خصوصیات لاکتوباسیل پلانتاروم جدا شده از سوسیس در ایران

جمیله نوروزی .Ph.D☆♦، مهدی میرزایی .M.Sc☆

☆ دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، گروه میکروب‌شناسی

♦آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی ۶۱۸۳-۱۴۱۵۵، دانشگاه علوم پزشکی ایران
دانشکده پزشکی، گروه میکروب‌شناسی

چکیده

دریافت مقاله: ۸۲/۱/۲۳، پذیرش مقاله: ۸۳/۲/۶

* **هدف:** بررسی جداسازی، رشد، فعالیت ضدمیکروبی، اثر pH، حرارت، حساسیت در برابر آنزیمهای پروتئولیتیک لاکتوباسیل‌ها

* **مواد و روشها:** جداسازی لاکتوباسیلها با استفاده از یک گرم سوسیس در محیط MRS انجام شد. لاکتوباسیلهای بدست آمده بوسیله آزمایشهای بیوشیمیایی و مقایسه الگوی تخمیری قندها شناسایی گردیدند. فعالیت ضدمیکروبی لاکتوباسیل پلانتاروم با روش نقطه گذاری، ایجاد چاهک و دیسک بلانک انجام شد. پایداری فعالیت ضدمیکروبی این باکتریها در آب جوش و حرارت اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه اندازه گرفته شد. حساسیت مایع سطحی وکشت غلیظ فاقد سلول آن بعد از اثر دادن با آلفا آمیلاز، لیزوزیم و تریپسین تعیین شد.

* **یافته‌ها:** باکتریهای جدا شده شامل لاکتوباسیل پلانتاروم، لاکتوباسیل دلبروکی، لاکتوباسیل اسیدوفیلوس، لاکتوباسیل برویس بودند که فعالیت ضد باکتری قوی در برابر باکتریهای پاتوژن داشتند. فعالیت ضد باکتری لاکتوباسیل پلانتاروم در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و در ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه پایدار بود اما فعالیت آنها بعد از اتوکلاو کردن از بین رفت. باکتریوسین این لاکتوباسیل‌ها در ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد در pH برابر ۶/۵ به مقدار حداکثر تولید شد.

* **نتیجه‌گیری:** اگر لاکتوباسیل‌هایی که برای روند تخمیر غذا به‌کار می‌روند، باکتریوسین پایدار در برابر حرارت را تولید کنند، پس آنها می‌توانند به عنوان باکتریهای پروبیوتیک مورد استفاده قرار گیرند. لاکتوباسیل‌هایی که از فرآورده‌های گوشتی جدا شده‌اند، بهترین کاندیدا برای باکتریها پروبیوتیک جهت بهبود و سلامت غذا هستند.

گل واژگان: لاکتوباسیل‌ها، پروبیوتیک، فعالیت ضدمیکروبی

مقدمه

اصطلاح پروبیوتیک، اولین بار توسط فولر (۱) به عنوان میکروارگانیزمهایی به‌کار برده شد که در غذا به منظور برقراری سلامت به‌کار رفت. سابقه تاریخی کشتهای پروبیوتیک با کشت شیر و فرآورده‌های لبنی در ارتباط بوده که شواهدی را برای اثبات سلامت انسان فراهم نموده‌اند (۲).

پروبیوتیکها نه فقط به عنوان مکمل‌های غذایی یا دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند بلکه در تهیه غذاهای دیگری مانند فرآورده‌های لبنی، آب میوه‌ها، شکلاتها و حتی فرآورده‌های گوشتی به‌کار می‌روند. میکروارگانیزمی می‌تواند به عنوان پروبیوتیک مورد توجه قرار گیرد که قادر به عبور از معده و روده بوده و در مجرای گوارشی تکثیر یابد و همچنین با تولید متابولیتهای آنتاگونیستی با میکروفلور ساپروفیت رقابت کند. این توانایی در بین باکتریهای اسیدلاکتیک مانند لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکتریها شایع است (۳).

چندین بررسی آزمایشگاهی برای نشان دادن حالت آنتاگونیستی گونه‌های مختلف لاکتوباسیل‌ها در برابر هلیکوباکتر پیلوری، کلوستریدیوم دیفیسیل، کمپیلوباکتر ججونی و E.coil انجام شده است. تمام لاکتوباسیل‌های جدا شده از انسان قادر به ممانعت از رشد پاتوژنهای بی‌هوازی موجود در مجرای گوارشی انسان بودند (۴). فعالیت آنتاگونیستی با تولید اسیدهای آلی و موادی مشابه باکتریوسین ارتباط دارد. اسیدهای آلی در فرآورده‌های لبنی به دلیل مغذی بودن و همچنین تغییر در طعم و بوی غذا مورد توجه هستند. این مواد، فرآورده‌های عمده‌ای از کاتابولیسم کربوهیدراتی موجود در شیر بوده که توسط باکتریهای غیر آغازگر تولید می‌شوند (۵).

باکتریهای پروبیوتیک برای تهیه فرآورده‌های لبنی تخمیری نظیر ماست یا سوسیس به‌کار می‌روند. چندین اثر مثبت با خوردن پروبیوتیکها مانند تسکین عدم تحمل لاکتوز و افزایش ایمنی در انسان گزارش شده است. برخی از بررسیها، نقش پروبیوتیکها را در کاهش خطر ابتلا ناشی از روتاویروس و سرطان روده بزرگ نشان داده است (۶). لاکتوباسیل کازه‌ای در حالت زنده در فرآورده‌های لبنی تخمیری موجود بوده و برای انسان سودمند است (۷).

غذاهای گوناگونی از جمله فرآورده‌های لبنی ممکن است با آلفا توکسین آلوده بوده که حتی در مقدار بسیار کم برای سلامت انسان و حیوان مضر هستند. لاکتوباسیل‌ها قادرند به آلفا توکسین موجود در غذا چسبیده و آن را تجزیه کنند. به همین علت، نژادهای انتخابی از این باکتریها در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۸).

برای تولید سوسیس تخمیری گاهی مواد خام طبیعی آلوده است. بنابراین، نقش مهم باکتریهای اسید لاکتیک، رقابت با باکتریهای آلوده کننده است. فعالیت مهاری این باکتریها با تولید اسیدهای آلی، دی اکسید کربن، سوپر اکسید اکسیژن، دی استیل و سنتز باکتریوسین ارتباط دارد (۹). مواد ضدمیکروبی تولید شده توسط این باکتریها، نقش اساسی در سلامت و افزایش نیمه عمر این فرآورده‌ها به عهده دارد. پیشنهاد شده است که باکتریهای اسیدلاکتیک تولید کننده باکتریوسین‌ها، برای نگهداری غذاهای تخمیری مورد استفاده قرار گیرند (۱۰). به علاوه، باکتریوسین‌ها خصوصیات ضدتوموری و فعالیت ضدکلسترولی دارند. واکنشهای شیمیایی آنها با احیای نیترات، حالت ایمونولوژی فرد و جذب ویتامین‌های گروه B همراه است (۱۱). باکتریهای اسید لاکتیک در مجرای گوارشی قارد به تولید آنزیمها و مواد دیگری در روده هستند که به کنترل فلور روده کمک می‌کنند (۱۲). فعالیت آنتی اکسیدانتیو باکتریهای اسیدلاکتیک نیز گزارش شده است (۱۳).

به علت اثر مهاری، لاکتوباسیل‌های پروبیوتیکی می‌توانند به عنوان نگهدارنده بیولوژیکی مورد استفاده قرار گیرند، بنابراین، هدف از این پژوهش، بررسی جداسازی، رشد، فعالیت ضدمیکروبی، اثر pH، حرارت، حساسیت در برابر آنزیمهای پروتئولیتیک لاکتوباسیل‌ها بوده است.

مواد و روشها

روشهای به کار رفته در این پژوهش، بر طبق Rekhif و همکاران (۱۴) و Kelly و همکاران (۱۵) بوده است.

* جدا سازی

جداسازی باکتریهای اسیدلاکتیک از سوسیس خریداری شده به طور تصادفی از مغازه‌ها با مارکهای متفاوت از کارخانه‌های مختلف با به کار بردن محیط کشت MRS انجام شد. به طور خلاصه، یک گرم از سوسیس با محیط کشت مایع MRS مخلوط شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. مایع MRS بر روی پلیت آگار MRS، کشت خطی داده شد. هر کلنی که شامل باکتریهای میله‌ای شکل، گرم مثبت، واکنش کالاتاز و اکسیداز منفی بودند با مقایسه الگوی تخمیری قندها بر اساس کتاب Bergey (۱۶) شناسایی شدند.

برای انجام آزمایشهای بعدی، لاکتوباسیل‌ها در محیط مایع یا جامد MRS رشد داده شدند. یک میلی‌لیتر از کشت لاکتوباسیل که یک شب از رشد آن گذشته بود به ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع MRS اضافه شد و در ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۳۷، ۴۰ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌هایی در فواصل منظم برای تعیین کدورت (در ۶۶۰ نانومتر)، pH و فعالیت ضدمیکروبی برداشته شد. این آزمایش با محیط کشت مایع که pH آن از ۲ تا ۱۲ با کلرورسدیم یا اسیدکلرهیدریک تنظیم شده بود تکرار شد. pH اولیه و انتهایی تمام نمونه‌ها اندازه گرفته شد.

۲۰۰ میکرولیتر از مایع سطحی کشت در بن‌ماری به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده و به سرعت روی یخ سرد شد. رقتهایی از مایع سطحی با N/۲۰ اسیدکلرهیدریک تهیه شد و ۱۰ میکرولیتر از هر رقت روی محیط جامد که با باکتریهای معرف کشت داده شده بود به صورت نقطه‌ای ریخته شد. کشت‌ها به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند.

* اثر غلظت‌های متفاوت قند و کلرور سدیم بر روی تولید باکتریوسین

لاکتوباسیل‌های جدا شده در محیط کشت مایع MRS بدون عصاره گوشت همراه با غلظت متفاوت گلوکز، گزیلوز، ساکاروز، فروکتوز،

گالاکتوز، مالتوز و کلرور سدیم کشت داده شد. سپس، فعالیت آنها در برابر باکتریهای معرف مورد بررسی قرار گرفت.

* تهیه مایع سطحی کشت

برای تهیه مایع سطحی کشت، باکتریهای تولیدکننده باکتریوسین در محیط مایع MRS به مدت ۲۴ ساعت در ۲۵ درجه سانتی‌گراد رشد داده شد. محلول فاقد سلول با سانتریفوژ کردن بدست آمد. سپس، بوسیله کاغذ فیلتر با منفذ ۰/۲ میکرومتر فیلتر شد. مایع محلول در pH برابر ۶/۵ تنظیم شد یا به مدت ۲۴ ساعت در محیط مایع MRS در ۴ درجه سانتی‌گراد در دیالیز شد.

* فعالیت ضدمیکروبی

برای مشاهده فعالیت ضدمیکروبی از روش نقطه‌گذاری، ایجاد چاهک و دیسک بلانک استفاده شد.

در روش نقطه‌گذاری، مایع سطحی لاکتوباسیل که یک شب از کشت آن گذشته بود بر روی سطح پلیت BHI که با باکتریهای معرف کشت داده شده بود به صورت نقطه‌گذاری قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. در روش ایجاد چاهک، ۵۰ میکرولیتر از مایع سطحی لاکتوباسیل که یک شب از کشت آن گذشته بود به درون چاهکهای ۵ میلی‌متری در پلیتی که با باکتری معرف کشت داده شده بود اضافه شد و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. در روش دیسک بلانک، ۵ کاغذ دیسک بلانک روی پلیت کشت شده با باکتری معرف قرار داده شد و ۲۰ میلی‌لیتر از مایع سطحی فیلتر شده بر روی آن ریخته شد. پلیت‌ها پس از ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند.

باکتریهای معرف که برای غربالگری تولید باکتریوسین به کار رفتند، شامل استافیلوکوک اورئوس، سالمونلاتایفی، پرسینیاانتروکولیتیکا، باسیلوس، لیستریا مونوسیتوژنز و لاکتوباسیلهایی بدون فعالیت ضدمیکروبی بود.

* حساسیت pH و حرارت

برای آزمایش حساسیت در برابر pH، مایع سطحی در pHهای بین ۲ تا ۱۲ با اسیدکلرهیدریک یا NaoH تنظیم شد. برای آزمایش پایداری در برابر حرارت، مایع سطحی به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش، ۱۵ دقیقه در ۵۶ درجه سانتی‌گراد یا به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو گردید. بعد فعالیت ضدمیکروبی در تمام موارد بوسیله نقطه‌گذاری مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش با نگهداری محلول‌ها در ۴ درجه سانتی‌گراد و ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته تکرار شد.

* حساسیت پروتئولیتیکی آنزیمها

برای انجام آزمایش حساسیت آنزیمی، مایع سطحی فاقد سلول به مدت یک ساعت در ۳۰ درجه سانتی‌گراد تحت تاثیر تریپسین، در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر؛ آلفا آمیلاز، ۲۲۰ واحد در میلی‌گرم در میلی‌لیتر و لیزوزیم، ۲۲ واحد در میلی‌گرم در میلی‌لیتر قرار گرفت. مایع سطحی فاقد سلول غلیظ شده بوسیله کیسه دیالیز به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شده و فعالیت ضدمیکروبی آنها به روش نقطه‌گذاری تعیین گردید.

* تعیین غلظت باکتریوسین

یک لیتر از کشت لاکتوباسیل در محیط مایع MRS در ۳۰ درجه سانتی‌گراد تا مرحله رشد لگاریتمی رشد داده شد. سپس، سلولها را با سانتریفوژ کردن به مدت ۱۲ دقیقه در ۴ درجه با دور ۱۰ هزار دور، برداشته و سولفات آمونیم به مقدار ۴درصد به تدریج به آن افزوده گردید. نمونه‌ها در ۴ درجه سانتی‌گراد در حالت متحرک به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند. بعد از سانتریفوژ کردن به مدت ۳۰ دقیقه، رسوب در ۱۲۰ میلی‌لیتر از بافر ۱۰mM فسفات سدیم در pH ۵/۸ شناور گردید و فعالیت ضدمیکروبی آنها در برابر باکتریهای معرف اندازه گرفته شد.

یافته‌ها

فقط ۴ نژاد (۱۴/۳درصد) از لاکتوباسیل‌ها (لاکتوباسیل پلانتاروم، لاکتوباسیل دلبروکی، اسیدوفیلوس، لاکتوباسیل برویس) قادر به تولید موادی مشابه باکتریوسین بودند. حساسیت آنها در برابر شرایط مختلف، متفاوت بود. باکتریوسین تولید شده توسط لاکتوباسیل پلانتاروم در حرارت ۲۵ یا ۳۰ درجه سانتی‌گراد پایدارتر از سایر نژادها بود و طیف وسیعی از فعالیت ضدمیکروبی را نشان داد.

هیچ‌گونه فعالیت ضدمیکروبی لاکتوباسیل پلانتاروم در ۴ یا ۸ درجه سانتی‌گراد مشاهده نشد. در هر حال، تولید باکتریوسین در ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۷، ۴۰ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. در تمام این حرارتها، حداکثر فعالیت ضدمیکروبی لاکتوباسیل پلانتاروم در محیط رشد MRS در مراحل انتهایی رشد لگاریتمی یا اوائل مرحله رکود بود. مقدار باکتریوسین تولید شده در ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد مشابه بود. فعالیت ضدمیکروبی لاکتوباسیل پلانتاروم مایع سطحی پایدار بود و هیچگونه کاهشی بعد از ۵ روز در ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده نشد.

فعالیت ضدمیکروبی لاکتوباسیل پلانتاروم در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و در ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه پایدار بود اما بعد از اتوکلاو کردن به مدت ۱۵ دقیقه از بین رفت. فعالیت ضدمیکروبی این باکتری با انجماد و آب شدن مجدد و نگهداری به مدت ۴ هفته در ۴ درجه و ۲۰- درجه سانتی‌گراد تغییر نکرد.

هنگامی که مایع سطحی کشت حاوی لاکتوباسیل پلانتاروم بر روی پلیت کشت شده با باکتری معرف مورد بررسی قرار گرفت، منطقه‌ای کوچک ممانعت از رشد بعد از ۶ ساعت در ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد و بتدریج منطقه ممانعت از رشد تا حدود ۲۴ ساعت بزرگتر شد. مایع سطحی از کشتهای کنترل حاوی لاکتوباسیل کازه‌ای (هیچ‌گونه باکتریوسینی تولید نمی‌کرد)، هیچ‌گونه منطقه ممانعت از رشد نشان نداد.

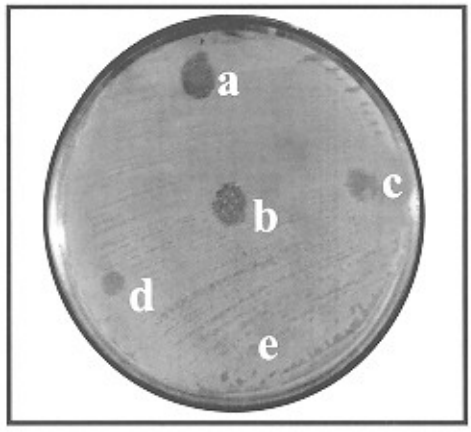
* عوامل موثر بر فعالیت باکتریوسین

فعالیت ضد میکروبی باکتریوسین بوسیله تریپسین لاکتوباسیل

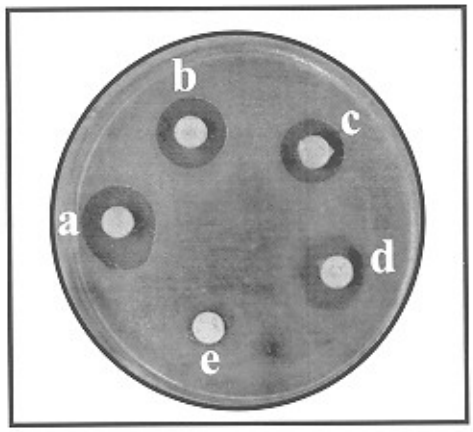
پلانتاروم از بین رفت اما لیزوزم و آلفا آمیلاز، اثری بر روی فعالیت ضد میکروبی آن نداشتند. فعالیت ضد میکروبی این باکتری در pH برابر ۲ تا ۱۰ پایدار بود اما در pH برابر ۱۲ از بین رفت که نشان دهنده حساسیت آنها در شرایط قلیایی می‌باشد. خاصیت ضد میکروبی لاکتوباسیل پلانتاروم بعد از اتوکلاو کردن غیر فعال شد.

در مجموع، خاصیت ضد میکروبی نژادهای مختلف لاکتوباسیل‌ها، بسیار متفاوت بود. اکثر نژادها، فعالیت ضد میکروبی ضعیف یا هیچگونه فعالیتی در برابر نژادهای پاتوژن نداشتند. فقط ۴ نژاد (۱۴/۳درصد) از رشد باکتریهای معرف به میزان وسیعی ممانعت کردند.

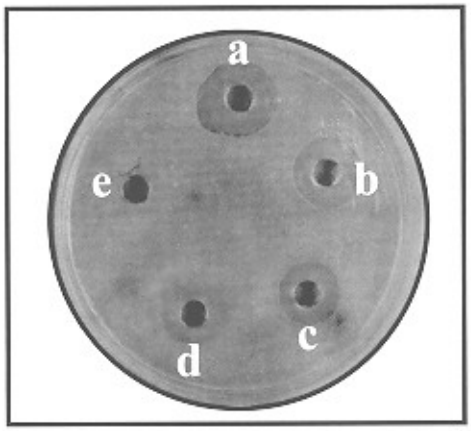
تولید باکتریوسین در محیط مایع MRS دارای حداقل ۱ تا۲درصد گلوکز یا گزیلوز به مقدار حداکثر بود. فعالیت ضد میکروبی در محیط MRS حاوی ۱درصد کلرورسدیم نیز افزایش داشت. باکتریوسین در ۲۵ درجه سانتی‌گراد در pH برابر ۶/۵ به مقدار حداکثر تولید شد. منطقه ممانعت از رشد استافیلوکوک اورئوس در برابر مایع سطحی لاکتوباسیل‌های مختلف به روش نقطه گذاری، ایجاد چاهک و دیسک بلانک در شکل ۲،۱ و ۳ نشان داده شده است.



شکل ۱: منطقه ممانعت از رشد استافیلوکوک اورئوس در برابر مایع سطحی لاکتوباسیل‌های مختلف به روش نقطه گذاری. a: لاکتوباسیل پلانتاروم، b: لاکتوباسیل دلبروکی، c: لاکتوباسیل اسیدفیلوس، d: لاکتوباسیل بریویس، e: لاکتوباسیل کازه‌ای



شکل ۲: منطقه ممانعت از رشد استافیلوکوک اورئوس در برابر مایع سطحی لاکتوباسیل‌های مختلف به روش دیسک بلانک. a: لاکتوباسیل پلانتاروم، b: لاکتوباسیل دلبروکی، c: لاکتوباسیل اسیدفیلوس، d: لاکتوباسیل بریویس، e: لاکتوباسیل کازه‌ای



شکل ۳: منطقه ممانعت از رشد استافیلوکوک اورئوس در برابر مایع سطحی لاکتوباسیل‌های مختلف به روش ایجاد چاهک. a: لاکتوباسیل پلانتاروم، b: لاکتوباسیل دلبروکی، c: لاکتوباسیل اسیدفیلوس، d: لاکتوباسیل بریویس، e: لاکتوباسیل کازه‌ای

بحث

پروبیوتیک‌ها برای سلامت انسان در غذا به کار می‌روند (۱). پروبیوتیک‌ها نه تنها در میکروفلور طبیعی روده ایجاد اختلال نمی‌کنند، بلکه با استقرار موقتی در دستگاه گوارش موجب اثرات سودمند در ضمن عبور از مجرای گوارشی می‌شوند و به دلیل اثر مهاری این باکتریها و مفید بودن آنها در مجرای گوراشی (۳)، این پژوهش انجام گرفت. در این بررسی، ۴ لاکتوباسیل (۱۴/۳درصد) جداشده از سوسیس تخمیری که دارای فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتریهای معرف (استافیلوکوک اورئوس، سالمونلاتایفی، یرسینیا انتروکولیتیکا، باسیلوس سوبتیلیس، لیستریا مونوسیتوژنز و لاکتوباسلهای فاقد فعالیت ضد میکروبی) بودند برای آزمایشهای بیشتر در نظر گرفته شدند. خاصیت ضد میکروبی این باکتریها بوسیله تریپسین غیر فعال شد و لاکتوباسیل پلانتاروم، وسیع‌ترین منطقه مهارکنندگی را نشان داد. این امر با مشاهده Kelly و همکاران (۱۵) همخوانی دارد اما با بررسیهای Vignolo و همکاران (۱۷) مطابقت نداشت، زیرا، Vignolo و همکاران هیچگونه فعالیت ضد میکروبی قوی از لاکتوباسیل کازه‌ای را گزارش نکردند.

چون فعالیت ضد میکروبی پس از درمان با تریپسین کاهش یافت اما بوسیله لیزوزیم و آلفاآمیلاز غیر فعال نشد، بنابراین، جنس باکتریوسین احتمالاً پروتئین است. این امر با نتایج مطالعه Gonzalez و همکاران (۱۸) همخوانی دارد. جنس پروتئین پلانتاریسین K بوسیله حساسیت آن به تریپسین اثبات شد (۱۹).

باکتریوسین لاکتوباسیل‌ها بر اساس پایداری آن در محیط، طیف وسیع فعالیت آن بر روی برخی از باکتریهای بیماری‌زا و فاسدکننده غذا و توانایی آن به تولید باکتریوسین برای نگهداری غذا توصیه می‌شود.

نتایج این بررسی نشان داد که عمل ضدباکتری باکتریوسین در برابر باکتریهای معرف در مرحله رشد لگاریتمی و اوائل مرحله رکود حداکثر بود و سلولهای در حال رشد فعال، باکتریهای معرف را متلاشی کرد. این امر همچنین توسط Gao و همکاران اثبات شد (۲۰).

در این پژوهش، تولید باکتریوسین در محیط MRS یا در محیط دارای پپتون، عصاره مخمر، عصاره گوشت، گلوکز، استات سدیم و Tween 20، به مقدار حداکثر بود. گزیلوز را می‌توان جایگزین گلوکز نمود بدون اینکه در تولید مقدار باکتریوسین کاهشی حاصل شود اما افزودن کربوهیدراتهای دیگر موجب کاهش تولید باکتریوسین شد. حداکثر تولید باکتریوسین با مرحله رشد لگاریتمی و اوائل مرحله رکود بود. در این شرایط pH پائین و تعداد سلولها زیاد بود که برای تولید مقدار زیاد باکتریوسین ضروری است. Kelly و همکاران، حداکثر تولید پلانتاریسین KW30 (۱۵) و Boris و همکاران، حداکثر تولید باکتریوسین لاکتوباسیل دلبروکی (۲۱) را در محیط مایع MRS گزارش کردند. نتایج آنها با نتایج ما همخوانی دارد. زیرا، تمام لاکتوباسیلهای جدا شده در این پژوهش به خوبی در محیط MRS رشد می‌کردند و مقدار تولید باکتریوسین آنها نیز بالا بود.

فعالیت ضدمیکروبی در رسوب حاصل از افزودن سولفات آمونیم بیشتر از مایع سطحی اولیه (غلیظ نشده) بوده است. این افزایش می‌تواند به علت حذف مواد ممانعت کننده یا اثر غلظت بالای نمک در باکتریوسین غلیظ شده باشد.

نتایج ما نشان داد که فعالیت باکتریوسین در حرارت اتاق به مدت ۵ روز، در ۴ و ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته و حرارت (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه یا ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه) پایدار بود. این امر توسط Rekhif و همکاران (۱۴) و سایر پژوهشگران اثبات شده است. برای مثال، باکتریوسین U0004 از لاکتوباسیل دلبروکی به عنوان آغازگر مناسب برای تولید شیرهای تخمیری مورد توجه قرار گرفته است (۲۱). لاکتوباسیل رامنوسوس به ویژه GC و E-97800 برای استفاده به عنوان کشتهای آغازگر پروبیوتیک در تخمیر پنیر خشک پیشنهاد شده است (۲۲).

خاصیت ضدمیکروبی باکتریوسین لاکتوباسیل‌ها در برابر حرارت پایدار بود. پایداری آنها در برابر حرارت سودمند است، زیرا در بسیاری از روندهای تهیه غذا به حرارت نیاز است. در هر حال، باکتریوسین لاکتوباسیل‌های جدا شده در این پژوهش به عنوان نگهدارنده بیولوژیکی بسیار امیدوارکننده هستند. نتایج حاصل در این پژوهش با Rekhif و همکاران (۱۴) و Gonzalez و همکاران (۱۸) و Kelly و همکاران (۱۵) مطابقت دارد.

باکتریهای اسیدلاکتیک جدا شده از گوشت و فرآورده‌های گوشتی احتمالاً به عنوان باکتریهای پروبیوتیک برای بهبود سلامتی این نوع غذاها، ایده‌آل هستند. زیرا با شرایط گوشت سازش یافته‌اند و بدین‌ترتیب، بهتر از سایر لاکتوباسیل‌ها قادر به ادامه رشد می‌باشند.

توجه به باکتریهای اسید لاکتیک به علت خصوصیات ضدتوموری و فعالیت ضدکلسترولی (۱۱)، تسکین عدم تحمل لاکتوز و افزایش ایمنی (۶) و همچنین به باکتریوسین‌های تولید شده به‌وسیله آنها برای تخمیر غذا در صنایع غذایی مورد توجه روزافزونی بوده زیرا مانع رشد باکتریهای فاسدکننده غذا و باکتریهای بیماریزا می‌شوند. به این ترتیب، پژوهش در مورد باکتریوسین‌های باکتریهای اسید لاکتیک در صنایع غذایی اهمیت فراوانی دارد.

اگرچه، برنامه‌های کنترل کیفی می‌تواند نقش عمده‌ای را در کنترل پاتوژن‌های بیماریزا و فاسدکننده غذا داشته باشد، حذف آنها از تمام فرآورده‌های غذایی بسیار دشوار است. به همین دلیل، توسعه روشهایی برای کنترل این پاتوژنها در غذا شامل شناسایی و بهبود مهارکننده‌های طبیعی مورد توجه چندین آزمایشگاه تحقیقاتی کیفیت غذا شده است.

در پایان، پروبیوتیک‌ها ممکن است استفاده از آنتی بیوتیکهای خوراکی یا درمان دارویی در غذای حیوان و انسان را کاهش داده یا جایگزین آنها شوند. کاربرد پروبیوتیکها، مشکلات اقتصادی و محیطی را در سراسر جهان کاهش خواهد داد. محدودیت استفاده، کنترل اثر و سلامتی آن باید به طور دوره‌ای مورد بررسی قرار گیرد.

References

1. Fuller R: Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol 1989; 66: 365-378

2. Kaenhammer TR: Probiotic bacteria: today and tomorrow. J Nutr 2000; 130(2S suppl): 415-416

3. Reuter G: Probiotics Possibilities and limitations of their application in food, animal feed, and in pharmaceutical preparations for men and animals. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 2001; 114(11-12): 410-419

4. Strus M, Pakosz K. Gosciniak H. Przondo-Mordarska A: Anat gonistic activity of Lactobacillus bacteria strains against anaerobic gastrointestinal tract pathogens (Helicobacter pylori, Campylobacter coli, Campylobacter jejuni, Clostridium difficile). Med Doew Mikrobiol 2001; 53(2): 133-142

5. Izco Jesus M, Tormo Moica, Jimenez-Flores R: Development of a CE method to analyse organic acids in dairy products: Application to study the metabolism of heat shocked spores. J Argric Food Chem, 2002; 50(7): 1765-1773

6. Roberfroid MB: Prebiotics and probiotics: are they functional foods? Am J Clin Nutr. 2000; 71(6): 1692-1697

7. Oozeer R, Goupil-Feuillerat N, Alpert CA, Van De Quchte M, Anba J, Mengaud J, Corthier G: Lactobacillus casei is able to survive and initiate protein synthesis during its transit in the digestive tract of human flora-associated mice. Appl Environ Microbiol 2002; 66(7): 3570-3574

8. Peltonen K, El-Nezami H, Haskard C, Ahokas J, Salminen S: Aflatoxin B1 binding by dairy strains of lactic acid bacteria and bifidobacteria. J Dairy Sci.

2001; 84(10): 2152-2156
9. Klaenhammer TR: Bacteriocins of lactic acid bacteria. Biochimie 1988; 70: 337-349
10. Moreno MRF, Lisner JJ, Tee LK, Ley C, Radu S, Rusul G, Vancanneyt M, De Vuyst L: Microbial analysis of Malaysian temep, and characterization of two bacteriocins produced by isolates of Enterococcus faecium. J Appl Microb 2002; 92(1): 147-157
11. Elmafa I, Heinzle C, Majchrzak Foissy H: Influence of a probiotic yoghurt on the status of vitamin B(1), B(6) in the healthy adult human. Am Nutr Metab. 2001; 45(1): 13-28
12. Collins M, Glenn D, Gibson R: Probiotics, prebiotics and symbiotics: Approches for modulating the microbial ecology of the gut. American J Clin Nutri 1999; 69(5): 1052-1057
13. Terahara M, Kurama S, Takemoto N: Prevention by lactic acid bacteria of the oxidation of human LDL. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2001; 65(8): 1864-8
14. Rekhif N, Atrih A, Lefebvre G: Activity of plantaricin SA6, a bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum SA6 isolated from fermented sausage. J Appl bacteriol 1995; 78: 349-358
15. Kelly WJ, Asmundson RV, Huang CM: Characterization of plantaricin KW30, a bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum. J Appl Bacteriol 1996; 81: 657-662
16. Kanlder O, Weiss N: Regular, non-sporing Gram positive rods: in Bergey, sManual of Systematic Bacteriol 1986; 2(14): 1208-1260
17. Vignolo GM, De Kairuz MN, De Ruiz Holgado AAP, Oliver G: Influence of growth conditions on the production of lactocin 705, a bacteriocin produced by Lactobacillus casei CRL 705. J Appl Bacteriol 1995; 78: 5-10
18. Gonzalez B, Arca P, Mayo B, Suarez JE: Detection and partial charaterization of plantaricin C, a bacteriocin produced by a Lacto. plantarum strain of dairy origin. Appl Environ Microbiol: 1994; 60: 2158-2163
19. Olukoya DK, Tichazek PS, Butsch A, Vogel RF, Hammes WP: Charaterization of the bacteriocins produced by Lactococcus pentosus DK7 isolated from ogi and Lactococcus plantarum DK9 from fufu. Chem Microbiol Technol Lebensm. 1993; 15: 65-68
20. Gao FH, Abee T, Konings WM: Mechanism of action of the peptide antibiotic nisin in liposomes and cytochrome c oxidase containing proteoliposomes. Appl Enviro Microbiol 1991; 57: 2164-2170
21. Boris S, Jimenez Diaz R, Caso JL, Barbes C: Partial characterization of a bacteriocin produced by Lactobacillus delbrueckii subsp. Lactis U0004, an intestinal isolate with probiotic potential. J Appl Microbiol. 2001; 91(2): 328-333
22. Erikkila S, Suihko ML, Eerola S, Petaja E, Matila-Sandholm T: Dry sausage fermented by Lactobacillus rhamnosus strains. Int J Food Microbiol. 2001; 28; 64(1-2): 205-210