اثر آنتاگونیستی مواد ضدمیکروبی تولیدی از سویه‌های لاکتوباسیلوس جداسازی شده از پنیر کوزه استان آذربایجان غربی

مهسا یوسفی[۱]، محمود رضازادباری[۲*]، محمد علیزاده خالد آباد[۲] ورجب خشای[۳]

تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۱ تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۱۹

[۱]دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
[۲]استادیارگروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
[۳] کارشناس آزمایشگاه، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
[*]مسئول مکاتبه: E-mail: mahmoud114@hotmail.com

چکیده

در این تحقیق، سویه‌های تولید کننده باکتریوسین از انواع پنیر کوزه منطقه آذربایجان غربی جداسازی شده و ترکیبات ضدمیکروبی تولید شده بوسیله سویه‌ها بصورت جزئی خالص سازی شدند. از ۸ نمونه پنیر جمع آوری شده نزدیک ۴۸ سویه جداسازی شد که دارای ویژگی‌های اصلی لاکتوباسیل‌ها یعنی میله‌ای گرم مثبت و کاتالاز منفی بودند. از بین آنها ۳۶ سویه با انجام روش چاهک ویژگی‌های ضدمیکروبی از خود نشان دادند. امکان این وجود داشت که فعالیت اصلی ضدمیکروبی متعلق به اسیدهای آلی تولید شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک باشد. بنابراین pH در سوپرناتانت در ۷-۶/۵ تنظیم شد و بعد از تنظیم pH، تنها ۱۲ سویه فعالیت ضدمیکروبی از خود نشان دادند. مطالعه مقایسه‌ای با استفاده ازآزمون‌های مورفولوژیک و بیوشیمیای نشان داد که ترکیبات ضدمیکروبی توسط سویه‌های *Lb. plantarum*، Lb. *brevis*، *Lb. paracasei* تولید شده بودند. بعد از مرحله شناسایی سویه‌های جداسازی شده، خالص سازی جزئی باکتریوسین تولیدی از این سویه انجام گرفت. مشخص شد که وزن مولکولی باکتریوسین‌های خالص سازی شده در دامنه ۱۵ kDa تا ۵۰ می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های اسید لاکتیک، باکتریوسین، پنیر کوزه

Archive of SID

www.SID.ir

Antagonistic effect of bacteriocines produced by lactobacilli isolated from West Azerbaijan's Kuppeh cheese

M Yosefei[1], M Rezazadeh Bari[2]*, M Alizadeh Kaledabad[2] and R Kashaei[3]

Received: November 11, 2011 Accepted: 12 October, 2011

[1]MSc Graduated, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran
[3] Lab Assistant, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran
*Corresponding author: E-mail: mahmoud114@hotmail.com

Abstract
In this study, isolation and identification of bacteriocin producing strains from west Azerbaijan Kuppeh cheese is investigated. For this purpose, 8 samples of cheese were collected from different parts of west Azerbaijan. 36 out of 48 colonies of isolated Lactic Acid Bacteria (LAB) showed high antimicrobial activity against the indicator strains. In order to avoid of antimicrobial effect of organic acid produced by LAB, in this step, the pH levels of supernatant were adjusted to 6.5-7. After pH adjustment, only 12 isolated strains showed antimicrobial activity. A comparative study using morphological and biochemical tests demonstrated that 2 isolated strains were belonging to *Lactobacillus plantarum*, 1 belonging to *Lactobacillus brevis* and 1 belonging to *Lactobacillus paracasei*. The result of partial purification and electrophoresis of bacteriocin indicated that the molecular weight of proteins were 15, 40 and 50 kDa.

Keywords: Bacteriocin, Lactic acid bacteria, Traditional cheese

مقدمه

باکتری‌های اسید لاکتیک مواد ضدمیکروبی را تولید می‌کنند که آنها استعداد بازدارندگی از رشد بیماریزاها و میکروارگانیسم‌های مضر را دارا می‌باشند (ادتونجی و همکاران ۲۰۰۷). اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن، دی‌استیل و باکتریوسین‌ها جزو متابولیت‌های باکتری‌های اسید لاکتیک هستند. ترکیبات ضدمیکروبی پروتئینی تولید شده توسط باکتری‌ها با نام باکتریوسین شناخته می‌شوند. باکتریوسین‌ها و آنتی بیوتیک‌ها که به شدت از رشد باکتری‌های پاتوژن و باکتری‌های مضر ممانعت می‌کنند به علت به کارگیری آنها به عنوان مواد نگهدارنده طبیعی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند و در سال‌های اخیر تحقیقات گسترده‌ای برروی آنها انجام گرفته است. باکتریوسین‌ها برروی باکتری‌های گرم مثبت فعالیت بسیار خوبی دارند ولی در مقابل باکتری‌های گرم منفی به علت ساختار غشایی خاص آنها فعالیت کمتری از خود نشان می‌دهند (بارفوت و همکاران ۱۹۹۳). در این تحقیق سویه‌های تولیدکننده باکتریوسین از پنیر کوزه جداسازی شده و سپس فعالیت آنها در مقابل باکتری‌های پاتوژن بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های پنیر

به منظور جداسازی باکتری‌های تولید کننده باکتریوسین، ۸ نوع متفاوت پنیر کوزه با مشخصات متفاوت از نظر شکل ظاهری و عطر و طعم شامل سه نمونه از سلماس، دو نمونه از خوی، یک نمونه از

Archive of SID

www.SID.ir

شاهین‌دژ، یک نمونه از بوکان و یک نمونه از مهاباد تهیه گردیدند.

مواد و محیط کشت‌های لازم

محیط کشت‌های اختصاصی جهت جداسازی باکتریهای اسید لاکتیک مورد استفاده در این تحقیق شامل MRS AGAR، MRS BROTH، BHI و MHA بودند که متعلق به شرکت Scharlau اسپانیا بودند (چیکیوسف و همکاران ۲۰۰۹).

سویه‌های حساس (اندیکاتور) شامل *Micrococcus luteus* ATCC9341a*Listeria monocytogenes* ATCC 1169 و *Lactobacillus delbroki*ATCC 9649 که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند.

روش کار

جداسازی باکتری‌های اسید لاکتیک و طبقه‌بندی آنها

با هدف جداسازی باکتری‌های اسید لاکتیک از نمونه‌های جمع آوری شده پنیر رقت‌های مناسب تهیه و در محیط کشت MRS Agar کشت داده شدند و پس از جداسازی و خالص‌سازی سویه روی محیط کشت از نظر مورفولوژی، رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز و تولید گاز از گلوکز طبق Bergy's Manual مورد بررسی و شناسایی قرار گرفتند (کونتراس وهمکاران ۱۹۹۷).

شناسایی خاصیت ضدمیکروبی سویه‌های جداسازی شده

برای شناسایی خاصیت ضدمیکروبی در این تحقیق از روش چاهک استفاده شد. در این روش سویه‌های جداسازی شده در داخل محیط کشت MRS BROTH در$37^{\circ}C$ به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شدند. سپس کشت‌ها در rpm ۱۰۰۰۰به مدت ۱۰ دقیقه در دمای $4^{\circ}C$ سانتریفیوژ و در نهایت محلول رویی جدا گردید. پتری-هایی با محیط کشت MHA آماده شد و بر سطح آنها به میزان µl ۱۰۰ از هر کدام از سویه‌های اندیکاتور تلقیح شد. بعد از این مرحله بر روی محیط کشت تلقیح شده با سویه‌های اندیکاتور چاهک‌هایی تعبیه شد. سپس در داخل چاهک‌ها ۲۰۰µl از محلول رویی سویه‌های جداسازی شده ریخته شد و در دمای $37^{\circ}C$ به مدت ۲۴-۴۸ ساعت گرمخانه گذاری گردید و در نهایت چاهک‌هایی که در اطراف آنها هاله عدم رشد مشاهده گردید، بعنوان سویه تولید کننده مواد ضدمیکروبی مشخص شدند (ایوانوا ۲۰۰۰).

تشخیص وجود باکتریوسین

برای اثبات اینکه اثر ضدمیکروبی در اثر تولید باکتریوسین می‌باشد نه مواد تولید شده دیگر مانند اسیدهای آلی، اثرات مواد ضدمیکروبی اسیدهای آلی حذف شد. برای حذف اثر بازدارندگی اسیدهای آلی تولید شده، pH محلول رویی با استفاده از NaOH ۵ نرمال و یا HCL ۵ نرمال، pH روی ۶/۵ تا ۷ تنظیم شد. سپس اثر ضد میکروبی آن مطابق روش چاهک مورد بررسی قرار گرفت (کارتیکیان و همکاران ۲۰۰۹).

آزمایش دامنه رشد سویه‌ها

برای تثبیت توانایی رشد سویه‌های جداسازی شده در دماهای (صفر، ۱۰ و$45^{\circ}C$) و در غلظت ۶٪ و۱۰٪ NaCl و در pH های ۴، ۶ و ۹ سویه‌های در محیط کشت MRS Broth کشت داده شدند. بعد از گرمخانه گذاری کردن در صورت کدر شدن محیط کشت و یا ته‌نشینی نتیجه آزمایش مثبت اعلام شد. مدت گرمخانه گذاری در دماهای ۱۵ تا$45^{\circ}C$ به مدت ۳ روز و در دمای۰ تا$10^{\circ}C$به مدت ۷ روز بود (دوویست و همکاران ۲۰۰۷).

خالص سازی جزئی باکتریوسین

ته‌نشین سازی پروتئین‌ها با سولفات آمونیوم

باکتری‌های اسید لاکتیک جداسازی شده دارای خاصیت ضدباکتریایی برای تهیه کشت تازه ۱۸ ساعته در داخل محیط کشت MRS Broth کشت داده شده و در$37^{\circ}C$ گرمخانه گذاری شدند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه درrpm ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد و محلول رویی آن برداشته شدو pH آنها بوسیله NaOH ۵ نرمال و HCl ۵ نرمال

Archive of SID

www.SID.ir

روی ٦/٥ تا ۷ تنظیم گردید. برای ته‌نشین سازی و بالا بردن غلظت پروتئین‌ها از غلظت ۷۰٪ سولفات آمونیوم(Merck, 31119) استفاده شد. سولفات آمونیوم بصورت پودر به محلول رویی حاصل اضافه و سپس به مدت ۱۸ ساعت در یخچال نگهداری شد. بعد از اتمام مدت زمان لازم نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه با g ×۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. سپس خاصیت ضدمیکروبی ماده ته‌نشین شده و رویی باقی مانده مورد آزمایش قرار گرفت (ادتونجی و همکاران ۲۰۰۷).

دیالیز

برای حذف سولفات آمونیوم موجود در ماده ته‌نشین شده و همچنین خالص سازی جزئی ماده ته‌نشین شده از روش دیالیز استفاده شد. در این روش ماده ته‌نشین شده در بافر سدیم فسفات ۱۰mM با (pH٦/٥) حل شد. سوسپانسیون حاصله در داخل کیسه دیالیز ۱۰۰۰ Da ریخته شد و به مدت ٢٤ ساعت در داخل بافر سدیم فسفات نگهداری گردید. در طول دیالیز بافر مورد استفاده هر ۳ ساعت یکبار تعویض شد. بعد از دیالیز اثر ضدمیکروبی ماده باقیمانده در داخل کیسه دیالیز مورد آزمایش قرار گرفت (مژگانی و همکاران ۲۰۰٦).

الکتروفورز

با انجام روش TRICINE-SDS-PAGE بر روی نمونه بدست آمده هم عمل خالص سازی انجام شد و هم وزن مولکولی پروتئین‌ها مشخص گردید. در این روش بافر ژل پایین ۱۰٪ با (pH ۸/۸) تهیه و در داخل محفظه ریخته شد بطوریکه حدود cm ۳ فضا برای محلول ژل بالا باقی ماند. بعد از انعقاد ژل پایین، بافر ژل بالا ٦٪ با (pH ٦/۸) تهیه شده و داخل محفظه ریخته شد و شانه بر روی آن قرار گرفت. بعد از انعقاد بافر ژل بالا شانه خارج شد و نمونه‌ها به داخل چاهک‌ها تزریق شدند. روش آماده کردن نمونه‌ها بدین صورت بود که ۱۵ میکرولیتر از نمونه با ۵ میکرولیتر از بافر نمونه حل شده سپس به مدت ۵ دقیقه جوشانده شدند.

روی ژل اولین وآخرین چاهک خالی نگه داشته شدونشانگر به سومین چاهک و نمونه‌ها به سایر چاهک‌ها بارگذاری شد. سپس محفظه شیشه‌ای با استفاده از گیره‌هایی به تانک الکتروفورز متصل شد و مخزن با بافر الکترود پر شد. نمونه‌ها ابتدا در ولتاژ ۱۳۰ و بعد از طی کردن مسیر ژل بالا با ولتاژ ۱۵۰ مسیر عمودی ژل پایین را تا انتها طی کردند. بعد از اتمام الکتروفورز برای دیده شدن باند پروتئین‌ها در داخل ژل از رنگ کوماسی آبیG-250 استفاده شد. بدین ترتیب که به داخل هر چاهک ۲/۰-۱ میکروگرم از رنگ کوماسی آبی اضافه شد. در آخر مراحل تثبیت به مدت یک شبانه روز، شستشو به مدت ۳۰ دقیقه، رنگ آمیزی به مدت ۵ ساعت و رنگ بری تا زمان سفید شدن ژل انجام شد. در مرحله آخر ژل بدست آمده در اسید استیک ۳٪ نگهداری شد (اسچاگر و همکاران ۱۹۸۷).

نتایج وبحث

باکتری‌های اسیدلاکتیک از اجزای اصلی فلور میکروبی محصولات لبنی بخصوص پنیر می‌باشند. در طی این تحقیق، ٤٨ سویه جداسازی شد که ٣٦ سویه از آنها باکتری‌های اسید لاکتیک بودند. با بررسی خاصیت ضدمیکروبی این سویه‌ها مشخص شد که فقط ۱۲ عدد از آنها بعد از حذف اثر اسیدهای آلی خاصیت ضدمیکروبی از خود نشان دادند.

با انجام آزمایشات مورفولوژی و رنگ آمیزی گرم و دیگر آزمایش‌های بیوشیمیایی (جدول‌های ۱ و ۲) مشخص شد که ٤ سویه از ۱۲ سویه موجود مربوط به باکتری‌های لاکتوباسیلوس بودند.

بعد از بررسی نتایج بدست آمده طبق Bergy'sManual (٥) مشخص شد که ۲ تا از میکروب‌های جداسازی شده متعلق به سویه‌های *Lb. Plantarum* بوده و ۲ سویه دیگر به *Lb.brevis* و *Lb. paracasei ssp. Paracasei* تعلق داشتند (اسنیت و همکاران ۱۹۸٦).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- آزمایشات بیوشیمیایی انجام شده برای شناسایی سویه‌هایی با فعالیت ضدمیکروبی

سویه های گرم مثبت و کاتالاز منفی										
سویه های جداسازی شده	مورفولوژی	NaCl (%)		pH		حرارت ℃				
		٦	١٠	٤	٩/٦	٠	١٠	٤٥		
١	کوکسی	+	+	-	+	-	+	-		
٢	باسیل	+	+	+	+	+	+	-		
٣	کوکسی	+	+	+	+	-	+	-		
٤	کوکسی	+	-	-	+	-	+	-		
٥	کوکسی	+	-	-	+	-	+	-		
٦	کوکسی	+	-	-	+	-	+	-		
٧	کوکسی	+	-	-	+	-	+	-		
٨	باسیل	+	-	-	+	-	+	-		
٩	کوکسی	+	-	-	+	-	+	-		
١٠	باسیل	+	+	+	+	+	+	-		
١١	باسیل	+	-	+	+	-	+	-		
١٢	کوکسی	+	-	+	+	+	+	-		

جدول ۲- تخمیر کربوهیدرات‌ها توسط سویه‌های لاکتوباسیل جداسازی شده از پنیر کوزه

کربوهیدراتها	سویه های جداسازی شده از پنیر کوزه			
	٢	٨	١٠	١١
گلوکز	+	+	+	+
لاکتوز	+	+	+	+
ساکارز	+	+	-	+
گالاکتوز	-	-	+	+
فروکتوز	+	-	+	+
رافینوز	-	+	+	+
گزیلوز	-	+	+	+
مالتوز	+	+	+	+
نشاسته	+	+	+	-

بعد از تشخیص نوع سویه‌های جداسازی شده و بررسی فعالیت ضدمیکروبی آنها بر اساس اندازه گیری قطر هاله‌های عدم رشد سویه‌های حساس انجام شد. در جدول ۳ نتایج این آزمایشات مشاهده می‌شود.

جدول ۳- اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد سویه‌های جداسازی شده در برابر سویه‌های حساس

سویه های لاکتوباسیل جداسازی شده	قطر هاله عدم رشد بر حسب cm		
	Lactobacillus delbrukii	*Micrococcus luteus*	*Listeria monocytogenes*
	١/١	٢/٢	١/٢
٢	١/٤	٢	٢/٢
	١/٥	١/٧	٢/٥
		١/٨	١/٥
٨	-	١/٥	١/٢
		١/٧	٠/٨
		٠/٨	٢/٢
١٠	-	١/٥	١/٨
		١/٥	٢
		٠/٧	
١١	-	٠/٧	-
		٠/٧	

بعد از بدست آوردن قطر هاله‌های عدم رشد، مشخص شد که هر ٤ سویه لاکتوباسیل موجود در مقابل سویه حساس *میکروکوکوس لوتئوس* فعالیت خوبی داشته‌اند ولی بیشترین فعالیت را سویه شماره ۲ با قطر هاله بازداری رشد ۱/۵ سانتیمتری روی لاکتوباسیلوس دلبروکی و ۱/۲ سانتیمتری روی میکروکوکوس لوتئوس و ۲/۵ سانتیمتری روی لیستریا مونوسیتوژنز نشان داد. همچنین بعد از بررسی دقیق نتایج مشخص شد که سه سویه (۲، ۸ و ۱۰) فعالیت آنتی‌لیستریایی از خود نشان می‌دهند.

جدول ۴- آزمایش فعالیت ضدمیکروبی در غلظت‌های متفاوت سولفات آمونیوم

اندازه گیری خاصیت ضد میکروبی با غلظت متفاوت آمونیوم سولفات بر حسب (cm)			
	٪٤٠	٪٦٠	٪٧٠
محلول رویی	١/٣٥	١/٥	١/١٥
ماده ته نشین شده	١/٩٥	١/٧٥	١/٤

Archive

www.SID.ir

برای بدست آوردن پروتئین‌هایی با درجه خلوص بالا و حذف کردن ناخالصی‌های مربوط به محیط کشت و سلول‌ها، عمل خالص سازی بر روی محلول رویی بدست آمده از کشت سویه‌ها انجام گرفت. در این مرحله پروتئین‌های هر ٤ سویه جداسازی شده که دارای خاصیت ضدمیکروبی بودند خالص سازی شدند. برای این آزمایش از مراحل ته‌نشین کردن با سولفات آمونیوم، دیالیز و الکتروفورزTRICINE-SDS-PAGE برای خالص سازی جزئی پروتئین استفاده شد. پروتئین کل توسط دستگاه بیوفتومتر اندازه‌گیری شد. مقدار پروتئین در نمونه های ۲، ۸ ، ۱۰ و ۱۱ به ترتیب برابرμg/ml ۳/۰۸۳، μg/ml ۲/۰۱۲ ، μg/ml ۲/٤٦و ۱/٥٧٠ μg/ml۱۱ بود (کومار و همکاران ۲۰۰۹).

اولین مرحله و یکی از مهمترین مراحل خالص سازی پروتئین‌ها ته‌نشین کردن آنها توسط سولفات آمونیوم می‌باشد. در این آزمایش برای شناسایی غلظت مناسب برای ته‌نشین کردن پروتئین‌ها از غلظت‌های ٤٠٪، ٦٠٪ و ٧٠٪ سولفات آمونیوم استفاده شد. در جدول ٤ نتایج این آزمایش نشان داده شده است.با توجه به جدول ٤ می‌توان نتیجه گرفت که در تمام غلظت‌ها هم در ماده ته-نشین شده و هم در محلول رویی خاصیت ضدمیکروبی دیده می‌شود. بطوریکه در غلظت ٤٠٪ سولفات آمونیوم، خاصیت ضدمیکروبی ظاهر شده (بر حسب اندازه قطر هاله عدم رشد) بالا می‌باشد در حالیکه در غلظت ٧٠٪ سولفات آمونیوم مقدار پروتئین ته‌نشین شده نسبت به بقیه غلظت‌ها بیشتر می‌باشد.

در مرحله دیالیز ماده پروتئینی بدست آمده از مرحله ته‌نشین سازی با سولفات آمونیوم، که در بافر فسفات سدیمmM ۱۰ حل و مورد آزمایش قرار گرفت. افزایش حجم داخل کیسه دیالیز بعد از انجام عمل دیالیز ثابت می‌کند که آب خالص وارد کیسه دیالیز شده و سولفات آمونیوم از آن خارج شده است. همچنین مشخص شد که حجم کیسه دیالیز در نظر گرفته شده باید بزگتر از حجم ماده ته‌نشین شده باشد. در طی انجام عمل دیالیز کیسه دیالیز باید بطور کامل در داخل بافر سدیم فسفات قرار گیرد چون در غیر این صورت کیسه ترک برمی‌دارد.

در انتها اثر ضدمیکروبی ماده خالص سازی شده بعد از عمل دیالیز مورد آزمایش قرار گرفت. از مهمترین نتایج این مرحله می‌توان به این نکته اشاره کرد که در طی آزمایش‌های فعالیت ضدمیکروبی که قبل از مرحله دیالیز انجام گرفته است مشخص شد که بعد از ٦-٨ ساعت اثر ضدمیکروبی کاملا" مشهود بوده ولی بعد از گذشت زمان اثر آن کم کم ناپدید شده و جای آنرا میکروارگانیسم‌های حساس می‌گیرند. در صورتیکه بعد از انجام مراحل خالص سازی و دیالیز نه تنها بعد از ٦-٨ ساعت بلکه حتی بعد از ٤٨ ساعت نیز این اثر ضدمیکروبی باقی می‌ماند.

در این مرحله برای ارزیابی خلوص باکتریوسین‌های بدست آمده و نیز تعیین وزن مولکولی آنها از روش الکتروفورز استفاده شد. لازم به ذکر است به علت وزن مولکولی کم نمونه‌های پروتئینی خالص سازی شده روش Tris-SDS-PAGE برای الکتروفورز انتخاب شد. نمونه‌ها به طور متوسط در طی ۲/٥ ساعت مسیر عمودی ژل را طی کردند. سپس این ژل توسط رنگ کوماسی آبی، رنگ آمیزی شد. در نهایت از هر ٤ نمونه آزمایش شده باندهایی در محدوده kDa ۱٥ بدست آمد و همچنین در سویه شماره ۲ و ۱۱ در ۲ وزن مولکولی متفاوت به ترتیب ٤٠ و ٥٠ kDa نیز باندهایی مشاهده شد.

باتوجه به نتایج بدست آمده از مراحل خالص سازی می‌توان به این نکته اشاره کرد که باکتریوسین‌های تولید شده از ٤ سویه لاکتوباسیل دارای وزن مولکولی در محدوده ۱٥، ٤٠ و ٥٠ kDa بودندو هر ٤ ماده ضدمیکروبی تولیدی از ٤ سویه، در دارای وزن مولکولی ۱٥ kDa مشترک بودند. ذکر این نکته ضروری است که نتایج بدست آمده از این آزمایش در توافق با آزمایشات انجام یافته توسط دیگر محققان است (متجاسیک و همکاران ۱۹۹۸؛ میر حسینی و همکاران ۲۰۰٦).

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه‌گیری

تعداد کم سویه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک که تولید باکتریوسین می‌کنند می‌تواند دلایل مختلفی داشته باشد که از این دلایل می‌توان شرایط محیطی آزمایشگاه، شرایط گرمخانه گذاری، میکروارگانیسم‌های حساس، روش‌های مورد استفاده در شناسایی خاصیت ضدمیکروبی سویه‌های جداسازی شده و حساسیت آنها را نام برد.

از آنجا که امروزه، استفاده از افزودن‌های طبیعی درصنایع غذایی، اهمیت فراوانی یافته است و فراورده‌های میکروبی باکتری‌های اسیدلاکتیک، نظیر پروتئین‌هایی باخواص ممانعت کنندگی رشد میکروارگانیسم‌ها، به عنوان نگهدارنده به وفور درتهیه غذاهای مختلف به کار می‌روند.

منابع مورد استفاده

Adetunji VO and Adegoke GO, 2007. Bacteriocin and cellulose production by lactic acid bacteria isolated from West African soft cheese. African Journal of Biotechnology 6: 2616-2619.

Barefoot SF and Nettles CG, 1993. Antibiosis revisited: Bacteriocins produced by dairy starter cultures. Journal of Dairy Sciences 76: 2366-2379.

Cheikhyoussef A, Pogori N, Chen H, Tian F, Chen W, Tang J and Zhang H, 2009. Antimicrobial activity and partial characterization of bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) produced by *Bifidobacteriuminfantis* BCRC 14602. Food Control 20: 553–559.

Contreras BGL, De Vuyst L, Devreese B, Busanyova K, Raymaeckers J, Bosman F, Sablon E andVandamme EJ, 1997. Isolation, purification, and amino acid sequence of lactobinA, one of the two bacteriocins produced by *Lactobacillus amylovorus* LMG P-13139." Applied and Environmental Microbiology 63: 13–20.

De Vuyst L and Leroy F, 2007.Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology 13: 194–199.

Ivanova I, Kabadjova P, Pantev A, Danova S and Dousset X, 2000. Detection, purification and partial characterization of a novel bacteriocin substance produced by *LactoccousLactis* subsp. Lactis B14 Isolated from Boza- Bulgarian traditional crealbeverage.Biocatalysis: Fundamentals & Applications 41: 47-53.

Karthikeyan V and Santhosh SW, 2009. Study of bacteriocin as a food preservative and the *L. acidophilus* strain as probiotic. Pakistan Journal of Nutrition 8: 335-340.

Kumar M, Tiwari SK and Srivastava S, 2009. Purification and characterization of enterocin LR/6, a bacteriocin from *Enterococcus faecium* LR/6. Applied Biochemistry and Biotechnology 160: 40-49.

Matijasic BB and Rogelj I, 1998.Bacteriocins of Lactobacillus LF221 strain. Scientific Symposium on Animal Microbiology- Slovenia 72: 113-121.

MirhosainiM, Nahvi I, Kasra Kemanshahi R and Tavassoli M, 2006. Isolation of bacteriocin producing *Lactococcuslactis* strain from dairy products. International Journal of Dairy Sciences 1: 51-56.

Mojgani N, Ismail Khanian S, Ameli M and Yusefi Amin A, 2006. Detection and characterization of a bacteriocin RN78 produced by Lactobacillus acidophilus strain Isolated from a cheese sample. Pajouhesh and Sazandegi (in Persian) 71: 36-42.

Pal V,Jamuna M and Jeevaratnam K, 2004. Isolation and characterization of bacteriocin producing lactic acid bacteria from a south Indian special dosa (Appam) batter. Journal of Culture Collections 4: 53-60.

Parada JL, Caron CR, Medeiros ABP and Soccol CR, 2007.Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Purification, Properties and use as Biopreservatives. Brazilian Archives of Biology and Technology 50: 521-542.

Archive of SID

www.SID.ir

Schägger H and Von Jagow G, 1987. Tricine-sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. Analytical Biochemistry 166: 368–379.

Sneath PHA, Mair NS and Holt JG, 1986. Berge's manual of systematic bacteriology, Vol (2). Williama& Wilkins, Baltimore.

Archive of SID

www.SID.ir