

## بیوترانسفورماتیون و کاربردهای آن در صنایع غذایی

Rahim Rashedi<sup>1\*</sup>, Morteza Khemir<sup>1</sup>

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 "بیوترانسفورماتیون" یا "دگرگونی زیستی" نامیده می‌شود. بیوترانسفورماتیون 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 بیوترانسفورماتیون در موارد مختلفی از جمله تولید ترکیبات طبیعی مانند طعم دهنده‌ها، سمیت‌زدایی از ترکیبات سمی مانند آفلاتوكسین و یا تبدیل ترکیبات به اشکال فعال بیولوژیکی آن‌ها استفاده می‌شود. از کاربردهای عمدی بیوترانسفورماتیون، تولید بیوتکنولوژیکی محصولاتی 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، بیوترانسفورماتیون، تجزیه زیستی، بیوکاتالیست‌ها

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

### مقدمه

بیوترانسفورماتیون (Biotransformation) فرآیندی است که سال‌های زیادی مورد استفاده بشر گرفته است. بیوترانسفورماتیون اتابول بیوتکنولوژیکی اسید اسید توسط استوپاکترها و تولید اسید از قندهای قابل تخمیر که توسط بابلیان و مصریان مورد استفاده قرار گرفت، از ابتدایی ترین فرآیندهای بیوترانسفورماتیون بوده است. استفاده از گلوکر ایزومراز یکی از مثال‌های

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

#### کاتالیست‌های بیولوژیکی و بیوترانسفورماتیون

در بیوترانسفورماتیون جهت نشان دادن تغییرات یک سوبسترا به محصولات ویژه از کاتالیست‌های بیولوژیکی استفاده می‌شود. کاتالیست‌ها می‌توانند آنزیم، سلول‌های میکروبی (آزاد یا ثابت شده) یا میکروارگانیسم‌های مرده باشند (۳۶). جدول ۱ سلول‌های میکروبی و آنزیم‌های پرکاربرد در بیوترانسفورماتیون 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 آلكن‌ها، انتقال واحدهای قندی یا استیل از یک سوبسترا به سوبستراتی 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، گستردۀ 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 نوتრکیب در این زمینه، پتانسیل تولید آنزیم‌هایی که قبل اخیلی گران‌قیمت بودند، تسهیل شده است و بنابراین بخشی از محدودیت‌های کاربرد آنزیم بعنوان بیوکاتالیست از بین رفته است. اما بطور کلی، کاربرد فرآیندهای آنزیمی در مقیاس بزرگ به

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

بیوترانسفورماتیون نسبت به روش‌های معمول سنتز شیمیایی مزایایی دارد که شامل کارآئی بیشتر، صرفه اقتصادی، توانایی تولید مولکول‌هایی که با روش‌های سنتز سنتی مشکل است، اختصاصی بودن، شرایط معادل واکنش، محصولات جانبی کمتر و ضایعات حلال کمتر می‌باشد و به عنوان یک روش دوستدار محیط زیست شناخته شده است. از طرفی در بیوترانسفورماتیون، از میکروارگانیسم‌هایی استفاده می‌شود که می‌توانند مقداری زیادی بیومس و آنزیم‌های مختلف را در زمان کوتاه تولید کنند. میکروارگانیسم‌ها هم چنین قادرند آنزیم‌هایی را تولید کنند که به حرارت، اسید و قلیاً تا حد زیادی مقاومت دارند. با توجه به این که در سال‌های اخیر تبدیل میکروبی متابولیت‌های ثانویه مثل ترپن‌وییدها، استرووییدها 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 "فرآیندهای سبز" گرایش پیدا کرده‌اند (۳۶).

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

فشار و دمای بالا، و گاهی کاتالیست‌های سمتی باشد. 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  $pH$  خشی، دمای اتاق و فشار اتمسفر عمل می‌کند و واکنش‌های اختصاصی را کاتالیز می‌کند.

آنژیم‌هایی محدود می‌شود که ارزان‌قیمت 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 سورفاکтанت‌های زیستی، روان کننده‌های زیستی (biolubricants) و حدواسطه‌های دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۴۶). سنتز شیمیایی این ترکیبات، منوط به استفاده از

#### جدول ۱ - سلول‌های میکروبی (A) و آنزیم‌های (B) پرکاربرد در بیوترانسفورماسیون

A			
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, Beauveria sulfurescens, Sporotrichum sulfurescens</i>	6	Transferases	2.5
<i>Cunninghamella elegans</i>	5	Esterases	2.5
<i>Rhizopus nigricans, Rhizopus stolonifer</i>	5	Subtilisin	2.1
<i>Curvularia lunata</i>	4	Aldolases	2.1
<i>Rhizopus arrhizus, Rhizopus 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 میلی‌گرم 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 تثیت شده آنزیم ترجیح داده می‌شود تا امکان بازیافت آنکاتالیست و حداسازی، مخصوصاً، تسهیل شود (۱۷).

سلول‌های میکروبی

گستره‌ای از واکنش‌ها را در زمانی که امکان استفاده از

## آنژیم‌های ایزوله شده

استفاده از آنژیم‌های ایزوکل شده برای بیوترانسفورماسیون، بستگی به در دسترس بودن آنژیم برای واکنش تبدیلی مورد نظر و شرایط بهینه دما، pH، حلال و سوپسیترا دارد. این چنین آنژیم‌هایی معمولاً در مقیاس میلی‌گرم 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 دسترنسی 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 لوبيای سویا حاوی مقادیر قابل ملاحظه‌ای از ایزوفلاون هستند (۷). ایزوفلاون‌ها به چهار گروه تقسیم می‌شوند: آگلیکون‌ها (دایدزین (daidzein)، جنیستین (genistein) و گلایسیتین (glycitein)، گلیکوزیدها (دایدزین (daidzin)، جنیستین (genistin) و گلایسیتین (glycitin)، استیل گلیکوزیدها (استیل دایدزین، استیل جنیستین و استیل گلایسیتین) و مالونیل گلایسیتین‌ها (مالونیل دایدزین، مالونیل جنیستین و مالونیل گلایسیتین). اشكال شیمیایی این ترکیبات حائز اهمیت است، زیرا بر قابلیت دسترسی زیستی آن‌ها، فعالیت بیولوژیکی و بنابراین اثرات فیزیولوژیکی آن‌ها تاثیرگذار 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 اشكال آگلیکون آن‌ها آسانتر جذب شده و نسبت به انواع کونژوگه، قابلیت دسترسی زیستی بیشتری دارند. اساساً ایزوفلاون‌ها در لوبيای سویا و در اکثر مواد غذایی حاوی سویا به شکل مخلوط

آنژیم 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 ثبت شده انجام شود (۱۷).

### مراحل بیوترانسفورماسیون

طی بیوترانسفورماسیون مواد شیمیایی به اشكال قطبی‌تر با واکنش‌پذیری کمتر تبدیل می‌شوند. فرآیندهای بیوترانسفورماسیون، اغلب به دو مرحله تقسیم می‌شوند: فاز یک و دو. در فاز یک بیوترانسفورماسیون، ساختار اصلی مولکول از طریق فرآیندهایی مانند احیای باندهای دوگانه، افروden 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 فرآیند یک اتم اکسیژن که از مولکول اکسیژن بدست آمده است، در ساختار مولکولی ماده شیمیایی قرار داده می‌شود. فاز دو بیوترانسفورماسیون، یک فرایند آنژیمی 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 می‌افتد بطوری‌که هیدروکسیل‌اسیون فاز یک، مسیری برای عملیات کونژوگه کردن فاز دو است.

## "رضابی و همکاران، بیوترانسفورماسیون و کاربردهای آن در صنایع غذایی"

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

Shah و Otieno (۲۹) تغییرات تبدیل ایزوفلاون‌ها در شیر سویا با استفاده از بتاگلوكوزیدازهای خارجی و داخلی حاصل از پروبیوتیک‌ها مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه فعالیت بتاگلوكوزیدی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک شامل *Lactobacillus*, *Bifidobacterium animalis lactis*, *Lactobacillus casei*, *acidophilus* 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 لاكتیس، لاكتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاكتوباسیلوس کائزی دیده شد.

تبدیل زیستی ایزوفلاون دایدزین و دایدزین با استفاده از گونه‌های بیفیدوباکتریوم نیز مورد بررسی قرار گرفته است (۳۵). در این تحقیق ۲۲ گونه از بیفیدوباکتریوم جهت تبدیل دایدزین به دایدزین 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 بتاگلوكوزیداز در باکتری‌ها سبب ناتوانی در هیدرولیز دایدزین می‌شد. به طور کل مشخص شد گونه‌های پروبیوتیکی انتخاب شده، توانستند سرعت آزادسازی دایدزین را افزایش داده و بنابراین در بهبود دسترسی

مرکبی از کونژوگهای گلیکوزیدی وجود دارند که در این حالت از نظر زیستی قابل دسترس نیستند (۲۹) زیرا ایزوفلاون‌های کونژوگه شده با گلوكز، 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 دایدزین، گلایسیتین 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 بتاگلوكوزیدی بین آگلیکون و بتاگلوكوزید و آزادسازی آگلیکون، استفاده از آنزیم بتاگلوكوزیداز لازم است.

آنژیم‌های 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 گلوكز انتهایی از ایزوفلاون‌ها در روده هم از طریق آنزیم بتاگلوكوزیداز 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 بتاگلوكوزیداز هستند که نقش مهمی در بهبود فعالیت بیولوژیکی

شیرخشک بر بیوتانسفورماسیون احتمالاً بخاطر حضور لاکتوز در شیرخشک است. چون برای استفاده از لاکتوز، میکروارگانیسم باید بتاگالاكتوزیداز تولید کند و این آنزیم مولکول لاکتوز را به D-گلوکز و -D-گالاكتوز می‌شکند. این آنزیم همچنین قادر است ایزووفلاون گلیکوزید را به ایزووفلاون آگلیکون تبدیل کند. بهبود زنده‌مانی لاكتوباسیلوس و استرپتوكوکوس هم می‌تواند دلیل دیگری بر افزایش میزان بیوتانسفورماسیون ایزووفلاون گلیکوزید باشد. در تحقیقی Pham و Shah (۳۲) تاثیر افزودن پودر شیر بدون چربی به ماست سویا را بر میزان بیوتانسفورماسیون ایزووفلاون گلیکوزید به اشکال فعال بیولوژیکی، طی دوره نگهداری مورد بررسی قراردادند. در این مطالعه ماست سویا با درصدهای مختلف شیرخشک (۰، ۲، ۴ و ۶ درصد) تهیه شد و از *Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus bulgaricus* به عنوان استارتراست استفاده شد. نتایج نشان داد که علاوه بر بهبود زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های دارای شیرخشک، بیوتانسفورماسیون ایزووفلاون گلیکوزید به ایزووفلاون 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 بیوتانسفورماسیون ایزووفلاون گلیکوزید مشخص شود. Ewe و همکاران (۱۵) تاثیر اولتراسوند را بر رشد *Lactobacillus fermentum* و تبدیل زیستی ایزووفلاون‌های 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

زیستی آن‌ها نقش داشته باشند.

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

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

#### تاثیر فرآیندهای مختلف بر میزان تبدیل ایزووفلاون گلیکوزید به ایزووفلاون 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 استارتراهای ماست شده و احتمالاً میزان تبدیل ایزووفلاون گلیکوزیدها را افزایش خواهد داد. اثرات تقویتی غنی‌سازی با

## "رضابی و همکاران، بیوترانسفورماتیون و کاربردهای آن در صنایع غذایی"

(۴۴).

در تحقیقی ۹ گونه از لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم مورد بررسی قرار گرفته‌اند تا گونه‌هایی که فعالیت بتاگلوكوزیداز 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 بتاگلوكوزیدازی خارج سلولی بوده، درحالی که فعالیت بتاگلوكوزیدازی داخل سلولی *Bifidobacterium adolescentis* بالاتر از سایر گونه‌ها بود. از بین باکتری‌های مورد بررسی، لاکتوباسیلوس روتیری، لاکتوباسیلوس رامنوس و بیفیدوباکتریوم ادوله ستیس، به ترتیب بیشترین مقدار تبدیل تکتوریدین را نشان دادند بطوری که لاکتوباسیلوس روتیری 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، بدلاً لابل 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 محصولاتی را خریداری کنند که برچسب

افزایش رشد، همراه با افزایش فعالیت ویژه آنزیم‌های بتاگلوكوزیداز داخل و خارج سلولی بوده که در نهایت منجر به افزایش تبدیل ایزووفلافون گلیکوزید به آگلیکون می‌شود. این نتایج پیشنهاد می‌کند که اوپتراسوند می‌تواند فعالیت زیستی شیر سویاً تخمیرشده بالاکتوباسیلوس فرمتوسوم را افزایش داده و در توسعه غذاهای فراسودمند مفید واقع شود.

### بیوترانسفورماتیون سایر ایزووفلافون‌ها

یکی دیگر از ایزووفلافون‌هایی که تبدیل زیستی آن مورد مطالعه قرار گرفته است، ایزووفلافون‌های گیاه *Pueraria flos* می‌باشد. این گیاه به عنوان افروزنی در مواد غذایی و نوشیدنی‌های تهیه شده از چای مورد استفاده قرار می‌گیرد. گوارش شده است که ایزووفلافون‌های *Pueraria flos* خواص ضددهیابتی، ضداسترس و آنتی اکسیدانی دارند (۲۰). تکتوریدین (tectoridin) مهمترین ایزووفلافون این گیاه است و فقط حاوی یک بتا دی‌گلوكز است که می‌تواند توسط باکتری‌های گوارشی به تکتوریجنین (tectorigenin) تبدیل شود (۳۱). تکتوریجنین در درمان سرطان پروستات، فعالیت ضدتوموری و اثرات استروژنی، فعالیت بالقوه بیشتری نسبت به تکتوریدین دارد. پیشنهاد شده که باکتری‌های گوارشی، نقش کلیدی در متابولیسم و دسترسی زیستی ایزووفلافون‌ها دارد، چون آن‌ها ایزووفلافون گلیکوزید تکتوریدین را توسط بتا دی گلوكوزیداز هیدرولیز کرده و تکتوریجنین زیست فعال را آزاد می‌کند. این عمل توسط تعدادی از باکتری‌ها مانند *Lactobacillus fermentum* *Bifidobacterium berevi* *Lactobacillus gasseri* انجام می‌شود درحالی که فعالیت بتاگلوكوزیداز و بازدهی تغییرات توسط این باکتری‌ها متفاوت است

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 فرآیند 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 غلطت محصول و بازده کم بوده و انباسته 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 ارزان قیمت بوده و یکی از ترپن‌هایی است که بطور گسترده در طبیعت و ضایعات کشاورزی وجود دارد. بخارطر ساختار شیمیایی مشابه آن با بسیاری از

"طبیعی" داشته باشند. علاوه بر این، بسیاری از این ترکیبات طعم‌دهنده خواص دیگری مانند فعالیت‌های ضدمیکروبی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، خصوصیات کاهش چربی و تنظیم فشارخون دارند (۳). فرآیند 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 فرآیندها در حد تجاری سازی 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 سوبیستای 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

## "رضابی و همکاران، بیوترانسفورماسیون و کاربردهای آن در صنایع غذایی"

### تولید بیوتکنولوژیکی وانیل

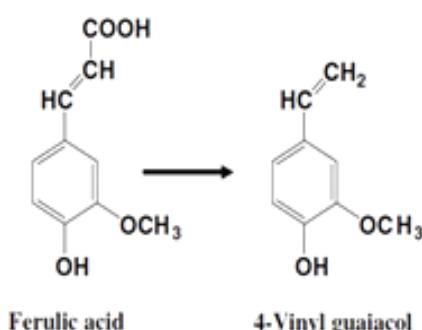
وانیل (۴-هیدروکسی-۳-متوكسی بنزالدھید) یکی از ترکیبات مهم طعم‌دهنده و آروماتیک است که از لوپیا یا غلاف *Vanilla orchid* گرمیسری بدست می‌آید و از نظر کمی، یکی از مهمترین افزودنی‌های طعم‌دهنده آروماتیک در مواد غذایی، نوشیدنی‌ها، صنایع پزشکی و داروسازی است. وانیل بدلیل خصوصیات ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی، می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده مواد غذایی نیز استفاده شود (۱۱). اما بُوی قوی وانیل، معمولاً 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 افشاری 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 توجیه بودن محصول از نظر اقتصادی، باید یک پیش‌ساز که از نظر شیمیایی به ساختار وانیل شبیه باشد، در عین حال ارزان‌قیمت و به میزان زیاد قابل دسترس باشد، استفاده شود. فرولات و اسید فرولیک یک محصول شناخته شده است که از تجزیه لیگنین توسط فارچ ها 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

مونوتربنوتیویدهای موجود در بوهای خوشایند مثل کاروئول، پریلیل الکل، کاروون، متول و آلفا تریپئنول، می‌توان از لیمونن بعنوان یک پیش‌ساز در سنتز این ترکیبات معطر استفاده کرد (۴). اخیراً از فوزاریم *oxysporum*، بر اساس خاصیت تولید بالای آکالالین لیپاز خارج سلولی جهت بیوترانسفورماسیون لیمونن به آلفا تریپئنول استفاده شده است (۲۷). نتایج نشان داد که تولید لیمونن-۱ و ۲ دی‌ال از S-(-)-لیمونن بوسیله یک آنزیم دورن سلولی انجام می‌شود و به شدت تحت تاثیر سیستم هوایی است و به نظر می‌رسد به کوفاکتور وابسته باشد. در شرایط بی‌هوایی، هیچ محصولی ایجاد نمی‌شود. در این مطالعه تولید حد واسطه‌ای مانند لیمونن-۱ و ۲-اپوکسید مورد بررسی قرار گرفت که این نتایج نشان می‌دهد واکنش اساساً به سمت تولید دی‌ال پیش می‌رود.

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

ترکیبات آروماتیک را دارند. در تحقیقی توانایی *Lactobacillus farciminis* برای تبدیل فروولیک اسید به 4VG مورد بررسی قرار گرفت (۱). بعد از ۵ ساعت انکوباسیون لاکتوباسیلوس در حضور فروولیک اسید در محیط MRS، فرآیند بیوتранسفورماسیون 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 فروولیک اسید بوده و مقادیر ۱، ۱۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر فروولیک 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 فروولیک اسید به 4VG استفاده می‌کند (شکل ۱) و با داشتن فعالیت آنزیم فروولویل استراز (Feruloyl esterase) توانایی تبدیل فروولیک اسید به وانیل را نیز دارد.

فیزیکی از بقایای کشاورزی مثل سبوس غلات و پالپ چغندر قند بدست آید (۴۷). استفاده از فروولیک اسید به عنوان منع اولیه کربن توسط باکتری‌ها، منجر به تولید حد واسطه‌های کاتابولیکی مثل ۴-وینیل گوایاکول، وانیلیک اسید و وانیل می‌شود (۴۳ و ۴۹). ۴VG یک ترکیب فنولی فرار است که ارزش اقتصادی ۴۰ برابر بیشتر از فروولیک اسید را داراست و می‌تواند به ترکیباتی مثل استرووانیل، اتیل گوایاکول و وانیل تبدیل شود (۲۲). این ترکیب به میزان زیادی در مواد غذایی و نوشیدنی‌های الکلی به عنوان طعم دهنده بکار می‌رود. ۴VG در سیب‌های پخته، آب گریپ‌فروت، لوبيای خام، قهوه، توت‌فرنگی، بادام برشته شده و دانه کنجد سفید وجود دارد. ارگانیسم‌های مختلفی مانند آسپرژیلوس، باسیلوس، کاندیدا، کورینه باکتریوم، فوزاریوم و سودوموناس، توانایی تبدیل فروولیک اسید به گستره وسیعی از



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

است (۳۹). در این مطالعه، در نمونه کنترل فقط فروولیک اسید و در نمونه‌های دیگر فروولیک اسید به همراه گلوكز و فروولیک اسید به همراه لجن زیستی (که از فاضلاب تهیه شده بود) به عنوان سوبسکترا استفاده شد. نتایج نشان داد که استافیلوكوکوس اورئوس مورد مطالعه قرار گرفته

میزان تولید وانیل از فروولیک اسید بستگی به ترکیب سوبسکترا مورد استفاده نیز دارد. در تحقیقی اثر افزودن گلوكز و لجن زیستی به محیط، طی بیوتранسفورماسیون فروولیک اسید به وانیل با استفاده از استافیلوكوکوس اورئوس مورد مطالعه قرار گرفته

## "رضابی 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 سوبستراهای 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. مهمنترين فاكتوري که تولید وانیل را محدود می‌کند، سمیت بالای وانیل و اثر بازدارندگی محصول در بیوترانسفورماسیون است.

بنابراین با توجه به این مسائل، غلطت 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 به DM11 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 و 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 پروتوكاتکوات را به عنوان حدواتهای کاتابولیکی تولید کند. طی تحقیقاتی مشخص شده است که مقادیر قابل ملاحظه‌ای وانیل از فرولات و با استفاده از یک باکتری گرم مثبت *Amicolatopsis* و *Streptomyces setonii* بدست آمده است. از آنجا که بهینه‌سازی شرایط جهت تولید مقادیر مورد نظر، کار آسانی نیست، می‌توان از گونه‌های نوترکیب 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 feruloyl-ScoA /شريشياكلی که قادر به بيان دو ژن feruloyl-ScoA hydrolase/aldolase و synthetase 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 ثبت سلول

فعالیت‌های بیولوژیکی بسیاری دارد. ساختار ساده و خصوصیات درمانی این ترکیب، آن را هدف ایده‌آلی برای بیوتانسفورماسیون 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 فارچ‌ها، باکتری‌ها، میکروارگانیسم‌های دستکاری ژنتیکی شده، سلول‌های گیاهی و آنزیم‌های جداسازی شده و با استفاده از سوبسترها 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 بیوتانسفورماسیون را به انجام برساند. از این باکتری در تولید وانیل از اوژنول و فرولیک اسید استفاده شده است (۲).

Gupta و Nagpure (۲۸) امکان بیوتانسفورماسیون کورکومین به وانیل را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق از اکتینومایست *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 ۱۳۰۵ درصد تخمین زده شد. البته می‌توان با بهینه‌سازی ترکیب محیط کشت و دانسیته بالاتر سلولی و ثبت سلول به بازده بالاتری دست یافت. بنابراین از این باکتری می‌توان به عنوان یک

ایزوژنول یکی از مهمترین اجزای روغن‌های اساسی بوته میخک است که یک پیش‌ساز مناسب برای فرآیند بیوتانسفورماسیون می‌باشد (۳۴). تولید وانیل به عنوان یک حدواسط در تجزیه ایزوواژنول مورد بررسی‌های زیادی قرار گرفته است، اما بازده تولید وانیل بخاطر فعالیت بالای شیمیایی آن و دانش محدود راجع به مسیرهای متابولیکی ایزوواژنول نسبتاً پایین است. در مطالعه‌ای یک گونه باکتریایی جداسازی شده از خاک که شباهت‌های بسیاری به باسیلوس پرمیلوس داشته است، جهت بررسی قابلیت تبدیل ایزوواژنول به وانیل مورد بررسی قرار گرفت (۱۹). نتایج نشان داد که در بیوتانسفورماسیون ایزوواژنول، محصول عمده، وانیل بوده است و طی ۱۵۰ ساعت، از هر ۱۰ گرم در لیتر ایزوواژنول، ۳/۷۵ گرم در لیتر وانیل (۴۰/۵٪ بازدهی) تولید شده است. دهیدروکسی ایزوواژنول - دیمر ایزوواژنول - و دو ترکیب حدواسط کلیدی ایزوواژنول اپوکسید و ایزوواژنول دی‌ال دیگر نیز بعنوان محصولات دیگر شناسایی شدند. بیوتانسفورماسیون با سلول‌ها نشان داد که وانیل به اسید وانیلیک اکسیده شده و قبل از این که حلقه آروماتیک شکسته شود، به پرو‌توکاتچوئیک اسید (protocatechuic acid) تبدیل می‌شود.

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

## "رضابی و همکاران، بیوترانسفورماتیون و کاربردهای آن در صنایع غذایی"

### تجزیه زیستی

در اثر فعالیت‌های طبیعی و انسانی طیف گسترده‌ای از ترکیبات زنوبیوتیک سمی در محیط تجمع می‌یابند و باعث نگرانی‌های جهانی شده‌اند. زنوبیوتیک‌ها ترکیباتی هستند که برای موجودات زنده بیگانه هستند و تمایل به تجمع در محیط دارند. زنوبیوتیک‌ها شامل آفت‌کش‌ها، سوخت‌ها، حلال‌ها، آلکان‌ها، هیدروکربن‌های چند‌حلقه‌ای، آنتی‌بیوتیک‌ها، رنگ‌های سنتزی، آلوده کننده‌ها (دی‌اکسین و بی‌فنیل‌های پلی کلرینه)، پلی‌آروماتیک و ترکیبات آروماتیک کلرینه می‌باشند. مهمترین نگرانی مربوط با ترکیبات زنوبیوتیک اثرات سمی آن‌ها برای سلامت عمومی می‌باشد (۴۱). فاکتورهای بسیاری در حذف آلودگی‌های شیمیایی از محیط‌های خاص دخالت دارند. بعضی از این فرآیندها غیرزیستی هستند و در آن‌ها از موجود زنده استفاده می‌شود. این فرآیندها شامل حرکت و نقل مکان (تبخیر، انتقال با آب/هواء، جذب، رسوب و ...) و فرآیندهای تجزیه (هیدرولیز، فتوالیز، اکسیداسیون و ...) می‌باشد. وقتی فرآیندهای تجزیه منحصراً با تکیه بر فرآیندهای 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 فرآیندهای طبیعی است که به حذف مواد شیمیایی زنوبیوتیک از محیط توسط میکروارگانیسم‌ها کمک می‌نماید. این فرآیند اصولاً یک استراتژی برای زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها است (۴۰). تجزیه زیستی یکی از اقتصادی‌ترین روش‌های پاکسازی محیط است. مبکروارگانیسم‌ها نیمی از توده زیستی سیاره ما را تشکیل می‌دهند و فقط ۵ درصد از تنوع میکروبی

گزینه مناسب در تولید بیوتکنولوژیکی و اینل بهره برد. این فرآیند می‌تواند تا حدی فرآیندهای 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 بیوترانسفورماتیون مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶). موكور یکی از قارچ‌هایی است که فعالیت پروتئولیتیکی و لیپولیتیکی بالایی دارد و در تخمیر سنتی سس خرچنگ مورد استفاده قرار می‌گیرد. بعضی از انواع موكور توانایی دارند که اتانول و کیتوزان تولید کنند. علاوه بر این محصولات حاصل از بیوترانسفورماتیون مثل فلاونوئید‌گلیکوزید، گاما‌الینولئیک اسید و گلیکوپپتیدها هم از سوبستراهای مختلفی با استفاده از موكور تولید شده‌اند. در تحقیقی از موكور جهت بیوترانسفورماتیون سینامالدهید، سینامیک اسید و استوفنون استفاده شده است (۲۵). در این تحقیق بعد از کشت موكور به مدت ۴۸ ساعت، سوبستراهای سینامالدهید، سینامیک اسید و استوفنون به محیط کشت اضافه شدند و محصولات با روش HPLC و GC-MS شناسایی شدند. نتایج نشان داد که سینامالدهید به طور انتخابی هیدروژنه شده و به سینامیک الكل تبدیل شد. سینامیک اسید از طریق فرآیندهای آلفا و بتا اکسیداسیون به استوفنون تبدیل شد. استوفنون تا ۹۰ درصد به فنیل اتیل الكل تبدیل شد. سینامالدهید و سینامیک اسید ترکیبات عمده روغن دارچین هستند. بیوترانسفورماتیون این دو ترکیب با موكور، روش جدیدی برای تبدیل ضایعات گیاهی به طعم دهنده‌های ارزشمند طبیعی مثل سینامیک الكل و استوفنون را نمایان می‌سازد.

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

#### نتیجه‌گیری

بیوترانسفورماسیون بعنوان نوعی واکنش زیستی که توسط میکرووارگانیسم‌ها صورت می‌گیرد، می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های شیمیابی تولید محصولات مختلف باشد و با توجه به تقاضای بالای مصرف کنندگان در استفاده از محصولات طبیعی، مسلمان نقش مهمی در بهره‌وری خواهد داشت. با استفاده از میکرووارگانیسم‌ها در انجام واکنش‌های مورد نظر، علاوه بر این که تاثیرات سوء روش‌های شیمیابی 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 زنوبیوتیک‌ها و تجزیه ترکیبات آلوده کننده، یکی دیگر از کاربردهای میکرووارگانیسم‌ها است که می‌تواند بر محیط زیست تاثیرات مثبتی بر جای بگذارد. بطورکل می‌توان گفت بیوترانسفورماسیون، 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.

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

ارگانیسم‌ها می‌توانند از آنزیم‌های تجزیه کننده استفاده کنند که سرعت تجزیه یک ماده شیمیابی را افزایش دهند. بنابراین تجزیه زیستی فرآیندی آنزیمی است که منجر به تجزیه زنوبیوتیک‌ها به ذرات کربن، کربن دی‌اکسید، آب و دیگر مولکول‌های غیرآلی می‌شود (معدنی شدن). مهمترین میکرووارگانیسم‌ها در تجزیه زیستی قارچ‌ها، باکتری‌ها و جلبک‌ها هستند (۲۱). باکتری‌های مهم در فرآیند تجزیه زیستی شامل باسیلوس، سودوموناس، کلپسیلا، مایکوبیکتریوم، رودوکوکوس، فلاوروباکتریوم، اشریشیا، آزوپیکتر و آکالالیژنر هستند. از قارچ‌های مهم در تجزیه زیستی می‌توان اسپوروتروکوم، ترمومایسین، چئوپریکوم، کلادوسپوریوم، کاندیدا، پنی‌سیلیوم و آئروبازیدیوم را نام برد (۱۶). این ارگانیسم‌ها مواد شیمیابی 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 هوایی و بی‌هوایی تقسیم شود:

تجزیه هوایی:  $\text{Polymer} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{biomass} + \text{residue(s)}$

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

## "رضابی و همکاران، بیوترانسفورماسیون و کاربردهای آن در صنایع غذایی"

### فهرست منابع

#### References

- 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-Patró'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., Fokou 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-

## "رضابی و همکاران، بیوترانسفورماسیون و کاربردهای آن در صنایع غذایی"

glucopyranoside to higher chain alkyl glucosides by cell bound b-glucosidase of *Pichia etchellsii*. Bioresource Technology, 107:287-294

- 37- Richel, A., Laurent, P., Wathélet, B., Wathélet, 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 Professor 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, biocatalyst