Animal health and infectious diseases
Volume 2, Issue 2
Journal homepage: https://jahid.lu.ac.ir/

Immobilization of bacterial alpha-amylase enzyme on magnetic chitosan nanostructures

Saideh Afrisham*[1], Arastoo Badoei[2], Seyad Ahmad Ataei[3], Shirin Mohammadipour[4]

1. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
2. Department of Biochemistry, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman.
3. Department of Chemical Engineering, Faculty of Technology and Engineering, Shahid Bahonar University of Kerman.
4. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

ABSTRACT

Background and Aim: Alpha-amylases are a type of endoamylase that breaks down starch into smaller oligosaccharides by cleaving (4→1)α bonds. Alpha-amylases are an important group of enzymes with widespread applications in various industries. However, free enzymes have limitations in various industries, including high cost, lower stability, poor reusability, and difficulty using them in continuous reactors. However, these limitations can be minimized through enzyme immobilization. Enzyme immobilization can be carried out on various supports. Among these, immobilization on nanoscale surfaces, particularly magnetic nanoparticles, has attracted considerable attention due to their low toxicity, potential for reuse, improved stability, and enhanced performance under various conditions. This study examined the immobilization of the alpha-amylase enzyme using Fe_2O_3 nanoparticles on a chitosan polymer support.

Materials and Methods: The initial enzyme was produced by inoculating an overnight culture of Bacillus mojavensis into a specific liquid medium and incubating in 30 C° for 48 hours. The resulting enzyme was concentrated with ammonium sulfate and subsequently dialyzed. After dialysis, the enzyme was found to be bound to Fe_2O_3 nanoparticles on a chitosan support. This binding occurred in the presence of 50% glutaraldehyde, which served as a linker.

Results: The activity and stability of the immobilized enzyme were measured at 540 nm. These measurements revealed increases of 53% and 48%, respectively, compared to the free enzyme. Additionally, the concentration of the immobilized enzyme was estimated to be 25 micrograms/mL using a bovine serum albumin standard curve.

Conclusion: The use of natural chitosan effectively stabilized the alpha-amylase produced in this study, which, by increasing the activity and stability of this enzyme, is likely to be used on a large scale in the future for application in the glucose production and detergent production industries.

Keywords: Alpha-amylase, Immobilization, Magnetic Nanoparticles, Chitosan, Activity

Received: 03.10.2025 **Accepted: 23.10.2025** **Final Edit: 07.12.2025** **Online Published:26.12.2025**

Corresponding Information: Saideh Afrisham, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email: sa.afrisham@gmail.com Tel: 09130490866

Cite this article: Afrisham, Saideh; Badoei, Arastoo; Ataei, Seyad ahmad & Mohammadipour, Shirin. (2025). Immobilization of bacterial alpha-amylase enzyme on magnetic chitosan nanostructures. *Animal health and infectious diseases*. 2(1), 54-61.

بهداشت و بیماری های عفونی دام
دوره ۲ ، شماره ۲
صفحه مجله: https://jahid.lu.ac.ir/

تثبیت آنزیم آلفاآمیلاز باکتریایی روی نانوساختار کیتوزان مغناطیسی

سعیده افریشم[۱]، ارسطو بدویی دلفارد[۲]، سید احمد عطایی[۳]، شیرین محمدی پور[۴]

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۲. گروه بیوشیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۳. بخش مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۴. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

چکیده

زمینه و هدف: آلفا-آمیلازها متعلق به خانوادهٔ اندوآمیلازهایند که هیدرولیز اولیهٔ نشاسته به اولیگوساکاریدهای کوچک‌تر را با شکست پیوند α(۱⟶۴) انجام می‌دهند. در بین انواع مختلف آنزیم‌ها، آلفاآمیلازها گروه مهمی با کاربردهای گسترده در صنایع مختلف را تشکیل می‌دهند. استفاده از آنزیم‌آزاد در صنایع مختلف محدودیت‌هایی دارد ازجمله: هزینهٔ بالا، پایداری کمتر، قابلیت استفادهٔ مجدد ضعیف و مشکل در استفاده از آن‌ها در راکتورهای مداوم. این محدودیت‌ها با تثبیت آنزیم به حداقل می‌رسد. تثبیت آنزیم برروی بسترهای مختلف انجام‌شدنی است. در این میان تثبیت آنزیم برروی سطوح نانو، به‌ویژه نانوذرات مغناطیسی به‌دلیل سمیت کم آن‌ها، قابلیت استفادهٔ مجدد آنزیم همراه با افزایش پایداری و عملکرد مقاوم آن در شرایط مختلف بسیار موردتوجه قرار گرفته است. در این پژوهش تثبیت آنزیم آلفاآمیلاز با استفاده از نانوذرات Fe_2O_3 برروی بستری از پلیمر کیتوزان انجام گرفت.

مواد و روش ها: به‌منظور تولید اولیهٔ آنزیم، کشت شبانهٔ *باسیلوس موجاوِنسیس* به محیط مایع اختصاصی تلقیح و به‌مدت ۴۸ ساعت انکوبه شد. آنزیم به‌دست‌آمده با استفاده از آمونیوم سولفات تغلیظ و سپس دیالیز شد. آنزیم دیالیزشده در حضور گلوتارآلدهید ۵۰ درصد (اتصال‌دهنده (Linker)) به نانوذرات Fe2o3 در بستر کیتوزان اتصال داده شد.

یافته ها: فعالیت و پایداری آنزیم تثبیت‌شده با نانوذرات در ۵۴۰ نامتر اندازه‌گیری و مشخص شد که به ترتیب ۵۳ و ۴۸ درصد نسبت‌به آنزیم آزاد افزایش داشته است. همچنین غلظت آنزیم تثبیت‌شده با استفاده از نمودار استاندارد آلبومین سرم گاوی ۲۵ میکروگرم تخمین زده شد.

نتیجه گیری: استفاده از کیتوسان طبیعی به خوبی باعث تثبیت آلفاآمیلار تولید شده در این پژوهش شد که با افزایش میزان فعالیت و پایداری این آنزیم احتمال میرود در آینده جهت کاربرد در صنایع تولید گلوکز و صنایع تولید مواد شوینده به صورت انبوه مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه ها: آلفاآمیلاز، تثبیت ، نانوذرات مغناطیسی، کیتوزان، فعالیت

دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۱۱ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۹ ویرایش نهایی: ۱۴۰۴/۰۹/۱۶ انتشار آنلاین: ۱۴۰۴/۱۰/۰۵

اطلاعات نویسنده مسئول: سعیده افریشم، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان.

Email: sa.afisham@gmail.com

استناد: افریشم، سعیده؛ ارسطو، بدویی دلفارد؛ عطایی، سید احمد و محمدی پور، شیرین (۱۴۰۴). تثبیت آنزیم آلفاآمیلاز باکتریایی روی نانوساختار کیتوزان مغناطیسی. بهداشت و بیماری های عفونی دام، ۲ (۱)، ۵۴-۶۱.

مقدمه

آمیلازها می‌توانند به‌عنوان یکی از مهم‌ترین و پرکاربردترین آنزیم‌ها در نظر گرفته شوند که کاربرد آن‌ها در شاخه‌های مختلف مانند شیمی بالینی، دارویی و تحلیلی گسترش یافته است. در کنار این کاربردها، می‌توان از آن‌ها در بهبود صنایع مواد غذایی مانند پخت نان، مواد شوینده، پارچه و کاغذ و به‌ویژه فراوری نشاسته استفاده کرد. آلفا آمیلاز (E.C.3.2.1.1) هیدرولیز پیوند داخلی α-1→4 گلیکوزیدی را در نشاسته کاتالیز می‌کند و محصولات با وزن مولکولی کم، مانند واحدهای گلوکز، مالتوز و مالتوتریوز تولید می‌کنند (۱). برای افزایش کارایی این آنزیم‌ها تثبیت آن‌ها برروی بسترهای مختلف بررسی شده است که از این میان می‌توان به دانه‌های شیشه‌ای عملکردی (Functionalized glass beads)، سیلیکا مزوپور (Mesoporous silica)، امبرلیت Amberlite) MB 150 MB 150)، دانه‌های کیتوزان، ژلاتین، آلژینات، متخلخل نیتروسلولوز، نانوذرات نقره و نانوذرات مغناطیسی اشاره کرده کرد (۵-۲). در چند دهۀ گذشته، مواد با ابعاد نانو به‌طرز چشمگیری در همۀ رشته‌های علوم و فناوری جای خود را باز کرده‌اند. انواع بی‌شماری از نانوذرات و نانوکامپوزیت‌ها با موفقیت به‌منظور تثبیت آنزیم‌های آمیلولیتیک؛ آلفاآمیلاز، بتاآمیلاز، گلوکوآمیلاز و پلولاناز به‌کار گرفته شده‌اند. تثبیت آنزیم‌های آمیلولیتیک با پشتیبانی ترکیبات نانو منجربه فعالیت بسیار زیاد این آنزیم‌ها شده؛ چراکه تثبیت آنزیم با استفاده از ترکیبات نانو در سطح بالاتری انجام گرفته، مشکل ناشی از ممانعت فضایی در هنگام اتصال سوبسترا به جایگاه فعال آنزیم به حداقل رسیده و مقاومت آنزیم در برابر غیرفعال شدن ناشی از انواع دناتوره‌کننده‌های فیزیکی و شیمیایی بسیار بالا می‌رود. علاوه‌براین، فعالیت فراوان آنزیم‌های تثبیت‌شده با نانوذرات در استفادۀ مکرر و مداوم حفظ خواهد شد. آنزیم‌های آمیلولیتیک تثبیت‌شده با استفاده از نانوذرات با موفقیت در صنایع مواد غذایی، سوخت، نساجی، کاغذ و پالپ، مواد شوینده، زمینه‌های محیطی، پزشکی و تحلیلی کاربرد یافته‌اند. در بین این نانومواد، نانوذرات مغناطیسی به‌دلیل ویژگی مغناطیسی عالی و غیرمعمول منحصربه‌فرد در نظر گرفته می‌شوند. نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 و Fe_2O_3 به‌دلیل ویژگی‌های چندمنظوره‌شان ازجمله اندازۀ کوچک، ابرپرامغناطیس بودن، سمیت کم و از همه مهم‌تر جدایی آسان آن‌ها از سیستم واکنش، برای تثبیت آنزیم‌ها بسیار مناسب در نظر گرفته شده‌اند. در تکنیک‌های جداسازی مغناطیسی نیاز به سیستم‌های کروماتوگرافی مایع گران‌قیمت، سانتریفیوژها، فیلترها یا سایر تجهیزات وجود ندارد (۶-۱۲). به‌منظور عملکردی کردن نانوذرات مغناطیسی از ترکیبات آلی و غیرآلی مختلفی استفاده شده است. از مهم‌ترین ترکیبات آلی که درحال‌حاضر استفاده می‌شود کیتوزان است. زنجیره‌های پلی‌گلوکوزامین خطی کیتوزان گروه‌های آمینه و هیدروکسیل واکنش‌پذیر دارند که آن را در برابر تغییرات شیمیایی حساس می‌کند (۱۳ و ۱۴). هدف از این پژوهش، دستیابی به آلفا آمیلازی با مقاومت و حساسیت بالا برای استفاده مداوم در صنایع مرتبط با هیدرئلیز نشاسته می باشد.

مواد و روش‌ها

۱. تولید آنزیم آلفاآمیلاز

کشت شبانۀ باکتری باسیلوس مجاونسیس در محیط کشت نوترنیت براث در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد تهیه شد. به میزان ۱۰ درصد از این کشت به ۱۵۰ میلی‌لیتر محیط مایع اختصاصی حاوی نشاسته تلقیح و به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای۳۰ انکوبه شد. بعد از انکوباسیون، محیط کشت سانتریفیوژشده و مایع رویی به‌عنوان آنزیم استفاده شد.

۲. تغلیظ آنزیم

برای تغلیظ آنزیم مایع رویی به‌دست‌آمده از مرحلۀ قبل در یک ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و در داخل یک ظرف یخ برروی یک همزن مغناطیسی با سرعت حرکت پایین قرار گرفت. سپس به‌تدریج ا سولفات آمونیوم با غلظت نهایی۸۰ درصد (برای هر۱۰۰ میلی لیتر محیط، ۵۷ گرم سولفات آمونیوم) به درون محلول ریخته شد. پس از حل شدن کامل سولفات آمونیوم، محلول حاصل به‌مدت یک شب در داخل یخچال قرار گرفت تا پروتئین‌ها کاملاً رسوب کنند. سپس محلول واجد پروتئین‌های رسوب‌یافته در فالکون‌های ۵۰میلی‌لیتری ریخته شد و در دمای۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه با rpm ۱۰۰۰، سانتریفوژ شد. محلول رویی که فاقد پروتئین بود، دور ریخته و به رسوب درون فالکون‌ها به‌آرامی ۳۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات۵۰ میلیمولار با pH ۷ اضافه شد (۱۵).

۳. دیالیز

با استفاده از کیسهٔ دیالیز، برای حذف نمک سولفات آمونیوم از رسوب پروتئینی دیالیز انجام شد. محلول حاوی رسوب پروتئین‌ها و بافر پتاسیم فسفات به‌درون کیسهٔ دیالیز ریخته شد. سر کیسه با نخ بسته و به‌صورت معلق درون ارلن حاوی بافر پتاسیم فسفات ۲۰ میلی‌مولار با pH ۷ قرار گرفت. این ارلن برروی هم‌زن مغناطیسی قرار داده شد. تعویض محلول بافر دیالیز هر ۸ ساعت یک‌بار به‌مدت ۴۸ ساعت انجام گرفت. پس از آن آنزیم دیالیزشده در فالکون و در یخچال قرار داده شد (۱۵).

٤. تثبیت آنزیم

تثبیت آنزیم آلفاآمیلاز برروی بستری از پلیمر کیتوسان متصل به نانوذرات مغناطیسی در حضور گلوتارآلدهید (۱٪) به‌عنوان اتصال‌دهنده انجام گرفت. این فرایند در سه مرحله انجم گرفت. در مرحلهٔ اول ۰/۱ گرم کیتوزان پوشش‌داده‌شده با نانوذرات Fe2O3 و ۵۰ میکرولیتر گلوتار آلدهید به‌مدت ۵ ساعت در ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد برروی هم‌زن مغناطیسی قرار داده شد. پس از این مدت، مخلوط واکنش در دور ۱۰۰۰۰ و به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و با آب مقطر شست‌وشو داده شد. در مرحلهٔ دوم ۲ میلی‌لیتر آنزیم و ۵ میلی‌لیترآمونیوم سولفات اشباع به‌مدت نیم‌ساعت در ۴ درجهٔ سانتی‌گراد در روی هم‌زن مغناطیسی قرار داده شد. در مرحلهٔ آخر آنزیم رسوب داده‌شده با آمونیوم سولفات اشباع به مخلوط کیتوزان مغناطیسی و گلوتارآلدهید اضافه شد و به‌مدت سه ساعت در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد در روی هم‌زن مغناطیسی قرار داده شد. پس از این مدت مخلوط واکنش با بافر فسفات (۲۰ میلی‌مولار،۷ pH) شست‌وشو داده شد. رسوب حاصل با ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات (۲۰ میلی‌مولار، ۷ pH) مخلوط شد و به‌عنوان آنزیم تثبیت‌شده در یخچال نگهداری شد (۱۵).

۵. سنجش میزان آنزیم تثبیت‌شده

اندازه‌گیری غلظت پروتیین تثبیت‌شده براساس واکنش بردفورد انجام گرفت. برای این منظور ۲۰ میکرولیتر از آنزی تثبیت‌شده در کنار ۳۰ میکرولیتر بافر سدیم فسفات (۷ pH ، ۱۰۰ میلی‌مولار) و ۴۵۰ میکرولیتر به‌مدت ده دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. پس از این مدت زمان جذب مخلوط واکنش در ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای مقایسه، این واکنش به همین ترتیب برای سوپ رویی بعد از تثبیت، آنزیم دیالیزشده و آنزیم اولیهٔ تغلیظنشده (به‌عنوان کنترل مثبت) انجام گرفت (۱۵).

٦. سنجش فعالیت آنزیم

سنجش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز براساس روش برن فلد (Bern feld) و با استفاده از معرف DNS در لوله‌های آزمایش انجام گرفت. برای انجام سنجش فعالیت آنزیم، دو لوله به‌عنوان تست و یک لوله به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. به این ترتیب که به لوله‌های تست، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول آنزیم و ۰/۵ میلی‌لیتر نشاستهٔ یک‌درصد محلول در بافر سدیم فسفات (۷ pH ، ۱۰۰ میلی‌مولار) به‌عنوان سوبسترا اضافه شد (Oziengbe and Onilude, 2012). لوله شاهد محتوای ۰/۵ میلی‌لیتر آنزیم و ۰/۵ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات بود. برای انجام واکنش، ابتدا لوله‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شدند؛ این شرایط به‌عنوان شرایط استاندارد در نظر گرفته شد. در مرحلهٔ بعد، به لوله‌ها یک میلی‌لیتر از معرف DNS اضافه شد و به‌مدت ۵ دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده شدند. بعد از آن، لوله‌ها در دمای اتاق سرد شدند و جذب مخلوط واکنش درون لوله‌ها در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد (۱۶).

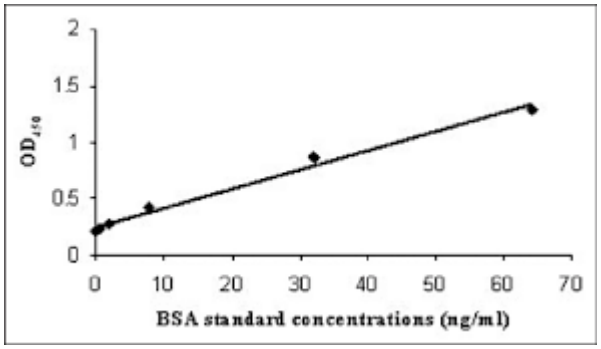
۷. سنجش پایداری آنزیم

برای اندازه‌گیری میزان پایداری آنزیم، ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر آنزیم به‌تنهایی به‌مدت یک ساعت در دماهای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در مرحلهٔ بعد، به نمونه‌های آنزیمی ۰/۵ میلی‌لیتر سوبسترا اضافه و مخلوط حاصل در شرایط سنجش (۲۰ دقیقه در ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد) انکوبه شد. درنهایت، فعالیت باقی‌مانده آنزیم با استفاده از معرف DNS و سپس خوانش جذب مخلوط واکنش در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۷).

نتایج

۱. اندازه‌گیری میزان آنزیم تثبیت شده

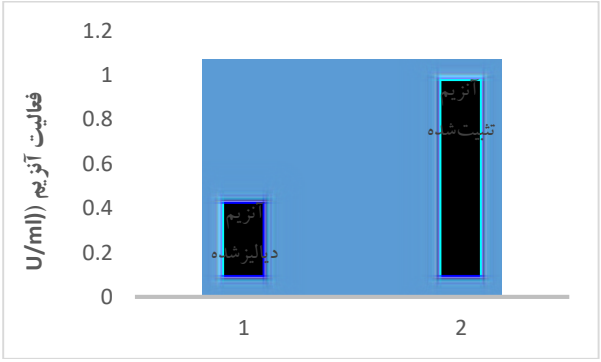
اندازه‌گیری مقدار آنزیم تثبیت‌شده با استفاده از محلول بردفورد و با مقایسهٔ جذب‌های به‌دست‌آمده در ۵۹۵ نامتر با نمودار استاندارد غلظت‌های مختلف پروتیین آلبومین سرم گاوی (BSA)(شکل ۱) انجام گرفت. نتایج این مقایس نشان داد میزان آنزیم تثبیت‌شده ۲۵ میکروگرم است.



شکل۱: نمودار استاندارد غلظت‌های مختلف پروتیین آلبومین سرم گاوی

۲. سنجش فعالیت آنزیم

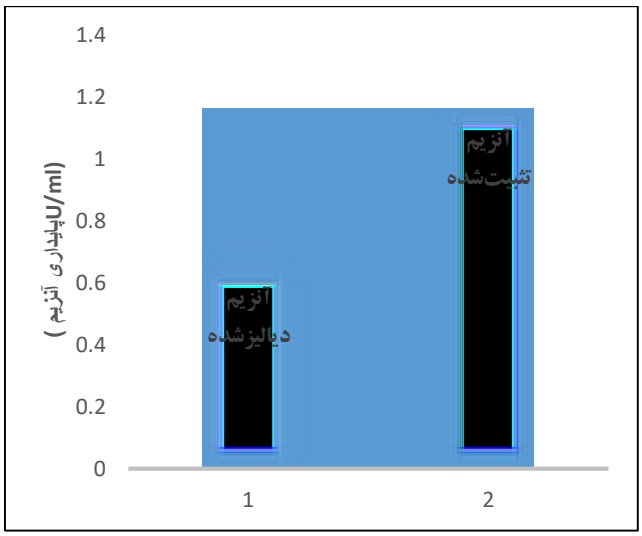
برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم تثبیت‌شده و آنزیم دیالیزشده، نمونه‌های آنزیمی به‌همراه سوبسترا به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از انکوباسیون، جذب در ۵۴۰ نانومتر خوانش شد. جذب‌های به‌دست‌آمده با منحنی استاندارد گلوکز مقایسه و فعالیت آنزیم برحسب (U/ml) محاسبه شد. نتایج نشان داد که تثبیت آنزیم سبب افزایش ۵۳درصدی فعالیت آن شده است (شکل ۲).



شکل ۲. مقایسهٔ فعالیت آنزیم دیالیزشده و تثبیت‌شده

۳. سنجش پایداری آنزیم

به‌منظور بررسی پایداری آنزیم، آنزیم دیالیزشده و آنزیم تثبیت‌شده قبل از انکوباسیون در شرایط سنجش به‌مدت یک ساعت به‌تنهایی در ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس فعالیت باقی‌ماندهٔ آنزیم در شرایط سنجش اندازه‌گیری شد و نتایج نشان داد ثبیت آنزیم سبب افزایش پایداری به میزان ۴۸ درصد شده است.



شکل ۳. مقایسهٔ پایداری آنزیم دیالیزشده و تثبیت‌شده

بحث

در این پژوهش تثبیت آنزیم آلفاآمیلاز به‌دست‌آمده از سویهٔ باسیلوس موجاونسیس برروی نانوذرات مغناطیسی Fe2O3 انجام گرفت و به‌منظور عملکردی کردن این نانوذرات از پلیمر کیتوسان و گلوتارآلدهید (۱٪) به‌عنوان اتصال‌دهنده استفاده شد. فعالیت و پایداری آنزیم تثبیت‌شده با دیالیزشده مقایسه و مشخص شد این دو پارامتر به ترتیب ۵۰ و ۴۸ درصد افزایش نشان داده است. در پژوهش انجام‌شده در سال ۲۰۱۸، دهاوال (Dhavale) و همکاران نشان دادند آلفاآمیلاز تثبیت‌شده با نانوذرات Fe3O4 ۴۸ درصد فعالیت خود را بیشتر حفظ کرده است (۱۸). سهرابی و همکاران نیز در سال ۲۰۱۳ مشاهده کردند آلفاآمیلاز تثبیت‌شده با Fe3O4 توانسته پس از استفاده ی مداوم در شش سیکل ۸۵ درصد فعالیت خود را حفظ کند که این میزان بالاتر از فعالیت باقی‌ماندهٔ آنزیم آزاد بوده است. این میزان فعالیت حفظشده نشان‌دهندهٔ پایداری بالاتر آنزیم تثبیت‌شده در مقایسه با آنزیم آزاد است که اهمیت استفاده از نانوذرات مغناطیسی را نشان می‌دهد (۱۹). اهمیت استفاده از کیتوسان به‌عنوان پلیمر ارزان‌قیمت برای تثبیت آلفاآمیلاز در پژوهش‌های متعددی مشخص شده است. عبدالجعفر و هاشم در سال ۲۰۰۳ مشاهده کردند تثبیت آنزیم روی بستری از پلیمر کیتوسان و گلوتارآلدهید (۱٪) به‌عنوان اتصال‌دهنده منجربه حفظ ۴۶/۴۵ درصد فعالیت اولیهٔ آنزیم آلفاآمیلاز در سنجش‌های مداوم در دمای ۲۵ درجه و pH۷ شده است (۲۰). تریپاتی (Tripathi) و همکاران در سال ۲۰۱۰، فعالیت باقی‌ماندهٔ ۲۷ درصد را برای

آلفاآمیلاز تثبیت‌شده اندازه‌گیری کردند (۲۱). افزایش فعالیت باقی‌ماندهٔ آلفاآمیلاز درنتیجهٔ تثبیت برروی پلیمر کیتوسان همچنین در پژوهش کوماری و کایاستا (Kayastha & Kumari) مشاهده شد (۲۲). یانگ و همکاران در سال ۲۰۱۰، همچنین افزایش فعالیت و پایداری آنزیم آلفاآمیلاز به‌واسطهٔ تثبیت برروی نانوذرات مغناطیسی فعال‌شده با کیتوزان گزارش کردند.

نتیجه‌گیری کلی

دسترسی آسان آلفا آمیلاز باکتریایی، سهولت تثبیت آن برروی مواد کم‌هزینه و افزایش پایداری هنگام تثبیت، می‌تواند آن را به محصول مناسبی برای برنامه‌های آینده تبدیل کند. هردو مادهٔ استفاده‌شده برای تثبیت آنزیم در این پژوهش غیرسمی، ارزان، تجدیدپذیر بوده و پیشنهاد می‌شود که آنزیم تثبیت‌شده در این پژوهش بتواند در زمینه‌های مختلف مواد غذایی، آرایشی، بیولوژیکی یا دارویی اهمیت قراوانی دارد.

قدردانی

از کارکنان بخش زیست‌شناسی و همچنین از دانشجویان بخش مهندسی شیمی دانشکدهٔ فنی و مهندسی دانشگاه شهید باهنر کرمان، به‌ویژه خانم نجمه محمدی تشکر و قدردانی می‌شود.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تضاد منافعی باهم ندارند.

منابع

1. R. A. Sheldon, Chirotechnology: Industrial Synthesis of Optically Active Compounds, Marcel Dekker, New York, 1993.
2. M.G. Bellino, A.E. Regazzoni, Amylase-functionalized mesoporous silica thin films as robust biocatalyst platforms, Appl. Mater. Interfaces.2 (2010) 360-365.
3. P.Tripathi, A. Kumari, P. Rath, A.M. Kayastha, Immobilization of α-amylase from mung beans on Amberlite MB 150 and chitosan beads: A comparative study, J.Mol.Catal.B:Enzym. 49 (2007) 69-7.
4. N. Jaiswal, O.Prakash, M. Talat, S.H. Hasan, R.K. Pandey, α-Amylase immobilizati on on gelatin: Optimization of process variables, J. Genet. Eng. Biotechnol. 10 (2012)161-167.
5. D.Tanyolac, B.I.Yuruksoy, A. R. Ozdural, Immobilization of a thermostable α-amylase, termamyl, onto nitrocellulose membrane by Cibacron Blue F3GA dye binding, Biochem.Eng. J. 2(1998) 179-186.
6. Y. Liu, S. Jia, Q. Wu, J. Ran, W. Zhang, S. Wu, Studies of Fe3O4-Chitosan nanoparticles prepared by co-precipitation under the magnetic field for lipase immobilization, Catal Commun. 12 (2011) 717-720.
7. Huang Y, Wang Y, Wang Y, Pan Q, Ding X, Xu K, Li N and Wen Q 2016 Ionic liquid-coated Fe3O4 /APTES/graphene oxide nanocomposites: synthesis, characterization and evaluation in protein extraction processes RSC Adv. 6 5718–28.
8. Liu Y, Li Y, Li X-M and He T 2013 Kinetics of (3-Aminopropyl) triethoxylsilane (APTES) Silanization of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Langmuir 29
9. Zhang Y, Kohler N and Zhang M 2002 Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake Biomaterials 23 1553–61.
10. Gawande M B, Monga Y, Zboril R and Sharma R K 2015 Silica-decorated magnetic nanocomposites for catalytic applications Coord. Chem. Rev. 288 118–43.
11. Khor E 2002 Chitin: a biomaterial in waiting Curr. Opin. Solid State Mater. Sci. 6 313–7.
12. Kubota N and Shimoda K 2004 Macromolecular Complexes of Chitosan Polysaccharides (CRC Press) pp 679–706.
13. Petkova G A, Záruba K, Žvátora P and Král V 2012 Gold and silver nanoparticles for biomolecule immobilization and enzymatic catalysis Nanoscale Res. Lett. 7 287.
14. Hii S L, Tan J S, Ling T C and Ariff A Bin 2012 Pullulanase: Role in Starch Hydrolysis and Potential Industrial Applications Enzyme Res. 2012 1–14.
15. Hashemabadi M, Badoei-Dalfard A. Fabrication of Magnetic CLEA-protease Nanocomposite: High Progression in Biotechnology and Protein Waste Management. Catalysis Letters. 2019 Jul 1;149(7):1753-64.
16. Bernfeld, P. (1955). [17] Amylases, α and β. Methods in Enzymology, 1, 149-158.
17. Karakaş, B., İnan, M. & Certel, M. (2010). Expression and characterization of *Bacillus subtilis* PY22 alpha-amylase in Pichia pastoris. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 64(3), 129-134.

18. Dhavale RP, Parit SB, Sahoo SC, Kollu P, Patil PS, Patil PB, Chougale AD. α-amylase immobilized on magnetic nanoparticles: reusable robust nano-biocatalyst for starch hydrolysis. Materials Research Express. 2018 Jul 4;5(7):075403.

19. Sohrabi N, Rasouli N, Torkzadeh M. Enhanced stability and catalytic activity of immobilized α-amylase on modified Fe3O4 nanoparticles. Chemical Engineering Journal. 2013; 11.059.

20. El-Ghaffar MA, Hashem MS. Immobilization of α-amylase onto chitosan and its amino acid condensation adducts. Journal of applied polymer science. 2009 Apr 15;112(2):805-14.

21. Tripathi P, Kumari A, Rath P, Kayastha AM. Immobilization of α-amylase from mung beans (Vigna radiata) on Amberlite MB 150 and chitosan beads: A comparative study. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 2007 Nov 16;49(1-4):69-74.

22. Kumari A, Kayastha AM. Immobilization of soybean (Glycine max) α-amylase onto Chitosan and Amberlite MB-150 beads: optimization and characterization. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 2011 Apr 1;69(1-2):8-14.

23. Yang K, Xu NS, Su WW. Co-immobilized enzymes in magnetic chitosan beads for improved hydrolysis of macromolecular substrates under a time-varying magnetic field. Journal of biotechnology. 2010 Jul 20;148(2-3):119-27.