مجله دانشکده بهداشت وانستیتوتحقیقات بهداشتی
تابستان ۱۳۹٤، دوره ۱۳، شماره دوم ، صفحه ۷۸-٦۹

استفاده از پسماندهای کشاورزی- صنعتی در تولید آنزیم زایلاناز سویه بومی Bacillus subtilis S7e

محمدمهدی سلطان دلال: استاد، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
نرگس ترکاشوند: دانشجوی دوره کارشناسی ارشد، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران
محمد کاظم شریفی یزدی: استاد، مرکز تحقیقات بیماری های مشترک بین انسان و دام، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
مریم موسیوند: کارشناس، بخش تحقیقات بیوتکنولوژی میکروبی و ایمنی زیستی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج، ایران
مریم هاشمی: استادیار، پژوهشکده تحقیقات بیوتکنولوژی میکروبی و ایمنی زیستی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج، ایران- نویسنده رابط: hashemim@abrii.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۱۲ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/٤/۱**

چکیده

زمینه و هدف: زایلانازها به طور گسترده‌ای در صنایع مختلف غذایی، خوراک دام و طیور، کاغذ و خمیر کاغذ، صنایع دارویی کاربرد دارند. میکروارگانیسم های متعددی قادرند با مکانیسم های متفاوت، آنزیم زایلاناز را تولید نمایند که در بین آنها باسیلوس ها یکی از منابع مهم تولید آنزیم های تجاری هستند. نظر به اینکه محیط کشت زایلان محیط گران قیمتی است و از نظر اقتصادی جهت تولید آنزیم زایلاناز توسط *Bacillus subtilis* S7e مقرون به صرفه نمی باشد؛ لذا در این مطالعه تلاش گردید تا با جایگزین نمودن پسماندهای کشاورزی- صنعتی در تخمیر غوطه ور به عنوان منابع کربن و ازت، تولید آنزیم زایلاناز بالاتر از سطح محیط زایلان (۱۰۰٤۸U/l) باشد.
روش کار: در این بررسی سویه بومی *Bacillus subtilis* S7e ابتدا در محیط کشت پایه با زایلان کشت داده شد، سپس در ۳ دمای ۳۰، ۳۷ و ٤۰ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری صورت گرفت. سپس منابع ازت (کنجاله کلزا، کنجاله سویا، بذر گوجه فرنگی، بذر چای، پپتون، ویناس الکل، کازئین و آمونیوم سولفات) جایگزین عصاره مخمر و عصاره گوشت و منابع کربن (ملاس، سبوس گندم، سبوس برنج، ضایعات شالی کوبی، پسماند گلوتن، پسماند مالت، پودر آب پنیر و باگاس) جایگزین زایلان محیط کشت شدند.
نتایج: در این بررسی بیشترین فعالیت آنزیمی در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد بعد از ٤۸ ساعت گرمخانه گذاری مشاهده شد (٦۱۸۳ U/l). کنجاله کلزا با فعالیت آنزیمی (۱۰۰٤۸ U/l) بهترین منبع ازت *Bacillus subtilis* S7e و ملاس با فعالیت آنزیمی (۳۷۵۹ U/l) بهترین منبع کربن گزارش گردید.
نتیجه گیری: از آنجا که یکی از عوامل مهم در مدیریت تولید آنزیم استفاده از محیطی مقرون به صرفه از نظر اقتصادی است به منظور کاهش هزینه های تولید، ضایعات کشاورزی- صنعتی (کنجاله کلزا و ملاس) گزینه بسیار مناسبی به شمار می آیند.
واژگان کلیدی: زایلاناز، باسیلوس سوبتیلیس، زایلان، تخمیر غوطه ور، پسماندهای کشاورزی- صنعتی

مقدمه

زایلان‌ها بخش عمده‌ای از ضایعات کشاورزی و صنایع غذایی را تشکیل می‌دهند. از این رو زایلانازها برای تبدیل زایلان به زایلوز در این ضایعات مورد استفاده قرار می‌گیرند (Morosoli et al. 1986). آنزیم زایلاناز (EC 3.2.1.8) یک آنزیم هیدرولیز کننده است که به طور

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-28]

اختصاصی آرابینوزایلان را هیدرولیز می‌کند. جهت گیری بازار جهانی آنزیم‌ها نشان می‌دهد که زایلاناز و سلولاز به همراه پکتینازها سهم عمده ای در بازار جهانی آنزیم‌ها در حدود ۲۰٪ خواهند داشت (Arora et al. 2009).

چنین روندی نشانه تقاضای روز افزون و اهمیت توسعه و تولید آنزیم هایی با ویژگی های برتر و البته با هزینه کمتر است. نقش آنزیم‌ها در بسیاری از فرآیندها شناخته شده است. زایلانازها به دلیل کاربردهای متنوع در فرآیندهای صنعتی نظیر بهبود هضم پذیری خوراک دام (Nagar et al. 2012; Barekatain et al. 2013; O'Shea et al. 2014)،زیست رنگبری خمیر کاغذ (Beg et al. 2000; Khandeparkar and Bhosle 2007; Kumar and Satyanarayana 2012)، صنعت منسوجات (Harris and Ramalingam 2010)، تولید زایلوالیگوساکاریدها (Chapla et al. 2012; Li et al. 2012)، تصفیه فاضلاب، بهبود بافت در فرآورده-های نانوایی (Bajaj and Manhas 2012; Schoenlechner et al. 2013)، شفاف سازی آبمیوه و شراب (Bajaj and Manhas 2012)، فرآیند کندن پوست درختان و تبدیل ضایعات لیگنوسلولزی به محصولات با ارزش نظیر اتانول (Juodeikiene et al. 2012)، پروتئین تک یاخته، شربت و سوخت های گاز و مایع (Dodd and Cann 2009) بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند.

در سال‌های اخیر انواع زایلانازها از منابع میکروبی مختلف مانند باکتری‌ها، اکتینومایست‌ها، قارچ‌ها و مخمرها جداسازی شده‌اند. باسیلوس‌ها یکی از منابع مهم تولید آنزیم‌های تجاری هستند آنزیم‌های تولیدی منابع باکتریایی معمولا نسبت به آنزیم های قارچی به شرایط محیطی مقاوم‌تر هستند (Selinheimo et al. 2006).

تولید زایلاناز از *باسیلوس سوبتیلیس* اساساً به دو روش تخمیر غوطه ور و تخمیر حالت جامد انجام می شوند. در حال حاضر تولید انبوه الکل، اسیدهای آلی، آنزیم ها، آنتی بیوتیک ها، ویتامین ها و اسیدهای آمینه در صنعت، اغلب به روش تخمیر غوطه ور صورت می‌گیرد. تخمیر غوطه ور به دلیل امکان اختلاط بهتر و انتشار مواد مغذی رایج ترین روش به کار رفته برای تولید تعداد زیادی فرآورده، با استفاده از طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (Hashemi et al. 2010).

یکی از عوامل مهم در مدیریت تولید آنزیم به منظور کاهش هزینه های تولید استفاده از محیط‌های کشت مقرون به صرفه و اقتصادی می‌باشد بر همین اساس، در این تحقیق قابلیت پسماندهای کشاورزی- صنعتی به عنوان منابع کربن و ازت، و همچنین تأثیر دما و زمان گرمخانه گذاری بر افزایش تولید آنزیم زایلاناز باکتری *Bacillus subtilis* S7e مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار

میکروارگانیسم: پس از بررسی تولید آنزیم زایلاناز ۱۵۶ سویه *Bacillus subtilis* نمونه برداری شده از مزارع و باغ های میوه برخی از استان های کشور که متعلق به بانک میکروبی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران بودند، سویه *Bacillus subtilis* S7e بیشترین تولید آنزیم زایلاناز را نشان داد. در این بررسی به منظور آماده سازی، باکتری روی محیط کشت Nutrient broth (NBY) yeast extract به صورت خطی کشت داده شد و به مدت ۲۴–۱۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد. سپس در شرایط استریل کلنی ها برای تهیه مایه تلقیح از محیط کشت NBY به محیط کشت Nutrient broth (NB) منتقل و در انکوباتور شیکردار با دمای ۳۰–۲۸ درجه سانتی گراد و دور ۱۸۰rpm به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شد.

محیط کشت پایه تولید آنزیم: محیط کشت تولید آنزیم شامل ۱۲ گرم زایلان، ۳ گرم عصاره گوشت (Meat extract)، ٤ گرم عصاره مخمر (Yeast extract)، ۱ گرم K_2HPO_4، ۰/۳ گرم $MgSO_4.7H_2O$ در یک لیتر آب مقطر تهیه و پس از تنظیم pH در حدود ۷ به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱۵ پوند اتوکلاو شد. معادل ۰/۵ گرم کلرید کلسیمپس از اتوکلاو به

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-28]

محیط کشت اضافه شد. سپس ٤٪ مایه تلقیح آماده شده به محیط کشت تولید آنزیم اضافه و به مدت ٤٨ ساعت در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۰–۲۸ درجه سانتی گراد و دور ۱۸۰rpm گرمخانه گذاری شد. به منظور جداسازی آنزیم، محیط های کشت تخمیر شده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی گراد با دور rpm ۱۰۰۰ سانتریفیوژ می‌شدند.

سنجش فعالیت آنزیمی: برای سنجش فعالیت زایلاناز از روش دی نیترو سالیسیلیک اسید(DNS) استفاده شد. سوبسترا به صورت روزانه برای آزمون سنجش فعالیت آنزیمی تهیه می‌شد. به منظور تهیه سوبسترا (زایلان ۱٪ چوب درخت قان)، زایلان را در بافر سیترات با pH=۵/۵ حل کرده سپس به ۳۰۰ میکرولیتر سوبسترا با دمای۵۰ درجه سانتی گراد ۱۰۰ میکرولیتر آنزیم با رقت مناسب افزوده و پس از اختلاط کامل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری می‌شد. در پایان ٦۰۰ میکرولیتر از معرف DNS به نمونه‌ها اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای جوش قرار داده می شدند. سپس قند آزاد شده از زایلان در طول موج۵٤۰ نانومتر اندازه‌گیری می شد (هر واحد فعالیت آنزیم برابر است با مقدار آنزیمی که در یک دقیقه، در شرایط مشخص، یک میکرومول سوبسترا را به محصول تبدیل کند). مقدار قند احیا کننده تولید شده با مقایسه با نمودار استاندارد زایلوز تعیین می شد.

نمودار استاندارد زایلوز: به منظور رسم نمودار استاندارد زایلوز ابتدا محلول (۰/۲ گرم در ۱۰۰میلی لیتر آب مقطر) از زایلوز تهیه و سپس رقت‌های متفاوت زایلوز با غلظت ۰ تا ٦/۵ میلی مولار در هر ویال تهیه شد. در مرحله بعد به هر کدام از ویال‌ها یک میلی لیتر معرف DNS افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار داده شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵٤۰ نانومتر خوانده شد و بر اساس مقدار جذب، نمودار استاندارد تعیین غلظت زایلوز بر حسب میزان جذب نوری ترسیم شد. با استفاده از معادله حاصله، غلظت زایلوز در نمونه‌های سنجش فعالیت آنزیمی محاسبه شد.

تأثیر دما بر تولید آنزیم زایلاناز *Bacillus subtilis*S7e : برای تعیین تأثیر دما بر تولید آنزیم زایلاناز *Bacillus subtilis*S7e، محیط کشت پایه را پس از تلقیح باکتری در سه دمای ۳۰، ۳۷ و ٤۰ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری کرده و فعالیت آنزیم زایلاناز تولید شده پس از ۲٤ و ٤٨ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی کارایی پسماندهای کشاورزی و صنعتی به عنوان منبع نیتروژن محیط کشت تولید آنزیم: مطابق جدول۱ محیط کشت‌هایی با درصدهای مختلف پسماندهای کشاورزی و صنعتی بدون عصاره مخمر و عصاره گوشت جهت انتخاب منبع مناسب و اقتصادی نیتروژن تهیه و تولید آنزیم زایلاناز پس از گرمخانه گذاری در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد، دور rpm ۱۸۰ به مدت ٤٨ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. محیط کشت پایه با زایلان نیز به عنوان شاهد تهیه و فعالیت آنزیم زایلاناز تولید شده در آن مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی کارایی پسماندهای کشاورزی و صنعتی به عنوان منبع کربن محیط کشت تولید آنزیم: مطابق جدول ۲ محیط کشت هایی با درصدهای مختلف پسماندهای کشاورزی و صنعتی بدون زایلان جهت انتخاب منبع مناسب کربن تهیه و تولید آنزیم زایلاناز پس از گرمخانه گذاری در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد، دور rpm ۱۸۰ به مدت ٤٨ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت.محیط کشت پایه با زایلان نیز به عنوان شاهد تهیه و فعالیت آنزیم زایلاناز تولید شده در آن مورد ارزیابی قرار گرفت. تمامی آزمایشات مربوط به این مطالعه در سه تکرار انجام شده است.

نتایج

تعیین تأثیر دما بر تولید آنزیم زایلاناز *Bacillus subtilis*S7e: به منظور بررسی تاثیر عوامل دما بر تولید آنزیم زایلاناز، تعیین روند تولید آنزیم ضرورت دارد. بر همین اساس تولید زایلاناز و تغییرات pH در طول دوره

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-28]

گرمخانه گذاری (٤٨ ساعت) در سه دمای ۳۰، ۳۷ و ٤٠ درجه سانتی گراد در دو مقطع زمانی ٢٤ و ٤٨ ساعت پس از تخمیر ارزیابی شد. بر اساس نتایج، تولید آنزیم در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد سیر صعودی داشت به طوری که پس از طی ٤٨ ساعت به U/l ٦١٨٣ رسید (شکل ۱).

بررسی کارایی پسماندهای کشاورزی و صنعتی به عنوان منبع نیتروژن محیط کشت تولید آنزیم: تولید آنزیم زایلاناز در حضور منابع مختلف ازت (کازئین، کنجاله سویا، کنجاله کلزا، بذر گوجه فرنگی، بذر چای، آمونیوم سولفات، پپتون و ویناس الکل) بدون عصاره گوشت و عصاره مخمر با هدف انتخاب مناسب ترین منبع برای بهینه سازی تولید آنزیم در یک محیط کشت اقتصادی مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصله که در شکل ۲ نشان داده شده است کنجاله کلزا با (U/l) ۱۰۰٤۸ و ۷٪ افزایش تولید آنزیم نسبت به محیط کشت پایه زایلان بیشترین، بذر چای، ویناس و آمونیوم سولفات به ترتیب با (U/l۲۹۳، ۳۷۷، ٦۹٥) کمترین میزان تولید آنزیم را نشان دادند.

در یک مطالعه توسط Rajoka و همکارانش در سال ۲۰۰٥ استفاده ازکنجاله کلزا در تخمیر حالت جامد برای تولید آنزیم زایلاناز *Humicola lanuginose* به عنوان منبع ازت مورد استفاده قرار گرفت و فعالیت آنزیم زایلاناز در این محیط کشت U/g ٦۱۰ گزارش شد (Bokhari et al. 2010).

بررسی کارایی پسماندهای کشاورزی و صنعتی به عنوان منبع نیتروژن محیط کشت تولید آنزیم: تولید آنزیم زایلاناز در حضور منابع مختلف کربن (پسماند مالت، پودر آب پنیر، ملاس، سبوس برنج، سبوس گندم، پسماند گلوتن، باگاس، ضایعات شالی کوبی) با هدف انتخاب بهترین منبع برای بهینه سازی تولید آنزیم در یک محیط کشت اقتصادی مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصله که در شکل ۳ نشان داده شده است ملاس (با ۷٪ افزایش تولید آنزیم نسبت به محیط پایه زایلان)، مالت و سبوس گندم به ترتیب (U/L) ۲۸۳۷، ۲۸۷۰، ۳۷٥۹ بیشترین، پودر آب پنیر، باگاس و ضایعات شالی کوبی به ترتیب با (U/L) ٦۷٥، ٥۱۸، ٤۸۰ کمترین میزان تولید آنزیم را نشان دادند.

بحث

دمای ۳۰ درجه سانتی گراد دمای بهینه تولید آنزیم زایلاناز گزارش شد، در گزارشی مشابه هم توسط کومار و همکارانش در سال ۲۰۱۳ حداکثر فعالیت آنزیم زایلاناز *Bacillus pumilus* VLK-1 در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد و مدت زمان ٤۸ ساعت گزارش شد (Kumar et al. 2013). ملاس به عنوان منبع کربن محرک تولید آنزیم زایلاناز *Bacillus subtilis* S7e مشاهده شد غنی بودن این ماده از عناصر معدنی می‌تواند در نتیجه حاصله مؤثر باشد. در مطالعه‌ای توسط Isil Seyis و همکارانش در سال ۲۰۰٤ پوست خربزه، تفاله سیب و پوست فندق به عنوان بهترین منبع تامین کربن جهت تولید آنزیم زایلاناز Trichoderma harzianum 1073 D3 در تخمیر غوطه ور U/mg ۲٦/٥ گزارش شد. همچنین ملاس به عنوان منبع کربن اضافی استفاده شد که باعث کاهش ٥۰٪ زمان تولید آنزیم شد (Seyis et al. 2005). در مطالعه ای توسط کومار و همکارانش در سال ۲۰۱۳ سبوس گندم به عنوان بهترین منبع تامین کربن جهت تولید آنزیم زایلاناز *Bacillus pumilus* VLK-1 در تخمیر غوطه ور U/ml ۲۱۰۰ گزارش شد. تولید زایلاناز با سبوس گندم به عنوان بالاترین تولید در مقایسه با زایلان خالص گزارش شده است که ممکن است به این دلیل باشد که سبوس گندم شامل ٥٤٪ کربوهیدرات (ازجمله زایلان، پنتوزها و هگزوزها)،۱٤٪ پروتئین، مواد معدنی، ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه می‌باشد (Kumar et al. 2013) که می‌تواند رشد باکتری را برای تولید آنزیم زایلاناز پشتیبانی کند. در گزارشی توسط Sanghi و همکارانش در سال ۲۰۰۹ سبوس گندم به عنوان منبع کربن مناسب در ترکیب محیط کشت تولید آنزیم زایلاناز *Bacillus subtilis* ASH، گزارش شده است (Sanghi et al. 2009). در محیط

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-28]

کشت طراحی شده با جایگزینی کنجاله کلزا با عصاره مخمر، عصاره گوشت ٦/٩٥٪ میزان فعالیت آنزیم زایلاناز *Bacillus subtilis* S7e در مقایسه با محیط کشت پایه زایلان افزایش یافت. از این‌رو استفاده از محیط کشت با پایه پسماندهای کشاورزی علاوه بر اینکه سبب افزایش تولید آنزیم زایلاناز شد، از لحاظ اقتصادی نیز بسیار مقرون به صرفه می باشد. در یک مطالعه توسط Rajoka و همکارانش استفاده از کنجاله کلزا در تخمیر حالت جامد برای تولید آنزیم زایلاناز Humicola lanuginose به عنوان منبع ازت مورد استفاده قرار گرفت و فعالیت آنزیم زایلاناز در این محیط کشت ٦١٠U/l گزارش شد (Bokhari et al. 2010). لازم به ذکر است که استفاده از کنجاله کلزا فقط در محیط کشت های قارچی گزارش شده است و تاکنون گزارشی از استفاده از کنجاله کلزا در محیط کشت باسیلوس گزارش نشده است.

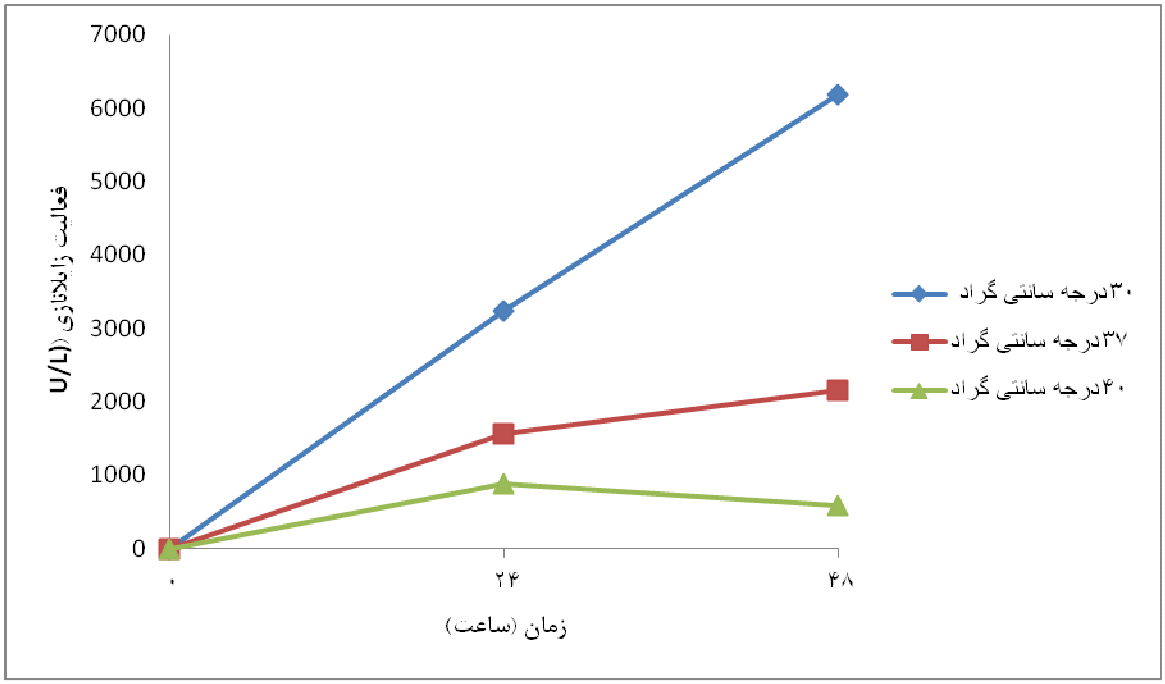
نتیجه گیری

براساس نتایج بدست آمده بیشترین تولید آنزیم زایلاناز *Bacillus subtilis* S7e در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد با فعالیت آنزیمی (U/l) ٦١٨٣ مشاهده شد. از آنجا که یکی از عوامل مهم در مدیریت تولید آنزیم استفاده از محیطی مقرون به صرفه از نظر اقتصادی است به منظور کاهش هزینه های تولید، در بین ضایعات کشاورزی–صنعتی ملاس با فعالیت آنزیمی (U/l) ۳۷۵۹ بهترین منبع کربن محیط کشت و کنجاله کلزا با فعالیت آنزیمی (U/l) ١٠٠٤٨ بهترین منبع ازت به شمار می آیند. با توجه به ضرورت تأمین منابع کربن و ازت مناسب و هچنین ساختار ترکیبات پلی‌ساکاریدی غیرنشاسته‌ای و دسترسی آنزیم‌های تولید شده توسط سویه مورد مطالعه به ساختارهای پیچیده ترکیبات لیگنوسلولزی می توان نتیجه گرفت که کنجاله کلزا ضمن تأمین نیاز غذایی سویه برای رشد و فعالیت حاوی القاگرهای مناسب‌تری برای تولید آنزیم بوده است.

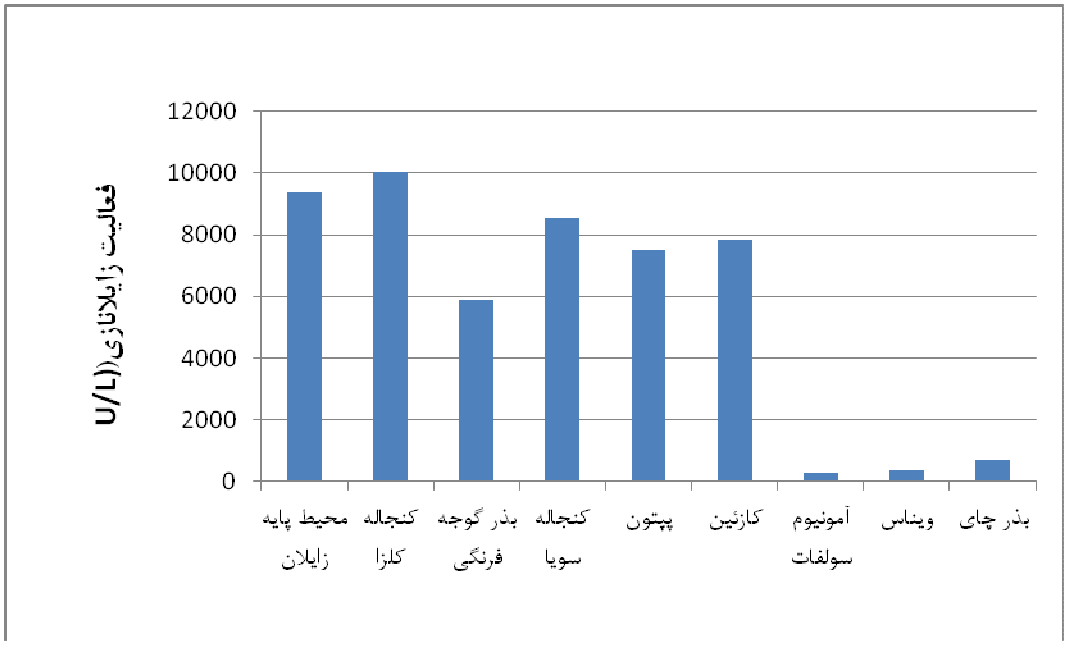
تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به‌شماره قرارداد ٢٤١١١ می‌باشد که بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه به‌دلیل حمایت‌های مادی و معنوی تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.همچنین از مدیریت محترم پژوهشکده تحقیقات بیوتکنولوژی میکروبی و ایمنی زیستی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران واقع درکرج به جهت حمایتهای مالی و آزمایشگاهی کمال تشکر و قدردانی را داریم.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-28]

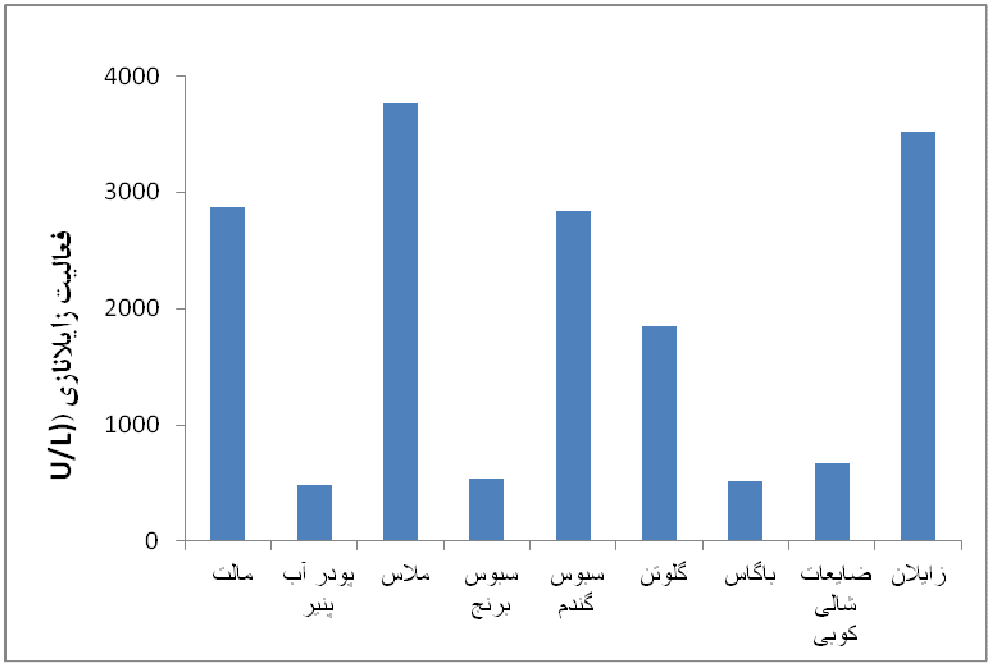


شکل ۱- نمودار تأثیر دما و زمان تخمیر بر تولید آنزیم زایلاناز توسط سویه *Bacillus subtilis* S7e در محیط کشت پایه



شکل ۲- تاثیر منابع مختلف ازت بر تولید آنزیم زایلاناز *Bacillus subtilis* S7e در محیط کشت اقتصادی بدون عصاره گوشت و عصاره مخمر همرا با پسماندهای کشاورزی، ٤٨ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد و دور 180 rpm

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-28]



شکل ۳- تاثیر منابع مختلف کربن بر تولید آنزیم زایلاناز *Bacillus subtilis* S7e در محیط کشت اقتصادی بدون عصاره گوشت و عصاره مخمر همرا با پسماندهای کشاورزی، ٤٨ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد و دور180 rpm

جدول ۱- ترکیب محیط کشت با درصدهای مختلف پسماندهای کشاورزی و صنعتی به منظور تعیین منبع نیتروژن مناسب

درصد پسماند کشاورزی و صنعتی	Xylan (g/l)	K_2HPO_4 (g/l)	$MgSO_4.7H_2O$ (g/l)	$CaCl_2.2H_2O$ (g/l)
کازئین(۲٪)	۱۲	۱	۰/۳	۰/۵
کنجاله سویا(۳٪)	۱۲	۱	۰/۳	۰/۵
کنجاله کلزا (۳٪)	۱۲	۱	۰/۳	۰/۵
بذر گوجه(۳٪)	۱۲	۱	۰/۳	۰/۵
بذر چای (۳٪)	۱۲	۱	۰/۳	۰/۵
آمونیوم سولفات (۲٪)	۱۲	۱	۰/۳	۰/۵
پپتون(۲٪)	۱۲	۱	۰/۳	۰/۵
ویناس الکل(٤٪)	۱۲	۱	۰/۳	۰/۵

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-28]

جدول ۲- ترکیب محیط کشت با درصدهای مختلف پسماندهای کشاورزی و صنعتی به منظور تعیین منبع کربن مناسب

درصد پسماند کشاورزی و صنعتی	Meat extract (g/l)	Yeast extract (g/l)	K_2HPO_4 (g/l)	$MgSO_4.7H_2O$ (g/l)	$CaCl_2.2H_2O$ (g/l)
پسماند مالت (۱/۲٪)	۳	٤	۱	۰/۳	۰/۵
پودر آب پنیر (۱/۲٪)	۳	٤	۱	۰/۳	۰/۵
ملاس (۱/۲٪)	۳	٤	۱	۰/۳	۰/۵
سبوس برنج (۱/۲٪)	۳	٤	۱	۰/۳	۰/۵
سبوس گندم (۱/۲٪)	۳	٤	۱	۰/۳	۰/۵
ضایعات شالی کوبی (۱/۲٪)	۳	٤	۱	۰/۳	۰/۵
پسماند گلوتن (۱/۲٪)	۳	٤	۱	۰/۳	۰/۵
باگاس (۱/۲٪)	۳	٤	۱	۰/۳	۰/۵

Reference

Arora, N., Banerjee, A.K. Mutyala, S. and Murty, US., 2009. Comparative characterization of commercially important xylanase enzymes. *Bioinformation*. **3**(10), pp. 446-453.

Bajaj, B.K., and Sharma, P., 2011. An alkali- thermotolerant extracellular protease from a newly isolated *Streptomyces* sp. DP2. *New Biotechnology*, 28, pp. 725–732.

Barekatain, M.R., Antipatis, C., Choct, M. and Iji, P.A., 2013. Interaction between protease and xylanase in broiler chicken diets containing sorghum distillers dried grains with soluble animal feed. Science and Technology, 182, pp. 71–81.

Beg, Q.K., Bhushan, B., Kapoor, M. and Hoondal, G.S., 2000. Enhanced production of a thermostable xylanase from *Streptomyces* sp. QG-11-3 and its application in biobleaching of eucalyptus kraft pulp. *Enzyme and Microbial Technology*, 27, pp. 459–466.

Bokhari, S.A.I. and Latif, F., 2010. Characterization of a β-xylosidase produced by a mutant derivative of *Humicola lanuginosa* in solid state fermentation. *Annals of microbiology*. **60**(1), pp. 21-29.

Chapla, D., Pandit, P. and Shah, A., 2012. Production of xylooligosaccharides from corncob xylan by fungal xylanase and their utilization by probiotics. *Bioresource Technology*, 115, pp. 215-221.

Dodd, D. and Cann, I.K.O., 2009. Enzymatic deconstruction of xylan for biofuel production. *Glob Change Biol Bioenergy*, 1, pp. 2–17.

Hashemi, M., Razavi, S.H., Shojaosadati, S.A., Mousavi, S.M., Khajeh, K. and Safari, M., 2010. Development of a solid-state fermentation process for production of an alpha amylase with potentially interesting properties. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **110**(3), pp. 333-337.

Juodeikiene, G., Basinskiene, L., Vidmantiene, D., Makaravicius, T. and Bartkiene, E., 2012. Benefits of β-xylanase for wheat biomass conversion to bioethanol. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, pp. 84–91.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-28]

Khandeparkar, R. and Bhosle, N.B., 2007. Application of thermo alkalophilic xylanase from *Arthrobacter* sp. MTCC 5214 in biobleaching of kraft pulp. *Bioresource Technology,* 98, pp. 897–903.

Kumar, L., Nagar, S., 2013. Production of an alkali tolerant extracellular xylanase from *Bacillus pumilus* VLK-1 in solid state fermentation and its use in tomato juice clarification.

Li, X., Li, E., Zhu, Y., Teng, C., Sun, B., Song, H. and Yang, R., 2012. A typical endo-xylanase from *Streptomyces rameus* L2001 and its unique characteristics in xylooligosaccharide production. *Carbohydrate Research*, 359, pp. 30-36.

Miller, G.L.,1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*. **31**(3), pp. 426-428.

Morosoli, R.J., Bertrand, J.L., Mondou, F., Shareck, F. and Klupfel, D., 1986. Purification and properties of a xylanases from *Streptomyces lividans*. *Biochem. J*. 239, pp. 587-592.

Nagar, S., Mittal, A., Kumar, D., Kumar, L. And Gupta, V.K., 2012. Immobilization of xylanase on glutaraldehyde activated aluminum oxide pellets for increasing digestibility of poultry feed. *Process Biochemistry*, 47, pp. 1402–1410.

O'Shea, C.J., Mc Alpine, P.O., Solan, P., Curran, T., Varley, P.F., Walsh, A.M. and Doherty, J.V.O., 2014. The effect of protease and xylanase enzymes on growth performance, nutrient digestibility, and manure odour in grower-finisher pigs. *Animal Feed Science and Technology,* 189, pp. 88–97.

Sanghi, A. And Garg, N., 2009. Enhanced production of cellulase-free xylanase by alkalophilic Bacillus subtilis ASH and its application in biobleaching of kraft pulp. BioResources **4**(3), pp. 1109-1129.

Schoenlechner, R., Szatmari, M., Bagdi, A. and Tömösközi, S., 2013. Optimization of bread quality produced from wheat and proso millet (*Panicum miliaceum* L.) by adding emulsifiers, transeglutaminase and xylanase. *LWT-Food Science and Technology,* 51, pp. 361-366.

Selinheimo, E., Kruus, K., Buchert, J., Hopia, A. and Autio, K., 2006. Effects of laccase, xylanase and their combination on the rheological properties of wheat doughs. *J Cereal Sci;* 43, pp.152–159.

Seyis, I. and Aksoz, N., 2005. Xylanase Production from *Trichoderma harzianum* 1073 D 3 with Alternative Carbon and Nitrogen Sources. *Food technology and Biotechnology*. **43**(1), pp. 37-40.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-28]

Use agricultural-industrial wastes to produce the enzyme xylanase by native *Basillus subtilis* S7e

Soltan Dallal, MM., Ph.D. **Professor, Food Microbiology Research Center, Division of Food Microbiology, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran**
Torkashvand, N., **Msc. Student, Division of Food Microbiology, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran**
Sharifi Yazdi, M.K., Ph.D. **Professor, Zoonosis Research Center, Department of Medical Laboratory Sciences, School of Allied Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran**
Mousivand, M., BSc. **Department of Microbial Biotechnology and Biosafety, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj, Iran**
Hashemi, M., Ph.D. **Assistant Professor, Department of Microbial Biotechnology and Biosafety, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj, Iran- Corresponding author: hashemim@abrii.ac.ir**

Received: Feb 1, 2015 **Accepted: Jun 22, 2015**

ABSTRACT

Background and Aim: Xylanases are widely used in various food industries, including livestock and poultry feed industries, the pulp and paper industry, as well as the pharmaceutical industry. Several strains of microorganisms are capable of producing this enzyme by different mechanisms, *Bacilliaceae* being one of its important sources at the commercial scale. The culture medium for xylan is expensive and, therefore, it is not economical to use in producing xylanase by *Bacillus subtilis* S7e. The purpose of this study was to explore the possibility of using industrial-agricultural wastes as a source of carbon and nitrogen in submerged fermentation, for producing xylanase in amounts higher than that which can be produced by xylan culture (10048 U/).

Materials and methods: The indigenous strain of *Bacillus subtilis* S7e was cultured in the xylan medium, followed by incubation at 30°, 37° and 40° C. Then the nitrogen sources (rapeseed meal, soybean meal, tomato seeds, tea seeds, peptone, Vinas alcohol, casein, and ammonium sulfate) and carbon sources (molasses, wheat bran, rice bran, rice industry waste, gluten waste, malt waste, whey powder, and bagasse) were substituted for the meat and yeast extracts and the xylan culture medium, respectively.

Results: The maximum enzyme activity was observed at 30° C after 48 hours of incubation (6183U/l). Rapeseed meal with an enzyme activity of 10048U/l and molasses with an enzyme activity of 3759U/l were found to be the best nitrogen and carbon sources for *Bacillus subtilis* S7e, respectively.

Conclusion: Based on the findings of this study, from an economic point of view, agricultural-industrial wastes (rapeseed meal and molasses) are an excellent substitute for the more expensive culture media currently in use for producing the enzyme xylanase.

Keywords: Xylanase, *Bacillus subtilis*, Xylan, Submerged fermentation, Industrial-agricultural wastes

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-28]