Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 9, Number 2 (05-2015)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Studying the potential of xanthan gum production by local bacterial isolate of Iran

Saba Amiri Kojouri [1], Ali Raefi [2], Nasim Amiri Kojouri [3]

1. Young Researchers and Elite Club, Chalus Branch, Islamic Azad University, Chalus, Iran
2. Young Researchers and Elite Club, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran
3. Department of Biotechnology, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Tonekabon, Iran

Article Information

Article history:
Received: 2014/09/01
Accepted: 2015/01/10
Available online:2015/06/10

Article Subject:
Microbial Biotechnology

IJMM 1394; 9(2): 56-62

Corresponding author at:

Saba Amiri Kojouri

Young Researchers and Elite Club, Chalus Branch, Islamic Azad University, Chalus, Iran

Email:
Saba_amiri12@yahoo.com

Abstract

Background and Aim: Xanthan gum is a polysaccharide biopolymer which is produced by bacteria of the genus Xanthomonas. The purpose of this study is evaluation of increase potential of xanthan gum production by local bacterial isolate from Iran.

Materials and Methods: In this study, xanthan production in a new strain and native of *Xanthomonas campestris* strain saba.ton and bacterium of *X. campestris* PTCC 1473.To produce the gum, bacteria after becoming active in YDC Broth and producing have been studied biomass to were transferred Gum (Production Culture). To produce to a sufficient a mount cell dry weight, diluted fermentation medium and centrifuged, the supernatant was removed for isolation of xanthan cell mass deposition, resuspension and isolated by ethanol precipitation of xanthan and xanthan dry weight was determined by centrifugation done.

Results: Based on comparison between native species with standard species, the native one has had a faster growth (within 24 hours of native strains, reference strains during 48 hours). The Colonies of native species in comparison with standard strains were more yellow, larger and more highly viscous but two bacteria have had the same biochemical properties. Dry weight of xanthan produced by the native strain was 1.08 g /100 ml and standard strain was 0.73 g /100 ml.

Conclusions: The results showed that the bacterium of *X. campestris* strain saba.ton as a native strain, in comparison with standard strain of *X. campestris* than PTCC 1473 without optimization in conditions of growth have high in the production of xanthon and it can be used in different industries with purifying produced xanthan.

Key Words: *Xanthomonas*, xanthan gum, native

Copyright © 2015 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Amiri Kojouri S, Raefi A, Amiri Kojouri N. Studying the potential of xanthan gum production by local bacterial isolate of Iran. Iran J Med Microbiol. 2015; 1394 (2): 56-62

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۹ – شماره ۲ – تابستان ۱۳۹۴

Journal homepage: www.ijmm.ir

بررسی پتانسیل تولید صمغ زانتان توسط جدایه باکتریایی بومی ایران

صبا امیری کجوری [۱]، علی رائفی [۲]، نسیم امیری کجوری [۳]

۱. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد چالوس، دانشگاه آزاد اسلامی، چالوس، ایران.
۲. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.
۳. گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، تنکابن، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله
دریافت:۱۳۹۳/۰۶/۱۰
پذیرش:۱۳۹۳/۱۰/۲۰
انتشار آنلاین:۱۳۹۴/۰۳/۲۰
موضوع:
بیوتکنولوژی میکروبی

IJMM 1394; 9(2): 56-62

نویسنده مسئول:
صبا امیری کجوری

باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد چالوس، دانشگاه آزاد اسلامی، چالوس، ایران

تلفن: ۰۹۱۱۳۹۱۵۷۸۷

پست الکترونیک:
Saba_amiri12@yahoo.com

چکیده

زمینه و اهداف: صمغ زانتان یک بیوپلیمر پلی‌ساکاریدی است که توسط باکتری‌های جنس *زانتوموناس* تولید می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی پتانسیل تولید صمغ زانتان توسط جدایه باکتریایی بومی ایران است.

مواد و روش کار: در این پژوهش، تولید زانتان توسط سویه جدید و بومی *Xanthomonas Campestris strain saba.ton* و باکتری *زانتوموناس کامپستریس* PTCC 1473 بررسی شد است. به‌منظور تولید صمغ، باکتری‌ها پس از فعال شدن در محیط YDC Broth و تولید زیست‌توده به میزان کافی به محیط کشت تولید صمغ (Culture Production) منتقل گردیدند. به‌منظور تولید وزن خشک سلولی، محیط تخمیر رقیق و سانتریفوژ شد، محلول رویی برای جداسازی زانتان از رسوب توده سلولی جدا و پس از رسوب زانتان با اتانول محلول سازی مجدد و جداسازی با سانتریفوژ انجام و وزن خشک زانتان تعیین گردید.

یافته‌ها: بر اساس مقایسه سویه بومی با سویه استاندارد، سویه بومی رشد سریع‌تری داشته است (رشد سویه بومی طی ۲٤ ساعت، سویه مرجع طی ٤۸ ساعت). کلنی سویه بومی در مقایسه با سویه استاندارد روی محیط کشت، زردتر، بزرگ‌تر و لزج‌تر بود. دو باکتری خصوصیات بیوشیمیایی یکسانی داشتند. وزن خشک زانتان تولیدشده توسط سویه بومی ۱/۰۸*g/100ml* و سویه استاندارد ۰/۷۳*g/100ml* بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که باکتری *Xanthomonas Campestris strain saba.ton* به‌عنوان یک سویه بومی، نسبت به سویه استاندارد *زانتوموناس کامپستریس PTCC 1473* بدون بهینه‌سازی در شرایط رشد دارای پتانسیل بالایی در تولید زانتان است و می‌توان، با خالص‌سازی زانتان تولیدشده، آن را در صنایع مختلف به کار برد.

کلمات کلیدی : *زانتوموناس، صمغ زانتان، بومی*

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

صمغ زانتان یک هتروپلی‌ساکارید برون سلولی که به روش میکروبی از کشت باکتری *زانتوموناس کامپستریس* تولید می‌شود (۱). زانتوموناس‌ها باکتری‌های گرم منفی، میله‌ای شکل، متحرک، دارای یک تاژک قطبی و هوازی اجباری از شاخه پروتئوباکترها هستند (۲،۳). زانتوموناس‌ها رنگ‌دانه زردرنگی تولید می‌کنند که مشتق آریل پلی‌ان است و زانتومونادین نام دارد. این رنگ‌دانه در آب نامحلول و در اتر، نفت، متانول و بنزن قابل حل است (۳،۴). همچنین، این باکتری‌ها یک اگزوپلی‌ساکارید خارج سلولی به نام زانتان تولید کرده که شامل: واحدهای پنتاساکاریدی گلوکز، مانوز و گلوکورونیک اسید با نسبت‌های ۱:۲:۲ است. این پلی‌ساکارید به باکتری ظاهر موکوئیدی داده و علاوه بر این‌که باکتری را از

شرایط نامساعد محیطی محافظت می‌کند، دارای مصارف دارویی، صنعتی، غذایی، شیمیایی و کشاورزی نیز است (۴،۵،۶ و ۷). بیوپلیمر میکروبی زانتان که در طی یک فرآیند تخمیری تولید می‌شود، به‌عنوان عامل افزایش ویسکوزیته و استحکام ژله‌ای در سیال‌های حفاری استفاده می‌گردد (۸). به‌گونه‌ای که خواص بسیار خوب آن در معلق نگه‌داشتن قطعات و ذرات جامد نسبت به پلیمرهای دیگر در غلظت یکسان قابل مقایسه نیست. پلیمر-های زانتان در برابر تجزیه شدن تا دمای ۱۲۰°C پایدار می‌باشند (۹). این کاربردها در صمغ زانتان به علت خصوصیات رئولوژیکی برترش است، خصوصیات مهم صمغ زانتان، توانایی تشکیل محلول‌هایی با ویسکوزیته بالا است. محلول زانتان در محدوده بالایی از غلظت‌های نمک ($150\frac{g}{l}\ NaCL$)، درجه حرارت بالای ۹۰ درجه سلسیوس و pH ۱۱ – ۲ پایدار است. همچنین ویسکوزیته محلول با تغییر pH، حضور نمک‌ها و درجه حرارت تغییر نمی-کند. صمغ زانتان به‌طور گسترده در غذا به دلایل مهم که شامل موارد زیر است، استفاده می‌شود. پایداری امولسیون (تثبیت امولسیون)، پایداری درجه حرارت، سازگاری با ترکیبات غذایی و خصوصیات رئولوژیکی شبه پلاستیک آن و به خاطر خصوصیاتش در قوام آمدن محلول‌های آبکی و پایدار کننده‌ی امولسیون‌ها و تعلیق کاربرد دارد (۱۰). ویسکوزیته‌ی بالای محلول‌ها و قابلیت حل شدن در آب باعث کاربردهای مهم صمغ زانتان در صنایع نفت، در مایعات حفاری چاه و پاک‌سازی خطوط لوله شده است. علاوه بر این، در صنایع شیمیایی به‌عنوان پایدارکننده رنگ‌ها، همچنین در فرمولاسیون‌های دارویی و آرایشی و خمیردندان‌ها کاربرد دارد (۱۱). رفتار رئولوژیک زانتان بازتاب ساختار سخت و نتیجه واکنش‌های درون‌مولکولی آن است که معمولاً در محلول-های آبی شکل می‌گیرد (۱۲). این صمغ خصوصیات رئولوژیکی ویژه‌ای دارد و در صنایع مختلف با توجه به خواص تغییر شکل متنوع، به‌عنوان عامل پایدارکننده، مخلوط کننده، امولسیون کننده، سوسپانسیون کننده، تنظیم ویسکوزیته، کمک به تشکیل ژل و انعقاد در بسیاری از صنایع به کار می‌رود (۲-۱). سازمان غذا و دارو آمریکا (FDA) در نوزدهم مارس ۱۹۶۹ این صمغ را به‌عنوان افزودنی مجاز به مواد غذایی (تغلیظ، ایجاد ژل، کنترل تشکیل بلوره‌های یخ در غذاهای منجمد) معرفی کرد (۴) خاصیت شبه پلاستیک صمغ زانتان باعث می‌شود که ماده غذایی، احساس دهانی بهتر و رهاسازی طعم بیشتری داشته باشد. کاربردهای زانتان در صنایع غذایی عبارت‌اند از: پایدار و تغلیظ کننده در محصولات آردی، تسهیل پمپاژ و کاهش زمان فرآیند حرارتی کنسرو در غذاهای کنسروی، افزایش ویسکوزیته سیال و یکنواخت سازی مخلوط در مخلوط‌های پودری، افزایش پایداری امولسیون و تسهیل پمپاژ در سس سالاد، افزایش ویسکوزیته و پایداری حرارتی مواد معطر در انواع سس و عصاره گوشت، پایداری امولسیون پنیر و نوشیدنی‌های شیری، بهبود خواص فیزیکی و ارگانولپتیک پنیر در محصولات لبنی کاربرد دارد (۴،۱۳).

هدف از این پژوهش، مطالعه بر روی سویه جدید و بومی (*X. campestris* strain saba.ton) با توانایی تولید صمغ زانتان و نیز ارزیابی میزان تولید زانتان توسط این سویه جدید در مقایسه با سویه استاندارد *زانتوموناس کامپستریس* PTCC 1473 بود.

مواد و روش‌ها

سویه‌های باکتریایی و محیط کشت:

سویه بومی *X. campestris strain saba.ton* از برگ‌های علامت‌دار درختان لیموترش که آلوده به بیماری شانکر باکتریایی بودند و از شهرستان جیرفت در استان کرمان جداسازی شده بود مورداستفاده قرار گرفت (شماره دسترسی KF706548). همچنین از سویه باکتریایی *زانتوموناس کامپستریس* PTCC1473 خریداری‌شده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران جهت تولید صمغ زانتان در مقایسه با سویه بومی و جدید *X. campestris strain saba.ton*، استفاده شد. جهت فعال شدن باکتری‌ها از محیط کشت YDC حاوی ۱۰ گرم Yeast extract، ۲۰ گرم D-glucose، ۲۰ گرم $CaCo_3$، ۱۷ گرم Agar در حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر استفاده شد. سپس تمامی پلیت‌های کشت داده شده جهت بررسی‌های ماکروسکوپی در انکوباتور (بهداد، ایران) با دمای ۲۸ درجه سلسیوس و در شرایط هوازی به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند (۱۴).

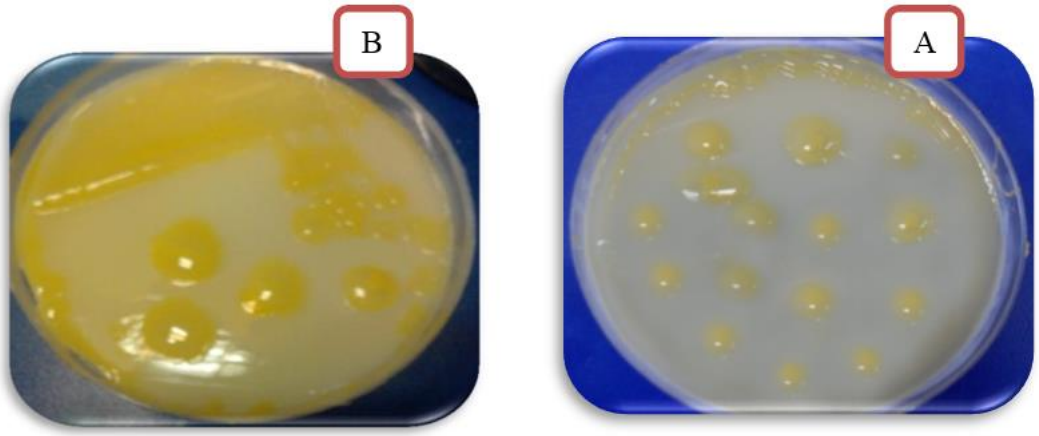
شناسایی مورفولوژیکی و بیوشیمیایی:

کلنی تک‌سویه بومی و جدید *X. campestris strain saba.ton* با کلنی تک *زانتوموناس کامپستریس* خریداری‌شده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران با PTCC 1473 موردبررسی فنوتیپی شامل بررسی ویژگی‌های ماکروسکوپی (شکل، رنگ و قوام کلنی‌ها) و نیز بررسی میکروسکوپی مانند رنگ‌آمیزی گرم قرار گرفتند. سپس بر اساس نتایج آزمون‌های

نام‌برده، از سایر آزمون‌های متداول بیوشیمیایی مانند کاتالاز به روش Schaad (۱۵)، اکسیداز به روش Kovacs (۱۶)، هیدرولیز نشاسته به روش Fahy (۱۷)، هیدرولیز ژلاتین به روش Schaad و همکاران (۱۵)، آزمون رشد هوازی و بی‌هوازی به روش Hugh و Leifson (۱۸)، آزمون احیا نیترات به روش Lelliott و Stead (۱۹)، تولید ایندول به روش Schaad و همکاران (۱۵) و تولید استوئین به روش Fahy (۱۷) استفاده گردید.

تولید صمغ زانتان:

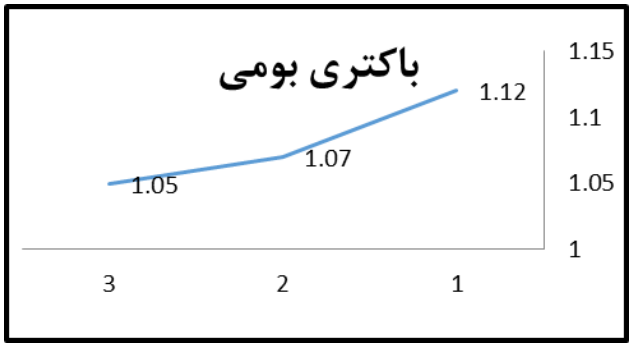
برای تولید صمغ زانتان از دو محیط کشت استفاده شد. محیط کشت اول با عنوان محیط پیش کشت (Preculture) با ترکیبات ۰/۱ گرم Yeast extract، ۰/۲ گرم D-glucose، ۰/۲ گرم CaCo3 در حجم ۱۰ میلی‌لیتر بود. پس از آماده‌سازی این محیط و استریل شدن در اتوکلاو از کلنی‌های آماده، یک کلنی در شرایط استریل به آن تلقیح شد و ارلن‌ها در شیکر انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سلسیوس و سرعت ۲۰۰rpm به مدت ۳ روز نگهداری شدند تا زیست - توده کافی تولید شود (۱۴). پس از ۳ روز و تولید زیست- توده به میزان کافی، باکتری‌ها به محیط کشت تولید صمغ (Production Culture) در حجم ۹۰ میلی‌لیتر منتقل گردیدند. ترکیبات آن شامل ۲ گرم yeast extract، ۰/۳ گرم D-glucose، ۰/۰۲ گرم $Mgso_4,7H_2O$، ۰/۵ گرم KH_2PO_4 بود (۱۵). پس از استریل و آماده‌سازی محیط کشت درون ارلن‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر از زیست - توده تولید شده در محیط پیش کشت به ۹۰ میلی‌لیتر از محیط تولید صمغ افزوده و در شیکر انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سلسیوس و سرعت ۲۰۰rpm به مدت ۴ روز نگهداری شدند. سپس به‌منظور پاستوریزاسیون و بلانچینگ، ارلن‌ها در بن‌ماری با دمای ۸۰ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شدند تا میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌های موجود در محیط کشت غیرفعال شدند. پس از این مرحله محیط کشت تولید صمغ (Production Culture) با ۵ حجم آب رقیق شد و با سرعت ۸۰۰۰rpm به مدت ۴۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. پس از جدا کردن مایع رویی حاوی صمغ از رسوب که حاوی بقایای سلولی بود، رسوب را دور ریخته و از مایع رویی (سوپرناتانت) برای جداسازی صمغ زانتان استفاده شد. ۳ برابر حجم اتانول ۹۶ درصد سرد به محلول مایع رویی اضافه و مخلوط حاصله به مدت ۴۰ دقیقه و با سرعت ۸۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد، صمغ استحصالی که در ته لوله به صورت رسوب جمع شده بود بعد از بیرون ریختن مایع رویی در آون ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه خشک شد و در پایان توزین گردید (۱۴). تمام مراحل آزمایش در ۳ نوبت تکرار انجام شد. درنهایت به‌منظور تجزیه‌وتحلیل آماری نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش، از آزمون t- test استفاده شد.



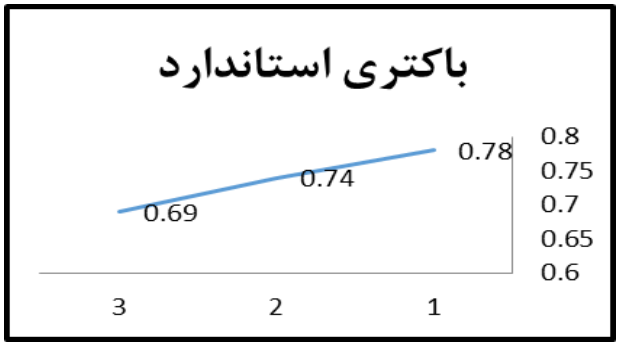
شکل ۱. شکل A: *زانتوموناس کامپستریس* با PTCC 1473، شکل B: *X.campestris* strain saba.to

یافته‌ها

بر اساس مقایسه سویه بومی با باکتری استاندارد مرجع، هر دو باکتری، گرم منفی، میله‌ای کوتاه، هوازی اجباری، کاتالاز مثبت، اکسیداز منفی، قادر به هیدرولیز نشاسته و هیدرولیز ژلاتین بودند. تولید ایندول و استوئین، آزمون اوره‌آز و احیا نیترات در این باکتری‌ها منفی بود. کلنی سویه بومی در مقایسه با باکتری استاندارد مرجع، در محیط YDC، زردتر، بزرگ‌تر، موکوئیدی و بسیار لزج بود. (شکل ۱). همچنین سویه بومی رشد سریع‌تری داشت (رشد سویه بومی طی ۲۴ ساعت، رشد سویه استاندارد در مدت ۴۸ ساعت).

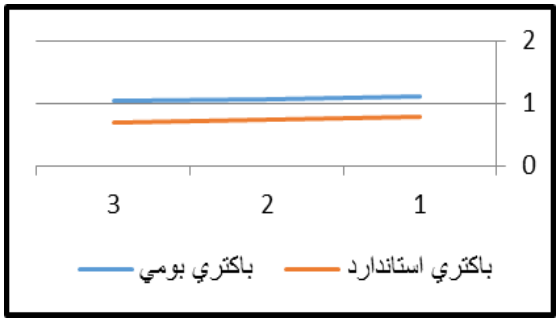


نمودار ۱. تولید صمغ زانتان توسط باکتری بومی



نمودار ۲. تولید صمغ زانتان توسط باکتری استاندارد

استخراج صمغ زانتان با قرار دادن باکتری‌ها در محیط مایع YDC به مدت ۳ روز و در محیط تولید صمغ به مدت ۴ روز انجام گردید. بر اساس اندازه‌گیری وزن صمغ استحصالی در سه نوبت تکرار و با توجه به تجزیه‌وتحلیل آماری نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر، میزان صمغ استحصالی توسط سویه بومی *X. campestris strain saba.ton* در محدوده‌ی 1.08 g/100ml گزارش شد. در نمودار ۱ نتایج حاصل از تولید صمغ توسط باکتری بومی نشان داده‌شده است. همچنین میزان صمغ استحصالی توسط *زانتوموناس کامپستریس* PTCC 1473، 0.73 g/100ml گزارش شد. در نمودار (۲) نتایج حاصل از تولید صمغ توسط باکتری استاندارد نشان داده‌شده است. همچنین طبق نتایج حاصل از بررسی مقایسه‌ای بین دو باکتری در میزان تولید صمغ زانتان در نمودار (۳) برتری باکتری بومی نسبت به باکتری استاندارد نشان داده‌شده است. بر اساس تجزیه‌وتحلیل آماری P_v محاسبه شده ($P<0.05$) است، این نتیجه نشان می‌دهد بین دو باکتری رابطه معنی‌داری وجود دارد. همچنین باکتری بومی در میزان تولید صمغ زانتان نسبت به باکتری استاندارد از قابلیت بیشتری برخوردار است.



نمودار ۳. نمودار خطی مقایسه بین دو نوع باکتری در تولید صمغ

بحث

صمغ زانتان به‌عنوان مهم‌ترین پلی‌ساکارید میکروبی تجاری شناخته‌شده است و در صنایع مختلف قابل‌استفاده است خصوصیات بالای صمغ زانتان این است که قادر است با اکثر صمغ‌های طبیعی رقابت کند و همچنین تولیدات بهتر و مناسب‌تر را که موجب مصرف نسبتاً آسان آن‌ها می‌شود را فراهم می‌کند. این کاربردها اهمیت این صمغ را از نظر صنعتی افزایش می‌دهد (۲۰). در سال‌های اخیر میزان مصرف این ترکیبات به‌شدت افزایش یافته است. به همین دلیل بهینه‌سازی رشد این میکروب موردعلاقه بسیاری از محققین و صنایع مربوطه قرارگرفته است. از اوایل ۱۹۷۰ که صمغ زانتان معرفی گردید، برخلاف قیمت بالای آن در بسیاری از محصولات استفاده می‌شود. در دهه اخیر نیاز سالانه بازار جهانی به این صمغ افزایش‌یافته، زیرا میزان مصرف پلی‌ساکاریدهای میکروبی در حال افزایش است. با این وجود به دلیل رقابت شدیدی که در میان تولیدکنندگان این ماده وجود دارد، صنایع تولیدکننده زانتان مجبور هستند تا با استفاده از تکنیک‌های مهندسی و بیولوژیک، بازدهی فرآیند تولید زانتان را بهبود بخشند (۲۱). متأسفانه این صمغ گران‌بها در کشورمان تولید نمی‌شود و جز اقلام وارداتی

است و با توجه به این‌که تقاضا برای مصرف صمغ زانتان در حال افزایش است، مشکلاتی نظیر نرخ پایین تولید و کم بودن میزان بازدهی که موجب افزایش قیمت تولید می‌شود باید حل گردد. در سال‌های اخیر پیشرفت‌های بسیاری درزمینه استفاده از مواد زیستی حاصل‌شده است. انواع پلیمرهای طبیعی و مصنوعی در زمینه‌های مختلف پزشکی و غیرپزشکی به کار می‌روند. در میان انواع پلیمرها، پلی‌ساکاریدها به دلیل ویژگی‌های مطلوبی که دارند از اهمیت بالایی برخوردار هستند. در میان انواع پلی‌ساکاریدهای میکروبی زانتان دارای خواص فیزیکی و زیستی مناسب و هم-چنین کاربردهای مفیدی در زمینه‌های مختلف پزشکی و غیرپزشکی می‌باشد (۲۰). با توجه به این‌که *زانتوموناس‌ها* قابلیت تولید یک بیوپلیمر با ارزش به لحاظ صنعتی را دارند که متأسفانه هیچ تولیدی در این زمینه در ایران وجود ندارد و هرساله هم سهم زیادی از سرمایه کشور صرف واردات این صمغ به دلیل مصارف صنعتی گسترده‌اش می‌شود و نیاز به آن‌هم در حال افزایش است، این تحقیق موردبررسی قرار گرفت. در مطالعه حاضر تولید زانتان میکروبی به‌وسیله سویه بومی و جدید *X.campestris strain saba.ton* که قبلاً از برگ‌های درختان لیموترش آلوده به شانکر از شهرستان جیرفت در استان کرمان جداسازی شده بود موردبررسی قرار گرفت. در این پژوهش در یک بررسی مقایسه‌ای، توانایی این سویه بومی در مقایسه با سویه استاندارد *زانتوموناس کامپستریس* PTCC 1473 که از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شده بود در تولید صمغ زانتان به ثبت رسید. هم‌چنین خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی این باکتری‌ها مورد بررسی قرار گرفت. درنتیجه سویه بومی دارای قابلیت رشد سریع‌تری نسبت به سویه استاندارد بود. برای تولید صمغ زانتان از *زانتوموناس کامپستریس* باید محیط کشت باکتری مناسب برای رشد میکروارگانیسم و تولید صمغ باشد، باکتری *زانتوموناس کامپستریس* برای تولید زانتان به منابع کربن، نیتروژن، فسفر و همچنین مواد مغذی کم‌مقدار مانند پتاسیم، آهن و کلسیم نیاز دارد (۴،۲۲). مهم‌ترین منابع غذایی محیط کشت منابع کربن و ازت می‌باشند و بهترین و معمول‌ترین منبع کربن مورداستفاده گلوکز هست (۲۳). علت اثر زیاد غلظت منبع کربن بر تولید زانتان، نیازمندی زیاد میکروارگانیسم *زانتوموناس* برای رشد و نیز تولید زانتان به منبع کربن است (۲۴،۲۵). بهینه سازی نوع و غلظت منابع یاد شده، به‌ویژه منبع کربن بر بازدهی تولید صمغ و کم کردن هزینه تولید مؤثر است. به همین دلیل غالب تحقیقات در رابطه با تولید میکروبی زانتان درزمینه مطالعه اثر متغیرهای محیط کشت بر راندمان تولید متمرکز است (۲۶،۲۷). به عبارتی، در اکثر این تحقیقات توانایی تولید صمغ زانتان توسط یک سویه استاندارد با بهینه‌سازی در شرایط تولید آن مورد ارزیابی قرارگرفته است. جنبه‌های نوآوری پژوهش حاضر بر این اساس می‌باشد که توانایی تولید صمغ زانتان از یک سویه وحشی که بومی ایران است بدون بهینه‌سازی در شرایط رشد و ایجاد تغییرات در متغیرهای محیط کشت، در مقایسه با یک سویه استاندارد مورد بررسی قرارگرفته است. این تحقیق با مطالعه‌ای که توسط Wadhai در سال ۲۰۱۰ در دپارتمان میکروبیولوژی هند در مورد تولید صمغ زانتان صورت گرفت نزدیک بود ولی میزان صمغ استحصالی در تحقیق آن‌ها در محدوده ۱/۳۳g/100ml-۰/۰۵۴ بود و میزان صمغی که آن‌ها از یک سویه‌ی وحشی به دست آوردند کمتر از میزان صمغی بود که در پژوهش حاضر از یک سویه‌ی وحشی بدست آمد (۱۴). در سال ۲۰۱۱ بر اساس مطالعه‌ای که توسط Aarthyو همکارانش در هند انجام شد، با بهینه‌سازی شرایط تولید صمغ زانتان توسط *زانتوموناس کامپستریس*، میزان تولید در حد ۰/۳۶g/100ml بود (۲۱). درحالی‌که تولید صمغ زانتان توسط سویه جدید *X. campestris strain saba.ton* بدون در نظر گرفتن شرایط بهینه‌سازی، ۱/۰۸ g/100ml می‌باشد. همچنین Ghiassifar در سال ۲۰۰۵ تولید زانتان و بهینه‌سازی شرایط تولید آن، به‌وسیله باکتری *زانتوموناس کامپستریس* PTCC 1473 را اثبات نمود (۲۷). در مطالعه دیگری Niknezhad و همکاران در سال ۲۰۱۳، تولید میکروبی زانتان توسط باکتری *زانتوموناس کامپستریس* PTCC 1473 با استفاده از نشاسته هیدرولیز شده را مورد بررسی قرار دادند (۲۸). نتایج بدست آمده در این پژوهش، نشان‌دهنده وجود سویه‌های بومی با ارزش در کشور است که می‌توان با انجام مطالعات گسترده‌تر در مورد این سویه‌های با ارزش در زمینه تولید صمغ در استفاده از آن‌ها در بخش‌های مختلف صنعتی به‌ویژه در صنایع غذایی و غیر غذایی امید داشت. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تولید صمغ زانتان توسط سویه‌های بومی نیز قابل انجام است. به‌طوری‌که در این مطالعه برای اولین بار باکتری بومی *X. campestris strain saba.ton* از نظر تولید زانتان معرفی گردید. این سویه به‌عنوان یک سویه بومی در ایران معرفی شد که دارای توان بالقوه‌ای در تولید صمغ زانتان در محدوده ۱/۰۸ g/100ml می‌باشد. همچنین میزان زانتان تولید شده توسط این سویه بومی در مقایسه با سویه استاندارد *زانتوموناس کامپستریس* PTCC 1473 بیشتر اما از نظر

ساختاری مشابه با الگوی استاندارد (زانتان تولیدشده توسط *زانتوموناس کامپستریس*) ارزیابی شد. با مطالعاتی که پیرامون منابع موجود انجام شد، مشخص گردید که سویه بومی و جدید مورد مطالعه از نظر تولید زانتان در این پژوهش تاکنون از نظر تولید زانتان در پژوهش‌های دیگر گزارش نشده است. همچنین پیشنهادهایی که در رابطه با این پژوهش می‌توان ذکر نمود عبارت‌اند از: خالص‌سازی زانتان تولیدشده از سویه بومی، به‌منظور استفاده از آن در مصارف غذایی و غیر غذایی، بهینه‌سازی شرایط رشد این سویه بومی ازنظر محیط کشت، دما، pH. تمامی نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه در کنار ویژگی‌های منحصربه‌فرد زانتان باکتریایی، آینده روشنی را برای تولید این فرآورده بیولوژیک باارزش با کاربردهای متنوع و مطلوب از سویه‌های باکتریایی جدید پیش‌بینی می‌نماید. همچنین ضرورت بررسی‌های بیشتر در مورد مکانیسم‌های مولکولی تولید زانتان توسط این سویه بومی و نیز شدت توانایی تولید زانتان توسط آن وجود دارد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی و کارکنان آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن به دلیل حمایت‌های علمی و اجرایی کمال امتنان را دارند.

تعارض منافع:

بین نویسندگان و مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

References

1. Kassim MBI. Production and characterization of the polysaccharidexanthan gum by a local isolate of the bacterium Xanthomonas campestris. Afr J of Biotechnol. 2011; 10(74): 16924-16928.
2. Zabot GL, Silva MF, Terra LD, Foletto EL, Jah SL, Dal Pra MF,et al. Simulation of the xanthan gum production in continuous fermentation systems. Biocatalysis and Agricultural Biotechnol. 2012; 1: 301–308.
3. Ya-Wen He, Ji'en Wu, Lian Zhou, Fan Yang, Yong-Qiang He, Bo-Le Jiang, et al. Xanthomonas campestris Diffusible Factor Is 3-Hydroxybenzoic Acid and Is Associated with Xanthomonadin Biosynthesis, Cell Viability, Antioxidant Activity, and Systemic Invasion. The American Phytopathological Society. 2011; 24(8): 948–957.
4. Indu Sara Benny, Gunasekar V, Ponnusami V. Review on Application of Xanthan Gum in Drug Delivery. Int J of PharmTech Res. 2014; 6(40): 1322-1326.
5. Zhou L, Huang TW, Wang JY, Sun S, Chen G, Poplawsky A, et al. The rice bacterial pathogen Xanthomonas oryzae pv. oryzae produces 3-hydroxybenzoic acid and 4-hydroxybenzoic acid via XanB2 for use in xanthomonadin, ubiquinone, and exopolysaccharide biosynthesis. Mol Plant Microbe Interact. 2013;26(10):1239-48.
6. Anbuselvi S, Sathish Kumar M, Vikram M, PadmajA. A comparative study on biosynthesis of xanthan gum using thre different xanthomonas strains isolated from diseased plants. Int J Pharm Bio Sci. 2012; 3(3): 1 – 6.
7. Mona EM Mabrouk, Amani M D El Ahwany, Maha M B Beliah, Soraya A Sabry. Xanthan production by a novel mutant strain of Xanthomonas campestris: Application of statistical design for optimization of process parameters. Life Sci J. 2013;10(1): 1660-1667.
8. Leela K, Sharma G. Studies on xanthan production from Xanthomonas campestris. J Biopro Eng. 2008; 23: 687-689
9. Savvides AL, Katsifas EA, Hatzinikolaou DG, Karagouni AD. Xanthan production by Xanthomonas campestris using whey permeate medium. World J Microbiol Biotechnol. 2012; 28: 2759–2764.
10. Ben Salah R, Chaari K, Besbes S, Ktari N, Blecker C, Deroanne C, et al. Optimisation of xanthan gum production by palm date (Phoenix dactylifera L.) juice by-products using response surface methodology. Food Chem. 2010; 121(2): 627-33.
11. Melo CPB, Grossmann MVE, Yamashita F, Youssef EY, Dall'antônia, LH, Mali S. Effect of manufacturing process and xanthan gum addition on the properties of cassava starch films. J Polym Environ. 2011; 9: 739–749.
12. Kayacier A. Dogan M. Rheological properties of some gumssalep mixed solutions. J Food Eng. 2006; 72: 261-265.
13. Faria, S, Vieira, PA, Resende, MM, Ribeiro, EJ,Cardoso, VL. Application of a model using the

phenomenological approach for prediction of growth and xanthan gum production with sugar cane broth in a batch process. Food Sci Technol. 2010; 43: 498-506.

14. Wadhai VS, Dixit AN. Production of xanthan gum by xanthomonas campestris and comparative study of xanthomonas campestris isolates for the selection of potential xanthan producer. indian streams reserach. 2011; 1(11): 1-4.

15. Schaad NW. Laboratory Guide for Identification of Plant pathogenic Bacteria, 2th ed. Am Phytopathol Soc St Paul MN. 1988: 158.

16. Kovacs N. Identification of Pseudomonas pyocyana by the oxidase reaction. Nature. 1956; 178: 703-708.

17. Fahy PC, Hayward AC. Media and methods for isolation and diagnostic tests. In: Fahy PC, Persley GJ. Plant Bacterial Disease: A diagnostic guide. New York. Academic Press; 1983: 337-347.

18. Hugh R, Leifson E. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative methabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. J Bacterio. 1953; 66: 24-26.

19. Lelliott RA, Stead DE. 1987. Methods for Diagnosis of Bacterial Disease of Plants. Blackwell Scientific Publication, U.K. 215.

20. Kumara Swamy M, Khan Behlol A, Rohit KC, Purushotham B. Effect of carbon and nitrogen sources on the production of xanthan gum from Xanthomonas campestris isolated from soil. Arch Appl Sci Res. 2012; 4 (6): 2507-2512.

21. Aarthy Palaniraj,Vijayakumar Jayaraman, Sekar Babu Hariram. Influence of nitrogen sources and agitation in xanthan gum production by xanthomonas campestris. Biotech Adv. 2011; 2(3): 305-309.

22. Gomashe AV, Dharmik PG, Fuke PS. Optimization And Production Of Xanthan Gum By Xanthomonas Campestris NRRL-B-1449 From Sugar Beet Molasses. The Int J Of Eng and Sci. 2013; 2(5): 52-55.

23. Gilani SL, Heydarzadeh HD, Mokhtarian N, Alemian A, Kolaei M. Effect of preparation conditions on xanthan gum production and rheological behavior using cheese whey by Xanthomonas campestris. Aust. J. Basic Appl Sci. 2011; 5 (10): 855-859.

24. Qunliang Li, Wei Yan, Kedi Yang, Yanxuan Wen, Ji-liang Tang. Xanthan gum production by Xanthomonas campestris pv. campestris 8004 using cassava starch as carbon source. Afr J of Biotech. 2012; 11(73): 13809-13813.

25. Taher E. Optimization of xanthan production by Xanthomonas campestris grown on waste date extract, [dissertation]. Tehran: AmirKabir University of Technology. 2006. [In Persian]

26. Rosalam S, England R. Review of xanthan gum production from unmodified starches by Xanthomonas comprestris sp. Enzyme and Microbial Technology. 2006; 10(39): 197-207.

27. Ghiassifar SH. A research on the effect of different nitrogen sources in Xanthan gum production by Xanthomonos campestris. Proceeding of the 04 th National Biotechnology Congress; 2005 August; Kerman, Iran.

28. Niknezhad SV, Asadollahi MA, Biria D, Zamani A. Optimization of microbial production of xanthan gum by the bacterium Xanthamonas campestris using the hydrolyzed starch. Bio J of Microorganism. 2013; 2(5): 1-10. 2013/ 05/15 -Persian