

KAMILA MYSZKA, KATARZYNA CZACZYK

## **ROLA EGZOPOLISACHARYDÓW MIKROBIOLOGICZNYCH W TECHNOLOGII ŻYWNOŚCI**

### **Streszczenie**

Poznanie wszystkich czynników determinujących biosyntezę egzopolisacharydów drobnoustrojowych jest bardzo istotne. Wykorzystując bowiem odpowiednio skomponowane podłoże hodowlane, pod względem źródła węgla, energii, mikroelementów czy pH, możliwe jest otrzymanie materiału o funkcjonalnym charakterze. Wydzielane na zewnątrz komórki polisacharydy (głównie w formie śluzu) mają duże znaczenie w technologii żywności. Węglowodany pochodzenia mikrobiologicznego, takie jak: ksantan, kurdlan, pululan czy alginian, charakteryzują się wieloma cechami, których nie mają polimery roślinne. Dodatek tych związków do produktów spożywczych ma na celu utrzymanie pożądanej konsystencji, zwiększenie lepkości, zmniejszenie strat wody w czasie obróbki i przechowywania oraz produkcję żywności niskokalorycznej. Obecnie substancje te stosowane są również do produkcji wytrzymałych i jadalnych powłok, które zabezpieczają produkt przed zepsuciem. W niniejszej pracy przedstawiono także aspekt higieniczny syntezy egzopolisacharydów mikrobiologicznych, jako potencjalnego źródła skażenia gotowych wyrobów przeznaczonych do obrotu handlowego. Substancje te uczestniczą w procesach tworzenia się stabilnego mechanicznie biofilmu, co utrudnia utrzymanie czystości w zakładach produkcyjnych. Mikroorganizmy wytwarzają pozakomórkowo ściśle zdefiniowane pod względem struktury polisacharydy, które mogą być wskaźnikami występujących w danym środowisku zanieczyszczeń. Ta właściwość ma kluczowe znaczenie w poszukiwaniach efektywnych metod higienizacyjnych różnych powierzchni użytkowych.

**Słowa kluczowe:** egzopolisacharydy, higiena, biofilm.

### **Wstęp**

Badania naukowe nad istotą oraz właściwościami egzopolisacharydów mikrobiologicznych doprowadziły do zwiększenia ich znaczenia w różnych gałęziach gospodarki. Poprawa jakości, w tym i tekstury produktów spożywczych, a także produkcja żywności „nowej generacji” nie byłaby możliwa bez zastosowania polisacharydów. Przy wysokich kosztach izolacji węglowodanów z masy roślinnej i ich przetwarzania do formy użytecznej, na szczególną uwagę zasługuje otrzymywanie

tych związków na drodze mikrobiologicznej. Wykorzystując aktywne szczepy mikroorganizmów możliwe jest pozyskanie w krótkim czasie tego, co w świecie organizmów wyższych powstaje znacznie dłużej.

Polisacharydy, podobnie jak białka, stanowią główne związki EPS (ang. extracellular polymeric substances) syntetyzowane przez komórki drobnoustrojów. Egzopolisacharydy są słabo lub w ogóle niezwiązane z komórką mikroorganizmu. Wydzielane do podłoża bądź akumulowane na powierzchni komórki w formie śluzu tworzą struktury wyższego rzędu [2, 3, 4, 9].

W przemyśle spożywczym znaczenie mają następujące grupy polisacharydów mikrobiologicznych [9, 20, 28]:

- Homopolisacharydy – syntetyzowane przez bakterie wykorzystujące sacharozę jako źródło węgla. Nieobecność tego związku nie hamuje wzrostu komórek drobnoustrojów, lecz uniemożliwia syntezę EPS. Homopolisacharydy drobnoustrojowe zawierają w cząsteczce tylko jeden typ monosacharydu: D-glukozę lub L-fruktozę. Egzopolisacharydy tej grupy wytwarzane są przede wszystkim przez bakterie z rodzajów *Streptococcus* oraz *Leuconostoc*;
- Heteropolisacharydy – syntetyzowane przez większość organizmów eukariotycznych i prokariotycznych. Biopolimery tej grupy charakteryzują się powtarzającymi cyklicznie sekwencjami monosacharydów: D-glukozy, D-galaktozy, L-fruktozy, L-ramnozy czy kwasów: D-glukuronowego, L-guluronowego i D-mannuronowego;
- Alginian – biopolimer złożony jedynie z dwóch monomerów (kwasu D-mannuronowego oraz kwasu L-guluronowego) o wolnych grupach acetylowych. W odróżnieniu od heteropolisacharydów poprzedniej grupy, alginian w swojej strukturze nie zawiera cyklicznie powtarzających się sekwencji.

Stwierdzono, że struktura EPS wykazuje specyficzność gatunkową lub szczepową zarówno co do składu cukrów prostych (stanowiących podjednostkę EPS), jak i rodzaju wiązań chemicznych czy podstawników niecukrowych. Niekiedy postać egzopolisacharydów może także zależeć od intensywności wzrostu komórek [5].

### Warunki środowiskowe syntezy egzopolisacharydów mikrobiologicznych

Badania dowodzą, że rozmaite związki inicjują syntezę bądź mogą ulec przekształceniu w polisacharydy. Każdy mikroorganizm wykorzystuje ściśle zdefiniowane źródła węgla, azotu i mikroelementów, przy jednoczesnym braku korelacji pomiędzy strukturą wytwarzanych biopolimerów a rodzajem substratów tej reakcji. Wykazano, że drogi metaboliczne formowania się egzopolisacharydów i innych rodzajów polisacharydów mikrobiologicznych mają na pewnych etapach zbliżony przebieg. Takie pozakomórkowe systemy zaangażowane w biosyntezę danego związku, przez swoją lokalizację w membranie, mogą być wykorzystywane przez komórki współtworzące mikrokolonie [28].

Obecnie w wielu ośrodkach na całym świecie prowadzone są badania nad technologią otrzymywania mikrobiologicznych polimerów, sprecyzowaniem warunków hodowlanych, w jakich drobnoustroje syntetyzowałyby polisacharydy o danych cechach i z wysoką wydajnością oraz nad metodami oczyszczania końcowego produktu. Za istotne czynniki procesu biosyntezy uważa się temperaturę hodowli, kwasowość środowiska, skład podłoża oraz jego natlenienie.

W zależności od specyfiki aparatu enzymatycznego, np. grzybów z rodzaju *Aureobasidium*, bezpośrednim induktorem biosyntezy EPS są cukry (głównie glukoza, ale także fruktoza, mannoza, maltoza, ksyloza, ryboza, arabinoza, sacharoza i laktoza), a w przypadku *Myxococcus xanthus* – aminokwasy [9, 15, 19, 25, 26, 28]. Gandhi i wsp. [8], badając różne gatunki bakterii z rodzaju *Bacillus*, izolowanych z zainfekowanych części roślin, wykazali istotny (indukujący) wpływ siarczanu amonu oraz chlorku amonu na wytwarzanie egzopolisacharydów. U wybranych szczepów *Escherichia coli* wydzielanie pozakomórkowych polisacharydów odbywa się zwykle w warunkach ograniczonej podaży związków: azotu, fosforu, siarki i potasu, a u *Enterobacter aerogenes* – przy wysokiej koncentracji jonów magnezu, potasu i wapnia w podłożu hodowlanym [28].

Jednym z czynników determinujących postać morfologiczną drobnoustrojów jest kwasowość środowiska. Synteza biopolimerów zależy od kształtu komórek, a zatem odczyn środowiska wzrostu wpływa znacząco na efektywność produkcji zewnątrzkomórkowych polisacharydów. Wysoka kwasowość (pH 2–3) lub silnie alkaliczny odczyn środowiska (pH  $\geq$  10) są skutecznymi inhibitorami wzrostu komórek i syntezy EPS większości bakterii saprofitycznych oraz patogennych [24]. W tych warunkach pewne gatunki grzybów rosną jedynie w postaci mycelium, wytwarzając tylko śladowe ilości egzopolisacharydów [9, 17]. Intensywna produkcja pozakomórkowych węglowodanów, w zależności od rodzaju mikroorganizmu, obserwowana jest na pożywce o pH 5–7 [8, 9, 17, 27].

Optymalna temperatura syntezy egzopolisacharydów przez większość grzybów, w tym szczepów rodzaju *Aureobasidium*, kształtuje się w zakresie 25–28°C, a dla bakterii z rodzaju *Bacillus* wynosi 36–44°C [9, 17]. W obu powyższych przypadkach odnotowano analogiczną zależność, a mianowicie żaden z przebadanych drobnoustrojów nie wytwarzał efektywnie pozakomórkowo węglowodanów poniżej optymalnego zakresu temperatury.

Aspektem fizycznym istotnym w biosyntezie EPS, obok ruchu podłoża, jest napowietrzanie hodowli, np. *Enterobacter aerogenes* wymaga silnego napowietrzania podłoża w bioreaktorze, natomiast *Rhizobium meliloti* – bardzo małego [28].

Egzopolisacharydy bakteryjne są wytwarzane najintensywniej na etapie logarytmicznego wzrostu komórek. Wykazano, że tempo syntezy powyższych biopolimerów utrzymywane jest na stałym poziomie w czasie rozmnażania wegetatywnego komórek. Jakiegokolwiek zmiany w biosyntezie substancji EPS zaobserwowano w momencie utraty integralności komórek spowodowanej deficytem

jonów magnezu w otaczającym medium [28]. Wpływ fazy wzrostu na wytwarzanie polisacharydów drobnoustrojowych jest cechą gatunkową, a nawet szczepową. U pewnych szczepów *Pseudomonas aeruginosa* najintensywniejsza synteza biopolimerów odnotowana została w czasie trwania fazy stacjonarnej oraz przy końcu fazy logarytmicznej, u innych podczas całej fazy wykładniczego wzrostu komórek [28].

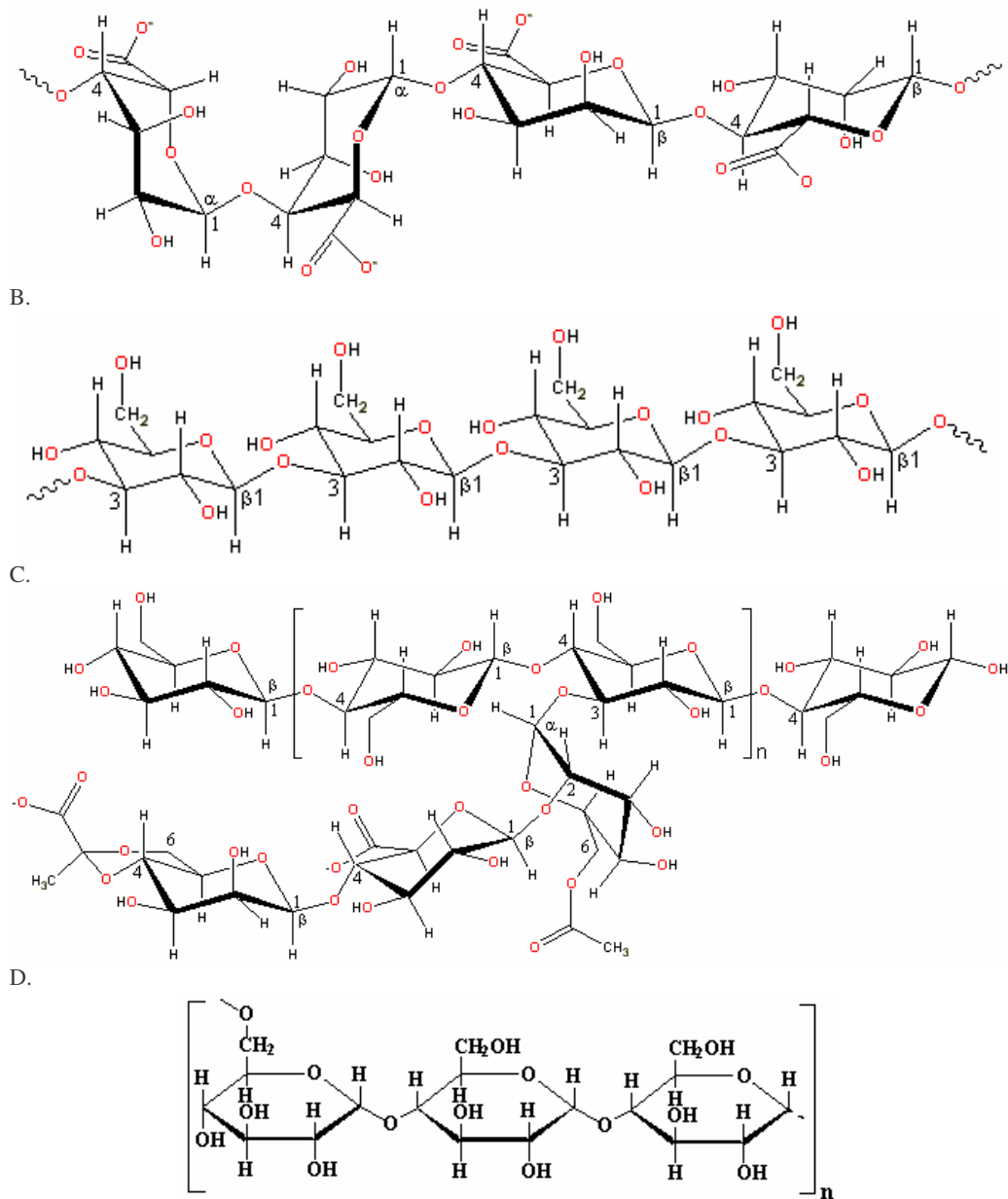
Obecnie w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności prowadzone są badania nad znaczeniem wybranych czynników hodowlanych (temperatura, pH oraz dostępność składników odżywczych) w syntezie zewnątrzkomórkowych polisacharydów i ich rolę w adhezji komórek *Bacillus* sp. do powierzchni stałych. Przeprowadzone dotychczas eksperymenty potwierdziły wpływ wyżej opisanych czynników środowiskowych na syntezę egzopolisacharydów drobnoustrojowych (dane niepublikowane).

### **Zastosowanie egzopolisacharydów mikrobiologicznych w produkcji żywności**

Literatura przedmiotu dostarcza częstych porównań mikrobiologicznych egzopolisacharydów z węglowodanami wytwarzanymi przez rośliny. Biomasa komórek drobnoustrojów traktowana jest obecnie jako nowe, potencjalne źródło biopolimerów, mogących znaleźć liczne zastosowania, przede wszystkim w technologii żywności. W przemyśle spożywczym nadal dominują polisacharydy pochodzenia roślinnego. Produkcja mikrobiologicznych polimerów, ze względu na koszt całego procesu biotechnologicznego i trudności w prowadzeniu hodowli, nie jest na razie wystarczająco konkurencyjna. Czynnikiem decydującym o opłacalności produkcji egzopolisacharydów jest odpowiednia aktywność drobnoustrojów otrzymywanych za pomocą metod mutagenizacji bądź manipulacji genetycznych. Szczepy wykorzystywane na skalę przemysłową do produkcji biopolimerów powinny być stabilne genetycznie i charakteryzować się obniżoną zdolnością utleniania monosacharydów do kwasów organicznych [12].

Egzopolisacharydy bakteryjne ze względu na trwałość, funkcjonalność oraz odtwarzalność fizycznych czy chemicznych właściwości mogłyby okazać się pomocne w dążeniach producentów żywności do ciągłej poprawy jakości i tekstury produktów. Ogólnie, za użyteczne w przetwórstwie żywności uważa się m.in. takie polisacharydy zewnątrzkomórkowe, jak: alginian, ksantan, pululan czy kurdlan. Wzory strukturalne powyższych biopolimerów przedstawiono na rys. 1.

A.



Rys. 1. Wzory strukturalne egzopolisacharydów mikrobiologicznych: A – alginian, B – kurdlan, C – ksantan, D – pululan [32, 33, 34, 35].

Fig. 1. Structural models of microbiological exopolysaccharides: A – alginate, B – curdlan, C – xanthan, D – pululan [32, 33, 34, 35].

**Alginian** występuje w ścianach komórkowych *Azotobacter vinelandii*, *Pseudomonas aeruginosa* oraz brunatnic (*Phaeophyta*) w ilości 13-38% suchej masy [25]. Właściwości tego biopolimeru zależą od stopnia spolimeryzowania oraz stosunku

kwasu guluronowego do mannuronowego w makrocząsteczce. Alginiany nadają roztworom wodnym dużą lepkość oraz właściwości pseudoplastyczne. Za najważniejszą jednak właściwość tych polisacharydów uważa się zdolność tworzenia elastycznych żeli (około 1/3 wszystkich aplikacji w przetwórstwie żywności), które nie ulegają zjawisku retrogradacji. Właściwości żelujące alginianów mikrobiologicznych wykorzystuje się przy produkcji niskokalorycznych zup oraz deserów. Zdolność tych polimerów do obniżania napięcia powierzchniowego na granicy dwóch faz pozwala na ich zastosowanie w technologii produkcji sosów do sałatek, kremów do ciast czy bitej śmietany [25, 28].

**Ksantan** jest heteropolisacharydem syntetyzowanym przez bakterie z rodzaju *Xanthamonas* (tj. *X. campestris*, *X. fragaria*, *X. oryzae*). W 1969 r. organizacja FDA (Food and Drug Administration, USA) uznała powyższy biopolimer za związek niestanowiący zagrożenia dla zdrowia człowieka i dopuściła go do powszechnego stosowania w Stanach Zjednoczonych. Dostępne publikacje dowodzą, że ksantan zastąpił polisacharydy pozyskiwane z roślin bądź z alg na drodze ekstrakcji. W przemyśle koncentratów spożywczych ksantan może być użyty jako środek zagęszczający i stabilizujący. W technologii produkcji sosów do sałatek czy produktów typu „dressing” powyższy polisacharyd może zapobiec dyspersji nierozpuszczalnych cząstek zewnętrznej fazy olejowej oraz ułatwić łączenie ze sobą poszczególnych komponentów danych produktów. Ksantan pochodzenia mikrobiologicznego nadaje roztworom wysoką lepkość, a wyroby otrzymane z jego udziałem są trwałe w szerokim spektrum pH, temperatury oraz siły jonowej podłoża. W piekarstwie oraz cukiernictwie ksantan, poprzez kohezję z cząsteczkami skrobi, może poprawić strukturę, a także przedłużyć czas przechowywania produktów gotowych. Ponadto, powyższy zewnątrzkomórkowy polisacharyd wiążąc wolną wodę, odpowiedzialną za zjawisko synerezy, stabilizuje i poprawia jakość wyrobów mrożonych. Jako środek słodzący i teksturotwórczy ksantan kształtuje właściwą konsystencję, aromat oraz smak niskokalorycznych napojów i produktów przeznaczonych dla diabetyków. Wykorzystując synergistyczne interakcje pomiędzy ksantanem a galaktomannanem (stosunek 1:1), można także doprowadzić do wzrostu lepkości i uzyskać pożądaną strukturę mlecznych produktów pasteryzowanych, co nie byłoby możliwe stosując czyste roztwory hydrokolidów [10, 25, 30].

**Kurdlan** należy do egzopolisacharydów syntetyzowanych przez *Alcaligenes faecalis* oraz rodzaj *Agrobacterium* [29]. Możliwości zastosowania w przetwórstwie spożywczym kurdlanu związane są głównie ze zdolnością zestalania (żelowania) tego związku. Kurdlan tworzy termoplastyczne żele, które są stabilne w szerokim zakresie pH (od 3 do 9,5) oraz temperatury (od 140 do 160°C). Powyższa właściwość wskazuje na możliwość wykorzystania tego polimeru w produkcji wyrobów cukierniczych. Nie ulega on trawieniu w przewodzie pokarmowym, przez co charakteryzuje się niską wartością kaloryczną. Polisacharyd ten może być wykorzystywany w produkcji zup oraz deserów, ponieważ jest dodatkiem nadającym płynom pseudoplastyczny



charakter, zagęszczającym oraz stabilizującym żywność [4, 29]. Podobnie jak pululan, kurdlan wykorzystywany jest również przy tworzeniu biodegradowalnych i nierozpuszczalnych w wodzie błon, stanowiących formę opakowania wyrobów cukierniczych [29].

**Pululan** jest pozakomórkowym węglowodanem szeroko opisywanym w dostępnej literaturze, produkowanym w skali technicznej przez trzy przedsiębiorstwa: Sigma Chemical (USA), Hayashibara Biochemical Laboratories (Japonia) oraz Sumitomo Company (Japonia). Pululan syntetyzuje rozpowszechniony w przyrodzie saprofit *Aureobasidium pullulans*, występujący głównie na powierzchni owoców, takich jak wiśnie, jabłka i gruszki. Wodny, 5-10% roztwór pululanu jest substancją bezbarwną, bez zapachu, jadalną, stąd może być zastosowany w formie nieprzepuszczalnej dla tlenu powłoki produktów spożywczych, chroniąc wyrób gotowy przed niepożądanymi reakcjami oksydacyjnymi. W tym celu wystarczy na powierzchni wyrobu gotowego rozprowadzić, z użyciem natrysku, cienką warstwę roztworu pululanu. W procesie częściowej lub całkowitej estryfikacji pululanu otrzymuje się folie nierozpuszczalne w wodzie, których elastyczność można kształtować przez dodatek sorbitolu bądź glicerolu. Przetłaczanie sproszkowanego pululanu z niewielką ilością wody pod ciśnieniem umożliwia otrzymywanie materiału o właściwościach zbliżonych do polistyrenu. Otrzymane w ten sposób tworzywo charakteryzuje się dużą trwałością, wytrzymałością oraz rozpuszczalnością w wodzie i mogłoby zastąpić wiele opakowań stosowanych w przetwórstwie żywności z racji swej nietoksyczności i biodegradowalności [9]. Celem obniżenia kaloryczności produktów spożywczych i jednocześnie nadaniu im odpowiedniej struktury, pululan można również dodawać bezpośrednio do żywności jako zamiennik skrobi. Na potrzeby przemysłu spożywczego pululan modyfikuje się także poprzez kowalencyjne przyłączenie do łańcucha węglowego polisacharydu różnych niezbędnych dla organizmu człowieka związków chemicznych, np. tiaminy [7, 15]. Dzięki dobrej rozpuszczalności i lepkości opisywany polisacharyd może być stosowany w technologii produkcji napojów dietetycznych [9]. W literaturze opisano również możliwości zastosowania roztworu pululanu w procesie aglomeracji, (np. ekstraktów kawy), jako czynnika ułatwiającego łączenie się cząsteczek produktu [9].

Należy również nadmienić, że pewne egzopolisacharydy mikrobiologiczne są niepożądane w przetwórstwie żywności i pojawiają się dość często jako zanieczyszczenie wina, piwa oraz soków owocowych i warzywnych. Przyczyną strat jest między innymi dekstran, syntetyzowany przez bakterie mlekowe (rodzaje: *Leuconostoc* oraz *Streptococcus*). Obecność wspomnianych drobnoustrojów na powierzchni buraków oraz trzciny cukrowej powoduje duże straty ekonomiczne oraz trudności technologiczne w przemyśle cukrowniczym. Mikroorganizmy te obniżają jakość technologiczną surowca poprzez wytwarzanie enzymu dekstranosacharazy, przekształcającej sacharozę w dekstran oraz fruktozę. W dalszych etapach tego procesu syntetyzowany jest lewan (głównie przez bakterie z rodzaju *Aerobacter* oraz *Bacillus*).

Występowanie powyższych egzopolisacharydów w soku buraczanym utrudnia proces filtracji (dekstran, przechodząc z masy surowca do soku dyfuzyjnego, powoduje wzrost lepkości soku). Ponadto obecność dekstranu zakłóca proces tworzenia się kryształów cukru, jednocześnie zawyżając polarymetryczne odczyty zawartości sacharozy w materiale [22].

### **Egzopolisacharydy drobnoustrojowe a higiena w zakładach produkcyjnych**

Biomasa komórek drobnoustrojów stanowi potencjalne źródło wielu cennych produktów, ale może też stanowić element zagrożenia w praktyce produkcyjnej. W przemyśle spożywczym mikrobiologiczne zanieczyszczenie powierzchni roboczych może być przyczyną skażenia żywności drobnoustrojami powodującymi jej zepsucie, a także drobnoustrojami chorobotwórczymi. Mikrobiologiczny rozkład farb, tekstyliów i betonu zachodzi powszechnie w środowiskach wilgotnych. Drobnoustroje w praktyce przemysłowej mogą powodować duże straty materialne, gdyż niszczone przez nie materiały najczęściej nie nadają się do dalszego użytkowania.

Do utrzymania wysokiego poziomu czystości w zakładach produkcyjnych, pomocne okazać się mogą substancje EPS. Mikroorganizmy wytwarzają pozakomórkowo ściśle zdefiniowane pod względem struktury polisacharydy, które mogą być wskaźnikami występujących w danym środowisku zanieczyszczeń. Egzopolisacharydy, jako integralna część wszystkich błon biologicznych, warunkują szybką adaptację komórek do danych warunków otoczenia [3, 4, 5, 14, 16, 20, 31]. Powstałe na drodze asocjacji lub polimeryzacji skupiska tych biopolimerów wypełniają puste przestrzenie między komórkami w każdym biofilmie. Substancje EPS należą do czynników strukturalnych, nadających błonom biologicznym trójwymiarową, heterogenną postać. Synteza pozakomórkowych polisacharydów przez drobnoustroje osiadłe na powierzchni sprzyja tworzeniu się populacji złożonych z kilku bądź kilkunastu różnych gatunków (w tym z mikroorganizmów niewytwarzających EPS, jak np. *Listeria* sp.). Mikroorganizmy, poprzez syntezę egzopolisacharydów, wykazują tendencję do kolonizowania nowych terytoriów i wiązania się z płaszczyzną różnych substancji, stąd często określane są mianem „polisacharydów adhezyjnych” [13]. Najintensywniejsza produkcja tych substancji występuje we wczesnych etapach tworzenia się biofilmu, co wspomaga przyczepianie się komórek do płaszczyzn stałych [3, 18]. Egzopolisacharydy uczestniczą w powstawaniu warstwy kontaktowej, stwarzając korzystniejsze warunki do adhezji. Wykorzystanie substancji specyficznie wiążących polimery cukrowe może okazać się skuteczną metodą badania ich wpływu na adhezję drobnoustrojów do powierzchni stałych. Do powyższych związków zalicza się między innymi: kationy metali, lecytynę oraz niektóre barwniki [13].

Wykazano, że błona biologiczna powstała w wyniku sekrecji zewnątrzkomórkowej EPS i umocniona przez tę strukturę jest trudna do usunięcia. Biofilm bakteryjny jest zagrożeniem mikrobiologicznym (higienicznym), gdyż po osiągnięciu pewnej grubości krytycznej większe jego fragmenty samoistnie odrywają



się od powierzchni. Praktycznie każda płaszczyzna może zostać pokryta warstwą biofilmu. Substancje EPS (w tym polisacharydy) efektywnie utrzymują komórki na powierzchni wymienników ciepła, systemów przewodów odprowadzających i doprowadzających media czy membran separacyjnych [3, 4, 5]. Matryca biofilmu, cechująca się stabilnością mechaniczną, nie zostaje skutecznie usunięta przez stosowane powszechnie detergenty i środki dezynfekujące [11]. Jest to zwykle wyjaśniane wolniejszą i utrudnioną dyfuzją czynnika przez matrycę biofilmu. Ponadto egzopolisacharydy zabezpieczają dojrzałą postać błony biologicznej przed zmianami ciśnienia osmotycznego, pH środowiska, chroniąc komórki przed wysuszeniem oraz fagocytozą. Matryca EPS również skutecznie inaktywuje działanie promieniowania UV (niszczącego DNA komórek) i adsorbuje czynniki toksyczne, zapobiegając ich dyfuzji do cytoplazmy [1]. Pozakomórkowe polisacharydy, także poprzez wymianę jonową, neutralizują wpływ środków antymikrobiologicznych na drobnoustroje (głównie antybiotyków).

Z punktu widzenia higieny produkcji mechaniczne czyszczenie urządzeń czy powierzchni roboczych jest najbardziej efektywne, ale nie zawsze możliwe ze względów konstrukcyjnych aparatów. Stąd, aby zminimalizować skutki syntezy egzopolisacharydów i tworzenia biofilmów przez drobnoustroje, konieczne jest szybkie usuwanie zanieczyszczeń z powierzchni, stosowanie preparatów zawierających związki silnie chelatujące wapń, w miarę potrzeb wydłużanie czasu mycia i dezynfekcji. Ważna jest również optymalizacja proporcji czasu działania środka myjącego do czasu działania środka dezynfekującego, jak również dobór odpowiednich środków dezynfekujących. Najbardziej skuteczne w stosunku do drobnoustrojów tworzących błony biologiczne są kwaśne czwartorzędowe zasady amoniowe, dwutlenek chloru oraz kwas nadoctowy [11]. Mycie detergentami alkalicznymi i kwasem azotowym nadaje hydrofilowy, a etanolem czy acetonem – hydrofobowy charakter powierzchniom produkcyjnym. Powyższa zależność może mieć także istotny wpływ na sekrecję zewnątrzkomórkową polisacharydów i tworzenie się dojrzałej postaci biofilmu na płaszczyznach. Uważa się bowiem, że proces powstawania błon biologicznych jest zjawiskiem uzależnionym zarówno od właściwości materiałów, jak i od charakteru powierzchni komórek, które je tworzą.

W celu skutecznego zapobiegania negatywnym skutkom syntezy egzopolisacharydów, inicjującej proces adhezji komórek do danych płaszczyzn, istotne jest poznanie mechanizmów powstawania biofilmu, dynamiki jego nawarstwiania oraz czynników, które wpływają na ich stabilność [21, 23]. Dążąc do rozwiązania tego problemu konieczne jest zaprojektowanie nowych powierzchni roboczych, które będą wpływały na początkową adsorpcję cząstek, a przez to na ograniczenie zjawiska adhezji. Konieczne jest także zastosowanie antymikrobiologicznych barier adhezji i nowoczesnych metod likwidacji błon biologicznych [4, 5, 6].

## Podsumowanie

Doskonalenie procesu mutagenizacji szczepów nadało egzopolisacharydom drobnoustrojowym nowy, funkcjonalny charakter. Odpowiednio dobrane podłoże hodowlane (dostępność określonego źródła węgla, jonów, właściwe pH) indukuje syntezę pozakomórkowych biopolimerów, wykorzystywanych w różnych gałęziach przemysłu spożywczego. Egzopolisacharydy mikrobiologiczne pozwoliły zmodyfikować produkty żywnościowe pod względem strukturalnym, odżywczym, smakowym oraz użytkowym. Za ich pośrednictwem możliwe jest również wytwarzanie jadalnych powłok produktów spożywczych, które nie tylko cechują się daną barierowością w stosunku do np. tlenu, ale także wysoką trwałością i wytrzymałością, co stanowi istotny przełom w produkcji opakowań.

Biosynteza zewnątrzkomórkowych polisacharydów warunkuje trwałe przyleganie komórek do powierzchni użytkowych. Zjawisko tworzenia się biofilmu jest często przyczyną zanieczyszczenia produktów spożywczych drobnoustrojami chorobotwórczymi lub powodującymi zepsucie żywności. Przemysł chemiczny nadal nie opracował efektywnie działających preparatów myjących i dezynfekujących, dlatego też znajomość szlaków biosyntezy egzopolisacharydów i mechanizmów powstawania błon biologicznych ułatwi utrzymanie wysokiego poziomu higieny w zakładach produkcyjnych.

*Publikacja opracowana w ramach projektu badawczego KBN nr 3P06T 01024*

## Literatura

- [1] Costerton J. W., Stewart P. S.: Groźne biowarstewki. Świat Nauki, 2001, **10**, 61-67.
- [2] Cunliffe D., Smart C. A., Alexander C., Vulfson E. N.: Bacterial adhesion at synthetic surfaces. Appl. Environ. Microbiol., 1999, **65**, 4995-5002.
- [3] Czaczyk K., Wojciechowska K.: Tworzenie biofilmów bakteryjnych - istota zjawiska i mechanizmy oddziaływań. Biotechnologia, 2003, **62**, 180-192.
- [4] Flemming H. C., Wingender J.: Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs)- Part I: Structural and ecological aspects. Water Sci. Tech., 2001, **43**, 1-8.
- [5] Flemming H. C., Wingender J.: Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs)- Part II: Technical aspects. Water Sci. Tech., 2001, **43**, 9-16.
- [6] Flint S. H., Brooks J. D., Bremer P. J.: The influence of cell surface properties of thermophilic streptococci on attachment to stainless steel. J. Appl. Microbiol., 1997, **83**, 508-517.
- [7] Galas E., Tarabasz-Szymańska Ł., Pankiewicz T.: Drobnoustrojowy polisacharyd - pullulan, właściwości, biosynteza i zastosowanie. Biotechnologia, 1998, **41**, 57-65.
- [8] Gandhi H. P., Ray R. M., Patel R. M.: Exopolymer production by *Bacillus* species. Carbohydr. Polym., 1997, **34**, 323-327.
- [9] Gniewosz M., Sobczak E.: Możliwości wykorzystania *Aureobasidium pullulans* i pullulanu w biotechnologii żywności. Biotechnologia, 1999, **45**, 81-91.
- [10] Gustaw W., Mleko S., Glibowski P.: Synergistyczne interakcje występujące pomiędzy polisacharydami w ich mieszaninach. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2001, **3 (28)**, 5-15.
- [11] Kitzman P.: Tworzenie się biofilmów i sposoby ich likwidacji. Gosp. Mięś., 1998, **4**, 44-47.

- [12] Krystynowicz A., Turkiewicz M., Dryńska E., Galas E.: Celuloza bakteryjna-biosynteza i zastosowanie. *Biotechnologia*, 1995, **30**, 120-132.
- [13] Langille S. E., Geesey G. G., Weiner R. M.: Polysaccharide-specific probes inhibit adhesion of *Hyphomonas rosenbergii* strain VP-6 to hydrophilic surfaces. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 2000, **25**, 81-85.
- [14] Le Thi T.-T., Prigent-Combaret C., Dorel C., Lejeune P.: First stages of biofilm formation: Characterization and quantification of bacterial functions involved in colonization process. *Met. Enzymol.*, 2001, **336**, 152-159.
- [15] Lee J. W., Yeomans W., Allen A. L., Deng F., Gross R. A., Kaplan D.: Biosynthesis of novel exopolymers by *Aureobasidium pullulans*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999, **65**, 5265-5271.
- [16] Lehtola M. J., Miettinen T., Martikainen P. J.: Biofilm formation in drinking water affected by low concentrations of phosphorus. *Can. J. Microbiol.*, 2002, **48**, 494-499.
- [17] Lindsay D., Brózel V. S., Mostert J. F., von Holy A.: Physiology of dairy-associated *Bacillus* ssp. over a wide pH range. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, **54**, 49-62.
- [18] Liu Y., Tay J.-H.: Detachment forces and their influence on the structure and metabolic behaviour of biofilms. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2001, **17**, 111-117.
- [19] Looijesteijn P. J., Boels I. C., Kleerebezem M., Hugenholtz J.: Regulation of exopolysaccharide production by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* by the sugar source. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, **65**, 5003-5008.
- [20] Monsan P., Bozonnet S., Albenne C., Joucla G., Willemot R.-M., Remaud-Simeon M.: Homopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.*, 2001, **11**, 675-685.
- [21] Parkar S. G., Flint S. H., Palmer J. S., Brooks J. D.: Factors influencing attachment of thermophilic bacilli to stainless steel. *J. Appl. Microbiol.*, 2001, **90**, 901-908.
- [22] Pleszczyńska M.: Dekstran i dekstranazy-źródła mikrobiologiczne, właściwości i zastosowanie. *Biotechnologia*, 1999, **47**, 45-61.
- [23] Rijnaarts H. M., Norde W., Bouwer E. J., Lyklema J., Zehnder J. B.: Bacterial adhesion under static and dynamic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1993, **59**, 3255-3265.
- [24] Schlegel H. G.: *Mikrobiologia ogólna*. Wyd. Nauk. PWN. Warszawa 2000.
- [25] Sikorski Z., Drozdowski B., Samotus B., Pałasiński M.: *Chemia żywności*. PWN. Warszawa 1988.
- [26] Stredansky M., Conti E., Navarini L., Bretocchi C.: Production of bacterial exopolysaccharides by solid substrate fermentation. *Process Biochem.*, 1999, **34**, 11-16.
- [27] Stredansky M., Conti E.: Xanthan production by solid state fermentation. *Process Biochem.*, 1999, **34**, 581-587.
- [28] Sutherland I. W.: Biosynthesis of microbial exopolysaccharides. In: *Advances in microbial physiology*. Red. Rose A. H., Morris J. G., Academic Press, London, 1982, s. 79-150.
- [29] Turkiewicz M., Czub W.: Kurdlan-struktura, właściwości, wykorzystanie. *Biotechnologia*, 1997, **38**, 16-26.
- [30] Udeh K., Janas P., Grobelski M.: Microbial synthesis of xanthan gum and application. *Biotechnologia*, 2002, **57**, 113-129.
- [31] Vandevivere P., Kirchman L.: Attachment stimulates exopolysaccharide synthesis by a bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1993, **59**, 3280-3286.
- [32] <http://www.lsbu.ac.uk/water/hyalg.html>.
- [33] <http://www.lsbu.ac.uk/water/hyxan.html>
- [34] <http://www.martin.chaplin.btinternet.co.uk/hycurdlan.html>.
- [35] <http://www.hayashibara.co.jp/hdl/product-spec/pv101.html>.

## THE ROLE OF MICROBIAL EXO-POLYSACCHARIDES IN FOOD TECHNOLOGY

---

### S u m m a r y

It is very important to identify all the agents determining the exo-polysaccharides synthesis. Using a culture medium that is adequately composed as regards carbon, energy, microelements, or pH, it is possible to obtain a desirable and functional biomaterial. Polysaccharides that are secreted outside the cell (usually in the form of mucus) are very important for the food technology. Microbiological carbohydrates such as: xanthan, curdlan, pullulan, and alginate show many specific characteristics, which other plant polymers do not have at all. The function of these compounds added to food products is to keep a desired consistency level, to increase viscosity, to reduce water losses during processing and storage, and to manufacture low calories food products. Presently, they are also applied to manufacture durable and edible covers protecting food products against spoiling. In this paper, there are presented some hygienic aspects of synthesis of microbiological exo-polysaccharides that constitute a potential risk of contaminating final food products to be marketed. These substances take part in the process of forming a mechanically stable biofilm that makes it difficult to keep a required cleanness level within the food manufacturing factories. Owing to the fact that micro-organisms extra-cellularly produce polysaccharides with exactly defined structures, and they can be indicators of contaminants probably occurring in a given environment. This property may be of essential importance if seeking effective methods for higienisation of various application surfaces.

**Key words:** extra-cellular polysaccharides, hygiene, biofilm. ☒