Iranian Food Science and Technology Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Research Article
Vol. 22, No. 6, Jan.-Feb. 2027, p. 643-666

Functional Properties of *Lacticaseibacillus rhamnosus* Exopolysaccharide and Its Effect on Surimi Properties

M. Kazemi [1], L. Roomiani [2*], M. Tadayoni [1]
1- Department of Food Science and Technology, Ahv. C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran
2- Department of Fisheries, Ahv. C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran
(*- Corresponding Author Email: Laleh.roomiani@iau.ac.ir)

Received: 28.05.2026
Revised: 23.07.2026
Accepted: 22.08.2026
Available Online: 24.08.2026

How to cite this article:
Kazemi, M., Roomiani, L., & Tadayoni, M. (2027). Functional properties of *Lacticaseibacillus rhamnosus* exopolysaccharide and its effect on surimi properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, *22*(6), 643-666. (In Persian).
https://doi.org/10.22067/ifstrj.2026.98980.1583

Introduction

Exopolysaccharides (EPS) are complex carbohydrate molecules produced by a wide range of microorganisms, including fungi, algae, and bacteria. EPS are high molecular weight carbohydrates secreted by microorganisms into the extracellular environment during growth. EPS have complex and diverse structures that can be classified into homopolysaccharides and heteropolysaccharides, which usually contain one or more monosaccharide units and sometimes also incorporate other components such as acetate or phosphate groups. While homopolysaccharides are usually made up of sucrose, heteropolysaccharides have more than two monosaccharides. These structural differences mainly affect the physicochemical and functional properties of EPS. EPS from lactic acid bacteria (LAB) are generally heteropolysaccharides, usually composed of D-glucose, D-galactose and L-rhamnose. As a biopolymer, EPS not only exhibits numerous properties such as water holding capacity, binding, emulsification and gelation, but also has various beneficial health properties such as antioxidant effects, lowering blood sugar and cholesterol. Before use, it is necessary to conduct detailed research on the production conditions and structure of EPS to evaluate their application potential and identify suitable fields, thereby facilitating the development of LAB exopolysaccharides with industrial applicability. Therefore, the aim of this study was to investigate the functional properties of *Lacticaseibacillus rhamnosus* EPS and its effect on the rheological behavior of surimi.

Materials and Methods

Lacticaseibacillus rhamnosus isolated from the intestine of the *Tor grypus* was identified using the 16S rRNA gene, and the gene of interest for the identification of the genus and species of the bacteria was confirmed by sequencing. Crude EPS was obtained by a two-step purification process. First, the sample was separated using a Diethylaminoethyl Cellulose anion exchange chromatography column and washed with deionized water, NaCl solutions with concentrations of 0.1 mol/L, 0.3 mol/L, and 0.5 mol/L as the detergent at a flow rate of 1 mL/min. The microstructure and surface morphology of the purified EPS was observed through scanning electron microscopy (SEM). The antioxidant capacities of EPS were investigated by four different methods. The antibacterial activities of the EPS were evaluated against *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. Some microstructural properties of surimi gel were measured.

Results and Discussion

The Production of EPS generally occurred during the late logarithmic phase or at the early stationary phase, indicating that EPS is a secondary metabolite. EPS yield and properties mainly depend on the source of microorganisms. The absorption peaks in the 1200 to 1000 cm^{-1} indicated the C=O and C-O-C vibrations of

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.22067/ifstrj.2026.98980.1583

glycosidic bonds or the stretching and bending vibrations of C-O coupled and C-O-H, indicating the presence of carbohydrate. According to the analysis of the monosaccharide composition, the extracted EPS was a heteropolysaccharide. The results showed that with the increase in the concentration of EPS, its antioxidant activity increased. EPS showed a promising and dose-dependent inhibitory effect on α-amylase. The inhibition rate of EPS on α-amylase activity increased slowly with the increase in concentration from 1.5 mg/ mL to 9.5 mg/ mL. Carboxyl, hydroxyl and glycosidic bonds present in EPS may play a role in cholesterol adsorption. The coagulability initially increased with increasing EPS concentration and started to decrease after reaching the highest purification point, which may be due to the adsorption of excess coagulants destabilized the particles. At a concentration of 4 mg/mL, EPS showed the highest inhibitory effect on *E. coli* with 23.4%. *L. monocytogenes* with 27%, *S. aureus* with 73%, and *S. typhimurium* with 61%. EPS were reported to inhibit the spontaneous initial aggregation and cell attachment of bacterial cells either by attenuating cell surface changes or by reducing cell-cell surface interactions. Surimi gel samples containing different concentrations of EPS showed similar gelation patterns characterized by three stages of gel formation, gel weakening, and gel recovery. This study elucidates the conformational relationship of this EPS and provides a theoretical basis for its functionalization in fisheries products.

Conclusion

In this study, we isolated EPS, and characterized its composition, structure, and functions. It was also applied and evaluated in fish surimi. The EPS producing strains of *Lacticaseibacillus rhamnosus* were selected based on ropy structure colony formation. The partially purified EPS was characterized by FTIR, NMR, and SEM techniques and examined for its physicochemical, biological, and rheological properties. EPS exhibited significant biological activities, including antibacterial, antioxidant, antibiofilm, and antidiabetic activities, and was highly thermally stable. These findings suggested that EPS from *L. rhamnosus* could be used as a potential natural source in food industry with functional properties.

Keywords: Extracellular polysaccharide, Functional characteristics, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, Structural characterization, Surimi

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
https://ifstrj.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۲۲، شماره ٦، بهمن-اسفند ١٤٠٥، ص. ٦٦٦-٦٤٣

خصوصیات عملکردی اگزوپلی‌ساکارید *Lacticaseibacillus rhamnosus* و تأثیر آن بر ویژگی‌های سوریمی

مهسا کاظمی [۱]- لاله رومیانی [۲*]- مهرنوش تدینی [۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۳۱

چکیده

اگزوپلی‌ساکاریدهای (EPS) میکروبی در حال حاضر به‌دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد، فعالیت بیولوژیکی و ایمنی، به‌عنوان یک بیوپلیمر بالقوه توسعه یافته‌اند. به همین منظور، اگزوپلی‌ساکاریدی از گروه باکتری اسیدلاکتیک (LAB) *Lacticaseibacillus rhamnosus*، از ماهی شیربت، جدا شد. پس از لیوفیلیزاسیون، فعالیت و خصوصیات عملکردی در شرایط آزمایشگاه، شامل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی (۰، ۱/۵، ۳/۵، ۵/۵، ۷/۵ و ۹/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و ضدبیوفیلم (در ۰/۲، ۰/۵، ۱، ۲، و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مشخص گردید. EPS تا حدی خالص‌سازی‌شده با تکنیک‌های FTIR، NMR و SEM مشخص شد و فعالیت جذب کلسترول، انعقادکنندگی و امولسیون‌کنندگی آن ارزیابی گردید. سپس EPS در سوریمی کپور نقره‌ای به‌عنوان مدل غذایی به‌کار رفت. فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی قوی EPS از نتایج به‌دست‌آمده در رادیکال هیدروکسیل، DPPH، ABTS، رادیکال آنیون‌سوپراکسید تأیید شد و همچنین EPS فعالیت ضددیابت (بالای ۶۰ درصد) از خود نشان داد. کاربرد EPS در ژل سوریمی کپور نقره‌ای نشان داد که ریزساختار ژل محتوی اگزوپلی‌ساکارید باکتری شبکه‌ای همگن بوجود آورد که عمدتاً به‌دلیل برهمکنش‌های آبگریز و پیوندهای دی‌سولفیدی در ژل مبتنی بر سوریمی بود. این مطالعه اثربخشی اگزوپلی‌ساکارید را در بهبود بافت و عملکرد و همچنین گسترش کاربرد محصولات سوریمی نشان داد.

واژه‌های کلیدی: اگزوپلی‌ساکارید خارج سلولی، *لاکتی‌کازئی‌باسیلوس رامنوسوس*، سوریمی، ویژگی‌های ساختاری، ویژگی‌های عملکردی

مقدمه

شرکت‌های غذایی در سراسر جهان پیوسته به‌دنبال مواد یا افزودنی‌های طبیعی با ارزش افزوده هستند که عملکرد و فعالیت بیولوژیکی را بهبود بخشند (Guan *et al*., 2025). اگزوپلی‌ساکاریدها (EPS) مولکول‌های کربوهیدرات پیچیده‌ای هستند که توسط طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها، از جمله قارچ‌ها، جلبک‌ها و باکتری‌ها تولید می‌شوند (Andrew & Jayaraman, 2020). EPS کربوهیدرات‌هایی با وزن مولکولی بالا هستند که توسط میکروارگانیسم‌ها در طول رشد به محیط خارج‌سلولی ترشح می‌شوند. EPS ساختارهای پیچیده و متنوعی دارند که می‌توان آنها را به هموپلی‌ساکارید و هتروپلی‌ساکارید طبقه‌بندی کرد که معمولاً حاوی یک یا چند واحد مونوساکارید هستند و گاهی اوقات اجزای دیگری مانند گروه‌های استات یا فسفات را نیز در خود جای می‌دهند (Daba, Elnahas, & Elkhateeb, 2021). در حالی‌که هموپلی‌ساکاریدها از یک نوع مونوساکارید ساخته می‌شوند، هتروپلی‌ساکاریدها بیشتر از دو یا چند نوع مونوساکارید دارند. این تفاوت‌های ساختاری عمدتاً بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و عملکردی EPS تأثیر می‌گذارند. EPS حاصل از باکتری‌های اسیدلاکتیک (LAB) عموماً هتروپلی‌ساکاریدها هستند که معمولاً از D-گلوکز، D-

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
۲- گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Laleh.roomiani@iau.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2026.98980.1583

گالاکتوز و L–رامنوز تشکیل شده‌اند (Daba *et al.*, 2021). EPS به‌عنوان یک بیوپلیمر، نه تنها خواص بی‌شماری از جمله ظرفیت بالای نگهداری آب، اتصال‌دهندگی، امولسیون‌سازی و ژل‌شدن را از خود نشان می‌دهند، بلکه دارای خواص مفید مختلفی برای سلامتی مانند اثرات آنتی‌اکسیدانی، کاهش قند خون و کاهش کلسترول نیز می‌باشند (Dedhia, Marathe, & Singhal, 2022; Sun *et al.*, 2026; Tiwari, Kavitake, Devi, & Shetty, 2021). EPS تولیدشده توسط LAB توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده‌اند، زیرا LAB اغلب برای انسان بی‌خطر (GRAS) در نظر گرفته می‌شوند (Yang, Ke, & Li, 2021). ایمنی و خواص رئولوژیکی منحصر به فرد اگزوپلی ساکاریدهای LAB باعث شده است که آنها به‌طور گسترده در صنایع غذایی مورد استفاده قرار گیرند. سویه‌های *L. rhamnosus* توانایی فوق‌العاده‌ای در تولید EPS نشان داده‌اند که آنها را به کاندیدای امیدوارکننده‌ای برای کاوش‌های بیشتر تبدیل می‌کند (Li, Feng, Yousaf, & Liu, 2026). LAB توانایی گسترده‌ای در ایجاد اگزوپلی‌ساکاریدها دارند. دانشمندان در سراسر جهان در حال تحقیق در مورد تولید، خالص‌سازی و توصیف EPS از سویه‌های شناخته‌شده این باکتری‌ها هستند. مطالعات متعددی در مورد بررسی، تقسیم، شناسایی، تشکیل، مهندسی ژنتیکی و متابولیکی و ویژگی‌های عملکردی EPS تولید شده توسط LAB انجام شده است (Erdem, Tatar, Ayman, & Gezginç, 2023; Li *et al.*, 2026; Sørensen *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2025). این خواص تحت‌تأثیر سویه خاص، شرایط کشت و ترکیب محیط‌کشت قرار می‌گیرد (Puspitasari, Yanti, Hidayat, & Suroto, 2026).

برخی از سویه‌های تولیدکننده EPS که به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* می‌باشد که به‌طور گسترده در تولید ماست و پنیر استفاده شده است که به‌دلیل تولید EPS کپسولی که به ویسکوزیته کمک می‌کنند و آب‌اندازی را کاهش می‌دهند، شناخته شده است. *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه بولگاریکوس اغلب در تخمیر ماست با *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* کشت داده می‌شود و از طریق هم‌افزایی در سنتز EPS، بافت را بهبود می‌بخشد. *Lacticaseibacillus rhamnosus* و *Lacticaseibacillus casei* EPS با خواص تعدیل‌کننده سیستم ایمنی و آنتی‌اکسیدانی تولید می‌کنند. *Ln. mesenteroides* به‌دلیل تولید دکستران در خمیر ترش سنتی و سبزیجات تخمیر شده شناخته شده است. *Weissella cibaria* و *Weissella confusa* به‌دلیل EPS با الگوهای شاخه‌بندی منحصر به فرد و فعالیت‌های پری‌بیوتیکی امیدوارکننده، مورد توجه قرار گرفتند (Korcz & Varga, 2021; Prete *et al.*, 2021; Sørensen *et al.*, 2022). سویه‌های مختلف و حتی سویه‌های یکسان، ممکن است توانایی‌های متفاوتی در تولید EPS تحت شرایط مختلف از خود نشان دهند و ساختار و عملکرد EPS آنها نیز متفاوت است (Hernández-Figueroa, López-Malo, & Mani-López, 2025). بنابراین، قبل از استفاده، لازم است تحقیقات دقیقی در مورد شرایط تولید و ساختار EPS انجام شود تا پتانسیل کاربرد آنها ارزیابی شده و زمینه‌های مناسب شناسایی شده و از این طریق توسعه اگزوپلی‌ساکاریدهای LAB با قابلیت کاربرد صنعتی تسهیل گردد. بنابراین هدف از انجام این مطالعه بررسی خصوصیات کارکردی EPS *لاکتی‌کازئی‌باسیلوس رامنوسوس* و اثر آن بر رفتار رئولوژیک سوریمی بود.

مواد و روش‌ها

کشت باکتری

سویه *Lacticaseibacillus rhamnosus* مورد استفاده در این مطالعه از ذخیره کشت آزمایشگاهی تهیه شد،که از روده ماهی شیربت (*Tor grypus*) جدا شده و پتانسیل پروبیوتیکی آن تأیید شده بود (Mohammadian, Monjezi, Peyghan, & Mohammadian, 2022, Mohammadian *et al.*, 2016). باکتری (۱۰^{۸} cfu/mL ×۱) در محیط‌کشت MRS آگار (شرکت مرک– ساخت کشور آلمان با کد ۱۱۰۶۶۰) (۱۰ میلی‌لیتر) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت زمان ۴۸ ساعت در شرایط کاملاً بی‌هوازی و در انکوباتور کشت داده شد. محیط‌کشت مورداستفاده برای تولید اگزوپلی‌ساکارید حاوی ساکارز (۵ درصد)، تری‌آمونیوم‌سیترات (۲ گرم بر لیتر)، استات‌سدیم (۵ گرم بر لیتر)، دی‌سدیم‌فسفات (۲ گرم بر لیتر)، عصاره مخمر (۵ گرم بر لیتر)، سولفات‌منیزیوم (۰/۱ گرم بر لیتر)، سولفات منگنز (۰/۰۵ گرم بر لیتر)، عصاره گوشت (۱۰ گرم بر لیتر)، تریپتون (۱۰ گرم بر لیتر) و توئین ۸۰ بود. پس از طی دوره رشد در انکوباسیون، نمونه‌ها با سرم فیزیولوژی استریل شستشو داده شدند و در ۱۵۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و رسوب بدست‌آمده در سرم فیزیولوژی استریل به‌صورت سوسپانسیون درآمد و بر اساس استاندارد مک‌فارلند با غلظت ۲/۴ × ۱۰^{۹} باکتری زنده در هر میلی‌لیتر تنظیم شدند (Chen *et al.*, 2013).

تولید و خالص‌سازی EPS

دو میکرولیتر (تلقیح با غلظت سلولی دو درصد بود) از کشت استوک باکتری، به محیط‌کشت رشد EPS منتقل و به‌مدت ۱۵ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند. پس از فاصله زمانی موردنظر، کشت جمع‌آوری و به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت g × ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد و محلول رویی به‌دست آمد. اسیدتری‌کلرواستیک (TCA) به محلول رویی اضافه شد تا غلظت نهایی ۲۰ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر حاصل شود. پس از هم‌زدن، مخلوط به‌مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴

درجه سانتی‌گراد انکوبه‌گذاری گردید و سپس، پروتئین‌ها با سانتریفیوژ در سرعت g × ۱۰۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه حذف شدند. محلول رویی با سه حجم از اتانول سرد ۹۵ درصد (حجمی/حجمی) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت رسوب داده شد. با سانتریفیوژ، g × ۱۰۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، بخش رسوب شده جمع‌آوری و در آب مقطر دوبار تقطیرشده (ddH_2O) حل شد. پس از دیالیز در برابر ddH_2O (محدوده Mw: 8000-14000 Da)، EPS خام به‌دست آمد و سپس لیوفیلیزه شد. محتوای EPS موجود در پودر برای تعیین کل کربوهیدرات‌ها با روش فنل–سولفوریک و با استفاده از گلوکز به‌عنوان استاندارد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (DuBois, Gilles, Hamilton, Rebers, & Smith, 1956). EPS خام با فرآیند خالص‌سازی دو مرحله‌ای بدست آمد. ابتدا، نمونه با استفاده از ستون کروماتوگرافی تبادل آنیونی DEAE-cellulose- تفکیک و با آب دیونیزه، محلول‌های NaCl با غلظت‌های ۰/۱ مول بر لیتر، ۰/۳ مول بر لیتر و ۰/۵ مول بر لیتر به‌عنوان شوینده با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه شسته شد. هر ۵ میلی‌لیتر از شوینده به‌طور خودکار جمع‌آوری شد. فرآیند شسته‌شدن با استفاده از روش فنل–اسیدسولفوریک به اتمام رسید. بخش‌های پیک حاوی پلی‌ساکاریدها جمع‌آوری، دیالیز و لیوفیلیزه شدند. سپس این بخش روی ستون Sepharose CL-6B (۲/۶ × ۶۰ سانتی‌متر) خالص‌سازی بیشتری شد و با محلول NaCl با غلظت ۰/۱۵ مول بر لیتر با سرعت جریان ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه شسته شد و ۵ میلی‌لیتر از شوینده در هر لوله جمع‌آوری شد. بخش‌های پلی‌ساکاریدی شناسایی، جمع‌آوری، دیالیز و لیوفیلیزه شدند. فراکسیون اصلی کربوهیدرات پس از جمع‌آوری، دیالیز و لیوفیلیزاسیون برای بررسی‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به اینکه در فراکسیون نهایی تنها محتوای کربوهیدرات کل تعیین شد و مقادیر پروتئین و اسیدهای نوکلئیک باقیمانده اندازه‌گیری نشد، نمونه حاصل در این مطالعه به‌عنوان EPS تا حدی خالص‌سازی‌شده تعریف شد.

طیف‌سنجی مادون‌قرمز تبدیل‌فوریه

گروه‌های عاملی EPS با استفاده از طیف‌سنج مادون‌قرمز تبدیل‌فوریه (FTIR) (مدل Cary 5000، ساخت آمریکا) تعیین شدند. یک میلی‌گرم EPS تاحدی‌خالص‌شده، با ۴۰ میلی‌گرم پودر KBr آسیاب و سپس پرس شد. اندازه‌گیری FTIR در فرکانس cm^{-1} ۴۰۰۰–۴۰۰ در دمای اتاق ثبت شد. از یک صفحه کریستالی استفاده شد و پودر EPS روی صفحه قرار داده شد (Norouzi, Shamsaie Mehrgan, Roomiani, Rajabi Islami, & Raissy, 2023).

تعیین ترکیب مونوساکارید

هیدرولیز اسیدی با مخلوط‌کردن EPS با ۵ میلی‌لیتر اسیدتری‌فلوئورواستیک دو مولار (شرکت مرک–ساخت کشور آلمان) و سپس حرارت‌دادن در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ ساعت انجام شد. تجزیه و تحلیل ترکیب مونوساکارید EPS با استفاده از آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای کروماتوگرافی گازی (YL6500 ساخت کشور چین) مجهز به ستون HP-Ultra-2 (۲۵۰ میلی‌متر × ۰/۲ میلی‌متر × ۰/۱۱ میکرومتر) انجام شد. برای شناسایی پروفایل مونوساکارید، از مخلوط استاندارد متشکل از مونوساکاریدهای زایلوز، گالاکتوز، گلوکز، آرابینوز و مانوز استفاده شد (Gao *et al*., 2022).

طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته‌ای

پنج میلی‌گرم از نمونه EPS تاحدی‌خالص‌شده باکتری، در ۰/۶ میلی‌لیتر حلال بی‌اثر D_2O با ۹۹/۹ درصد خلوص، حل شد و سپس بین دو قطب لوله مغناطیسی هسته‌ای قرار گرفت. تغییرات ایجادشده در آن، با استفاده از دستگاه رزونانس مغناطیسی هسته‌ای (Quantum-I plus، ساخت کشور چین) با فرکانس عملیاتی ۶۰۰ مگاهرتز در دمای اندازه‌گیری شده ۳۱۳ کلوین انجام شد. زمان استراحت و زمان جمع‌آوری به‌ترتیب ۴ ثانیه و ۲/۹۲ ثانیه بود (Norouzi *et al*., 2023).

میکروسکوپ الکترونی روبشی

ریزساختارها و مورفولوژی سطحی EPS با استفاده از آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مشاهده شدند. برای این منظور، EPS خشک‌شده روی یک چسب رسانای دوطرفه پخش شد و با آلیاژ رسانای طلا–پالادیوم پوشش داده شد. سپس، آنالیز SEM تحت خلاء بالا در میکروسکوپ GeminiSEM 300 (کارل زایس، ساخت کشور آلمان) با بزرگنمایی‌های مختلف با استفاده از ولتاژ شتاب‌دهنده ۵ کیلوولت انجام شد.

خصوصیات زیست‌فعال EPS

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

قدرت مهار رادیکال‌های‌آزاد DPPH[1]

توانایی کاهش آنتی‌اکسیدانی نسبت به DPPH را می‌توان از طریق ارزیابی کاهش جذب در طول موج ۵۲۸–۵۱۵ نانومتر سنجید. رادیکال آزاد DPPH رادیکال نیتروژنی آلی با عمر طولانی و رنگ بنفش تیره است و زمانی‌که با یک آنتی‌اکسیدان ترکیب و مخلوط می شود رنگ

1- 1,1, diphenyl-2-picrylhydrazyl

آن از بنفش به زرد هیدرازین تبدیل می‌شود. نتایج به‌عنوان، غلظتی از EPS که منجر به ۵۰ درصد مهار رادیکالی شود، یا IC50 بیان می‌گردد. برای این منظور، ۷/۸۹ میلی‌گرم DPPH با ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۹/۹۹ درصد حل شده و به‌مدت زمان دو ساعت در شرایط تاریکی نگهداری شد. سپس محلول DPPH با ۸۰۰ میکرولیتر بافر با pH=7.4 (Tris-HCl) به لوله آزمایش اضافه شد. بعد از این مرحله، ۲۲۰ میکرولیتر از EPS باکتری، به آن اضافه و به سرعت مخلوط گردید. محلول به‌مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریک در دمای اتاق نگهداری و جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر از طریق میکروپلت ریدر اندازه‌گیری شد. مخلوط با ۱۲۰۰ میکرولیتر اتانول و ۸۰۰ میکرولیتر بافر به‌عنوان نمونه بلانک در نظر گرفته شد. نسبت مهار به درصد از طریق معادله زیر به‌دست آمد (Wang *et al*., 2014):

(۱) $(A1 - A2) \times \frac{100}{A1}$ = میزان مهارکنندگی به درصد

A1: جذب افزودن اتانول به جای نمونه EPS و A2: جذب محلول نمونه EPS

اندازه‌گیری قدرت EPS در مهار رادیکال هیدروکسیل

آزمایش مهار رادیکال هیدروکسیل با پیپت‌کردن ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول نمونه EPS در غلظت‌های مختلف ۰، ۱/۵، ۳/۵، ۵/۵، ۷/۵ و ۹/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. سپس ۲ میلی‌لیتر محلول $FeSO_4$ با غلظت ۶ میلی‌مول در لیتر و ۲۰۰ میکرولیتر H_2O_2 با غلظت ۰/۳ درصد به آن اضافه شد. مخلوط به خوبی همگن شد و سپس به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد واکنش داده شد و ۰/۵ میلی‌لیتر اسیدسالیسیلیک با غلظت ۶ میلی‌مول در لیتر اضافه شد. اسیدسالیسیلیک برای ایجاد رنگ با ۱۰ میلی‌لیتر آب اضافه شد. جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر گرفته شد. آب به‌عنوان نمونه شاهد استفاده شد.

(۲) $1-\frac{A1}{A0} \times 100$ = توانایی جذب رادیکال‌های هیدروکسیل به درصد

A0: میزان جذب مخلوط بدون EPS در طول موج ۵۶۲ نانومتر و A1: میزان جذب مخلوط محتوی EPS در طول موج ۵۶۲ نانومتر (Yang *et al*., 2015).

سنجش توانایی مهار رادیکال ABTS

توانایی مهار رادیکال ABTS اگزوپلی‌ساکارید باکتری سنجیده شد (Fernandes & Coimbra, 2023). محلول ۲/۴۵ میلی‌مولار پرسولفات پتاسیم و ۷ میلی‌مولار ABTS برای تهیه محلول مخلوط شدند و سپس به‌مدت ۱۶ ساعت در تاریکی قرار داده شدند. پس از آن، مخلوط با محلول نمکی بافر فسفات (PBS) تا جذب ۰/۰۲ ± ۰/۷ در طول موج ۷۳۴ نانومتر رقیق شد. برای اندازه‌گیری، ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه‌های EPS در غلظت‌های مختلف (۰، ۱/۵، ۳/۵، ۵/۵، ۷/۵ و ۹/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۲ میلی‌لیتر از محلول $ABTS^{\bullet+}$ مخلوط شدند. مخلوط کاملاً تکان داده شد و به‌مدت ۶ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس جذب در طول موج ۷۳۴ نانومتر اندازه‌گیری شد. از آب به‌عنوان شاهد و از PBS به‌عنوان شاهد استفاده شد.

توانایی مهار رادیکال‌های سوپراکسید

توانایی مهار رادیکال سوپراکسید EPS باکتری سنجیده شد (Marklund & Marklund, 1974). نمونه‌های EPS با بافر Tris-HCl مخلوط شدند و پس از آن پیروگالول اضافه شد و جذب در طول موج ۳۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان مهار رادیکال سوپراکسید با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

(۳) $\left[1 - \frac{As}{Ac}\right] \times 10$ = میزان توانایی مهار رادیکال های سوپراکسید

As و Ac به‌ترتیب نشان‌دهنده تعادل نمونه در غلظت‌های مشخص و محلول بدون حضور نمونه است.

فعالیت مهار آلفا آمیلاز

محلول‌هایی از EPS با غلظت‌های مختلف ۰، ۱/۵، ۳/۵، ۵/۵، ۷/۵ و ۹/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. ۳۰ میکرولیتر از محلول نمونه و ۳۰ میکرولیتر α–آمیلاز (۱۰ واحد در میلی‌لیتر) به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مخلوط شدند و سپس ۳۰ میکرولیتر محلول نشاسته (۱ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) به‌طور مداوم اضافه شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد واکنش داده شد. پس از آن، واکنش با اضافه کردن ۵۰ میکرولیتر محلول DNS خاتمه یافت و به‌مدت ۱۵ دقیقه در آب جوش قرار داده شد. جذب در طول موج ۶۶۰ نانومتر با اضافه کردن ۱۱۰ میکرولیتر ddH_2O پس از خنک شدن اندازه‌گیری شد. از آکاربوز به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. فعالیت مهاری EPS بر روی α–آمیلاز طبق معادله زیر محاسبه شد:

(۴) $\left(1 - \frac{A1-A2}{A3}\right) \times 100$ = میزان بازدارندگی به درصد

A1: جذب نمونه، A2: جذب گروه کنترل بدون آنزیم و A3: جذب گروه کنترل بدون نمونه (Guan *et al*., 2025).

ظرفیت جذب کلسترول

غلظت‌های مختلف ۰، ۰/۲۲، ۰/۴۲، ۰/۶۲ و ۰/۸۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر EPS با ۱۰ میلی‌لیتر محلول استاندارد کلسترول (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مخلوط شدند و به‌مدت ۱۵ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تکان داده شدند. پس از سانتریفیوژ در سرعت ۱۰۶۱۰ × g به‌مدت ۶ دقیقه، محلول رویی برای اندازه‌گیری میزان کلسترول با روش آلدهیدفتالیک (Rudel & Morris, 1973) برداشته شد. محلول

استاندارد کلسترول بدون EPS به‌عنوان مقایسه شاهد استفاده شد. ظرفیت جذب کلسترول EPS طبق معادله زیر محاسبه شد:

ظرفیت جذب کلسترول به درصد = $\frac{A0-As}{A0}$ (۵)

که در آن A0 محتوای کلسترول نمونه شاهد بدون نمونه و As میزان کلسترول محلول واکنش نمونه بود.

خصوصیت انعقادکنندگی EPS

نمونه‌های EPS از غلظت ۰، ۰/۳، ۰/۵، ۰/۷، ۰/۹ تا ۱/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، به ۰/۵ میلی‌لیتر محلول کلریدکلسیم ۷ میلی‌مولار و ۸ میلی‌لیتر زغال فعال، ۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، اضافه شدند. سپس، مخلوط واکنش به‌مدت ۲ دقیقه ورتکس شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه‌گذاری شد. پس از انکوباسیون، یک میلی‌لیتر از قسمت بالایی جمع‌آوری شد. کدورت بالای ۱ میلی‌لیتر در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. یک آزمایش کنترل بدون EPS نیز به همین روش انجام گردید. فعالیت انعقادکنندگی (درصد) طبق معادله زیر تعریف و محاسبه شد (Han *et al*., 2014):

فعالیت انعقادکنندگی (درصد) = (کدورت تیمار کنترل / کدورت تیمار محتوی EPS –کدورت تیمار کنترل)×۱۰۰ میزان رقت (۶)

ویژگی امولسیون EPS

۲ میلی‌لیتر محلول EPS یک درصد به ۳ میلی‌لیتر روغن آفتابگردان، کنجد و زیتون اضافه شد. به‌مدت ۵ دقیقه ورتکس هر کدام انجام شد و سپس به‌مدت ۱، ۲۴، ۱۴۴ و ۲۸۸ ساعت در دمای اتاق انکوبه‌گذاری صورت گرفت. یک نمونه کنترل همزمان با ۲ میلی‌لیتر PBS و ۰/۵ میلی‌لیتر هگزادکان اضافه شد. فعالیت امولسیون‌سازی به‌صورت درصد حفظ امولسیون در طول انکوباسیون به ازای هر زمان بیان گردید. علاوه بر این، حجم ۱۰۰ میکرولیتر امولسیون پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد تشکیل شد و با استفاده از لام میکروسکوپ بررسی شد (Meneghine, Moretto, Castellane, & Carareto Alves, 2017).

اندازه‌گیری مهار تشکیل بیوفیلم توسط عوامل بیماری‌زا

فعالیت ضدبیوفیلم ۱۰۰ میکرولیتر EPS باکتری *لاکتی‌کازئی‌باسیلوس رامنوسوس* طبق روش انتشار دیسک شرح داده شده توسط (Gunathunga *et al*., 2026) با کمی تغییرات ارزیابی شد. ۲۵۰ میکرولیتر از کشت‌های شبانه (در محیط‌کشت مولر–هینتون آگار) *Escherichia coli*، *Salmonella typhimurium*، *Listeria monocytogenes* و *Staphylococcus aureus* به همراه غلظت‌های مختلف EPS با ۰/۲، ۰/۵، ۱، ۲، و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به یک پلیت میکروتیتر ۹۶ چاهکی اضافه شدند. سپس، پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه‌گذاری شدند و چاهک‌های تیمارنشده به‌عنوان کنترل استفاده شدند. پس از آن، چاهک‌ها شسته، خشک و با محلول کریستال‌ویوله ۲ درصد (وزن/ حجم) رنگ‌آمیزی شدند. سپس، رنگ متصل به سلول‌های چسبنده با ۰/۲ میلی‌لیتر محلول اسیداستیک ۳۵ درصد وزن/ حجم حل شد. پس از آن، ۱۵۰ میکرولیتر از هر چاهک به یک پلیت ۹۶ چاهکی جدید منتقل شد و چگالی نوری (OD) در ۵۹۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. مهار بیوفیلم طبق فرمول محاسبه شد:

مهار بیوفیلم (درصد) = $\left[1-\left(\frac{OD_{sample}}{OD_{control}}\right)\times 100\right]$ (۷)

تهیه سوریمی

ماهی کپور نقره‌ای یا فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) از استخرهای پرورش ماهیان گرمابی استان خوزستان تهیه گردید و بلافاصله پس از صید منجمد شد. سپس، ماهی منجمد به‌مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا از حالت نیمه‌منجمد آن اطمینان حاصل شود. سر، پوست و روده ماهیان جدا شد و عضلات ماهی به‌صورت دستی به مکعب‌های کوچک برش داده شدند. پس از آن، مکعب‌ها دو بار با استفاده از آب مقطر ۱:۵ (حجمی/وزنی) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه شسته شدند و دو بار با ۰/۳ درصد (وزنی/ وزنی) نمک‌طعام شسته شدند. در مرحله بعد، ماهیچه‌های سفید به‌دست‌آمده، متشکل از ۱۵/۲ درصد پروتئین کل، ۱/۴ درصد چربی و ۱ درصد خاکستر، به‌مدت ۱۵ ثانیه در خردکن خرد شده و با ۲/۵ درصد (وزنی/وزنی) نمک‌طعام مخلوط شدند. خمیر بدست آمده با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱ دقیقه خرد شد و میزان رطوبت آن از طریق پاک‌کردن رطوبت سطحی از سوریمی چرخ‌شده، تقریباً به ۸۰ درصد (وزنی/وزنی) رسید. برای گروه‌های آزمایشی، اگزوپلی‌ساکارید باکتری در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ (گرم در ۱۰۰ گرم) به نمونه سوریمی تهیه شده اضافه شده و مخلوط به‌مدت ۱ دقیقه بیشتر خرد شد. سپس نمونه‌ها در لوله‌های سانتریفیوژ ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شده و در دو مرحله ۴۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه، ۹۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شدند. در نهایت، نمونه‌ها به سرعت در حمام یخ با دمای تقریبی ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه خنک شدند و سپس به‌مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در طول کل فرآیند آماده‌سازی، نمونه‌ها بدون تنظیم، در pH طبیعی خود نگهداری شدند (Sharifi & Roomiani, 2020).

ویژگی‌های ژل سوریمی تحت‌تأثیر EPS باکتری

اندازه‌گیری قدرت ژل[1]، میزان سختی [2]و جویدنی[3] ژل سوریمی

نمونه‌های سوریمی در بشکه‌هایی به عرض ۲۲ میلی‌متر و ارتفاع ۱۲ میلی‌متر قرار داده شدند. استحکام ژل، قدرت سختی و میزان جویدنی از طریق دستگاه آنالیز بافت مدل TA-XT Plus (ساخت کشور انگلستان) با یک پروب P/0.5 با سرعت آزمایش ۱ میلی‌متر بر ثانیه، متغیر فشرده‌سازی ۵۰ درصد و نیروی ماشه g × ۵ به‌ترتیب آزمایش شد. آزمایش با شش تکرار برای هر نمونه انجام شد.

رفتار رئولوژی دینامیک سوریمی

نمونه‌ها توسط یک رئومتر Discovery HR-1 (شرکت Instruments Menu، مدل TA، ساخت ایالات متحده آمریکا) همراه با صفحات موازی ۴۰ میلی‌متری آزمایش شدند. خمیر سوریمی با فرکانس ۱ هرتز و فاصله ۱ میلی‌متری پس از گرم کردن از ۲۰ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۲ درجه سانتی‌گراد در دقیقه با ثابت ۰/۸ درصد مطابق با ناحیه ویسکوالاستیک خطی از طریق حالت دامنه نوسان، اسکن گردید.

اندازه‌گیری برخی خصوصیات میکروساختار ژل سوریمی

ریزساختار ژل‌های حاوی EPS توسط دستگاه SEM مدل SU8000 (شرکت هیتاچی، ژاپن) مشاهده شد. نمونه در یک نگهدارنده قرار داده شد و به سرعت در دوغاب نیتروژن مایع غوطه‌ور شد تا منجمد شود. در مرحله بعد، نمونه منجمد مستقیماً تحت خلاء در محفظه آماده‌سازی قرار گرفت و به‌ترتیب تحت شکست، تصعید در دمای ۶۰- درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۰ دقیقه و کندوپاش پلاتین (۱۰ میلی‌ولت به‌مدت ۶۰ ثانیه) قرار گرفت. در نهایت، نمونه‌های آماده شده برای تصویربرداری و ثبت از طریق ولتاژ شتاب‌دهنده ۱۰ کیلوولت با بزرگنمایی g × ۵۰۰۰ به محفظه SEM منتقل شدند. تصاویر به‌دست‌آمده از طریق نرم‌افزار AngioTool64 نسخه ۰/۵ پردازش شدند تا پارامترهای کمی مرتبط با ویژگی‌های ساختاری ژل سوریمی محاسبه شوند (Lv *et al.*, 2023).

تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه، شاخص‌های بافت حداقل شش بار بررسی شدند، در حالی‌که سایر آزمایش‌ها برای اطمینان از تصادفی بودن و تکرارپذیری برای تجزیه و تحلیل، سه بار انجام شدند. تمام داده‌های ثبت شده به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شدند. آنالیز واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای میانگین‌های با تفاوت معنی‌دار با استفاده از نرم‌افزار SPSS 25.0 انجام شد. سطح $p< 0.05$ به‌عنوان سطح معنی‌دار تعیین شد.

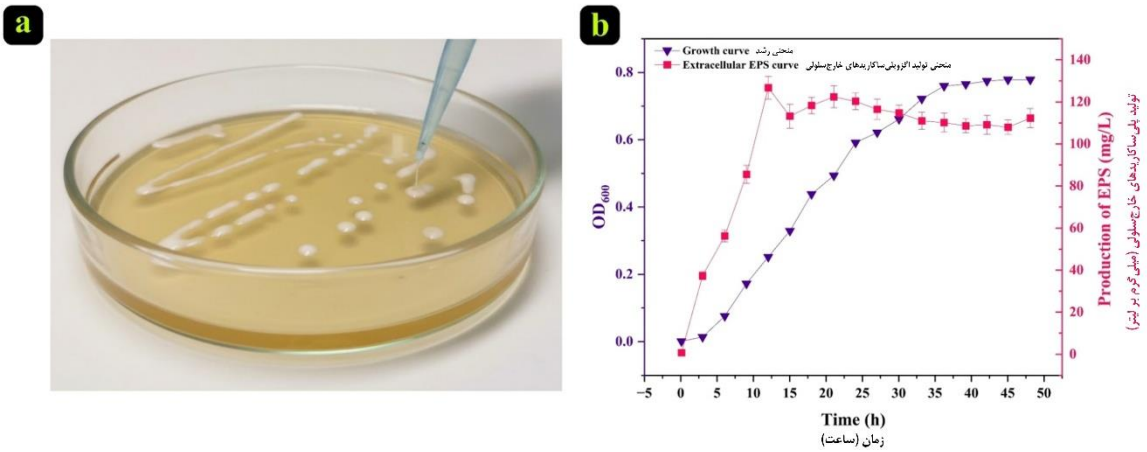
نتایج و بحث

تولید EPS باکتری

روش کشت خطی برای باکتری *لاکتی‌کازئی‌باسیلوس رامنوسوس* تولیدکننده EPS، روی پلیت MRS انجام و نتیجه آن در شکل ۱ آمده است. هنگامی‌که کلونی با نوک پیپت برداشته شد، کشش طنابی طولانی بین کلونی و نوک با ظاهری لزج مشاهده شد که نشان‌دهنده این موضوع است که باکتری قادر به تولید EPS است.

ساختار دقیق EPS تولیدشده توسط باکتری و سینتیک تشکیل آن برای کسب اطلاعات در مورد سنتز و تخریب احتمالی EPS، عملکرد و زمان برداشت بهینه در طول کشت تعیین شد. همانطور که در شکل ۱–b نشان داده شده است، دوره تولید EPS از فاز لگاریتمی تا مرحله اولیه پایدار متغیر بود، که نشان می‌دهد EPS یک متابولیت ثانویه است. بازده EPS باکتری با روش پروتئین‌زدایی و رسوب بواسطه اتانول پس از ۱۵ ساعت انکوباسیون ۱۳۶/۲ میلی‌گرم در لیتر بود (حدود ۹۱ درصد از کل پلی‌ساکارید موجود در محیط‌کشت). در مطالعه راجوکا و همکاران (Rajoka *et al.*, 2018) سویه *لاکتی‌کازئی‌باسیلوس رامنوسوس* (SHA111) منجر به بازده بسیار بالاتری از EPS (۷۳۷/۳ میلی‌گرم در لیتر) نسبت به سایر سویه‌ها (SHA113، ۵۴۹/۶ میلی‌گرم در لیتر؛ SHA114، ۴۶۱ میلی‌گرم در لیتر؛ SHA115، ۵۱۹/۶ میلی‌گرم در لیتر؛ SHA116، ۶۳۱/۶ میلی‌گرم در لیتر؛ SHA117، ۶۱۰ میلی‌گرم در لیتر) شد. تولید EPS همه سویه‌ها بسیار بیشتر از نتایج گزارش شده قبلی برای *L. rhamnosus* ATCC 9595 (۳۵۲ میلی‌گرم در لیتر) و CD83 (۱۳۲ میلی‌گرم در لیتر) بود (Gamar, Blondeau, & Simonet, 1997) که فقط سویه CD83 کمتر از مطالعه فعلی بود. این نشان داد که سویه‌های *L. rhamnosus* که در مطالعه راجوکا و همکاران (Rajoka *et al.*, 2018) از شیرمادر انسان سرچشمه گرفته‌اند، تمایل به تولید EPS بیشتری نسبت به سویه‌های حاصل از منابع دیگر دارند. علاوه بر این، حتی با منبع یکسان، تولید EPS بدست‌آمده بین سویه‌های مختلف بسیار متفاوت بود (Wang *et al.*, 2022).

1- Gel Strength
2- hardness
3- chewiness



شکل ۱- (a) رفتار طنابی کلونی EPS تولیدشده توسط باکتری. (b) سینتیک تشکیل EPS باکتری و میزان تولید آن در طول رشد

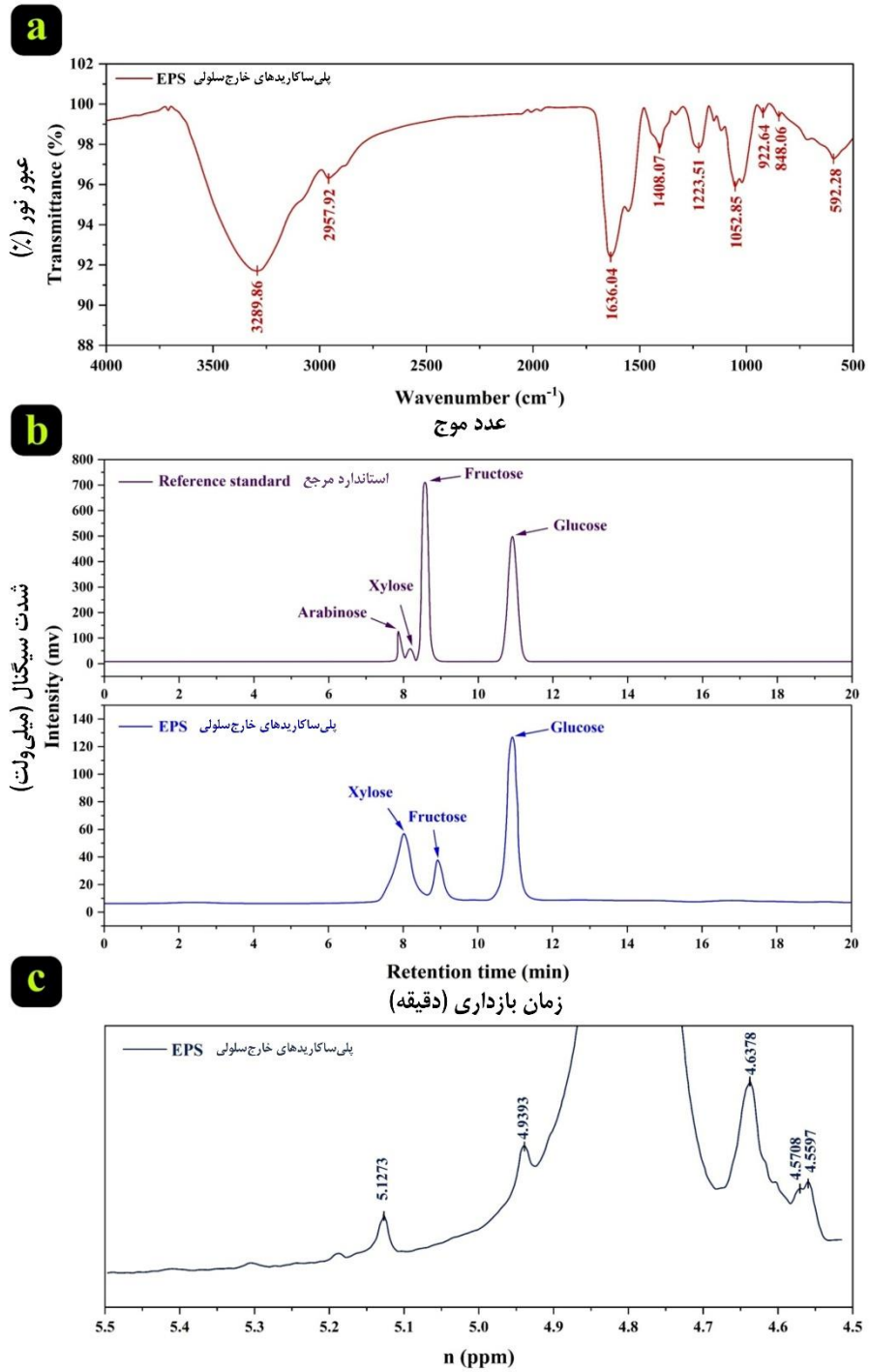
Fig. 1. (a) Ropy behavior of colony of EPS produced by bacteria. (b) Kinetics of bacterial EPS formation and its production rate during growth.

بازده و خواص EPS به میکروارگانیسم‌ها و شرایط زیستی آنها وابسته است (Yang *et al.*, 2024). در مطالعه گوان و همکاران (Guan *et al.*, 2025) میزان تولید اگزوپلی‌ساکارید ۱۴۴ میلی‌گرم بر لیتر از سویه *لاکتی‌کازئی‌باسیلوس رامنوسوس* بود. علاوه بر این، تولید EPS با زیست‌توده سویه و سرعت رشد مرتبط بود که تحت‌تأثیر محیط‌کشت و شرایط رشد، مانند دما، pH، نسبت کربن/نیتروژن، منبع کربن و غلظت نیز قرار دارد (Nie *et al.*, 2024; Yu *et al.*, 2024). در میان مطالعات گزارش شده در مورد EPSs تولیدشده توسط LAB، محیط‌های‌کشت M17 و MRS بیشترین استفاده را داشتند که برای زیست‌توده و رشد و همچنین بازده EPS مفید بودند. با این حال، نشان داده شد که این محیط‌ها حاوی آنالوگ‌های پلی‌ساکارید هستند که در تجزیه و تحلیل و تعیین مقدار EPS تداخل ایجاد می‌کنند. در مطالعه چن و همکاران (Chen, Gu, & Zhou, 2022) میزان EPS در محیط‌کشت MRS با یا بدون انکوباسیون *L. rhamnosus* ZFM216 به‌ترتیب ۵ ± ۵۸۲ میلی‌گرم در لیتر و ۴ ± ۹۶۵ میلی‌گرم در لیتر بود. علاوه بر این، بازده پایین EPS تولید شده توسط *L. rhamnosus* ممکن است به‌دلیل زیست‌توده کمتر رشدیافته در محیط‌کشت باشد.

آنالیز FTIR و ترکیب مونوساکاریدهای EPS باکتری

گروه‌های عاملی EPS توسط طیف‌سنجی FTIR تعیین شد (شکل ۲-a). پیک جذب آشکار در حدود $3289\ cm^{-1}$ نشان‌دهنده وجود یک پیک جذب معمول از گروه‌های هیدروکسیل بود (Kavitake, Devi, Singh, & Shetty, 2016). سیگنال‌ها در $2957\ cm^{-1}$ به ارتعاش کششی C-H مربوط به گروه‌های متیل و متیلن نسبت داده شدند. وجود گروه‌های هیدروکسیل و پیک‌های مشخصه C-H ثابت کرد که هر دو نمونه ترکیبات گلیکان هستند (Ye *et al.*, 2014). پیک‌های cm^{-1} ۱۶۳۶ ناشی از ارتعاش کششی پیوند H-O بود که نشان‌دهنده دلیل وجود آب پیوندی است (Wang, Zhao, Tian, Yang, & Yang, 2015; Wang, Zhao, Yang, Zhao, & Yang, 2015). پیک‌های جذب در ناحیه $1200\ cm^{-1}$ تا ۱۰۰۰، ارتعاشات C=O و C-O-C باندهای گلیکوزیدی یا ارتعاشات کششی و خمشی C-O و C-C جفت‌شده و C-O-H را نشان دادند که نشان‌دهنده وجود کربوهیدرات‌ها است. همه پیوندهای معمول ذکر شده در بالا، اسکلت معمولی پلی‌ساکاریدها بودند (Chen *et al.*, 2022).

به‌طور خاص، EPS پیک جذب در $1408\ cm^{-1}$ نشان داد که بهترتیب مربوط به ارتعاش زاویه متغیر خمش N-H، ارتعاش تغییر شکل برشی پیوند CH_2، ارتعاش متقارن پیوند CH_3 در گروه آمید و نوسان زاویه‌ای پیوند C-H نوع β در کربوهیدرات بودند (Adesulu-Dahunsi *et al.*, 2018; Noseda, Bonatto, de Freitas, de Carvalho, & Soccol, 2020). از طرفی می‌توان به ارتعاش کششی C=O و ارتعاش کششی متقارن پیوند S=O نیز نسبت داد که ممکن است نشان‌دهنده وجود گروه‌های کربوکسیلیک و گروه‌های سولفات باشد (Gunathunga *et al.*, 2026).



شکل ۲- خصوصیات ساختاری EPS تولیدشده توسط *L. rhamnosus* (a) طیف FTIR، (b) کروماتوگرام مونوساکاریدهای استاندارد در مقایسه با EPS خالص‌سازی‌شده، و (c) طیف ^{1}H NMR اگزوپلی‌ساکارید

Fig. 2. Structural characterization of the EPS produced by *L. rhamnosus*. (a) FTIR spectrum, (b) Chromatogram of standard monosaccharides compared with the purified EPS, and (c) ^{1}H NMR spectrum of the EPS

پیک مشخصه cm^{-1} ۹۵۰-۷۵۰ که معمولاً با ویژگی‌های ساختاری آنومری پلی‌ساکاریدها مرتبط هستند، در طیف EPS نیز مشاهده شدند (Gunathunga *et al.*, 2026). طبق تجزیه و تحلیل ترکیب مونوساکارید (شکل b-۲)، اگزوپلی ساکارید استخراج شده هتروپلی‌ساکارید بود. EPS یک پلی‌ساکارید اسیدی حاوی فروکتوز، زایلوز و گلوکز بود. EPSs تولید شده توسط LAB از نظر ترکیب و

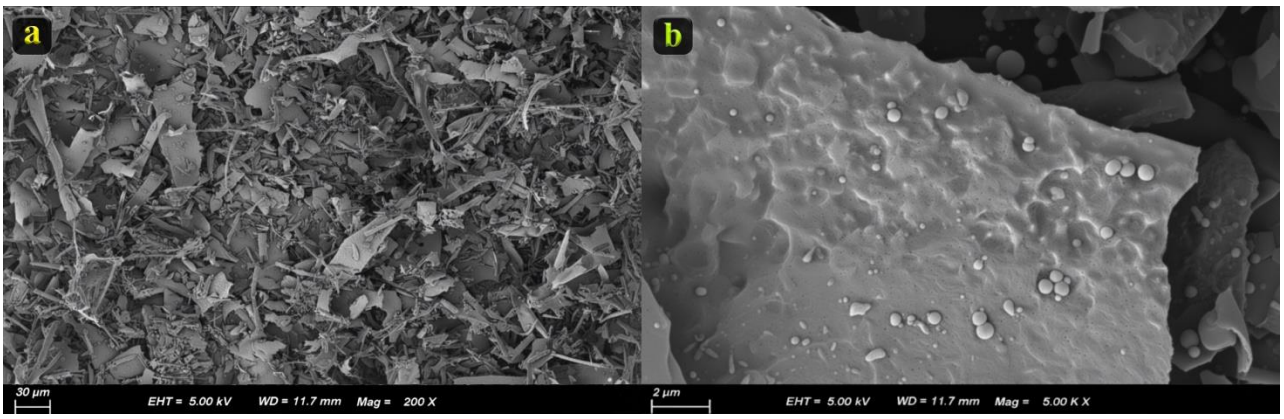
نسبت مونوساکارید بسیار متفاوت بودند (Meng, Cheng, Han, Chen, & Wang, 2017; Xu *et al*., 2019). اگزوپلی‌ساکارید *L. rhamnosus* از هفت قند مانوز، گلوکز، گالاکتوز، رامنوز، زایلوز، فوکوز و آرابینوز تشکیل شده بود (Hu *et al*., 2021). EPS تولید شده توسط *L. rhamnosus* B6 شامل رامنوز، گلوکز و گالاکتوز بود (Han *et al*., 2014). در برخی موارد، ترکیب قند EPS تولیدشده توسط *L. rhamnosus* C83 مستقل از شرایط کشت، مانند منبع کربن، دما، pH، O_2 و مراحل رشد بود (Gamar-Nourani, Blondeau, & Simonet, 1998). اگزوپلی‌ساکارید *L. rhamnosus* که با منابع مختلف کربن کشت شده بود، توزیع مونوساکارید یکسانی داشت، اما تفاوت‌هایی در جرم مولکولی مشاهده گردید (Polak-Berecka *et al*., 2015). در شرایط خاص، مشخص شده است که ترکیب مونوساکارید EPS به نوع منبع کربن مورد استفاده در محیط کشت بستگی دارد. توزیع قندها در EPS مربوط به *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* که روی فروکتوز رشد کرده بود، گلوکز و گالاکتوز با نسبت ۱: ۲/۴ بود، در حالی‌که ترکیب قندها با تغییر منبع کربوهیدرات به فروکتوز به گلوکز، گالاکتوز و رامنوز با نسبت ۱: ۷: ۰/۸ تغییر کرد (Grobben, Smith, Sikkema, & de Bont, 1996). از آنجایی‌که عوامل زیادی بر ترکیب و نسبت مونوساکارید تأثیر می‌گذارند، مقایسه قندهای موجود در EPS تولید شده توسط LAB در شرایط مختلف انکوباسیون، پیچیده است. نکته مهم این است که تفاوت‌های موجود در طیف، تغییرات کیفی در ساختار EPS را منعکس می‌کنند، ولی تفاوت در کمیت کلی EPS تولیدشده را نشان نمی‌دهند.

مطالعه NMR اگزوپلی‌ساکارید مورد مطالعه

طیف H NMR می‌تواند برای تجزیه و تحلیل پیکربندی پیوند گلیکوزیدی پلی‌ساکاریدها استفاده شود، که طیف H NMR مربوط به EPS باکتری مورد مطالعه در شکل ۲-c نشان داده شده است. سیگنال پروتون واحد قندی پلی‌ساکاریدها عموماً در محدوده ppm ۵/۵– ۳/۱ متمرکز است. با این حال، ناحیه ppm ۴/۵– ۳/۱ ناحیه پروتون حلقه است و سیگنال‌ها به‌طور جدی همپوشانی دارند و دستیابی به اطلاعات دقیق ساختار را دشوار می‌کنند. بنابراین، ناحیه آنومری ppm ۵/۵– ۴/۵ به‌طور گسترده برای تمایز پروتون‌های آنومری باقیمانده‌های قند استفاده می‌شود. به‌طور کلی، جابجایی‌های شیمیایی پروتون آنومری در ناحیه ppm ۵ – ۴/۵ (گلیکوزید نوع β) و ppm ۵/۵ – ۵ (گلیکوزید نوع α) برای تجزیه و تحلیل پیکربندی پیوند گلیکوزیدی استفاده می‌شود (Zehir Şentürk, Dertli, Erten, & Şimşek, 2020). در مطالعه حاضر همانطور که شکل ۲-c نشان می‌دهد، جابجایی شیمیایی پروتون‌های آنومری در طیف H NMR مربوط به EPS به‌ترتیب در مقادیر ppm ۵/۱۲۷۳، ۴/۹۳۹۳ ، ۴/۶۳۷۸ ، ۴/۵۷۰۸ و ۴/۵۵۹۷ مشاهده شد که نشان می‌دهد EPS استخراج شده از باکتری *لاکتی‌کازئی‌باسیلوس رامنوسوس* شامل دو باقیمانده قند با پیکربندی α و سه باقیمانده قند با پیکربندی β است. در مطالعه حاضر هیچ سیگنال پروتونی واضحی در غلظت ppm ۵/۴۰ وجود نداشت، که نشان می‌دهد EPS از پیرانوز تشکیل شده است (Meng, Cheng, Han, Chen, & Wang, 2017). این نتایج با تجزیه و تحلیل طیف‌های FTIR مطابقت داشت.

آنالیز SEM

SEM بطور گسترده برای توصیف مورفولوژی سطح و ریزساختار اگزوپلی‌ساکاریدها استفاده می‌شود. تصاویر SEM از EPS باکتری مورد مطالعه در بزرگنمایی مختلف در شکل ۳ نشان داده شده است.



شکل ۳- میکروساختار و مورفولوژی سطح EPS. (a) بزرگنمایی × ۲۰۰ و (b) بزرگنمایی × ۵۰۰۰

Fig. 3. The microstructure and surface morphology of EPS observed by SEM. (a) 200 × and (b) 5000 ×

در بزرگنمایی ۲۰۰ (شکل ۳-a) وجود یک سطح نامنظم دیده شد که با ساختار لایه‌ای پراکنده و ذرات کروی با اندازه‌ها و شکل‌های مختلف مشخص گردید. تحت بزرگنمایی‌های بالاتر (شکل ۳-b) لایه‌های منفرد سطح متخلخل و درشتی را نشان دادند و ذرات با سطح صاف قابل تشخیص‌تر شدند. در مطالعه سیهام و همکاران (Sihame, Zakaria, Khalil, & Rajae, 2024) از EPS-P14 *L. rhamnosus* P14 ظاهری لوله‌ای و ورقه‌ای نامنظم نشان داد و EPS از *L. reuteri* E81 ساختار شاخه‌دار را نشان داد (İspirli, Sagdic, Yılmaz, & Dertli, 2019). ظاهر و شکل‌های مختلف EPSs به احتمال زیاد به‌دلیل روش‌های مختلف فرآیند استخراج، درجه پلیمریزاسیون در طول فرآیند خشک‌کردن و ترکیبات و ساختارهای EPSs است (Sihame *et al.*, 2024). علاوه بر این، خواص و کاربردهای متنوع EPSs به مورفولوژی و ریزساختارهای آنها بستگی دارد. سطح ناهموار ممکن است سطح ویژه را افزایش دهد تا به حلالیت خوب در آب کمک کند. ساختار شبکه‌مانند ممکن است ویسکوزیته و ظرفیت نگهداری آب را بهبود بخشد و ورق‌های مشابه که با سطوح صاف پوشانده شده‌اند، می‌توانند برای ساخت بسته‌بندی و فیلم پلاستیکی استفاده شوند (J. Wang, Zhao, Tian, *et al.*, 2015; J. Wang, Zhao, Yang, *et al.*, 2015).

خصوصیات زیست‌فعال EPS

ویژگی آنتی‌اکسیدانی EPS

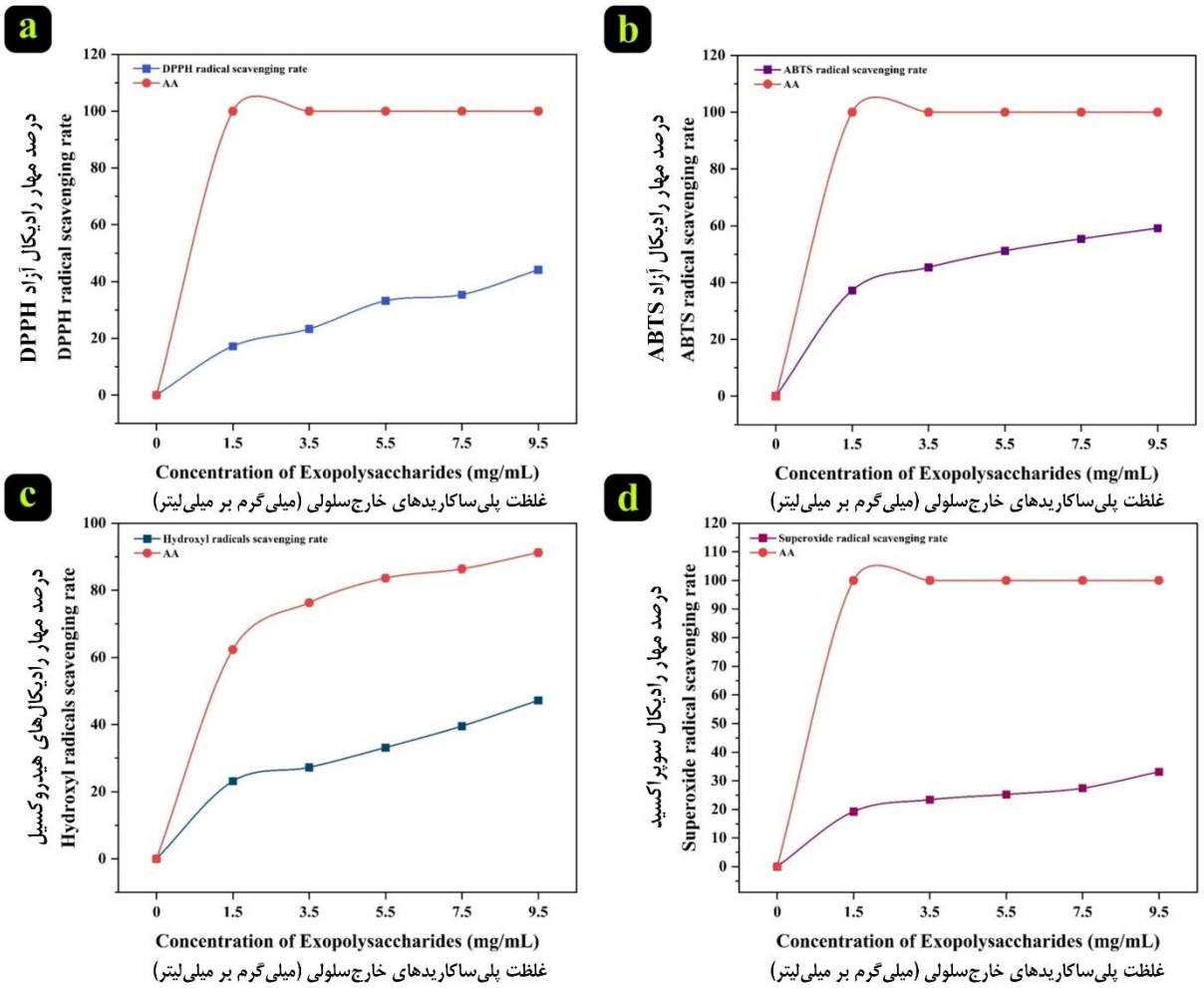
فعالیت آنتی‌اکسیدانی EPS با ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد، میزان مهار رادیکال های سوپراکسید، میزان مهار رادیکال‌های ABTS و میزان مهار رادیکال‌های DPPH ارزیابی شد. برای ارزیابی توانایی مهار رادیکال‌های آزاد، از رادیکال آزاد DPPH و رادیکال هیدروکسیل استفاده شد، زیرا آنها فعال‌ترین رادیکال‌های آزاد تولیدشده توسط متابولیسم سلولی هستند (Guan *et al.*, 2025). نتایج نشان داد با افزایش غلظت EPS میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن افزایش یافت. با افزایش غلظت EPS در محدوده ۱/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ۹/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، میزان حذف DPPH از ۱۶/۲۴ درصد به ۴۶/۹۶ درصد افزایش یافت (شکل ۴-a). تمام نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی EPS با اسیدآسکوربیک، به‌عنوان کنترل مثبت، مقایسه شد. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۶۱/۲ درصد از طریق مهار رادیکال‌های ABTS بدست آمد (شکل ۴-b).

وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2014) دریافتند که فعالیت‌های مهار DPPH توسط r-EPS1 و r-EPS2 به‌ترتیب ۲۷/۹۸ درصد و ۴۸/۴۳ درصد در غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. سیهام و همکاران (Sihame *et al.*, 2024) گزارش دادند که EPS-P14 در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، میزان مهار ۸۳/۵ درصد را نشان داد. تفاوت میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط EPS جداشده از گونه‌های مختلف باکتری، عمدتاً به ترکیبات شیمیایی مختلف EPS بستگی دارد (Wang *et al.*, 2014). میزان مهار DPPH توسط EPS از *L. rhamnosus* ZFM231 و EPS-P14 از *L. rhamnosus* ZFM231 احتمالاً به‌دلیل تعداد زیاد گروه‌های هیدروکسیل آنها بوده است که می‌توانند الکترون‌ها را برای تثبیت رادیکال آزاد اهدا کنند (Sihame *et al.*, 2024). در مطالعه حاضر، فعالیت مهارکنندگی DPPH اگزوپلی‌ساکارید باکتری ممکن است ناشی از گروه‌های هیدروکسیل آن باشد که در طیف FTIR نشان داده شده است. علاوه بر این، ناخالصی‌هایی مانند پروتئین‌ها و رنگدانه‌های موجود در EPS نیز می‌توانند بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH تأثیر بگذارند (Xu *et al.*, 2019). هیدروکسیل فعال‌ترین رادیکال آزاد است که می‌تواند از طریق غشای سلولی به انواع مولکول‌ها در بدن آسیب برساند (Wang *et al.*, 2015b). میزان مهار رادیکال هیدروکسیل توسط EPS از ۲۳/۵ درصد به ۴۷/۲ درصد افزایش یافت، زیرا غلظت EPS از ۱/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ۹/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر افزایش یافت. گزارش شده است که EPS ممکن است با چلاته‌کردن فلزات، تشکیل رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل را مهار یا از بین ببرد (Shah *et al.*, 2024). علاوه بر این، توانایی EPSs در حذف رادیکال‌های هیدروکسیل به تعداد گروه‌های هیدروکسیل الکل یا فنل حمل شده توسط EPSs نیز مربوط می‌شود (Xu *et al.*, 2019).

سرکوب فعالیت آلفا-آمیلاز EPS

مطالعات متعدد در مورد دیابت نشان داده‌اند که مهار α-آمیلاز مؤثرترین رویکرد برای درمان دیابت است که می‌تواند تجزیه کربوهیدرات‌ها/ نشاسته را کاهش دهد و در نتیجه سطح گلوکز را در بدن کم کند. با نظارت بر فعالیت آنزیم‌های آلفا-گلوکوزیداز و آلفا-آمیلاز، می‌توان مهار تولید گلوکز و کاهش پیشرونده جذب گلوکز خون (هیپرگلیسمیک) پس از غذا در روده کوچک را پیش‌بینی کرد (Cho, Han, & You, 2011). در این مطالعه، با استفاده از آکاربوز به‌عنوان کنترل مثبت، فعالیت مهار α-آمیلاز EPS مقایسه شد. همانطور که در شکل ۵-a نشان داده شده است، EPS اثر مهار امیدوارکننده و وابسته به دوز بر α-آمیلاز نشان داد. میزان مهار EPS بر فعالیت α-آمیلاز با افزایش غلظت از ۱/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ۹/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به آرامی افزایش یافت. میزان مهار در ۹/۵ میلی‌گرم در

میلی‌لیتر به ۶۴/۱۴ درصد رسید که کمتر از آکاربوز در همان غلظت بود.



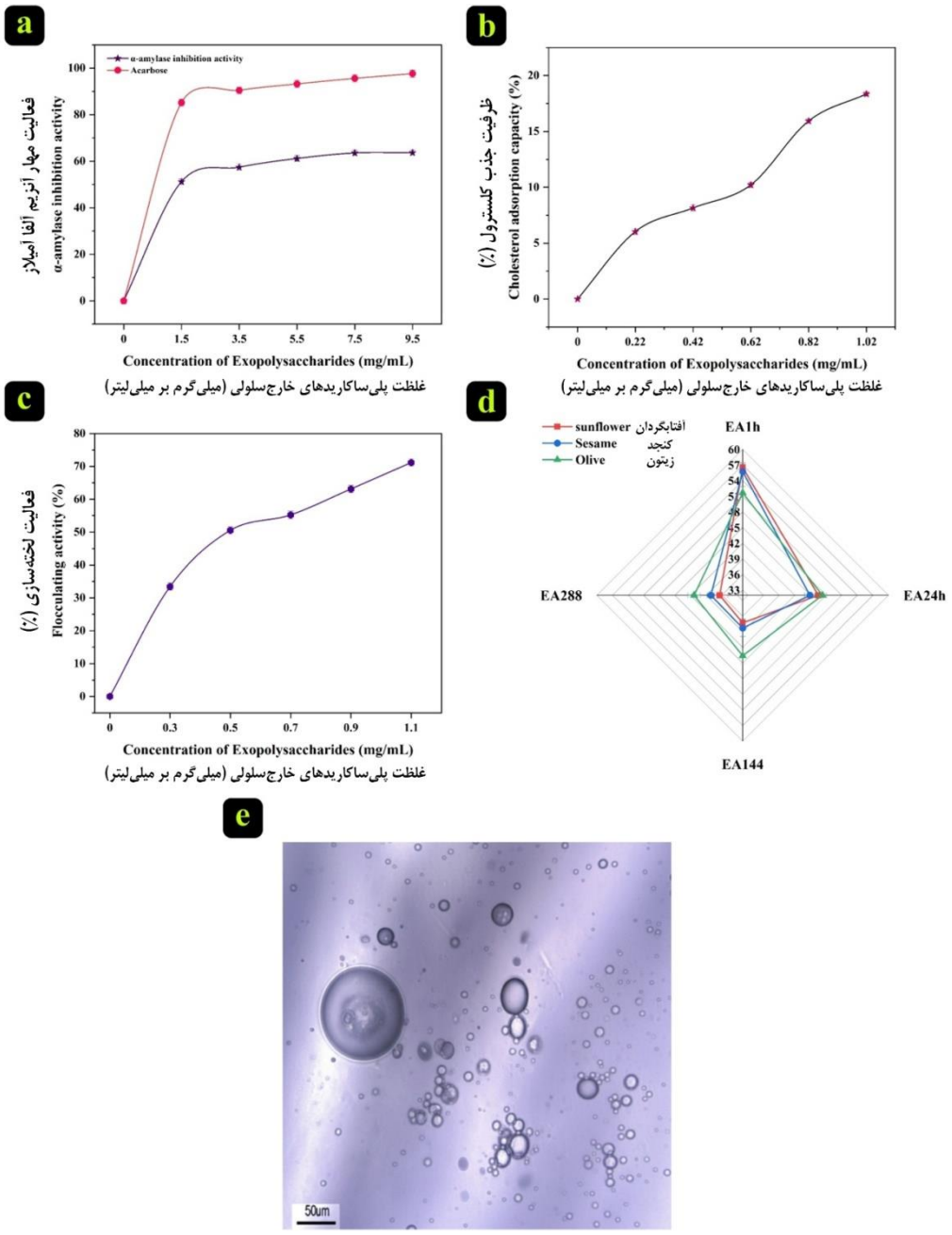
شکل ٤- فعالیت مهارکنندگی EPS تولیدشده از باکتری در غلظت‌های مختلف بر رادیکال DPPH (a)، ABTS (b)، هیدروکسیل (c) و سوپراکسید (d)

Fig. 4. Inhibitory activity of exopolysaccharide produced from bacteria at different concentrations on DPPH (a), ABTS (b), hydroxyl (c) and superoxide (d)

این داده‌ها نشان می‌دهد که فعالیت مهاری α-آمیلاز EPS اهمیت بیولوژیکی مهمی در پیشگیری و مدیریت دیابت دارد. زهانگ و همکاران (Zhang *et al*., 2023) دریافتند که EPSs با وزن مولکولی کم، میزان اسیدکربوکسیلیک بالا و پیوند α-گلیکوزیدی، فعالیت مهارکنندگی بالایی بر α-آمیلاز نشان می‌دهند. بردبار و همکاران (Bordbar, Omidiyan, & Hosseinzadeh, 2005) دریافتند که گروه عاملی COOH موجود در EPS می‌تواند با اتصال به اسیدهای‌آمینه خاص α-آمیلاز، فعالیت آن را مهار کند.

اما، نتایج مطالعه حاضر امکان تعیین مکانیسم دقیق این اثر را بیان نمی‌کند. از یک سو، گروه‌های قطبی موجود در ساختار پلی‌ساکارید، از جمله هیدروکسیل و کربوکسیل، ممکن است از طریق برهم‌کنش‌های غیرکووالانسی مانند پیوندهای هیدروژنی با آنزیم عمل کنند. در برخی پلی‌ساکاریدهای اسیدی، تشکیل کمپلکس پلی‌ساکارید-α-آمیلاز و مشارکت پیوندهای هیدروژنی با استفاده از آزمون‌های فلورسانس و پراکندگی نور گزارش شده است. همچنین، بخش‌هایی از زنجیره پلی‌ساکاریدی می‌توانند با اتصال به آنزیم، به‌صورت بالقوه با بستر پلی‌ساکارید رقابت کنند (Wu *et al*., 2017; Yin *et al*., 2020). افزایش ویسکوزیته محیط در حضور پلی‌ساکاریدهای با وزن مولکولی بالا می‌تواند تا حدی انتقال جرم، اختلاط و تماس مؤثر آنزیم با بستر را محدود کند. بااین‌حال، اثر ویسکوزیته به شرایط اختلاط و جریان محیط واکنش وابسته است و لزوماً مکانیسم اصلی کاهش هیدرولیز محسوب

نمی‌شود. در مطالعات مختلف، افزایش قابل‌توجه ویسکوزیته، هیدرولیز نشاسته و انتقال گلوکز را کاهش داد، اما افزایش شدت اختلاط توانست بخش زیادی از این اثر را جبران کند. همچنین، مقایسه فیبرهای محلول در شرایط ویسکوزیته یکسان نشان داد که تغییرات ویسکوزیته با سینتیک هیدرولیز ارتباط دارد (Dhital, Dolan, Stokes, & Gidley, 2014; Zhang *et al*., 2021).



شکل ۵- خصوصیات زیست‌فعال EPS تولیدشده توسط باکتری. (a): فعالیت مهارکنندگی آنزیم آلفاآمیلاز، (b): ظرفیت جذب کلسترول، (c): فعالیت انعقادکنندگی یا لخته‌سازی در غلظت‌های مختلف، (d): شاخص امولسیون EPS در روغن‌های مختلف طی زمان نگهداری و (e): تصاویر میکروسکوپی قطرات امولسیون

Fig. 5. Bioactive and functional properties of the bacterial EPS: (a) α-amylase inhibitory activity, (b) cholesterol-binding capacity, (c) flocculating activity at different EPS concentrations, (d) emulsification index in different oils during storage and (e) microscopic images of emulsion droplets

ظرفیت جذب کلسترول EPS

اثر EPS در کاهش کلسترول به‌صورت آزمایشگاهی، که در شکل ۵-b نشان داده شده است، قادر به کاهش غلظت کلسترول از طریق جذب بود و این اثر با افزایش غلظت EPS از ۰/۲۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ۱/۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر افزایش یافت. در ۱/۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، توانایی جذب کلسترول EPS، ۱۸/۳۵ درصد بود. اگرچه مطالعات برون‌تنی و درون‌تنی نشان داده‌اند که EPSs حاصل از LAB پتانسیل کاهش سطح کلسترول را دارند، اما شواهد مستقیم کمتری در مورد مکانیسم کاهش کلسترول توسط EPSs وجود دارد. با این حال، گزارش شده است که EPSs می‌توانند بسته به ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ذاتی خود، مانند ویسکوزیته، حلالیت، بار، وزن مولکولی، ترکیب قند و مشتقات بر هموستاز کلسترول تأثیر بگذارند (Silva *et al*., 2021). پیوندهای کربوکسیل، هیدروکسیل و گلیکوزید موجود در EPS ممکن است در جذب کلسترول نقش داشته باشند (Tamargo, Martin, Del Hierro, Moreno-Arribas, & Muñoz, 2020).

فعالیت انعقادکنندگی EPS

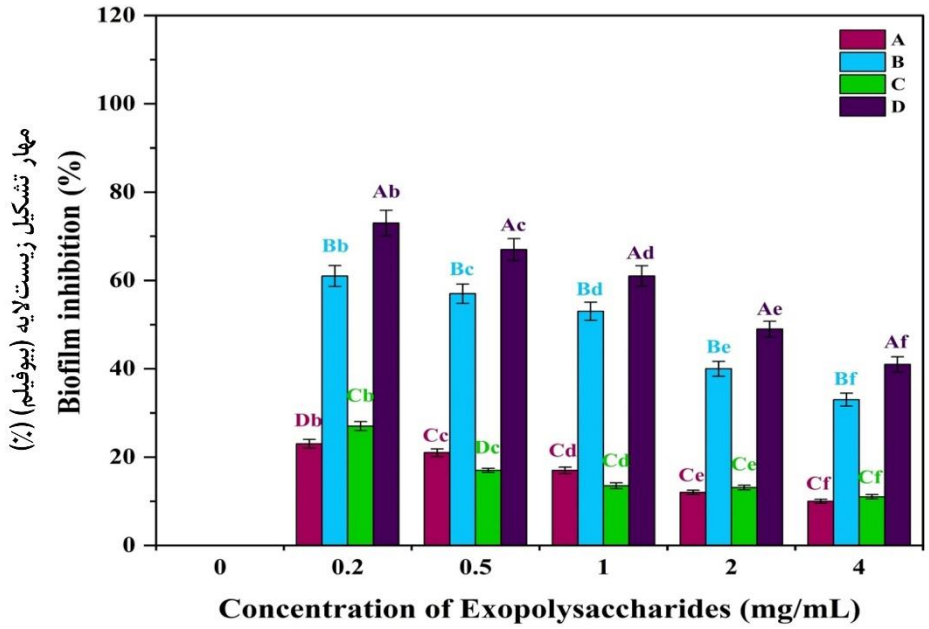
گرچه انعقادکننده‌های شیمیایی به دلیل فعالیت انعقادکنندگی مؤثر و هزینه کم بطور گسترده مورد استفاده قرار گرفته‌اند، اما دارای مونومرهای نوروتوکسین عصبی و سرطان‌زا هستند و استفاده از آنها محدود شده است. در مقابل، انعقادکننده‌های زیستی که توسط میکروارگانیسم‌ها در طول رشدشان تولید می‌شوند، پلیمرهای بی‌خطر و زیست‌تخریب‌پذیر هستند. EPSs حاوی گروه‌های کربوکسیل هستند که به‌عنوان محل اتصال برای کاتیون‌های دوظرفیتی مانند Ca^{2+} عمل می‌کنند، که به راحتی توسط زغال فعال جذب می‌شوند تا با EPS کمپلکس تشکیل دهند (Rudel & Morris, 1973). فعالیت انعقادکنندگی EPS *لاکتی‌کازئی‌باسیلوس رامنوسوس* با افزایش غلظت EPS از ۰/۳ تا ۱/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر روند افزایشی نشان داد (شکل ۵-c). برای EPS مطالعه حاضر، بالاترین فعالیت انعقادکنندگی در ۱/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر یافت شد که ۷۱/۱۵ درصد بدست آمد. در مطالعه راجوکا و همکاران (Rajoka *et al*., 2018) فعالیت انعقادکنندگی EPSs سویه‌های مختلف *L. rhamnosus* مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه آنها، برای همه نمونه‌های EPS، بالاترین فعالیت انعقادکنندگی در ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. در میان نمونه‌های مختلف EPS، EPS111 و EPS113 فعالیت نسبتاً بسیار بالاتر۸۷ و ۸۸ درصد در مقایسه با سایر نمونه‌ها، از ۶۵ درصد برای EPS117 تا ۷۸ درصد برای EPS115 نشان داده شد. همانطور که در شکل ۵-c نشان داده شده است، قابلیت انعقادکنندگی با افزایش غلظت EPS افزایش یافت. یک انعقادکننده با وزن مولکولی بالا معمولاً به اندازه کافی طویل است و تعداد کافی از گروه‌های عاملی آزاد دارد که می‌توانند به‌عنوان پل برای کنار هم قراردادن بسیاری از ذرات معلق عمل کنند و از این‌رو باعث ایجاد اندازه انعقاد بزرگتر در واکنش انعقاد می‌شوند (Kim *et al*., 2007).

فعالیت امولسیونی EPS

یک امولسیفایر کارآمد باید توانایی حفظ حداقل ۵۰ درصد از حجم امولسیون اولیه را تا ۲۴ ساعت پس از تشکیل آن داشته باشد (Willumsen & Karlson, 1996). همانطور که در شکل ۵-d نشان داده شده است، EPS سویه آزمایش شده، شاخص‌های امولسیونی در روغن زیتون از ۵۱/۶۶ تا ۳۳/۴۱ درصد کاهش یافت و کاهش تدریجی به سمت ۲۴ ساعت، ۱۴۴ ساعت و ۲۸۸ ساعت را نشان داد. پس از ۲۸۸ ساعت، هیچ اختلاف معنی‌داری در شاخص امولسیون EPS در روغن‌های مختلف مشاهده نشد ($p>0/05$). همچنین روند کاهش شاخص امولسیونی طی زمان در سایر EPSs باکتریایی نیز گزارش شده است (Devi, Kavitake, & Shetty, 2016). نتایج حاضر توان EPS را در تشکیل و حفظ امولسیون در شرایط مورد آزمون نشان داد. با این حال، به‌دلیل استفاده‌نشدن از یک امولسیفایر استاندارد به‌عنوان کنترل مثبت، مقایسه مستقیم کارایی EPS با امولسیفایرهای تجاری امکان‌پذیر نیست. شکل ۵-e عکس میکروسکوپی از امولسیون EPS باکتری *لاکتی‌کازئی‌باسیلوس رامنوسوس* با قطرات بزرگ و کوچک را نشان می‌دهد. قطرات کوچک با تراکم بالا و در نهایت تشکیل قطرات بزرگ مشاهده شدند. اندازه قطرات امولسیون به‌عنوان یک پارامتر مهم در نظر گرفته می‌شود که پایداری فیزیکی را تعیین می‌کند، مانند میزان خامه‌ای‌شدن و انعقادکنندگی امولسیون‌ها، و وجود قطرات کوچک که منجر به امولسیون‌های پایدارتر می‌شوند (Horozov, Binks, & Gottschalk-Gaudig, 2007). روند مشابهی نیز برای سایر EPSs مشاهده شد (Devi *et al*., 2016).

مهار تشکیل بیوفیلم توسط عوامل بیماری‌زا

عوامل زیادی ممکن است بر فعالیت ضدمیکروبی EPS باکتری تأثیر بگذارند، از جمله ویژگی آبدوستی/ آبگریزی، ظرفیت چلاته‌سازی، گروه‌های عاملی مختلف (مانند گروه‌های هیدروکسیل، کربونیل و فسفات) EPS و انواع میکروب‌ها (Zhang *et al*., 2025).



شکل ٦- تأثیر EPS بر تشکیل بیوفیلم (A) *Escherichia coli*، (B) *Salmonella typhimurium* ، (C) *Listeria monocytogenes* و (D) *Staphylococcus aureus* در میکروپلیت

نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شد. حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گونه‌های باکتری در هر غلظت مشخص EPS و حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های متفاوت EPS در هر گونه باکتری است (p<۰/۰۵).

Fig. 6. Effect of EPS on biofilm formation of *E. coli* (A), *Salmonella typhimurium* (B), *Listeria monocytogenes* (C) and (D) *Staphylococcus aureus* in microplates

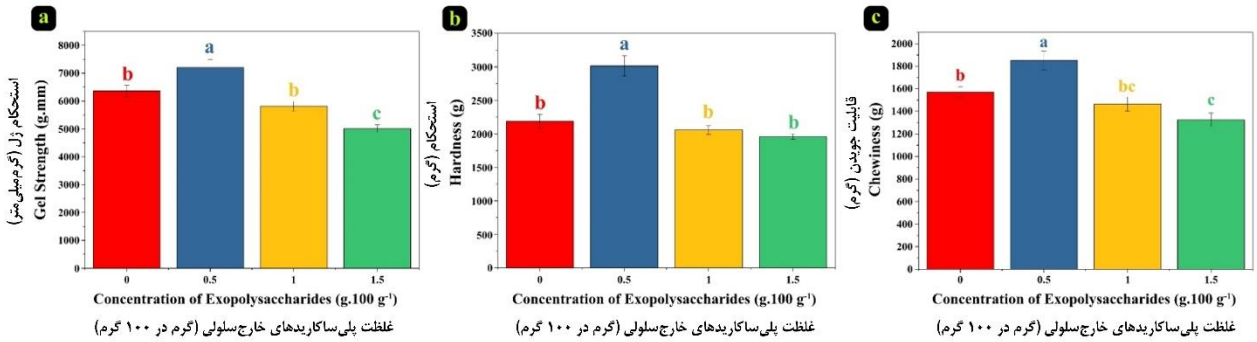
Results are presented as mean ± standard deviation. All treatments are significantly different at the p<0.05 level.

همانطور که در شکل ۶ نشان داده شده است، اثر مهارکنندگی EPS بدست آمده از *L. rhamnosus* برای تشکیل بیوفیلم توسط همه میکروب‌های بیماری‌زا وابسته به غلظت بود. افزایش مهار بیوفیلم زمانی مشاهده شد که غلظت EPS از ۰/۲ به ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر افزایش یافت. در غلظت ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، EPS بیشترین اثر مهار را بر *E. coli* با ۲۳/۴ درصد، *L. monocytogenes* با ۲۷ درصد و *S. aureus* با ۷۳ درصد و *S. typhimurium* با ۶۱ درصد نشان داد. گزارش شد که EPSs تجمع اولیه خودبه‌خودی و اتصال سلولی سلول‌های باکتریایی را یا از طریق تضعیف تغییرات سطح سلول یا با کاهش برهمکنش سلول با سطح سلول مهار می‌کنند (Kanmani *et al.*, 2013).

تأثیر اگزوپلی‌ساکارید بر خصوصیات بافت سوریمی

شکل ۷ ویژگی‌های بافت ژل سوریمی تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف EPS باکتری را نشان می‌دهد. افزودن EPS اثر غیرخطی بر قدرت ژل، سختی و جویدنی نمونه‌ها داشت. به‌طوری‌که بیشترین مقادیر این شاخص‌ها در غلظت ۰/۵ گرم در ۱۰۰ گرم مشاهده شد و افزایش بیشتر غلظت EPS موجب کاهش پارامترهای موردمطالعه گردید. تفاوت‌های مشاهده‌شده میان تیمارها از نظر آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۵).

در مطالعه زهانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2025) سه نوع پلی‌ساکارید κ-carrageenan، ι-carrageenan و gellan gum در ژل سوریمی ماهی ماکرل بکار رفتند. با ترکیب پلی‌ساکاریدها در سوریمی، بهبود ۲۴/۹ تا ۱۰۳/۴ درصدی در خواص ژل و بافت نشان دادند که در این میان پلی‌ساکاریدهای کاراگینان اثرات بهبود بیشتری نسبت به gellan gum داشتند. کاراگینان یک پلی‌ساکارید آنیونی قوی با چگالی بالا است که منجر به رفتار قدرت ژل برتر در سوریمی می‌شود. معمولاً پروتئین‌های میوفیبریل اجزای اصلی مرتبط با فرآیند ژل‌شدن در سوریمی خام هستند (Yan, Liu, Sang, & Tian, 2024).



شکل ۷- خصوصیات ژل سوریمی تحت تاثیر غلظت‌های مختلف EPS باکتری. (a) قدرت ژل، (b) سختی ژل و (c) قدرت جویدنی ژل

Fig. 7. Surimi gel properties affected by different concentrations of bacterial exopolysaccharide. (a) Gel strength, (b) Gel hardness and (c) Gel chewiness

تحقیقات چن و همکاران (Chen *et al.*, 2020) نشان داد که افزودن ۰/۱ تا ۰/۴ درصد کردلان، کاراگینان یا ژلاتین ظاهراً می‌تواند قدرت ژل سوریمی کپور نقره‌ای را ۵۰/۲- ۸/۷ درصد افزایش دهد که ممکن است به‌دلیل انبساط و جذب آب پلی‌ساکاریدها طی حرارت‌دهی باشد و در نتیجه ساختار شبکه‌ای پروتئین‌های میوفیبریل در ژل‌های سوریمی را با روش خنک‌سازی پر کند. همانطور که گزارش شده است، gellan gum به احتمال زیاد در طول فرآیند تثبیت یا حرارت دادن، پلیمر تشکیل می‌دهد و با پروتئین‌های سوریمی تجمع می‌یابد و در نتیجه ماتریس ژل را تقویت می‌کند (Petcharat & Benjakul, 2018).

تأثیر EPS بر رئولوژی دینامیک سوریمی

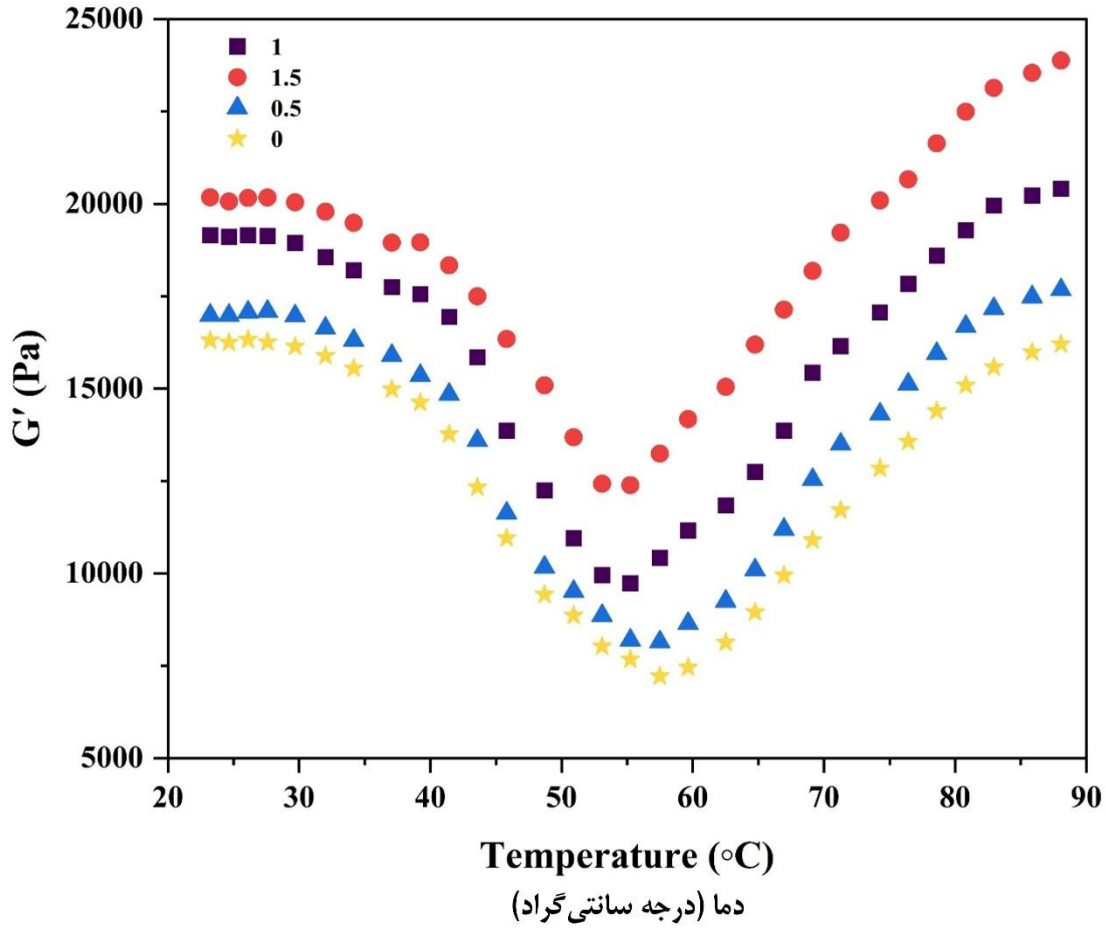
تغییرات ویسکوالاستیسیته در طول فرآیند از سل به ژل نمونه‌های سوریمی را می‌توان با رئولوژی دینامیکی تشخیص داد (Xu, Yu, Xue, & Xue, 2023). مدول های[1] نگهداری (G′) یک شاخص حیاتی برای توصیف فرآیندهای بازشدن و تجمع پروتئین‌های سوریمی در طول فرآیند گرما است (Huang *et al.*, 2024). همانطور که در شکل ۸ نشان داده شده است، نمونه‌های ژل سوریمی حاوی غلظت‌های مختلف EPS الگوهای ژل‌شدن مشابهی را نشان دادند که با سه مرحله تشکیل ژل[2]، تضعیف ژل [3] و بهبود ژل [4] مشخص می‌شود. در طول فاز گرمایش اولیه، G′ به آرامی افزایش یافت و در حدود ۳۰ درجه سانتی‌گراد به اوج خود رسید، که عمدتاً به‌دلیل تجمع اکتومیوزین تا حدی باز شده است و در نتیجه یک شبکه ژل اولیه از طریق پیوندهای هیدروژنی تشکیل می‌شود (Huang *et al.*, 2024). پس از آن، G′ با افزایش دما تا حدود ۵۲ درجه سانتی‌گراد شروع به کاهش کرد که به شکستن پیوندهای هیدروژنی و تخریب میوزین ناشی از پروتئازهای درون‌زا فعال‌شده در اثر گرما نسبت داده می‌شود (Zhang *et al.*, 2013). با افزایش دما تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد، G' افزایش بیشتری نشان داد که نشان‌دهنده تشکیل یک ساختار ژل پایدار است (Huang *et al.*, 2024).

پس از افزودن EPS، G' طی مرحله حرارت‌دهی به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از ژل بدون EPS بود (شکل ۸). به‌طور دقیق، چین‌های افزایشی گروه‌های تیمارشده با EPS در مقایسه با ژل بدون اگزوپلی‌ساکارید در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب ۱/۰۷، ۱/۰۷ و ۱/۰۴ بود که نشان‌دهنده تأثیر تقویت‌کننده پلی‌ساکاریدها بر تقویت تشکیل ساختار شبکه در طول فرآیند ژل‌شدن است. به‌طور مشابه، زهانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2023) و زو و همکاران (Zhu *et al.*, 2023) بهبود ژل سوریمی را با تیمارهای گلوکومانان کونژاک و کوردلان بررسی کردند، که در آن G' پس از افزودن پلی‌ساکارید به‌طور قابل‌توجهی بالاتر بود، که نشان‌دهنده افزایش پایداری حرارتی پروتئین‌های سوریمی بهبودیافته توسط گلوکومانان کردلان و کونژاک است. بنابراین، پیشنهاد می‌شود که EPSs می‌توانند دناتوراسیون و تجمع مناسب پروتئین‌های سوریمی را افزایش دهند و منجر به افزایش پایداری حرارتی و الاستیسیته نمونه‌های مبتنی بر ژل سوریمی ماهی شوند.

تأثیر EPS بر میکروساختار سوریمی ماهی

عملکرد ژل سوریمی ارتباط نزدیکی با ریزساختارهای داخلی آنها دارد و می‌توان آن را با cryo-SEM تشخیص داد، که می‌تواند حالت واقعی نمونه‌ها را تا حد امکان در سطح زیرمیکرون حفظ کند.

1- modulus
2- gel formation
3- gel weakening
4- gel enhancement

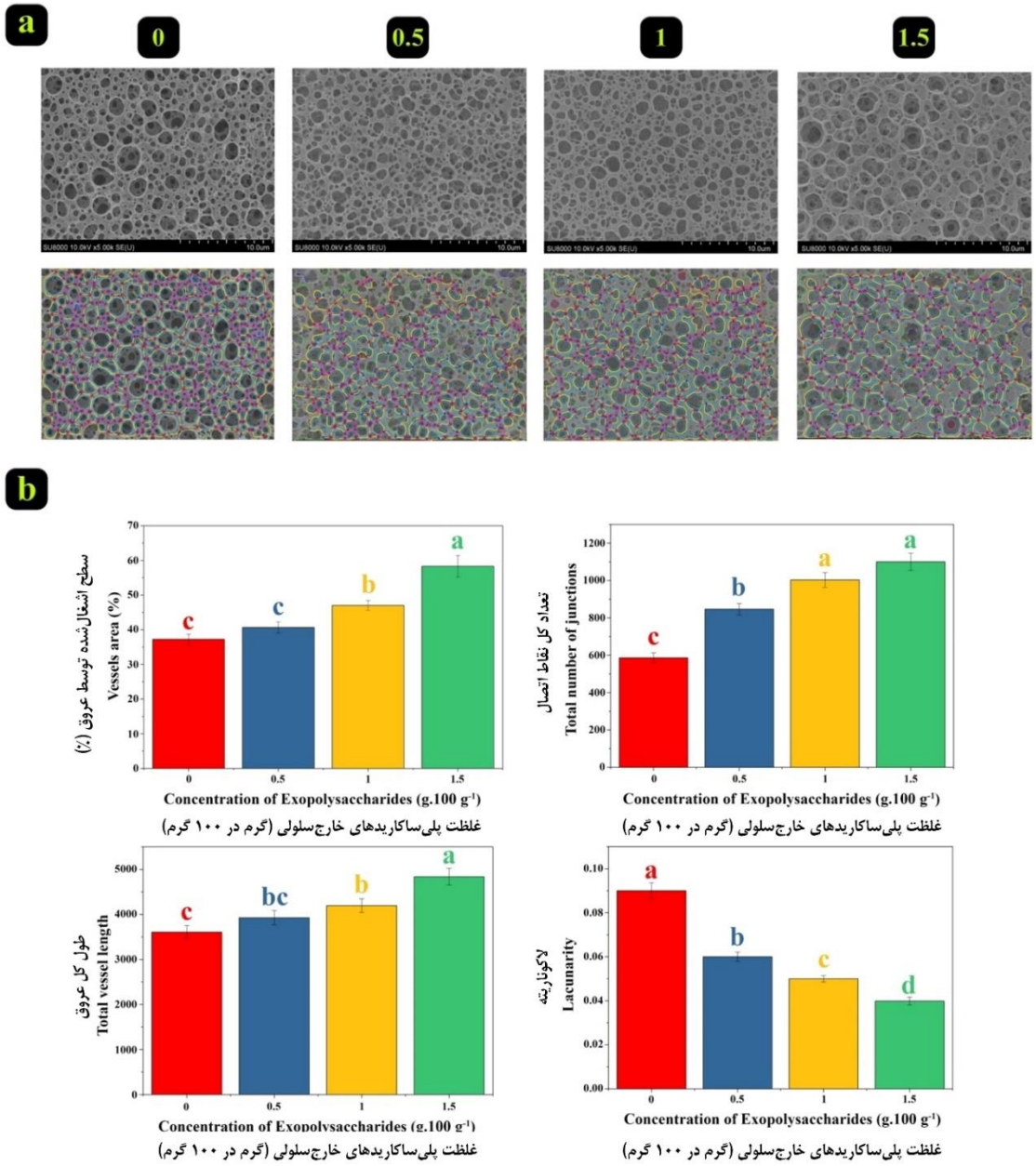


شکل ۸- ویژگی‌های پایداری حرارتی ژل سوریمی بهبودیافته توسط غلظت‌های متفاوت EPS

Fig. 8. Thermal stability properties of surimi gel improved by different concentrations of EPS

همانطور که در شکل ۹ نشان داده شده است، سوریمی یک شبکه ژل درشت و نامنظم با سوراخ‌های غیریکنواخت قابل‌توجه مرتبط با برهمکنش مختل‌شده پروتئین‌های میوفیبریلار تشکیل داد که منجر به کاهش استحکام ژل شد. گروه‌های تیمارشده با EPS سبب بهبود قابل‌توجهی در فشردگی شبکه ژل با توزیع منافذ متراکم و همگن شدند. این نتایج قطعاً می‌تواند خواص عالی ژل سوریمی بهبودیافته با اگزوپلی‌ساکارید باکتری را توضیح دهد (شکل ۹-a) که در آن یک شبکه ژلی فشرده و متراکم عموماً به بهبود کیفیت ژل کمک می‌کند (Zhu *et al*., 2023). در مطالعه‌ای نشان داده شد که افزودن ۶ درصد gellan gum می‌تواند سبب تشکیل شبکه ژل سوریمی ماهی اسنپر چشم‌بزرگ به‌صورت متراکم‌تر شود، که این امر به برهمکنش یونی در بار منفی گروه‌های کربوکسیل در gellan gum و تکه‌های مثبت پروتئین‌های میوفیبریلار نسبت داده می‌شود (Petcharat & Benjakul, 2018). مطالعه هانگ و همکاران (Huang *et al*., 2024) ثابت کرد که ژل‌های سوریمی ترکیبی متشکل از اینولین و کاراگینان، یک چارچوب فشرده و کاملاً تجمع‌یافته نشان می‌دهند که احتمالاً به‌دلیل تثبیت رطوبت و کاهش تشکیل کانال آب در شبکه ژل ناشی از اینولین و کاراگینان است. شاخص‌های کوانتیزه شده، مانند درصد مساحت رگ، تعداد کل اتصالات، طول کل رگ و شکاف مرتبط با ویژگی‌های شبکه سوریمی بهبودیافته توسط غلظت‌های مختلف EPS در شکل ۹-b نشان داده شده‌اند. تغییرات در پارامترهای کوانتیزه شده می‌تواند به‌طور مؤثر شبکه‌های ژل، مانند نسبت مساحت ساختار، اندازه منافذ و پیوستگی ژل را منعکس کند (Bernklau, Lucas, Jekle, & Becker, 2016). نمونه بدون EPS، شبکه‌های نسبتاً سستی با حفره‌های بزرگ را نشان داد که کمترین درصد مساحت رگ، تعداد کل اتصالات و طول کل رگ و بیشترین شکاف را نشان داد. با افزودن

EPS درصد مساحت رگ، تعداد کل اتصالات و طول کل رگ سوریمی به‌ترتیب به میزان ۱۸–۱۰، ۵۱–۱۰۰ و ۳۵–۱۸ درصد افزایش یافت، در حالی‌که لاکونا‌ریتی (حفره‌های خالی) به‌طور قابل‌توجهی ۴۰–۲۵ درصد (P<۰/۰۵) کاهش یافت، که مربوط به بخش‌های دیواره شبکه عظیم با یک شبکه ژل متصل متخلخل فشرده‌تر است، همانطور که در شکل ۹-a نشان داده شده است. در واقع، اندازه منافذ ساختار با لاکونا‌ریتی همبستگی نزدیکی دارد. به‌طور دقیق، شبکه‌هایی با منافذ همگن و فشرده، لاکونا‌ریتی نسبتاً کمتری نشان می‌دهند، در حالی‌که شبکه‌هایی با شکاف‌ها و حفره‌های تک، برعکس، لاکونا‌ریتی بالاتری نشان می‌دهند (Yan *et al*., 2024).



شکل ۹- پارامترهای ریزساختار ژل سوریمی تحت غلظت‌های متفاوت EPS باکتری

(a) مساحت رگ یا عروق (خطوط زرد)، تعداد کل اتصالات (نقاط آبی)، طول کل رگ (خطوط قرمز) و شکاف (مناطق خالی). حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار (P< 0.05) بین تیمارها هستند.

Fig. 9. Microstructural parameters of surimi gel under different concentrations of bacterial EPS

(a) Vessel area (yellow lines), total number of connections (blue dots), total vessel length (red lines), and gaps (empty areas). Different letters indicate significant differences (P< 0.05) between treatments.

در شکل ۹-a ناحیه رگ با خطوط زرد نشان داده شده است، تعداد کل اتصالات با نقاط آبی محصور شد، طول کل رگ با خطوط قرمز مشخص شد و لاکوناریتی نشان‌دهنده درجه نواحی خالی (نواحی خاکستری عاری از رنگ‌های زرد، قرمز و آبی) در داخل شبکه بود. علاوه بر این، وضعیت آب ژل‌های سوریمی ارتباط نزدیکی با اندازه منافذ ساختار شبکه ژل دارد (Bernklau *et al*., 2016). به‌طور خاص، ژل‌های سوریمی محتوی EPS منجر به احتباس بیشتر آب در ساختار ژل سوریمی مخلوط با اندازه منافذ ریز توزیع شده شد، که با نتایج cryo-SEM و تجزیه و تحلیل کمی شبکه مربوطه مطابقت داشت (شکل ۹-a, b). بنابراین، فرض بر این است که شبکه ژل همگن با مساحت رگ بالا، تعداد کل اتصالات و طول کل رگ و همچنین شکاف کم می‌تواند در ژل‌های سوریمی حاوی EPS مشاهده شود که منجر به محبوس‌شدن آب بیشتر در ماتریکس ژل می‌شود.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، EPS *لاکتی‌کازئی‌باسیلوس رامنوسوس* جداسازی و ترکیب، ساختار و عملکرد آن مشخص شد. سپس EPS در ژل سوریمی مورد استفاده و ارزیابی قرار گرفت. EPS تا حدی خالص‌سازی‌شده با تکنیک‌های FTIR، NMR و SEM مشخص شد و از نظر خواص فیزیکوشیمیایی، بیولوژیکی و رئولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت. EPS فعالیت‌های بیولوژیکی قابل‌توجهی از جمله فعالیت‌های ضدباکتری، آنتی‌اکسیدانی، ضدبیوفیلم و فعالیت مهاری آلفاآمیلاز از خود نشان داد و از نظر حرارتی بسیار پایدار بود. افزایش مهار بیوفیلم با افزایش غلظت EPS از ۰/۲ به ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر افزایش یافت. زمانی‌که EPS در ژل سوریمی ماهی بکار برده شد، اثر غیرخطی بر پارامترهای قدرت ژل، سختی و جویدنی نمونه‌های سوریمی گذاشت، به‌طوری‌که بیشترین مقادیر این شاخص‌ها در غلظت ۰/۵ گرم در ۱۰۰ گرم مشاهده شد. یافته‌ها نشان می‌دهند که EPS *لاکتی‌کازئی‌باسیلوس رامنوسوس* می‌تواند به‌عنوان یک زیست‌ماده در صنعت غذا در نظر گرفته شود.

منابع تأمین مالی

این پژوهش برگرفته از پایان نامه کارشناسی‌ارشد (نویسنده اول) می‌باشد و هیچ‌گونه منبع مالی دریافت نکرده است.

میزان مشارکت نویسندگان

مهسا کاظمی: تحقیق و بررسی، اعتبارسنجی. **لاله رومیانی:** مفهوم‌سازی، مدیریت داده‌ها، تحلیل رسمی، مدیریت پروژه، نرم‌افزار، نظارت، نوشتن پیش‌نویس اصلی، بررسی و ویرایش. **مهرنوش تدینی:** روش‌شناسی، تجسم، منابع.

References

1. Adesulu-Dahunsi, A., Sanni, A., Jeyaram, K., Ojediran, J., Ogunsakin, A., & Banwo, K. (2018). Extracellular polysaccharide from *Weissella confusa* OF126: Production, optimization, and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules, 111*, 514–525. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.060
2. Andrew, M., & Jayaraman, G. (2020). Structural features of microbial exopolysaccharides in relation to their antioxidant activity. *Carbohydrate Research, 487*, 107881. https://doi.org/10.1016/j.carres.2019.107881
3. Bernklau, I., Lucas, L., Jekle, M., & Becker, T. (2016). Protein network analysis—A new approach for quantifying wheat dough microstructure. *Food Research International, 89*, 812–819. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.012
4. Bordbar, A.K., Omidiyan, K., & Hosseinzadeh, R. (2005). Study on interaction of α-amylase from Bacillus subtilis with cetyl trimethylammonium bromide. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 40*(1), 67–71. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2004.10.002
5. Chen, Y.P., Zhang, P., Guo, J.S., Fang, F., Gao, X., & Li, C. (2013). Functional groups characteristics of EPS in biofilm growing on different carriers. *Chemosphere, 92*, 633-638. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.059
6. Chen, J., Deng, T., Wang, C., Mi, H., Yi, S., Li, X., & Li, J. (2020). Effect of hydrocolloids on gel properties and protein secondary structure of silver carp surimi. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 100*(5), 2252–2260. https://doi.org/10.1002/jsfa.10254
7. Chen, L., Gu, Q., & Zhou, T. (2022). Statistical optimization of novel medium to maximize the yield of exopolysaccharide from *Lacticaseibacillus rhamnosus* ZFM216 and its immunomodulatory activity. *Frontiers in Nutrition, 9*, 924495. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.924495
8. Cho, M., Han, J.H., & You, S. (2011). Inhibitory effects of fucan sulfates on enzymatic hydrolysis of starch. *LWT-Food Science and Technology, 44*(4), 1164–1171. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.09.019
9. Daba, G.M., Elnahas, M.O., & Elkhateeb, W.A. (2021). Contributions of exopolysaccharides from lactic acid bacteria as biotechnological tools in food, pharmaceutical, and medical applications. *International Journal of Biological Macromolecules, 173*, 79–89. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.110

10. Dedhia, N., Marathe, S.J., & Singhal, R.S. (2022). Food polysaccharides: A review on emerging microbial sources, bioactivities, nanoformulations and safety considerations. *Carbohydrate Polymers, 287*, 119355. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119355
11. Devi, P.B., Kavitake, D., & Shetty, P.H. (2016). Physico-chemical characterization of galactan exopolysaccharide produced by Weissella confusa KR780676. *International Journal of Biological Macromolecules, 93*, 822–828. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.09.054
12. Dhital, S., Dolan, G., Stokes, J.R., & Gidley, M.J. (2014). Enzymatic hydrolysis of starch in the presence of cereal soluble fibre polysaccharides. *Food & Function, 5*, 579–586. https://doi.org/10.1039/C3FO60506J
13. DuBois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry, 28*(3), 350–356. https://doi.org/10.1021/ac60111a017
14. Erdem, T.K., Tatar, H.D., Ayman, S., & Gezginç, Y. (2023). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: A review on functions, biosynthesis and applications in food industry. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 11*(2), 414–423. https://doi.org/10.24925/turjaf.v11i2.414-423.5213
15. Fernandes, P.A., & Coimbra, M.A. (2023). The antioxidant activity of polysaccharides: A structure-function relationship overview. *Carbohydrate Polymers, 314*, 120965. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.120965
16. Gamar-Nourani, L., Blondeau, K., & Simonet, J.M. (1998). Influence of culture conditions on exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* strain C83. *Journal of Applied Microbiology, 85*(4), 664–672. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1997.00228.x
17. Gamar, L., Blondeau, K., & Simonet, J.M. (1997). Physiological approach to extracellular polysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* strain C83. *Journal of Applied Microbiology, 83*(3), 281–287. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1998.00574.x
18. Gao, Z., Wu, C., Wu, J., Zhu, L., Gao, M., Wang, Z., & Zhan, X. (2022). Antioxidant and anti-inflammatory properties of an aminoglycan-rich exopolysaccharide from the submerged fermentation of *Bacillus thuringiensis*. *International Journal of Biological Macromolecules, 220*, 1010–1020. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.08.116
19. Grobben, G.J., Smith, M.R., Sikkema, J., & de Bont, J.A. (1996). Influence of fructose and glucose on the production of exopolysaccharides and the activities of enzymes involved in the sugar metabolism and the synthesis of sugar nucleotides in *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772. *Applied Microbiology and Biotechnology, 46*(3), 279–284. https://doi.org/10.1007/s002530050817
20. Guan, C., Yu, P., Su, J., Liu, Y., Zhang, C., Chen, D., & Gu, R. (2025). Characterization of novel exopolysaccharide from *Lacticaseibacillus rhamnosus* YT: Structural features, biosynthetic gene expression, physical properties and bioactivities. *Lwt, 219*, 117559. https://doi.org/10.1016/j. lwt.2025.117559
21. Gunathunga, C.J., Wimalasena, K., Pavalakumar, D., Edirisingha, I.P., Manage, P.M., Patabendige, C.N.K., & Undugoda, L.J.S. (2026). Exopolysaccharides from indigenous probiotic lactic acid bacteria as multifunctional bioprotective and texture-enhancing agents in set Yoghurt. *Food Bioscience, 82*, 109445.
22. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2026.109445
23. Han, P.P., Sun, Y., Wu, X.Y., Yuan, Y.J., Dai, Y.J., & Jia, S.R. (2014). Emulsifying, flocculating, and physicochemical properties of exopolysaccharide produced by cyanobacterium *Nostoc flagelliforme*. *Applied Biochemistry and Biotechnology, 172*(1), 36–49. https://doi.org/10.1007/s12010-013-0505-7
24. Hernández-Figueroa, R.H., López-Malo, A., & Mani-López, E. (2025). Lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides: Dual roles as functional ingredients and fermentation agents in food applications. *Fermentation, 11*(9), 538. https://doi.org/10.3390/fermentation11090538
25. Horozov, T.S., Binks, B.P., & Gottschalk-Gaudig, T. (2007). Effect of electrolyte in silicone oil-in-water emulsions stabilised by fumed silica particles. *Physical Chemistry Chemical Physics, 9*(48), 6398–6404. https://doi.org/10.1039/B70980N
26. Hu, S.M., Zhou, J.M., Zhou, Q.Q., Li, P., Xie, Y.Y., Zhou, T., & Gu, Q. (2021). Purification, characterization and biological activities of exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* ZFM231 isolated from milk. *Lwt, 147*, 111561. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111561
27. Huang, C., Blecker, C., Wei, X., Xie, X., Li, S., Chen, L., & Zhang, D. (2024). Effects of different plant polysaccharides as fat substitutes on the gel properties, microstructure and digestion characteristics of myofibrillar protein. *Food Hydrocolloids, 150*, 109717. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109717
28. İspirli, H., Sagdic, O., Yılmaz, M.T., & Dertli, E. (2019). Physicochemical characterisation of an α-glucan from *Lactobacillus reuteri* E81 as a potential exopolysaccharide suitable for food applications. *Process Biochemistry, 79*, 91–96. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.12.015
29. Kanmani, P., Suganya, K., Kumar, R.S., Yuvaraj, N., Pattukumar, V., Paari, K., & Arul, V. (2013). Synthesis and functional characterization of antibiofilm exopolysaccharide produced by *Enterococcus faecium* MC13 isolated

from the gut of fish. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *169*(3), 1001–1015. https://doi.org/10.1007/s12010-012-0074-1

30. Kavitake, D., Devi, P.B., Singh, S.P., & Shetty, P.H. (2016). Characterization of a novel galactan produced by *Weissella confusa* KR780676 from an acidic fermented food. *International Journal of Biological Macromolecules*, *86*, 681–689. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.099
31. Kim, W.J., Kim, S.M., Kim, H.G., Oh, H.R., Lee, K.B., Lee, Y.K., & Park, Y.I. (2007). Purification and anticoagulant activity of a fucoidan from Korean Undaria pinnatifida sporophyll. *Algae*, *22*(3), 247–252. https://doi.org.10.4490/ALGAE.2007.22.3.247
32. Korcz, E., & Varga, L. (2021). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Techno-functional application in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, *110*, 375–384. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.014
33. Li, Q., Feng, L., Yousaf, M., & Liu, D. (2026). Structural characterization of exopolysaccharide from *Lacticaseibacillus rhamnosus* and its protective mechanism against dyslipidemia in obese mice. *Food Bioscience*, 108480. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2026.108480
34. Lv, Y., Sun, X., Jia, H., Hao, R., Jan, M., Xu, X., Li, S., Dong, X., & Pan, J. (2023). Antarctic krill (*Euphausia superba*) oil high internal phase emulsions improved the lipid quality and gel properties of surimi gel. *Food Chemistry*, *423*, 136352. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136352
35. Marklund, S., & Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, *47*(3), 469–474. https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x
36. Meneghine, A.K., Moretto, C., Castellane, T.C.L., & Carareto Alves, L.M. (2017). Production, characterization and bioemulsifying activity of an exopolysaccharide produced by *Sphingomonas* sp. isolated from freshwater. *Journal of Polymers and the Environment*, *25*(4), 1080–1086. https://doi.org/10.1007/s10924-016-0878-0
37. Meng, M., Cheng, D., Han, L., Chen, Y., & Wang, C. (2017). Isolation, purification, structural analysis and immunostimulatory activity of water-soluble polysaccharides from *Grifola Frondosa* fruiting body. *Carbohydrate Polymers*, *157*, 1134–1143. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.082v
38. Mohammadian, T., Alishahi, M., Tabandeh, M.R., Ghorbanpoor, M., Gharibi, D., Tollabi, M., & Rohanizade, S. (2016). Probiotic effects of *Lactobacillus plantarum* and *L. delbrueckii* ssp. *bulguricus* on some immune-related parameters in *Barbus grypus*. *Aquaculture International*, *24*, 225–242. https://doi.org/10.1007/s10499-015-9921-8
39. Mohammadian, T., Monjezi, N., Peyghan, R., & Mohammadian, B. (2022). Effects of dietary probiotic supplements on growth, digestive enzymes activity, intestinal histomorphology and innate immunity of common carp (*Cyprinus carpio*): a field study. *Aquaculture*, *549*, 737787. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737787
40. Nie, C., Xiong, Z., Zhang, H., Hou, C., Xie, F., Song, X., Xia, Y., & Ai, L. (2024). Effect of carbon sources on characterization of exopolysaccharides from *Streptococcus thermophilus* S-3. *Food Bioscience*, *61*, 104676. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104676
41. Norouzi, A., Shamsaie Mehrgan, M., Roomiani, L., Rajabi Islami, H., & Raissy, M. (2023). Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from brown alga (*Sargassum angustifolium*): structural characterization, antioxidant, and antitumor activities. *Food Measurement and Characterization*, *17*, 6330-6340. https://doi.org/10.1007/s11694-023-02113-1
42. Noseda, M.D., Bonatto, S.J., de Freitas, R.A., de Carvalho, J.C., & Soccol, C.R. (2020). Production, characterization, and biological activity of a chitin-like EPS produced by *Mortierella alpina* under submerged fermentation. *Carbohydrate Polymers*, *247*, 116716. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116716
43. Petcharat, T., & Benjakul, S. (2018). Effect of gellan incorporation on gel properties of bigeye snapper surimi. *Food Hydrocolloids*, *77*, 746–753. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.016
44. Polak-Berecka, M., Choma, A., Waśko, A., Górska, S., Gamian, A., & Cybulska, J. (2015). Physicochemical characterization of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus rhamnosus* on various carbon sources. *Carbohydrate Polymers*, *117*, 501–509. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.006
45. Prete, R., Alam, M.K., Perpetuini, G., Perla, C., Pittia, P., & Corsetti, A. (2021). Lactic acid bacteria exopolysaccharides producers: a sustainable tool for functional foods. *Foods*, *10*(7), 1653. https://doi.org/10.3390/foods10071653
46. Puspitasari, D.A., Yanti, R., Hidayat, C., & Suroto, D.A. (2026). Optimization on production and technological properties of exopolysaccharide from *Pediococcus pentosaceus* SL4 isolated from sourdough Tomi-tomi (*Flacourtia Inermis Roxb*). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *42*(4), 159. https://doi.org/10.1007/s11274-026-04904-2
47. Rajoka, M.S.R., Jin, M., Haobin, Z., Li, Q., Shao, D., Jiang, C., Huang, Q., Yang, H., Shi, J., & Hussain, N. (2018). Functional characterization and biotechnological potential of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from human breast milk. *Lwt*, *89*, 638–647. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.034

48. Rudel, L.L., & Morris, M. (1973). Determination of cholesterol using o-phthalaldehyde. *Journal of Lipid Research, 14*(3), 364–366. https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)36896-6
49. Shah, I.A., Kavitake, D., Tiwari, S., Devi, P.B., Reddy, G.B., Jaiswal, K.K., Jaiswal, A.K., & Shetty, P.H. (2024). Chemical modification of bacterial exopolysaccharides: Antioxidant properties and health potentials. *Current Research in Food Science, 9*, 100824. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100824
50. Sharifi, N., & Roomiani, L. (2020). Use of hydrolyzed from shrimp on the chemical, microbial and tissue properties of surimi of silver carp. *Food Processing and Preservation Journal, 12*(1), 17–34. (In Persian). https://doi.org/10.22069/ejfpp.2020.13672.1442.
51. Sihame, A., Zakaria, T., Khalil, M.E., & Rajae, B. (2024). Structural characterization and functional studies of exopolysaccharide by native *Lacticaseibacillus rhamnosus* P14 isolated from the Moroccan region: A. Sihame et al. *Current Microbiology, 81*(4), 96. https://doi.org/10.1007/s00284-024-03611-1
52. Silva, I.M., Machado, F., Moreno, M.J., Nunes, C., Coimbra, M.A., & Coreta-Gomes, F. (2021). Polysaccharide structures and their hypocholesterolemic potential. *Molecules, 26*(15), 4559. https://doi.org/10.3390/molecules26154559
53. Sørensen, H.M., Rochfort, K.D., Maye, S., MacLeod, G., Brabazon, D., Loscher, C., & Freeland, B. (2022). Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: production, purification and health benefits towards functional food. *Nutrients, 14*(14), 2938. https://doi.org/10.3390/nu14142938
54. Sun, C., Yuan, B., Li, X., Yu, S., Zhou, J., Wei, L., Fan, Y., Guan, X., Guo, X., Ni, Y., Guan, B., & Lv, Q. (2026). Characteristics of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* AWT1-12 and its effect on the quality of nonfat set yogurt. *Lwt*, 119116. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2026.119116
55. Tamargo, A., Martin, D., Del Hierro, J.N., Moreno-Arribas, M.V., & Muñoz, L.A. (2020). Intake of soluble fibre from chia seed reduces bioaccessibility of lipids, cholesterol and glucose in the dynamic gastrointestinal model simgi®. *Food Research International, 137*, 109364. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109364
56. Tiwari, S., Kavitake, D., Devi, P.B., & Shetty, P.H. (2021). Bacterial exopolysaccharides for improvement of technological, functional and rheological properties of yoghurt. *International Journal of Biological Macromolecules, 183*, 1585–1595. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.140
57. Wang, J.B., Yu, L.Y., Zeng, X., Zheng, J.W., Wang, B., & Pan, L. (2022). Screening of probiotics with efficient α-glucosidase inhibitory ability and study on the structure and function of its extracellular polysaccharide. *Food Bioscience, 45*, 101452. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101452
58. Wang, J., Zhao, X., Tian, Z., Yang, Y., & Yang, Z. (2015). Characterization of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW11 isolated from Tibet Kefir. *Carbohydrate Polymers, 125*, 16–25. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.003
59. Wang, J., Zhao, X., Yang, Y., Zhao, A., & Yang, Z. (2015). Characterization and bioactivities of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW32. *International Journal of Biological Macromolecules, 74*, 119–126. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.12.006
60. Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., & Dong, M. (2014). Structural characterization and bioactivity of released exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* 70810. *International Journal of Biological Macromolecules, 67*, 71–78. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.02.056
61. Willumsen, P.A., & Karlson, U. (1996). Screening of bacteria, isolated from PAH-contaminated soils, for production of biosurfactants and bioemulsifiers. *Biodegradation, 7*(5), 415–423. https://doi.org/10.1007/BF00056425
62. Wu, S., Lai, M., Luo, J., Pan, J., Zhang, L.M., & Yang, L. (2017). Interactions between α-amylase and an acidic branched polysaccharide from green tea. *International Journal of Biological Macromolecules, 94*, 669–678. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.09.036
63. Xu, Y., Cui, Y., Wang, X., Yue, F., Shan, Y., Liu, B., Zhou, Y., Yi, Y., & Lü, X. (2019). Purification, characterization and bioactivity of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* KX041. *International Journal of Biological Macromolecules, 128*, 480–492. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.117
64. Xu, Y., Yu, J., Xue, Y., & Xue, C. (2023). Enhancing gel performance of surimi gels via emulsion co-stabilized with soy protein isolate and κ-carrageenan. *Food Hydrocolloids, 135*, 108217. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108217
65. Yan, S., Liu, X., Sang, Y., & Tian, G. (2024). Gel mechanism analysis of minced scallop (*Patinopecten yessoensis*) meat modified by three kinds of food colloids. *Food Bioscience, 57*, 103541. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103541
66. Yang, H., Deng, J., Yuan, Y., Fan, D., Zhang, Y., Zhang, R., & Han, B. (2015). Two novel exopolysaccharides from *Bacillus amyloliquefaciens* C-1: antioxidation and effect on oxidative stress. *Current Microbiology, 70*(2), 298–306. https://doi.org/10.1007/s00284-014-0717-2

67. Yang, X., Ke, C., & Li, L. (2021). Physicochemical, rheological and digestive characteristics of soy protein isolate gel induced by lactic acid bacteria. *Journal of Food Engineering*, *292*, 110243. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110243
68. Yang, Y., Ye, G., Qi, X., Zhou, B., Yu, L., Song, G., & Du, R. (2024). Exploration of exopolysaccharide from *Leuconostoc mesenteroides* HDE-8: Unveiling structure, bioactivity, and food industry applications. *Polymers*, *16*(7), 954. https://doi.org/10.3390/polym16070954
69. Ye, S., Ma, Z., Liu, Z., Liu, Y., Zhang, M., & Wang, J. (2014). Effects of carbohydrate sources on biosorption properties of the novel exopolysaccharides produced by Arthrobacter ps-5. *Carbohydrate Polymers*, *112*, 615–621. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.076
70. Yin, L., Fu, S., Wu, R., Wei, S., Yi, J., Zhang, L.M., & Yang, L. (2020). Chain conformation of an acidic polysaccharide from green tea and related mechanism of α-amylase inhibitory activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, *164*, 1124–1132. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.125
71. Yu, J., Chen, Z., Zhou, Q., Li, P., Wu, S., Zhou, T., & Gu, Q. (2024). Exopolysaccharide from *Lacticaseibacillus paracasei* alleviates gastritis in *Helicobacter pylori*-infected mice by regulating gastric microbiota. *Frontiers in Nutrition*, *11*, 1426358. https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1426358
72. Zehir Şentürk, D., Dertli, E., Erten, H., & Şimşek, Ö. (2020). Structural and technological characterization of ropy exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Tarhana: D. Zehir Şentürk et al. *Food Science and Biotechnology*, *29*(1), 121–129. https://doi.org/10.1007/s10068-019-00641-5
73. Zhang, H., Li, Z., Zhang, L., Lai, P.F.H., Tian, Y., Cui, S. W., & Ai, L. (2021). Effects of soluble dietary fibers on the viscosity property and digestion kinetics of corn starch digesta. *Food Chemistry*, *338*, 127825. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127825
74. Zhang, C., Lu, M., Ai, C., Cao, H., Xiao, J., Imran, M., Chen, L., & Teng, H. (2023). Ultrasonic treatment combined with curdlan improves the gelation properties of low-salt *Nemipterus virgatus* surimi. *International Journal of Biological Macromolecules*, *248*, 125899. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125899
75. Zhang, F., Fang, L., Wang, C., Shi, L., Chang, T., Yang, H., & Cui, M. (2013). Effects of starches on the textural, rheological, and color properties of surimi–beef gels with microbial tranglutaminase. *Meat Science*, *93*(3), 533–537. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.11.013
76. Zhang, J., Long, Y., Zhang, Y., Lu, L., Liu, C., Xu, W., Hu, Z., & Hu, C. (2025). Study on the effect of heat treatment process on the quality characteristics of soybean-*Citri Reticulatae Pericarpium* (CRP) based yogurt and related mechanisms. *Food Hydrocolloids*, *164*, 111179. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2025.111179
77. Zhang, M., Zhao, D., Yang, H., Jiao, X., Zhou, R., Zheng, J., & Wu, C. (2025). Lactic acid bacteria-derived exopolysaccharide: Biosynthesis and antibacterial characterization. *Trends in Food Science & Technology*, *160*, 105033. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2025.105033
78. Zhao, C., Xie, L., Shen, J., He, H., Zhang, T., Hao, L., Sun, C., Zhang, X., Chen, M., Liu, F., Li, Z., & Wang, N. (2025). *Lactobacillus acidophilus* YL01 and its exopolysaccharides ameliorate obesity and insulin resistance in obese mice via modulating intestinal specific bacterial groups and AMPK/ACC signaling pathway. *International Journal of Biological Macromolecules*, *300*, 140287. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.140287
79. Zhu, S., Wei, C., Jin, Y., Feng, Y., Yang, Q., Wei, Z., Liu, S., Jia, S., Ding, Y., & Zhou, X. (2023). The fabrication and characterisation of surimi gel modified by konjac glucomannan with the different hydrolysis degree. *International Journal of Food Science and Technology*, *58*(2), 766–776. https://doi.org/10.1111/ijfs.16228