مجله نخبگان علوم و مهندسی

Journal of Science and Engineering Elites

جلد ۹- شماره ۲ - سال ۱۴۰۳

www.ElitesJournal.ir

کاربرد پلمیر Polydiacetylene در کپسوله دار کردن باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس با استفاده از روش الکترواسپینینگ

اسماعیل قشم زاده [۱]، محمد دخیلی رنج جو [۲*]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه و فناوری های همگرا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران

۲- دانشیار گروه میکروبیولوژی و زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه و فناوری های همگرا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران

* Mohammadedakhili5@gmail.com

ارسال: اردیبهشت ماه ۱۴۰۳ پذیرش: خرداد ماه ۱۴۰۳

چکیده

هدف از نگارش این تحقیق بررسی توانایی های کپسوله دار کردن پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس با روش کپسوله دار کردن و بررسی اثر ماندگاری باکتری و همچنین بررسی اثر متحد الشکل بودن دربرابر اسید معده می باشد. همچنین در این مقاله به بررسی اثرات پروبیوتیک ها در پیش گیری و درمان بیماری های گوارشی در طول سالهای ۲۰۲۳-۲۰۲۰ پرداخته شده است. برای این منظور جدایه باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس به شماره PTCC 1637 از مرکز ملی ذخایر و ژنتیک های زیستی ایران تهیه و جهت کشت به آزمایشگاه منتقل شدند. نتایج تحقیقات شواهد خوبی در مورد اثرات درمانی پروبیوتیک ها در اسهال عفونی, اسهال ناشی از مصرف آنتی بیوتیک ها و عدم تحمل لاکتوز نشان داده است. این ارگانیسم ها سودمندی های خود را از طریق ساخت مواد مغذی نظیر ویتامین ها،بهبود جذب املاح، تولید بیشتر اسیدلاکتیک نوع+L، افزایش جذب پروتئین و بازده رشد و همچنین کاهش فعالیت‌آنزیم های‌دارای اثر ضدتغذیه ای به بدن می رسانند. البته نکته اصلی لزوم حضور این میکروب ها در دستگاه گوارش، البته به صورت زنده می باشد. بقای پروبیوتیک ها در محصولات تحت تاثیرمیزان‌فاکتورهای مختلف شامل pH، اسیدی شدن(طی نگهداری)در محصول تخمیری، تولید پراکسید هیدروژن، سمیت اکسیژن دماهای نگهداری، پایداری در حالت خشک یا فریز شده، رشد ضعیف در شیر،کمبود پروتئاز برای شکستن پروتئین شیر به اجزای نیتروژنی و رقابت با استارترهای سنتی طی تخمیر می باشد.

واژگان کلیدی: پروبیوتیک ها، فلور میکروبی روده، انکپسوله کردن، بیماری گوارشی، پروبیوتیک ها.

۱- مقدمه

با ظهور و گسترش مقاومت های آنتی بیوتیکی در سراسر دنیا مصرف آنتی بیوتیک برای حذف باکتری های بیماریزا با محدودیت روبه رو شده ا ست و چون مقاومت در برابر آنتی بیوتیک ها تمام افراد جهان، با هر سن و نژادی را تهدید می کند به بزرگ ترین تهدید سلامت جهانی تبدیل شده است و سالانه هزینه های زیادی را برپیکره درمان تحمیل می کند. همچنین در سال های کنونی، مفهوم غذاهای عمل گرا به عنوان غذاهایی که علاوه بر داشتن اثرات مثبت تغذیه ای، اثرات مثبتی هم بر روی سلامتی انسان دارند. بیشتر به سمت و سوی غذاهای دارای تاثیرات مثبت بر روی ترکیب جمعیت میکروبی روده داشته با شند، تغییر جهت

داده و عمدتا بر روی غذاهای پروبیوتیک متمرکز می با شند. به دلیل آگاهی مصرف کنندگان از تاثیرات سلامت بخش فراورده های پروبیوتیک، تولید و مصرف این محصولات، روند صعودی به خود گرفته است. از این جهت، تمایل گسترده ای به استفاده از پروبیوتیک ها برای جلوگیری یا درمان عفونت های باکتریایی وجود دارد. این مواد هنگامی که به مقدار زیادی در تهیه غذاها استفاده میشود وهنگام عبور از اولین قسمت دستگاه گوارش- معده- زنده می مانند، جهت حفظ تعادل روده ها به سلول های روده می چسبند به شرطی که pH اسید معده کمتر از ۲باشد؛ چراکه این نوع از باکتری ها حساس اند. امروزه شیر و فراورده های لبنی با داشتن ویژگی های تغذیه ای و تکنولوژیکی خاص به عنوان حاملان باکتری های پروبیوتیک، مورد توجه قرار گرفته اند.

از آنجا که بیشتر باکتری های پروبیوتیک قابلیت تولید و کشت در فراورده های لبنی مانند: شیر، ما ست، دوغ، ب ستنی و.... را دارا می با شند؛ انگیزه جهت تولید آنها در صنعت لبنیات افزایش یافته ا ست و تا اکنون محصولات متنوع و متعدد و بی شماری در دنیا تولید شده اند. لاکتوبا سیلوسها با سیل‌های گرم مثبت منظم و بلندی بوده که تخمیرکننده هستند و بیشتر محصولات آنها اسید لاکتیک است و همچنین دارای خا صیت پروبیوتیکی می‌با شند و به ندرت بیماری زا هستند. لاکتوباسیل‌ها شناخته شده ترین فلور طبیعی واژن هستند و توانایی آنها تولید اسید لاکتیک و pH پایین و حفظ محیط اسیدی است. مصرف این باکتری در ترکیبات دارویی توازن طبیعی باکتری و قارچ را در دستگاه گوارش تنظیم می‌کند. فعالیت مفید باکتری‌های پروبیوتیک وابسته به مقدار دوز و زنده‌مانی آنها در طول ذخیره سازی و مدت زمان نگهداری محصولات و در نهایت مقدار باکتری زنده مانده در محیط روده می‌باشد.

۲- پیشینه تحقیق

پروبیوتیک ها میکروارگانیسم های زنده ای هستند که وقتی به مقدار کافی مصرف شوند سلامتی را به میزبان اعطا می کنند. باکتریهای لاکتیک اسید، متداول ترین نوع باکتریهایی هستند که به عنوان پروبیوتیک معرفی شده اند و در محصولات لبنی سنتی وجود دارند [۱]. هدف از این پژوهش بررسی توانایی های کپسوله دار کردن پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس با روش کپسوله دار کردن و بررسی اثر ماندگاری باکتری و همچنین بررسی اثر متحد الشکل بودن دربرابر اسید معده می باشد [۳-۲]. زمانی دستگاه گوارش انسان تنها مکانی برای هضم و جذب مواد مغذی تصور می شد. ولی طی سالیان اخیر مشخص شده است که دستگاه گوارش عملکردهای زیادی دارد که برای سلامت انسان ضروری است [۴]. دستگاه گوارش انسان میزبان بیش از ۵۰۰ گونه شناخته شده از میکروبها می باشد که این میکروفلور روده انسان از لحاظ متابولیک فعال است و برای میزبان اثرات مفید زیادی دارد. میکروفلور روده انسان از دو طریق مصرف آنتی بیوتیکها، مصرف پروبیوتیکها قابل تغییر است. پروبیوتیکها میکروارگانیسمهایی هستند که اگر به تعدادکافی و به صورت زنده مورد استفاده قرار گیرند، اثرات سلامت بخشی بر میزبان خود به جای می گذارند. غذاهای پروبیوتیک، جز غذاهای فراسودمند محسوب میشوند است. بطورکلی اغلب باکتریهای پروبیوتیک مورد استفاده در غذاها، جز باکتریهای اسید لاکتیک هستند و عمدتا به دو جنس لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم تعلق دارند است. مکانیسم های اثرات سودمند پروبیوتیکها بر سلامتی دستگاه گوارش انسان هنوز بطور کامل شناخته نشده است ولی بطورکلی، پروبیوتیکها با اتصال و ساکن شدن در دستگاه گوارش، باعث مهار رشد باکتریهای بیماریزا می شوند و تعادل میکروبی روده را بهبود میبخشند و باعث ارتقا عملکرد سد مخاطی دستگاه گوارش می شوند. پروبیوتیکها انتقال آنتی ژنهای غذایی را نیز کنترل میکنند و باعث تحریک سیستم ایمنی سیستماتیک و مخاطی میزبان می شوند. پروبیوتیکها توانایی حذف مواد سرطان زا را نیز دارند است. پروبیوتیک ها میکروارگانیسم های زنده ای هستند که وقتی به مقدار کافی مصرف شوند سلامتی را به میزبان اعطا می کنند [۵]. باکتریهای لاکتیک اسید، متداول ترین نوع باکتریهایی هستند که به عنوان پروبیوتیک معرفی شده اند و در محصولات لبنی سنتی وجود دارند است. لاکتو باسیل ها در جنس لاکتوباسیلاسه و خانواده لاکتوباسیلوس ها تقسیم بندی شده اند.طول یاخته های موجود در گونه های مختلف این خانواده؛ متغییر می باشد. لاکتوباسیلوس ها همانند استرپتوکوک های لاکتیک دارای نیاز های غذایی متفاوت از جمله: ویتامین ها، اسید های آمینه و... می باشند است. فاقد کاتالاز و سیتوکروم بوده و سوخت وساز (متابولیسم) انها حتی در مجاورت هوا، تخمیری میباشد

است. در نتیجه بی هوازی مطلق ویا اختیاری (تحمل کننده هوا) می باشند است [۵]. معمولا غیر متحرک اند و در صورت متحرک بودن دارای تاژک های پیرامونی می باشند. این دسته از باکتری ها، باکتری های مفید اند که امروزه اغلب به دلیل داشتن فعالیت ضد باکتریایی بر ضد میکروب های پاتوژن دارای اهمیت زیادی است است. این باکتری ها در دستگاه گوارش به عنوان فلور طبیعی دستگاه گوارش ساکن اند است [۵]. لاکتوباسیلوس ها، انواع زیادی از گونه های متنوع را در خود جای می دهد [۶]. میزان تنوع در آنها را می توان با درصد C+G براورد کرد. درصد C+G در اعضای گونه های لاکتوباسیلوس ها از ۳۲ تا ۶۰ درصد متغییر است که محدوده گسترده ایی به حساب می آید. لاکتوباسیلوس ها: باکتری های میله ای شکل که اغلب طول آنها از ۱۰تا ۱ میکرون و عرض آن بین ۱,۲-۰/۵ میکرون متغیر است. همچنین این دسته از باکتری ها؛ سیتوکروم اکسیداز ندارند اما می توانند در مجاورت اکسیژن هوا رشد کنند و میکروآئروفیل هم می باشند. دمای بهینه برای رشد این باکتری ها بین ۳۰الی ۴۰ درجه سلسیوس است اما قادر به رشد در دماهای بین ۵۰تا۵۳ درجه سلسیوس هم میباشند. همچنین این دسته از باکتری ها می توانند میزان وجود اسید در محیط کشت را تحمل کنند گرچه pH بهینه برای رشد آنها بین۵/۵تا۵/۸ است اما به طور کلی در pHکمتر از۵ میتوانند رشد کنند. لاکتوباسیلوس ها برای تامین مقدار انرژی خود، هیدرات کربن را به عنوان منبع انرژی خود انتخاب کرده و اسید لاکتیک تولید کنند. لاکتوباسیلوس ها، به عنوان باکتری های مفید در غالب محصولات لبنی در زنجیره غذایی به کار گرفته می شود. مطالعات گسترده در زمینه لاکتوباسیلوس ها انجام شده که امروزه باتوجه به وجود مشکلات دستگاه گوارشی و با توجه به رویکرد جهانی به طبیعت و فرار از دارو های شیمیایی و صنایع کاربردی داروهای طبیعی افزایش چشمگیری یافته است [۶].

باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس به عنوان باکتری های پروبیوتیک انسانی و حیوانی اهمیت دارند. بنابراین تحقیقات در مورد حضور غالب لاکتوباسیل ها در دستگاه گوارش اسنان ها و حیوانات جهت بهبود ایمنی و سلامت انسان ها و حیوانات حائز اهمیت است. اولین بار در سال۱۹۰۸ دانشمند روسی و برنده جایزه نوبل الی متچینکوف[1] موضوع تاثیر مفید برخی میکروارگانیسم ها بر روی سلامت دستگاه گوارش انسان مطرح گردید. نتایج این تحقیق با نتایج الی متچینکوف در سال۱۹۰۸ هم خوانی دارد [۱۰]. در سال۱۹۳۴ دانشمندی به نام فرمهاس، روش الکتروریسی را پایه گذاری نمود. نتایج تحقیق با تحقیقات فرمهاس در سال۱۹۳۴ هم خوانی دارد [۱۰]. دانشنمدی به نام دیسویز[2] درسال۱۹۸۶، جهت مطالعه و بررسی کپسوله دار کردن و پیوند متقابل کپسولاسیون از انزیم هایی مثل: تریپسین وپپسین را به کار برد. نتایج تحقیقات تحقیق با نتایج دیسویز در سال ۱۹۸۶ هم خوانی دارد .در مطالعه دیگری که درسال۲۰۰۶ انجام شد، اثر بخشی پروبیوتیک کپسوله شده بیفیدوباکتریوم اینفانتیس در زنان مبتلا به سندرم روده تحریک پذیر مورد بررسی قرار گرفت. بیفیدوباکتریوم اینفانتیس کپسوله شده در دوز cfu ۱۰۸ ×۱ به طور قابل توجهی نسبت به دارونما و سایر دوزهای بیفیدوباکتریوم برای اثربخشی اولیه درد شکم و همچنین نفخ، اختلال عملکرد روده و تخلیه ناقص بهتر بود. نتایج تحقیق با نتایج مطالعات در سال ۲۰۰۶ دارای تفاوت است زیرا: با این روش، باکتری پروبیوتیک نانو الیاف شده لاکتوباسیلوس رامنوسوس که در بیماران دارای مشکلات گوارشی و یبوست مورد بررسی قرار گرفت و باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس کپسوله شده در دوز دوز cfu ۱۰۸ ×۱ به طور قابل توجهی روئیت شد. پروبیوتیک به کار رفته در تحقیق: لاکتوباسیلوس رامنوسوس می باشد. درسال ۲۰۱۳ نئو و همکاران : ترکیب ضد میکروبی گالیک اسید را درالیاف زئین الکتروریسی کرده و آنرا به عنوان یک بسته ضد میکروبی پیشنهاد کردند نتایج تحقیق با نتایج نئو و همکاران در سال۲۰۱۳ دارای تفاوت است، زیرا نانوالیاف به کار رفته در الکترو ریسی poly di acetelen است [۱۰].

پتسچو[3] و همکاران در اکتبر ۲۰۱۳، مطالعه ای انجام دادند و در آن اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کپسوله شده را در کنار غیر کپسوله برای بازیابی و حفظ وضعیت طبیعی واژن مورد بررسی قرار دادند. نتایج تحقیق با نتایج پتسچو و همکاران در اکتبر ۲۰۱۳ دارای تفاوت است، زیرا: اثرات پروبیوتیک لاکتوباسیلوسبه کار رفته کپسوله شده و غیر کپسوله لاکتوباسیلوس رامنوسوس است و همچنین برای رفع یبوست است [۱۱].

[1] Elli metchinkof
[2] Desoize
[3] Petschow

ویدیالاکشمی[1] و همکارانش سال۲۰۰۹ ، انکپسولاسیون فرایند پوشش مداوم در اطراف یک ماتریکس داخلی بوده و این ماتریکس درداخل دیوار کپسول به عنوان یک هسته محصور می‌شود. انکپسولاسیون معمولاً زمانی که سلول‌های باکتری رشد کرده و اگزوپلی‌ساکاریدها تولید می‌کنند، اتفاق میافتد. سلول‌های میکروبی در داخل ترشحاتشان به دام افتاده و سبب ایجاد یک ساختمان یا کپسول محافظتی می شوند، که در نتیجه آن نشت‌پذیری مواد از داخل کپسول کاهش یافته و بنابراین کمتر در معرض فاکتورهای مضر محیط قرار می گیرند. میکروانکپسولاسیون سبب آزاد شدن آهسته مواد هسته از محیطشان می‌شود. این عمل سبب حفظ هسته ناپایدار در برابر محیط، در نتیجه بهبود پایداری افزایش عمر مفید این هسته و کنترل آزاد شدن هسته از دیواره ترکیبات میکروانکپسولاسیون می‌شود. نتیجه مطالعه تحقیق با نتایج کارهای ویدیالاکشمی در سال ۲۰۰۹ هم خوانی دارد [۱۲].

شهیری و رگدر در سال ۱۹۹۱، از مالتوز دکسترین ها به جهت یک جایگزین جزئی در کپسولاسیون به کار بردند، زیرا مالتو دکسترین ها؛ ارزان تر از صمغ های عربی می باشند. نتیجه مطالعه با نتیجه کارهای شهیری و رگدر در سال۱۹۹۱ دارای تفاوت است، زیرا: نانو الیاف که در تحقیق مورد مطالعه قرار گرفته است: نانوالیافPDA می باشد. در مطالعه‌ای که رضازاده و همکاران درسال ۲۰۲۲ انجام دادند، نانو الیاف زئین دارای مقادیر مختلف کپسایسین (۰، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۰۷۵، ۰/۱ ٪) تولید شد نتیجه مطالعه تحقیق با نتایج رضازاده و همکاران در سال۲۰۲۲ دارای تفاوت است، زیرا: نانو الیاف که در تحقیق مورد مطالعه قرار گرفته است: نانوالیافPDA می باشد[۱۳].

ساهادوا[2] و همکاران در سال ۲۰۱۱ درباره اثربخشی پروبیوتیک‌ها، تعداد سلول زنده در فرآورده نهایی و همچنین دستگاه گوارش مصرف کننده است اما در طی فرآیند تولید و نگهداری مواد غذایی، همچنین در حین فرآیند گوارش به دلیل اعمال تنش‌هایی مانند گرما، سرما، فشار اسمزی، PH اسیدی معده و نمک‌های صفراوی در روده کوچک تعداد سلول‌های زنده کاهش می‌یابد، مطالعه کردند [۱۰]. نتیجه این مطالعه، با نتیجه ساهادوا و همکاران در سال ۲۰۱۱ همخوانی دارد. آلبرتینی[3] و همکاران در سال ۲۰۱۰ آزمایشی مبنی بر رفاه و سلامتی پروبیوتیک‌های زنده را انجام دادند که از طریق حفظ تعادل میکروارگانیسم‌ها در دستگاه گوارش انسان و نتیجه آن محافظت در برابر برخی از بیماری‌ها و تقویت سیستم ایمنی میزبان بدست آوردند. نتیجه این مطالعه با نتیجه آلبرتینی و همکاران در سال ۲۰۱۰ هم خوانی دارد. انرویگا[4] و همکاران در سال ۲۰۰۷و برنز و همکاران در سال ۲۰۱۰ تست تحمل لاکتوباسیل را انجام داده‌اند که نشان می‌دهد که پروبیوتیک‌ها می‌توانند در املاح صفراوی باقی بمانند لذا نتایج لاکتوباسیلوس رامنوسوس در تحقیق حاضر مورد بررسی قرار گرفت که تحمل املاح صفراوی را دارا می‌باشد که از این نظر نتیجه این مطالعه با نتایج انرویگا و همکاران در سال ۲۰۰۷و برنز و همکاران در سال ۲۰۱۰ همخوانی دارد. استامپ[5] و همکاران در سال ۲۰۱۳ مطالعه‌ای بر روی تکامل PH شدید معده در bilateria استنباط کرد که از مکانیسم‌های قلیایی شدن معده در دوتروستوم‌های پایه این مطالعه همچنین نشان داد که آنزیم‌های گوارشی آنها با شرایط قلیایی سازگار هستند و با کاهش PH معده، کارایی گوارش کاهش می‌یابد. هموستازی PH معده یک فرایند حیاتی به منظور حفظ راندمان هضم بهینه برای حمایت از تغذیه لاروهای در حال رشد است. نتایج تحقیق با نتایج استامپ و همکاران در سال ۲۰۱۳ همخوانی ندارد زیرا: پروبیوتیک در تحقیق به کار رفته لاکتوباسیلوس رامنوسوس می‌باشد و باکتری پروبیوتیک اشاره شده در شرایط قلیایی و اسیدی معده سازگارتر است. احمدی و همکاران در سال ۲۰۱۳، اثر دو گونه بیفیدوباکتریوم زیرگونه لاکتیس به شماره PTCC1631 و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم به شماره PTCC 1644 با منشأ ایرانی و PH2 نهایی تخمیر (۴/۵ و ۴/۲) و ترتیب تلقیح (قبل و بعد از فرآیند تخمیر) به ویژگی‌های بیوشیمیایی، میکروبیولوژی و حسی دوغ پروبیوتیک بررسی کردند. نتیجه این مطالعه، با نتیجه احمدی و همکاران در سال ۲۰۱۳ همخوانی ندارد، زیرا: پروبیوتیک به کار رفته در این مطالعه، لاکتوباسیلوس رامنوسوس می‌باشد [۱۰].

---

[1] Vidhyalakshmi
[2] Sahadeva
[3] Albertini
[4] Nroiega
[5] Stumpp

درمطالعه تاجیک و همکاران در سال ۲۰۱۲ از بیوفیلم های زئین حاوی اسانس آویشن شیرازی و مونولوریل غلظت های مختلف برعلیه L.monocytogenes و E.coli استفاده نمود [۱۳]. در مطالعه ای که ووی [1] و همکارانش در سال ۲۰۲۱ انجام دادند، طبق مقالات تست MTT نانو الیاف PDA فاقد سمیّت برای بدن می‌باشد [۱۴].

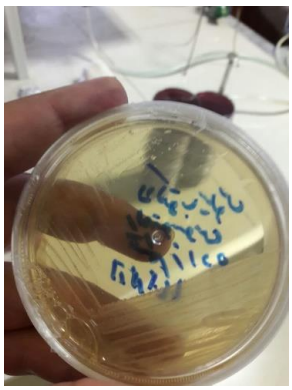
۳- مواد و روشها

۳-۱- تهیه نمونه ها

جدایه باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس به شماره PTCC 1637 از مرکز ملی ذخایر و ژنتیک های زیستی ایران تهیه و جهت کشت به آزمایشگاه منتقل شدند [۷].

۳-۲- کشت و تشخیص نمونه ها

جهت تشخیص جدایه ها و حصول اطمینان از جنس و گونه باکتری ها، نمونه‌ها پس از رنگ آمیزی گرم و مشاهده باکتری‌های گرم منفی و سپس در صورت منفی بودن تست اکسیداز و کاتالاز بر روی باکتری جدا شده برای تشخیص نوع باکتری از محیط کشت MRS آگار استفاده شد و به روش خطی صورت گرفت. پس از ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه کلونی به منظور تأیید، تشخیص و خالص سازی روی محیط MRS آگار کشت داده شد و مورد ارزیابی قرار گرفت [**۷**].



شکل ۱- کشت لاکتوباسیلوس رامنوسوس

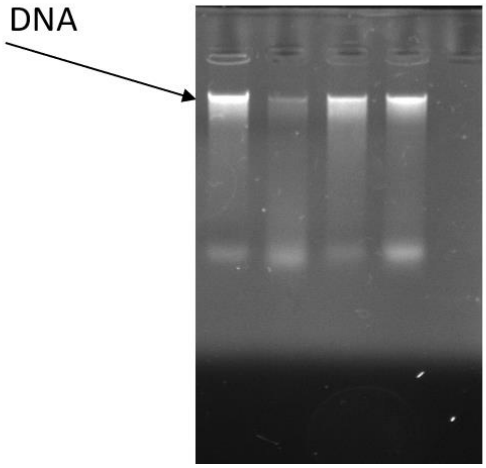
شکل ۲- کاتالاز منفی در لام (اسلاید)

شکل ۳- تصویر نتایج مقاومت به نمک های صفراوی (بایل) باکتری های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس کپسول دار شده

[1] Wei

۳-۳- استخراج DNA از نمونه

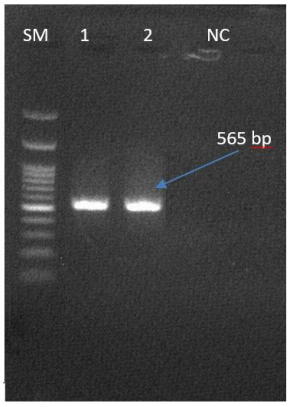
DNA از باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس با روش جوشاندن استخراج شد. کیفیت و کمیت DNAهای استخراج شده به ترتیب توسط الکتروفورز بر روی ژل آگارز۱٪ و نانو دراپ در طول موج های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر بررسی شد [۸].



شکل ٤- نتایج تایید کیفیت DNA استخراج شده در باکتری

۳-۴- واکنش PCR

آزمایش PCR برای لاکتوباسیلوس رامنوسوس و برای هر ژن باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس به طور جداگانه انجام شد [۸].



شکل ٥- نتایج الکتروفورز نمونه ها در ژل آگارز ۱,٥٪ در واکنش PCR

۴- یافته ها

جهت تایید توان پروبیوتیکی باکتری لاکتوباسیل مورد بررسی تحمل اسید HCl با pH 2و 4 قرار گرفت. شمارش دوسری نمونه باکتری در زمان صفر در pHها به ترتیب دارای 35.4 ×10^5 cfu/mlو 45.4 ×10^5cfu/ml بود. پس از گذشت ۲ساعت مجدد شمارش باکتری درpH ها مورد بررسی قرار گرفت که دارای 32.0 ×10^5 cfu/mlو 48.0 ×10^5 cfu/ml بود ،در نهایت شمارش باکتری در ۴ ساعت پس از تلقیح به ترتیب 019.0 ×10^5cfu/mlو 044.0 ×10^5 cfu/ml بود. نتایج بیانگر آن است که باکتری شرایط اسیدی4 pH را در زمان ۲ساعته می تواند تحمل کند و به حداقل استاندارد شمارش کلنی نزدیک باشد. همچنین باکتری جهت بررسی میزان تحمل نمک صفراوی در زمان صفر تا هشت ساعت در غلظت های 1/49 % ، 1/3 % ، 1/19 %از نمک صفراوی با جذب نوری OD 600 به ترتیب دارای شیب بازدارندگی 1/99 ،۳۸/۱ ،۱۱/۱بود که شرایط بهینه برای باکتری های پروبیوتیک ضریب کمتر از 1/4می باشد [۹].

۵- نتیجه گیری و پیشنهادات

لاکتوباسیلوس رامنوسوس به شماره ۱۶۳۷PTCC از مرکز ملی ذخایر زیستی و ژنتیکی ایران خریداری شد و طبق مراحل کار که در بخش ۳ به آن پرداخته شد، یک پیش کشت اولیه از آن تهیه شد و پس از پیش کشت اولیه تمامی مراحل یعنی PCR و الکترواسپینینگ انجام شد.

تفاوتی لاکتوباسیلوس رامنوسوس بدون نانوالیاف یعنی لاکتوباسیلوس رامنوسوسی که از مرکز ملی ذخایر زیستی و ژنتیکی ایران خریداری شده با لاکتوباسیلوس رامنوسوس که بعد با استفاده از نانوالیاف Polydiacetelene غلاف دار شده است دارای تفاوت زیر است.

۱- از آنجایی که پروبیوتیک‌ها به دما حساس اند بایستی در یخچال نگهداری شوند. باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس بدون الیاف به دما حساس است و لیکن باکتری آغشته به کپسول Polydiacetelene میباشد کپسول باکتری، باکتری را از شرایط بد حفاظت میکند و پایدارتر است.

۲- باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس بدون آغشته به نانوالیاف در شبیه ساز اسید معده حل شد زیرا حساس به شرایط اسیدی و بازی معده میباشد. اما باکتری آغشته به نانوالیاف Polydiacetelene، باکتری را در برابر شرایط اسیدی و بازی معده حفاظت می کند.

لذا از نتایج فوق درخواهیم یافت که: باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس فاقد نانوالیاف در تست شبیه ساز معده و همچنین در نمکهای صفراوی از بین رفته است در حالی که همان باکتری اما آغشته به نانوالیاف، در برابر شرایط اسیدی معده و نمکهای صفراوی مقاومت می کند.

۶- پیشنهادات

۱- با توجه به اینکه ماست سرشار از وجود باکتری های لاکتوباسیلوس می باشد پیشنهاد میشود که به عنوان دِسر غذایی در مراکز خوابگاهی، دانشگاهی، نزاجا و بیمارستانها

۲- مطالعات بیشتر روی نمونه لاکتوباسیل رامنوسوس در سطح کشور و روش RAPD-PCR با سایر روشهای مولکولی نوین مقایسه گردد تا در بررسی اپیدمیولوژی مولکولی جدایه مفید واقع شود.

۳- مطالعات گسترده تر و متا آنالیز در چند مرکز درمانی بزرگ صورت گرفت.

۴- با توجه به مخلوط بودن تعداد نمونه و منابع جداسازی آنها لازم است بررسی روی جدایههای بیشتر با منابع مختلف انسانی و غذایی صورت پذیرد.

تقدیر و تشکر

مولفین برخود فرض میدارند که: ازامکانات قرار داده شده توسط دانشگاه های آزاد اسلامی واحد قم و دانشگاه علوم پزشکی قم، برای همکاری در ارائه امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی جهت انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می شود.

۷- مراجع

1. Eatemadi A, Daraee H, Zarghami N, Melat Yar H, Akbarzadeh A. Nanofiber: Synthesis and biomedical applications. Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology. 2016;44(1):111-21.

2. Jelinek R, Ritenberg M. Polydiacetylenes–recent molecular advances and applications. RSC Advances. 2013;3(44):21192-201.

3. Wu A, Gu Y, Tian H, Federici JF, Iqbal Z. Effect of alkyl chain length on chemical sensing of polydiacetylene and polydiacetylene/ZnO nanocomposites. Colloid and Polymer Science. 2014;292:3137-46.

4. Murray CJL, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Aguilar GR, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. The Lancet. 2022;399(10325):629-55.

5. Wagner RD, Johnson SJ. Probiotic lactobacillus and estrogen effects on vaginal epithelial gene expression responses to Candida albicans. Journal of biomedical science. 2012;19:1-8.

6. Wagner RD, Johnson SJ. Probiotic lactobacillus and estrogen effects on vaginal epithelial gene expression responses to Candida albicans. Journal of biomedical science. 2012;19(1):1-8.

7. Jones SE, Versalovic J. Probiotic Lactobacillus reuteri biofilms produce antimicrobial and anti-inflammatory factors. BMC microbiology. 2009;9:1-9.

8. Wittmeier P, Hummel S. Agarose gel electrophoresis to assess PCR product yield: comparison with spectrophotometry, fluorometry and qPCR. Biotechniques. 2022;72(4):155-8.

9. Tajabadi N, Mardan M, Manap MYA, Mustafa S. Molecular identification of Lactobacillus spp. isolated from the honey comb of the honey bee (Apis dorsata) by 16S rRNA gene sequencing. Journal of Apicultural Research. 2013;52(5):235-41.

10. Bartoletti R, Cai T, Wagenlehner FM, Naber K, Johansen TEB. Treatment of urinary tract infections and antibiotic stewardship. European Urology Supplements. 2016;15(4):81-7.

11. Petschow B, Doré J, Hibberd P, Dinan T, Reid G, Blaser M, et al. Probiotics, prebiotics, and the host microbiome: the science of translation. Annals of the New York Academy of Sciences. 2013;1306(1):1-17.

12. Vidhyalakshmi R, Bhakyaraj R, Subhasree R. Encapsulation "the future of probiotics"-a review. Adv Biol Res. 2009;3(3-4):96-103.

13. DABBAGH MA, Kazemi M, SHARIFAN A. Design of Zein electrospinning nanofiber packaging containing Zataria multiflora essential oil to preserve the ration food. 2019.

14. Wei L, Zhou D, Kang X. Electrospinning as a novel strategy for the encapsulation of living probiotics in polyvinyl alcohol/silk fibroin. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 2021;71:102726.

Encapsulation of Lactobacillus Rhamnosus Probiotic Bacteria by Electrospinning Method Using Poly Di Acetylene Polymer

Ismail Qashamzadeh[1], Mohammad Dakheli Ranjjo[2*]

1- MSc, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.
2 -Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom,Iran

*****Mohammadedakhili5@gmail.com

Abstract

They are living microorganisms that have beneficial effects on the health of the digestive system. Probiotics do this by modulating the microbial flora of the gut. The purpose of this study is to investigate the abilities of *lactobacillus rhamnosus* probiotic encapsulation by the encapsulation method and to investigate the effect of the bacteria's durability, as well as to investigate the effect of being uniform against stomach acid, and about the effects of probiotics in the prevention and treatment of gastrointestinal diseases in the length of the years was 2020-2023. *Lactobacillus rhamnosus* bacteria isolate number PTCC 1637 was obtained from the National Center of Biological Genetics and Reserves of Iran and transferred to the laboratory for cultivation. Currently, there is good evidence about the therapeutic effects of probiotics in infectious diarrhea, diarrhea caused by the use of antibiotics and lactose intolerance. These organisms provide their benefits by making nutrients such as vitamins, improving absorption. Solvents, the production of more L+ type lactic acid, the increase of protein absorption and growth efficiency, the reduction of the activity of enzymes with anti-nutritional effect, bring to the body. The main point is the presence of these microbes in the digestive system. Of course, it is live. The survival of probiotics in products is influenced by various factors including pH, acidification (during storage) in the fermented product, production of hydrogen peroxide, oxygen toxicity of storage temperatures, stability in dry or frozen state, poor growth in milk, etc. Protease for breaking milk protein into parts Nitrogen and competition with traditional starters during fermentation. Physical protection of probiotics against external harmful agents with unknown microencapsulation is a new way to promote the survival of these organisms. Encapsulation and immobilization are two words that are used interchangeably in most published sources. The survival of probiotics in products is influenced by various factors including pH, acidification (during storage) in the fermented product, production of hydrogen peroxide, oxygen toxicity of storage temperatures, stability in dry or frozen state, poor growth in milk, etc. Protease for breaking milk protein into parts Nitrogen and competition with traditional starters during fermentation.

Keywords: probiotics, intestinal microbial flora, encapsulation, gastrointestinal disease, probiotics