

يتم التحفيز العكسي للدهون الثلاثية إلى حمض دهني بواسطة إنزيم الليباز. تعمل بعض الليباز على كل من تفاعلات الأسترة والتحلل المائي الانتقائي التماثلي. زاد الاهتمام بدراسة إنتاج الليباز على مدى السنوات القليلة الماضية بسبب خصائصها التحفيزية الممتازة، وإنتاج وقود الديزل الحيوي. يظهر إنزيم الليباز على نطاق واسع في البكتيريا والخمائر والفطريات. يزداد الطلب على إنتاج الليباز الميكروبي عالمياً بناءً على نوع المصدر. تحقق إيرادات كبيرة حيث من المتوقع أن تتجاوز 7.797 مليون دولار أمريكي بحلول عام 2025. هناك نمو سريع في سوق الليباز حيث من المحتمل أن يمثل القطاع السائل أعلى معدل نمو من حيث الإيرادات في سوق الليباز. من المتوقع أن يسجل قطاع المسحوق معدل نمو سنوي مركب (CAGR) بنسبة 5. من المقترح أنه بحلول عام 2024، قد تشهد تطبيقات المنظفات مكاسب كبيرة وتتجاوز قيمتها 2 مليار دولار أمريكي. كان أكبر سوق للإنزيمات الصناعية هو سوق الأغذية والمشروبات بقيمة تقديرية بلغت 4.1 مليار دولار أمريكي في عام 2017؛ يليه الوقود الحيوي والمنظفات بقيمة تقدر بـ 969. من المتوقع أن تكون الإنزيمات الصناعية في الوقود الحيوي هي القطاع الأسرع نمواً بمعدل نمو سنوي مركب يبلغ 3.7% حتى عام 2024 في دبلن 8. تتزايد أهمية الإنزيمات باستمرار، وخاصة الليباز الميكروبي الذي يحمل قيمة صناعية كبيرة نظراً لقدرته على تحفيز مجموعة متنوعة من التفاعلات الكيميائية في البيئات المائية وغير المائية. من المتوقع أن يتجاوز سوق الليباز الدولي 7.797. ليرتفع بمعدل نمو سنوي مركب قدره 2.6% من عام 2017 إلى عام 2025. تتوفر الإنزيمات من الحيوانات والنباتات والكائنات الحية الدقيقة تجارياً، حيث يمثل الأصل الميكروبي المصدر الرئيسي لأكثر من 50% من الإنزيمات الصناعية. تم دمج ثلث إجمالي الإنزيمات الصناعية في جميع أنحاء العالم في المنظفات 10. مع كون الاستقرار الحراري مطلباً أساسياً للإنزيمات التجارية، يجب ألا تؤثر درجات الحرارة المختلفة على التفاعل الأنزيمي للليباز. في حين أن الليباز يتحلل الدهون عند درجات حرارة منخفضة، فإن درجات الحرارة المرتفعة تزيد من معدلات تحلل الدهون في وجود الليباز. وكانت التطبيقات الصناعية الرئيسية لإنزيم الليباز هي صناعة المنظفات نظراً لقدرته الرائعة على إزالة بقع الزيت من الأقمشة. يجب أن يكون مستقرًا حراريًا، ويمكن أن يؤدي إلى تحلل الهياكل الدهنية المختلفة. يعد استخدام الإنزيمات بدلاً من المنظفات الكيميائية التقليدية أكثر فعالية؛ لأنه يوفر الطاقة من خلال العمل في درجات حرارة منخفضة، وليس له أي تأثير سلبي على عمليات معالجة مياه الصرف الصحي. أفاد سايسوبرامانيان وآخرون 13 أن استخدام الليباز *A. niger* كمادة مضافة في منظفات الغسيل أظهر عدم استقرار متزايد في وجود SDS و Tween 80 وجميع المنظفات التجارية. كانت الظروف المثلى في دراسة سايسوبرامانيان هي 1% للمنظفات التجارية، 5، ودرجة حرارة الغسيل عند 25 درجة مئوية. تمت إزالة 33% من بقع زيت الزيتون الموجودة في نسيج القطن. تم استخدام جنس *Aspergillus* من قبل في صناعة المنظفات، حيث أظهر الليباز المنقى من *A. niger* تبلغ درجة الحرارة المثلى للليباز 37 *A. carneus* درجة مئوية ودرجة الحموضة 9. وتشير الدراسة إلى أن وجود العديد من المنظفات يحفز نشاطه. أظهر الليباز الحراري والقلوي الذي تنتجه *Talaromyces thermophilus* مقاومة كبيرة للأس الهيدروجيني القلوي والتقطع والتحمل العالي مع العديد من المواد الخافضة للتوتر السطحي والأكسدة ومواد الغسيل التجارية. يمكن اعتبار هذا الإنزيم مرشحاً واعداً ومرصياً للتطبيق الصناعي لعملية التنظيف. يتم إجراء الغسيل بشكل عام في الوسائط القلوية، تشمل التطبيقات الأخرى للمنظفات غسل الأطباق، وتحلل الدهون في مذيبات التنظيف الجاف، استخدام الليباز مع الأكسدة في الغسيل وإزالة الشحوم وتجديد المياه يسمح بكميات أقل من المواد الخافضة للتوتر السطحي وتعمل في درجات حرارة منخفضة. عندما يتم دمج الليباز في المنظفات، فإنه يعزز التنظيف بشكل أفضل ويمنع تكون القشور. أظهر الليباز المستخرج من *Rhizopus nigricans* نشاطاً تحليلياً زائداً للدهون ونشاط استحلاب طبيعي، مما يشير إلى أعلى معدل لإنتاج المواد الخافضة للتوتر السطحي. الهدف من هذه الدراسة هو (أ) تحديد الخصائص البيوكيميائية لنشاط الليباز واستقراره لـ 1 *A. niger*؛ (ب) اختبار نشاط الليباز للتطبيقات الصناعية مثل (ط) دمج الإنزيم مع المنظفات المسحوقة والسائلة (ب) تقييم قدرته على إزالة الدهون و (ب) إزالة بقع الزيت المختلفة من القماش. المواد والأساليب: 1 و MH079049. المملكة العربية السعودية. تم الحفاظ على الثقافات النقية لهذين الفطرين على مائل أجار دكستروز البطاطس وتخزينها عند درجة حرارة 4 درجات مئوية. *niger* 1 (MH079049) باستخدام مرق Tween 80، باختصار، تم استخدام مخروطة فطرية (3x107 أبواغ/مل) معلقة في محلول ملح معدني لتطعيم السلالتين الفطريتين بشكل منفصل. بعد ذلك، بعد 5 أيام من الحضانه، تم استخدام ورق ترشيح Whatman رقم 1 لتصفية النمو الفطري لكل سلالة. بعد الطرد المركزي، تم الحصول على طافين واضحين يحتويان على إنزيم الليباز الخام لكل سلالة. فحص إنتاج الليباز باستخدام (p-Nitrophenyl Palmitate (pNPP كركيزة نظراً لأن الليباز يكسر الركيزة p-

(Nitrophenyl Palmitate (pNPP)، فقد تم استخدام طريقة التحلل المائي pNPP الشائعة لتقييم إنتاج الليباز. لكل سلالة، تمت إضافة قسامة (100 ميكرو لتر) من كل طاف واضح إلى 900 ميكرو لتر من خليط التفاعل بالتركيب التالية: 800 ميكرو لتر من محلول كحول البولي فينيل 0.25٪ عند درجة حموضة 6.5 و 100 ميكرو لتر من محلول (3 pNPP مم) في الأيزوبروبانول. بعد الحضانة، تم إنهاء التفاعل بإضافة 500 ميكرو لتر من حمض الهيدروكلوريك (3 مم) إلى المخاليط (1:1 حجم / حجم). تمت إضافة قسامة (500 ميكرو لتر) من الخليطين الآخرين إلى 1 مل من 2 NaOH مم). لقياس نشاط الإنزيم، تم استخدام منحنى قياسي كما هو موضح سابقاً بواسطة أوليفيرا وآخرون. في ظل الظروف المحددة. مميزة للليباز في الرقم الهيدروجيني 8، تم اتباع الإجراء 26 Sethi et al. لتحديد درجة الحرارة الفعالة لنشاط إنزيم الليباز واستقراره. تم استخدام المواد الطافية الواضحة مع هذه العوامل لتحديد الظروف المثلى لنشاط الليباز واستقراره لاستخدامه في مختلف التطبيقات الصناعية والتجارية: (أ) درجات حرارة مختلفة تتراوح من 25 إلى 70 درجة مئوية؛ (ب) درجة حموضة مختلفة تتراوح من 1 إلى 10 لمدة 24 ساعة؛ (الأسيتون) 28؛ توين 20، 27 EDTA. تحديد كفاءة الليباز بعد تحديد الحالة المثلى للإنزيم، تم اختبار المواد الطافية الواضحة، لكفاءتها في المنظفات (A)؛ (ب) إزالة بقع الزيت من الأقمشة؛ (ج) الدهون الحيوانية الطبيعية المهينة 30 pandah. باختصار، تم خلط المواد الطافية الصافية مع المنظفات السائلة و/أو المسحوقة بتركيزات 0.1٪ و 1٪ (حجم:حجم أو وزن/حجم) لمدة 30 دقيقة عند 35 درجة مئوية. تم أيضاً اختبار المواد الطافية الواضحة لكفاءتها في إزالة بقع الزيت من الأقمشة وفقاً لبروتوكول Das et al. 31. باختصار، تم تقطيع قماش بولي قطن إلى قطع (3 سم × 2 سم) وتم تلطيخ كل قطعة بقطرة من زيت السيارة أو السمك المقلي أو زيت الشوكولاتة. تم بعد ذلك ترك قطع القماش حتى تجف ووضعها في دورق سعة 100 مل مع أربع معالجات مختلفة. كانت المعالجات الأربعة هي: (أ) ماء (100 مل)، (ب) ماء مع منظف 1٪ (وزن/حجم) (99 مل 1٪+4 مل)، (ج) ماء مع الليباز (99 مل 1٪+4 مل)، (د) ماء مع الليباز ومنظف (98 مل 1٪+4 مل 1٪+4 مل). تم إجراء كل علاج على نسختين، مرة واحدة بالماء البارد (25 ± 2 °C درجة مئوية) ومرة بالماء الساخن (65 ± 2 °C درجة مئوية). تم تحضير جميع العلاجات وتحريكها بلطف لمدة 30 دقيقة. لتقدير كمية الأحماض الدهنية الحرة التي تم إطلاقها خلال كل علاج، 32. تحليل الدهون الحيوانية الطبيعية : تم اختبار المواد الطافية الواضحة لكفاءتها في تحطيم الدهون الحيوانية الطبيعية بعد بروتوكول 5 Uppada et al. (ج) ووضعها في أنابيب قبل إضافة المواد الطافية الصافية. 1. niger MH078571. A. بعد الحضانة، تم وزن قطع الدهون، 25. تحليل احصائي : تم إجراء جميع التجارب في ثلاث نسخ (ن = 3) واستخدمت القيم المتوسطة. تمثل العلامة ± 4 وأشرطة الخطأ الانحراف المعياري للمتوسط. 0. تم فحص الفروق الأقل أهمية (LSD) من خلال تحليل التباين (ANOVA) باستخدام برنامج SPSS الإصدار 2334. الموافقة الأخلاقية : نتائج : المواد الخافضة للتوتر السطحي، لذلك، تمت زراعة كلا العزلتين A. niger MH078571. 1 و A. 1 تحت الظروف المثالية التالية للحصول على أعلى نشاط للليباز الفطري الخام: تأثير درجة الحرارة : وبشكل عام فإن ارتفاع درجة الحرارة يؤدي إلى تسارع التفاعلات الكيميائية. ومع ذلك، يجب الأخذ في الاعتبار أن الإنزيمات عبارة عن بروتينات ويمكن أن تتلف بسبب الحرارة المرتفعة جداً أو عند تعرضها للحرارة لفترة طويلة. يتمتع كل إنزيم بنطاق درجة حرارة مثالي حيث يؤدي أفضل أداء؛ كان أعلى نشاط لإنتاج الليباز بواسطة A. 1 عند 45 درجة مئوية، حيث تم الحصول على أعلى أداء للليباز بعد ساعة من الحضانة (794.23 وحدة / مل) (الجدول التكميلي S1). بعد 24 ساعة من الحضانة، فقد تأثير نشاط الليباز عند 45 درجة مئوية 16٪ فقط (الشكل التكميلي S1). ومع ذلك، بالنسبة لـ A. niger MH079049. حيث تم الحصول على أعلى أداء للليباز بعد ساعة من الحضانة (796.79). كان نشاط الليباز لـ A. niger MH079049. 39 و 77.795. وحدة/مل، على التوالي. (الجدول التكميلي S2). بعد 24 ساعة من الحضانة، فقدت سلالة 14٪ A. niger MH078571. 1 من نشاط الليباز عند درجة الحموضة 8 بينما فقدت سلالة A. تعتبر فعالية الإنزيم في وجود هذه المذيبات ضرورية في العمليات الصناعية. يليه الميثانول والبيوتانول بينما كان الأيزوبروبانول والإيثانول الأقل تنشيطاً للإنزيم. تم استخدام المذيبات العضوية بتركيزين مختلفين (50٪ و 100٪) لاختبار النشاط الأمثل للليباز لكلا العزلتين. ومن المذيبات العضوية بلغت فعالية نشاط الليباز 96.5٪ للفطر A. niger MH078571. niger MH079049. تأثير المواد الخافضة للتوتر السطحي : كان نشاط الليباز لكلا العزلتين أفضل عند التركيز 0.42٪ لـ A. niger MH078571. 1 و 4.11٪ لـ A. 1. كان نشاط الليباز في وجود SDS هو الأقل فعالية بتركيز 0.1٪ (الجدول التكميلي S4؛ ترتبط الأيونات بالإنزيمات وتنشطها. الأيونات المرتبطة بالإنزيم يمكن أن تحسن أو تمنع نشاط الإنزيم. 1٪ و 1٪) لاختبار النشاط الأمثل للليباز لكلا العزلتين. أظهر تركيز الأيونات 0. ومن بين

الأيونات الثمانية بلغت فعالية نشاط الليباز 102% لعزلة 1. A. niger MH078571. بوجود كل من كبريتات المنغنيز وكبريتات الزنك. بالنسبة لـ A. niger MH079049. الشكل التكميلي S5). تحديد درجة حرارة التخزين المثلى للليباز : تم توضيح العلاقة بين نشاط الليباز ودرجة حرارة التخزين في الجدول التكميلي S6 والأشكال التكميلية S6. أفضل درجة حرارة تخزين لـ 1. A. كانت عند - 80 درجة مئوية، 1. niger MH. 079049. حافظ الإنزيم على أكثر من 04.73% من نشاطه عند - 80 درجة مئوية بعد 4 أسابيع. لقد فقد هذا الإنزيم حوالي 98% من فعاليته في نفس ظروف التخزين عند 25 درجة مئوية بعد أربعة أسابيع (الجدول التكميلي S6). تحديد كفاءة نشاط الليباز في مخلفات الزيوت الطبيعية : يعد الزيت أحد العوامل الأساسية والأكثر أهمية في تحفيز إنتاج الإنزيم. ولذلك، تم استخدام أنواع مختلفة من بقايا النفط الموجودة في الطبيعة لكل من العزلتين 1. A. (الجدول التكميلي S7). إلا أن النتائج أظهرت أن الزيت المركب حافظ على نشاطه العالي خلال 15 يوما. تم استخدام العديد من المنظفات المسحوقة والسائلة بتركيزين مختلفين 0.07% لـ 1. niger MH078571. A. مع 1% Omo و 08.95% لـ A. niger MH. 1. 079049. مع 1% Persial (الجدول التكميلي 1. niger MH078571. S8). مع 0.1% Fairy و 54.97% لـ A. niger MH. الأشكال التكميلية S8-S7). إزالة بقع الزيت : لتحديد مدى فعالية الليباز في إزالة بقع الزيت من الأقمشة القطنية، تمت مقارنة أربع علاجات (الجدول 1 والشكل التكميلي S9). الشكل التكميلي S10). في المقابل، عند درجة حرارة 65 درجة مئوية عند معالجة القماش القطني بمنظف وحده، تمت إزالة حوالي 45% فقط من بقع الزيت؛ وعند معالجتها بالإنزيم وحده، تمت إزالة ما يقرب من 50% من بقع الزيت. من بين أنواع الزيوت الثلاثة (زيت السيارة، زيت السمك، وزيت الشوكولاتة)، كان لزيت السمك أعلى نشاط إنزيمي لكلتا العزلتين في وجود المنظفات والإنزيم معاً عند درجة حرارة 65 درجة مئوية. يمكن لإنزيم الليباز تحليل الدهون الثلاثية إلى أحماض دهنية وجلسرين. تم اعتماد قدرة الإنزيم هذه على تحليل الدهون الحيوانية (الدجاج والأغنام). S12). كان نشاط الليباز مرتفعاً في الأيام الثلاثة الأولى، حيث تمت أكثر من نصف عملية التحلل. مناقشة : الليباز هو أحد المحفزات الحيوية الأساسية. أنه يحفز التحلل المائي للدهون الثلاثية إلى الجلسرين والأحماض الدهنية.