



Fruktan iz *Brachy bacterium sp.* CH-KOV3 - izolovanje, prečišćavanje i delimična karakterizacija

Fructan from *Brachy bacterium sp.* CH-KOV3 – isolation, purification and partial characterization



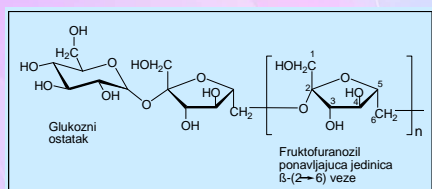
Aleksandra Djurić^{1,a}, Jovana Stefanović Kojić², Dragica Jakovljević², Gordana Gojgić-Cvijović², Vladimir P. Beškoski^{1,2,b}

¹Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija, ²Centar za hemiju-Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Univerzitet u Beogradu, Srbija

^asandrabg90@gmail.com, ^bvbeskoski@chem.bg.ac.rs

Mikrobne polisaharide karakteriše velika strukturna raznolikost što omogućava veliki broj potencijalnih primena. Ekonomski značaj ovih polisaharida se ogleda u činjenici da su neki od ovih polimera danas široko zastupljeni biotehnoški proizvodi sa primenom u različitim oblastima: industriji hrane, kozmetici, poljoprivredi, farmaciji i medicini.

Poslednjih godina usled specifičnih reoloških i hemijskih osobina i činjenice da je netoksičan, velika pažnja je posvećena bakterijskom egzopolisaharidu fruktanu (levanu). Navedena svojstva omogućavaju potencijalnu široku primenu u različitim oblastima. Levau može biti upotrebljen kao stabilizator, emulgator, nosilac ukusa i mirisa, prebiotik, antioksidans i antitumorski agens...[1].



Slika 1. Struktura osnovnog niza levana

Ekperiment

Egzopolisaharid, produkt *Brachy bacterium sp.* CH-KOV3, izolovan je iz sedimenta kanala otpadnih voda južne industrijske zone Pančeva sa lokaliteta mesta ulivanja obradjenih voda HIP Petrohemije[2]. Analizom 16SrRNK gena i sekvenciranjem identifikovan je kao *Brachy bacterium paraconglomeratum*. Mikroorganizam je gajen na saharoznoj podlozi, 7 dana, na 28 °C. Biomasa je uklonjena centrifugiranjem, a sirov polisaharid izolovan iz fermentacione tečnosti taloženjem sa dve zapremine etanola. Nakon toga je dijalizovan naspram česmenske, a zatim destilovane vode, 5 dana i liofilizovan. Ovaj postupak je ponovljen veći broj puta pri čemu je dobijen čist levau.

Mikrobiološki dobijen polisaharid je okarakterisan sledećim hemijskim metodama:

1. Hidroliza (sa TFA) i tankoslojna hromatografija.
2. Elementarna organska mikroanaliza (EOMA) - analiziran sadržaj ugljenika, vodonika, azota i sumpora na automatskom analizatoru Vario EL III CHNS/O Elementar analize firme Elementar.
3. Infracrvena spektroskopija (IR) FTIR spektar uzorka - snimljen na aparatu Nicolet 6700 FT u tehnici snimanja ATR (infrared attenuated total reflectance).
4. Nuklearna magnetna rezonanca (NMR) - protonski NMR spektar snimljen na instrumentu Varian Gemini 2000, na 200 MHz (¹H) i 50,3 MHz (¹³C).

Rezultati

Planarna hromatografija hidrolizovanog sirovog polisaharida pokazala je prisustvo dve komponente, fruktoze i glukoze, a hidrolizom prečišćenog polimera detektovana je jedna komponenta - D-Fruktoza, što ukazuje da je u pitanju fruktan.

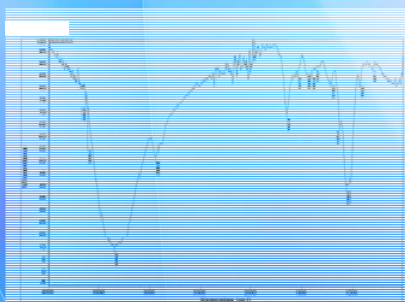
Elementarna organska analiza sirovog levana ukazala je na prisustvo, a prečišćenog na odsustvo proteina i odnos C : H koji odgovara tipičnom polisaharidu.

FTIR spektar je dao potvrdnu sliku o polisaharidnoj strukturi, a u prilog tome govori podatak da je sadržao karakterističnu široku traku u oblasti 3000-3500 cm⁻¹ koja potiče od valentnih vibracija OH grupa koje učestvuju u formiranju jakih inter- i intramolekulskih veza, kao i traku u anomernom regionu (950-700 cm⁻¹) na 925,2 cm⁻¹ koja je specifična za β -konfiguraciju glikozidnih veza.

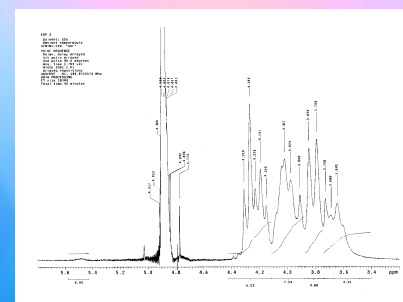
I NMR spektar je ukazao na tipični polisaharid.

| MIKROANALIZA (%) | | | | | | | |
|------------------|-----|-----|---|-----------------|-----|---|---|
| SIROV LEVAN | | | | PREČIŠĆEN LEVAN | | | |
| C | H | N | S | C | H | N | S |
| 29,2 | 5,1 | 2,2 | / | 39,9 | 6,4 | / | / |

Tabela 1. EOMA polisaharida dobijenog iz *Brachy bacterium paraconglomeratum* CH-KOV3



Slika 2. FTIR spektar sirovog egzopolisaharida produkovanog od stane *Brachy bacterium paraconglomeratum* CH-KOV3



Slika 3. ¹H NMR spektar prečišćenog egzopolisaharida produkovanog od stane *Brachy bacterium paraconglomeratum* CH-KOV3

Zaključak

Zaključeno je da je polisaharid koga proizvodi *Brachy bacterium paraconglomeratum* CH-KOV3 homopolimerni polisaharid fruktan, sa osnovnim nizom koji se sastoji od D-fruktofuranoznih jedinica, povezanih medjusobno β -(2,6)-glikozidnim vezama. Bočne grupe su fruktozni ostaci povezani za glavni lanac verovatno preko β -(2,1)-glikozidnih veza. Rezultati ukazuju da ispitivani polisaharid pripada polisaharidima levanskog tipa.

Reference

- 1.Kang, S.A., Jang, K., Seo, J., Kim, K.H., Kim, Y.H., Rairakhwada, D., Seo, M.Y., Lee, J.O., Ha, S.D., Kim, C., Rhee, S., Levau: Applications and Perspectives, Microbial Production of Biopolymers and Polymer Precursors applications and perspectives, Rehm, B.H.A., (Ed.) Caister Academic Press, Norfolk, UK, p. 145-161
2. Beškoski, V.P., Takemine, S., Nakano, T., Slavković Beškoski, L., Gojgić- Cvijović, G., Ilić, M., Miletić, S., Vrvčić, M.M., Perfluorinated compounds in sediment samples from the wastewater canal of Pančevo (Serbia) industrial area, Chemosphere 91 (2013) 1408–1415.

