اینولیناز: کاربرد، بازار جهانی و تولیدصنعتی

محمدجواد گل محمدی[۱] و فاطمه محمدی پناه[۲]

[۱] **تهران، دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده زیست شناسی، بخش زیست فناوری میکروبی**

[۲] **تهران، دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده زیست شناسی و قطب تبازایی موجودات زنده، بخش زیست فناوری میکروبی، آزمایشگاه زیست فناوری دارویی**

چکیده

اینولینازها کلاس آنزیم‌های صنعتی هستند که به طور گسترده برای تولید شربت فروکتوز مورد استفاده قرار می‌گیرند. این گروه آنزیمی با توجه به پتانسیل مناسبی که در تولید فروکتوز و شربت فروکتوز با درصد بالا دارد، کشورهای توسعه یافته را به ادامه انجام تحقیقات در این زمینه ترغیب میکند. مهمترین منبع تولیدی اینولیناز، میکروارگانیسم‌ها هستند. در این مقاله ابتدا انواع اینولینازها و کاربردهای آن بیان شده و سپس بازار جهانی آن بر اساس معیارهای مختلف بررسی می‌شود. همچنین سیستم SSF به عنوان یک سیستم تولیدی مناسب معرفی می‌گردد و بعد از شرح دادن جزئیات مراحل تولید و خالص سازی، به چالش‌های این سیستم تولیدی پرداخته شده و راه حل‌هایی برای فائق آمدن بر این مشکلات مطرح می‌گردد.

واژگان کلیدی: اینولین، اینولیناز، اندوئینولیناز، اگزوئینولیناز، آنزیم صنعتی، شربت فروکتوز، تخمیر، تخمیر در بستر جامد، زیست فناوری

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: fmohammadipanah@ut.ac.ir

مقدمه

طی سال‌های اخیر شاهد پیشرفت‌های چشمگیری در عرصه زیست فناوری بوده ایم که در زمینه‌های گوناگونی رخ داده است. صنعت آنزیم پیشرفت و تکامل سریعی، به طور ویژه در طی چهار دهه گذشته داشته است که این پیشرفت را مرهون زیست فناوری مدرن است. این پیشرفت‌ها سبب شد تا آنزیم‌های ارزشمندی به صنایعی همچون صنایع شوینده، نساجی و نشاسته وارد گردند (۱). یکی از این آنزیم‌ها، اینولینازها هستند که در این مقاله سعی بر آن شده است تا از کاربرد، بازار جهانی و فرایندهای تولیدی آن صحبت شود.

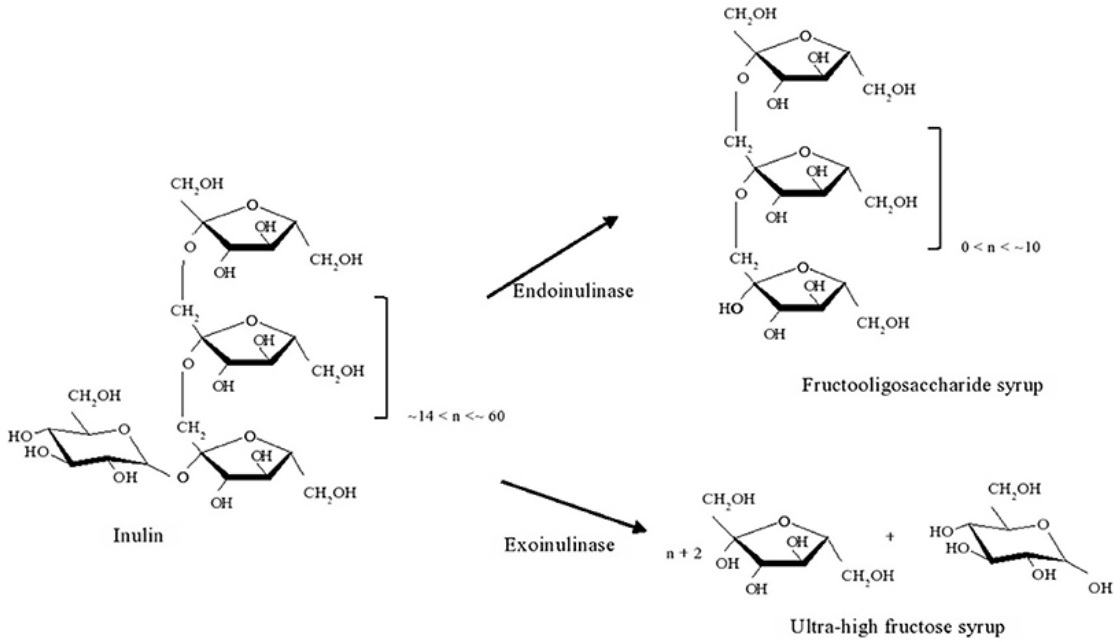
اینولین

اینولین برای اولین بار پس از جداسازی از Asteraceae نامگذاری شد. اینولین یک d-fructose با پیکربندی فوران است که توسط پیوند گلیکوزیدی β-2,1 پلیمریزه می‌شود. زنجیره ای خطی از رزیدو گلوکز (g) متصل به انتهای رزیدو فروکتوز (f)، پلی ساکاریدهای ساختاری که ساده ترین کلاس fructanها هستند و به اختصار gfn نامیده میشوند. علاوه بر این، گزارش شده است که اینولین همچنین حاوی مقدار کمی اینولونوز است که یک فروکتان است که در پایان، فاقد رزیدو g است. مقادیر زیادی اینولین در گیاهانی مانند Jerusalem artichoke، ریشه کاسنی، سیر ، ریشه مارچوبه، ریشه burdock، گل کلم، ریشه yacon، ریشه camas، jicama، salisfy و ریشه dandelion یافت می‌شود. اینولین در سبزیجات و میوه‌های متفاوتی مانند سیر، موز، پیاز، تره فرنگی، گندم ، چاودار و جو نیز موجود است. اینولین یک فروکتان عملکردی و محلول ترین فیبر غذایی محلول در آب است. اینولین توسط بیش از ۲۰ کشور جهان به عنوان یک مکمل غذایی مورد تأیید قرار گرفته است و به طور گسترده در محصولات لبنی، نوشیدنی، غذاهای کم چرب و کم کالری، غذاهای پخته شده و غذاهای سالم مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲).

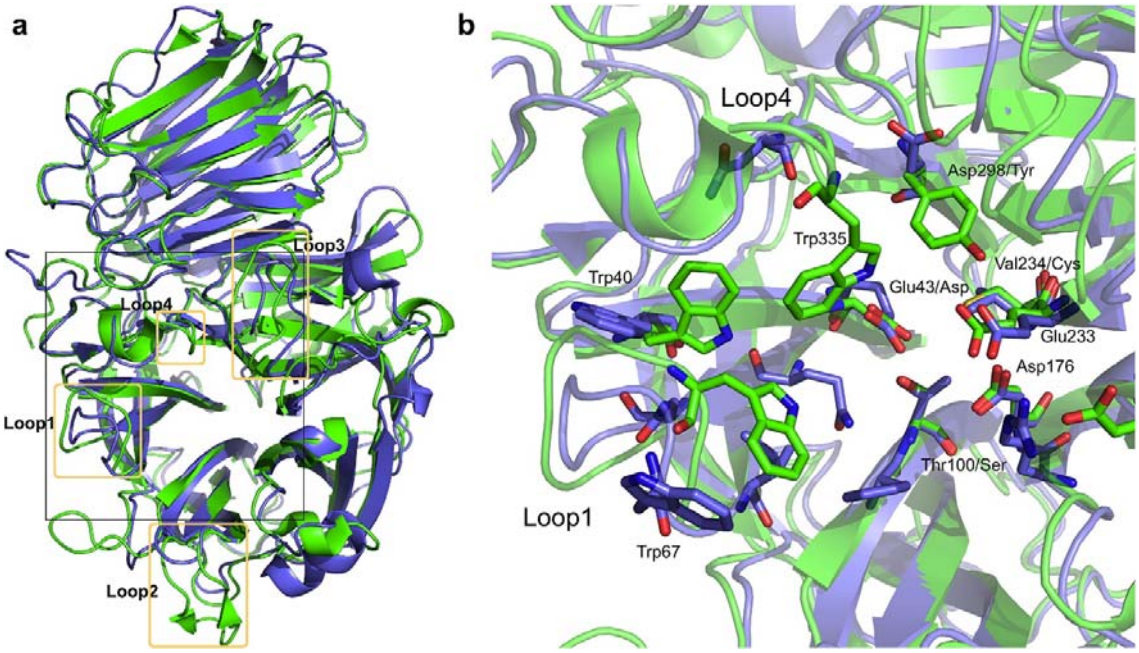
اینولیناز

اینولینازها کلاس آنزیم‌هایی هستند که پیوند گلیکوزیدی β-2,1 را هیدرولیز می‌کنند تا فروکتوز، اینولو-الیگوساکاریدها و گلوکز را تولید کنند. اینولینازها توسط قارچ‌ها، باکتری‌ها، مخمرها، اکتینومیست‌ها و کپک‌ها تولید می‌شوند. اینولینازها بر اساس الگوی عمل شان به دو دسته

تقسیم می‌شوند: اگزوئینولیناز و اندوئینولیناز. اگزوئینولیناز واحدهای فروکتوز انتهایی را از اینولین حذف کرده و فروکتوز را به عنوان محصول اصلی تولید می‌کند. اندوئینولیناز پیوندهای داخلی اینولین را به اینولو-الیگوساکاریدها هیدرولیز می‌کند (۲).



شکل۱- عملکرد اندوئینولیناز و اگزوئینولیناز به منظور تولید شربت فروکتو الیگو ساکارید و شربت فروکتوز ultra-high (۳).



شکل۲- a) تصویر روی هم افتاده از ساختار اندوئینولیناز INU2 (بنفش) و اگزوئینولیناز Aa exo (سبز) با ۴ لوپ نشان داده شده در کادر زرد رنگ و جایگاه کاتالیتیک آن‌ها در کادر سیاه رنگ. b) هر دو جایگاه فعال زوم شده، به همراه آمینو اسیدهای مهم که به تصویر کشیده شده اند. (۴)

کاربردها و اهمیت اقتصادی اینولیناز

اینولیناز به طور گسترده برای تولید شربت فروکتوز-ultra high(۲) و همچنین به تازگی، برای تولید اتانول و SCP[1] در بخش‌های پزشکی، غذایی و کشاورزی استفاده شده است(۵). سایر کاربردهای مهم اینولیناز شامل تولید اینولین الیگوساکاریدها، گلوکونیک اسید، سوربیتول، پولولان، استون-بوتانول(۶)، single cell oil، لاکتیک اسید و سیتریک اسید است(۵). تولید high fructose syrup توسط اینولیناز از آنجا که ارزان قیمت، شیرین، دارای فشار اسمزی بالا، اثرات نگه دارندگی بالا، دارای میزان کم کالری است و به آسانی پوسیدگی دندان ایجاد نمی‌کند و قابل استفاده توسط افراد دیابتی است، بسیار مورد توجه است. دو روش اسیدی و آنزیمی‌برای تولید آن وجود دارد. اگرچه روش اسیدی دارای بازده بالایی است، اما دارای فرآورده‌های جانبی زیاد و heavy pigmentها است و همچنین جداسازی و پالایش آن دشوار است. فرایند تولید فروکتوز توسط اینولیناز ساده است، نرخ تبدیل آن بالاست، محصول خالص است و بازده تولید بالایی دارد. این آنزیم به طور مستقیم می‌تواند شربت فروکتوز ultra-high (uhfgs) با میزان فروکتوز تولیدی بالای ۹۰٪ تولید کند. کشورهای توسعه یافته در حال انجام تحقیقات در این زمینه هستند که این نشان دهنده پتانسیل بسیار بالای اینولیناز برای توسعه و کاربرد در تولید فروکتوز و شربت فروکتوز است(۲).

بازار جهانی اینولیناز

بازار جهانی اینولیناز بر اساس منبع تولید کننده و کاربرد

بازار جهانی اینولیناز براساس منبع تولید کننده آن به دو دسته اینولیناز میکروبی و اینولیناز گیاهی تقسیم می‌شود، که در این میان اینولیناز میکروبی حائز اهمیت است. اینولیناز دارای کاربردهای فراوانی در صنایع مختلف است. اما در مورد بازار جهانی آن بر اساس محصول تولیدی می‌توان به تولید High Fructose Syrup، اینولا-الیگوساکاریدها و بیواتانول اشاره کرد. افزایش مصرف فروکتوز عامل اصلی رشد بازار جهانی اینولیناز است.

[1] Single-cell protein

علاوه بر این، افزایش تقاضا برای شربت فروکتوز منجر به گسترش ظرفیت تولید توسط تولید کنندگان این بازار، به ویژه در چین و هند شده است (۷).

بازار جهانی اینولیناز: چشم انداز منطقه ای

بازار اینولیناز به مناطقی شامل آمریکای شمالی، آمریکای لاتین، اروپای غربی، اروپای شرقی، آسیا-اقیانوسیه به استثنای ژاپن (APEJ)، خاورمیانه و آفریقا (MEA) و ژاپن تقسیم می‌شود. پیش بینی می‌شود که اروپای غربی و آمریکای شمالی بیشترین سهم را در بازار جهانی اینولیناز به خود اختصاص دهند. انتظار می‌رود APEJ بیشترین میزان رشد را در دوره پیش بینی شده (۲۰۱۷-۲۰۲۷) به خود اختصاص دهد. دلیل این امر، استفاده روز افزون از جایگزین‌های کم کالری مانند فروکتوز به صورت قند طبیعی حاصل از غذا برای غذاها و نوشیدنی‌ها است. منابع مختلفی برای استخراج اینولیناز در حال ظهور هستند. به عنوان مثال Dahlia یک گیاه گلدار از خانواده Asteraceae است که عمدتاً برای مصارف زینتی پرورش داده میشود. غده‌های Dahlia حاوی ۱۲/۵ درصد اینولین به عنوان پلی ساکارید ذخیره ای است (۷).

بازار جهانی اینولیناز: بازیگران اصلی

بازیگران اصلی بازار جهانی Inulinase عبارتند از : شرکت‌های BENEO، Jarrow Formulas، Beneo-Orafti، Serence و Cosucra. برای اطمینان از به دست آوردن سهم قابل توجهی از بازار، فروشندگان عمده در حال اتخاذ استراتژی‌های خلاقانه هستند و دائما در حال توسعه محصولات نوآورانه اند. بیشتر تولید کنندگان عمده اینولیناز به دنبال جمع کردن سرمایه‌های مالی و همچنین گروه‌های فنی بازاریابی برای تأمین نیازهای روزافزون مصرف کنندگان هستند (۷).

انتخاب سیستم مناسب برای تولید

تخمیر در بستر جامد اقتصادی تر است، به فضای کمتری نیاز دارد، آب کمتری نیاز دارد، مشکلات تصفیه پساب را کاهش میدهد، بازده تولید محصول را افزایش می‌دهد

احتمال آلودگی باکتریایی کمتری دارد و مصرف انرژی را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، محصولات خام به دست آمده از SSF[2] می‌توانند مستقیماً به عنوان منبع آنزیم برای تبدیل زیستی به کار گرفته شوند. هرچند گزارش‌های متعددی از گستره وسیع میکروب‌های استفاده شده برای تولید اینولیناز به وسیله SSF وجود دارد، این حائز اهمیت است که برای تولید این محصول از میکروب‌های جدیدی استفاده کنیم. همچنین مطالعات وسیعی به منظور استفاده از منابع به کار گرفته نشده درSSF در حال انجام است . مدل سازی بیوراکتور و مانیتورینگ مناسب از پارامترهای فیزیکی و شیمیایی SSF می‌تواند منجر به افزایش بازده تولید این آنزیم شود (۸).

میکروارگانیسم‌های تولید کننده اینولیناز در SSF

میکروارگانیسم‌ها به عنوان منبع بالقوه برای تولید اینولیناز مورد استفاده قرار می‌گیرند زیرا می‌توانند به راحتی کشت داده شوند و بازده آنزیمی‌بالایی داشته باشند. اینولینازهای میکروبی در دماهای بالا پایدار هستند، از آلودگی میکروبی جلوگیری می‌کنند و حلالیت بالایی برای سوبستراها دارند. مهمترین کلاس میکروبی شرکت کننده در تولید اینولیناز به وسیله سیستم SSF ، قارچ‌ها و مخمرها هستند. قارچ‌ها می‌توانند با رشد کردن روی سطح ذرات به وسیله نفوذ هایفه‌هایشان به فضای بین ذرات، رشد کرده و ساکن بسترهای جامد شوند. بنابراین به عنوان مناسب ترین ارگانیسم‌ها برای سیستم SSF شناخته می‌شوند(۸). سویه ارجح و متداول در تولید اینولیناز به وسیله سیستمSSF سویه‌های قارچی متعلق به جنس *Kluyveromyces* (۹، ۱۰) و *Aspergillus* (۱۱، ۱۲) هستند. اولین گزارش مربوط به به‌کارگیری سویه باکتریایی به منظور تولید اینولیناز با استفاده از سیستم SSF مربوط می‌شود به سویه ای از جنس استافیلوکوکوس(۱۳). اولین گزارش مربوط به تولید اینولیناز با استفاده از پوست سیر و پیاز به عنوان سوبسترا با استفاده از این متد برمی‌گردد به سویه باکتریایی به نام *Xanthomonas campestris* (۱۴). هم چنین سویه‌هایی از استرپتومایسز نیز در تولید اینولیناز با استفاده از این سیستم کاربرد دارند (۱۵).

سوبستراهای

مورد استفاده برای تولید آنزیم اینولیناز در SSF

در سیستم SSF فاکتورهای متنوع دخیل در انتخاب سوبسترا برای تولید آنزیم به طور عمده در ارتباط با در دسترس پذیری و قیمت سوبسترا است. بنابراین طیف وسیعی از باقیمانده‌های کشاورزی و صنعتی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. در طی این فرایند فراهم سازی مواد غذایی ضروری به وسیله سوبسترای جامد می‌تواند به رشد میکروب و فراهم سازی بستری برای سلول‌ها کمک کند (۱۶). سیستم SSF از SmF[3] متفاوت است. محصول شکل گرفته توسط میکروب در سطح سوبسترای جامد دارای میزان رطوبت کمی‌است. علاوه بر این، آب نقش مهمی‌را از نظر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی جامدات ایفا می‌کند که می‌تواند در تکمیل فرایند تولید محصول حائز اهمیت باشد. متداول ترین سوبستراهای ارزان قیمت و غیر محلول برای تولید اینولیناز میکروبی عبارتند از: سبوس گندم ، باگاس نیشکر ، سبوس برنج ، سیر ، پوست پیاز و غیره. سوبستراهای غیر محلول از هدایت حرارتی کمی‌برخوردار هستند که منجر به تجمع گرما می‌شود و در نتیجه بیشتر بر شکل گیری محصول نهایی تأثیر گذار است(۱۷).

رویکردهای افزایش تولید اینولیناز میکروبی در SSF

به منظور افزایش تولید و بهره وری در تولید اینولیناز به کمک تخمیر در بستر جامد می‌توان از استراتژی‌های متعددی بهره گرفت، که از این میان می‌توان به ارتقاء بخشی سویه با استفاده از مهندسی متابولیک، غربالگری و بهینه سازی تولید اینولیناز با استفاده از روش‌های آماری، طراحی‌های Full factorial و fractional factorial، طراحی Plackett-Burman و همچنین Response surface methodology اشاره کرد. Response surface methodology شامل مجموعه ای از روش‌های تجربی است که رابطه بین متغیرهای ورودی و خروجی را نشان می‌دهد(۸).

عملیات تخمیر برای تولید اینولیناز در SSF

طی سالهای گذشته، تولید اینولیناز در سیستم‌های SSF توسط انواع مختلفی از بیورآکتورها انجام گرفته است.

[2] Solid-state fermentation

[3] Submerged fermentation

جدول۱- سویه‌های قارچی و مخمری شرکت کننده در تولید اینولیناز با استفاده از سیستم SSF (۸).

میکروارگانیسم‌ها	سوبسترا	حداکثر فعالیت	منابع
Aspergillus niger	Jerusalem artichoke and bean	۱۱,۱۳ U/gds	Al-Dabbagh and Mahmood
Aspergillus niger	Banana peel	۲۰۰ U/gds	Narayanan et al.
	Rice bran	۱۳۷,۲ U/gds	
Aspergillus niger AUMC 9375	Sunflower tubers and lettuce roots	۰,۲۳۲ U/gds	Housseiny
	Lettuce roots	۰,۰۸۷۹ U/gds	
Aspergillus parasiticus	Sugarcane bagasse	U/gds ۰,۶۲۷±۱,۷۷۳	Abd El Aty et al.
	Artichoke leaves	U/gds ۰,۱۲۵±۰,۱۷۷	
Aspergillus terreus	Garlic wastes	U/gds ۰,۰۳۱±۰,۰۲۲	Abd El Aty et al.
	Artichoke leaves	U/gds ۰,۱۲۱±۴,۴۳۳	
Aspergillus versicolor	Chicory roots	U/gds ۰,۱۲۵±۰,۱۷۷	Abd El Aty et al.
	Orange rinds	U/gds ۰,۰۱۶±۱,۹۱۷	
Cryptococcus aureus G7a	Wheat bran and rice husk	۴۲۰,۹ U/gds	Sheng et al.
Geotrichum candidum	Leek powder	۴۱۲,۱ U/gds	Canli and Kurbanoglu
Kluyveromyces S120	Wheat bran	۴۰۹,۸ U/gds	Xiong et al.
Kluyveromyces marxianus ATCC-52466	Wheat bran (coarse)	۱۰۶,۷۲ U/gds	Selvakumar and Pandey.
	Corn flour	۲۱,۲۳ U/gds	
Kluyveromyces marxianus NRRLY-7571	Sugarcane bagasse + cane molasses + soybean bran	۴۶۳ U/gds	Mazutti et al.
Kluyveromyces marxianus NRRLY-7571	Sugarcane bagasse	۳۹۰ U/gds	Mazutti et al.
Kluyveromyces marxianus NRRLY-7571	Soybean bran and sugarcane bagasse	۴۳۶,۷۰ U/gds	Mazutti et al.
Kluyveromyces marxianus NRRLY-7571	Soybean bran and sugarcane bagasse	۲۵۰ U/gds	Mazutti et al.
Kluyveromyces marxianus NRRLY-7571	Sugarcane bagasse and soybean meal	۵۸۶ U/gds	Astolfi et al.
Penicillium brevicompactum	Artichoke leaves	U/gds ۰,۸۷۷±۱,۲۴۱	Abd El Aty et al.
	Garlic wastes	U/gds ۰,۱۵۶±۰,۶۶۵	
Penicillum rugulosum (MTCC-3487)	Copra waste	۲۳۹ U/gds	Dilipkumar et al.
Pichia guilliermondii	Wheat bran and Rice husk	۲۹۱,۰ U/gds	Guo et al.
Saccharomyces sp.	Wheat bran	۰,۱۳±۷۸,۲۹ U/gds	Onilude et al.
	Orange peel	۰,۰۱±۲۲,۴۷ U/gds	

آزمایشات صورت گرفته به طور معمول در beakerها ، بطری‌های Roux ، قوطی‌ها، فلاسک‌های ارلنمیر[4] و لوله‌های شیشه ای انجام گرفته است. همچنین تخمیر کننده‌های درام، مخزن‌های عمیق و یا سینی‌ها برای انجام تخمیرهای large-scale استفاده شده اند(۱۸). بچ و فد بچ هر دو برای تولید اینولیناز به کمک سیستم SSF میتوانند به کار گرفته شوند، هر چند فد بچ بازده بالاتری دارد. متداول ترین بیوراکتور استفاده شده برای ارزیابی تولید اینولیناز توسط سیستم SSF و پسماندهای زراعی به عنوان سوبسترا با استفاده از میکروارگانیسم‌های مختلف، Packed Bed Bioreactor (PBB) است (۸).

طی مطالعه ای که توسط Mazutti و همکارانش(۱۹) با استفاده از سویه *Kluyveromyces marxianus NRRL Y-7571* در packed-bed bioreactor انجام گرفت، نشان داده شد که بهترین شرایط برای تولید اینولیناز، سرعت جریان حجمی ($3m^3/h$) و دمای هوای ورودی (۳۰ درجه سانتیگراد) به منظور دستیابی به فعالیتی در حدود ۴۶۳ U/gds است.

روشهای خالص سازی و ارزیابی اینولینازهای میکروبی در SSF

خالص سازی و ارزیابی یک آنزیم به منظور تجزیه و تحلیل ماهیت آن، تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن و دستیابی به یک بایوکاتالیست خوب الزامی‌است. فاکتورهای مهم مورد نیاز برای انجام موفقیت آمیز خالص سازی شامل: منبع آنزیم، پیچیدگی آنزیم، توزیع بار و خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن است. خالص سازی منجر به جداسازی انواع مختلف و ایزوفرم‌های اینولینازها می‌شود(۸). تکنیک‌های مختلفی از خالص سازی برای خالص سازی اینولینازها بر اساس قطبیت، اندازه، برهمکنش لیگاند، حلالیت و غیره در نظر گرفته شده است(۲۰). تکنیک‌های مختلف خالص سازی مانند رسوب دهی با نمک، رسوب دهی با حلال، تبادل یونی و کروماتوگرافی فیلتراسیون ژلی بصورت جداگانه یا ترکیبی برای خالص سازی اینولینازهای قارچی توسط SSF استفاده شده است(۸).

دو خصوصیت مهم اینولینازهای میکروبی با توجه به نیازهای صنعتی، pH و پایداری حرارتی آن است. درجه حرارت بالاتر باعث افزایش حلالیت سوبسترا می‌شود و همچنین از بروز آلودگی متقابل جلوگیری می‌کند. ثبات pH برای حفظ برهمکنش‌های بین پیوندهای پروتئینی و بازگرداندن انطباق ساختاری آنها ضروری است (۲۱). سویه‌های قارچی دارای دمای مطلوب در دامنه ۴۵-۵۵ درجه سانتیگراد و pH 4.5-7 هستند، هر چند استثنائاتی نیز وجود دارد (۲۲).

به طور کلی، وزن مولکولی اینولینازهای قارچی بین ۳۰ تا ۱۷۵ کیلو دالتون و اینولینازهای باکتریایی بین ۴۵ تا ۶۰۰ کیلو دالتون متغیر است (۲۳). یون‌های فلزی مانند $Fe3^+$، $Cu2^+$، $Mn2^+$، $Co2^+$، $Mg2^+$، Ag^+ و Na^+ ممکن است به عنوان بخشی از محل کاتالیزوری آنزیم حضور داشته باشند. اینها ممکن است به عنوان کوآنزیم عمل کنند و یا فعالیت آنزیم را به روشهای مختلفی تحت تأثیر قرار دهند. بیشتر یون‌های فلزی به منظور افزایش نرخ واکنش به همراه آنزیم شرکت می‌کنند، یا به عنوان کوفاکتور و یا به عنوان گروه پروستتیک به کار گرفته می‌شوند(۲۴).

چالش‌های تولید اینولیناز به وسیله تخمیر در بستر جامد

اگرچه SSF در استفاده‌های صنعتی دارای مزیت‌های بسیاری است، scale-up فرایند به دلیل مشکلات monitoring و تنظیم پارامترهای مختلف دخیل در فرآیند محدود است. اما با کنترل عوامل فیزیکی و شیمیایی در فرآیند SSF می‌توان بر این مشکلات فائق آمد. اثرات انتقال حرارت و انتقال جرم ، دما ، انتقال اکسیژن و رطوبت را می‌توان با اندازه گیری دما، اکسیژن و دی اکسید کربن به صورت آنلاین در سیستم کنترل کرد (۲۵). هوادهی پایدار از طریق بستر را می‌توان با forced aeration کنترل کرد. برای عملکرد مناسب آنزیمی‌باید از بسترهایی با اندازه ذرات مناسب استفاده کرد. برای یک فرآیند SSF موفق، بستر باید یک فعالیت آب مناسب برای رشد میکروب‌ها، ۰,۶۰-۰,۷۰ برای قارچ و مخمر و ۰,۹۰-۰,۹۹ برای باکتری‌ها داشته باشد (۱۷). حذف حرارت در SSF معمولاً با خنک کننده‌های تبخیری[5] صورت می‌گیرد (۲۶). در حال حاضر لیترچرهای موجود در رابطه با وضعیت کنونی تولید

[4] Erlenmeyer flasks

[5] evaporative cooling

صنعتی اینولیناز به وسیله سیستم SSF اطلاعاتی مبنی بر کاهش زمان تخمیر از ۹۶ ساعت به ۲۴ ساعت و بنابراین افزایش productivity گزارش داده اند. در حال حاضر اطلاعاتی در خصوص تولید سالیانه و هزینه‌های تولید اینولیناز به وسیله سیستم SSF موجود نمی‌باشد. زمانی که، زمان تخمیر کاهش می‌یابد احتمال آلودگی کاهش می‌یابد و همچنین به scale-upسیستم SSF کمک می‌کند. هر چند تمام مطالعات SSF انجام گرفته روی اینولیناز که منتشر شده است، در مقیاس کوچک صورت گرفته است (۸، ۲۷). مطالعات صورت گرفته نشان داده است که تخمیر در tray bioreactorها با محدودیت‌هایی در رابطه با کنترل هوادهی همراه است.Packed-bed reactor ها با طرح کنترل فیدبک و مدل سازی مناسب در زمینه تولید اینولیناز موثر و مناسب هستند، از آنجا که productivity را افزایش می‌دهند و حساسیت sheer میکروب‌ها را از آسیب کاهش می‌دهند. در مقیاس صنعتی، ظرفیت تولید SSF در مقایسه با SmF چندین برابر بیشتر است. SSF همچنین تأثیر مثبتی بر محیط زیست دارد زیرا پسماندهای تولید شده می‌توانند در سایر عملیات‌ها مورد استفاده قرار گیرند و منجر به افزایش ارزش آن در سطح صنعتی شوند. با نظارت بر تمام پارامترهای مهم فیزیکی و شیمیایی در فرآیند SSF و با مدل سازی مناسب از بیورآکتورها، می‌توان اینولیناز را در سطح بالاتری تولید کرد (۸).

بحث و نتیجه گیری

اینولینازها کلاس آنزیم‌های صنعتی هستند که کاربرد گسترده ای در تولید شربت فروکتوز با درصد بالا و سایر فرآورده‌های ارزشمند دارند، به طوریکه سبب شده است از طرف محققین مورد توجه قرار گیرند. مهمترین منبع تولید کننده آن میکروارگانیسم‌ها هستند، از آنجایی که به آسانی کشت داده می‌شوند و بازده بالایی در تولید این محصول دارند. میکروارگانیسم‌های متعددی در تولید آن نقش دارند. از میان سیستم‌های مختلف به منظور کشت، سیستمSSF با توجه به جنبه اقتصادی آن و کاهش مشکلات پساب و بازده تولید محصول بالا، ترجیح داده می‌شود. می‌توان از رویکردهایی برای افزایش تولید از طریق مهندسی فرآیند بهره گرفت. در نهایت چالش‌هایی نیز در این زمینه برای تولید اینولیناز به وسیله سیستمSSF وجود دارد، که با اندیشیدن تدابیری می‌توان بر این مشکلات نیز فائق آمد.

با وجود اهمیتی که بحث آنزیم‌های گروه اینولیناز داراست، در سال‌های اخیر مقالات مروری چندانی در این حوزه به چاپ نرسیده است و این مقاله جزء معدود مقالات مروری است که در این سال‌ها در این رابطه به نگارش درآمده است. در این مقاله تلاش شد تا از جنبه‌های مختلف این گروه آنزیمی‌صحبت شود و در این میان از یک مقاله مروری سال ۲۰۱۹ نیز کمک گرفته شد (۸). از نقاط تمایز این مقاله نسبت به مقالات موجود بر روی این آنزیم می‌توان به بررسی کاربرد و اهمیت اقتصادی اینولیناز و همچنین بررسی بازار جهانی آن اشاره کرد.

1- Kirk, O., T.V. Borchert, and C.C. Fuglsang, *Industrial enzyme applications.* Current opinion in biotechnology, 2002. **13**(4): p. 345-351.

2- https://www.creative-enzymes.com/similar/inulinase_375.html.

3- Fernandes, P., *Marine enzymes and food industry: insight on existing and potential interactions.* Frontiers in Marine Science, 2014. **1**: p. 46.

4- Pouyez, J., et al., *First crystal structure of an endo-inulinase, INU2, from Aspergillus ficuum: discovery of an extra-pocket in the catalytic domain responsible for its endo-activity.* Biochimie, 2012. **94**(11): p. 2423-2430.

5- Singh, R.S. and K. Chauhan, *Inulinase production from a new inulinase producer, Penicillium oxalicum BGPUP-4.* Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2017. **9**: p. 1-10.

6- Singh, R., R .Dhaliwal, and M. Puri, *Production of inulinase from Kluyveromyces marxianus YS-1 using root extract of Asparagus racemosus.* Process Biochemistry, 2006. **41**(7): p. 1703-1707.

7- *Inulinase Market - Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends, and Forecast 2017 - 2027.* Transparency Market Research, 2020.

8- Das, D., R. Bhat, and R. Selvaraj, *Review of inulinase production using solid-state fermentation.* Annals of Microbiology, 2019. **69**(3): p. 201-209.

9- Mazutti, M., et al., *Optimization of inulinase production by solid-state fermentation using sugarcane bagasse as substrate.* Enzyme and Microbial Technology, 2006. **39**(1): p. 56-59.

10- Mazutti, M., et al., *Production of inulinase by solid-state fermentation: effect of process parameters on production and preliminary characterization of enzyme preparations.* Bioprocess and Biosystems Engineering, 2007. **30**(5): p. 297-304.

11- Romero-Gómez, S., C. Augur, and G. Viniegra-González, *Invertase production by Aspergillus niger in submerged and solid-state fermentation.* Biotechnology Letters, 2000. **22**(15): p. 1255-1258.

12- Al-Dabbagh, Y.N. and W.A. Mahmood, *Effect of carbon, nitrogen and pH on inulinase production from local isolate of Aspergillus niger.* ZANCO Journal of Pure and Applied Sciences, 2015. **27**(3 :(p. 1-8.

13- Selvakumar, P. and A. Pandey, *Solid state fermentation for the synthesis of inulinase from Staphylococcus sp. and Kluyveromyces marxianus.* Process Biochemistry, 1999. **34**(8): p. 851-855.

14- Ayyachamy, M., et al., *Production of inulinase by Xanthomonas campestris pv phaseoli using onion (Allium cepa) and garlic (Allium sativum) peels in solid state cultivation.* Letters in applied microbiology, 2007. **45**(4): p. 439-444.

15- Dilipkumar, M., M. Rajasimman, and N. Rajamohan, *Enhanced inulinase production by Streptomyces sp. in solid state fermentation through statistical designs.* 3 Biotech, 2013. **3**(6): p. 509-515.

16- Kapilan, R., *Solid state fermentation for microbial products: A review.* Arch Appl Sci Res, 2015. **7**(8): p. 21-25.

17- Chen, H., *Modern solid state fermentation.* Netherlands: Springer, 2013.

18- Mitchell, D.A., N. Krieger, and M.M. Berovic, *Solid-state fermentation bioreactors*. 2006: Springer.

19- Mazutti, M.A., et al., *Kinetics of inulinase production by solid-state fermentation in a packed-bed bioreactor.* Food Chemistry, 2010. **120**(1): p. 163-173.

20- Fernandes, M. and B. Jiang, *Fungal inulinases as potential enzymes for application in the food industry.* Food Science and Technology, 2013. **5**: p. 1031-1042.

21- Singh, R.S. and K. Chauhan, *Production, purification, characterization and applications of fungal inulinases.* Current Biotechnology, 2018. **7**(3): p. 242-260.

22- Kango, N. and S.C. Jain, *Production and properties of microbial inulinases: recent advances.* Food Biotechnology, 2011. :(۳)۲۵ p. 165-212.

23- Cho, Y.J. and J.W. Yun, *Purification and characterization of an endoinulinase from Xanthomonas oryzae No. 5.* Process Biochemistry, 2002. **37**(11): p. 1325-1331.

24- Singh, R.S., R. Dhaliwal, and M. Puri, *Partial purification and characterization of exoinulinase from Kluyveromyces marxianus YS-1 for preparation of high-fructose syrup.* Journal of microbiology and biotechnology, 2007. **17**(5): p. 733-738.

25- Manan, M. and C. Webb, *Design aspects of solid state fermentation as applied to microbial bioprocessing.* J Appl Biotechnol Bioeng, 2017. **4**(1): p. 91.

26- Krishna, C., *Solid-state fermentation systems—an overview.* Critical reviews in biotechnology, 2005. **25**(1-2): p. 1-30.

27- Leelaram, S., et al., *Effect of feeding strategies on inulinase production analyzed in a biocalorimeter.* Process Biochemistry, 2016. **51**(6): p. 692-703.

مروری بر استفاده از جلبک‌ها به عنوان سوخت زیستی و بهینه‌سازی آن

نیلوفر خیاطی[۱]، مریم عابدینی[۱] و سید محسن دهنوی[۲*]

[۱] تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، گروه زیست‌شناسی گیاهی

[۲] تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، گروه زیست‌شناسی سلولی-مولکولی

چکیده

محدودبودن منابع سوخت فسیلی در کنار آلودگی‌های زیست‌محیطی ناشی از احتراق آن‌ها جستجوی منابع جایگزین تجدیدپذیر و پاک را ضروری می‌سازد. بیشتر توجه در تولید سوخت زیستی معطوف به استفاده از بیومس گیاهی، ضایعات کشاورزی، پسماندهای جامد و لجن تصفیه‌های دفعی تصفیه‌خانه‌های فاضلاب بوده است. امروزه منابع تجدیدپذیر جهت جایگزینی سوخت‌های فسیلی مثل سوخت‌های زیستی-گیاهی وجود دارد؛ با این حال در دهه اخیر کشت میکروجلبک‌ها به عنوان گزینه‌ای دیگر برای تولید بیومس مطرح شده است. بهره‌وری از زیست‌توده‌های جلبکی از نظر مصرف آب و مساحت زیر کشت به صرفه‌تر از محصولات زراعی گیاهی بوده و باعث کاهش هزینه و کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای از طریق جایگزینی با سوخت های فسیلی می‌شود. بسیاری از گونه‌های میکروجلبک‌ها با توجه به توانایی بالا در مصرف کربن آلی و نیتروژن غیرآلی و فسفر، قادر به رشد در محیط‌های آبی مختلف از جمله فاضلاب‌های شهری و صنعتی و کشاورزی و فاضلاب‌های حاوی فضولات حیوانی است که در آن‌ها مقادیر زیادی کربن آلی و غیرآلی و نیتروژن و فسفر و دیگر عناصر وجود دارد که به عنوان یک تصفیه‌کننده‌ی زیستی عمل می‌کنند. با بررسی و مطالعات گسترده و ابداع روش‌های جدید می‌توان به تولید مقرون‌به‌صرفه سوخت‌های زیستی-جلبکی دست یافت. در این مقاله مروری، مطالعات صورت‌گرفته در زمینه سوخت‌های زیستی، استفاده از جلبک‌ها به عنوان سوخت زیستی و روش‌های بهینه‌سازی تولید آن به صورت جامع ارائه شده است.

واژه‌های کلیدی: سوخت زیستی، میکروجلبک، بیومس گیاهی، تصفیه فاضلاب

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: mo_dehnavi@sbu.ac.ir