نگهدارنده بیولوژیک (بیوپرزرواتیو) چیست

دکتر سید حسام الدین تفرشی
مجتمع تحقیقاتی و تولیدی انستیتو پاستور ایران

علی‌رغم توسعه و بهبود در فن‌آوری تولید فرآورده‌های غذایی، متاسفانه مسمومیت‌های غذایی و بیماری‌های ناشی از فرآورده‌های غذایی افزایش یافته است. برابر گزارش مرکز پیشگیری و کنترل بیماری‌ها (CDC) در آمریکا سالانه ۷۶ میلیون مورد بیماری و ۵۰۰۰ مورد مرگ در اثر مسمومیت‌های ناشی از پاتوژن‌های غذایی اتفاق می‌افتد. برخی از این پاتوژن‌ها عبارتند از: سالمونلا، اشریشیا کلی، لیستریا منوسیتوژنز، استافیلوکوکوس ارئوس و کلستریدیوم بوتولینوم.

هر چند در کشور ما نظارت کافی و آمار دقیقی در این زمینه وجود ندارد ولی بنابر گزارش سند ملی فرا بخشی امنیت غذا و تغذیه برنامه چهارم توسعه اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی جمهوری اسلامی ایران (مصوب ۱۳۸۳) با وجود ارتقاء سطح بهداشت عمومی و کاهش میزان مرگ و میر و ابتلا به بیماری در دهه اخیر، بیماری‌های ناشی از غذا در کشور، به علت عدم وجود یک سیستم کارا و جامع کنترل مواد غذایی، هنوز یکی از مشکلات عمده است. در ارتباط با سلامت و ایمنی غذا بررسی‌های اخیر نشان داده است که در طی دهه‌های اخیر با گسترش تکنولوژی، مصرف جهانی آفت‌کش‌ها آنتی‌بیوتیک‌ها، داروهای دامی و هورمون‌ها در تولید مواد غذایی به ویژه در کشورهای در حال توسعه رشد چشمگیری داشته است که منجر به اثرات سوء انکارناپذیری بر سلامت انسان از جمله بروز انواع

ناهنجاری‌های مادرزادی و سرطان‌ها به ویژه در کودکان شده است. براساس آمار موجود میزان وقوع مسمومیت‌های ناشی از آلودگی غذا در کشورهای در حال توسعه ۱۳ درصد بیشتر از کشورهای صنعتی است. در این سند از جمله مواردی که به‌عنوان تنگنا و محدودیت برای افزایش ایمنی غذایی نام برده شده، بحث کیفیت نامناسب مواد غذایی از جمله به دلیل آلودگی میکروبی و استفاده از مواد افزودنی غیرمجاز در فرآوری و نگهداری مواد غذایی بوده است.

جلوگیری از فساد میکروبی مواد غذایی یک صنعت قدیمی است و سابقه آن به ملل باستانی برمی‌گردد، زمانی که غذاها را با خشک کردن دود دادن و نمک سود کردن از آلودگی میکروبی محافظت می‌کردند. امروزه نگهداری مواد غذایی علاوه بر روش‌های قدیمی به روش‌های تهیه کنسرو، تهیه در قوطی‌های کاملاً در بسته و نگهداری در سردخانه نیز انجام می‌شود. با توسعه صنایع مواد شیمیایی، استفاده از ترکیبات شیمیایی آلی و معدنی در نگهداری از مواد غذایی مرسوم گردید. ولی این ترکیبات ضمن داشتن اثر محافظت میکروبی، دارای اثرات جانبی نیز هستند. مانند ایجاد مواد سرطان‌زا ناشی از ترکیبات نیترات و نیتریت، ایجاد واکنش‌های حساسیتی مختلف، دخالت در متابولیزم بدن و ایجاد سمیت‌های حاد و مزمن ناشی از فلزات سنگین. امروزه در استانداردهای جهانی رعایت دستورهای (Hazard Analysis and Critical Control Points) HACCP که تاکید می‌نماید یک ماده غذایی بایستی فاقد عوامل میکروبی و شیمیایی خارجی باشد در بسیاری از کشورها الزامی و در ایران نیز بسیاری از صنایع غذایی به خصوص جهت صادرات تلاش در اجرای آن دارند. لذا حذف موارد نگهدارنده شیمیایی و جایگزینی مواد نگهدارنده شیمیایی و جایگزینی مواد نگهدارنده طبیعی از ملزومات انجام دستورهای HACCP می‌باشد. مقاومت به این ترکیبات نیز مطرح و موضوع مهمی در صنایع غذایی است.

به همین دلیل از گذشته تا کنون جستجو برای مواد نگهدارنده طبیعی (بیوپرزرواتیو) که سمیت نداشته و حساسیت ایجاد نکنند و همچنین قدرت خوبی برای محافظت میکروبی داشته باشند همیشه مد نظر بوده است.

فن آوری‌های جدید نگهداری (Preservation) مواد غذایی شامل:

۱ ـ فن‌آوری‌های غیرفعال‌سازی بدون استفاده از حرارت،

۲ ـ سیستم‌های بسته‌بندی جدید،

۳ ـ استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی،

۴ ـ نگهداری بیولوژیک (Biological Preservation) می‌شود (۸) که بررسی باکتریوسین‌ها از گروه نگهدارنده‌های بیولوژیک و معرفی باکتریوسین‌نیسین مورد بحث این مقاله می‌باشد.

■ نگهدارنده بیولوژیک (بیوپرزرواتیو) چیست؟

از یک دیدگاه کلی، نگهدارنده بیولوژیک به باکتری‌های اسیدلاکتیک (LAB) یا فرآورده‌های ضدباکتریایی تولید شده از آنها مانند اسیداستیک، اسیدلاکتیک، پراکسیدهیدروژن، آنزیم‌های ضدمیکروبی، رئوترین (Reuterin)، باکتریوسین

دی‌استیل، استالدئید و استوبین (Acetion) گفته می‌شود ولی از بین تمام موارد فوق باکتریوسین‌ها (یا آنتاگونسیت‌های باکتری) تولید شده از باکتری‌های اسیدلاکتیک کانون بیشترین توجه به عنوان نگهدارنده بیولوژیک با کاربرد در صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی هستند و در مواردی از باکتریوسین‌ها به طور خاص به عنوان بیوپرزرواتیو یاد می‌شود.

■ باکتریوسین چیست؟

اصطلاح باکتریوسین (آنتاگونیست‌های باکتریایی) ابتدا در سال ۱۹۵۳ برای تعریف ترکیبات پروتئینی به دست آمده از اشریشیا کلی (کلی‌سین) به کار رفت ولی امروزه به تمام پپتیدهای مهارکننده باکتریایی تولید شده از هر جنس باکتریایی گفته می‌شود. باکتریوسین‌ها که از طریق ریبوزوم ساخته می‌شوند به وسیله سوش‌های خاصی از باکتری‌ها تولید می‌شوند و می‌توانند بر علیه سویه‌های همان‌گونه یا گونه‌های نزدیک به آن فعالیت ضدباکتریایی داشته باشند. ابتدا این ترکیبات را فقط بر علیه سویه‌های نزدیک به گونه اصلی موثر می‌دانستند ولی مطالعات اخیر نشان داده است که برخی از باکتریوسین‌ها دارای طیف وسیع اثر ضدباکتریایی هستند.

■ یک باکتریوسین مطلوب چه خصوصیاتی دارد؟

یک باکتریوسین باید دارای خصوصیات زیر باشد:

۱ ـ عدم سمیت

۲ ـ پایداری در طی فرآیند تولید و نگهداری فرآورده

۳ ـ تاثیر در غلظت کم

۴ ـ عدم تاثیر نامطلوب روی فرآورده

۵ ـ طیف اثر وسیع

■ معرفی باکتری‌های اسیدلاکتیک

باکتری‌های اسیدلاکتیک، باسیل یا کوکسی‌های گرم مثبت، کاتالاز منفی، بی‌هوازی ولی قادر به تحمل هوا و غیر اسپورزا هستند که اسیدلاکتیک را به عنوان محصول عمده و نهایی ناشی از تخمیر کربوهیدرات‌ها تولید می‌کنند. همان‌طور که گفته شد باکتریوسین‌های اسیدلاکتیک بسیار مورد توجه هستند زیرا:

۱ ـ خواص ضدمیکروبی باکتری‌های اسیدلاکتیک بیش از ۱۰۰۰۰ سال است که توسط بشر شناخته شده و از آن استفاده گردیده است و او را قادر کرده است که عمر بسیاری از غذاها و فرآورده‌های غذایی را در خلال فرآیند تخمیر طولانی‌تر کند.

۲ ـ باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌عنوان باکتری‌های GRAS (Generally Recognized As safe) شناخته شده‌اند و خودشان و فرآورده‌های ناشی از آنها (مواد ضدمیکروبی تولید شده از آن‌ها) برای انسان و سایر یوکاریوت‌ها تاثیر سوء نداشته‌اند.

۳ ـ باکتری‌های اسیدلاکتیک نه تنها برای انسان مضر نیستند بلکه با مکانیزم‌های مختلف دارای خاصیت پروبیوتیکی نیز می‌باشند.

۴ ـ بعضی از باکتریوسین‌های تولید شده از باکتری‌های اسیدلاکتیک توانسته‌اند از رشد باکتری‌های ایجادکننده فساد در مواد غذایی و

بیماری‌زا مانند لیستر یا منوسیتوژنز، استافیلوکوکوس ارئوس، باسیلوس سرئوس و کلستریدیوم بوتولینوم جلوگیری کنند.

۵ ـ از دیدگاه خواص فیزیکو شیمیایی برخی از باکتریوسین‌های باکتری‌های اسیدلاکتیک توانسته‌اند در PHها و دماهای مختلف فعال باقی بمانند.

■ تقسیم‌بندی باکتریوسین‌های باکتری‌های اسیدلاکتیک

باکتریوسین‌های به‌دست آمده از باکتری‌های اسیدلاکتیک را به ۳ گروه:

۱ ـ لانتی‌بیوتیک‌ها

۲ ـ پپتیدهای کوچک مقاوم به حرارت

۳ ـ پروتئین‌های ناپایدار در برابر حرارت تقسیم می‌کنند. البته گروه چهارمی تحت عنوان باکتریوسین‌های کمپلکس (پروتئین‌های همراه با چربی یا کربوهیدرات) نیز پیشنهاد شده است که مورد توافق همه دانشمندان نیست.

گروه اول یا لانتی‌بیوتیک‌ها پپتیدهای دارای وزن مولکولی کمتر از ۵ کیلو دالتون هستند و بر پایه ساختمان و عملکرد به دو زیر گروه A و B تقسیم می‌شوند که زیر گروه Tyep A لانتی‌بیوتیک‌ها بر اساس اندازه بار الکتریکی و اسیدهای آمینه توالی رهبر در قسمت N- ترمینال (N-terminal leader sequence) به دو شاخه A (1) و A (2) تقسیم می‌گردند. هر چند که باکتریوسین‌های مختلفی تاکنون از باکتری‌های اسیدلاکتیک جدا شده‌اند ولی از بین آنها نیسین (Nisin) تنها باکتریوسینی است که در دنیا اجازه مصرف پیدا کرده است و متعلق به شاخه A (1) می‌باشد.

■ نیسین(Nisin) چیست؟

الف ـ سویه تولیدکننده نیسین

نیسین توسط چندگونه از لاکتوکوکوس لاکتیس تولید می‌شود. لاکتوکوکوس جنسی است که قبلا به آن استرپتوکوک گروه N می‌گفتند. اعضای جنس لاکتوکوکوس، کوکسی‌هایی گرم مثبت هستند که بر اساس شرایط رشد اندازه بین ۰/۵ تا ۱/۵ میکرومتر دارند. حرکت ندارند و اسپور تولید نمی‌کنند. متابولیزم تخمیری دارند (هموفرمانتاتیو) و می‌توانند مقدار زیادی L (+) اسیدلاکتیک تولید کنند. دمای بهینه رشد آنها ۳۰ درجه سانتی‌گراد است. رشد آنها تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد هم می‌تواند ادامه پیدا کند. ولی در دمای بیش از ۴۵ درجه سانتی‌گراد قابل به رشد نیستند. ۵ گونه مهم در جنس لاکتوکوکوس وجود دارد. آنها با توانایی رشد در دمای بالاتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد و رشد در غلظت بالاتر از ۴ درصد سدیم کلراید از یکدیگر متمایز می‌شوند. آنها هم‌چنین در توانایی تولید اسید از قندهای مختلف مانند لاکتوز، مانیتول و رافینوز با یکدیگر تفاوت دارند. برای مثال لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه لاکتیس در ۴۰ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۴ درصد سدیم کلراید رشد می‌کند ولی مانیتول و رافینوز را نمی‌تواند تخمیر کند.

ب ـ شیمی نیسین

نیسین از زیر گروه I و از شاخه A (1) باکتریوسین‌های لانتی‌بیوتیکی است. انتی‌بیوتیک‌ها

پپتیدهای دارای وزن مولکولی کمتر از ۵ کیلو دالتون هستند و به دلیل داشتن اسیدهای آمینه غیرمعمول مانند لانتیونین، بتا ـ متیل ـ لانتیونین، دهیدروآلانین و دهیدروآمینو بوتیریک اسید که در طبیعت یافت نمی‌شوند به این نام، نامیده می‌شوند. نیسین دارای ۳۴ اسید آمینه و وزن مولکولی ۳۳۵۴/۱۲ دالتون است و دارای انواع مختلفی است که تفاوت آنها در نوع اسیدهای آمینه می‌باشد ولی از نظر مصرف هیچ‌گونه تفاوتی نداشته و سویه‌های تولیدکننده از نظر نوع تولید نیسین طبقه‌بندی نمی‌گردند. نیسین در حلال‌های قطبی حل می‌شود و در حلال‌های غیرقطبی نامحلول است. مطالعات انجام شده روی ساختمان ـ فعالیت بیوسنتز، نحوه و طیف اثر، هیچ تفاوتی را بین انواع نیسین نشان نداده است.

پ ـ طیف اثر نیسین

نیسین روی باکتری‌های اسیدلاکتیک، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریامنوسیتوژنز، گونه‌های مختلف باسیلوس و کلستریدیوم اثر باکتری‌کشی دارد و همچنین از رشد اسپور باسیلوس‌ها و کلستریدیوم‌ها جلوگیری می‌کند.

نیسین به مقدار ۲۰۰۰ واحد در میلی‌لیتر در ترکیب با مواد شلات‌کننده نظیر EDTA، سیترات و لاکتات بر علیه باکتری‌های گرم منفی نظیر اشریشیا کلی و سالمونلاتیفی موریوم موثر است.

ت ـ مکانیزم اثر نیسین

نشان داده شده است که نیسین از بیوسنتز پپتیدوگلیکان با تداخل با لیپید I و لیپید II جلوگیری می‌کند. نیسین به فسفولیپیدهای آنیونیک (شامل لیپید II) غشای سلول متصل و سپس وارد آن می‌شود. نتیجه این اتصال تشکیل حفره در غشای سیتوپلاسمی و خروج اجزای داخل سلول است. اتصال نیسین به لیپید II ساخت پپتیدوگلیکان را مهار می‌کند که برای تشکیل دیواره سلولی ضروری است. مهار رشد اسپورها نیز به واسطه وجود دهیدروآلانین درآمینه ۵ نیسین است. علی‌رغم استفاده طولانی مدت (بیش از ۴۰ سال در بیش از ۸۰ کشور) از نیسین در صنایع غذایی، افزایش قابل ملاحظه‌ای در بروز مقاومت به آن مشاهده نشده است که این موضوع به مکانیزم اثر دوگانه نیسین مربوط می‌شود.

ث ـ متابولیزم نیسین

نیسین پس از ۱۵ تا ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در PH=۸ به وسیله پانکراتین غیرفعال می‌شود و تاثیری روی میکروفلور روده ندارد. غیرفعال شدن آن با آلفا ـ کیموتریپسین نیز گزارش شده است. بر اساس مطالعات مختلف انجام شده در سطح دنیا تاکنون هیچ‌گونه حساسیت، سمیت حاد، تحت حاد و مزمن، تاثیر منفی روی سیستم باروری، اثر سرطان‌زایی و ژنوتوکسیسیته با نیسین گزارش نشده است.

ج ـ پایداری نیسین

از مهمترین دلایلی که نیسین را به عنوان یک نگهدارنده طبیعی با ویژگی‌های مطلوب مطرح می‌کند، حلالیت و پایداری آن است. نیسین در pH اسیدی بالاترین پایداری و حلالیت خوبی در محیط‌های آبی دارد. در pH خنثی حلالیت آن کم می‌شود و با افزایش دما پایداری خود را کاملا حفظ می‌کند. نیسین در غلظت حداکثر ۲۵۰ ppm در فرآورده‌های مختلف استفاده می‌شود.

چ ـ کاربرد نیسین

نیسین دارای تاییدیه مصرف از سازمان جهانی بهداشت (WHO) در سال ۱۹۶۹، سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) در سال ۱۹۸۸ و اتحادیه اروپا در سال ۱۹۹۵ می‌باشد و تعداد کشورهای مصرف‌کننده نیسین از ۵۰ کشور در سال ۱۹۹۹ به بیش از ۷۰ کشور در سال ۲۰۰۶ افزایش یافته است.

نیسین در صنایع مختلف غذایی لبنیات، گوشت کنسرو، سبزی‌جات، ماهی وغذاهای دریایی فرآورده‌های پاستوریزه مایع تخم‌مرغ (pasteurized liquid egg products)، انواع سس‌ها، سالادها، سوپ‌های پاستوریزه آماده صنایع آرد و نان‌های پخته شده و صنایع دارویی برای درمان هلیکوباکتر پیلوری، درمان و کنترل ورم پستان گاوها (Mastitis) و در دندانپزشکی برای جلوگیری از تشکیل پلاک‌های (plaque) دندانی و التهاب لثه به کار رفته است.

منابع

1- O Sullivan L. Ross RP. Hill C. Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria For improvements in Food safety and quality, Biochimie 2002; 84: 593-604.

2- Pifferi G. Restani P. The safety of pharmaceutical excipients. IL Farmaco 2003; 58: 541-550.

3- Devlieghere F. Vermeiren L. New preservation technologies:Possibilities and limitations. Int Dairy J 2004; 14: 273-285.

4- Savadago A. Ouattara C A T. Bassole I N. Antimicrobial activities of lactic acid bacteria strains isolated from Burkina Faso fermented milk,Pakistan J Nutr 2004; 3(3): 174-179.

5- Guinane C M. Cotter P D. Hill C. Microbial solutions to microbial problems;lactococcal bacteriocins for the control of undesirable biota in food, J Appl Microbiol 2005; 98: 1316-1325.

یادآوری: علاقمندان به استفاده از تمام منابع این مطلب می‌توانند با دفتر نشریه رازی تماس بگیرند.