Evaluation Of Selective Stimulation And Lethality Of Soybean and Green Tea Extracts On Probiotic Bacteria And Key Pathogens

Pages 81-98

M. Ghanadzadeh[1], M. Tadayoni[2*]

1 &2) Department of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

*Corresponding author: **m.t.tadayoni@gmail.com**

Received date: 2023.04.17 **Accepted date: 2023.07.12**

Abstract

Green tea and soy are rich sources of bioactive compounds that can be used to improve the health of consumers in food formulations. This study aimed to investigate the selective and inhibitory effect of soybean extract and green tea extract on some probiotic bacteria and indicator pathogens. To this purpose, the inhibitory and lethal effects of these extracts against probiotic bacteria *L. acidophilus, L. plantarum, L. casei* and *L. rhamnosus* and pathogens of *Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* were examined by microdilution method. The most resistant bacteria were also selected for the study of the prebiotic effect. The results of this study showed that *Staphylococcus aureus* was the most resistant bacterium to soybean and green tea and *Salmonella typhimurium* was the most susceptible bacterium to soybean and green tea extract. The results showed that soybean extract at 2% concentration had a stimulating effect on probiotic bacterium *L. rhamnosus*. MIC and MBC analysis of the extracts on probiotic bacteria showed that *L. casei* and *L. acidophilus* were the most sensitive to green tea extract and *L. casei* was the most sensitive to soybean extract. Due to the stimulating effect of soybean extract on *L. rhamnosus* bacteria and its lethal effect on pathogenic bacteria, this compound can be considered a suitable candidate for studying prebiotic effects in vitro..

Keywords: Green Tea Extract, Soybean Extract, Probiotic and Selective stimulation.

.

بررسی تحریک انتخابی و کشندگی عصاره سویا و چای‌سبز بر باکتری‌های پروبیوتیک و پاتوژن‌های شاخص

شماره صفحات
۸۱-۹۸

مهدی قنادزاده [۱] و مهرنوش تدینی [۲*]

۱ و ۲) گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

* نویسنده مسئول: **m.t.tadayoni@gmail.com**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۲۱

چکیده

چای‌سبز و سویا منابعی غنی از ترکیبات زیست‌فعال هستند که می‌توان از آن‌ها برای بهبود سلامت مصرف کنندگان در فرمولاسیون‌های غذایی استفاده کرد. هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر تحریک‌انتخابی و خاصیت کشندگی عصاره سویا و چای‌سبز بر برخی باکتری‌های پروبیوتیک و پاتوژن‌های شاخص بود. برای این منظور اثر مهارکنندگی و کشندگی عصاره‌های مذکور علیه باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم، لاکتوباسیلوس‌کازئی* و *لاکتوباسیلوس‌رامنوسوس* و پاتوژن‌های *اشرشیاکلی، سالمونلا تایفی موریوم، استافیلوکوکوس‌اورئوس* و *لیستریامونوسیتوژنز* به روش رقیق‌کنندگی در لوله بررسی شد. همچنین مقاوم‌ترین باکتری در غلظت‌های مورد بررسی برای مطالعه اثر پری‌بیوتیکی انتخاب شد. نتایج این مطالعه نشان داد باکتری های *استافیلوکوکوس‌اورئوس* و *سالمونلا تایفی موریوم* به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین باکتری ها در برابر عصاره سویا و چای‌سبز بودند. عصاره سویا در غلظت دو درصد دارای اثر تحریک کنندگی رشد باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس‌رامنوسوس* بود. بر اساس نتایج حاصل از بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC**) و حداقل غلظت کشندگی (**MBC**)عصاره‌ها بر باکتری‌های پروبیوتیک مشخص شد که *لاکتوباسیلوس‌کازئی* و *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* دارای بیشترین حساسیت نسبت به عصاره چای سبز و *لاکتوباسیلوس‌کازئی* دارای بیشترین حساسیت به عصاره سویا بودند. با توجه به اثر تحریک‌کنندگی عصاره سویا روی باکتری *لاکتویاسیلوس‌رامنوسوس* و اثر کشندگی آن بر باکتری‌های پاتوژن می‌توان از این ترکیب به عنوان گزینه‌ای مناسب برای مطالعه اثر پری‌بیوتیکی به صورت درون‌تنی بهره جست.**

کلیدواژه‌ها: عصاره چای سبز، عصاره سویا، ترکیبات زیست‌فعال و پتانسیل پری‌بیوتیکی.

مقدمه

ترکیبات زیست‌فعال ترکیباتی هستند که عمدتاً در مقادیر اندک در فراورده‌های گیاهی، گیاهان خوراکی و غذاهای پرچرب موجود هستند. این ترکیبات قادر به تنظیم فرایندهای متابولیکی و در نتیجه ارتقای بهتر سلامتی هستند (DD, K 1994. Sorourian, 2022., Galanakis, C.M. 2017,). پری‌بیوتیک‌ها با عبور از روده کوچک به بخش پایینی روده می‌رسند و در طی عبور برای باکتری‌های پروبیوتیک قابل دسترس می‌شوند ولی توسط سایر باکتری‌های روده مصرف نمی‌شوند (Sorourian, 2020., Al-Sheraji *et al*., 2013). بیشتر اثرات سلامتی‌بخش پریبیوتیک‌ها، به بهینه‌کردن عملکرد کلون و متابولیسم مربوط است (Saad *et al*., 2013). اثرات پریبیوتیکی یک ماده غذایی، بر اساس میزان تأثیر آن بر رشد باکتری‌های مفید مانند *لاکتوباسیلوس‌ها* و *بیفیدوباکترها*، کاهش پاتوژن‌های روده‌ای و افزایش یا کاهش تولید متابولیت‌های میکروبی ارزیابی می‌شود (Grootaert *et al*., 2007). امروزه سویا به عنوان یک کالای استراتژیک در مصارف غذایی متنوع و مصارف صنعتی کاربرد فراوانی یافته است، جنیستئین[1] یکی از ترکیبات سویا است که دارای خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Razeghi, 2009). چای‌سبز غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب و ضدسرطانی است. در هر فنجان چای‌سبز بین ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم از پلی‌فنول‌ها و ۱۰ تا ۵۰ میلی‌گرم کافئین[2] با تأثیر آرام‌بخشی وجود دارد. از مواد دیگر موجود در چای‌سبز، فلاونول‌ها و ترکیبات معطر هستند. کاتچین[3] یک آنتی‌اکسیدان بسیار قوی است که از رشد سلول‌های سرطانی ممانعت می‌کند (Kafi *et al*., 2011). اثرات سلامت بخش چای عبارتند از: کاهش خطرات بیماری‌های قلبی عروقی، کاهش برزو بعضی از سرطان‌ها، ضدفشارخون، کنترل وزن بدن به علت کاهش اشتها، خاصیت ضدباکتریایی و ضدویروسی، محافظت در برابر اشعه ماوراءبنفش خورشید، افزایش تراکم استخوان و تأثیر مثبت بر عملکرد سیستم عصبی. یکی دیگر از خواص چای‌سبز پری‌بیوتیک بودن آن است که باعث افزایش رشد پروبیوتیک‌ها می‌شود. فراهمی‌زیستی پایین ترکیبات چای سبز و ناپایداری آن ها در طی فرایند تولید و نگهداری و عدم تحمل شرایط نامساعد محیطی، علی رغم اثرات سودمند باعث محدودیت استفاده از تاثیر مفید آن ها می‌شود (Noori *et al*., 2017). Zhang *et al* گزارش کردند که خطر ابتلا به سرطان تخمدان با افزایش دفعات مصرف چای‌سبز کاهش می‌یابد. چای‌سبز به عنوان یک عامل حفاظت‌کننده شیمیایی مؤثر در برابر سرطان پروستات در انسان نیز معرفی شده است (Cabrera *et al*., 2006). از سوی دیگر مطالعات اپیدمیولوژی نشان داده‌اند که مصرف بالای چای‌سبز در برابر توسعه گاستریت مزمن و کاهش خطر ابتلا به سرطان معده مؤثر است. هادسون و همکاران گزارش کردند که مصرف طولانی‌مدت و منظم چای‌سبز ممکن است اثر مطلوبی بر فشار خون در زنان مسن داشته باشد (Zhang *et al*., 2002). یاکوزاوا و همکاران گزارش کردند که تجویز خوراکی پلی‌فنول‌های چای‌سبز به صورت موثری اکسیداسیون کلسترول LDL را مهار و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرم را افزایش

[1] Genistein
[2] Caffeine
[3] Catechin

داد (Gomikawa and Ishikawa, 2002). دولو و همکاران با استفاده از عصاره چای‌سبز غنی از کاتچین‌ها و کافئین پی بردند که چای‌سبز دارای ویژگی‌های ترموژنیک است و اکسیداسیون چربی را ارتقا دهند (Dulloo *et al*., 2002). مصرف سویا به بهبود سطح چربی خون در انسان‌ها و حیوانات و کاهش چربی شریانی در حیوانات مرتبط می‌باشد، بنابراین باعث کاهش خطر توسعه آرترواسکلروزیس می‌شود (Erdman, 2000). جینکینز و همکارن پی بردند که پروتئین سویا غنی از ایزوفلاون‌ها منجر به کاهش حاسیست ذرات LDL به اکسیداسیون در افراد سالم می‌شود (Jenkins *et al*., 2003). لی گزارش کرده است که جنیستین و ایزوله‌پروتئین‌سویا بوسیله افزایش متابولیسم چربی و همچنین سیتم دفاعی آنتی‌اکسیدانی کبدی در کاهش اثر منفی دیابت میلتوس نقش دارند (Lee *et al*., 2006). در مطالعه‌ای، اثر پریبیوتیکی چای‌سبز بررسی شده است. نتایج این مطالعه نشان داده است که عصاره استخراج‌شده از چای‌سبز اثر قابل توجهی بر رشد *بیفیدوباکتر* و *لاکتوباسیلوس‌رامنوسوس* داشته است (Molan *et al*.,2009). با توجه به اطلاعات نویسنده مطالعات انجام شده در مورد تحریک انتخابی رشد باکتری های مورد نظر توسط عصاره‌های چای‌سبز و سویا محدود است. لذا با توجه به پتانسیل زیست فعال گسترده این ترکیبات، این مطالعه با هدف بررسی اثر تحریک‌انتخابی عصاره چای‌سبز و سویا بر باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس‌کازئی* و *لاکتوباسیلوس‌رامنوسوس* انجام شد. همچنین اثر کشندگی عصاره‌های مذکور علیه باکتری *اشرشیاکلای* به عنوان پاتوژن نیز مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد و میکروارگانیسم‌ها

کلیه مواد شیمیایی و محیط کشت از شرکت مرک آلمان و سیگما آلدریچ خریداری شدند. باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (PTCC:1643)، *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* (PTCC:1754)، *لاکتوباسیلوس‌کازئی* (PTCC:1608) و *لاکتوباسیلوس‌رامنوسوس* (PTCC:1637)، از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شد.

روش ارزیابی (MIC) باکتری‌های پروبیوتیک مورد بررسی

تعیین MIC[4] برای یافتن میزان حساسیت سویه‌های مورد نظر به عصاره چای‌سبز[5] و سویا[6] با روش میکرودایلوشن براث[7] در غلظت‌های (۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶، ۸، ۴، ۲، ۱، ۰/۵ و ۰/۲۵) میلی‌گرم بر میلی‌لیتر انجام شد (Alizadeh Behbahani, 2020). بدین صورت که، ابتدا در چاهک‌های ستون‌های ۱ تا ۱۱ غلظت‌های ۲۵۶ تا ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌های چای‌سبز و سویا با استفاده از محیط کشت (به عنوان رقیق‌کننده) به میزان ۵۰ میکرولیتر فراهم شد (ردیف‌های A تا D به

[4] Minimum Inhibitory Concentration
[5] Green tea
[6] soybean
[7] Micro broth dilution

چای‌سبز و ردیف‌های E تا H به سویا اختصاص داده شد). پس از فراهم شدن غلظت‌های ذکرشده، به میزان ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی رقیق‌شده به هر چاهک اضافه شد (۱۰٦ CFU/mL سلول های باکتریایی با جذب در ۶۰۰ نانومتر تخمین زده شد (Hajji, 2018). لازم به ذکر است ستون شماره ۱۲ به ستون کنترل مثبت اختصاص داده شد یعنی حاوی محیط‌کشت و باکتری بود. سپس پلیت به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از گرمخانه‌گذاری لوله‌ها را از نظر کدورت حاصل از رشد باکتری‌ها بررسی و کدورت حاصل از رشد با لوله‌های کنترل مقایسه شد. در هر سری از چاهک‌ها بالاترین رقتی از نگهدارنده (یعنی حاوی کمترین غلظت از نگهدارنده) که در آن رشد مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) محاسبه شد.

روش ارزیابی حداقل غلظت کشندگی (MBC)

از تمام چاهک‌هایی که در آنها هیچگونه رشدی مشاهده نشد روی محیط کشت تریپتون سویا آگار کشت سطحی انجام شد. پلیت‌های باکتری‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. سپس پلیت‌ها از لحاظ رشد باکتری‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. بالاترین رقت (یعنی حاوی کمترین غلظت از نگهدارنده) مربوط به اولین پلیتی که در آن رشدی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC)[8] در نظر گرفته شد.

روش ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی

تعیین MIC برای یافتن میزان حساسیت سویه مورد نظر به عصاره چای‌سبز و سویا با روش میکرودایلوشن براث در غلظت‌های (۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶، ۸، ۴، ۲، ۱، ۰/۵ و ۰/۲۵) میلی‌گرم بر میلی‌لیتر صورت گرفت. ابتدا در چاهک‌های ستون‌های ۱ تا ۱۱ غلظت‌های ۲۵۶ تا ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌های چای‌سبز و سویا با استفاده از محیط‌کشت (به عنوان رقیق‌کننده) به میزان ۵۰ میکرولیتر فراهم شد (در واقع ردیف‌های A و B به چای سبز و ردیف‌های D و E به سویا اختصاص داده شد، یعنی آزمایش برای هر عصاره با دوبار تکرار انجام شد). پس از فراهم شدن غلظت‌های ذکرشده، ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی رقیق‌شده به هر چاهک اضافه شد (مطابق روش استاندارد میکرودایلوشن براث، غلظت مناسب باکتری برای تلقیح به چاهک‌ها 10^6 cfu/ml است). لازم به ذکر است ستون شماره ۱۲ به ستون کنترل مثبت (حاوی محیط کشت و باکتری) و چاهک‌های ۱۲C و ۱۲F به چاهک‌های کنترل منفی (حاوی محیط کشت) اختصاص داده شد. سپس پلیت به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از گرمخانه‌گذاری لوله‌ها را از نظر کدورت حاصل از رشد باکتری‌ها بررسی و کدورت حاصل از رشد با لوله‌های کنترل مقایسه شد. در هر سری از چاهک‌ها بالاترین رقتی از نگهدارنده (یعنی حاوی کمترین

[8] Minimum Bacteriocidal Concentration

غلظت از نگهدارنده) که در آن رشد مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) محاسبه شد. پس از بدست آمدن میزان MIC و MBC عصاره‌ها، برای باکتری‌های پروبیوتیک، عصاره سویا در غلظت یک و دو درصد و باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به علت داشتن MIC و MBC بالاتر نسبت به بقیه باکتری‌ها جهت بررسی اثر پری‌بیوتیکی عصاره سویا انتخاب گردید. کشت خالص *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* از مجموعه کشت و نگهداری مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه و تا فاز ثابت رشد در محیط مایع MRS رشد داده شد. پس از فعال‌سازی گونه مورد نظر به تعداد 10^3 واحد کلونی به ازاء هر میلی‌لیتر به محیط کشت MRS اضافه شد و به نسبت یک و دو درصد از عصاره سویا مورد مطالعه به محیط MRS اضافه و همزمان محیط‌های MRS به عنوان کشت کنترل تهیه شد. جمعیت باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در این محیط‌ها در زمان‌های (۰، ۲۴، ۴۸ و ۷۲) ساعت مورد شمارش قرار گرفت (Khosravi-Darani *et al*., 2013).

نتایج

MIC و MBC باکتری‌های پروبیوتیک

در این پژوهش اثر بازدارندگی وکشندگی عصاره‌های چای‌سبز و سویا در غلظت‌های (۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶، ۸، ۴، ۲، ۱، ۰/۵ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، به منظور انتخاب باکتری پروبیوتیک و رقت مناسب از عصاره‌ها جهت انجام این پژوهش، مورد بررسی قرار گرفت. مطابق با نتایج بدست آمده درجدول ۱، *لاکتوباسیلوس کازئی* بیشترین حساست را به عصاره چای‌سبز داشت. در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره چای‌سبز فعالیت و رشد این باکتری متوقف و غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره چای‌سبز بر آن اثر کشندگی داشت. پس از آن باکتری لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس بود که MIC و MBC آن ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* مقاومت یکسانی در برابر عصاره چای‌سبز داشتند و MIC و MBC آن‌ها برابر با ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. بررسی MIC و MBC باکتری‌های پروبیوتیک برای عصاره سویا در جدول ۲ مشخص کرد، که *لاکتوباسیلوس کازئی* بیشترین حساست را به عصاره سویا داشت. مقدار MIC و MBC این باکتری به ترتیب ۱ و ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. پس از آن *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با MIC و MBC به ترتیب۲ و ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر دارای بیشترین حساسیت بود. همچنین میزان MIC و MBC باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* برابر با ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بالاترین MIC و MBC را داشت که برابر با ۲۵۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود که حاکی از مقاومت بالای آن در برابر عصاره سویا بود.

جدول ۱- میزان MIC و MBC باکتری‌های پروبیوتیک برای عصاره چای سبز

نوع باکتری	MIC (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره)	MBC (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره)
لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس	۱[b]	۱[b]
لاکتوباسیلوس پلانتاروم	۸[a]	۸[a]
لاکتوباسیلوس رامنوسوس	۸[a]	۸[a]
لاکتوباسیلوس کازئی	۰/۵[c]	۱[b]

جدول ۲- میزان MIC و MBC باکتری‌های پروبیوتیک برای عصاره سویا

نوع باکتری	MIC (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره)	MBC (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره)
لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس	۸[b]	۸[b]
لاکتوباسیلوس پلانتاروم	۲[c]	۴[c]
لاکتوباسیلوس رامنوسوس	۲۵۶[a]	۲۵۶[a]
لاکتوباسیلوس کازئی	۱[c]	۲[d]

بررسی MIC و MBC پاتوژن‌های شاخص گرم مثبت و گرم منفی

طبق تعریف MIC عبارت است از کمترین غلظتی از یک ترکیب که می‌تواند تا حدود ۹۰ درصد از رشد باکتری مورد نظر جلوگیری کند و MBC عبارت است از کمترین غلظتی از ترکیب مورد بررسی که می‌تواند منجر به از بین رفتن ۹۰ درصد از باکتری مورد نظر شود. در جدول ۳ اثر بازدارندگی و کشندگی عصاره‌های چای‌سبز و سویا در غلظت‌های مورد مطالعه بر برخی باکتری‌های شاخص گرم مثبت و گرم منفی نشان داده شده است. همانگونه که در جدول ۲ مشخص است عصاره سویا و چای‌سبز به ترتیب در غلظت‌های (۲، ۱، ۲، ۸) و (۴، ۲، ۴، ۱۶) میلی‌گرم توانسته‌اند از رشد پاتوژن‌های مورد مطالعه جلوگیری کنند. باکتری *استافیلوکوکوس‌اورئوس* و *سالمونلا* به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین باکتری نسبت به عصاره سویا و چای‌سبزبودند. MBC عصاره سویا بر پاتوژن‌های شاخص ۲-۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و MBC عصاره چای‌سبز ۴-۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد. با توجه به نتایج بدست آمده مشخص است که عصاره سویا نسبت به عصاره چای‌سبز تأثیر ممانعت‌کنندگی وکشندگی بیشتری علیه باکتری‌های بیماری‌زا از خود نشان داد.

جدول ۳- میزان MIC و MBC عصاره چای سبز و سویا علیه پاتوژن‌های شاخص

نوع باکتری	MIC عصاره سویا (mg/l)	MIC عصاره چای‌سبز	MBC عصاره سویا	MBC عصاره چای سبز
اشرشیاکلی	۲[b]	۴[c]	۲[c]	۸[b]
سالمونلا	۱[c]	۲[b]	۴[b]	۴[c]
لیستریا مونوسیتوژنز	۲[b]	۴[b]	۴[b]	۸[b]
استافیلوکوکوس اورئوس	۸[a]	۱۶[a]	۱۶[a]	۱۶[a]

نتایج این مطالعه نشان داد باکتری *استافیلوکوکوس‌اورئوس* و *سالمونلا* به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین باکتری ها در برابر عصاره های مورد بررسی بودند. به گونه‌ایی که حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی *استافیلوکوکوس‌اورئوس* توسط عصاره سویا و چای‌سبز به ترتیب (۸ و ۱۶) و (۱۶ و ۱۶) گزارش شد. نتایج این پژوهش بیان کننده این موضوع است که باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریامونوسیتوژنز*) نسبت به باکتری‌های گرم منفی دارای مقاومت بیشتری در برابر عصاره سویا و چای سبز بودند. تارون و پیندی (۲۰۱۳) بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره گیاه*Pimpinella tirupatiensis* با روش انتشار در دیسک نشان‌دهنده حساسیت بالاتر *اشریشیاکلی* نسبت بـه *استافیلوکوکوس‌اورئـوس* بـود و مسـاحت ناحیـه بازدارنـدگی بـرای اشریشیاکلی‌کمتر بود. عصاره‌ها و اسانس‌ها از طریق دیواره سلولی و غشا سیتوپلاسمی عبور می‌کنند و ممکن است آرایش ساختاری پلی‌ساکاریدهای مختلف، اسیدهای‌چرب و لایه‌های فسفولیپیدی را منقطع کنند (Longbottom *et al*., 2004). از آنجایی که بیشتر ترکیبات موجود در عصاره‌ها چند منظوره هستند، بنابراین پیش‌بینی چگونگی حساسیت یک میکروارگانیسم و درک این واقعیت که چگونه حساسیت از یک نژاد به نژادی دیگر متفاوت است؛ دشوار و به نحوه عملکرد عصاره‌ها، بررسی کامل جایگاه اثر، حالت عمل و تعاملات با محیط اطراف بستگی دارد (Morten *et al*., 2012). نتایج حاصل از مطالعات گذشته نشان دادند خواص ضدمیکروبی چای سبز مربوط به اپی‌کاتچین‌گالات (ECG) و اپی‌گالوکاتچین‌گالات (EGCG) است. محققان این اثرات ضدباکتریایی را به تاثیرات هم‌افزاینده پلی‌فنل‌های منومریک چای نسبت داده‌اند (Hamilton, 2001). پژوهشگران بیان نمودند که کاتچین‌های باکتریوسید به دولایه چربی نیز آسیب می‌رسانند. اگرچه، پلی‌فنل‌ها، آنتی‌اکسیدان‌های قوی هستند اما در شرایط ویژه ممکن است به عنوان پرواکسیدان عمل کنند. احتمال داده می‌شود که پلی‌فنل‌های چای از همین طریق، اثر مهاری خود را بر رشد باکتریایی اعمال کنند. در مورد آثار ضدمیکروبی انواع چای و پلی‌فنل‌های خالص آن در برابر انواع میکروب‌ها گزارش‌های متعددی منتشرشده است (Bandyopadnyay *et al*., 2005). ناتارو بیان نمود که کاتچین، اپی‌گالوکاتچین و اپی‌کاتچین گالات موجود در برگ سبزچای مانع آزادسازی وروتوکسین از اشریشیاکلای شد (Nataro, 2006). لی و همکاران هم ثابت نمودند که باکتروئیدزها در مقابل متابولیت‌های پلی‌فنلی حاصل از چای، به راحتی از بین می‌روند (Lee *et al*., 2006). ایکیگائی و همکاران نتایج مطالعه خود را بر اپی‌گالوکاتچین‌گالات (EGCG) و اپی‌کاتچین (EC) موجود در چای‌سبز را گزارش کردند. آن‌ها از *E.coli* K-12 گونه ۶G و استافیلوکوکوس‌اورئوس ATCC25932 به ترتیب به عنوان باکتری‌های گرم منفی و مثبت استفاده کردند. MIC اپی‌گالوکاتچین‌گالات برای *E. coli* و *S. aureus* به ترتیب برابر با ۵۷۳ و ۷۳ (میکروگرم در میلی‌لیتر) بود. همچنین MIC اپی‌کاتچین برای *E.coli* و *S.aureus* به ترتیب برابر با بیشتر از ۱۱۴۵ و ۱۸۳ (میکروگرم در میلی‌لیتر) بود (Ikigai *et al*., 1993). چو و همکاران گزارش کردند که غلظت ۵۰۰ میکروگرم از پلی فنول‌های چای می‌تواند از رشد *E.coli* ATCC ۲۵۹۲۲ جلوگیری کنند و غلظت‌های بیشتر مساوی از ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به عنوان باکتری‌کش در نظر گرفته شد. مکانیسم این آثار ناشی از تنظیم منفی تولید

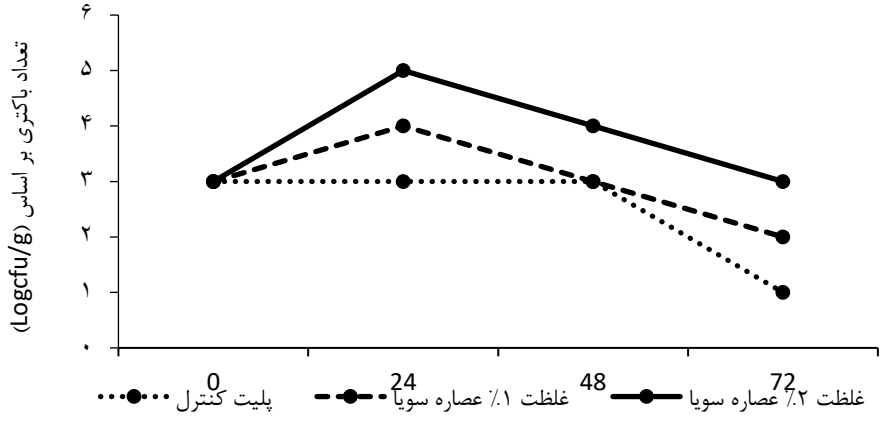
پروتئینی مانند EF-۲ (فاکتور طویل‌سازی برای ترجمه پروتئین)، پروتئین دخیل در متابولیسم انرژی و در فسفولیپید می‌باشد. پلی‌فنل‌های چای اثر باکتری‌کشی وابسته به دوزی بر اشریشیاکلای داشتند و همچنین تغییرات منحصر به فردی در اسیدهای چرب‌اشباع و غیراشباع دیواره‌سلولی کشت‌های اشریشیا کلای تیمار شده با پلی‌فنل‌های چای دیده شد (Cho *et al*., 2007). علاوه بر این، لیبانوف و همکاران پی بردند که عصاره‌های چای بر کلستریدیوم و سودوموناس و باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی مانند اروینیا اثرگذار است (Klibanov and Rublein, 2004). در تحقیقی اثر مهارکنندگی عصاره‌های اتیل‌استاتی چای‌سبز و سیاه را بر هلیکوباکترپیلوری مورد بررسی قرار گرفت. رشد این باکتری توسط عصاره چای‌سیاه و چای‌سبز به ترتیب در غلظت‌های ۳/۵ و ۲/۵ (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) مهار شد (Shoa *et al*., 2010). در مطالعه‌ای اضافه کردن عصاره محلول از چای‌سبز به محیط MRS در غلظت ۱۰ درصد باعث افزایش تعداد *لاکتوباسیلوس‌رامنوسوس* نسبت به محیط کنترل منفی شده است (Molan *et al*., 2009). اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی چای‌سبز و چای‌سیاه را بر سویه‌های سودوموناس‌آئروژینوزا حاوی بتالاکتاماز مورد ارزیابی قرار گرفت. این مطالعه نشان داد که عصاره متانولی چای‌سبز در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر سفوتاکسیم و سفتازیدیم دارای اثرات ضدباکتریایی موثرتری در برابر سودوموناس‌آئروژینوزا حاوی بتالاکتاماز بود. آن‌ها بیان کردند که رقت ۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر در هر دو عصاره چای‌سبز و سیاه بیشترین MIC را نشان داد (Hashemi *et al*., 2012). سه گروه عمده از ترکیبات زیست‌فعال در سویا وجود دارد که شامل ایزوفلاون‌ها، لیگنان‌ها و کومستان‌ها[9] می‌شوند. از میان این سه گروه، ایزوفلاون‌ها در سویا به میزان زیادی وجود دارند. درکل، ۹۳ درصد ایزوفلاون‌ها عمدتاً به شکل ایزوفلاون‌های گلیکوزیدی (شکل متصل به بتا گلیکوزید) وجود دارند که شامل دایزین[10]، جنیستین[11] و گلایسیتین[12] می‌شوند. ایزوفلاون‌های عمده بدست‌آمده از استخراج سویا معمولاً جنیستین و دیازین می‌باشند (Wang and Murphy, 1994). ایوزفلاون‌های سویا از لحاظ ساختاری مشابه استروژن هستند و می‌توانند مانند آن عمل کنند که نقش مهی را در سلامتی انسان‌ها ایفا می‌کند. بنابراین مصرف سویا، شیرسویا و سایر فراورده‌های سویا در کاهش خطر ابتلا به بسیاری از سرطان‌ها مانند سرطان‌پستان و وپروستات و بیماری‌های مزمن التهابی متعددی سودمند است (Ponnusha *et al*., 2011). فعالیت ضدمیکروبی ترکیبات جداسازی‌شده از سویا به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است. ایزوفلاون‌های سویا دارای فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند. پژوهش‌های متعددی ذکر کرده‌اند که سویا توانایی مهار رشد باکتری‌های زیادی را دارند (Villalobos Hong *et al*., 2006, *et al*., 2016, Laodheerasiri and Pathirage, 2017). درتحقیقی دیگر ویژگی ضدمیکروبی ایزوفلاون‌ها را مورد مطالعه قرار گرفت. آزمون بر روی ۱۲ باکتری گرم مثبت و منفی انجام شده بود (Dastidar *et al*.,2004).

[9] coumestans
[10] daidzin
[11] genistin
[12] glycitin

درتحقیقی ایزوفلاون‌ها را از آب‌پنیرسویا استخراج و فعالیت ضدمیکروبی آن را بوسیله روش کاغذصافی مورد آزمایش قرار گرفت. این نتایج نشان داد که ایزوفلاون‌های سویا دارای فعالیت ضدمیکروبی علیه *اشریشیا کلای*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *ساکارومایسز سرویزیه* می‌باشد اما علیه *آسپرژیلوس نایجر* فعالیت ضدمیکروبی نداشت (Lu, 2004). لائودبراسیری و پاتیراژ (۲۰۱۷) فعالیت میکروبی عصاره‌های اتانول-هگزان سویای‌خام، آردسویا و سویا بو داده شده را در برابر *اشریشیاکلای* و *استافیلوکوکوس‌اورئوس* را به روش انتشار دیسک[13] مورد ارزیابی قرار دادند. آن‌ها عصاره‌های بدست‌آمده را در غلظت‌های (۷۵، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ و ۳/۱۲۵) درصد را برای تعیین فعالیت ضدمیکروبی و حداقل غلظت مهارکنندگی مورد استفاده قرار دادند. نتایج مطالعه آنها نشان داد که عصاره آرد سویا رشد *E.coli* و *S.aureus* را به ترتیب نسبت به عصاره‌سویا بوداده و سویا خام بیشتر مهار کرد. MIC برای عصاره آردسویا، سویا بوداده و سویا خام به ترتیب برابر با ۶/۲۵ درصد (۰/۰۳۱mg/ml)، ۲۵ درصد (۰/۱۲۵ mg/ml) و ۵۰ درصد (۰/۲۵۰mg/ml) بدست آمد. هر سه عصاره، رشد این دو باکتری را مهار کردند (Shori and Baba, 2011).

بررسی اثر پری‌بیوتیکی عصاره سویا بر لاکتوباسیلوس رامنوسوس

پس از بدست آمدن میزان MIC و MBC عصاره‌ها، باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس به علت داشتن MIC و MBC بالاتر نسبت به سایر باکتری‌ها (۲۵۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) جهت بررسی اثر پری‌بیوتیکی عصاره سویا (۱ و ۲ درصد) و در محیط کشت MRS با جمعیت اولیه 10^3 انتخاب شد. جمعیت باکتریایی در ساعت صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بررسی شد و نتایج زیر بدست آمد.



شکل ۱- اثر غلظت ۱ و ۲ درصد عصاره سویا بر شمارش باکتریایی لاکتوباسیلوس‌رامنوسوس در ساعت‌های مختلف (برحسب log/CFU)

[13] disk diffusion method

نتایج بدست آمده نشان داد که در ساعت ۲۴ عصاره سویا ۲ درصد سبب افزایش بیشتر جمعیت باکتری (log/CFU ۱۰۵) نسبت به عصاره سویا ۱ درصد (log/CFU ۱۰۴) شد. در ساعت ۴۸، در جمعیت باکتریایی نمونه عصاره ۱ درصد نسبت به پلیت کنترل افزایش جمعیتی مشاهده نشد (log/CFU۱۰۳) اما همچنان برای عصاره ۲ درصد سویا افزایش جمعیت نسبت به نمونه کنترل وجود داشت (log/CFU۱۰۴). لازم به ذکر است که جمعیت در نمونه‌های عصاره ۱ و ۲ درصد سویا در ساعت ۴۸، نسبت به ساعت ۲۴ کاهش یافته بود. در ساعت ۷۲، جمعیت پلیت کنترل به میزان ۲ لگاریتم کاهش یافته بود. این روند کاهشی برای نمونه عصاره ۱ درصد نیز نسبت به ساعت صفر (log/CFU ۱۰۳) برابر با یک واحد لگاریتمی کاهش در جمعیت نمونه (log/CFU ۱۰۲) بود. جمعیت نمونه عصاره ۲ درصد سویا با جمعیت اولیه برابر بود اما نسبت به ساعت ۲۴ و ۴۸. روند کاهش در جمعیت ثابت بود. همانطور که مشاهده می‌شود کمترین جمعیت در پلیت کنترل و بیشترین جمعیت در محیط دارای عصاره ۲ درصد سویا مشاهده می‌شود.فعالیت ضدمیکروبی عصاره متانولی سویا در برابر *باسیلوس‌سوبتیلیس* و *سودوموناس‌آئروژینوزا* به روش انتشاردیسک مورد آزمایش قرار گرفته است. عصاره متانولی سویا فعالیت مهارکنندگی بیشتری در برابر *سودوموناس* نشان داد و مهار رشد در مورد *باسیلوس‌سوبتیلیس* کمتر بود (Ponnusha *et al*., 2011). نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که در ساعت ۲۴، هر دو رقت عصاره مورد مطالعه سبب افزایش جمعیت باکتری شد که نشان‌دهنده اثر مثبت عصاره بر رشد باکتری و فعالیت پری‌بیوتیکی دو نمونه در رقت‌های مختلف شد. نتایج بدست آمده نشان داد که در ساعت ۲۴ عصاره سویا ۲ درصد سبب افزایش بیشتر جمعیت باکتری (log/CFU ۱۰۵) نسبت به عصاره سویا ۱ درصد (log/CFU ۱۰۴) شد. لذا به نظر می‌رسد که باکتری *لاکتوباسیلوس‌رامنوسوس* ترکیبات پری‌بیوتیکی را مورد مصرف قرار داده و با تبدیل آنها به ترکیبات مورد نیاز برای رشد باکتری، سبب افزایش رشد آن شده است (Isleten and Yuceer,2006, Shori and Baba, 2011). مشاهده شده است که اولیگوساکاریدهای رافینوز، لاکتوز، تره‌هالوز و اینولین به عنوان منابع کربنی مختلف و ریبوفلاوین به عنوان منبع ویتامینی می‌توانند نقش پری‌بیوتیکی داشته باشند و فعالیت ضدمیکروبی را علیه پروتئوس‌میرابیلیس افزایش داده که این خاصیت را با تحریک رشد و افزایش فعالیت پروبیوتیک‌ها انجام می‌دهند (Hillestand, 2007). همچنین در بررسی که توسط همیلتون و میلر در سال ۲۰۰۴ انجام شده بود نیز مشاهده شد که اینولین به عنوان یک عامل پری‌بیوتیکی می‌تواند باعث تقویت رشد انتخابی پروبیوتیک‌ها شود (Goodarzi *et al*., 2015). در تحقیقات مختلف مشخص شده است که ترکیبات پری‌بیوتیکی می‌توانند با تقویت رشد پروبیوتیک‌ها و افزایش تولید ترکیبات ضدمیکروبی مانند استیک، لاکتیک و بنزوئیک‌اسید و انواع مختلف ترکیبات باکتریوسین خاصیت ضدمیکروبی را افزایش دهند (Tungland, 2000). با توجه به نتایج، در ساعت ۴۸ و ۷۲، در جمعیت باکتریایی نمونه عصاره ۱ درصد و نمونه عصاره ۲ درصد سویا کاهش جمعیت مشاهده شد. لازم به ذکر است که جمعیت در نمونه‌های عصاره ۱ و ۲ درصد سویا در ساعت ۴۸، نسبت به ساعت ۲۴ و در ساعت ۷۲ نسبت به ساعت ساعت ۴۸ کاهش یافته بود. که علت آن می‌تواند کاهش میزان مواد مغذی مورد نیاز در محیط کشت، کاهش ترکیبات

پری‌بیوتیکی موجود در محیط، تولید ترکیبات ثانویه توسط باکتری که منجر به کاهش رشد باکتری می‌شوند، همچنین تغییر و نامساعد شرایط محیطی کشت در اثر تولید متابولیت‌های ثانویه باشد. اکبری الاویجه و همکاران در مطالعه خود ویژگی پری‌بیوتیکی عصاره ۲ درصد پلی‌ساکاریدهای محلول در آب پوسته پسته (PHP) را بر روی رشد و تکثیر باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* زیر گونه *پلانتاروم* PTCC ۱۸۹۶ و *لاکتوباسیلوس‌رامنوسوس* GG طی ۷۲ ساعت، مورد ارزیابی قرار دادند. همچنین از اینولین ۲ درصد و محیط کشت MRS به ترتیب به عنوان کنترل مثبت و منفی استفاده کردند. نتایج آنها نشان داد که اینولین و PHP سبب تحریک رشد بیشتر پروبیوتیک‌ها شدند. در نمونه کنترل تعداد کلی باکتری‌ها برای هر دو پروبیوتیک کاهش یافت. همچنین در روز اول به علت تخمیر سریع قندها و ترکیبات مغذی موجود در عصاره پلی‌ساکاریدی افزایش رشد زیادی در نمونه PHP مشاهده نمودند و پس از گذشت ۷۲ ساعت به علت کاهش شدید در ترکیات مغذی دردسترس پروبیوتیک‌ها، جمعیت آنها کاهش چشمگیری داشت (Akbari-Alavijeh, S., 2018). علاوه بر این، مصرف سریع قندهای ساده از جمله گلوکز توسط پروبیوتیک‌ها سبب کاهش pH می‌شود که منجر به نامساعدکردن شرایط برای باکتری می‌شود (Wang *et al*., 2017). در مطالعه لوپز مولینا و همکاران (۲۰۰۵)، ترکیبی مشابه اینولین از آرتیشو استخراج‌شده و اثر آن بر رشد بیفیدوباکتریوم‌بیفیدوم بررسی شده است (Lopez *et al*., 2005). اثرات بیفیدروژنیک اینولین در بسیاری از مطالعات بررسی و اثبات شده است. اضافه کردن اینولین استخراج‌شده از آرتیشو و کنترل مثبت به محیط کشت بوسیله میکروفلور کلون تخمیرشده و سرعت تخمیر هر دو سوبسترا مشابه بوده است. رشد باکتریایی در حضور کنترل مثبت و اینولین استخراج‌شده از آرتیشو آهسته‌تر ولی طولانی‌تر از رشد در حضور گلوکز بوده است. برای بررسی قابل تخمیر بودن اینولین بوسیله باکتری‌های کلون انسانی، بیفیدوباکتریا جدا شده از کلون به محیط کشت حاوی اینولین اضافه‌شده و رفتار رشد آن در مقایسه با محیط حاوی گلوکز و محیط کنترل منفی مقایسه شده است. نتایج مطالعه نشان داده است که رفتار رشد بیفیدوباکتریوم در محیط اینولین استخراج‌شده از آرتیشو مشابه کنترل مثبت بوده است. اضافه کردن اینولین استخراج‌شده از آرتیشو و کنترل مثبت اثرات بیفیدوژنیک در زمان طولانی‌تر داشته است. در این مطالعه منحنی رشد طی ۴ روز بررسی شده است. برای محیط حاوی گلوکز تا ۲ روز افزایش پس از روز دوم کاهش در جمعیت، برای اینولین تا روز دوم افزایشی، روز سوم کاهش، مجدداً روز چهارم افزایش و برای کنترل مثبت تا روز دوم افزایش و پس از دو روز کاهش مشاهده شده است (Lopez *et al*., 2005). همچنین تدینی و همکاران در بررسی اثر پری‌بیوتیکی پلی‌ساکارید خام محلول در آب بلوط نیز نتایج مشابهی را گزارش نمودند. آن‌ها نسبت به نمونه کنترل مثبت خود رشد قابل توجهی را در باکتری باکتوباسیلوس‌پلانتاروم مشاهده نمودند (Tadayoni *et al*,. 2014). در مطالعه‌ای عصاره آبی ته‌نشین‌شده با متانول ۵۳ گونه قارچ وحشی را بر میزان تحریک رشد *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس‌رامنوسوس* طی ۷۲ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این عصاره‌ها نسبت به پری‌بیوتیک‌های رایج صنتعی مانند اینولین اثر بسیار بیشتری بر تحریک رشد پروبیوتیک‌ها داشتند. به گونه‌ای که در ساعت ۴۸ حداکثر رشد

لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس رامنوسوس مشاهده شد. از میان ۵۳ گونه قارچ مورد مطالعه، عصاره ۱۱ گونه قارچی بر تحریک رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* مؤثر نبودند (Nowak *et al.*, 2018). دانتس دوارتو همکاران پتانسیل ویژگی‌های پری‌بیوتیکی ضایعات صنعتی-کشاورزی بادام‌هندی را بر جنس‌های لاکتوباسیلوس را مورد ارزیابی قرار دادند. آن‌ها اثرات پری‌بیوتیکی پودر ضایعات صنعتی-کشاورزی بادام هندی (۲۰ یا ۳۰ گرم بر لیتر) را بر گونه‌های مختلف *لاکتوباسیلوس (لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس پاراکازئی)* در طی ۴۸ ساعت بررسی نمودند. نتایج آنها نشان داد که در طی ۴۸ ساعت کشت، تعداد سلول‌های زنده مشابهی برای رشد گونه‌های *لاکتوباسیلوس* در محیط مورد آزمایش متفاوت مشاهده شد. این پری‌بیوتیک بر رشد تمام گونه‌های *لاکتوباسیلوس* دارای اثر مثبت بود که نشان دهنده اثر پری‌بیوتیکی آن بر ارگانیسم‌های مورد آزمایش بود (Duarte *et al.*, 2017).اثر درصد چربی و ترکیب پری‌بیوتیک (اینولین و فیبر گندم) بر میزان پروتئولیز، مهار آنزیم مبدل آنژیوتانسینوژن[14] و خاصیت آنتی‌اکسیدانی ماست حاوی پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* را بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میزان پروتئولیز، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و بازدارندگی آنزیم مبدل آنژیوتانسینوژن طی ۲۱ روز نگهداری در دمای ۵ درجه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج پژوهش نشان داد که زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* در نمونه‌های تیمارشده با اینولین و فیبرگندم نسبت به نمونه شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت اما درصد چربی در بقای باکتری پروبیوتیک معنی دار نبود. همچنین تأثیر ترکیبات پری‌بیوتیک و حضور باکتری پروبیوتیک بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها معنی‌دار گزارش شد (Hbibinajafi *et al.*, 2019). RahmatiZadeh *et al* (2009) اثر عصاره سویا بر افزایش رشد باکتری‌های پروبیوتیک در شیر و ماست پروبیوتیک را مورد ارزیابی قرار دادند. آن‌ها پی بردند که عصاره سویا بر سرعت رشد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم* تأثیر مثبت داشت و اسید محصولات با افزایش غلظت سویا افزایش یافت. سرعت پیشرفت اسیدیته در ماست *لاکتوباسیلوس* سریع‌تر ولی مدت زمان ماندگاری آن کوتاه بود. ماست لاکتوباسیلوس ترش‌تر و حاوی باکتری بیشتری نسبت به ماست بیفیدوس بود (Marhamatizadeh *et al.*, 2009). Noori *et al* (2017) اثر نانوکپسولاسیون عصاره چای‌سبز را بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس* دربستنی سیمبیوتیک را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از مطالعه آنها نشان داد که افزودن یک درصد عصاره چای‌سبز نانولیپوزومی در محیط‌کشت، رشد این دو باکتری را به طور معنی‌داری افزایش داد. در بین گروه‌های مطالعه، کمترین کاهش در میانگین لگاریتم تعداد *لاکتوباسیلوس کازئی* در طول مدت زمان نگهداری در بستنی‌های حاوی ۱ درصد عصاره چای‌سبز نانولیپوزومی معادل log ۱/۵۹ و بیشترین کاهش در بستنی‌های گروه کنترل برابر با log ۴/۱۶ مشاهده شده بود. این میزان برای *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به ترتیب log ۰/۸۴ و ۴/۴ بود. نتایج این مطالعه نشان داد که نانوکپسولاسیون عصاره چای‌سبز را می‌توان برای افزایش بقای پروبیوتیک‌ها در طی فرایند

[14] Angiotensin-converting enzyme

تولید و نگهداری مواد غذایی استفاده کرد (Noori *et al*., 2017). Kafi *et al* (2011) اثر مهارکنندگی عصاره برگ سبزچای را بر رشد باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* PTCC ۱۵۵۸ را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها عصاره ۶ رقم از چای‌سبز را در ۶ غلظت مختلف به روش آزمون آنتی‌بیوگرام با دیسک بر این باکتری بررسی کردند. آزمون سه بار در روزهای مختلف انجام و میانگین قطر هاله‌های کلونی محاسبه شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که عصاره‌ها دارای اثر ضدباکتریایی هستند. همچنین اعلام کردند که رقت ۶/۲۵ عصاره‌های برگ سبزچای بهترین اثر مهاری را بر رشد باکتری دارد. یافته‌های آنها نشان داد که مصرف چای سبز می‌تواند به عنوان درمان کمکی در بیماران تحت درمان با آنتی‌بیوتیک مطرح باشد (Kafi *et al*., 2011).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره چای‌سبز و سویا دارای آثار مهارکنندگی و کشندگی خوبی در برابر باکتری اشریشیاکلای هستند. همچنین عصاره سویا در رقت ۲ درصد در ۲۴ ساعت دارای آثار پری‌بیوتیکی مناسبی بر باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بود. بر این مبنی می‌توان از این عصاره‌ها در تهیه فرمولاسیون‌های جدید مواد غذایی در جهت ارتقای سلامت عمومی و بهره جستن از پری بیوتیک‌ها به همراه پروبیوتیک‌ها، همچنین در جهت کنترل باکتری‌های پاتوژن در مواد غذایی بهره برد.

منابع

Akbari-Alavijeh, S., Soleimanian-Zad, S., Sheikh-Zeinoddin, M., Hashmi, S. (2018). Pistachio hull water-soluble polysaccharides as a novel prebiotic agent. Int J Biol Macromol. 107(Pt A):808-816.

Al-Sheraji, S.H., Ismail, A., Monap, M.Y., Mustafa, SH., Yusof, R.M., Hassan, F.A. (2013). *Prebiotics* as functional foods: A review. J Func Food. 5(4): 1542-1553.

Bandyopadnyay, D.C., T.K.; Dasgupta, A.; Lourduraja, J.; Dastidar, S.G.(2005). In vitro and In vivo antimicrobial action of tea: The commonest beverage of Asia. Biol Pharm Bull. 2125-2127.

Cabrera, C., Artacho, R., Giménez, R. Beneficial Effects of Green Tea: A Review.(2006). J AM COLL NUTR. 25(2): 79-99.

Cho, Y.S., Schiller, NL., Kahng, HY., Oh. KH. (2007). Cellular Responses and Proteomic Analysis of Escherichia coli Exposed to Green Tea Polyphenols. J Curr Microbiol. 55(6): 501-506.

Dastidar, S.G., Manna, A., Kumar, KA., Mazumdar, K., Dutta, NK., Chakrabarty, AN., Motohashi, N., Shirataki, Y.(2004). Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones. Int J Antimicrob Agents. 23(1): 99-102.

DD, K.(1994). Bioactive substances in food: identification and potential uses. J Physiol Pharmacol. 72: 423–424.

Duarte, F.N.D., Rodrigues, J.B., da Costa Lima, M., Lima ,M.D.S., Pacheco, M.T.B., Pintado, M.M.E., de Souza Aquino, J., de Souza, E.L.(2017). Potential prebiotic properties of cashew apple (Anacardium occidentale L.) agro-industrial byproduct on Lactobacillus species. J Sci Food Agric. 97(11): 3712-3719.

Dulloo, A.G., Seydoux, J., Girardier, L., Chantre, P., Vandermander, J. (2000). Green tea and thermogenesis: interactions between catechin-polyphenols, caffeine and sympathetic activity. Int J Obes Relat Metab Disord. 24(2):252-258.

Erdman, J.W. (2000). Soy protein and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the nutrition committee of the AHA. Circulation. 102(20): 2555-2559.

Galanakis, C.M. (2017). Nutraceutical and Functional Food Components (Chapter1: Introduction*)*. Academic Press: 1-14.

Gomikawa, S., Ishikawa, Y. (2002). Effects of catechins and ground green tea drinking on the susceptibility of plasma and LDL to the oxidation in vitro and ex vivo. J CLIN BIOCHEM NUTR. 32: 55-68.

Goudarzi, L., Kasra Kermanshahi, R. (2013). The Effect of Prebiotics on Production of Antimicrobial Compounds from Lactobacillus spp. Against Proteus mirabilis (ATCC 7002 and PTCC 1076). Ifstrj. 11 (4). 41-47.

Grootaert, C., Delcour, J. A., Courtin, C. M., Broekaert, W. F., Verstraete, W., Wiele, T. V. (2007*).* Microbial metabolism and prebiotic potency of arabinoxylan oligosaccharides in the human intestine. Trends Food Sci Tech. 18: 64-71.

Habibi Najafi, MB., Fatemizadeh, S., Tavakoli Fadihehe, M. (2016). Investigating the effect of fat percentage and prebiotic composition on the amount of proteolysis, A CE-inhibitory and antioxidant properties of probiotic yogurt. Journal of Applied Microbiology in Food Industry. 3(1), 16-29.

Hajji M, Hamdi M, Sellimi S, et al (2019) Structural characterization, antioxidant and antibacterial activities of a novel polysaccharide from Periploca laevigata root barks. Carbohydrate Polymers 206:380–388. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.020

Hamilton, J.M.T. (2001). Anticarciogenic properties of tea (Camellia sinensis). J. Med. Microbiol. 299-302.

Hasani, s., , Kasra, Hamdi., Orduzadeh, Negar., Qaemi, A., Mohammadi, Eisa. (2009). Inhibitory effect of green and black tea ethyl acetate extracts on Helicobacter pylori causing gastric ulcers. Sci J Qazvin U of Med Sci. 13 (4): 12-18.

Hashemi, A ., Shams, S ., Kalantar, D., Taherpour, A., Barati, M. (2012). Antibacterial effect of Methanolic extract of *Camellia Sinensis* L.on Pseudomonas aeruginosa strains producing β-lactamases. J Gorgan Univ Med Sci. 14(1): 136-42.

Hillestand, K. (2007) Pet food additives: Prebiotics, Probiotics, Kelp and Yeast. Ped Education. Com.

Hong, H., Landauer, M.R., Foriska, M.A., Ledney, G.D. (2006). Antibacterial activity of the soy isoflavone genistein. J Basic Microbiol. 46(4): 329-335.

Ikigai, H., Nakae, T., Hara, Y., Shimamura, T.(1993). Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. Biochim Biophys Acta. 1147(1): 132-136.

Isleten, M., Karagul -Yuceer, Y. (2006*).* Effects of Dried Dairy Ingredients on Physical and Sensory Properties of Nonfat Yogurt. J Dairy Sci. 89(8): 2865-2872.

Jenkins, D.J., Kendall, CW., DCosta, M.A., Jackson, C.J., Vidgen ,E., Singer ,W., Silverman, JA., Koumbridis, G., Honey, J., Rao, A.V,, Fleshner, N., Klotz, L. (2003). Soy consumption and phytoestrogens: effect on serum prostate specific antigen when blood lipids and oxidized low-density lipoprotein are reduced in hyperlipidemic men. J Urol. 169(2): 507-511.

Khosravi-Darani, K., Khaksar, R., Esmaeili, S., Seyed-Reihani, F., Zoghi, A., Shahbazizadeh, S. (2013). Antifungal and Anti-bacterial Synergistic Effects of Mixture of Honey and Herbal Extracts. Zahedan J Res Med Sci. 15(8): 30-33.

Klibanov, O.M., Raasch, RH., Rublein, J.C. (2004). Single versus combined antibiotic therapy for gram negative infections. Ann Pharmacother. 8(2): 332-337.

Kudou, S., Fleury,Y., Welti ,D., Mangolato ,D., Uchida ,T., Kitamura ,K., Okubo,K.(1991). Malonyl Isoflavone Glycosides in Soybean Seeds (Glycine max Merrill). J Agricult Food Chem. 55(9): 2227-2233.

Laodheerasiri, S., Horana Pathirage, N.(2017). Antimicrobial activity of raw soybean, soybean flour and roasted soybean extracted by ethanol-hexane method.BRIT Food J.119 (10): 2277-2286.

Lee, H.C., Jenner, A.M., Low, CS., Lee, YK.(2006). Effect of tea phonetics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota. Res Microbiol.157(9):876-884.

Lee, J.S. (2006). Effects of soy protein and genistein on blood glucose, antioxidant enzyme activities, and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats. Life Sci. 79(16): 1578-1584.

Longbottom, C.J., Carson, C.F., Hammer, K.A., Mee, B.J., Riley, T.V. (2004). Tolerance of Pseudomonas aeruginosa toMelaleuca alternifolia (Tea tree) oil. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 54(2): 386-392.

Lopez-Molina, D., Navarro-Martínez, M.D., Rojas Melgarejo, F., Hiner, A.N., Chazarra, S., Rodríguez-López, JN.(2005). Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (Cynara scolymus L.).J Phytochemistry.66(12): 1476-1484.

Lu, J.L.Z.Y. (2004).study on antimicrobial activity of soybean isoflavones. Natural Sci J Har Normal Univ. 1:22.

Marhamati Zadeh, MH., Rifatjo, R., Farrokhi, A., Karmand, M., Rezazade, S. (2009). Studying the effect of soy extract on increasing the growth of probiotic bacteria Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum in milk and probiotic yogurt. The 16th Iranian Veterinary Congress. 23-28.

Mohd Nor, N.N., Abbasiliasi ,S., Marikkar ,M.N, Ariff, A., Amid, M., Lamasudin, D.U., Abdul Manap ,MY., Mustafa, S. (2017). Defatted coconut residue crude polysaccharides as potential prebiotics: study of their effects on proliferation and acidifying activity of probiotics in vitro. J Food Sci Technol. 54(1): 164-173.

Molan, A.L., Flanagan, J., Wei, W.P., Moughan, J. (2009). Selenium-containing green tea has higher antioxidant and prebiotic activities than regular green tea. Food Chem. 114(3):829–835.

Morten, H., Tina, M., Rikke, L.M. (2012.) Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. Frontiers in Microbiology. Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy; 3:1-24.

Nataro, J.P. (2006). Atypical enter pathogenic Escherichia coli: typical pathogens. Infect Dis. 60-69.

Naya, M., Masanao,I. (2013). Recent Advances on Soybean Isoflavone Extraction and Enzymatic Modification of Soybean Oil.Chapter 19: INTECH Open Access Publisher.429-452.

Noori, N., Noudoost, B., Gandomi Nasrabadi, H., Akhondzadeh Basti, A. (2017). Effects of green tea extract nanoencapsulation on the survival of Lactobacillus Casei and Bifidobacterium lactis in symbiotic ice cream. J Vet Res 2: 195-205.

Noormandi, A., Dabaghzadeh, F. (2015). Effects of green tea on Escherichia coli as a uropathogen. J Tradit Complement Med. 5(1): 15-20.

Nowak, R., Nowacka-Jechalke, N., Juda, M., Malm, A. (2018). The preliminary study of prebiotic potential of Polish wild mushroom polysaccharides: the stimulation effect on Lactobacillus strains growth. Eur J Nutr. 57(4): 1511-1521.

Ponnusha, B.S., Subramaniyam, S., Pasupathi, P.(2011). Antioxidant and antimicrobial properties of Glycine max-A review. Int J Cur Bio Med Sc. 1(2): 49-62.

Razeghi,S., Arefhosseini, S.R., Ebrahimi Mameghani, M., Togha, M., Roshangar,L., Tarihi,T.(2009). Prevention of animal model of multiples sclerosis by oral genistein, extracted from soy bean. Iran. J. Neurol.8: 505-17.

Saad, N., Delatte, C., Urdaci, M., Bressollier, P. (2013). An overview of last advances in probiotic and prebiotic field. LWT- Food Sci Technol. 50: 1- 16.

Shori, A.B., Baba, A.S.(2011). Cinnamomum verum improved the functional properties of bioyogurts made from camel and cow milks. J Saudi Society Agric Sci. 10(2): 101-107.

Sorourian, R., Khajehrahomi, AE., Tadayonia, M., Azizi, MH., Hojjati, M. Structural characterization and cytotoxic , ACE - inhibitory and antioxidant activities of polysaccharide from Bitter vetch (Vicia ervilia) seeds, J of Food Measurement and Characterization. (2022) 1–17.

Sorourian, R., Khajehrahomi, AE., Tadayonia, M., Azizi, MH., Hojjati, M. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from Typha domingensis: Structural characterization and functional properties. International Journal of Biological Macromolecules 160:758–768.

Tadayonia, M., Sheikh-Zeinoddinb, M., Soleimanian-Zadc, Sabihe. (2013). Isolation of polysaccharides from date kernel and investigation of some of its beneficial properties. IFT. 72: 179-184.

Tungland, B.(2000). *Inulin-A comprehensive scientific review.* Duncan Crow Wholistic Consultan. 1-83.

Vasiee, A., Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Mortazavi, SA., and Noorbakhsh, H. (2018). Diversity and probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from horreh, a traditional Iranian fermented food. J Probiotics and antimicrobial proteins. 10: 258-268.

Villalobos, M.d.C., Serradilla, M.J., Martín ,A., Ordiales, E., Ruiz-Moyano, S., Córdoba Mde, G. (2016). Antioxidant and antimicrobial activity of natural phenolic extract from defatted soybean flour by-product for stone fruit postharvest application. J Sci Food Agric.96(6): 2116-2124.

Wang, H., Murphy, P.A.(1994). Isoflavone Content in Commercial Soybean Foods. J Agric Food Chem. 42(8): 1666-1673.

Wang, M., Zhu, P., Zhao, S., Nie, C., Wang ,N., Du, X., Zhou, Y. (2017). Characterization, antioxidant activity and immune modulatory activity of polysaccharides from the swollen culms of Zizania latifolia. Int J Biol Macromol . 95: 809-817.

Wang, X., Huang, M., Yang, F., Sun, H., Zhou, X., Guo, Y., Wang ,X., Zhang, M.(2015). Rapeseed polysaccharides as prebiotics on growth and acidifying activity of probiotics in vitro. Carbohydr Polym.125: 232-240.

Zhang, M., Binns, C.W., Lee, A.H.(2002). Tea Consumption and Ovarian Cancer Risk. A Case-Control Study in China. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 11(8): 713-718.