مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۸، شماره ۳، تیر ۱۳۹۲(شماره پی در پی۷۵)

تولید دکستران از ملاس نیشکر با استفاده از باکتری لوکونوستوک مزانتروئیدس

مهدی فرامرزی، یوسف رحیمی‌کشکولی[*]، حمیدرضا رحیمی کشکولی، داریوش غلامزاده
گروه مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گچساران، گچساران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۱۴

چکیده

زمینه و هدف: دکستران پلی‌ساکاریدی متشکل از مونومرهای گلوکز می‌باشد که به طور گسترده به عنوان توسعه دهنده حجم خون در داروسازی استفاده می‌شود. هدف این مطالعه تولید دکستران از ملاس نیشکر با استفاده از باکتری لوکونوستوک مزانتروئیدس بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، جهت رشد میکروارگانیسم و تولید دکستران، ملاس نیشکر در غلظت‌های مختلف به محیط کشت اضافه شد. رسوب دکستران بعد از ۴۸ ساعت با اضافه کردن اتانول، تکان دادن و سانتریفوژ کردن حاصل گردید. جهت شناسایی کیفی، از اثر دکستران بر پولاریزاسیون و برای طراحی و تحلیل داده‌ها از روش آماری طرح رویه پاسخ استفاده شد.

یافته‌ها: پس از بررسی اثر جداگانه و متقابل پارامترها بر مقدار دکستران تولیدی نتایج مربوط به سطوح بهینه به صورت ۵۰ گرم بر لیتر ملاس نیشکر، دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و pH = ۸/۵ به دست آمد که در این شرایط، بیشترین دکستران برابر با ۸۲ گرم بر لیتر تولید شد. ضریب همبستگی مدل محاسباتی برای دکستران تولیدی ۹۹/۵ درصد به دست آمد که بیانگر تطابق عالی مدل محاسباتی با نقاط آزمایش شده و دقت بالای مدل بود.

نتیجه‌گیری: تولید دکستران به وسیله باکتری لوکونوستوک مزانتروئیدس و ملاس نیشکر به عنوان سوبسترا یک روش کم هزینه و مقرون به صرفه در مقایسه با روش‌های رایج تولید دکستران می‌باشد و علاوه بر تولید یک محصول کلینیکی، بار آلایندگی ملاس در محیط زیست به طرز چشمگیری کاهش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: دکستران، ملاس، لوکونوستوک مزانتروئیدس

نویسنده مسئول: **یوسف رحیمی کشکولی**، گچساران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گچساران، گروه مهندسی شیمی
Email: yousef.rk84@gmail.com

مقدمه

دکستران، بیوپلیمری از پلی ساکاریدها با جرم ملکولی بالا می‌باشد که در طی تجزیه ساکاروز و از زنجیره‌های دی‌ـ گلوکز تشکیل شده‌اند(۱). این ترکیب با استفاده از سویه‌های باکتریایی لوکونوستوک، استرپتوکوکوس و ایتوباکتر تولید می‌شود. هوکر و پدرسون اولین کسانی هستند که تولید دکستران از ساکاروز با باکتری لوکونوستوک را گزارش دادند(۲). جینز و همکاران[1](۱۹۵٤) گزارش دادند که تشکیل دکستران از گونه‌های مختلف باکتری‌ها عمدتاً از گونه لوکونوستوک بوده است(۳).

از لحاظ اقتصادی و تجاری از گونه لوکونوستوک مزانتروئیدس NRRL B-512F برای تولید دکستران که شامل ۹۵ درصد اتصالات از نوع۶ـ۱ α و ۵ درصد اتصالات از نوع۳ـ۱ α است استفاده می‌شود(۴).

در تمام گونه‌های باکتریایی تولید کننده دکستران یک ویژگی مشترک وجود دارد که ساکاروز عموماً تنها منبع کربوهیدرات مناسب برای ساختن این پلی ساکارید می‌باشد. بعضی از دکسترانها به وسیله میکروارگانیسمها از سایر مواد اولیه سنتز شده‌اند و همچنین یک سنتز شیمیایی نیز برای دکستران گزارش شده است (۵). علاوه بر ساکاروز خالص، سایر منابع حاوی مقادیر مناسب ساکاروز نیز می‌توانند برای تهیه دکستران مورد استفاده قرار گیرند، از جمله این منابع ملاس را می‌توان نام برد. ملاس حاوی ٦۰ـ۵۰ درصد ساکاروز است و در ایران سالانه حدود ۲۵۰ هزار تن ملاس از کارخانه‌های قند به دست می‌آید. دکستران به علت داشتن خواص غیر یونی و پایداری در شرایط عملیاتی مانند حرارت، اسید و قلیا، افزایش ویسکوزیته، حلالیت در آب و روغن، امکان تشکیل فیلم و خاصیت نگهداری آب، کاربردهای گسترده‌ای در صنایع غذایی، دارویی، بیوشیمیایی و دیگر صنایع پیدا کرده است.

مهمترین کاربرد تجاری این ترکیب در صنایع داروسازی تحت عنوانBlood Expander در جراحی مصدومینی که دچار خونریزی زیادی شده‌اند و احتمال به شوک رفتن آنها وجود دارد، می‌باشد. از جمله فواید این ترکیب عدم وابستگی به تیپ خونی گیرنده و تمایل کم نسبت به واکنش‌های ناسازگاری است(۷ـ۵).

خصوصیات فیزیکی دکستران بر حسب میکروارگانیسم به کار رفته، ترکیب محیط کشت، مدت زمان انکوبه کردن و روش کار متفاوت می‌باشد. به عنوان مثال، دکستران می‌تواند کاملاً محلول در آب، تا حدی محلول در آب یا کاملاً نامحلول در آب بر حسب میکروارگانیسم به کار رفته در تولید آن باشد. دکستران حاصل از باکتری لوکونوستوک مزانتروئیدس NRRL B-512F در آب محلول بوده، اما دکستران حاصل از لوکونوستوک دکسترانیکوم تا

1-Jeanes et al

حدی در آب محلول می‌باشد و دکستران حاصل از لوکونوستوک مزانتروئیدس NRRL B-512F در آب غیرمحلول است(۱۰ـ۸ و۴).

دکستران کلینیکی حاصل از لوکونوستوک مزانتروئیدس NRRL B-512F پودری سفیدرنگ، بی بو، بی طعم و جاذت آب بوده ، در آب گرم به تدریج حل شده و محلولی ویسکوز ایجاد می‌کند و هم‌چنین در اتانول و اتر تقریباً نامحلول است(۴). دکستران مصارف متنوعی در کلینیک، صنعت، آزمایشگاه‌ها، کارهای تحقیقاتی و هم‌چنین در شیرینی‌پزی، فرآورده‌های آرایشی دارد. دکستران‌های با وزن مولکولی ٤٠٠٠٠٠ـ٣٠٠٠٠ دارای بزرگ‌ترین بازار فروش در صنعت داروسازی هستند، که به طور عمده به عنوان افزایش دهنده حجم پلاسمای خون و رقیق کننده جریان خون به کار می‌روند. دکستران‌های دارای وزن مولکولی ٤٠٠٠٠ (دکستران ٤٠) ٧٠٠٠٠٠ (دکستران ٧٠)، ٧٥٠٠٠ (دکستران ٧٥)، ١١٠٠٠٠ (دکستران ١١٠) و ١٥٠٠٠٠ (دکستران ١٥٠) دارای مصارف کلینیکی می‌باشند. در سال‌های اخیر دکستران ٧٠ بیشتر به عنوان افزایش دهنده حجم خون و دکستران ٤٠ به عنوان رقیق کننده خون به کار می‌روند(۹).

برای تولید هر فرآورده بیوتکنولوژیک از جمله دکستران نیاز به بهینه سازی شرایط تولید شامل عوامل محیطی و نیز ترکیب محیط کشت است. هدف این مطالعه تعیین شرایط بهینه تولید دکستران با استفاده از یک سویه پر تولید لوکونوستوک مزانتروئیدس بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، میکروارگانیسم استفاده شده لوکونوستوک مزانتروئیدس ATCC 1059 بود که از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه شد. به منظور افزایش جسم سلولی، تأمین مقدار سلول مورد نیاز برای تلقیح، سازگاری سویه با محیط و تولید محصول، کاهش زمان تأخیر محیط پیش کشت با ترکیب ساکاروز ٨/٣٣ گرم، عصاره مخمر ٠/٢٥گرم، دی پتاسیم هیدروژن فسفات ٠/٥ گرم، سولفات منیزیم ٠/٠٢ گرم، سولفات آمونیوم ٠/٠٦ گرم ، و آب مقطر ١٠٠ سی‌سی تهیه می‌شود. ترکیب محیط کشت اصلی همان محیط پیش کشت است. فقط به جای ساکاروز از ملاس نیشکر استفاده می‌شود. جهت رشد میکروب‌ها و تولید دکستران ١٠ میلی‌لیتر از محیط پیش تلقیح را برداشته و به ٢٠٠ سی‌سی از محیط کشت اصلی در ارلن‌های ٥٠٠ میلی‌لیتر تلقیح می‌شود. سپس ارلن‌ها در شیکرانکوباتور با دور ٢٠٠ دور بر دقیقه به مدت ٤٨ ساعت قرار می‌گیرند تا تولید دکستران به بالاترین حد خود برسد.

به منظور اندازه‌گیری بیومس (توده سلولی)، حجم مشخصی از محیط کشت همگن ارلن‌ها پس از فرآیند تخمیردر لوله‌های سانتریفوژ ریخته و به مدت ١٠ دقیقه با دور ٤٠٠٠ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ می‌شوند. محلول رویی درون این لوله‌ها را برای آنالیزهای بعدی جدا کرده و رسوب تولیدی (بیومس) که در ته لوله چسپیده شده

است را پس از شستشو با آب مقطر به مدت ۲٤ ساعت در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک کرده و وزن می‌شوند(۱۱ و ۵). بعد از جداسازی بیومس از محلول‌ها جهت خالص‌سازی دکستران از محلول باقیمانده به صورت زیر عمل شود؛ ابتدا به مقدار ۲ برابر حجم محلول دکستران الکل سفید به آن اضافه شده، محلول دو فازی ایجاد شده در سانتریفوژ با دور ٤۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفته و فاز رسوب ایجاد شده که رسوب دکستران است از فاز آبی بالایی جدا می‌شود و به منظور خالص‌سازی دکستران تولیدی مجدداً رسوب حاصله در آب مقطر هم حجم با حجم اولیه محلول دکستران حل می‌شود و ۲ برابر اتانول برای تخلیص افزوده می‌شود، رسوب دکستران جدا شده و این عمل یکبار دیگر تکرار می‌شود و در نهایت دکستران مرطوب پس از خشک شدن به مدت ۲٤ ساعت در آون تحت خلاء در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شده و توزین می‌شود(۱۱ و۵). میزان قند باقیمانده با استفاده از روش فنول سولفوریک اسید اندازه‌گیری شد(۱۲). گلوکز به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت و غلظت نمونه‌ها در منحنی استاندارد گلوکز بین ۱۰ تا ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر قرار می‌گیرد. جهت شناسایی کیفی دکستران تولید شده از اثر دکستران بر پولاریزاسیون استفاده می‌شود. بدین منظور جهت تعیین چرخش نوری دکستران، ۵۰ میلی‌لیتر از دکستران در ۲۵ میلی‌لیتر سود نرمال حل شده و زاویه چرخش در لوله ۲ دسی‌متری قرائت شد(۹).

برای کاهش تعداد آزمایش‌های مورد نیاز در این تحقیق از روش CCD[1] که از روش‌های طرح رویه پاسخ است جهت طراحی آزمایش‌های استفاده شد. طبق بررسی‌های انجام شده، سه پارامتر ملاس نیشکر، دما و pH بیشترین تأثیر را نسبت به سایر پارامترها در تولید این ترکیب دارند. لذا جهت بهینه‌سازی تولید این محصول سه پارامتر مذکور با توجه به روش استفاده شده برای طراحی آزمایش‌های به عنوان متغیرهای مورد نظر و با سه سطح در مقادیر کد شده (۱+ و ۰ و ۱-) و مقادیر واقعی، در نظر گرفته شدند(۱٤ و۱۳).

با استفاده از روش CCD و با کمک بسته نرم‌افزاری Design Expert (Version 7.0., USA) و سطوح غلظت در نظر گرفته شده برای هر یک از متغیرها آزمایش‌ها را طراحی کرده و مدل اولیه پیشنهادی و پیش فرض را به صورت Full quadratic با در نظر گرفتن تمامی ترم‌ها به شکل معادله‌ای در نظر گرفته شدند (۱٤ و۱۳). داده‌های آزمایشگاهی به دست آمده با این معادله مطابقت داده می‌شوند. در این معادله Y پاسخ پیش‌بینی شده، β_0 ضریب ثابت، β_1 ، β_2 و β_3 اثرات خطی، β_{11} ، β_{22} وβ_{33} اثرات مربعی و β_{12} ، β_{13}، β_{23} اثرات متقابل و x ها بیان کننده متغیرهای مستقل

1-Central Composite Design (CCD)

انتخاب شده در مقادیر کد شده می‌باشند. جهت برازش و محاسبه ضرایب معادله لازم است که داده‌های تجربی به دست آمده با استفاده از رگرسیون و آنالیز واریانس[1] تحلیل شوند(۱۶-۱۳).

یافته‌ها

ضریب همبستگی تعدیل شده مدل محاسباتی یا R^2 و ضریب همبستگی R^2 برای دکستران تولیدی به ترتیب؛ ۰/۹۹۵ و ۰/۹۹۷۱ به دست آمد که نتیجه به دست آمده برای ضرایب همبستگی مدل، بیانگر تطابق بسیار خوب و عالی مدل محاسباتی با نقاط آزمایش شده و دقت بالای مدل می‌باشد. مطلبی که باید به آن توجه کرد تفاوت بین R^2 و R^2 تعدیل شده است. مقدار R^2 با افزایش تعداد آزمایش‌های و در نتیجه افزایش درجه آزادی زیاد می‌شود که این افزایش غیر واقعی و کاذب می‌باشد، لذا به طور معمول R^2 را که بیانگر مقدار حقیقی همبستگی است مورد استناد قرار داده و گزارش می‌دهند.

جدول ۱ نتایج حاصل از تجزیه آماری را نشان می‌دهد. در این جدول شاخص نقص پوشش یکی دیگر از شاخص‌های ارزیابی پیش‌بینی مدل می‌باشد. این پارامتر نشان دهنده مناسب بودن یا نامناسب بودن مدل می‌باشد. مقادیر کوچک P و بزرگ F بیانگر نامناسب بودن مدل محاسباتی است و چنانچه مقدار P کوچکتر از ۰/۰۵ باشد به صورت کلی مدل را باید کنار گذاشت. با توجه به نتایج مقدار P و F پارامتر نقص پوشش مدل برای دکستران تولیدی برابر با P=۰/۲۴۳ و F=۱/۹۳ به دست آمد که با توجه به توضیحات داده شده، بیانگر مناسب بودن مدل‌های محاسباتی می‌باشد.

جدول ۲ مقادیر ضرایب مدل‌های درجه دوم برای معادله مدل محاسباتی دکستران تولید شده از باکتری لوکونوستوک مزانتروئیدس ATCC 1059 را نشان می‌دهد. با توجه به نتایج به دست آمده از اثر جداگانه و متقابل هر یک از پارامترها بر مقدار دکستران تولیدی برای هر یک از متغیرها سطوح بهینه میزان ملاس نیشکر ۵۰ گرم بر لیتر ، دما ۳۵ درجه سانتی‌گراد و pH= ۸/۵ در دور همزن ۲۰۰ دور در دقیقه به دست آمده است.

پس از به دست آوردن بهینه شرایط محیط کشت، رشد میکروارگانیسم(بیومس)، میزان تولید دکستران و مقدار قند باقیمانده برای شرایط بهینه شده در زمان‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نمودار ۱ نتایج مربوط به این بررسی را نشان می‌دهد. با توجه به این نمودار مشاهده می‌شود که مدت زمان فاز تأخیر ٦ ساعت است، مرحله تأخیر یا مکث زمانی بلافاصله پس از تلقیح میکروارگانیسم آغاز می‌شود و در واقع مدت زمان لازم برای انطباق زیستی سلولی با محیط کشت جدید است. پس از این مدت زمان فاز رشد میکروارگانیسم آغاز می‌شود و تا ۵۴ ساعت از تخمیر ادامه دارد. پس از ۵۴ ساعت از تخمیر با توجه به نمودار میکروارگانیسم‌ها وارد فاز ساکن و پس

1-Analysis of Variance(ANOVA)

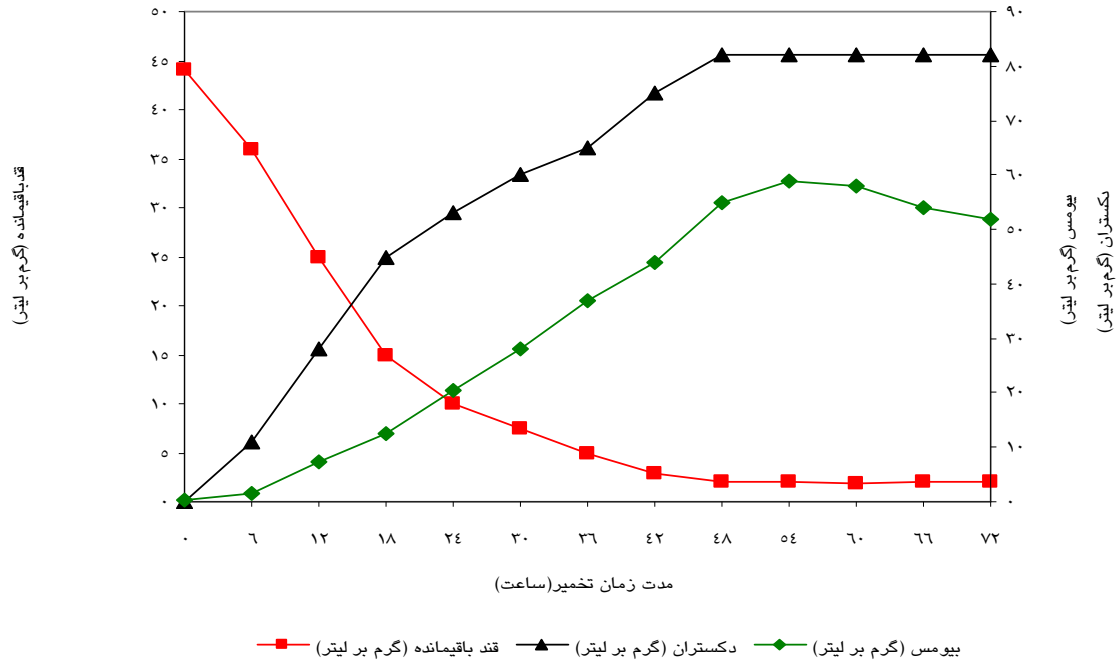
ازمحساعت از تخمیر وارد فاز مرگ می‌شوند. در این زمان می‌شود که میزان قند باقیمانده برابر با ۱/۹ گرم بر لیتر است که نشان دهنده این است که میکروارگانیسم ۹۵/۵ درصد از قند کل را مصرف کرده است و با توجه به این که هنوز قند در محیط کشت وجود دارد علت این که میکروارگانیسم وارد فاز ساکن می‌شود، شاید به علت کمبود سایر مواد مغذی مانند؛ سولفات آمونیوم، مواد معدنی مورد نیاز و منبع فسفات و یا وجود یک عامل محدود کننده رشد باشد. با توجه به این نمودار بیشترین غلظت دکستران در مدت زمان ۴۸ ساعت از تخمیر برابر با ۸۲ گرم بر لیتر تولید شده است در این مدت زمان میزان بیومس تولیدی ۵۵ گرم بر لیتر به دست آمد.

جدول۱: نتایج آنالیز واریانس برای دکستران تولید شده از باکتری لوکونوستوک مزانتروئیدس

متغیر	مجموع مربعات	درجه آزادی	احتمال F	احتمال P
مدل	۸۳۴۶/۴۶	۸	۷۴۱/۵۷	۰/۰۰۰۱
ملاس نیشکر (گرم بر لیتر)	۲۵۲۸/۱۰	۱	۱۱۴۲/۷۰	۰/۰۰۰۱
دما (درجه سانتی گراد)	۱۴/۴۰	۱	۶/۵۱	۰/۰۲۶۹
pH	۲۴۰/۱۰	۱	۱۰۸/۵۲	۰/۰۰۰۱
pH- ملاس نیشکر	۱۲/۵۰	۱	۵/۶۵	۰/۰۳۶۷
pH- دما	۵۰/۰۰	۱	۲۲/۶۰	۰/۰۰۰۶
ملاس نیشکر- ملاس نیشکر	۱۷۳۷/۵۵	۱	۷۸۵/۳۷	۰/۰۰۰۱
دما- دما	۱۶۰/۳۶	۱	۷۲/۴۸	۰/۰۰۰۱
pH -pH	۴۷/۰۵	۱	۲۱/۲۷	۰/۰۰۰۸
باقیمانده	۲۴/۳۴	۱۱	-	-
نقص پوشش	۱۷/۰۰	۶	۱/۹۳	۰/۲۴۳۴
خطای خالص	۷/۳۳	۵	-	-

جدول ۲: مقادیر ضرایب مدل‌های درجه دوم برای پاسخ‌های دکستران تولیدی از باکتری لوکونوستوک مزانتروئیدس

ضریب	β_0	β_1	β_2	β_3	β_{12}	β_{13}	β_{23}	β_{11}	β_{22}	β_{33}
مقدار	۸۰/۰۵	۱۵/۹۰	-۱/۲۰	۴/۹۰	۰	۱/۲۵	-۲/۵۰	-۲۵/۱۴	-۷/۶۴	-۴/۱۴



نمودار ۱: بررسی رشد میکروارگانیسم (تولید بیومس)، تولید دکستران و میزان قند باقیمانده برای شرایط بهینه شده در زمان های مختلف

بحث

بیوپلیمر دکستران به علت داشتن خواص غیریونی و پایداری در شرایط عملیاتی مختلف کاربردهای گستردهای در صنایع مختلف و به طور گستردهای به عنوان رقیق کننده خون در صنعت داروسازی کاربرد دارد(۵ـ۱). در این پژوهش اثر عوامل مختلف مؤثر بر رشد باکتری لوکونوستوک مزانتروئیدس و تولید دکستران مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج این مطالعه نشان داد که pH ، دما و میزان منبع کربنی به دست آمده برای محیط کشت از مهمترین عوامل رشد میکروارگانیسم و تولید دکستران هستند. در پژوهش کارتیکیان و همکاران[1](۱۹۹۶) نیز pH بهینه اولیه برای محیط کشت ۸/۳ گزارش شده است(۱۶). البته باید توجه داشت که pH قلیایی برای تولید دکستران در صورتی مناسب است که امکان کنترل pH در ضمن فرآیند وجود نداشته باشد، در مواردی که امکان کنترل pH وجود داشته باشد، مقدار بهینه pH برای تولید دکستران ۵/۵ گزارش شده است (۱۸ و۱۷). در بررسی اثر دماهای مختلف بر تولید دکستران با توجه به بررسی منابع علمی نیز تفاوت میزان دکستران تولیدی در دماهای مختلف دیده میشود. بهترین دما برای تولید دکستران در مطالعههای

1-Karthike yan et al

مختلف ۲۳، ۲۶، ۲۶ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد گزارش شده است. تفاوت بین سویه‌های لوکونوستوک مزانتروئیدس به کار رفته در این مطالعه‌ها مهم‌ترین علت تفاوت بین این داده‌ها است(۱۹ و ۱۶، ۱۵، ۵).

با توجه به نیاز فراوان به دکستران و بالا بودن نسبی قیمت ساکاروز، اثر ملاس به عنوان منبع ارزان قیمت در تولید دکستران بررسی شده است. بر اساس نتایج به دست آمده بیشترین تولید دکستران در محیط دارای ۵۰ گرم بر لیتر ملاس به دست آمد. هم‌چنین در این محیط کمترین میزان قند باقی مانده دیده شده است. در پژوهش بهروان و همکاران(۲۰۰۳) از غلظت ۲۰ درصد ملاس برای تولید دکستران استفاده شده است(۲۰). در پژوهش ویدیاشکینا و همکاران[1](۲۰۰۵) نیز ملاس دارای ۱۷/۵ درصد گلوکز برای تولید دکستران استفاده شده است(۲۱). که با توجه به دکستران تولید شده در مطالعه حاضر با سایر تحقیقات نشان دهنده تولید محصولی مطلوب و مفید می‌باشد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این پژوهش شرایط بهینه تولید دکستران عبارت از؛ منبع کربن ملاس نیشکر با غلظت ۵۰ گرم بر لیتر، دمای انکوباسیون ۳۵ درجه سانتی‌گراد، pH اولیه محیط کشت ۸/۵ و دور هم‌زن ۲۰۰ دور در دقیقه که با انجام فرآیند در این شرایط میزان تولید دکستران و بیومس به ترتیب ۸۲ و ۵۵ گرم بر لیتر در مدت زمان ۴۸ ساعت از تخمیر به دست آمد. تولید دکستران به وسیله باکتری لوکونوستوک مزانتروئیدس و استفاده از ملاس نیشکر به عنوان منبع کربنی یک روش کم هزینه و مقرون به صرفه در مقایسه با روش‌های رایج تولید دکستران می‌باشد و علاوه بر تولید یک محصول کلینیکی با ارزش بار آلایندگی ملاس در محیط زیست به طرز چشمگیری کاهش می‌یابد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه منتج از طرح پژوهشی است که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گچساران انجام شد.

1-Vedyashkina et al

REFERENCES

1.Kim D, Robyt JF. Production, selection and characteristic of mutants of leuconostoc mesenteroides b-742 constitutive for dextran. enzyme and microbial.Technology 1995; 17: 689–95.
2.Hucker GJ, Pederson CS. Studies on the coccaceae XVI. Genus leuconostoc. N Y Agr Expt Sta Tech Bull 1930; 167: 3–8.
3.Jeanes A, Haynes WC, William CA, Rankin JC, Melvin EH, Austin MJ, et al. Characterization and classification of dextran from ninety-six strains of Bacteria. J Am Chem Soc 1954; 76: 5041–52.
4.Van Cleve JW, Schacfer WC, Rist CE. The structure of NRRL B-512F dextran, methylation studies. J Am Chem Soc 1956; 78: 4435–8.
5.Mariana S, Jose T, Alirio R. Production of dextransucrase, dextran and fructose from sucrose using Leuconostoc mesenteroides NRRL B512 (f). Biochemical Engineering Journal 2000; 4: 177-88.
6.Barker P, Ajongwhen NJ, Ganetsos G. A novel approach to the production of clinical grade dextran. Chem Technol Biotechnol 1993; 57: 21-6.
7.Jorgensen PS, Rasmussen SW, Torholm C. The use of dextran 70 as a plasma expander increases the intraoperative bleeding in total hip replacement. Clinical and applied thrombosis, Hemostasis 1997; 3: 267-9.
8.Prabhu AP, Dong SK. Production of insoluble dextran using cell bound dextransucrase of Leuconostoc mesenteroides NRRL B-523. Carbohydrate Research 2002; 337: 1529-33.
9.Myriam N, An C, Wim S, Erick JV. Leuconostoc dextransucrase and dextran: production, properties and applications. Journal of Chemical Technology and Biotechnology 2005; 80: 845-60.
10.Santos M, Rodrigues A, Teixeira JA. Production of dextran and fructose from carob pod extract and cheese whey by Leuconostoc mesenteroides NRRL B512 (f). Biochemical Engineering Journal 2005; 25: 1–6.
11.Farwa S, Shah A, Afsheen A, Nuzhat A. Production & Characterization of a unique dextran from an indigenous Leuconostoc dextransucrase CMG713. International Journal of Biological Seiences 2008; 4(6): 379-86.
12.Dubois M, Gilles KM. Colorimetric method for determination of sugars and related substance. Anal Chem 1956; 28: 350-6.
13.Yousef RK, Azadeh M, Saman M, Farzaneh V. Performance of artificial neural network for predicting fermentation characteristics in biosurfactant production by bacillus subtilis atcc 6633 using sugar cane molasses. International Journal of Food Engineering 2011; 7(6): 5.
14.Avishek M, Sourabh B, Ravi KP, Seema P, Arun G. Enhanced production of a novel dextran from Leuconostoc mesenteroidesNRRL B-640 by Response Surface Methodology. Annals of Microbiology 2009; 59 (2): 309-15.
15.Kim D, Robyt JF, Lee SY, Lee JH, Kim YM. Dextran molecular size and degree of branching as a function of sucrose concentration, pH and temperature of reaction of Leuconostoc mesenteroides B512FMCM dextransucrase. Carbohydr Res 2003; 338: 1183-9.
16.Karthikeyan RS, Rakshit SK, Baradarajan A. Optimization of batch conditions for dextran production. Bioprocess Eng 1996; 15: 247-51.
17.Santos M, Rodrigues A, Teixeira JA. Production of dextran and fructose from carob pod extract and cheese whey by Leuconostoc mesenteroides NRRL B512 (f). Biochemical Engineering Journal 2005; 25: 1–6.
18.Lazic ML, Veljkovic VB, Vucetic MM. Effect of pH and aeration on dextran production by Leuconostoc mesenteroides. Enz Microbial Technol 1993; 15: 334-8.
19.Cortezi M, Monti R, Contiero J. Temperature effect of dextransucrase production by Leuconostoc mesenteroides FT 045 B isolated from alcohol and sugar mill plant. African Journal of Biotechnology 2005; 4(3): 279-85.
20.Behravan J, Bazzaz BS, Salimi Z. Optimization of dextran production by Leuconostoc mesenteroides NRRL B-512 using cheap and local sources of carbohydrate and nitrogen. Biotechnol Appl Biochem 2003; 38: 267-9.
21.Vedyashkina TA, Revin VV, Gogotov IN. Optimization the conditions of dextran synthesis by the bacterium Leuconostoc mesenteroides grown in a molasses-containing medium. Appl Biochem Microbiol 2005; 41: 361-4.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Production of Dextran from Sugar Cane Molasses by *Leuconostoc mesenteroides*

Faramarzi M, Rahimi Kashkouli Y*, Rahimi HR, Gholamzadeh D

Department of Chemical Engineering, Gachsaran Branch, Islamic Azad University, Gachsaran, Iran

Received: 07 Oct 2012 Accepted: 04 Jun 2013

Abstract

Background & aim: Dextran is a polysaccharide consisting of glucose monomers that are widely used in medicine as a blood volume extender. The aim of this study was to produce dextran from cane molasses using *Leuconostoc mesenteroides* bacteria.

Methods: In this experimental study, for bacterial growth and dextran production, sugarcane molasses was added to the culture medium at different concentrations. Dextran sedimentation was obtained by shaking and centrifugation by adding ethanol after 48 hours. Response surface design was used for qualitative identification of the polarization of dextran and statistical analysis methods.

Results: After assessing the separation and interactive effects of the parameters on the optimum amount of dextran produced from sugarcane molasses as 50 g, 35 ° C and 5/8 = pH , the Dextran produced was more than 82 g/l. The correlation of the computational model for the dextran produced was 99.5%, which indicated excellent agreement with the experimental and computational models of high accuracy.

Conclusion: Dextran produced by *Leuconostoc mesenteroides* bacteria and sugarcane molasses as substrate, is a cheap and affordable compared to current methods of dextran production. In addition to producing a clinical product, the molasses pollution could be dramatically decreased.

Key words: Dextran, Molasses, Leuconostoc Mesenteroides

***Corresponding Author: Rahimi Kashkouli Y,** Department of Chemical Engineering, Gachsaran Branch, Islamic Azad University,Gachsaran,Iran
Email: yousef.rk84@gmail.com