

LADY



دانشکده کشاورزی

گروه علوم و صنایع غذایی

جداسازی سویه های اسید لاکتیک با توانایی تولید باکتریوسین از پنیر کوزه منطقه آذربایجان غربی

نگارش:

مهسا یوسفی

اساتید راهنما:

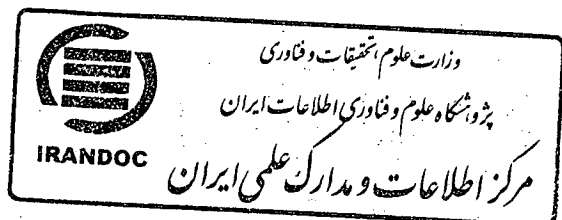
دکتر محمود رضا زاد باری

دکتر محمد علیزاده

۱۳۸۹/۱۰/۱۱

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

۱۳۸۹



۱۴۸۹۳۶

پایان نامه
مؤلف: ^{مؤلف} تاریخ ۸۹، ۶، ۲۱ شماره ۳-۲۷۲ مورد پذیرش هیات محترم
داوران با رتبه ۱ و نمره ۱۹ اقرار گرفت.

1- استاد راهنما و رئیس هیات داوران :
محمد رضا زارعی
شیر علیزاده

2- استاد مشاور :

3- داور خارجی : گسری محمدی

4- داور داخلی : زینب بیگلری

5- نماینده تحصیلات تکمیلی : برنوسی

تقدیم به

پدر و مادرم

که مویشان سپید گشت تا رویم سپید بماند

و تقدیم به

همسرم

که تمام حیات در دریای بی انتهای عشق او موج

می زند برایم

تقدیر و تشکر

خدا را سپاس می گویم که توفیق به پایان رساندن این تحقیق را به من اعطا فرمود. همچنین بر خود لازم می دانم از افرادی که در انجام این پژوهش، سهم بوده اند تشکر و قدر دانی نمایم.

نخست از اساتید راهنمای بزرگوایم آقایان دکتر محمود رضازاد باری و دکتر محمد علیزاده خالد آباد که در تمامی مراحل پایان نامه مرا با صبر و حوصله و درایت خویش راهنمایی نمودند، تشکر و قدر دانی می نمایم.

از مدیریت محترم پژوهشکده علوم و فناوری زیستی و مسئولین محترم این پژوهشکده که در طی مدت تحقیق مرا یاری نمودند تشکر می نمایم.

از دوستان بسیار عزیزم خانمها مریم روحی، راضیه پاک و بقیه دوستانی که در تمام مراحل سخت انجام این پروژه، همراه من بوده اند کمال تشکر و قدر دانی را دارم.

بجاست از اعضای هیات علمی گروه علوم و صنایع غذایی، آقایان دکتر محسن اسمعیلی، دکتر خسروشاهی، دکتر پیروزی فرد و خانم دکتر زینالی تشکر کنم و مراتب سپاس و قدر دانی خود را ابراز دارم.

خدای را بسی شاکرم که از روی کرم، پدر و مادری فداکار نصیب ساخته تا در سایه درخت پر بار وجودشان بیاسایم و از ریشه آنها شاخ و برگ گیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم. آموزگارانی که زندگی و انسان بودن را برایم معنا کردند پس دستان پر مهرشان را می بوسم و خود را تا ابد مدیون محبت های بی دریغشان می دانم.

از برادر و خواهران عزیزم نیز به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان که در سردترین روزگار، بهترین پشتیبان من بوده اند نهایت تشکر را دارم.

در پایان از همسرم به پاس قلب بزرگ و بی آلایشش و حضورش به عنوان یک تکیه گاه قدرتمند در طی مدت تحقیق و همچنین در طول مسیر زندگی بی نهایت سپاسگزارم.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
VII	فهرست جداول
VIII	فهرست شکل ها
X	چکیده
۱	فصل اول: مقدمه
۳	فصل دوم: مرور منابع
۴	۱-۲- باکتریهای اسید لاکتیک و استفاده از آنها در مواد غذایی
۷	۱-۱-۲- عملکرد کشت های استارتر
۷	۱-۱-۱-۲- تولید اسید لاکتیک
۹	۱-۱-۲-۲- تولید اتیل الکل
۱۱	۱-۱-۲-۳- پروتئولیز
۱۱	۱-۱-۲-۴- لیپولیز
۱۲	۱-۱-۲-۵- ایجاد طعم و آروما در مواد غذایی
۱۳	۱-۱-۲-۶- جلوگیری از رشد پاتوژن ها و برخی باکتریهای مضر

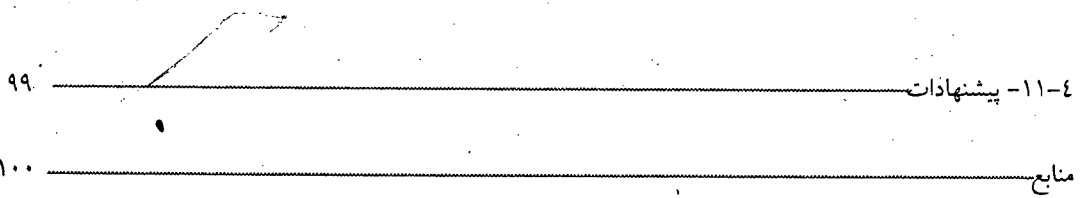
۱۴	۷-۱-۱-۲- تولید اگزوپلی ساکاریدها
۱۴	۲-۱-۲- کشت های استارتر مورد استفاده در محصولات لبنی
۱۷	۱-۲-۱-۲- تخمیر اسید لاکتیک
۱۷	۲-۲-۱-۲- تخمیر اسید پروپیونیک
۱۸	۳-۲-۱-۲- تخمیر اسید سیتریک
۱۸	۴-۲-۱-۲- تخمیر الکلی
۱۸	۵-۲-۱-۲- تخمیر اسید بوتیریک
۱۸	۶-۲-۱-۲- تخمیر کلی فرم
۱۹	۳-۱-۲- کشت های استارتر پروبیوتیک
۱۹	۱-۳-۱-۲- پروبیوتیک ها
۲۰	۲-۳-۱-۲- پری بیوتیک ها
۲۱	۳-۳-۱-۲- عملکرد پروبیوتیک ها
۲۲	۲-۲- باکتریهای اسید لاکتیک
۲۳	۱-۲-۲- خصوصیات کلی باکتریهای اسید لاکتیک
۲۴	۲-۲-۲- طبقه بندی و شناسایی باکتریهای اسید لاکتیک
۳۲	۳-۲- محصولات متابولیکی باکتریهای اسید لاکتیک و تاثیرات ضد میکروبی آنها
۳۲	۱-۳-۲- اثر آنتاگونیستی

۳۳	۲-۳-۲- اسید های آلی
۳۵	۳-۳-۲- پراکسید هیدروژن
۳۵	۴-۳-۲- دی اکسید کربن
۳۵	۵-۳-۲- دی استیل
۳۶	۶-۳-۲- باکتریوسین ها
۳۹	۴-۲- طبقه بندی باکتریوسین ها
۴۰	۱-۴-۲- باکتریوسین های گروه I (لنتی بیوتیک ها)
۴۲	۲-۴-۲- باکتریوسین های گروه II
۴۷	۳-۴-۲- باکتریوسین های گروه III
۴۷	۴-۴-۲- باکتریوسین های گروه IV
۴۸	۵-۲- دامنه فعالیت باکتریوسین های گروه I و گروه IIa
۵۰	۶-۲- بیوسنتز باکتریوسین ها و مکانیسم اثر آنها
۵۰	۱-۶-۲- بیوسنتز باکتریوسین ها
۵۰	۲-۶-۲- مکانیسم تاثیر باکتریوسین ها
۵۲	۷-۲- فاکتورهای موثر در تولید باکتریوسین ها و فعالیت آنها
۵۲	۱-۷-۲- سویه های تولید کننده باکتریوسین
۵۳	۲-۷-۲- مواد مغذی موجود در محیط

۵۳	۳-۷-۲- تاثیر شرایط تخمیر
۵۳	۸-۲- استفاده از باکتریوسین ها در صنایع غذایی
۵۵	۱-۸-۲- باکتریوسین های موجود در محصولات لبنی
۵۵	۲-۸-۲- موانع موجود در استفاده از باکتریوسین ها
۵۶	۹-۲- شناسایی فعالیت ضد میکروبی باکتریهای اسید لاکتیک
۵۷	۱-۹-۲- شناسایی پروتئین های بازدارنده
۵۹	۱۰-۲- اهداف تحقیق
۶۰	۱۱-۲- محتوی تحقیق
۶۱	فصل سوم: مواد و روش ها
۶۱	۱-۳- مواد
۶۱	۱-۱-۳- نمونه ها
۶۱	۲-۱-۳- سویه های حساس (اندیکاتور)
۶۲	۳-۱-۳- محیط کشت
۶۴	۴-۱-۳- وسایل آزمایشگاهی
۶۴	۵-۱-۳- شیکر
۶۴	۶-۱-۳- گرمخانه
۶۴	۷-۱-۳- سانتریفیوژ

- ۶۵ ۸-۱-۳ اسپکتروفتومتر
- ۶۵ ۹-۱-۳ SDS-PAGE الکتروفورز
- ۶۷ ۲-۳-۲ روش ها
- ۶۷ ۱-۲-۳ جداسازی باکتریهای اسید لاکتیک و طبقه بندی آنها
- ۶۸ ۱-۱-۲-۳ رنگ آمیزی گرم و مورفولوژی میکروسکوپی
- ۶۹ ۲-۱-۲-۳ تست کاتالاز
- ۶۹ ۳-۱-۲-۳ تولید گاز از گلوکز
- ۶۹ ۲-۲-۳ شناسایی خاصیت ضد میکروبی سویه های جداسازی شده باکتریهای اسید لاکتیک
- ۷۰ ۱-۲-۲-۳ روش چاهک
- ۷۰ ۳-۲-۳ تشخیص وجود باکتریوسین
- ۷۱ ۱-۳-۲-۳ حذف خاصیت ضد میکروبی اسید های آلی
- ۷۱ ۴-۲-۳ آزمایشهای حساسیت سویه ها به دما و pH
- ۷۲ ۵-۲-۳ شناسایی سویه های جداسازی شده
- ۷۲ ۱-۵-۲-۳ آزمایش دامنه رشد سویه های جداسازی شده
- ۷۲ ۲-۵-۲-۳ آزمایش هیدرولیز کربوهیدراتها توسط سویه های جداسازی شده
- ۷۳ ۶-۲-۳ ارزیابی نمودار رشد
- ۷۳ ۷-۲-۳ خالص سازی جزئی باکتریوسین

۷۳	۳-۲-۷-۱- ته نشین کردن پروتئین ها با سولفات آمونیوم
۷۴	۳-۲-۷-۲- دیالیز
۷۴	۳-۲-۷-۳- الکتروفورز
۷۶	فصل چهارم: نتایج و بحث
۷۶	۴-۱- جداسازی سویه های باکتری اسید لاکتیک
۷۶	۴-۲- شناسایی خاصیت ضد میکروبی سویه های جداسازی شده
۷۹	۴-۳- حذف اثر ضد میکروبی اسید های آلی و شناسایی وجود باکتریوسین
۸۱	۴-۴- تست مقاومت در دماها و pH های مختلف
۸۳	۴-۵- شناسایی و طبقه بندی باکتریهای اسید لاکتیک جداسازی شده
۸۵	۴-۶- بررسی متابولیسم کربوهیدرات ها توسط سویه های جداسازی شده
۸۷	۴-۷- اندازه گیری قطر هاله عدم رشد
۸۹	۴-۸- ارزیابی نمودار رشد
۹۰	۴-۹- خالص سازی جزئی باکتریوسین ها
۹۰	۴-۹-۱- ته نشین کردن با سولفات آمونیوم
۹۲	۴-۹-۲- دیالیز
۹۳	۴-۹-۳- تشخیص خلوص باکتریوسین های استخراج شده به روش الکتروفورز و تعیین وزن مولکولی آنها
۹۸	۴-۱۰- نتیجه گیری کلی



فهرست جداول

- جدول ۱-۲ خواص استارتر های مورد استفاده در صنایع غذایی ۵
- جدول ۲-۲ ترکیبات آرومایی تولید شده توسط باکتری های اسید لاکتیک ۱۳
- جدول ۳-۲ باکتری های اسید لاکتیک مورد استفاده در محصولات لبنی ۱۵
- جدول ۴-۲ باکتری های اسید لاکتیک استفاده شده در محصولات لبنی تخمیری ۱۶
- جدول ۵-۲ آزمایش های شناسایی باکتری های اسید لاکتیک ۲۴
- جدول ۶-۲ محصولات باکتری های اسید لاکتیک دارای خاصیت ضد میکروبی ۳۳
- جدول ۷-۲ طبقه بندی باکتریوسین های تولید شده از باکتری های اسید لاکتیک ۳۹
- جدول ۸-۲ باکتریوسین های گروه I و گونه های تولید کننده آنها ۴۱
- جدول ۹-۲ باکتریوسین های گروه IIa و گونه های تولید کننده آنها ۴۲
- جدول ۱۰-۲ باکتریوسین های گروه IIb و گونه های تولید کننده آنها ۴۴
- جدول ۱۱-۲ باکتریوسین های گروه IIc و IIId و گونه های تولید کننده آنها ۴۵
- جدول ۱۲-۲ باکتریوسین های گروه III و گونه های تولید کننده آنها ۴۷
- جدول ۱۳-۲ روش های مورد استفاده در خلص سازی باکتریوسین ها ۵۸
- جدول ۱-۳ مقاومت محلول رویی بدست آمده از سویه های جداسازی شده در مقابل حرارت و pH های مختلف ۷۱

- جدول ۴-۱ اثر ضد میکروبی سویه های جداسازی شده در مقابل سویه های حساس ۸۰
- جدول ۴-۲ آزمایش های مقاومت انجام شده بر روی محلول رویی حاصل از سویه های جداسازی شده ۸۲
- جدول ۴-۳ آزمایشات مورفولوژی و بیوشیمیایی انجام شده برای شناسایی سویه های جداسازی شده ۸۴
- جدول ۴-۴ بررسی متابولیسم کربوهیدرات ها توسط سویه های جداسازی شده ۸۵
- جدول ۴-۵ طبقه بندی سویه های جداسازی شده ۸۶
- جدول ۴-۶ اندازه گیری قطر هاله های حاصل از فعالیت ضد میکروبی سویه های جداسازی شده ۸۸
- جدول ۴-۷ آزمایش فعالیت ضد میکروبی در غلظت های متفاوت سولفات آمونیوم ۹۱

فهرست شکل ها

- شکل ۲-۱ مرحله اکسیداسیون گلوکز به اسید پیرویک (گلیکولیز) ۸
- شکل ۲-۲ مسیر پنتوز فسفات و تولید اتیل الکل ۱۰
- شکل ۲-۳ شمای شناسایی باکتری های اسید لاکتیک ۲۷
- شکل ۲-۴ توالی اسید آمینه نیسین ۴۰
- شکل ۲-۵ مکانیسم تاثیر باکتریوسین بر روی غشاء سلولی ۵۱
- شکل ۳-۱ دستگاه سانتریفیوژ استفاده شده در پژوهشکده علوم و فناوری زیستی ۶۵
- شکل ۳-۲ دستگاه الکتروفورز SDS-PAGE استفاده شده در پژوهشکده آرتیمیای دانشگاه ارومیه ۶۶
- شکل ۴-۱ شناسایی اثر ضد میکروبی سویه های جداسازی شده در مقابل سویه حساس لیستریا مونوسیژنوز ۷۷
- شکل ۴-۲ شناسایی اثر ضد میکروبی سویه های جداسازی شده در مقابل سویه لاکتوباسیلوس دلبروکی ۷۸

شکل ۳-۴ شناسایی اثر ضد میکروبی سویه های جداسازی شده در مقابل سویه حساس میکروکوکوس بوتنوس ۷۸

شکل ۴-۴ نمودار ارزیابی رشد سویه لاکتوباسیلوس پلانزاروم در جذب ۶۰۰ nm ۸۹

شکل ۵-۴ اسکن ژل الکتروفورز TRICINE_SDS-PAGE و باندهای مربوط به پروتئین خالص سازی شده ۹۳

چکیده

در این مطالعه امکان جداسازی و شناسایی سویه های تولید کننده باکتریوسین از پنیر کوزه آذربایجان غربی مورد بررسی قرار گرفت. همچنین شناسایی سویه های جداسازی شده و خالص سازی ماده ضد میکروبی تولید شده از آنها بصورت جزئی بررسی گردید. بدین منظور هشت نوع پنیر کوزه از مناطق مختلف آذربایجان غربی جمع آوری شدند. از نمونه های موجود چهار و هشت کلونی از باکتریهای اسید لاکتیک جداسازی شد که از این تعداد، سی و شش سویه فعالیت ضد میکروبی از خود نشان دادند. برای جلوگیری از اثر ضد میکروبی اسید های آلی تولید شده توسط باکتری های اسید لاکتیک، در این فرایند، pH محلول رویی خنثی شد. بعد از خنثی سازی pH مشخص شد که تنها دوازده سویه از باکتری های اسید لاکتیک اثر ضد میکروبی از خود نشان می دهند. بر اساس نتایج آزمایشات مورفولوژی و بیوشیمیایی که بر روی آنها صورت گرفت و در نهایت مشخص شد که دو سویه متعلق به *L.plantarum*، یک سویه متعلق به *L.brevis* و یک سویه متعلق به *L.paracasei* می باشد. همچنین باکتریوسین خالص سازی شده نه تنها بر روی باکتری های گرم مثبت تاثیر گذار بوده بلکه دارای خاصیت آنتی لیستریایی نیز می باشند. نتایج خالص سازی جزئی و الکتروفورز-نشان داد که وزن مولکولی پروتئین های ته نشین شده در محدوده ی وزن مولکولی پانزده، چهل و پنجاه kDa می باشد.

فصل اول

مقدمه

از اهداف اصلی روش های مدرن تولید مواد غذایی، سلامتی و طول عمر زیاد محصولات غذایی می باشد. در سالهای اخیر، تاثیرات مواد نگهدارنده ی شیمیایی و یا اثرات جانبی آنها بر روی مصرف کننده این محصولات بسیار مورد توجه قرار گرفته است. به همین علت مصرف کننده ها بیشتر به سمت مواد غذایی تخمیری روی آورده اند. در پی افزایش تقاضا برای مواد غذایی تخمیری و برای آسان کردن فراوری این محصولات غذایی تحقیقات زیادی انجام گرفته و همچنین تحقیقات در زمینه کشف مواد نگهدارنده طبیعی که تاثیر زیادی بر افزایش طول عمر این محصولات دارند هر روزه در حال افزایش می باشند. یکی از مهمترین نگهدارنده های طبیعی باکتریوسینها می باشند که به وسیله باکتری های اسید لاکتیک تولید می شوند. باکتریوسین ها به نوبه ی خود یک نگهدارنده بیوشیمیایی به حساب می آیند، از این رو در سال های اخیر تحقیقات زیادی بر روی آنها صورت گرفته است. یکی از شاخص ترین مسائل در این حوزه این است که آیا نگهدارنده های بیوشیمیایی می توانند تاثیرات یک نگهدارنده را بطور کامل ایفا کنند؟

برای بررسی این تاثیرات لازم است که در مورد باکتریوسین ها و سویه های تولید کننده آن ها از دیدگاه بیوتکنولوژی و غیره جزئیات بیشتر و مطمئن تری مطرح شود. باکترها ی اسید لاکتیک موجود در غذاهای تخمیری، در مزه غذا و در روش تولید آن تاثیر می گذارد. رشد این باکتری ها به فاکتورهای محیطی مانند pH

دما و غیره وابسته می باشد. بنابراین باید در حوزه مواد غذایی تخمیری دارای باکتری های اسید لاکتیک تحقیقات بیشتری به عمل آید.

در کشور ما در مورد شناسایی باکتریهای تولید کننده اسید لاکتیک و شناسایی باکتریوسین های تولیدی از باکتری های اسید لاکتیک تحقیقات محدودی انجام گرفته است. از این رو در این مطالعه، سعی شده است تا در زمینه جداسازی سویه های اسید لاکتیک از پنیر کوزه منطقه آذر بایجان غربی و بررسی فعالیت ضد میکروبی آنها و همچنین تولید و خالص سازی باکتریوسین تولیدی از سویه های جداسازی شده تحقیقاتی انجام گیرد.

فصل دوم

مرور منابع

با افزایش روز افزون جمعیت، مسافرت های برون شهری و مشغله های زیاد کاری، انسانها بیشتر به غذاهای حاضری روی آوردند. برای افزایش طول عمر غذاهای حاضری و با هدف حفظ خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و میکروبیولوژی در غذاها از نگهدارنده های شیمیایی مختلفی استفاده می شد. ولی با پیشرفت علم و افزایش سطح آگاهی انسانها در مورد مضرات نگهدارنده های شیمیایی تقاضا برای غذاهایی با نگهدارنده های طبیعی افزایش یافته است. به همین علت روزبه روز استفاده از غذاهای تخمیری با نگهدارنده های طبیعی و سالم رو به افزایش

است (۱، ۲، ۳).

در غذاهای تخمیری، باکتری های اسید لاکتیک که به عنوان استارتر در این مواد غذایی موجودند بسیار مورد توجه می باشند. باکتریهای اسید لاکتیک با عمل تخمیر، فقط بر روی بافت ماده غذایی، مزه و آرومای آن تاثیر نمی گذارند بلکه با سنتز مواد ضد میکروبی باعث افزایش طول عمر مواد غذایی می شوند که در این زمینه تحقیقات زیادی صورت گرفته است (۴).

بطور معمول آلودگی های میکروبی موجود در مواد غذایی بر روی سلامتی انسانها و همچنین اقتصاد اثرات جبران ناپذیری دارد. با پیشرفت تکنولوژی مواد غذایی، نگهدارنده های شیمیایی متنوعی وارد چرخه تولید مواد غذایی شده اند که این مواد نیز به نوبه ی خود باعث افزایش روز بروز بیماری هایی با منشا غذایی

شده اند (۵، ۶).

در استفاده از مواد نگهدارنده در صنایع غذایی، مهمترین فاکتور خاصیت ضد میکروبی در مقابل پاتوژن هاست. در عین حال باید توجه داشت که این نگهدارنده ضد میکروبی نباید مضر برای سلامت انسانها باشد. به همین دلیل در سالهای اخیر، نگهدارنده های طبیعی که مواد ضد میکروبی تولید شده توسط باکتریهای اسید لاکتیک می باشند بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. در این رابطه یکی از مهمترین نگهدارنده های بیوشیمیایی باکتریوسین ها می باشند (۱، ۷).

باکتریوسین ماده ی ضد میکروبی تولید شده از باکتریهای اسید لاکتیک می باشد. باکتریوسین های تولید شده از باکتریهای اسید لاکتیک و باکتریهای دیگر در زمره ی مواد غذایی GRAS (که بطور عمومی مورد اطمینان هستند) قرار گرفته اند. در سال ۱۹۶۹ از طرف کمیته FAO، نسیین به عنوان یک ماده نگهدارنده ضد میکروبی در غذاها مورد تایید قرار گرفت. امروزه نسیین E۲۳۴ در بیش از ۵۰ کشور دنیا مورد استفاده قرار می گیرد (۸). با اینکه تنها باکتریوسین مورد استفاده بصورت تجاری نسیین می باشد ولی استفاده از دیگر باکتریوسین های کشف شده به عنوان نگهدارنده های بیوشیمیایی به علت مفید بودن آنها از لحاظ اقتصادی همواره مورد توجه محققین قرار گرفته است (۱، ۵، ۹).

۲-۱- باکتریهای اسید لاکتیک و استفاده از آنها در مواد غذایی

در غذاهای تخمیری، هدف فقط تولید یک ماده غذایی با طعم متفاوت و لذیذ نیست بلکه در عین حال هدف مورد توجه حفظ سلامت انسان از طریق مصرف مواد غذایی تخمیری است. تخمیر از روشهای سنتی تولید مواد غذایی است که در غذاها موجب افزایش لذت و تولید آرومای مطلوب تری می شود و همچنین باعث افزایش طول عمر محصول می گردد (۱۰). در تخمیر، مواد خام بوسیله میکروارگانیسم ها تبدیل به مواد غذایی با ارزش می شود. در تخمیر طبیعی میکروارگانیسم های مفید با تکثیر خود باعث تولید محصول و یا خصوصیات مطلوب

برای محصول می شوند. در یک تخمیر طبیعی ممکن است همراه با میکروارگانیسم های مفید، پاتوژن ها نیز رشد کرده و تکثیر یابند. بنابراین باید از تخمیر کنترل شده استفاده شود. تخمیر کنترل شده توسط میکروارگانیسم های کشت داده شده خالص که کشت استارتر نامیده می شود انجام میگیرد. به کشت استارتر مواد خام در مقادیر زیادی افزوده شده و در شرایط بهینه گرمخانه گذاری می شود. از محصولات تخمیر کنترل شده می توان ماست را نام برد که از طریق تخمیر با کشت استارتر، باکتریهای اسید لاکتیک، تولید می شوند (۱۱). در جدول شماره ۱-۲ کشت های استارتر مورد استفاده در صنایع غذایی نشان داده شده است (۱۲).

جدول ۱-۲ خواص استارترهای مورد استفاده در صنایع غذایی (۱۲).

منابع	باکتری های اسید لاکتیک	کاربرد
		خواص
		محافظت از غذا
		تولید باکتریوسین
Maisnier-Patin & ark (۱۹۹۲)	<i>Lactococcus lactis ssp. Lacti</i>	محصولات لبنی
Giraffa (۱۹۹۵)	<i>Enterococcus ssp</i>	
Vogel & ark (۱۹۹۳)	<i>Lactobacillus curvatus</i>	محصولات تخمیری
Hugas & ark (۱۹۹۵)	<i>Lactobacillus sakei</i>	گوشت
Foegeding & ark (۱۹۹۲)	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
Callewaert & ark (۲۰۰۰)	<i>Enterococcus faecium</i>	
Ruiz-Barba & ark (۱۹۹۴)	<i>Lactobacillus plantarum</i>	زیتون تخمیری
Harris & ark (۱۹۹۲)	<i>L. lactis</i>	سبزیهای تخمیری