

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

عنوان:

استخراج و تخلیص آنزیم لیپاز از ضایعات تون ماهیان

مجری مسئول:

ذبیح اله بهمنی

شماره ثبت

۶۴۸۲۵

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

عنوان طرح/پروژه: استخراج و تخلیص آنزیم لیباز از ضایعات تون ماهیان

کد مصوب: ۳-۷۵-۱۲۵۱-۰۴۳-۹۹۱۰۳۰

نام و نام خانوادگی نگارنده/نگارندگان: ذبیح اله بهمنی

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد): ذبیح اله بهمنی

نام و نام خانوادگی مجری: بهرام کاظمی دمنه

نام و نام خانوادگی همکار(ان): یزدان مرادی، اشکان اژدری، عباس زمانی، ملیکا ناظمی، مریم میربخش، رامین

کریم زاده، محسن گذری، رضا دهقانی، سیدحسن جلیلی حسن کیاده، محمد صدیق مرتضوی، سعید تمدنی

جهرمی، عیسی عبدالعلیان، مجید نوروزی، کوروش خواجه نوری

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): رضا صفری عیسی خندقی

نام و نام خانوادگی ناظر(ان): --

محل اجرا: استان هرمزگان

تاریخ شروع: ۱۳۹۹/۱۱/۰۱

مدت اجرا: ۲ سال

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۲

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسؤل / مجری»

طرح/پروژه: استخراج و تخلیص آنزیم لیپاز از ضایعات تون ماهیان

کد مصوب: ۳-۷۵-۱۲۵۱-۰۴۳-۹۹۱۰۳۰

شماره ثبت (فروست): ۶۴۸۲۵ تاریخ: ۱۴۰۲/۱۱/۱۶

با مسئولیت اجرایی جناب آقای ذبیح اله بهمنی دارای مدرک تحصیلی دکتری تخصصی در رشته شیلات (فرآوری آبزیان) است. پروژه توسط داوران منتخب بخش زیست فناوری و فرآوری آبزیان در

تاریخ ۱۴۰۲/۱۱/۱ مورد ارزیابی و بارتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد پژوهشکده مرکز ایستگاه

با سمت عضو هیئت علمی در پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و

دریای عمان مشغول بوده است.

صفحه	«فهرست مندرجات»	عنوان
۱	چکیده
۲	۱- مقدمه
۳	۱-۱- سینتیک آنزیمی
۵	۱-۲- عوامل موثر بر عملکرد آنزیم ها
۵	۱-۲-۱- غلظت آنزیم
۶	۱-۲-۲- غلظت سوبسترا
۶	۱-۲-۳- اثر دما بر فعالیت آنزیم ها
۷	۱-۲-۴- اثر pH بر فعالیت آنزیم ها
۸	۱-۳- آنزیم لپاز
۹	۱-۳-۱- کاربردهای صنعتی آنزیم لپاز
۹	۱-۴- بازار جهانی و داخلی آنزیم های صنعتی
۱۲	۱-۵- اهداف طرح
۱۳	۲- پیشینه تحقیق در داخل کشور
۱۵	۲-۱- پیشینه تحقیق در خارج از کشور
۲۱	۳- مواد و روش ها
۲۱	۳-۱- روش کار
۲۱	۳-۱-۱- تهیه عصاره خام آنزیمی
۲۲	۳-۱-۲- رسوب دهی (راسب کردن) با سولفات آمونیوم
۲۲	۳-۱-۳- تخلیص
۲۳	۳-۱-۴- سنجش پروتئین محلول
۲۳	۳-۱-۵- سنجش فعالیت آنزیم
۲۳	۳-۱-۶- تعیین وزن مولکولی با الکتروفورز عمودی (SDS-PAGE)
۲۴	۳-۱-۷- تعیین دمای بهینه و پایداری
۲۴	۳-۱-۸- تعیین pH بهینه و پایداری
۲۵	۳-۱-۹- اثر یون های فلزی بر فعالیت آنزیمی
۲۵	۳-۱-۱۰- تعیین اثر بازدارنده های آلی

۲۵	۳-۱-۱۱- تعیین فعالیت های سینتتیکى آنزيم ها
۲۶	۳-۱-۱۲- محاسبه قيمت توليد آنزيم لپياز براساس هزينه تمام شده
۲۶	۳-۲- تجزيه و تحليل آماری
۲۷	۴- نتايج
۲۷	۴-۱- نتايج بازده استخراج و تخليص آنزيم لپياز از روده، کبد و پانکراس
۲۹	۴-۲- نتايج مقدار پروتئين موجود در آنزيم های لپياز توليدی
۳۰	۴-۳- نتايج فعاليت کل و ويژه آنزيم لپياز
۳۱	۴-۴- نتايج تعيين وزن مولکولی آنزيم های لپياز
۳۳	۴-۵- نتايج بررسي دمای بهينه و پايداری
۳۵	۴-۶- نتايج تعيين PH بهينه و پايداری
۳۷	۴-۷- نتايج بررسي اثر يون های فلزی
۳۹	۴-۸- نتايج بررسي اثر بازدارنده SDS، PMSF و EDTA
۴۰	۴-۹- نتايج اندازه گيري فعاليت سينتتیک
۴۳	۴-۱۰- محاسبه قيمت تمام شده آنزيم توليدی
۴۴	۵- بحث
۵۲	۶- نتیجه گیری
۵۳	پيشنهادها
۵۴	منابع
۵۹	پيوست
۶۲	چکيده انگلیسی

چکیده

آنزیم لیپاز یکی از مهم ترین آنزیم های گوارشی است و بعنوان کاتالیزور زیستی^۱ و آبکافتی^۲، تری گلیسریدها را به اسیدهای چرب و گلیسرول تجزیه می کند. حدود ۷ تا ۸ درصد وزن بدن تون ماهیان را امعاء و احشاء تشکیل می دهد در این پروژه آنزیم لیپاز از کبد، روده و پانکراس هوور مسقطی (*Katsuwonus pelamis*) و هوور دم دراز (*Thunnus tonggol*) با استفاده از سولفات آمونیوم با ۳۰، ۴۵ و ۶۰ درصد اشباعیت استخراج، و برای تخلیص از فیلتراسیون، اولترا فیلتراسیون، دیالیز و ستون کروماتوگرافی با سفادکس جی-۱۰۰ استفاده گردید سپس بازده استخراج، پروتئین، فعالیت ویژه آنزیم، دما و pH بهینه و پایداری، وزن مولکولی، عوامل بازدارنده یا تقویت کننده فعالیت آنزیم، حداکثر فعالیت آنزیمی (V_{max})، ثابت مکائلیس منتن K_m و ثابت کاتالیزوری K_{cat} و $K_{cat} \times K_m^{-1}$ اندازه گیری و با ویژگی های آنزیم لیپاز تجاری و لیپاز با کاربرد آزمایشگاهی با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ مقایسه گردید. آنزیم های لیپاز پانکراس و کبد، ویژگی های شیمیایی و سینتیکی بهتری نسبت به آنزیم های لیپاز روده داشت. آنزیم لیپاز پانکراس استخراج شده با سولفات آمونیوم ۶۰ درصد، دارای وزن مولکولی، دما و pH بهینه، فعالیت کل و اختصاصی آنزیمی به ترتیب، KDa (۳۵/۶-۴۸/۱)، °C ۴۸ و ۵/۵ و ۱۳۴/۴ U/ml و ۱۶ U/mg بود و مقدار فعالیت کل و اختصاصی به ترتیب در لیپاز تجاری (۱۳/۹ U/mg و ۶۶/۷ U/ml) و لیپاز آزمایشگاهی (۲۵ U/mg و ۱۳۷/۵ U/ml) بود که دارای تفاوت معنی دار ($p < 0.05$) بود. بنابراین می توان نتیجه گرفت که از آنزیم های لیپاز استخراج شده از پانکراس، کبد و روده تون ماهیان بعثت داشتن ویژگی های بیوشیمیایی و سینتیک مطلوب، برای کاربرد در صنایع شیمیایی، غذایی، کشاورزی و صنایع با فناوری بالا^۳ استفاده نمود.

کلمات کلیدی: لیپاز، ضایعات ماهی تون، فعالیت اختصاصی، استخراج، تخلیص، دما و pH بهینه

¹ Biocatalyst

² Hydrolytic

³ High Technology