

مروری بر مهمترین کاربردهای پلی ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی در صنعت فرآوری مواد غذایی

عباس عابد فر

فوق لیسانس دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گرگان، گرگان، ایران

a.abedfar@yahoo.com

چکیده

یکی از کاربردهای زیست فناوری در صنعت فرآوری مواد غذایی، تولید پلی ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی است که به عنوان افزودنی در تولید فرآورده های غذایی کاربرد دارند. این متابولیت های میکروبی، پلیمرهایی با وزن مولکولی بالا و متشکل از قندهای احیا کننده هستند که در طی چرخه رشد به وسیله سویه های مختلف باکتری های اسید لاکتیک و باسیلوس ها تولید می شوند. نقش دقیق پلی ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی به واحد ساختاری و شرایط زیست محیطی میکروارگانیسم های تولید کننده آنها بستگی دارد، به نحوی که باعث محافظت از محصولات غذایی در برابر تنش های محیطی می شود. تنوع در ساختار و ترکیب پلی ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی، سبب برتری این متابولیت ها نسبت به پلیمرهای حیوانی و گیاهی شده است. با توجه به تحقیقات مداومی که با هدف جداسازی و تعیین مشخصات و همچنین کاربردهای جدید پلی ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی صورت گرفته، از این ترکیبات می توان به عنوان منابع تجدیدپذیر در صنعت فرآوری مواد غذایی استفاده نمود. پلی ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی در صنایع داروسازی، رنگ سازی، زیست فناوری و پتروشیمی نیز کاربردهای فراوانی دارند. مهم ترین کاربردهای این ترکیبات در صنعت فرآوری مواد غذایی شامل قوام دهنده گی، ایجاد کننده ژل، جاذب رطوبت و پایدار کننده امولسیفایرها است که در این مقاله به بررسی اجمالی آنها پرداخته خواهد شد.

کلمات کلیدی: زیست فناوری، پلی ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی، امولسیفایر، پوشش های زیستی.

مقدمه

پلی ساکاریدهای خارج سلولی، در واقع زیست پلیمرهای خارج سلولی با زنجیره ساختمانی بلند، وزن مولکولی بالا و کمپلکس کربوهیدراتی غیر شیرین بوده که از تعداد زیادی منوساکارید متصل به هم ایجاد شده اند. این ترکیبات، معمولاً شاخه دار بوده

پلی ساکاریدهای خارج سلولی Exopolysaccharides (EPS) جز محصولات متابولیکی هستند که به وسیله میکروارگانیسم های خاصی تولید شده و برای نخستین بار در سال ۱۸۸۰ شناسایی شدند (۱).

و توانایی حلالیت در آب را داشته، ولی کریستال تشکیل نمی‌دهند و به‌وسیله استخراج مستقیم از زیست توده، طی آبکافت شیمیایی یا تخمیر و تولید مولکول‌های کوچک با قابلیت بسپارش شدن، به‌دست می‌آیند (۲). این ترکیبات در آب حل شده و باعث ژله‌ای شدن و قوام دهنده‌گی می‌شوند که به دلیل دارا بودن عملکردهایی نظیر گرانبوی، جاذب رطوبت و پایدار کننده امولسیفایرها، در صنعت فرآوری مواد غذایی نیز کاربردهای فراوانی دارند. این پلیمرها به‌طور مطلوب بافت مواد غذایی را تحت تاثیر قرار داده و در ارتقا کیفیت محصولات غذایی نیز اهمیت زیادی دارند. همچنین از عملکردهای دیگر پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی در زمینه داروسازی، به‌عنوان جایگزین چربی، حافظ پلاسمای خون و حتی برای تولید پانسمان‌های ضد میکروبی و ضد حساسیت، همچنین به عنوان لایه آب‌دوست در روی سطوح سوختگی برای جذب مایع برون نشت کاربرد دارند. از اثرات سلامت بخشی پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی، می‌توان به کاهش کلسترول خون، کاهش قند خون، تحریک سیستم ایمنی و فعالیت‌های ضد التهابی آن‌ها اشاره کرد. همچنین این مواد در دستگاه گوارش، پایداری زیادی داشته و از اثرات فراسودمند زیادی برخوردارند. طی تحقیقات اخیر، عملکردهای زیستی این ترکیبات مانند عملکرد ضد توموری و ضد اکسیدکنندگی روند رو به رشدی داشته است. امروزه مهم‌ترین کاربرد پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی به جز در صنایع غذایی و داروسازی، استفاده از انواع خاصی از آن‌ها در فرآیند استخراج نفت و بازیافت روغن‌های صنعتی نیز می‌باشد (۳). میکروارگانیسم‌ها عموماً در محیطی که محصولات متابولیکی حاصل از سنتز

زیستی، تجمع یافته، رشد می‌کنند. پلی‌ساکاریدهای تولیدی به‌وسیله میکروارگانیسم‌ها در سه گروه اصلی طبقه‌بندی می‌شوند. مطابق آنچه که در سلول میکروارگانیسم معرفی شده است، گروه اول، پلی‌ساکاریدهای سیتوسالیک که میزان کربن و انرژی را برای سلول فراهم می‌آورند. گروه دوم، پلی‌ساکاریدهای سازنده دیواره سلولی، که شامل پپتیدوگلیکان، تیکوئیک اسید و لیپوپلی‌ساکارید که به دیواره سلولی متصل باقی می‌مانند که به آن‌ها پلی‌ساکاریدهای کپسولی Capsular polysaccharide (CPS) می‌گویند. گروه سوم، پلی‌ساکاریدهایی نظیر کپسول یا پوشش زیستی (Biofilms) هستند که به محیط خارج سلولی، تراوش شده و به‌عنوان پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی شناخته می‌شوند. آنچه در صنعت مورد توجه قرار گرفته است، پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی می‌باشند. مجموعه پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی به دو گروه اصلی همپولی‌ساکاریدها و هتروپولی‌ساکاریدها طبقه‌بندی می‌شوند. همپولی‌ساکاریدها، مانند دکستران یا لوان، تنها از یک نوع مونوساکارید تحت تاثیر یک سیستم آنزیمی ساده ساخته شده‌اند.

هتروپولی‌ساکاریدها مانند زانتان یا ژلان، از چندین نوع مونوساکارید ساخته شده‌اند، که ساختار پیچیده‌ای داشته و معمولاً درون سلول از واحدهای تکراری سنتز می‌شوند (۴، ۵ و ۶). پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی، امروزه به دلیل حلالیت در آب سرد و گرم، تغییرات ناچیز گرانبوی در دماهای متفاوت، پایداری و حلالیت بالا در سیستم‌های اسیدی، خصوصیات رئولوژیکی منحصر به فرد، خاصیت پخش‌شوندگی مناسب، هم‌سازی با محلول‌های دارای مقادیر متفاوت

"عابد فر، مروری بر مهم‌ترین کاربردهای پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی..."

املاح، خواص امولسیفایری خوب و پایداری در برابر انجماد و رفع انجماد، مصارف صنعتی گسترده‌تری یافته‌اند. بعضی از پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی، به‌عنوان عوامل فعال سطحی در سم زدایی و جداسازی آلودگی‌های روغنی در صنایع پتروشیمی کاربرد دارند. همچنین میکروارگانیسم‌هایی که این آگروپلی‌ساکاریدها را تولید می‌کنند، عموماً پتانسیل تولید بالایی داشته و فرآورده تولیدی آن‌ها به آسانی از طریق تخمیر غوطه‌وری بازیافت می‌شود. تاکنون پیشرفت قابل توجهی در شناسایی و توسعه پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی جدید، با اهمیت صنعتی، صورت گرفته است (۷).

ساختمان شیمیایی آگروپلی‌ساکاریدها

در طی بیست سال اخیر، یک رده جدید از تولیدات میکروبی در صنعت، بسیار مورد توجه قرار گرفته است که به عنوان جایگزین پلیمرهای طبیعی و یا

سنتزی محلول در آب استفاده می‌شوند. پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی، از نظر ساختاری شبیه به رشته‌هایی از سلول‌های باکتریایی به هم پیوسته هستند که تشکیل شبکه درهم تنیده می‌دهند، ساختمان پلیمری پیچیده آن‌ها، شامل واحدهای متوالی و تکرار شونده‌ای از الیگوپلی‌ساکاریدهای پلیمریزه شده می‌باشد. در سنتز زیستی این ترکیبات، آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز با استفاده قندهای موجود در محیط، تشکیل ساختار حلقوی داده و به کمک یک ترکیب لیپیدی که نقش حامل دارد، ایفای نقش می‌نماید. تعیین ساختار مولکولی پلی‌ساکارید باکتریایی را می‌توان به کمک روش پراش اشعه X نمونه‌های بلورین انجام داد (۱۱). از جمله پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی که در صنعت به‌طور متداول مورد استفاده قرار می‌گیرند، می‌توان به موارد ذیل اشاره نمود، جدول (۸).

جدول ۱- آگروپلی‌ساکاریدهای رایج در صنعت فرآوری مواد غذایی (۸، ۹، ۱۰)

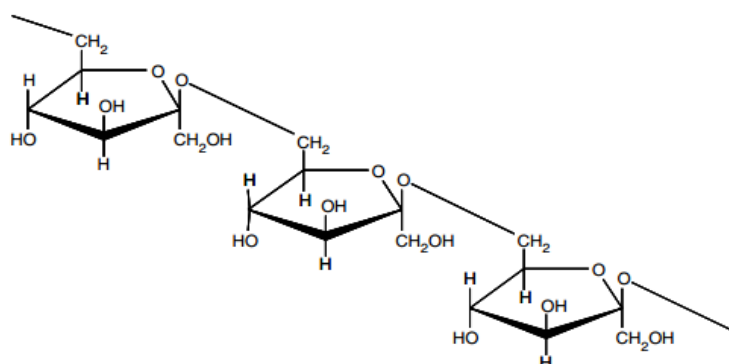
کاربردها	پلیمرهای زیستی
ایجاد کننده ژل و گرانیوی	استان (Acetan)
پایدار کننده و ریز پوشان کننده	آلژینات
ایجاد کننده پوشش موقت، فیبرهای طبیعی و غیر قابل هضم	سلولز
ایجاد کننده ژل	کوردلان
پوشش دهنده داروها و ترکیبات غذایی	سایکلو سوفران (Cyclosophorans)
گسترش پلاسمای خون، عامل کاهش کلسترول، ریز حامل	دکستران
امولسیون کننده و پایدار کننده سلولی	امولسان
ایجاد استحکام و ژل	ژلان
ایجاد کننده محیط مرطوب و یکنواخت	اسید هیالورونیک
ایجاد خاصیت ویسکوالاستیسیته و ژلاتینه کننده	کفیران
گسترش پلاسمای خون، عامل کاهش کلسترول، ریز حامل	لوان و آلترنان
ایجاد کننده ژل و پایدار کننده	سوکسینوگلیکان
پایدار کننده و ایجاد کننده ویسکوزیته	ولان (Welan)
امولسیون کننده و ژلاتینه کننده	زانتان

هموپلی ساکاریدها

(*Sreptococcus trance*) به دست می آیند، اشاره کرد (۱۱).

۱-۱-۲-۲- لوان

ترکیبی از D- فروکتو فورانوزیل با پیوندهای B-(2-6) است که در خارج سلول سنتز شده و به وسیله تخمیر ساکارز توسط باکتری *زایموموناس موبیلیس* (*mobilis Zymomonas*) یا *باسیلوس سابتیلیس* (*Bacillus subtilis*) تولید می شود (۱۲) و (۱۳). ساختار شیمیایی لوان در شکل (۱) ارائه شده است.



شکل ۱- ساختار شیمیایی لوان (۱۴)

می توان به وسیله حضور گلوکز در دمای بالاتر از ۴۵ درجه سانتی گراد کنترل کرد (۱۶ و ۱۷).

۲-۱-۲-۲- پلوان

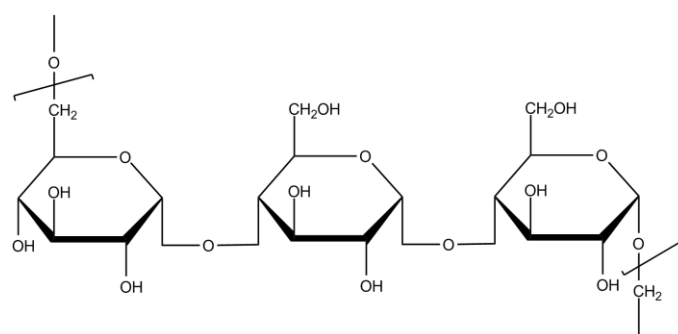
پلوان یک هموپلی ساکارید خطی است که به عنوان یک منبع مالتوتریوز و ماده اصلی در اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم پلواناز استفاده می شود. این پلی ساکارید، عمدتاً از گلوکز تشکیل می شود و در اکثر موارد از اتصال واحدهای ۴-۱- α -گلوکز- α - (۱-۴) تشکیل شده است. این آنزیم، کاربرد فراوانی در صنعت فرآوری مواد غذایی

همانطوری که عنوان شد هموپلی ساکاریدها متشکل از منوساکاریدهای یکسانی هستند که تحت تاثیر یک سیستم آنزیمی ساده، به یکدیگر متصل شده اند. از این دسته می توان به سلولز، دکستران، پلوان، لوان و کوردلان اشاره کرد. متداول ترین نمونه برای هموپلی ساکاریدهای تولیدی توسط باکتری های اسید لاکتیک، می توان به دکستران و گلوکان که به ترتیب از *لویکونستوک مزنتروئیدس* (*Leuconostoc mesenteroides*) و *استرپتوکوکوس موتانس*

سنتز زیستی لوان، به کمک آنزیم خارج سلولی خاصی به نام لوان سوکراز، از ساکارز صورت می گیرد. ساختار شیمیایی این ترکیب، به صورت ۶- فروکتوزیل ترانسفرانز، B-(2-6) - فروکتوزیل ترانسفرانز و B-(2-6) - گلوکز ۱- فروکتوترانسفرانز است که به اختصار EC 2.4.1.10 نامیده می شود (۱۵). تعدادی از باکتری های گرم مثبت، همچون گونه های *باسیلوس* و باکتری های گرم منفی، نظیر *زایموموناس موبیلیس*، لوان سوکراز تولید می کنند. آنزیم لوان سوکراز، عنصر کلیدی در تولید لوان است و فعالیت این آنزیم را

"عابد فر، مروری بر مهم‌ترین کاربردهای پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی..."

کم اکسیژن در آن، خصوصا زمانی است که برای تشکیل لایه‌های پلیمری نازک، در کنار مواد دیگر قرار می‌گیرد. به همین دلیل از آن در بسته‌بندی مواد غذایی، برای به حداقل رساندن اکسیداسیون استفاده می‌شود (۱۸). ساختار شیمیایی پولولان در شکل ۲ ارائه شده است.



شکل ۲- ساختار شیمیایی پولولان (۱۴)

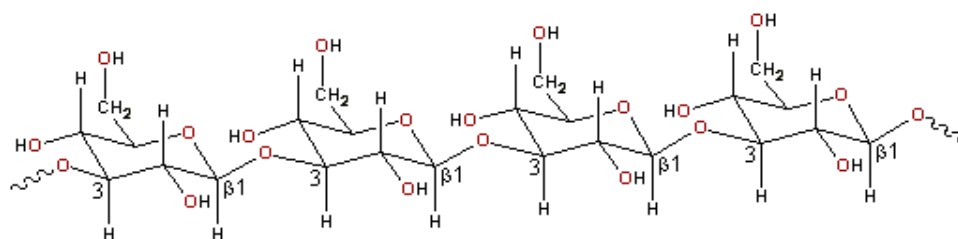
برای تبدیل پولولان به مالتوز و یا شیر غلیظ مالتوز جهت ایجاد رنگ و شفافیت بهتر در مرباها و ژله‌ها دارد. علاوه بر این، به حفظ طولانی مدت رنگ آببات‌ها نیز کمک می‌کند. پولولان، با مهار کریستاله شدن ساکارز، از سفت شدن بستنی جلوگیری می‌نماید. خصوصیت مهم دیگر پولولان، قابلیت نفوذ

باشد (۲۱). به نظر می‌رسد ساکارز، بیشترین تاثیر را نسبت به زایلوز، گلوکز، فروکتوز و سلوبیوز در تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی داشته باشد. با توجه به تحقیقات انجام شده در این زمینه، سنتز پولولان به احتمال زیاد به وسیله سیکلوهاگزامید کنترل می‌شود (۲۲).

۳-۱-۲- کوردلان

کوردلان، یک هموپلی‌ساکارید خطی با شاخه‌های جانبی نامحلول در آب است که در ترکیب آن از ۴۰۰ تا ۵۰۰ واحد D-گلوکز که بوسیله پیوند B-(1-3) گلیکوزیدی به یکدیگر متصل شده است (۲۳). ساختار شیمیایی کوردلان در شکل ۳ ارائه شده است.

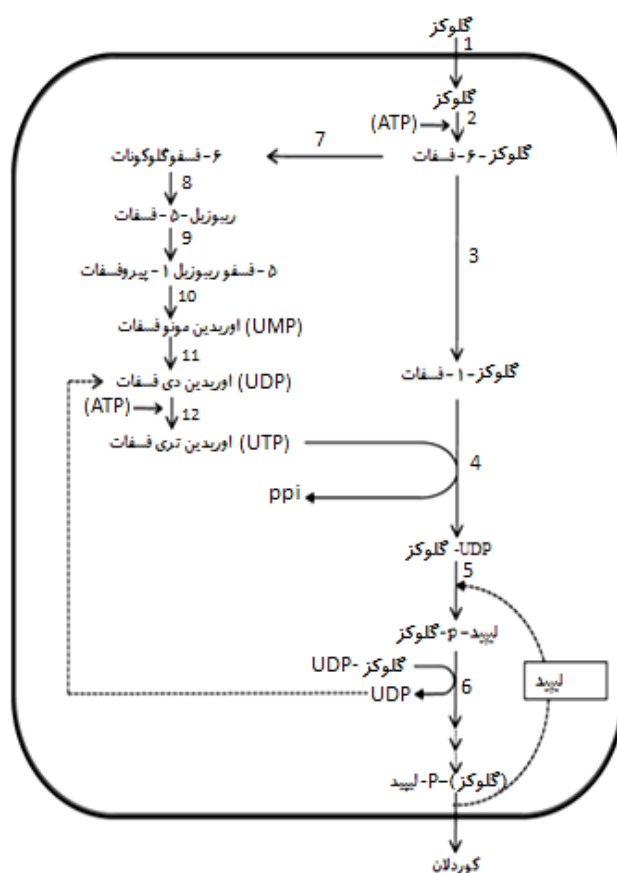
آسپیریلوس پولولانس، ترکیباتی با غلظت بالاتر از محدوده ۵۲/۵ گرم بر لیتر پولولان تولید کرده و برخلاف لوان، این ترکیب در سیتوسول ساخته شده و به محیط خارج سلولی ترشح می‌شود (۱۹ و ۲۰). بیشترین سنتز پولولان، در محدوده pH ۴/۵ صورت گرفته، درحالی که بیشترین رشد آسپیریلوس پولولانس در pH ۶/۵ مشاهده می‌شود. دمای بهینه برای تولید پولولان، بسته به نژادهای آسپیریلوس پولولانس متفاوت بوده و در دامنه بین ۲۴-۳۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده می‌شود. حذف برخی از ویتامین‌ها، همچون بیوتین و تیامین و مواد معدنی نظیر کلر، منگنز و آهن می‌تواند در تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی موثر



شکل ۳- ساختار شیمیایی کوردلان (۲۳)

کوردلان، به طور عمده از اگرובاکتریوم زیر گونه اگروباکتریوم رادیوباکتر و اسپرژیلوس زیرگونه اسپرژیلوس فکاليس واریته مایکسوژنز (Myxogenes) تولید می‌شود. محدوده pH بهینه برای محیط کشت اگروباکتریوم در حدود ۷ است در حالی که pH و دمای بهینه برای تولید کوردلان، حدودا ۴/۵ و ۳۲ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. با تنظیم غلظت بهینه عناصر

معدنی مانند فسفات، سولفات و با کمبود نیتروژن، رشد میکروارگانیسم‌ها در فاز ثابت، تشدید شده و کوردلان تولید می‌شود (۲۴). سرعت رشد میکروارگانیسم‌های تولید کننده کوردلان با افزایش غلظت آمونیوم کاهش می‌یابد (۲۵). مسیر سنتز کوردلان در شکل ۴ تشریح شده است.



شکل ۴- مسیر متابولیک سنتز کوردلان (۲۶).

"عابد فر و همکاران، مروری بر مهم‌ترین کاربردهای پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی..."

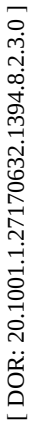
۲-۲- هتروپلی‌ساکاریدها

هتروپلی‌ساکاریدها، متشکل از الیگوساکاریدهای با سه تا هفت واحد مونوساکاریدی بوده که از دو یا چند نوع مختلف مونوساکارید تشکیل شده باشند. از این گروه می‌توان به ژلان، زانتان و آلژینات اشاره کرد. باکتری‌های تولید کننده هتروپلی‌ساکارید شامل *انتروباکترها*، *کلبسیلا* و باکتری اسید لاکتیک شامل *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، *لاکتوکوکوس لاکتیس* و جنس‌های *لاکتوباسیلوس* می‌باشند (۲۶).

۲-۲-۱- زانتان

زانتان مهم‌ترین پلی‌ساکارید خارج سلولی میکروبی از جنبه تجاری محسوب می‌شود که نخستین بار توسط باکتری *زانتوموناس کامپستریس* در سال ۱۹۶۷ تولید شده است. این پلی‌ساکارید خارج سلولی، از نظر فیزیکی به سلول میکروبی وابسته نبوده و راندمان تولید آن به شرایط محیط تخمیر و ظرفیت نگهداری آب که در شرایط محیطی نامساعد از سلول، محافظت

می‌کند، بستگی دارد. تولید این پلی‌ساکارید در شرایط تخمیری ثابت و پایدار انجام گرفته، مواد غذایی به وفور تامین شده و رشد سلولی از طریق یک ماده غذایی محدود کننده با غلظت کم، کنترل می‌شود. همچنین این پلی‌ساکارید به عنوان افزودنی غذایی و اصلاح کننده خواص وابسته به زمان در تغلیظ مواد غذایی (به عنوان مثال در سس سالاد) و به عنوان پایدار کننده (در محصولات آرایشی برای جلوگیری از دو فاز شدن)، کاربرد دارد. بیشترین عملکرد مورد انتظار برای زانتان، در اثر کاربرد نیتروژن به عنوان یک عامل محدود کننده، حاصل می‌شود. زنجیره اصلی زانتان، خطی بوده و از پیوندهای $D-\beta(1-4)$ گلوکز، ساخته شده است. واحدهای اصلی تشکیل دهنده زانتان شامل D - گلوکز و D - مانوز به عنوان واحدهای هگزوزی غالب بوده و همچنین ۶- استیل مانوز، D - اسید گلوکورونیک، ۶-۴ پیروات نیز در ساختار آن‌ها وجود دارند (۲۷). مسیر سنتز زانتان در شکل ۵ نشان داده شده است.



کاربردهای پلی ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی
زانتان در فرآورده های غذایی در جدول ۲ خلاصه شده است.

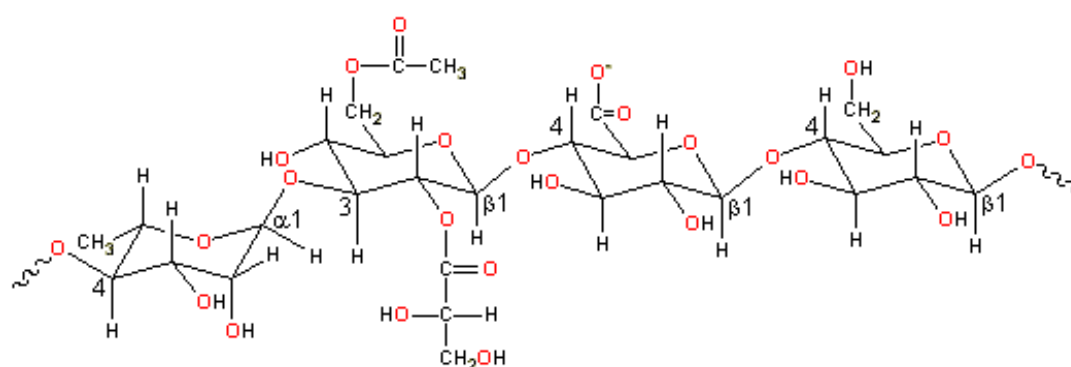
کاربرد صنعتی	فرآورده
تعلیق ذرات و تغلیط کنندگی	آب میوه، نوشیدنی، شکلات، پالپ میوه و خیارشور
ژل کننده، روان کنندگی و به علت ایجاد انعطاف پذیری بالا	غذاهای کنسروی، مربا، ژله فرآورده‌های لبنی
ایجاد امولسیون مطلوب، تعلیق، بهبود ثبات و گرانروی	غذاهای منجمد و سس‌ها
ایجاد بافت بهتر در نان، بهبود احساس دهانی (زانتان می‌تواند جایگزین گلوتن شود)	فرآورده‌های پخت
در ترکیب با صمغ‌های گیاهی مانند لوییای خرنوب و یا صمغ گوار توصیه می‌شوند.	پنیر، کره‌ها، فرآورده‌های گوشتی و کره نباتی

"عابد فر و همکاران، مروری بر مهم‌ترین کاربردهای پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی ..."

۲-۲-۲-ژلان

ژلان، هتروپلی‌ساکاریدی آنیونی با وزن مولکولی بالا و محلول در آب می‌باشد. این پلی‌ساکارید، پودری سفید رنگ و فعال بوده که در مجاورت حرارت، ژلی برگشت‌پذیر با استحکام و پایداری بالا و همچنین لایه نازکی با وضوح بالا تشکیل می‌دهد. ارگانسیم‌های تولید کننده ژلان، باکترهای هوازی، گرم منفی و غیر بیماری‌زا می‌باشند. ژلان، از چهار منوساکارید رامنوز، اسید گلوکورونیک و دو مولکول گلوکز تشکیل شده است. فرمول مولکولی ژلان با هتروپلی‌ساکاریدهای دیگر، کمی اختلاف دارد که این تفاوت به درجه خنثی شدن اسید گلوکورونیک با نمک‌های مختلف

بستگی دارد. این ماده قبلاً به‌عنوان یک ماده واسطه میکروبی با نام تجاری گلریت، به عنوان ماده جایگزین آگار و کاراگینان استفاده می‌شد. در حال حاضر به علت مزایای نسبی آن بر آگار، یعنی شفافیت و ضخامت ژل، به میزان ۵۰ درصد آگار مورد نیاز، توصیه می‌شود. سه شکل اساسی صمغ ژلان براساس محتوای ساختار پلی‌ساکاریدی آن‌ها، شامل درصد جایگزینی گروه کاربردی -O استیل و محتوای پروتئینی (نوکلئیک‌ها و سایر منابع نیتروژنی) از یکدیگر متمایز می‌شوند. ساختار شیمیایی ژلان در شکل ۶ آورده شده است (۳۰).

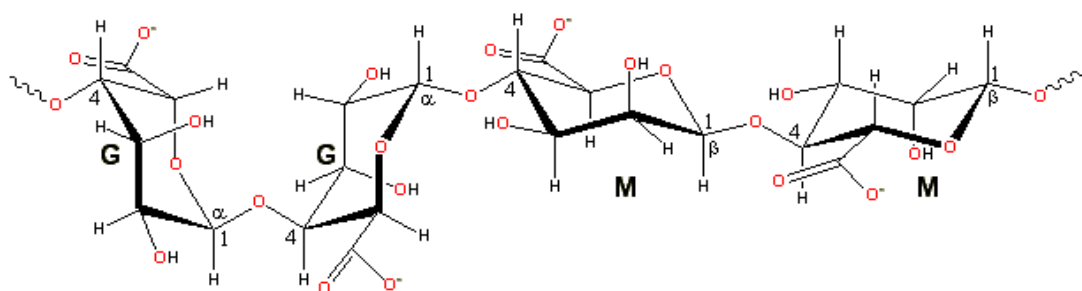


شکل ۶- ساختار شیمیایی ژلان (۳۱)

۲-۲-۳-آلژینات

آلژینات به‌طور معمول از جلبک‌های دریایی تولید می‌شود. این هتروپلی‌ساکارید، پلیمرهای خطی با آرایش ساختاری D-β مانورونیک اسید و L-α گلوورونیک اسید بوده که در صنایع غذایی و زیست فناوری کاربرد دارد. گونه‌های باکتریایی سودوموناس و ازتوباکتر، تولید کننده عمده آلژینات هستند، اما به نظر می‌رسد گونه ازتوباکتریولاندی بهترین باکتری جهت تولید صنعتی هتروپلی‌ساکارید مولکولی

آلژینات می‌باشد. آلژینات به عنوان یک ترکیب تسریع کننده زیستی در فرآیندهای صنعتی و پزشکی و همچنین تولید اتانول به وسیله سلول مخمر، تولید پادتن منوکلونال از سلول‌های دو رگه، تحریک سلول‌های ایمنی، ترشح سیتوکین‌ها به عنوان عامل نکروز کننده تومور، اینترکولین-۱، اینترکولین-۶ استفاده می‌شود. ساختار شیمیایی آلژینات در شکل ۷ ارائه شده است (۳۲).



شکل ۷- ساختار شیمیایی آلزینات (۳۲)

و ایجاد کننده امولسیون استفاده می شود (۳۳).

ژنتیک سنتز اگزوپلی ساکاریدهای میکروبی

روش های تولید زیستی پلی ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی، به لحاظ ژنتیکی متفاوت است به نحوی که در مورد هر پلی ساکارید و هر میکروارگانیسم مولد به شکل ویژه ای صورت می گیرد (۳۴). داده های ژنتیکی در مورد یک پلی ساکارید خارج سلولی میکروبی خاص مانند زانتان فراوان است، در حالی که اطلاعات ژنتیکی در مورد سنتز پلی ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی دیگر، نظیر پلوان ناچیز می باشد. همچنین مشخص شده است که تولید زیستی زانتان به یک قند نوکلئوتیدی (UDP-گلوکز، UDP-گلوکورونات و GDP-مانوز) احتیاج دارد. علاوه بر این، برای تکرار واحدهای پلی ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی مذکور، از ژن های کنترل شده ای استفاده می شود که در مورد *زانتوموناس کامپسترین* شناخته شده است (۳۵). باکتری های اسید لاکتیک، با توجه به تولید پلی ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی، که ژن های پلاسمیدی آن جایگزین کروموزوم واقعی شده اند، شناسایی می شوند (۹). به عنوان مثال، اطلاعاتی که برای تولید زیستی پلی ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی حضور لاکتوباسیلوس لاکتیس لازم است که شامل توالی NIZO B40 در یک خوشه ژنی با حجم

آلزینات در سیستم کشت پیوسته در دمای ۳۰ درجه و pH حدود ۷ در حضور اکسیژن تولید می شود. تراکم بیش از حد اکسیژن، سنتز آلزینات را تحریک نمی کند. منبع کربنی مورد نیاز جهت تولید پلی ساکاریدهای خارج سلولی آلزینات، ساکارز به میزان ۲۰ گرم بر لیتر است. با ایجاد محدودیت در فسفر و مولبدن و یا از طریق کاهش سرعت رقیق سازی، می توان سرعت تولید این پلیمر زیستی را افزایش داد (۳۳).

۲-۲-۱-۳- آلزینات سدیم

نمک سدیم آلزینیک اسید، دارای فرمول تجربی $\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$ می باشد. این ترکیب به عنوان صمغ بدون مزه، در افزایش گرانیروی فرآورده های غذایی صنعتی و ایجاد امولسیون در غذاهای ژله ای و همچنین به عنوان عامل پرکننده در تخم مرغ استفاده می شود. در سال های اخیر، سدیم آلزینات به عنوان یک ترکیب اشتهاآور در بهترین رستوران های جهان استفاده می شود (۳۳).

۲-۲-۳- آلزینات کلسیم

آلزینات کلسیم، یک ترکیب شیمیایی از نمک پتاسیم اسید آلزینیک با فرمول شیمیایی $\text{K}_2\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_6$ است. این ترکیب به عنوان یک عامل تثبیت کننده، تغلیظ کننده

۱۲-kb که اطلاعات ژنتیکی آن در یک پلاسمیدی با حجم 40kb قرار گرفته است. تفاوت اساسی در باکتری‌های اسیدلاکتیک، به دلیل سطوح مختلف بیان ژن‌های مولد پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی آن‌ها می‌باشد (۳۶).

روش‌های استخراج اگزوپلی‌ساکاریدهای میکروبی

مراحل اصلی تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی، شامل جداسازی میکروارگانیزم تولید کننده پلی‌ساکارید، کشت اولیه، به‌سازی و تلقیح گونه‌های تولید کننده، حذف ترکیبات ناخواسته و نهایتاً استخراج و خالص‌سازی پلی‌ساکارید است که عمدتاً به کمک حلال آلی (که حداقل تأثیر نامطلوب را ایجاد خواهد نمود)، ترکیبات آمونیومی پایه چهارم، رسوب توسط املاح و یا خشک کردن به شیوه پاششی صورت می‌گیرد. همان‌طور که در نظریه دانشمندانی همچون شنگ و لی در سال (۲۰۱۰) آمده است، روش‌های کاربردی استخراج پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی، شامل استفاده از محیط کشت میکروبی بوده و با توسعه فناوری، روش‌های کاربردی دیگری نظیر روش‌های مستقل فیزیکی و شیمیایی و یا ترکیبی از آن‌ها برای استخراج پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این روش‌های استخراج، با توجه به دو معیار کمیت و کیفیت پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی جدا شده، قابل مقایسه می‌باشند. محصولات نهایی استخراج شده به وسیله برخی از ترکیبات شیمیایی یا پروتئین‌های استخراج شده، آلوده می‌شوند. در طی استخراج، پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی سطح سلول، تجزیه می‌شود. بررسی این مشکل با

اندازه‌گیری میزان پروتئین یا اسید نوکلئیک سلول، امکان‌پذیر خواهد شد. تغییر در ترکیب و خصوصیات پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی، اختلالاتی در کارکرد این پلیمرها به دنبال خواهد داشت (۳۷، ۲۸ و ۳۹).

نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر مطالعات متعددی به روی تولید زیستی پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی و نقش آن‌ها در اکوسیستم انجام شده است. برای بعضی از نژادها، توالی ژنوم کد کننده تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی تعیین شده و ساختار پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی با توجه به مسیر متابولیکی سنتز آن مشخص شده است. پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی، درشت مولکول‌های طبیعی بوده که توسط سلول‌های میکروبی گوناگون و با ترکیبات مختلفی تولید شده که این امر نیز موجب تنوع بیشتر در خصوصیات فیزیکی‌وشیمیایی آن‌ها و در نتیجه عملکرد و کاربردهای متنوع آن‌ها خواهد شد. تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی، با توجه به شرایط و عوامل کنترل کننده رشد، نظیر غلظت، نوع کربوهیدرات، درجه حرارت و pH ضروری می‌باشد. با این حال، نیاز به درک بهتر و عمیق‌تری از ساز و کار دخیل در سنتز و استخراج پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی لازم است. کنترل بیان یک ژن خاص، باعث افزایش تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی شده و در نهایت به کنترل ساختار و خواص پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی در سال‌های آینده منجر خواهد شد. بنابراین، بهینه‌سازی روش‌های تولید این ترکیبات، به‌عنوان یک موضوع نوین مطرح می‌باشد. با این وجود، عملکرد

پلی ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی هنوز هم نسبتاً ناشناخته مانده و به تحقیقات بیشتری نیاز دارد.

References

فهرست منابع

- 1- Whitfield, C., (1988). Bacterial extracellular polysaccharides. *Canadian Journal of Microbiology*, 34(4), pp.415-420.
- 2- Pichavant, L., (2009). *Design, synthèse et réactivité de monomères issus de ressources renouvelables pour la polymérisation radicalaire* (Doctoral dissertation, Reims).
- 3- Liu, C., Lu, J., Lu, L., Liu, Y., Wang, F. and Xiao, M., (2010). Isolation, structural characterization and immunological activity of an exopolysaccharide produced by *Bacillus licheniformis* 8-37-0-1. *Bioresource technology*, 101(14), pp.5528-5533.
- 4- Bergmaier, D., (2002). Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de *LB. Rhamnosus* RW-9595M d'un milieu à base de perméat de lactosérum.
- 5- Lahaye, É., (2006). *Rôle structurant des exopolysaccharides dans un biofilm bactérien* (Doctoral dissertation, Lorient).
- 6- Roger, O., (2002). *Etude d'oligosaccharides bioactifs issus d'exopolysaccharides bactériens: obtention, caractérisation et relation structure/fonction* (Doctoral dissertation, Paris 13).
- 7- Bender, J. and Phillips, P., (2004). Microbial mats for multiple applications in aquaculture and bioremediation. *Bioresource Technology*, 94(3), pp.229-238.
- 8- Sutherland, I.W., (1998). Novel and established applications of microbial polysaccharides. *Trends in biotechnology*, 16(1), pp.41-46.
- 9- Suresh Kumar, A., Mody, K. and Jha, B., (2007). Bacterial exopolysaccharides—a perception. *Journal of basic microbiology*, 47(2), pp.103-117.
- 10- Vu, B., Chen, M., Crawford, R. and Ivanova, E., (2009). Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation. *Molecules*, 14(7), pp.2535-2554.
- 11- Sutherland, I.W., (1997). Microbial exopolysaccharides-structural subtleties and their consequences. *Pure and Applied Chemistry*, 69(9), pp.1911-1918.
- 12- Monsan, P., Bozonnet, S., Albenne, C., Joucla, G., Willemot, R.M. and Remaud-Siméon, M., (2001). Homopolysaccharides from lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 11(9), pp.675-685.
- 13- Shih, L., Chen, L.D. and Wu, J.Y., (2010). Levan production using *Bacillus subtilis* natto cells immobilized on alginate. *Carbohydrate Polymers*, 82(1), pp.111-117.
- 14- Donot, F., Fontana, A., Baccou, J.C. and Schorr-Galindo, S., (2012). Microbial exopolysaccharides: main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), pp.951-962.
- 15- Meng, G. and Fütterer, K., (2003). Structural framework of fructosyl transfer in *Bacillus subtilis* levansucrase. *Nature Structural and Molecular Biology*, 10(11), p.935.

"عابد فر، مروری بر مهم‌ترین کاربردهای پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی میکروبی..."

- 16- Hernández, L., Arrieta, J., Betancourt, L., Falcón, V., Madrazo, J., Coego, A. and Menéndez, C., (1999). Levansucrase from *Acetobacter diazotrophicus* SRT4 is secreted via periplasm by a signal-peptide-dependent pathway. *Current microbiology*, 39(3), pp.146-152.
- 17- Vandamme, E., De Baets, S. and STEINBUCHER, A., (2002). *Polysaccharides I: polysaccharides and prokaryotes (biopolymers series)*.
- 18- Singh, R.S., Saini, G.K. and Kennedy, J.F., (2008). Pullulan: microbial sources, production and applications. *Carbohydrate polymers*, 73(4), pp.515-531.
- 19- Jiang, L., (2010). Optimization of fermentation conditions for pullulan production by *Aureobasidium pullulan* using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 79(2), pp.414-417.
- 20- Wu, S., Jin, Z., Kim, J.M., Tong, Q. and Chen, H., (2009). Downstream processing of pullulan from fermentation broth. *Carbohydrate polymers*, 77(4), pp.750-753.
- 21- West, T.P. and Reed-Hamer, B., (1992). Influence of vitamins and mineral salts upon pullulan synthesis by *Aureobasidium pullulans*. *Microbios*, 71(287), pp.115-123.
- 22- Singh, R.S., Saini, G.K. and Kennedy, J.F., (2008). Pullulan: microbial sources, production and applications. *Carbohydrate polymers*, 73(4), pp.515-531.
- 23- Shih, L., Yu, J.Y., Hsieh, C. and Wu, J.Y., (2009). Production and characterization of curdlan by *Agrobacterium* sp. *Biochemical Engineering Journal*, 43(1), pp.33-40.
- 24- Jung, S.B., Choi, G.G., Kim, Y.B. and Rhee, Y.H., (2001). Biosynthesis of polyhydroxyalkanoate copolyester containing cyclohexyl groups by *Pseudomonas oleovorans*. *International journal of biological macromolecules*, 29(3), pp.145-150.
- 25- Vandamme, E., De Baets, S. and STEINBUCHER, A., 2002. *Polysaccharides I: polysaccharides and prokaryotes (biopolymers series)*.
- 26- Ruffing, A., Mao, Z. and Chen, R.R., (2006). Metabolic engineering of *Agrobacterium* sp. for UDP-galactose regeneration and oligosaccharide synthesis. *Metabolic Engineering*, 8(5), pp.465-473.
- 27- Sutherland, I.W., (2001). Microbial polysaccharides from Gram-negative bacteria. *International Dairy Journal*, 11(9), pp.663-674.
- 28- Flores candia j.L., and Deckwer W.D., (1999). xanthan gum, in: Flickinger M.C., Encyclopedia of bioprocess technology, fermentation, biocatalysis and bioseparation, 5: 2695-2711.
- 29- De Baets, S., Vandamme, E. and Steinbuchel, A., (2004). *Polysaccharides II: Polysaccharides of Eukaryotes*. Chemical Industry Press.
- 30- Becerra, F.Y.G., Acosta, E.J. and Allen, D.G., (2010). Alkaline extraction of wastewater activated sludge biosolids. *Bioresource technology*, 101(18), pp.6972-6980.
- 31- Tako, M., Teruya, T., Tamaki, Y. and Konishi, T., (2009). Molecular origin for rheological characteristics of native gellan gum. *Colloid and Polymer Science*, 287(12), p.1445.
- 32- Decho, A.W., (1999). Imaging an alginate polymer gel matrix using atomic force microscopy. *Carbohydrate Research*, 315(3-4), pp.330-333.
- 33- Grasdalen, H., (1983). High-field, ¹H-nmr spectroscopy of alginate: sequential structure and linkage conformations. *Carbohydrate Research*, 118, pp.255-260.
- 34- Vandamme, E.J. and Soetaert, W., (1995). Biotechnical modification of carbohydrates. *FEMS Microbiology Reviews*, 16(2-3), pp.163-186.
- 35- Kumar, A.S. and Mody, K., (2009). Microbial exopolysaccharides: variety and potential applications. *Microbial Production of Biopolymers and Polymer Precursors: Applications and*

Perspectives, pp.229-253.

- 36- Hay, I.D., Ur Rehman, Z., Ghafoor, A. and Rehm, B.H., (2010). Bacterial biosynthesis of alginates. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 85(6), pp.752-759.
- 37- van Kranenburg, R., Boels, I.C., Kleerebezem, M. and de Vos, W.M., (1999). Genetics and engineering of microbial exopolysaccharides for food: approaches for the production of existing and novel polysaccharides. *Current Opinion in Biotechnology*, 10(5), pp.498-504.
- 38- Van der Meulen, R., Grosu-Tudor, S., Mozzi, F., Vaningelgem, F., Zamfir, M., de Valdez, G.F. and De Vuyst, L., (2007). Screening of lactic acid bacteria isolates from dairy and cereal products for exopolysaccharide production and genes involved. *International journal of food microbiology*, 118(3), pp.250-258.
- 39- Wang, Z.M., Cheung, Y.C., Leung, P.H. and Wu, J.Y., (2010). Ultrasonic treatment for improved solution properties of a high-molecular weight exopolysaccharide produced by a medicinal fungus. *Bioresource technology*, 101(14), pp.5517-5522.
- 40- Yang, Z., (2000). Antimicrobial compounds and extracellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria: their structures and properties.

Overview of the most important applications of microbial exopolysaccharides in food industries

Abbas Abedifar

MSc of Agricultural Sciences and Natural Resources of Gorgan University, Gorgan University, Gorgan, Iran

a.abedfar@yahoo.com

Abstract

One of the biotechnology applications in food industry is production of microbial exopolysaccharides. That are used as additives these microbial metabolites are high molecular weight polymers composed of reducing sugars that produced during the growth cycle by various strains of lactic acid bacteria and *Bacillus*. The exact role of microbial exopolysaccharides depends on structural unit and environmental conditions of producing microorganisms that protect food from against environmental stresses. Diversity in structure and composition of microbial exopolysaccharides in comparison to animal and plant polymers is the main superiority of these metabolites. To date, the exact function of microbial exopolysaccharides remained relatively unknown and by increasing researches for isolation and identification of these metabolites and newly applications of microbial exopolysaccharides, these compounds can be used as reproducible source in food industries. Microbial exopolysaccharides have also numerous applications in pharmaceuticals, paint, biotechnology and petrochemical. The most important applications in of these product food industry including thickener, causing the gel, hygroscopic properties and emulsifiers stabilizer that will be discussed briefly in this article.

Keywords: Biotechnology, Microbial exopolysaccharides, Emulsifier, Biofilms