

## Proizvodnja ksilanaze fermentacijom na čvrstoj podlozi za ekstrakciju ksilooligosaharida iz sojinih ljuskica

### SAŽETAK

*Pozadina istraživanja.* Razvoj novog postupka proizvodnje ksilooligosaharida zasnovanog na 4R konceptu je omogućen integriranjem različitih tehnika, naročito enzimskih modifikacija u kombinaciji sa fizikalnim postupcima prethodne obrade obnovljivih materijala. Svrha je ovoga rada bila s pomoću novog soja plijesni *Penicillium* sp. iz poljoprivrednog otpada istodobno proizvesti ksilanazu i proizvode dodane vrijednosti, a to su ksilooligosaharidi.

*Ekperimentalni pristup.* Za proizvodnju ksilanaze provedena je fermentacija na čvrstoj podlozi od pšeničnih mekinja. U svrhu dobivanja ekstrakta sa što većom aktivnosti ksilanaze prvo je prilagođen vremenski okvir fermentacije. Zatim je razvijen postupak pročišćavanja ksilanaze kombinacijom dvaju membranskih jedinica i filtracijske kromatografije na propusnom gelu. Daljnja karakterizacija je obuhvaćala utvrđivanje optimalnih pH-vrijednosti i temperature, molarne mase ksilanaze, te ispitivanje kinetičkih parametara. Nakon toga, ispitana je sposobnost djelomično pročišćene ksilanaze da hidrolizira hemicelulozu ekstrahiranu iz sojinih ljuskica pomoću lužine.

*Rezultati i zaključci.* Rezultati pokazuju da je plijesan *Penicillium rubens* tijekom fermentacije na čvrstoj podlozi proizvela 21 U/g izvanstanične ksilanaze. Primjenom dvaju ultrafiltracijskih membrana od 10 i 3 kDa i kromatografije na propusnom gelu dobiven je prinos od 49 %, a enzim je pročišćen 13 puta. Pročišćena ksilanaza (35 kDa) cijepala je linearne  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) veze u ksilanu izoliranom iz bukovine, s maksimalnom brzinom reakcije od 0.64  $\mu$ mol/(min·mg) i Mihaelisovom konstantom od 44 mg/mL. Enzim je imao najveću aktivnost pri pH=6 i temperaturi od 45 °C. Pokazao je izraženu sposobnost hidrolize hemicelulozne frakcije izdvojene iz sojinih ljuskica, što je potvrđeno tankoslojnom kromatografijom. U hidrolizatu hidrotermalno obrađenih sojinih ljuskica opažena je prisutnost ksilooligosaharida različitog stupnja polimerizacije, dok je u hidrolizatu netretiranih sojinih ljuskica potvrđena prisutnost ksilotrioze i glukoze.

*Novina i znanstveni doprinos.* Naše spoznaje mogu poslužiti kao osnova za buduća istraživanja usmjerena na stvaranje novih enzimskih puteva za pretvaranje obnovljivih materijala u proizvode sa dodanom vrijednosti.

**Ključne riječi:** sojine ljuskice; ksilanaza; *Penicillium rubens*; ksilooligosaharidi; obnovljivi materijali; fermentacija na čvrstoj podlozi