

המחלקה לחקר איכות מזון ובטיחותו

מינהל המחקר החקלאי



פיתוח מערכת אינקפסולציה להגנה על חיידקים פרוביוטיים שמקורם בעטין בריא

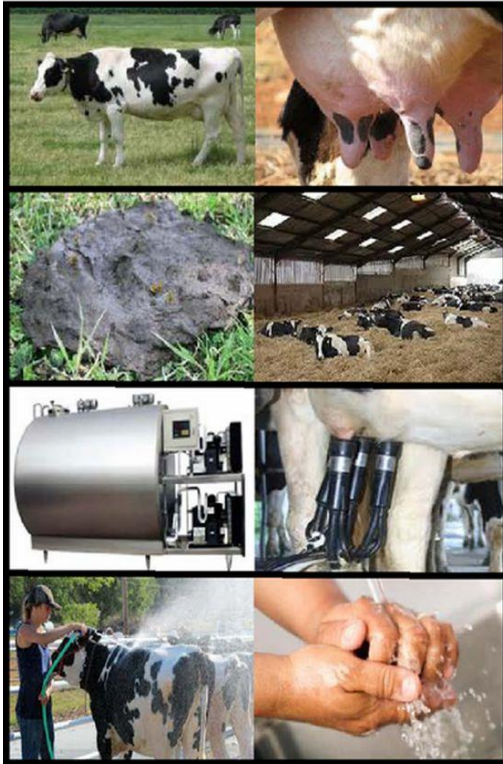
משה שמש

הכנס השנתי למדעי הבקר

3.12.2019

מקור חיידקים בחלב גולמי והשפעתם האפשרית על מוצרי החלב

Sources



Microorganisms can enter milk from contact with the animal including teat, hides, faeces; also from the housing, bedding, feed, air and water. Contact with farm equipment and milking equipment as well as insufficient farm or personnel hygiene may influence the microbial content of milk.



Milk-associated microorganisms

Role/ Significance

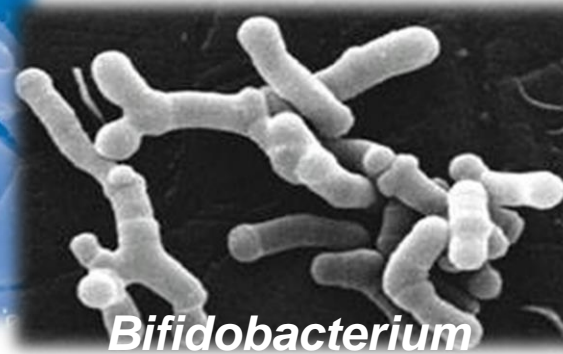
	<p>Food Technology</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>Lactococcus</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Enterococcus</i> <i>Propionibacterium</i>
	<p>Health Promotion</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>Lactococcus</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Enterococcus</i> Some yeasts
	<p>Spoilage</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>Pseudomonas</i> <i>Acinetobacter</i> <i>Chryseobacterium</i> <i>Clostridium</i> Phage
	<p>Illness</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>Listeria</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Campylobacter</i> <i>Mycobacterium</i> Fungi - Aflatoxins

Once in the milk these microorganisms can play an important role in dairy product manufacture; they may contribute to promoting human health or enhancing food safety. On the other hand these microorganisms can lead to spoilage of milk and dairy products or they may contribute to disease and illness in humans.

Lisa Quigley et al. *FEMS Microbiol Rev* 2013;37:664-698

פרוביוטיקה – 'לחיים'

- מוגדרת כמיקרואורגניזמים חיים שצריכתם בכמויות מבוקרות הינה בעלת תועלת מסוימת לבריאותו של המאכסן.
- המיקרואורגניזמים הנפוצים בפרוביוטיקה שמסופקת כיום הם זנים של חיידקי חומצה לקטית (LAB), בעיקר מהסוג לקטובצילוס (*Lactobacillus*) וביפידובקטריה (*Bifidobacterium*), הנמצאים במערכת העיכול של רוב בעלי החיים.
- חיידקים ממשפחת ה-LAB הינם גרם חיוביים, אנאירוביים פקולטיביים, לא פתוגניים המשתתפים בתהליכי תסיסה של מזונות רבים.



פרוביוטיקה ומזון

- חיידקים פרוביוטים מוספים למזון ע"מ לשפר את האיכות והבריאות של המזון וגם כדי להקנות למזון מרקם או/ו ארומה מיוחדים.
- דוגמאות למזון פרוביוטי הן: גבינות מותססות, שמנת, לחמי מחמצת, יוגורטים וחמוצים.
- התועלת הבריאותית של החיידקים הפרוביוטיים תלויה במידה רבה ביכולת שלהם לשרוד, להתיישב ולהתרבות במאכסן.

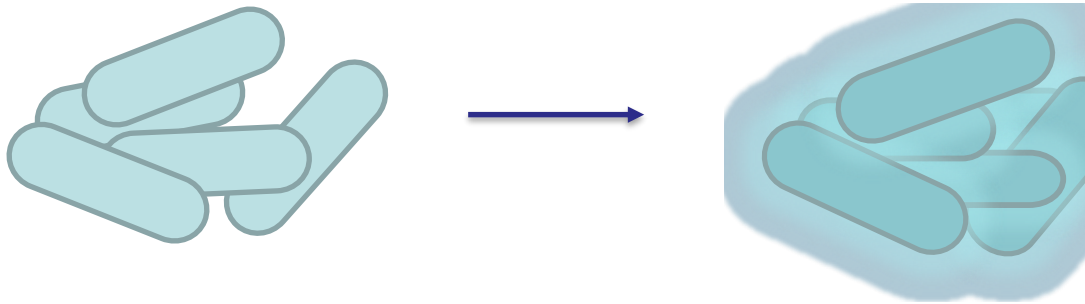
הבעיה:

- התהליך המשמש להכנת מזונות פרוביוטיים עלול להיות קטלני למבנה התאים ולחיותם.
- החיידקים הפרוביוטיים מתקשים לשרוד בחומציות גבוהה.
- לכן, קיים צורך לפתח מערכת הגנה על החיידקים לאספקה בטוחה שלהם למאכסן.

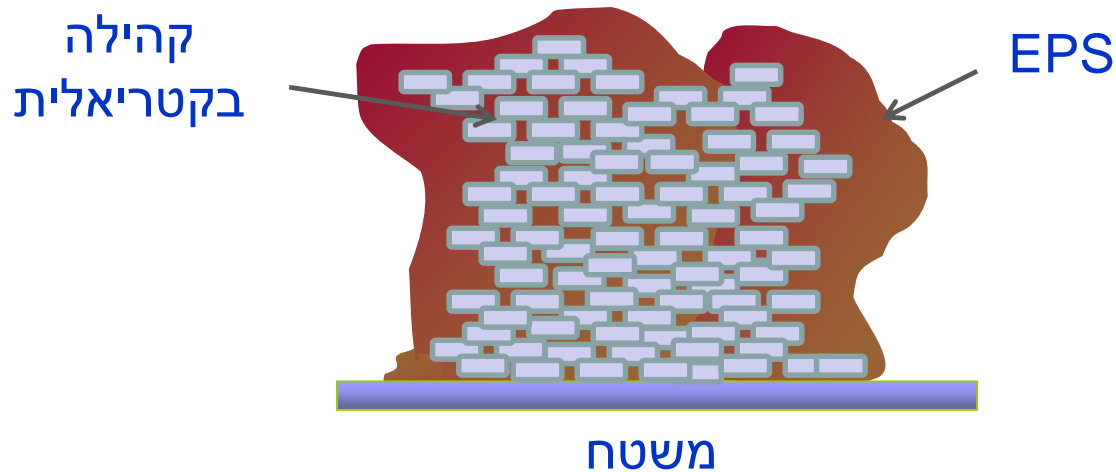


איך מגנים על החיידקים הפרוביוטיים?

- אינקפסולציה כימית בעזרת בניית מעטפת פולימרים המגנה על החיידקים באופן פיזי.
- אינקפסולציה בעזרת מטריצות המזון כגון מיצלות החלב.
- אינקפסולציה בעזרת פולימרים חוץ תאיים (EPS) המיוצרים ע"י חיידקים פרוביוטיים עצמם.



היווצרות הביופילם מהווה דרך לאינקפסולציה טבעית



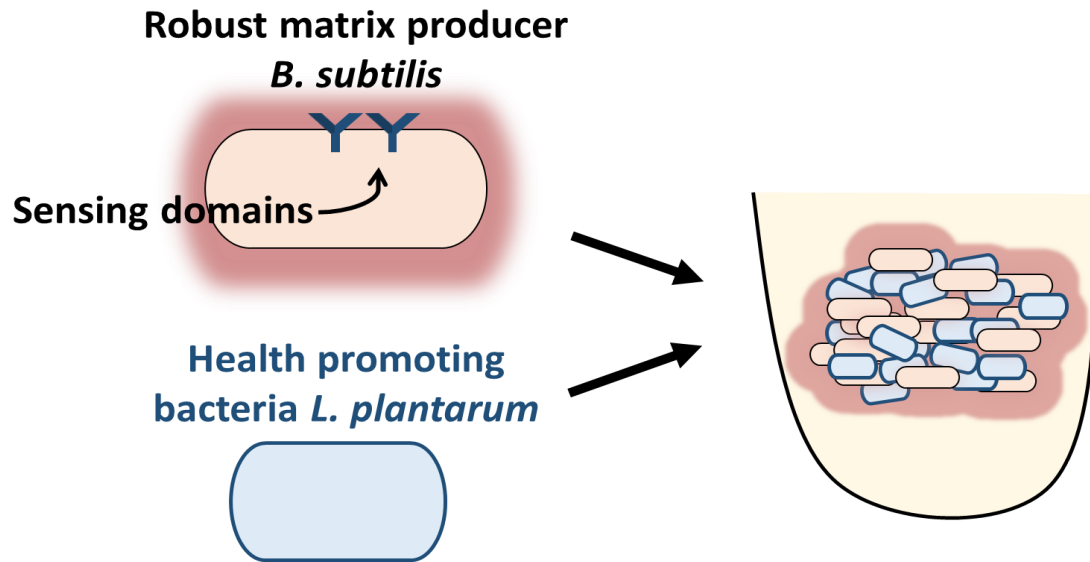
• ה-EPS מיוצרים ע"י חיידקים באופן טבעי בזמן היווצרות הביופילם

• מעטפת ה-EPS עשויה להקנות הגנה בלתי רגילה לחיידקי הביופילם

הבעיה: חיידקים פרוביוטיים אינם מייצרים את ה-EPS בכמויות משמעותיות בדרך-כלל.

השערת המחקר

מעטפת ה-EPS המיוצרת ע"י חיידקי הבצילוס עשויה לעזור להגן על חיידקים פרוביוטיים אחרים אשר גדלים יחד בתרבית משותפת



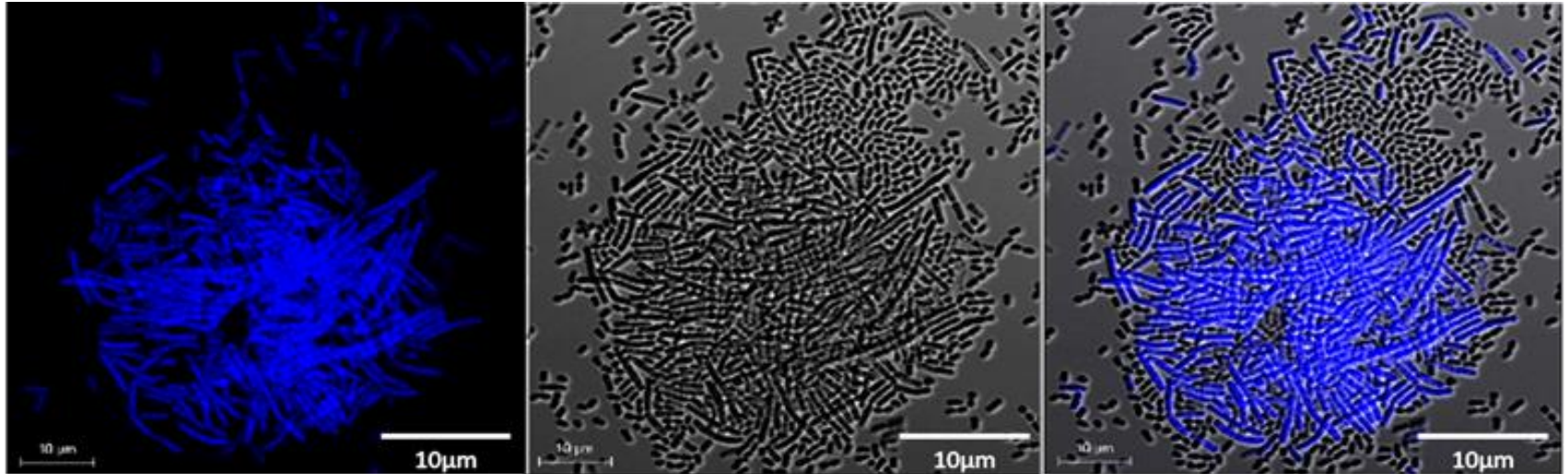
חיידקי *B. subtilis* מיצרים את מעטפת ה-EPS בזמן היווצרות
הביופילם בזמן התרבות משותפת יחד עם חיידקי *L. plantarum*

Fluorescent light

DIC

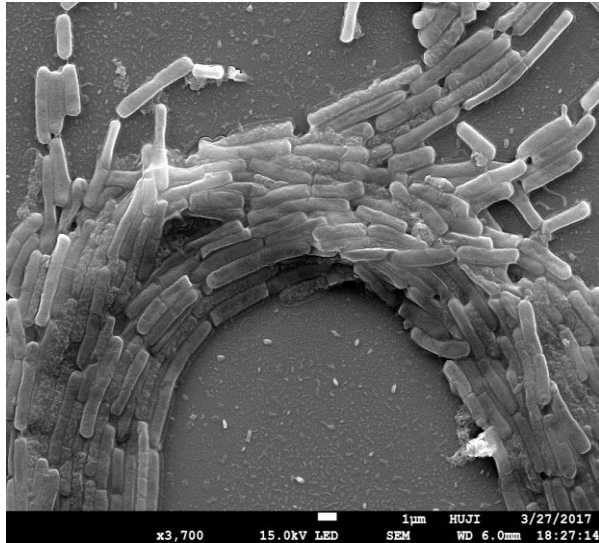
Merged

PtapA-cfp expression

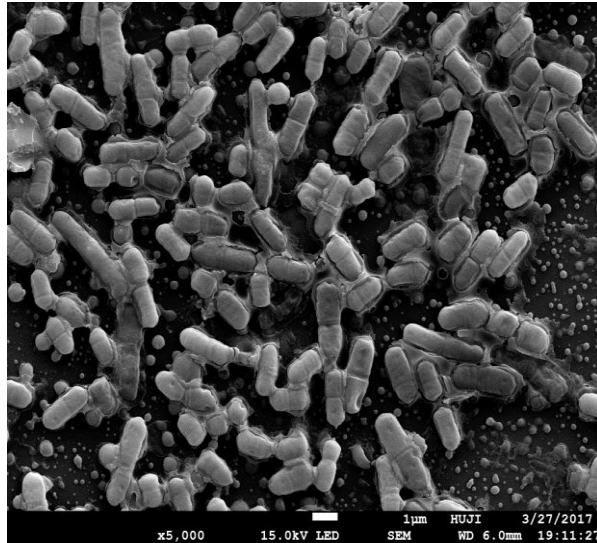


אנליזת מיקרוסקופית אלקטרונית (SEM) של הביופילם המשותף הנוצר ע"י חיידקי *B. subtilis* יחד עם חיידקי *L. plantarum*

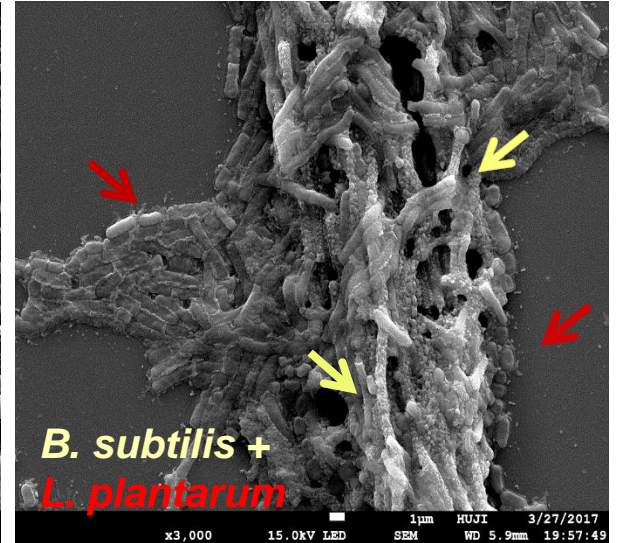
B. subtilis



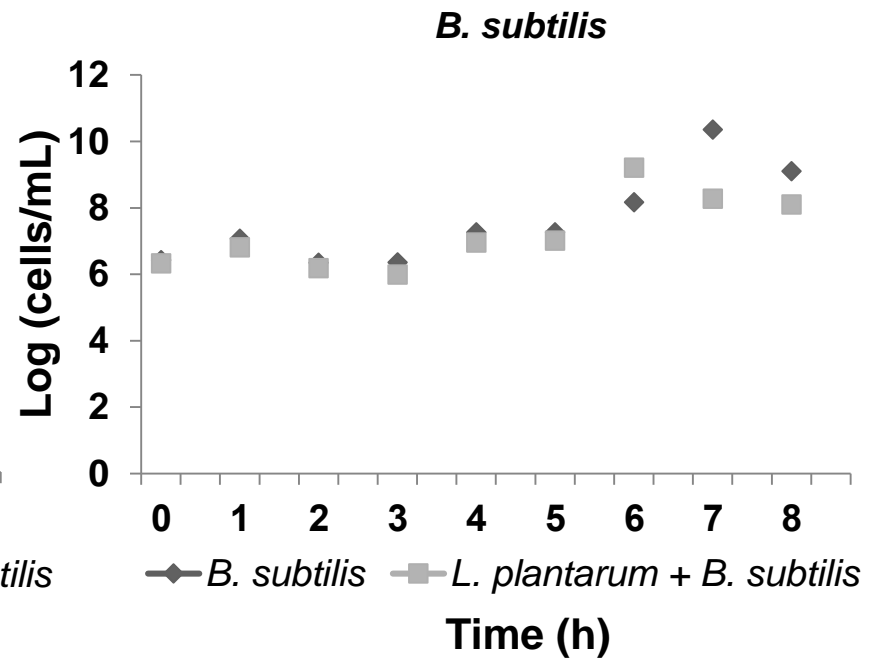
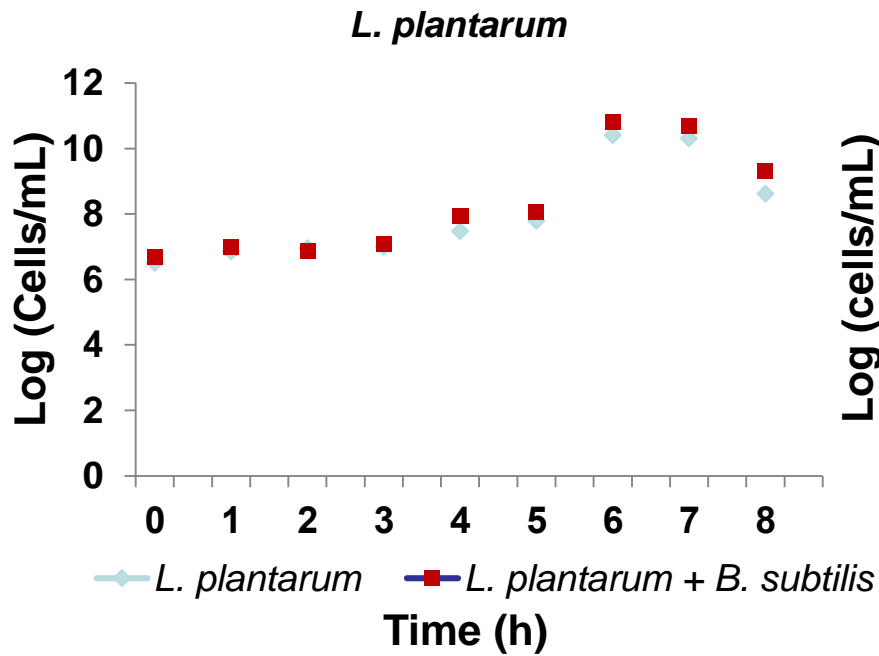
L. plantarum



B. subtilis + *L. plantarum*

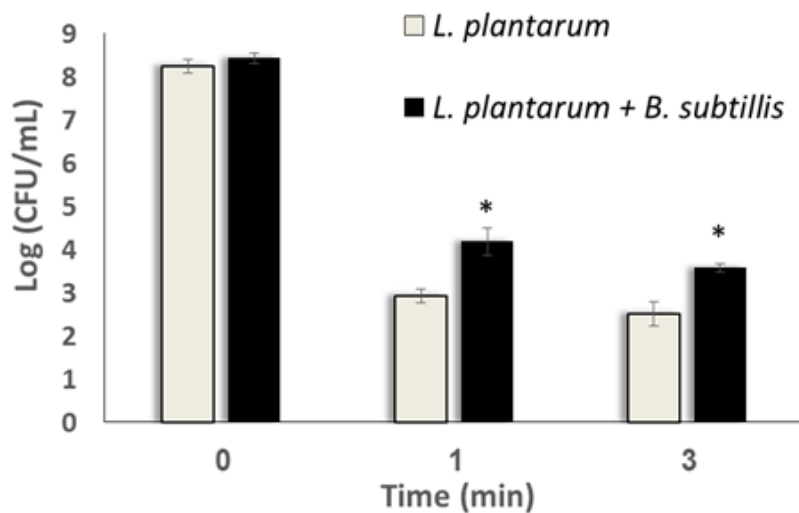


התרבות חיידקי *B. subtilis* יחד עם חיידקי *L. plantarum* בתרבית משותפת

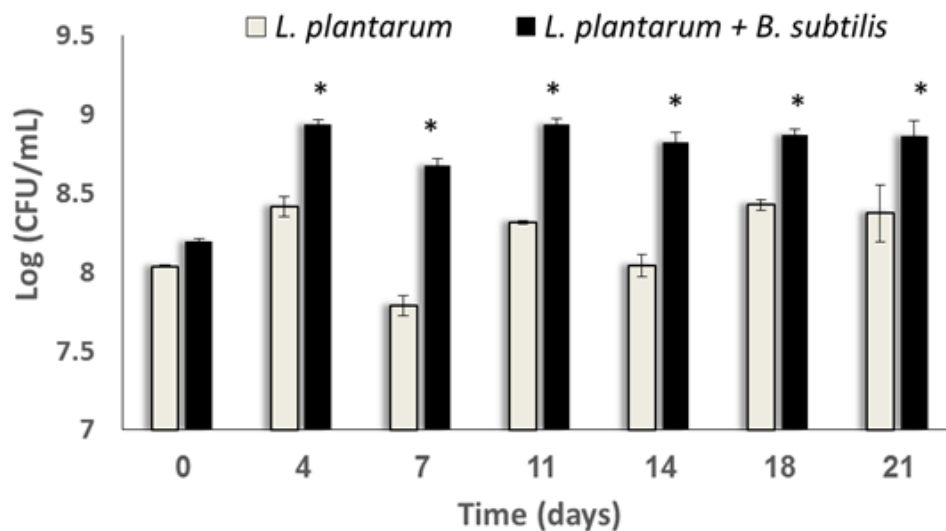


הביופילים המשותף מקנה הגנה מוגברת לחיידקי *L. plantarum*

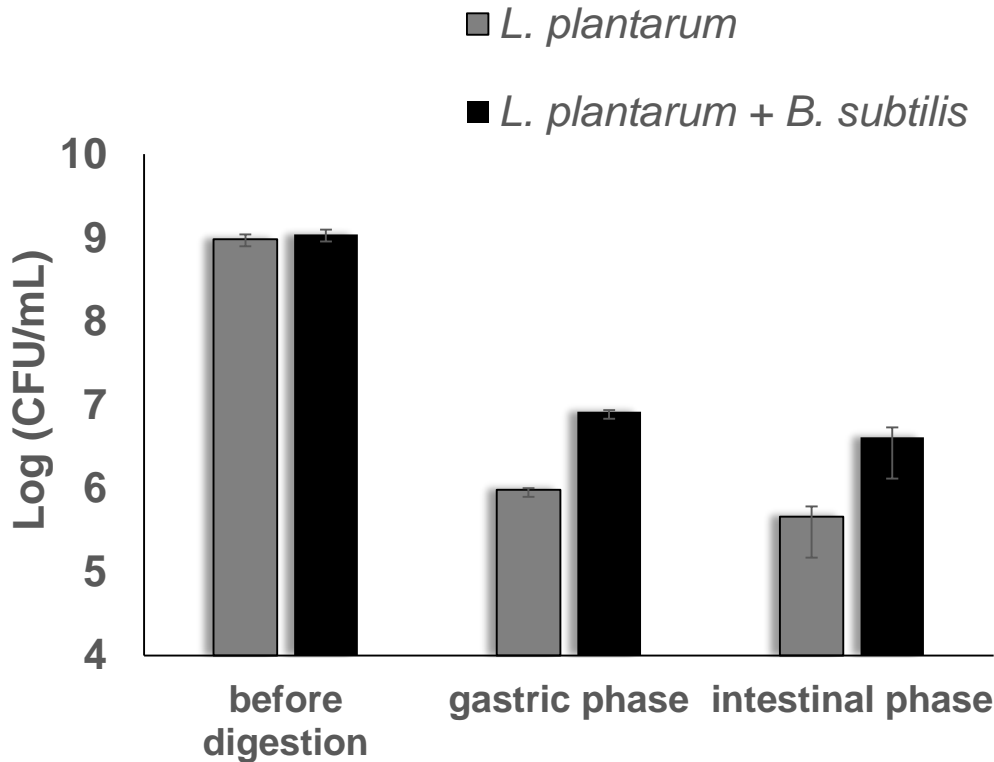
טיפול תרמי



מהלך האחסון במקרר



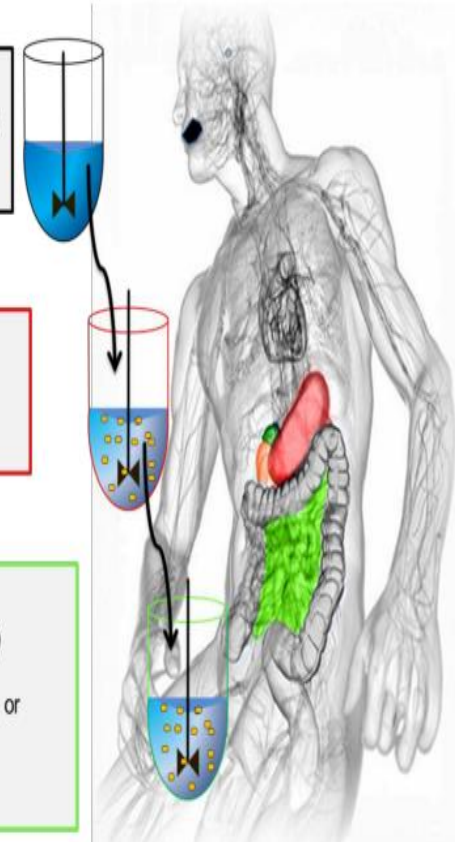
L. plantarum הביופילים המשותף מקנה הגנה מוגברת לחיידקי *L. plantarum* בזמן עיכול גסטרואינטסטינאלי



Oral phase
Mix 1:1 with Simulated Salivary Fluid (SSF)
salivary amylase (75 U/mL)
2 min, pH 7

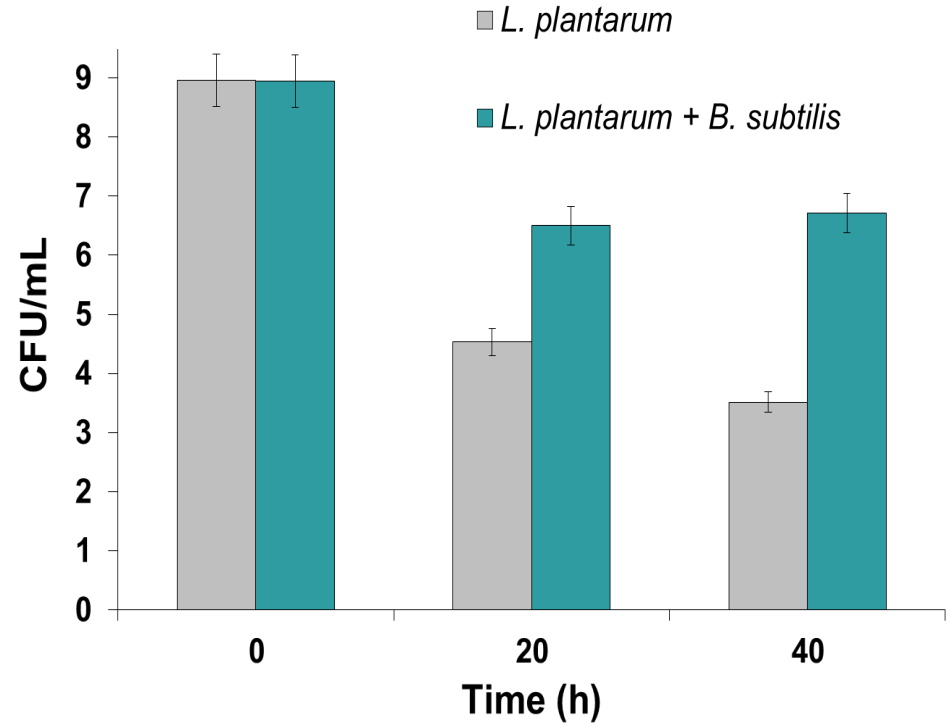
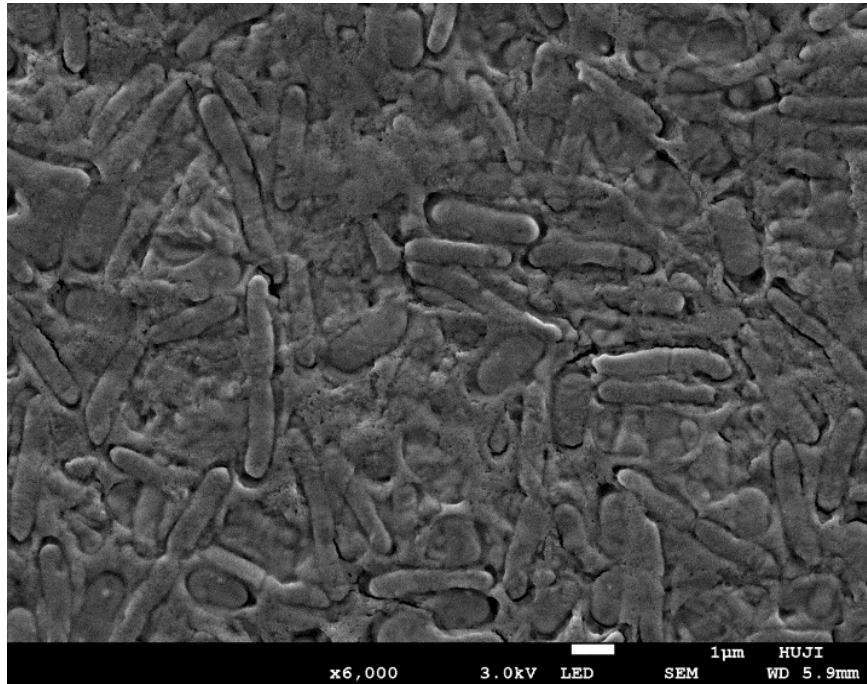
Gastric Phase
Mix 1:1 with Simulated Gastric Fluid (SGF)
Pepsin (2000 U/mL)
2h, pH 3

Intestinal Phase
Mix 1:1 with Simulated Intestinal Fluid (SIF)
Enzymes
Pancreatin (based on trypsin 100 U/mL) or
Pure enzymes
Bile (10mM)
2h, pH 7



L. plantarum הביופילים המשותף מקנה הגנה מוגברת לחיידקי *L. plantarum* בתהליך הייבוש

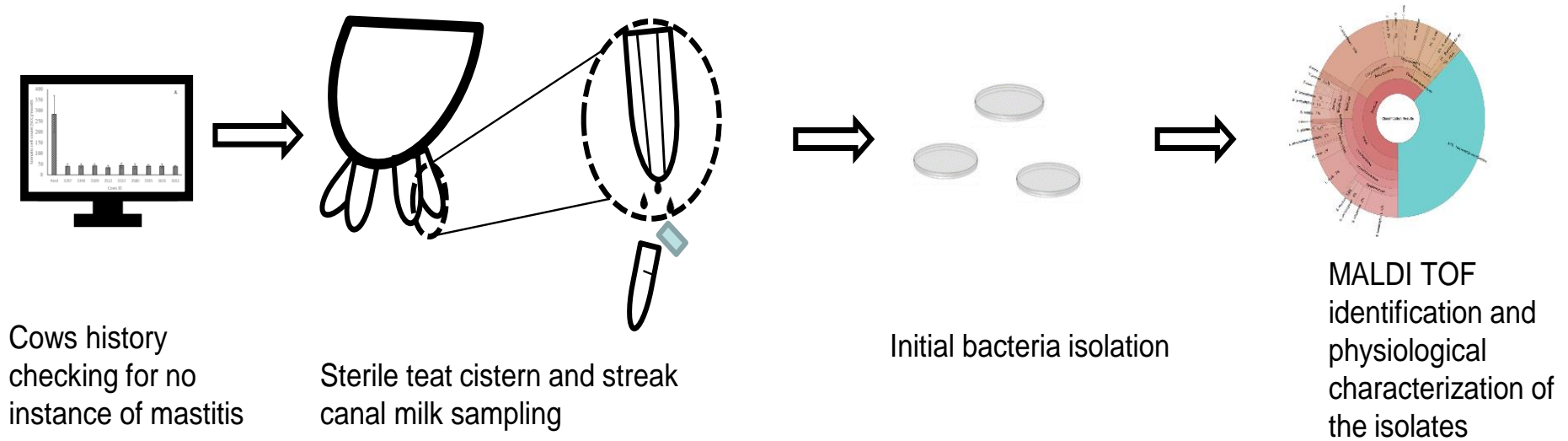
תמונות ה-SEM לאחר ייבוש התרבית במשך 20 שעות



סיכום ביניים

- פותחה מערכת חשדנית לאינקפסולציה טבעית המגנה על החיידקים הפרוביוטיים.
- נמצא כי חיידקי הבצילוס עשויים להקנות הגנה משמעותית לחיידקי חומצה לקטית בזמן הכנה, אחסון ועיכול המזון.
- ניתן ליישם את המערכת על תבדידי חיידקים פרוביוטיים חדשים אשר מבודדים בימים אלו במעבדתנו מפרות בריאות מרפתות ברחבי הארץ.

תיאור סכימטי של מערכת דיגום ואפיון תבדידי החיידקים מחלב שנאסף מפרות בריאות*



*הפרויקט מתבצע בשיתוף פעולה עם מעבדתו של ד"ר שלמה בלום
מהמחלקה לבקטריוλογία (מכון וטרינרי)

תודות

שיתופי פעולה

ד"ר שלמה בלום (מכון וטרינארי)

ד"ר יונרונג צ'אי (האונ' נורת-איסטרן)

פרופ' דורון שטיינברג (האונ' העברית)

פרופ' רם רייפן (האונ' העברית)

שמאי יעקובי (מכון וולקני)

ד"ר נורית ארגוב-ארגמן (האונ' העברית)

המחקר ממומן בעיקר על-ידי קרן:

מדען ראשי של משרד החקלאות

מינהל המחקר החקלאי

מעבדה לחקר החלב

שגית יהב

יגאל אכמון

בת-חן כהן

הדר קימלמן

כרמל הוצ'ינגס

יוליה קרופיצקי

טלי פז

חן רז

יבגניה אוסטרוב

דניאל אסף

קרן דמישטיין

