

مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارستان
گروه صنایع غذایی (کنترل کیفی و بهداشتی)

عنوان:

آنزیم های میکروبی: تولید و کاربرد

استاد راهنما:

سرکارخانم دکتر پزشکی

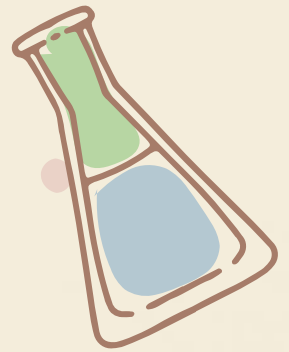
ارائه دهنده:

ریحانه شکیبا

کلاس ۲۰۱

۱۶ خرداد،

۱۴۰۲





Institute for medical science
Department of food science and technology



Microbial enzymes: production and their application

Supervisor:

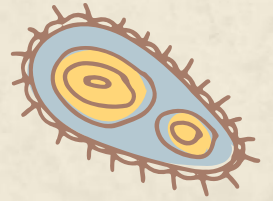
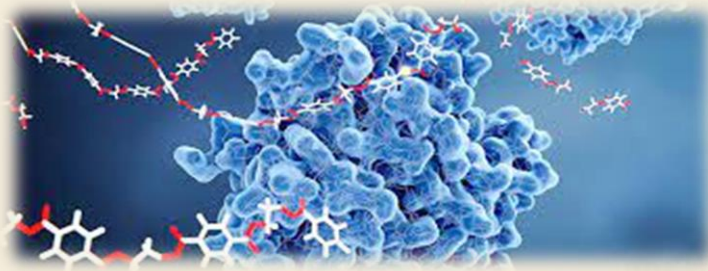
Dr. Pezeshki

Presented by:

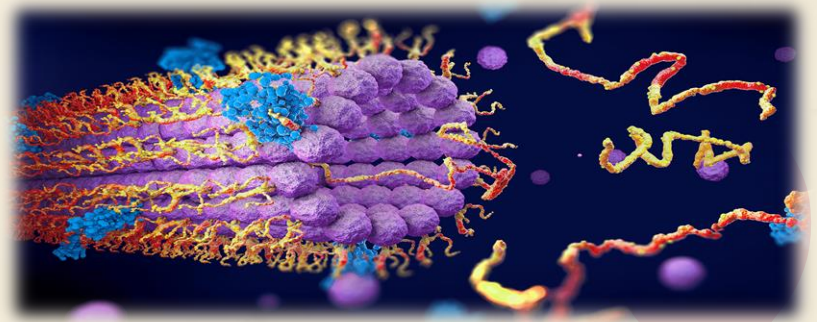
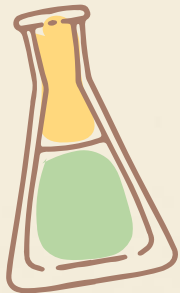
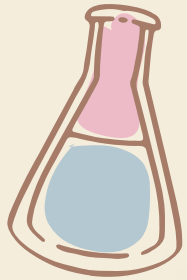
Reihane Shakiba

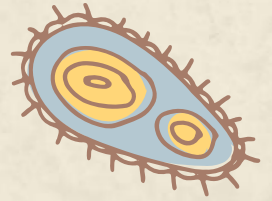
Class;
No.201
Date:
30 May, 2023





مقدمه



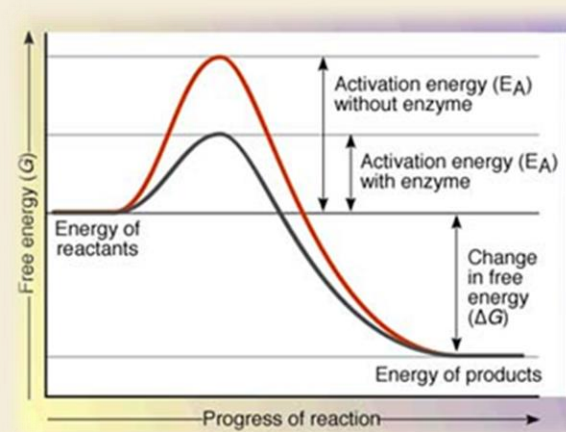
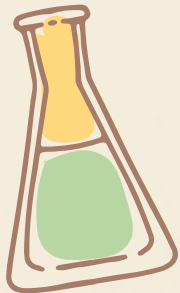
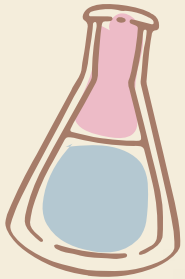


آنزیم ها (Enzymes)

ترکیبات پروتئینی که به منزله کاتالیزورهای حیاتی عمل میکنند. منجر به تغییرات مطلوب یا نامطلوب فیزیکی و شیمیایی

مکانیسم اثر آنزیم ها ← کاهش انرژی فعال سازی (Activation energy)

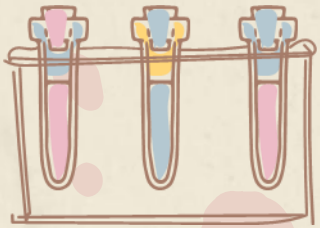
دو مزیت مهم آنزیم ها ۱- سرعت عمل بالا ۲- اختصاصی عمل کردن اکثر آنها



اهمیت آنزیم ها در صنعت

چندین دهه است که آنزیم های خالص شده کاربرد گسترده ای در صنعت پیدا کرده اند.

یکی از مسائل مهم در تولید آنزیم ها در مقیاس صنعتی هزینه آنها است که تولید آنزیم در مقیاس بزرگ یک فرآیند هزینه بر است و به طور مستقیم بر قیمت تمام شده محصول تاثیر میگذارد.



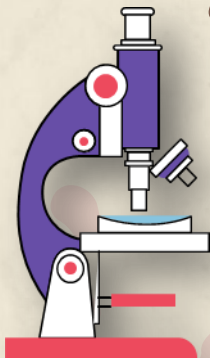
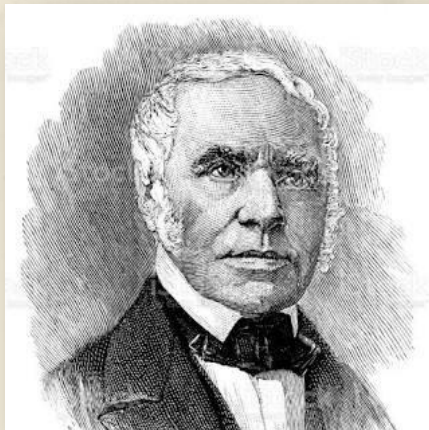


تاریخچه استفاده از آنزیم ها

در اواخر سده ۱۷ و اوایل سده ۱۸، هضم گوشت توسط ترشحات معده و تبدیل نشاسته به قند توسط عصاره‌های گیاهی و بزاق شناخته شد اما مکانیسم‌هایی که به موجب آن اتفاق می‌افتد مشخص نشده بود

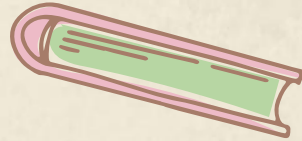
آمیلاز (دیاستاز) اولین آنزیمی بود که توسط **Anselme Payen** در سال ۱۸۳۳ کشف و جدا شد.

Anselme Payen شیمیدان فرانسوی بود که نقش مهمی در پیشرفت شیمی صنعتی داشت.





کاربرد آنزیم ها در صنعت غذا



بهبود کیفیت، پایداری و مقاومت محصولات غذایی



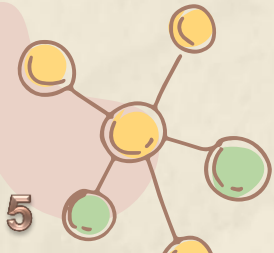
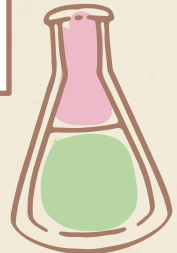
افزایش بازده تولید

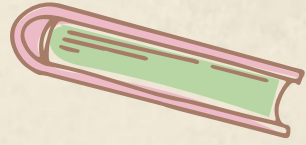


کمک به استخراج مواد مغذی و افزایش غلظت مواد مغذی و...

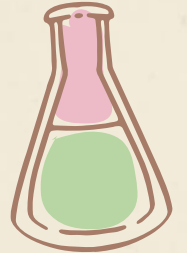
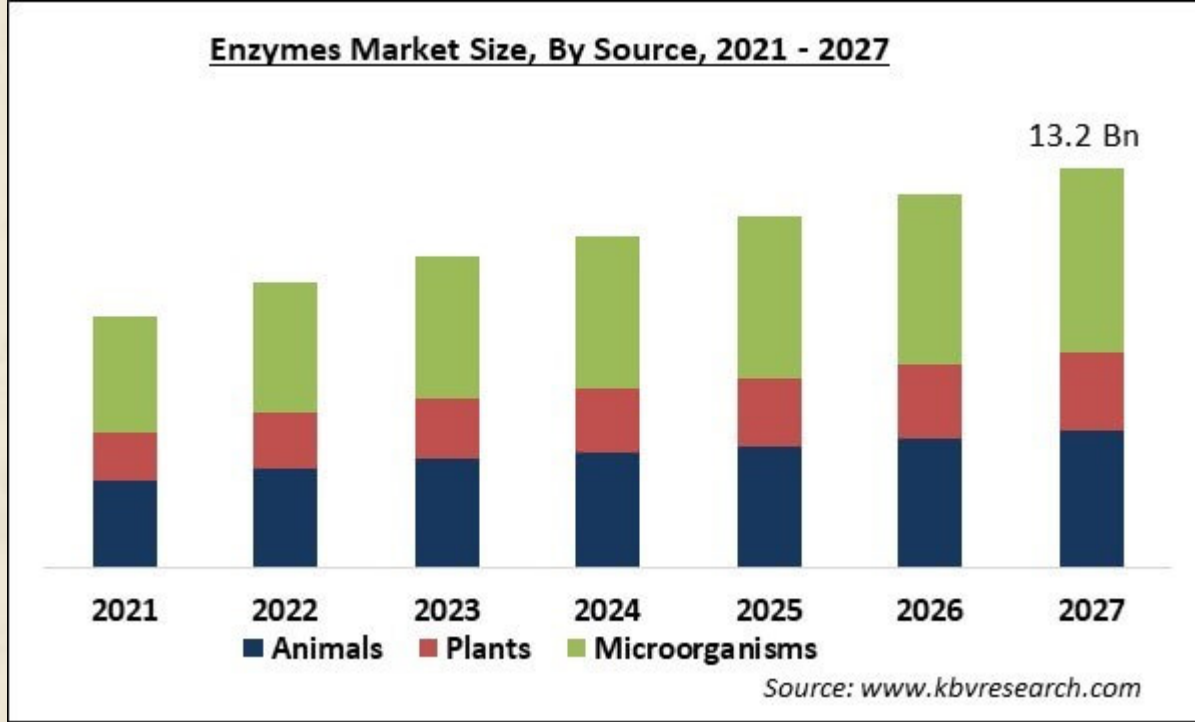


استفاده روز افزون از آنزیم ها در صنعت غذا باعث شد تا اهمیت آنزیم های میکروبی بیش از پیش مشخص بشود.






بازار فروش آنزیم ها با منابع مختلف گیاهی، جانوری و میکروبی







اهمیت آنزیم های میکروبی در صنعت غذا به علت:

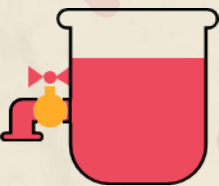
پایداری بیشتر نسبت به آنزیم های گیاهی و جانوری 

تولید آسان 

سازگاری بیشتر 

مقرون به صرفه بودن 

بسیاری از این آنزیم های میکروبی کاربرد های متفاوتی در صنایع مختلف مثل صنعت غذا، شوینده ، کاغذ و پارچه دارند .



آنزیم های کاربردی در صنعت غذا



کاربرد

سویه میکروبی

ماده اولیه

آنزیم

نانوایی - آبجوسازی
آبزی پروری

Bacillus subtilis

هیدرولیز غلات مصرف شده در تولید آبجو

آمیلاز

تولید شربت ذرت با فروکتوز بالا

Saccharomyces sp.

پوست موز - پوست پرتغال - سبوس گندم -
باگاس - سبوس برنج

اینولیناز

Aspergillus kawachii

فرآوری نشاسته و شراب - فرآوری
آبمیوه

Penicilium oxalicum
Aspergillus niger

گل آفتابگردان
پوست پرتغال

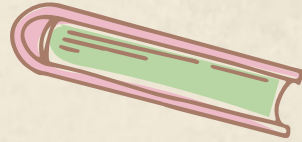
پکتیناز

فرآوری گوشت

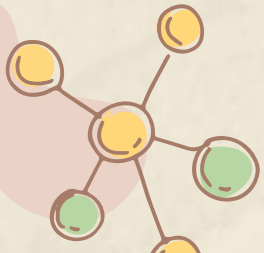
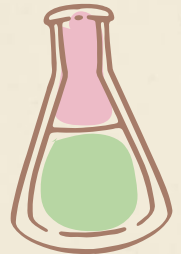
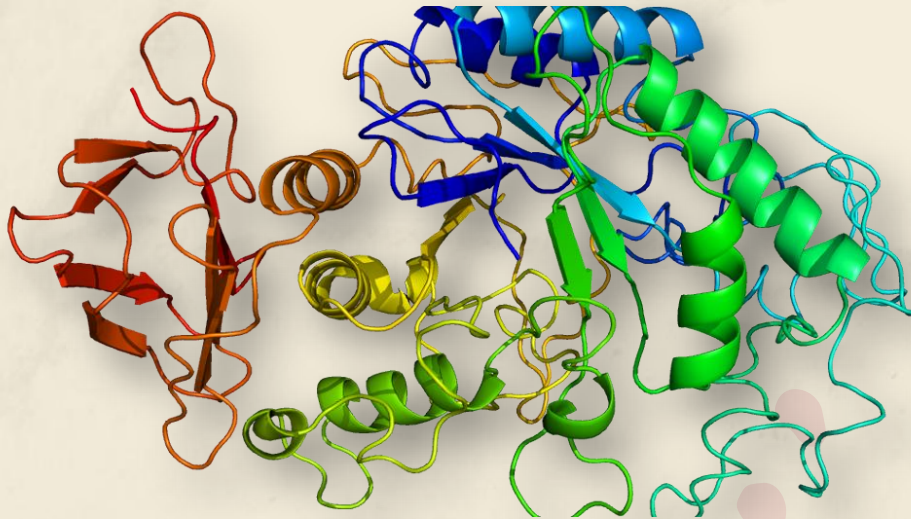
Aspergillus niger

پوست موز - پوست سیب
زمینی - پوست کاساوا

لیپاز



آنزیم α -آمیلاز تولید میکروبی





○ مقدمه



○ γ - آمیلاز

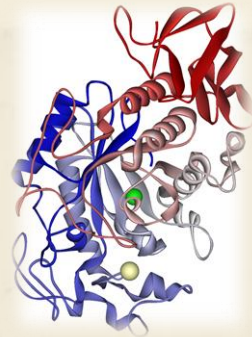
○ β - آمیلاز

○ α - آمیلاز

○ سه نوع آمیلاز شامل

○ $1 \rightarrow 4$ آلفا پیوندهای آلفا نشاسته و سایر پلی ساکاریدها را میشکند تا محصولاتی مثل گلوکز و مالتوز تولید شوند.

○ با توجه به کاربرد برجسته α -آمیلاز، نیاز فوری به توسعه تکنیک های مقرون به صرفه برای تولید آلفا-آمیلاز پایدار و کارآمد وجود دارد.

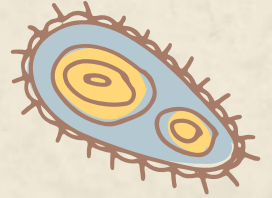




کاربرد های مختلف آنزیم α -آمیلاز

فرآیندهای تولید آنزیم ها

بخش های اصلی تولید آنزیم های صنعتی شامل:



1 (up stream) غربالگری سویه های میکروبی و آماده سازی محیط کشت

2 (fermentation) فرآیند تخمیر

3 (down stream) جریان های پایین دستی شامل:

فیلتر کردن بقایای سلولی

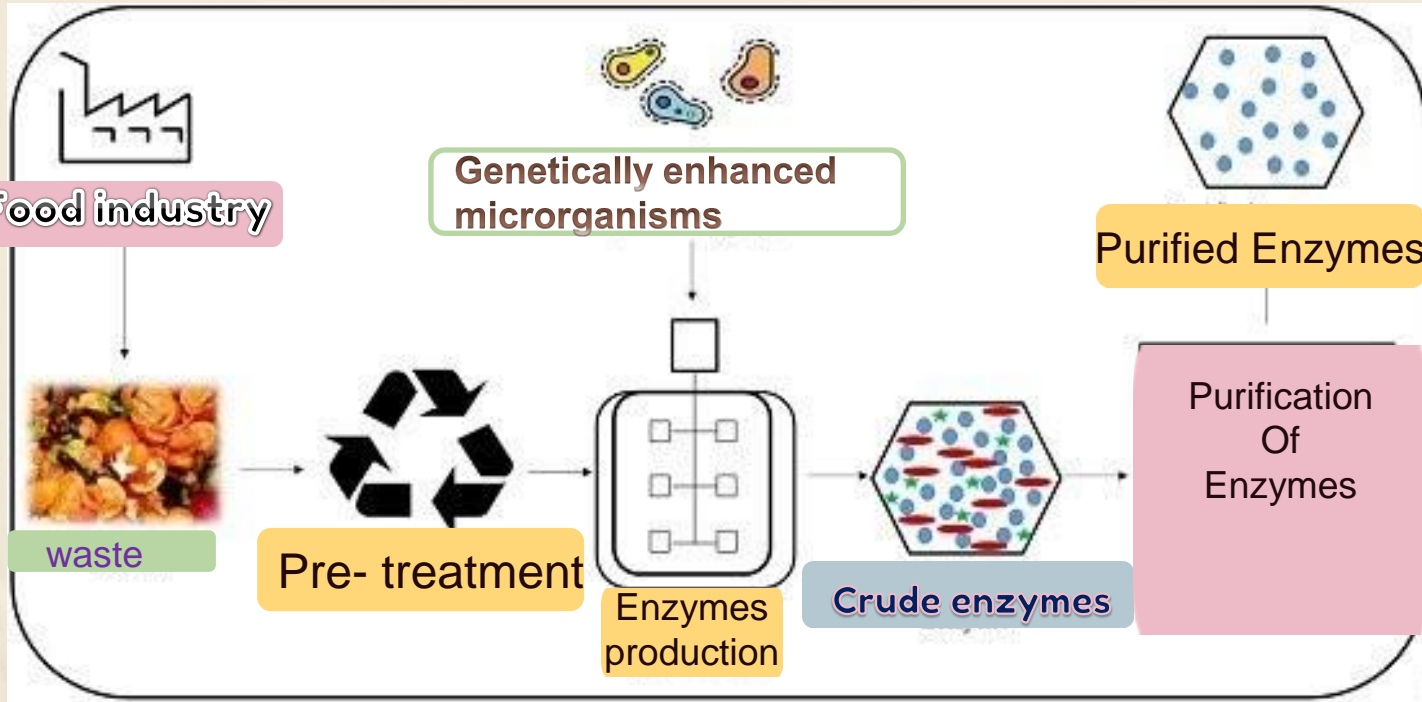


خالص سازی

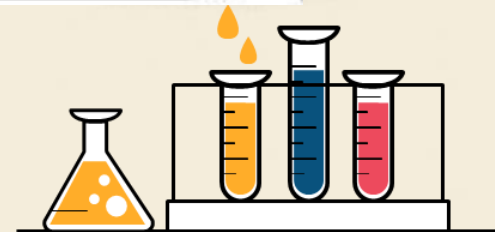


فرمولاسیون محصولات آنزیمی





Production of microbial enzymes process



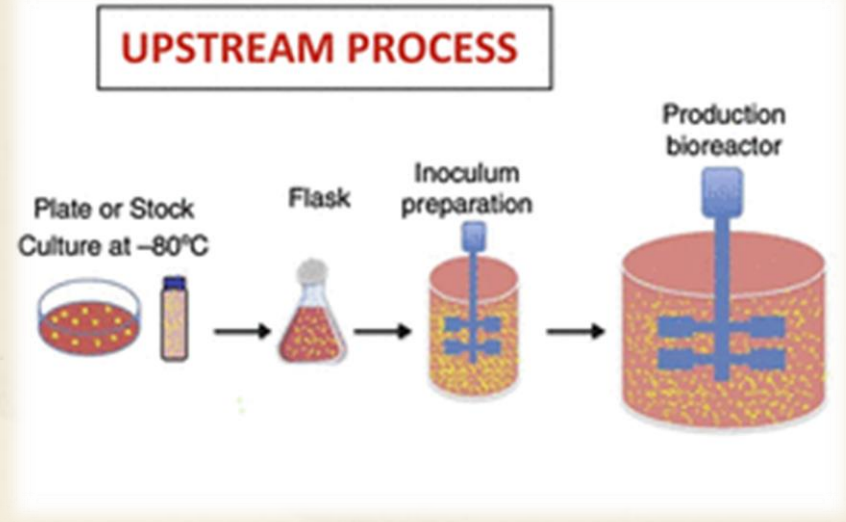
1.up stream

1

• غربالگری سویه های میکروبی

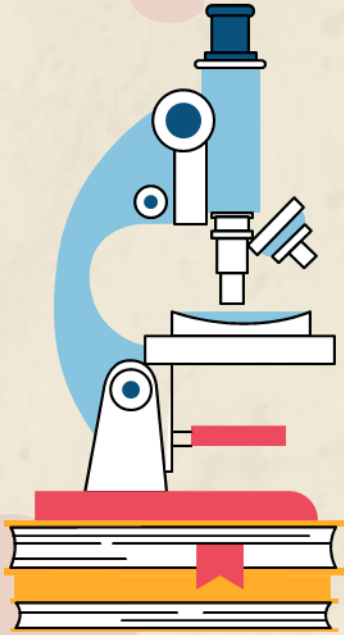
2

• آماده سازی محیط کشت
بهینه



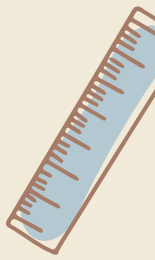
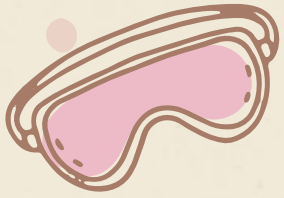
1.1 Screening of microbial strains:

میکروارگانیزم های تولید کننده آنزیم α - آمیلاز

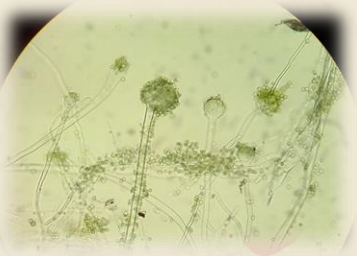


- ۱ Bacillus amyloliquefaciens
- ۲ Bacillus licheniformis
- ۳ *Bacillus stearothermophilus
- ۴ Pseudoalteromonas sp

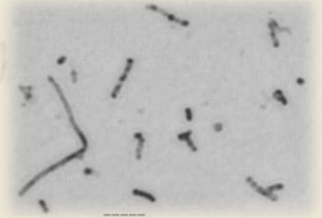




Aspergillus oryzae



Stereptomyces fragilis



Aspergillus flavus



Aspergillus niger



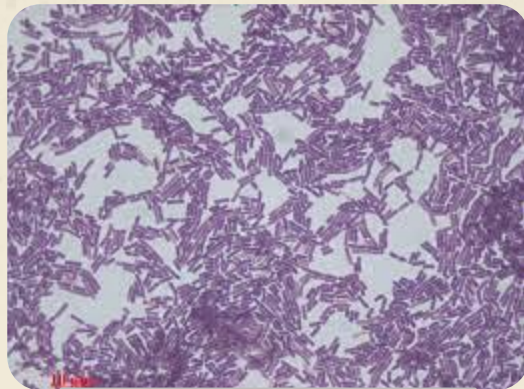
Microbial sources for alpha amylase production

Source	Microbial type	Feature of alpha-amylase
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	Bacteria	Thermophile alpha-amylase
<i>Geobacillus bacterium</i>	Bacteria	Thermophile alpha-amylase
<i>Nesterenkonia sp. strain F</i>	Bacteria	Halophilic enzyme
<i>Bacterium Pseudoalteromonas sp. M175</i>	Bacteria	Cold-active alpha-amylase
<i>Nocardioptis aegyptia</i>	Actinomycetes	Cold-active alpha-amylase
<i>Streptomyces fragilis</i>	Actinomycetes	Cold-active alpha-amylase
<i>Aspergillus niger</i>	Fungi	Commercial production
<i>Aspergillus awamori</i>	Fungi	Commercial production
<i>Aspergillus oryzae</i>	Fungi	Commercial production
<i>Aspergillus flavus</i>	Fungi	Thermophile alpha-amylase

کاربردی ترین باکتری در تولید آنزیم α آمیلاز

در میان باکتری ها، گونه های باسیلوس به طور گسترده در صنعت برای تولید آلفا آمیلاز مقاوم به حرارت استفاده میشوند.

B. stearothermophilus یکی از باکتری هایی است که در صنعت به طور گسترده استفاده میشود و توانایی تولید این آنزیم به مقدار زیاد را دارد.

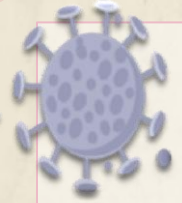


gram stain

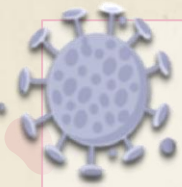
1.2.1 منابع کربن مورد استفاده توسط B. stearothermophilus



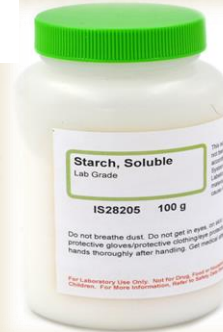
galactose



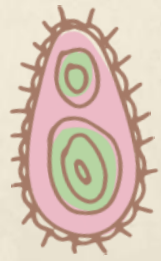
glycogen



Soluble starch

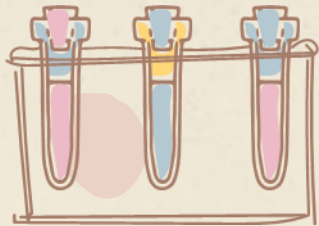


1.2.2 منابع ازت مورد استفاده توسط *B. stearothermophilus*



1%
peptone

0.5%
yeast
extract



ضایعات صنعتی مورد استفاده در تولید α _آمیلاز توسط **B. stearothermophilus**



۱.۲.۳ ترکیبات کمک رشد مورد نیاز

Table 5. Concentration effect of metal ions on the activity of α -amylases

Metal ion	Concentration effect/mM	Organism	Reference
Ca^{2+}	5 promoting	<i>Lipomyces starkeyi</i>	(88)
	5 promoting	<i>Bacillus</i> sp. ANT-6	(4)
K^{+}	10 promoting	<i>L. manihotivorans</i> LMG 18010	(77)
Na^{+}	5 promoting	<i>Bacillus</i> sp. L1711	(89)
	5 inhibitory	<i>Bacillus</i> sp. ANT-6	(4)
Co^{2+}	5 promoting	<i>Bacillus</i> sp. L1711	(89)
Mg^{2+}	5 promoting	<i>Vibrio</i> sp.	(74)
Ba^{2+}	10 promoting	<i>L. manihotivorans</i> LMG 18010	(77)
Mn^{2+}	1 promoting	<i>Bacillus</i> sp. I-3	(56)



2. Fermentation for *B. stearothermophilus*

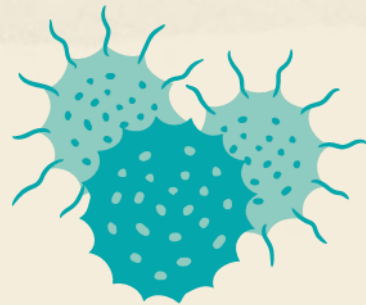
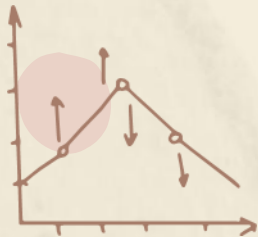
روش SMF (submerged fermentation) برای تولید آنزیم آلفا آمیلاز مورد استفاده قرار میگیرد.




به رطوبت بالایی برای رشد نیاز است. (۷۰-۸۰ %)



رطوبت بالا فرآیند های استریل کردن، تولید و خالص سازی را قابل اجراتر و راحت تر کرده است.





۱. pH ۲ بهینه برای تولید آلفا آمیلاز

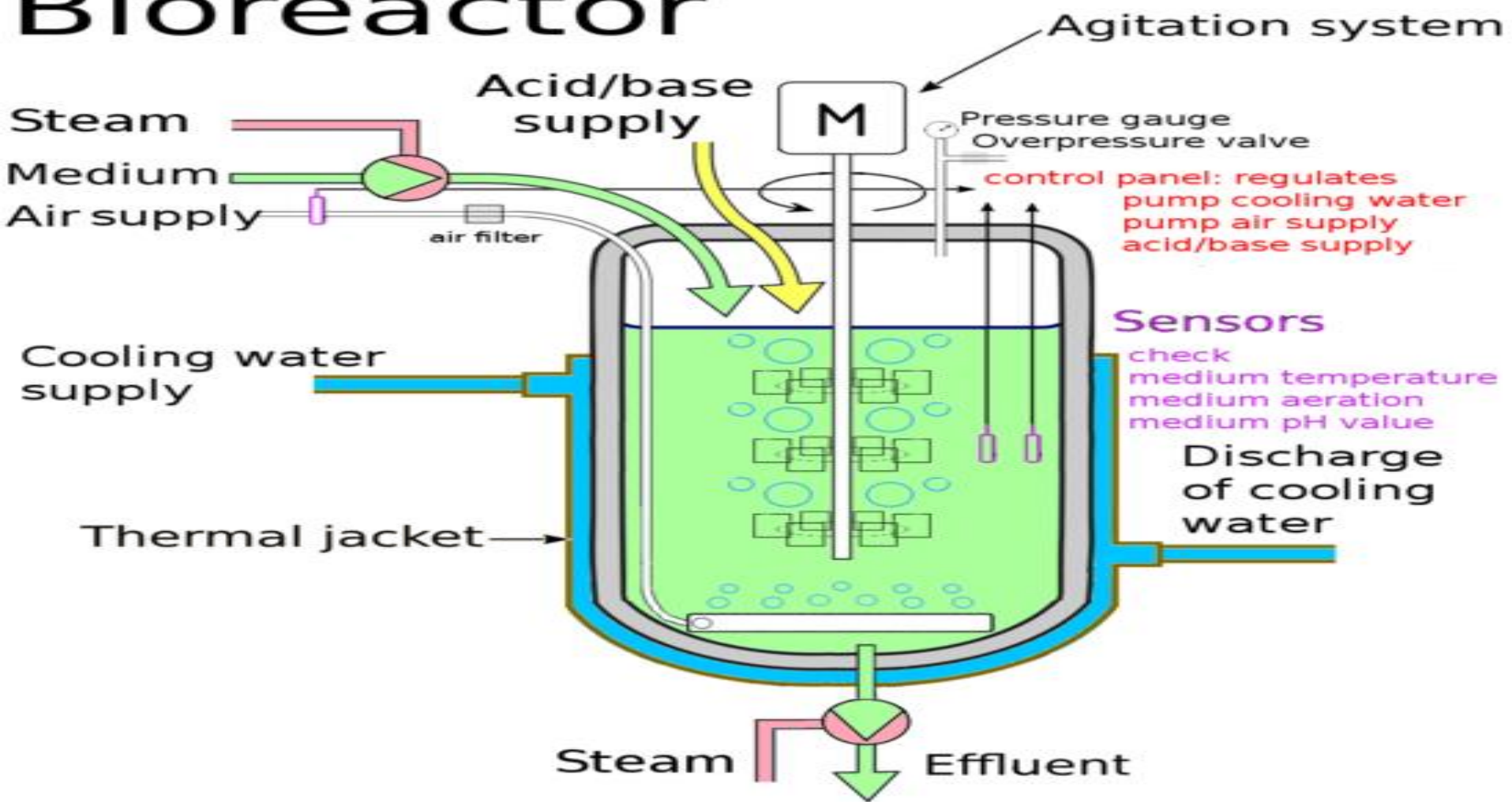
گونه های باسیلوس از جمله *B.stearothermophilus* به حدود $pH=7$ برای فعالیت نیاز دارند.

۲.۲ Temperature

رنج حرارتی مناسب جهت تولید آنزیم برای *B.stearothermophilus* بین $37-60^{\circ}C$



Bioreactor





۳. فرآیند بازیافت (Down stream)

اصلی ترین قسمت هزینه های تولید آنزیم صنعتی قسمت خالص سازی آنزیم هاست. روش های متفاوتی برای خالص سازی وجود دارد.

عمدتا جداسازی اولیه آنزیم آلفا آمیلاز با عبور از غشاهای خاصی انجام میگردد. سپس خالص سازی نهایی این آنزیم توسط روش کروماتوگرافی انجام میشود.





Purification methods for alpha amylase

Microorganism	Method of purification	Yield %
Thermostable, thermophilic, alkaline and chelator resistant amylase from an alkaliphilic <i>Bacillus sp.</i> Isolate ANT-6	Partial purification by ethanol precipitation	-
Marine <i>Vibrio sp.</i>	Substitute affinity method by insoluble corn starch	78
<i>Bacillus subtilis</i>	High-speed counter-current chromatography	73
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Primary precipitation by ammonium sulphate then final purification by ion exchange chromatography	-
Thermostable α -amylase from <i>Bacillus sp.</i> PS-7	Partial purification with ammonium sulphate and further purification by Sephadex G-75 gelfiltration followed by phenyl agarose 4XL hydrophobic interaction chromatography.	-
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Affinity precipitation by alginate as the affinity matrix.	96

❖ نتیجه گیری

آلفا آمیلاز یکی از پرکاربردترین آنزیم ها در صنایع مختلف از جمله صنعت غذا است. در طی سال ها ۲۰۱۸ تا ۲۰۲۲ تقاضا برای این آنزیم حدود ۶ درصد افزایش داشته. ۴۵ درصد آلفا آمیلاز تولیدی در جهان، توسط میکروارگانسیم ها تولید شده است. با افزایش طیف کاربرد این آنزیم تقاضا برای تولید آلفا آمیلاز با ویژگی های خاص رو به افزایش است.

امروزه تحقیقات زیادی در مورد تولید آنزیم آلفا امیلاز با ویژگی هایی همچون مقاوم به حرارت بودن و تحمل رنج وسیعی از pH در حال انجام است. و برای دستیابی به این هدف استفاده از میکروارگانسیم های اصلاح ژنتیکی شده امری بسیار ضروری است.



منابع

- Ravindaran R ,Jaiswal A . (2016). Microbial Enzyme Production Using Lignocellulosic Food Industry Wastes As Feedstock
- Singh P, Kumar S. (2019) . Microbial Enzyme In Food Biotechnology
- Elyasi Far B, Ahmadi Y, Yari Khosroshahi A, Dilmaghani A. (2020). Microbial Alpha-Amylase Production: Progress, Challenges and perspectives
- Gangadhharan D, Soccol C. (2006). α -Amylases from Microbial Sources – An Overview on Recent Developments



متشكرم!

