دراسات كيميائية حيوية لتحسين إنتاج انزيم الليباز باستخدام سلالة جديدة معزولة من المملكة العربية السعودية

تهاني طالع نفاع الرحيلي

إشراف

أ.د. إيناس نبيل دانيال

أ.د. نجلاء عثمان إياز

مستخلص

يستخرج انزيم الليباز على نطاق واسع من الحيوانات والنباتات والكائنات الحية الدقيقة. حيث تستخدم معظم الإنزيمات المستخرجة من الميكروبات في الصناعات المختلفة. انزيم الليباز له قدرة على تحفيز التحليل المائي للإسترات لسلسلة طويلة من الأحماض الدهنية من الجلسرين في الدهون والماء.ويتم إنتاج إنزيم الليباز من العديد من الكائنات الحية الدقيقة و من امثلتها الفطريات ،الخميرة والبكتيريا.ومن ضمن أنواع البكتريا المنتجة لإنزيم الليباز البكتريا العصوية و جنس البنسليوم، البكتريا العنقودية.

يتأثر الإنتاج الميكروبي للإنزيم بالعوامل البيئية المختلفة مثل الرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة والأوكسجين المذاب والتكوين المتوسط.

وأظهرت النتائج أن واحدة من 11 عزلة تم اختبارها كانت أفضل منتج الليباز وهي (A1) وذلك من خلال قياس نشاط الليباز وفقا لقياس كمية الحمض الدهني. وأظهرت النتائج أن العزلة (A1) تطابقت بنسبة 98% مع (*Bacillus* cereus) وكانت أعلى العزلات انتاجاً لليباز ولذلك تم اختيارها لمزيد من الدراسات .تم دراسة تأثير ظروف النمو على إنتاج الليباز وأظهرت النتائج أن أفضل حالة لأعلى كمية من إنتاج الليباز كانت في وجود الدكسترين كمصدر للكربون و ثنائي فوسفات الأمونيوم كمصدر للنيتروجين. تم الحصول على أفضل النتائج عند 35 درجة مئوية لمدة 60 ساعة ودرجة الحموضة 6. وركزت هذه الدراسة على تحسين انزيم الليباز الذي تم تنقيته جزئيا باستخدام الترسيب بكبريتات

الأمونيوم بتركيز (80٪) وتقييد الانزيم المنقى جزئيا على الجينات الصوديوم. وأظهرت النتائج أن الاستقرار الحراري الليباز المقيد كان أعلى من الانزيم الحر. اظهر تأثير ايونات المعادن Mg^{2+} و Hg^{2+} و Cu^{2+} و Na^{+} و Ca^{2+} عند تركيز 2 ملي مول المستخدمة في الدراسة تأثير مثبط على الانزيم المقيد أكثر من انزيم الليباز الحر وابرزت هذه النتائج المزايا البيوكيميائية والفنية الليباز المقيد على الانزيم الحر.

Biochemical studies for enhancement lipase production using new strain isolated from Saudi Arabia

By

Tahani Talea Naffaa Alrehaili

Supervised By

Prof. Enas Nabil Danial

Prof. Najla Othman Ayaz

Abstract

Lipases are widely extracted from animals, plants and microorganisms.
Most of the enzymes used in industries are of microbial origin. They catalyze the hydrolysis of esters for long chain aliphatic acids from glycerol at lipid and water. Several microorganisms are produced lipases by, viz., eucarya, fungi, actinomycetes, yeast, bacteria, archea, etc. Microbial produced lipases include: Bacillus, Penicillium, Staphylococcus, Geotrichum, Pseudomonas and Aspergillus . Production of extracellular bacterial lipases are influenced by cultivation parameters such as pH, temperature, dissolved oxygen and medium composition. Lipase producing bacteria were isolated from around a local Arabian-American Oil Company, Rabigh , Saudi Arabia. The results showed that one of 11 tested isolates was the best lipase producer (A1), by measuring lipase activity according to measuring the amount of fatty acid. The results showed that isolate A1 showed 98% identity with Bacillus cereus, it was the highest lipase producer, thus it was

selected for more detailed studies. The effect of growth conditions on lipase production was also studied, and the results showed that, the best condition for the highest amount of lipase production was in the presence of dextrin as carbon source and di ammonium hydrogen phosphate as nitrogen source. The best results were obtained at 35°C for 60 h and pH 6. This study focused on lipase enzyme improvement, which was partially purified by using the ammonium sulfate precipitation (80% saturation) and immobilizing the purified lipase enzyme in calcium alginate beads. The results revealed that the thermal stability of immobilized lipase was higher than free enzyme. The effect of metal ions Mg+2, Hg+2, Cu+2, Na+ and Ca+2 at a concentration 2 mmol used in the study showed inhibitory effect on immobilized more than the free lipase enzyme. These results highlighted the biochemical and technical advantages of immobilized lipase over the free enzyme.