جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی فعالیت لاکتوباسیل‌های موجود در محصولات لبنی محلی استان فارس در جذب و حذف کلسترول

امیر امامی *
دکتر رأفت نوعی‌اقدم **
زهرا هاشمی‌زاده ***

*کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده پزشکی، گروه باکتری‌شناسی و ویروس‌شناسی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم
**پزشک عمومی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، دانشکده علوم پزشکی
***کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده پزشکی، گروه باکتری‌شناسی و ویروس‌شناسی

تاریخ وصول:۱۳۸۷/۳/۱
تاریخ پذیرش:۱۳۸۷/۷/۲۷

مؤلف مسئول: امیر امامی
پست الکترونیک:emami.microbia@gmail.com

چکیده :

مقدمه و هدف: کلسترول یک ترکیب مهم در اکثر واکنش‌های بیولوژیکی بدن می‌باشد که مازاد آن با الگوهای اتصال مختلف به ترکیبات لیپوپروتئینی به عنوان یک ترکیب مضر در راستای ایجاد بیماری‌های قلبی شناخته شده است. این مطالعه با هدف بررسی قدرت لاکتوباسیل‌های موجود در محصولات لبنی و بررسی نحوه عملکرد آنها در جذب و حذف کلسترول تحت شرایط حضور نمک‌های مختلف صفراوی در محیط کشت آزمایشگاهی انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی یک بررسی تصادفی بر روی گونه‌های لاکتوباسیل موجود در محصولات لبنی است که در سال ۱۳۸۷ بر روی ۱۵۰ نمونه از محصولات لبنی دو شهرستان فسا و جهرم در استان فارس و در دانشکده پزشکی شیراز انجام شد. سویه‌ها با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی مورد شناسایی در حد گونه قرار گرفته و سپس قدرت رشد آنها تحت شرایط حضور کلسترول و نمک‌های صفراوی و نحوه عملکرد آنها در کاهش میزان کلسترول با روش رنگ سنجی مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS تحلیل گردید.

یافته‌ها: بررسی محیط‌های کشت نشان داد که همه سویه‌های به دست آمده علاوه بر رشد بالا تحت شرایط آزمایش، قدرت کاهش کلسترول را نیز به میزان قابل توجهی (۳۴/۶۹ ــ ۷/۸۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) داشته‌اند. مقایسه میزان کاهش کلسترول در محیط کشت سویه‌های مختلف نشان داد لاکتوباسیلوس کازئی از قدرت حذف کلسترول بیشتری برخوردار بوده و پس از بررسی احتمال اتصال کلسترول به سلول‌های باکتریایی نیز مشخص شد که باکتری توانسته است میزان بالایی از کلسترول حذف شده از محیط را به ترکیبات دیگر تبدیل کند.

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که حذف کلسترول ارتباط مستقیمی با رشد باکتری ها دارد، چرا که در محیط کشت لاکتوباسیلوس کازئی که از رشد بیشتری برخوردار بود، کاهش میزان کلسترول نیز بیشتر مشهود می‌باشد. از آنجایی که باکتری‌های لاکتوباسیل قادر به حذف کلسترول با روش‌های مختلف می‌باشند نتایج این تحقیق تا حدی می‌تواند مبین تأثیر به سزای فرآورده‌های لبنی به ویژه ماست در جهت حذف ترکیبات مضری مثل کلسترول به روش غیرشیمیایی باشد که با بررسی‌های بیشتر در شرایط طبیعی فیزیولوژیکی می‌توان این نتایج را به انسان نیز تعمیم داد.

واژه‌های کلیدی: لاکتوباسیلوس، کلسترول، پروبیوتیک، مواد لبنی

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

کلسترول، استرولی در غشاء سلولی تمام بافت‌های بدن می‌باشد که مقداری نیز به صورت آزاد در پلاسما وجود دارد. این ترکیب بیشتر به وسیله خود بدن سنتز و مقداری نیز به وسیله رژیم غذایی چرب وارد جریان خون انسان می‌گردد(۲ و ۱). از جمله راه‌های دفع کلسترول تبدیل آن به نمک‌های صفراوی و ترشح آن به روده می‌باشد، که بر اثر گردش روده‌ای ـ کبدی دوباره مقداری از آن جذب می‌گردد. در این میان اگر فعالیت باکتری‌های روده‌ای به ویژه پروبیوتیک‌ها در شرایط مطلوبی باشد، تا حدود معنی‌داری می‌تواند در کاهش سطح کلسترول مؤثر باشد(۳ و ۱).

پروبیوتیک‌ها گروهی از میکروارگانیزم‌های تولید کننده اسید لاکتیک و مکمل‌های غذایی هستند که با از بین بردن عوامل پاتوژن از طریق رقابت، تعادل میکروبی در روده را برقرار کرده و با ایجاد pH اسیدی باعث حفظ سلامتی و عملکرد سیستم گوارشی می‌شوند(۵ و ۴). همچنین از پروبیوتیک‌ها به جهت قدرت تولید اسید لاکتیک، در فرآوری محصولات لبنی استفاده می‌شود(۸ ـ۶). موضوع جالب توجه دیگر این است که این باکتری‌ها می‌توانند با حذف ترکیبات مضر مثل کلسترول که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفته است نیز به سلامتی افراد کمک نمایند(۲).

در تحقیقات اولیه در سال ۱۹۶۳ بر روی پروبیوتیک‌ها در قبیله سام برو و بین جنگ جویان ماسایی آفریقا، مشخص گردید که پس از مصرف شیرهای تخمیری که با استفاده از لاکتوباسیلوس‌ها تهیه شده بودند سطح سرمی کلسترول افراد به شدت کاهش می‌یابد(۶). در مطالعه‌ای که به وسیله کورزو و گیلیلند[1] (۱۹۹۹) بر روی سویه‌های استاندارد لاکتوباسیل صورت گرفت مشخص شد، لاکتوباسیلوس‌ها می‌توانند باعث کاهش لیپوپروتئین با دانسیته پایین[2] تحت شرایط آزمایشگاهی گردند که این نتایج می‌توانست دلیل روشنی بر عملکرد مثبت این دسته از باکتری‌ها در متابولیسم لیپیدهای پیچیده باشد(۷). با توجه به نتایج تحقیقات انجام گرفته احتمالاتی مثل جذب کلسترول به وسیله باکتری و استفاده از آن برای تولید ترکیبات دیگر، جذب و اتصال کلسترول به دیواره سلولی باکتری مطرح گردیده است(۲).

هدف از مطالعه حاضر این بود که تأثیر لاکتوباسیل‌های موجود در محصولات طبیعی لبنی مثل ماست‌های محلی در دو شهرستان استان فارس که به صورت معمول در رژیم غذایی افراد این مناطق به کار می‌رود در محیط کشت آزمایشگاهی با توجه به حضور ترکیباتی مثل نمک‌های صفراوی که به طور معمول در سیستم گوارش انسان وجود دارند مورد بررسی قرار گیرد. همچنین علاوه بر این که تأثیر لاکتوباسیل در جذب و تبدیل کلسترول ارزیابی گردید، احتمال اتصال به دیواره سلولی باکتری که در برخی مقالات به عنوان یکی از روش‌های احتمالی نحوه

1-Corozo & Gilliland
2-Low Density Lipoprtein(LDL)

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

حذف کلسترول در نظر گرفته شده است نیز مورد ارزیابی قرار گرفت تا علاوه بر شناسایی فعال‌ترین سویه در حذف کلسترول، احتمال اتصال دیواره‌ای نیز مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی یک بررسی تصادفی بر روی گونه‌های لاکتوباسیل موجود در محصولات لبنی است که در سال ۱۳۸۷ بر روی ۱۵۰ نمونه از محصولات لبنی دو شهرستان فسا و جهرم در استان فارس در دانشکده پزشکی شیراز انجام شد. برای این منظور در ابتدا نمونه‌های ماست تهیه شده، در محیط ام‌آراس[۱] مایع استریل رقیق‌سازی شده و سپس میزان ۱۰۰ میکرولیتر از آن با محیط ام‌آراس آگار استریل با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد مخلوط و به روش کشت ریختنی در پلیت[۲] کشت داده شد، سپس پلیت‌ها هر کدام به صورت بی‌هوازی و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند(۱۰ـ ۸). با وجودی که محیط ام‌آراس تحت شرایط بی هوازی برای لاکتوباسیل‌ها اختصاصی می‌باشد، اما با این حال برای تأیید نهایی پس از رشد کلنی‌ها، از هر پلیت تعداد ۱۰ کلنی به صورت تصادفی انتخاب گردیده و از نظر رنگ‌آمیزی گرم، مورفولوژی میکروسکوپی و واکنش‌های کاتالاز و اکسیداز مورد بررسی قرار گرفتند(۱۲ و ۱۱). از میان کلنی‌های مورد آزمایش آن دسته از کلنی‌هایی که باسیلی شکل، فاقد اسپور، گرم مثبت و کاتالاز آنها منفی بود به عنوان لاکتوباسیل انتخاب و کلنی‌های انتخاب شده تخلیص گردیده و سپس با استفاده از تست‌های قندی؛ گلوکز، مانیتول، لاکتوز، گالاکتوز، رافینوز، سوکروز، زایلوز، فروکتوز و کشت برروی محیط ۳ قندی[۳] در حد گونه مورد شناسایی قرار گرفتند(۱۳). با توجه به نتایج حاصل ۵ گونه لاکتوباسیلوس مورد شناسایی قطعی قرار گرفتند که در این میان برخی از کلنی‌ها دارای نتایج غیر مشابه با جداول تشخیصی بودند که با توجه احتمال وجود سویه‌های دیگر و از آنجایی که هدف بررسی سویه‌های معمول در امر تهیه فرآورده‌های لبنی بود از انجام آزمایش‌های بعدی بر روی این دسته صرف نظر گردید. باکتری‌ها پس از خالص‌سازی و تعیین هویت در محیط ام‌آراس مایع با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۸ ساعت انکوبه گردید تا غلظت آنها به $۱/۵\times۱۰^{۸}$ واحد شمارش کلنی بر میلی‌لیتر (معادل ۰/۵ مک فارلند) رسید. برای بررسی جذب و تبدیل کلسترول، محیط ام‌آراس تازه تهیه و به آن پلی اکسی اتانول کلسترول[۴] فیلتر شده با غلظت نهایی ۱۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر افزوده گردید(۲). این محیط‌ها به تعداد نمونه‌ها و در ۴ سری، که یکسری به عنوان کنترل و در ۳ سری دیگر که به هر کدام میزان ۰/۳ درصد از ماده اسید کولیک، تائورین و Oxgall به عنوان نمک صفراوی اضافه شده بود تهیه گردیدند(۱۲ و ۲). پس از تهیه

1-Man,Rogosa,Sharp (MRS)
2-Pure Plate
3-Triple Sugar Iron Agar (TSI)
4-Polyoxy Ethanyl Cholestrol (MRS)

محیط‌های کشت، میزان ۱ میلی‌لیتر از محیط کشت باکتریایی استاندارد که از قبل آماده شده بود به هر کدام اضافه و تحت شرایط بی‌هوازی، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردیدند. سپس محیط‌های کشت سانتریفیوژ و با استفاده از روش رنگ سنجی و دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۵۰ نانومتر (روش راندل و موریس)[1] غلظت کلسترول باقی مانده اندازه‌گیری و برای هر نمونه ثبت گردید(۲).

برای بررسی این که کلسترول جذب دیواره سلول‌های باکتری یا تبدیل به ترکیبات دیگر شده است، از روش پیشنهادی به وسیله کیموتو و همکاران[2](۲۰۰۶) استفاده گردید(۱۴). در این روش ابتدا محیط ام‌آراس تازه تهیه و با هر کدام از سویه‌ها تلقیح و مدت ۱۸ ساعت در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید تا به غلظت نهایی $۳×۱۰^{۸}$ واحد شمارش کلنی بر میلی‌لیتر (معادل یک مک فارلند) برسند. سپس محیط‌ها با استفاده از سانتریفوژ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۱۰ دقیقه رسوب داده شد. رسوب حاصل با استفاده از آب مقطر ۲ بار شستشو و سوسپانسیون به دست آمده به دو قسمت مساوی تقسیم شده و یک قسمت در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو گردید. پس از سرد شدن سوسپانسیون، کلسترول با غلظت نهایی۱۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر و اسید کولیک با غلظت نهایی ۰/۳ درصد به آن اضافه گردید. مقداری از رسوب باقی مانده نیز بدون آن که مورد اتوکلاو شدن قرار گیرد برای بررسی احتمال جذب در شرایط استراحت مورد استفاده قرار گرفت که برای انجام این مرحله مقداری از رسوب هر باکتری در میزان ۱۰ میلی‌لیتر از بافر فسفات استریل ۰/۰۵ مولار (pH:۶/۸) با غلظت نهایی۱۰۰ میکرو لیتر بر میلی‌لیتر از کلسترول و اسید کولیک با غلظت ۰/۳ درصد مخلوط گردید. سپس هر دو نمونه تهیه شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت انکوبه گردیدند. در این دو نمونه با توجه به این که باکتری‌ها فاقد رشد بودند ، جهت ارزیابی وزن خشک سلولی و میزان جذب کلسترول از طریق فرمول پیشنهادی میزان اتصال کلسترول به دیواره سلولی= (C1-C2) / (W2-W1) که به وسیله لیونگ و شاه[3](۲۰۰۵) ارایه شد، استفاده گردید(۱۳).

برای این مرحله C_1 میزان اولیه کلسترول در محیط؛ یعنی ۱۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر و C_2 نیز میزان کلسترول به دست آمده از روش رنگ سنجی می‌باشند و w نیز اختلاف وزن باکتری‌ها (w_1 و w_2 وزن خشک باکتری به ترتیب در زمان‌های صفر و۱۸ ساعت) می‌باشد که با استفاده از وزنه دیجیتالی ۰/۰۰۱ گرم محاسبه گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS [4] تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها

با توجه به نتایج حاصل از آزمون‌های بیوشیمیایی و تست‌های قندی که بر روی

1-Rundle & Morris
2-Kimoto et al
3-Liong & Shah
4-Statistical Package for Social Sciences

لاکتوباسیل‌های به دست آمده انجام گرفتند ۵ گونه لاکتوباسیل معمول به دست آمده عبارت بودند از؛ لاکتیس، بولگاریکوس، اسیدوفیلوس، فرمانتوم و کازئی.

در جدول ۱ میزان سطح کاهش کلسترول بر پایه میکروگرم بر میلی‌لیتر در طی ۲۴ ساعت رشد تحت شرایط فقدان و حضور نمک‌های صفراوی متفاوت مورد ارزیابی قرار گرفت، همان طور که مشاهده می‌شود، کاهش میزان کلسترول در تمام نمونه‌ها یعنی تحت شرایط حضور نمک صفراوی و فقدان آن صورت گرفته است و میزان این کاهش در بین گونه‌های مختلف، متفاوت و میانگین آن بین ۳۴/۶۹ ـ ۷/۸۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمده است که با توجه به نتایج حاصل کمترین میزان کاهش کلسترول مربوط به شرایط حضور نمک تائورین و برای سویه لاکتوباسیلوس لاکتیس و به میزان ۷/۸۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بیشترین میزان کاهش تحت شرایط نمک Oxgall و برای سویه لاکتوباسیلوس کازئی به میزان ۳۴/۶۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. از آنجایی که در این میان عملکرد جذب، بیشتر تحت شرایط نمک صفراوی اسید کولیک که بیشترین نمک صفراوی در سیستم گوارشی انسان می‌باشد مد نظر قرار گرفته بود از این رو بیشترین میزان حذف کلسترول برای سویه‌های لاکتوباسیلویس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نظر گرفته می‌شود.

در جدول ۲ رشد باکتری‌ها پس از ۱۸ ساعت انکوباسیون در فقدان کلسترول نیز بیان شده است که نتایج حاصل نشان می‌دهد، رشد باکتری‌ها تحت شرایط حضور کلسترول افزایش بیشتری داشته است و این در مورد تمام سویه‌ها به طور تقریبی یکسان می‌باشد و در این جدول با توجه به فرمول ذکر شده احتمال جذب دیواره‌ای این ترکیب نیز مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که میانگین جذب باکتریایی کلسترول بین ۵/۶ ـ ۲/۲۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد که بیشترین مقادیر مربوط به لاکتوباسیلوس های اسیدوفیلوس و لاکتیس می‌باشند.

همان طور که در این جداول مشاهده می‌شود، در حضور نمکOxgall میزان حذف کلسترول نسبت به دو نمک دیگر در حد متوسط می‌باشد، اما جالب است که بیشترین میزان حذف کلسترول در بین تمامی نمونه‌ها مربوط به لاکتوباسیلوس کازئی و در حضور نمک Oxgall می‌باشد، اما از آنجایی که در مراجع متعدد مهمترین نمک صفراوی سیستم گوارشی انسان اسید کولیک معرفی شده است در این مطالعه بیشتر به این نمک توجه شده است.

در جدول ۳ نیز نتایج مقایسه میزان حذف کلسترول در نمونه اتوکلاو شده تحت شرایط کلسترول و کولیک اسید در انتهای زمان ۱۸ ساعت مشاهده می‌شود که با توجه به این نتایج تغییرات قابل ارزیابی در میزان کلسترول مشاهده نمی‌شود.

در نمودار ۱ نیز با توجه به نتایج به دست آمده در طی مراحل آزمایش مقادیر حذف کلسترول تحت شرایط مختلف با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفته‌اند.

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به تحقیقاتی که تاکنون بر روی باکتری‌های مختلف صورت گرفته است دسته‌ای از آنها که تولید کننده اسید لاکتیک می‌باشند به عنوان پروبیوتیک نامیده می‌شوند. این دسته از باکتری‌ها معمولاً به صورت طبیعی در ماست (لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و اسیدوفیلوس)، شیرهای تخمیری (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) و دیگر غذاهای تخمیری به عنوان استارتر مورد استفاده قرار می‌گیرند(۸ و ۷، ۲). این مطالعه با هدف بررسی قدرت لاکتوباسیل‌های موجود در محصولات لبنی طبیعی و بررسی نحوه عملکرد آنها در جذب و حذف کلسترول تحت شرایط حضور نمک‌های مختلف صفراوی در محیط کشت آزمایشگاهی انجام گرفته است.

جدول ۱: میزان حذف کلسترول (میکروگرم بر میلی‌لیتر) به وسیله گونه های مختلف لاکتوباسیلوس تحت شرایط حضور و فقدان نمک‌های صفراوی

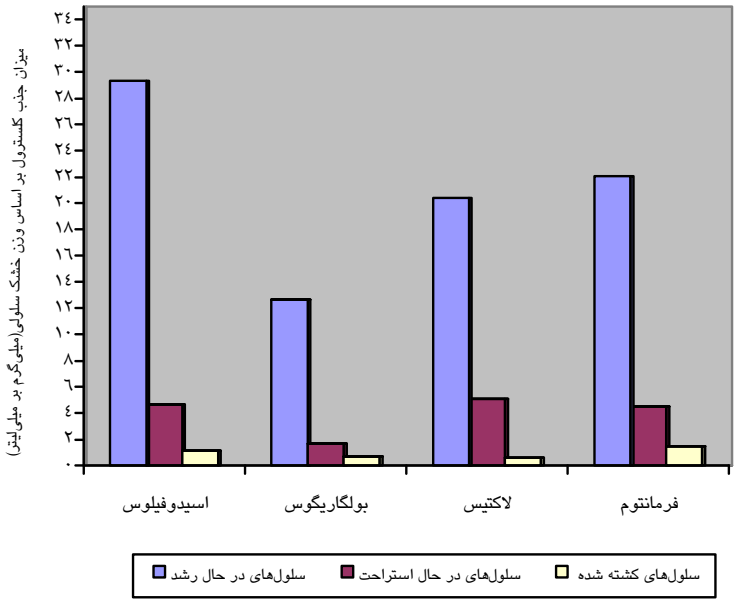
میزان حذف کلسترول سویه‌های لاکتوباسیل	ام‌آراس مایع و بدون‌نمک	ام‌آر اس مایع + ۰/۳ درصد کولیک اسید	ام‌آر اس مایع + ۰/۳ درصد Oxgall	ام‌آراس مایع + ۰/۳ درصد تائورین
اسیدوفیلوس	۱۶/۶۷ ±۰/۱۷	۲۹/۳۳ ± ۰/۱۶	۲۸/۸۰ ± ۰/۲۲	۸/۶۸ ± ۰/۲۷
کازئی	۲۰/۶۸ ± ۰/۲۱	۳۲/۲۵ ± ۰/۴۲	۳۴/۶۹ ± ۰/۴۵	۲۰/۸۰ ± ۰/۲۵
بولگاریکوس	۱۸/۵۷ ± ۰/۴۶	۱۲/۶۶ ± ۰/۳۷	۲۳/۲ ± ۰/۶۴	۱۲/۱۴ ± ۰/۱۷
لاکتیس	۱۰/۰۰ ± ۰/۴۴	۲۰/۳۸ ± ۰/۳۱	۱۰/۹۴ ± ۰/۳۲	۷/۸۲ ± ۰/۳۵
فرمانتوم	۲۱/۶۱ ± ۰/۱۹	۲۲/۰۹ ± ۰/۲۱	۲۷/۶ ± ۰/۲۵	۱۱/۹۲ ± ۰/۸۵

جدول ۲ : میزان اتصال کلسترول به دیواره سلولی تحت شرایط حضور کلسترول و کولیک اسید و فقدان هر دو در انتهای زمان ۱۸ ساعت

سویه‌های لاکتوباسیل	میزان کلسترول قبل از کشت (میکرو گرم بر میلی لیتر)	میزان کلسترول بعد از کشت (میکرو گرم بر میلی لیتر)	وزن سلولی در محیط بدون کلسترول (میلی‌گرم)	وزن سلولی در محیط کلسترول دار (میلی‌گرم)	نتیجه (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
اسیدوفیلوس	۱۰۰	۹۴/۵۰	۶۲۵	۷۱۵	۶۱/۱۱ l
کازئی	۱۰۰	۹۶/۸۲	۸۷۵	۱۰۱۵	.....
بولگاریکوس	۱۰۰	۹۸/۳۰	۳۹۵	۴۴۵	۳/۴
لاکتیس	۱۰۰	۹۵/۵۰	۶۸۵	۷۷۵	۴/۵
فرمانتوم	۱۰۰	۹۵/۳۵	۶۵۵	۷۹۵	۳/۳۲

جدول ۳ : مقایسه میزان حذف کلسترول در نمونه اتوکلاو شده تحت شرایط کلسترول و کولیک اسید در انتهای زمان ۱۸ ساعت

سویه‌های لاکتوباسیل	میزان کلسترول قبل از کشت (میکرو گرم بر میلی لیتر)	میزان کلسترول بعد از کشت (میکرو گرم بر میلی لیتر)
اسیدوفیلوس	۱۰۰	۹۸/۸۵
کازئی	۱۰۰	۹۹/۳۰
بولگاریکوس	۱۰۰	۹۹/۳۰
لاکتیس	۱۰۰	۹۹/۴۰
فرمانتوم	۱۰۰	۹۸/۵۰



نمودار ۱: مقایسه میزان جذب کلسترول تحت شرایط آزمایش شده

با تحقیقات مختلفی که تاکنون بر روی این دسته از باکتری‌ها صورت گرفته است نقش‌های متعددی از آنها مورد شناسایی قرار گرفته است که برخی از تأثیرات سودمند آنها در این میان عبارتند از؛ بهبود و حفظ سلامتی مجاری گوارش، افزایش قدرت سیستم ایمنی، سنتز و افزایش میزان دسترسی به مواد مغذی مورد نیاز بدن به صورت طبیعی، کاهش علایم مربوط به عدم تحمل لاکتوز و کاهش شیوع بیماری‌های آلرژیکی در بین افراد حساس، استفاده درمانی پیشگیرانه مثل مقابله با سرطان، تولید طعم‌های مختلف مثل استالدئید در ماست و پنیر و دیگر متابولیت‌ها در محصولات تخمیری برای ایجاد تنوع و ذایقه‌های مختلف، افزایش ارزش غذایی مثل کاهش اسیدهای آمینه آزاد و یا سنتز ویتامین‌ها در محصول تخمیر شده(۱۵ و ۷).

در طی مطالعه‌های متعدد مشخص شده است که سطح بالای سرمی کلسترول می‌تواند باعث افزایش احتمال بیماری کرونر قلبی گردد(۲). تاکنون روش‌های مختلفی از جمله مصرف داروهای شیمیایی برای کاهش سطح سرمی این ترکیب در افراد مورد استفاده قرار گرفته است و از آنجایی که مصرف این دسته از داروها روز افزون می‌باشد محققان در صدد هستند تا جایگزین بهتری که کمترین خطر را برای انسان داشته باشد شناسایی کنند و مورد استفاده قرار دهند. در طی مطالعه‌های صورت گرفته به وسیله کوروزو و گیلیلند(۱۹۹۹) مشخص شد که پروبیوتیک‌ها قادرند میزان سطح سرمی‌کلسترول را به میزان قابل توجهی در افراد کاهش دهند(۷)، از این رو این ترکیب می‌تواند نقش مؤثری را در کاهش این دسته از بیماری‌ها که امروزه پس از سرطان دومین عامل مرگ و میر انسان

در جوامع پیشرفته محسوب می‌شود داشته باشد و از آنجایی که پروبیوتیک‌ها کمترین اثر سوء برای انسان ندارند، همین امر باعث شده است که این گونه تحقیقات در حال حاضر مورد توجه فراوانی قرار گیرند(۱۲ و ۱۱). پروبیوتیک‌ها معمولاً از طریق زنجیره غذایی به ویژه محصولات تخمیری مثل مواد لبنی مانند ماست که در ایران از مصرف روزانه بالایی در اقوام مختلف برخوردار است وارد سیستم گوارشی می‌شوند، اما برای این که بتوانند نقش خود را اجرا کنند بایستی که در مقابل شرایط طبیعی سیستم گوارشی مثل اسیدیته و صفرای موجود در سیستم گوارش مقاوم باشند. معمولاً زمان حضور باکتری‌های پروبیوتیک با توجه به شرایط حاکم بر سیستم گوارشی از لحظه وارد شدن به ناحیه شکمی تا خروج از این ناحیه نزدیک به ۹۰ دقیقه ارزیابی شده است که البته با توجه به رژیم‌های مختلف غذایی که متعاقباً باعث تغییر شرایط اسیدی و هضمی سیستم گوارشی می‌شود این میزان می‌تواند متغیر باشد(۱۵ و ۱۱). با توجه به بررسی‌های صورت گرفته به وسیله لیونگ و شاه (۲۰۰۵) لاکتوباسیل‌ها از تحمل بیشتری نسبت به این شرایط برخوردارند(۱۳). با توجه به کم بودن زمان حضور باکتری‌های پروبیوتیک در سیستم گوارشی از این رو می‌بایستی که این باکتری‌ها از طریق رژیم‌های غذایی صحیح دایماً جایگزین شوند و اگر در این میان بتوان از سویه‌های مقاوم‌تری نسبت به این شرایط استفاده کرد این باکتری‌ها می‌توانند در سیستم گوارشی شروع به تکثیر بیشتری نموده و در نتیجه از حضور فعال‌تر و بیشتری برخوردار شوند(۲). مطالعه‌های صورت گرفته به وسیله کوروزو و گیلیلند (۱۹۹۹)و لیونگ و شاه(۲۰۰۵) بر روی مکانیزم پروبیوتیک‌ها به ویژه برروی قدرت حذف کنندگی کلسترول در آنها به وسیله سویه‌های استاندارد لاکتوباسیل، مشخص گردید که لاکتوباسیل‌های اسیدوفیلوس (ATCC4356) و کازئی (ATCC15820) بیشترین قدرت را در کاهش میزان کلسترول تحت شرایط آزمایش داشته‌اند.

بر پایه نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر مشخص شد که فعالیت‌های باکتری‌های موجود در منابع لبنی طبیعی در دو شهرستان استان فارس، هم از نظر فعالیت در حضور نمک‌های صفراوی و هم در جذب و حذف کلسترول تحت شرایط آزمایشگاهی مشابه با سویه‌های استاندارد مورد استفاده به وسیله لیونگ و شاه (۲۰۰۵) می‌باشد(۱۳) که با توجه به این امر تلاش در راستای تهیه این سویه‌ها به عنوان استارتر در تولید فرآورده‌های تخمیری ـ لبنی می‌تواند هم از جنبه اقتصادی و هم از نظر تعیین ذایقه بومی مناطق ایران بهره‌وری نمود. همچنین با توجه به نتایج به دست آمده در طی این مطالعه، ارتباطی میان تحمل صفرا و حذف کلسترول به دست آمده است، به گونه‌ای که در نتایج مشخص است، سویه‌های مورد آزمایش از تحمل بیشتری در حضور کولیک اسید که بیشترین نمک صفراوی در سیستم گوارشی انسان می‌باشد، برخوردار می‌باشند. از جمله موارد دیگر این بود که وجود کلسترول باعث تحریک رشد سویه‌ها

می‌گردد و در این میان، رشد بیشتر نیز باعث حذف بیشتر کلسترول از محیط گردید که این نتایج از نظر مقایسه با دیگر پژوهش‌ها، قابل ملاحظه و حتی در مواردی دارای میزان بیشتری می‌باشد(۱۵ و ۱۱). نکته دیگر این بود که حذف کلسترول تحت حضور نمک صفراوی مثل تائورین نسبت به شرایط عدم حضور نمک‌های صفراوی، کاهش نسبی بالایی دارد. یافته دیگری که می‌تواند نشان دهنده فعالیت باکتری در کاهش کلسترول و تبدیل آن به ترکیبات دیگر باشد، تفاوت میزان حذف کلسترول تحت شرایط نمک‌های مختلف صفراوی بود که این امر نشان از تغییر مکانیزم حذف کلسترول تحت شرایط مختلف آزمایشی می‌باشد. همچنین با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده می‌شود که بیشترین جذب کلسترول می‌تواند در بیشترین رشد حادث شود که این امر بیانگر ارتباط میزان حذف کلسترول با میزان رشد باکتری است و با بررسی الگوی جذب کلسترول و منحنی رشد می‌توان دریافت که این دو دارای ارتباط مستقیم و معنی‌داری باشند. بررسی دقیق این امر مستلزم بررسی ترکیبات مختلف محیط به وسیله روش‌های دقیقی مثل بررسی با کروماتوگرافی است.

با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان نتیجه‌گیری نمود که باکتری‌ها از کلسترول در طی متابولیسم خود استفاده کرده و احتمالاً مقداری از آن را جذب ساختار خود و مقداری را نیز به ترکیبات دیگر تبدیل کرده‌اند، که البته برای تأیید این مرحله و نوع محصول متابولیتی می‌باید آزمایش‌هایپ دقیق‌تری صورت گیرد. به طورکلی با توجه به نتایج مطالعه‌های گذشته و پژوهش حاضر ۲ احتمال قوی در حذف کلسترول از محیط برای لاکتوباسیل‌ها از احتمال بیشتری برخوردار است؛ جذب و تبدیل کلسترول به متابولیت‌های دیگر در طی رشد باکتری که با فعال نگه داشتن باکتری می‌توان در حین تولید متابولیت‌های مؤثر برای حفظ سلامتی افراد این لیپید را نیز در بدن کاهش داد و الحاق کلسترول به میزان بسیار کم به غشای پلاسمایی باکتری که این حالت نیز با توجه به حذف دایمی باکتری‌ها و به میزان زیاد از سیستم گوارشی می‌تواند به عنوان یکی از موارد مؤثر در کاهش میزان این لیپید از سیستم گوارشی مطرح باشد.

پیشنهاد می‌شود برای بررسی دقیق‌تر نحوه عملکرد این باکتری در حذف کلسترول، آزمایش‌های بیشتر، با روش‌های تکمیلی مانند؛ کروماتوگرافی گازی و اجرای آزمایش در شرایط فیزیولوژیکی[1] نیز انجام گیرد. همچنین این تحقیق در استان‌های بیشتر و بر روی فرآورده‌های متعدد دیگر نیز انجام گرفته تا ضمن بررسی دیگر سویه‌های این باکتری شاید بتوان سویه‌های مؤثرتری از آن را مورد شناسایی قرار داد، اما با توجه به نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر می‌توان دو سویه اسیدوفیلوس و کازئی را به عنوان کاندیدهای نسبتاً خوبی برای استفاده در مواد لبنی به

1-In Vivo

عنوان پروبیوتیک در جهت حذف کلسترول محصولات لبنی معرفی نمود و می‌توان با خالص‌سازی این دسته از باکتری‌ها، از آنها به جای استارترهای تجاری که با هزینه‌های کلان از خارج از کشور وارد می‌شوند استفاده نمود.

تقدیر و تشکر

بر خود لازم می‌دانیم از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم و بخش باکتری‌شناسی و ویروس‌شناسی دانشکده پزشکی شیراز که ما را در اجرای این طرح یاری دادند، تشکر نماییم. همچنین قابل ذکر است که این طرح با حمایت مالی دفتر باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم انجام گرفته است.

Cholesterol Assimilation with Isolated lactobacilli Strains of Fars' Local Dairy Products

Emami A[*], Noeiaghdam R[**], Hashemi zadeh Z[*].

[*]MSc of Microbiology, Department of Bacteriology & Virology, Faculty of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
[**] General Practitioner, Faculty of Medicine, Islamic azad University, Ardabil, Iran

KEYWORDS:
Lactobacillus,
Cholesterol,
Probiotics,
Diary products

Received: 21/05/2008
Accepted: 18/10/2008

Corresponding Author: Emami A
Email: emami.microbia@gmail.com

ABSTRACT:

Introduction & Objective: Cholesterol is an important compound in most of the biological reactions which the excess of it can be seen as a harmful compound of causing heart diseases. The aim of the present study was to evaluate the cholesterol removal property and also its pathway by dairy lactobacillus in *in vitro* condition under different bile salts concentration.

Materials & Methods: After isolation of lactobacillus strains from dairy products, they were identified with chemical tests and their growths were evaluated under presence of cholesterol and bile salts. The method of action of the bacillus in cholesterol removal was assayed by spectrophotometer method. Collected data was analyzed by SPSS software.

Results: result of this study showed that any strains of the bacteria had the ability of cholesterol removal (7.82-34.69 µg/ml). *L.casei* had more competence for removal of cholesterol in compare to the rest of bacilli. The evaluation of cholesterol cell wall attachment revealed that most of removed cholesterols have been changed to the other products.

Conclusion: Considering the result of this study, it can be concluded that cholesterol removal has a direct association with growth of bacteria where the *L. casei* with high growth rate had more capability of cholesterol removal. Whereas the Lactobacillus can remove the cholesterol with different methods, results of this study showed that dairy products, especially yogurt, can remove the harmful substances such as cholesterol using non chemical methods. The results of this study could be expanded on human use if more study and research could be carried out.

REFERENCES

1.Murray RK, Granner DK,Rodwell VW. Harper's Illustrated Biochemistry. 27th ed. McGrawHill: LANG; 2003; 230-5.
2.Anderson JW, Gilliland SE. Effect of fermented milk (yogurt) containing Lactobacillus acidophilus L1 on serum cholesterol in hypercholesterolemic humans. J Am Coll Nutr 1999;18: 43–50.
3.Berada N, Lemeland JF, Laroch G, Thouvenot P, Piala M. Bifidobacterium from fermented milks: Survival during gastric transit. J Dairy Sci 2003; 74: 409–13.
4.Sanders M E. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. J Nutr 2000; 130: 384S–390S.
5.Brashears MM, Gilliland SE, Buck LM. Bile salt deconjugation and cholesterol removal from media by Lactobacillus casei. J Dairy Sci 2004; 81: 2103–10.
6.Kurdi P, Van Veen HW, Tanaka H, Mierau L, Konings WN, Tannock W, et al. Cholic acid is LIONG AND SHAH 66 accumulated spontaneously, driven by membrane pH in many lactobacilli. J Bacteriol 2005; 182: 6525–8.
7.Corzo G, Gilliland SE. Measurement of bile salt hydrolase activity from Lactobacillus acidophilus based on disappearance of conjugated of bile salts. J Dairy Sci 1999; 82: 466–71.
8.Sanders ME. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. J Nutr 2000: 130: 384S–90S.
9.Dambekodi PC, Gilliland SE. Incorporation of cholesterol into the cellular membrane of Bifidobacterium longum. J Dairy Sci 2001; 81: 1818–24.
10.Gilliland SE, Walker DK. Factors to consider when selecting a culture of L. acidophilus as a dietary adjunct to produce a hypercholesterolemic effect in humans. J Dairy Sci 2004; 73: 905–9.
11.Greenwald CG. Overview of fat and cholesterol reduction technologies. In: Haberstroh C, Morris CE(editors). Fat and Cholesterol Reduced Foods. 3th ed. London UK: Gulf Publishing; 2001; 21–34.
12.Kiatpapan P, Kobayashi H, Sakaguchi M, Ono H, Yamashita M, Kaneko Y, et al. Molecular characterization of Lactobacillus plantarum genes for β-ketoacyl-acyl carrier protein synthase III (fabH) and acetyl coenzyme A carboxylase (accBCDA), which are essential for fatty acid biosynthesis. App Environ Microbiol 2001; 67:426–33.
13.Liong MT, Shah NP. Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of lactobacilli strains american dairy science association. J Dairy Sci 2005; 88: 55–66.
14.Kimoto H, Ohmomo S, Okamoto T. Cholesterol removal from media by lactococci. J Dairy Sci 2006; 85: 3182–8.
15.Lankaputhra WEV, Shah NP. Survival of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium spp. in the presence of acid and bile salts. Cult Dairy Prod J 2003; 30: 2–7.