تأثير بعض المركبات الكيميائية ومواد الشد السطحي والمنظفات على فعاليةاللايبيز المنقى من البنكرياس الكبدي لسرطان البحر *Portunus pelagicus* (L. 1758)

صباح مالك حبيب الشطي روضة محمود العلي *عمار ياسر جاسم السراجي

قسم علوم الأغذية– كلية الزراعة –جامعة البصرة

*قسم الفقريات البحرية– مركز علوم البحار–جامعة البصرة**

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة إلى تقدير بعض الصفات الكيموحيوية لإنزيم اللايبيز المنقى من سرطان البحر *Portunus pelagicus* ، وأوضحت النتائج تأثير بعض المركبات الأيونية على فعالية اللايبيز، وتأثيرها التثبيطي بوجود ايونات النحاس Cu^{+2} والحديد Fe^{+2} عند حضن الإنزيم مع ١ و٥ ملي مولاري والمنغنيز Mn^{+2} بتركيز ٥ ملي مولاري، في حين اظهرت كل من ايونات الكالسيوم Ca^{+2} والمغنيسيوم Mg^{+2} تأثيراً منشطاً واضحاً في فعالية اللايبيز عند حضن الإنزيم بتركيز ٥ ملي مولاري، وأوضحت النتائج أيضاً تأثر فعالية الإنزيم بوجود ايونات الكالسيوم Ca^{+2} والمغنيسيوم Mg^{+2} والمنغنيز Mn^{+2} بنسبة قليلة عند تركيز ١ ملي مولاري. لم تظهر المواد الكلابية والمختزلة EDTA و 2-mercaptoethanol و اليوريا Urea تأثيراً في فعالية إنزيم اللايبيز إذ احتفظ اللايبيز بمعظم فعاليته عند حضنه بتركيز ١ و ٥ ملي مولاري. وأظهرت النتائج زيادة في فعالية اللايبيز بوجود مواد الشد السطحي Tween 20 و Triton X-100 عند تركيز ٥ و ١٠ (حجم/حجم %) على التوالي ، في حين أظهرت المواد نفسها عند تركيز ١٠ و ٥ (حجم/حجم %) على التوالي و Tween 80 بتركيز ٥ و ١٠ (حجم/حجم %) و SDS بتركيز ٠.١ (وزن/حجم %) تأثيراً مثبطاً بسيطاً على فعالية اللايبيز. لوحظ ايضا عدم تأثر فعالية الإنزيم باستعمال بعض المواد الصابونية التجارية (Sana , Cleana , Bounx , Albana) عند تركيز 0.1 (وزن/حجم %).

الكلمات الدالة:أنزيم اللايبيز– سرطان البحر *Portunus pelagicus* -المركبات الأيونية– الصفات الكيموحيوية

جزء من رسالة ماجستير للباحث الثالث

المقدمة

عُرف اللايبيز Lipase لأول مرة من قبل العالم Claude Bernard عام ١٨٥٦ في عصارة البنكرياس وذلك من خلال تحلل قطرات صغيرة من الزيت محولاً إياها إلى نواتج ذائبة، كما اكتشف اللايبيز المايكروبي عام ١٩٠١ في مجموعة من بكتيريا *Bacillus prodigiosus, Bacillus pyocyaneus , Bacillus fluoresecens* . ودرست إنزيمات التحلل المائي العاملة على الكليسريدات الثلاثية triglycerides لأكثر من ٣٠٠ سنة مضت، وقدرت اللايبيزات التي تعمل على تخليق الكليسيريدات synthesis إلى ما يقارب من ٧٠ سنة خلت(١٢).تعود اللايبيزات الى إنزيمات تعرف بإنزيمات التحلل المائي للاستر ester hydrolases التي تقع ضمن صنف ٣.١ وفقاً الى التصنيف المقدم من الاتحاد العالمي للكيمياء الحياتية International Union of Biochemistry. ويظهر الشكل (١) تسمية اللايبيزات من خلال عملها على أسترات الأحماض الدهنية إذ يحلل استر الحامض الكاربوكسيل وبذلك يقع ضمن الصنف ٣.١.١ ، وتعمل معظم اللايبيزات على الاسترات في الكليسرول والتي تعتبر الجزيئة الرئيسة للدهون وتقع ضمن التصنيف EC 3.1.1.3 (٢٠).

Ester hydrolase (3.1)

⇩

Carboxyl esters hydrolases (3.1.1)

⇩

Glycerol ester hydrolases (EC 3.1.1.3)

شكل (١) تسمية إنزيمات اللايبيز وفقاً الى التصنيف العالمي لاتحاد الكيمياء الحياتية.

تشكل اللافقريات ١٠ – ١٣ % من مجموع صيد الأسماك في العالم، و من أهم أصنافها الرخويات إذ تشكل (١.٩ – ٢.٣) مليون طن سنوياً، وتمثل القشريات التي تدخل ضمنها

السرطان Crab والروبيان Shrimp وجراد البحر Lobster وغيرها نسبة ٧٨٠.٠٠٠ – ٩٩٠.٠٠٠ ألف طن سنوياً خلال الأعوام (١٩٥١ – ١٩٦١) (٤ ، ٦). أما مجموع الصيد المبلغ عنه بالنسبة لسرطان البحر *Portunus pelagicus* لدى منظمة الأغذية والزراعة التابعة للأمم المتحدة FAO لعام ١٩٩٩ بلغ ١٣٣.٩٣٨ ألف طن وفي حينها كانت الصين تمتلك العدد الأكبر إذ قدرت الكمية ٥٢.٥٧٧ ألف طن وتلتها الفلبين ٣٤.٠٧٦ ألف طن ولكن بلغ إجمالي الصيد لعام ٢٠٠٧ ما يقارب ١٧٢.٦٥١ ألف طن، وتباع هذه الأحياء في الأسواق المحلية والعالمية بشكل طازج أو مجمدة أو معلبة. ويمتاز هذا السرطان بكبر حجمه إذ يصل عرض الدرع للذكور الى ما يقارب ٢٠ سم (١٦). لم تغطى دراسة إنزيمات التحلل الدهني أو اللايبيز في الأحياء البحرية بشكل كافٍ، إذ كشف عن اللايبيز في العصارة المعوية لجراد البحر Lobsters من قبل Brockerhoff *et al.* (٨) ودراسة أخرى للايبيز من البنكرياس الكبدي لسرطان البحر الأخضر *Carcinus mediterraneus* من قبل Cherif*et al.* (١٠). لذلك جاءت هذه الدراسة وهي تكملة لسلسلة بحوث حول تنقية انزيم لايبيز البنكرياس الكبدي لسرطان البحر (١، ٢)

المواد وطرائق العمل

اتبعت طريقة Cherif *et al.* (10) لاستخلاص اللايبيز من البنكرياس الكبدي لسرطان البحر بعد تقطيع العينات وسحقها بواسطة الهاون الخزفي ثم مزجت بنسبة ١ : ٤ (وزن : حجم) بالمحلول الدارئ Tris – HCl بتركيز ٠.٠٢ مولاري برقم هيدروجيني ٨ الحاوي على ٠.١ مولاري كلوريد الصوديوم NaCl، ثم حضن المستخلص في الحمام المائي عند درجة حرارة ٦٠ م لمدة ١٠ دقائق، ومرر الإنزيم الناتج من الخطوة السابقة على عمود المبادل الأيوني DEAE – Sephadex A-50 ، وأجريت خطوات الغسل بمحلول الموازنة الدارئ Tris – HCl بتركيز ٠.٠٢ مولاري برقم هيدروجيني ٨ الحاوي على ٠.١ مولاري كلوريد الصوديوم NaCl، بسرعة جريان ٤٥ مل/ساعة بواقع ٥ مل/أنبوب. استردت الأجزاء المرتبطة بسطح المبادل الأيوني السالب بنفس محلول الغسل بوساطة التدرج الملحي الخطي NaCl بتركيز (٠ – ١) مولاري، ركز الإنزيم المتحصل عليه من الأجزاء الفعالة من خطوة التنقية السابقة باستعمال بلورات كبريتات الأمونيوم الصلبة بنسب إشباع متتالية تراوحت بين ٣٠ – ٧٠ %، مرر المستخلص الإنزيمي المركز الناتج من خطوة التنقية السابقة على عمود الفصل سيفادكس G-100. وأجريت عملية الاسترداد بالمحلول الدارئ نفسه، وجمعت الأجزاء المتدفقة من العمود في أنابيب اختبار بمعدل ٥ مل/أنبوب وبسرعة جريان ٣٠ مل/ساعة.

تقدير فعالية اللايبيز

قدرت فعالية اللايبيز المنقى من سرطان البحر *Portunus pelagicus*، بمتابعة تحرير الأحماض الدهنية من خلال التحلل المائي لمستحلب زيت الزيتون بفعل اللايبيز حسب الطريقة الموصوفة من قبل Macedo *et al.* (١٩) والتي ذكرها Prazeres *et al.* (٢١).

المحاليل المستعملة

محلول المستحلب

حضر المستحلب من مادة الصمغ العربي Arabic gum بتركيز ٧ %، بإذابة ٧ غم منه وإضافتها إلى ٥٠ مل من الماء المقطر وذوبت بشكل جيد على المحرك المغناطيسي إلى حد التجانس بعدها أكمل الحجم إلى ١٠٠ مل بالماء المقطر، واخذ منه ٧٥ مل وأضيف إليه ٢٥ مل من المادة الخاضعة زيت الزيتون Olive oil ومزج الخليط بواسطة الخلاط الكهربائي لمدة دقيقتين حتى الوصول إلى مستحلب متجانس.

دارئ Tris-HCl بتركيز ٠.٠٢ مولاري وبرقم هيدروجيني ٨ و ٠.١ مولاري NaCl.

محلول كلوريد الكالسيوم $CaCl_2$ بتركيز ٠.١١ مولاري.

محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH بتركيز ٠.٠٥ مولاري.

تقدير الفعالية الإنزيمية

وضع ٥ مل من محلول المستحلب في دورق سعة ١٠٠ مل وأضيف إليه ٤ مل من المحلول الدارئ بعدها أضيف ١ مل من المحلول كلوريد الكالسيوم ثم أضيف ١ مل من المستخلص الإنزيمي وحضن المزيج لمدة ٣٠ دقيقة عند درجة حرارة ٤٠ م في حاضنة هزازة بسرعة ١٠٠ دورة / دقيقة، ثم أوقف التفاعل بعد انتهاء مدة الحضن بإضافة ١٥ مل من مزيج أسيتون – ايثانول بنسبة (١ : ١)، بعدها أضيف ٢ – ٣ قطرات من كاشف الفينولفثالين وأجريت عملية التسحيح باستعمال محلول هيدروكسيد الصوديوم. حضر محلول السيطرة (Blank) بإتباع نفس الخطوات أعلاه من دون إضافة المستخلص الإنزيمي. وقدرت الفعالية الإنزيمية حسب معادلة Peled و Krenz المذكورة من قبل Degerli و Akpinar (١١).

$$U/ml = \frac{(Vs - Vb) \times 0.05 \times 10^3 \times D \times 10}{T}$$

U/m : الفعالية الإنزيمية وحدة / مل.

Vs : حجم القاعدة المستهلكة في العينة.

Vb : حجم القاعدة المستهلكة في محلول السيطرة Blank.

٠.٠٥ : التركيز المولاري للقاعدة NaOH.

10^3 : عامل ثابت (تحويل إلى مايكرومول). ١٠ : الحجم الكلي لخليط التفاعل.

D: التخفيف. **T :** زمن التفاعل

تعرف الوحدة الإنزيمية:- بأنها كمية الإنزيم اللازمة لتحرير واحد مايكرومول من الحامض الدهني خلال دقيقة واحدة في المليلتر الواحد.

تأثير بعض الايونات والمركبات الكلابية والمختزلة في فعالية اللايبيز

حضرت كل من المحاليل الأيونية والمركبات الكلابية والمختزلة بتركيزين١ و ٥ ملي مولاري لكل من كلوريد المنغنيز $MnCl_2$ وكلوريد النحاس $CuCl_2$ وكلوريد المغنيسيوم $MgCl_2$ وكلوريد الحديدوز $FeCl_2$ وكلوريد الكالسيوم $CaCl_2$ واليوريا Urea و EDTA و 2-Mercaptoethanol بإذابتها في الماء المقطر.

طريقة العمل

حضن ١ مل من اللايبيز المنقى مع ١ مل من تراكيز المحاليل الملحية والمركبات المختزلة والكلابية بصورة منفصلة عند درجة الحرارة المثلى للايبيز لمدة ٣٠ دقيقة، ثم سحب ١ مل من المزيج وأضيف إلى مزيج التفاعل وقدرت الفعالية الإنزيمية المتبقية (%).

تأثير مواد الشد السطحي وبعض المواد الصابونية في فعالية اللايبيز

حضرت محاليل مواد الشد السطحي بتركيزيين (٥ و ١٠)% (وزن : حجم) بصورة منفصلة لكل من المواد المستعملة التالية: Triton X-100 , Tween 80 , Tween 20 وتم تحضير محلول SDS بتركيز ٠.١ % .

حضرت مجموعة من المواد الصابونية التجارية التالية (Cleana , Bounx , Albana , Sana) بتركيز ٠.١ % بنسبة (وزن : حجم).

طريقة العمل

حضن ٥٠ مايكرولتر من الإنزيم المنقى مع ٥٠ مايكرولتر من كل مادة بشكل منفصل عند درجة حرارة ٣٧ م لمدة ٦٠ دقيقة، وقدرت الفعالية الإنزيمية المتبقية (%).

النتائج والمناقشـــة

تأثير الايونات المعدنية في فعالية اللايبيز

درس تأثير الايونات المعدنية على فعالية اللايبيز المنقى من البنكرياس الكبدي لسرطان البحر، إذ يوضح الجدول (١) تأثير كل من ($CaCl_2$, $MgCl_2$, $FeCl_2$, $CuCl_2$, $MnCl_2$) عند تركيز ١ و ٥ ملي مولاري. وقد اظهر المنغنييز Mn^{+2} المعد بتركيز ٥ ملي مولاري انخفاضاً في الفعالية الإنزيمية فقد بلغت الفعالية المتبقية للايبيز ٦٥.٨ %. في حين بلغت الفعالية المتبقية ٨٤ و ٧٧ % عند معاملة الإنزيم مع ايونات النحاس Cu^{+2} بتركيز ١ و ٥ ملي مولاري على التوالي، وأدت ايونات الحديدوز Fe^{+2} انخفاضاً واضح في فعالية الإنزيم إذ قدرت الفعالية المتبقية للايبيز ٧٥ و ٦٢.٢ % عند معاملتها بتركيز ١ و ٥ ملي مولاري على التوالي.

كما بينت الدراسة إن بعض الايونات المعدنية أدت إلى تنشيط الإنزيمات من خلال تسجيل الزيادة الحاصلة في الفعالية إذ ازدادت نسبة الفعالية المتبقية للإنزيم عند حضنه مع ايونات المغنيسيوم Mg^{+2} والكالسيوم Ca^{+2} بتركيز ٥ ملي مولاري إذ بلغت ١١٣.٤ و ١٠٤ % تباعاً، بينما كانت نسبة الفعالية المتبقية ١٠٠.٦ و ٩٣.٣ و ٩٨ % للايبيز عند حضنه مع ايونات الكالسيوم Ca^{+2} والمغنيسيوم Mg^{+2} والمنغنيز Mn^{+2} على التوالي بتركيز ١ ملي مولاري، جاءت هذه النتائج مقاربة لدراسة Kakugawa *et al.* (١٧) إذ أظهرت النتائج أن ايون المنغنييز Mn^{+2} بتركيز ١ ملي مولاري لم يؤثر في فعالية الإنزيم إذ بلغت الفعالية المتبقية ٩٧ % للايبيز المنقى من خميرة *Kurtzmanomyces* sp. 1-11، كما وضح Huang *et al.* (١٥) التأثير التنشيطي لايونات الكالسيوم Ca^{+2} والمغنيسيوم Mg^{+2} عند تركيز ٦ ملي مولاري على فعالية اللايبيز المنقى من فطر *Geotrichum marinum* إذ بلغت الفعالية المتبقية ١٠٤ و ١٢٥ % على التوالي، أما ايونات الحديد Fe^{+2} والنحاس Cu^{+2} فإنها قللت من فعالية الإنزيم عند التركيز نفسه والبالغة ٥١ و ٥٢ % على التوالي. وفي دراسة أخرى بين فيها Liu *et al.*(١٨) ان هناك تباين في تأثير بعض الايونات على اللايبيز المعزول من فطر *Aureobasidium pullulans* HN2.3 إذ إن ايون الحديد Fe^{+2} له دور تنشيطي بتركيز ١ ملي مولاري فبلغت الفعالية المتبقية ١٠٤.٤ % وثبطت الفعالية عند تركيز ٥ ملي مولاري

وكانت ٧٧%، ولم تؤثر ايونات المنغنييز Mn^{+2} والنحاس Cu^{+2} عند تركيز ١ ملي مولاري وقدرت الفعالية المتبقية ١٠٠ و ٩٨ % على التوالي، وكان لهما دور تثبيطي بتركيز ٥ ملي مولاري فكانت الفعالية المتبقية ٧١ و ٦٢ % على التوالي. أما بالنسبة إلى ايونات الكالسيوم Ca^{+2} والمغنيسيوم Mg^{+2} كان لهما دور تنشيطي بتركيز ١ ملي مولاري وبلغت الفعالية المتبقية ١٠١.١ و ١٠٥ % على التوالي ولكن عند زيادة التركيز عند ٥ ملي مولاري عكس ذلك على فعالية الإنزيم إذ بلغت الفعالية المتبقية ٧٣ و ٧٨% تباعاً. إذ تقوم الايونات المعدنية في الحفاظ على جزيئة الإنزيم والإسهام في زيادة الفعالية من خلال مشاركتها في تبادل الالكترونات أو تقريب الإنزيم والمادة الخاضعة من بعضها البعض بواسطة روابط مساعدة أو مسك المجاميع المتفاعلة في الشكل الثلاثي الأبعاد (٥).

تأثير العوامل المختزلة والكلابية في فعالية اللايبيز

أظهرت نتائج الفعالية المتبقية عند حضن الإنزيم مع EDTA لمدة ٣٠ دقيقة وعند درجة حرارة ٣٧ م بتركيز ١ و ٥ ملي مولاري والبالغة ٩٨.٨ و ٩٣ % على التوالي (جدول ٢). إذ لوحظ أن اللايبيز تأثر قليلاً بوجود هذا المركب الذي يعد من العوامل المخلبية العاملة على سحب ايونات المعادن ثنائية الشحنة الموجودة في تركيب الإنزيم أو في وسط التفاعل، وقد يدل ذلك على عدم انتماء اللايبيز قيد الدراسة إلى مجموعة الإنزيمات أو اللايبيزات المعدنية (Metallo lipases) ضمن الظروف والتراكيز المستعملة للمركب EDTA قيد الدراسة. جاءت هذه النتائج مقاربة لما ذكره Kakugawa *et al.* (١٧) إذ بلغت الفعالية المتبقية ٩٨ % بتركيز ١ ملي مولاري، في حين بلغت الفعالية المتبقية ١٠٣.٢ و ٩٠.٤ % بتركيز ١ و ٥ ملي مولاري على التوالي (١٨).

جدول (١) تأثير الايونات المعدنية في فعالية اللايبيز المنقى من البنكرياس الكبدي لسرطان البحر.

المواد الكيميائية	التركيز (ملي مولاري)	الفعالية المتبقية (%)
إنزيم غير معامل	–	100
$MnCl_2$	1	٩٨
	5	٦٥.٨
$CuCl_2$	1	٨٤
	5	٧٧
$FeCl_2$	1	٧٥
	5	٦٢.٢
$MgCl_2$	1	٩٣.٣
	5	١١٣.٤
$CaCl_2$	١	١٠٠.٦
	٥	١٠٤

المواد الكيميائية	التركيز (ملي مولاري)	الفعالية المتبقية (%)
إنزيم غير معامل	–	100
EDTA	١	٩٨.٧٨
	٥	٩٣
2-mercaptoethanol	١	٩٦
	٥	٩٨
Urea	١	٩٦.٧
	٥	٩٦.٧

جدول (٢) تأثير بعض المركبات المختزلة والكلابية في فعالية اللايبيز المنقى من البنكرياس الكبدي لسرطان البحر.

بينت نتائج الدراسة عدم تأثر فعالية اللايبيز عند حضنه مع مركب 2-mercaptoethanol عند تركيز ١ و ٥ ملي مولاري، إذ بلغت الفعالية المتبقية ٩٦ و ٩١ % على التوالي (جدول٢). إذ أظهرت الدراسات تبايناً في استعمال هذا المركب وذلك تبعاً لاختلاف مصادر الإنزيم إذ بين Aryee *et al.* (٧) إن لمركب 2-mercaptoethanol دوراً تنشيطياً عند حضنه مع اللايبيز عند درجة حرارة ٢٥ م لمدة ٣٠ دقيقة بتركيز ١ و ١٠ % وبلغت الفعالية المتبقية ١٠٦ و ١٥٦ % على التوالي. انخفضت الفعالية المتبقية عند حضن الإنزيم المعزول من بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* PseA مع مركب 2-mercaptoethanol بتركيز ١ و ٨ ملي مولاري إلى ٤٢ و ٣٠ % على التوالي (١٢)، قد يعزى سبب عدم تأثر الانزيم لهذا المركب لعدم احتواء الموقع الفعال على مجموعة ثنائية الكبريت (S-S) ضمن الظروف والتراكيز المستعملة لمركب 2-mercaptoethanol (٣).ويشير الجدول(٢) الى عدم تأثر فعالية اللايبيز عند حضنه مع اليوريا Urea عند معاملته بتركيز ١ و ٥ ملي مولاري إذ بلغت الفعالية المتبقية ٩٨ و ٩٦.٧ % على التوالي، وقد يعزى ذلك الى عدم تأثر تركيب وطبيعة البروتين ضمن الظروف والتراكيز المستعملة لليوريا وبالتالي عدم فقدان فعاليته.

تأثير مواد الشد السطحي في فعالية اللايبيز

يبين الجدول (٣) تأثير مجموعة من مواد الشد السطحي في فعالية اللايبيز المنقى والمستعملة بتركيز ٥ و ١٠ (حجم/حجم %)، وقد أظهرت النتائج إن لمواد الشد السطحي تأثيراً واضحاً على فعالية الإنزيم، إذ انخفضت الفعالية عند استعمال مادة Tween 80 بتركيز ٥ و ١٠ % إلى ٨٤ و ٦٥.٨ % على التوالي، في حين انخفضت الفعالية بشكل طفيف عند استعمال Tween 20 بتركيز ١٠% و Triton X-100 عند تركيز ٥% وبلغت الفعالية ٩٧ و ٩١ %على التوالي، بينما ازدادت الفعالية لكل من Tween 20 بتركيز ٥% و Triton X-100 بتركيز ١٠ % بلغت ١٠٢ و ١٠٦ % على التوالي. إن سبب زيادة الفعالية قد يرجع الى أن مواد الشد السطحي تسهل من وصول المادة الخاضعة إلى الإنزيم من خلال ثباتية مساحة السطح البيني، وتزيد من مساحة السطح البيني للدهن – الماء وتحسن من كفاءة التفاعل عند إضافتها وقد يعزى سبب انخفاض الفعالية الى زيادة تركيز Tween 80 بحيث يصبح اكثر من تركيز الانزيم (٩، ١٢). في حين بلغ مقدار الفعالية المتبقية عند حضن الإنزيم مع SDS بتركيز ٠.١ % وهو ٨٢ %. وقد يرجع سبب انخفاض فعالية اللايبيز إلى منحه الكثير من الشحنات السالبة على السطح البيني مما يزيد من تنافر القوى الالكتروستاتيكية بين الإنزيم والسطح البيني في حالة الاستحلاب لمادة التفاعل (٧).

المادة	التركيز (حجم/حجم%)	الفعالية المتبقية (%)
إنزيم غير معامل	–	100
Tween 20	5	١٠٢
	10	97
Tween 80	5	84
	10	65.8
Triton X-100	5	91
	10	١٠٦
SDS	0.1 (وزن/حجم %)	٨٢

جدول (٣) تأثير مواد الشد السطحي في فعالية اللايبيز المنقى من البنكرياس الكبـــدي لســـرطان البحر.

جاءت هذه النتائج متوافقة مع دراسة Prazeres *et al.* (١٧) اذ ذكر ان اللايبيز الفطري المنتج من *Fusarium oxysporum* المتبقية ٦٩.٩٣ % عند تركيز ١٠ %، إلا إن كل من Tween 20 و Triton X-100 قدرت فيها الفعالية المتبقية عند التركيز نفسه فكانت ٩٨.٧٥ و 110.72 % على التوالي. وانخفضت الفعالية المتبقية بحضن اللايبيز المنقى من بكتيريا *Bacillus cereus* مع SDS بتركيز ٠.٠٠٥ و ٠.٠٥ % إلى ٨٦ و ٧٩ % على التوالي (٩).

تأثير بعض المواد الصابونية في فعالية اللايبيز

درس تأثير بعض المواد الصابونية التجارية على فعالية اللايبيز المنقى من البنكرياس الكبدي لسرطان البحر، إذ يوضح الجدول (٤) تأثير كل من (Sana , Cleana , Bounx , Albana) وعند تركيز 0.1 (وزن/حجم %). إذ بينت النتائج عدم تأثر هذه المنظفات على فعالية اللايبيز، إذ يمكن القول إن اللايبيز قيد الدراسة أكثر مقاومة مع هذه المنظفات التجارية ضمن الظروف والتراكيز المستعملة

المواد الصابونية	التركيز (وزن/حجم%)	الفعالية المتبقية (%)
إنزيم غير معامل	0	100
Albana	٠.١	100
Bounx	٠.١	٩٨.٧
Cleana	٠.١	٩٨
Sana	٠.١	100

جدول (٤) تأثير بعض المنظفات التجارية في فعالية اللايبيز المنقى من البنكرياس الكبدي لسرطان البحر.

تباينت نتائج الدراسات نظراً لاختلاف مصادر الإنزيم واختلاف نوع المنظفات المستعملة، إذ بين *Prazeres et al.* (٢١) إن للمنظفات Omo و Vida Plus و Tixa و Ace و Ariel و Brilhante و Surf وRevel دوراً تثبيطياً عند حضنها مع اللايبيز المنقى من فطر *Fusarium oxysporum* بتركيز ٠.١ % وزن/حجم عند درجة حرارة الغرفة لمدة ٦٠ دقيقة حيث بلغت الفعالية المتبقية ٢٠.١٩ و ٤٨.٩١ و ٢١.٥٥ و ٥٢.٥٥ و ٣٤.٩٣ و ٢٢.٦٥ و ٣١.٩٤ و ٣٠.٥٥ % على التوالي. بلغت الفعالية المتبقية ١٠٠% عند حضن المنظفات Ariel و Axion وOmino وBianco مع اللايبيز المعزول من بكتيريا *Staphylococcus aureus* بتركيز ١ % وزن/حجم عند درجة حرارة ٤٠ م لمدة ٦٠ دقيقة (١٤).

المصـــادر

١. السراجي، عمار ياسر جاسم (٢٠٠٩). تنقية وتوصيف لايبيــز البنكريـــاس الكبـــدي لسرطان البحر *Portunus pelagicus (Linnaeus,1758)*. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة البصرة، ١١٨ صفحة

2. السراجي، عمار ياسر جاسم و روضة محمود العلي وصباح مالـــك حبيـــب الشـــطي (٢٠١١).تنقية لايبيز البنكرياس الكبدي لسرطان البحر *Portunus pelagicus* (L.1758). مقبول للنشر في مجلة علوم ذي قار حسب كتابهم المرقم ٢٢٤ في ٢٠١١/٣/٧.

٣.**الموسوي ، ازهار جواد** (٢٠٠٧). تنقية وتوصيف لايبيزات الخلايا متعددة الانوية Polymorphonuclear المعزولة من حليب الأبقار المصابة بالتهاب الضرع وتأثير الخلايا الجسمية في التحلل الدهني لجبن الجدر، أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

٤. **الطائي ، منير عبود جاسم** (١٩٨٧). تكنولوجيا اللحوم والأسماك، مطبعة دار الكتب، جامعة البصرة، ٤٢١ صفحة.

٥.**دلالي ، باسل كامل** (١٩٨٣). فهم الإنزيمات، مطابع جامعة الموصل ، جامعة الموصل. (ترجمة)

٦.**هندي، مازن جميل (١٩٨٦).** تكنولوجيا المنتجات السمكية، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل. (ترجمة)

7.Aryee, A. N. A.; Simpon, B. K. and Villalonga, R. (2007). Lipase fraction from the viscera of grey mullet (*Mugil cephalus*). Isolation, partial purification, and some biochemical characteristics. Enzyme and Microbial Technology, 40: 394 – 402**.**

8- Brockerhoff, H.; Hoyle, R. J and Hwang, P. C. (1970). Digestive enzymes of the American lobster (*Homarus americanus*). Journal of the Fisheries Research Board of Canada , 27: 1357 – 1370.

9-Chen, S.; Qian, L. and Shi, B. (2007). Purification and properties of enantioselective lipase from a newly isolated *Bacillus cereus* C71. Process Biochemistry, 42: 988 – 994.

10-Cherif, S.; Fendri, A.; Miled, N.; Trabelsi, H.; Mejdoub, H. and Gargouri, Y. (2007). Crab digestive lipase acting at high temperature: purification and biochemical characterization. Biochimie, 89: 1012 – 1018.

11.Degerli, N. and Akpinar, M. A. (2002). Partial purification of intestinaltriglyceride lipase from *Cyprinion macrostomus*

(Heckel, 1843) and effect of pH on enzyme activity . Turkish Journal of Biology, 26: 133 – 143

12.Gaur, R.; Gupta, A. and Khare, S. K. (2008). Purification and characterization of lipase from solvent tolerant *Pseudomonas aeruginosa* PseA. Process Biochemistry**,** 43: 1040 – 1046.

13.Hasan, F.; Shah, A. A. and Hameed, A (2006). Industrial applications of microbial lipases: Enzyme and Microbial Technology, 39 (2): 235 – 251.

14.Horchani, H.; Mosbah, H.; Salem, N. B.; Gargouri, Y. and Sayari, A. (2009). Biochemical and molecular characterization of a thermoactive, alkaline and detergent-stable lipase from newly isolation *Staphylococcus aureus* strain. ***Journal of*** Molecular Catalytsis B: Enzymatic**,** 56: 237 – 245.

15.Huang, Y.; Locy, R. and Weete, J. D. (2004). Purification and characterization of an extracellular lipase from *Geotrichium marinum*. ***Lipids,*** 39(3): 251 – 257.

16.Josileen, J. and Menon, N. G. (2004). Larval stages of the blue swimming crab *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1785) (Decapoda,Brachyura). Crustaceana , 77 (7): 785-803.

17.Kakugawa, K.; Shobayashi, M.; Suzuki, O. and Miyakawa, T. (2002). Purification and characterization of a lipase from the glycolipid-producing yeast *Kurtzmanomyces* sp. I-11. Bioscience,Biotechnologyand Biochemistry**,**66(5):978 – 985.

18.Liu, Z.; Chi, Z.; Wang, L. and Li, J. (2008). Production, purification and characterization of an extracellular lipase from *Aureobasidium ullulans* HN2.3 with potential application for the hydrolysis of edible oils. Biochemical Engineering Journal**,** 40: 445 – 451.

19.Macedo, G. A.; Park, Y. K. And Pastore, G. M. (1997). Partial purification and characterization of an extracellular lipase from a newly isolated strain of *Geotrichum* sp.. ***Revista de*** Microbiologia, 28, 90-95.

20.Palleroni, N. J. (1984). Gram-negative aerobic rods and cocci. Family I. *Pseudomondaceae*. **In:** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. I, Kreig, N. R. and Holt, J. G. (Eds.), Williams and Wilkins Co., Baltimore, MD, pp: 140 – 199.

21.Prazeres, J. N. D.; Cruz, J. A. B. and Pastore, G. M. (2006). Characterization of alkaline lipase from *Fusarium oxysporum* and the effect of different surfactants and detergents on the enzyme activity. ***Brazilian Journal of Microbiology,*** 37: 505 –. 509

Basrah . J.Agric.Sci., 20 (2)2007

EFFECT OF SOME CHEMICAL COMPOUNDS, SURFACTANT MATERIALS AND COMMERCIAL DETERGENTS ON THE ACTIVITY OF LIPASE ENZYME PURIFIED FROM HEPATOPANCREASE OF CRAB *Portunus pelagicus* (L. 1758)

Sabah M. H. AL-Shatty[1] Raodah M. Al-Ali[1] Amar Y. J. Al-Sraji*

[1]*Food Science Department - College of Agriculture- Basrah University*
Marine Vertebrate Department- Marine Science Center - Basrah University

Basrah-IRAQ

SUMMARY

This study aimed to assess partial biochemical characteristic of the enzyme purified from crab *portunus pelagicus*, some of the ion compounds inhibition the activity of lipase, in the presence of copper and iron ions when incubated of the enzyme with 1 and 5 mM and 5 mM manganese, while both of a calcium and magnesium ions increase in the activity of the enzyme at the concentration of 5 mM, and the results showed the activity of the enzyme was also affected by the presence of calcium ions, magnesium and manganese by a few at the concentration of 1 mM. There is no effect of the chelating agents and reduction as EDTA and 2-mercaptoethanol and Urea on the activity of lipase, when incubated it in 1 and 5 mM. Results showed an increase in the activity of lipase in the presence of surfactant materials such as Tween 20 and Triton X-100 at the concentration of 5 and 10 (V /V%), respectively, while the some materials at 10 and 5 (V /V%), 5 , 10 (V /V%) of Tween 80 , 0.1 (W/ V%) of SDS showed simple inhibition of lipase. Commercial detergents such as (Sana , Cleana , Bounx , Albana) at 0.1 mM were not affect on lipase activity.

Key words:- Lipase-Crab- *Portunus pelagicus*- The Ion Compounds-Biochemical Characteristics

***This paper is apart of MSc. thesis of the third author.**

*جزء من رسالة ماجستير للباحث الثالث