مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ــ (2014) المجلد (30) ــ العدد 1 ــ الصفحات: 227-237

عزل بكتيريا حمض اللبن العصوية من بعض الأغذية السورية وتصنيفها والتحري عن فعاليتها المضادة لنمو البكتيريا الممرضة

إيمان عسقول[1] صياح أبو غرة[2] و لينة الأمير[3]

الملخّص

تم الحصول على 25 عـزلة من بكتـيريا حمض اللبن من مصادر غذائية متنوعة شـملت منتجـات ألبان ومخللات وعينة نباتية مجففة. وجرى تعرفها استناداً إلى الخصائص المشتـركة لبكتيـريا حمـض اللبن. وتبين بالفحص المجهري أن 23 عـزلة منهاهي بكتـيريا عـصوية وعـزلتين فقط هي بكتـيريا كروية. وقد تم التحـري عن امتلاك هذه العزلات للنشاط الحيوي ضد أنواع ممرضة من البكتيريا موجبـة غـرام (*Staphylococcus aureus*) وأخـرى سـالبة غـرام (*Klebsiella pneumoniae* و*Escherichia coli*)، وتبين أن 15 عزلة منها تملك فعالية حيوية مثبطـة لنمـو كـل مـن الأنـواع الممرضة الثلاثة المختبرة. وأظهـرت النتائج امتلاك كلّ من العـزلتين CP46 وCP50 أعلـى فعاليـة حيوية مثبطة لنمو بكتيريا الاختبار. صنفت العزلات ذات الفعالية الحيويـة باسـتعمال تـقـنية API CHL 50، وتبيّن أن 14 منها تتبع النوع *Lactobacillus plantarum* في حين تتبع عزلة واحدة إلى النوع *L.fermentum* .

الكلمات المفتاحية: فعالية مضادة لنمو البكتيريا، بكتيريا حمض اللبن، أغذية سورية.

[1] طالبة ماجستير، [2] قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية.
[3] الهيئة العامة للتقانة الحيوية، سورية.

Isolation and characterization of Lactobacilli bacteria from some Syrian foods and detection the effectiveness of anti-pathogenic bacterial growth

Askoul, I.[(1)] , S. Abo Gorrah[(2)] and L. Al-Amir[(3)]

Abstract

This study was conducted at the laboratory of Food Science Department, Agriculture College, Damascus University to isolate and characterize of Lactobacilli bacteria from some Syrian foods and detection the effectiveness of anti-pathogenic bacterial growth. Lactic acid bacteria from different dairy products, pickles and dried plant samples were isolated and identified according to common characteristics. Results showed that twenty-three isolates were rods while only 2 of the them were coccid. These isolates were tested for their antimicrobial effect against pathogenic bacteria for both gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) and gram negative bacteria (*Klebsiella pneumonia* and *Escherichia coli*). Fifteen isolates demonstrated antimicrobial effect against the three tested bacteria, of which CP50 and CP46 isolates showed the best antimicrobial effect. Results of the standard physiological and biochemical tests identified fourteen isolates as *Lactobacillus plantarum* and one isolate as *Lactobacillus fermentum*.

Keywords: Antimicrobial effect, Lactic acid bacteria, Syrian foods.

[(1)] MSc. Student, [(2)] Professor, Food Sci. Dep., Fac. Agric.. Damascus Univ.
[(3)] Dr. Researcher, National Commission for Biotechnology.

المقدمة

تعدُّ عملية عزل الكائنات الحية الدقيقة من مصادرها الطبيعية وتوصيفها عملية متواصلة بغية الحصول على عزلات ذات أهمية اقتصادية، وعلى وجه الخصوص بكتيريا حمض اللبن التي تستعمل في أنحاء العالم كلّه لإنتاج الأغذية المتخمرة، ذلك أن هذه البكتيريا ليس لها مخاطر صحية، فهي تعرف على أنها Generally Recognized as Safe (GRAS) (Dunne وزملاؤه، 2001؛ Encyclopedia Britannica، 2007). وأهم ميزات بكتيريا حمض اللبن أنها بكتيريا موجبة غرام، وعادة غير متحركة وغير متبوغة ومنتجة لحمض اللبن كمنتج أساسي في عملية الاستقلاب. كما أنها تعرف بأنَّها غير منتجة للكاتلاز، وهي تشمل كلاً من البكتيريا العصوية والكروية وبيضوية (Ananou وزملاؤه، 2007).

تعدُّ بكتيريا حمض اللبن من أكثر أنواع البكتيريا أهمية في العديد من المنتجات الغذائية وفي مقدمتها منتجات الألبان من حيث فعاليتها الحيوية وكثافتها؛ إذ إنَّ لها دوراً أساسياً في معظم المنتجات الغذائية المتخمرة. ويشترك في ذلك طيف واسع من أنواعها التي استخدمت كبادئات للعديد من المنتجات الغذائية المتخمرة كالألبان واللحوم والخضار ومنتجات الخبيز (Lasagno وزملاؤه، 2002). فضلاً عما تقدم تأتي أهمية بكتيريا حمض اللبن كإضافات غذائية (probiotic) (Milner، 2000). توصف الأغذية الحاوية على البروبيوتيك بالأغذية الوظيفية (Roberfroid، 2000). هذا وقد استُعملت بكتيريا البروبيوتيك دوائياً لتحسين المناعة ومنع السرطان ومنع الإسهال (Sleater و Hill، 2008).

وتبين أنَّ أهم خصائص هذه الأحياء الدقيقة هو إطالة مدة حفظ المنتجات الغذائية المتخمرة مقارنة بتلك التي لم تعامل بها، ويعزى ذلك لقدرة بكتيريا حمض اللبن على تثبيط نمو العديد من الأنواع البكتيرية الممرضة والمفسدة للغذاء موجبة غرام وسالبة غرام (Matilla – Sandholmet وزملاؤه، 1999؛ Ross وزملاؤه، 2002) بسبب إنتاجها للعديد من المستقلبات مثل الحموض العضوية (حمض اللبن، حمض الخل) وفوق أكسيد الهيدروجين وثنائي أستيل والبكتيريوسينات (Ennaharet وزملاؤه، 2000؛ Lasagnoet، 2002؛ Oyetayo، 2003).

ومن هنا كان الهدف من هذه الدراسة الحصول على عزلات محلية من بكتيريا حمض اللبن من مصادر غذائية محلية متنوعة بهدف التحري عن امتلاكها للفعالية الحيوية المضادة للبكتيريا الممرضة وتصنيفها باستعمال تقنية الـ API وانتخاب العزلة الأكثر فعالية تجاه عدة أنواع من البكتيريا الممرضة موجبة غرام وسالبة غرام.

مواد البحث وطرائقه

- **جمع العينات الغذائية**: جمعت 50 عينة من أغذية سورية تقليدية تشمل: منتجات الألبان: حليب، جبن، شنكليش، كشك، جميد. ومخللات: خيار، فليفلة، زيتون، ومنتجات نباتية: مجففة (كركديه). (الجدول 1)

الجدول (1) عدد العينات المأخوذة من كل نوع من المنتجات الغذائية

العينة	جبنة	حليب	شنكليش	كشك	جميد	مخلل خيار	مخلل فليفلة	كركديه	المجموع
عدد العينات	15	5	5	5	1	14	5	1	51

وقد جرت العملية باستعمال عبوات بلاستيكية معقمة في المدة الواقعة بين شهري تموز وشباط خلال عامي 2010 و2011.

عزل بكتيريا حمض اللبن: عُملت سلسلة من التخفيفات لكل من العينات المدروسة باستخدام محلول التمديد (ملح NaCl 0.1 %)، إذْ أخذ 2 غرام أو 2 مل من العينة المدروسة وأضيفت إلى 18 مل من محلول التمديد، وجرى التحريك بشكل جيد، ثم جرت عملية الزرع على عدد من الأوساط المغذية المستخدمة لعزل بكتيريا حمض اللبن، وهي MRS, M17, ROGOSA، حضنت الأطباق في ظروف لاهوائية مدة 24، 48 ساعة في حرارة 37°س (Bukola وزملاؤه، 2008).

تمييز بكتيريا حمض اللبن: صبغ غرام: وذلك بتحضير غشاء بكتيري من كل من العزلات المتحصل عليها، ومن ثم استعمال كل من صبغ غرام (كريستال بنفسجي) وسفرانين، إذْ تظهر البكتيريا موجبة غرام بلون بنفسجي في حين تظهر البكتيريا سالبة الغرام باللون الأحمر لدى فحصها تحت المجهر الضوئي (تكبير× 100).

اختبار الكاتلاز: وهو أنزيم يفكك الماء الأكسجيني إلى ماء وأكسجين. وقد أُجري الاختبار وفقاً للطرائق المستعملة لبكتيريا حمض اللبن، إذْ توضع قطرة من الماء الأكسجيني المخفف على المزرعة البكتيرية المراد اختبارها. ويشير ظهور فقاعات إلى قدرة العزلة المختبرة على إنتاج أنزيم الكاتلاز (Bukola وزملاؤه، 2008).

اختبار التبوغ: وهو يعتمد على استعمال صبغ الكوماسين الذي يلون الأبواغ إن وجدت باللون الأحمر، إذ تضاف الصبغة بداية إلى المعلق البكتيري، ثم يجري التحضين في حرارة 95°م مدة 10 دقائق، وبعد التبريد يحضر غشاء بكتيري ويفحص مجهرياً وتظهر الأبواغ -إن وجدت- بلون أحمر.

اختبار الحركية: باستعمال شريحة خاصة لفحص الخلايا الحية لمعرفة هل كانت متحركة أم غير متحركة؟

النمو هوائي/ لا هوائي: التحضين في شروط هوائية وأخرى لا هوائية، وملاحظة القدرة على النمو في إحدى الحالتين أو في كلتيهما. وقد دُرستْ هذه الخصائص تبعاً لدليل بيرجي (Holt وزملاؤه، 1994؛ Garrityet وزملاؤه، 2004).

التحري عن الفعالية الحيوية للعزلات المدروسة: اختبرت العزلات المتحصل عليها للنشاط الحيوي ضد أنواع ممرضة من البكتيريا موجبة غرام (*Staphylococcus aureus*) وأخرى سالبة غرام (*Klebsiella pneumoniae* و *Escherichia coli*).

أُجري الاختبار بعد تنشيط العزلات النقية في وسط MRS سائل مدة 24 ساعة في حرارة 37°م، وذلك بزرعها على وسط agar MRS بطريقة القطرة وبحجم لقاحة 5µL (Kamagata، 1986)، حضنت الأطباق بعد ذلك في حرارة 37°س مدة 24 ساعة وضمن ظروف لا هوائية، ثم أخرجت من الحاضنة ضمن ظروف معقمة، صُبّت طبقة من وسط الآغار المغذي فوق البكتيريا النامية مسبقاً، وتركت الأطباق حتى تتصلب طبقة الأغار المصبوبة، ثم وضعت في البراد مدة ساعتين في حرارة 4 °س، وذلك للسماح للمضاد البكتيري بالانتشار إلى طبقة الآغار المغذي، زرعت بعدها بكتيريا الاختبار على سطح طبقة الآغار المغذي بطريقة المسح. حضنت الأطباق في حرارة 37°س مدة 24 ساعة ضمن ظروف هوائية، لوحظت بعدها مناطق منع النمو بين الجراثيم المنتجة وبكتيريا الاختبار، وجرى على أساسها اختيار العزلات التي أعطت نشاطاً حيوياً تجاه بكتيريا الاختبار Piddock، 1990).

تصنيف العزلات المدروسة باستخدام API 50 CH system:

صنفت العزلات ذات الفعالية الحيوية على مستوى الجنس والنوع اعتماداً على قدرتها على تخمير السكريات، إذْ تم العمل وفقاً للتعليمات الموصى بها من قبل الشركة المصنعة. بداية نُشّطت العزلات على مرحلتين الأولى باستعمال الوسط السائل MRS broth والثانية على وسط صلب MRS agar، حيث أُجري التحضين في كل مرحلة مدة 24 ساعة وحرارة 37°س.

ثم تم تحضير معلق بكتيري من كل من العزلات المنشطة بنقل عدد من المستعمرات النقية من كل عزلة إلى 10 مل من وسط API 50 CHL medium، وذلك حتى الوصول إلى درجة عكارة تقدر بـ 2 ماكفارلند (قيست بواسطة جهاز قياس العكارة). في الخطوة التالية مُلئت حفر الكشف الخمسون لشرائح API، ثم غطيت الحفر جميعها بقطرات من الزيت المعدني؛ وذلك لجعل ظروف التفاعل لا هوائية. حضنت الشرائح بعد ذلك في حرارة 37°م وأخذت القراءات بعد 24 و48 ساعة، حيث أعطيت الكشوفات التي انقلب فيها اللون إلى الأصفر إشارة (+) والأخرى التي بقي لونها على حاله أعطيت إشارة (-) باستثناء الكشف رقم 25 (Esculin) حيث أعطيت فيها الإشارة (+) عندما تحول لونه إلى

الأسود. أُدخلت النتائج إلى البرنامج الخاص بـــ API 50 CHL لمعرفة الجـــنس والنـــوع لكل عزلة من العزلات المدروسة.

النتائج والمناقشة

العزل: تم الحصول على 90 عزلة بكتيرية من 51 عينة غذائية، من بين هذه العـــزلات، تبيّن أن 25 عزلة فقط هي بكتيريا حمض اللبن؛ وذلك اعتماداً على الفحـــص المجهـــري وصبغ غرام واختبار الكاتلاز والتبوغ والحركية؛ بهدف اختيار العزلات موجبـــة غـــرام وسالبة كاتلاز وغير المتبوغة وغير المتحركة. وبالفحص المجهري تبيّن أن 23 عزلة من بين العزلات المتحصل عليها هي بكتيريا عصوية، في حين أن عزلتين فقط هي بكتيريـــا كروية (جدول2).

الجدول(2)العينات الغذائية المدروسة وأعداد عزلات بكتيريا حمض اللبن من كل من هذه العينات

الرقم	مصدر العزلة	العزلات	نوع البكتيريا
1	جبنة	C1	عصوية
2	جبنة	C2	عصوية
3	جبنة	C4	عصوية
4	جبنة	C12	عصوية
5	جبنة	C20	عصوية
6	جبنة	C25	عصوية
7	حليب	H2	عصوية
8	جميد	J1	عصوية
9	كشك	K3	عصوية
10	شنكليش	SH1	عصوية
11	شنكليش	SH2	عصوية
12	شنكليش	SH4	عصوية
13	مخلل خيار	CP1	عصوية
14	مخلل خيار	CP10	عصوية
15	مخلل خيار	CP11	عصوية
16	مخلل خيار	CP44	عصوية
17	مخلل خيار	CP46	عصوية
18	مخلل خيار	CP48	عصوية
19	مخلل خيار	CP50	عصوية
20	مخلل خيار	CP58	عصوية
21	مخلل فليفلة	PP33	عصوية
22	مخلل فليفلة	PP34	كروية
23	مخلل فليفلة	PP35	كروية
24	كركديه	CK56	عصوية
25	كركديه	CK57	عصوية

التحري عن الفعالية الحيوية:

أظهرت النتائج أن هناك 20 عزلة (80 % من مجموع العزلات) ذات فعالية حيويـــة مضادة لنمو الأنواع الممرضة المختبرة، إذ سبّبت تثبيط بكتيريا الاختبـــار فـــي منطقـــة

التقاطع بينهما (الشكل1). وقد توزعت العزلات إلى مجموعتين من حيث تأثيرها في بكتيريا الاختبار: 7 عزلات أظهرت فعالية ضعيفة، 15 عزلة أظهرت فعالية جيدة بمسافة تثبيط اختلفت بين العزلات، ولم تظهر 3 عزلات أية فعالية حيوية (الجدول3).

الجدول (3) الفعالية الحيوية لعزلات بكتيريا حمض اللبن تجاه بكتيريا الاختبار

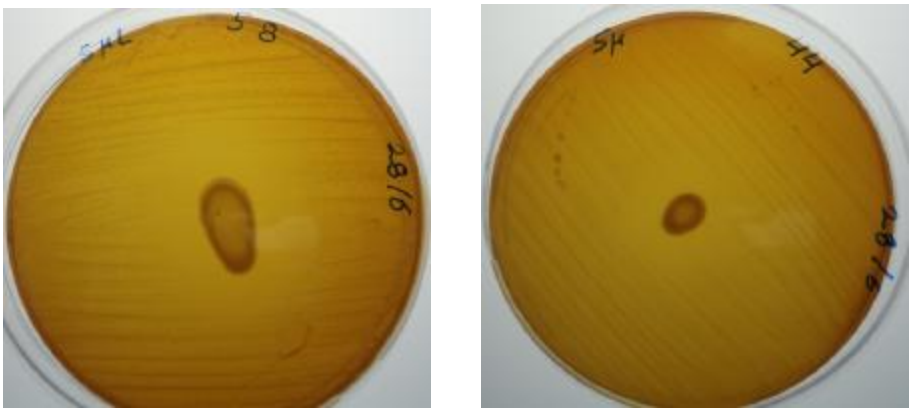
الرقم	العزلات	قياس قطر منطقة التثبيط (سم)		
		E.coli	*S.aureus*	*K.pneumoniae*
1	**CP46**	2.7	2.5	2.6
2	**CP50**	2.6	2.7	2.5
3	**CK57**	2.7	2.5	2.5
4	**J1**	2.6	2.6	2.5
5	**CP11**	2.6	2.5	2.5
6	**K3**	2.5	2.2	2.7
7	**CK56**	2	2.5	2.3
8	**PP33**	2.5	2	2.3
9	**CP58**	2	2.5	2.3
10	**C4**	2.3	2.2	2.4
11	**SH2**	2	2.3	2.5
12	**SH4**	2.1	2.3	2.3
13	**CP44**	2	2	2.3
14	**SH1**	1.6	1.6	1.7
15	**C12**	1.6	1.6	1.7
16	**C1**	W	W	W
17	**C2**	W	W	W
18	**C20**	W	W	W
19	**C25**	W	W	W
20	**H2**	W	W	W
21	**CP48**	W	W	W
22	**PP34**	W	W	W
23	**CP1**	N	N	N
24	**CP10**	N	N	N
25	**PP35**	N	N	N

w : فعالية ضعيفة في تثبيط بكتيريا الاختبار. **N**: عدم وجود أي فعالية في تثبيط بكتيريا الاختبار.

تصنيف العزلات:

تعتمد الطريقة المتبعة في تصنيف العزلات على قدرتها في تخمير عدد من السكريات. وقد أظهرت النتائج أن العزلات التي أبدت فعالية مثبطة لنمو بكتيريا الاختبار جميعها هي

بكتيريـــا عـــصوية تابعـــة للجـــنس *Lactobacillus* وللنـــوعين *L. plantarum*، *L. fermentum*. (جدول4).



الشكل (1) ظهور مناطق تثبيط للنمو حول بكتيريا الاختبار.

الجدول (4) أنواع العزلات المدروسة وتحديد درجة دقة التصنيف للعزلات قيد الدراسة

العزلات	التصنيف	درجة دقة التشخيص بـــ API 50 CHL ID %	التقييم
C4	*L. plantarum*	99.9	ممتاز
C12	*L .fermentum*	99.7	ممتاز
J1	*L .plantarum*	99.9	ممتاز
K3	*L .plantarum*	99.9	ممتاز
SH1	*L .plantarum*	99.9	ممتاز
SH2	*L .plantarum*	99.9	ممتاز
SH4	*L .plantarum*	99.9	ممتاز
CP11	*L .plantarum*	99.9	ممتاز
CP44	*L .plantarum*	99.9	ممتاز
CP46	*L .plantarum*	99.9	ممتاز
CP50	*L .plantarum*	99.9	ممتاز
CP58	*L .plantarum*	99.9	ممتاز
PP33	*L .plantarum*	99.9	ممتاز
CK56	*L .plantarum*	99.9	ممتاز
CK57	*L .plantarum*	99.8	ممتاز

عُزلت بكتيريا حمض اللبن المتحصل عليها من مصادر غذائية متنوعة شملت منتجات ألبان، ومخللات وعينة نباتية مجففة. ولدى تصنيف العزلات ذات الفعالية الحيوية المضادة لنمو البكتيريا الممرضة قيد الدراسة تبين أن 14عزلة تتبع للنوع *Lactobacillus plantarum* في حين تتبع عزلة واحدة للنوع*Lactobacillus fermentum*. وقد عزلت بكتيريا *Lactobacillus plantarum* من بيئات متنوعة مثل الحليب (Rekhif وزملاؤه، 1995) والجبن (Gonzales وزملاؤه، 1994) ومخلل الخيار (Daeschel وزملاؤه، 1990، Atrih وزملاؤه، 1993) والزيتون (Jimenez-Diaz وزملاؤه، 1993؛ والأناناس (Kato وزملاؤه، 1994) وعصير الكريب فروت (Kelly وزملاؤه، 1996). كما أن خصائص هذه العزلات (الجدول2) تعدُّ صفات مشتركة لبكتيريا حمض اللبن (Ananou وزملاؤه، 2007).

تشير النتائج السابقة إلى امتلاك عدد جيد من عزلات بكتيريا حمض اللبن المتحصل عليها طيفاً واسعاً من الفعالية الحيوية في تثبيط نمو البكتيريا الممرضة موجبة الغرام وسالبة الغرام، إذْ يلاحظ أن كلاً من العزلتين CP46 وCP50 واللتين تم الحصول عليهما من مخلل الخيار تمتلكان أعلى فعالية حيوية تجاه بكتيريا الاختبار، تلتهما العزلة CK57 التي تم الحصول عليها من عينة الكركديه المجففة؛ وقد أظهرت كل من العزلتين CP46 وCK57 أعلى فعالية مثبطة لنمو بكتيريا *E.coli* حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 2.7 سم، تلتهما العزلات CP50 وCP11 وJ1، إذ بلغ قطر منطقة التثبيط لكل منها 2.6 سم، أمَّا بالنسبة إلى تثبيط نمو بكتيريا *S. aureus* فقد تبين أن العزلة CP50 تمتلك أعلى فعالية بقطر تثبيط 2.7 سم، تلتها العزلة J1 بقطر تثبيط 2.6 سم، وأبدت العزلة K3 أعلى فعالية مثبطة لنمو بكتيريا *K. pneumoniae* بقطر تثبيط 2.7 سم تلتها العزلة CP46 بقطر تثبيط بلغ 2.6 سم. وقد أشارت العديد من الدراسات إلى امتلاك بكتيريا حمض اللبن القدرة على تثبيط نمو عدد كبير من البكتيريا الممرضة والمفسدة للغذاء، وراوحت هذه الفعالية بين التأثير في البكتيريا موجبة غرام فقط، كما بَيّنَ Noonpakdee وزملائه (2009) الذي أظهر قدرة بكتيريا *Lactobacillus plantarum* PMU33 على تثبيط نمو عدد كبير من البكتيريا موجبة غرام بما فيها *Listeria monocytogenes* و*Bacillus cereus* و*Staphylococcus aureus*؛ وبيَّن التأثير في كل من البكتيريا موجبة غرام وسالبة غرام كما بين Adenike وزملائه (2007)؛ إذْ أشار إلى امتلاك عدد من سلالات بكتيريا حمض اللبن التابعة للأنواع الآتية: *L. acidophilus*، *L. casei*، *L. fermentum*، *L. lactis* و*L. plantarum* للقدرة على تثبيط نمو عدة أنواع من البكتيريا الممرضة موجبة غرام وسالبة غرام شملت كلاً من الأنواع الآتية: *Acinetobacter sp.*، *Alkaligenes sp.*، *Enterobacter aerogenes*، *Escherichia coli*، *Proteus mirabilis*، *Klebsiella pneumoniae*، *Pseudomonas aeruginosa* و *Shigella flexneri*.

References المراجع

Adenike, A. O., A. Mopelola and J. Adeleye 2007. *In vitro* antimicrobial characteristics of bacteriocinproducing Lactobacillus strains from Nigerian indigenous fermented foods. Afri. J. Biotechno., 6 (4):445-453.

Ananou, R. C., S. Ananou, M. Maqueda, M. Martínez-Bueno and E. Valdivia. 2007. Bio - preservation, an ecological approach to improve the safety and shelf-life of foods. Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology, Pp: 475-486.

Atrih, A., N. Rekhif, J. P. Milliere and G. Lefebvre. 1993 Detection and characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* C19. Can. J. Microbiol., 39, 1173–1179.

Bukola, C., T. Adebayo and A. Abiodun. 2008. Screening of lactic acid bacteria strains isolated from some nigerian fermented foods for EPS production . W. Appl. Sci. J. 4 (5): 741-747

Daeschel, M. A., M. C. McKeney and L. C. McDonald. 1990 Bacteriocidal activity of Lactobacillus plantarum C-11. Food Microbiol., 7: 91–98.

Dunne, C. L., L. M. O'Mahony, G. Thornton, D. Morrissey, S. O'Halloran, M. Feeney, S. Flynn, etal. 2001. *In vitro* selection criteria for probiotic bacteria of human origin: Correlation with *in vivo* findings. Am. J. Clin. Nutr., 73 (2): 386S -392S.

Encyclopaedia Britannica Online. 2007. http://www.britannica.com/eb/article-9046772/ Lactobacillus

Ennahar, S., T. Sashihara, K. Sonomoto and A. Ishizaki. 2000. ClassIIa bacteriocins: biosynthesis, structure and activity. FEMS Microbiol. Rev., 24:85–106.

Garrity, G. M., J. A. Bell, T. G. Lilbum. 2004. Taxonomic outline of the prokaryotes in Bergey's manual of systematic bacteriology, 2nd Ed.

Gonzales, B., P. Arca, B. Mayo and J. Suarez. 1994 Detection, purification and partial characterization of plantaricin C, a bacteriocin produced by a Lactobacillus plantarum strain of dairy origin. Appl. Environ. Microbiol., 6: 2158–2163.

Holt, J.G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley, and S. T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth ed. Williams andWilliams. Baltimore, 566p.

Jimenez-Diaz, R., R. M. Rios-Sanchez, M. Desmazeaud, J. L. Ruiz- Barrba and J. C. Piard. 1993. Plantaricin S and T, two new bacteriocins produced by Lactobacillus plantarum LPCO10 isolated from a green olive fermentation. Appl. Environ. Microbiol., 59: 1416–1424.

Kamagata K. 1986. Catalogue of strains, Japan collection of microorganisms. 3th ed . Pub . Japan collection of microorganisms. Tokyo.

Kato, T., T. Matsuda, E. Ogawa, H. Ogawa, H. Kato, U. Doi, and R. Nakamura. 1994. Plantaricin-149, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* NRIC 149. J. Ferment. Bioeng., 77: 277–282.

Kelly, W. J., R. V. Asmundson and C. M. Huang. 1996. Characterization of plantaricin KW30, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum*. J. Appl. Bacteriol., 81: 657–662.

Lasagno M., V. Beoletto, F. Sesma, R. Raya, G. Font De Valdez and A. Eraso. 2002. Selection of bacteriocin producer strains of lactic acid bacteria from a dairy environment. Microbiologia, 25: 37–44.

Matilla-Sandholm, T., J. Matto and M. Saarela. 1999. LAB with health claim-interactions and interference with gastrointestinal flora. Int. Dairy J.,9:25–35.

Milner, J. A. 2000. Functional foods: The US perspective. Am. J. Clin. Nutr., 71 (6): 1654S-1659S.

Noonpakdee, W., P. Jumriangrit, K. Wittayakom, J. Zendo, J. Nakayama, K. Sonomoto and S. Panyim. 2009. Two-peptide bacteriocin from Lactobacillus plantarum PMU 33 strain isolated from som-fak, a Thai low salt fermented fish product . Asi. Pacific J. Molec. Bio. and Biotechno... 17 (1) : 19-25

Oyetayo, V. O., F. C., Adetuyi, and F. A. Akinyosoye, 2003. Safety and protective effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* used as probiotic agent in vivo. Afr. J. Biotech. 2, 448-452.

Piddock, LJ V. 1990. Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. J. Appl. Bacterio., 68:307-18.

Rekhif, N., A. Atrih, M. Michel and G. Lefebvre. 1995. Activity of plantaricin SA6, a bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum SA6 isolated from fermented sausages. J. Appl. Bacterio., 78: 349–358.

Roberfroid, M. B. 2000. Prebiotics and probiotics: Are they functional foods? Am. J. Clin. Nutr., 71(6): 1682S - 1687S.

Ross, R. P., S. Morgan and C. Hill. 2002. Preservation and fermentation: past, present and future. Int. J. Food Microbio. 79: 3-16.

Sleater, R. D. and C. Hill. 2008. New frontiers in probiotic research. Lett. Appl. Microbio., 46:143-147.

Received	**2012/04/03**	**إيداع البحث**
Accepted for Publ.	**2012/07/18**	**قبول البحث للنشر**