دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر
فصلنامه‌ی کاربرد شیمی در محیط زیست

سال دوازدهم، شماره‌ی ٤٥
بهار ١٤٠٠، صفحات ٩-١

کاربرد آنزیم‌های تثبیت شده در صنایع غذایی به عنوان روش‌های زیست سازگار

اسماعیل فرامرزی آق گنبد
گروه مهندسی شیمی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران
لیلا امیرخانی *
گروه مهندسی شیمی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران
Email: leila.amirkhani@iau.ac.ir
سید مهدی هدایت زاده
گروه مهندسی شیمی، واحد ایلخچی، دانشگاه آزاد اسلامی، ایلخچی، ایران
فهیمه درخشان فرد
گروه مهندسی شیمی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

چکیده
آنزیم‌ها یا میکروارگانیسم‌ها در تهیه مواد غذایی به طور گسترده‌ای کاربرد دارند. با پیشرفت تکنولوژی، آنزیم‌های جدید با طیف وسیعی از کاربردها و ویژگی‌ها توسعه یافته‌اند و حوزه‌های کاربردی جدید هنوز در حال بررسی هستند. میکروارگانیسم‌هایی مانند باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها و آنزیم‌های آن‌ها به‌طور گسترده در بسیاری از مواد غذایی برای بهبود طعم و بافت استفاده می‌شوند و مزایای اقتصادی زیادی برای صنایع دارند. همچنین آنزیم‌ها قادر به حذف موثر مواد آلی از پساب‌های صنایع غذایی هستند. آنزیم‌های میکروبی به دلیل مزایای متعددی مانند تولید آسان، مقرون به صرفه و سازگار بودنشان، منابع ارجح برگیاهان یا حیوانات هستند. با این حال استفاده از آنزیم‌ها در فرایندها یک سری معایب دارد. به علت قیمت بالای آنزیم‌ها، واکنش‌های آنزیمی جز واکنش‌های گران قیمت هستند. آن‌ها همچنین به شرایط محیطی حساس هستند و بنابراین می توانند به آسانی تغییر ماهیت داده و خاصیت خود را از دست بدهند. استفاده از یک کاتالیست ناهمگن و تثبیت آنزیم‌ها بر روی یک پایه جامد روشی است که می‌تواند بازیافت آنزیم‌ها را ممکن سازد. در این تحقیق بعد از بررسی ساختار و انواع آنزیم‌ها، ترمودینامیک واکنش‌های آنزیمی و روش‌های تثبیت آنزیم‌ها مطالعه گردید. نهایتا پیشرفت‌های اخیر در فناوری آنزیم برای صنایع غذایی و فهرست جامعی از آنزیم‌های مورد استفاده در فرآوری مواد غذایی، منبع میکروبی این آنزیم‌ها و دامنه وسیع کاربرد آن‌ها مورد بحث قرار گرفته است.

کلید واژه: آنزیم، صنایع غذایی، تثبیت آنزیم، آنزیم‌های میکروبی، زیست سازگار.

مقدمه

آنزیم‌ها برای هزاران سال بدون شناخت واضح از طبیعت‌شان مورد استفاده قرار می‌گرفتند. اولین تاریخچه استفاده از آنزیم‌ها مربوط به تولید پنیر از پوسته معده که شامل رنین[1] است می‌باشد. عملکرد رنین به عنوان یک آنزیم منعقد کننده است که منجر به ژلاسیون پروتئین کازئین شده و شیر را به کشک و آب پنیر تغییر می‌دهد. پروتئین‌های زیادی در فرآیندهای صنعتی به عنوان کاتالیست مورد استفاده قرار می‌گیرند. پروتئین‌ها هتروپلیمرهایی هستند که از ۲۰ آمینو اسید مختلف به عنوان واحدهای مونومر تشکیل شده‌اند که توسط پیوندهای پپتیدی به همدیگر متصل شده‌اند. آن‌ها به صورت چشمگیری در اندازه با یکدیگر متفاوت هستند که کوچک‌ترین آن‌ها اغلب پپتیدها نام دارند و مولکول‌های عاملی مهمی در زندگی هستند. آنزیم‌ها گروهی از پروتئین‌های برخوردار از نقش کاتالیستی هستند. آن‌ها به صورت گسترده در جانوران، گیاهان، مخمرها، باکتری‌ها و قارچ‌ها وجود دارند. بسته به نوع واکنشی که کاتالیست می‌کنند آنزیم‌ها به شش گروه اصلی طبقه‌بندی می‌شوند: هیدرولازها، ایزومرازها، لیگازها، لیازها، اکسیدورکتازها و ترانسفرازها. بر طبق توصیه اتحادیه بین‌المللی بیوشیمی و بیولوژی مولکولی (IUBMB)[2] هر آنزیم به یک طبقه آنزیمی خاص (EC 1-6)[3] بر اساس نوع واکنشی که کاتالیست می‌کند نسبت داده می‌شود. به دلیل همین تنوع در عملکرد آنزیم‌ها است که آن‌ها برای فرآیندهای صنعتی جذاب می‌شوند. بیش‌تر از ۴۳۰۰ آنزیم توسط IUBMB تا سال ۲۰۰۴ طبقه‌بندی شده‌اند. اما بیش‌تر آنهایی که در طبیعت موجودند هنوز در حال تعیین خواص هستند [۱].

به طور کلی آنزیم‌ها چهار مزیت مهم را دارند:

- سرعت‌های واکنش بالاتر: تا فاکتور 10^{12} برابر بالاتر از واکنش‌های غیرکاتالیستی
- شرایط واکنش ملایم‌تر: آنزیم‌ها در دماهای کم‌تر از ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، شرایط اتمسفری و pHهای نزدیک خنثی عمل می‌کنند.
- اختصاصی بودن واکنش: اختصاصی بودن آنزیم برای مواد اولیه و محصولات، واکنش‌های جانبی کمتری را ایجاد می‌کند.
- تنظیم فعالیت: فعالیت آنزیم ممکن است با حضور مولکول‌های مختلف تنظیم شود [۱].

مواد و روش‌ها

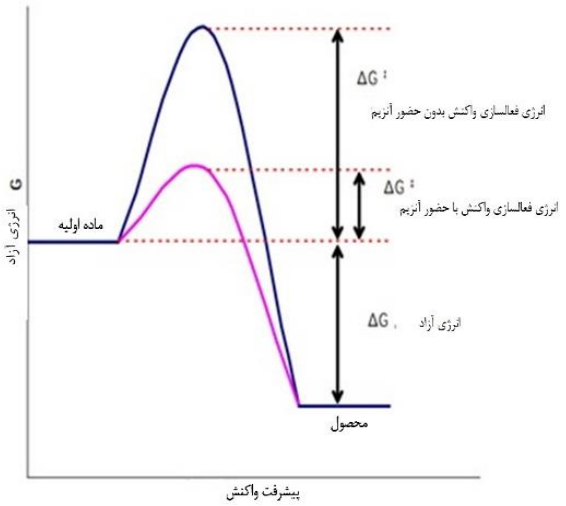
– ترمودینامیک واکنش‌های زیستی

اگر چه تمامی واکنش‌های زیستی از جمله واکنش‌های طبیعی بوده و از انجام‌پذیری مطلوب در مفهوم ترمودینامیکی برخوردارند و به صورت خودبه‌خودی اتفاق می‌افتند، ولی سرعت این واکنش‌ها بسیار کند است. بسیاری از این واکنش‌ها تحت کنترل سینتیکی هستند و نیاز دارند تا یک ورودی انرژی آن‌ها را پیش ببرد. این محدودیت می‌تواند به صورت واضح در ترم انرژی آزاد توضیح داده شود. ترمودینامیک یک واکنش در ترم‌های تغییرات انرژی آزاد گیبس (ΔG)، تغییرات در آنتالپی (ΔH) و تغییرات در آنتروپی (ΔS) بر طبق معادله زیر توضیح داده می‌شود [۱]:

$$\Delta G=\Delta H-T\Delta S \qquad (۱)$$

اگر واکنش از لحاظ ترمودینامیکی به صورت خود به خودی قابل انجام باشد ΔG منفی خواهد بود. از معادله فوق مشخص است که در مورد واکنش‌های گرمازا که ΔH منفی است، همیشه انتظار فرایند خود به خودی می‌رود. در مورد واکنش‌های گرماگیر اگر $T\Delta S$ از ΔH بزرگ‌تر باشد می‌توان گفت که واکنش خود به خودی انجام می‌شود. شکل ۱ یک سیستم گرمازا و بنابراین خود به خودی را نشان می‌دهد.

[1] Rennin
[2] International Union of Biochemistry and Molecular Biology
[3] Enzyme Commission



شکل ۱: انرژی فعال‌سازی برای واکنش‌های کاتالیست شده و کاتالیست نشده [۱]

به منظور پیشرفت واکنش از مواد اولیه به محصولات باید از یک مانع انرژی متناسب با یک حالت واسطه غیر پایدار عبور کرد. انرژی مورد نیاز برای عبور از این مانع، انرژی آزاد فعال‌سازی یا انرژی فعال‌سازی[۴] ($\Delta G^{\ddagger}$) نام دارد. بر طبق تئوری حالت واسطه، ثابت سرعت یک واکنش، k به صورت نمایی و برعکس با انرژی آزاد فعال‌سازی متناسب است.

$$k = \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G^{\ddagger}/RT}$$

k_B= ثابت بولتزمن

h= ثابت پلانک

R= ثابت گاز

T= دما

سرعت واکنش با دو روش می‌تواند افزایش یابد: افزایش دما برای انرژی آزاد مواد اولیه و کاهش انرژی فعال‌سازی. آنزیم‌ها سرعت واکنش را با کاهش انرژی فعال‌سازی افزایش می‌دهند.

اگر چه آنزیم‌ها سرعت‌های واکنش را افزایش می‌دهند. نمی‌توانند تاثیری بر روی تعادل واکنش بگذارند [۱].

[4] Activation energy

– تثبیت آنزیم

همان‌طورکه اشاره شد استفاده از آنزیم‌ها به عنوان بیوکاتالیست یک روش مهم در صنایع شیمیایی و داروسازی برای آماده‌سازی محصولات بیوشیمیایی، بیوسنسورها، و داروها است. بازده واکنش‌های آنزیمی تحت شرایط نرمال واکنش بسیار بالا است و آنزیم‌ها انتخاب‌پذیری فضایی و جهتی را فراهم می‌کنند. در هر حال بیش‌تر آنزیم‌های طبیعی انتخاب‌پذیری و واکنش‌پذیری بالا را فقط تحت شرایط نرمال نشان می‌دهند. تحت دماهای بالا و pH های در محدوده اسیدی و یا قلیایی، آنزیم‌ها به راحتی به دلیل تغییر ماهیت دادن غیر فعال می‌شوند [۲-۳]. به منظور غلبه بر این مشکلات و امکان استفاده از آنزیم‌ها در فرایندهای پیوسته و تجاری به منظور استفاده مکرر و چند باره از آنزیم‌ها به علت قیمت بالای آن‌ها، از روش تثبیت آنزیم استفاده می‌شود. تثبیت آنزیم‌ها در یک حامل غیر قابل حل در آب، یک روش بیولوژیکی برای افزایش کاربردهای آنزیم در روش‌های پیوسته و استفاده‌های تجاری و در مقیاس بالا است. به طور کلی تثبیت کردن به معنای محدود کردن و متمرکز کردن آنزیم است به طوری که قابلیت استفاده مجدد آن در فرایند پیوسته وجود داشته باشد [۴].

اولین آنزیم تثبیت شده توسط نیلسون[۵] و گریفلین[۶] بیش‌تر از یک قرن پیش گزارش شد. در حالی که چیباتا[۷] و همکارانش اولین آنزیم تثبیت شده صنعتی، آسپرژیلوس اوریزا آمینوآسیلاز[۸] برای سنتز راسمیک D-L آمینو اسیدها توسعه دادند [۵]. با این حال، استفاده از آن در فرایندهای صنعتی به دلیل قیمت بالای آنزیم و ایجاد محدودیت در فعالیت و اختصاصی بودن آن محدود شده است. تثبیت آنزیم‌ها می‌تواند مقدار مورد نیاز آنزیم را کاهش داده و مقاومت آن را افزایش دهد و روشی برای جداسازی آنزیم‌ها از مخلوط واکنش فراهم آورد، در نتیجه منجر به کاهش هزینه‌های

[5] Nilson
[6] Grifflin
[7] Chibata
[8] Aspergillus oryzae aminoacylase

تولید شود. از طرفی با تثبیت آنزیم امکان جداسازی مداوم محصولات از راکتور وجود دارد که می‌تواند برای سیستم-هایی که بازدارندگی محصول در آن‌ها ایجاد مشکل می-کند، مفید باشد [۶]. علاوه بر این دانه‌های آنزیم تثبیت شده می‌توانند در داخل یک بستر یا یک برج برای واکنش‌های پیوسته قرار گیرند که در صورت قابل اجرا بودن می‌توانند از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه باشند [۷- ۴].

انتخاب ماتریس مناسب و نیز روش مناسب تثبیت در فرایند تثبیت آنزیم بسیار مهم است [۷]. ماتریس مناسب برای تثبیت آنزیم، بسته به چندین خاصیت مختلف انتخاب می‌شود که در فرایند تولید محصول تاثیر می‌گذارد:

- مساحت سطح و تخلخل: برای بارگذاری بالای آنزیم و فراهم کردن دسترسی آنزیم به ماده اولیه، مطلوب است موادی با مساحت سطح بالا (بزرگ‌تر از ۱۰۰ متر مربع بر گرم) به عنوان حامل مورد استفاده قرار گیرد.

- گروه‌های عاملی سطحی: درجه بارگذاری آنزیم در یک ماتریس حامل بستگی به چگالی گروه‌های عاملی بر روی سطح و نیز پخش آن‌ها دارد. انتخاب گروه‌های عاملی همچنین می‌تواند بر بازده فعالیت و پایداری مواد تاثیر بگذارد.

- پایداری مکانیکی و شیمیایی: عملکرد بسیاری از آنزیم‌های تثبیت شده در یک تانک مخلوط شده یا در یک راکتور بستر ثابت انجام می شود. برای جلوگیری از دست رفتن آنزیم یکپارچگی ماتریس باید تحت تنش‌های برشی یا فشارهای معکوس موجود در راکتور حفظ شود. علاوه بر این ماتریس باید نسبت به تخریب کننده‌های شیمیایی که منجر به از بین رفتن آنزیم می شود، مقاوم باشد.

- اندازه: برای ساده‌سازی عملکرد آنزیم تثبیت شده (مثل مخلوط کردن و فیلتراسیون) مطلوب است تا ذراتی با اندازه و سایز یکسان وجود داشته باشد.

- مقاومت میکروبی: پایداری حامل اغلب بوسیله مقاومت آن نسبت به آلاینده‌های میکروبی تعیین می‌شود.

- طبیعت آبدوست/ آبگریز: سازش پذیری پایه با فاز مایع برای اطمینان از تبادل آزاد ماده اولیه و محصول ماتریس و فاز توده مهم است [۲- ۱].

- روش‌های تثبیت آنزیم

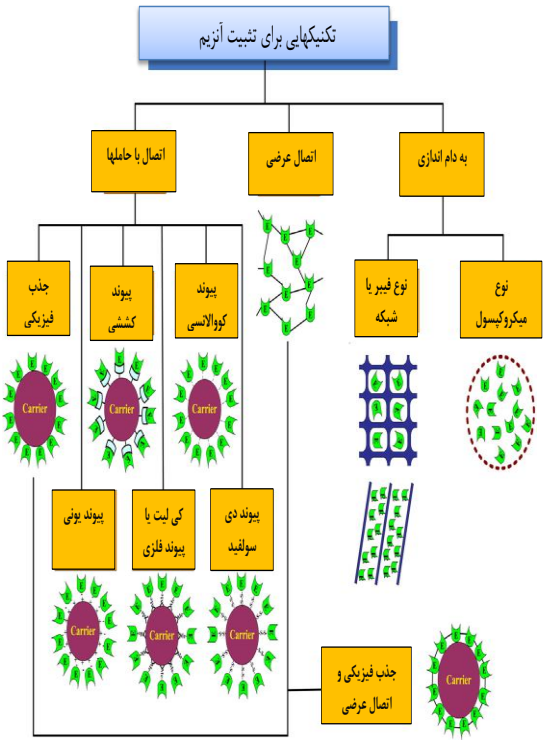
تثبیت موثر مواد بیولوژیکی بر روی کامپوزیت‌ها و پایه‌ها نه تنها نیاز به خواص طراحی شده ماتریس دارد، بلکه نیاز به شرایط فرایندی و روش‌های مناسب دارد. روش‌های مختلفی برای تثبیت آنزیم‌ها وجود دارد. شکل ۲ روش‌های تثبیت آنزیم را به صورت شماتیک نشان می‌دهد.

این روش‌ها بر اساس برگشت‌پذیری و برگشت‌ناپذیری تقسیم بندی می‌شوند. برگشت‌ناپذیری به آن معنا است که بیوکاتالیست متصل به پایه را نتوان بدون از بین بردن فعالیت بیولوژیکی آنزیم یا پایه جدا کرد.

در تثبیت آنزیم ها دو مساله برگشت‌پذیری و پایداری بسیار مهم است که برآوردن هر دو مورد به صورت هم‌زمان مشکل می‌باشد. برگشت‌پذیری از این جهت حائز اهمیت است که وقتی فعالیت آنزیم کاهش پیدا کرد، پایه‌ها می‌توانند احیا شده و دوباره با آنزیم جدید بارگذاری شوند [۹- ۸].

در بین روش‌های تثبیت آنزیم به دام اندازی، اتصال با حامل-ها (جذب سطحی[9]؛ اتصالات کوالانسی[10]و اتصالات یونی[11]؛ اتصالات عرضی[12]و کپسوله کردن[13]جز مهم‌ترین روش‌های تثبیت می‌باشند و در بین این روش‌ها جذب سطحی فیزیکی و اتصالات یونی جز روش‌های برگشت‌پذیر تثبیت آنزیم هستند.

9 Adsorption
10 Covalent interaction
11 Ionic interaction
12 Cross-linking
13 Encapsulation



شکل ۲: تکنیک‌های مختلف تثبیت آنزیم [۵]

جذب سطحی به دلیل قیمت نسبتاً پایین، سادگی، سرعت و باقی ماندن فعالیت کاتالیستی بالا و قابلیت استفاده مجدد حامل‌های گران‌قیمت بعد از غیر فعال شدن آنزیم‌های تثبیت شده، پتانسیل اقتصادی بالاتری را در مقایسه با سایر روش‌ها دارد. جذب سطحی یک برهمکنش قوی بین آنزیم و حامل نیست بلکه یک برهمکنش قابل برگشت است. عیب این روش نشت آنزیم از حامل و احتمال ممانعت فضایی بین حامل و پیوندهای نامعین است [۱۰-۱۱- ۴]. جذب سطحی شامل برهمکنش‌های هیدروژنی، آبگریز و واندر والس بین حامل جامد و مولکول‌های جذب شونده هستند. بنابراین تحت شرایط عملکرد برای فرایند تثبیت آنزیم خصوصیات ساختاری و فیزیکی- شیمیایی برای مواد حامل انتخاب شده مثل اندازه حفره، مساحت سطح و گروه‌های عاملی را باید مد نظر قرار داد [۹- ۳].

- کاربردهای آنزیم‌های تثبیت شده در صنایع غذایی

- صنایع لبنی

آنزیم β-گالاکتوزیداز[۴] به نام لاکتاز نیز شناخته می‌شود. این آنزیم از میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و حیوانات به دست می‌آید و برای هیدرولیز دی ساکارید قند لاکتوز موجود در شیر و آب پنیر استفاده می‌شود. تعداد زیادی از افراد به لاکتوز حساسیت دارند. این مشکل عدم تحمل لاکتوز در هند بسیار رایج است. هیدرولیز لاکتوز باعث افزایش شیرینی و حلالیت قند آن می‌شود. این واکنش بیوشیمیایی پتانسیل تهیه انواع محصولات لبنی را دارد. در یک نوشیدنی بر پایه آب پنیر، که در آن لاکتوز هیدرولیز می‌شود، می‌تواند به عنوان یک جزء مورد استفاده قرار گرفته و همچنین می توان آن را برای تولید اتانول تخمیر کرد یا از آن به عنوان یک عامل مخمر استفاده کرد. به این ترتیب می‌توان محصول جانبی ارزان قیمت را به ماده‌ای که بسیار مغذی و با کیفیت است تبدیل کرد. این آنزیم به شکل تثبیت شده می‌تواند در صنعت، به صورت پیوسته یا ناپیوسته مورد استفاده قرار گیرد. تثبیت آن، مقاومت حرارتی را افزایش داده و از کاهش فعالیت آنزیم جلوگیری می کند. تثبیت لاکتازها با روش‌های مختلف مانند جذب، به دام افتادن و اتصال کووالانسی بر روی پایه‌های مختلف انجام شده است. رایج‌ترین لاکتازها برای تثبیت، از E. coli و A. niger به دست می‌آیند [۱۳-۱۲].

- صنایع میوه و سبزیجات

برای شفاف‌سازی آب میوه از پکتینازهای تثبیت شده استفاده می‌شود. پکتینازها در صنعت آب‌میوه برای شفاف‌سازی و پکتین زدایی کاربرد دارند. پس از پرس کردن و فشردن میوه خام، آب میوه به شکل بسیار کدر به دست می‌آید زیرا حاوی ترکیبات کلوئیدی است که عمدتاً حاوی پکتین است. پکتین باعث کدر شدن آب میوه خام می‌شود. بنابراین، برای رفع تیرگی آب‌میوه‌ها، با هیدرولیز آنزیمی پکتین با آنزیم‌های

[1] β-galactosidase

پکتولیتیک[۵] شفاف سازی می‌گردند. یک نتیجه عالی برای شفاف سازی آب آناناس با استفاده از پلی گالاکتروناز[۶] تثبیت شده به دست آمد [۱۴].

این آنزیم‌ها همچنین برای حذف تلخی از آب مرکبات استفاده می‌شوند. مرکبات حاوی نارینگین[۷] هستند، که جزء اصلی ایجاد تلخی در این میوه‌ها است و لیمونین[۸] باعث به تاخیر انداختن تلخی آب میوه مرکبات است. آنزیم نارینگیناز[۹] مورد استفاده برای تثبیت، توسط A. niger تولید می‌شود و بر روی کوپلیمرهای استایرن و انیدرید مالئیک[۱۰] تثبیت می‌شود. این آنزیم تثبیت شده برای هیدرولیز نارینگین استفاده شده است [۱۵].

- اصلاح پروتئین

چندین آنزیم تثبیت شده برای هیدرولیز کامل پروتئین موجود در غذا استفاده می‌شود. پروتئین برای تغییر قابلیت هضمش هیدرولیز می‌شود که به کیفیت پروتئین مرتبط است. برای این منظور آنزیم‌هایی مانند پپسین[۱۱] تریپسین[۱۲] کیموتریپسین[۱۳] و پپتیدازهای مخاطی روده[۱۴] به شکل تثبیت شده مورد استفاده قرار می‌گیرند. هیدرولیز آنزیمی برای تولید کازئین هیدرولیز شده انجام می‌شود که حاوی نسبت بالایی از آمینو اسیدهای شاخه دار به آمینو اسیدهای معطر است. این محصول می‌تواند به عنوان یک غذای پزشکی برای بیمارانی که از فنیل کتونوری[۱۵] انسفالوفاتی کبدی[۱۶] و تیروزینمی[۱۷] رنج می‌برند، مورد استفاده قرار گیرد. پروتئین هیدرولیزات‌های[۱۸] موجود در مواد غذایی مختلف مانند شیر، ماهی، ذرت، تخم مرغ و غلات دارای پپتیدهای فعال زیستی متعددی هستند. پروتئازهای تثبیت شده برای پروتئولیز محدود پروتئین‌های غذایی استفاده می‌شوند [۱۶].

- بهبود طعم

برای سنتز استرهای اسید چرب، از لیپازهای تثبیت شده استفاده می‌شود. ترکیبات طعم دهنده شامل اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه و الکل‌ها مانند متیل بوتیرات[۲]، بوتیل بوتیرات[۳]، ایزو بوتیل ایزوبوتیرات[۳] و ایزوآمیل ایزووالرات[۳] که شبیه طعم آناناس یا سیب، اتیل بوتیرات که شبیه طعم آناناس یا توت فرنگی، ایزوآمیل استات/بوتیرات که شبیه طعم موز هستند، می‌باشند. لیپازهای تثبیت شده، سنتز طعم‌های طبیعی را تحت شرایط متعادل کاتالیز می‌کنند. لیپاز تثبیت شده برای تولید بوتیل بوتیرات از اسید بوتیریک و بوتانول استفاده می‌شود. فرآیند شامل استری کردن یک الکل و یک اسید چرب در محلول آلی است. همچنین ایزوآمیل بوتیرات و ایزوآمیل الکل در این فرآیند تولید می‌شود [۱۶].

- فراوری کاکائو

کره کاکائو دارای نقطه ذوب ۳۷ درجه سانتی‌گراد است و حاوی اسید پالمیتیک[۳] و استئاریک[۳] است. این محصول در دهان آب شده و در نتیجه احساس خنکی ایجاد می‌کند. برای تولید کره کاکائو از لیپاز تثبیت شده استفاده می‌شود. این فناوری در سال ۱۹۷۶ توسط یونیلور به ثبت رسید. در کاربردهای صنعتی، لیپاز تولید شده توسط Rhizomucor

---

[1] Pectolytic
[1] Polygalacturonase
[1] Naringin
[1] Limonin
[1] Naringinase
[2] Maleic anhydride
[2] Pepsin
[2] Trypsin
[2] Chymotrypsin
[2] Intestinal mucosal peptidases
[2] Phenylketonuria
[2] Hepatic encephalophathies
[2] Tyrosinemia.
[2] Protein hydrolysates

[2] Methyl butyrate
[3] Butyl butyrate
[3] Isobutyl isobutyrate
[3] Isoamyl isovalerate
[3] Palmitic
[3] Stearic

miehei استفاده و تثبیت می‌شود که واکنش ترانس استریفیکاسیون در این فرآیند انجام می‌دهد. در این فرایند، جایگزینی اسید پلامیتیک[۳۵] با اسید استئاریک انجام می‌شود. این فرایند تری گلیسرید استئاریک- اولئیک- استئاریک مورد نظر را تولید می‌کند [۱۲].

- فرآوری چربی‌ها و روغن های خوراکی

از کاربردهای آنزیم‌ها در فرآوری روغن‌های خوراکی می توان به استخراج روغن، هیدرولیز چربی‌ها و سنتز لیپیدهای ساختاریافته، تولید مونو و دی‌آسیل گلیسرول، لستین بهبود یافته، استریفیکاسیون، غنی سازی تری گلیسریدها و صمغ زدایی اشاره نمود. در صنعت چربی و روغن، لیپاز تثبیت شده کاربرد زیادی دارد. این آنزیم عمدتا برای پردازش چربی‌ها یا روغن‌ها و توسعه طعم استفاده می‌شود. لیپاز تثبیت شده بر آنزیم آزاد ترجیح داده می‌شود، زیرا پایداری و فعالیت آنزیم با تثبیت بهبود می‌یابد.

در شکل تثبیت شده، می‌توان از آنزیم مجددا استفاده کرد. عمدتا روش برهمکنش غیر کووالانسی برای تثبیت آنزیم لیپاز استفاده می‌شود. لیپاز تولید شده توسط R. miehei برای تثبیت و انجام واکنش ترانس استرفیکاسیون روغن پالم مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این فرایند اسید پالمیتیک با اسید استئاریک جایگزین می‌شود.

لیپازهای تثبیت شده از منابع میکروبی مختلفی مانند Geotrichum candidum، Humicola lanuginose، Candida cylindracea AY30 و Pseudomonas sp. به دست می‌آیند. لیپازهای تثبیت شده برای استری کردن فنل های عامل دار استفاده می‌شود. همچنین برای سنتز آنتی اکسیدان‌هایی که طبیعت چربی دوست دارند، بکار رفته و در روغن آفتابگردان استفاده می‌شوند. از لیپازهای تثبیت شده برای تولید روغن‌های بدون ترانس استفاده می‌شود. همچنین اغلب لیپازها و فسفولیپازها برای بهبود ساختار طبیعی لستین، مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۱۲-۱۶].

- صنعت قند

مهم‌ترین نقش آنزیم‌ها در صنعت قند مربوط به تولید شیرین کننده شربت ذرت با فروکتوز بالا یا همان HFCS از نشاسته، محصولات میانی این فرایند و هیدرولیز ساکاروز نیشکر و چغندر قند برای تولید شربت قند اینورت است. در این فرآیند، آنزیم ایزومراز تثبیت شده استفاده می‌شود. تحت pH و دمای محیط، آنزیم های تثبیت شده HFCS تولید می‌کنند. زمانی که از آنزیم ایزومراز تثبیت شده استفاده می‌شود، محصولات جانبی کمتری با غلظت فروکتوز بالاتر تشکیل می‌شود. بیشترین روش تثبیت مورد استفاده ایجاد اتصال عرضی با گلوتارآلدهید است. آنزیم ایزومالتولوز سنتاز[۳۶] برای تبدیل قند به ایزومالتولوز[۳۷](پالاتینوز)[۳۸] استفاده می شود. محصول جانبی این واکنش ترهالولوز[۳۹]ست. قند کاهنده طبیعی موجود در عسل ایزومالتولوز است که یک قند کم کالری است و دارای برخی از خصوصیات است که در مقایسه با ساکاروز سودمند هستند، از جمله پایداری در محلول های اسیدی، افزایش رشد بیفیدوباکتری‌ها در روده انسان و نداشتن خاصیت پوسیدگی زایی [۱۶].

- اسید آلی

یکی از محصولات میکروبی مهم اسیدهای آلی هستند که در غذا و پزشکی کاربرد دارند. مهم‌ترین اسید آلی اسید سیتریک است که توسط Aspergillus niger تولید میشود. یکی از معایب تخمیر قارچی افزایش ویسکوزیته در طول رشد است، که منجر به اکسیژن رسانی ضعیف به سلول‌ها می‌شود. بنابراین لازم است که حجم زیادی از هوای استریل برای هوادهی محیط‌های کشت اضافه شود. با محدود کردن رشد در سلول‌های تثبیت شده این امکان وجود دارد که تخمیر را بدون تأثیر گذاشتن بر ویسکوزیته انجام داد. به این

5
[۳۵] Plamitic acid
[۳۶] Isomaltulose syntha se
[۳۷] Isomaltulose
[۳۸] Palatinose
[۳۹] Trehalulose

ترتیب سلول‌های تثبیت شده برای تولید سایر اسیدهای آلی مانند اسید گلوکونیک، اسید فوماریک، اسید مالیک، پروپیونیک اسید، اسید ایتاکونیک،[۴۱] اسید جیبرلیک،[۴۱] اسید سوکسینیک[۴۲] و اسید بوتیریک استفاده می شوند [۱۲].

- مکمل‌های غذایی

مکمل‌های غذایی مختلفی در دسترس هستند که ماده اصلی آن‌ها آمینو اسیدها است. آن‌ها را می‌توان به تنهایی یا به صورت ترکیبی اضافه کرد. رایج‌ترین محصولات شامل آمینو اسید حاوی آرژنین،[۴۳] تریپتوفان،[۴۴] لیزین،[۴۵] تیروزین[۴۶] و گلوتامین[۴۷] است. این محصولات به منظور تقویت بدن، داروهای خواب، مبارزه با افسردگی و غیره توصیه می‌شوند. به عنوان یک مکمل غذایی و خوراک، L آمینه اسیدها بسیار مهم هستند. معمولاً آن‌ها با یک روش شیمیایی که هر دو D و L آمینو اسید را به عنوان مخلوط‌های راسمیک تولید می کند، سنتز می‌شوند. پس از اسیلاسیون آن‌ها D و L آسیل آمینو اسیدها، تشکیل می‌شوند. آنزیم آمینو اسیلاز در DEAE-sephadex تثبیت می‌شود. این آنزیم می‌تواند به طور انتخابی D و L آسیل آمینو اسید را هیدرولیز کرده و L آمینو اسیدها را تولید کند. مخلوط راسمیک اسیله شده از ستون حاوی آنزیم آمینواسیلاز تثبیت شده عبور می‌کند. سپس از دی آسیل آمینو اسید هیدرولیز نشده، L آمینه اسیدها آزاد جدا می‌شوند. بنابراین خروجی ستون حاوی مخلوطی از L آمینو اسید و D آمینو اسید استیله شده است. L آمینو اسید را می‌توان به راحتی متبلور کرد و از D آمینو اسید استیله جدا کرد.

از آنزیم‌های تثبیت شده در سنتز زیلو-، فروکتو-، ایزومالتو- و اینولو-الیگوساکاریدها استفاده می‌شود. این مواد در غذا به عنوان مکمل استفاده می شوند. آنها به عنوان فیبرهای غذایی محلول، که پری بیوتیک هستند، عمل می‌کنند. آن‌ها می توانند رشد میکروارگانیسم های پروبیوتیک مانند Lactobacillus sp. در روده و Bifidobacterium sp. در روده بزرگ را تحریک کنند [۱۲].

نتیجه‌گیری

پیشرفت‌های سریع در تحقیقات بر میکروارگانیسم‌ها درک گسترده از عملکرد مولکول‌های زیستی در سیستم‌های میکروبی و نیز مهندسی پروتئین را امکان پذیر کرده است. نتیجه احتمال پیشرفت برای استفاده از این مولکول‌های بیولوژیکی به عنوان کاتالیست در فرایندهای صنعتی وجود دارد و فرآیندهای مبتنی بر آنزیم به دلیل طبیعت دوستدار محیط زیست، کارآمد بودن کنترل فرآیند، بازده بالا، هزینه-های پایین پالایش و ایمنی فرآیند به مواد شیمیایی ترجیح داده می‌شوند. در هر حال قبل از اینکه این مولکول‌ها به طور صنعتی بتوانند مورد استفاده قرار گیرند باید از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه باشند. اغلب آنزیم‌ها مواد گران قیمتی نسبت به مواد اولیه هستند و در طول فرایند واکنش همگن از بین می‌روند. یک روش برای کاهش هزینه‌ها، بازگشت و استفاده مجدد از آنزیم‌ها از جریان محصولات است. این امر به طور موثری می‌تواند فرایند را از لحاظ اقتصادی با بهینه کردن استفاده آنزیم بهبود ببخشد. یعنی باید بتوان جداسازی را به طور موثر و کم هزینه‌ای انجام داد. جداسازی می‌تواند با تثبیت آنزیم بر روی یک ماتریس جامد آسان شود. در مقایسه با آنزیم‌های گیاهی و حیوانی، آنزیم‌های میکروبی را می‌توان به طور بسیار موثر با روش‌های مختلف تخمیر تولید کرد. استفاده از این آنزیم‌ها در صنایع غذایی، در بهبود خواص مواد غذایی و تسهیل و تسریع فرایند تولید، بسیار موثر

[41] Itaconic acid
[41] Gibberelic acid
[42] Succinic acid
[43] Arginine
[44] Tryptophan
[45] Lysine
[46] Tyrosine
[47] Glutamine

است. با استفاده از آنزیم‌های تثبیت شده در صنایع غذایی می‌توان در هزینه‌ها صرفه جویی بسیاری کرد.

منابع

[1] David, A.E., 2004, Immobilization of enzymes on nanoporous silica composites.
[2] Lee, C.-H., Lin, T.-S., Mou, C.-Y., 2009, Mesoporous materials for encapsulating enzymes. Nano Today, 4, 165-179.
[3] FalahatiTehran, M., 2012, et al., The effect of functionalization of mesoporous silica nanoparticles on the interaction and stability of confined enzyme. International Journal of Biological Macromolecules, 50, 1048-1054.
[4] Murty,V.R., Bhat, J., Muniswaran, P.K.A., 2002, Hydrolysis of oils by using immobilized lipase enzyme: A review. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 7, 57-66.
[5] Zhao, X., 2015, et al., Lipase-catalyzed process for biodiesel production: Enzyme immobilization, process simulation and optimization. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 44, 182-197.
[6] Ashtari, K., 2012, et al., Silica-encapsulated magnetic nanoparticles: Enzyme immobilization and cytotoxic study. International Journal of Biological Macromolecules, 50, 1063-1069.
[7] Minovvska, V., Winkelhausen, E., Kuzmanova, S., 2005, Lipase immobilized by different techniques on various support materials applied in oil hydrolysis. Journal of the Serbian Chemical Society, 70, 609-624.
[8] Gao, S., 2010, et al., Enhancing performance of lipase immobilized on methyl-modified silica aerogels at the adsorption and catalysis processes: Effect of cosolvents. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 62, 218-224.
[9] Brena, B.M., Batista-Viera, F., Immobilization of Enzymes A Literature Survey.
[10] Kharrat, N., 2011, et al., Immobilization of Rhizopus oryzae lipase on silica aerogels by adsorption: Comparison with the free enzyme. Process Biochemistry, 46, 1083-1089.
[11] Gao, S., 2009, et al., Immobilization of lipase on methyl-modified silica aerogels by physical adsorption. Bioresource Technology, 100, 996-999.
[12] Adhikari, S., 2019, Application of Immobilized Enzymes in the Food Industry. Enzymes in Food Biotechnology, 711-721.
[13] Panesar, P.S., Kumari, S., Panesar, R., 2010, Potential applications of immobilized β-Galactosidase in food processing industries. Enzyme Research, 473137.
[14] Kohli, P., Kalia, M., Gupta, R., 2015, Pectin methylesterases: a review. Journal of Bioprocessing & Biotechniques, 5, 1-7.
[15] Puril, M., 2008, et al., Immobilized enzyme technology for debittering citrus fruit juices. Food Enzymes: Application of New Technologies, 91-103.
[16] Walsh, M.K., 2007, Immobilized enzyme technology for food applications, in Novel Enzyme Technology for Food Applications, Woodhead Publishing, 60-84.