Archive of SID

بررسی تنوع کوکسیهای اسید لاکتیک تولید کننده باکتریوسین در برخی نمونه‌های لبنی غیرپاستوریزه

محبوبه میرحسینی[1*]، ایرج نحوی[2]، گیتی امتیازی[2] و منوچهر توسلی[2]

[1] تهران، دانشگاه پیام نور، گروه علمی زیست شناسی

[2] اصفهان، دانشگاه اصفهان، گروه زیست شناسی، بخش میکروبیولوژی

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۰/۲٤ تاریخ پذیرش: ۸۸/۶/۲۱

چکیده

در این تحقیق باکتریهای اسید لاکتیک تولید کننده باکتریوسین از محصولات لبنی(۳٤ نمونه جمع آوری شده از دامداریهای متفاوت) جداسازی شدند. نتایج نشان داد که ۹ جدایه از میان ۱۰۵ جدایه توانایی تولید باکتریوسین را داشتند. این ۹جدایه از نظر فنوتیپی و بیوشیمیایی به عنوان کوکسیهای اسید لاکتیک شناسایی و ماده ضدمیکروبی تولید شده توسط آنها با تریپسین و پروتئیناز k غیرفعال شد. این باکتریوسین‌ها در دامنه وسیعی از pH فعال هستند. باکتریوسین تولید شده نه تنها باکتریهای اسید لاکتیک دیگر را مهار می‌کند بلکه اثر مهاری روی *Listeria monocytogenese* دارد.

واژه های کلیدی: باکتریهای اسیدلاکتیک، باکتریوسین، کوکوس

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۳۷۳۰۸۹۵ ، پست الکترونیکی: m.mirhossaini@gmail.com

مقدمه

باکتریهای اسید لاکتیک گروه متنوعی از میکروارگانیسم ها هستند، که به صورت باکتریهای میله ای یا کوکوسهای گرم مثبت و بدون اسپور هستند. این باکتریها، اسید لاکتیک را به عنوان محصول اصلی حاصل از تخمیر هیدراتهای کربن تولید می‌کنند. به صورت سنتی باکتریهای اسید لاکتیک شامل ٤ جنس: *Lactobacillus*، *Leuconosto*، *Pediococcus* و *Streptococcus* هستند. امروزه چندین جنس جدید در گروه باکتریهای اسید لاکتیک درطبقه بندی جدید قرارمی‌گیرند. بدین صورت که جنس *Streptococcus* به چندین جنس *Enterococcus* ، *Lactococcus* ، *Streptococcus* و *Vagococcus* تقسیم بندی می‌شود (۱۷ و ۱۸). دردو دهه گذشته مطالعات وسیعی در مورد استفاده از باکتریهای اسید لاکتیک برای کنترل و از بین بردن میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی انجام شده است. باکتریهای اسید لاکتیک نقش مهمی در تخمیر غذاها بازی می‌کنند. آنها اکثر ترکیبات ضدمیکروبی مثل اسیدلاکتیک، اسید استیک، دی استیل، پراکسیدهیدروژن، دی اکسیدکربن، الکل، آلدهید و باکتریوسین‌ها را تولید می‌کنند. همه این مواد اثر مهاری بر رشد باکتریهای بیماریزا و جوانه زنی اسپورها در غذاها دارند. از میان آنها باکتریوسین‌ها به علت پتانسیل کاربرد به عنوان محافظ غذایی توجه زیادی را به خود جلب نموده است (۱، ۳ و ۱۷). بیشتر باکتریوسین‌های تولید شده توسط باکتریهای اسید لاکتیک طیف مهاری محدودی دارند در حالی که تعدادی از باکتریوسین‌ها مانند نایسین و پدیوسین در برابر تعداد وسیعی از باکتریها مثل *Listeria monocytogenese* یا بعضی از باکتریهای گرم مثبت دیگر فعال هستند. به طور کلی برای نگهداری مواد غذایی می توان کشت سویه باکتری اسید لاکتیک تولید کننده باکتریوسین و یا باکتریوسین خالص را به محصولات غذایی اضافه کرد(۱).

www.SID.ir

Archive of SID

این ممانعت کننده‌های پروتئینی توجه زیادی را به خود جلب کرده است و نتایج این توجه و علاقه منجر به کشف و توصیف انواع مختلف باکتریوسین‌ها از باکتریهای اسید لاکتیک شده است. باکتریوسین‌ها به طورکلی در ٤ کلاس مجزا قرار می‌گیرند. شامل: کلاس I: خانواده لنتی بیوتیکها- این دسته شامل باکتریوسین های کوچک است که ازیک یا دو پپتید که وزن مولکولی آنها تقریباً سه کیلو دالتون می باشد. ویژگی غیر معمول این گروه، تغییرات پس از ترجمه در این پروتئینها و ایجاد اسیدهای آمینه غیر معمول لنتی یونین، بتا متیل لنتی یونین و اسید های آمینه دهیدراته در این گروه است. نایسین و لاکتیسین هر دو متعلق به این خانواده هستند و دامنه وسیعی از باکتریهای گرم مثبت را مهار می‌کنند. کلاسII : شامل پپتید های کوچک غیر تغییر یافته اند. کلاس III : شامل پپتید های بزرگ حساس به حرارت هستند. (۲، ۳، ۵، ۹، ۱۰، ١٤ و ١٧) کلاس IV : شامل باکتریوسین های پیچیده هستند (۲ و ١٧). در این تحقیق جداسازی باکتریهای اسید لاکتیک از مواد لبنی و همچنین تولید مواد باکتریوسین مانند در این جدایه‌ها، مورد بررسی قرار گرفت، تا تنوع و پراکندگی این باکتریها بررسی شود.

مواد و روشها

جداسازی باکتریهای اسید لاکتیک: برای جداسازی باکتریهای اسید لاکتیک از ٣٤ ماده لبنی (شیر- از دامداریها و گاوهای متفاوت-، ماست و پنیر غیر پاستوریزه) استفاده شد. ۱۰ گرم یا ۱۰ میلی لیتر از هر یک از نمونه ها با ۹۰ میلی لیتر از سرم فیزیولوژی به طور کامل مخلوط واز آن سری رقت تهیه شد. از رقت 10^{-4} از هر یک از نمونه ها بر روی پلیتهای MRS آگار (*Lactobacillus* Agar Sharpe acc. to De Man, Rogosa and) به صورت چمنی کشت داده شد و پلیتها به مدت ۷۲ ساعت به صورت بی هوازی با استفاده از گاز پک نوعA و جار بی هوازی در انکوباتور ۳۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس ۸ میلی لیتر از محیط کشت BHI حاوی ۰/٦ درصد آگار که با cell/ml 10^{6} از *Listeria monocytogenes* PTCC19112 ، *Bacillus cereus* PTCC1015، *Lactococcus lactis* ATCC19435، *Streptococcus epidermis* PTCC1114، *Lactobacillus plantarum* PTCC1058 و *Micrococcus luteus* PTCC1169 به عنوان سویهٔ معرف تلقیح شده بود بر روی این پلیتها اضافه گردید و پس از انکوباتور گذاری در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ٢٤ ساعت پلیتها برای ایجاد هالهٔ عدم رشد در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت (٦). باکتریهایی که هاله عدم رشد تشکیل داده بودند، جداسازی و به روش کشت خطی روی پلیتهای MRS آگار خالص سازی شدند، باکتریهای گرم مثبت، کاتالاز منفی، اکسیداز منفی و حرکت منفی به عنوان کوکسیهای اسیدلاکتیک برای آزمایشهای بعدی انتخاب شدند (۷ و ۸).

بررسی تولید باکتریوسین در جدایه‌ها:

۱ - روش نقطه ای: الف) استفاده از روش نقطه ای در غیاب قند و اکسیژن: هر کدام از کلنیهای رشد کرده روی پلیتهای MRS آگار به محیط مایع MRS منتقل و به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور ۳۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. دو میکرو لیتر از هریک از لوله‌ها به صورت نقطه‌ای بر پلیتهای TSAYE (TSA without Glucose + 0.5% Yeast Extract) آگار کشت داده شد و به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور ۳۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس ۸ میلی لیتر از محیط کشتBHI حاوی ۰/٦ درصد آگار که با cell/ml 10^{6} از *Listeria monocytogenes* به عنوان سویهٔ معرف تلقیح شده بود بر روی این پلیتها اضافه شد و پس از انکوباتور گذاری در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ٢٤ ساعت به صورت بی هوازی پلیتها برای ایجاد هالهٔ عدم رشد در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت (٦)

۲- روش استفاده از مایع رویی (ارزیابی تولید باکتریوسین): کلنیهایی که در مرحلهٔ قبل جدا شده بودند

www.SID.ir

Archive of SID

به محیط MRS برات منتقل و به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور ۳۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. سپس محیطهای کشت با سرعت rpm ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند و مایع رویی این لوله‌ها جدا شد. بعد pH مایع رویی با استفاده از NaOH ۵ مولار روی ٦/٥ تنظیم و این مایع رویی در ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه حرارت داده شد. سپس مایع رویی با فیلتر ۰/٤٥ میکرون فیلتر گردید. اضافه کردن سود و فیلتر کردن برای حذف اثر مهاری اسید و هر موجود زنده صورت گرفت، بدین طریق مایع رویی خنثی شده به دست آمد. ۲۰ میکرولیتر از مایع رویی خنثی شده و مایع رویی خنثی نشده به صورت نقطه ای به پلیتهای حاوی ۸ میلی لیتر از محیط کشت BHI ۰/٦ درصد آگار که قبلاً با 10^6cell/ml از *Listeria monocytogenes* به عنوان سویهٔ معرف تلقیح شده بود، اضافه و به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور ۳۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس پلیتها برای ایجاد هالهٔ عدم رشد در سه تکرار بررسی شدند (٦، ۷ و ۸). شاهد منفی محیط کشت MRS برات + NaOH ۵ مولار + ۵ دقیقه حرارت در ۱۰۰ درجه سانتی گراد بود.

۳- بررسی اثر آنزیمهای مختلف روی فعالیت ضد میکروبی: برای بررسی اثر آنزیمها روی فعالیت باکتریوسین، آنزیمهای پپسین (pH 3)، پروتئینازK و تریپسین (pH 7) در غلظت نهایی ۱ میلی گرم بر میلی لیتر استفاده شد. به ۲۰۰ میکرولیتر از مایع رویی خنثی شده از جدایه‌ها، ۲۰ میکرولیتر از محلول آنزیمهای پروتئیناز k ، تریپسین و پپسین اضافه شد. سپس محلول به مدت ۲ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. محلولها در ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه حرارت داده شدند، تا اثر آنزیم ها از بین برود. سپس فعالیت ضد میکروبی محلول ها به روش قبلی (نقطه‌ای) در سه تکرار بررسی گردید (نایسین از شرکت زیگما آلدریچ به عنوان کنترن مثبت) (٦، ۷، ۱۱، ۱۲ و ۱۵).

٤- تعیین اثر درجه حرارت روی فعالیت ضد میکروبی: برای تعیین اثر درجه حرارت روی فعالیت باکتریوسین ، مایع رویی کشت به روش قبلی تهیه شده است در۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه و همچنین ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه (درجه حرارت اتوکلاو) حرارت داده شد و اثر مهاری آن به روش قبلی بررسی گردید (نایسین به عنوان کنترل مثبت مورد استفاده قرار گرفت) (٦، ۷ و ۱۵).

۵- بررسی اثر pH روی فعالیت ضد میکروبی: برای بررسی اثرpH روی فعالیت باکتریوسین pH مایع رویی محیط کشت بین ۲ تا ۱۲ با استفاده از NaOH ۵ مولار و HCl ۵ مولار تنظیم و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. سپس فعالیت ضد میکروبی آن به روش قبلی بررسی گردید. برای کنترل محلول مایع رویی تیمار شده با پروتیینازk و نایسین که pH آنها با استفاده از NaOH و HCl بین ۲ تا ۱۲ تنظیم شده بود، استفاده شد (٦، ۷ و ۱۳).

٦- بررسی تولید آب اکسیژنه (H_2O_2): برای بررسی تولید H_2o_2 باکتریها روی پلیتهای MRS اگار حاوی ۵ میلی گرم تترامتیل بنزیدین (TMB) و ۰/۲ میلی گرم آنزیم پراکسیداز کشت داده شدند. پراکسیداز باعث ایجاد O_2 از H_2O_2 تولید شده توسط *Enterococci* می‌شود و TMB در حضور O_2 کلنیها را به رنگ آبی در می آورد. پلیتها به مدت ٤٨ ساعت در حضور ۵ درصد CO_2 انکوبه گذاری شدند. کلنیهایی که قدرت تولید H_2O_2 را دارند، بعد از ٤٨ ساعت آبی رنگ می‌شوند. این آزمایش با سه تکرار انجام شد و به عنوان شاهد مثبت *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356 که تولید کننده H_2O_2 به کار برده شد (٤).

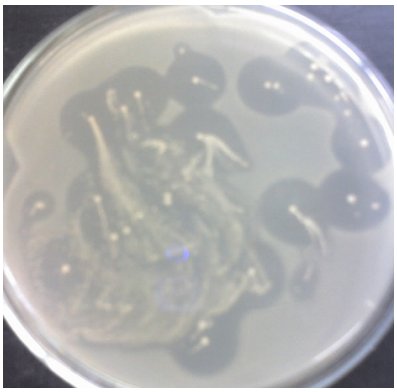
نتایج

۱)جداسازی و بررسی اثر ضد میکروبی: نتایج نشان داد که از ۳٤ نمونه گرفته شده از ماده لبنی غیر پاستوریزه ۱۰۵ کلنی متفاوت روی پلیتهای MRS آگار رشد کرده بود که از

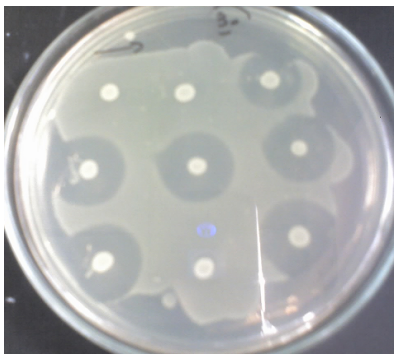
www.SID.ir

Archive of SID

این ۱۰۵ کلنی ۳۹ کلنی بر روی سویه‌های معرف اثر مهاری نشان داده بودند(شکل ۱). بعد اثر مهاری این ۳۹ کوکسی ، گرم مثبت و کاتالاز منفی به روش نقطه‌ای در مقابل *Listeria monocytogenes* بررسی شد، زیرا این سویه حساسیت بیشتری نسبت به سویه‌های معرف دیگر نشان داده بود. نتایج نشان داد که در شرایط عدم حضور قند و اکسیژن، یعنی شرایطی که اثر تولید اسید و آب اکسیژنه به حداقل ممکن می‌رسد، تنها ۱۱ جدایه از ۳۹ جدایه اثر مهاری بر *Listeria monocytogenes* داشتند. به عنوان شاهد اثر مهاری *Lactococcus lactis* PTCC1403 در همین شرایط بررسی شد. نتایج نشان داد تنها در شرایط حضور قند و اکسیژن این سویه بر روی *Listeria* اثر مهاری نشان داد (شکل ۲).



شکل۱- جداسازی باکتریهای اسیدلاکتیک از مواد لبنی



شکل۲- بررسی اثر ضد میکروبی جدایه‌ها بر روی *Listeria monocytogenese* به روش نقطه‌ای

۲) ارزیابی تولید باکتریوسین: نتایج نشان داد (جدول۱) ۹ تا از این ۱۱ باکتریها بر روی این باکتری اثر مهاری داشتند و هاله عدم رشد تشکیل دادند. بنابراین از کل ۱۰۵ جدایه تنها ۹ باکتری قادر به تولید باکتریوسین بودند.

۳- بررسی اثر آنزیمهای مختلف روی فعالیت ضد میکروبی: برای تأیید پروتئینی بودن اثر مهاری مشاهده شده، اثر آنزیمهای پروتئازی پپسین، پروتئیناز k و تریپسین روی آن بررسی گردید. نتایج نشان داد که اثر مهاری جدایه‌ها توسط این آنزیمها از بین رفت. این تأییدی بر پروتئینی بودن عامل مهاری مشاهده شده در این جدایه‌ها است. بر اساس نتایج به دست آمده از نظر اثر آنزیم، جدایه‌ها به ۲ گروه متفاوت تقسیم می‌شوند. ۱- جدایه‌های ۱، ۲، ۱٦، ۱۷ و ۲۹ که تحت تأثیر آنزیمهای پروتئیناز k و تریپسین اثر مهاری خود را از دست دادند. ۲- جدایه‌های ۵، ۱۸و ۱۹ که تحت تأثیر هر ۳ آنزیم اثر مهاری خود را از دست دادند (جدول۲).

٤- تعیین اثر درجه حرارت روی فعالیت ضد میکروبی: برای تعیین پایداری اثر مهاری مشاهده شده اثر درجه حرارت بالا روی فعالیت ضدمیکروبی مشاهده شده بررسی شد. نتایج نشان داد که از نظر مقاومت حرارتی جدایه‌ها در ٤ گروه قرار گرفتند. ۱- جدایه ۱ و ۲ مقاوم به حرارت. ۲- جدایه ۱٦،۱۷ و ۱۹ که نسبتاً به حرارت پایدار بودند. ۳- جدایه ۲۹ که پایداری حرارتی کمی داشت. ٤- در نهایت جدایه‌های ۵ و ۱۸ که نسبت به حرارت حساس بودند (جدول ۲).

۵ - بررسی اثر pH روی فعالیت ضد میکروبی: برای تعیین اثر pH پایداری اثر مهاری مشاهده شده روی فعالیت ضد میکروبی مشاهده شده بررسی گردید. نتایج نشان داد که، اثر مهاری مشاهده شده در شرایط قلیایی و اسیدی پایدار است (جدول ۲).

٦ - بررسی تولید آب اکسیژنه (H_2O_2): برای اطمینان بیشتر از حذف اثر آب اکسیژنه، تولید آب اکسیژنه مورد

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که، هیچ کدام از جدایه‌ها تولید آب اکسیژنه نمی‌کردند.

جدول۱- بررسی تشکیل هاله عدم رشد در مقابل *Listeria* به روش نقطه ای و استفاده از مایع رویی

جدایه‌ها	انواع کلنی های جداشده	تشکیل هاله عدم رشد در شرایط غیاب قند و اکسیژن	تشکیل هاله عدم رشد در شرایط استفاده از مایع رویی (شاهد)	تشکیل هاله عدم رشد در شرایط استفاده از مایع رویی خنثی شده
۱	۱	+	+	+
	۳	−	−	−
۲	۱	+	+	+
٤	۱	+	−	−
٥	۱	+	+	+
٦	۱	−	−	−
	۳	−	−	−
۱۱	۱	−	−	−
۱۲	۱	−	−	−
	٤	−	−	−
۱۳	۱	−	−	−
	۳	−	−	−
	٤	−	−	−
۱٤	۱	−	−	−
۱٥	۱	−	−	−
۱٦	۱	+	+	+
	٥	−	−	−
۱۷	۱	+	+	+
۱۸	۲	−	−	−
	٤	+	+	+
۱۹	۲	+	+	+
	۳	−	−	−
۲۰	۱	−	−	−
	۲	−	−	−
۲۱	۱	+	+	+
	۲	−	−	−
	۳	−	−	−
۲۲	۱	+	خیلی ضعیف	خیلی ضعیف
۲۳	۲	−	−	−
	٥	−	−	−
	٦	−	−	−
۲٤	۲	−	−	−

www.SID.ir

Archive of SID

	۳	–	–	–
۲۶	۱	–	–	–
۲۷	۱	–	–	–
۲۸	۲	–	–	–
۲۹	۱ ۲	– +	– +	– +
۳۰	۳	–	–	–
۳۱	۱	–	–	–
	L. lactis	–	–	–

جدول ۲- بررسی اثر آنزیمهای پروتئازی، pH و حرارت روی فعالیت باکتریوسین‌ها در مقابل روی *Listeria*

جدایه‌ها	پروتئناز K	پپسین	تریپسین	pH3	pH5	pH7	pH9	pH12	۱۰۰C ۱۰min	۱۰۰ C ۲۰min	۱۰۰C ۳۰min	درجه حرارت اتوکلاو
نایسین	+	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–
۱	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
۲	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
۵	+	+	+	–	–	–	–	–	–	+	+	+
۱۶	+	–	+	–	–	–	–	+	–	–	–	+
۱۷	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	+
۱۸	+	+	+	–	–	–	–	–	+	+	+	+
۱۹	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	+
۲۱	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	+
۲۹	+	–	+	–	–	–	–		–	–	+	+

بحث

این روزها مصرف‌کنندگان به دنبال، غذاهایی با کیفیت بالا، بدون مواد محافظ شیمیایی و سالم هستند. همچنین قانون غذا استفاده از تعدادی محافظهای شیمیایی را در غذاهای مختلف محدود کرده است، زیرا این مواد مسائل و مشکلهای زیادی را برای صنعت غذایی و سلامت افراد استفاده کننده ایجاد کرده است. امروزه بحثهایی در مورد مواد ضدمیکروبی جدید برای کاربرد در سیستمهای نگهداری غذا وجود دارد. این عوامل می‌تواند به عنوان محافظ غذایی در مقابل پاتوژنهای عامل فساد در غذا به کار برده شود. جستجوی تکنولوژیهای جدید مورد استفاده در صنایع غذایی، مصرف مواد تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها را مورد توجه قرار داده است. در میان این مواد باکتریوسین‌ها سزاوار توجه ویژه هستند. این مولکولها در رده محافظهای زیستی قرار می‌گیرند. در دو دهه اخیر تلاشهای زیادی برای جداسازی میکروارگانیسمهای ایمن تولیدکننده باکتریوسین صورت

www.SID.ir

Archive of SID

گرفته است که منجر به شناسایی باکتریهای مختلف مولد باکتریوسین شده است. بعضی از این باکتریها در گروه باکتریهای اسیدلاکتیک قرار می‌گیرند (۱ و ۳).

در این تحقیق جداسازی باکتریهای اسید لاکتیک از مواد لبنی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که تنها ۹ تا از این ۱۰۵ جدایه، تولید کننده باکتریوسین بودند (جدول۲). در کل نتایج نشان داد که باکتری تولید کنندهٔ باکتریوسین به فراوانی در مواد لبنی وجود دارد و مواد لبنی به عنوان اکوسیستم طبیعی برای آنها است که این نتایج مطابق با نتایج به دست آمده توسط اولاساپو و همکاران (۱۹۹۹)، کو وهمکاران (۲۰۰۰) است (٦ و ٨). این نتایج نشان داد که در کل از ۱۰۵باکتری جداسازی شده ۹ باکتری تولید کنندهٔ باکتریوسین بودند که این یعنی تقریباً ۱۰ درصد از کل باکتریهای جدا سازی شده تولید کنندهٔ باکتریوسین بودند که این خیلی بیشتر از مورد گزارش شده توسط اولاساپو و همکاران (۱۹۹۹) است (٦). همچنین فعالیت مهاری جدایه‌ها توسط روش نقطه‌ای در مقابل *L. monocytogenes* و *L. lactis* ATCC19435 تأیید شده است. تولید باکتریوسین توسط باکتریهای اسیدلاکتیک به طور فراوان گزارش شده است (٦، ٨، ٩، ١٤، ١٦ و ١٧). باکتریوسین تولید شده از باکتریهای اسیدلاکتیک می‌تواند به عنوان یک محافظ زیستی اضافی که از رشد *Listeria* جلوگیری می‌کند، مورد توجه قرار گیرد (۱، ۲، ۵ و ۱۰). در این مطالعه پایداری مواد ضدمیکروبی تولید شده توسط جدایه‌ها در شرایط مختلف آزمایش شده است. باکتریوسین تولید شده توسط اکثر جدایه‌ها در مقابل حرارت پایدار بودند. بنابراین این خصوصیت آنها را برای کاربرد به عنوان محافظ مواد غذایی مناسب می‌کند زیرا ممکن است در ضمن ساخت، بسته‌بندی و نگهداری مواد غذایی مرحله گرما دهی وجود داشته باشد. این باکتریوسین‌ها همچنین در دامنه وسیعی از pH پایدارند که این ویژگی نیز ممکن است در غذاهای اسیدی و قلیایی مناسب باشد. باکتریوسین‌های تولید شده توسط همه جدایه‌ها توسط پروتیناز k غیر فعال شدند که این تأییدی بر پروتئینی بودن آنها است. همچنین نشان می‌دهد این باکتریوسین‌ها به راحتی توسط آنزیمهای گوارشی تجزیه می‌شوند.

منابع

1. Abee,T., Krockel, L and Hill, C. 1995. Bacteriocins, mode of action and potentials in food poisoning. Int. J. Food. Microbiol, 28, 168-185.
2. Auliffe, O. M., Ross. R. P., and Hill, C. 2001. Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action. FEMS Microbiol, Rev, 25, 285-308.
3. Chen, H., and Hoover, D. G. 2003. Bacteriocins and their food applications. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf, 2, 82-100.
4. Felten, A., and et al. 1999. *Lactobacillus* species identification, H_2O_2 production, and antibiotic resistance and correlation with human clinical status. J. Clin. Microbiol, 37, 729-733.
5. Guinane, C. M., Cotter, P. D., Hill. C., and Ross, R. P. 2005. Microbial solutions to microbial problems; lactococcal bacteriocins for the control of undesirable biota in food. J. Appl. Microbiol, 98, 1316–1325.
6. Ko, S. H. and Ahn, C. 2000. Bacteriocin production by *Lactococcus lactis KCA 236* isolated from white Kimchi. Food Sci. Biotech, 9, 263-269.
7. Nandakumar, R., Nandakumar, M. P. and Mattiasson, B. 1999. Quantification of nisin in flow-injection immunoassay system. Biosensors Bioelectron, 15, 241-247.
8. Olasapo, N. A., Shllinger, U. and et al. 1999. Occurrence of nisin z production in *Lactococcus lactis BFE 1500* isolated from wara, a traditional Nigerian cheese product. Int. J. Food Microbiol, 53, 141-152.
9. Papathanasopoulos, M. A., Dykes, G. A., Revol-Junelles, A. M., Antoine Delfour, A. M., Holy. A. V., and Hastings. J. W. 1998. Sequence and structural relationships of leucocins A-, B- and C-TA33a from *Leuconostoc mesenteroides TA33a*. Microbiology, 144, 1343–1348.
10. Ross, R. P., Morgan, S., and Hill, C. 2002. Preservation and fermentation: past, present and future. Int. J Food Microbiol, 79, 3 – 16.

www.SID.ir

Archive of SID

11. Schllinger, U. and Lucke, F. K. 1989. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. Appl. Environ. Microbiol, 55, 1901-1906.

12. Schillinger, U. and Luck, F. K. 1987. Identification of *Lactobacilli* from meat and products. Food Microbiol, 4, 199-208

13. . Schillinger, U., Stiles, M. E. and Holzaptel, W. H. 1993. Bacteriocins production by *Carnobacterium piscicola LV61*. Int. J Food Microbiol, 20, 131-147.

14. Stiles, M. E. 1994. Bacteriocins Produced by *Leuconostoc* Species. J Dairy Sci, 77, 2718-2724.

15. Tichaczek, P. S., Meyer, J. N., Ness, I. F. and Vogel, R. F. 1992. Characterization of the bacteriocins curvacin a from *Lactobacillus curvatus LTH673*. Syst. Appl. Microbiol, 15, 460-468.

16. Uhlman, L., Shilinger, U., Rupnow, J. R. and Holzanpfel, W. H. 1992. Identification and characterization of two bactericin-production strains of *Lactococcus lactis* isolated from vegetables. Int. J. Food Microbiol, 16, 141-151.

17. van den Hooven, H. W., Lagerwerf, F. M., Heerma, W., Haverkamp, J., Piard, J. C., Hilbers, C. W., Siezen, R. J., Kuipers, O. P., and Rollema, H. S. 1996. The structure of the lantibiotic lacticin 481 produced by *Lactococcus lactis:* location of the thioether bridges. FEBS Lett, 391, 317-322.

18. Wijaya, A. 2003. Investigation into the influence of a bacteriocin-producing *Enterococcus* strain on the intestinal microflora. PhD thesis. University of Karlsruhe. Germany. 1-131.

Isolation bactericin producing Lactic acid cocci from some non pasteurized dairy products

Mirhissieni M. Nahvi I. , Emtiazi G and Tavassoli M.

[1] Biology Dept., Payam e Noor University, Tehran, I.R.of IRAN

[2] Biology Dept., Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, I.R. of IRAN

Abstract

Screening for bacteriocin production by strains of lactic acid bacteria (LAB) from local dairy products in Iran resulted in detection of nine strains bacteriocin producing strains. Among 105 isolates, nine bacteriocin producer were phenotypically and biochemically identified as Lactic acid cocci. The anti-microbial compounds produced by these novel strains were inactivated by trypsin, proteinase k. These bacteriocins also were active in wide range of pH and wide range of temperature. bacteriocins produced inhibited not only the closely retaliated LABs, but also *Listeria monocytogenes*

Keywords: Lactic acid bacteria, bacteriocin, cocci

www.SID.ir