گروه کنترل کیفی و بهداشتی
صنایع غذایی
علوم پزشکی وارستگان

تولید بیوتکنولوژیک آنزیم های فعال در سرما و کاربرد آنها در صنایع غذایی

ارائه دهندگان:
فاطمه جناب
مبینا یعقوبی

استاد راهنما :
خانم دکتر پزشکی

خرداد ۱۴۰۳

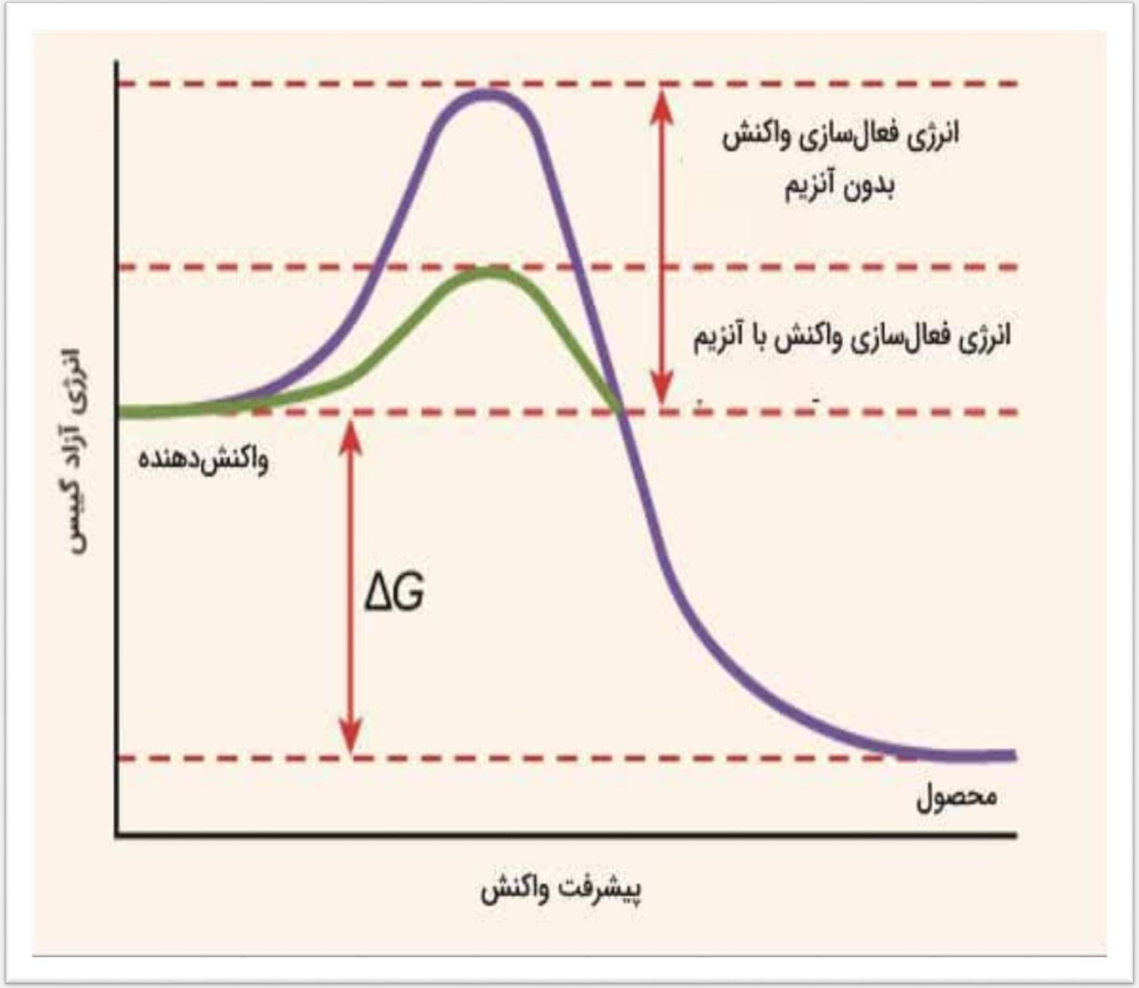
فهرست

صفحه	عنوان
۳	مقدمه
۴	انواع آنزیم
۵	آنزیم های فعال در سرما
۶	اهمیت آنزیم های فعال در سرما
۸	توزیع آنزیم های فعال در سرما
۹	کاربرد آنزیم های فعال در سرما
۱۰	انواعی آنزیم های فعال در سرما
۱۱	آنزیم لیپاز
۱۲	مقدمه ای برآنزیم لیپاز

فهرست

صفحه	عنوان
۱۳	کاربرد های آنزیم لیپازمیکروبی
۱۴	انواع میکروارگانیسم های قارچی مولد لیپاز
۱۵	مراحل تخمیر
۱۶	Up stream
۲۰	Main stream
۲۱	Down stream
۲۲	بازار جهانی آنزیم لیپاز میکروبی
۲۳	نمونه های تجاری آنزیم لیپاز
۲۴	منابع

مقدمه



- آنزیم ها پروتئین هایی هستند که موجب تسریع واکنش های شیمیایی می گردند. در تمامی سلول های زنده انجام کلیه واکنش های شیمیایی به حضور آنزیم ها وابستگی داشته و بدون کمک این پروتئین ها این واکنش ها یا با سرعت پایین انجام شده و یا ممکن است اصلا انجام نشوند.
- پیش از این، کاربرد آنزیم ها در صنایع غذایی بیشتر از منابعی مانند لاشه حیوانات و عصاره های گیاهی تامین می شد اما در حال حاضر بخش بزرگی از آنزیم های مورد استفاده حاصل از تخمیر میکروبی است.

انواع آنزیم ها

ترموزیم

فعال در دمای بالا

مزوزیم

فعال در دمای معتدل

سایکروزیم

فعال در دمای پایین

آنزیم های فعال در سرما

(سایکروزیم)

میکروارگانیسم های سرمادوست (سایکروفیل) برجسته ترین ساکنان اکوسیستم های سرد هستند.

سایکروفیل ها برای پرورش، تکثیر و حفظ فعالیت های متابولیکی فعال خود در دماهای پایین اصلاح می شوند.

بیش از ۷۰ درصد از سیاره ما توسط محیط های بسیار سرد پوشیده شده است که تنوع گسترده ای از حیات میکروبی را تغذیه می کند.

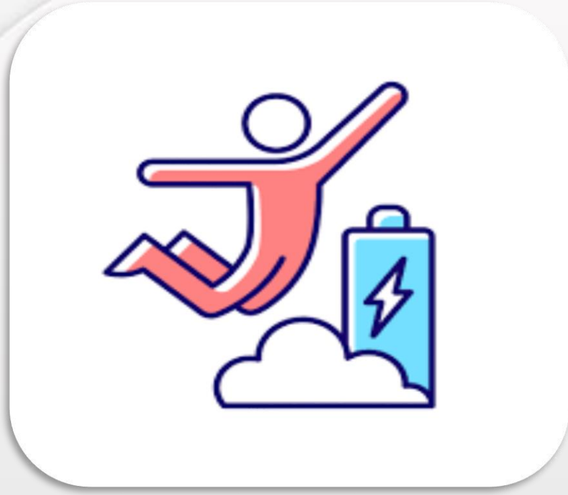
فعالیت آنزیمی بالا در دمای پایین نشان دهنده ویژگی مهم آنها در صرفه جویی انرژی است و نسبت به آنزیم های دیگر سودمندتر هستند.

اهمیت آنزیم های فعال در سرما

۱. انجام تکنیک هایی برای مهار فعالیت آنزیمی نامطلوب

۲. فعالیت بیوکاتالیستی قابل توجه در دماهای پایین (نسبت به مزوزیم ها و ترموزیم ها)

۳. تثبیت ترکیبات شکننده در محیط واکنش



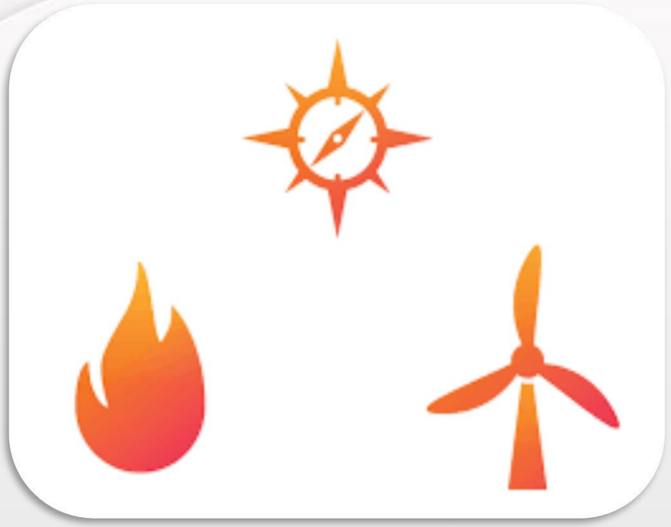
اهمیت آنزیم های فعال در سرما

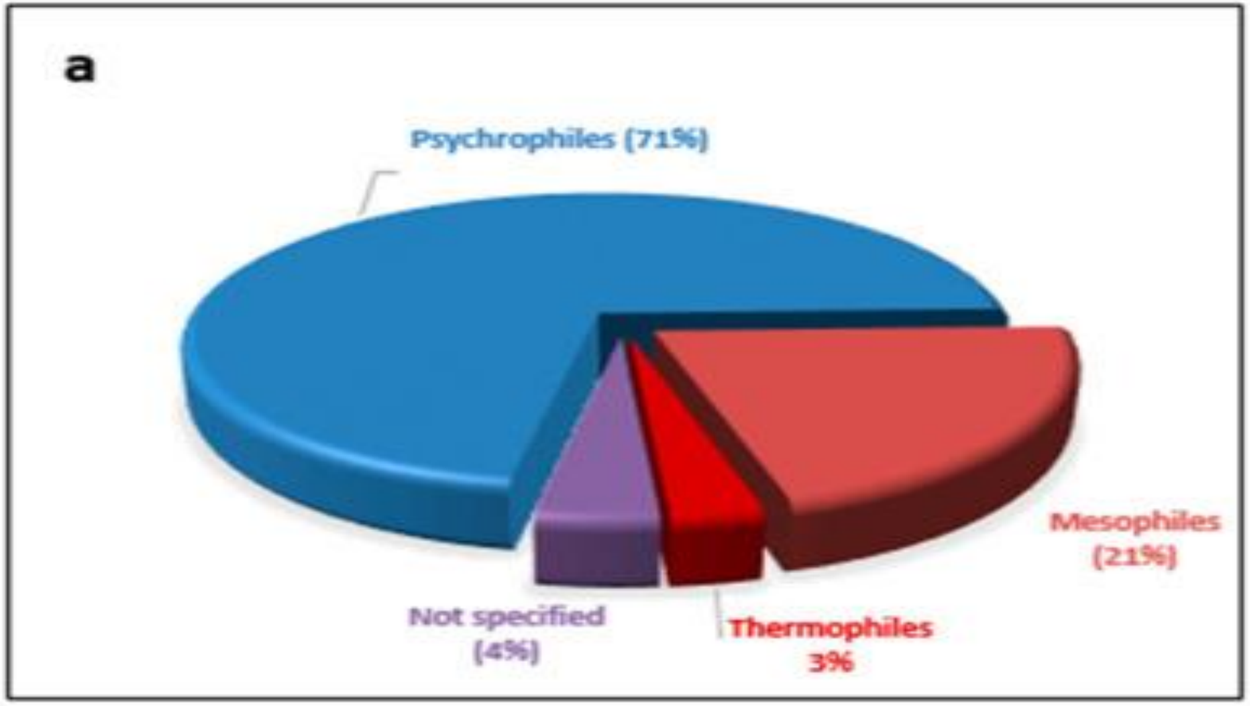
۴. مصرف انرژی کمتر در مقایسه با دیگر آنزیم ها

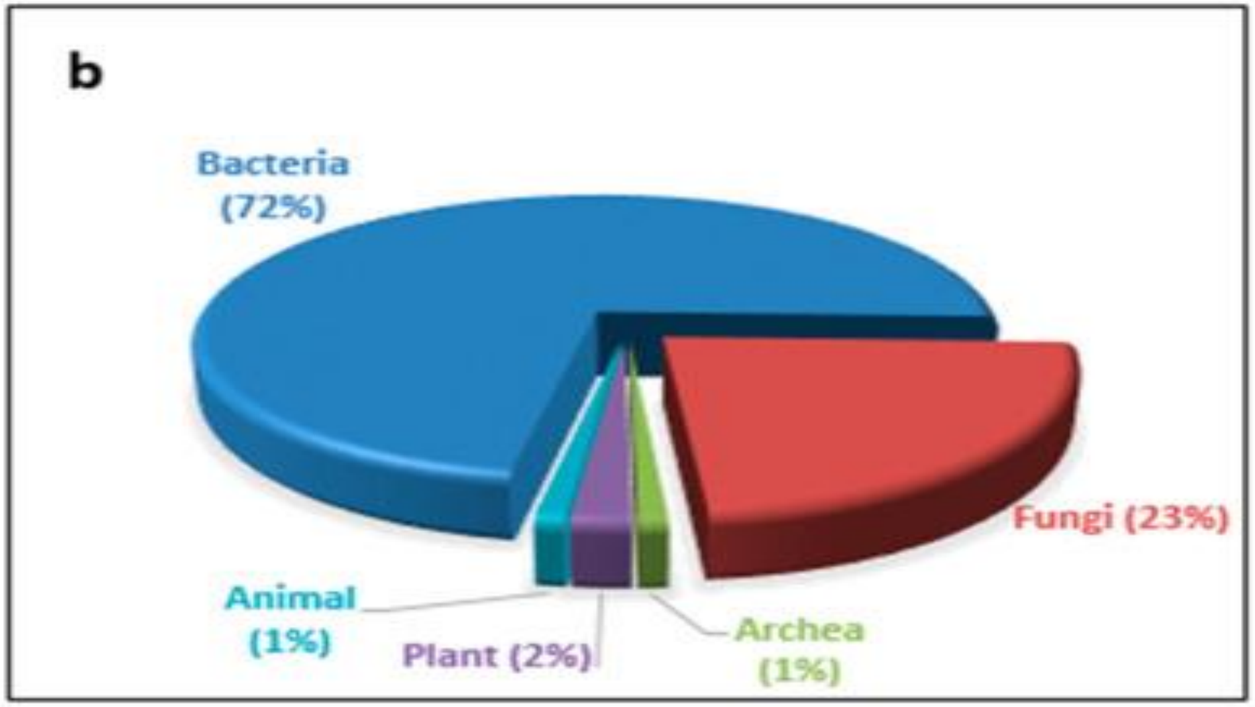
۵. حفظ ترکیبات حساس به حرارت

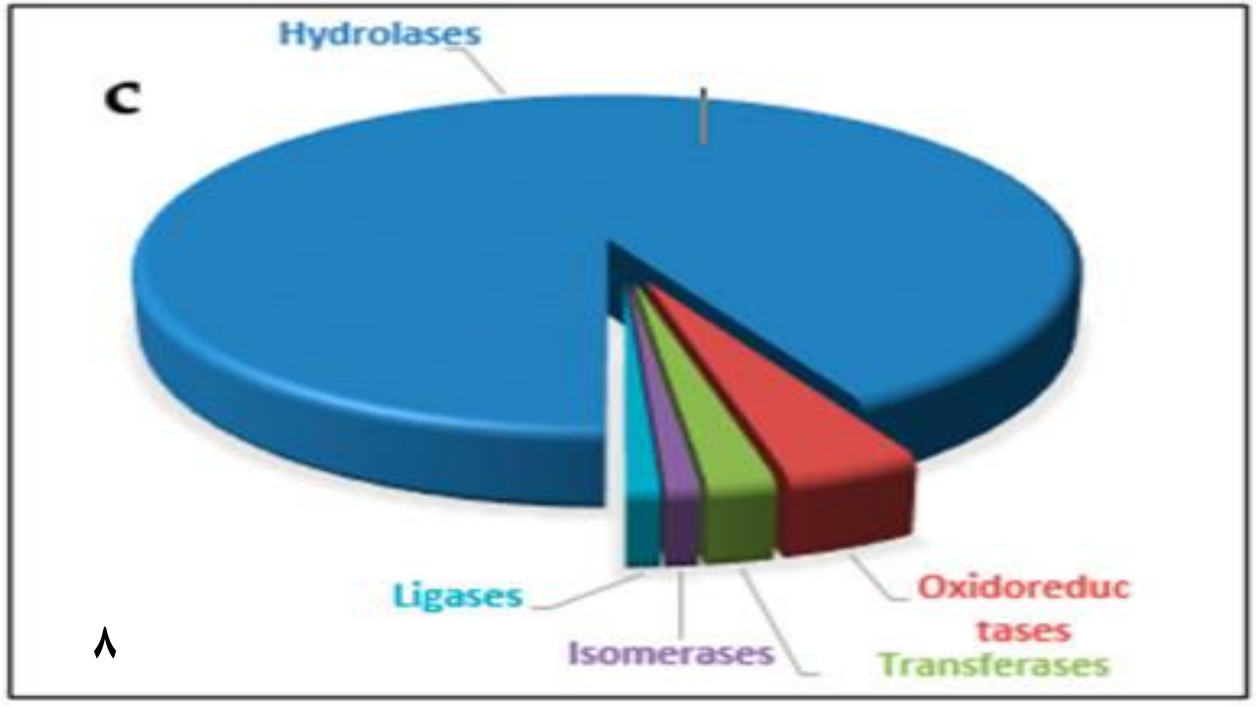
(مثال: در صنعت شوینده ها برای حفظ بافت لباس

هایی که باید در دمای پایین شسته شوند)









توزیع آنزیم های فعال در سرما

a ← بر اساس ماهیت ارگانیسم

b ← بر اساس نوع ارگانیسم

c ← بر اساس ۶ گروه اصلی آنزیم های فعال در سرما

کاربرد های آنزیم های فعال در سرما

- آنزیم‌های فعال در سرما پتانسیل بالا و کاربرد گسترده‌ای را در بیوتکنولوژی مواد غذایی حفظ می‌کنند.
- این آنزیم ها در زمینه های مختلف بیوتکنولوژیکی و صنعتی مانند
  - بیولوژی مولکولی
  - مواد شوینده
  - فرآوری مواد غذایی و آشامیدنی
  - صنایع نساجی
  - بخش های پزشکی
  - زیست پالایی

مورد استفاده قرار می گیرند.

انواعی از آنزیم های فعال در سرما

آلفا- آمیلاز

لیپازها

سلولازها

پروتئازها

سرین پروتئازها

کیتینازها

لاکتاز ها

بتا-گالاکتوزیداز

RNAپلیمراز

متالوپروتئازها

فیتازها

زایلانازها

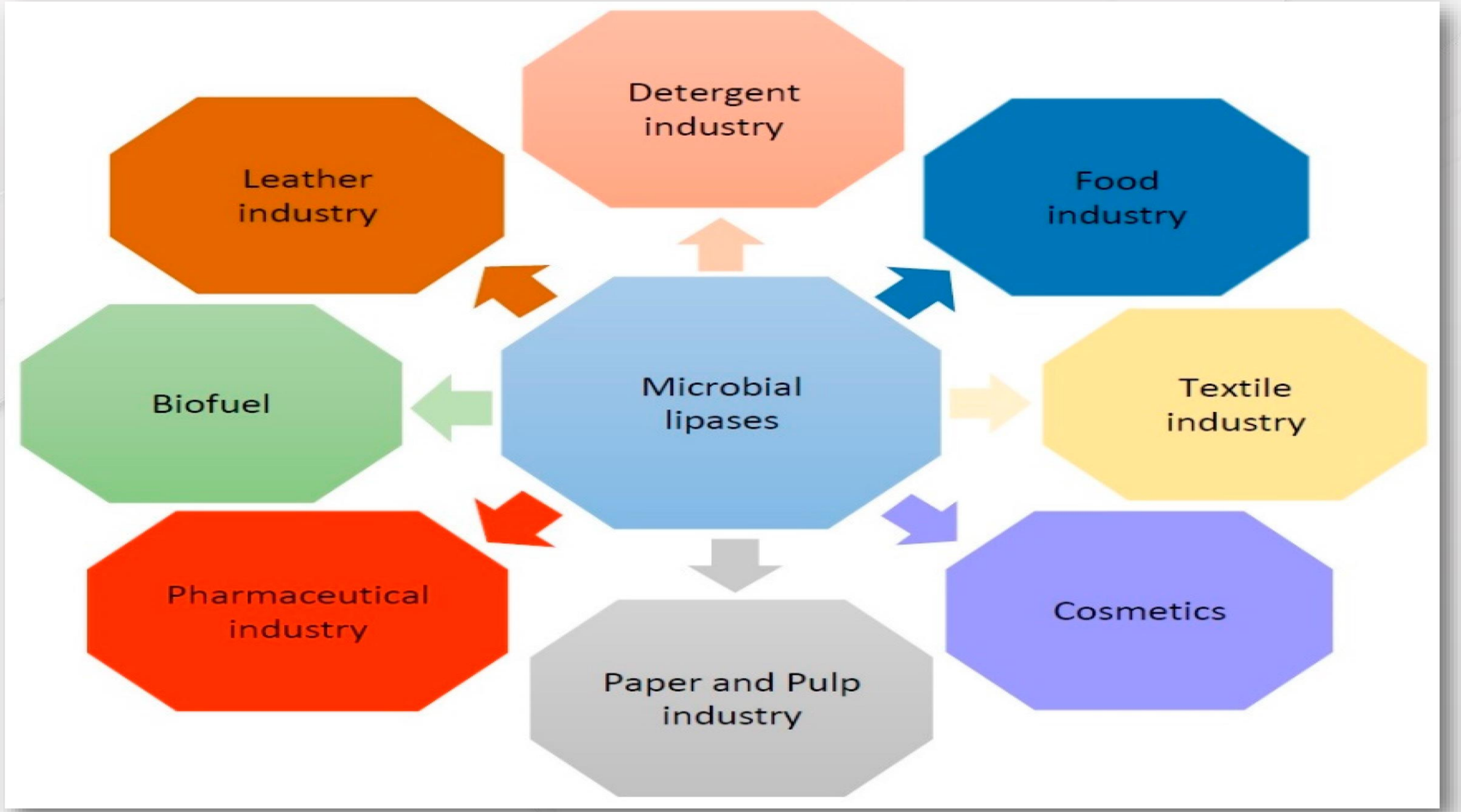
لیپاز (lipase)

- آنزیم های لیپاز نقش مهمی در تجزیه روغن ها و چربی ها به اجزای اصلی آنها مانند اسیدهای چرب و گلیسرول دارند.
- این آنزیم ها به طور طبیعی در بدن انسان (یکی از سه گروه آنزیم هایی که توسط لوزالمعده ساخته میشود) و میکروارگانیسم های مختلفی مانند باکتری ها، مخمرها و قارچ ها وجود دارند.
- لیپازها را می‌توان زیرمجموعه‌ای از استرازها از گروه اصلی هیدرولازها دانست.

مقدمه ای بر لیپاز

- لیپازهای میکروبی عمدتا خارج سلولی هستند .
- لیپازهای میکروبی به لحاظ هزینه های تولیدی کم و پایداری بالاتر، دارای اهمیت تجاری می باشند .
- تولید آنها علاوه بر عوامل فیزیکی و شیمیایی مانند دما، pH و اکسیژن محلول به شدت تحت تأثیر ترکیب محیط است.
- عامل اصلی برای بیان فعالیت لیپاز همیشه منبع کربن گزارش شده است، زیرا لیپازها آنزیم های القایی هستند.

کاربرد های آنزیم لیپاز میکروبی

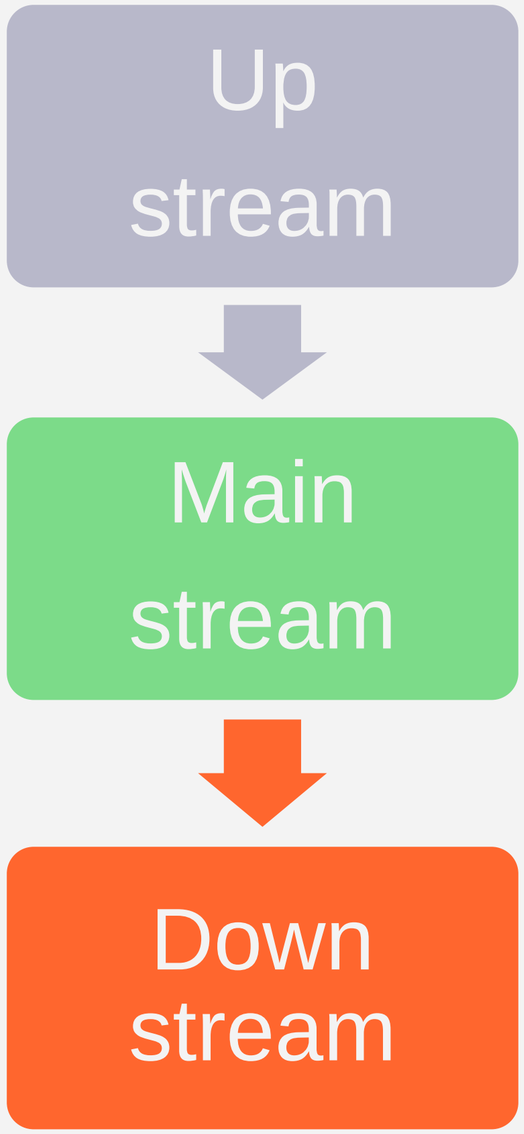


انواع میکروارگانیسم های قارچی مولد لیپاز

Microorganisms	Solid Substrate
Fusarium oxysporum	Wheat bran
Aspergillus flavus	Wheat bran and Castor oil cake
Aspergillus niger	Rice bran
Colletotrichum gloeosporioides	Sunflower oil
Yarrowia lipolytica NCIM 3589	Palm Kernal cake
Aspergillus niger J-1	Olive oil and Glucose
Aspergillus niger MTCC 2594	Wheat bran, Coconut oil cake and Wheat rawa
Rhizomucar rhizopodiformis	Sugar cane bagasse and Olive oil cake
Aspergillus niger MTCC 2594	Gingelly oil cake
Penicillium restrictum	Babassu oil cake
Rhizopus oligosporous NCIM 1207	Wheat bran and Olive oil
Aspergillus.sps	Wheat rawa
Penicillium restrictum	Babassu oil cake and Olive oil
Rhizopus oryzae PTCC 5176	Bagasse and Urea
Candida rugosa	Coconut oil cake
Candida rugosa DSM-2031 *Yeast Species*	Coconut oil cake and Wheat bran Deoiled rice bran, Rice bran oil and Mineral salts.
Aspergillus Terreus	Mustard oil cake
Aspergillus niger IIT 53A14	Wheat bran and Olive oil
Aspergillus niger	Shea butter cake
Aspergillus. sp	Wheat bran
Aspergillus niger	Soya bean and Rice husk

Aspergillus.sps	Wheat rawa
Penicillium restrictum	Babassu oil cake and Olive oil
Rhizopus oryzae PTCC 5176	Bagasse and Urea
Candida rugosa	Coconut oil cake
Candida rugosa DSM-2031 *Yeast Species*	Coconut oil cake and Wheat bran Deoiled rice bran, Rice bran oil and Mineral salts.
Aspergillus Terreus	Mustard oil cake

تولید میکروبی آنزیم لیپاز



Up stream

مخمر: Candida rogusa

در محیط کشت **YM آگار** نگهداری میشود که

محیط موجود (درهر لیتر) :

- عصاره مخمر ۳ گرم
- عصاره مالت ۳ گرم
- پپتون ۵ گرم
- گلوکز ۱۰ گرم
- آگار ۱۵ گرم

محیط تولید مورد استفاده در بیوراکتور حاوی (در هر لیتر):

- ۵.۷۴ گرم K2HPO4
- ۳.۷ گرم KH2PO4
- ۱ میلی لیتر محلول عنصر کمیاب
- ۱۰ میلی لیتر از MgSO4 ۰.۱ مولار
- ۷ مول آب
- ۲ گرم (NH4)2SO4
- ۰.۰۰۰۲ گرم thiamine
- ۰.۰۰۰۸ گرم biotin
- ۱۰ میلی لیتر روغن پالم تجاری

(به عنوان تنها منبع کربن و انرژی)

Up stream

(آماده سازی میکروارگانیسم)

۱

محلول نمک منیزیم به طور جداگانه با اتوکلاو (۱۲۱ درجه سانتیگراد، ۱۵ دقیقه) استریل شد.

محلول های عناصر کمیاب و ویتامین ها با فیلتر استریل شدند.

روغن پالم، غیر استریل اضافه شد.

۲

مایه تلقیح در یک شیک فلاسک ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۱۰۰ میلی لیتر از محیط مایع YM، تولید شد.

قبل از کشت (۱۸۰ دور در دقیقه، ۲۷-۲۵درجه سانتیگراد) به مدت ۲۸ ساعت انکوبه شد.

Up stream

(آماده سازی میکروارگانیسم)

۳

روغن پالم (۱ میلی لیتر) اضافه شد و انکوباسیون برای ۱۲ ساعت دیگر در ۳۰۰ دور در دقیقه ادامه یافت.

۴

سلول‌ها با سانتریفیوژ (۷۶۵۰ گرم، ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ دقیقه) برداشت شدند

و دو بار، هر بار با تعلیق مجدد در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول نمکی (۹/۰ درصد وزنی) نمک طعام، شستشو داده شدند.

غلظت اولیه سوبسترا (X0)در بیوراکتور تازه تلقیح شده ۰,۲-۰,۳ گرم بر لیتر می باشد.

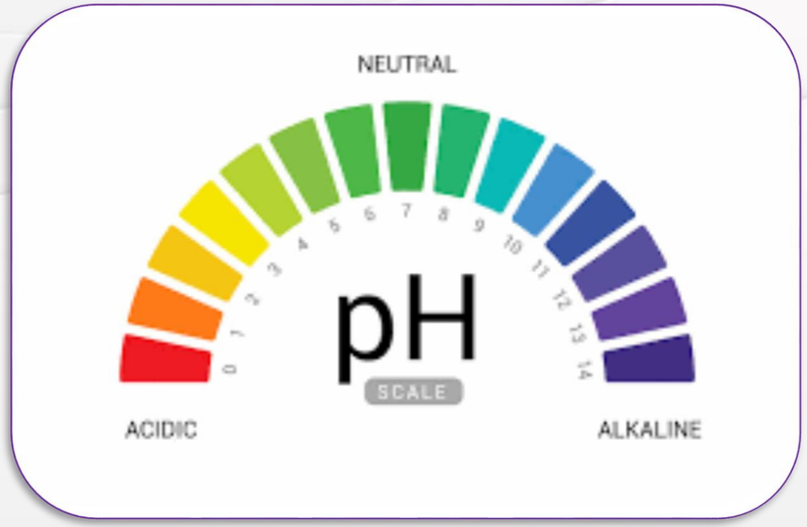
Up stream

دما ⟵ ۳۰ درجه سانتیگراد

PH ⟵ ۷

و با استفاده از اسیدسولفوریک ۷ مولار و محلول ۲۵درصد آمونیاک کنترل شد.

دما و PH:



Main stream

Fed Batch

- در تخمیر وابسته به کف، تخمیر در پاسخ به تجمع انبوه کف روی سطح محیط کشت براث آغاز می شود.
- روغن پالم به عنوان جایگزین ضد کف های تجاری
- حین تخمیرهوادهی ثابت یک لیتر در دقیقه و سرعت هم زدن در تانک تخمیر ۶۰۰ دور در دقیقه و با روش Agitation است .

Down stream

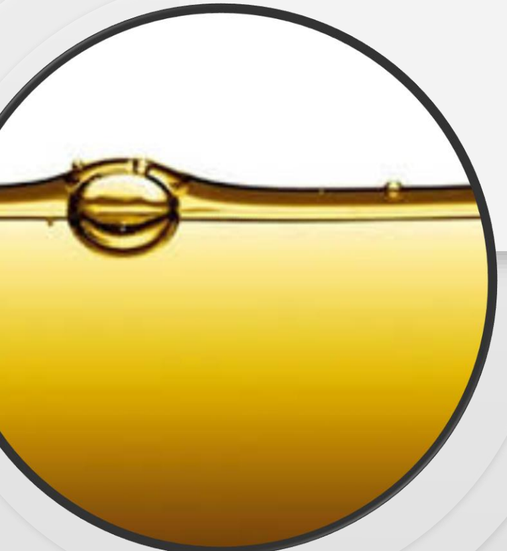
استخراج

روش معمول برای استخراج : همگن سازی بستر یا مخلوط کردن آن در شیکر چرخشی

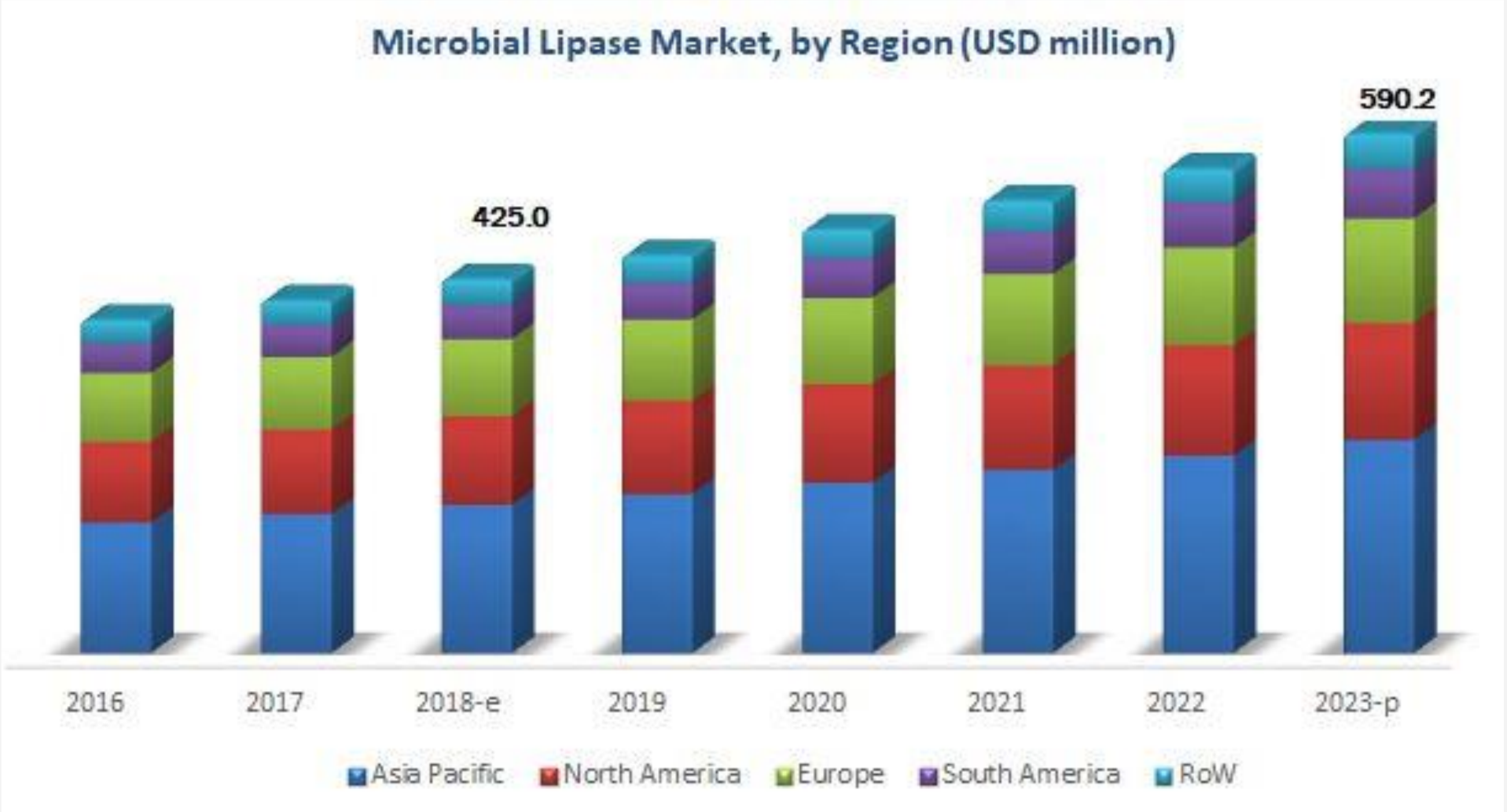
بوسیله : حلال های مختلف شامل آب، NaCl ، (NH4)2 SO4 و تریتون است.

مکمل حلال با سورفکتانت هایی مانند تریتون با افزایش نفوذپذیری غشا، بازیابی را افزایش می دهد.

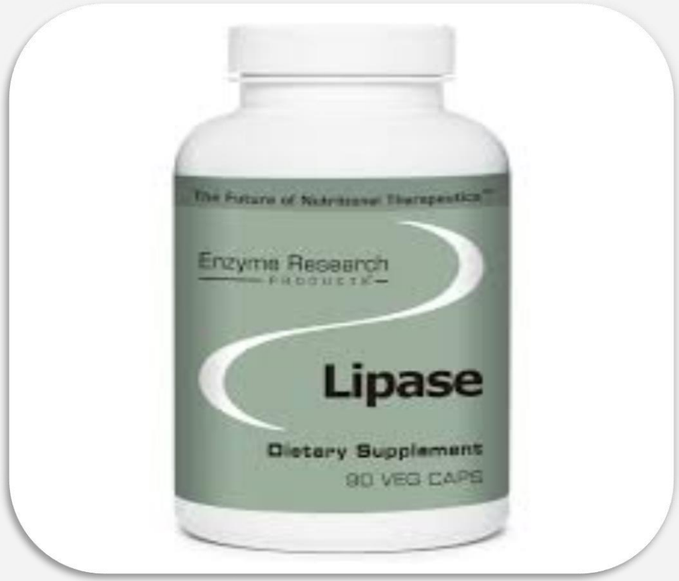
از بافر فسفات نیز برای استخراج آنزیم ها با PH مناسب استفاده می شود.

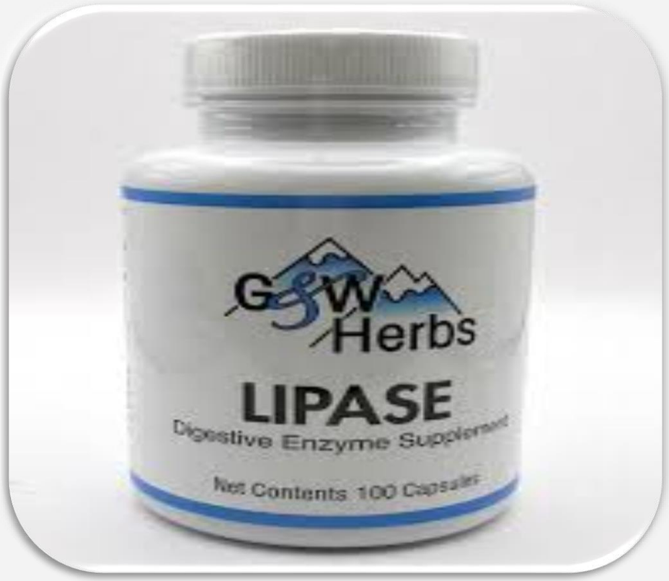


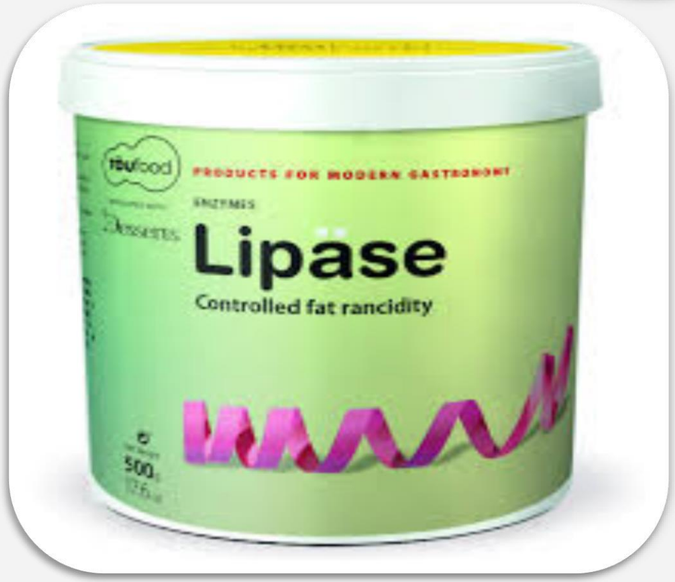
بازار جهانی آنزیم لیپاز میکروبی



نمونه های تجاری آنزیم لیپاز







نتیجه گیری

آنزیم های فعال در سرما و منابع میکروبی سایکروفیل آنها طیف وسیعی از کاربرد های صنعتی را به دلیل پتانسیل بالا در دمای پایین پوشش می دهند.

هدف اصلی این بررسی ارائه یک نمای جزئی از تولید آنزیم لیپاز میکروبی بوسیله یک میکروارگانیسم قارچی بوده است.

منابع

- Abdella, B., Youssif, A. M., Sabry, S. A., & Ghozlan, H. A. (2023). Production, purification, and characterization of cold-active lipase from the psychrotroph Pseudomonas sp. A6. *Brazilian Journal of Microbiology*, *54*(3), 1623-1633.

- Kumar, D. S., & Ray, S. (2014). Fungal lipase production by solid state fermentation-an overview. *Journal of Analytical and Bioanalytical Techniques*, *6*(230), 1-10.

- Hamid, B., Bashir, Z., Yatoo, A. M., Mohiddin, F., Majeed, N., Bansal, M., ... & Alfaifi, M. Y. (2022). Cold-active enzymes and their potential industrial applications—a review. *Molecules*, *27*(18), 5885.

- Liu, Y., Zhang, N., Ma, J., Zhou, Y., Wei, Q., Tian, C., ... & Zhang, S. (2023). Advances in cold-adapted enzymes derived from microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1152847

از توجه شما سپاس گزاریم...

خرداد ۱۴۰۳