

## تولید پودر آنزیم لیپاز از مخمر *Yarrowia lipolytica* با روش بهبود یافته خشک کردن پاششی

### فرشاد درویشی

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران؛ (f.darvishi@gmail.com)

**چکیده.** آنزیم لیپاز در تولید مواد غذایی، افزاینده‌های طعم و بو، مواد شوینده، آرایشی و بهداشتی، داروسازی به کار می‌رود. یک مانع عمومی برای تولید آنزیم های تجاری پایداری کم محلول های مایع آنزیم ها است. در این تحقیق فرایند پایین دستی برای بدست آوردن پودر آنزیم لیپاز خشک شده پاششی پایدار مخمر *Yarrowia lipolytica* بررسی می شود. به نمونه های محلول آنزیمی غلظت های مختلف صمغ عربی و پودر شیر خشک برای خشک کردن پاششی اضافه شدند. نمونه ها در یک خشک کن پاششی با دماهای ورودی و خروجی ۱۷۵ و ۸۵ درجه سانتیگراد با جریان ۱۵ لیتر در ساعت خشک شدند. بهترین پودر لیپاز از خشک کردن پاششی با فرمول ۳ درصد صمغ عربی و ۹ درصد شیر خشک نسبت به سایر فرمول ها به دست آمد. نتایج نشان داد که پودرهای لیپاز خشک شده پاششی *Y. lipolytica* دارای بازده خوبی برای کاربردهای مختلف است.

**واژه های کلیدی.** مخمر، آنزیم، تولید، فرموله کردن، فرایند پایین دستی

## The production of *Yarrowia lipolytica* lipase powder by improved spray-drying method

### Farshad Darvishi

Department of Microbiology, Faculty of Science, University of Maragheh, Maragheh, Iran; (f.darvishi@maragheh.ac.ir)

**Abstract.** Lipase is used in the production of foods, flavor enhancers, detergents, cosmetics and pharmaceuticals. A common impediment to the production of commercial enzymes is their low-stability aqueous solutions. In this study, the downstream process was investigated to obtain a stable spray-dried lipase powder of *Yarrowia lipolytica*. The enzyme solution samples were supplemented with different concentrations of Arabic gum and milk powder to spray-drying. Samples were dried in a pilot spray dryer at inlet and outlet temperatures of 175 and 85 °C, respectively, at a flow rate of 15 liters per hour. The best lipase powder obtained from spray-drying with 3% of Arabic gum and 9% of milk powder formulation as compared with other formulations. Results showed that spray-dried lipase powders of *Y. lipolytica* had a good yield suitable for various applications.

**Keywords.** yeast, enzyme, production, formulation, downstream process

## مقدمه

مخمر *Yarrowia lipolytica* برای انسان غیر بیماری‌زا و برای چند فرایند صنعتی ایمن شناخته شده است (Darvishi et al., 2017; Fickers et al., 2005). سویه‌های این مخمر از مواد غذایی غنی از چربی نظیر مارگارین و روغن زیتون، محصولات لبنی نظیر ماست و پنیر، مواد غذایی حاوی گوشت و پس‌مانده‌های گیاهی جداسازی شده است (Mirbagheri et al., 2012; Mafakher et al., 2010). آنزیم لیپاز مخمر *Y. lipolytica* با ایجاد آرایش فضایی اختصاصی و دارای فعالیت آنزیمی بالا برای آبکافت، ساخت و ترانس استریفیکاسیون دامنه وسیعی از استرها و روغن‌ها در صنایع غذایی و تولید ترکیبات و افزودنی‌های غذایی مختلف کاربرد دارد. تجارت قابل توجه لیپازها در صنایع شوینده‌ها به عنوان لیپولاز است که در پودرهای لباس‌شویی و مایع‌های ظرف‌شویی به کار می‌روند. از کاربردهای دیگر لیپازها در دباغی برای حذف چربی‌های زیر پوستی است که مصرف سورفکتانت‌ها و شوینده‌ها را کاهش می‌یابد. لیپازها در استری کردن درونی روغن‌ها و گریس‌ها به منظور تولید آسیل گلیسرول‌ها به کار می‌رود که با روش‌های سنتز شیمیایی ممکن نیست. لیپازها به دلیل حفظ فعالیت در حلال‌ها، خاصیت انتخابگری شیمیایی، جهت‌گزینی و فضا ویژه بالا کاربرد گسترده‌ای در سنتز ترکیبات آلی صنایع آرایشی و عطرسازی و دارویی دارند. لیپاز مخمر *Y. lipolytica* کاربردهای زیست محیطی به ویژه برای تیمار زیستی پساب‌های غنی از چربی و خاک‌های آلوده با هیدروکربن‌ها دارد. همچنین در صنایع لبنی و تخمیری از جمله رسیدن پنیر و تخمیر گوشت کاربرد دارد که هیدرولیز چربی به خاطر عملکرد اختصاصی لیپاز منجر به تولید اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه یا اسیدهای چرب با زنجیره بلند می‌شود که عامل ایجاد طعم و بو در محصول نهایی است. علاوه بر این در تولید گاما دکالاکتون یک ترکیب معطر شبیه به عطر و طعم هلو است که به عنوان ترکیب معطر و طعم دهنده در تهیه مواد غذایی، نوشیدنی‌ها و آبمیوه‌ها و همچنین عامل برطرف کننده تلخی و خوشبو کننده در محصولات دارویی، ترکیب معطر در شوینده‌ها و محصولات آرایشی به کار می‌رود. از دیگر کاربردهای این آنزیم در تولید پروتئین تک‌یاخته و روغن تک‌یاخته از ترکیبات آب‌گریز نظیر آلکان‌ها و روغن‌ها است (Fickers et al., 2005; Darvishi, 2012).

یک مانع عمومی برای تولید و استفاده از آنزیم‌ها در صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی پایداری کم محلول‌های مایع آنزیم‌ها است در اغلب موارد خشک کردن آخرین مرحله فرایند تولید محصول است. فرایند خشک کردن به منظور حفظ و انبار نمودن محصول نهایی خالص یا نسبتاً خالص است. خشک کردن مستلزم انتقال حرارت به مواد مرطوب و دفع رطوبت به هنگام تبخیر آب است به طوری که حداقل اثر مخرب بر فعالیت، ارزش تغذیه‌ای یا قابلیت زیستی فرآورده داشته باشد. کاهش هزینه حمل و نقل، استفاده و بسته بندی ساده تر، ذخیره ساده تر و طولانی تر از مزایای خشک کردن محصول است. پودر آنزیم لیپاز مخمر *Y. lipolytica* برای اولین بار توسط درویشی و همکارانش با روش خشک کردن انجمادی بدست آمده است. از آنجایی که روش خشک کردن انجمادی از لحاظ مصرف انرژی هزینه زیادی نیاز دارد برای تولید پودر آنزیم برای کاربردهای صنعتی مناسب نیست (Darvishi et al., 2012). تاکنون تنها یک گزارش توسط آلوا و همکارانش در مورد خشک کردن پاششی آنزیم لیپاز مخمر *Y. lipolytica* ارائه شده است (Alloue et al., 2007) و هدف این تحقیق ارائه یک فرمول جدید و با کارایی بهتر برای تولید پودر آنزیم لیپاز پایداری مخمر *Y. lipolytica* برای کاربردهای صنعتی با خشک کردن پاششی در مقیاس نیمه صنعتی است.

## مواد و روش‌ها

### فرایند تولید آنزیم لیپاز در بیوراکتور

قبلاً فرایند تولید آنزیم لیپاز در بیوراکتور توسط درویشی و همکارانش توضیح داده شده است که به طور خلاصه در ادامه شرح داده می‌شود (Darvishi et al., 2011). پس از کشت دو روزه مخمر *Y. lipolytica* U6 بر روی محیط کشت YPD در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد، یک لوپ از کلنی مخمر به ۱۰۰ میلی لیتر محیط مایع YPD دارای ۰/۵ گرم در لیتر آنتی بیوتیک کلرآمفنیکل به عنوان پیش کشت اولیه تلقیح گردید و سپس این محیط در انکوباتور در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد و با دور ۲۰۰ در دقیقه به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. فرایند اصلی تخمیر با حجم ۱۵ لیتر محیط کشت تخمیر صنعتی تولید لیپاز (۳۰ میلی لیتر متیل اولئات، ۱۰ گرم عصاره مخمر، ۱۰ گرم تریپتون و ۱۰ گرم کازئین) در فرمنتور ۲۰ لیتری Biolaffite با قطر درونی ۰/۲۲ متری، دو همزن راشتون RDT6 با قطر ۰/۱ متری که میزان چرخش آنها ۲۸۰

این فرایند با استفاده از دستگاه سانتیفریوژ سرعت پایین RC12BP در دور ۴۷۰۰ در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتیفریوژ گردید. چون هدف این تحقیق ارائه یک فرمول جدید و با کارایی بهتر برای تولید پودر آنزیم لیپاز پایدار مخمر *Y. lipolytica* برای کاربردهای صنعتی با خشک کردن پاششی در مقیاس نیمه صنعتی است، در نتیجه مایع حاوی آنزیم لیپاز خام و تخلیص نشده برای خشک کردن پاششی استفاده شد. طبق جدول ۱ دو فرمول مختلف از مواد افزودنی برای خشک کردن پاششی نمونه های محلول آنزیم لیپاز مخمر *Y. lipolytica* استفاده گردید. فرمول اول مشابه بهترین فرمول گزارش شده برای خشک کردن پاششی لیپاز توسط آلو و همکارانش است (Alloue et al., 2007) و فرمول دوم یک فرمول جدید برای استفاده در تحقیق حاضر است.

پس از اضافه کردن مواد افزودنی و همگن سازی، به منظور خشک کردن به روش پاششی آنزیم لیپاز از دستگاه خشک کن پاششی (Niro Mobile Minor (Niro, Denmark) استفاده شد. نمونه ها در یک خشک کن پاششی با دماهای ورودی و خروجی ۱۷۵ و ۸۵ درجه سانتیگراد با جریان ۱۵ لیتر در ساعت خشک شدند (Alloue et al., 2007).

#### بررسی عملکرد پودر آنزیم لیپاز در pH های مختلف

به منظور بررسی عملکرد پودرهای آنزیم لیپاز تولید شده، از بافرهای مختلف دارای محدوده بافری متفاوت زیر استفاده گردید (Destain et al., 1997):

بافر ۰/۰۵ مولار اسید سیتریک/ سیترات سدیم  
محدوده بافری ۶-۳

بافر ۰/۰۵ فسفات دی هیدروژن سدیم/ فسفات هیدروژن دی سدیم  
محدوده بافری ۸-۶

بافر ۰/۰۵ فسفات هیدروژن دی سدیم/ هیدروکسید سدیم  
محدوده بافری ۱۱-۹

#### بررسی عملکرد پودر آنزیم لیپاز در دماهای مختلف

به منظور بررسی عملکرد پودرهای آنزیم لیپاز تولید شده پس از حل کردن آنها، برای انجام واکنش آنزیمی نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در دماهای ۴، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۳۷، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ درجه سانتیگراد بن-ماری شیکردار با دور ۱۵۰ در دقیقه قرار داده شد و سپس فعالیت آنزیمی اندازه گیری گردید (Destain et al., 1997).

بررسی اثر زمان ذخیره سازی بر کارایی و فعالیت پودر آنزیم لیپاز

دور در دقیقه تنظیم شد، حسگر اکسیژن (Mettler Toledo InPro 6800 series که میزان اکسیژن را در حدود ۰/۷۵ تنظیم می نمود، حسگر pH (Mettler Toledo InPro 2000/ (120/Pt100/9848 که pH در حدود ۰/۱ ± ۷ با اضافه کردن ۶ نرمال KOH و H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> تنظیم می کرد، حسگر ضد کف در فاصله ۱۰ سانتیمتری از قسمت بالای فرمنتور قرار داشت که با اضافه کردن ضد کف Tego KS911، کف را کنترل می نمود و در نهایت دما در حدود ۳۰ درجه سانتیگراد تنظیم شده بود. تنظیم پارامترها (pH، دما و ...) به طور مستقیم و پیوسته با سیستم کنترل رایانه ای ABB انجام می شود. همچنین این فرمنتور مجهز به کف شکن مکانیکی بود. پس از کنترل عدم آلودگی پیش کشت ثانویه، به محیط کشت تخمیر صنعتی تولید لیپاز در فرمنتور ۲۰ لیتری تلقیح می شود. رشد مخمر، تولید لیپاز، تغییرات pH و اکسیژن حل شده در زمان‌های مختلف بررسی گردید و در زمان مناسب تخمیر خاتمه داده می شود.

#### اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی با روش رنگ سنجی

در این روش از پارانیتروفیل لورات (PNPL) به عنوان سوبسترای آنزیم لیپاز برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی به کار رفت که محصول نهایی اسید چرب و پارانیتروفنل (PNP) است. پارانیتروفنل رنگ زرد ایجاد می نماید که در طول موج ۴۱۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر قابل اندازه‌گیری است. در نتیجه منحنی استاندارد بر اساس غلظت‌های مختلف پارانیتروفنل در بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH حدود ۷ رسم گردید. در ادامه محلول ۰/۵۰۴ میلی مولار پارانیتروفیل لورات در بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH حدود ۷ به عنوان سوبسترا آماده شد که می‌بایست به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گیرد. برای اندازه‌گیری نمونه‌ها، محیط کشت در یک ویال به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۴ هزار دور در دقیقه سانتیفریوژ شد سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوپرناتانت به ۹۰۰ میکرولیتر سوبسترا اضافه گردید. پس از ۱۰ دقیقه با قرار دادن آن در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، مقدار جذب نوری در طول موج ۴۱۰ نانومتر بررسی شد. با استفاده از منحنی استاندارد و فرمول آن، فعالیت آنزیمی به صورت واحد در میلی‌لیتر گزارش گردید (Amaral et al., 2007).

فرایند خشک کردن آنزیم لیپاز تخلیص نشده به روش پاششی آنزیم لیپاز تولید شده توسط مخمر *Yarrowia lipolytica* خارج سلولی است و به درون محیط کشت ترشح می شود. در نتیجه می‌بایست توده سلولی مخمر از مایع حاوی آنزیم لیپاز جدا شود که

جدول ۱- فرمول های مختلف مواد افزودنی برای خشک کردن پاششی.

Table 1. Different formulas of additives for spray-drying.

Formulation	Arabic gum (GA) %	Milk powder (MP) %	Maltodextrin (MD) %	CaCl <sub>2</sub> %
I	6	-	12	1
II	3	9	-	-

واکنش خوب با ترکیبات فرار است. مطالعات نشان دادند که ترکیب صمغ عربی و مالتودکسترین مخلوط مناسب برای خشک کردن پاششی است (Shiga et al., 2001). ترکیبات پودر شیر بدون چربی، مالتو دکسترین، صمغ عربی را می توان برای خشک کردن پاششی استفاده نمود. تاکنون تنها یک گزارش توسط آلو و همکارانش در مورد خشک کردن پاششی آنزیم لیپاز مخمر *Y. lipolytica* ارائه شده است (Alloue et al., 2007).

فرمول اول مشابه بهترین فرمول گزارش شده برای خشک کردن پاششی لیپاز توسط آلو و همکارانش است که میزان بازده این فرمول ۳۰ درصد است. اما فرمول دوم جدید به کار رفته در این تحقیق دارای بازده ۶۰ درصد است که به صورت معنی دار و حدود ۲ برابر بازده فرمول اول برای خشک کردن پاششی است. همچنین فرمول دوم با توجه به ترکیبات و میزان مصرف مواد افزودنی از نظر اقتصادی با صرفه تر است. در نتیجه فرمول جدید حاوی ۳ درصد صمغ عربی و ۹ درصد پودر شیر با بازده بالاتر، ارزان تر و تولید پودر آنزیمی مطلوب فرمول مناسبی برای خشک کردن پاششی آنزیم لیپاز *Y. lipolytica* است. همچنین از مزایای دیگر استفاده نکردن از لاکتوز و ترکیبات مشابه در این فرمول است که برای کاربرد در صنایع غذایی و دارویی برای افرادی که عدم تحمل نسبت به لاکتوز دارند بدون ایجاد مشکل می تواند به کار رود.

#### بررسی عملکرد پودر آنزیم لیپاز در pH های مختلف

برای مطالعه اثر شرایط محیطی از جمله pH و دما بر روی پودر آنزیم لیپاز تولید شده با روش خشک کردن پاششی از اصطلاح فعالیت نسبی آنزیمی استفاده گردید. فعالیت نسبی آنزیمی از تقسیم فعالیت آنزیمی در شرایط مورد نظر (در pH و دمای مورد آزمایش بر بهترین فعالیت آنزیمی در شرایط مطلوب و با ضرب کردن عدد حاصل در عدد ۱۰۰ به دست می آید.

بهترین فعالیت نسبی پودرهای آنزیمی تولید شده با روش خشک کردن پاششی همانند محلول آنزیمی قبل از فرایند خشک کردن در pH حدود ۷ است. نسبت به محلول آنزیمی فعالیت نسبی آنزیمی

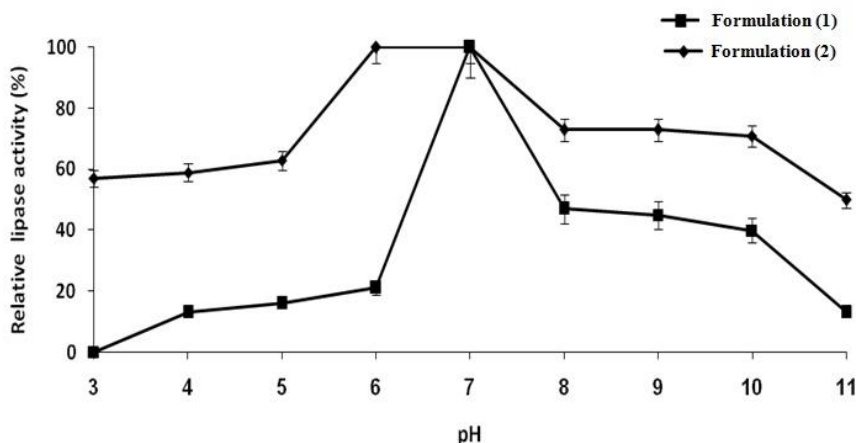
به این منظور پودرهای آنزیمی تولید شده به روش خشک کردن پاششی در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۶ هفته ذخیره سازی و نگهداری شدند و طی این مدت از لحاظ فعالیت آنزیمی بررسی شدند.

## نتایج و بحث

### خشک کردن آنزیم لیپاز به روش پاششی

بازده خشک کردن پاششی برای فرمول یک حدود ۳۰ درصد ولی برای فرمول دوم حدود ۶۰ درصد بدست آمد. خشک کردن پاششی یک روش ساده، سریع و از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه برای تولید پودر از محلول حاوی آنزیم است. پودرها محتوی ماده خشک با ۹۰ درصد کمتر از حجم مایع است که حمل و نقل و نگهداری را آسان می نماید (Bare et al., 1999). خشک کردن پاششی برای خشک کردن بسیاری از آنزیم ها از جمله پروتئازها و سلولازها به کار رفته است. هرچند خشک کردن به روش پاششی باعث ایجاد تنش بر پروتئین ها و باز شدن تاخوردگی آنها در اثر دناتوره شدن گرمایی می شود که منجر به از دست رفتن فعالیت آنزیمی می گردد. این باز شدن تاخوردگی پروتئین ها معمولاً با به کار بردن مواد افزودنی نظیر پلی ساکاریدها، برخی از پروتئین ها و نمک ها به حداقل می رسد (Werner et al., 1993).

افزودنی هایی نظیر ترکیب لاکتوز و پودر شیر بدون چربی در پایداری آنزیم موثر هستند (Millqvist-Fureby et al., 1999). مالتو دکسترین ترکیبی است که کمتر به محصولات حاصل از تجزیه نشاسته تبدیل می شود. این ماده حدواسط بین نشاسته شربت ذرت است که بر خلاف نشاسته در آب سرد محلول است و برخلاف شربت ذرت شیرین نیست. در نتیجه کاربردهای گسترده در صنایع غذایی دارد (Dokic et al., 1998). صمغ عربی به عنوان ماده پوششی معطر به کار می رود که این امر به دلیل حلالیت بالا، گرانبروی پایین، ویژگی های امولسیون کننده و



شکل ۱- اثر pH های مختلف بر فعالیت نسبی آنزیمی پودرهای لیپاز تولید شده با فرایند خشک کردن پاششی.

**Fig. 1.** Effect of different pHs on enzymatic relative activity of lipase powders produced by spray-drying process.

دمای محیط یعنی در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد است که باعث عدم نیاز به فریزر و حتی یخچال می شود و این امر در کاهش هزینه ها نقش بسزایی دارد. بیان دلایل اثر مواد افزودنی بر فعالیت نسبی و رفتار پودر آنزیم لیپاز *Y. lipolytica* در فرایند خشک کردن پاششی مشکل است و برای توجیه آنها نیاز به مطالعات بیوفیزیکی و بیوشیمیایی آنزیمی گسترده و عمیق است.

### نتیجه گیری

در اغلب موارد خشک کردن آخرین مرحله فرایند تولید محصول است. فرایند خشک کردن به منظور حفظ و انبار نمودن محصول نهایی خالص یا نسبتاً خالص است. خشک کردن مستلزم دفع رطوبت است به طوری که حداقل اثر مخرب بر فعالیت، ارزش تغذیه ای یا قابلیت زیستی فرآورده داشته باشد. کاهش هزینه حمل و نقل، استفاده و بسته بندی ساده تر، ذخیره ساده تر و طولانی تر از مزایای خشک کردن محصول است. با خشک کردن آنزیم لیپاز *Y. lipolytica*، پودرهای آنزیمی به دست آمد که باعث کاهش هزینه حمل و نقل، بسته بندی و استفاده ساده تر از این آنزیم می گردد. فرمول جدید برای خشک کردن پاششی آنزیم لیپاز حاوی ۳ درصد صمغ عربی و ۹ درصد پودر شیر با بازده بالاتر، ارزان تر و تولید پودر آنزیمی مطلوب فرمول مناسبی برای خشک کردن و تولید پودر آنزیم لیپاز *Y. lipolytica* است. همچنین از مزایای دیگر استفاده نکردن از لاکتوز و ترکیبات مشابه در این فرمول است که برای کاربرد در صنایع غذایی و دارویی برای افرادی که عدم تحمل نسبت به لاکتوز دارند بدون ایجاد مشکل می تواند به کار رود. در مورد سهولت استفاده از پودرهای آنزیمی تولید شده باید این نکته ذکر گردد

پودرها از محدوده pH های پایین به محدوده pH های بالا تغییر فعالیت دارد یعنی در pH های بالا و قلیایی فعالیت نسبی آنزیمی بیشتر شده است و این نکته قابل توجه از لحاظ کاربردهای محیطی و در صنایع به ویژه شوینده ها است. به نظر می رسد که فرمول های دوم به کار رفته برای روش خشک کردن پاششی با توجه به فعال بودن در محدوده های pH پایین و بالا برای اهداف کاربردی مناسب تر باشند (شکل ۱).

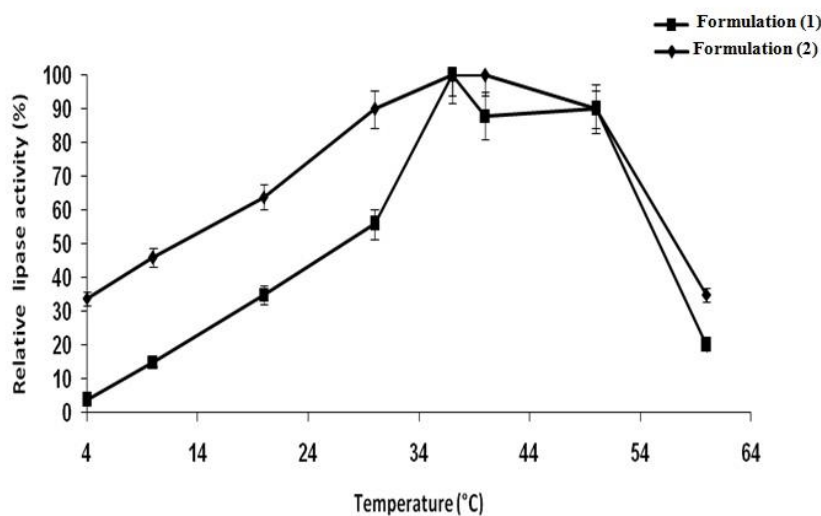
### بررسی عملکرد پودر آنزیم لیپاز در دماهای مختلف

بهترین فعالیت نسبی پودرهای آنزیمی تولید شده با روش خشک کردن پاششی همانند محلول آنزیمی قبل از فرایند خشک کردن در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد می باشد. به نظر می رسد که فرمول دوم به کار رفته برای روش خشک کردن پاششی با توجه به عملکرد گسترده می تواند از لحاظ کاربردی مورد توجه قرار گیرد (شکل ۲).

### بررسی اثر زمان ذخیره سازی بر کارایی و فعالیت پودر آنزیم لیپاز

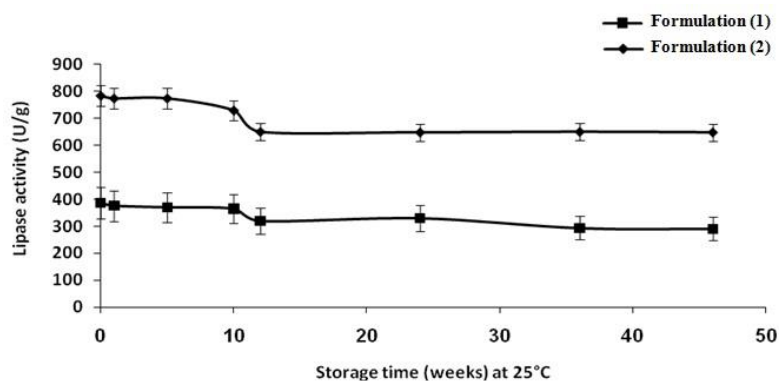
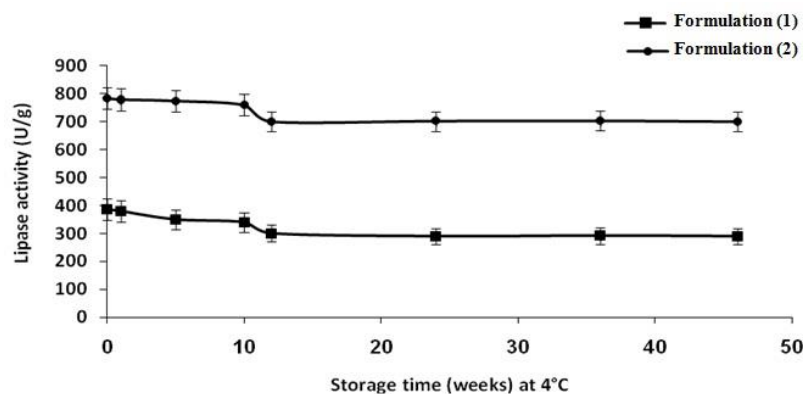
پس از ارزیابی و کنترل کیفی و کمی پودرهای آنزیمی در pH ها و دماهای مختلف، یکی از مسائل مهم در فرایند پایین دستی قابلیت ذخیره سازی محصول نهایی است. به این منظور طی ۴۶ هفته ذخیره سازی پودرهای آنزیمی تولید شده به روش خشک کردن پاششی در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد از لحاظ فعالیت آنزیمی بررسی شدند. در طی این مدت و در انتهای هفته ۴۶ کاهش فعالیت نسبی به میزان ۱۰ تا ۲۰ درصد بود یعنی بین ۹۰ تا ۸۰ درصد فعالیت آنزیم لیپاز در پودرهای آنزیمی حفظ شده بود. این در حالی است که در حدود هفته ۱۲ بیشترین کاهش در فعالیت آنزیمی مشاهده می گردد و بعد از آن میزان فعالیت آنزیمی تقریباً تا انتهای هفته ۴۶ ثابت مانده است (شکل ۳).

بین دمای ذخیره سازی ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد اختلاف معنی داری مشاهده نمی شود. نکته قابل توجه امکان ذخیره سازی و حمل و نقل در



شکل ۲ - اثر دماهای مختلف بر فعالیت نسبی آنزیمی پودرهای لیپاز تولید شده با فرایند خشک کردن پاششی.

**Fig. 2.** Effect of different temperatures on enzymatic relative activity of lipase powders produced by spray-drying process.



شکل ۳ - اثر زمان ذخیره سازی در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد بر فعالیت آنزیمی پودرهای لیپاز تولید شده با فرایند خشک کردن پاششی.

**Fig. 3.** Effect of storage time at 4 and 25 °C on enzymatic relative activity of lipase powders produced by spray-drying process.

### سپاسگزاری

از حمایت‌های مادی و معنوی معاونت آموزشی و پژوهشی دانشگاه مراغه تشکر و قدردانی می‌گردد.

که با توجه به فرمول‌های به کار رفته برای تهیه این پودرها، به راحتی در آب و محیط‌های آبی حل می‌شوند و بدون نیاز به تیمارهای اضافی بلافاصله قابل استفاده هستند و این موضوع ارزش کاربردی بالایی دارد.

## REFERENCES

- Alloue, W.A.M., Destain, J., Amighi, K. and Thonart, P. 2007. Storage of *Yarrowia lipolytica* lipase after spray-drying in the presence of additives. – Process Biochem. 42: 1357-1361.
- Amaral, P.F.F., de Almeida, A.P.R., Peixoto, T., Rocha-Leao, M.H.M., Coutinho, J.A.P. and Coelho, M.A.Z. 2007. Beneficial effects of enhanced aeration using perfluorodecalin in *Yarrowia lipolytica* cultures for lipase production. – World J. Microbiol. Biotechnol. 23: 339-344.
- Bare, G., Diakiese, A., Zgoulli, S., Sarri, A., Gerday, C. and Thonart, P. 1999. Modification of the thermo resistance to spray-drying of a cold-adapted subtilisin by genetic engineering. – Appl. Biochem. Biotechnol. 79: 857-865.
- Darvishi, F., Fathi, Z., Ariana, M. and Moradi, H. 2017. *Yarrowia lipolytica* as a workhorse for biofuel production. – Biochem. Engin. J. 127: 87-96.
- Darvishi, F. 2012. Expression of native and mutant extracellular lipases from *Yarrowia lipolytica* in *Saccharomyces cerevisiae*. – Microbial Biotechnol. 5: 634-641.
- Darvishi, F., Destain, J., Nahvi, I., Thonart, P. and Zarkesh-Esfahani, H. 2012. Effect of additives on freeze-drying and storage of *Yarrowia lipolytica* lipase. – Appl. Biochem. Biotechnol. 168: 1101-1107.
- Darvishi, F., Destain, J., Nahvi, I., Thonart, P. and Zarkesh-Esfahani, H. 2011. High-level production of extracellular lipase by *Yarrowia lipolytica* mutants from methyl oleate. – New Biotechnol. 28: 756-760.
- Destain, J., Roblain, D. and Thonart, P. 1997. Improvement of lipase production from *Yarrowia lipolytica*. – Biotechnol. Lett. 19: 105-107.
- Dokic, P., Jakovljevic, J. and Dokic-Baucal, L.J. 1998. Molecular characteristics of maltodextrins and rheological behaviour of diluted and concentrated solutions. – Colloids Surf. A. 141: 435-440.
- Fickers, P., Benetti, P.H., Wache, Y., Marty, A., Mauersberger, S., Smit, M.S. and Nicaud, J.M. 2005. Hydrophobic substrate utilisation by the yeast *Yarrowia lipolytica*, and its potential applications. – FEMS Yeast Res. 5: 527-543.
- Mafakher, L., Mirbagheri, M., Darvishi, F., Nahvi, I., Zarkesh-Esfahani, H. and Emtiazi, G. 2010. Isolation of lipase and citric acid producing yeasts from agro-industrial wastewater. – New Biotechnol. 27: 337-340.
- Millqvist-Fureby, A., Malmsten, M. and Bergenstahl, B. 1999. Spray-drying of trypsin surface characterization and activity preservation. – Int. J. Pharm. 188: 243-253.
- Mirbagheri, M., Nahvi, I., Emtiazi, G., Mafakher, L. and Darvishi, F. 2012. Taxonomic characterization and potential biotechnological applications of *Yarrowia lipolytica* isolated from meat and meat products. – Jundishapur J. Microbiol. 5: 346-351.
- Shiga, H., Yoshii, H. and Nishiyama, T. 2001. Flavor encapsulation and release characteristics of spray-dried powder by the blended encapsulant of cyclodextrin and gum arabic. – Drying Technol. 19: 1385-1395.
- Werner, L., Latzko, F. and Hampel, W. 1993. Spray-drying of yeast-lytic enzymes from *Arthrobacter* sp. - Biotechnol. Techniq. 7: 663-666.

\*\*\*\*\*

## How to cite this article:

Darvishi, F. 2019. The production of *Yarrowia lipolytica* lipase powder by improved spray-drying method. – Nova Biol. Reperta 6: 261-267.

درویشی، ف. ۱۳۹۸. تولید پودر آنزیم لیپاز از مخمر *Yarrowia lipolytica* با روش بهبود یافته خشک کردن پاششی. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۶: ۲۶۱-۲۶۷.

۲۶۷