 minutes. The immobilized enzymes (peosin, bromalin and trypsin) were used to hydrolysis egg albumin and to prepar plastiens, while rennilase enzyme was used to process white cheeses, the result of evaluation of cheese obtained using free and immobilized rennilase was hearly the same, and there was no significant differences in obtained cheese when the same piece of immobilized enzymes used for three time consecutively.