

الملخص العربي

بالرغم من استخدام طرق متعددة في حفظ الأغذية فإن تزايد شكوك المستهلكين في أضرار الأغذية المحتوية على مواد حافظة مصنعة كيميائياً، وكذلك الأغذية التي تعرضت لمعاملات حفظ قاسية تقلل من طزاجتها و قيمتها الغذائية زاد من اهتمام قطاع الصناعات الغذائية في العالم المتقدم بإمكانية استخدام مضادات ميكروبية في حفظ الأغذية ومن أهمها البكتريوسينات التي هي عبارة عن مركبات بروتينية مضادة للميكروبات تفرزها البكتريا وعادة ما تكون ذات تأثير مثبط أو قاتل للبكتريا ذات القرابة معها و بعضها قد يكون ذا نشاط مثبط لنمو بكتريا أخرى ليست قريبة لها. و بالرغم من أن البكتريوسينات تنتجها عديد من البكتريا الموجبة و السالبة لصبغة جرام فإن تلك التي تنتجها بكتريا حامض اللاكتيك تحظى باهتمام خاص حيث ان هذه البكتريا تعتبر بكتريا آمنة و تتواجد في كثير من الأغذية التي يتناولها الانسان بأمان منذ قديم الزمن و لكن نظرا لعدم كفاءة معظم البكتريوسينات المعروفة حالياً في تضاد البكتريا السالبة لصبغة جرام و بعض البكتريا الموجبة لصبغة جرام او عدم تحملها للمعاملات التي قد تصاحب تصنيع الأغذية مما يحد من استخدامها كمواد حافظة للأغذية، فإنه قد تزايد اهتمام الباحثين و المهتمين بسلامة الغذاء و جودته في جميع أنحاء العالم في السنوات الأخيرة بدراسة انواع جديدة من البكتريوسينات التي يمكن استخدامها في حفظ الاغذية.

في ضوء ما سبق فإن الهدف من الدراسة الحالية هو الحصول على عزلات طبيعية محلية تنتمي إلى أهم الأجناس التابعة لبكتريا LAB و هو جنس

اللاكتوبسيليستكون منتج للبيكتريوسين و ينتخب من بينها بعض السلالات ذات الكفاءة العالية في انتاج البيكتريوسينات ذات المدي الواسع والقوي في القضاء على البيكتريا المرضية والبيكتريا التي تسبب فساد الاغذية بجانب قدرتها على تحمل بعض المعاملات الشائع استخدامها في صناعة الاغذية،وتضمنت هذه الدراسة خمس مراحل كما يلي:

في المرحلة الاولى تم عزل ١٢٨ سلالة من بكتريا حامض اللاكتيك (LAB) من عينات مختلفة من الالبان و منتجاتها مثل الزبادي و اللبن الرايب و الجبن و الكشك و مشروب البوظه و بعض منتجات اللحوم (اللانسون، و السجق) و دراسة صفاتها الأولية.و من بين ال ١٢٨ عزله ظهر أن عدد ٦٩ عزله تنتمي إلى جنس اللاكتوبسيليست و التي اختبرت قدرتها على تثبيط نمو مجموعة من البيكتريا ومن بينها ٢ بكتريا سالبة لصبغة جرام و ٣ موجبة لصبغة لجرام و تلك البيكتريا هي

E.coli, Listeria monocytogenes, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Salmonella enteritides

أظهرت النتائج ان عدد ٥٨ عزلة كانت مضادة لواحدة أو اكثر من بكتريا الاختبار الخمس و بدرجات تثبيط متفاوتة.

المرحلة الثانية من الدراسة:

نظرا لان المواد المضادة للميكروبات والتي تنتجها بكتيريا حامض اللاكتيك تتكون اساسا من احماض اهمها حمض اللاكتيك، وفوق اكسيد الهيدروجين، والبكتيريوسين، لذا تضمنت الدراسة في هذه المرحلة اجراء مجموعة من الاختبارات علي ٥٦ عزلة بهدف تحديد تأثير كل من حامض اللاكتيك وفوق اكسيد الهيدروجين كمواد مضادة للميكروبات، وكذلك اثبات ان التأثير المضاد للميكروبات راجع الي مواد ذات طبيعة بروتينية (مشابهات البكتيريوسين) و ذلك بمعاملة راسح المزارع السائلة للعزلات بعد إزالة الخلايا منها بالطرد المركزي ومعاملتها بمواد قلوية لمعادلة الأحماض ثم معاملتها بانزيم الكتاليز لازالة فوق اكسيد الهيدروجين و هذا الراشح المعدل أطلق عليه

Modified Cell- Free Culture Supernatant (MCFCS)

والنتائج المتحصل عليها من الدراسة اوضحت ما يلي:

- وجد ان هناك عدد ٤٧ عزلة من عزلات اللاكتوباسيلس تنتج في مزارعها مواد مشابهه للبكتيريوسين وظهرت تأثيرا مضادا لواحدة أو اكثر من مجموعة بكتريا الاختبار و بدرجات متفاوتة من التأثير و قد وجد أيضا ان عدد ٤٢ عزلة، ٣٤، ٣٥، ٤٠، ٤٢ عزلة من ال ٤٧ عزلة قد تثبطت نمو كل من

E.coli, Listeria monocytogenes, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Salmonella enteritides . على التوالي.

- ومن بين هذه العزلات الـ ٤٧ وجد ان عدد ٣١ عزله أظهرت تضاداً لكل مجموعة بكتريا الاختبار وكان افضل العزلات التي سجلت افضل تضاد لمجموعة بكتيريا الاختبار هي العزلات الخمس التالية:

Eg-DCH1 وهي معزولة من الجبن الدمياطي و Eg-FM2 وهي معزولة من اللبن المتخمّر و Eg- FM3 وهي معزولة من اللبن المتخمرو Eg- YO1 وهي معزولة من الزبادي و Eg-RM2 وهي معزولة من اللبن الخام. وقد تم تصنيف العزلات باستخدام API 50 CHL System تم تعريف العزلات الخمس و تبين أن العزلتين Eg- YO1, Eg- FM3 تنتميان الي بكتريا *Lactobacillus paracasei* *ssp. Paracasei* و العزلتين Eg- RM2, Eg- FM2 تنتميان الي سلالات من بكتريا *Lactobacillus rhamnosus*، بينما لم ينجح نظام API في تعريف العزلة Eg- DCH1 و قد سميت Eg- DCH1 *Lactobacillus sp.*

وفى المرحلة الثالثة من الدراسة تم اختبار حساسية المواد المشابهة للبكتيريوسين (MCFCS) للأنزيمات المحللة للبروتينات (Pepsin, Trypsin , Pronase, وكذلك حساسيتها لانزيم α - amylase . و أظهرت نتائج هذا الاختبار أن أنزيمات البرونيز و الببسين و الترسين الغت تماما التأثير المضاد للميكروبات للمواد الموجودة فى الـ MCFCS مما يؤكد الطبيعة البروتينية لهذه المواد، و كذلك تم اختبار MCFCS التي تنتجها العزلات الخمس لاحتوائها على البكتريوفاجات من عدمه حيث إن البكتريوفاجات تظهر تأثير مشابها لتأثير البكتريوسينات، و

أظهرت نتائج الاختبارات ان MCFCs لكل من العزلات الخمس لا توجد به بكتريوفاجات.

و بناء على نتائج المرحلة الثالثة من الدراسة فانه يمكن القول بأن هذه المواد المضادة للميكروبات الموجودة في ال MCFS الخاص بالسلالات المختبرة تتميز بصفات البكتريوسين، ولحين اجراء دراسات اخري متقدمة قد اقترح تسميتها " مواد شبيهة بالبكتريوسين " "Bacteriocin – Like Substances (BLS) وقد تم تسمية ال BLS التي تنتجها هذه العزلات كما يلي:

lactobacin Eg-DCH1 (from *Lactobacillus* sp. Eg-DCH1), lactobacin Eg-FM3 (from *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* Eg-FM3), lactobacin Eg- YO1 (from *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* Eg-YO1), lactobacin Eg-FM2 (from *Lactobacillus rhamnosus* Eg-FM2) and lactobacin Eg-RM2 (from *Lactobacillus rhamnosus* Eg-RM2).

وقد أختبرت ال BLS لمدى قدرتها على تضاد نمو عدد ٣٠ ميكروب عبارة عن عدد ١٠ بكتريا حامض لاكتيك موجبة لجرام ، عدد ٧ بكتريا اخرى موجبة لجرام ، عدد ١١ بكتريا اخرى سالبة لجرام بالاضافة الى ٢ من الخمائر و أظهرت النتائج ان جميع ال BLS أظهرت تضاداً لجميع ميكروبات الاختبار الثلاثين و ايضا اثبتت النتائج ان سلالة ال Lb المنتجة لـ BLS لا تتأثر بالـ BLS الذي تنتجه ومن النتائج الهامة لهذا الاختبار ان جميع الـ BLS أظهرت تضادا لجميع البكتريا السالبة لجرام و كذلك للخمائر.

و المرحلة الرابعة من الدراسة تضمنت اختبار BLS التي تنتجها سلالات اللاكتوبيسلس المنتخبة لبعض الصفات التي يمكن أن تحدد مدى إمكانية استخدامها كمواد حافظة حيوية للاغذية و من تلك الصفات تأثر نشاطها المضاد للميكروبات بالحفظ على درجات حرارة مختلفه و لفترات مختلفه ، و درجة ثباتها حراريا ، و تأثرها بدرجات ال pH ، و بتركيزات مختلفة من ملح الطعام ، و كذلك تأثرها بالمذيبات العضوية و مواد التوتر السطحي.

و قد أظهرت نتائج هذه المرحلة أن ال BLS للسلالات الخمس المختبرة تمتلك الخصائص الآتية:

- ان هذه المواد تحتفظ بنسبة كبيرة من نشاطها المضاد للميكروبات عند حفظها على درجة حرارة الثلاجة (٤ درجة مئوية) او درجة حرارة التجميد (-٢٠ درجة مئوية) لمدته لا تقل عن ٦٠ يوما في الحالة الاولى و لمدة لا تقل عن ٩٠ يوما في الحالة الثانية.
- ان هذه المواد تتحمل التسخين على درجة حرارة ١٠٠ درجة مئوية لمدة ٦٠ دقيقة (مدة التجربة) بدون تغير كبير في نشاطها و أكثر من ذلك فان بعضها لم يتأثر كثيرا بالتعقيم بالأوتوكلاف عند درجة حرارة ١٢١ درجة مئوية لمدة ١٥ دقيقة.
- ان هذه المواد تظهر نشاطا مضادا للميكروبات في مدى و اسع من درجات ال pH من (١٠ - ٤) وتكون في أقصى نشاطها عند درجة 7.0 pH .

- ان هذه المواد تتحمل تأثير ملح الطعام بتركيز يصل الى ٢٠ % لمدة لا تقل عن ٣٠ يوما (مدة التجربة) و بعضها يحتفظ بجزء كبير من نشاطة المضاد للبكتريا عند تعرضها للملح بتركيز ٣٠% حتى نهاية مدة التجربة.
 - ان هذه المواد لم تتأثر كثيرا بالمعاملة بمواد التوتر السطحي مثل EDTA, Urea, Tween 20, Tween 80 ، و أكثر من ذلك فان معاملتها ببعض هذه المواد زاد من نشاطها المضاد للبكتريا.
 - ان هذه المواد احتفظت بحوالي ٦٠% من نشاطها عند تعرضها لبعض المذيبات العضوية مثل Chloroform , Ethanol , n – Hexane بتركيزات حتى ١٥%.
- المرحلة الخامسة من الدراسة تضمنت مقارنة نشاط الـ BLS المضاد للبكتريا مع النشاط المضاد للبكتريا لعدد ١٦ مضاد حيوي، أظهرت نتائج هذه الدراسة ان الـ BLS المركزه و المنقاه جزئيا تفوقت في نشاطها المضاد للبكتريا على كثير من المضادات الحيوية المستخدمة في المقارنة و تقترب من تأثير القليل الباقي منها.
- مجمل نتائج الدراسة يبين أن من بين سلالات بكتريا اللاكتوبيسيلس المحليه توجد سلالات منتجة لمواد شبيهة بالبكتريوسين ذات مدى و اسع و قوي في تضاد بعض من البكتريا الهامة الممرضة للانسان والبكتيريا التي تسبب فساد الاغذية و كذلك ذات قدرة على تحمل بعض الظروف و المعاملات التي قد تتعرض لها الأغذية أثناء تصنيعها أو حفظها مما يجعلها مواداً واعدة بإمكانية استخدامها كمواد حافظة بيولوجية آمنة بديلا للمواد الحافظة المصنعة كيميائيا المستخدمة حاليا في حفظ الأغذية. كما قد تقيد ايضا في استخدامها كبدايل آمنة للمضادات الحيوية لبعض أمراض الانسان و الحيوان.