Review Article

DOI: 10.22034/ijche.2022.317496.1159

DOR: 20.1001.1.17355400.1401.21.125.1.1

This journal is an open access journal licensed under an Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International license(CC BY-NC-ND 4.0).

Feasibility of Using Carbonic Anhydrase in Bio Sequestration of Carbon Dioxide: Challenges and Opportunities

M. Maleki-Kakelar[1*], S. Hosseini[2], A. Mohammadi[3]

1- Assistant Professor in Chemical Engineering, University of Zanjan

2- B. Sc. Student in Chemical Engineering, University of Zanjan

3- M. Sc. Student in Chemical Engineering, Sharif University of Technology

Email: mmaleki@znu.ac.ir

Abstract

From 1990 to 2020, carbon dioxide emissions have dramatically increased (50%). It has already caused global warming and affected the environment and human health care. Moreover, carbon dioxide has dramatically increased up to 2 times in atmosphere since BCE, and the temperature of earth surface also raised 1°C from the past fifty years. Although novel technologies integrated carbon capture utilization and storage (CCUS) has been already proposed, there are still significant challenges such as cost, economic barriers, and uncertainties on environmental impacts. One promising way to mediate these issues is to utilization of carbonic anhydrase (CA) as enzyme in a eco-friendly manner without any secondary pollutants. In order to utilize CAs in carbon sequestration, high stable CAs on the extreme and harsh environment is essential. This review aims to present advanced developments in CA, efficient engineering strategies to improve the productivity and stability, immobilization techniques towards an industrial operating system. Recent challenges in industrial CAs application as well as its usage perspective in environmental protection have been also discussed.

Received: 29 November 2021
Accepted: 9 June 2022
Page Number: 7-21

Keywords:
Carbonic Anhydrase,
Carbon Dioxide Emission,
Carbon Sequestration,
Enzyme Immobilization

Please Cite this Article Using:

Maleki-Kakelar, M., Hosseini, S., Mohammadi, A., "Feasibility of Using Carbonic Anhydrase in Bio Sequestration of Carbon Dioxide: Challenges and Opportunities", Iranian Chemical Engineering Journal, Vol. 21, No. 125, pp. 7-21, In Persian, (2023).

مقـــالـــه مـــروری

DOI: 10.22034/ijche.2022.317496.1159
DOR: 20.1001.1.17355400.1401.21.125.1.1

This journal is an open access journal licensed under an Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International license(CC BY-NC-ND 4.0).

امکان استفاده از کربنیک انیدرازها در جداسازی بیولوژیکی کربن‌دی‌اکسید: چالش‌ها و فرصت‌ها

مهدی ملکی کاکلر[1*]، سینا حسینی[2]، علی محمدی[3]

۱- استادیار مهندسی شیمی، دانشگاه زنجان

۲- دانشجوی کارشناسی مهندسی شیمی، دانشگاه زنجان

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی شریف

پیام نگار: mmaleki@znu.ac.ir

چکیده

از سال ۱۹۹۰ تا ۲۰۲۰، میزان تولید گاز کربن‌دی‌اکسید به‌طور چشم‌گیری (۵۰٪) افزایش یافته است. تخمین زده می شود که تا سال ۲۰۵۰ علاوه بر این میزان افزایش، تولید این گاز گلخانه ای ۳۰-۵۰٪ بیشتر شود. این امر موجب گرم شدن کرۀ زمین و تأثیر منفی بر روی محیط زیست و سلامتی انسان ها شده است. افزون بر این، میزان کربن‌دی‌اکسید در هواکره طی دو هزار سال گذشته ۲ برابر شده و باعث افزایش دمای جهان به مقدار ۱°C در ۵۰ سال گذشته شده است. اگرچه امروزه به کارگیری فناوری‌های نوین برای استفاده و ذخیره‌سازی کربن‌دی‌اکسید پیشنهاد شده؛ اما با این حال چالش‌هایی از جمله هزینه ها، موانع اقتصادی و عدم قطعیت های مربوط به تأثیرات زیست‌محیطی وجود دارد. یک روش نویدبخش برای رفع این مسئله، استفاده از آنزیم کربنیک انیدراز است که روشی زیست‌محیطی و فاقد هرگونه آلایندگی ثانویه است. برای استفاده از آنزیم کربنیک انیدراز در حذف کربن‌دی‌اکسید، به‌کارگیری آنزیم‌های پایدار در شرایط محیطی سخت، لازم و ضروری است. در این مقالۀ مروری تلاش شده است تا پیشرفت های به‌دست‌آمده در زمینۀ کاربرد این آنزیم‌ها، استراتژی‌های کارامد مهندسی در بهبود پایداری آن‌ها و روش‌های تثبیت این مواد بر روی سامانه‌های صنعتی مختلف، بررسی شود. افزون بر این، چالش های اخیر در استفادۀ صنعتی و نیز چشم‌انداز مربوط به این آنزیم در حفظ محیط زیست بحث و بررسی شده است.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۹
شماره صفحات: ۷ تا ۲۱

کلیدواژه‌ها:
کربنیک انیدراز،
انتشار کربن‌دی‌اکسید،
جذب کربن،
تثبیت آنزیم

* زنجان، دانشگاه زنجان، گروه مهندسی شیمی

استناد به مقاله:
ملکی کاکلر، م.، حسینی، س.، محمدی، ع.، "امکان استفاده از کربنیک انیدرازها در جداسازی بیولوژیکی کربن‌دی‌اکسید: چالش‌ها و فرصت‌ها"، نشریه مهندسی شیمی ایران، سال بیست‌ویکم، شماره ۱۲۵، صص. ۲۱-۷، (۱۴۰۱).

۱. مقدمه

افزایش جمعیت و فعالیت‌های صنعتیِ بشر بعد از انقلاب صنعتی، سبب افزایش مصرف سوخت‌های فسیلی شده است. احتراق سوخت‌های فسیلی، حجم عظیمی از آلاینده‌های گازی و غبارهای جامد مانند کربن‌دی‌اکسید، اکسیدهای گوگرد و نیتروژن را وارد محیط زیست می‌کند. بخش اصلی گازهای گلخانه‌ای کربن‌دی‌اکسید است که افزایش آن سبب گرم‌تر شدن زمین می‌شود. با آغاز انقلاب صنعتی از سال ۱۸۵۰ تا ۲۰۱۸ به‌طور متوسط غلظت کربن‌دی‌اکسید از ppm ۲۸۴ تا ppm ۴۰۸ افزایش یافته است که نتیجهٔ آن افزایش دمای زمین در حدود ۰/۶ تا ۱/۲ درجهٔ سلسیوس تا سال ۲۰۱۹ است[۱]. نگرانی‌ها دربارهٔ ریسک‌ها و اثرات تغییرات اقلیمی این موضوع از قبیل موج گرمای مکرر و شدیدتر، بارش سنگین و خشکسالی در مناطق مختلف، منجر به درپیش‌گرفتن طرح‌هایی با ملاحظات اقتصادی و زیست‌محیطی برای کاهش سرعت گرمایش جهانی شده است[۲]. معاهدهٔ پاریس در سال ۲۰۱۵ همهٔ کشورها را ملزم به تثبیت دمای جهانی در دماهای پایین‌تر از ۲ درجهٔ سلسیوس از سطوح پسا احتراق[۱] و در حالت ایده‌آل نزدیک به ۱/۵ درجهٔ سلسیوس کرده است[۳،۴].

طرح‌های کنونی کاهش تغییرات اقلیمی ناشی از گرمایش کرهٔ زمین شامل فناوری‌های جدید از قبیل جذب، به‌کارگیری و ذخیره‌سازی کربن هستند. انواع مختلفی از روش‌های جذب و استعمال کربن[۲] (CCU) و نیز روش‌های جذب و جداسازی کربن[۳] (CCS) وجود دارد که به‌طور کلی در سه زیرگروه روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی تقسیم‌بندی می‌شوند. کاربرد این روش‌ها به همراه برتری‌ها و کاستی‌های هر کدام در جدول (۱) آورده شده است.

جدول ۱. مزایا و معایب روش های جذب و استعمال و جذب و جداسازی کربن

Table 1. Advantages and disadvantages of carbon capture utilization and sequestration methods.

Methods	Advantages	Disadvantages	References
Physical			
Physical absorption	surface adsorption of carbon dioxide layers on pore walls in layers without chemical interaction	The progress of the process and the adsorption capacity depend on the size of the pores and its volume	[5]
Calcium reduction cycle technology	Reversible reaction, generating a pure stream of carbon for storage or use, carbon / calciner can act as a heat source for the steam cycle to generate additional energy. Limestone is available as an adsorbent used in industry and as a non-hazardous chemical	There is currently no large-scale execution unit	[7]
Chemical			
Ionic fluids	Low vapor pressure, Low volatility, high thermal stability, low energy requirement for recovery	Low work capacity	[6]
Amine absorption	The process can handle low CO_2 partial pressure gas streams (3–20%). The process can be done at higher temperature	Solvent is difficult to regenerate Equipment can be easily corrosive NOx, SOx, Ox able to degrade amine	[8.9]
Biological			
CA-microalgae based system	Rapid absorption of carbon dioxide, the presence of genetic modification tools, higher fat production than that of wild counterparts (2.2 times) and high biofuel production efficiency along with downstream process programs	High cost and energy required for commercial microalgae	[11.10] [12] [13]

روش‌های فیزیکی شامل سامانه‌های جذب فیزیکی هستند که برهم‌کنش‌های این روش‌ها شامل تراکم‌سازی ساده بر روی هر سطح جامد متخلخل است. از سوی دیگر در این روش‌ها هیچ‌گونه برهم‌کنش شیمیایی که موجب ایجاد پیوند شیمیایی و افزایش مراحل جذب کربن‌دی‌اکسید در منافذ میکرومتری و نانومتری می‌شود، وجود ندارد[۵]. در فرایند چرخهٔ احیای کلسیم برای جذب کربن‌دی‌اکسید پس‌احتراقی[1] نیز اتلاف انرژی کم ۶-۸٪ از پیشرفت‌های موجود در کربناتور و کلسینر ناشی می‌شود که در طراحی بهینهٔ آن‌ها تماس مناسب بین جریان گاز و جاذب برقرار می‌شود[۶،۷].

استفاده از مایعات یونی جامع‌ترین روش شیمیایی برای جداسازی گازهای دودکش در صنایع نفت و شیمیایی است که فشار بخار کم، پایداری حرارتی بالا، نیاز کم به انرژی برای بازیابی از برتری‌های آن در مقایسه با حلال‌های فیزیکی معمولی است[۶]. گزینهٔ دیگری برای جذب شیمیایی با استفاده از محلول‌های آمین هست که در برج‌های آکنه‌دار دما بالا باعث حذف کربن‌دی‌اکسید از جریان گازهای دودکش می‌شود[۸،۹]. با این حال، همهٔ این روش‌ها فرایندهای سازگار با محیط زیست را ارائه نمی‌دهند و آلودگی ثانویه بر محیط زیست تحمیل می‌کنند. دمای بسیار بالا در حدود ۱۰۰-۲۰۰ درجهٔ سلسیوس در طی فرایندهای جذب و احتراق، هزینه‌های اضافی برای بازیابی حلال‌ها و هم‌چنین اثرات خوردگی شیمیایی بر روی تجهیزات از کاستی‌های این روش‌ها به‌شمار می‌روند.

در رویکرد زیستی، از کربن‌دی‌اکسید گازهای دودکش به‌عنوان منبع کربن در کشت موجودات اتوتروفیک فتوسنتزی در مقیاس بزرگ استفاده می‌شود که هدف آن تولید بالای زیست‌توده و هم‌چنین سنتز محصولات با ارزش زیستی و شیمیایی با سرعت بالاست [۹،۱۰]. تاکنون در CCU باکتری‌ها، جلبک‌ها و کربنیک انیدراز استفاده شده است. به‌عنوان مثال، بسیاری از سویه‌های کلستریدیوم[2] قادر به تثبیت CO_2 (با استفاده از H_2 به‌عنوان دهندهٔ الکترون) هستند. آن‌ها هم‌چنین توانایی استفاده از سایر ترکیبات تک‌کربنه، مانند فرمات ($HCOO^-$) و متانول را به‌عنوان منابع کربن دارند. اگرچه سویهٔ کلستریدیوم جزء باکتری‌های گرم مثبت است؛ ولی کشت این باکتری بی‌هوازی دشوار و هزینه‌بر است. در کشت جلبک‌ها نیز چالش‌های زیادی از قبیل انتخاب سویهٔ جلبکی مناسب وجود دارد. افزون بر این، شدت نور، مخلوط‌شدن سلول‌ها و تجمع اکسیژن تنها چند نمونه از مشکلات پیش رو در رسیدن به یک فرایند زیستی با صرفهٔ اقتصادی است[۱۰،۱۱].

آنزیم کربنیک انیدراز (CA) به‌طور گسترده در کلروپلاست[3] ریزجلبک‌ها و ماکروجلبک‌های یوکاریوتی[4] وجود دارد و دارای نقش مهمی در تثبیت فتوسنتزی CO_2 است. به‌عنوان مثال، با افزایش غلظت CO_2 در کلروپلاست‌ها، خانوادهٔ بتا-CA ها می‌توانند میزان کربوکسیلاسیون ریبولوز[5] ۱، ۵- بیس‌فسفات کربوکسیلاز (RuBisCO) را افزایش دهند. سازوکار عملکرد آن‌ها شامل تبدیل CO_2 به بی‌کربنات (برای استعمال RuBisCO در گیاهان C4)، سپس بی‌کربنات به CO_2 به‌وسیلهٔ فسفنول پیروات کربوکسیلاز (PEPC) و سرانجام کمک به نفوذ تسهیل‌یافته از راه تعادل سریع بین CO_2 و HCO_3^- [۱۴] است. اکتشاف CAها در سال ۱۹۳۳ باعث شد که در خط مقدم پژوهش قرارگیرند؛ از درک واکنش‌های آنزیمی تا زیست‌شناسی ساختاری، دینامیک مولکولی، کشف دارو و پزشکی بالینی و حتی تثبیت کربن دی‌اکسید [۱۷-۱۴]. از نظر ماهیت CA در همه جا وجود دارد؛ اما این آنزیم ابتدا در گلبول‌های قرمز خون کشف و سپس در بیشتر موجودات شناسایی شد. کربنیک انیدراز ها بر اساس ساختار بلوری و از نظر ژنتیکی متمایز آن‌ها در هفت ردهٔ مختلف یعنی α، β، γ، δ، ξ، η و θ–CA خانواده تقسیم‌بندی شده که با وجود تنوع در ساختارشان، همهٔ آن‌ها در جایگاه فعالشان دارای عنصر روی یا فلزات مشابه هستند[۱۷].

در میان فناوری‌های مختلف جذب و ذخیرهٔ کربن (CCS)، استفاده از CA در کانی‌سازی زیستی $CaCO_3$، روشی امیدوار کننده و سازگار با محیط زیست است و تحقیقات متعددی را در پی داشته است[۱۵]. به‌تازگی امکان استفادهٔ بیوکاتالیست CA نیز برای هیدراتاسیون[6] CO_2 و رسوب آن به‌صورت کربنات کلسیم نشان داده شده است[۴،۷]. علاوه بر این، تحولات اخیر با پافشاری بر ریزجلبک‌ها و CA می‌تواند راهی بالقوه برای جذب مؤثر CO_2 اضافی به‌روش زیستی باشد؛ چرا که در این حالت، لیپید تولیدی ۲/۲ برابر

1. Post-Combustion
2. Clostridium
3. Chloroplasts
4. Eukaryotic Macroalgae
5. Ribulose
6. Hydration

تولید با انواع گونه‌های وحشی[1] آن خواهد بود[۱۲] و راندمان تولید سوخت‌های زیستی و فرایندهای پایین‌دستی نیز به‌نسبت بالاتر خواهد بود[۱۳]. گفتنی است که CA هم در کلروپلاست ریزجلبک‌های یوکاریوتی (پیرنوئید) و هم در کربوکسیم ریزجلبک‌های پروکاریوتی وجود دارد. در مقایسه با سایر روش جذب کربن، تثبیت CO_2 بر پایهٔ آنزیم‌های CA دارای ویژگی‌های یگانه‌ای مانند نداشتن آلودگی ثانویه، سازگاری با محیط زیست، سرعت بالا (سریع‌ترین آنزیم شناخته شده) است. هم‌چنین این آنزیم‌ها می‌توانند بدون مصرف انرژی اضافی، آب و CO_2 را به ترکیبات آلی تبدیل کنند[۱۴]. از این رو با توجه به این‌که فعالیت کاتالیزوری CA (k_{cat}) بسیار سریع است در محدودهٔ $10^4 \sim 10^6\ s^{-1}$، این آنزیم بر جنبش‌شناختی آهستهٔ جذب CO_2 غلبه می‌کند[۱۲،۱۳، ۱۸-۱۵].

تولید و انشار بی‌رویهٔ گازهای گلخانه‌ای و به صدا درآمدن زنگ‌های هشدار گرمایش کرهٔ زمین، محققان و دانشمندان سراسر جهان را به تکاپو انداخته است. هدف کلی از نگارش این مقاله بررسی روش‌های کاهش نشر و جذب کربن دی‌اکسید است.

۲. انیدراز کربنیک؛ انواع و سازوکار عملکرد

در میان تمام آنزیم‌های سازگار با محیط زیست، انیدراز کربنی (CA, EC.4.2.1.1) یک کاتالیست زیستی مرتبط با یون‌های روی است که از آن برای آب‌پوشی برگشت‌پذیر کربن‌دی‌اکسید استفاده می‌شود[۲۱-۱۹]. شباهت توالی آمینواسیدهای این آنزیم‌ها تقریباً کم است، که مثال ظریفی از تکامل (فرگشت) همگرا است. با این حال، سازوکار عملکرد CAها دارای یک همگونی است و آن واکنش آب‌پوشی با CA در ۲ مرحله انجام می‌شود که در معادلات (۱) و (۲) آورده شده است[۱۴،۲۲]:

$$E - Zn(II) - OH^- + CO_2 \leftrightarrow E - Zn(II) - HCO_3^- \leftrightarrow E - Zn(II) - OH_2 + HCO_3^- \quad (۱)$$

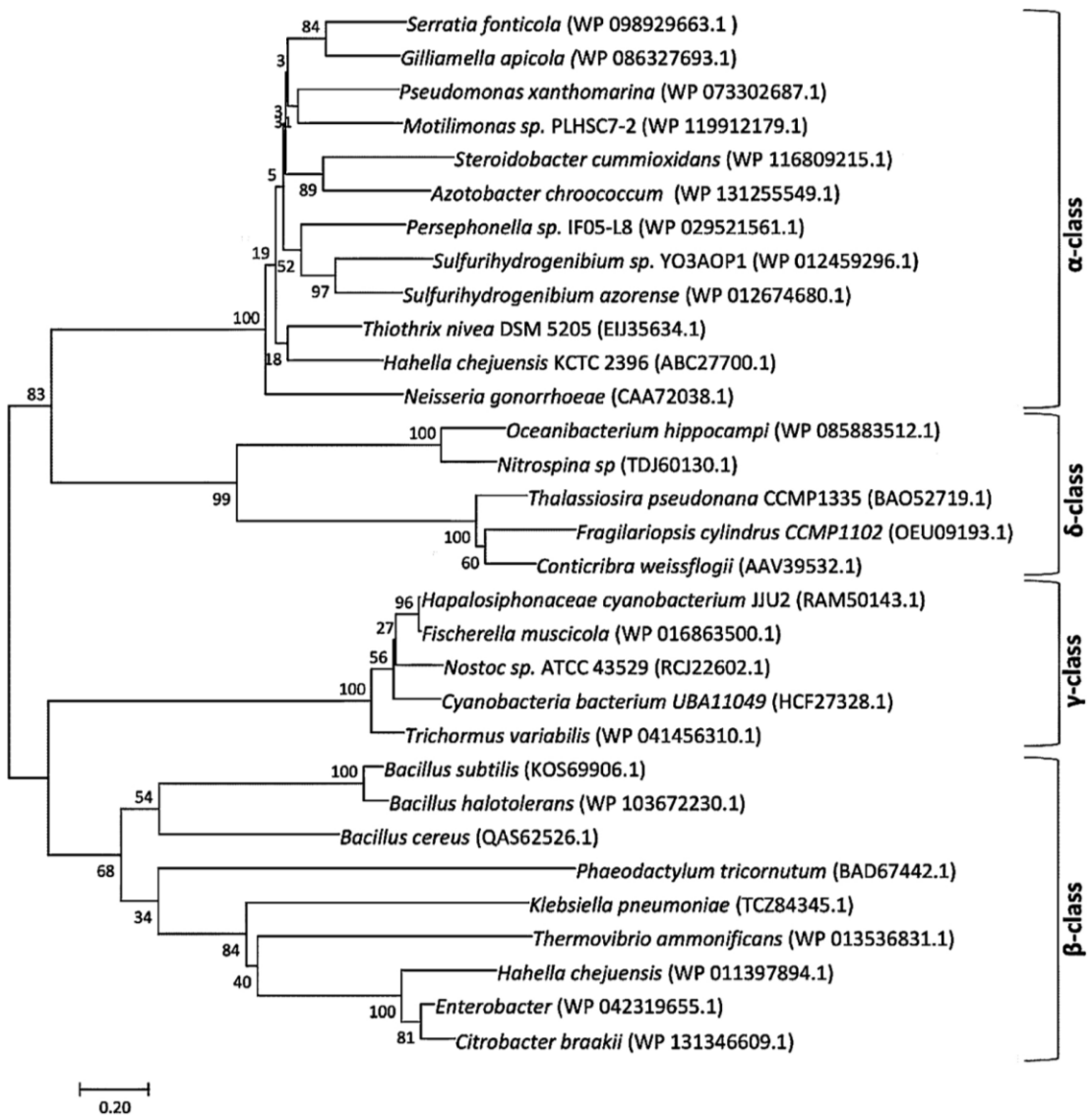
$$E - Zn(II) - OH_2 \leftrightarrow E - Zn(II) - OH^- + H^+ \quad (۲)$$

واکنش (۱) موجب تشکیل کربنیک اسید می‌شود و واکنش (۲) کندترین واکنش یا به عبارت دیگر محدود کنندهٔ سرعت است. از این رو، سرعت جذب کربن‌دی‌اکسید با افزودن CA به محیط واکنش، به‌سختی افزایش می‌یابد[۱۸]. به‌طور کلی، بسته به توالی‌های مختلف آمینو اسیدی و ساختارهای بلوری، CAهای اصلی به سه دسته طبقه‌بندی می‌شوند که عبارت‌اند از: آلفا، بتا و گاما (α, β, γ) [۱۹،۲۱،۲۳،۲۴]. همان‌گونه که از درخت تکامل نژادی که با استفاده از روش اتصال همسایه‌ها ایجاد شده است، دیده می‌شود، در تمامی انواع آنزیم‌های CA بیش از یک قلمروی جانداری وجود دارد. به‌عبارت دیگر؛ آنزیم‌های آلفا، بتا و گاما در بیش از یک نوع جاندار وجود دارند و متعلق به یک جاندار خاص نیستند (شکل (۱)). تمامی توالی‌ها از پایگاه دادهٔ مرکز اطلاعات زیست‌فناوری ملی آمریکا[2] (NCBI) گزارش شده‌اند. آنالیز تکامل نژادی آنزیم‌های آلفا، بتا، دلتا و گاما-CA، نشان‌دهندهٔ روابط تکاملی بین قلمروهای حیوانات، گیاهان و باکتری‌ها هستند. این روابط تکاملی بر پایهٔ قلمروهای مختلف حیوانی، گیاهی و باکتریایی توسعه پیدا کرده‌اند. از روی درخت تکامل نژادی پیداست که آلفا-CA نزدیک به طبقهٔ ردهٔ دلتا (δ) است و از گاما-CA انحراف نسبتاً کمی دارد. دلایل این امر در زیر بیان شده است.

آلفا-CAهای باکتریایی (α-CA) به‌طور غالب در قلمروهای حیوانی یافت می‌شوند. مشهورترین CA در دنیای حیوانات از آلفا-CAها است[۱۹]. از سویی دیگر این آنزیم هم‌چنین در تک‌یاخته‌ها، جلبک‌ها، گیاهان سبز و در برخی از آرکی‌ها[3]، باکتری‌ها و قارچ‌ها یافت شده است[۱۴،۲۴]. این طبقه به‌صورت یک ساختار مونومری وجود دارد[۱۴،۱۶]؛ البته تمامی این طبقه این چنین نیستند. جالب است که ساختارهای مختلفی برای برخی از آلفا-CAها گزارش شده است: CA به‌دست‌آمده از ترموویبرو آمونیفیکلن‌ها[4] یک آنزیم تری‌مر است[۲۵]، و CA به‌دست‌آمده از تیومیسرواسپیرا کرونوژا[5] یک پروتئین دی‌مر است[۲۶]. نوع دیگری از ساختارهای سه‌بعدی برای برخی از آلفا-CAها گزارش شده است. این ساختارها در نیسریا گونورهوا[6] (که یک باکتری ترموفیلیک (گرمادوست) است)، سولفوری هیدروژنبیوم یلواستوننس[7] و سولفوری هیدروژنبیوم آزورنس[8] یافت شده است. ساختار سه‌بعدی به آلفا-CA انسانی

1. Mutant

2. National Biotechnology Information Center (NBCI)
3. Archaea
4. Thermovibrio Ammonificans
5. Thiomicrospira Crunogena
6. Neisseria Gonorrhoeae
7. Sulfurihydrogenibium Yellowstonense
8. Sulfurihydrogenibium Azonense



شکل ۱. درخت تکامل نژادی گونه‌های مختلف انیدراز کربنیک به همراه روش‌های در هم آمیختگی گونه‌های هم‌جوار که به‌وسیلهٔ MEGA 7.0 تهیه شده است [۶۲].

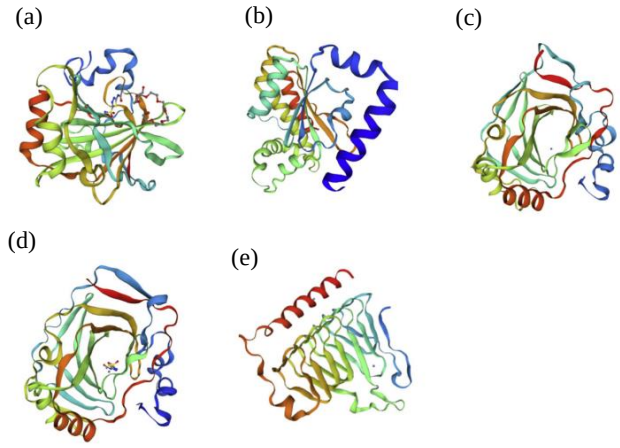
Figure 1. Phylogenetic tree of various categories of carbonic anhydrase with the neighbor-joining methods created with the MEGA 7.0 [62].

شباهت دارد و در حضور بازدارنده‌های کلاسیکی CAها (سولفونامید استازولامید (AAZ) به‌دست آمده است[۲۱]. ساختار پروتئینی آلفا-CAها بیشتر به‌وسیلهٔ بتا-صفحات مرکزی شکل می‌گیرد که نقطهٔ فعال CA هستند. این بتا- صفحات شامل رشته‌های بتا هستند که با ۷ آلفا- هلیکس پیرامونی احاطه شده‌اند و با سه انتهای هیستیدینی و یک مولکول آب به یون Zn^{2+} کوئوردینه (متصل) می‌شوند (His94, His96 و His119)[۱۹،۲۷]. نقطهٔ فعال در یک حفرهٔ عمیق نزدیک به مرکز مولکول قرار دارد[۱۹،۲۳].

نوع دیگری از CA بسیار نزدیک به نوع آلفا گزارش شده است و دارای همسانی در طیف‌های نزدیک به مکان هندسی سایت فعال بوده[۲۸] و در آغازیان یافت شده است. این نوع CA زیرنام δ-CA شناخته شده است و یک ساختار مونومری دارد[۱۴]. یون کادمیوم (Cd) فعال‌ترین سایت برای این CA در مقایسه با سایر فلزات است[۲۴]. هم‌چنین، جذب میکروسکوپی پرتو ایکس نشان داده که کاتالیزور روی (Zn) با ۳ لیگاند هیستیدینی و یک مولکول آب (مشابه با نقاط فعال در CAهای آلفا و گاما) کوئوردینه شده است.

بر عکس، گاما-CA قدیمی‌ترین شکل CA است که کم و بیش در تمامی ریزاندام‌های تک‌سلولی به‌صورت تری‌مر وجود دارد[۲۸]. مولکول تری‌مریت دارای تابیدگی کاملاً متفاوتی از آلفا-CA است که بیانگر تبار متفاوت این مولکول است[۱۹]. گاما CA تشکیل یک نقطهٔ فعال روی (Zn) را می‌دهد که بین زیرواحدهای متصل شده (لیگاندشده) به His81 و His122 از یک زیرواحد و His117 از زیرواحد هم‌سامان قرار دارد[۱۴،۱۹،۲۹]. سرعت آب‌پوشی کربن‌دی‌اکسید در فرم‌هایی از گاما-CA عامل‌دار شده با آهن یا کبالت، بسیار بیشتر از فرم‌های عامل‌دار شده با روی است. در نتیجه این احتمال وجود دارد که آنزیم (گاما-CA) به‌جای فلز روی با استفاده از چنین فلزات واسطه‌ای عمل کند[۲۸]. البته باید توجه داشت که سازوکار عملکرد هنوز مشخص نیست.

دومین طبقهٔ بزرگ CA، با عنوان بتا-CA است. این نوع CA به‌صورت‌های دی‌مر، تری‌مر، هگزامر و اکتامر وجود دارد[۱۴،۲۱]. این نوع CA در گیاهان، جلبک، سیانوباکتریوم و باکتری‌های غیرفتوسنتزی یافت می‌شود؛ اما در حیوانات وجود ندارد[۳۰]. مونومرهای بتا-CA به‌صورت دی‌مر الیگومریزه می‌شوند که دارای دو نقطهٔ فعال یون روی (Zn^{2+}) است. این یون (Zn^{2+}) به دو پایانهٔ سیستئینی و یک پایانهٔ هیستیدینی در روی پروتئین کوئورینه می‌شود (Cys38, His96 and Cys99)[۱۴،۲۸،۲۹]. آنالیز درخت تکامل نژادی نشان داد که طبقهٔ بتا-CA نسبت به طبقه‌های دیگر گوناگونی بیشتری دارد. در میان انواع مختلف CA، آن‌هایی که بیشتر مطالعه شده‌اند شامل CAهای انسانی (hCA)، گاوی (BCA)، هلیکوباکتر پیلوری بی‌هوازی (HpCA)، ترموفیلا متانوسارسینا (دارای نقطهٔ فعال روی) (MtCA)، سولفوری هیدروژنبیوم یلواستونس (SsyCA) و سولفوری هیدروژنبیوم آزورنس (SazCA) هستند. پرسش مهم مطرح شده این است که شرایط عملیاتی و نحوهٔ به‌کارگیری CA در صنعت چگونه است که بدون شک پایداری گرمایی قابل توجه این ماده، فعالیت بیشتر در گسترهٔ وسیعی از دماها و پایداری خوب حین ذخیره‌سازی آن است. به‌عنوان مثال، CA به‌دست‌آمده از باکتری متانوباکتریوم ترمواوتوتروفیسوم[1] (MtCA) بیشترین پایداری حرارتی را دارد. فعالیت بهینهٔ MtCA در دمای ۷۰°C است که بعد از ۱۵ دقیقه قرارگیری در دمای ۸۵°C، ۵۰٪ از فعالیتش را حفظ می‌کند. مقدار k_{cat} برابر $10^4/s$ است[۳۱]. یک رسته گاما-CA در پیروکوکوس هوریکوشی[۳۲] و یک رسته بتا-CA در باسیلوس کلاوسی به‌دست آمده است[۳۳].



شکل ۲. ساختار انواع مختلف کربنیک انیدرازها بر اساس مدل پیش‌بینی ساختارهای سه‌بعدی سوییس؛ (a) آلفا-CA از Sulfurihydrogenibium azorense (254 aa)، (b) بتا-CA از Tepidimonas taiwanensis (220 aa)؛ (c) بتا-CA از Bacillus clausii (263 aa)، (d) گاما-CA از Sulfurihydrogenibium yellowstonense (238 aa)، (e) گاما-CA از Methanosarcina thermophile (247 aa) [۶۳].

Figure 2. Carbonic anhydrases from distinct families based on Swiss model prediction 3D structures; (a) α-CA from Sulfurihydrogenibium azorense (254 aa); (b) β-CA from Tepidimonas taiwanensis (220 aa); (c) β-CA from Bacillus clausii (263 aa); (d) γ-CA from Sulfurihydrogenibium yellowstonense (238 aa); (e) γ-CA from Methanosarcina thermophile (247 aa) [63].

1. Methanosarcina Thermophila

مدل سه‌بعدی ساختارهای پروتئینی به‌دست‌آمده از مدل سوئیس[1] در شکل (۲) نشان داده شده است. مشابهت ساختار CA فقط منحصر به وجود یک حفره درون آنزیم می‌شود که البته برقراری ارتباط تکاملی از روی یک ساختار سه‌بعدی کار راحتی نیست. به همین دلیل انتخاب مناسب CA برای یک فعالیت دلخواه بسیار چالش برانگیز است.

۳. تثبیت CA در صنعت

در دهۀ گذشته، وجود گاز کربن‌دی‌اکسید در جریان‌های گازی صنعتی به‌عنوان یک مشکل زیست‌محیطی مطرح شده است. محققان بسیاری بر روی چگونگی غلبه بر این مشکل در مقیاس صنعتی با استفاده از سامانۀ زیست‌کاتالیست (از قبیل انیدرید کربنیک) تمرکز کرده‌اند.

در این‌باره استفاده از CA باکتریایی برای تسریع جذب کربن‌دی‌اکسید و کربناته‌شدن مواد معدنی حاوی کلسیم یا منیزیم تا ۲۴۰٪ (در مقایسه با گروه شاهد) به‌طور موفقیت‌آمیز گزارش شده است[۳۴]. استفاده از آنزیم CA به‌عنوان بیوکاتالیست در فرایند CCS اگرچه کاربرد گسترده‌ای دارد؛ ولی حالت آزاد آنزیم CA به‌دلیل عدم استفادۀ مجددش، هزینۀ بالایی دارد و مقرون به صرفه نیست. شرایط سخت، هزینۀ بالا و مصرف انرژی زیاد از جمله مشکلات و موانع در مقابل فرایند حذف و جداسازی کربن‌دی‌اکسید هستند. برای این منظور طراحی فرایند باید طوری باشد که علاوه بر بازده بالای جذب و جداسازی کربن‌دی‌اکسید، تا آن‌جایی که ممکن است محصولاتی با ارزش افزوده تولید شود[۳۵]. تثبیت آنزیم، یکی از راه حل‌های غیرمخرب و کارامد است که برای کاستن هزینۀ اقتصادی استفاده می‌شود. موانع اقتصادی و هزینه‌های تمام‌شده در صنعت اهمیت بسیاری- در هر مرحله از فرایند کلی- دارد. به‌تازگی یک روش جدید تثبیت با کارایی بالا برای بهبود امکان بازاستفاده از سامانه‌های آنزیمی (به‌جای یک بار استفاده، دو یا چند بار استفاده شود) در مقایسه با سامانۀ غیر تثبیت شده، بررسی شده است[۳۷-۳۵]. انتخاب مناسب‌ترین روش، به ماهیت آنزیم مورد استفاده از قبیل ویژگی‌های بیوشیمیایی و جنبش‌شناختی آنزیم و هم‌چنین ویژگی‌های شیمیایی و مکانیکی آن بستگی دارد[۳۸]. روش‌های مختلفی برای تثبیت CA در شکل (۲) نشان داده شده است. هم‌چنین نتایج تثبیت CA، جذب سطحی، پیوند کووالانسی، محبوس سازی و به دام انداختن (که به‌کار رفته‌اند) در جدول (۲) آورده شده است.

۳-۱ جذب سطحی

جذب سطحی، فراگیرترین و ساده‌ترین روش برای تثبیت پروتئین بر روی مواد مختلف و جذب سطحی آنزیم در داخل سطح خارجی پایه است. نلسون و گریفین برای نخستین بار از روش جذب سطحی برای تثبیت آنزیم در سال ۱۹۱۶ استفاده کردند. واکنش بین آنزیم و سطح نگهدارنده نیازمند زمان است و بستگی به تماس دو فاز دارد[۳۹]. این روش ارزان و به‌راحتی قابل استفاده است؛ ولی یکی از کاستی‌های آن وجود نیروی پیوندی ضعیف بین آنزیم و سطح نگهدارنده است. این اتصال از راه پیوند نمکی، پیوندهای هیدروژنی، پیوندهای آب‌گریز، پیوندهای یونی، و نیروهای واندروالسی برقرار می‌شود. اگرچه این روش به بارهای ماتریس و آرایش پروتئین‌های سخت متصل‌شده بستگی دارد؛ اما آنزیم تغییرشکل‌یافته‌ای تشکیل نمی‌شود[۳۵] و کارایی آنزیم کمتر از زمانی است که آنزیم به‌راحتی از سطح پایه شسته می‌شود[۴۰]. این مشکل از راه اصلاح گروه عاملی حین استفاده از فرایند جذب سطحی رفع‌شدنی است. در یکی از این روش‌ها، کربنیک انیدراز نوترکیب باسیلوس هالودورانز[2] "rBhCA" بر روی سطح سیلیکای اصلاح‌شده با نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن[3] (Si-MNPs) تثبیت شد. مواد نانوذره دارای مساحت زیاد، نسبت سطح به حجم بالا و هم‌چنین جداسازی آسان از آنزیم تثبیت‌شده با استفاده از اعمال یک میدان مغناطیسی خارجی هستند. در مقایسه با "rBhCA" تثبیت‌نشده، میزان پایداری در محیط بازی افزایش می‌یابد. هم‌چنین میزان فعالیت "rBhCA" با استفاده از نانوذرات بعد از بیست‌ودو بار متوالی به‌کارگیری، به ۵۰٪ مقدار اولیه‌اش می‌رسد[۴۱].

۳-۲ پیوند کووالانسی و ایجاد اتصالات عرضی

پیوند کوالانسی بین آنزیم و پایه یک روش تثبیت متداول است که می‌تواند پایداری آنزیم را به‌طور قابل توجهی افزایش دهد. در این روش، برهم‌کنش‌های مؤثر و قوی بین آنزیم‌ها و نگهدارنده ایجاد

1. https://swissmodel.expasy.org/

2. Recombinant Bacillus Halodurans Carbonic Anhydrase (rBhCA)
3. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles on Silicane (Si-MNPs)

می‌شود. دلیل این امر این است که آنزیم به‌طور کووالانسی و از راه گروه‌های عاملی، بر روی پایه پیوند می‌خورد که موجب اتصال آنزیم از راه گروه‌های آمینی موجود در زنجیرهای جانبی[۴۵-۴۲] و گروه‌های اپوکسی می‌شود[۴۶]. سایر انواع اتصال نیازمند عوامل اتصال‌دهندهٔ عرضی از قبیل گلوتارآلدهید هستند، با توجه به این‌که غلظت بالای گروه‌های آمینی موجب اتصال عرضی کووالانسی دی‌آلدهیدی آنزیم‌ها می‌شود[۴۵،۴۷،۴۸]. در یک مطالعه، CA به‌طور کووالانسی به فوم پلی‌اورتان[۱] (پایداری بالا در دمای پایین‌تر از ۵۰°C) متصل شده بود که امکان استفاده آن در فرایند جذب زیستی طبیعی کربن‌دی‌اکسید را فراهم می‌کند. افزون بر این، PU یک پلیمر بسیار متخلخل است که دارای خاصیت آب‌گریزی بالایی است و آنزیم‌ها به‌آسانی و سریع روی آن پابرجا می‌شوند[۴۲]. وینوبا و همکارانش با موفقیت کربنیک انیدراز انسانی[۲] را بر روی سطح مزومتخلخل SBA-15 تثبیت کردند. طی این فرایند، آنزیم به‌طور کووالانسی به‌وسیلهٔ یکی از سه گروه عاملی آمینی متصل می‌شود. این آنزیم حتی بعد از ذخیره‌سازی طولانی‌مدت و هم‌چنین قرارگیری در معرض دماهای بالا خاصیت خود را حفظ می‌کند و برای ۴۰ چرخه می‌توان از آن استفاده کرد[۴۵]. در تحقیق دیگری نیز، از نانوذرات Fe_3O_4/SiO_2 عامل‌دار شده با اکتاآمینوفنیل سیلسکیواکسان[۳] برای تثبیت کربنیک انیدراز گاوی[۴] BCA استفاده شد که در طی آن رسوب دو ترکیب کلسیت و والریت تشکیل می‌شود[۴۴].

گروه‌های اپوکسی، دیگر گروه‌های عاملی هستند که برای این روش (پیوند کووالانسی) بررسی شده‌اند. پایداری دمایی و ذخیره‌سازی و هم‌چنین قابلیت استفادهٔ CAهای تثبیت‌شده بر روی میکروکره‌های پلیمری مغناطیسی دارای گروه اپوکسی استفاده شده که دارای خواص کاتالیزوری و پایداری خوب برای آب‌پوشی کربن‌دی‌اکسید هستند[۴۶]. سامانه‌هایی توده مانند اتصال‌دهندهٔ آنزیمی نشان می‌دهند که گلوتارآلدهید هم‌چنین توانایی افزایش پایداری پیوند کووالانسی ایجادشده را بین آنزیم و سطح نانوفیبرها دارد[۴۸]. فعالیت‌های CA تثبیت‌شده با افزایش تعداد سیکل‌ها کاهش می‌یابد. این کاهش فعالیت می‌تواند به‌دلیل دناتوره‌شدن (تبدیل یک ساختار پروتئین از یک ساختار فیزیولوژیکی به ترکیبی غیرفعال دیگر) پروتئین در اثر استفاده از گلوتارآلدهید (به‌عنوان عامل اتصال‌دهنده) و نیز به دلیل رهایش پروتئین از سطح پایه به‌دنبال استفادهٔ مجدد باشد[۴۷]. دیگر گروه‌های عاملی جدید را پرفتو و همکارانش کشف کرده‌اند. در این تحقیقات، باکتری ترموفیل یلواستونس سولفوری هیدروژنبیوم[۵] بر روی سطوح نانوذرهٔ مغناطیسی اکسیدآهن(III)[۶] تثبیت شدند. این تثبیت از راه واکنش فعال‌سازی کربودی‌ایمید[۷] با استفاده از یک فرایند بیوشیمیایی انجام می‌شود که موجب بهینه‌سازی رشد باکتری می‌شود و امکان تولید مقادیر زیادی از SspCA را با قیمت کم فراهم می‌کند[۴۹].

۳-۳ محبوس‌سازی[۸]

این روش تثبیت با محبوس‌کردن آنزیم در داخل یک کپسول غشایی انجام می‌شود. یک پروتئین پایدار برای محبوس‌کردن CA با فرایند هیدروژل، به‌عنوان یک بیوکاتالیست مرسوم برای جداسازی کربن‌دی‌اکسید استفاده شد. این عمل با به‌کارگیری اتصالات عرضی شیمیایی دی- تیروزین ایجادشده در اثر تابش نور و سپس، اتصالات عرضی فیزیکی ایجادشده با دی‌هیدروژناسیون، انجام می‌شود. این هیدروژل هم‌چنین دارای مقاومت، کشسانی و پایداری ساختاری بالایی بود. فعالیت باقی‌ماندهٔ آنزیم هدف در حدود ۶۰٪ مقدار اولیه‌اش بود[۵۰]. در سایر سطوح، بیوسیلیکا به‌عنوان یک ترکیب زیستی و کارامد برای محبوس‌سازی CA مشخص شده است که پایداری بالا در مقابل حرارت و pH موجب کاربرد متداول این ماده شده است[۵۱،۵۲]. تثبیت CA به‌طور موفقیت‌آمیزی در ذرات سیلیکای محلول محبوس‌شده [HCA(SP-)@silica] به کار رفت که این عمل نیز از راه سیلیکاسیون بیولوژیکی ایجاد شده با اسپرمین انجام شد. میزان پایداری CA در شرایط بازی، با استفاده از این روش تثبیت بالاست و دارای ظرفیت بارگیری بالایی است[۵۲]. هم‌چنین گزارش شده است که محبوس‌کردن در نانوکامپوزیت‌های سیلیکا بازده بالاتر از ۹۵٪ دارد که به‌تبعیت از سنتز طبیعی بیولوژیکی با کارایی بالاتری سنتز شده و به‌طور موفقیت آمیزی موجب شتاب در رسوب CaCO3 می‌شود[۵۱].

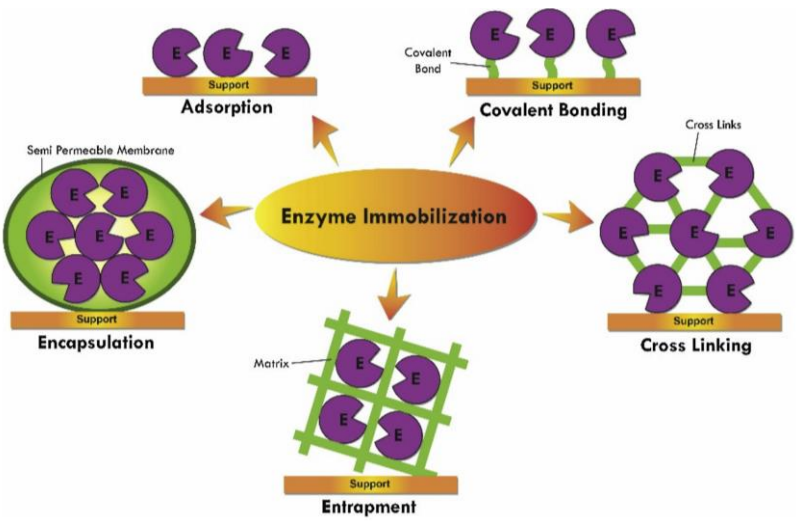
1. Polyurethane (PU)
2. Human Carbonic Anhydrase (HCA)
3. Octa (Aminophenyl) Silsesquioxane (OAPS)
4. Bovine Carbonic Anhydrase (BCA)
5. S. yellowstonense (SspCA)
6. MNPs
7. Carbodiimide Activation
8. Encapsulation

۳-۴ به‌دام انداختن[1]

روش‌های به‌دام انداختن یا تله‌اندازی مفهوم مشابهی با روش‌های محبوس‌سازی دارند. در این روش‌ها آنزیم‌ها در داخل مواد پایه به تله می‌افتند. پایداری در این روش بستگی به نوع مادهٔ پایه و نوع آنزیم استفاده شده دارد. (شکل (۳))

در نوع اول از این روش، CAها در داخل آگار به تله می‌افتد. قابلیت استفادهٔ مجدد[2] در این روش کم است؛ زیرا وقتی CA هیچ‌گونه گروه عاملی نداشته باشد، به‌آسانی از داخل منافذ آگار رها می‌شود[۵۳]. نتایج نشان دادند که در آنزیم اصلاح‌نشده مزوریزوبیوم لوتی[3] (MlCA) تثبیت‌شده بر روی آگار، پایداری باقی‌مانده به ۴۶٪ مقدار اولیه می‌رسد و بعد از ۶ بار استفاده، این مقدار به ۱۵٪ می‌رسد. نتایج CA تثبیت‌شده در آگار، با نتایج آمیلاز یا منگنز پراکسیداز تثبیت‌شده تطابق داشت[۵۴]. علاوه بر کارایی، قابلیت بازاستفاده به‌وسیلهٔ تثبیتCA، پایداری ذخیره‌سازی طولانی مدت نیز مهم است. MlCA تثبیت‌شده بر روی آگار دارای ظرفیت بالایی برای ذخیره‌سازی درازمدت است.

تثبیت CA، هم‌چنین موجب بهبود پایداری در مقایسه با CA آزاد می‌شود. این دستاورد مهم‌ترین شاخص برای کاربردهای صنعتی است. چنان‌که در جدول (۲) پیداست، rBhCA جذب‌شده بر روی MNPها، موجب پایداری حرارتی در دمای ۷۰°C به‌مدت ۳۰ دقیقه می‌شود[۴۱]. کانبار و همکارانش سطوح مختلفی را بر روی فوم PU و به‌منظور تثبیت BCA در دمای ۵۷°C به‌مدت ۱ ساعت استفاده کردند. ۵۰٪ فعالیت اولیهٔ این آنزیم‌ها مشاهده شد[۴۲]. گذشته از این، BCA زمانی‌که به‌وسیلهٔ پیوند کووالانسی بر روی PLA الکترواسپون[4] و MNP های گوی‌مانند در دمای ۷۰°C تثبیت می‌شود، پایدار بود و فعالیتش بعد از ۱ ساعت و ۲ ساعت به‌ترتیب ۵۰٪ و ۱۰۰٪ مقدار اولیه‌اش گزارش شد[۴۳, ۴۶]. هم‌چنین، معلوم شده است که فعالیت آنزیمی NgCA و hCA به‌دام انداخته‌شده در نانوذرات بیوسیلیکا، در دمای ۷۰°C به ۷۰٪ مقدار اولیه‌اش می‌رسد[۵۱، ۵۴]. به‌طور کلی و بر اساس گزارش‌ها، فعالیت بیشتر CAهای تثبیت‌شده بعد از قرار گیری در دمای ۴۰°C-۷۰ به حدود ۱۷٪-۱۰۰٪ مقدار اولیه‌اش می‌رسد.



شکل ۳. انواع روش‌های مختلف تثبیت آنزیم با استفاده از روش‌های جذب سطحی، اتصالات عرضی، اتصالات کووالانسی، به‌دام انداختن و محبوس‌سازی [۶۲].

Figure 3. Different types of enzyme immobilization methods by adsorption, cross linking, covalent bonding, entrapment and encapsulation [62].

1. Entrapment
2. Reusability
3. Mesorhizobium Loti (MlCA)
4. Electrospun

جدول ۲. مشخصات مختلف کربنیک انیدراز تثبیت‌شده.

Table 2. Characteristics of various immobilized carbonic anhydrase.

CA used	Support materials	Immobilization method	Thermal stability Temperature and Duration residual			Reusibility (times)	Residual activity (%)	References
			Temperature (℃)	Hours (h)	Activity (%)			
rBhCA	Si-MNPs	Adsorption of functional groups	50	0.5	70	22	50	[41]
BCA	PU foam	Covalent binding	50	1	57	45	100	[42]
hCA	TEPA/SBA-15	Covalent binding	87	-	40	40	82	[45]
	TAEA/SBA-15		85				84	
	OAPS/SBA-15		83				87	
BCA	OAPS	Covalent binding	ND	ND	ND	30	90	[44]
BCA	PLA	Covalent binding	55.9	2	70	10	43.7	[43]
	GO/PLA		51.3				78.9	
	nMOF/PLA		47.1				69.3	
BCA	Magnetic microspheres	Covalent binding	100	1	70	6	47.6	[46]
R. sphaeroides	PS/PSMA	Covalent binding	ND	ND	ND	60	45	[48]
hCA	Biosilica particles	Encapsulation	70	0.5	70	10	90	[52]
NgCA	Biosilica particles	Encapsulation	70	0.5	70	4	87	[51]
MlCA-WC	Agar	Entrapment	ND	ND	ND	6	46	[55]
MlCA	Agar	Entrapment				6	15	[41]

۴. چالش‌های استفاده از CA در جذب و جداسازی کربن

راهبرد شبیه‌سازی از روی سامانه‌های بیولوژیکی یک روش دوست‌دار محیط زیست است که در فرایند توسعهٔ جذب و جداسازی کربن (CCS) اهمیت بسیاری دارد. در این مقالهٔ مروری، استفاده از CA در سال‌های اخیر، بررسی و اصول استفاده از حالت آزاد و تثبیت‌شدهٔ CA برای استخراج کلسیت آورده شده است. با این‌حال، چندین محدودیت برای استفادهٔ کارامد از آنزیم‌ها وجود دارد که ناشی از شرایط سخت CCS است. علاوه بر این، به‌منظور بررسی نحوهٔ استفاده از CAها با هزینهٔ اندک، ضروری است نقش فیزیولوژیکی CAها، ژن‌های مربوط و نیز مسیرهای متابولیکی بررسی شوند تا پایداری شیمیایی و دمایی این مواد بهبود یابد. بنابراین، آنزیم‌هایی که در دماهای بالا پایدارند[۵۶, ۵۷] و نیز در حلال‌های لازم برای جذب کربن از طول عمر مطلوبی برخوردارند[۳۶] برای این منظور مناسب‌تر هستند. انتظار می‌رود که تمامی آنزیم‌ها برای کاربردهای صنعتی در جذب کربن‌دی‌اکسید مناسب باشند[۳۶،۵۶]. از این رو تلاش‌هایی برای استفاده از CA پایدارشده در فرایندهای بیولوژیکی لازم است تا زمانی دیگر در زیست‌راکتورها به کار رود[۵۸].

به‌کارگیری CA تثبیت‌شده در یک زیست‌راکتور نیازمند این است که به انتقال جرم ضعیف در طی واکنش (محدودیت در پدیده‌های انتقال) و نیز تغییر فشار در سامانه‌های غشایی توجه شود. اثر دوم (انتقال جرم ضعیف) ناشی از دی‌هیدراسیون برگشتی[1] (در واکنش دوطرفه) کربن‌دی‌اکسید است[۵۹]. با این حال، زیست‌راکتور با جریان ناهمسو می‌تواند بر این مشکلات غلبه کند؛ اما تولید سریع محصولات اضافی (HCO_3^-) ممکن است به‌عنوان بازدارنده عمل کند[۶۰]. چالش دیگر برای کاربرد در مقایس صنعتی، نحوهٔ افزایش مقیاس از اِرلن (فلاسک) به زیست‌راکتورهای مقیاس آزمایشگاهی است[۵۹]. نحوهٔ بررسی طول عمر عملکرد CAهای نوترکیب اولیه، به‌ویژه پس از تثبیت در ستون‌های جذبی یا کانتاکتورهای غشایی برای چندین ماه یا سال باید ارزیابی شود. ستون‌های جذبی یا تماس‌دهنده‌های غشایی شامل غشای فیبری توخالی برای جریان گاز استفاده می‌شوند. مقاومت درازمدت در حذف مداوم گاز (کربن‌دی‌اکسید) به‌دنبال تغییرات دما، فشار و سرعت جریان گاز، به‌طور کامل آزمایش نشده است[۲۲]. علاوه بر این، محدودیت دسترسی به منابع نفت و گاز طبیعی موجب ظهور یک دسته روش‌ها برای یافتن منبع سوختی جای‌گزین و دوست‌دار محیط زیست شده است. اگرچه این ویژگی‌های CA یک چالش است؛ با وجود این از لحاظ کاهش میزان نشر کربن‌دی‌اکسید و تهیهٔ یک سوخت واقعی می‌تواند کاربردی و نویدبخش باشد[۶۱].

۵. نتایج و چشم‌انداز استفاده از CA

در آینده، CAها به‌عنوان یک روش آسان، نه‌تنها برای تثبیت کربن‌دی‌اکسید در کاربردهای صنعتی، بلکه برای تولید بیوکربنات (به‌عنوان یک محصول با ارزش افزوده) ظهور خواهند کرد. بنابراین گام‌نهادن در مسیر پیشرفت تحقیقات کاربردی این آنزیم ضروری به‌نظر می‌رسد. برای افزایش پایداری حرارتی، قابلیت استفادهٔ مجدد و کاهش هزینه‌ها در مقایسه با CAهای آزاد (ثبیت‌نشده) در کاربردهای صنعتی، تثبیت CA یک راهکار مناسب در جذب و جداسازی کربن به‌شمار می‌رود. از میان روش‌های مختلف تثبیت CA، روش جذب سطحی ارزان و به‌آسانی قابل استفاده است؛ ولی یکی از کاستی‌ها آن وجود نیروی پیوندی ضعیف بین آنزیم و سطح نگهدارنده است. در این روش کارایی آنزیم کمتر از زمانی است که آنزیم به‌آسانی از سطح پایه شسته می‌شود که البته این مشکل از راه اصلاح گروه عاملی طی فرایند جذب سطحی رفع‌شدنی است. پیوند کوالانسی بین آنزیم و پایه، روش تثبیت متداول دیگری است که می‌تواند پایداری آنزیم را به‌طور چشم‌گیری افزایش دهد. عوامل اتصال‌دهندهٔ عرضی از قبیل گلوتارآلدهید و گروه‌های اپوکسی از مهم‌ترین گروه‌های عاملی هستند که برای این روش (پیوند کووالانسی) به‌کار می‌روند. آنزیم حتی بعد از ذخیره‌سازی درازمدت و هم‌چنین قرارگیری در معرض دماهای بالا خاصیت خود را حفظ می‌کند و تا ۴۰ چرخه می‌توان از آن استفاده کرد. روش محبوس‌کردن آنزیم CA نیز در داخل یک کپسول غشایی انجام می‌شود. این عمل با به‌کارگیری اتصالات عرضی شیمیایی و سپس اتصالات عرضی فیزیکی انجام می‌پذیرد و دارای مقاومت، کشسانی و پایداری ساختاری بالایی است. در روش به‌تله‌انداختن نیز آنزیم‌ها در داخل مواد پایه به تله می‌افتند. پایداری در این روش بستگی به نوع مادهٔ پایه و نوع آنزیم استفاده‌شده دارد؛ با این‌حال به‌دلیل نداشتن گروه عاملی قابلیت استفادهٔ مجدد[2] آنزیم در این روش کم است. البته برای انجام فرایند کارا و مؤثر، محققان باید توجه دقیقی به استفاده از شاخص‌هایی مانند اندازه‌گیری فعالیت جذبی کربن‌دی‌اکسید تحت شرایط فرایندی دما و غلظت حلال داشته باشند.

مراجع

[1] Friedlingstein, P., Jones, M. W., O'Sullivan, M., Andrew, R. M., Bakker, D. C. E., Hauck, J., Le Quéré, C., Peters, G. P., Peters, W., Pongratz, J., Sitch, S., Canadell, J. G., Ciais, P., Jackson, R. B., Alin, S. R., Anthoni, P, Bates, N. R., Becker, M., Bellouin, N., Bopp, L., Tuyet Trang Chau, T., Chevallier, F., Chini, L. P., Cronin, M., Currie, K. I., Decharme, B., Djeutchouang, L. M., Dou, X., Evans, W., Feely, R. A., Feng, L., Gasser, T., Gilfillan, D., Gkritzalis, T., Grassi, G., Gregor, L., Gruber, N., Gürses, Ö., Harris, I., Houghton, R. A., Hurtt, G. C., Iida, Y., Ilyina, T., Luijkx, I. T., Jain, A., Jones, S. D., Kato, E., Kennedy, D., Klein Goldewijk, K., Knauer, J., Korsbakken, J. I., Körtzinger, A., Landschützer, P., Lauvset, S. K., Lefèvre, N., Lienert, S., Liu, J., Marland, G., McGuire, P. C., Melton, J, R., Munro, D. R., Nabel, J. E. M. S., Nakaoka, S., Niwa, Y., Ono, T., Pierrot, D., Poulter, B., Rehder, G., Resplandy, L.,

1. Backward Dehydration

2. Reusability

Robertson, E., Rödenbeck, C., Rosan, T. M., Schwinger, J., Schwingshackl, C., Séférian, R., Sutton, A. J., Sweeney, C., Tanhua, T., Tans, P. P., Tian, H., Tilbrook, B., Tubiello, F., Van Der Werf, G. R., Vuichard, N., Wada, C., Wanninkhof, R., Watson, A. J., Willis, D., Wiltshire, A. J., Yuan, W., Yue, C., Yue, X., Zaehle, S., Zeng, J., Global Carbon Budget 2021", Earth Syst. Sci. Data Discuss.

[2] McJeon, H., Mignone, B. K., O'Rourke, P., Horowitz, R., Kheshgi, H. S., Clarke, L., Kyle, P., Patel, P., Edmonds, J., "Fossil energy deployment through midcentury consistent with 2°C climate stabilization", Energy and Climate Change, p.100034, (2021).

[3] Millar, R., Fuglestvedt, J., Friedlingstein, P., Rogelj, J., Grubb, M. J., Matthews, H. D., Skeie, R. b., Forster, P. M., Frame, D. J., Allen, M. R., "Emission budgets and pathways consistent with limiting warming to 1.5°C", Nature Geoscience, 10(10): pp. 741-747, (2017).

[4] Sanderson, B. M., O'Neill, B. C., Tebaldi, C., "What would it take to achieve the Paris temperature targets?", Geophysical Research Letters, 43(13): pp. 7133-7142, (2016).

[5] Patel, H. A., Byun, J., Yavuz, C. T., "Carbon Dioxide Capture Adsorbents: Chemistry and Methods", ChemSusChem, 10(7): pp. 1303-1317, (2017).

[6] Lai, J. Y., Ngu, L. H., Hashim, S. S., "A review of CO_2 adsorbents performance for different carbon capture technology processes conditions". Greenhouse Gases: Science and Technology, 11: pp. 1076-1117, (2021).

[7] Bui, M., Adjiman, C. S., Bardow, A., Boston, A., Anthony, E. J., Boston, A., Brown, S., Fennell, P. S., Fuss, S., Galindo, A., Hackett, L. A., Hallett, J. P., Herzog, H. J., Jackson, G., Kemper, J., Krevor, S., Maitland, G. C., Matuszewski, M., Metcalfe, I, S., Petit, C., Puxty, G., Reimer, J., Reiner, D. M., Rubin, E. S., Scott, S. A., Shah, N., Smit, B., Trusler, J. P. M., Webley, P., Wilcoxx, J., Mac Dowell, N., Carbon capture and storage (CCS): the way forward", Energy & Environmental Science, 11(5): pp. 1062-1176, (2018).

[8] Shakerian, F., Kim, K., Szulejko, J. E., Park, J., "A comparative review between amines and ammonia as sorptive media for post-combustion CO_2 capture", Applied Energy, 148: pp. 10-22, (2015).

[9] Spigarelli, B. P., Kawatra, S. K., "Opportunities and challenges in carbon dioxide capture", Journal of CO_2 Utilization, 1: pp. 69-87, (2013).

[10] Farrelly, D. J., Everard, C. D., Fagan, C. C., McDonnella, K. P., "Carbon sequestration and the role of biological carbon mitigation: A review", Renewable and Sustainable Energy Reviews, 21: pp. 712-727, (2013).

[11] Jajesniak, P., Ali, H., Wong, T. S., "Carbon dioxide capture and utilization using biological systems: opportunities and challenges", Journal of Bioprocessing and Biotechniques, 4(155): p. 2, (2014).

[12] Lin, W. R., Yu-Cheng, L., Po-Kuei, S., Shih-Ia, T., Chien-Hsiang, H., Chun-Yend, C., I-Son, N., "Enhancing carbon capture and lipid accumulation by genetic carbonic anhydrase in microalgae", Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 93: pp. 131-141, (2018).

[13] Yew, G. Y., Lee, S. Y., Show, P. L., Tao, T., Law, C. L., Trung Chinh Nguyen, T., Chang, J., "Recent advances in algae biodiesel production: From upstream cultivation to downstream processing", Bioresource Technology Reports, 7: pp. 100227, (2019).

[14] Bose, H., Satyanarayana, T., "Microbial Carbonic Anhydrases in Biomimetic Carbon Sequestration for Mitigating Global Warming: Prospects and Perspectives", Frontiers in Microbiology, 8(1615), (2017).

[15] Liu, N., Bond, G. M., Abel, A., McPherson, B. J., Stringer, J., "Biomimetic sequestration of CO_2 in carbonate form: Role of produced waters and other brines", Fuel Processing Technology, 86(14): pp. 1615-1625, (2005).

[16] Smith, K. S., Ferry, J. G., "Prokaryotic carbonic anhydrases", FEMS Microbiology Reviews, 24(4): pp. 335-366, (2000).

[17] Smith, K. S., Jakubzick, C., Whittam, T. S., Ferry, J. G., "Carbonic anhydrase is an ancient enzyme widespread in prokaryotes." Proc Natl Acad Sci U S A, 96(26): pp. 15184-9, (1999).

[18] Kanth, B. K., Lee, J., Pack, S. P., "Carbonic anhydrase: Its biocatalytic mechanisms and functional properties for efficient CO_2 capture process development", Engineering in Life Sciences, 13(5): pp. 422-431, (2013).

[19] Lindskog, S., "Structure and mechanism of carbonic anhydrase", Pharmacology & Therapeutics, 74(1): pp. 1-20, (1997).

[20] Sültemeyer, D., "Carbonic anhydrase in eukaryotic algae: characterization, regulation, and possible function during photosynthesis", Canadian Journal of Botany, 76(6): pp. 962-972, (1998).

[21] Supuran, C. T., Capasso, C., "An Overview of the Bacterial Carbonic Anhydrases", Metabolites, 7(4): p. 56, (2017).

[22] Yong, J. K. J., Stevens, G. W., Caruso, F., Kentish, S. E., "The use of carbonic anhydrase to accelerate carbon dioxide capture processes", Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 90(1): pp. 3-10, (2015).

[23] Banerjee, S., Deshpande, P. A., "On origin and evolution of carbonic anhydrase isozymes: A phylogenetic analysis from whole-enzyme to active site", Computational Biology and Chemistry, 61: pp. 121-129, (2016).

[24] DiMario, R. J., Machingura, M. C., Waldrop, G. L., Moroney, J. V., "The many types of carbonic anhydrases in photosynthetic organisms", Plant Science, 268: pp. 11-17, (2018).

[25] Jo, B. H., Seo, J. H., Cha, H. J., "Bacterial extremo-α-carbonic anhydrases from deep-sea hydrothermal vents as potential biocatalysts for CO_2 sequestration", Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 109: pp. 31-39, (2014).

[26] Dobrinski, K. P., Boller, A. J., Scott, K. M., "Expression and function of four carbonic anhydrase homologs in the deep-sea chemolithoautotroph Thiomicrospira crunogena", Applied and Environmental Microbiology, 76(11): pp. 3561-3567, (2010).

[27] Liljas, A., Kannan, K. K., Bergstén, P. C., Waara, I., Fridborg, K., Strandberg, B., Carlbom, U., Järup, L., Lövgren, S., Petef, M., "Crystal Structure of Human Carbonic Anhydrase C", Nature New Biology, 235(57): pp. 131-137, (1972).

[28] Tripp, B. C., Smith, K., Ferry, J. G., "Carbonic Anhydrase: New Insights for an Ancient Enzyme*210", Journal of Biological Chemistry, 276(52): pp. 48615-48618, (2001).

[29] Alber, B. E., Ferry, J. G., "A carbonic anhydrase from the archaeon Methanosarcina thermophila", Proceedings of the National Academy of Sciences, 91(15): pp. 6909-6913, (1994).

[30] Kimber, M. S., Pai, E. F., "The active site architecture of Pisum sativum beta-carbonic anhydrase is a mirror image of that of alpha-carbonic anhydrases", Embo journal, 19(7): pp. 1407-18, (2000).

[31] Smith, K. S., Ferry, J. G., "A Plant-Type Carbonic Anhydrase in the Thermophilic Methanoarchaeon Methanobacterium thermoautotrophicum", Journal of Bacteriology, 181(20): pp. 6247-6253, (1999).

[32] Jeyakanthan, J., Rangarajan, S., Mridula, P., Kanaujia, S. P., Shiro, Y., Kuramitsu, S., Yokoyama S., Sekar K., "Observation of a calcium-binding site in the gamma-class carbonic anhydrase from Pyrococcus horikoshii", Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 64(Pt 10): pp. 1012-9, (2008).

[33] Borchert, M., Knightdale, A. D. P. S., "Heat-stable carbonic anhydrases and their use", US Patent US7803575, p. 29, (2010).

[34] Merle, G., Fradette, S., Madore, E., Barralet, J. E., "Electropolymerized Carbonic Anhydrase Immobilization for Carbon Dioxide Capture", Langmuir, 30(23): pp. 6915-6919, (2014).

[35] Tosa, T., Mori, T., Fuse, N., Chibata, I., "Studies on continuous enzyme reactions. I. Screening of carriers for preparation of water-insoluble aminoacylase", Enzymologia, 31(4): pp. 214-24, (1966).

[36] Eş, I., Vieira, J. D. G., Amaral, A. C., "Principles, techniques, and applications of biocatalyst immobilization for industrial application", Applied Microbiology and Biotechnology, 99(5): pp. 2065-2082, (2015).

[37] Mohamad, N. R., Marzuki, N. H. C., Buang, N, A., Huyop, F., Wahab, R. A., "An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes", Biotechnology & Biotechnological Equipment, 29(2): pp. 205-220, (2015).

[38] Brena, B., González-Pombo, P., Batista-Viera, F., "Immobilization of enzymes: a literature survey", Methods in Molecular Biology, 1051: pp. 15-31, (2013).

[39] Nelson, J. M., Griffin, E. G., "ADSORPTION OF INVERTASE", Journal of the American Chemical Society, 38(5): pp. 1109-1115, (1916).

[40] Vinoba, M., Bhagiyalakshmi, M., Jeong, S. K., Yoon, Y. I., Nam, S. C., "Immobilization of carbonic anhydrase on spherical SBA-15 for hydration and sequestration of CO_2", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 90: pp. 91-96, (2012).

[41] Faridi, S., Bose, H., Satyanarayana, T., "Utility of Immobilized Recombinant Carbonic Anhydrase of Bacillus halodurans TSLV1 on the Surface of Modified Iron Magnetic Nanoparticles in Carbon Sequestration", Energy & Fuels, 31(3): pp. 3002-3009, (2017).

[42] Kanbar, B., Ozdemir, E. "Thermal stability of carbonic anhydrase immobilized within polyurethane foam", Biotechnology Progress, 26(5): pp. 1474-1480, (2010).

[43] Sahoo, P. C., Sambudi, N. S., Park, S. B., Lee, J. H., Han, J., "Immobilization of Carbonic Anhydrase on Modified Electrospun Poly (Lactic Acid) Membranes: Quest for Optimum Biocatalytic Performance", Catalysis Letters, 145(2): pp. 519-526, (2015).

[44] Vinoba, M., Bhagiyalakshmi, M., Jeong, S. K., Nam, S. C., Yoon, Y., "Carbonic Anhydrase Immobilized on Encapsulated Magnetic Nanoparticles for CO_2 Sequestration", Chemistry – A European Journal, 18(38): pp. 12028-12034, (2012).

[45] Vinoba, M., Bhagiyalakshmi, M., Jeong, S. K., Yoon, Y. I., Nam, S. C., "Capture and Sequestration of CO_2 by Human Carbonic Anhydrase Covalently Immobilized onto Amine-Functionalized SBA-15", The Journal of Physical Chemistry C, 115(41): pp. 20209-20216, (2011).

[46] Jing, G., Pan, F., Lv, B., Zhou, Z., "Immobilization of

carbonic anhydrase on epoxy-functionalized magnetic polymer microspheres for CO_2 capture", Process Biochemistry, 50(12): pp. 2234-2241, (2015).

[47] Brady, D., Jordaan, J., "Advances in enzyme immobilisation", Biotechnology Letters, 31(11): pp. 1639, (2009).

[48] Park, J. M., Kim, M., Lee, H. J., Jang, A., Min, J., Kim, Y. H., "Enhancing the Production of Rhodobacter sphaeroides-Derived Physiologically Active Substances Using Carbonic Anhydrase-Immobilized Electrospun Nanofibers", Biomacromolecules, 13(11): pp. 3780-3786, (2012).

[49] Perfetto, R., Del Prete, S., Vullo, D., Sansone, G., Barone, C. M. A., Rossi, M., Supuran, C. T., Capasso, C., "Production and covalent immobilisation of the recombinant bacterial carbonic anhydrase (SspCA) onto magnetic nanoparticles", Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 32(1): pp. 759-766, (2017).

[50] Kim, C. S., Yang, Y. J., Bahn, S. Y., Cha, H. J., "A bioinspired dual-crosslinked tough silk protein hydrogel as a protective biocatalytic matrix for carbon sequestration", NPG Asia Materials, 9(6): pp. e391-e391, (2017).

[51] Jo, B. H., Seo, J. H., Yang, Y. J., Baek, K., Choi, Y. S., Pack, S. P., Oh, S. H., Cha, H. J., "Bioinspired Silica Nanocomposite with Autoencapsulated Carbonic Anhydrase as a Robust Biocatalyst for CO_2 Sequestration", ACS Catalysis, 4(12): pp. 4332-4340, (2014).

[52] Min, K. H., Son, R. G, Ki, M. R., Choi, Y. S., Pack S. P., "High expression and biosilica encapsulation of alkaline-active carbonic anhydrase for CO_2 sequestration system development", Chemosphere, 143: pp. 128-134, (2016).

[53] Schlegel, S., Genevaux, P., de Gier, J. W., "Isolating Escherichia coli strains for recombinant protein production", Cellular and Molecular Life Sciences, 74(5): pp. 891-908, (2017).

[54] Bilal, M., Asgher, M., Shahid, M., Bhatti, H. N., "Characteristic features and dye degrading capability of agargel immobilized manganese peroxidase", International Journal of Biological Macromolecules, 86: pp. 728-740, (2016).

[55] Tan, S. I., Han, Y. L., Yu, Y. J., Chiu, C. Y., Chang, Y. K., Ouyang, S., Fan, K. C., Lo, K. H., Ng, I. S., "Efficient carbon dioxide sequestration by using recombinant carbonic anhydrase", Process Biochemistry, 73: pp. 38-46, (2018).

[56] González, J. M., Fisher, S. Z., "Carbonic anhydrases in industrial applications", Subcellular Biochemistry, 75: pp. 405-26, (2014).

[57] Hicks, N., Vik, U., Taylor, P., Ladoukakis, E., Park, J., Kolisis, F., Jakobsen, K. S., "Using Prokaryotes for Carbon Capture Storage", Trends in Biotechnology, 35(1): pp. 22-32, (2017).

[58] Bhattacharya, S., Schiavone, M., Chakrabarti, S., Bhattacharya, S. K., "CO_2 hydration by immobilized carbonic anhydrase", Biotechnol Appl Biochem, 38(Pt 2): pp. 111-7, (2003).

[59] Yadav, R. R., Krishnamurthi, K., Mudliar, S. N., Devi, S. S., Naoghare, P. K., Bafana, A., Chakrabarti, T., "Carbonic anhydrase mediated carbon dioxide sequestration: Promises, challenges and future prospects", Journal of Basic Microbiology, 54(6): pp. 472-481, (2014).

[60] Bao, L., Trachtenberg, M. C., "Facilitated transport of CO_2 across a liquid membrane: Comparing enzyme, amine, and alkaline", Journal of Membrane Science, 280(1): pp. 330-334, (2006).

[61] Boone, C. D., Gill, S., Habibzadegan, A., McKenna, R., "Carbonic Anhydrase: An Efficient Enzyme with Possible Global Implications", International Journal of Chemical Engineering, 2013: p. 813931, (2013).

[62] Effendi, S. S. W., Ng, I. S., "The prospective and potential of carbonic anhydrase for carbon dioxide sequestration: A critical review", Process Biochemistry, 87: pp. 55-65, (2019).

[63] https://swissmodel.expasy.or