

بیوترانسفورماسیون و کاربردهای آن در صنایع غذایی

راحیل رضایی^{۱*}، مرتضی خمیری

۱- دانشجوی دکتری، ۲- دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

azar_rahil_64@yahoo.com

چکیده

طی سالیان دراز، میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی در اقتصاد و بهداشت جوامع داشته و در تولید مواد غذایی و نوشیدنی‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌اند. با گذشت زمان مشخص شد که میکروارگانیسم‌ها از طریق واکنش‌های شیمیایی مشخص و با کمک آنزیم‌های خود می‌توانند تغییراتی ویژه در برخی از ترکیبات بوجود آورند که این فرآیند "بیوترانسفورماسیون" یا "دگرگونی زیستی" نامیده می‌شود. بیوترانسفورماسیون با استفاده از بیوکاتالیست‌ها انجام می‌شود که ممکن است سلول کامل میکروارگانیسم یا آنزیم استخراج شده از آن باشد. از جمله مزیت‌های استفاده از میکروارگانیسم‌ها بعنوان بیوکاتالیست در این فرآیندها، می‌توان به خلوص بالای محصول تولیدی، حداقل واکنش‌های جانبی و شرایط متعادل فرایند اشاره کرد که سبب برتری نسبی آن نسبت به انواع فرآیندهای سنتزی شیمیایی می‌شود. از بیوترانسفورماسیون در موارد مختلفی از جمله تولید ترکیبات طبیعی مانند طعم دهنده‌ها، سمیت‌زدایی از ترکیبات سمی مانند آفلاتوکسین و یا تبدیل ترکیبات به اشکال فعال بیولوژیکی آن‌ها استفاده می‌شود. از کاربردهای عمده بیوترانسفورماسیون، تولید بیوتکنولوژیکی محصولات است که عمدتاً به روش‌های شیمیایی سنتز می‌شوند. تولید این محصولات از طرق بیوتکنولوژیکی می‌تواند پاسخی مناسب به تقاضای مصرف کنندگان در ارتباط با مصرف محصولات طبیعی و قدم برداشتن به سمت "فرآیندهای سبز" باشد.

کلمات کلیدی: میکروارگانیسم، بیوترانسفورماسیون، تجزیه زیستی، بیوکاتالیست‌ها

مقدمه

بیوترانسفورماسیون (Biotransformation) فرآیندی است که سال‌های زیادی مورد استفاده بشر قرار گرفته است. بیوترانسفورماسیون اتانول به استیک اسید توسط استوباکترها و تولید اسید از قندهای قابل تخمیر که توسط بابلان و مصریان مورد استفاده قرار گرفت، از ابتدایی‌ترین فرایندهای بیوترانسفورماسیون بوده است. استفاده از گلوکز ایزومراز یکی از مثال‌های

بیوترانسفورماسیون در صنایع پتروشیمی است که سالانه ۱۵ میلیون تن تولید می‌شود. این واکنش، گلوکز مواد نشاسته‌ای را به شربت با فروکتوز بالا تبدیل می‌کند که ویژگی شیرین‌کنندگی بالا، اما کالری‌زایی کمتر دارد. بیوترانسفورماسیون نوعی سیستم بیولوژیکی است که روی ترکیباتی که در حالت معمول سوبسترای آن سیستم نیستند، یک سری تغییرات شیمیایی را اعمال می‌کند. دو نوع

بیوترانسفورماسیون اصلی وجود دارد: بیوترانسفورماسیون زنبیوتیک‌ها (Xenobiotics) و بیوسنتزی. در بیوترانسفورماسیون زنبیوتیک‌ها، سوبسترا برای سیستم بیولوژیکی بیگانه است. این بیوترانسفورماسیون معمولا شامل یک یا دو مرحله آنزیمی می‌باشد که توسط آنزیم‌ها بر طیف وسیعی از سوبستراها انجام می‌گیرد. در بیوترانسفورماسیون بیوسنتزی، سوبسترا با حدواسط بیوسنتزی طبیعی ارتباط ساختاری دارد و موجب انعطاف‌پذیری مسیر متابولیکی می‌شود. هر دو نوع بیوترانسفورماسیون می‌توانند برای اهداف سنتزی مورد استفاده قرار گیرند.

بیوترانسفورماسیون نسبت به روش‌های معمول سنتز شیمیایی مزایایی دارد که شامل کارآیی بیشتر، صرفه اقتصادی، توانایی تولید مولکول‌هایی که با روش‌های سنتز سنتی مشکل است، اختصاصی بودن، شرایط متعادل واکنش، محصولات جانبی کمتر و ضایعات حلال کمتر می‌باشد و به عنوان یک روش دوست‌دار محیط زیست شناخته شده است. از طرفی در بیوترانسفورماسیون، از میکروارگانیسم‌هایی استفاده می‌شود که می‌توانند مقادیر زیادی بیومس و آنزیم‌های مختلف را در زمان کوتاه تولید کنند. میکروارگانیسم‌ها هم چنین قادرند آنزیم‌هایی را تولید کنند که به حرارت، اسید و قلیا تا حد زیادی مقاومت دارند.

با توجه به این‌که در سال‌های اخیر تبدیل میکروبی متابولیت‌های ثانویه مثل ترپنویدها، استروئیدها و ترکیبات آروماتیک به ترکیباتی با ارزش بیولوژیکی بالاتر یکی از مسائلی است که اهمیت زیادی پیدا کرده است و از طرفی صنایع شیمیایی به سمت "فرآورده‌های سبز" گرایش پیدا کرده‌اند (۳۶)،

بیوترانسفورماسیون به عنوان یکی از راه‌های رسیدن به این اهداف مورد توجه بسیاری قرار گرفته است.

کاتالیست‌های بیولوژیکی و بیوترانسفورماسیون

در بیوترانسفورماسیون جهت نشان دادن تغییرات یک سوبسترا به محصولات ویژه از کاتالیست‌های بیولوژیکی استفاده می‌شود. کاتالیست‌ها می‌توانند آنزیم، سلول‌های میکروبی (آزاد یا تثبیت شده) یا میکروارگانیسم‌های مرده باشند (۳۶). جدول ۱ سلول‌های میکروبی و آنزیم‌های پرکاربرد در بیوترانسفورماسیون را نشان می‌دهد. آنزیم‌های موجود در میکروارگانیسم‌ها قادرند طیف وسیعی از واکنش‌ها، از جمله قرار دادن اکسیژن در باندهای کربن-کربن و کربن-هیدروژن، افزودن اکسیژن به آلکن‌ها، انتقال واحدهای قندی یا استیل از یک سوبسترا به سوبسترای دیگر، هیدرولیز یا تشکیل آمیدها، اپوکسیدها، استرها و نیتریل‌ها را انجام دهند. هیدروژناسیون، هیدرولیز و حذف واحدهای کوچک، اپی‌مریزاسیون و ایزومریزاسیون و تشکیل باندهای کربن-کربن، کربن-گوگرد، کربن-اکسیژن از دیگر واکنش‌های انجام شده توسط میکروارگانیسم‌ها هستند (۱۳). بنابراین واکنش‌هایی که آنزیم‌ها می‌توانند آن‌ها را کاتالیز کنند، گسترده است و تنها مسئله‌ای که استفاده از آنزیم را در این واکنش‌ها محدود می‌کند، جداسازی، پایداری و بنابراین هزینه آن است. البته تحت تاثیر پیشرفت‌های مهندسی ژنتیک و تکنیک‌های DNA نوترکیب در این زمینه، پتانسیل تولید آنزیم‌هایی که قبلا خیلی گران‌قیمت بودند، تسهیل شده است و بنابراین بخشی از محدودیت‌های کاربرد آنزیم بعنوان بیوکاتالیست از بین رفته است. اما بطور کلی، کاربرد فرآورده‌های آنزیمی در مقیاس بزرگ به

"رضایی و همکاران، بیوترانسفورماسیون و کاربردهای آن در صنایع غذایی"

فشار و دمای بالا، و گاهی کاتالیست‌های سمی می‌باشد. جداسازی محصول تولید شده از مخلوط پیچیده‌ی محصولات، از دیگر معایب مربوط به سنتز شیمیایی است (۳۷). مهمترین مزیت استفاده از بیوکاتالیست‌ها این است که در pH خنثی، دمای اتاق و فشار اتمسفر عمل می‌کند و واکنش‌های اختصاصی را کاتالیز می‌کند.

آنزیم‌هایی محدود می‌شود که ارزان قیمت بوده و در واکنش تبدیلی مورد نظر، فعالیت بالایی داشته و نیاز به کوفاکتور نداشته باشند (۱۷). این کاتالیست‌های بیولوژیکی ابزارهای مهمی در صنایع شیمیایی و صنایع دارویی جهت تولید سورفاکتانت‌های زیستی، روان کننده‌های زیستی (biolubricants) و حدواسط‌های دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۴۶). سنتز شیمیایی این ترکیبات، منوط به استفاده از

جدول ۱- سلول‌های میکروبی (A) و آنزیم‌های (B) پر کاربرد در بیوترانسفورماسیون

A		B	
Biocatalyst	Percentage of total usage	Enzyme	Percentage of total usage
Baker's yeast	30	Lipases (all types)	21
<i>Pseudomonas putida</i>	11	Chymotrypsin	3
<i>Aspergillus niger</i>	8	Acylases	2.7
<i>Beauveria bassiana</i> , <i>Beauveria</i> <i>sulfurescens</i> , <i>Sporotrichum sulf-</i> <i>urescens</i>	6	Transferases	2.5
<i>Cunninghamella elegans</i>	5	Esterases	2.5
<i>Rhizopus nigricans</i> , <i>Rhizopus sto-</i> <i>lonifer</i>	5	Subtilisin	2.1
<i>Curvularia lunata</i>	4	Aldolases	2.1
<i>Rhizopus arrhizus</i> , <i>Rhizopus</i> <i>oryzae</i>	4	Alcohol dehydrogenases	1.4
<i>Cunninghamella echinulata</i>	3.5	Hydrolases	1.1
<i>Mortierella isabellina</i>	3	Glycosidases	1.0

محدود می‌شوند و این چنین واکنش‌ها معمولاً در حد مقادیر میلی گرم از مواد مورد نظر انجام می‌گیرد. ماهیت آنزیم، نوع واکنش بیوترانسفورماسیون و نیاز به کوفاکتور از عوامل تعیین کننده روش استفاده از آنزیم هستند. جهت انجام آزمون، استفاده از شکل تثبیت شده آنزیم ترجیح داده می‌شود تا امکان بازیافت کاتالیست و جداسازی محصول تسهیل شود (۱۷).

سلول‌های میکروبی

بیوکاتالیست‌های میکروبی، امکان دسترسی به گستره‌ای از واکنش‌ها را در زمانی که امکان استفاده از

آنزیم‌های ایزوله شده

استفاده از آنزیم‌های ایزوله شده برای بیوترانسفورماسیون، بستگی به در دسترس بودن آنزیم برای واکنش تبدیلی مورد نظر و شرایط بهینه دما، pH، حلال و سوبسترا دارد. این چنین آنزیم‌هایی معمولاً در مقیاس میلی گرم تا گرم عمل می‌کنند.

اگرچه بعضی از آنها برای ده‌ها یا صدها گرم سوبسترا جوابگو هستند، اما بسیاری از بیوترانسفورماسیون‌های داخلی که با آنزیم کاتالیز می‌شوند، بطور جدی تحت تاثیر عامل دسترسی آنزیم

کاربردهای بیوترانسفورماسیون

تبدیل ترکیبات با ارزش بیولوژیکی کم به ترکیبات

فعال بیولوژیکی

تبدیل ایزوفلاون گلیکوزید (isoflavone glycoside) به ایزوفلاون آگلیکون (isoflavone aglycone) یکی از موارد مهم بیوترانسفورماسیون است که در سال‌های اخیر مورد مطالعه قرار گرفته است، تا راه‌های افزایش ارزش بیولوژیکی ایزوفلاون‌ها بررسی شود. ایزوفلاون‌ها ترکیبات فلاونوئیدی هستند که به‌وفور در سویا دیده می‌شود. مواد غذایی و پروتئین استخراج شده از لوبیای سویا حاوی مقادیر قابل ملاحظه‌ای از ایزوفلاون هستند (۷). ایزوفلاون‌ها به چهار گروه تقسیم می‌شوند: آگلیکون‌ها (دایدزئین (daidzein)، جنیستئین (genistein) و گلاسیستئین (glycitein)، گلیکوزیدها (دایدزین (daidzin)، جنیستین (genistin) و گلاسیستین (glycitin)، استیل گلیکوزیدها (استیل دایدزین، استیل جنیستین و استیل گلاسیستین) و مالونیل گلاسیستین‌ها (مالونیل دایدزین، مالونیل جنیستین و مالونیل گلاسیستین). اشکال شیمیایی این ترکیبات حایز اهمیت است، زیرا بر قابلیت دسترسی زیستی آن‌ها، فعالیت بیولوژیکی و بنابراین اثرات فیزیولوژیکی آن‌ها تأثیرگذار است (۳۵). در واقع فعالیت بیولوژیکی ایزوفلاون‌ها، بسته به شکل شیمیایی آن‌ها متغیر است و ساختار شیمیایی آن‌ها یک فاکتور محدود کننده برای جذب آن‌ها در مسیر گوارشی و تعیین کننده میزان جذب آن‌ها خواهد بود. بطوری‌که اشکال آگلیکون آن‌ها آسانتر جذب شده و نسبت به انواع کونژوگه، قابلیت دسترسی زیستی بیشتری دارند. اساساً ایزوفلاون‌ها در لوبیای سویا و در اکثر مواد غذایی حاوی سویا به شکل مخلوط

آنزیم وجود ندارد، فراهم می‌کنند. هیدروکسیلاسیون در کربن‌های اشباع و دی‌اکسیژنه کردن ترکیبات آروماتیک، نمونه‌ای از این واکنش‌ها هستند. بیوترانسفورماسیون‌های کاتالیز شده با سلول‌های میکروبی ممکن است توسط کشت در حال رشد، در کشت جایگزین یا محیط حداقل یا سلول‌های تثبیت شده انجام شود (۱۷).

مراحل بیوترانسفورماسیون

طی بیوترانسفورماسیون مواد شیمیایی به اشکال قطبی‌تر با واکنش‌پذیری کمتر تبدیل می‌شوند. فرایندهای بیوترانسفورماسیون، اغلب به دو مرحله تقسیم می‌شوند: فاز یک و دو. در فاز یک بیوترانسفورماسیون، ساختار اصلی مولکول از طریق فرایندهایی مانند احیای باندهای دوگانه، افزودن گروه هیدروکسیل، حذف اجزای کوچک مثل آمین‌ها و هالوژن‌ها، اصلاح می‌شود. در این فاز، معمولاً مولکول‌ها قطبی‌تر، واکنش‌پذیری آن‌ها کمتر و حساسیت آن‌ها به فاز دو بیوترانسفورماسیون بیشتر می‌شود. مونواکسیژنه کردن، معمولترین فرایند بیوترانسفورماسیون فاز یک است. در این فرایند یک اتم اکسیژن که از مولکول اکسیژن بدست آمده است، در ساختار مولکولی ماده شیمیایی قرار داده می‌شود. فاز دو بیوترانسفورماسیون، یک فرایند آنزیمی است که مولکول‌های قطبی کوچک به ماده شیمیایی اضافه شوند تا آن‌ها را قطبی‌تر نموده، واکنش‌پذیری آن‌ها را کمتر نماید. فاز یک و دو اغلب پی‌درپی اتفاق می‌افتند بطوری‌که هیدروکسیلاسیون فاز یک، مسیری برای عملیات کونژوگه کردن فاز دو است.

"رضایی و همکاران، بیوترانسفورماسیون و کاربردهای آن در صنایع غذایی"

مرکبی از کونژوگه‌های گلیکوزیدی وجود دارند که در این حالت از نظر زیستی قابل دسترس نیستند (۲۹) زیرا ایزوفلاون‌های کونژوگه شده با گلوکز، به میزان زیادی قطبی و محلول در آب هستند. این ترکیبات به سختی جذب سلول‌های سطحی روده می‌شوند (۳۵). بر همین اساس تنها ایزوفلاون آگلیکون‌ها اثرات سلامت بخش بر بدن دارند. ۳ ترکیب ایزوفلاون آگلیکون شامل دایدزئین، گلاسیستین و جنیستین که در ایزوله سویا یافت می‌شوند، در حداقل مقدار ۵ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ گرم وجود دارند، در صورتی که برای ایجاد اثرات مفید مقادیر بیشتری (۳۰ تا ۴۰ میلی‌گرم در روز) از آگلیکون‌ها باید در ماده غذایی وجود داشته باشد (۲۶). بنابراین لازم است که ایزوفلاون گلیکوزید تبدیل به ایزوفلاون آگلیکون شود. از آنجایی که در مسیر گوارشی سرعت این تبدیل بسیار پایین است و بستگی به رژیم، جنس و مکان دارد، برای شکستن پیوند بتاگلوکوزیدی بین آگلیکون و بتاگلوکوزید و آزادسازی آگلیکون، استفاده از آنزیم بتاگلوکوزیداز لازم است.

آنزیم‌های میکروبی می‌توانند طیف وسیعی از مولکول‌ها را که از طریق رژیم غذایی وارد می‌شوند، به ترکیبات مضر (سرطان‌زا، جهش‌زا یا پیش‌ساز سلول‌های سرطانی) یا ترکیبات مفید برای سلامت (مثل فیتواستروژن‌ها) تبدیل نمایند (۴۸). هیدرولیز گلوکز انتهایی از ایزوفلاون‌ها در روده هم از طریق آنزیم بتاگلوکوزیداز میکروبی یا انسانی انجام می‌شود. بسیاری از میکروارگانیسم‌ها از جمله پروبیوتیک‌ها که در صنعت لبنیات کاربرد زیادی دارند، قادر به تولید آنزیم‌های درون سلولی از جمله بتاگلوکوزیداز هستند که نقش مهمی در بهبود فعالیت بیولوژیکی

فرآورده‌های سویا دارند (۳۰). به عنوان مثال بیفیدوباکتریوم‌ها (*Bifidobacterium*) یکی از تولید کنندگان آنزیم بتاگلوکوزیداز هستند. علاوه بر این، قابلیت تولید چندین گونه گلیکوزیل هیدرولاز برای الیگوساکاریدها، پلی‌ساکاریدها و ترکیبات گلیکوزیده را دارا هستند (۳۵).

Otieno و Shah (۲۹) تغییرات تبدیل ایزوفلاون‌ها در شیر سویا با استفاده از بتاگلوکوزیدازهای خارجی و داخلی حاصل از پروبیوتیک‌ها مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه فعالیت بتاگلوکوزیدی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک شامل *Lactobacillus*، *Bifidobacterium animalis lactis* و *Lactobacillus casei acidophilus* در شیر سویا ارزیابی شد. نتایج نشان داد که آنزیم‌های خارج سلولی، نسبت به آنزیم‌های داخل سلولی هیدرولیز ایزوفلاون گلیکوزیدها را سریع‌تر انجام می‌دهند. بیشترین غلظت آگلیکون‌ها به ترتیب در نمونه‌های حاوی بیفیدوباکتریوم لاکتیس، لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی دیده شد.

تبدیل زیستی ایزوفلاون دایدزین و دایدزئین با استفاده از گونه‌های بیفیدوباکتریوم نیز مورد بررسی قرار گرفته است (۳۵). در این تحقیق ۲۲ گونه از بیفیدوباکتریوم جهت تبدیل دایدزین به دایدزئین مورد استفاده قرار گرفتند و مشخص شد که اکثریت این گونه‌ها توانایی آزاد سازی آگلیکون از دایدزین را با بازده بیش از ۹۰ درصد دارا هستند. فقدان بتاگلوکوزیداز در باکتری‌ها سبب ناتوانی در هیدرولیز دایدزین می‌شد. به طور کل مشخص شد گونه‌های پروبیوتیکی انتخاب شده، توانستند سرعت آزادسازی دایدزئین را افزایش داده و بنابراین در بهبود دسترسی

زیستی آن‌ها نقش داشته باشند.

Shah و Prasad (۳۳) تبدیل ایزوفلاون گلیکوزید به آگلیکون‌ها را در ایزوله پروتئین سویا با استفاده از آنزیم‌های بیفیدوباکتریوم انیمالیس و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس مطالعه کردند. آن‌ها مقادیر مختلف آنزیم (۰/۱، ۰/۵ و ۱ گرم در لیتر) را جهت هیدرولیز گلیسیتین به حالت بیولوژیکی فعال مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که بیوترانسفورماسیون گلیسیتین در بیشترین مقدار آنزیم (۱ گرم در لیتر) بیفیدوباکتریوم لاکتیس و بعد از ۱۲ ساعت تخمیر، در حداکثر بود. مقایسه آنزیم‌های بدست آمده از دو باکتری نشان داد که آنزیم حاصل از لاکتوباسیلوس نسبت به بیفیدوباکتریوم، تبدیل ایزوفلاون گلیکوزید را بیشتر انجام داده است.

در مطالعه‌ای، ایزوله پروتئین سویا به مخلوط ماست اضافه شد تا مقدار ایزوفلاون‌های فعال بیولوژیکی افزایش یابد (۳۲). نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از ایزوله پروتئینی سویا بطور قابل ملاحظه‌ای متابولیسم لاکتوز توسط استارترهای ماست را افزایش داد. استارترها توانستند ۷۲/۸ درصد از ایزوفلاون گلیکوزیدهای غیرفعال را به ایزوفلاون آگلیکون تبدیل کنند و مقدار آن را از ۱/۳۵ به ۱۵/۰۱ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ گرم برسانند.

تاثیر فرآیندهای مختلف بر میزان تبدیل ایزوفلاون گلیکوزید به ایزوفلاون آگلیکون در سویا

انتظار می‌رود غنی‌سازی شیر سویا با پودر شیرخشک، ارزش تغذیه‌ای و اثرات سلامتی بخش ماست سویا را افزایش دهد. چون باعث رشد استارترهای ماست شده و احتمالاً میزان تبدیل ایزوفلاون گلیکوزیدها را افزایش خواهد داد. اثرات تقویتی غنی‌سازی با

شیرخشک بر بیوترانسفورماسیون احتمالاً بخاطر حضور لاکتوز در شیرخشک است. چون برای استفاده از لاکتوز، میکروارگانیسم باید بتاگالاکتوزیداز تولید کند و این آنزیم مولکول لاکتوز را به D-گلوکز و D-گالاکتوز می‌شکند. این آنزیم همچنین قادر است ایزوفلاون گلیکوزید را به ایزوفلاون آگلیکون تبدیل کند. بهبود زنده‌مانی لاکتوباسیلوس و استرپتوکوکوس هم می‌تواند دلیل دیگری بر افزایش میزان بیوترانسفورماسیون ایزوفلاون گلیکوزید باشد. در تحقیقی Pham و Shah (۳۲) تاثیر افزودن پودر شیر بدون چربی به ماست سویا را بر میزان بیوترانسفورماسیون ایزوفلاون گلیکوزید به اشکال فعال بیولوژیکی، طی دوره نگهداری مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه ماست سویا با درصدهای مختلف شیرخشک (۰، ۲، ۴ و ۶ درصد) تهیه شد و از *Streptococcus thermophilus* به عنوان استارتر استفاده شد. نتایج نشان داد که علاوه بر بهبود زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های دارای شیرخشک، بیوترانسفورماسیون ایزوفلاون گلیکوزید به ایزوفلاون آگلیکون هم در این نمونه‌ها در مقایسه با نمونه‌های کنترل افزایش یافت.

تیمارهای فیزیکی مثل اولتراسونیک هم مورد بررسی قرار گرفته‌اند تا تاثیر آن بر بیوترانسفورماسیون ایزوفلاون گلیکوزید مشخص شود. Ewe و همکاران (۱۵) تاثیر اولتراسوند را بر رشد *Lactobacillus fermentum* و تبدیل زیستی ایزوفلاون‌های شیر سویا بررسی کردند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که سلول‌های اولتراسوند شده اولیه، در مقایسه با نمونه‌های کنترل، رشد بیشتری را نشان دادند. این

"رضایی و همکاران، بیوترانسفورماسیون و کاربردهای آن در صنایع غذایی"

افزایش رشد، همراه با افزایش فعالیت ویژه آنزیم‌های بتاگلوکوزیداز داخل و خارج سلولی بوده که در نهایت منجر به افزایش تبدیل ایزوفلاون گلیکوزید به آگلیکون می‌شود. این نتایج پیشنهاد می‌کند که اولتراسوند می‌تواند فعالیت زیستی شیر سویای تخمیر شده با لاکتوباسیلوس فرمنتوم را افزایش داده و در توسعه غذاهای فراسودمند مفید واقع شود.

بیوترانسفورماسیون سایر ایزوفلاون‌ها

یکی دیگر از ایزوفلاون‌هایی که تبدیل زیستی آن مورد مطالعه قرار گرفته است، ایزوفلاون‌های گیاه *Pueraria flos* می‌باشد. این گیاه به عنوان افزودنی در مواد غذایی و نوشیدنی‌های تهیه شده از چای مورد استفاده قرار می‌گیرد. گزارش شده است که ایزوفلاون‌های *Pueraria flos* خواص ضد دیابتی، ضد استرس و آنتی اکسیدانی دارند (۲۰). تکتوریدین (*tectoridin*) مهمترین ایزوفلاون این گیاه است و فقط حاوی یک بتا دی‌گلوکز است که می‌تواند توسط باکتری‌های گوارشی به تکتوریجنین (*tectorigenin*) تبدیل شود (۳۱). تکتوریجنین در درمان سرطان پروستات، فعالیت ضد توموری و اثرات استروژنی، فعالیت بالقوه بیشتری نسبت به تکتوریدین دارد. پیشنهاد شده که باکتری‌های گوارشی، نقش کلیدی در متابولیسم و دسترسی زیستی ایزوفلاون‌ها دارد، چون آن‌ها ایزوفلاون گلیکوزید تکتوریدین را توسط بتا دی گلوکوزیداز هیدرولیز کرده و تکتوریجنین زیست فعال را آزاد می‌کند. این عمل توسط تعدادی از باکتری‌ها مانند *Lactobacillus ermentum*، *Bifidobacterium berevi*، *Lactobacillus gasseri* انجام می‌شود درحالی‌که فعالیت بتاگلوکوزیداز بازدهی تغییرات توسط این باکتری‌ها متفاوت است

(۴۴).

در تحقیقی ۹ گونه از لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم مورد بررسی قرار گرفته‌اند تا گونه‌هایی که فعالیت بتاگلوکوزیدازی بالایی دارند، شناسایی شده و توانایی این باکتری‌ها در تبدیل تکتوریدین به تکتوریجنین سنجیده شود (۲۴). نتایج حاصل از این تحقیق حاکی از آن بود که *Lactobacillus reuteri* دارای بالاترین فعالیت بتاگلوکوزیدازی خارج سلولی بوده، درحالی‌که فعالیت بتاگلوکوزیدازی داخل سلولی *Bifidobacterium adolescentis* بالاتر از سایر گونه‌ها بود. از بین باکتری‌های مورد بررسی، لاکتوباسیلوس روتری، لاکتوباسیلوس رامنوس و بیفیدوباکتریوم ادوله سنتیس، به ترتیب بیشترین مقدار تبدیل تکتوریدین را نشان دادند بطوری‌که لاکتوباسیلوس روتری تقریباً درصد از این ترکیب را هیدرولیز نمود.

تولید ترکیبات معطر

ترکیبات معطر و آروماتیک مورد استفاده در مواد غذایی، ارزش زیادی در بازارهای جهانی دارند. این ترکیبات حدود ۲۵ درصد از افزودنی‌های مواد غذایی را تشکیل می‌دهند (۱۰). اغلب ترکیبات طعم‌دهنده مواد غذایی، از طریق سنتز شیمیایی یا استخراج از منابع طبیعی بدست می‌آیند (۳۸). استخراج این ترکیبات از منابع طبیعی مثل گیاهان، بدلائل مختلفی از جمله مسائل اقتصادی و اجتماعی، فصلی بودن گیاه، رشد صنعت و غیره در حال تحلیل است (۵) و از طرفی هم بخاطر خطرات احتمالی ناشی از مواد خوراکی سنتزی، تقاضای زیادی در ارتباط با مصرف مواد غذایی طبیعی وجود دارد و مصرف کنندگان تمایل دارند محصولات را خریداری کنند که برچسب

"طبیعی" داشته باشند. علاوه بر این، بسیاری از این ترکیبات طعم دهنده خواص دیگری مانند فعالیت‌های ضد میکروبی، فعالیت آنتی اکسیدانی، خصوصیات کاهش چربی و تنظیم فشارخون دارند (۳). فرایند بیوترانسفورماسیون، یکی از راه‌هایی است که از طریق آن بتوان مواد معطر و خوشبو تهیه نمود.

بیوترانسفورماسیون به عنوان یک ابزار مهم در بازیافت منابع طبیعی، با تبدیل آن‌ها به محصولات با ارزش، در سال‌های اخیر شتاب زیادی گرفته است و منجر به افزایش تمرکز تحقیقات بر تولید میکروبی طعم دهنده‌های زیستی (bioflavor) شده است. بعضی از این فرایندها در حد تجاری‌سازی نیز انجام شده است (۵۰). بسیاری از مواد معطر و طعم دهنده تا کنون از طریق بیوترانسفورماسیون با استفاده از میکروارگانیسم‌ها تهیه شده‌اند، اگرچه هنوز هم تقریباً نزدیک ۸۰ درصد از طعم دهنده‌ها به طرق شیمیایی تولید می‌شوند. دخالت روش‌های بیوتکنولوژیکی به دلیل اختصاصی بودن محصول تولید شده، امکان تولید در تمام طول سال و امکان استفاده از مواد خام جایگزین مثل باقیمانده‌ها و ضایعات صنایع کشاورزی بعنوان سوبسترای رشد میکروارگانیسم‌ها نسبت به روش‌های سنتی استخراج مواد معطر از گیاهان ارجحیت دارند.

بیوترانسفورماسیون ترپن‌ها

ترپن‌ها با بیش از ۲۲۰۰۰ ترکیب شناخته شده، بزرگترین گروه از ترکیبات طبیعی هستند. بیوترانسفورماسیون ترپن‌ها، روشی قابل توجه برای تولید ترکیبات معطر است، زیرا تحت شرایط متعادل اتفاق می‌افتد، ضایعات سمی تولید نمی‌کند و تولید آرومای طبیعی را امکان‌پذیر می‌کند که می‌تواند در

صنایع مورد استفاده قرار گیرد (۱۴). بسیاری از ترکیباتی که در بین طعم دهنده‌ها مورد توجه هستند، می‌توانند از طریق بیوترانسفورماسیون ترپن‌ها بدست آیند. در واقع ترپن‌ها پیش‌سازهای عالی برای این ترکیبات هستند. ترپن‌ها مخصوصاً مشتقات اکسیژنه آن‌ها -ترپن‌ویدها- کاربرد گسترده‌ای در صنعت طعم دهنده‌ها دارند. از طریق بیوترانسفورماسیون، پیش‌سازهای مونوترپنی به مشتقات اکسیژنه با ارزش تبدیل می‌شوند (۴۵). بیوترانسفورماسیون ترپن‌ها با استفاده از میکروارگانیسم‌ها، از نظر اقتصادی هم پتانسیل بالایی دارد، زیرا اجازه می‌دهد که طعم دهنده‌های خالص تحت شرایط متعادل و به شکل طبیعی تولید شوند (۱۲). اما اجرای این فرایند از نظر تکنیکی مشکل است، زیرا مونوترپن‌ها از نظر شیمیایی ناپایدارند، حلالیت کمی دارند، خاصیت سمی داشته و فرار هستند. هم چنین با ایجاد مسیرهای متابولیک متعدد، مخلوطی از محصولات بوجود می‌آید که باعث شده غلظت محصول و بازده کم بوده و انباشته شدن و ذخیره محصول کم باشد (۴۵). با این حال بسیاری از مطالعات در زمینه تولید مواد معطر از ترپن‌ها انجام گرفته است.

فرآوری محصولات کشاورزی، معمولاً مقادیر زیادی ضایعات تولید می‌کند، که تجمع آن‌ها می‌تواند مشکلات جدی در رابطه با آلودگی محیط زیست ایجاد کند. بیوترانسفورماسیون با استفاده از این ضایعات نیز مورد توجه قرار گرفته است. به عنوان مثال لیمونن یک مونوترپن هیدروکربنی ارزان‌قیمت بوده و یکی از ترپن‌هایی است که بطور گسترده در طبیعت و ضایعات کشاورزی وجود دارد. بخاطر ساختار شیمیایی مشابه آن با بسیاری از

تولید بیوتکنولوژیکی وانیل

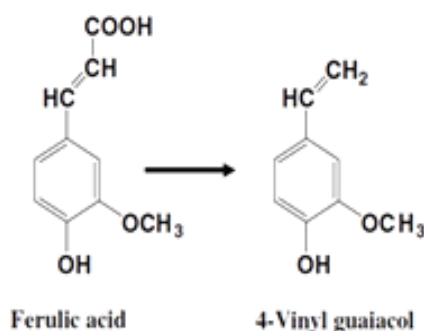
وانیل (۴-هیدروکسی-۳-متوکسی بنزالدهید) یکی از ترکیبات مهم طعم‌دهنده و آروماتیک است که از لوبیا یا غلاف *Vanilla orchid* گرمسیری بدست می‌آید و از نظر کمی، یکی از مهمترین افزودنی‌های طعم‌دهنده آروماتیک در مواد غذایی، نوشیدنی‌ها، صنایع پزشکی و داروسازی است. وانیل بدلیل خصوصیات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی، می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده مواد غذایی نیز استفاده شود (۱۱). اما بوی قوی وانیل، معمولا کاربرد آن را در این زمینه محدود می‌کند. کمتر از ۱ درصد از تولید جهانی وانیل بطور طبیعی حاصل می‌شود، زیرا قیمت تولیدی آن در مقایسه با وانیل تولید شده به روش‌های شیمیایی بسیار بالاست (۴۲). قیمت بالا و متغیر وانیل طبیعی ناشی از دلایل مختلفی می‌باشد، از جمله دسترسی کم، نوسانات آب و هوایی، گرده افشانی و بدلیل افزایش تقاضای مصرف کنندگان برای طعم‌های طبیعی و سالم، صنایع تولید کننده تمایل به تولید وانیل طبیعی از دیگر منابع طبیعی از طریق تبدیل زیستی دارند. برای رسیدن به این هدف و قابل توجه بودن محصول از نظر اقتصادی، باید یک پیش‌ساز که از نظر شیمیایی به ساختار وانیل شبیه باشد، در عین حال ارزان قیمت و به میزان زیاد قابل دسترس باشد، استفاده شود. فرولات و اسید فرولیک یک محصول شناخته شده است که از تجزیه لیگنین توسط قارچ‌ها و باکتری‌ها بدست می‌آید و بعنوان یک ماده خام برای تولید ترکیبات فنولی طبیعی مورد استفاده قرار گرفته است (۴۲). این ترکیب یک اسید فنولی است که به شکل آزاد یا متصل در گیاهان موجود است (۴۹). فرولات آزاد می‌تواند از طریق تیمارهای آنزیمی و

مونوترپنویدهای موجود در بوهای خوشایند مثل کاروئول، پرلیل الکل، کاروون، منتول و آلفا ترپینئول، می‌توان از لیمون بعنوان یک پیش‌ساز در سنتز این ترکیبات معطر استفاده کرد (۴). اخیرا از فوزاریم *oxysporum*، بر اساس خاصیت تولید بالای آلکالین لیپاز خارج سلولی جهت بیوترانسفورماسیون لیمون به آلفا ترپینئول استفاده شده است (۲۷). نتایج نشان داد که تولید لیمون-۲ا دی‌ال از S- (-) لیمون بوسیله یک آنزیم دورن سلولی انجام می‌شود و به شدت تحت تاثیر سیستم هوازی است و به نظر می‌رسد به کوفاکتور وابسته باشد. در شرایط بی‌هوازی، هیچ محصولی ایجاد نمی‌شود. در این مطالعه تولید حد واسطه‌هایی مانند لیمون-۲ا-اپوکسید مورد بررسی قرار گرفت که این نتایج نشان می‌دهد واکنش اساسا به سمت تولید دی‌ال پیش می‌رود.

Bier و همکاران (۵) در یک بررسی میکروارگانیزم‌هایی که قابلیت بیوترانسفورماسیون مواد ترپنی داشتند، را جداسازی کردند. قابلیت این میکروارگانیزم‌ها در استفاده از منابع طبیعی سوبسترای ترپنی (ضایعات کشاورزی) مورد آزمون قرار گرفت. در این مطالعه از لیمون و بتاپین بعنوان سوبسترا استفاده شد و محصولات معطر بدست آمده، از طریق GC-MS شناسایی شدند. از میان ۲۰ میکروارگانیزم ایزوله شده، ۱۱ میکروارگانیزم به لیمون در غلظت ۱ درصد و ۱۶ مورد به بتاپین در غلظت ۱ درصد مقاوم بودند و ترکیبات مهم و مورد استفاده‌ای مانند کاروون و پرلیل الکل از بیوترانسفورماسیون گونه‌های مختلف ایزوله شده، بدست آمد.

فیزیکی از بقایای کشاورزی مثل سبوس غلات و پالپ چغندر قند بدست آید (۴۷). استفاده از فرولیک اسید به عنوان منبع اولیه کربن توسط باکتری‌ها، منجر به تولید حد واسطه‌های کاتابولیکی مثل ۴- وینیل گوایاکول، وانیلیک اسید و وانیل می‌شود (۹ و ۴۳). 4VG یک ترکیب فنولی فرار است که ارزش اقتصادی ۴۰ برابر بیشتر از فرولیک اسید را داراست و می‌تواند به ترکیباتی مثل استووانیل، اتیل گوایاکول و وانیل تبدیل شود (۲۲). این ترکیب به میزان زیادی در مواد غذایی و نوشیدنی‌های الکلی به عنوان طعم دهنده بکار می‌رود. 4VG در سیب‌های پخته، آب گریپ‌فروت، لوبیای خام، قهوه، توت‌فرنگی، بادام برشته شده و دانه کنجد سفید وجود دارد. ارگانسم‌های مختلفی مانند آسپرژیلوس، باسیلوس، کاندیدا، کورینه باکتریوم، فوزاریوم و سودوموناس، توانایی تبدیل فرولیک اسید به گستره وسیعی از

ترکیبات آروماتیک را دارند. در تحقیقی توانایی *Lactobacillus farciminis* برای تبدیل فرولیک اسید به 4VG مورد بررسی قرار گرفت (۱). بعد از ۵ ساعت انکوباسیون لاکتوباسیلوس در حضور فرولیک اسید در محیط MRS، فرآیند بیوترانسفورماسیون آغاز شد. نتایج مشخص کرد که بهترین حالت تولید، بعد از ۴۸ ساعت اتفاق می‌افتد. بر طبق مشاهدات تولید 4VG بطور معنی‌داری، تحت تاثیر غلظت اولیه فرولیک اسید بوده و مقادیر ۱، ۱۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر فرولیک اسید به ترتیب منجر به تولید ۰، ۳/۳۴ و ۱۰/۲۶ میلی‌گرم در لیتر 4VG شد. لاکتوباسیلوس مورد استفاده در این تحقیق، از مسیر دکربوکسیلاسیون غیراکسیداتیو برای تبدیل فرولیک اسید به 4VG استفاده می‌کند (شکل ۱) و با داشتن فعالیت آنزیم فرولولیل استراز (Feruloyl esterase) توانایی تبدیل فرولیک اسید به وانیل را نیز دارد.



شکل ۱- مسیر پیشنهادی دکربوکسیلاسیون فرولیک اسید به 4VG توسط *Lactobacillus farciminis* (۵۳).

میزان تولید وانیل از فرولیک اسید بستگی به ترکیب سوبسترای مورد استفاده نیز دارد. در تحقیقی اثر افزودن گلوکز و لجن زیستی به محیط، طی بیوترانسفورماسیون فرولیک اسید به وانیل با استفاده از *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد مطالعه قرار گرفته

است (۳۹). در این مطالعه، در نمونه کنترل فقط فرولیک اسید و در نمونه‌های دیگر فرولیک اسید به همراه گلوکز و فرولیک اسید به همراه لجن زیستی (که از فاضلاب تهیه شده بود) به عنوان سوبسترا استفاده شد. نتایج نشان داد که *استافیلوکوکوس*

"رضایی و همکاران، بیوترانسفورماسیون و کاربردهای آن در صنایع غذایی"

(پلی اورتان، اسفنج سنتزی و شیشه متخلخل) استفاده شد و مشخص شد که اسفنج سنتزی، بهترین ماده از نظر تشکیل وانیل و میزان بهره‌وری بود. اغلب تحقیقات انجام شده در زمینه تولید وانیل از اسید فرولیک یا سوسترهای دیگر، بر این نکته توجه داشتند که باید از تجزیه بیشتر وانیل جلوگیری نمود و این کار از طریق بهینه کردن شرایط تبدیل زیستی، مهندسی متابولیک و بازداری آنزیم موثر در تجزیه وانیل میسر می‌شود. مهمترین فاکتوری که تولید وانیل را محدود می‌کند، سمیت بالای وانیل و اثر بازدارندگی محصول در بیوترانسفورماسیون است. بنابراین با توجه به این مسائل، غلظت بالای فرولیک اسید منجر به تولید زیاد وانیل نخواهد شد و ممکن است مقدار وانیل در مقدار کم باقی بماند (۳۴). بر همین اساس، در مطالعه‌ای دیگر با استفاده از رزین‌های جاذب، یک روش موفق برای بیوترانسفورماسیون و تولید وانیل انجام شد. رزین جاذب متخلخل مناسب انتخاب شد و کاربرد آن در بیوترانسفورماسیون فرولیک اسید مورد مطالعه قرار گرفت، که منجر به افزایش در بازده وانیل شد (۱۹). در این مطالعه، چندین رزین متخلخل که جاذب‌های قوی برای ترکیبات آروماتیک بودند، جهت جذب وانیل طی مدت بیوترانسفورماسیون انتخاب شد. مشخص شد که رزین DM11 بهترین رزین بود که توانست بیشترین وانیل و کمترین فرولیک اسید را به خود جذب کند. وقتی ۸ درصد رزین DM11 به سیستم بیوترانسفورماسیون اضافه شد، ۴۵ گرم در لیتر فرولیک اسید اضافه شد و ۱۹/۲ گرم در لیتر وانیل طی ۵۵ ساعت بدست آمد که جز بیشترین مقادیر گزارش شده است.

اورئوس، فرولیک اسید را سریعاً مصرف می‌کند و در حضور گلوکز می‌تواند بعد از ۲ روز ۴۵/۷ میلی‌گرم در لیتر وانیل تولید کند، در حالی که در نمونه کنترل، بعد از ۷ روز فقط ۹/۸ میلی‌گرم در لیتر وانیل تولید می‌شود. در نمونه دارای لجن زیستی، بعد از ۴ روز مقدار وانیل به ۲۲/۸ میلی‌گرم در لیتر رسید. بنابراین بر طبق این مشاهدات و از حیث میزان تولید وانیل، تیمار فرولیک اسید به همراه گلوکز، بهترین تیمار کنترل، ضعیف‌ترین تیمار برآورد شد و هر دو تیمار افزودن گلوکز و لجن زیستی می‌توانند باعث تحریک تبدیل فرولیک اسید به وانیل شوند.

باکتری‌های زیادی می‌توانند فرولات را به عنوان منبع کربن مورد استفاده قرار دهند و محصولاتی مثل وانیل، وانیلات و پروتوکاتکوات را به عنوان حدواسط‌های کاتابولیکی تولید کند. طی تحقیقاتی مشخص شده است که مقادیر قابل ملاحظه‌ای وانیل از فرولات و با استفاده از یک باکتری گرم مثبت *Amiclatopsis* و *Streptomyces setonii* بدست آمده است. از آنجا که بهینه‌سازی شرایط جهت تولید مقادیر مورد نظر، کار آسانی نیست، می‌توان از گونه‌های نو ترکیب که قادر باشند اختصاصاً وانیل تولید کنند، استفاده کرد (۴۲).

در تحقیق Torre و همکاران (۴۲)، نوعی روش نوین جهت تبدیل فرولات به وانیل با استفاده از سلول‌های *شریشیاکلی* که قادر به بیان دو ژن *feruloyl-ScoA* / *synthetase* و *feruloyl-ScoA hydrolase/aldolase* سودوموناس فلورسنس بود، به عنوان بیوکاتالیست، مورد بررسی قرار گرفت. بازیافت بیوماس از چهار مرحله تبدیل زیستی موفق، ثابت کرد که می‌توان از سلول‌های ذکر شده، جهت تولید مداوم وانیل استفاده نمود. در این مطالعه از چهار تکیه گاه تثبیت سلول

ایزوژنول یکی از مهمترین اجزای روغن‌های اساسی بوته میخک است که یک پیش‌ساز مناسب برای فرآیند بیوترانسفورماسیون می‌باشد (۳۴). تولید وانیل به عنوان یک حدواسط در تجزیه ایزوژنول مورد بررسی‌های زیادی قرار گرفته است، اما بازده تولید وانیل بخاطر فعالیت بالای شیمیایی آن و دانش محدود راجع به مسیرهای متابولیکی ایزوژنول نسبتاً پایین است. در مطالعه‌ای یک گونه باکتریایی جداسازی شده از خاک که شباهت‌های بسیاری به *باسیلوس پومیلوس* داشته است، جهت بررسی قابلیت تبدیل ایزوژنول به وانیل مورد بررسی قرار گرفت (۱۹). نتایج نشان داد که در بیوترانسفورماسیون ایزوژنول، محصول عمده، وانیل بوده است و طی ۱۵۰ ساعت، از هر ۱۰ گرم در لیتر ایزوژنول، ۳/۷۵ گرم در لیتر وانیل (۰/۵٪ بازدهی) تولید شده است. دهیدرودی ایزوژنول- دایمر ایزوژنول- و دو ترکیب حدواسط کلیدی ایزوژنول اپوکسید و ایزوژنول دی‌ال دیگر نیز بعنوان محصولات دیگر شناسایی شدند. بیوترانسفورماسیون با سلول‌ها نشان داد که وانیل به اسید وانیلیک اکسیده شده و قبل از این‌که حلقه آروماتیک شکسته شود، به پروتوکاتچوئیک اسید (protocatechuic acid) تبدیل می‌شود.

برطبق نظر FDA و قوانین اروپایی، محصولات بدست آمده از روش‌های بیوتکنولوژیکی در صورتی‌که سوبسترای تولید آن‌ها منشا طبیعی داشته باشد، به عنوان محصول طبیعی تلقی می‌شوند. کورکومین (دی فرولول متان) یکی از بیشترین ترکیبات فیتوشیمیایی است که از زردچوبه استخراج شده است. کورکومین یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی غیرسمی و طبیعی است که

فعالیت‌های بیولوژیکی بسیاری دارد. ساختار ساده و خصوصیات درمانی این ترکیب، آن را هدف ایده‌آلی برای بیوترانسفورماسیون محصولات مهم بیولوژیکی می‌سازد. بنابراین تبدیل میکروبی کورکومین، یک منبع ارزشمند و مرجع برای علوم غذایی و پزشکی خواهد بود. تولید وانیل از طریق تبدیل زیستی با بیوکاتالیست‌های مختلفی از جمله قارچ‌ها، باکتری‌ها، میکروارگانیسم‌های دستکاری ژنتیکی شده، سلول‌های گیاهی و آنزیم‌های جداسازی شده و با استفاده از سوبستراهای مختلفی مثل فرولیک اسید، اوژنول مورد مطالعه قرار گرفته است (۸). بدلیل شباهت ساختاری کورکومین به ترکیبات لیگنینی، احتمال زیادی وجود دارد که میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده لیگنین، بتوانند کورکومین را نیز تجزیه کنند. یکی از این میکروارگانیسم‌ها که قابلیت تجزیه ترکیبات لیگنینی را داراست، *Rhodococcus rhodochrous* است. این باکتری بخاطر داشتن تطبیق‌پذیری بالا، می‌تواند طیف وسیعی از فرآیندهای بیوترانسفورماسیون را به انجام برساند. از این باکتری در تولید وانیل از اوژنول و فرولیک اسید استفاده شده است (۲).

Gupta و Nagpure (۲۸) امکان بیوترانسفورماسیون کورکومین به وانیل را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق از اکتینومایس *Rhodococcus rhodochrous* به این منظور استفاده شد. نتایج نشان داد که باکتری در حال رشد توانست از ۲۹/۰۲ میلی‌گرم در لیتر از کورکومین، ۳/۵۶ میلی‌گرم در لیتر وانیل تولید کند، که مقدار بازدهی آن ۱۳/۰۵ درصد تخمین زده شد. البته می‌توان با بهینه‌سازی ترکیب محیط کشت و دانسیته بالاتر سلولی و تثبیت سلول به بازده بالاتری دست یافت. بنابراین از این باکتری می‌توان به عنوان یک

"رضایی و همکاران، بیوترانسفورماسیون و کاربردهای آن در صنایع غذایی"

تجزیه زیستی

در اثر فعالیت‌های طبیعی و انسانی طیف گسترده‌ای از ترکیبات زنبیوتیک سمی در محیط تجمع می‌یابند و باعث نگرانی‌های جهانی شده‌اند. زنبیوتیک‌ها ترکیباتی هستند که برای موجودات زنده بیگانه هستند و تمایل به تجمع در محیط دارند. زنبیوتیک‌ها شامل آفت‌کش‌ها، سوخت‌ها، حلال‌ها، آلکان‌ها، هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای، آنتی‌بیوتیک‌ها، رنگ‌های سنتزی، آلوده کننده‌ها (دی اکسین و بی‌فیل‌های پلی کلرینه)، پلی‌آروماتیک و ترکیبات آروماتیک کلرینه می‌باشند. مهمترین نگرانی مربوط با ترکیبات زنبیوتیک اثرات سمی آن‌ها برای سلامت عمومی می‌باشد (۴۱). فاکتورهای بسیاری در حذف آلودگی‌های شیمیایی از محیط‌های خاص دخالت دارند. بعضی از این فرایندها غیرزیستی هستند و در آن‌ها از موجود زنده استفاده می‌شود. این فرایندها شامل حرکت و نقل مکان (تبخیر، انتقال با آب/هوا، جذب، رسوب و ...) و فرایندهای تجزیه (هیدرولیز، فتولیز، اکسیداسیون و ...) می‌باشد. وقتی فرایندهای تجزیه منحصر با تکیه بر فرایندهای آبیوتیک باشد، این کار خیلی آهسته انجام می‌گیرد. خوشبختانه تجزیه مواد شیمیایی با روش‌های بیوتیک بسیار راحت‌تر صورت می‌گیرد (تجزیه زیستی). تجزیه زیستی یکی از فرایندهای طبیعی است که به حذف مواد شیمیایی زنبیوتیک از محیط توسط میکروارگانیسم‌ها کمک می‌نماید. این فرایند اصولاً یک استراتژی برای زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها است (۴۰). تجزیه زیستی یکی از اقتصادی‌ترین روش‌های پاک‌سازی محیط است. میکروارگانیسم‌ها نیمی از توده زیستی سیاره ما را تشکیل می‌دهند و فقط ۵ درصد از تنوع میکروبی

گزینه مناسب در تولید بیوتکنولوژیکی وانیل بهره برد. این فرایند می‌تواند تا حدی فرایندهای پایین دستی را تسهیل کرده و جهت کاربرد صنعتی آسان نماید.

تولید سایر طعم دهنده‌ها

قارچ‌ها یکی از مهمترین سیستم‌های سلولی میکروبی هستند که برای واکنش‌های بیوترانسفورماسیون مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶). موکور یکی از قارچ‌هایی است که فعالیت پروتئولیتیکی و لیپولیتیکی بالایی دارد و در تخمیر سنتی سس خرچنگ مورد استفاده قرار می‌گیرد. بعضی از انواع موکور توانایی دارند که اتانول و کیتوزان تولید کنند. علاوه بر این محصولات حاصل از بیوترانسفورماسیون مثل فلاونوید گلیکوزید، گامالینولیک اسید و گلیکوپپتیدها هم از سوبستراهای مختلفی با استفاده از موکور تولید شده‌اند. در تحقیقی از موکور جهت بیوترانسفورماسیون سینامالدهید، سینامیک اسید و استوفنون استفاده شده است (۲۵). در این تحقیق بعد از کشت موکور به مدت ۴۸ ساعت، سوبستراهای سینامالدهید، سینامیک اسید و استوفنون به محیط کشت اضافه شدند و محصولات با روش GC-MS و HPLC شناسایی شدند. نتایج نشان داد که سینامالدهید به طور انتخابی هیدروژنه شده و به سینامیک الکل تبدیل شد. سینامیک اسید از طریق فرایندهای آلفا و بتا اکسیداسیون به استوفنون تبدیل شد. استوفنون تا ۹۰ درصد به فیل اتیل الکل تبدیل شد. سینامالدهید و سینامیک اسید ترکیبات عمده روغن دارچین هستند. بیوترانسفورماسیون این دو ترکیب با موکور، روش جدیدی برای تبدیل ضایعات گیاهی به طعم دهنده‌های ارزشمند طبیعی مثل سینامیک الکل و استوفنون را نمایان می‌سازد.

تابحال شناخته شده است. تنوع عظیم میکروب‌ها یک روش ساده، اقتصادی و دوستدار محیط زیست را جهت کاهش آلودگی محیط زیست و تجزیه زئوبیوتیک‌ها پیشنهاد می‌کند.

ارگانیسم‌ها می‌توانند از آنزیم‌های تجزیه کننده استفاده کنند که سرعت تجزیه یک ماده شیمیایی را افزایش دهند. بنابراین تجزیه زیستی فرآیندی آنزیمی است که منجر به تجزیه زئوبیوتیک‌ها به ذرات کربن، کربن دی اکسید، آب و دیگر مولکول‌های غیرآلی می‌شود (معدنی شدن). مهمترین میکروارگانیسم‌ها در تجزیه زیستی قارچ‌ها، باکتری‌ها و جلبک‌ها هستند (۲۱). باکتری‌های مهم در فرآیند تجزیه زیستی شامل *باسیلوس*، *سودوموناس*، *کلبسیلا*، *مایکوباکتریوم*، *رودوکوکوس*، *فلادوباکتریوم*، *اشریشیا*، *آزوباکتر* و *آکالیژنز* هستند. از قارچ‌های مهم در تجزیه زیستی می‌توان *اسپوروتریکوم*، *ترمومایسس*، *جنوتریکوم*، *کلادوسپوریوم*، *کاندیدا*، *پنی‌سیلیوم* و *آئروباژیدیوم* را نام برد (۱۶). این ارگانیسم‌ها مواد شیمیایی را تجزیه می‌کنند تا توسط ارگانیسم جذب شود و برای تولید انرژی یا ساخت سلولی مورد استفاده قرار گیرد.

فرآیندهای تجزیه زیستی می‌تواند به دو دسته هوازی و بی‌هوازی تقسیم شود:

تجزیه هوازی: $\text{Polymer} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{biomass} + \text{residue(s)}$
تجزیه بی‌هوازی: $\text{Polymer} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{CH}_4 + \text{H}_2\text{O} + \text{biomass} + \text{residue(s)}$

اگر اکسیژن موجود باشد، تجزیه زیستی هوازی اتفاق می‌افتد و کربن دی‌اکسید تولید می‌شود. اگر اکسیژن وجود نداشته باشد، تجزیه زیستی بی‌هوازی، منجر به تولید متان به جای دی اکسید کربن می‌شود (۲۳).

نتیجه‌گیری

بیوترانسفورمسیون بعنوان نوعی واکنش زیستی که توسط میکروارگانیسم‌ها صورت می‌گیرد، می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های شیمیایی تولید محصولات مختلف باشد و با توجه به تقاضای بالای مصرف کنندگان در استفاده از محصولات طبیعی، مسلماً نقش مهمی در بهره‌وری خواهد داشت. با استفاده از میکروارگانیسم‌ها در انجام واکنش‌های مورد نظر، علاوه بر این‌که تأثیرات سوء روش‌های شیمیایی حذف خواهد شد، می‌توان فعالیت زیستی و ارزش بیولوژیکی بعضی از ترکیبات را ارتقا داد تا جنبه سلامتی بخش ماده مورد نظر نیز، فاکتور دیگری در جهت جلب نظر مصرف کننده باشد. حذف زئوبیوتیک‌ها و تجزیه ترکیبات آلوده کننده، یکی دیگر از کاربردهای میکروارگانیسم‌ها است که می‌تواند بر محیط زیست تأثیرات مثبتی بر جای بگذارد. بطورکل می‌توان گفت بیوترانسفورمسیون، یک فرآیند بیوتکنولوژیکی دوستدار محیط زیست است که با شناخت جنبه‌های مختلف مکانیسم عمل و کاربردهای آن، گام مهمی در جهت ایجاد تحول در صنایع مختلف برداشته می‌شود.

References

فهرست منابع

- 1- Adamu, H.A., Iqbal, S., Chan, K.W. and Ismail, M., (2012). Biotransformation of ferulic acid to 4-vinyl guaiacol by *Lactobacillus farciminis*. *Afric. J. of Biotech.*, 11(5): 1177-1184
- 2- Bell, K.S., Philp, J.C., Aw, D.W.J. and Chirstofi, N., (1998). *J. of Appl. Microbiology*, 85:195
- 3- Berger, R. G., (2009), *Biotechnology of flavours – the next generation. Biotechnol. Lett.*, 31, 1651-1659.
- 4- Bicas J.L., Dionísio A.P. and Pastore G.M., (2009). Bio-oxidation of Terpenes: An Approach for the Flavor Industry. *Chemical Reviews*, 109, 4518-4531.
- 5- Bier, M.C.J., Poletto, S., soccol, V. T., Soccol, C.R. and medeiros, A.B.P., (2011). Isolation and Screening of Microorganisms with Potential bfor Biotransformation of Terpenic Substrates. *Brazilian Archives of Biology and technology*, 54(5):1019-1026
- 6- Borges K.B., de Souza Borges W., Dura'n-Patro'n. R., Pupo M.T., Bonato P.S., Collado I.G., (2009). Stereoselective biotransformations using fungi as biocatalysts. *Tetrahedron Asym* 20:385–397
- 7- Cassidy, A., Hanley, B. and Lamuela-Raventos, R.M., (2000). Isoflavones, lignans and stilbenes: origins, metabolism and potential importance to human health. *J Sci Food Agric* 80: 1044–1062.
- 8- Converti, A., Faveri, D., Perego, P., Barghini, P., Ruzzi, M., Sene, L., (2003). *Brazilian Journal of Microbiology*, 34:106-
- 9- Couto J.A., Campos F.M., Figueiredo A.A., Hogg T.A., (2006). Ability of lactic acid bacteria to produce volatile phenols. *Am. J. Enol. Vitic.* 57: 166-171.
- 10- Couto, S.R. and Sanróman, M.A., (2006). Application of solid-state fermentantion to foody industry – A review. *Journal of Food Engineering*. 76: 291-302.
- 11- Davidson, P.M. and Naidu, A.S., (2000). Phyto-phenols. In: Naidu A.S., Ed., *Natural Food Antimicrobial Systems*. CRC Press LLC, Boca Raton, London, pp:265-294
- 12- De Carvalho C.C.C.R. and Da Fonseca M.M.R., (2006). Biotransformations of Terpenes. *Biotechnology Advances*, 24: 134-142.
- 13- Devkota K.P., Choudhary I.M., Nawaz S.A., Lannang, A.L., Lenta B.N., Fokoup P.A. and Sewald N., (2007). Microbial transformation of the steroidal alkaloid dictyophlebine by *Rhizopus stolonifer*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 55(4): 682-684
- 14- Dionísio, A. P., Molina, G., Bicas, J. L. and Pastore, G. M., (2009). Fungal biotransformation of terpenes. *New Biotechnology.*, 25, suppl. 1, 191.
- 15- Ewe, J. A., Wan-Abdullah, W.N., Alias, A.K. and Liong, M.T., (2012). Effects of ultrasound on growth, bioconversion of isoflavones and probiotic properties of parent and subsequent passages of *Lactobacillus fermentum* BT 8633 in biotin-supplemented soymilk. *Ultrasonics Sonochemistry* 19: 890–900.
- 16- Guzman, A., Gnutek, N. and janik, H., (2011). Biodegradation polymers for food packaging-factors influencing their degradation and certification types- a comprehensive review. *Chemistry and chemical technology*, 5(1):115-122
- 17- Holand, H.L., (2000), Biotransformation, In: *Encyclopedia of microbiology*, (ed) Lederberg, J. academic press, New York
- 18- Hua, D., Ma, C., Song, L., Lin, Sh., Zhang, Zh., Deng, Z. and Xu, P., (2007). Enhanced vanillin production from ferulic acid using adsorbent resin. *Applied Microbiology and biotechnology*, 74:783-790

- 19- Hua, D., Ma, C., Song, L., Lin, Song, L., Deng, Z., Maomy, Z., Zhang, Zh., Yu, Bo., and Xu, P., (2007). Biotransformation of isoeugenol to vanilin by a newly isolated *Bacillus pumilus* strain: Identification of major metabolites. *Journal of Biotechnology*, 130: 463-470
- 20- Jung, S. H., Lee, Y. S., Lim, S. S., Lee, S., Shin, K. H., and Kim, Y. S., (2004). Antioxidant activities of isoflavones from the rhizomes of *Belamcanda chinensis* on carbon tetrachloride-induced hepatic injury in rats. *Archives of Pharmacal Research*, 27 :184–188.
- 21- Kyrikou, J. and Briassoulis, D., (2007). Biodegradation of Agricultural Plastic Films: A Critical Review. *Journal of Polymer and Environment*. 15: 125.
- 22- Landete J.M., Rodriguez H., Curiel J.A., Rivas B., Mancheno J.M. and Munoz, R., (2010). Gene cloning, expression and characterization of phenolic acid decarboxylase from *Lactobacillus brevis* RM84. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* Doi.10.1007/S 10295-010-0709-6.9
- 23- Leja, K. and Lewandowicz, G., (2010). Polymer biodegradation and biodegradable polymers-a review. *Polish Journal of Environment study*, 19(2):255-266
- 24- Liu, Y., Cheng, G., han, T., Yang, H., Ibrahim, S.A. and Huang, W., (2012). Microbial transformation of tectoridin from *Pueraria flos* by *Lactobacillus* and *Bifidobacteria*. *Food Chemistry* 131: 149–15
- 25- Ma, L., Liu, X., Liang, J., Zhang, Z., (2011). Biotransformations of cinnamaldehyde, cinnamic acid and acetophenone with *Mucor*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27:2133-2137
- 26- Malnig A, Brown J., (2007). Soy: how safe is it? *Health Dilemmas*, April, 24–6.
- 27- Molina, G., Costa, R.L.D., Dionisio, A.P., Bicas, J.L. and Pastero, G.M., (2011). Biotransformation of R- (+)- and S-(-)-limonene by *Fusarium oxysporum*.
- 28- Nagpure, B.A.A.L. and Gupta, R.K., (2011). Biotransformation of curcumin to vanilin. *Indian Journal of Chemistry*, 50(B):1119-1122
- 29- Otieno, D. O. and Shah, N. P., (2007). A comparison of changes in the transformation of isoflavones in soymilk using varying concentrations of exogenous and probiotic-derived endogenous b glucosidases. *Journal of Applied Microbiology*, 103:601-612
- 30- Otieno, D.O., Ashton, J.F. and Shah, N.P., (2005). Stability of b-glucosidase activity produced by *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* spp. in fermented soymilk during processing and storage. *J Food Sci* 70, 4, 236–241.
- 31- Park, E. K., Shin, Y. W., Lee, H. U., Lee, C. S., and Kim, D. H., (2004). Passive cutaneous anaphylaxis-inhibitory action of tectorigenin, a metabolite of tectoridin by intestinal microflora. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, 27, 1099–1102.
- 32- Pham, T. T. and Shah, N. P., (2009). Effects of Skim Milk Powder Supplementation to Soy Yogurts on Biotransformation of Isoflavone Glycosides to Biologically Active Forms during Storage. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 49107-113
- 33- Prasad, L.N. and Shah, N.P., (2011). Conversion of isoflavone glycoside to aglycones in soy protein isolate (SPI) using crude enzyme extracted from *Bifidobacterium animalis* Bb12 and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842. *International Food Research Journal* 19(2): 433-439
- 34- Priefert, H., Rabenhorst, J., Steinbüchel, A., (2001). Biotechnological production of vanillin. *Appl Microbiol Biotechnol* 56:296–314
- 35- Raimondi, S., Roncaglia, L., De Lucia, M., Amaretti, A., Leonardi, A., Pagnoni, U. and Rossi, M., (2009). Bioconversion of soy isoflavones daidzin and daidzein by *Bifidobacterium* strains. *Appl Microbiol Biotechnol*, 81:943–950
- 36- Rather, M.Y., Mishra, S., Verma, V. and Chand, S., (2012). Biotransformation of methyl-b-D-

- glucopyranoside to higher chain alkyl glucosides by cell bound b-glucosidase of *Pichia etchellsii*. *Bioresource Technology*, 107:287-294
- 37- Richel, A., Laurent, P., Wathelet, B., Wathelet, J.P. and Paquot, M., (2011). Microwaveassisted conversion of carbohydrates. State of the art and outlook. *C. R. Chim.* 14, 224–234.
 - 38- Rossi, S. C., Vanderberghe, L. P. S., Pereira, B. M. P., Gago, F. D., Rizzolo, J. A., Pandey, A., Soccol, C. R. and Medeiros, A. B. P., (2009). Improving fruity aroma production by fungi in SSF using citric pulp. *Food Res Int.*, 42, 484-486.
 - 40- Sarangi, P.K., Nanda, S. and Sahoo, H., (2011). Enhancing the rate of ferulic acid bioconversion using different carbon source. *Journal of Brewing and Distilling*, 2(1): 1-4
 - 41- Singh, D.K., (2008), Biodegradation and bioremediation of pesticide in soil: concept, method and recent development. *Indian Journal of Microbiology*, 48:35-40
 - 42- Sinha, Sh., Chattopadhyay, P., Pan, I., Chatterjee, S., Chanda, P., Bandeyopadhyay, D., Das, K. and Ksen, S., (2009). Microbial transformation of xenobiotics for environmental biotransformation. *African Journal of Biotechnology*, 8(22):6016-6027
 - 43- Torre, P., De Faveri, D., Perego, P., Converti, A., Barghini, P., Ruzzi, M. and Faria, F.P., (2004). Selection of co-substrate and aeration condition for vanillin production by *Escherichia coli* JM109/pBB1. *Food Technology and Biotechnology*, 42:193-196
 - 44- Torres, B.R., Aliabarian, B., Torre P., Perego, P., Dominguez, M.Z and Converti, A.S., (2009). Vanillin bioproduction from alkaline hydrolyzate of corn cob by *E. coli* JM109/pBB1. *Enzyme Microb. Technol.* 44: 154-158.
 - 45- Tsuchihashi, R., Kodera, M., Sakamoto, S., Nakajima, Y., Yamazaki, T., Niiho, Y., et al., (2009). Microbial transformation and bioactivation of isoflavones from *Pueraria* flowers by human intestinal bacterial strains. *Journal of Natural Medicines*, 63, 254–260.
 - 46- Van de Werf, M.J., deBont, J.A.M. and Leak, D.J., (1997). Opportunities in microbial biotransformation of monoterpenes. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 55:147-177
 - 47- Ward, O.P., Singh, A., (2000). Enzymatic asymmetric synthesis by decarboxylases. *Curr. Opin. Biotechnol.* 11: 520–526.
 - 48- Williamson, G., Kroon, P.A. and Faulds, C.B., (1998). Hairy plant polysaccharides: a close shave with microbial esterase. *Microbiology*, 144:2011-2023
 - 49- Yuan, J.P., Wang, J.H., Liu X., (2007). Metabolism of dietary soy isoflavones to equol by human intestinal microflora-implications for health. *Mol Nutr Food Res* 51:765–781
 - 50- Zhao, Z., Moghadasian, M.H., (2008). Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of Ferulic acid: A review. *Food Chem.* 109: 691-702.
 - 51- Demyttenaere, J.C., (2001). Biotransformation of terpenoids by microorganisms. In *Studies in natural products chemistry* (Vol. 25, pp. 125-178). Elsevier.
 - 52- Adamu, H.A., Iqbal, S., Chan, K.W. and Ismail, M., (2012). Biotransformation of ferulic acid to 4-vinyl guaiacol by *Lactobacillus farciminis*. *African Journal of Biotechnology*, 11(5), pp.1177-1184.

Biotransformation and its applications in food science

Rahil Rezaei*, Morteza Khomeiri

1- PhD student, 2- Associate Profssor of Agricultural Science and Natural Resources of Gorgan University, Gorgan, Iran

azar_rahil_64@yahoo.com

Abstract

Throughout the history of mankind, microorganisms have been of enormous social and economic importance and they were used in various food and beverage production. In the course of time, it was found that microorganisms could modify certain compounds by simple, chemically well-defined reactions, which were further catalyzed by enzymes that these processes are called "biotransformation". Biotransformation carried out by biocatalysts including whole cell or isolated enzymes. The advantages of using biocatalysts are high purity of product, minimal side reactions and operation at mild conditions. Biotransformation is used in several applications such as natural flavor production, detoxification of toxic component such as aflatoxin and bioconversion of some ingredients to their active forms. One of major application of biotransformation is biotechnological production of some product that often synthesized chemically. Production of these by biotechnological methods can be a proper answer to consumer demand about natural product and green process.

Keywords: microorganism, biotransformation, biodegradation, biocatalist