ارزیابی فعالیت باکتریوسین تولید شده توسط باکتریهای اسیدلاکتیک جداسازی شده از فرآورده های لبنی در محیط in situ

زهرا حیدری[۱]، ناصر قائمی[۲]، محمد فائزی قاسمی[۳]

۱و۳. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده علوم،گروه میکروبیولوژی، لاهیجان،ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۲. دانشگاه تهران، پردیس علوم، ایران، گروه بیوتکنولوژی،تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۴۵۵ - ۱۴۱۵۵

faezi_m@yahoo.com

چکیده

باکتریهای اسیدلاکتیک بطور وسیعی در طبیعت پراکنده هستند. این ارگانیسمها در طول تخمیر لاکتیک، موادی مانند اسیدهای آلی، دی استیل، پراکسید ئیدروژن و باکتریوسین تولید می نمایند. باکتریوسینها مواد ضد میکروبی با ماهیت پروتئینی هستند که از رشد سویه های حساس جلوگیری می کنند. در این تحقیق، ۲۸ سویه باکتری اسید لاکتیک از فرآورده های لبنی برای آزمایش فعالیت ضد میکروبی، جداسازی شدند. فعالیت آنتاگونیسمی بوسیله آزمایشAgar Spot Test بررسی شد. فقط ۱۷ سویه از لاکتوباسیلها تولید مواد شبه باکتریوسین نمودند. برای استخراج باکتریوسین محلول رویی بوسیله سانتریفوژ محیط کشت مایع بدست آمد. هاله عدم رشد باکتریهای شناساگر که شامل ۱۰ سویه پاتوژن میکروبی در برابر محلول رویی لاکتوباسیلهای جداکننده بوسیله آزمایش Well Diffusion Assay بررسی شد. همچنین تأثیر باکتریهای اسید لاکتیک تولید کننده باکتریوسین بر سایر باکتریهای اسید لاکتیک نیز بررسی شد. بزرگترین قطر هاله عدم رشد بوسیله عصاره سویه ch5 با استافیلوکوکوس اورئوس به اندازهٔ ۲۰ میلی متر و کمترین هاله عدم رشد بوسیله سویه d9 با انتروباکتر ائروژنز به اندازه ۱ میلی متر بدست آمد. بیشترین فعالیت در pH برابر با ۶/۵ – ۵/۵ و دوره انکوباسیون ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ - ۲۵ درجه سلسیوس، بدست آمد. فعالیت ضد میکروبی محلول رویی خالص شده با آنزیم کاتالاز ثابت، ولی بوسیله تیمار با آنزیم های پروتئاز مانند پپسین، این فعالیت ضد میکروبی از بین رفت.

کلمات کلیدی: اسیدلاکتیک ، باکتریوسین ، فعالیت ضد میکروبی.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

باکتریهای اسید لاکتیک به طور طبیعی در مواد خام مثل شیر، گوشت و حتی در دستگاه گوارش حیوانات و انسانها نیز وجود دارد (۱۲و۸). تخمیر اسیدلاکتیک که توسط این باکتریها انجام می شود، نقش مهمی در تولید فرآورده های لبنی، نوشیدنی ها، سوسیس، ترشی ها و شوری ها دارد (۱۲). گزارشات متعدد نشان می دهد که اغلب باکتریهای اسیدلاکتیک، تولید موادی می نمایند که از رشد میکرو ارگانیزم های بیماریزا جلوگیری می نماید (۱۳). باکتریهای اسید لاکتیک (Lactic Acid Bacteria) تولید اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن، دی استیل، ترکیبات ضد قارچی مثل اسیدهای چرب و موادی به نام باکتریوسین می نمایند (۸). باکتریوسین ها توسط باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی تولید می شوند (۷). باکتریوسین ها ترکیبات پروتئینی با خاصیت ضد میکروبی هستند که باعث جلوگیری از رشد سویه های حساس می شوند(۹) و در این زمینه لاکتوباسیلوس ها از اهمیت ویژه ای برخوردار هستند. لاکتوباسیلوسها جزء فلور نرمال روده، دستگاه تناسلی زنان، دهان و... بوده و تولید باکتریوسین می نمایند. این باکتریها نقش مهمی در کنترل میکرو فلورای ناخواسته و نامطلوب در روده داشته و قادر به جلوگیری از افزایش باکتریهای بیماریزا بوسیله تولید متابولیت های ضد میکروبی می باشند. آنها می توانند به عنوان مواد نگهدارنده زیستی و طبیعی مطرح باشند (۷و۶) آزمایشات متعدد نشان داده است که سویه های لاکتوباسیلوس از رشد سویه های بیماریزا موجود در دستگاه گوارش جلوگیری می نماید.

در تحقیق انجام شده توسط Savadogo & Cheik (2004) فعالیت ضد میکروبی باکتریهای اسید لاکتیک بر علیه نژادهای استاندارد *Bacillus cereus* ، *Entrococcus fecalis* ، *E.coli* ، *Staphylococcus aureus* بررسی کردند و هاله عدم رشد ایجاد شده از ۸ تا ۱۲میلی متر بود (۹). بعلاوه لاکتوباسیلوسها با توجه به تولید باکتریوسینها دارای خواصی مانند فعالیت ضد کلسترول، ضد تومور، جذب ویتامینهای گروه *B* و افزایش پاسخ ایمنی می باشند(۵).

لاکتوباسیلوسها جزء پروبیوتیک ها می باشند. پروبیوتیک یک مکمل غذایی میکروبی زنده است که در اصلاح تعادل میکروبی روده مؤثر می باشد (۷). میکروارگانیسم های مورد استفاده بعنوان پروبیوتیک شامل انواع لاکتوباسیلوسها، بیفید و باکتریوم ها، استرپتوکوکوس سالیواریوس زیر گونه ترموفیلوس، انتروکوکوس فکالیس و فاسیوم و ... می باشند (۷).

استفاده از پروبیوتیک های باکتریهای اسیدلاکتیک LAB بهترین انتخاب، نه فقط برای بالا بردن تعداد میکروبهای مفید در فرآورده های غذایی، بلکه بعنوان میکروبهای سازگار طبیعی با محیط روده می باشند (۷). ترکیبات ضد میکروبی تولید شده توسط LAB، آنها را آماده رقابت با سایر میکروارگانیزم ها می نماید. این باکتریها مقاوم به اسید، لیزوزیم بزاق، آنزیم های موجود در شیره معده یا روده و نمک صفراوی می‌باشند. پروبیوتیک ها بوسیله رقابت در غذا و سایت چسبندگی، تولید مواد ضد میکروبی و تحریک سیستم ایمنی باعث سرکوب باکتریهای بیماریزا می شوند. سویه های LAB موجود در فرآورده های لبنی، دارای استفاده با سابقه تاریخی طولانی مدت هستند (۷). هدف از این تحقیق ارزیابی فعالیت ضد میکروبی باکتریهای اسید لاکتیک از فرآورده های لبنی تولید شده صنعتی یا

Archive of SID

www.SID.ir

محلی علیه سویه های مختلف بیماریزا که اطلاعات کمی در این زمینه در ایران موجود می باشد.

مواد و روشها

جدا سازی لاکتوباسیلوس ها

برای جداسازی باکتریهای اسیدلاکتیک از مواد لبنی، این مواد بصورت تصادفی از فروشگاههای مختلف تهیه شدند. فرآوردهای لبنی بصورت صنعتی یا محلی (خانگی) بودند. در حدود۱۰۰ نمونه مواد لبنی که ۵۰ درصد آن صنعتی و ۵۰ درصد آن محلی بودند، بررسی شدند. فرآورده ها شامل ماست، پنیر، دوغ معمولی، دوغ گازدار بودند. برای جداسازی لاکتوباسیلوس ها کشت فرآورده های لبنی روی محیط کشت اختصاصی MRS Agar (De Man , Rogosa & Sharpe) کشت انجام شد. کشت نمونه‌ها با انتقال مستقیم نمونه ها توسط فیلدو پلاتین بر روی محیط کشت آگاردار با تکنیک (Quadrant streak) انجام شد. بعد از کشت، انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در شرایط ناچیز اکسیژن (Microaerophile) انجام شد. برای جلوگیری از رشد مخمر به محیط کشت بعد از اتوکلاو، آنتی بیوتیک نیستاتین اضافه شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون از نمونه ها لام تهیه شد و رنگ‌آمیزی گرم انجام گرفت. تست حرکت و تست کاتالاز نیز برای اثبات وجود لاکتوباسیلوس روی نمونه‌ها انجام گرفت.

بررسی خاصیت آنتاگونیسم لاکتوباسیلوس ها

مرحله دوم کار بررسی وجود آنتاگونیسم بین لاکتوباسیلهای جدا شده و میکروارگانیزم های بیماریزا و غیر بیماریزا بود که این کار با روش Agar spot test انجام گرفت. در این روش، کشت های ۲۴ ساعته سویه هایی که باید برای تولید ترکیبات ضد میکروبی تست شوند، در مرکز پلیت حاوی محیط کشتMRS، کشت داده شد و سپس ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه گردیدند. سپس به اندازهٔ ۵۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مایع سویه های شناساگر که باید برای حساسیت تست شوند، (به اندازه $۱/۵\times۱۰^{۸}$ سلول یعنی کدورت ۰/۵ مک فارلند) به ۷ میلی لیتر از محیط کشت آگاردار مناسب مانند BHI یا Muller Hinton agar اضافه شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، هاله عدم رشد اطراف کلنی لاکتوباسیلوسها بررسی گردید (۱۰).

سویه های استاندارد جهت انجام فعالیت آنتاگونیستیک از مرکز کلکسیون قارچ ها و باکتریهای صنعتی عفونی واقع در سازمان پژوهشهای علمی – صنعتی ایران تهیه شد ند که عبارتند از:

1-*E.coli* PTCC 1399
2- *Pseudomonas aerogenosa* PTCC 27853
3- *Staphylucoccus aureus* PTCC 1431
4- *Entrobacter aerogenese* PTCC 1221
5- *Klebsiella pneumoniae* PTCC 1053
6- *Serratia marcescens* PTCC 1111
7- *Bacillus cereus* PTCC 1247
8- *Bacillus subtulis* PTCC 1023
9- *Proteus vulgaris* PTCC 1079
10- *Salmonela typhi* PTCC 1639

Archive of SID
www.SID.ir

بررسی تولید باکتریوسین

سویه های تولیدکننده باکتریوسین در محیط کشت مایع MRS به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس کشت داده شد و سپس محلول رویی بوسیله سانتریفوژ محیط کشت بدست آمد (۱۵ دقیقه، ۸۰۰۰ rpm) و سپس به این محلول سولفات آمونیوم ($\frac{w}{v}$٪ ۴۰) اضافه شد و پس از هم زدن به مدت یک ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس، دوباره این محلول سانتریفوژ شد (مدت ۳۰ دقیقه، ۱۰۰۰۰ rpm). به رسوب حاصله با فرفسفات ۵٪ مولار با pH ۸/۶ به اندازهٔ ۵۰۰ میکرولیتر اضافه گردید. pH این عصاره را به ۷-۶/۵ رسانده و برای خنثی کردن اثر پراکسید به آن آنزیم کاتالاز ($\frac{mg}{ml}$ ۲) اضافه گردید. این ماده به عنوان باکتریوسین نیمه خالص شده برای آزمایشات بعدی مورد استفاده واقع شد.

برای بررسی فعالیت باکتریوسین از روش Well Agar Diffusion استفاده گردید (۱۰). در این روش ۷ میلی لیتر از آگار ذوب شدهٔ نرم با ۰/۵-۰/۳ میلی لیتر از کشت یک روزه سویه های شناساگر مخلوط شد و سپس در پلیت ریخته شد. پس از سرد و منجمد شدن، چاهک هایی به قطر ۵-۳ میلی متر به فواصل در پلیتها حفر گردید. برای جلوگیری از پخش شدن مواد در زیر پلیت، ته هر کدام از چاهک ها با یک قطره آگار مسدود گردید. سپس محلول رویی خالص شده بدست آمده را به اندازه ۵۰ میکرولیتر در داخل چاهک ها ریخته و ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه و سپس هاله عدم رشد بررسی گردید (۱۰).

بررسی حساسیت باکتریوسین به NaCl، گرما و pH

در این مرحله تولید باکتریوسین در غلظت های مختلف NaCl و یا در pH های مختلف و یا مقاومت باکتریوسین نسبت به دمای مختلف بررسی شد. درصد نمک NaCl در محیط کشت تغییر داده شد و سپس هاله عدم رشد بررسی گردید. pH محیط کشت مایع لاکتوباسیلوسها تغییر داده شد و در آزمایش دیگر محلول رویی محیط کشت در دمای مختلف قرار گرفت و سپس میزان هاله عدم رشد بررسی گردید.

بررسی اثر منابع کربن و نیتروژن در تولید باکتریوسین

منابع کربن و نیتروژن در محیط کشت تغییر داده شد و تولید باکتریوسین با تغییر میزان هاله عدم رشد بررسی گردید. یعنی از روش تغییر یک عامل در یک زمان استفاده شد. منابع نیتروژن شامل عصاره گوشت، عصاره مخمر، پپتون سویا، پپتون گوشت و منابع کربن شامل گلوکز، گزیلوز، گالاکتوز، فروکتوز، سوکرز و ... بودند.

بررسی حساسیت به کاتالاز و پروتئاز

برای این منظور به میزان $2^{mg/ml}$ آنزیم های مورد نظر به محیط کشت مایع لاکتوباسیلوسها اضافه گردید و سپس یک ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد و بعد هاله عدم رشد بررسی گردید. برای بررسی اثر آنزیم پروتئاز، از آنزیم پپسین استفاده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج

از ۱۰۰ نمونه مواد لبنی، ۲۸ سویه لاکتوباسیلوس جداسازی گردید که ۱۱ سویه مربوط به نمونه های محلی و ۱۷ سویه مربوط به نمونه های صنعتی بودند. در حدود ۵۴ درصد سویه ها از پنیر، ۲۵ درصد از دوغ گازدار، ۱۴درصد از ماست و ۷ درصد از دوغ معمولی جداسازی گردیدند.

بعد از کشت در محیط MRS، انکوباسیون در دمای ۳۷-۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت، کلنی‌های سفید تا قهوه ای روشن لاکتوباسیلوس ها به اندازهٔ ۱/۵-۱ میلی متر مشاهده شد. برای اثبات وجود لاکتوباسیلوس ها، رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز و حرکت انجام گرفت و باسیلهای گرم مثبت، بدون اسپور، حرکت منفی و کاتالاز منفی جداسازی گردیدند (جدول ۱). پس ازجداسازی، فعالیت ضد میکروبی سویه های جدا شده بر علیه ۱۰ سویه پاتوژن مورد بررسی قرار گرفت. فقط ۱۷ سویه از لاکتوباسیلهای جداسازی شده فعالیت آنتاگونیسم بر علیه سویه های شناساگر استاندارد نشان دادند. شکل ۱ هاله عدم رشد ایجاد شده توسط لاکتوباسیلوسها را روی سویه های استاندارد نشان می دهد و شکل۲ هاله عدم رشد سویهch5 را روی سراشیا مارسسنس نشان می دهد. در مرحلهٔ بعد با استفاده از Well Diffusion Assay میزان هاله عدم رشد سویه های لاکتوباسیل بر علیه سویه‌های بیماریزا و همچنین سایر سویه‌های اسیدلاکتیک (غیر تولیدکننده باکتریوسین) بررسی گردید (جدول ۲ و ۳).

بیشترین هاله عدم رشد توسط سویه Ch5 برای استافیلوکوکوس اورئوس به اندازهٔ ۲ سانتی متر و کمترین هاله عدم رشد توسط سویه d9 برای انتروباکتر ائروژنز به اندازه ۱ میلی متر بود.

بررسی منابع کربنی مشخص کرد که بعد از گلوکز، هاله عدم رشد یا ریبوز و گزیلوز بهتر از سایر منابع بود.

بعد از بررسی منابع مختلف نیتروژن، مشخص شد که تولید باکتریوسین با Soy bean peptone بهتر از سایر منابع بود. در بررسیهای انجام یافته مشخص شد که لاکتوباسیلوسهای جدا شده از لبنیات قادر به رشد و تولید باکتریوسین در ۶ درصد نمک NaCl بودند. همچنین در محدودهٔ pH بین ۲ تا ۱۰، لاکتولاسیلوسها قادر به رشد و تولید باکتریوسین بودند. ماده ضد میکروبی تولید شده تا دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه دارای فعالیت بود. بیشترین فعالیت در دمای ۳۰-۲۵ درجه سلسیوس، مدت انکوباسیون ۴۸ ساعت و محدودهٔ pH بین ۶/۵- ۵/۵ بدست آمد. در بررسی اثر آنزیمها بر روی مادهٔ ضد میکروبی موجود در مادهٔ رویی بدست آمده، مشخص شد که آنزیم کاتالاز هیچ تأثیری در هاله عدم رشد ایجاد نکرد ولی با اثر دادن آنزیم پپسین بر عصاره بدست آمده، هاله عدم رشد، کاملاً از بین رفت و این موضوع نشاندهنده ماهیت پروتئینی ماده ضد میکروبی تولید شده توسط لاکتوباسیلهای جداسازی شده از لبنیات است.

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۱: هاله عدم رشد ایجاد شده توسط لاکتوباسیلوسهای جداسازی شده بر علیه سویه های استاندارد

شکل ۲: هاله عدم رشد ایجاد شده توسط سویه ch5 (شماره ۱) بر علیه سراشیا مارسسنس به روش Agar Well Diffusion

جدول ۱: لاکتوباسیلهای جداسازی شده از مواد لبنی و مشخصات هر یک از آنها

مشخصه / سویه	منبع	رنگ کلنی	اندازه کلنی	واکنش گرم	کاتالاز	حرکت	رشددر۶/۵ درصد NaCl	رشد در ۱۵ċ	رشد در ċ ۴۵
Ch_1	پنیر پاستوریزه لیقوان	سفید	۱ mm	+	–	–	+	+	+
Ch_2	آب پنیر محلی	قهوه‌ای روشن	۱ mm	+	–	–	+	+	+
Ch_5	آب پنیر محلی	سفید	۱ mm	+	–	–	+	+	+
Ch_6	پنیر پاستوریزه	سفید	۱ mm	+	–	–	+	+	+
Ch_9	آب پنیر پاستوریزه	سفید	۱ mm	+	–	–	+	+	+
Ch_{10}	پنیر لیقوان	سفید	۱ mm	+	–	–	+	+	+
Ch_{11}	پنیر لیقوان	قهوه ای روشن	۱ mm	+	–	–	+	+	+
Ch_{12}	پنیر پاستوریزه	سفید	۱ mm	+	–	–	+	+	+
d_1	دوغ گاز دار پاستوریزه	سفید	۱ mm	+	–	–	+	–	+
d_7	دوغ گاز دار پاستوریزه	سفید	۱/۵mm	+	–	–	+	–	+
d_8	دوغ معمولی پاستوریزه	سفید	۱ mm	+	–	–	+	+	+
d_9	دوغ معمولی پاستوریزه	سفید	۱ mm	+	–	–	+	+	+
y_3	ماست محلی	سفید	۱/۵mm	+	–	–	+	–	+
y_4	ماست محلی	سفید	۱/۵mm	+	–	–	+	+	+

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲: نتایج حاصل از بررسی اثر باکتریوسین تولید شده توسط لاکتوباسیلهای جداسازی شده بر علیه ۱۰ سویه پاتوژن استاندارد
(اعداد داخل پرانتز هاله عدم رشد بر حسب میلی متر)

سویه استاندارد / سویه جدا شده	*E.Coli*	*P.aerogenosa*	*S.aureus*	*E.aerogenes*	*K.pneumoniae*	*S.marcescens*	*B.cereus*	*B.subtilis*	*P.vulgaris*	*S.typhi*
Ch_1	-	۵-۶	-	-	-	۵-۶	۴-۵	-	-	-
Ch_2	۶-۷	۲-۳	۲-۳	۴-۵	-	۵-۶	۲-۳	-	-	-
Ch_4	۴-۵	۲-۳	۲-۳	۲-۳	۲-۳	۴-۵	-	۲-۳	۲-۳	۳-۴
Ch_5	۴-۵	۳-۴	۲۰	-	۸-۹	۱۰	۴-۵	۷-۸	۴-۵	۶-۷
Ch_{10}	-	-	۴-۵	-	-	-	۶-۷	–	-	۲-۳
Ch_{14}	-	-	۲-۳	-	-	-	۴-۵	-	-	۲-۳
Ch_{15}	۴-۵	۳-۴	–	۶-۷	-	-	–	-	-	۲-۳
d_1	۶-۷	۴-۵	۷-۸	–	۴-۵	۶-۷	۲-۳	۳-۴	۲-۳	۴-۵
d_2	۷-۸	۵-۶	۲-۳	-	۶-۷	۷-۸	۵-۶	۵-۶	۶-۷	۷-۸
d_3	۷-۸	۵-۶	۴-۵	-	۴-۵	۶-۷	۷-۸	۶-۷	۴-۵	۲-۳
d_4	۷-۸	۳-۴	۶-۷	-	۲-۳	۶-۷	۱۰	۶-۷	۶-۷	۴-۵
d_5	۶-۷	۲-۳	۷-۸	-	۴-۵	۷-۸	۹-۱۰	۴-۵	۷-۸	۷-۸
d_6	۶-۷	۳-۴	۷-۸	-	۲-۳	۴-۵	۷-۸	۴-۵	۷-۸	۲-۳
d_9	-	۴-۵	۴-۵	۱-۱/۵	۴-۵	۶-۷	۱-۲	۴-۵	-	-
y_3	۲-۳	۴-۵	۶-۷	۴-۵	-	۲-۳	-	-	-	-
y_4	۲-۳	۱-۲	۱-۲	۲-۳	-	۴-۵	-	-	-	-

جدول ۳: نتایج حاصل از بررسی فعالیت ضد میکروبی برخی از لاکتوباسیلهای تولید کننده باکتریوسین
بر علیه سویه های غیر تولید کننده باکتریوسین

غیر تولید کننده باکتریوسین / تولید کننده باکتریوسین	Ch3	Ch6	Ch7	Ch8	Ch9	Ch11	Ch12	Ch13	d8	y1	y2
Ch_1	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Ch_5	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Ch_{10}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Ch_{14}	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
Ch_{15}	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
d_1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
d_5	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+
d_6	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-
d_7	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+
d_9	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
y_3	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+
y_4	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

باکتریهای اسید لاکتیک که به طور معمول از مواد لبنی جدا می شوند،کاربرد فراوانی در ایجاد تعادل میکروبی و افزایش میکروبهای مفید در غذاها دارند. این باکتریها قادر به تحمل شرایط سخت مثل نمک، کمبود اکسیژن، اسیدیته و ... می باشند. همچنین آنها با تولید مواد ضد میکروبی توانایی مقابله با پاتوژنهای حساس را دارا می باشند. باکتریوسین تولید شده توسط این باکتریها می تواند جایگزین مناسبی برای نگهدارنده‌های شیمیایی در غذاهای آماده باشد. Nisin اولین باکتریوسینی است که بصورت تجاری مورد استفاده قرار گرفت. این ماده با نام تجاری Nisaplin در بیش از ۵۰ کشور دارای مجوز بعنوان افزودنی غذایی می باشد (۱۵,۹). در این مطالعه مشخص شد که متابولیت های خارج سلولی باکتریهای اسید لاکتیک (LAB)که یکی از آنها باکتریوسین می باشد، قادر به جلوگیری از رشد باکتریهای بیماریزا بودند. مشابه این یافته ها توسط Kivance (1990) بر روی باکتریهای اسید لاکتیک انجام شد و نتیجه آن بود که این باکتریها از رشد برخی از باکتریهای بیماریزا جلوگیری می کنند (۳). در این مطالعه، باکتریهای اسید لاکتیک در محدودهٔ pH بین ۲ تا ۱۰ قادر به رشد و فعالیت بودند، یعنی در شرایط اسیدی در دستگاه گوارش قادر به فعالیت هستند. مشابه این یافته توسط Hood & Zottolaq (1998) انجام یافته است (۲). طبق نتایج بدست آمده در این تحقیق، میزان هاله عدم رشد ایجاد شده توسط مواد باکتریوسینی حاصل از لاکتوباسیلوس‌ها روی سویه های بیماریزای استاندارد بطور متوسط بصورت زیر است:

انتروباکتر آئروجنزبین۷-۱میلیمتر، کلبسیلا پنومونیه بین ۹-۲میلیمتر، سراشیا مارسسنس بین۱۰-۲ میلیمتر، باسیلوس سرئوس بین۱۰-۲ میلیمتر، باسیلوس سوبتیلیس بین ۸-۲ میلیمتر، پروتئوس ولگاریس بین ۸-۲ میلیمتر و سالمونلا تیفی بین۸-۲میلیمتر.

در تحقیق مشابه که بوسیله Savadogo & Cheik (2004) انجام شد، میزان هاله عدم رشد بدست آمده بوسیله سویه های بیماریزا با سویه‌های لاکتوباسیلوس جدا شده از لبنیات بدین صورت بود: ایکولای ۹ میلیمتر، باسیلوس سرئوس۱۰ میلیمتر و استافیلو کوکوس اورئوس ۹ میلیمتر(۵).

در تحقیق مشابه دیگر توسط.Kumsung et al در کشور تایلند انجام شد، اثر ممانعت کنندگی باکتریهای اسید لاکتیک جدا شده از غذاهای تخمیری بر روی بعضی باکتریهای بیماریزا بررسی شد. هاله ممانعت از رشد برای باسیلوس سرئوس۲۰-۱۷، برای باسیلوس سوبتیلیس ۱۷-۱۴، ایکولای ۱۸/۵-۱۷، سودوموناس آئروجنوزا ۱۴-۱۲، استافیلوکوکوس اورئوس ۱۹-۱۵ و برای سالمونلا تیفی ۱۵/۵-۱۳/۵ میلیمتر بوده است (۴).

اخیراً نیز مطالعات فراوانی در مورد سودمندی باکتریوسین LAB در کنترل باکتریهای بیماریزا صورت گرفته است. در مطالعه‌ایکه توسط Castellano & Holzapfel (2004) انجام شده، باکتریهای اسیدلاکتیک تولید کننده باکتریوسین، می‌توانند بعنوان نگهدارنده گوشت مورد استفاده قرار گیرند (۱). مطالعه دیگری نیز اخیراً توسط Tereza & Lima در سال 2005 با عنوان باکتریوسین ها، شناسایی، مکانیسم عملکرد و پتانسیل استفاده آنها در فرآورده های غذایی صورت گرفته است (۱۴). در

Archive of SID

www.SID.ir

کشور ما نیز مطالعاتی در این زمینه صورت گرفته است که یکی از آنها مطالعه لاکتوباسیل ها بعنوان پروبیوتیک بوده است. در این مطالعه نیز اثر باکتریوسین باکتریهای جداسازی شده از سوسیس بر روی باکتری استافیلو کوکوس اورئوس بررسی شده است، که در آن از ۲۸ سویه لاکتوباسیل جدا شده، ۴ سویه قادر به مهار رشد استافیلوکک بودند (۵). در این تحقیق، اثرات باکتریوسین باکتریهای جداسازی شده از لبنیات بر باکتریهای بیماریزای حساس بررسی شد، لذا از این قابلیت باکتریهای اسید لاکتیک می توان بعنوان نگهدارنده طبیعی بهره برد. بنابراین پیشنهاد می شود که مطالعات بعدی باید بیشتر بر پایه نحوهٔ بکارگیری این باکتریها و باکتریوسین تولید شده توسط آنها در فرآورده های غذایی صورت گیرد و همچنین گونه‌های لاکتوباسیلهای بدست آمده از فرآورده های لبنی بوسیله روشهای نوین تشخیصی مورد شناسایی قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از کارشناس محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی سرکار خانم مهندس داستان، که در انجام این تحقیق ما را یاری و راهنمایی نمودند، بسیار سپاسگزاریم.

منابع

1. Castellano,P.H., Holzapfel,W.H. 2004. The control of *Listeria innocua* and *lactobacillus sakei* in broth and meat. Food Microbiol. 21: 291-298.
2. Hood, S., Zottola, M., 1998.Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cell. J. Food Sci.53:1514-1516.
3. Kivance, M.,1990.Antagonistic action of lactic acid bacteria .Applied and Environmental Microbiology.34:273-277.
4. Kumsung, Y., Sookkhee, S., Preuksakorn, S., 2007. In vitro antimicrobial activities the symbiotic cultures. Proceedings of the 7th Grad-research conference. Surat. Thani, Thiland.
5. Nowroozi, J., Noruzi, Mirzaii, M., 2004. Study of lactobacillus as probiotic bacteria.Iranian J Publ Health .33: 1-7.
6. Oyetayo, V.O. 2004. Phenotypic characterization and assessment of the inhibitory potential of lactobacillus isolates from different sources. African Journal of Biotechnology. 3(7): 355 – 357.
7. Somro, A. 2002. Role of lactic acid bacteria in food preservation and Human Health-A Review.pakistanJournal of Nutrition. (1):2 0-24.
8. Savadogo, A., 2006. Bacteriocins and Lactic acid bacteria – a minireview. African Journal of Biotechnology. 5(9): 678-683.
9. Savadogo, A., Cheik, A., 2004. Antimicrobial activities of lactic acid bacteria strains isolated from Burkina faso fermented milk. Pakistan Journal of Nutrition. 3(3): 174-179.
10. Schillinger, U., 1989. Antibacterial activity of lactobacillus sake isolated from meat. Aplied and Environmental Microbiology.23: 1901-1906.
11. Settanni,L., Massitti, O., 2005. In situ acticity of bacteriocin – producing lactococcus lactis stain. Journal of Applied Microbiology. 99: 670.
12. Tserovska, L., Stefanova, S., Yordanova, T., 2002. Identification of lactic acid bacteria isolated from katyk, goat's milk and cheese.Journal of Culture Collections. 3: 48-52.

Archive of SID
www.SID.ir

13. Tadesse, G., Ephraim, E., 2000. Assessment of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria. Internet Journal of Food safety. (5): 13-20.
14. Tereza, E., Lima, D., 2005. Bacteriocins, nomenclature, detection, mechanism of action and potential use in poultry production. Journal of food Agriculture and Environment. 3(2):62-66.
15. Vanderberg, P.A., 1993. Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. FEMS Microbiol Reviewes. 12:221-238.

Archive of SID

www.SID.ir