رفتار سویه‌های مختلف *یرسینیا انتروکولیتیکا* در پنیر فراپالایشی و نقش بازدارندگی کشت آغازگر لاکتیکی

رضا واثقی بخشایش[۱]، شهرام حنیفیان[۲*]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
* نویسنده مسئول مکاتبات: hanifian@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۳/۱۰/۲۱ پذیرش نهایی: ۹٤/٤/۳۱)

چکیده

هدف از این تحقیق مطالعه رفتار سویه‌های مختلف *یرسینیا انتروکولیتیکا* در پنیر فراپالایشی و بررسی قابلیت بازدارندگی کشت آغازگر لاکتیکی بر این باکتری بود. برای این منظور، شیر پاستوریزه و فراپالایش شده با تعداد ۳ واحد لگاریتمی در هر گرم از سویه‌های استاندارد DSM 11502 و DSM 9499 و سویه بومی *یرسینیا انتروکولیتیکا* تلقیح شد و نمونه‌های پنیر دارا و فاقد کشت آغازگر تهیه شدند. تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در زمان تلقیح، متعاقب گرمخانه‌گذاری و طی ۲ ماه دوره نگه‌داری با روش کشت در محیط CIN آگار شمارش و با آزمون PCR مورد تأیید قرار گرفت. طبق نتایج مطالعه، بعد از گرمخانه‌گذاری تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در هر دو گروه از نمونه‌های دارا و فاقد آغازگر به مقدار ٤/١٤ واحد لگاریتمی ($P < ۰/۰۱$) افزایش پیدا کرد. اما طی دوره نگه‌داری، تعداد این باکتری فقط در نمونه‌های حاوی آغازگر کاهش یافت. از آن‌جایی‌که مقدار pH بین نمونه‌های دارا و فاقد آغازگر تفاوت معنی‌داری ($P < ۰/۰۱$) داشت؛ لذا شرایط اسیدی از عوامل اصلی مهار کننده *یرسینیا انتروکولیتیکا* در پنیر فراپالایشی می‌باشد. بر اساس نتایج به‌دست آمده، سویه بومی *یرسینیا انتروکولیتیکا* در مقایسه با سویه‌های آزمایشگاهی به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) پایداری بیشتری در پنیر فراپالایشی داشت. با در نظر گرفتن نقش کشت آغازگر در غیرفعال نمودن *یرسینیا انتروکولیتیکا*، ایجاد شرایط دمایی و زمانی برای تکثیر و فعالیت مناسب باکتری‌های آغازگر و یا استفاده از کشت‌هایی با قابلیت تولید ترکیبات آنتاگونیستی می‌تواند علاوه بر ایجاد طعم و بافت مناسب در محصول، در کنترل مخاطره ناشی از آلودگی‌های احتمالی پنیر فراپالایشی موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: *یرسینیا انتروکولیتیکا*، پنیر فراپالایشی، کشت آغازگر

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

یرسینیا انتروکولیتیکا از باکتری‌های مهم بیماری‌زای غذایی بوده و از نظر خصوصیات مرفولوژیکی شامل باسیل‌ها کوتاه، گرم منفی، غیراسپورزا، اکسیداز منفی و بی‌هوازی اختیاری است. این باکتری قادر به تحمل تغییرات pH بین ٤ تا ١٠ (مقدار مطلوب ٧/٦) و مقدار ٥ درصد نمک می‌باشد (Bottone, 1991; Robins-Browne and Hartland, 2003 and Zadernowska *et al*., 2014). رشد باکتری در دامنه دمایی ٠ تا ٤٥ درجه سلسیوس و محدوده دمای مطلوب ٢٥ تا ٢٩ درجه سلسیوس صورت می‌گیرد (Weagant and Feng, 2001). به‌دلیل دارا بودن طبیعت سرماگرا، این باکتری می‌تواند بدون ایجاد علایم ظاهری فساد، در مواد غذایی نگه‌داری شده در یخچال رشد و تکثیر نموده و موجب عوارض گوناگونی شود (Robins-Browne and Hartland, 2003). *یرسینیا انتروکولیتیکا* عامل بیماری یرسینیوزیس در انسان است و علایم عفونت از اسهال ملایم و محدودشونده تا لنفادنیت‌مزانتریک متغیر است. از دیگر عوارض و سندرم‌های بالینی ناشی از آن می‌توان به سپتی‌سمی، آپاندیسیت کاذب، فارنژیت‌اکسوداتیو و آرتریت اشاره نمود (Weagant and Feng, 2001).

یرسینیا انتروکولیتیکا اغلب در خاک، فاضلاب، آب‌های شیرین و هم‌چنین در مواد غذایی نظیر گوشت قرمز، گوشت ماکیان، شیر و فرآورده‌های آن، تخم‌مرغ، سبزیجات و ... یافت می‌شود (Minnich *et al*., 2001; and Fredriksson-Ahomaa and Korkeala, 2003). از بین سویه‌های مختلف این باکتری فقط تعداد محدودی بیماریی‌زای انسانی هستند و در میان منابع مختلف غذایی، گوشت خوک منشأ اصلی انتقال این سویه‌ها به انسان گزارش شده است (Robins-Browne and Hartland, 2003). البته آلودگی شیرهای خام و پنیرهای سنتی با سویه‌های بیماری‌زای *یرسینیا انتروکولیتیکا* در سرتاسر دنیا و از جمله در ایران گزارش گردیده است (Aytaç and Özbaş, 1992; Weagant and Feng, 2001; Skurnik *et al*., 2010; Hanifian and Khani, 2012a). از سوی دیگر، با ردیابی *یرسینیا انتروکولیتیکا* در شیرهای پاستوریزه، احتمال عدم کفایت پاستوریزاسیون و یا بروز آلودگی ثانویه مطرح شده است. در نتیجه خطر ابتلای انسان از طریق مصرف شیر و فرآورده‌های حرارت‌دیده نیز منتفی نمی‌باشد (Ackers *et al*., 2000; Soltan-Dallal *et al*., 2004; Longenberger *et al*., 2014؛ حنیفیان، ١٣٩٠).

پنیر فراپالایشی از شیر پاستوریزه (٧٢ درجه سلسیوس به مدت ١٥ ثانیه) گاوی و متعاقب فراپالایش (Ultra-filtration) تهیه می‌شود. این نوع پنیر دارای حداقل ٣٤ درصد ماده خشک، ١٥ درصد چربی، ١١ درصد پروتئین و pH آن در بازه ٤/٨-٤/٦ می‌باشد. مقدار نمک پنیر فراپالایشی ٢ تا ٤ درصد است که به‌صورت خشک (dry salting) به لخته اضافه می‌شود. این نوع پنیر پس از طی دوره گرمخانه‌گذاری (در ٢٧ درجه سلسیوس به مدت ١ روز) و دوره نگه‌داری (در ٨ درجه سلسیوس به مدت ١ تا ٢ هفته) به بازار عرضه می‌گردد (Karami *et al*., 2009).

در طی فرایند فراپالایش شیر، غلظت پروتئین‌های سرمی در رتنتیت (Retentate) افزایش یافته و منجر به بالا رفتن ظرفیت بافری رتنتیت می‌شود. در نتیجه رشد و فعالیت باکتری‌های لاکتیکی و به تبع آن نزول pH به کندی صورت می‌گیرد (Karami *et al*., 2009). به‌علاوه، محدود بودن دوره گرمخانه‌گذاری این نوع پنیر

www.SID.ir

به ۲٤ ساعت، فرصت کافی برای فعالیت کشت آغازگر لاکتیکی فراهم نمی‌آورد (Hanifian, 2014). لذا، در صورت موثر نبودن فرایند پاستوریزاسیون و یا آلودگی ثانویه، خطر رشد میکروب‌های بیماری‌زا و عامل فساد به‌ویژه انواع سرماگرای مقاوم به اسید و نمک ایجاد می‌شود. در این مطالعه، رفتار سویه‌های مختلف *یرسینیا انتروکولیتیکا* طی روند تهیه و نگه‌داری پنیر فراپالایشی و کفایت کشت آغازگر لاکتیکی در مهار باکتری مزبور مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

- سویه‌های *یرسینیا انتروکولیتیکا*

جهت ارزیابی تفاوت‌های احتمالی در رفتار سویه‌های مختلف *یرسینیا انتروکولیتیکا* در پنیر فراپالایشی، دو سویه استاندارد این باکتری با کد DSM 11502 و 9499 DSM (DSMZ, Germany) و هم‌چنین یک سویه بومی که از پنیر محلی منطقه آذربایجان‌شرقی جداسازی شده بود (Hanifian and Khani, 2012a)، برای تلقیح استفاده گردید. قابلیت بیماری‌زایی سویه‌های *یرسینیا انتروکولیتیکا* با ردیابی ژن *ail* (attachment invasion locus) مورد بررسی قرار گرفت. سویه‌های باکتریایی طی دو مرحله متوالی در محیط آبگوشت BHI (Merck, Germany) فعال‌سازی (۲۹ درجه سلسیوس به مدت ۲٤ ساعت) گردید. کشت‌های ذخیره در دمای ٤ درجه سلسیوس نگه‌داری شد و یک روز قبل از تلقیح در محیط آبگوشت BHI تجدید کشت داده شد (Hanifian and Khani, 2012b).

- تهیه دوز تلقیحی *یرسینیا انتروکولیتیکا*

جمعیت *یرسینیا انتروکولیتیکا* در کشت اولیه با روش اسپکتروفتومتری و با طول موج ۵۸۰ نانومتر تعیین گردید (حنیفیان، ۱۳۸۸). سلول‌های باکتریایی با سانتریفیوژ با شدت g ٤۰۰۰ و مدت ۲۰ دقیقه رسوب داده شدند و سپس با افزودن سرم رینگر استریل تا رسیدن به تعداد تقریبی ۳ واحد لگاریتمی در هر گرم از رتنتیت رقیق‌سازی گردید.

- تهیه پنیر سفید فراپالایشی

برای تهیه نمونه‌های پنیر از رتنتیت (Retentate) پاستوریزه (۷۲ درجه سلسیوس و ۱۵ ثانیه) با فاکتور تغلیظ ۵/۱ استفاده گردید. رتنتیت از کارخانه شیر پاستوریزه پگاه آذربایجان‌شرقی و مشابه با ترکیب مورد استفاده برای تهیه پنیر فراپالایشی تأمین شد. قبل از تلقیح، رتنتیت از نظر عدم وجود آلودگی *یرسینیا انتروکولیتیکا* با روش کشت مستقیم ارزیابی گردید. به‌علاوه، به منظور جلوگیری از اثرات مهاری ترکیبات آنتی‌بیوتیکی بر *یرسینیا انتروکولیتیکا* و نیز فعالیت کشت آغازگر، رتنتیت از نظر عدم آلودگی با این ترکیبات با آزمون کوپن (Copan Italia S.p.A., Italy) مورد آزمایش قرار گرفت. سپس رتنتیت به‌طور جداگانه با تعداد ۳ واحد لگاریتمی به ازای هر گرم (Log cfu/g) از هر یک از سویه‌های استاندارد و بومی *یرسینیا انتروکولیتیکا* تلقیح شد. مطابق دستورالعمل تهیه پنیر سفید فراپالایشی ایرانی، کشت آغازگر باکتری‌های مزوفیل لاکتیکی هوموفرمانتاتیو (FD-DVS FRC 65) (Chr. Hansen, Denmark) به نمونه‌های دارای کشت آغازگر (به مقدار ۱۰۰ گرم به ازای ۵۰۰۰ کیلوگرم رتنتیت) اضافه گردید. کشت آغازگر شامل مخلوطی از

Archive of SID
www.SID.ir

باکتری‌های *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیرگونه *لاکتیس* (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*)، *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیرگونه *کرموریس* (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*)، *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریکوس* (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* (*Streptococcus thermophilus*) بود. سپس مقدار ۲۰۰ گرم از مخلوط رتنتیت و کشت آغازگر به ظروف پنیر انتقال یافت و رنت (Meito Sangyo, Japan) به مقدار ۰/۰۰۲ درصد (وزنی-وزنی) به مخلوط اضافه شد. مرحله لخته شدن پنیر در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه انجام گرفت. سطح لخته با کاغذ مخصوص (Parchment paper) پوشانده و پس از افزودن ۲ درصد نمک بر روی کاغذ، درب ظروف مسدود گردید (Hanifian, 2014). نمونه‌های پنیر به مدت ۱ روز در دمای ۲۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد و سپس تا روز ٦٠ در سردخانه ۸ درجه سلسیوس نگه‌داری گردید (Karami *et al.*, 2009).

- طرح مطالعه

مطابق جدول (۱) شش نوع پنیر فراپالایشی با در نظر گرفتن استفاده یا عدم استفاده از کشت آغازگر و هم‌چنین نوع سویه *یرسینیا انتروکولیتیکا* تهیه گردید. تعداد ۹ نمونه از هر نوع پنیر ساخته شد و طی مراحل زیر مورد ارزیابی قرار گرفت: ۱- ساعت صفر (زمان تلقیح)؛ ۲- روز ۱ (پس از گرمخانه‌گذاری)؛ ۳- روز ۵ (انتهای دوره قرنطینه و زمان عرضه به بازار)؛ ٤- روزهای ۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤٠، ۵۰ و ٦٠ (طی نگه‌داری). آزمایش‌های میکروبی (شمارش *یرسینیا انتروکولیتیکا*، لاکتوکوکوس‌ها و لاکتوباسیلوس‌ها) و شیمیایی (pH، درصد نمک و رطوبت) در زمان‌های یاد شده بر روی نمونه‌های پنیر انجام گرفت. این مطالعه سه بار و طی روزهای مجزا تکرار گردید.

جدول (۱)- انواع پنیر فراپالایشی تهیه شده با در نظر گرفتن استفاده از کشت آغازگر و سویه *یرسینیا انتروکولیتیکا*

نوع پنیر	کشت آغازگر	سویه
S+, S_1	+	11502
S+, S_2	+	9499
S+, N	+	بومی
S-, S_1	-	11502
S-, S_2	-	9499
S-, S_n	-	بومی

(+S) و (-S) به‌ترتیب نشان‌دهنده نمونه‌های دارا و فاقد آغازگر؛ S_1، S_2 و S_n به‌ترتیب شامل سویه‌های استاندارد DSM 11502، DSM 9499 و سویه بومی (Native) *یرسینیا انتروکولیتیکا* است.

- آزمون‌های میکروبی و شیمیایی

جهت شمارش *یرسینیا انتروکولیتیکا* از روش کشت سطحی در محیط (پایه) جامد انتخابی CIN agar base (Merck, Germany) و با افزودن مکمل آنتی‌بیوتیکی Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin استفاده شد (Weagant and Feng, 2001). مقدار ۱۰ گرم از نمونه‌های پنیر متعاقب همگن‌سازی، با ۹۰ میلی‌لیتر محلول هضم پنیر (۱ درصد کازیتون و ۲ درصد سیترات‌سدیم) مخلوط گردید و لوله‌های رقت با استفاده از آب‌پپتونه ۰/۱ درصد استریل از رقت 10^{-2} تا 10^{-8} تهیه شد (Weagant *et al.*, 1998). مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقت بر روی CIN آگار کشت داده شد.

www.SID.ir

پلیت‌ها در ۲۷ درجه سلسیوس به مدت ٤٨ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. سپس پرگنه‌های دارای قطر ۲-۱ میلی‌متر، با مرکز قرمز رنگ و پیرامون بی‌رنگ شمارش شد (Weagant and Feng, 2001). پس از روز ۲۰ دوره نگه‌داری، در نمونه‌هایی که تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* به کمتر از حد قابل شمارش رسیده بود، از نمونه تغلیظ شده استفاده گردید. برای این منظور ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اولیه در لوله‌های فالکون استریل و در سانتریفیوژ با شتاب ٤۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه رسوب داده شد. رسوب به‌دست آمده با ۰/۱ میلی‌لیتر محلول آب‌پپتونه استریل مخلوط گردید و در محیط کشت CIN agar کشت داده شد (Hanifian and Khani, 2012b). در نهایت نسبتی از پرگنه‌های شمارش شده با PCR تأیید گردید.

برای شمارش باکتری‌های کشت آغازگر از محیط‌های کشت انتخابی MRS آگار برای *لاکتوباسیلوس‌ها* و M17 آگار (Merck, Germany) برای *لاکتوکوکوس‌ها* استفاده گردید. مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از هر لوله سریال رقت به محیط کشت‌های مزبور منتقل و کشت سطحی انجام گرفت. *لاکتوکوکوس‌ها* در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ روز تحت شرایط هوازی گرمخانه‌گذاری شدند. گرمخانه‌گذاری *لاکتوباسیلوس‌ها* در دمای ۳۵ درجه سلسیوس در جار بی‌هوازی حاوی گاز پک نوع C (Merck, Germany) به مدت ۳ روز انجام گرفت (Gardiner *et al.*, 1998). ویژگی‌های شیمیایی نظیر pH، درصد نمک و رطوبت بر اساس روش AOAC تعیین گردید (AOAC, 1995).

- تأیید *یرسینیا انتروکولیتیکا* با PCR

در پلیت‌های استاندارد مجذور تعداد پرگنه‌های شمارش شده (مثلاً ۱۰ پرگنه از مجموع ۱۰۰ پرگنه شمارش شده) *یرسینیا انتروکولیتیکا* با PCR ارزیابی شد. برای این منظور، ژن ***ail*** که در کروموزوم تمامی سویه‌های بیماری‌زای *یرسینیا انتروکولیتیکا* حضور دارد، به‌عنوان ژن هدف انتخاب و از پرایمرهای 9A: 5′-GTT TAT CAA TTG CGT CTG TTA ATG TGT ACG-3′ و 10A: 5′-CTA TCG AGT TTG GAG TAT TCA TAT GAA GCG-3′ استفاده گردید (Thisted Lambertz and Danielsson-Tham, 2005; Hudson *et al.*, 2008).

هر پرگنه *یرسینیا انتروکولیتیکا* در میکروتیوب حاوی ۲ میلی‌لیتر آبگوشت BHI کشت داده شد (۲۹ درجه سلسیوس و ٢٤ ساعت). پس از سانتریفیوژ کردن و جداسازی سلول‌های باکتری (٦۰۰۰ g و ۱۰ دقیقه)، DNA ژنومی مطابق با روش یک مطالعه قبلی (Bhaduri and Cottrell, 1998) استخراج گردید و سپس با استفاده از فنول- کلروفرم-ایزوآمیل‌الکل با نسبت ۲۵:٢٤:۱ (Merck, Germany) خالص‌سازی شد. در نهایت ۵۰ میکرولیتر آب یون‌زدایی شده (Deionized water) عاری از DNA/RNA بر روی DNA اضافه گردید. غلظت و خلوص DNA استخراج شده با نانودراپ (Thermo Scientific, USA) و به‌ترتیب با طول موج ۲٦۰ نانومتر و نسبت ۲٦۰/۲۸۰ ارزیابی شد. مخلوط واکنش شامل ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس ۲× (Fermentas, Germany)، ٦۰ پیکومول از هر پرایمر (Eurofins, Germany) و ۲۵ نانوگرم DNA الگو بود. حجم نهایی مخلوط با افزودن آب یون‌زدایی شده عاری از DNA و RNA (Fermentas, Germany) به ۲۵ میکرولیتر رسید.

Archive of SID
www.SID.ir

واکنش PCR با یک مرحله دمایی ۹٤ °C به مدت ٤ دقیقه برای دناتوراسیون اولیه آغاز گردید. سپس ۳۵ سیکل متوالی شامل ۹٤ °C به مدت ۳۰ ثانیه جهت دناتوراسیون، ٦۰ °C به مدت ۱ دقیقه برای اتصال پرایمرها و ۷۲ °C به مدت ۱ دقیقه جهت توسعه توالی هدف و در نهایت یک مرحله دمایی ۷۲ °C به مدت ۵ دقیقه برای توسعه نهایی اعمال گردید (Thisted Lambertz and Danielsson- Tham, 2005). محصول PCR شامل یک قطعه ٤٥٤ bp بود که متعاقب الکتروفورز در ژل آگارز ۱ درصد (Invitrogen, USA) حاوی ۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر رنگ سایبرگرین (SYBR Green) (Sigma–Aldrich, USA)، وجود این باند ارزیابی گردید.

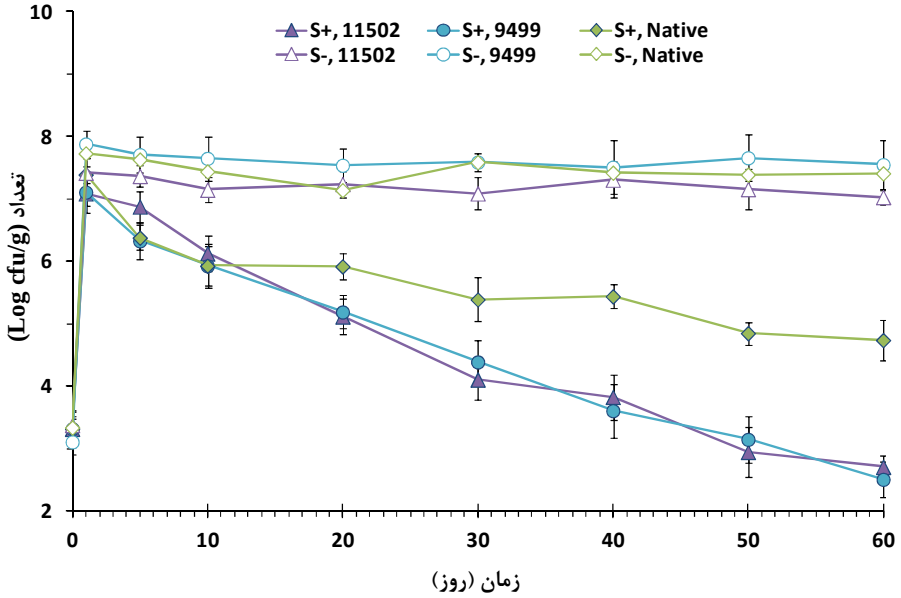
- تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل از شمارش *یرسینیا انتروکولیتیکا* و باکتری‌های کشت آغازگر به مقیاس لگاریتمی تبدیل و مورد تجزیه و تحلیل آماری (SPSS, Version 17) قرار گرفت. نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون‌های Skewness و Kurtosis بررسی گردید. پس از انجام آمار توصیفی (میانگین و انحراف معیار) بر روی داده‌های مطالعه، تغییرات تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در طی مراحل مختلف تهیه و نگه‌داری پنیر در هر گروه از داده‌ها و هم‌چنین تفاوت تغییرات سویه‌های مختلف *یرسینیا انتروکولیتیکا* با آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون دانکن (Duncan's test) مقایسه گردید. برای مقایسه بین گروهی (نمونه‌های دارا و فاقد آغازگر) از آزمون T مستقل (Independent Samples T-Test) استفاده شد.

یافته‌ها

تغییرات جمعیت سویه‌های مختلف *یرسینیا انتروکولیتیکا* طی مراحل تهیه و نگه‌داری پنیر فراپالایشی در نمودار (۱) نشان داده شده است. بر اساس این نتایج، جمعیت *یرسینیا انتروکولیتیکا* از زمان تلقیح تا روز ۱ (گرمخانه‌گذاری) در نمونه‌های حاوی کشت آغازگر و فاقد آن به‌طور میانگین ٤/۱٤ واحد لگاریتمی افزایش ($p< ۰/۰۱$) یافت. اما پس از طی این دوره به‌تدریج تعداد این باکتری در هر دو گروه از نمونه‌ها کاهش پیدا کرد. این میزان کاهش تا روز ۵ فقط ۰/۳۸ واحد لگاریتمی برآورد گردید که از نظر آماری معنی‌دار نبود. در دوره نگه‌داری تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در نمونه‌های فاقد آغازگر کاهش چشمگیری نشان نداد و در انتهای دوره ٦۰ روزه تعداد ۷/۳۳ واحد لگاریتمی *یرسینیا انتروکولیتیکا* در هر گرم از پنیر ردیابی شد. در حالی که در نمونه‌های دارای آغازگر تعداد این باکتری در هر مقطع زمانی از دوره نگه‌داری، به‌طور معنی‌داری ($p < ۰/۰۱$) کمتر از نمونه‌های فاقد آغازگر بود. طوری که در انتهای دوره ٦۰ روزه نگه‌داری صرفاً ۳/۳۲ واحد لگاریتمی از باکتری زنده در هر گرم پنیر شمارش گردید.

www.SID.ir



نمودار (۱)- تغییرات تعداد (میانگین ± انحراف معیار) سویه‌های مختلف *یرسینیا انتروکولیتیکا* طی تولید، گرمخانه‌گذاری و نگه‌داری پنیر فراپالایشی؛ (+S) و (-S) به‌ترتیب نشان‌دهنده نمونه‌های دارا و فاقد کشت آغازگر؛ 11502، 9499 و Native به‌ترتیب شامل سویه‌های استاندارد DSM 11502، DSM 9499 و سویه بومی *یرسینیا انتروکولیتیکا* است.

در نمودار (۱) به نتایج تغییرات تعداد سویه‌های مختلف *یرسینیا انتروکولیتیکا* اشاره شده است. در نمونه‌های فاقد آغازگر، سویه‌های استاندارد (DSM 11502 و DSM 9499) و بومی *یرسینیا انتروکولیتیکا* رفتار مشابهی نشان داده و با تفاوت مختصری، تا پایان دوره ٦٠ روزه نگه‌داری بقای خود را حفظ نمودند. در حالی‌که در نمونه‌های دارای آغازگر سویه بومی *یرسینیا انتروکولیتیکا* در قیاس با سویه‌های استاندارد پایداری بیشتری داشت. رفتار سویه‌های مختلف تا روز ۱۰ نگه‌داری مشابه برآورد گردید، اما از روز ۲۰ تا پایان مدت نگه‌داری تفاوت معنی‌داری ($p< ۰/۰۱$) در جمعیت سویه بومی با سویه‌های استاندارد مشاهده گردید. در انتهای دوره نگه‌داری، تعداد سویه بومی و میانگین دو سویه‌های استاندارد به‌ترتیب ٤/٧٤ و ٢/٦١ واحد لگاریتمی در هر گرم تعیین گردید.

میانگین تغییرات باکتری‌های آغازگر لاکتیکی (لاکتوباسیلوس‌ها و لاکتوکوکوس‌های مزوفیل) طی مراحل مختلف تهیه، گرمخانه‌گذاری و نگه‌داری پنیر سفید فراپالایشی در جدول (۲) نشان داده شده است. شمارش باکتری‌های لاکتیکی نشان داد پس از دوره گرمخانه‌گذاری (روز ۱) در نمونه‌های حاوی کشت آغازگر، لاکتوباسیلوس‌ها و لاکتوکوکوس‌ها در حدود ۱ واحد لگاریتمی در هر گرم افزایش یافت. این روند افزایشی طی روزهای ۵ و ۱۰ نگه‌داری نیز مشاهده گردید و در روز ۱۰ بالاترین جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها و لاکتوکوکوس‌ها به‌ترتیب و با تعداد ۹/٦١ و ۹/٣٤

Archive of SID
www.SID.ir

واحد لگاریتمی در هر گرم پنیر به‌دست آمد ($p< ۰/۰۱$). اما متعاقب روز ۱۰ و تا انتهای دوره نگه‌داری روند نزولی در جمعیت باکتری‌های آغازگر مشاهده گردید.

جدول (۲)- تغییرات تعداد (میانگین ± انحراف معیار) باکتری‌های لاکتیکی طی روند تولید، گرمخانه‌گذاری و نگه‌داری پنیر فراپالایشی تهیه شده با و بدون کشت آغازگر لاکتیکی

نوع پنیر*	زمان نگه‌داری (روز)								
	۰	۱	۵	۱۰	۲۰	۳۰	٤۰	۵۰	٦۰
S+, Lb.	۷/۹٤±۰/٤۵^{b}	۸/۸۵±۰/۲۵^{b}	۹/۱۷±۰/۱۲^{a}	۹/٦۱±۰/۱۵^{a}	۸/۸۵±۰/۱۷^{b}	۸/۸٦±۰/۲۸^{b}	۸/۰٤±۰/۲۳^{b}	٦/۹۳±۰/۲۷^{c}	٦/۸۷±۰/۱۹^{c}
S+, Lc.	۷/٦۵±۰/۳۸^{b}	۸/٦٦±۰/۱٦^{b}	۹/۳۸±۰/۱٤^{a}	۹/۳٤±۰/۱۱^{a}	۹/۳۳±۰/۱۲^{a}	۹/۱۷±۰/۲۵^{a}	۷/۷۷±۰/۲۹^{b}	۷/٤±۰/۱۸^{b}	۷/۳۸±۰/۲۲^{b}
S-, Lb.	۱/۳±۰/۲۲^{c}	۳/۳۲±۰/۲۵^{b}	۳/۰۷±۰/۲۷^{b}	۳/۸٤±۰/۲۱^{a}	۳/۹۸±۰/۱٤^{a}	٤/۱٤±۰/۱٤^{a}	۳/۷٤±۰/۲۳^{a}	٤/۰۵±۰/۲۱^{a}	۳/۹۵±۰/۱۹^{a}
S-, Lc.	۱/٤٤±۰/۱۸^{c}	۳/۳۸±۰/۱٦^{b}	۳/۹۸±۰/۲٤^{b}	٤/۷٤±۰/۱۹^{a}	٤/٤۵±۰/۲۲^{a}	٤/۳۸±۰/۱۵^{a}	٤/۸۱±۰/۱۹^{a}	٤/۵۵±۰/۱۱^{a}	٤/۳۸±۰/۱۲^{a}

(*): +S و -S به‌ترتیب نشان‌دهنده نمونه‌های دارا و فاقد آغازگر و .Lb و .Lc به ترتیب نشانگر لاکتوباسیلوس‌ها و لاکتوکوکوس‌هاست.

(a، b و c): حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت ($p < ۰/۰۱$) است.

شمارش باکتری‌های لاکتیکی در نمونه‌های فاقد کشت آغازگر حاکی از حضور تعداد میانگین ۱/۳۷ واحد لگاریتمی لاکتوباسیلوس و لاکتوکوکوس در هر گرم از رتنتیت بود. این گروه جزو باکتری‌های لاکتیکی شیر خام هستند که شرایط پاستوریزاسیون و سایر فرایندهای تهیه پنیر سفید فراپالایشی را تحمل نموده‌اند. پس از گرمخانه‌گذاری این مقدار به‌طور تقریبی ۲ واحد لگاریتمی افزایش ($p< ۰/۰۱$) یافت و در روزهای ۳۰ و ٤۰ دوره نگه‌داری جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها و لاکتوکوکوس‌ها به‌ترتیب به حداکثر تعداد ٤/۱٤ و ٤/٤۵ واحد لگاریتمی در هر گرم رسید.

در جدول (۳) میانگین تغییرات pH در نمونه‌های پنیر تهیه شده با کشت آغازگر و فاقد آن نشان داده شده است. براساس این نتایج، در نمونه‌های دارای آغازگر میزان pH در پایان دوره گرمخانه‌گذاری به ٤/۸۰ کاهش یافت که از نظر آماری معنی‌دار ($p< ۰/۰۱$) بود. اما در ادامه دوره نگه‌داری تغییرات معنی‌داری در مقدار pH مشاهده نشد. در نمونه‌های فاقد آغازگر تغییرات pH از زمان تهیه پنیر تا انتهای دوره نگه‌داری غیرمعنی‌دار بود.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول (۳)- تغییرات pH (میانگین ± انحراف معیار) طی روند تولید، گرمخانه‌گذاری و نگه‌داری پنیر فراپالایشی تهیه شده با کشت آغازگر لاکتیکی و بدون آن

نوع پنیر*	زمان نگه‌داری (روز)								
	۰	۱	۵	۱۰	۲۰	۳۰	۴۰	۵۰	۶۰
S+	۶/۶۱±۰/۱۱^{bi}	۴/۸۰±۰/۱۵^{ai}	۴/۷۱±۰/۱۷^{ai}	۴/۷۱±۰/۱۵^{ai}	۴/۸۸±۰/۱۲^{ai}	۴/۹۱±۰/۰۹^{ai}	۴/۸۳±۰/۱۳^{ai}	۴/۹۰±۰/۱۷^{ai}	۴/۸۷±۰/۱۹^{ai}
S-	۶/۶۱±۰/۱۱^{ai}	۵/۸۵±۰/۱۶^{ag}	۶/۰۳±۰/۲۱^{ag}	۶/۰۳±۰/۱۱^{ag}	۵/۹۸±۰/۱۴^{ag}	۶/۰۸±۰/۱۵^{ag}	۵/۸۹±۰/۱۹^{ag}	۵/۹۳±۰/۱۸^{ag}	۶/۰۱±۰/۲۲^{ag}

* (+S) و (-S) به‌ترتیب نشان‌دهنده نمونه‌های دارا و فاقد آغازگر است.
(a و b): حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت ($p< ۰/۰۱$) است.
(i و g): حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ($p< ۰/۰۱$) بین گروه‌هاست.

در جدول (٤) نتایج تغییرات درصد نمک و رطوبت نمونه‌های پنیر نشان داده شده است. با توجه به‌اینکه تفاوت معنی‌داری از نظر خصوصیات شیمیایی بین گروه‌های دارای و فاقد آغازگر مشاهده نگردید، میانگین نتایج هر دو گروه به‌عنوان درصد نمک و رطوبت در نظر گرفته شد. طبق این نتایج، تفاوت معنی‌داری در میزان این پارامترها طی دوره‌های مختلف تهیه و نگه‌داری پنیر مشاهده نشد.

جدول (٤)- تغییرات درصد نمک و رطوبت (میانگین ± انحراف معیار) طی روند تولید، گرمخانه‌گذاری و نگه‌داری پنیر فراپالایشی

نوع پنیر	زمان نگه‌داری (روز)								
	۰	۱	۵	۱۰	۲۰	۳۰	۴۰	۵۰	۶۰
نمک	-	۱/۶۲±۰/۱۵	۱/۷۱±۰/۱۳	۱/۷۳±۰/۱۲	۱/۸۵±۰/۰۸	۱/۸۰±۰/۰۹	۱/۸۱±۰/۱۳	۱/۷۹±۰/۱۵	۱/۸۲±۰/۱۹
رطوبت	٦٤/٥±٠/١١	٦٤/٦±٠/١٦	٦٤/١±٠/١٨	٦٤/٢±٠/١١	٦٤/٠±٠/١٢	٦٣/٨±٠/١١	٦٣/٦±٠/١٣	٦٣/٨±٠/١٦	٦٣/٥±٠/٢١

بحث و نتیجه‌گیری

حضور باکتری‌های بیماری‌زا در مواد غذایی و ورود آن‌ها به بدن، به‌ویژه در کودکان، سالمندان و افراد با ضعف سیستم ایمنی می‌تواند عوارض شدید و حتی مرگبار به‌دنبال داشته باشد. با توجه به اهمیت تغذیه‌ای شیر و فرآورده‌های آن و مصرف این محصولات از سوی افراد مختلف، کیفیت و استاندارد بالای بهداشتی آن از پیش‌نیازهای این گروه از مواد غذایی است. در همین راستا، طی مطالعات تلقیحی متعددی رشد و بقای میکروب‌های بیماری‌زا در فرآورده‌های شیر مورد بررسی قرار گرفته است (Erkmen, 1997; Mohammadi and Hanifian, 2014).

در مطالعه اخیر، با مقایسه تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در نمونه‌های حاوی کشت آغازگر و فاقد آن (نمودار ۱) می‌توان به تفاوت قابل‌ملاحظه در تعداد این باکتری پی برد. برآورد جمعیت باکتری‌های لاکتیکی

Archive of SID
www.SID.ir

نشـان داد، متعاقـب گرمخانـه‌گـذاری جمعیـت کشـت آغازگر افزایش یافته و به تبع آن pH نمونه‌ها بـه حـدود ٤/٨٠ کـاهش یافـت. از ایـن مرحلـه بـه بعـد تفـاوت چشم‌گیری در تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* بین نمونه‌های دارای آغازگر نسـبت بـه نمونـه‌هـای فاقـد آن مشـاهده گردید. بر اساس شواهد موجود به نظر می‌رسد فعالیـت کشت آغازگر و افت pH به‌عنوان مهم‌ترین دلیل کـاهش تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در نمونه‌هـای دارای آغـازگر باشـد. دلایـل مشـابهی در مطالعـات متعـدد بـرای ایـن موضوع مطرح شده است. ارکمن در مطالعـه‌ای فعالیـت کشت آغازگر به‌همراه افـزودن نمـک را دلایـل کـاهش تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در پنیر فتای ترکیه (Turkish Feta cheese) مطرح نمود. این روند نزولی به مـوازات سپری شدن دوره رسیدن پنیر و کاهش pH اتفـاق افتـاد (Erkman, 1997). در مطالعه دیگری اثر *لاکتوباسـیلوس بولگـاریکوس* و *اسـترپتوکوکوس ترموفیلـوس* بـر ماندگاری *یرسینیا انتروکولیتیکا* در پنیر سفید ایرانی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده هم‌خوانی بالایی با نتایج این مطالعه داشت. به این معنی که بـاکتری‌هـای لاکتیکی با کاهش pH پنیر موجـب مهـار رشـد و بقـای *یرسینیا انتروکولیتیکا* گردید (حنیفیـان و کـریم، ١٣٨٥). در مطالعات تلقیحـی انجـام یافتـه در پنیـر فراپالایشـی، بقای میکروب‌های مختلف مـورد ارزیـابی قـرار گرفتـه است. نتایج حاصل، بیانگر شباهت‌ها و تفـاوت‌هـایی بـا آن چه که در مطالعه اخیر به دست آمده است، می‌باشـد. برای مثال *استافیلوکوکوس اورئـوس* رفتـار مشـابهی بـا *یرسینیا انتروکولیتیکا* در واکنش به کاهش pH نشـان داد (Mohammadi and Hanifian, 2014). در حـالی کـه *مایکوباکتریوم اویوم پاراتوبرکلوزیس* نه تنهـا طـی دوره گرمخانه‌گذاری، بلکـه تـا روز ٣٠ دوره نگـه‌داری هـیچ کاهشـی در نتیجـه نـزول pH نشـان نـداد (Hanifian, 2014). به‌نظر مـی‌رسـد تفـاوت در رفتـار میکـروب‌هـا می‌تواند بـه توانـایی آن‌هـا در تحمـل شـرایط نامسـاعد محیطی و از آن جمله تفاوت در حساسـیت نسـبت بـه pH باشد.

براساس یافته‌های این مطالعه، درجـات متفـاوتی از مقاومت در برابـر عوامـل نامسـاعد در بـین سـویه‌هـای استاندارد و بومی *یرسینیا انتروکولیتیکـا* مشـاهده گردیـد (نمودار ١). به‌نظر می‌رسد سـویه‌هـای وحشـی *یرسـینیا انتروکولیتیکـا* در مقایسـه بـا سـویه‌هـای آزمایشـگاهی پایداری بیشتری در برابر اسـترس‌هـای محیطـی داشـته باشند. پدیده «*محافظـت متقـاطع*» (Cross-protection) مناسب‌ترین توجیهی است که می‌توان برای این موضوع مطرح نمود. به این معنی که در معرض قرارگیـری یـک ارگانیسم با تنش‌های محیطی، منجر به فعال شدن برخی ژن‌های مقاومـت شـده و در نتیجـه ارگانیسـم در برابـر استرس‌های بعدی پایدارتر می‌گردد. سویه بومی *یرسینیا انتروکولیتیکا* از جدایـه‌هـایی انتخـاب گردیـد کـه طـی مطالعـه‌ای از پنیـر سـنتی لیقـوان جداسـازی شـده بـود (Hanifian and Khani, 2012a). با توجـه بـه ایـن‌کـه شرایط داخلـی (Intrinsic parameters) پنیـر لیقـوان از نظر اسیدیته، درصد نمک (فشار اسمزی) و حضور فلور میکروبی رقیب با قابلیت تولیـد ترکیبـات آنتاگونیسـتی، شرایط دشوارتری در قیاس بـا محـیط پنیـر فراپالایشـی برای میکروب‌ها ایجاد می‌کند، لذا در چنین محیط‌هـایی باکتری‌هـا بـا واسـطه محافظـت متقـاطع جمعیـت‌هـای مقاوم‌تری بـرای تحمـل تـنش‌هـای محیطـی بـه‌وجـود مـی‌آورنـد (Capozzi *et al*., 2009; Bergholz *et al*.,

www.SID.ir

2012). در مقابل سویه‌های استاندارد شامل باکتری‌های هستند که در نتیجه رشد در شرایط آزمایشگاهی و به دور از تنش‌های محیطی به‌تدریج قابلیت‌های خود را از دست می‌دهند.

در این مطالعه تکثیر سریع *یرسینیا انتروکولیتیکا* طی دوره گرمخانه‌گذاری نشان می‌دهد، در صورت بروز آلودگی ثانویه در حین تولید و بسته‌بندی، باکتری مزبور امکان رشد و تکثیر سریع را خواهد داشت که از این نظر یک مخاطره بهداشتی محسوب می‌گردد. به‌علاوه با وجود اثر مهاری کشت آغازگر، تمامی سویه‌های *یرسینیا انتروکولیتیکا* بقای خود را تا پایان دوره نگهداری پنیر فراپالایشی حفظ نمودند. در نتیجه این باکتری به‌عنوان خطر بالقوه در ارتباط با مصرف پنیرهای فراپالایشی است که دچار آلودگی ثانویه شده‌اند و یا احتمالاً فرآیند پاستوریزاسیون به‌طور مؤثر برروی آن‌ها اعمال نشده است. با عنایت به این‌که جمعیت باکتری‌های آغازگر طی گرمخانه‌گذاری پنیر فراپالایشی افزایش قابل‌ملاحظه‌ای نداشت، لذا استفاده از دوره گرمخانه‌گذاری طولانی‌تر می‌تواند بر میزان رشد و فعالیت کشت آغازگر و به تبع آن در تولید اسید و ترکیبات آنتاگونیستی موثر باشد. در نهایت برای دست‌یابی به محصولی با کیفیت بهداشتی بالاتر و ایجاد حاشیه امنیت برای مصرف‌کنندگان، می‌توان از کشت‌های آغازگر با قابلیت تولید باکتریوسین‌ها و یا توانایی رشد در دماهای پایین‌تر بهره برد.

سپاسگزاری

این مطالعه در قالب پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد و با استفاده از امکانات آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز و همکاری بخش تحقیق و توسعه کارخانه شیر پاستوریزه پگاه آذربایجان‌شرقی انجام گرفت.

منابع

- حنیفیان، شهرام (۱۳۸۸). مطالعه تأثیر دوز تلقیح *یرسینیا انتروکولیتیکای* بر بقاء آن در پنیر سفید نگه‌داری شده در آب نمک. مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دوره ۳، شماره ۱، صفحات: ٤٣٤-٤٢٧.
- حنیفیان، شهرام (۱۳۹۰). جداسازی، شناسایی و تعیین *یرسینیا انتروکولیتیکا* بیماری‌زا از شیرهای پاستوریزه. مجله بهداشت مواد غذایی، دوره ٤، شماره ٤، صفحات: ٣٦-٢٣.
- حنیفیان، شهرام و کریم، گیتی (۱۳۸۵). مطالعه اثر متقابل *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* طی روند تولید و نگه‌داری پنیر سفید ایرانی. مجله علوم تخصصی دامپزشکی ایران، دوره ۳، شماره۲، صفحات: ٤٩٢-٤٨٥.
- Ackers, M.K., Schoenfeld, S., Markman, J., Smith, M.G., Nicholson, M.A., DeWitt, W., *et al*. (2000). An outbreak of *Yersinia enterocolitica* O:8 infections associated with pasteurized milk. Journal of Infectious Disease, 181(5): 1834–1837.

Archive of SID
www.SID.ir

- AOAC. (1995). Official Methods of Analysis, AOAC International. 16th Edition, Vol. 2, Chap: 33, Subchapter 7, Cheese, pp. 58–61.
- Aytaç, S.A. and Özbaş, Z.Y. (1992). Isolation of *Yersinia enterocolitica* from Turkish pickled white cheese. Australian Journal of Dairy Technology, 47(1): 60–62.
- Bergholz, T.M., Bowen, B., Wiedmann, M. and Boor, K.J. (2012). *Listeria monocytogenes* shows temperature-dependent and -independent responses to salt stress, including responses that induce cross-protection against other stresses. Applied and Environmental Microbiology, 78(8): 2602–2612.
- Bhaduri, S. and Cottrell, B. (1998). A simplified sample preparation method from various foods for PCR detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica*: a possible model for other food pathogens. Molecular and Cellular Probes, 12(2): 79–83.
- Bottone, E.J. (1991). *Yersinia enterocolitica*: overview and epidemiologic correlates. Microbes and Infection, 1(4): 323–333.
- Capozzi, V., Fiocco, D., Amodio, M.L., Gallone, A. and Spano, G. (2009). Bacterial stressors in minimally processed food. International Journal of Molecular Sciences, 10(7): 3076–3105.
- Erkmen, O. (1997). Survival of virulent *Yersinia enterocolitica* during the manufacture and storage of Turkish Feta cheese. International Journal of Food Microbiology, 33(2-3): 285–292.
- Gardiner, G., Ross, R.P., Collins, J.K., Fitzgerald, G. and Stanton, C. (1998). Development of a probiotic cheddar cheese containing human-derived *Lactobacillus paracasei* strains, Applied and Environmental Microbiology, 64: 2192–2199.
- Hanifian, S. (2014). Survival of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Ultra-filtrated white cheese. Letters in Applied Microbiology, 58(5): 466–471.
- Hanifian, S. and Khani, S. (2012a). Prevalence of virulent *Yersinia enterocolitica* in bulk raw milk and retail cheese in northern-west of Iran. International Journal of Food Microbiology, 155(1-2): 89–92.
- Hanifian, S. and Khani, S. (2012b). Fate of *Yersinia enterocolitica* during manufacture, ripening and storage of Lighvan cheese. International Journal of Food Microbiology, 156(2): 141–146.
- Hudson, J., King, N., Cornelius, A., Bigwood, T., Thom, K. and Monson, S. (2008). Detection, isolation and enumeration of *Yersinia enterocolitica* from raw pork. International Journal of Food Microbiology, 123(1-2): 25–31.
- Karami, M., Ehsani, M.R., Mousavi, S.M., Rezaie, K. and Safari, M. (2009). Changes in the rheological properties of Iranian UF-Feta cheese during ripening. Food Chemistry, 112(3): 539–544.
- Longenberger, A.H., Gronostaj, M.P., Yee, G.Y., Johnson, L.M., Lando, J.F., Voorhees, R.E., *et al*. (2014). *Yersinia enterocolitica* infections associated with improperly pasteurized milk products: southwest Pennsylvania, March-August, 2011. Epidemiology and Infection, 142(8): 1640–50.
- Minnich, S.A., Smith, M.J., Weagant, S.D. and Feng, P. (2001). Yersinia, In: Hui, Y.H., Pierson, M.D. and Gorham, J.R. (Editors), Foodborne Diseases Handbook. Vol. 1, CRC Press LLC, p. 677.
- Mohammadi, K. and Hanifian, S. (2014). Growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* in Iranian ultra-filtered white cheese. International Journal of Dairy Technology, DOI: 10.1111/1471-0307.12158.
- Robins-Browne, R.M. and Hartland, E.L. (2003). Yersinia Species, In: Marianne, D.M., and Jeffery, W.B. (Editors), International Handbook of Foodborne Pathogens. Marcel Dekker Inc, p. 858.
- Skurnik, M., Radström, P., Knutsson, R., Segerman, B., Hallanvuo, S., Thisted Lambertz, S., *et al*. (2010). Yersinia. In: Liu, D. (Editor), Molecular Detection of Foodborne Pathogens. CRC Press, New York, pp. 501–513.
- Soltan-Dallal, M.M., Tabarraie, A. and MoezArdalan, K. (2004). Comparison of four methods for isolation of *Yersinia enterocolitica* from raw and pasteurized milk from northern Iran. International Journal of Food Microbiology, 94(1): 87–91.
- Thisted Lambertz, S. and Danielsson-Tham, M.L. (2005). Identification and characterization of pathogenic *Yersinia enterocolitica* isolates by PCR and pulsed-field gel electrophoresis. Applied and Environmental Microbiology, 71(7): 3674–3681.

Archive of SID
www.SID.ir

- Zadernowska, A., Wierzchowska, W.C. and Trokenheim, L.L. (2014). *Yersinia enterocolitica*: A dangerous, but often ignored, foodborne pathogen. Food Reviews International, 30(1): 53–70.
- Weagant, S.D. and Feng, P. (2001). Yersinia, In: Pouch Downes, F. and Ito, K. (Editors), Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 3th Edition, American Public Health Association, Washington DC, pp. 421–428.
- Weagant, S.D., Feng, P. and Stanfield, J.T. (1998). *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*, In: Jackson, G.J., Merker, R.I. and Bandler, R. (Editors), Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, FDA publication, USA, pp. 156–170.

Archive of SID

www.SID.ir

Behavior of various strains of *Yersinia enterocolitica* in Ultra-filtered cheese and inhibitory effect of lactic starter bacteria

Vaseghi Bakhshayesh, R.[1], Hanifian, S.[2]*

1- M.Sc Graduate in Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
*Corresponding author email: hanifian@iaut.ac.ir
(Received: 2015/1/11 Accepted: 2015/7/22)

Archive of SID

Abstract

This study aimed to assess the behavior of various strains of *Yersinia enterocolitica* in ultra-filtered (UF) cheese and to evaluate the inhibitory effect of lactic starter bacteria on survival of *Y. enterocolitica*. To this end, pasteurized ultra-filtered milk was inoculated with 3 log cfu/g of two standard strains (DSM 11502 and DSM 9499) and one native strain of *Y. enterocolitica*. UF cheese samples were produced with and without starter culture. Enumeration of *Y. enterocolitica* was performed at the time of inoculation, after incubation time and during the 2-months storage period on CIN agar. The enumerated colonies were confirmed by PCR. Results revealed that after incubation, the populations of *Y. enterocolitica* in both groups increased by 4.14 log cfu/g ($P < 0.01$). However, during the storage period the number of *Y. enterocolitica* decreased only in the samples made with starter cultures. pH values revealed a significant difference ($P < 0.01$) between the samples made with and without starter culture; therefore, it seems that acidic pH is the major factor inhibiting the survival of *Y. enterocolitica* in UF cheese. Besides, a significantly ($P < 0.01$) different behavior was observed among native and standard strains. Considering the inhibitory effect of starter bacteria, it seems that creation of proper conditions in terms of temperature and the time necessary for proliferation and activity of starter bacteria or application of cultures capable of producing antagonistic products can be effective in controlling possible microbial contaminations along with the development of desirable aroma and texture in UF cheese.

Key words: *Yersinia enterocolitica*, Ultra-filtered cheese, Starter cultures

www.SID.ir