مجله ایمنی زیستی
دوره ۱۲، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸
ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

گالاکتوالیگوساکاریدهای میکروبی: تولید، اثرات زیستی و کاربردها

علی امینی‌بیدختی[۱]، منیرالسادات شاکری*[۲]

۱- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، گروه پژوهشی زیست‌فناوری مواد غذایی، مشهد، ایران

۲- استادیار موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، گروه پژوهشی زیست فناوری مواد غذایی، مشهد، ایران
m.shakeri@rifst.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۰/۱۵، تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۱/۲۱
صفحه ۷۶-۵۳

چکیده

گالاکتوالیگوساکاریدها ترکیبات غذایی بر پایه کربوهیدرات هستند که می‌توانند در فعالیت‌های فیزیولوژیکی مرتبط با سلامتی از جمله تولید اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه، انتقال انرژی در کولونوسیت‌ها و رشد و تمایز سلولی سلول‌های اپیتلیال روده موثر باشند. گالاکتوالیگوساکاریدها در حیوانات و انسان‌ها به‌عنوان ترکیبات پری‌بیوتیک شناسایی شده‌اند و با موفقیت در طیف گسترده‌ای از محصولات غذایی مانند محصولات نانوایی، شیرخشک نوزاد، فرآورده‌های لبنی و نوشیدنی‌ها استفاده شده‌اند. گالاکتوالیگوساکاریدها را می‌توان از دو منبع دانه سویا و لاکتوز حاصل از شیر گاو به‌صورت شیمیایی و یا آنزیمی سنتز و تولید کرد. انتخاب فناوری مناسب برای فرآیند هیدرولیز لاکتوز یا تولید گالاکتوالیگوساکاریدها به ماهیت سوبسترا و ویژگی‌های آنزیم بستگی دارد. تنظیمات راکتور عامل مهم دیگری است که می‌تواند بر بازده و ترکیب مخلوط‌های گالاکتوالیگوساکاریدی اثر داشته باشد. در این مقاله به‌طور خلاصه جنبه‌های مختلف مربوط به تولید گالاکتوالیگوساکاریدها از جمله انواع آنها و عملکرد ترکیبات فراسودمند آن، نقش آنها به‌عنوان پری‌بیوتیک و تولید صنعتی آن از طریق روش‌های میکروبی و همچنین راهکارهای بهبود فرآیند تولید بررسی می‌شوند. مشخصات فیزیکی، شیمیایی، اثرات فیزیولوژیکی و کاربردهای گالاکتوالیگوساکاریدها نیز به‌طور خلاصه بیان شده است.

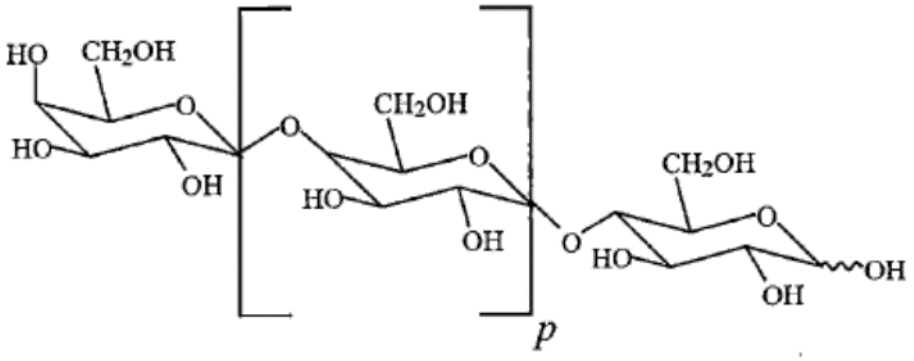
واژه‌های کلیدی: گالاکتوالیگوساکاریدها (GOS)، پری‌بیوتیک، سنتز آنزیمی، شیرخشک نوزادان.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

مقدمه

گالاکتوالیگوساکاریدها (GOS)، الیگوساکاریدهای گالاکتوزیله‌شده ترانس و غیرقابل‌هضم هستند که از ۱ تا ۷ واحد گالاکتوز متصل به یک گلوکز یا گالاکتوز انتهایی از طریق پیوندهای گلیکوزیدی $\beta(1\rightarrow3)$، $\beta(1\rightarrow4)$ یا $\beta(1\rightarrow6)$ تشکیل شده‌اند (شکل ۱). اگرچه تری تا هگزاساکاریدها با ۲ تا ۵ واحد گالاکتوز (با درجه پلیمریزاسیون ۳ تا ۶) اجزای اصلی محصولات حاوی GOS هستند، دی‌ساکاریدهای متشکل از گالاکتوز و گلوکز (با درجه پلیمریزاسیون ۲) با پیوندهای بتا-گلیکوزیدی متفاوت از لاکتوز نیز به‌عنوان GOS تعریف می‌شوند زیرا دارای خصوصیات فیزیولوژیکی مشابه الیگوساکاریدهای بلند زنجیره هستند (۱).



شکل ۱- ساختار گالاکتوالیگوساکاریدها.

کروشه‌ها واحدهای تکرارشونده هستند،ρ برابر با صفر تا ۶ تولید گالاکتوالیگوساکاریدهای متشکل از ۱ تا ۷ واحد گالاکتوز متصل به گلوکز یا گالاکتوز انتهایی را از طریق پیوندهای گلیکوزیدی β(1→3)، β (1→4) یا β(1→6) نشان می‌دهد (۱).

گالاکتوالیگوساکاریدها ترکیبات غذایی بر پایه کربوهیدرات هستند که می‌توانند فعالیت‌های فیزیولوژیکی مرتبط با سلامتی از جمله تولید اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه (SCFA)، انتقال انرژی در کولونوسیت‌ها و رشد و تمایز سلولی سلول‌های اپیتلیال روده داشته باشند. این ترکیبات همچنین متابولیسم لیپیدها و کربوهیدرات‌ها را افزایش داده و از عفونت جلوگیری می‌کنند. تعداد

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

باکتری‌های بیماری‌زا را کاهش داده، عملکرد طبیعی روده را تسهیل می‌کنند و جذب برخی از مواد معدنی را تحریک کرده و میزان چربی خون را کاهش می‌دهند. گالاکتوالیگوساکاریدها، همچنین به‌عنوان الیگوگالاکتوزیل لاکتوز، الیگوگالاکتوز، الیگولاکتوز یا ترانس گالاکتوالیگوساکاریدها شناخته می‌شوند و به‌دلیل ماهیت غیرقابل‌هضم خود، به گروه پری‌بیوتیک‌ها تعلق دارند. این ترکیبات به‌دلیل فواید سلامتی بخش شناخته شده، توجه زیادی را در زمینه غذاهای فراسودمند به خود معطوف کرده‌اند. در گذشته، به‌دلیل وجود شیرینی کم، حلالیت در آب و قابلیت هضم پائین به‌عنوان یکی از ترکیبات غذایی از اهمیت کمی برخوردار بودند اما در حال حاضر، ادعا می‌شود که گالاکتوالیگوساکاریدها متعلق به پری‌بیوتیک‌ها هستند و به‌صورت انتخابی رشد باکتری‌های مفید را در قسمت تحتانی روده انسان تحریک می‌کنند. علت توجه و علاقه به گالاکتوالیگوساکاریدها به‌طور عمده به‌دلیل وجود الیگوساکاریدهای بر پایه گالاکتوز در شیر انسان و شباهت ساختاری بین GOS تجاری و الیگوساکارید شیر انسان (human milk oligosaccharide) است. شیر انسان حاوی حدود ۷ درصد لاکتوز و ۱ درصد HMO شامل لاکتوز متصل به فوکوز، N-استیل گلوکوزامین و اسید سیالیک است. الیگوساکاریدها بعد از لاکتوز و چربی سومین جزء مواد جامد شیر انسان را تشکیل می‌دهند. مقادیر زیادی از آنها در آغوز مشاهده می‌شود به طوری‌که این مواد تا ۲۴ درصد کل کربوهیدرات‌های آغوز را تشکیل می‌دهند. در اکثر مطالعات، الیگوساکاریدهای موجود در شیر انسان شامل تقریبا ۶۰ تا ۹۰ درصد GOS و ۱۰ تا ۴۰ درصد فروکتوالیگوساکاریدها (FOS) در چند ماه اول شیردهی گزارش شده است. این ترکیبات در درجه اول باعث رشد و پیشرفت فلور میکروبی و سیستم ایمنی نوزادان می‌شوند. نوزادان شیرخوار دارای تعداد بیفیدوباکترهای بالاتر، ترکیب فلور میکروبی ساده‌تر و حساسیت کمتر به بیماری‌های عفونی نسبت به نوزادان تغذیه‌شده با شیرخشک هستند. سطح

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

بالاتری از آمونیاک، آمین و فنل و سایر ترکیبات مضر نیز در نوزادان تغذیه‌شده با شیرخشک گزارش شده است. با این‌وجود، افزودن مقدار مناسب GOS، سطح آن را در نوزادان تغذیه‌شده با شیرخشک حفظ می‌کند (۲).

شیر انسان حاوی نسبت بالاتری از الیگوساکاریدهای خنثی (۱ درصد) در مقایسه با الیگوساکاریدهای اسیدی (۱/۰ درصد) است. بسیاری از مطالعات با استفاده از روش‌های کشت معمول و تکنیک‌های مولکولی برای شناسایی باکتری‌ها نشان داده‌اند که نوزادان تغذیه‌شده با شیر مادر دارای میکروبیوتای روده‌ای هستند که تحت سلطه بیفیدوباکترها قرار گرفته‌اند و با نوزادان تغذیه‌شده با شیر گاو تفاوت دارد. میکروبیوتا در نوزادان تغذیه‌شده با شیر گاو با تعداد کمی از بیفیدوباکترها و تعداد بیشتری از ارگانیسم‌های خطرناک‌تر مانند کلستریدیا و انتروکوک‌ها همراه است. تصور می‌شود که غلبه بیفیدوباکترها در نوزادان تغذیه‌شده با شیر مادر ناشی از توانایی آنها در استفاده از الیگوساکاریدها در شیر مادر از جمله GOS است، که نوزادان نمی‌توانند در روده فوقانی هضم کنند. درحالی‌که تولید کامل کلیه ترکیبات شیر انسانی برای غنی‌سازی شیرخشک نوزاد دشوار خواهد بود، افزودن ترکیبات پری‌بیوتیک مانند GOS می‌تواند یک افزودنی مفید در شیرخشک نوزاد برای ایجاد برخی از ویژگی‌های فراسودمند مرتبط با شیر مادر، به‌ویژه اثرات بیفیدوژنی آن باشد (۳).

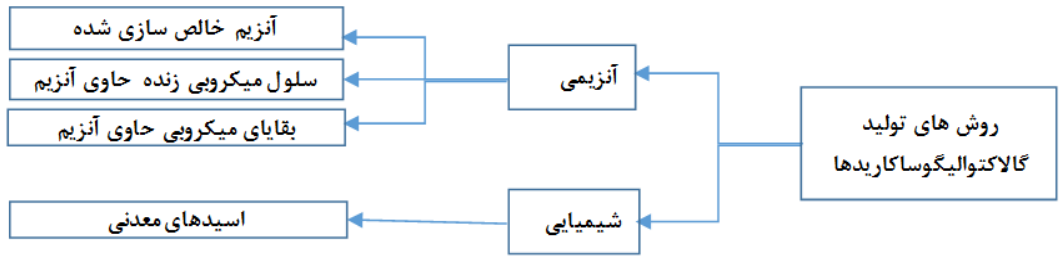
۱- روش‌های مختلف سنتز گالاکتوالیگوساکاریدها

گالاکتوالیگوساکاریدها را می‌توان از دو منبع دانه سویا و لاکتوز حاصل از شیر گاو به‌صورت شیمیایی و یا آنزیمی سنتز و تولید کرد. حالت دوم شبیه به الیگوساکاریدهایی است که به‌طور طبیعی در شیر مادر وجود دارد و بنابراین استفاده اصلی آنها تاکنون در تولید شیرخشک نوزادان بوده است. با این‌حال، توانایی این الیگوساکاریدها در ایجاد اثر بیفیدوژنی باعث افزایش توجه به تولید و کاربرد آنها در فرآیندهای مختلف غذایی و دارویی شده است (۴).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

شکل ۲، روش‌های مختلف سنتز الیگوساکاریدها را نشان می‌دهد.



شکل ۲- انواع روش‌های مورد استفاده در سنتز الیگوساکاریدها.

۱-۱ سنتز شیمیایی

گالاکتوالیگوساکاریدها برای اولین‌بار به‌صورت شیمیایی از طریق جابجایی هسته‌ای و الکتروفیلی سنتز شدند. در واقع می‌توان با استفاده از اسیدهای معدنی (سنتز شیمیایی) الیگوساکاریدها را از مونوساکاریدها تولید کرد. این فرآیند، معروف به "ریورسیون (reversion)"، تولید الیگوساکاریدها را در حین هیدرولیز اسیدی لاکتوز نشان می‌دهد، که برای اولین‌بار در دهه ۵۰ مشاهده شد. شرایط مناسب برای تولید الیگوساکارید در حین هیدرولیز اسیدی لاکتوز و ساختارهای الیگوساکاریدی حاصل از آن به‌خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است. در نتیجه این فرآیند شیمیایی، مخلوط پیچیده‌ای از دی‌ساکاریدها و تری‌ساکاریدها با انواع پیوندها با کنفورماسیون α - و β - آنومریک و قندهای انهیدرو به وجود می‌آید. البته به‌دلیل عدم اختصاصی‌بودن محصول و شرایط شدید اعمال‌شده در حین هیدرولیز اسیدی لاکتوز، این فرآیند برای تولید GOS در مقیاس صنعتی مورد استفاده قرار نمی‌گیرد (۵).

۱-۲ سنتز آنزیمی

آنزیم‌های بتاگالاکتوزیداز (β-gal; EC 3.2.1.23)، هیدرولیز و بتا ترانس گالاکتوزیلاسیون بتا دی گالاکتوپیرانوزیدها (مانند لاکتوز) را کاتالیز می‌کنند. این آنزیم‌ها در هنگام استفاده از لاکتوز به‌عنوان سوبسترا، GOS تولید می‌کنند. بتاگالاکتوزیدازها تحت مکانیسم دو مرحله‌ای عمل می کنند. مرحله اول این مکانیسم شامل تشکیل یک

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

محصول حد واسط گالاکتوزیل-آنزیم با پیوند کوالانسی است. پس از آن، قطعه گالاکتوزیل متصل به نوکلئوفیل در محل فعال به یک گیرنده هسته‌ای منتقل می‌شود. آب و همچنین تمام انواع قند موجود در مخلوط واکنش می‌توانند به‌عنوان یک گیرنده گالاکتوزیل به کار گرفته شوند. از اینرو، مخلوط نهایی حاوی محصولات هیدرولیز لاکتوز، گلوکز و گالاکتوز، لاکتوز بدون برگشت و همچنین دی و تری الیگوساکاریدها است. آنزیم‌های کلیدی برای تولید GOS گالاکتوزیل‌ترانسفراز و گالاکتوزیداز هستند. گالاکتوزیل‌ترانسفراز یک آنزیم استرئو-انتخابی (stereo-selective) است که می‌تواند GOS را در مقادیر زیاد تولید کند (۵).

با این‌وجود، بیوکاتالیز GOS از طریق گالاکتوزیل‌ترانسفراز بسیار پرهزینه است، زیرا این واکنش به قندهای نوکلئوتیدی به‌عنوان یک اهداکننده نیاز دارد. تشکیل GOS با استفاده از گالاکتوزیدازها بسیار ارزان‌تر از گالاکتوزیل‌ترانسفرازها است. اما مقدار GOS تولیدی کمتر است. همچنین این آنزیم نسبت به گالاکتوزیل‌ترانسفراز کمتر انتخابی است. منابع میکروبی بتاگالاکتوزیدازها برای تولید GOS شامل آنزیم‌های خام، آنزیم‌های خالص‌سازی‌شده، آنزیم‌های نوترکیب، آنزیم‌های تثبیت‌شده و یا بیوترانسفورماسیون سلول کامل، سلول‌های غیرزنده (تیمارشده با تولوئن) و سلول‌های تثبیت‌شده است. کل سلول هنگامی مورد استفاده قرار می‌گیرد که فرآیند جداسازی بتاگالاکتوزیداز غیراقتصادی است. البته استفاده از سلول کامل به‌دلیل کوفاکتورهای موجود در غشای سلولی و سلول بسیار ارزان‌تر است اما این موضوع برای سنتز GOS خیلی مهم نیست زیرا بتاگالاکتوزیداز از یون‌های فلزی به‌عنوان کوفاکتورها استفاده می‌کند (۶). در تولید آنزیمی GOS، برخی فرآورده‌های جانبی مانند گلوکز و گالاکتوز نیز ممکن است تولید شوند که اثرات پری‌بیوتیک ندارند و باعث کاهش بازدهی سنتز GOS می‌شوند. هنگام استفاده از سلول کامل، جدا از تداخل محصولات نهایی متابولیکی با تولید GOS

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

دما نیز عامل نامطلوب دیگری است. دما اغلب بازدهی سنتز GOS را افزایش می‌دهد اما برای سلول‌های غیرترموفیل، نامطلوب و حتی کشنده است. در برخی مطالعات از سلول‌های غیرزنده و در حالت کمون استفاده می‌شود. این نوع سلول‌ها معایب سلول‌های زنده را ندارند و بازده تولید GOS آنها بسیار بیشتر است. تولیدکنندگان صنعتی از سلول یا عصاره آنزیم استفاده می‌کنند. به‌عنوان مثال، سلول‌های در حال کمون *Clostridium laurentii* که در ژل‌های آلژینات کلسیم تثبیت شده‌اند، برای تولید GOS در مقیاس صنعتی استفاده می‌شوند. علاوه‌براین، ترکیب آنزیم‌های میکروبی هم می‌تواند اتفاق بیفتد. در این‌صورت مدل‌سازی و کنترل فرآیند تخمیر دشوارتر می‌شود (۷).

۲- میکروارگانیسم‌های تولیدکننده آنزیم و مسیرهای بیوسنتز گالاکتوالیگوساکاریدها

۲-۱ باکتری‌ها و قارچ‌ها

طبقه‌بندی گلیکوزید هیدرولازها (GHs) بر اساس شباهت در توالی اسیدهای آمینه انجام شده است. در حال حاضر، این آنزیم‌ها ۱۱۵ خانواده را تشکیل می‌دهند. آنزیم‌های با فعالیت بتاگالاکتوزیدازی (طبقه‌بندی‌شده به‌عنوان EC 3.2.1.23/108) در خانواده‌های GH1، GH2، GH35 و GH42 طبقه‌بندی می‌شوند. لاکتوز تنها سوبسترای طبیعی در بعضی از آنزیم‌های متعلق به GH1 و GH2 است، درحالی‌که خانواده‌های GH35 و GH42 شامل آنزیم‌هایی هستند که بر روی گلیکوزیدهای مختلف حاوی گالاکتوز عمل می‌کنند (۸).

هیدرولازهای گلیکوزیدی با فعالیت بتاگالاکتوزیدازی در انواع میکروارگانیسم‌ها از جمله جلبک‌ها، باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها یافت می‌شوند. برخی از این آنزیم‌ها در ارگانیسم‌های میزبان بیان شده‌اند، و یا با ترکیبی از چندین تکنیک مرسوم، مانند تفکیک توسط نمک، تبادل یونی، فیلتراسیون ژلی، هیدروکسی آپاتیت و روش‌های کروماتوگرافی تخلیص شده‌اند. انواع هیدرولازهای گلیکوزیدی تجاری با فعالیت بتاگالاکتوزیدازی به‌صورت تجاری

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

برای استفاده در فرآوری مواد غذایی در دسترس هستند (۹). بعضی از این آنزیم‌ها در تولید صنعتی GOS نیز مورد استفاده قرار گرفته‌اند. آنزیم‌های اصلی صنعتی از گونه‌های *Aspergillus* و *Kluyveromyces* تهیه می‌شوند که احتمالاً *Kluyveromyces lactis* پرکاربردترین منبع است. جداول ۱ و ۲ به ترتیب لیست منابع مختلف باکتریایی و قارچی بتاگالاکتوزیدازها و همچنین شرایط واکنش تبدیل لاکتوز و بازدهی تولید GOS را نشان می‌دهند.

جدول ۱- باکتری‌های تولیدکننده بتاگالاکتوزیدازها، بازده و روش تولید GOS توسط آنها.

سویه باکتری	بازده (درصد)/ روش تولید	منابع
Lactobacillus sakei	۴۱ درصد/ بیان ژن مولد آنزیم در *اشریشیا کلی*	۱۰
Escherichia coli	۲۹/۷ درصد/ تولید GOS با کنترل مقدار آب در میسل‌های معکوس	۱۱
Lactobacillus acidophilus	۳۸/۵ درصد/ افزودن Mg^{2+} به محل باندشدن آنزیم بتاگالاکتوزیداز	۱۲
Lactobacillus plantarum	۴۱ درصد/ تولید آنزیم نوترکیب با سیستم افزایش بیان ژن	۱۳
Bacillus stearothermophilus	۳۱/۲ درصد/ مقایسه آنزیم در بسترهای آلژینات سدیم، کیتوزان و ژلاتین	۱۴
Lactobacillus fermentum	۳۷ درصد/ تولید آنزیم نوترکیب با استفاده از بیان ژن‌ها در *اشریشیا کلی*	۱۵
Bifidobacterium longum BCRC 15708	۳۲/۵ درصد/ تولید در فرمانتور ۵ لیتری	۱۶
Bifidobacterium infantis	۴۷/۶درصد/ تولید در سیستم بچ با آنزیم خالص‌شده	۱۷
Lactobacillus bulgaricus	۴۱/۳درصد/ تولید با استفاده از سلول باکتری	۱۸

جدول ۲- منابع قارچی بتاگالاکتوزیدازها، بازده و روش تولید GOS توسط آنها.

سویه قارچی	بازده (درصد)/ روش تولید	منابع
Cryptococcus laurentii	۴۴ درصد/ خالص‌سازی آنزیم با کروماتوگرافی	۱۹
Bullera singularis	۴۰ درصد/ تولید با آنزیم خالص‌شده	۲۰
Aspergillus candidus	۳۷ درصد/ تولید توسط آنزیم نوترکیب تثبیت‌شده در آلژینات	۲۱
Kluyveromyces lactis	۷۶ درصد/ تولید با استفاده از سلول مرده	۲۲
Kluyveromyces marxianus	۴۱/۸ درصد/ تولید توسط عصاره سلولی	۲۳
Talaromyces thermophilus	۳۴ درصد/ تثبیت بتاگالاکتوزیداز بر روی حامل نامحلول Eupergit C	۲٤
Aspergillus oryzae	۲۷ درصد/ آنزیم تثبیت‌شده بر روی غشای کتانی در یک راکتور	۲۵
Aspergillus nidulans	۵۰ درصد/ تولید آنزیم نوترکیب با استفاده از بیان ژن‌ها در *اشریشیا کلی*	۲٦
Sterigmatomyces elviae	۵۴ درصد/ تولید توسط کشت میکروب در محیط حاوی آهن و روی	۲۷

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

بتاگالاکتوزیدازهای حاصل از گونه‌های مختلف، دارای ویژگی‌های بسیار مختلف برای ایجاد پیوندهای گلیکوزیدی هستند و بنابراین مخلوط‌های مختلف GOS را تولید می‌کنند. به‌عنوان مثال، بتاگالاکتوزیداز به دست آمده از *K. lactis*، بیشتر GOS با پیوندهای β (1→6) را تولید می‌کند، بتاگالاکتوزیداز *آسپرژیلوس اوریزه* بیشتر GOS با پیوندهای β (1→3) و β(1→6) را تولید می‌کند، در *Bacillus circulans* بتاگالاکتوزیداز غالباً GOS با پیوندهای β(1→4) را تشکیل می‌دهد (۲۲). آنزیم‌های تولیدشده از بیفیدوباکترها و لاکتوباسیل‌ها با توجه به ایمن‌بودن و بی خطربودن آنها در مواد غذایی نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. پیش‌بینی می‌شود GOS تولیدشده توسط این بتاگالاکتوزیدازها انتخاب‌پذیری بهتری برای رشد و فعالیت متابولیکی این جنس از باکتری‌ها در روده داشته باشد و از اینرو منجر به بهبود اثرات پری‌بیوتیکی شوند (۲۸). این آنزیم‌ها با توجه به اختصاصی‌بودن سوبسترا و تنظیم بیان ژن بسیار متفاوت هستند. بتاگالاکتوزیداز حاصل از *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* اولویت مشخصی برای سنتز پیوند β (6←1) بیش از پیوندهای β (4←1) نشان می‌دهد. بتاگالاکتوزیدازهای لاکتوباسیل‌ها در فرآیندهای تجاری مانند فرآوری شیر یا تهیه پنیر بسیار اهمیت دارند. مطالعات اخیر در مورد بتاگالاکتوزیدازها از *Lactobacillus reuteri* یا *Lactobacillus bulgaricus*، به‌ویژه با توجه به خصوصیات آنزیمی و مولکولی آنها نشان می‌دهد که این آنزیم‌ها برای تولید GOS بسیار مناسب هستند (۱۲).

۲-۲ متابولیسم بتاگالاکتوزیدازها و بتاگالاکتوالیگوساکاریدها

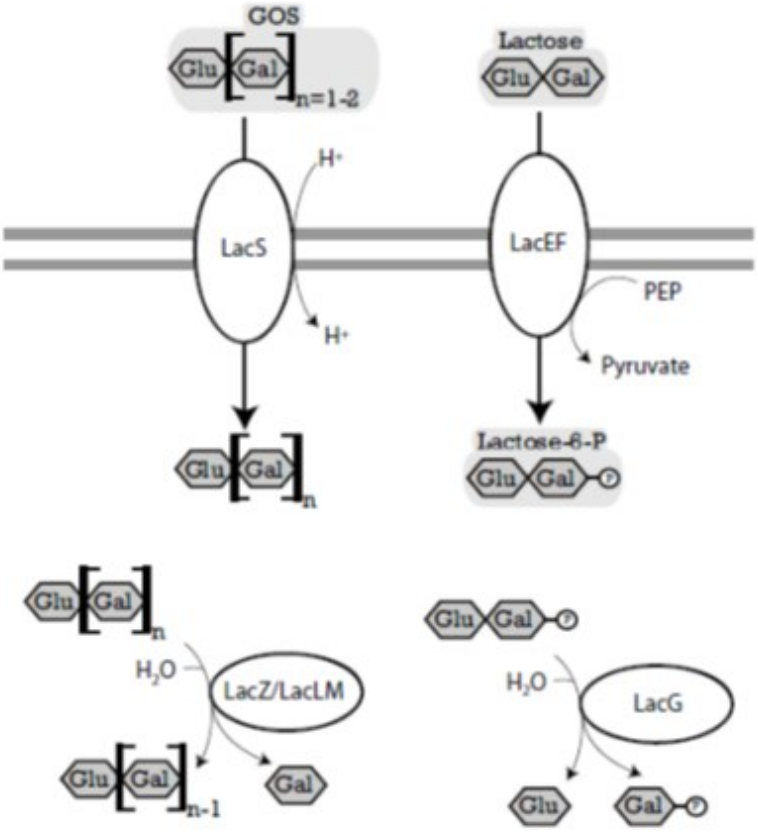
بتاگالاکتوالیگوساکاریدها (βGOS) شامل واحدهای گالاکتوز با اتصال β (6←1,2,3,4) با گالاکتوز یا گلوکز ترمینال هستند. تنها بتاگالاکتوالیگوساکاریدی که به‌طور گسترده در طبیعت وجود دارد لاکتوز است که در شیر پستانداران در غلظت‌های ۲ تا ۱۰ درصد وجود دارد (۲۹).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

مطالعات اولیه در مورد متابولیسم βGOS توسط باکتری‌های اسید لاکتیک با هدف درک متابولیسم لاکتوز در کشت‌های استارتر لبنی انجام شده است. لاکتوباسیل‌ها، βGOS را توسط دو مسیر یا چرخه جایگزین متابولیزه می‌کنند:

۱- انتقال و فسفوریلاسیون همزمان توسط سیستم فسفوترانسفراز LacEF و هیدرولیز توسط بتافسفوگالاکتوزیداز LacG یا ۲- انتقال توسط لاکتوز پرمه‌آز LacS و هیدرولیز توسط β گالاکتوزیداز (شکل ۳).



شکل ۳- آنزیم‌های موثر در متابولیسم لاکتوز و بتاگالاکتوالیگوساکاریدها و موقعیت سلولی آنها در لاکتوباسیل‌ها.

LacS (در *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*)، دی و تری ساکاریدهای GOS را به داخل سیتوزول وارد می‌کند، LacZ (در *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*) و LacLM (در لاکتوباسیلوس پلانتاروم)، بتاگالاکتوزیدازهایی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

هستند که بتادی‌گالاکتوز انتهایی را در بتادی‌گالاکتوزیدها هیدرولیز می‌کنند، LacEF (در *لاکتوباسیلوس کازئی*)، یک سیستم لاکتوز فسفوترانسفراز است که لاکتوز را با انتقال یک فسفریل به بخش گالاکتوز آن، به درون سیتوزول منتقل می‌کند، LacG (در *لاکتوباسیلوس کازئی*)، یک فسفوبتاگالاکتوزیداز است که واحدهای انتهایی را که به فسفوبتاگالاکتوز متصل شده‌اند، هیدرولیز می‌کند (۳۰).

مسیر لاکتوز پرمه‌آز/ بتاگالاکتوزیداز در لاکتوباسیل‌ها شایع‌تر است. ژن‌های متابولیکی βGOS اغلب روی پلاسمیدها رمزگذاری می‌شوند. متابولیسم توسط مسیر LacEF/LacG چندین ویژگی متمایز از مسیر LacS/بتاگالاکتوزیداز نشان می‌دهد: ۱- بتافسفوگالاکتوزیداز LacG (طبقه‌بندی‌شده در خانواده GH1)، مخصوص لاکتوز است در حالی‌که در مسیر LacS/بتاگالاکتوزیداز بتاگالاکتوالیگوساکاریدهای بیشتری متابولیزه می‌شوند. ۲- ارگانیسم‌هایی که مسیر LacEF/LacG را بیان می‌کنند از گلوکز و گالاکتوز به‌طور همزمان استفاده می‌کنند، درحالی‌که متابولیسم توسط مسیر LacS/LacLM یا LacZ منجر به متابولیسم ترجیحی گلوکز و دفع گالاکتوز می‌شود. ۳- بیان LacEF/LacG توسط لاکتوز القا می‌شود و بیان ژن به‌صورت رونویسی با متابولیسم گالاکتوز در ارتباط است. در مقابل، LacS و بتاگالاکتوزیدازها به‌طور معمول به‌صورت ساختاری در لاکتوباسیل‌ها بیان می‌شوند و اغلب در همان مکان‌های ژنتیکی که آنزیم‌های متابولیکی برای آلفاگالاکتوزیدها وجود دارند، قرار می‌گیرند (۳۰).

۲-۳ عوامل مؤثر بر بازده تولید گالاکتوالیگوساکاریدها

انتخاب فناوری مناسب برای فرآیند هیدرولیز لاکتوز یا تولید GOS به ماهیت سوبسترا و ویژگی‌های آنزیم بستگی دارد. مشخصه اصلی که انتخاب و کاربرد یک آنزیم مشخص را تعیین می‌کند، محدوده pH است. آنزیم‌های با pH بهینه اسیدی به‌طور عمده از قارچ‌ها تولید می‌شوند و برای فرآوری آب پنیر و پرمیت آب پنیراسیدی مناسب هستند، درحالی‌که آنزیم‌های با pH خنثی از مخمرها و باکتری‌ها تولید می‌شوند و برای فرآوری شیر و آب پنیر شیرین مناسب هستند. بسته به منبع آنزیم، pH مخلوط واکنش در هنگام استفاده متفاوت است، به‌عنوان مثال

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

بتاگالاکتوزیداز *آسپرژیلوس اوریزه* در pH= ۵/۴ به بازده بهینه در تولید GOS می‌رسد. بیشترین بازده GOS به‌طور معمول هنگامی مشاهده می‌شود که واکنش ۹۰-۴۵ درصد تبدیل لاکتوز ادامه یابد (۲۹).

مطالعات مربوط به هیدرولازهای گلیکوزیدی مقاوم به حرارت نیز در جهت تولید GOS در دماهای بالا انجام شده است که می‌توان به بتاگلیکوزیدازهای حاصل از *L. bulgaricus* اشاره کرد. بتاگالاکتوزیدازهای فعال در سرما نیز توجه را به خود جلب کرده‌اند زیرا کاربرد آنها در فرآیندهای صنعتی هیدرولیز لاکتوز و سنتز الیگوساکاریدها می‌تواند خطر آلودگی به مزوفیل‌ها را کاهش دهد. بتاگالاکتوزیدازهای فعال در سرما از منابع مختلف مانند *Halorubrum lacusprofundi* جداسازی شده‌اند. اما تحقیقات نسبتاً کمی در مورد سنتز GOS در دماهای پایین توسط این آنزیم‌های سرمادوست انجام شده است (۳۰).

تنظیمات راکتور عامل مهم دیگری است که می‌تواند بر بازده و ترکیب مخلوط‌های GOS اثر داشته باشد. در مقایسه با بتاگالاکتوزیدازهای محلول، بتاگالاکتوزیدازهای تثبیت‌شده ممکن است مزایایی از قبیل قابلیت تراکم سلولی بالاتر در بیوراکتورها، بهبود پایداری آنزیم، بازده بالا و جداسازی آسان‌تر محصولات را فراهم کنند. فعالیت بالاتر اما قابلیت تحمل حرارات پایین‌تر برای بتاگالاکتوزیداز تثبیت‌شده در نانوذرات کیتوزان نسبت به آنزیم باندشده به ماکروذرات نیز گزارش شده است (۳۱). از نظر پارامترهای فرآیندی، مقدار GOS تولیدشده توسط گالاکتوزیداز را می‌توان به روش‌های مختلف بهبود داد: (الف) افزایش غلظت واکنشگرها، (ب) کاهش فعالیت آبی واکنش، (ج) تغییر تعادل واکنش به سمت محصول نهایی با حذف محصول در محیط و (د) تغییر شرایط سنتز. داده‌های جمع‌آوری‌شده از تحقیقات نشان می‌دهد حداکثر بازده GOS تا حد زیادی تحت تأثیر غلظت اولیه لاکتوز است، تا زمانی که محدوده غلظت ۳۰ تا ۴۰ درصد (وزنی/حجمی) باشد. از آنجایی‌که حلالیت لاکتوز در دمای اتاق

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

نسبتاً کم است و با افزایش دما، افزایش می‌یابد، لذا به‌طور کلی درجه حرارت بالا مطلوب است. همچنین به نظر می‌رسد ترانس گالاکتوزیلاسیون، در دمای بالا بهتر انجام می‌شود. افزایش دمای واکنش به‌طور قابل‌توجهی بازده تولید GOS را افزایش می‌دهد. با این‌حال، محققان دیگر بین درجه حرارت و بازده GOS در مورد برخی از میکروب‌ها، ارتباط کم یا ناچیزی را مشاهده کردند. بهینه‌سازی ساختار آنزیم نیز می‌تواند به افزایش حداکثری بازده تولید GOS از لاکتوز کمک کند. اصلاح آنزیم می‌تواند به‌صورت ژنتیکی یا شیمیایی باشد. تحقیقات نشان داده است فعالیت ترانس گالاکتوزیلاسیونی بتاگالاکتوزیداز حاصل از *B. Circulans* با اصلاح آنزیم با گلوتارآلدئید افزایش یافته است که احتمالاً به‌دلیل تغییرات ساختاری در نزدیکی محل فعال آنزیم است. جالب توجه است که گلوتارآلدئید به‌طور معمول به‌عنوان یک عامل اتصال‌دهنده متقاطع برای تثبیت آنزیمی کووالانسی نیز استفاده می‌شود. حذف محصول نهایی و یا بازدارنده‌ها از محیط واکنش یکی دیگر از عوامل موثر بر بازده تولید است. راکتورهای مداوم مجهز به همزن به کمک فرآیندهای غشایی برای سنتز GOS استفاده شده‌اند. مزیت این فرآیند این است که محصول به‌طور مداوم (همراه با آب، مقداری سوبسترا و فرآورده‌های جانبی قندی ساده) از مخزن همزن‌دار با استفاده از اولترافیلتراسیون غشایی با جریان متقاطع خارج می‌شود، درحالی‌که آنزیم باقی می‌ماند. این ساختار همچنین امکان تغییر در زمان ماند را با هدف بهینه‌سازی بازده و ترکیب الیگوساکاریدها فراهم می‌کند (۳۲).

مخلوط‌های GOS تولیدشده توسط ترانس گالاکتوزیلاسیون همیشه حاوی مقادیر قابل‌توجهی لاکتوز و مونوساکاریدهای بدون واکنش هستند. حذف کارآمد این ناخالصی‌های غیرGOS امکان تجاری‌سازی محصولات GOS با ارزش افزوده را فراهم می‌کند. جداسازی مونوساکاریدها در مقیاس وسیع به‌طور معمول توسط یک فرآیند کروماتوگرافی با رزین‌های تبادل یونی یا ذغال فعال انجام می‌شود با توجه به کروماتوگرافی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

تبادل یونی، رزین‌های تبادل کاتیونی، بیشترین کاربرد را دارند زیرا بیشترین میل به مونوساکاریدها را نشان می‌دهند و بنابراین الیگوساکاریدها اولین ترکیباتی هستند که از ستون خارج می‌شوند. گزارش شده است که ذغال فعال میل ترکیبی بیشتری به الیگوساکاریدها نسبت به مونو و دی‌ساکاریدها دارد، به‌طوریکه بازده تولید آنها را در سطح صنعتی اقتصادی‌تر می‌کند، زیرا احیاء مجدد می‌تواند بدون افت زیاد در سوبسترا انجام شود (۳۳).

۳- دستکاری‌های ژنتیکی برای افزایش تولید گالاکتوالیگوساکاریدها

مهندسی پروتئین یک روش قدرتمند برای بهبود بازده گالاکتوزیلاسیون است. همانطور که در بحث اصلاح آنزیم نیز بیان شد، جهش‌زایی نیز می‌تواند با تغییر در اسیدهای آمینه در جایگاه فعال آنزیم باعث افزایش عملکرد آن شود. همچنین پیشنهاد می‌شود به جای استفاده از آنزیم‌های آزاد یا تثبیت‌شده که محدودیت‌های خاص خود را دارند از بیان آنزیم روی سطح سلولی میکروارگانیسم‌های مهندسی‌شده مانند *E. coli* و *Saccharomyces cerevisiae* استفاده شود (۱۴،۳۴).

بتاگالاکتوزیدازهای نوترکیب دارای مزایای بیشتری نسبت به بتاگالاکتوزیدازهای بومی، از جمله بازده تولید بالا، خالص‌سازی آسان، پایداری و فعالیت بیشتر هستند. باکتری‌های *E. coli* و *S. cerevisiae* بیشتر برای تولید بتاگالاکتوزیدازهای نوترکیب استفاده می‌شوند. *اشرشیا کلی* دارای معایبی مانند تولید اندوتوکسین‌ها، مشکل در بیان پیوندهای دی‌سولفیدی و تشکیل استات است که دارای اثرات سمی است. در مقابل، *باسیلوس سوبتیلیس* مهندسی‌شده هیچگونه سموم آندو یا اگزو را تولید نمی‌کند. اما این باکتری معایبی از جمله تولید پروتئازها در مقادیر زیاد (که قادر به تخریب پروتئین‌ها هستند) و بی‌ثباتی پلاسمید دارد. برخی مخمرها مانند *S. cerevisiae* و *Pichia pastoris* نیز برای تولید اشکال نوترکیب بتاگالاکتوزیداز استفاده شده‌اند. مخمر نسبت به باکتری‌ها دارای مزایایی از جمله

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

دامنه بهره‌وری بالاتر، تولید باندهای دی‌سولفیدی و تاخوردگی بهتر پروتئین است (۳۵).

۴- اثرات زیستی و سلامتی بخش گالاکتوالیگوساکاریدها

به‌منظور استفاده ایمن از GOS در فرمول‌های شیرخشک نوزادان و غذاها، مطالعات بالینی بی‌شماری در نوزادان و بزرگسالان انجام شده است. نکته مهم این است که این مطالعات شامل نقاط پایانی بودند که اثرات GOS را بر فلور میکروبی مدفوع، فیزیولوژی دستگاه گوارش، سیستم ایمنی بدن و تحمل بدن ارزیابی می‌کردند. به‌طور کلی GOS غلظت اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه مدفوعی را در نوزادان و بزرگسالان افزایش داده، باعث بهبود قوام مدفوع در نوزادان، کاهش بروز درماتیت آتوپیک در نوزادان و کاهش علائم سندرم روده تحریک‌پذیر در بزرگسالان می‌شود (۳۶).

در ادامه به برخی از اثرات مهم زیستی (بیولوژیکی) گالاکتوالیگوساکاریدها اشاره شده است.

۴-۱ تغییر فلور میکروبی روده

پری‌بیوتیک‌ها با فراهم‌کردن منابع انرژی برای میکروبیوتای روده‌ای، قادر به تنظیم ترکیب و عملکرد این میکروارگانیسم‌ها هستند. براساس آنالیز شیر انسان و غلظت بالای گالاکتوز در آن، مخلوطی از ۱۰ درصد FOS با زنجیره بلند (اینولین) و ۹۰ درصد GOS مشابه شیر انسان برای استفاده در فرمول‌های شیرخشک نوزاد تهیه شده است. با تغذیه نوزادان نارس و زودرس با این مخلوط، افزایش در بیفیدوباکترها و لاکتوباسیل‌ها همراه با میکروبیوتای روده‌ای و ترکیبات مدفوع با شباهت بیشتر به نوزادان تغذیه‌شده با شیرمادر مشاهده می‌شود (۳۷).

پری‌بیوتیک‌ها همچنین قادر به تغییر محیط روده هستند. اسیدها اکثراً محصولات تخمیر پری‌بیوتیک‌ها هستند که باعث کاهش pH روده می‌شوند. نشان داده شده است که تغییر یک واحدی در pH روده از ۵/۶ به ۵/۵ می‌تواند به تغییر در ترکیب و جمعیت میکروبیوتای روده‌ای کمک کند. تغییر pH می‌تواند جمعیت گونه‌های حساس به اسید مانند

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

باکتروئیدها را تغییر داده و تشکیل بوتیرات را توسط فیرمیکوت‌ها (firmicutes) تشدید کند که به‌عنوان سوخت سلول‌های اپیتلیال روده عمل می‌کنند. این فرآیند اثر بوتیروژنیک نامیده می‌شود. تخمیر GOS در روده بزرگ نیز پروپیونات تولید می‌کند، که در برابر سلول‌های سرطانی روده بزرگ خاصیت ضدالتهابی دارد (۳۸).

۴-۲ تعدیل و تنظیم سیستم ایمنی

فلور میکروبی روده در رشد و بلوغ سیستم ایمنی بدن بسیار اثرگذار است. رژیم غذایی یکی از مهمترین عواملی است که می‌تواند بر سیستم ایمنی دستگاه گوارش و همچنین ترکیب میکروبی روده و تشکیل محصولات متابولیک تأثیر بگذارد. بررسی تأثیر GOS بر ترکیبات میکروبی و عملکرد سیستم ایمنی (سلول‌های NK ، فاگوسیتوز و سیتوکین‌ها) در افراد داوطلب سالم نشان می‌دهد مصرف GOS منجر به کاهش قابل‌توجهی در تعداد باکتری‌های بیماری‌زا (مانند باکتریوئیدها، *Clostridium perfringens*، گونه‌های دسولفوویبریو، *E. coli*) و افزایش قابل‌توجهی در تعداد باکتری‌های مفید به‌خصوص بیفیدوباکترها می‌شود (۳۹).

۴-۳ کاهش آلرژی

در ۲ دهه گذشته در کشورهای توسعه یافته میزان شیوع بیماری‌های آلرژیک افزایش یافته است، و مطالعات نشان می‌دهد که امکان ارتباط بین فلور میکروبی روده و آلرژی وجود دارد. تعداد پایین سلول‌های بیفیدوباکتریایی با کاهش خاصیت چسبندگی در مدفوع نوزادان دارای آلرژی دیده شده است. این شیرخواران آلرژی غذایی به واسطه IgE دارند. درماتیت آتوپیک (atopic dermatitis) یکی از علائم اولیه آلرژی در دوران نوزادی است و می‌تواند ۱۰ تا ۲۵ درصد کودکان در کشورهای غربی را تحت تأثیر قرار دهد. بر اساس مطالعات، GOS در ترکیب با مخلوطی از چهار باکتری پروبیوتیک (*L. rhamnosus* GG، *L. rhamnosus* LC705، *Bif. breve* BB99 و *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* JS به‌طور قابل‌توجهی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

بیماری‌های مرتبط با IgE، اگزما و اگزمای آتوپیک را کاهش می‌دهد (۴۰).

۴-۴ کاهش بیماری التهابی روده (IBD)

پاسخ‌های ایمنی نامناسب به فلور میکروبی نرمال روده گاهی اوقات منجر به شرایط التهابی مانند کولیت اولسراتیو (ulcerative colitis) و بیماری کرون (Crohn's disease) می‌شود. کاهش تعداد بیفیدوباکترها و افزایش تعداد ارگانیسم‌های دیگر مانند *E. coli* و پپتواستریتوکوکسی‌ها در نمونه‌های مدفوع و مخاط روده بزرگ در IBD مشاهده شده است. به‌طور معمول، فلور نرمال میکروبی روده با رهاسازی سیتوکین‌های تنظیم‌کننده ایمنی IL-10 و TGF-b ارتباط دارد (۴۱).

۴-۵ فعالیت ضدبیماری‌زایی

مطالعات گوناگون نشان داده‌اند داشتن پری‌بیوتیک در رژیم غذایی، با مهار اتصال باکتری‌های بیماری‌زا یا سموم آنها به اپیتلیوم روده، از روده در برابر عفونت و التهاب محافظت می‌کند. پری‌بیوتیک GOS حاوی ساختارهایی شبیه به غشای میکروویلی است که با اتصال به گیرنده‌های باکتریایی با آنها مقابله می‌کند و از اینرو، از اتصال باکتری به اپیتلیوم روده جلوگیری می‌کند. GOS موجود در شیر انسان (با اتصالات آلفا)، دارای ویژگی ضدچسبندگی بوده و قادر به خنثی‌سازی سموم است. βGOS نیز می تواند پیوند *E. coli* و *Salmonella enterica serovar Typhimurium* را به خط سلولی اپیتلیال HT-29 کاهش دهد (۴۲).

۴-۶ کنترل انسداد انتروکولیت

آنتروکولیتیس نکروزه‌کننده (necrotizing enterocolitis) یک شرایط نامناسب در دستگاه گوارش است که در نوزادان نارس دیده می‌شود و در آن قسمت‌هایی از روده تحت نکروز قرار می‌گیرند و می‌تواند به عوارض بالا و مرگ و میر منجر شود. از آنجایی‌که پری‌بیوتیک‌ها مانند FOS و GOS می‌توانند رشد میکروبیوتای روده را تحریک کنند (به‌عنوان مثال بیفیدوباکترها) و باکتری‌های بیماری‌زا را در نوزادان نارس کاهش دهند، احتمالا می‌توانند از NEC جلوگیری کنند. علاوه‌براین

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه می‌توانند با افزایش تخلیه معده و تحرک روده، تحمل تغذیه‌ای را بهبود بخشند (۴۳).

۵- کاربردهای گالاکتوالیگوساکاریدها

۵-۱ شیرخشک نوزاد

GOS یک ماده ایده‌آل برای شیرخشک نوزاد است. GOS به‌طور طبیعی در شیر مادر وجود دارد و اثرات سلامتی بخش زیادی دارد. GOS در حال حاضر در بسیاری از فرمول‌های شیرخشک نوزادان زیر شش ماه و بالای ۶ ماه مورد استفاده قرار می‌گیرد و شربت GOS برای فرمول‌های شیرخشک نوزادان مناسب است. افزودن مقادیر پایین GOS (۲۴/۰ گرم در هر ۱۰۰ میلی لیتر) به فرمول شیرخشک نوزادان می‌تواند باعث بهبود دفعات دفع، کاهش pH مدفوع و تحریک بیفیدوباکترها و لاکتوباسیل‌های روده‌ای همانند نوزادان تغذیه‌شده با شیر انسان شود. اثر بیفیدوژنیکی شناخته‌شده شیر انسان می‌تواند با استفاده از فقط GOS یا به همراه FOS، برای تقویت فرمول‌های شیرخشک بر پایه شیرگاو ایجاد شود.

علاوه‌براین، GOS از تکثیر و رشد بیماری‌زاها در طی این دوره آسیب‌پذیر محافظت می‌کند (۴۴).

۵-۲ شیرخشک مخصوص کودکان در حال رشد

این شیرخشک برای کودکان یک ساله یا بالاتر مناسب است. ترکیب آن با شیر مادر یا فرمول نوزادان متفاوت است. کودکان در حال رشد باید تمام مواد مغذی را برای رشد و نمو خود از مواد غذایی به دست آورند. GOS غالباً در این نوع شیرخشک استفاده می‌شود. به‌دلیل پایه شیری GOS و استفاده از آن در فرمول نوزادان، منطقی ترین اقدام، افزودن آن به شیرخشک کودکان در حال رشد است (۴۵).

۵-۳ محصولات لبنی

GOS را می‌توان به راحتی به محصولات لبنی مانند ماست، دوغ و نوشیدنی‌های بر پایه لبنیات به‌دلیل حلالیت عالی آن اضافه کرد. GOS را می‌توان قبل یا بعد از تخمیر به ماست شیرین یا میوه‌ای اضافه کرد. به‌دلیل پایداری در شرایط اسیدی، GOS

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

می‌تواند از قبل با میوه مخلوط شود. پس از افزودن GOS ، ساختار ماست کمی نرم‌تر و خامه‌ای تر به نظر می‌رسد. به‌علاوه، باکتری‌های ماست، GOS را نمی شکنند بنابراین تا زمان رسیدن به روده بزرگ به‌صورت غیرمتابولیزه باقی می‌ماند (۴۶).

۵-۴ نوشیدنی‌ها

به‌دلیل پایداری اسیدی و خاصیت تشکیل محلول‌های شفاف، GOS به راحتی به نوشیدنی‌هایی مانند آب میوه، نوشیدنی میوه‌ای، نوشیدنی‌های صبحانه و نوشابه‌ها افزوده می‌شود. GOS نسبت به حرارت و اسید پایدار است. کاهش میزان GOS تحت شرایط pH کم و دمای بالا مشاهده نشده است. از آنجایی‌که از نظر طعم بسیار خنثی است، هنگام افزودن GOS به نوشیدنی‌ها، طعم آنها تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد (۴۵).

۵-۵ محصولات نانوایی

از GOS می‌توان در تولید نان و محصولات نانوایی که فیبر زیاد، قند کم و کالری کمی دارند، استفاده کرد. GOS خصوصیات عملکردی مناسبی مانند کالری کم و ظرفیت نگهداری رطوبت بالا دارد که باعث می‌شود به‌عنوان یک جزء ایده‌آل برای محصولات نانوایی استفاده شود. علاوه‌براین می‌تواند مزایای سلامتی بخش دیگری مانند رفع یبوست و بهبود جذب مواد معدنی را نیز به همراه داشته باشد (۴۵).

۶- خصوصیات فیزیکوشیمیایی و استاندارد گالاکتوالیگوساکاریدها

از آنجایی‌که GOS تجاری با درجه خوراکی به‌صورت مخلوط است، انتظار می‌رود خصوصیات فیزیکوشیمیایی و عملکردهای فیزیولوژیکی آن تا حدی به ترکیب مخلوط بستگی داشته باشد که به نوبه خود کاربرد مناسب آن را تعیین می‌کند. با افزایش اندازه مولکول، ویسکوزیته، شیرینی، حلالیت، اسمولاریته، توانایی تشکیل کریستال و واکنش پذیری (واکنش میلارد) آن کاهش پیدا می‌کند (۴۷). در جدول ۳ خلاصه‌ای از ویژگی‌های متداول GOS گزارش شده است.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

جدول ۳- خصوصیات فیزیکوشیمیایی گالاکتوالیگوساکاریدها (۳۹).

حلالیت	ظاهر	ویسکوزیته	پایداری حرارتی	نقطه انجماد	خواص رطوبت‌پذیری	شیرینی
محلول در آب، حدود ۸۰٪ (وزنی/وزنی)	شفاف/ بی‌رنگ	شبیه به شربت ذرت با فروکتوز بالا	پایدار در pH= ۷ و دمای ۱۶۰ درجه سانتیگراد به‌مدت ۱۰ دقیقه، در pH= ۲ در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به‌مدت ۱۰ دقیقه؛ در pH= ۲ و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به‌مدت چند ماه	نقطه انجماد مواد غذایی را کاهش می‌دهد	دارای ظرفیت نگهداری رطوبت بالا و جلوگیری از خشک‌شدن بیش از حد	به‌طور معمول ۰/۳ تا ۰/۶ برابر ساکارز

GOS در ایالات متحده به‌طور کلی به‌عنوان یک ماده ایمن (GRAS)، در اتحادیه اروپا یک ماده غذایی غیرنوین (non-novel) و در ژاپن به‌عنوان ماده غذایی سلامتی بخش FOSHU)) پذیرفته شده است زیرا از ترکیبات شیر انسان و ماست سنتی هستند و می‌توانند از لاکتوز توسط باکتری‌های موجود در روده تولید شوند (۳۹). تنها اثر نامطلوب GOS که تاکنون شناخته شده است، اسهال اسمزی زودگذر است که هنگام مصرف بیش از حد GOS مشابه لاکتوز یا الکل‌های قندی غیرجذب‌شده (در افراد غیرتحمل‌کننده لاکتوز) اتفاق می‌افتد. تخمین‌زده می‌شود مقداری از GOS که اسهال اسمزی را تحریک نمی‌کند تقریبا ۳/۰ تا ۴/۰ گرم در کیلوگرم وزن بدن یا حدود ۲۰ گرم برای هر فرد باشد (۴۸). با وجود اینکه برخی از ادعاهای مربوط به تغذیه و سلامتی در مورد GOS توسط مؤسسه ایمنی مواد غذایی اروپا تایید شده است با این‌حال، ادعاهایی مانند تقویت سیستم ایمنی سالم در افراد سالمند، کمک به مدیریت علائم مرتبط با سندرم روده تحریک‌پذیر و تقویت ایمنی بدن یا تقویت سیستم دفاع از بدن هنوز بررسی نشده‌اند. مطالعات متابولیکی (در شرایط آزمایشگاهی و موجودات زنده) در مورد سمیت کوتاه‌مدت، سمیت طولانی‌مدت و مطالعات بالینی نوزادان و بزرگسالان انجام

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

شده است و از مصرف بی‌خطر GOS در فرمول‌های نوزادان و غذاهای مشخص شده پشتیبانی می‌کند. علاوه‌براین، استفاده از GOS در فرمول‌های شیرخشک نوزادان و غذاهای مشخص‌شده در ایالات متحده، اتحادیه اروپا، استرالیا و نیوزلند بی‌خطر تعیین شده است (۸).

فهرست منابع References

1. FDA. (2016). Generally recognized as safe determination for the use of VITAGOS in infant formula and selected conventional foods. Center for food safety and applied nutrition. Available at: https://www.fda.gov/media/100812/download.

2. Zeuner B., Teze D., Muschiol J. and Meyer A.S. (2019). Synthesis of human milk oligosaccharides: protein engineering strategies for improved enzymatic transglycosylation. Molecules. 24, 2033: 1-22.

3. Macfarlane G.T.S., Furrie E. and Cummings, J.H. (2004). Chemotaxonomic analysis of bacterial populations colonizing the rectal mucosa in patients with ulcerative colitis. Journal of Animal Sciences. 81, 2535-2545.

4. Knol J., Scholens P., Kafka C., Steenbakkers J., Gro S., Helm K., Klarczy, M., Schoofer H., Böckler H.M. and Wells J. (2005). Colon microflora in infants fed formula with galacto- and fructo-oligosaccharide: more like breast-fed infants. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 40, 36-42.

5. Martins G.N., Ureta M.M., Tymczyszyn E.E., Castilho P.C. and Gomez-Zavaglia A. (2019). Technological aspects of the production of fructo and galacto-oligosaccharides: enzymatic synthesis and hydrolysis. Frontiers in Nutrition. 6:78.

6. Fukuda H., Hama S., Tamalampudi S. and Noda H. (2008). Whole-cell biocatalysts for biodiesel fuel production. Trends in Biotechnology. 26(12): 668-673.

7. Osman A. Tzortzis G. Rastall R.A. and Charalampopoulos D. (2012). BbgIV is an important bifidobacterium galactosidase for the synthesis of prebiotic galactooligosaccharides at high temperatures. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 60, 740-748.

8. Torres.D.P.M, Gonc M.P.F., alves, Teixeira J.A. and Rodrigues L.R. (2010). Galacto-oligosaccharides: production, properties, applications, and significance as prebiotics. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 9: 438-454.

9. Panesar P.S., Panesar R., Singh R.S., Kennedy J.F. and Kumar H. (2006). Microbial production, immobilization and applications of β-D-galactosidase. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. 81, 530-43.

10. Iqbal S., Nguyen T., Nguyen H.A., Nguyen T.T., Maischberger T., Kittl R. and Haltrich D. (2011). Characterization of a heterodimeric GH2 β-galactosidase from *Lactobacillus sakei* Lb790 and formation of prebiotic galacto-oligosaccharides. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 59, 3803-3811.

11. Chen C.W., Ou-Yang C. and Yeh C.W. (2003). Synthesis of galactooligosaccharides and transgalactosylation modelling in reverse micelles. Enzyme and Microbial Technology. 33, 497-507.

12. Nguyen T., Splechtna B., Krasteva S., Kneifel W., Kulbe K.D., Divne C. and Haltrich D. (2007). Characterization and molecular cloning of a heterodimeric β-galactosidase from the probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* R22. FEMS Microbiology letters. 269, 136-144.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

13. Iqbal S., Nguyen T., Nguyen T.T., Maischberger T. and Haltrich D. (2010). β-galactosidase from *Lactobacillus plantarum* WCFS1: biochemical characterization and formation of prebiotic galacto-oligosaccharides. Carbohydrate Research. 345, 1408-1416.

14. Chen S., Wei D. and Hu Z. (2001). Synthesis of galacto-oligosaccharides by immobilized *Bacillus stearothermophilus*. Wei Sheng Wu Xue Bao. 41, 357-362.

15. Liu G.X., Kong J., Lu W.W., Kong W.T., Tian H., Tian X.Y. and Huo G.C. (2011). β-galactosidase with transglycosylation activity from *Lactobacillus fermentum* K4. Journal of Dairy Science. 94,5811-5820.

16. Hsu C.A., Lee S.L. and Chou C.C. (2007). Enzymatic production of galactooligosaccharides by β-galactosidase from *Bifidobacterium longum* BCRC 15708. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55, 2225-2230.

17. Rabiu B.A., Jay A.J., Gibson G.R. and Rastall R.A. (2001). Synthesis and fermentation properties of novel galacto-oligosaccharides by β-galactosidases from *Bifidobacterium* species. Journal of Applied and Environmental Microbiology. 67, 2526-2530.

18. Fara A., Sabater C., Palacios J., Requena T., Montilla A. and Zarate G. (2020). Prebiotic galactooligosaccharides production from lactose and lactulose by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CRL450. Food and Function. 11, 5875-5886.

19. Ohtsuka K., Tanoh A., Ozawa O., Kanematsu T., Uchida T. and Shinke R. (1990). Purification and properties of a β-galactosidase with high galactosyl transfer activity from *Cryptococcus laurentii* OKN-4. Journal of Fermentation and Bioengineering. 70, 301-307.

20. Shin H., Park J. and Yang J. (1998). Continuous production of galacto-oligosaccharides from lactose by *Bullera singularis* β-galactosidase immobilized in chitosan beads. Korean Journal of Applied Microbiology and Biotechnology. 33, 787-792.

21. Zheng P., Yu H., Sun Z., Zhang W., Fan Y. and Xu Y. (2006). Production of galacto-oligosaccharides by immobilized beta-galactosidase from *Aspergillus candidus*. Biotechnology Journal. 1, 1464-1470.

22. Rodriguez-Colinas B., de Abreu M.A., Fernandez-Arrojo L., de Beer R., Poveda A., Jimenez-Barbero J., Haltrich D., Ballesteros Olmo A.O., Fernandez-Lobato M. and Plou F.J. (2011). Production of galacto-oligosaccharides by the β-galactosidase from *Kluyveromyces lactis*: Comparative analysis of permeabilized cells versus soluble enzyme. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 59, 10477-10484.

23. Padilla B., Ruiz-Matute A. I., Belloch C., Cardelle-Cobas A., Corzo N. and Manzanares P. (2012). Evaluation of oligosaccharide synthesis from lactose and lactulose using □-galactosidases from *Kluyveromyces* isolated from artisanal cheeses. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 60, 5134-5141.

24. Nakkharat P. and Haltrich D. (2007). Beta-galactosidase from Talaromyces thermophilus immobilized on to Eupergit C for production of galacto-oligosaccharides during lactose hydrolysis in batch and packed-bed reactor. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 23, 759-764.

25. Albayrak N. and Yang S.T. (2002). Production of galacto-oligosaccharides from lactose by *Aspergillus oryzae* beta-galactosidase immobilized on cotton cloth. Journal of Applied Biotechnology and Bioengineering. 77, 8-19.

26. Nakai H., Baumann M.J., Petersen B.O., Westphal Y., Hachem M.A., Dilokpimol A., Duss J., Schols H.A. and Svensson B. (2010). *Aspergillus nidulans* β-galactosidase of glycoside hydrolase family 36 catalyses the formation of β-galacto-oligosaccharides by transglycosylation. FEBS Journal. 277, 3538-3551.

27. Onishi N. and Tanaka T. (1998). Galacto-oligosaccharide production using a recycling cell culture of *Sterigmatomyces elviae* CBS8119. Journal of Applied Microbiology. 26,136- 139.

28. Kittibunchakul S., van Leeuwen S.S., Dijkhuizen L., Haltrich D. and Nguyen T. (2020). Structural comparison of different galacto-oligosaccharide mixtures formed by β-galactosidases from lactic acid bacteria and bifidobacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 68, 4437-4446.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

29. Cardelle-Cobas A., Martinez-Villaluenga C., Villamiel M., Olano A. and Corzo N. (2008). Synthesis of oligosaccharides derived from lactulose and pectinex ultra SP-L. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56, 3328-3333.

30. Ganzle C. and Schwab C. (2012). Lactic acid bacteria fermentation of human milk oligosaccharide components, human milk oligosaccharides and galacto oligosaccharides. FEMS Microbilogy letters. 315, 141-148.

31. Karan R., Capes M.D., DasSarma P. and DasSarma S. (2013). Cloning, overexpression, purification and characterization of a polyextremophilic β-galactosidase from the Antarctic haloarchaeon *Halorubrum lacusprofundi*. BMC Biotechnology. 13, 3.

32. Klein M.P., Nunes M.R., Rodrigues R.C., Benvenutti E.V., Costa T.M.H., Hertz P.F. and Ninow J.L. (2012). Effect of the support size on the properties of β-galactosidase immobilized on chitosan: advantages and disadvantages of macro and nanoparticles. Journal of Biomacromolecules. 13, 2456-2464.

33. Czermak P., Ebrahimi M., Grau K., Netz S., Sawatzki G. and Pfromm P.H. (2004). Membrane-assisted enzymatic production of galactosyl-oligosaccharides from lactose in a continuous process. Journal of Membrane Science. 232(1-2):85-91.

34. Benkoulouche M., Faure R., Remaud-Simeon M., Moulis C. and Andre I. (2019). Harnessing glycoenzyme engineering for synthesis of bioactive oligosaccharides. Interface Focus. 9: 20180069.

35. Hernandez O., Ruiz-Matute A.I., Olano A., Moreno F.J. and Sanz M.L. (2009). Comparison of fractionation techniques to obtain prebiotic galactooligosaccharides. International Dairy Journal. 19, 531-536.

36. Davani-Davari D., Negahdaripour M., Karimzadeh I., Seifan M., Mohkam M., Masoumi S.J., Berenjian A. and Ghasemi Y. (2019). Prebiotics: definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. Foods. 8, 92: 1-27.

37. Walton G.E., van den Heuvel E.G., Kosters M.H., Rastall R.A., Tuohy K.M. and Gibson G.R. (2012). A randomised crossover study investigating the effects of galacto oligosaceharides on the fecal microbiota in men and women over 50 years of age. British Journal of Nutrition. 107, 1466-1475.

38. Moro G., Arslanoglu S., Stahl B., Jelinek J., Wahn U. and Boehm G. (2006). A mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of atopic dermatitis during the first six months of age. Archives of Disease in Childhood. 91, 814-819.

39. Nurmi J., Puolakkainen P. and Rautonen N. (2005). *Bifidobacterium lactis* spp. 420 up-regulates cyclooxygenase (Cox) 1 and down-regulates COX-2 gene expression in a Caco-2 cell culture model. Nutrition Journal. 51, 83-92.

40. Triantis V., Bode L. and van Neerven R.J.J. (2018). Immunological effects of human milk oligosaccharides. Frontiers in Pediatrics. 6, 190.

41. Kukkonen K., Savilahti E., Haahtela T., Juntunen-Backman K., Korpela R., Poussa T., Turre T. and Kuitunen M. (2007). Probiotics and prebiotic galactooligosaccharides in the prevention of allergic disease: a randomised, double blind, placebo-controlled trial. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 119, 192-8.

42. Kelly D., Conway S. and Aminov R. (2005). Commensal gut bacteria: mechanisms of immune modulation. Journal of Trends in Immunology. 26, 326-33.

43. Tzortzis G., Goulas A.K. and Gibson G.R. (2005). Synthesis of prebiotic galactooligosaccharides using whole cells of a novel strain, *Bifidobacterium bifidum* NCIMB 41171. Applied Microbiology Biotechnology. 68, 412-6.

44. Patel R.M. and Denning P.W. (2013). Therapeutic use of prebiotics, probiotics, and postbiotics to prevent necrotizing enterocolitis: What is the current evidence?. Journal of Clinics in Perinatology. 40, 11-25.

45. Boehm G. and Moro G. (2008). Structural and functional aspects of prebiotics used in infant nutrition. Journal of Nutrition. 138, 1818–28.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]

46. Sangwan V., Tomar S.K., Singh R.R.B., Singh A.K. and Ali B. (2011). Galactooligosaccharides: novel components of designer foods. Journal of Food Science. 76, R103- R111.

47. Curda L., Rudolfova J., Stetina J. and Dryak B. (2006). Dried buttermilk containing galactooligosaccharides: process layout and its verification. Journal of Food Engineering. 77, 468-471.

48. Crittenden R.G. and Playne M.J. (2002). Purification of food-grade oligosaccharides using immobilised cells of *Zymomonas mobilis*. Applied Microbiology and Biotechnology. 58(3): 297-302.

Microbial Galacto-oligosaccharides: Production, Biological Effects and Applications

Ali Amini Beidokhti[1], Monir-sadat Shakeri[2*]

1- Ph.D. student of Food Biotechnology, Research Institute of Food Science and Technology, Department of Food Biotechnology, Mashhad, Iran.

2- Research Institute of Food Science and Technology, Department of Food Biotechnology, Mashhad, Iran.

m.shakeri@rifst.ac.ir

Abstract

Galacto-oligosaccharides (GOS) are carbohydrate-based nutrients that can have health-related physiological activities, including production of short-chain fatty acids (SCFAs), energy transfer in colonocytes, and cell growth and differentiation of intestinal epithelial cells. GOSs have been identified as prebiotic compounds in animals and humans and have been used successfully in a wide range of food products such as bakery products, infant formula, dairy products and beverages. GOSs can be synthesized and produced enzymatically from soybean seed and lactose from cow's milk. The choice of the appropriate technology for the process of lactose hydrolysis or GOS production depends on the nature of the substrate and the properties of the enzyme. Reactor settings are another important factor that can affect the efficiency and composition of GOS mixtures. In terms of process parameters, the amount of GOS produced by galactosidase can be improved in different ways: (a) increasing the concentration of reactants, (b) reducing the water activity of the reaction, (c) changing the reaction equilibrium towards the final product by removing product in the environment and (d) change the synthesis conditions. In this paper, various aspects related to the production of GOS, including their types and the function of its beneficial compounds, their role as prebiotics and its industrial production through microbial methods, as well as strategies to improve the production process is discussed. The physical, chemical, physiological effects and applications of GOS are also summarized.

Keywords: Galacto-Oligosaccharides (GOS), Prebiotics, Enzymatic Synthesis, Infant Formula.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-09-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.4.2.1]