

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

www.ketab.ir

توان تولید آنزیم آلفا آمیلاز در سویه‌های

آمیلاز پلوس اوریزه

محدثه رادمنش

وحید حسینی



۱۳۹۶



توان تولید آنزیم آلfa آمیلاز در سویه های اسپرژیلوس اوریزه

نویسنده محدثه رادمهر، وحید حسنی	سرشناسه وان و نام پدیدآور توان تولید آنزیم آلfa آمیلاز در سویه های اسپرژیلوس اوریزه/محدثه رادمهر، وحید حسنی. تهران: انتشارات ماهواره، ۱۳۹۶.
ناشر ماهواره	منشأ، نشر مشخصات ظاهری شابک وضعیت فهرست نویسی موضوع موضوع موضوع موضوع موضوع شناسه افزوده رده بندی کنگره شماره کتابشناسی ملی
صفحه آرای و طراحی جلد ماهواره	۱۶۳ ص. ۳-۱۱۲-۴۵۹-۶۰۰-۹۷۸
سال و نوبت چاپ بهار ۱۳۹۶	آس-ریلوس Aspergillus آمیلاز Amylases
شمارگان ۵۰ جلد	آنزیم ها -- سنتز Enzymes -- Synthesis
شابک ۹۷۸-۶۰۰-۴۵۹-۱۱۲-۳	حسینی، وحید، ۱۳۶۷ - QK۸۹۶: ۴۷۰۷۷۴۵
کلیه حقوق این اثر محفوظ می باشد.	تلفن: ۰۹۱۲۰۶۱۷۲۸۳ سایت انتشارات: www.chapketab.com
	قیمت ۱۵۰۰۰ تومان



۱۱..... پیشگفتار

۱۵..... مقدمه

فصل ۱

بنای های نظری ۱۹/

۱۹..... قارچ ها

۲۱..... ویژگی های قارچ ها

۲۳..... تولیدمثل در قارچ ها

۲۳..... طبقه بندی قارچ ها

۳۱..... انواع قارچ ها

۳۳..... قارچ های کپکی

۳۶..... قارچ های مخمیری

۳۸..... آسپرژیلوس

۳۹..... اکولوزی

۴۰..... راههای انتقال گونه ها آسپرژیلوس

۴۱	ویژگی‌های میکروسکوپی
۴۱	تشخیص مولکولی برای قارچ آسپرژیلوس
۴۲	گونه‌های Aspergilosis
۴۳	Aspergillus niger
۴۴	Aspergillus fumigatus
۴۵	Aspergillus flavus
۴۶	Aspergillus terreus
۴۷	Aspergillus nidulans
۴۸	Aspergillus oryzae
۵۰	آنزیم
۵۱	کاربرد آنزیم‌ها
۵۱	آنزیم آمیلاز
۵۲	کاربرد آنزیم آلفا آمیلاز در صنایع غذایی
۵۳	ویژگی‌های آلفا آمیلازها
۵۴	پسماند
۵۵	واکنش زنجیرهای پلیمراز (PCR)
۵۷	کاربردهای PCR
۵۸	مشکلات PCR
۵۸	انواع PCR
۶۶	تکنیک الکتروفورز

۶۹	توالی یابی
۷۰	تاریخچه
۷۲	روش های خالص سازی آنزیم ها
۷۳	مطالعات

فصل ۲

بنیان های آزمایشگاهی / ۷۷

۷۷	مواد و وسایل دستگاه های مورد استفاده در آزمایشها
۷۷	وسایل مورد نیاز
۷۹	دستگاه های به کار رفته
۸۰	مواد مورد نیاز
۸۱	طرز تهیه بافرها
۸۱	طرز تهیه بافر TE
۸۱	طرز تهیه بافر TBE
۸۲	طرز تهیه بافر لودینگ
۸۲	طرز تهیه ژل آگارز
۸۲	طرز تهیه ژل یک درصد
۸۱	طرز تهیه ژل ۰/۸ درصد
۸۱	طرز تهیه محیط کشتها
۸۳	طرز تهیه محیط کشت (PDA)
۸۴	طرز تهیه محیط کشت معدنی

۸۵	نوع و روش مطالعه
۸۵	محل انجام پروژه
۸۵	نمونه گیری
۸۵	تهیه نمونه گونه <i>Aspergillus Oryzae</i> از مراکز معتبر علمی
۸۶	نمونه سویه <i>Aspergillus Oryzae</i> جدا شده از طبیعت
۸۶	نمونه گیری پسماندها
۸۶	کشت روی محیط (PDA)
۸۶	تهیه استوک، بذر ها
۸۷	تهیه ماده تلقیح
۸۷	تولید آنزیم به وسیله تخمیر حالت جامد
۸۸	استخراج آنزیم
۸۸	بررسیهای فعالیت آنزیمی
۹۰	تولید آمیلاز در تخمیر غوطه ور شده (SMF)
۹۱	تأثیر منبع کربنی، pH اولیه محیط و دمای انکوباسیون بر روی تولید آنزیم
۹۱	اندازه گیری فعالیت آنزیم
۹۲	ویژگی آنزیم
۹۳	پایداری حرارتی
۹۳	پایداری pH
۹۴	روش استخراج DNA از میکروارگانیسم ها
۹۵	ارزیابی کمی DNA استخراج شده

ارزیابی کیفی DNA استخراج شده	۹۵
طراحی پرایمر برای تکثیر از طریق واکنش زنجیره پلیمراز	۹۵
رقیق کردن پرایمرها	۹۶
شرایط واکنش تکثیری	۹۷
برنامه واکنش تکثیری	۹۷
آنالیز کیفی محصولات PCR	۹۸
تعیین توالی قطعات حاصل از واکنش زنجیره‌های پلیمراز	۹۹
نتایج کشت نمونه‌های روزبررسی روی محیط (PDA)	۹۹
نتایج تهیه ماده تلقیح هاگ	۱۰۲
نتایج تولید آنزیم به وسیله تخمیر حالت جامد	۱۰۳
استخراج آنزیم طی تخمیر جامد	۱۰۴
نتایج تولید آمیلاز در تخمیر غوطه‌ور شده	۱۰۵
نتایج ارزیابی ویژگی آنزیم	۱۰۸
پایداری حرارتی	۱۱۴
پایداری pH	۱۱۵
نتایج کیفی و کمی استخراج DNA	۱۲۳
بررسی نتایج کیفی	۱۲۳
بررسی نتایج کمی	۱۲۴
نتایج بهینه‌سازی بهینه‌سازی واکنش PCR و اجرای واکنش بر روی ۳ جدایه‌ها	۱۲۵
نتیجه تعیین توالی محصول تکثیری ۳ جدایه	۱۲۶

توالی ژنی قارچ اسپرژیلوس اوریزه ۱۲۷

Alignment مربوط به تشخیص ایزوله جدا شده قارچ اسپرژیلوس اوریزه ۱۲۹

فصل ۳

نتایج/۱۳۵

فهرست منابع ۱۵۵

www.ketab.ir

پیشگفتار

آسپرژیلوس قارچ‌هایی هستند که به‌طور صنعتی مورد استفاده صنعتی قرار می‌گیرند تعدادی از گونه‌های این جنس باعث آلودگی محصولات کشاورزی مانند پسته، ذرت و دیگر تولیدات زراعی شده و علاوه بر تخریب کیفیت محصولات کشاورزی باعث مسمومیت و سرطان‌زایی در سایر موجودات از جمله انسان می‌گردد *Aspergillus oryzae* یکی از گونه‌های مفید آن می‌باشد که تولیدکننده آنزیم‌های لازم است که در ایجاد عطر و طعم دخالت دارد. به دلیل اهمیت این قارچ در زندگی انسان چه از جنبه‌های مثبت و چه از جنبه‌های منفی آن شناسایی گونه‌های مختلف این قارچ حائز اهمیت است. نشاسته یکی از اجزاء اصلی و طبیعی موجود در ساقه نی غلات و حبوبات می‌باشد که در رشد گیاه تأثیر بسیار می‌گذارد. برای رفع مشکلات ناشی از وجود نشاسته در شربت، از آنزیم آلفا آمیلاز استفاده می‌شود. در مطالعه حاضر، بررسی‌های توان تولید آنزیم آلفا آمیلاز در سویه‌های *Aspergillus oryzae* بررسی ضایعات نشاسته‌ای و شناسایی مولکولی برترین سویه‌های تولیدکننده آنزیم پرداخته شده است.

نمونه‌های قارچی از کلکسیون میکروبی و پسماندهای صنعتی تهیه شده روی محیط (PDA) کشت داده شد. برای تولید آنزیم‌ها از محیط کشت معدنی برای تخمیر حالت جامد استفاده گردید. در ادامه تاثیر منبع کربن pH اولیه محیط و دمای انکوباسیون بر روی تولید آنزیم، بررسی شد. بعد از درست کردن سوسپانسیون هاگ تخمیر حالت جامد انجام گرفت. آنزیم‌ها پس از تخمیر استخراج یافتند و بر روی آن‌ها ارزیابی فعالیت آنزیم انجام گرفتند. تولید آمیلاز در تخمیر غوطه‌ور شده با اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پایداری، پایداری حرارتی، پایداری pH ارزیابی قرار گرفت. DNA نمونه‌ها به روش نشان استخراج شد. با استفاده از پرایمر اختصاصی توالی طراحی گردید. بعد از انجام PCR توالی‌یابی انجام یافت.

نتایج: کلنی‌های شعاعی در محیط (PDA) مشاهده شد. سوبسترای که فعالیت حداکثری در تولید آنزیم داشت، با واحدهای بین‌المللی (JU) بررسی‌های فعالیت آنزیمی شدند. تولید آمیلاز، رلحاظ ویژگی‌های حرارتی و pH مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند که از صحت آن‌ها بر خوردار بود. نمونه‌های مورد بررسی برای توالی‌یابی بعد از آنالیز صحت *Aspergillus oryzae* مشاهده گردید.

بحث و نتیجه‌گیری: مزیت اصلی استفاده از قارچ‌ها برای تولید آمیلاز ظرفیت تولید انبوه اقتصادی آن است. در مطالعات گذشته در سال ۲۰۱۲ هاشمی و همکاران تولید آمیلاز از قارچ‌ها با استفاده با تخمیر

غوطه‌ورسازی (SMF) و تخمیر حالت جامد (SSF) انجام داده‌اند. و امروزه آنزیم‌هایی که از نظر تجاری مهم هستند با این روش تولید می‌شوند. در کتاب حاضر توان تولید آنزیم آلفا آمیلاز به وسیله *Aspergillus oryzae* مورد ارزیابی قرار گرفت که توانایی بالای این سویه را در تولید آنزیم آلفا آمیلاز مشاهده شد.

www.ketab.ir