بررسی خواص بیوشیمیایی پکتیناز میکروبی و طبقه بندی آن

Investigating the biochemical properties of microbial pectinase and its classification

معصومه دلفانی[۱]*، رضوان پوراحمد[۲]

دریافت: ۱۴۰۰/۸/۵ پذیرش:۱۴۰۱/۲/۲۶

چکیده

پکتین ها، که اجزای اصلی دیواره سلولی اولیه در ادیکوت ها هستند، از طریق سنتز، اصلاح و تخریب در فرآیندهای رشدی متعدد عمل می‌کنند. چندین آنزیم اصلاح کننده پکتین تخریب پکتین را از طریق حالت‌های مختلف عمل تنظیم می‌کنند. بر اساس تفاوت در فعالیت‌های هیدرولیز آنها، PG ها را می‌توان به سه نوع اصلی تقسیم کرد: exo-PGs، endo-PGs و rhamno-PGs. عملکرد آنها در ابتدا بر اساس الگوهای بیان ژن‌های PG و اندازه گیری فعالیت کل PG در اندام‌ها مورد بررسی قرار گرفت. آنزیم پکتیناز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های صنعتی د جهان محسوب می‌شود که از طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها مانند باکتری‌ها و قارچ‌های رشته‌ای استخراج می‌شود. پکتینازها آنزیم‌های رو به رشد بخش بیوتکنولوژی هستند که افزایش تدریجی در بازار خود نشان می‌دهند. آن‌ها در بین آنزیم‌های صنعتی تولید تجاری جایگاه پیشرو دارند. این آنزیم‌ها ابزار طبیعت دوستدار محیط زیست هستند که به طور گسترده در صنایع مختلف مانند صنعت شراب استفاده می‌شوند. صنایع غذایی؛ صنعت کاغذ برای سفید کردن خمیر و بازیافت کاغذ باطله. در فرآوری میوه-سبزیجات، چای-قهوه، خوراک دام؛ استخراج روغن نباتی و شستشوی الیاف گیاهی.

کلمات کلیدی: پکتیناز، استخراج، میکروبی، صنایع غذایی

مقدمه

آنزیم‌ها کاتالیزورهایی هستند که سرعت واکنش را افزایش می‌دهند. آنزیم پکتیناز یکی از مهمترین آنزیم‌های صنعتی جهان می‌باشد که ازگیاهان عالی و میکروارگانیسم‌هایی همچون باکتری‌ها و قارچها استخراج می‌شود. پکتین اولین بار در سال ۱۸۲۵ توسط هنری براکونوت جداسازی شد. آنزیم پکتیناز نیز برای اولین بار در سال ۱۹۳۰ کشف گردید. . پکتینازها از دهه ۱۹۷۰ به طور تجاری از میکروارگانیسم‌ها به ویژه از قارچها تهیه شده‌اند.

آنزیم پکتیناز به عنوان یک کاتالیزور بیولوژیکی در فرآیندهای مختلف صنعتی در سراسر جهان مورد توجه قرار گرفته است. این آنزیم، پکتین را که معمولاً در دیواره سلولی گیاه یافت می‌شود تجزیه می‌کند. پکتین یک هتروپلی ساکارید اسیدی است که ساختاری غنی از اسید گالاکتورونیک با گروه‌های کربوکسیل استری شده با متانول که توسط پیوندهای گلیکوزیدی به هم

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی،دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، تهران
[۲] استاد، گروه علوم و صنایع غذایی،دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، تهران
نویسنده مسئول مکاتبه کننده : delfani.masoomeh88@yahoo.com

متصل شده‌اند. این هتروپلی ساکارید اسیدی جزء اصلی غلات، سبزیجات و میوه‌ها است. مواد پکتیک دارای وزن مولکولی بالا، پلی ساکاریدهای طبیعی آنیونی، زیست سازگار، غیرسمی، و مهمترین اجزای تشکیل دهنده لایه میانی و دیواره سلولی اولیه گیاهان هستند. این آنزیم به طور طبیعی نقش مهمی در فعالیت‌های متابولیک تقریباً همه موجودات زنده از پیچیده تا موجودات بسیار ساده مانند گیاهان، حیوانات، قارچها، باکتری‌ها و ویروس‌ها دارد. آنزیم‌های پکتینولیتیک در بسیاری از کاربردهای صنعتی به کار می‌روند، اما عمدتاً در صنایع غذایی در عملیات‌های خاص مانند شفاف‌سازی آب میوه‌ها و شراب‌ها و استخراج روغن‌های گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند. همچنین به طور گسترده در پردازش و حذف پکتین استفاده می‌شود که در فرآوری قهوه و چای، خیساندن گیاهان و بافت‌های گیاهی، صمغ زدایی الیاف گیاهی، تصفیه فاضلاب، سفید کردن کاغذ و به عنوان یک افزودنی در تغذیه طیور و همینطور در صنایع نساجی بسیار اهمیت دارد.

منابع قارچی پکتیناز

چندین گونه قارچی می‌توانند با تولید آنزیم‌های پکتینولیتیک، مواد پکتیک را تجزیه کنند. کارآمدترین قارچها در تولید پکتیناز عبارتند از: *Aspergillus Niger*، *Aspergillus awamori*، *Penicillium limitum*، *Trichoderma viride*، *Mucor piriformis* و *Yarrowia lipolytica*، نقش زیادی در تخمیر غوطه‌ور و همچنین در حالت جامد برای تولید انواع مختلف صنعتی مهم دارند. محصولات *Aspergillus Niger*، *Aspergillus oryzae* و *Penicillium expansum* انواع قارچهایی هستند که ایمن در نظر گرفته شده و در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

مخمرهای پکتیکولیتیک

Saccharomyces thermantitonum، *Torulopsis kefyr*، *Candida pseudotropicalis var lactosa* و *Candida pseudotropicalis* انواع مخمرهایی هستند که می‌توانند مواد پکتین را در فرآیندهای تولید پکتیناز تجزیه کنند.

باکتری‌های پکتیکولیتیک

گونه‌های *اروینیا*، *سودوموناس فلورسنس*، *باسیلوس*، *سودوموناس* و *میکروکوکوس* پتانسیل خوبی برای تجزیه پکتین در تولید پکتیناز دارند. طی پژهشی از تاپیاس و همکاران، گزارش شده است که موارد دیگری مانند باکتری *استرپتو مایسس* نیز دارای خواص پکتینولیتیک هستند. تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که از بین جدایه‌های باکتریایی مختلف غربال‌شده برای خواص پکتینولیتیک، سویه‌های *باسیلوس* به عنوان قوی‌ترین تولیدکننده آنزیم انتخاب شدند.

عوامل مؤثر بر تولید پکتیناز

- اثر pH بر تولید پکتیناز
- اثر دما
- اثر زمان تخمیر

- اثر غلظت سوبسترا

pH

Torimiro و Okonji تولید پکتیناز توسط گونه‌های باسیلوس را بررسی کردند. در گزارش آنها سعی شد اثر بهینه pH بر تولید پکتیناز، محدوده pH بهینه ۴-۱۰ باشد. اما بیشترین مقدار پکتیناز در pH 7 ثبت شد.

تولید و بهینه سازی پکتیناز توسط گونه باسیلوس با استفاده از کاساوا به عنوان سوبسترا انجام شد که بهینه سازی تولید این پکتیناز شامل محدوده‌های مختلفpH 3.5، 4.5،۵.۵، ۶.۵ و ۷.۵، 8.5، 9.5 بود. در میان طیف وسیعی از pH، حداکثر فعالیت پکتیناز در pH 6.5 مشاهده شد که توسط کومار و همکاران گزارش شده است.

دما

محققان مختلف حداکثر تولید پکتیناز را توسط گونه‌های مختلف باکتری در محدوده‌های دمایی مختلف به دست آوردند. پلی گالاکترونار در دماهای مختلف از ۲۵ تا ۵۰ درجه سانتیگراد در فواصل پنج درجه سانتیگراد تولید شد. از این دما، حداکثر پلی گالاکترونار در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد توسط *باسیلوس اسفاریکوس* تولید شد. بیشترین میزان تولید پلی گالاکترونار توسط *انتروباکتر تاباسی* تولید شد. این مطالعه در دمای ۲۰ تا ۴۵ درجه سانتی گراد انجام شد. دمای بهینه تولید این آنزیم در ۳۵ درجه سانتیگراد مشاهده شد. حداکثر پکتیناز تولید شده توسط گونه *Erwinia*در محدوده دمایی مختلف. این محدوده دما بین ۲۰ تا ۶۵ درجه سانتیگراد بود. در بین آن دماها، حداکثر تولید پکتیناز در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد مشاهده شد که توسط مهتا و همکاران گزارش شده است.

زمان

حداکثر تولید پکتیناز از میکروارگانیسم‌های مختلف از زمان به زمان دیگر متفاوت است. گونه باسیلوس مقدار قابل توجهی پکتیناز را پس از ۹۶ ساعت انکوباسیون در محیط تخمیر تولید کرد که توسط Kalaichelva گزارش شده است و *Erwinia carotovora* حداکثر میزان فعالیت پلی گالاکترونار را در پایان ۷۲ ساعت زمان تخمیر در شرایط تخمیر حالت مایع تولید کرد.

غلظت سوبسترا

طی پژوهشی که کان و باراتی انجام دادند بیشترین میزان فعالیت پکتیناز در غلظت ۰/۸ درصد پکتین مشاهده شد. مطالعات دیگر که توسط مهتا و همکاران انجام شد، نشان داد که با افزایش غلظت پکتین، فعالیت پکتیناز تا غلظت بهینه افزایش و پس از غلظت بهینه، فعالیت پکتیناز کاهش یافت. در بین غلظت‌های مختلف پکتین ۰.۱٪، ۰.۲٪، ۰.۵٪، ۱٪ و ۱.۵٪، بیشترین میزان فعالیت پکتیناز در غلظت ۰.۵٪ پکتین ثبت شد و پس از آن غلظت کاهش یافت.

روش‌های تولید پکتیناز از میکروارگانیسم‌ها

پکتینازهای طبیعی اساساً در گیاهان یا میکروارگانیسم‌ها یافت می‌شوند، اما جداسازی و تولید تجاری آنها از منابع میکروبی نیازهای صنعتی را از طریق تولید در مقیاس بزرگ که شامل فرآیند تخمیر می‌شود برآورده می‌کند. جداسازی اولیه و شناسایی میکروب‌های انتخابی، غربالگری محیط‌های انتخابی، و فرآیند تولید از طریق فرایند تخمیر جهت بهینه‌سازی آنزیم‌ها انجام می‌گیرد.

آنزیم‌های پکتیناز توسط تخمیر غوطه ور (SmF) یا تخمیر حالت جامد (SSF) تولید می‌شوند که با توجه به استفاده از قارچ یا باکتری انتخاب شده متفاوت است . تکنیک SmF از دهه ۱۹۴۰ بر روی محیط کشت مایع برای تولید در مقیاس بزرگ آنتی بیوتیک ها، و بعداً نیز به طور گسترده در صنایع مختلف برای تولید مجموعه عظیمی از متابولیت های میکروبی به کار گرفته شد.

از طرف دیگر، روش SSF در بخش‌های مختلفی که در آن میکروارگانیسم‌ها بر روی مواد جامد سازگار با محیط زیست، مقرون‌به‌صرفه و بسیار پربازده ، تأثیرات پروتئولیتیک کاهش‌یافته و دارای مقاومت بالاتر در برابر کاتابولیک هستند، کشت می‌شود و برای تولید آنزیم کاربرد دارد.

انتخاب یک تکنیک خاص و همچنین یک محیط مناسب، به میکروارگانیسم‌های انتخاب شده و برخی عوامل محیطی اطراف برای بهینه سازی تولید پکتیناز بستگی دارد.

برای تولید آنزیم پکتیناز از قارچ آسپرژیلوس اوریزه بهترین منبع کربنی پکتین مرکبات معرفی شده است. در ارتباط با تأثیر زیاد پکتین مرکبات بر تولید پکتیناز می‌توان گفت به دلیل بالاتر بودن درصد ترکیبات پکتین مرکبات، باعث القا بیشتر پکتیناز می‌شود. تأثیر pH بر روی فعالیت آنزیم‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است اکثر آنزیم‌ها در یک pH مشخص که همان pH بهینه آنزیم می‌باشد، دارای بیشترین فعالیت هستند. و در pH های بالاتر و یا پایین‌تر فعالیتشان کمتر است و یا ممکن است غیر فعال شوند. pH بهینه برای پکتیناز در محیط کشت جامد ۵ و در محیط کشت غوطه ور ۶ پیشنهاد شده است.

طی پژوهشی برای تولید آنزیم پکتیناز از قارچ *آسپرژیلوس فومیگاتوس* با منابع کربنی مختلف از جمله گلوکز، نشاسته گندم، تفاله نیشکر و چغندرکه در pH ، دما و اسیدیته های مختلف انجام شد، بیشترین تولید آنزیم پکتیناز با منبع کربنی گلوکز، اسیدیته۳ و دمای۶۰ درجه سانتیگراد بود. در حالی که سویه‌های *آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس کوریزوژنوم و ریزوپوز اوریزه* دارای بیشترین فعالیت در تولید این آنزیم در دمای ۳۵-۲۸ درجه سانتیگراد می‌باشند.

طبقه بندی و خواص بیوشیمیایی آنزیم‌های پکتینولیتیک

آنزیم‌های پکتیک به نام‌های پکتیناز یا آنزیم‌های پکتینولیتیک نیز شناخته می‌شوند که توانایی هیدرولیز کردن مواد مختلف پکتیک پیچیده را دارند. آنزیم‌های پکتیناز جزء گروه هیدرولاز به حساب می‌آیند. این آنزیم‌ها بر اساس مکانیسم اثرشان بر

روی مولکول‌های پکتین به سه نوع عمده شامل پروتوپکتینازها، استرازها و دپلیمرازها طبقه بندی می‌شوند. پروتوپکتینازها گروهی از آنزیم‌ها هستند که وظیفه هیدرولیز سوبسترای پروتوپکتین و تبدیل آن به پکتین محلول را بر عهده دارند. استراز دسته‌ای از آنزیم‌ها است که استرهای متوکسیل و استیل را از پکتین حذف می‌کند و در نتیجه اسید پلی گالاکتورونیک تشکیل می‌دهند. دپلیمرازها نیز به تجزیه مواد پپتیک با شکستن پیوندهای گلیکوزیدی α-(۱ ⟵ ۴) در واحدهای D-GalA یا از طریق هیدرولیز یا از طریق حذف ترانس کمک می‌کنند. البته این سیستم طبقه‌بندی قدیمی است و اخیراً، آنزیم‌های پکتیک به طور گسترده بر اساس ماهیت مکانیسم عمل، بستر اولیه به شرح ذیل طبقه بندی می‌شوند:

۱_ پروپکتیناز

۲_ پکتین استراز

۳_ پلی گالاکتوروناز

۴_پکتین لیاز

پروپکتیناز

پروپکتینازها (PPases) پکتینوزینازهایی هستند که در حضور آب با پروتوپکتین نامحلول برهمکنش می‌کنند و آن را به پکتین ساده و محلول تبدیل می‌کنند. این اصطلاح ابتدا در حدود سال ۱۹۲۷ مورد استفاده قرار گرفت و اخیراً به دلیل اهمیت آن در بخش‌های مختلف صنعت مانند تولید پکتین، پروتئین تک سلولی و پروتوپلاست رایج شد . این آنزیم‌ها می‌توانند پروتوپکتین را با واکنش در مکان‌هایی که دارای سه یا بیشتر مولکول GalA غیر متیله هستند و هیدرولیز پیوند گلیکوزیدی، کاتالیز کنند. بر اساس عملکرد کاتالیزوری، این‌ها به عنوان PPase نوع A دسته بندی می‌شوند که با ناحیه پلی گالاکتورونیک اسید یا محل داخلی پروتوپکتین نامحلول واکنش نشان می‌دهد، در حالی که نوع B PPase در محل زنجیره‌های پلی ساکارید یا خارج از پروتوپکتین نامحلول که پلی گالاکتورونیک را به هم پیوند می‌دهد، واکنش می‌دهد. (5)

نوع A PPase همچنین در فیلتر کشت بسیاری از مخمرها و قارچ‌ها مانندکلایورومایسیس فراژیلیس، Galactomyces reessi و Trichosporon penicilatum SNO 3 گزارش شده است که به ترتیبPPase F-، L- و S- نامیده می‌شوند. خواص بیولوژیکی هر سه نوع PPase یکسان است و وزن مولکولی یکسانی در حدود ۳۰ کیلو دالتون دارند. علاوه بر این، هر سه نوع آنزیم در pH 5.0 بهینه‌تر عمل می‌کنند. در بین این سه نوع از PPaseهایA ، فقط PPase F- یک پروتئین اسیدی است، در حالی که بقیه از نظر خواص قلیایی هستند. این آنزیم‌ها نقش حیاتی در هیدرولیز اسید پلی گالاکتورونیک دارند و همچنین مسئول کاهش ویسکوزیته در یک محیط حاوی پلی گالاکتورونیک اسید هستند. PPaseهای نوع B از کشت خالص B. subtilis IFO 3134 و Trametes sunginea جدا شده‌اند که به ترتیب C- PPase و T- نیز نامیده می‌شوند. در این مورد، وزن‌های مولکولی مختلف پروتئین‌هایی مانند (PPase-C) ۳۰و (PPase-T) ۵۵ کیلو دالتون همراه با نقاط ایزوالکتریک مختلف (PPas-C: 9.0؛ PPase-

T: 8.1) شناسایی شدند. این نوع آنزیم‌ها به وفور در محصولات کشاورزی مانند لیمو، پرتقال، سیب، بیدمشک، هویج، تربچه، چغندرقند و غیره یافت می‌شوند که به ویژه بر پروتوپکتین اثر می‌گذارند.

استراز

پکتین استرازها آنزیم‌هایی هستند که به جداسازی بقایای متوکسیل و استیل از پکتین کمک می‌کنند و در نتیجه اسید پلی گالاکتورونیک تشکیل می‌شود. پکتین استرازهای حاصل از منابع قارچی در یک مکانیسم چند زنجیره‌ای با حذف گروه‌های متیل به شیوه‌ای دلخواه عمل می‌کنند. پکتین استرازها بر اساس گروه‌های عاملی هدف به دو نوع طبقه بندی می‌شوند که به نام‌های پکتین متیل استراز یا پکتین استراز و پکتین استیل استراز نام گذاری می‌شوند. پکتین متیل استراز در مکانیسم تک زنجیره‌ای با تقسیم گروه متیل استر پکتین و در نتیجه آزاد کردن متانول و تبدیل پکتین به پکتات کار می‌کند. اما در این عمل طول زنجیره‌های پکتیک کاهش نمی‌یابد.

غربالگری و تولید این دسته از آنزیم‌ها در مقایسه با گیاهان و حیوانات بیشتر از منابع میکروبیولوژیکی انجام شده است. سرعت اثر آنزیمی پکتین استراز بر ویسکوزیته محلول حاوی پکتین بدون کاتیون‌های دو ظرفیتی مانند کلسیم (Ca2+)، باریم (Ba2+) و استرانسیوم (Sr2+) تقریباً ناچیز است راندمان کاری آنها نیز با سطوح و دما و pH مختلف، متفاوت است و در pH ۵ تا ۱۱ و دما از ۴۰ تا ۷۰ درجه سانتیگراد متغیر است. با این حال، پکتین استرازهای قارچی در مقایسه با پکتین استرازهای باکتریایی سطح pH کمتری برای بهینه سازی محصولات دارند.

پلی گالاکتروناز

در میان تمام آنزیم‌های پکتینولیتیک، پلی گالاکترونازها (PGases) به دلیل ویژگی دپلیمریزاسیون آن‌ها از طریق فرآیند هیدرولیز، مورد مطالعه و کاربرد صنعتی قرارمی گیرند. پلی گالاکتوروناز شکل ساختاری خود را زمانی که با پکتین واکنش می‌دهد از دست می‌دهد، که ممکن است به دلیل مولکول‌های هدف پلی گالاکتورونازها که دارای گروه‌های کربوکسیلیک آزاد هستند رخ دهد. پلی گالاکتورونازها بسته به الگوی عملکردشان به سه نوع (اگزوپلی گالاکتروناز، اندوپلی گالاکتروناز و رامنوپلی گالاکتروناز) طبقه بندی می‌شوند. اگزوپلی گالاکتوروناز گروه‌های انتهایی مولکول پکتیک را هدف قرار می‌دهد که منجر به کاهش تدریجی طول زنجیره می‌شود، در حالی که اندوپلی گالاکتروناز به طور خودسرانه به تمام پیوندهای زنجیره حمله می‌کند که منجر به عواقب سریع‌تر و واضح‌تر می‌شود. در حالی که، رامنوپلی گالاکتروناز به طور تصادفی در داخل یا در پایانه‌های غیر احیاکننده زنجیره‌های هسته را کاتالیز می‌کند.

بسیاری از آنزیم‌های پلی گالاکتروناز سرعت هیدرولیز را در pH ایده آل بین ۳.۵ تا ۵.۵ با دمای مناسب بین ۳۰ تا ۵۰ درجه سانتی گراد بالا می‌برند. چندین یافته مربوط به خواص بیوشیمیایی مختلف مانند وزن مولکولی، pH، دما، ایزوآنزیم، نقطه ایزوالکتریک و غیره با توجه به endopolygalacturonase در گونه‌های مختلف باکتریایی و قارچی در مقایسه با

exopolygalacturonase و rhamnopolygalacturonase به دست آمده است و حاکی از آن است که تقریباً تمام آنزیم‌های endopolygalacturonase و exopolygalacturonase در شرایط محیطی اسیدی سنتز می‌شوند، در حالی که، برخی از exopolygalacturonaseها در شرایط پایه بالا (حدود pH 11.0) و توسط گونه‌های خاصی از جمله *Bacillus licheniformis*، تولید می‌شوند. در مورد رامنوپلی گالاکترونازها، آنزیم‌ها در pH 4.0 و دمای ۵۰ درجه سانتیگراد پایدارتر و کارآمدتر عمل می‌کنند.

لیاز

لیازها (ترانس لیمینازها) با انجام تجزیه ترانس حذفی پلیمرهای پکتات یا پکتینات عمل می‌کنند. لیازها بر اساس بسترهایی که بر روی آنها عمل می‌شود، به دو نوع عمده، یعنی پلی گالاکتورونات لیاز و پلی متیل گالاکترونات لیاز طبقه بندی می‌شوند. با این حال، آن‌ها بیشتر به پنج زیرگروه تقسیم می‌شوند، یعنی لیاز اندو پلی گالاکتورونات، لیاز اگزو پلی گالاکتورونات ، اندو پلی متیل پلی گالاکتورونات لیاز، اگزو پلی متیل پلی گالاکتورونات لیاز، و الیگو دی گالاکتوسیدو رونات لیاز.

ساختار و دپلیمریزاسیون پکتین

پکتین ها یا مواد پکتیک طبیعی عمدتاً از پلی ساکاریدهای غنی از گالاکتورونیک اسید (GalA) تشکیل شده‌اند که شامل هموگالاکتورونان (HG)، زیلوگالاکترونان (XGA)، رامنوگالاکتورونان۱ (RG-I) و رامنو گالاکترونان۲ (RG-II) می‌شود.

تجزیه پکتین با روشهای فیزیکی، شیمیایی یا آنزیمی صورت می‌پذیرد. فراصوت، درمان با فشار بالا، تابش و فتولیز برخی از ابزارهای فیزیکی مورد استفاده در تجزیه هستند. در یک محلول آبی با pH در حدود ۳.۵، پکتین ها پایدارترین هستند، اما در PH پایین یا بالاتر، گروه‌های متوکسیل، استیل و قند خنثی حذف می‌شوند و شکل پلیمری شکافته می‌شود. از نظر شیمیایی، هتروپلی ساکاریدها را می‌توان با هیدرولیز اسیدی تجزیه کرد. تخریب آنزیمی پکتین از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، زیرا امکان پلیمریزاسیون انتخابی منطقه را در شرایط ملایم فراهم می‌کند. با توجه به پیکربندی مولکولی پیچیده پکتین، طیف وسیعی از آنزیم‌ها برای تجزیه این پلیمر ضروری هستند. این آنزیم‌ها شامل پلی گالاکترونار (PG) است که با هیدرولیز پیوندهای گلیکوزیدی، هموگالاکتورونان HG را تجزیه می‌کند و به دو نوع endo-PG و exo-PG طبقه بندی می‌شود.

روش‌های استخراج و خالص سازی پکتین

نیاز روز افزون به پکتین در کاربردهای دارویی، فرآیندهای استخراج را تسریع کرده است. از نظر تجاری، این مولکول‌های زیستی طبیعی را می‌توان از پوست مرکبات با رسوب الکلی استخراج کرد. در فرآیند استخراج، بازیابی پکتین ها در مقیاس صنعتی حیاتی است چرا که عرضه قابل قبولی را برای نیاز رو به رشد فراهم می‌نماید. در سطح تجاری، هیدرولیز پروپکتین به پکتین در دمای بالا با استفاده از اسید و پس از آن رسوب توسط اتانول به طور معمول استفاده می‌شود.

متداول‌ترین اسیدهای مورد استفاده عبارتند از اسیدهای استیک، سیتریک، لاکتیک، مالیک، تارتاریک (آلی)، هیدروکلریک، نیتریک، اگزالیک، فسفریک و سولفوریک. نوع اسید و غلظت آن بر عملکرد، خواص فیزیکوشیمیایی و عملکردی پکتین تأثیر می‌گذارد. در محیط‌های اسیدی داغ، پکتین به دلیل پایداری و حساسیت بالا به اسید، می‌تواند به سرعت تجزیه شود. بنابراین، پکتین استخراج شده با استفاده از اسید داغ به دلیل متیلاسیون و تکه تکه شدن زنجیره پلی گالاکترونیک، متوکسیله کمی دارد. کمترین عملکرد برای اسید سیتریک گزارش شد. همچنین گزارش شده است که اسید سیتریک کمترین عامل استخراج کننده پکتین (پلیمریزه و استری زدایی) است. از اسید سیتریک می‌توان برای جداسازی پکتین با خاصیت ژل کنندگی بهتر استفاده کرد.

محدودیت‌هایی مانند راندمان پایین‌تر، تغییرات ناهمگن در خواص ماکرومولکولی و ژل کنندگی و غیره ضرورت یافتن روش‌های جدید مانند استخراج به کمک مایکروویو، استخراج آنزیمی (پلی گالاکتروناز، همی سلولز، پروتئاز، سلولز، α-آمیلاز، آلکالازو...)، استخراج آب فوق بحرانی، تصفیه فشار فوق العاده بالا، تصفیه میدان الکتریکی فوق العاده بالا، را افزایش داده است. این روش‌های پیشرفته ظرفیت حمل و نقل بالا، زمان پردازش کمتر، خلوص بالاتر، شرایط ملایم و سازگار با محیط زیست را فراهم می‌کنند. تحقیقات ثابت کرد که خالص‌سازی مؤثر پکتین‌ها از طریق روش‌های نوآورانه مرحله‌ای مانند رسوب اتانول، اولترافیلتراسیون در ترکیب با دیافیلتراسیون، اولترافیلتراسیون و رسوب فلزی نتیجه بخش بوده است.

نتیجه گیری

اکثر انسان‌ها همه چیزخوار هستند و به طور منظم غذاهای متنوعی مصرف می‌کنند که باید به درستی در دستگاه گوارش هضم شوند. برای این منظور، فیبرهای غذایی قابل تخمیر از طریق پکتیناز می‌تواند در کمک به سیستم آنزیمی داخلی برای هضم مناسب به عنوان پری بیوتیک عمل کند.

پکتیناز از جمله آنزیم‌های پراهمیت در صنایع مختلف به خصوص آبمیوه می‌باشد. این آنزیم با تجزیه پکتین موجب صاف شدن آبمیوه ها می‌شود. در گذشته برای استخراج این آنزیم از میوه‌ها استفاده می‌شد اما امروزه به دلیل افزایش تقاضا استفاده از منابع میکروبی افزایش یافته است. استفاده از منابع میکروبی برای تولید این آنزیم موجب تولید سریع‌تر این آنزیم گشته و همچنین منابع گیاهی را حفظ می‌کند. اشکال خالص پکتیناز که به صورت تجاری از گونه‌های قارچی مختلف جدا شده‌اند، نقش زیادی در مطالعات کشت پروتوپلاست گیاهی دارند زیرا به تولید بازده خوبی از پروتوپلاست زنده در هنگام درمان با سلولز کمک می‌کنند. با این حال، این آنزیم نیز مانند سایر آنزیم‌ها، در طول تولید تجاری خود در دمای 30تا 50درجه سانتی‌گراد و pHبین 5/4تا 5/8فعال‌تر می‌شود، اما اثربخشی بیشتر به منبع میکروارگانیسم‌های خاص و سایر عوامل محیطی اختصاص دارد.

منابع **References**

1-**سونگل، ا. ۲۰۱۵.** بهینه سازی تولید پکتیناز در قارچ *Aspergillus fumigatus* جدا شده از میوه‌های پوسیده مجله میکروارگانیسم‌ها. سال چهارم، شماره ۱۵.

۲-**جعفری ز. ۲۰۰۸.** بهینه سازی تولید مشترک آمیلاز و پکتیناز توسط Aspergillus orizae. مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی دوره ۱۸، شماره ۱/۷۰.

۳- **Satapathy1S , Ranjan Rout2 J, George Kerry R, Thatoi H . 2020**. Biochemical Prospects of Various Microbial Pectinase and Pectin: An Approachable Concept in Pharmaceutical Bioprocessing. REVIEW article ,Front. Nutr.

۴- **Haile, S. Ayele, A. 2022**. Pectinase from Microorganisms and Its Industrial Applications. The Scientific World Journal. Volume 2022 Article ID 1881305, 15 pages.

۵- **Pedrolli AC, Gomes E, Carmona EC. 2009**. Pectin and pectinases: production, characterization and industrial application of microbial pectinolytic enzymes.OpenBiotechnolJ. 9_18.

۶- **Yang Y, Yu Y, Liang Y, Anderson CT, Cao J. 2018.** A profusion of molecular scissors for pectins: classification, expression, and functions of plant polygalacturonases. Front Plant Sci.

۷-Mutter M, Beldman G, Pitson SM, Schols HA, Voragen AGJ. 1998. Rhamnogalacturonan α-D-galactopyranosyluronohydrolase. Plant Physiol.

۸- **Sandarani MD. 2017**. A review: different extraction techniques of pectin. J Pharmacogn Nat Prod.

۹- **Garg G, Singh A, Kaur A, Singh R, Kaur J, Mahajan R. 2016.** Microbial pectinases: an ecofriendly tool of nature for industries. 3 Biotech.

Investigating the biochemical properties of microbial pectinase and its classification

Masoomeh Delfani1[3], Rezvan Pourahmad [4]

Received:2021/08/27 **Accepted:2022/05/16**

Abstract:

Pectin’s, which are the main components of the primary cell wall in edicotes, function in numerous developmental processes through synthesis, modification, and degradation. Several pectin-modifying enzymes regulate pectin degradation through different modes of action. Based on the difference in their hydrolysis activities, PGs can be divided into three main types: exo-PGs, endo-PGs and rhamno-PGs. Their performance was initially evaluated based on the expression patterns of PG genes and measurement of total PG activity in organs. Pectinase enzyme is considered one of the most important industrial enzymes in the world, which is extracted from a wide range of microorganisms such as bacteria and filamentous fungi. Pectinases are the growing enzymes of the biotechnology sector, showing a gradual increase in their market. They have a leading position among industrial enzymes of commercial production. These enzymes are nature's environmentally friendly tools that are widely used in various industries such as the wine industry. Food industry; Paper industry for pulp bleaching and waste paper recycling. in fruit-vegetable, tea-coffee, animal feed processing; Extracting vegetable oil and washing vegetable fibers.

Keywords: pectinase, extraction, microbial, food industry

[3] M Sc. student, Department of Food Science and Industry, Faculty of Agriculture, Varamin Pishva Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

[4] Professor, Department of Food Science and Industry, Faculty of Agriculture, Varamin Pishva Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Corresponding author: delfani.masoomeh88@yahoo.com