



همایش توسعه کیفیت، راهبردی فرآینر در سلامت غذا

زمان: ۲۸ اردیبهشت ۹۵

مکان: سالن مرکز اسناد و کتابخانه ملی

بعبود تهدیه، ضامن سلامت

بررسی خاصیت ضد میکروبی جدایه‌های لاکتوباسیلوس از پنیر سنتی مثال

فهیمه عزیزی^۱، محمدباقر حبیبی نجفی^۲، محمدرضا عدالتیان^۳

*دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

^۲استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، habibi@um.ac.ir

^۳استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، edalatian@um.ac.ir

Fazizi1368@yahoo.com*

چکیده

زمینه و اهداف: اثر محافظتی باکتری‌های اسید لاکتیک در طی تولید غذاهای تخمیر شده و نگهداری بعدی آن‌ها علاوه بر اسید لاکتیک بعلت تولید متابولیت‌های دیگر نظیر باکتریوسین است که فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتری‌های عامل فساد و بیماری‌زا مواد غذایی دارد. هدف از این پژوهش ارزیابی خاصیت ضد میکروبی ۱۰ گونه جنس لاکتوباسیلوس جداسازی شده از فراورده پنیر سنتی مثال بر عوامل باکتری‌ای بیماری‌زا است.

مواد و روش کار: خاصیت ضد میکروبی با استفاده از روش‌های نقطه گذاری (Lawn on the Spot) و نفوذ در چاهک (Well Diffusion) بر علیه پاتوژن‌های روده‌ای *E.coli* و *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus* بررسی شد. نتایج بررسی‌ها نشان دهنده اثر ضد میکروبی نسبی گونه‌های مختلف جنس لاکتوباسیلوس بر باکتری‌های شاخص است. مطابق با نتایج، ایزوlette‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم M67، M70 و لاکتوباسیلوس برویس M97 بالاترین طیف اثر ضد میکروبی را در میان سویه‌های دیگر نشان دادند.

نتیجه گیری: با توجه به اینکه جدایه‌های باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک از منابع بومی بدست آمده اند و متابولیت‌های تولیدی آن‌ها در این پژوهش از رشد باکتری‌های شاخص بیماری‌زا جلوگیری کردند، این امر نقش مثبت این دسته از باکتری‌ها در سلامت انسان را به خوبی نشان داده و درنتیجه استفاده بیشتر از آن‌ها به عنوان آغازگر، همراه با آغازگر و یا عوامل ضد میکروبی طبیعی در تولید فراورده‌های صنعتی تخمیری توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: لاکتوباسیلوس، ضد میکروبی، باکتریوسین.

دومین همایش توسعه کیفیت، راهبردی فرآینر در سلامت غذا

زمان: ۲۸ اردیبهشت ۹۵

مکان: سالن مرکز اسناد و کتابخانه ملی

۱- مقدمه

امروزه مصرف کنندگان نسبت به گذشته به اینمنی و سلامت غذا اهمیت بیشتری می دهند. علی رغم بهبود اینمنی مواد غذایی، هنوز تعداد مسمومیت های ناشی از مصرف غذاهای آلوده در خور توجه می باشد. اطمینان از اینمنی فراورده های غذایی به کاهش تعداد میکروب های اولیه و جلوگیری از رشد آنها در حین فرایند، توزیع و انبارداری بستگی دارد. یکی از روش های مهم برای رسیدن به این هدف، استفاده از ترکیب های ضد میکروبی و نگهدارنده های شیمیایی می باشد. هرچند که استفاده از این ترکیب های شیمیایی به دلیل تاثیر نامطلوب ثانویه ای که دارد بهتر است با نگهدارنده و ترکیب های ضد میکروبی طبیعی جایگزین شوند(۹).

باکتری های اسید لاكتیک بعلت توانایی آنها در مهار یا کاهش آلودگی توسط میکروارگانیسم های فسادزا و بیماری زا غذایی از طریق تولید مواد ضد میکروبی مختلف، در صنایع غذایی استفاده می شوند(۱۰).

نقش لاکتوباسیل ها در صنعت غذا بسیار مهم ارزیابی شده است، از این رو شناسایی و طبقه بندی مولکولی این باکتری ها می تواند گامی مؤثر در معرفی لاکتوباسیل های بومی با خصوصیات عملکردی ویژه و به کارگیری آنها در محصولات لبنی صنعتی و تولید محصولات فرا ویژه باشد. لاکتوباسیل های مزوپلیل، احتمالاً متداول ترین باکتری های اسید لاكتیک موجود در پنیر بوده و وسیع ترین مطالعات در این گروه، بر روی آنها صورت گرفته است (۱۱). این گونه ها بعلت تاریخچه طولانی استفاده آنها بعنوان استارترا ت یا کشت الحاقی در غذاهای تخمیری و حضور آنها در روده طبیعی و فلور میکروبی دستگاه تناسلی انسان بعنوان GRAS^۱ شناسایی شده اند(۱۲). این باکتری ها چندین ماده ضد میکروبی مانند باکتریوسین ها و نیز متابولیت هایی مانند پرکسید هیدروژن، اسید لاكتیک و دیگر اسیدهای آلی را تولید می کنند که موجب مهار رشد میکروارگانیسم های مضر می شوند(۱۳).

در میان ترکیبات میکروبی که قادر به کنترل میکروارگانیسم های نامطلوب در سیستم های غذایی هستند، باکتریوسین ها یک گروه از پپتیدهای کوچک ضد میکروبی هستند که باعث مرگ یا مهار رشد باکتری های دیگر از جمله پاتوژن های مهم *Listeria*

Staphylococcus aureus و *Clostridium botulinum*, *monocytogenes*

کاربرد باکتریوسین ها در محافظت از غذا ممکن است از چندین نظر: ۱) کاهش خطرات فساد مواد غذایی، ۲) بهبود زمان ماندگاری مواد غذایی، ۳) کاهش سطح نگهدارنده های شیمیایی افزوده شده، مفید باشد(۱۴).

اخيراً، در صنایع غذایی علاقه زیادی به استفاده از باکتریوسین ها بعنوان جایگزین برای نگهدارنده های شیمیایی، بعلت اینکه در غلظت های کم مؤثر هستند و بعد از افروده شدن به مواد غذایی کیفیت حسی آن را تغییر نمی دهند، مشاهده شده است(۱۵).

۲- مواد و روش ها

۱-۱- سویه های میکروبی و شرایط کشت

^۱.Generally Regard as Safe



بصیرت تجذیه، ضامن سلامتی

زمان: ۲۸ اردیبهشت ۹۵

مکان: سالن مرکز اسناد و کتابخانه ملی

باکتری‌های اسید لاکتیک مورد بررسی برای فعالیت ضد میکروبی، گونه‌های لاکتوباسیلوس پلاتاروم (M67 و M70)، برویس (M1، M97، M76)، M101، M102، M103، M12، M99 و بوچنری (M125) بودند که از میان باکتری‌های جداسازی و شناسایی شده از پنیر سنتی مثال در پژوهش قبل، انتخاب شدند. این گونه‌ها برای مدت ۲۴ ساعت در ۳۷°C در MRS برا (مرک، آلمان) و جار بی هوایی (حاوی گاز پک نوع A) کشت داده شدند، باکتری‌های شاخص نیز در BHI برا تحت شرایط هوایی به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار گرمخانه گذاری شدند.

۲-۲- بررسی فعالیت ضد میکروبی به روش *Lawn on the Spot*

این تکنیک یک روش نقطه گذاری می‌باشد، بدین گونه که ابتدا ایزوله‌های لاکتوباسیلوس در محیط کشت MRS broth کشت داده می‌شوند پس از گذشت ۱۶ ساعت مقادیر ۲ - ۵ میکرولیتر از محیط کشت کدورت داده شده برداشته و روی سطح پلیت‌هایی با محیط کشت‌های MRS agar نقطه گذاری می‌شوند. بعد از گذشت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷°C پلیت‌ها با ۰-۵ میلی لیتر آگار نرم (۱٪ آگار) که با سوسپانسیون سلولی میکروارگانیسم‌های شاخص تلقیح شده، پوشانده می‌شود. در ادامه پلیت‌ها تحت شرایط بهینه رشد میکروارگانیسم شاخص برای ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری می‌گردد. وجود هاله شفاف در اطراف نقاط تلقیح شده با ایزوله‌های لاکتوباسیلوس نشان دهنده عدم رشد میکروارگانیسم‌های شاخص و در نتیجه خاصیت ضد باکتریایی ایزوله‌هاست (۱۷). پاتوژن‌های شاخص مورد استفاده موارد زیر بودند:

E.coli ATCC 25922 *Listeria innocua* ATCC 33090 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

۳-۲- بررسی فعالیت ضد میکروبی به روش *Well Diffusion*

گونه‌هایی که با توجه به روش قبل بعنوان تولیدکننده بالقوه باکتریوسمین انتخاب شده‌اند در MRS broth برای مدت ۲۴ ساعت کشت و سپس به مدت ۵ دقیقه با RCF=۵۰۰۰ سانتریفوژ می‌شوند. چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی متر روی محیط کشت آگار که با باکتری‌های شاخص از قبل تلقیح شده است ایجاد و سپس با سوپرناکانت کشت خنثی شده با سود ۱ نرمال تلقیح می‌شود. در ادامه پلیت‌های تلقیح شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای مناسب رشد باکتری‌های شاخص گرمخانه گذاری می‌شود. حضور هاله روش اطراف چاهک‌ها نشان دهنده تولید مواد مهار کننده بر علیه گونه‌های شاخص است (۱۷).

۳- نتایج

۳-۱- بررسی خاصیت ضد میکروبی از طریق تکنیک نقطه گذاری^۱

بر اساس نتایج بدست آمده از روش نقطه گذاری سه گونه لاکتوباسیلوس پلاتاروم M76، لاکتوباسیلوس برویس M99 و M101 بر روی هیچ یک از باکتری‌های شاخص آزمون اثر بازدارندگی نداشتند.

^۱ *Lawn on the Spot*



دومین همایش توسعه کیفیت،
راهبردی فرآئیر
در سلامت غذا

بیبود تهدیه، ضامن سلامتی

زمان: ۲۸ اردیبهشت ۹۵

مکان: سالن مرکز اسناد و کتابخانه ملی

سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم M70 و لاکتوباسیلوس برویس M97 نسبت به گونه‌های دیگر هاله‌های ممانعت محسوسی با قطری بین ۶-۸ میلی متر از رشد پاتوژن‌ها نشان دادند و در این میان سویه لاکتوباسیلوس پلانتروم M70 بیشترین تأثیر بازدارندگی را بر روی باکتری‌های شاخص داشت. با توجه به نتایج هر دو گونه لاکتوباسیلوس پلانتروم M67 و M70 اثر مهارکنندگی پاتوژن‌های آزمون را دارا بودند. اما از ۷ گونه *Lactobacillus brevis* ۴ سویه M102، M100، M1، M97 از نظر قدرت بازدارندگی مثبت گزارش شدند. این نتایج نشان دهنده قدرت بازدارندگی بیشتر، گونه‌های *Lactobacillus plantarum* بومی پنیر سنتی مثال، نسبت به سویه‌های *Lactobacillus brevis* متعلق به همان پنیر است.

جدول ۱ نتایج آزمون نقطه گذاری ایزوله‌های لاکتوباسیلوس بر روی باکتری‌های شاخص

باکتری‌های بیماری‌زا			باکتری‌های اسید لاكتیک
<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>Listeria innocua</i> ATCC33090	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	
۸/۸	۶	۶/۸	<i>Lactobacillus plantarum</i> M67
۹	۹	۷	<i>Lactobacillus plantarum</i> M70
-	-	-	<i>Lactobacillus brevis</i> M76
۷	۶	۶	<i>Lactobacillus brevis</i> M97
-	-	۲	<i>Lactobacillus brevis</i> M1
۱/۹	۱	۱/۸	<i>Lactobacillus brevis</i> M100
-	-	-	<i>Lactobacillus brevis</i> M101

دومین همایش توسعه کیفیت، راهبردی فرآینر در سلامت غذا



بیوبود تهدیه، ضامن سلامتی

زمان: ۲۸ اردیبهشت ۹۵
مکان: سالن مرکز اسناد و کتابخانه ملی

۲/۱	۱/۱	۱	<i>Lactobacillus brevis M102</i>
۳	۱	۶	<i>Lactobacillus buchneri M125</i>
-	-	-	<i>Lactobacillus brevis M99</i>

۱-۳- بررسی خاصیت ضد میکروبی از طریق تکنیک نفوذ در چاهک^۱

با توجه به این که تکنیک *Lawn on the Spot* روشی جهت بررسی ترکیبات ضد میکروبی تولیدی، توسط باکتری‌ها در روی محیط کشت جامد(Agar) بوده و در اصل هاله شفاف تولید شده می‌تواند مربوط به ترکیبات ضد میکروب وابسته به کلنی (مانند پراکسید هیدروژن یا اسید لاکتیک) باشد در نهایت می‌تواند ایزوله‌ها را فقط از نظر تولید این ترکیبات تفکیک کند، پس استفاده از این روش پیش نیاز آزمایش‌های بعدی بررسی ویژگی‌های باکتریوسینی بر روی ایزوله‌های به دست آمده با استفاده از روش‌های *Well Diffusion* یا روش‌های مولکولی خواهد بود. در نتیجه تکنیک *Lawn on the Spot* نمی‌تواند دقیقاً خصوصیت باکتریوسینی را برای ما مشخص می‌کند و این امر به دلیل تولید طیف گسترده ترکیبات میکروب کش قوی توسط باکتری‌های اسید لاکتیک بوده است. همچنین تولید این ترکیبات در شرایط هوایی و بی‌هوایی فرق می‌کند، به عنوان مثال در شرایط هوایی ترکیبات قوی سمی از اکسیژن مثل سوپرکسید، پرکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل تولید می‌کنند و در صورت حضور قند در هر دو حالت هوایی و بی‌هوایی، اسید لاکتیک و سایر ترکیبات ضد میکروب وابسته به کلنی را تولید می‌کنند(۲۳).

با این تعاریف فقط تکنیک *Well Diffusion* نسبت به می‌تواند باکتری‌های مولد باکتریوسین را بطرور دقیق تری و صحیح تری برای ما مشخص می‌سازد، در این تکنیک بر خلاف روش *Lawn on the Spot* اثر پرکسید هیدروژن و دیگر اسیدهای آلی حذف می‌شود(۱۶). در آزمون *Well Diffusion* ما به متابولیت یا همان سوپرناتانت بدون سلول^۲ ایزوله‌ها احتیاج داریم که این امر با استفاده از سانتریفیوژ کردن محیط کشت برات حاوی ایزوله‌های رشد یافته و فعال و سپس عبور دادن سوپرناتانت آن از فیلترهایی که منفذ آن‌ها از قطر باکتری کوچکتر است امکان پذیر می‌شود(۲۱).

با توجه به نتایج حاصل، ملاحظه می‌شود که تعداد لاکتوباسیلوس‌هایی که در روش *Well Diffusion* اثر بازدارندگی بر باکتری‌های شاخص داشته‌اند، در مقایسه با روش *Lawn on the Spot* بسیار کمتر بودند. آنگریا و همکاران در سال ۲۰۱۰ نیز دریافتند از ۳۷ ایزوله‌ای که در روش *Lawn on the Spot* پاسخ مثبت داده بود، تنها ۱۷ ایزوله در *Well Diffusion* پاسخ مثبت داد، اما این نتیجه برای آن‌ها دور از انتظار نبوده زیرا بسیاری از محققان تصدیق می‌کنند که *Lawn on the Spot* تمام ترکیبات تولید شده توسط باکتری‌ها را ارزیابی می‌کند و نمی‌تواند نشان دهنده اثر ممانعت کنندگی صرفاً ناشی از ترکیبات ضد میکروبی بر رشد

^۱ Well Diffusion

^۲ Cell free supernatant

دومین همایش توسعه کیفیت،
راهبردی فرآئیر
در سلامت غذا



بیبود تهدیه، ضامن سلامتی

زمان: ۲۸ اردیبهشت ۹۵
مکان: سالن مرکز اسناد و کتابخانه ملی

باکتری‌های شاخص باشد (۱۰؛ ۲۱). دلیل این امر را می‌توان به تولید برخی از ترکیبات ضد میکروبی وابسته به کلنی، از جمله اسیدهای چرب و پراکسید هیدروژن و اسید لاکتیک نسبت داد که مسئول اثرات بازدارندگی مشاهده شده در محیط کشت جامد Lawn on the Spot می‌باشد.

در این روش اثر ضد میکروبی گونه‌ها بر روی سه باکتری گرم مثبت *E.coli* و *Listeria innocua*، *Staphylococcus aureus* نشان داد که مشابه روش نقطه گذاری باکتری *Lactobacillus plantarum M70* بزرگترین هاله ممانعت از رشد را بر روی باکتری‌های شاخص ایجاد می‌کند.

جدول ۲ نتایج آزمون نفوذ در چاهک، ایزوله‌های لاکتوباسیلوس مؤثر بر روی باکتری‌های شاخص

باکتری‌های بیماری‌زا			باکتری‌های اسید لاکتیک
<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>Listeria innocua</i> ATCC33090	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	
۴/۳	۳/۲	۳	<i>Lactobacillus plantarum M67</i>
۴/۸	۵/۴	۳/۷	<i>Lactobacillus plantarum M70</i>
-	۴/۵	۳/۳	<i>Lactobacillus brevis M97</i>
-	-	-	<i>Lactobacillus brevis M1</i>
-	-	-	<i>Lactobacillus brevis M100</i>
-	-	-	<i>Lactobacillus brevis M102</i>
۱/۲	-	۳/۴	<i>Lactobacillus buchneri M125</i>

۴- بحث و نتیجه گیری

دومین همایش توسعه کیفیت، راهبردی فرآئیر در سلامت غذا

زمان: ۲۸ اردیبهشت ۹۵

مکان: سالن مرکز اسناد و کتابخانه ملی

بصیرت تغذیه، ضامن سلامتی

اثر ضد میکروبی باکتری‌های اسید لاكتیک به ترکیبات ضد میکروبی مختلف تولید شده توسط باکتری‌های اسید لاكتیک (نظیر دی استیل، باکتریوسین، ۲-پیرولیدین-۵-اسید کربوکسیلیک، روتیریساکلین، روتین، دی اسید کربن، اسیدهای آلی (اسید لاكتیک، اسید پروپیونیک)، پراکسید هیدروژن، هیپوتیوسیات و سایدرفور^۱) نسبت داده می‌شود(۱۹).

روش‌های آنتاگونیستی مورد استفاده در این پژوهش، نقطه گذاری و انتشار در چاهک است؛ هرچند، اندازه هاله عدم رشد بر اساس روش آنتاگونیستی مورد استفاده متغیر است. فعالیت باکتریوسینی بوسیله اندازه هاله عدم رشد در آزمون انتشار تخمین زده می‌شود(۲۰).

در پژوهش انجام شده توسط سوادگو و چیک در سال ۲۰۰۴ فعالیت ضد میکروبی باکتری‌های اسید لاكتیک بر علیه سویه‌های استاندارد *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* *Bacillus cereus* هاله‌های عدم رشد از ۸ تا ۱۲ میلی متر به وجود آورده(۲۰).

لیما و همکاران در سال ۲۰۰۷ در بررسی‌های خود مشاهده کردند از میان ۴۷۴ باکتری شناسایی شده، ۲۶۵ ایزوله جنس لاکتوباسیلوس شامل گونه‌های *L. reuteri* *L. salivarius* یا سایر گونه‌های لاکتوباسیلوس، بر علیه میکروارگانیسم‌های شاخص گرم مثبت و گرم منفی توسط روش آنتاگونیستی نقطه گذاری فعالیت ضد میکروبی نشان دادند. این ایزوله‌ها میکروارگانیسم‌های شاخص جنس انتروکوکوس، لیستریا و سالمونلا را مهار می‌کنند اما هیچ فعالیت آنتاگونیستی بر علیه گونه‌های لاکتوباسیلوس کازئی، دلبروکی، فرمنتوم و هلموتیکوس توسط روش انتشار در چاهک نشان ندادند. قطر هاله عدم رشد در آن‌ها از ۱ تا ۶ میلی متر بود(۲۱).

جهت بررسی امکان تولید این ماده ضد میکروبی با ارزش باید اثرات ضد میکروبی سایر ترکیبات اشاره شده تا حد امکان حذف گردد. همانطور که قبلاً اشاره گردید جهت حذف اثر ضد باکتریایی اسیدهای آلی، بعد از سانتریفوژ و فیلتراسیون محیط حاوی باکتری از طریق فیلترهای غشایی با مش $0.22 \mu\text{m}$ pH 2.0 روشناور حاصل خنثی گردید و چون کلیه کشت‌ها در شرایط بی‌هوایی انجام گرفت شرایط تولید H_2O_2 فراهم نبوده و اثر ضد باکتریایی آن خود به خود حذف شده است، بنابراین امکان بررسی اثر باکتریوسین تا حدودی فراهم گردید. اما جهت ارزیابی بهتر باید از روش‌های دیگر خالص سازی باکتریوسین، استفاده از آنزیم پروتئاز و تیمارهای حرارتی جهت غیر فعال کردن باکتریوسین و سپس ارزیابی فعالیت ضد میکروبی جهت بررسی حضور آن استفاده گردد.

در منابع علمی آمده است گونه‌های *Pediococcus pentosaceus* *Enterococcus mundtii* *Enterococcus faecium* *Enterococcus lactis* *Lactobacillus plantarum* *Lactobacillus fermentum* مرحله نشان داده‌اند از تولید کنندگان باکتریوسین هستند(۱۹).

اوامفوبه و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که بعد از حذف اثر خاصیت ضد باکتریایی اسیدهای آلی توسط خنثی کردن pH 6.2 *Lactococcus cremoris* تا 2.5 مولار تنها سویه‌های لاكتیکی را سلول سویه‌های لاكتیکی تا 6.2 pH توسط سود = تولید کردند.

¹Diacetyl, Bacteriocins, 2-Pyrrolidone-5-carboxylic Acid, Reutericyclin, Reuterin, CO₂, Organic acids (lactic, acetic& propionic acids), Hydrogen peroxide, Hypothiocyanate, Sideophores



دومین همایش توسعه کیفیت، راهبردی فرآینر در سلامت غذا

زمان: ۲۸ اردیبهشت ۹۵

مکان: سالن مرکز اسناد و کتابخانه ملی

بعبود تهدیه، ضامن سلامت

قادر به ممانعت از رشد *Klebsella pneumonia* باشد. آن‌ها در بررسی خواص آنتاگونیستی جدایه‌های لاكتیکی ماست نیجریه‌ای نشان دادند که گونه‌های لاكتوکوکوس، لاكتوباسیلوس، انتروکوکوس و لوکونوستوک فعالیت آنتاگونیستی به واسطه تولید اسیدهای آلی علیه پاتوژن‌ها دارند و تنها *Lactococcus cremoris* و *Enterococcus faecalis* فعالیت آنتاگونیستی به واسطه تولید مواد بازدارنده‌ای غیر از اسیدهای آلی علیه *Klebsella pneumonia* نشان دادند. تولید باکتریوسین توسط جدایه‌های لاكتیکی در قابلیت کلینیزاسیون و توانایی رقابتی آن‌ها اهمیت دارد و استفاده از سویه‌های مولد باکتریوسین در فراورده‌های تخمیری، اینمنی و کیفیت این فراورده‌ها را تضمین می‌کند(۱۸).

بر اساس بررسی بوریس و همکاران در سال ۲۰۰۱ رشد *Lactobacillus*‌های جدا شده از *Salmonella typhimurium* و *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* مشاهده شد(۵).

تماراج و همکاران در سال ۲۰۰۹ در پژوهشی نتایج مشابهی از آزمون انتشار در چاهک و نقطه گذاری گزارش کردند. تمام گونه‌های پروپیوتیک یک هاله شفاف عدم رشد و یک هاله کوچکتر انتشار تولید کردند، به جز گونه‌های لاكتوباسیلوس رامنسوس LC705 و LBA که هاله انتشار نشان ندادند. این پیشنهاد مطرح بودکه بخش مواد مهار کننده تولید شده بوسیله این گونه‌ها ممکن است نابود یا در طول ترشح شناور تخریب شده باشد یا مواد ضد میکروبی با کیفیت کمتر از سایر موادی که منتشر می‌شوند تولید کرده باشد(۲۲).

خوناچکر و همکاران در سال ۲۰۰۸ مطالعه‌ای بر روی جدایه‌های لاكتیکی خود انجام دادند و فعالیت‌های ضد میکروبی همه سویه‌های جداسازی شده را تحت شرایط اکسیژن محدود حذف اثر پراکسید هیدروژن در مقابل ۵ سویه باکتری پاتوژن به وسیله تکنیک "انتشار چاهک" بررسی کردند. آن‌ها نشان دادند که روشناور *Lactobacillus sobrius* و *Lactobacillus* می‌تواند از رشد *Listeria monocytogenes* و *Escherichia coli* جلوگیری کند. این محققان پیشنهاد جایگزینی ترکیبات ضد میکروبی حاصل از باکتری‌های اسید لاكتیک را به جای نگهدارنده در صنعت دادند(۱۲).

۵- نتیجه گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که توانایی مهار کننده‌ی متابولیت‌های برخی از باکتری‌های لاكتوباسیلوس بومی از رشد پاتوژن‌های *E.coli* و *Listeria innocua* و *Staphylococcus aureus*، ممکن است پتانسیل کاربرد در افزایش اینمنی و زمان نگهداری مواد غذایی را فراهم کند و نیز با توجه به عوارض ناشی از مصرف ترکیب‌های ضد میکروبی سیمیایی و مصنوعی، این متابولیت‌ها می‌توانند به عنوان ترکیب‌های ضد میکروبی طبیعی کاربرد غذایی و دارویی داشته باشند.

۶- منابع

- Alegría Á, Delgado S, Roces C, López B, Mayo B. Bacteriocins produced by wild *Lactococcus lactis* strains isolated from traditional, starter-free cheeses made of raw milk. International journal of food microbiology. 2010;143(1):61-6.



دومین همایش توسعه کیفیت،
راهبردی فرآئیر
در سلامت غذا

زمان: ۲۸ اردیبهشت ۹۵
مکان: سالن مرکز اسناد و کتابخانه ملی

بعبود تغذیه، ضامن سلامت

2. Arthur TD, Cavera VL, Chikindas ML. On bacteriocin delivery systems and potential applications. Future microbiology. 2014;9(2):235-48.
3. Balciunas EM, Martinez FAC, Todorov SD, de Melo Franco BDG, Converti A, de Souza Oliveira RP. Novel biotechnological applications of bacteriocins: a review. Food Control. 2013;32(1):134-42.
4. Belicová A, Mikulášová M, Dušinský R. Probiotic potential and safety properties of Lactobacillus plantarum from Slovak Bryndza cheese. BioMed research international. 2013;2013.
5. Boris S, Jiménez-Díaz R, Caso J, Barbes C. Partial characterization of a bacteriocin produced by Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis UO004, an intestinal isolate with probiotic potential. Journal of applied microbiology. 2001;91(2):328-33.
6. Cotter PD, Hill C, Ross RP. Bacteriocins: developing innate immunity for food. Nature Reviews Microbiology. 2005;3(10):777-88.
7. De Vuyst L, Leroy F. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. Journal of molecular microbiology and biotechnology. 2007;13(4):194-9.
8. Gálvez A, Abriouel H, López RL, Omar NB. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. International journal of food microbiology. 2007;120(1):51-70.
9. Havelaar AH, Brul S, De Jong A, De Jonge R, Zwietering MH, Ter Kuile BH. Future challenges to microbial food safety. International Journal of Food Microbiology. 2010;139:S79-S94.
10. Hernandez D, Cardell E, Zarate V. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Tenerife cheese: initial characterization of plantaricin TF711, a bacteriocin-like substance produced by Lactobacillus plantarum TF711. Journal of applied microbiology. 2005;99(1):77-84.
11. Kandler O, Weiss N. Genus Lactobacillus. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. In: Sneath PHA, Mair NS, Sharp ME, Holt JG, editors. 2. 8th ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 1986. p. 1209-34.
12. Khunajakr N, Wongwicharn A, Moonmangmee D, Tantipaiboonvut S. Screening and identification of lactic acid bacteria producing antimicrobial compounds from pig gastrointestinal tracts. KMITL Science and Technology Journal. 2008;8(1):8-17.
13. Lima ET, Andreatti Filho RL, Okamoto AS, Noujaim JC, Barros MR, Crocci AJ. Evaluation in vitro of the antagonistic substances produced by Lactobacillus spp. isolated from chickens. Canadian journal of veterinary research. 2007;71(2):103.
14. Martinez FAC, Balciunas EM, Salgado JM, González JMD, Converti A, de Souza Oliveira RP. Lactic acid properties, applications and production: a review. Trends in food science & technology. 2013;30(1):70-83.
15. Messaoudi S, Manai M, Kergourlay G, Prévost H, Connal N, Chobert J-M, et al. Lactobacillus salivarius: bacteriocin and probiotic activity. Food microbiology. 2013;36(2):296-304.
16. Miteva V, Stefanova T, Budakov I, Ivanova I, Mitev V, Gancheva A, et al. Characterization of bacteriocins produced by strains from traditional Bulgarian dairy products. Systematic and applied microbiology. 1998;21(1):151-61.
17. Mohankumar A, Murugalatha N. Characterization and antibacterial activity of bacteriocin producing Lactobacillus isolated from raw cattle milk sample. International Journal of Biology. 2011;3(3):128.

دومین همایش توسعه کیفیت،
راهبردی فرآینر
در سلامت غذا



پیجود تقدیمه، ضامن سلامتی

زمان: ۲۸ اردیبهشت ۹۵
مکان: سالن مرکز اسناد و کتابخانه ملی

18. Omafuvbe BO, Enyioha LC. Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from selected commercial Nigerian bottled yoghurt. African Journal of Food Science. 2011;5(6):340-8.
19. Ouwehand AC, Vesterlund S. Antimicrobial components from lactic acid bacteria. 2004.
20. Savadogo A, Ouattara CA, Bassole IH, Traore AS. Antimicrobial activities of lactic acid bacteria strains isolated from Burkina Faso fermented milk. Pakistan Journal of nutrition. 2004;3(3):174-9.
21. Schillinger U, Lücke FK. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. Applied and environmental microbiology. 1989;55(8):1901-6.
22. Tharmaraj N, Shah NP. Antimicrobial effects of probiotics against selected pathogenic and spoilage bacteria in cheese-based dips. International Food Research Journal. 2009;16(3):261-76.
23. William.B.Whitman. Bergeys Manual of systematic. 3. 2th ed2009. p. 711-22.
24. Zacharof M-P, Coss GM, Mandale SJ, Lovitt RW. Separation of lactobacilli bacteriocins from fermented broths using membranes. Process Biochemistry. 2013;48(8):1252-61.



بسم الله الرحمن الرحيم



کواہی پذیرش معالجه صورت پوست

پژوهشگر کرامی

جواب آقای اسرکار خانم فتحیه عزیزی

با پاس از تلاش شادر استادی تحقیق و پژوهش جنابعالی با عنوان

بررسی خاصیت ضد میکروبی جدا یہاںی لاتوباسیلوس از پنیر سنتی متأ
مور دنیز کامل بجهت ارائه در دوین هایش توسعه کیفیت راهبردی فراکیر
درسلامت غذا، مورخ ۱۳۹۵ اردیبهشت قرار گرفته است.

دیر علی یايش
دکتر سیل سکندری
اسلحه

دیر علی یايش
دکتر شیریار دیریان