مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال نوزدهم، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳، صفحات ۱۰۱-۹۱

شناسایی ترکیبات شبه باکتریوسینی باکتری‌های لاکتوباسیلوس پنیر موتال ایرانی

مریم شقاقی[۱]، جلیل خندقی[۲و۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، واحد سراب، دانشگاه آزاد اسلامی، سراب، ایران

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سراب، دانشگاه آزاد اسلامی، سراب، ایران

۳- نویسنده مسئول: گروه بیوتکنولوژی مواد غذایی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران. پست الکترونیکی: khandaghi@iausa.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۵

چکیده

سابقه و هدف: باکتری‌های لاکتیک اسید می‌توانند به‌واسطه تولید باکتریوسین‌ها، در تولید فرآورده‌های غذایی سلامت محور کمک کنند. هدف از مطالعه‌ی حاضر شناسایی ترکیبات باکتریوسینی باکتری‌های لاکتوباسیلوس پنیر موتال ایرانی و بررسی پایداری آن‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در تحقیق حاضر، خواص آنتاگونیستی باکتری‌های لاکتوباسیلوس پنیر موتال ایرانی ارزیابی و کینتیک رشد و تولید ترکیبات باکتریوسینی آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین چالش ترکیبات باکتریوسینی و مقاومت آن‌ها در دما و pHهای مختلف و تحت تأثیر آنزیم‌های پروتئاز بررسی شد.

یافته‌ها: با انجام آزمون‌های فنوتیپی و مولکولی، ۲۳ جدایه لاکتوباسیلوس انتخاب و اثرات ضدمیکروبی آن ارزیابی شد. جدایه‌ها اثرات ضدمیکروبی بیشتری روی باکتری‌های گرم مثبت داشتند که تعداد سه جدایه (LM11، LM52، LM56) که اثرات قوی‌تری نشان دادند، برای ادامه مطالعه انتخاب شدند. بررسی روند رشد و تولید ترکیبات باکتریوسین نشان داد که ضمن رشد ایده‌ال جدایه‌ها در دمای مزوفیل، pH سوسپانسیون میکروبی کاهش و فعالیت باکتریوسینی افزایش پیدا کرد. به‌علاوه، فعالیت باکتریوسینی هر سه سویه‌ی منتخب در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس کاهش معنی‌داری داشته ($P<۰/۰۵$) ولی ترکیبات باکتریوسینی به استثنای سویه LM56 در دمای ۸۰ درجه پایدار بودند. همچنین، تغییرات pH منجر به کاهش معنی‌داری در فعالیت باکتریوسینی نشد درحالی که قرار گرفتن متابولیت‌های باکتریوسینی در معرض آنزیم‌های پپسین و تریپسین موجب کاهش معنی‌دار فعالیت باکتریوسینی شد.

نتیجه‌گیری: سه جدایه لاکتوباسیلوس که اثرات ضدمیکروبی قوی‌تری داشتند، ضمن رشد در دمای مزوفیلیک و کاهش pH، متابولیت‌های باکتریوسینی تولید کردند. ماهیت پروتئینی این متابولیت‌ها با بی‌اثر شدن آن‌ها تحت تأثیر آنزیم‌های پروتئاز ثابت شد. ترکیبات باکتریوسینی پایداری بالایی در pH و دماهای بالا نشان دادند.

واژگان کلیدی: باکتریوسین، لاکتوباسیلوس، پنیر موتال، PCR

پیام‌های اصلی:

- سه سویه‌ی لاکتوباسیلوس جداشده از پنیر موتال ایرانی اثرات آنتاگونیستی قوی نشان دادند.
- اثرات آنتاگونیستی جدایه‌ها به متابولیت‌های باکتریوسینی آن‌ها مربوط بود.
- پایداری بالای ترکیبات باکتریوسینی هر سه جدایه درpH های مختلف اثبات شد.
- ترکیبات باکتریوسینی دو سویه از جدایه‌های لاکتوباسیلوس در دمای ۸۰ درجه پایدار بودند.

• مقدمه

با توجه به کاهش چشم‌گیر نگهدارنده‌های شیمیایی به علت اثرات منفی بر سلامت مصرف کنندگان، جایگزین کردن آن‌ها با میکروارگانیسم‌هایی مانند لاکتیک اسید باکتری‌ها و ترکیبات زیست‌فعال (bioactive) آن‌ها و بهره‌مندی از خواص سلامت

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.61186/nsft.19.4.91]

بخشی آن‌ها روز به روز در حال گسترش است (۱). در این بین، مصرف محصولات غذایی تخمیری به دلیل داشتن فلور میکروبی مفید و متابولیت‌های آن‌ها همواره اهمیت داشته است. روش‌های سنتی آماده‌سازی محصولات لبنی تهیه شده از شیر خام عامل حضور میکروفلور خاص در این محصولات می‌شود که معمولا از دسته باکتری‌های لاکتیک هستند (۲). تحقیقات نشان داده است که این باکتری‌های مفید به‌واسطه تولید متابولیت‌هایی مانند اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن و پپتیدهای فعال زیستی مانند باکتریوسین‌ها و ترکیبات شبه باکتریوسینی، می‌توانند از اهمیت زیادی در صنعت غذا برخوردار بوده و در تولید فرآورده‌های سلامت محور کمک کنند (۳).

پنیر به عنوان جزئی از گروه لبنیات، منبع خوبی برای پروتئین، کلسیم و فسفر محسوب می‌شود. آنچه سبب بوجود آمدن انواع پنیرها شده است روش‌های متنوع تولید آن یعنی دلمه کردن، آبگیری و رساندن پنیر می‌باشد (۴). یکی از این پنیرها پنیر موتال است که در فارسی به آن پنیر پوستی نیز اطلاق می‌شود و در شمال‌غرب کشور و بخصوص استان اردبیل و همچنین کشور جمهوری آذربایجان بیشتر تولید می‌شود. این نوع پنیر از شیر خام گوسفند و بز و بدون افزودن آغازگر و در داخل پوست بز یا گوسفند می‌رسد و حاوی چربی و نمک بالا با بافتی ترد و طعمی قوی است که احتمالا به خاطر زمان طولانی تخمیر و فرآوری آن است (۵).

باکتری‌های اسیدلاکتیک یا LAB (Lactic Acid Bacteria) گروه هتروژنی از باکتری‌های کوکسی یا باسیل شکل گرم مثبت و غیر اسپورزا هستند که بر پایه ویژگی‌های ریخت‌شناسی، متابولیک و فیزیولوژیک در یک گروه قرار گرفته‌اند و محصول اصلی آن‌ها، اسیدلاکتیک حاصل از تخمیر کربوهیدرات‌ها است (۶). از میان این باکتری‌ها لاکتوباسیلوس‌ها میزان اسید لاکتیک بیشتری تولید کرده و نقش مهمتری در تخمیر غذاها دارند (۷). همچنین به عنوان یکی از اصلی‌ترین میکروارگانیسم‌هایی که دارای ویژگی‌های پروبیوتیک هستند شناخته می‌شود و در مطالعات پیشین گونه‌های بسیاری از لاکتوباسیلوس‌های دارای خاصیت پروبیوتیکی در غذاهای سنتی و بومی تخمیری شناسایی شده‌اند (۸). گونه‌های بسیاری از لاکتوباسیلوس‌های دارای خاصیت پروبیوتیکی در غذاها شناسایی شده‌اند (۸). به دلیل اهمیت فوق العاده این باکتری‌ها از نظر سلامت بخشی، درمانی و تغذیه‌ای، جداسازی و شناسایی گونه‌های جدید این باکتری‌ها از منابع مختلف غذایی از اهمیت بالایی برخوردار است.

اساساً شناسایی این باکتری‌ها بر اساس ویژگی‌های مختلف فنوتیپیکی (مورفولوژی سلول، شرایط رشد و الگوی تخمیر کربوهیدرات‌ها) انجام می‌شود (۹) ولی از آنجایی که روش‌های فنوتیپی و بیوشیمیایی نتایج طبقه‌بندی واضحی را بخصوص در تمایز گونه‌ها و سویه‌های این باکتری‌های ارائه نمی‌کنند، تشخیص به‌کمک روش‌های مولکولی مانند توالی یابی ژن‌های 16/23 S rRNA و یا آزمون‌های PCR اختصاصی جنس و گونه (Genus/Species -Specific PCR) به عنوان ابزار مؤثری برای شناسایی باکتری‌های لاکتیک اسید در محیط‌های پیچیده‌ای مانند مواد غذایی تخمیر شده استفاده می‌شود (۱۰) به‌طوری که، مطالعات گسترده‌ای در زمینه کاربرد این روش‌ها برای شناسایی جدایه‌های لاکتیک اسید باکتری از غذاهای گوناگون انجام شده است (۱۱، ۲).

باکتری‌های لاکتوباسیلوس از قابلیت تولید ترکیبات ضدمیکروبی برخوردارند که در مقابل طیف وسیعی از عوامل بیماریزا و مولد فساد موثر است. پپتیدهای فعال زیستی مانند باکتریوسین‌ها که گروه متنوعی از مواد با فعالیت فیزیولوژیک متعدد از جمله خواص ضداکسیدانی و ضدمیکروبی هستند، مخلوط پیچیده‌ای از متابولیت‌های پروتئینی با وزن مولکولی کمتر از ۱۰ کیلودالتون بوده و توسط باکتری‌های مختلف مخصوصا لاکتیک اسید باکتری‌ها تولید می‌شوند (۱۲). این پپتیدهای ضدمیکروبی در غلظت‌های نانومولار فعالیت می‌کنند و فاقد اثر سمیت در سلول‌های یوکاریوتی هستند. از دلایل مهم توجه به باکتریوسین‌ها به عنوان جانشین آنتی‌بیوتیک‌ها، نبود مقاومت باکتری‌ها به این پپتیدهای ضدمیکروبی است (۱۳). استفاده صنعتی از باکتریوسین‌ها هنوز در مرحله آزمایشی قرار دارد و باید به‌خوبی مورد مطالعه قرار بگیرد.

در تحقیق حاضر تولید ترکیبات باکتریوسینی توسط جدایه‌های لاکتوباسیلوس پنیر موتال ایرانی ارزیابی و خواص آنتاگونیستی آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است. همچنین سینتیک تولید ترکیبات باکتریوسینی و چالش آن‌ها در دمای بالا، پی‌اچ‌های مختلف و تحت تأثیر آنزیم‌های گوناگون بررسی شد.

• مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

این مطالعه به‌منظور جداسازی و شناسایی باکتری‌های لاکتوباسیلوس از پنیر موتال ایرانی انجام گرفت. برای این منظور تعداد ۲۰ نمونه پنیر به‌صورت تصادفی در زمستان ۱۴۰۲ از محل‌های عرضه در استان اردبیل برداشت شده و در یخچال به

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.61186/nsft.19.4.91]

آزمایشگاه پژوهشکده بیوتکنولوژی صنایع غذایی در تبریز منتقل شد.

جداسازی لاکتوباسیلوس‌ها

برای جداسازی اولیه لاکتوباسیلوس‌ها از خصوصیات فنوتیپیکی جدایه‌ها استفاده شد (۱۵، ۱۴). برای این منظور پس از همگن کردن نمونه پنیر و تهیه رقت‌های سریال ده برابر از آن، نمونه‌ها در سطح محیط کشت MRS آگار (HiMedia, India) کشت داده شد. پلیت‌ها در دو دمای ۳۷ و ۴۲ درجه سانتی‌گراد به‌منظور ایجاد رشد بهینه برای باکتری‌های مزوفیل و ترموفیل در شرایط بی هوازی به مدت ۷۲-۲۴ ساعت گرم‌خانه گذاری شدند. از پرگنه‌های تشکیل شده در پلیت‌های دارای ۳۰ تا ۱۵۰ عدد پرگنه، پنج نمونه انتخاب و جدایه‌های باسیل شکلی که گرم مثبت و کاتالاز منفی بودند به‌عنوان لاکتیک اسید باکتری در نظر گرفته شدند.

تایید تشخیص جدایه‌ها به‌روش مولکولی و با بکارگیری آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی جنس لاکتوباسیلوس انجام شد. به منظور انجام آزمایش PCR، مقدار ۲۵ میکرولیتر از مخلوط زیر در داخل میکروتیوب وارد و در دستگاه ترموسایکلر (PTC 200 Waltham, USA) قرار گرفت:

-یک میکرولیتر DNA استخراج شده

-۱۲/۵ میکرولیتر PCR (Cinnagen, Iran 616301394) master kit

- یک میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها

- آب دوبار تقطیر شده تا رسیدن به حجم

سیکل‌های دمایی بکار رفته برای PCR در این مطالعه، شامل هفت دقیقه حرارت ۹۴ درجه سلسیوس برای دناتوراسیون اولیه و به دنبال آن ۳۰ سیکل به‌صورت Touchdown که شامل ۵۰ ثانیه دمای ۹۴ درجه سلسیوس برای مرحله واسرشت (Denaturation)، ۵۰ ثانیه دمای ۵۹ درجه سلسیوس که به ۵۲ درجه سلسیوس کاهش یافت، برای چسبیدن پرایمر (Annealing) و ۵۰ ثانیه دمای ۷۲ درجه سلسیوس برای مرحله ساخته شدن رشته مکمل DNA الگو (Elongation) اعمال گردید. جهت تکثیر ژن اختصاصی جنس لاکتوباسیلوس از جفت پرایمر LbLMA1-rev با توالی 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' و R16-1 با توالی 5'-TACGGTTACCTTGTTACGACTT-3' استفاده شد (۱۶). در پایان سیکل‌ها نیز به مدت هفت دقیقه دمای ۷۲ درجه سلسیوس اعمال و محصولات PCR از دستگاه ترمرسایکلر خارج گردیدند. محصولات PCR پس از مخلوط شدن با لودینگ بافر حاوی رنگ Sibergreen (Nanobiotech M1742-1) به کمک سمپلر در گودهای ایجاد شده در ژل آگارز ۱/۵ درصد (Invitrogen, G501802) قرار داده شدند.

بررسی فعالیت ضدمیکروبی

روش انتشار در چاهک برای تعیین فعالیت ضدباکتریایی متابولیت‌های شبه باکتریوسینی ایزوله‌های لاکتوباسیلوس بر روی سه پاتوژن گرم مثبت *لیستریا مونوسیتوژنز* (PTCC 1163)، *باسیلوس سرئوس* (PTCC 1015) و *استافیلوکوکوس ارئوس* (ATCC-25923) و نیز دو باکتری شاخص گرم منفی *اشرشیا کلی* (PTCC 1276) و *سالمونلا انتریکا* (PTCC-1709) استفاده شد. به این منظور پس از کشت سطحی پاتوژن‌های شاخص در محیط MRS agar (۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس)، چاهک‌های با قطر ۵ میلی‌متر در این پلیت‌ها ایجاد شده و ۵۰ میکرولیتر از فیلتر شده (از طریق فیلتر ۰/۲ میکرومتر) کشت تازه لاکتوباسیلوس‌ها که با آنزیم کاتالاز (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) تیمارشده و pH آن به ۷ رسانده شده است، به هر چاهک اضافه شد. پس از انکوباسیون یک شبه پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، مناطق عدم رشد در اطراف چاهک‌ها اندازه‌گیری و به‌عنوان فعالیت آنتاگونیستی در نظر گرفته شد (۱۱).

بررسی روند رشد جدایه‌ها و تولید ترکیبات باکتریوسینی آن‌ها

ابتدا رشد جدایه‌های منتخب، در دو دمای ۳۷ و ۴۲ درجه سلسیوس در محیط MRS broth (HiMedia, India) بررسی و منحنی رشد آن‌ها در مدت زمان ۲۴ ساعت رسم گردید تا دمای مناسب رشد ایزوله‌ها مشخص شود. برای ارزیابی روند تولید باکتریوسین، جدایه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای اپتیمم رشد قرار گرفته و تغییرات pH سوسپانسیون میکروبی و همچنین فعالیت باکتریوسینی آن‌ها به‌روش انتشار در چاهک ارزیابی شد (۱۷). برای این منظور یک کشت چمنی از باکتری که بیشترین اثر ضدمیکروبی جدایه‌ها بر ضد آن ثبت شده است، در سطح محیط کشت BHI agar (Merck, Darmstadt, Germany) انجام و سپس مقدار ۵۰ میکرولیتر از محلول‌های باکتریوسینی بدست آمده در هر مرحله، در چاهک‌های ایجاد شده روی پلیت کشت تلقیح شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ساعت در دمای مناسب رشد گرم‌خانه‌گذاری و فعالیت باکتریوسینی بر اساس درصدی از بالاترین قطر هاله عدم رشد ایجاد شده در اطراف چاهک‌ها، ثبت گردید.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.61186/nsft.19.4.91]

ارزیابی اثر حرارت، pH و آنزیم‌ها بر عملکرد ترکیبات باکتریوسینی

برای ارزیابی اثر دما بر عملکرد باکتریوسین، محلول باکتریوسینی به مدت ۳۰ دقیقه در دو دمای ۸۰ و ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفت (دمای رشد ۳۷ درجه به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شد). برای تعیین اثر pH روی باکتریوسین، pH ترکیبات شبه باکتریوسینی سویه‌های منتخب به مدت سه ساعت در ۳ و ۹ تنظیم شد. در این مورد هم، pH طبیعی تولید باکتریوسین یعنی ۴/۵ به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شد. همچنین اثر دو آنزیم پپسین و تریپسین (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) بر عملکرد متابولیت‌های باکتریوسینی نیز با افزودن غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از آنزیم‌ها بر روی محلول باکتریوسینی لاکتوباسیلوس‌های منتخب در مدت زمان سه ساعت ارزیابی شد (فیلتر شده بدون آنزیم به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شد). عملکرد باکتریوسین‌ها با بررسی فعالیت آنتاگونیستی فیلتر شده‌ها در هر مرحله برعلیه سویه شاخص به روش انتشار در آگار ارزیابی گردید (۱۸).

• یافته‌ها

جداسازی لاکتوباسیلوس‌ها

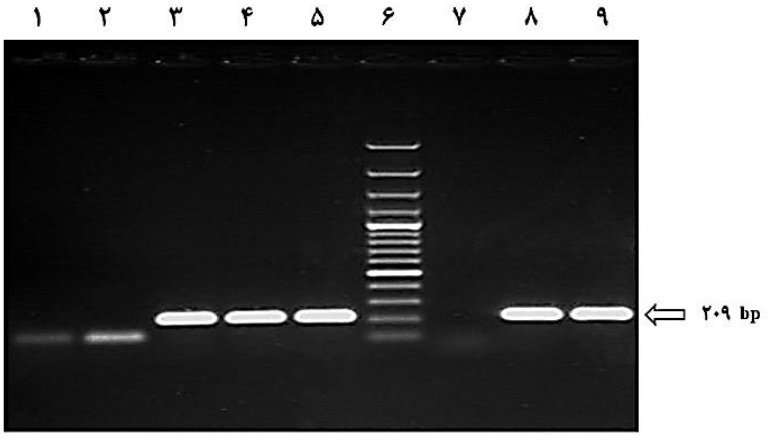
از مجموع ۷۵ پرگنه‌ی سفید تا خاکستری انتخاب شده در رقت‌های مناسب محیط کشت MRS agar ، ۳۴ جدایه (۴۵/۳ درصد پرگنه‌ها) پس از انجام آزمون‌های فنوتیپی که در بخش روش کار به آن اشاره شد، به‌عنوان لاکتیک اسید باکتری انتخاب و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی جنس لاکتوباسیلوس توسط آزمایش PCR ارزیابی شدند که در نهایت تعداد ۲۳ جدایه (۳۰/۶۶ درصد نمونه‌های اولیه) به‌عنوان لاکتوباسیلوس تأیید شدند. شکل۱ یکی از تصاویر ژل‌آگارز مربوط به تایید مولکولی جدایه‌های لاکتوباسیلوس نمونه‌های پنیر موتال را نشان می‌دهد.

فعالیت ضدمیکروبی جدایه‌ها

از بین ۲۳ جدایه لاکتوباسیلوس تأیید شده، تعداد سه جدایه که اثرات بازدارندگی قوی‌تری بر ضد تعداد بیشتری از پاتوژن‌های شاخص گرم مثبت و گرم منفی انتخاب شده نشان دادند برای ادامه مطالعه انتخاب شدند (جدول۱). بیشترین اثرات آنتاگونیستی سویه‌های لاکتوباسیلوس روی باکتری‌های گرم مثبت مورد مطالعه مشاهده شد بطوری که فقط سه جدایه هیچ اثر ضدمیکروبی برعلیه باکتری‌های گرم مثبت نشان نداند در حالی که ۱۴ سویه لاکتوباسیلوس منتخب هیچ اثر بازدارندگی بر رشد پاتوژن‌های شاخص گرم منفی نداشتند.

روند رشد و تولید ترکیبات باکتریوسینی جدایه‌ها

نمودار رشد سه جدایه لاکتوباسیلوس در دماهای رشد مزوفیلیک و ترموفیلیک (۳۷ و ۴۲ درجه سلسیوس) نشان داد که پس از یک دوره تأخیری ۳ تا ۶ ساعته تعداد باکتری‌ها شروع به ازدیاد کرد که در دمای رشد ۴۲ درجه سلسیوس فاز تاخیری طولانی‌تر بود. رشد تصاعدی سویه‌های منتخب تا ساعت ۱۵ الی ۱۸ دوره رشد ادامه یافته و سپس نمودار رشد وارد مرحله سکون گردید (شکل۲). همان‌طور که در شکل دیده می‌شود هر سه جدایه رشد بالاتری را در دمای ۳۷ درجه سلسیوس داشتند و بنابراین آزمون‌های بعدی در این دما انجام شد.



شکل ۱. تصویر ژل آگارز ۱/۵ درصد (Invitrogen, G501802) محصولات PCR جدایه‌های پنیر موتال با آغازگر اختصاصی جنس لاکتوباسیلوس. ستون۶: مارکر (Fermentas SN 0623, Germany) bp100، ستون۵: کنترل مثبت حاوی DNA باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم (PTCC 1058)، ستون۷: کنترل منفی بدون DNA الگو، ستون‌های ۱ تا ۴ و ستون‌های ۸و۹: نمونه‌های جداشده از پنیر.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.61186/nsft.19.4.91]

جدول ۱. خواص آنتاگونیستی متابولیت‌های شبه باکتریوسینی جدایه‌های لاکتوباسیلوس پنیر موتال ایرانی روی پاتوژن‌های شاخص

جدایه‌های لاکنوباسیلوس	اثر ضدمیکروبی علیه باکتری شاخص*				
	لیستریا مونوسیتوژنز (PTCC 1163)	*باسیلوس سرئوس* (PTCC 1015)	*استافیلوکوکوس ارئوس* (ATCC-25923)	*اشرشیاکلی* (PTCC 1276)	*سالمونلا انتریکا* (PTCC-1709)
LM3	++	+++	++	+	+
LM9	++	+	+++	–	–
LM10	+	+	+	–	–
LM11	+++	+++	++	+++	+
LM19	+++	–	–	–	–
LM25	–	–	–	+	–
LM28	+	–	–	–	–
LM33	+++	+++	+	–	–
LM35	+	+	+	++	–
LM38	+++	+	++	–	–
LM40	+++	+	+++	–	–
LM43	–	–	–	–	+
LM47	+	+	–	–	–
LM52	+++	+++	+++	++	+
LM55	–	–	–	–	–
LM56	+++	++	+++	++	++
LM61	++	–	–	–	++
LM64	++	+++	–	+	–
LM68	++	+	++	–	–
LM70	++	++	+	–	–
LM72	+++	++	-	-	+
LM73	–	–	+	–	–
LM74	+++	++	+	+	+

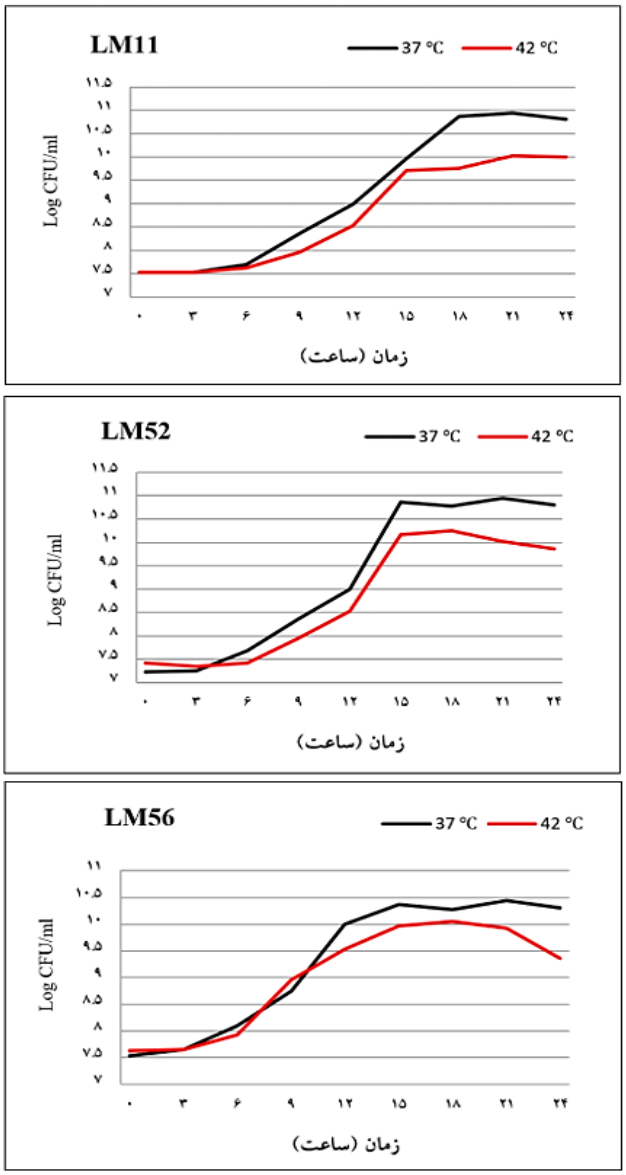
* اثرات آنتاگونیستی (+++) دارای هاله عدم رشد با قطر بزرگتر از ۲۰ میلی‌متر، نشان (++) دارای قطر ۱۱ تا ۱۹ میلی‌متر و نشان (+) دارای قطر کمتر از ۱۰ میلی‌متر است. عدم وجود هاله شفاف عدم رشد بصورت (-) نشان داده شده است.

در مرحله بعد میزان رشد و فعالیت باکتریوسینی سه سویه منتخب در بازه زمانی ۳۰ ساعت (هر ۵ ساعت) در دمای رشد ۳۷ درجه سلسیوس به همراه تغییرات pH محیط رشد جدایه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته‌ها نشان دادند همزمان با رشد جدایه‌ها، pH محیط کاهش یافته و میزان فعالیت باکتریوسینی روبه افزایش بوده است (شکل۳). برای سویه‌ی LM52 پس از ۲۰ ساعت و برای دو جدایه لاکتوباسیلوس دیگر پس از ۲۵ ساعت فعالیت باکتریوسینی به حداکثر مقدار خود رسید.

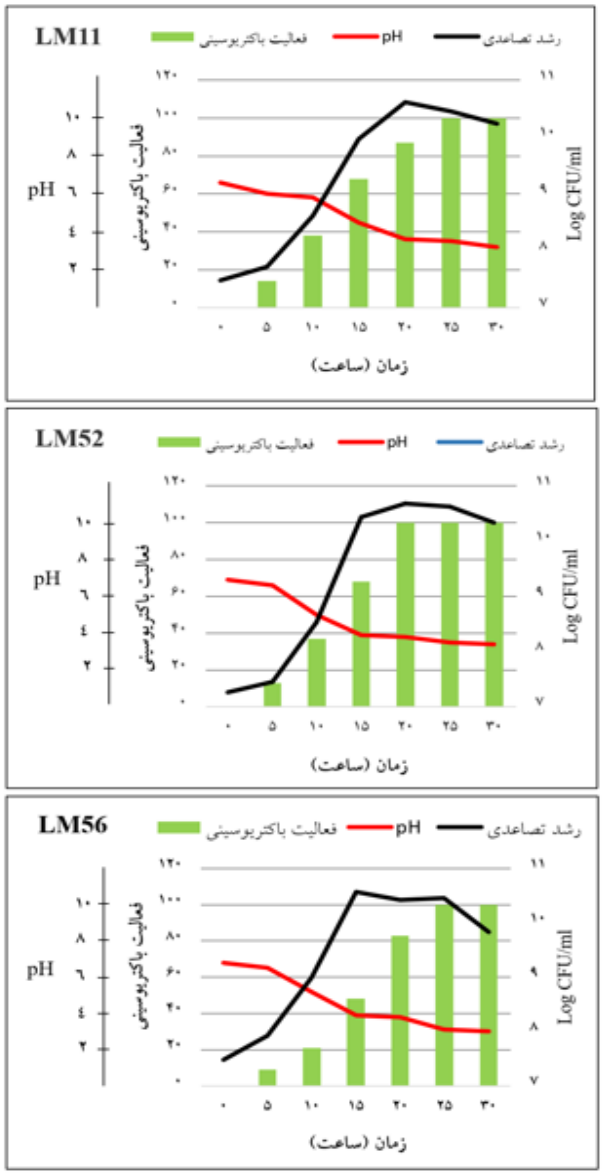
اثر حرارت، pH و آنزیم‌ها بر عملکرد ترکیبات باکتریوسینی: ارزیابی چالش تولید و فعالیت باکتریوسین‌های جدایه‌های لاکتوباسیلوس در حرارت ۸۰ و ۱۰۰ درجه سلسیوس نشان داد که فعالیت باکتریوسینی در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس در هر سه سویه کاهش معنی‌داری داشته ولی ترکیبات باکتریوسینی به استثنای سویه LM56 در دمای ۸۰ درجه پایدار بودند. همچنین تغییرات pH منجر به کاهش معنی‌داری در فعالیت باکتریوسینی جدایه‌های منتخب نشد. قرار گرفتن متابولیت‌های باکتریوسینی (فیلتر شده سوسپانسیون باکتری‌ها) در معرض هر دو آنزیم پروتئاز مورد مطالعه طبق انتظار موجب کاهش معنی‌دار فعالیت باکتریوسینی نسبت به نمونه شاهد شد که نشان دهنده ماهیت پروتئینی متابولیت‌های ضدمیکروبی جدایه‌ها بود (شکل۴).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.61186/nsft.19.4.91]



شکل ۲. نمودار رشد باکتری‌های لاکتوباسیلوس منتخب جداشده از پنیر موتال

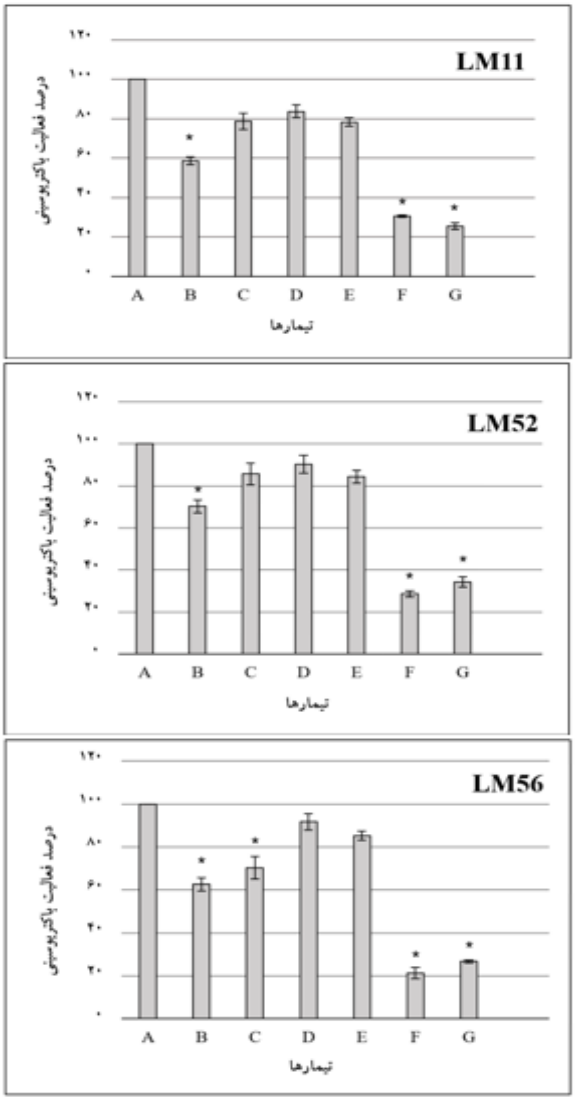


شکل ۳. روند رشد و تولید اسید و ترکیبات باکتریوسینی توسط سویه‌های منتخب لاکتوباسیلوس پنیر موتال ایرانی

• بحث

در خصوص جداسازی لاکتیک اسید باکتری‌ها ازغذاهای تخمیری، تاکنون گونه‌های مختلفی از باکتری‌های LAB از انواع لبنیات سنتی مانند پنیر و کشک سنتی ایران جداسازی شده است که یکی از فراوان‌ترین این جدایه‌ها لاکتوباسیلوس‌ها بوده‌اند (۱۹، ۸). پنیر موتال نیز یکی از انواع پنیرهای تخمیری سنتی مناطق وسیعی از آسیا از جمله کشورهای ایران، ارمنستان، جمهوری آذربایجان و ترکیه است که غنی از باکتری‌های لاکتیک اسید مختلف می‌باشد (۲۲-۲۰). در ارتباط با اثرات آنتاگونیستی باکتری‌های لاکتیک اسید می‌توان به مطالعه‌ی Mulaw و همکاران (۲۰۱۹) اشاره کرد که مشاهده کردند که اثرات بازدارندگی باکتری‌های لاکتیک اسید بر روی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به پاتوژن‌های گرم منفی بیشتر است (۲۳) که این یافته در توافق با نتایج تحقیق حاضر است. همچنین، Pisano و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که سویه‌های مختلف لاکتوباسیلوس‌ها بر *لیستریا مونوسیتوژنز* اثر بازدارندگی داشتند (۲۴). بالاترین اثرات ضدمیکروبی ترکیبات شبه باکتریوسینی در این تحقیق نیز بر ضد *لیستریا مونوسایتوجنز* به ثبت رسید. در بین باکتری‌های گرم منفی نیز بیشترین خاصیت بازدارندگی سویه‌های لاکتوباسیلوس جداشده از پنیر موتال روی اشرشیاکلی بوده است. در تحقیقات گذشته نیز، Behbahani و همکاران (۲۰۱۹) اثرات ضدمیکروبی لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر روی اشرشیا کلی را نشان داده و ممانعت از چسبیدن این پاتوژن به سلول‌های اپیتلیال روده بزرگ توسط این باکتری پروبیوتیک را هم اثبات نمودند (۲۵).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-17]
[DOI: 10.61186/nsft.19.4.91]



شکل ۴. اثر حرارت، اسید و آنزیم‌ها روی فعالیت باکتریوسینی سویه‌های منتخب لاکتوباسیلوس پنیر موتال ایرانی
A) کنترل، B) دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس، C) دمای ۸۰ درجه سلسیوس، D) pH=۳، E) pH= ۹، F) تریپسین، G) پپسین.
* معنی‌داری اختلاف در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.

متابولیت‌های مختلف تولید شده توسط باکتری‌های LAB مانند اسید، پراکسید هیدروژن، گاما آمینوبوتیریک اسید و یا ترکیبات باکتریوسینی آن‌ها سبب توانایی این باکتری‌ها در کنترل آلودگی‌های میکروبی در محصولات غذایی می‌باشد (۲۶). در این تحقیق به منظور بررسی خاصیت آنتاگونیستی جدایه‌های لاکتوباسیلوس از فیلترشده سوسپانسیون این جدایه‌ها که با آنزیم کاتالاز تیمار شده و pH آن خنثی شده بود، استفاده گردید. بنابراین اثرات ضدمیکروبی به تولید اسید و یا کاتالاز جدایه‌ها مربوط نبوده و آن‌را می‌توان به متابولیت‌های باکتریوسینی تولید شده توسط جدایه‌ها نسبت داد. در مطالعات دیگری هم نقش این ترکیبات در خواص آنتاگونیستی باکتری‌های LAB به اثبات رسیده است (۲۸، ۲۷).

افزایش فزاینده مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی سبب شده است تا محققین به فکر یافتن جایگزین‌های مناسب مانند باکتریوسین‌ها برای این دسته از داروها باشند. در زمینه‌ی بررسی خواص ضدمیکروبی و شرایط تولید متابولیت‌های باکتریوسینی توسط باکتری‌های LAB، Azad و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که شیر بز و گوسفند غنی از باکتری‌های تولید کننده‌ی باکتریوسین با خاصیت بازدارندگی از رشد پاتوژن‌های غذا زاد می‌باشد (۲۹). همچنین در مطالعه‌ی مشابه دیگری Hassan و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی فراوانی ژن‌های تولید کننده‌ی انتروسین در جدایه‌های کلینیکی باکتری‌های انتروکوک پرداخته و خواص ضدمیکروبی قوی این جدایه‌های انتروکوکوس را اثبات کردند (۱۸). از آنجائیکه شرایط محیطی رشد باکتری‌ها در تولید متابولیت‌های آن‌ها موثر است (۳۰)، ارزیابی تولید باکتریوسین‌ها نیز باید در شرایط اپتیمم رشد باکتری انجام شود. بررسی کینتیک رشد سویه‌های لاکتوباسیلوس انتخاب شده در این مطالعه نشان داد که این باکتری‌ها در دمای رشد ۳۷ درجه سلسیوس رشد بهتری داشتند. طبق یافته‌های این مطالعه، فعالیت باکتریوسینی جدایه‌ها در اواخر فاز رشد تصاعدی و اوایل فاز سکون به حداکثر میزان خود رسید و همچنان تا ساعت ۳۰ بالا بود، لذا می‌توان گفت که مواد باکتریوسینی تولیدی متابولیت ثانویه بوده‌اند. در این رابطه Todorov و همکاران (۲۰۰۶) نیز با مقایسه باکتری‌های لاکتیک اسید مولد باکتریوسین در نوعی نوشیدنی تخمیری سنتی بلغارستان، نتیجه گرفتند که متابولیت‌های باکتریوسینی عموما در اواخر دوره رشد باکتری‌ها تولید می‌شود (۱۷).

پایداری حرارتی یکی از ویژگی‌های کاربردی برای باکتریوسین‌ها است. با توجه به اینکه محصولات غذایی و فراورده‌های داروئی معمولا همراه با اعمال فرایندهای حرارتی بالا تولید می‌شوند، لذا لازمه‌ی بکارگیری باکتریوسین‌ها به‌عنوان جایگزین‌های عوامل ضدمیکروبی سنتزی در چنین محصولاتی، اطمینان از پایداری حرارتی ترکیبات باکتریوسینی است (۳۱). گرچه در مواردی حتی مقاومت باکتریوسین‌ها به دمای اتوکلاو (۱۲۱ درجه سلسیوس) هم گزارش شده است (۳۲، ۲۰) ولی در مطالعه ما، پایداری ترکیبات باکتریوسینی هر سه جدایه در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. نتایج بدست آمده توسط Awaisheh و همکاران (۲۰۱۲) نیز حاکی از حساسیت باکتری‌های لاکتیک اسید جداشده از نوزادان به حرارت‌های بالا بود که اتفاقا اثرات

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-17]
[DOI: 10.61186/nsft.19.4.91]

بازدارندگی از رشد *Cronobacter sakazakii* داشتند (۳۳). همچنین در تایید یافته‌های این مطالعه، Salek و همکاران (۲۰۲۳) نیز حساس بودن باکتریوسین‌های تولید شده توسط انتروکوکوس‌ها را در دمای ۱۰۰ درجه‌ی سلسیوس نشان دادند (۳۴).

یکی از ویژگی‌های کاربردی باکتریوسین‌ها پایداری آن‌ها در pHهای مختلف می‌باشد که در این مورد Ahmadova و همکاران (۲۰۲۳) پایداری انتروسین‌های باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* جداشده از پنیر موتال آذربایجانی در pHهای اسیدی تا قلیایی را نشان دادند (۲۰). همچنین مطابق با یافته‌های این پژوهش، Yang و همکاران (۲۰۱۸) که به بررسی تأثیر نوع محیط کشت، pH و دما بر رشد و تولید باکتریوسین باکتری‌های اسید لاکتیک پرداختند، نتیجه گرفتند که باکتروسین‌های تولید شده در محدوده وسیعی از pH (۲ تا ۱۲) فعالیت داشته‌اند (۳۵). پایداری باکتریوسین‌ها به pH اسیدی و قلیایی امکان استفاده از این ترکیبات در مواد غذایی و ترکیبات دارویی متنوع با pH های مختلف را فراهم می‌سازد.

همان‌طور که انتظار می‌رفت، فعالیت باکتریوسینی هر سه سویه لاکتوباسیلوس منتخب در این تحقیق تحت تأثیر آنزیم های پروتئاز تریپسین و پپسین به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که این مسئله مؤید ماهیت پروتئینی ترکیب ضدمیکروبی باکتریوسینی است. هم‌سو با نتایج این مطالعه، ناپایداری باکتریوسین‌های تولید شده تحت تأثیر آنزیم‌های پروتئاز، در تحقیقات پیشین نیز گزارش شده است (۳۴، ۲۰، ۱۸).

نتیجه‌گیری

در مجموع، سه جدایه لاکتوباسیلوس LM11، LM52، LM56 که اثرات بازدارندگی قوی‌تری بر رشد باکتری‌های پاتوژن خصوصا *لیستریا مونوسایتوجنز* از خود نشان دادند، در دمای مزوفیلیک ۳۷ درجه سلسیوس رشد بهتری داشته و ضمن رشد در این دما و کاهش pH محیط متابولیت‌های باکتریوسینی تولید کردند. فعالیت باکتریوسینی فیلتر شده هر سه جدایه از اواخر فاز رشد تصاعدی شروع و تا پایان دوره (ساعت ۳۰) به حداکثر مقدار خود رسید. این متابولیت‌ها از پایداری بالایی در pHهای مختلف برخوردار بودند گرچه تحت تأثیر آنزیم‌های پروتئاز بی‌اثر شدند که نشانگر ماهیت پروتئینی آن‌ها بود. همچنین، فعالیت باکتریوسینی در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس در هر سه سویه کاهش معنی‌داری نشان داد ولی ترکیبات باکتریوسینی به استثنای سویه LM56 در دمای ۸۰ درجه پایدار بودند. این یافته‌ها ارتباط اثرات ضدمیکروبی لاکتوباسیل‌های مطاله شده به ترکیبات باکتریوسینی را نشان داده و موید پایداری این ترکیبات در دمای بالا و pHهای اسیدی و قلیایی است. به‌علاوه، ماهیت پروتئینی متابولیت‌ها با بی‌اثر شدن آن‌ها تحت تأثیر آنزیم‌های پپسین و تریپسین ثابت شد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از آزمایشگاه گروه بیوتکنولوژی مواد غذایی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، تبریز بدلیل همکاری در انجام آزمایشات این پژوهش، صمیمانه قدردانی می‌شود.

• References

1. Badali H, Khandaghi J. Investigation of the effect of different levels of *Cyminum cuminum* essential oil on antimicrobial and sensory properties in lactic cheese. Journal of Applied Microbiology in Food Industry. 2022;8(2):32-42 [in Persian].

2. Nami Y, Vaseghi Bakhshayesh R, Mohammadzadeh Jalaly H, Lotfi H, Eslami S, Hejazi MA. Probiotic properties of Enterococcus isolated from artisanal dairy products. Frontiers in microbiology. 2019; 10:300.

4. Barzegar H, Alizadeh Behbahani B, Falah F. Safety, probiotic properties, antimicrobial activity, and technological performance of Lactobacillus strains isolated from Iranian raw milk cheeses. Food Science & Nutrition. 2021;9(8):4094-107.

4. Johnson M. A 100-Year Review: Cheese production and quality. Journal of Dairy Science. 2017;100(12):9952-65.

5. Kouhi F, Mirzaei H, Nami Y, Khandaghi J, Javadi A. Investigation of some technological properties of Enterococcus isolates in Motal cheese. Journal of Food Microbiology. 2023;10(1):71-9 [in Persian].

6. Soleimani H, Shokri R, Nami Y, Khandaghi J, Panahi B. Potential probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from Duimaj, an Iranian traditional snack food, using biochemical, molecular and computational approaches. LWT. 2023; 184:115091.

7. Soltan Dallal MM, Hosseini M, Davoodabadi A, Rajabi Z, Zamani S. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria in traditional pickles and salted pickles from Tehran, Iran. Razi Journal of Medical Sciences. 2016;23(143):81-90 [in Persian].

8. Saboktakin-Rizi M, Alizadeh Behbahani B, Hojjati M, Noshad M. Identification of Lactobacillus plantarum TW29-1 isolated from Iranian fermented cereal-dairy product (Yellow Zabol Kashk): probiotic characteristics, antimicrobial activity and safety evaluation. Journal of

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.61186/nsft.19.4.91]

Food Measurement and Characterization. 2021;15(3):2615-24.

9. Nasrollahzadeh A, Khomeiri M, Mahmoudi M. Genetic identification and evaluation of antibacterial activity of lactic isolates derived from Masske butter against pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica*. Journal of food science and technology (Iran). 2019;16(93):23-33 [in Persian].

10. Moraes PM, Perin LM, Silva Júnior A, Nero LA. Comparison of phenotypic and molecular tests to identify lactic acid bacteria. Brazilian Journal of Microbiology. 2013; 44:109-12.

11. Kouhi F, Mirzaei H, Nami Y, Khandaghi J, Javadi A. Potential probiotic and safety characterization of Enterococcus bacteria isolated from indigenous fermented Motal cheese. International Dairy Journal. 2022; 126:105247.

12. Mirzaei M, Mirdamadi S, Ehsani MR, Aminlari M, Hosseini E. Purification and identification of antioxidant and ACE-inhibitory peptide from *Saccharomyces cerevisiae* protein hydrolysate. Journal of Functional Foods. 2015; 19:259-68.

13. Allen HK, Trachsel J, Looft T, Casey TA. Finding alternatives to antibiotics. Annals of the New York Academy of Sciences. 2014;1323(1):91-100.

14. Ahmadi S, Khomiri M, Khosroushahi A, Kashaninezhad M. Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) from Iranian traditional Lighvan cheese. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. 2009;16(3):136-46 [in Persian].

15. Carr FJ, Chill D, Maida N. The lactic acid bacteria: a literature survey. Critical Reviews in Microbiology. 2002;28(4):281-370.

16. Dubernet S, Desmasures N, Guéguen M. A PCR-based method for identification of lactobacilli at the genus level. FEMS Microbiology Letters. 2002;214(2):271-5.

17. Todorov S, Dicks L. Screening for bacteriocin-producing lactic acid bacteria from boza, a traditional cereal beverage from Bulgaria: Comparison of the bacteriocins. Process Biochemistry. 2006;41(1):11-9.

18. Hassan M, Diep DB, Javadzadeh Y, Dastmalchi S, Nes IF, Sharifi Y, et al. Prevalence of bacteriocin activities and bacteriocin-encoding genes in enterococcal clinical isolates in Iran. Canadian Journal of Microbiology. 2012;58(4):359-68.

19. Tavakoli M, Hamidi-Esfahani Z, Hejazi MA, Azizi MH, Abbasi S. Characterization of probiotic abilities of Lactobacilli isolated from Iranian Koozeh traditional cheese. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. 2017;67(1):41-8.

20. Ahmadova A, Todorov SD, Choiset Y, Rabesona H, Zadi TM, Kuliyev A, et al. Evaluation of antimicrobial activity, probiotic properties and safety of wild strain *Enterococcus faecium* AQ71 isolated from Azerbaijani Motal cheese. Food Control. 2013;30(2):631-41.

21. Nezhad SJE, Dovom MRE, Najafi MBH, Yavarmanesh M, Mayo B. Technological characteristics of Lactobacillus spp. isolated from Iranian raw milk Motal cheese. LWT. 2020; 133:110070.

22. Azizi F, Najafi MBH, Dovom MRE. The biodiversity of Lactobacillus spp. from Iranian raw milk Motal cheese and antibacterial evaluation based on bacteriocin-encoding genes. AMB Express. 2017;7(1):1-10.

23. Mulaw G, Sisay Tessema T, Muleta D, Tesfaye A. In vitro evaluation of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from some traditionally fermented Ethiopian food products. International Journal of Microbiology. 2019;2019: 7179514.

24. Pisano MB, Fadda ME, Viale S, Deplano M, Mereu F, Blažić M, Cosentino S. Inhibitory effect of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lactococcus lactis* autochtonous strains against *Listeria monocytogenes* in a laboratory cheese model. Foods. 2022;11(5):715.

25. Behbahani BA, Noshad M, Falah F. Inhibition of Escherichia coli adhesion to human intestinal Caco-2 cells by probiotic candidate Lactobacillus plantarum strain L15. Microbial Pathogenesis. 2019;136:103677.

26. Alizadeh Behbahani B, Jooyandeh H, Falah F, Vasiee A. Gamma-aminobutyric acid production by Lactobacillus brevis A3: Optimization of production, antioxidant potential, cell toxicity, and antimicrobial activity. Food Science & Nutrition. 2020;8(10):5330-9.

27. Sami A, Khandaghi J, Abbasgholizadeh N. Evaluation of Safety Aspects and Antagonistic Activity of Enterococcus Strains Isolated from Traditional Pot Cheese. Journal of Health. 2022;13(1):7-16 [in Persian].

28. Aali N, Khandaghi J. Evaluation of probiotic properties of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* species isolated from Pousti cheese of Gilan province in 2020. Journal of Food Microbiology. 2022;9(2):60-70 [in Persian].

29. Azad A, Naghavy N, Karbasizade V. Antibacterial activity of Bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* isolates from dairy products against Foodborne Pathogens. International Journal of Molecular and Clinical Microbiology. 2021;11(1):1416-22.

30. Strompfová V, Lauková A, Simonová M, Marciňáková M. Occurrence of the structural enterocin A, P, B, L50B genes in enterococci of different origin. Veterinary Microbiology. 2008;132(3-4):293-301.

31. Xi Q, Wang J, Du R, Zhao F, Han Y, Zhou Z. Purification and characterization of bacteriocin produced by a strain of *Enterococcus faecalis* TG2. Applied Biochemistry and Biotechnology. 2018; 184:1106-19.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.61186/nsft.19.4.91]

32. Khodaii M, Soltani Nezhad S. Isolation and screening of bacteriocin-producing bacteria from native dairy products of Kerman province and study of antibacterial activity of produced bacteriocin. Journal of Food Microbiology. 2017;4(3):69-79 [in Persian].

33. Awaisheh SS, Al-Nabulsi AA, Osaili TM, Ibrahim S, Holley R. Inhibition of *Cronobacter sakazakii* by heat labile bacteriocins produced by probiotic LAB isolated from healthy infants. Journal of Food Science. 2013;78(9):M1416-M20.

34. Salek F, Mirzaei H, Khandaghi J, Javadi A, Nami Y. Identification of enterocins and in vitro characterization of their antimicrobial and anticancer activity in Enterococcus strains isolated from traditional fermented products. Food Hygiene. 2023; 13(2):17-32 [in Persian].

35. Yang E, Fan L, Yan J, Jiang Y, Doucette C, Fillmore S, Walker B. Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. AMB express. 2018; 8:1-14.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.61186/nsft.19.4.91]

Characterization of Bacteriocin-like Substances of *Lactobacillus* species from Iranian Motal Cheeses

Shaghaghy M[1] *, Khandaghi J* [*2,3]

1- MSc Graduate of Cellular and molecular biology, Sarab Branch, Islamic Azad University, Sarab, Iran.

2- Department of Food Science and Technology, Sarab Branch, Islamic Azad University, Sarab, Iran.

*3- *Corresponding author: Department of food Biotechnology, Biotechnology Research Center, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. E.mail: khandaghi@iausa.ac.ir*

Received 22 May, 2024 **Accepted 26 Aug, 2024**

Background and Objectives: Fermented foods have long been important due to their microbiota, which includes lactic acid bacteria and their metabolites. These beneficial bacteria can assist the food sector in generating health-oriented products by releasing bioactive peptides such as bacteriocins.

Materials & Methods: In the present study, antagonistic characteristics of *Lactobacillus* isolated from Iranian Motal cheeses were assessed and growth kinetics and production of bacteriocin compounds by these isolates were studied. Furthermore, resistance of bacteriocin compounds at various pH and temperatures under effects of protease enzymes was assessed.

Results: By carrying out phenotypic and molecular assessments, 23 *Lactobacillus* isolates were selected and their antagonistic effects were investigated. The isolates included better antimicrobial effects on Gram-positive bacteria and three isolates (LM11, LM52 and LM56) that showed stronger effects were selected for further studies. By optimal growth of the isolates at mesophilic temperature, pH of the microbial suspension decreased while bacteriocin activity increased. Moreover, bacteriocin activity of all three selected strains decreased significantly at 100 °C, but the bacteriocin compounds were stable at 80 °C, except the LM56 strain. Moreover, pH changes did not result in a significant decrease in bacteriocin activity while bacteriocin activity significantly decreased when bacteriocin metabolites were exposed to pepsin and trypsin.

Conclusion: In this study, associations between the antagonistic effects of *Lactobacillus* isolates and their bacteriocin compounds, protein nature of these compounds and their high stabilities under various conditions were established.

Keywords: Bacteriocin, *Lactobacillus*, Motal cheese, PCR

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.61186/nsft.19.4.91]