Archive of SID

اثر ترکیبی لاکتوباسیلوس ها همراه با اتیلن دی آمین تترااستیک اسید(EDTA) در کنترل *باکتری های پاتوژن* در گوشت چرخ کرده مرغ

ندا علی عباسی[۱]، فریبا زینالی[۲*]، جواد علی اکبرلو[۳]

۱- دانشجوی مقطع کارشناسی ارشد رشته صنایع غذایی از دانشگاه ارومیه
۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه
۳- دانشیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۹/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹٦/۰۱/۲۸)

چکیده

گوشت مرغ به دلیل ترکیب غنی مواد مغذی، pH بالا (٦/٥- ٥/٥)و a_w بالا (۰/۹۹-۰/۹۸)بسیار فسادپذیر است که این شرایط رشد و بقاء تقریباً هرگونه میکروارگانیسمی را حمایت می‌کند. در میان روش‌های طبیعی حفاظت مواد غذایی استفاده از کنترل گرهای زیستی به دلیل اثرات مفیدی که بر سلامت انسان دارند مورد توجه بسیاری می‌باشد در این مطالعه تاثیر *لاکتوباسیلوس پلانتارم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* 10^5 Cfu/gr از هر کدام) به صورت ترکیبی و همراه با EDTA (۵۰ mM) بر شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها، *سالمونلاتیفی موریوم* و *اشرشیا کلای* در گوشت چرخ کرده مرغ طی ٦ روز نگهداری در ^0C ۱± ٤ و در شرایط بسته بندی معمولی بررسی شد. بر طبق نتایج تلقیح لاکتوباسیلوس‌ها به صورت ترکیبی و نیز تلقیح لاکتوباسیلوس‌ها همراه با EDTA اثر معنی داری($p<$ ۰/۰۵) در کاهش تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی بااحتمال حداقل یک روز افزایش ماندگاری داشتند که بیشترین تاثیر کاهشی برای تیمار ترکیبی همراه با EDTA به دست آمد. همچنین بر طبق نتایج دو تیمار مذکور قادر به اثرگذاری معنی دار $P<$۰/۰۵ در تعداد باکتری‌های پاتوژن (*سالمونلا تیفی موریوم* *واشرشیاکلای*) بودند. تیمار ترکیبی لاکتوباسیلوس‌ها و EDTA در روز سوم نگهداری قادر به کاهش *سالمونلا تیفی موریوم* و *اشرشیاکلای* به ترتیب به میزان (۰/۸۳ و۱/٤۹ سیکل لگاریتمی) بود. در کل به منظور اثرگذاری بهتر لاکتوباسیلوس‌ها توصیه می‌شود که از سیستم‌های ترکیبی در گوشت با بار میکروبی اولیه کمتر استفاده شود.

کلید واژگان: گوشت مرغ، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس پلانتارم*، *سالمونلا تیفی موریوم* ،*اشرشیاکلای*

* مسئول مکاتبات: F.zeynali@ urmia.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

۱- مقدمه

گوشت مرغ به دلیل ترکیب غنی مواد مغذی، pH بالا (۶/۵ – ۵/۵) و aw بالا (۰/۹۹ –۰/۹۸) بسیار فساد پذیر است که این شرایط، رشد تقریباً هرگونه میکروارگانیسمی را حمایت می‌کند [۱]. گوشت مرغ یکی از شایع‌ترین مواد غذایی است که در بروز عفونت‌های غذازاد نقش دارد. مخصوصاً عفونت‌هایی که به وسیله سالمونلا*اشرشیاکلای* و کمپیلوباکتر صورت می‌گیرند. باکتری *اشرشیاکلی* عامل یکی از مهمترین و شایع ترین بیماری‌های غذازاد در سراسر جهان است بر طبق گزارش های مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها، باکتری *اشرشیاکلی* عامل بروز بیش از ۲۰/۰۰۰ عفونت و بیش از ۲۵۰ مورد مرگ در هر سال است [۲،۳]. در ایالات متحده امریکا بیماری سالمونلا جزء دومین مورد از بیماری های ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده می باشد که دارای شیوع گسترده‌ای در آسیا (کره، ژاپن و تایلند و ...) می‌باشد [٤]. وقوع بیش از ۱۰۰۰ مورد مرگ در سال که به علت عفونت با باکتری سالمونلا رخ می‌دهد سبب شده است که باکتری سالمونلا به عنوان مرگ آورترین پاتوژن غذازاد شناخته شود [۵]. در سال های اخیر روش کنترل زیستی به عنوان یک روش حفاظت طبیعی برای افزایش ماندگاری و ایمنی غذاها مورد توجه قرار گرفته است. لاکتیک اسید باکتری‌ها توانایی تولید رنج وسیعی از متابولیت های ضدمیکروبی از جمله اسیدهای ارگانیک (اسیدلاکتیک، اسیداستیک)، هیدروژن پراکسید و باکتریوسین ها را دارا می باشند که این عوامل ضد میکروبی می توانند رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماری زا همچون *لیستریامونوسیتوژنز* را کنترل کنند [٦]. بیشتر مطالعات در بررسی ویژگی‌های ضد میکروبی باکتری‌های اسید لاکتیک در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفته‌است و مطالعات کمی در ارتباط با تاثیر بازدارندگی آن‌ها در گوشت قرمز و گوشت مرغ موجود است[٦]. چندین عامل سبب سختی استفاده از عوامل بیوکنترلی در گوشت تازه می‌شوند که شامل :

۱- حضور آنزیم‌های پروتئولیتیک به مقدار زیاد در گوشت تازه سبب تجزیه باکتریوسین‌های تولیدی توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک میشود.

۲- وجود مقدار زیاد پروتئین و چربی در گوشت سبب حفاظت از میکروارگانیسم‌های عامل فساد و پاتوژن در مقابل کشت های محافظت کننده می‌شود.

۳- گوشت تازه اغلب توسط باکتری‌های گرم منفی آلوده می‌شود که در حالت کلی باکتریوسین‌های تولیدی بر آن‌ها تاثیری ندارند

٤- گوشت تازه شامل انواع مختلفی از باکتری‌ها در تعداد زیاد می‌باشد که باکتری‌های اسید لاکتیک به منظور تاثیرگذاری باید قادر به رقابت و غلبه بر این باکتری‌ها درطول دوره‌نگهداری گوشت باشند [٦]. در بحث حفاظت از مواد غذایی باکتری‌های عامل فساد و پاتوژن‌های گرم منفی به دلیل مقاومت ذاتی آن‌ها نسبت به تعدادی از عوامل ضدمیکروبی از جمله باکتریوسین‌ها بسیار مورد توجه هستند [۷،۸]. مواد شلاته کننده همچون اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) به عنوان افزودنی غذایی قابل استفاده در مواد غذایی هستندکه با شلاته کردن کاتیون‌های دوظرفیتی همچون Ca^{2+} و Mg^{2+} سبب ناپایداری و تغییر نفوذپذیری غشای باکتری‌های گرم منفی می‌شوند [۹]. در مطالعه حاضر تاثیر *لاکتوباسیلوس پلانتارم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به عنوان دو گونه تولید کننده باکتریوسین به صورت ترکیبی و نیز همراه با EDTA بر تعداد باکتری های ایکولای و *سالمونلا تیفی موریوم*، مزوفیل هوازی و pH در گوشت چرخ کرده مرغ نگهداری شده در دمای یخچال در شرایط هوازی به مدت ٦ روز بررسی شده است.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- آماده سازی لاکتوباسیلوس ها

لاکتوباسیلوس پلانتارم و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* با مشخصات :

Lactobacillus plantarum subsp.plantarum (PTCC 1745 DSM 20174)
Lactobacillus acidophilus (PTCC 1643 DSM 20079)

به صورت خشک شده به روش انجمادی از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم های سازمان علمی – پژوهشی ایران خریداری شده ودرMRS براث (Merck, Germany)به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ °C و در شرایط میکروائروفیل فعال شدند [۱۰]. سپس به منظور تهیه کشت تازه و جوان از سلول های باکتری‌ها این عمل دو بار دیگر نیز با تلقیح حجم یک میلی ایتر به ۱۰ میلی لیتر MRS براث تازه انجام شد.به منظور نگهداری باکتری ها در دمای یخچال تا روز آزمایش ، باکتری

www.SID.ir

Archive of SID

ها با روش کشت خطی به محیط MRS اگار(Merck, Germany)انتقال داده شدند و بعد از رشد در شرایط میکروائروفیل در مدت ۲٤ ساعت تا روزآزمایش در یخچال نگهداری شدند. روز قبل از شروع آزمایش از کلنی تک از هر کدام از لاکتو باسیلوس ها به ۱۰ میلی لیتر MRS براث تازه انتقال داده شد و در دمای ۳۷°C به مدت ۱۸ ساعت (به منظور تلقیح لاکتوباسیوس ها در فاز لگاریتمی) در شرایط میکروائروفیل انکوبه شدند. به منظور تهیه باکتری خالص، محیط کشت‌های حاوی سلول‌های باکتری در ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ^{0}C ٦ و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ (SIGMA 3K30Laboratory centrifuges-Germany) گردیدند و بعد از دور ریختن مایع شناور رویی و جایگزین کردن آن با سرم فیزیولوژی (۰/۸۵٪ نمک طعام) به منظور حذف کامل محیط کشت ته رسوب حاصل بار دیگر در شرایط قبلی سانتریفیوژ گردید و مایع رویی دور ریخته شد و در انتها تعداد هرکدام از لاکتوباسیلوس‌ها توسط اسپکتروفتومتر (6315JENWAY England) در $OD_{٦٠٠nm}$ =۰/۱ در سرم فیزیولوژی در مقدار تقریبی 10^7CFU/ml تنظیم شد. (Neetoo et al., 2007) به منظور اطمینان از غلظت تعیین شده از سوسپانسیون حاصل تا رقت 10^{-6} رقت سازی و در محیط MRS آگار کشت داده شد که پس از شمارش غلظت باکتری‌ها در حدود (10^6-10^7 CFU/gr) بود.

۲-۲-آماده سازی باکتری های پاتوژن

سالمونلا تیفی موریوم و ایکولای با مشخصات:

(*Salmonella enterica subsp. Entrica Serovar typhimurium*(ATCC14028))

(*Ecoli*157:H7(ATCC 15223))

به صورت فریز شده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد در کرایوتیوپ‌های حاوی ۲۰٪ گلیسرول از آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی تهیه شدند . برای به دست آوردن کشت تازه از باکتری‌های ایکولای و سالمونلا، ۱۰۰ میکرولیتر از باکتری‌های پاتوژن به دو لوله حاوی ۱۰ میلی لیتر BHI براث (Merck, Germany) انتقال داده شد و در دمای ^{0}c ۳۷ به مدت ۲٤ ساعت ثکثیر داده شدند سپس از کشت اول کشت دومی در همان محیط تهیه نموده و در دمای ^{0}c ۳۷ به مدت ۱۸ ساعت گرم خانه گذاری شد. برای تهیه باکتری خالص، محیط کشت های حاوی سلول های باکتریایی در ٤۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و بعد از دور ریختن مایع شناور رویی و جایگزین کردن آن با سرم فیزیولوژی (۰/۸۵٪NaCl) عمل سانتریفیوژ برای بار دوم نیز انجام گرفت و در انتها تعداد باکتری‌های ایکولای و سالمونلا در سرم فیزیولوژی توسط اسپکتروفتومتر $OD_{٦٠٠nm}$ =۰/۱ در غلظت تقریبی 10^6cfu/gr تنظیم شدند. به منظور اطمینان از غلظت تعیین شده از سوسپانسیون های حاصل رقت سازی شد و در محیط BHI آگار کشت داده شد که پس از شمارش تعداد باکتری‌های مذکور در محدوده 10^5 Cfu/g تا 10^6 Cfu/g بود.

۲-۳-آماده‌سازی محلول EDTA

محلول استوک ۵۰۰mM از نمک سدیم اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (Na_2EDTA) با حل کردن ۱/۸٦ gr از پودر آن در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر دیونیزه قبل از اضافه کردن به نمونه ها و به صورت تازه تهیه شد و سپس تا غلظت ۵۰mM رقیق شد. سپس محلول با عبور از فیلتر ۰/۲µm استریل شد و در انتها از محلول ۵۰ mM آن۵۰۰ میکرولیتر به ازاء ۱۰۰ گرم نمونه اضافه شد[۱۱].

۲-٤-آماده‌سازی تیمارها

مرغ محلی خریداری و در روز آزمایش کشتار شد. سینه مرغ همراه با پوست آن جداسازی شد. سپس سینه مرغ در کنار شعله و در شرایط استریل پوست کنی و چرخ شد و به صورت ۹ نمونه ۱۰۰ گرمی در بسته های زیپ پک بسته بندی شد. لازم به ذکر است که هر دو سطح بسته‌ها یک ساعت قبل توسط اشعه UV استریل شدند و تیمارها به صورت زیر تهیه شدند :

۱- **C** (کنترل) حاوی گوشت چرخ شده مرغ

۲- **AP+C** (گوشت چرخ کرده مرغ + هر دو لاکتوباسیل)

۳- **APE+C** (گوشت چرخ کرده مرغ + هر دو لاکتوباسیل+ EDTA)

٤- **E+C** (گوشت چرخ کرده مرغ + باکتری ایکولای)

۵- **AP+E+C** (گوشت چرخ کرده مرغ + باکتری ایکولای+ هردو لاکتوباسیل)

٦- **APE+E+C** (گوشت چرخ کرده مرغ + باکتری ایکولای+ هر دو لاکتوباسیل + EDTA)

۷- **S+C** (گوشت چرخ کرده مرغ + باکتری سالمونلا)

www.SID.ir

Archive of SID

۸- **AP+S+C** (گوشت چرخ کرده مرغ + باکتری سالمونلا + هر دو لاکتوباسیل)

۹- **APE+S+C** (گوشت چرخ کرده مرغ + باکتری سالمونلا + هردو لاکتوباسیل + EDTA)

تیمارها بلافاصله بعد از تهیه و بسته بندی شدن در زیپ پک‌های استریل ۳ بار در استومیکر با دور ۲۰۰ rpm به مدت یک دقیقه و سپس توسط ماساژ با دست هموژن شدند. لازم به ذکر است نمونه‌ها بعد از اضافه کردن باکتری‌ها به منظور تثبیت باکتری‌ها ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند و سپس به یخچال منتقل شدند و به مدت ٦ روز در یخچال نگهداری شدند و هر سه روز یکبار از نظر تاثیر تیمارها بر جمعیت گروه های میکروبی بررسی شدند.

۲-۵-روش انجام آزمایش میکروبی

۱۰ گرم نمونه گوشت در یک کیسه استومیکر قرار داده شد. سپس ۹۰ میلی لیتر محلول نمک استریل شده (ml ۰،۸۵gr/۱۰۰) به آن اضافه شد و در استومیکر در دور rpm ۲۰۰ به مدت یک دقیقه هموژن گردید (۱/۱۰). سپس رقت های بعدی در لوله های حاوی سرم فیزیولوژی (۰/۸۵٪) تهیه شد و در پلیت های حاوی محیط کشت‌های انتخابی، کشت داده شد.

۱-کشت و شمارش باکتری های مزوفیل هوازی به روش کشت صفحه‌ای استاندارد در محیط PCA (Merck,Germany) بعد ٢٤ ساعت گرم خانه گذاری و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انجام گرفت [۱۲].

۲- کشت و شمارش باکتری *ایکولای* در محیط سوربیتول مک کانکی آگار(Merck, Germany) بعد از ٢٤ ساعت گرم خانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انجام گرفت [۱۳].

۳- کشت و شمارش باکتری *سالمونلا* در محیط بیسموت سولفیت آگار (Merck,Germany) در شرایط هوازی بعد از ۲۰ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در ۳۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت [١٤].

به منظور بررسی وجود باکتری های *ایکولای* و سالمونلا در خود گوشت مرغ قبل از تلقیح باکتری‌های پاتوژن از نمونه‌های گوشت در محیط‌های سوربیتول مک کانکی آگار و بیسموت سولفیت آگار کشت داده شد که بعد از شمارش تعداد هر دو باکتری زیر محدوده قابل قرائت بود. بعد از شمارش تعداد باکتری‌ها به صورت log cfu/gr گزارش شد.

۲-٦-اندازه‌گیری pH

برای اندازه گیری pH مقدار ۱۰ گرم نمونه در ۹۰ میلی لیتر آب مقطر توسط دستگاه هموژنیزاتور با دور ۱۰۰۰ در دقیقه هموژنیزه شد و با وارد کردن الکترود pH متر در مخلوط، pH اندازه گیری شد[۱۵].

۲-۷-آنالیز اماری

نتایج با استفاده از آزمایشات فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با دو فاکتور تجزیه شد. فاکتور اول زمان نگهداری در ۳ سطح (۰،۳،٦ روز) و فاکتور دوم نوع تیمار در ۹ سطح می باشد. آزمایشات در کلیه مراحل با سه تکرار انجام گرفت و آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار(SPSS) و مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن انجام شد و مقادیر ($P<0.05$) معنی دار در نظر گرفته شد. ضمنا داده ها به صورت میانگین ±Sd (انحراف استاندارد) گزارش شده است. حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار است ($P<0.05$).

۳- نتایج وبحث

۳-۱-تاثیر تیمارها بر شمارش کلی میکروارگانیسم ها

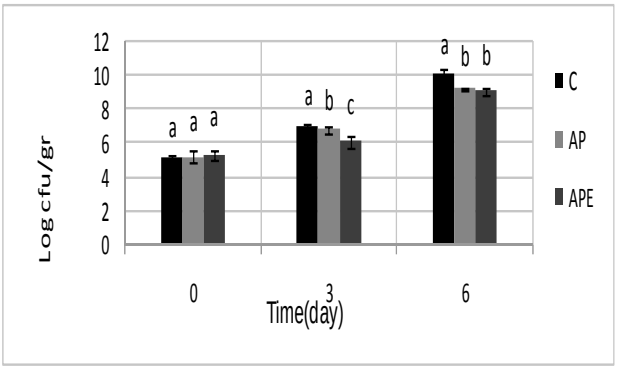

Fig 1 Effect of treatments on mesophilic counts during 6 days of storage at 4±1^{0}c (C:control,AP:control+*acidophilus*+*plantarum*,APE:control+*acidophilus*+*plantarum*+EDTA)

به طور کلی در طول مدت نگهداری نمونه‌ها در دمای یخچال، فلور میکروبی به طور معنی داری ($P<$(۰/۰۵)) در تمام نمونه‌ها

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش یافت که سرعت این افزایش در نمونه‌های کنترل بیشتر بود. در روز اول، لگاریتم تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی در گرم log cfu/gr در نمونه‌ها (٦logcfu/gr-٥) بود که با نتایج آزمایش اسماعیل و همکاران در سال ۲۰۰۰ برای شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در گوشت چرخ کرده مرغ و نتایج امانی در سال ۲۰۱۲ برای گوشت چرخ کرده گاو مطابقت داشت [۱٦،۱۷]. ولی با نتایج کئوکامنرد و همکاران در سال ۲۰۰۸ مغایرت داشت که بر طبق گزارش آن‌ها شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها بعد از ۳ روز نگهداری گوشت چرخ کرده مرغ در حدود log cfu/gr ٤ بود [۱۸]. علت این اختلاف می‌تواند به دلیل افزایش بار میکروبی گوشت به هنگام کشتار، پوست کنی و چرخ کردن باشد[۱۹]. شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در نمونه کنترل در روز سوم به میزان log cfu/gr ۷ رسید که به عنوان بالاترین حد مجاز میکروبی برای مواد غذایی توسط ICMFS[1] در سال ۱۹۸٦ تعریف شده است [۲۰] که با نتایج مکزیس و همکاران در سال ۲۰۱۲ و هساپیدا و ساویدیس در سال ۲۰۱۱ مطابقت داشت [۲۱،۱۱]. در روز سوم شمارش میکروارگانیسم‌های مزوفیل هوازی در سه نمونه اختلاف معنی داری داشتند $p<$ ۰/۰۵ به طوری که تعداد باکتری‌ها در نمونه APE+C , AP+C به ترتیب ۰,۲۵ و ۰,٦٦ سیکل لگاریتمی کمتر از نمونه C بود. در روز ششم نیز شاهد اختلاف معنی‌دار $p<$ ۰/۰۵ بین نمونه‌ها بودیم به طوری که تعداد باکتری‌ها در نمونه‌های APE+C, AP+C به ترتیب ۰/۸۲ و ۰/۹۷ سیکل لگاریتمی کمتر از نمونه C بود. ولی در روز ششم دو نمونه APE+C , AP+C از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. $p>$۰/۰۵ علت اختلاف در تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی می‌تواند به دلیل کاهش pH و تولید ترکیبات ضد میکروبی توسط لاکتوباسیلوس‌ها باشد [۲۲]. هم‌چنین تعداد کم باکتری‌ها در نمونه APE+C نسبت به نمونه AP+C و C در روز سوم نیز می‌تواند به علت اثر سینرژیستی EDTA و لاکتوباسیلوس‌ها باشد به طوری که EDTA با تخریب غشای باکتری‌های گرم منفی سبب نفوذپذیر شدن آن‌ها نسبت به ترکیبات ضد میکروبی تولید شده توسط لاکتوباسیلوس‌ها شده است. بر طبق نتایج ایکانومو و همکاران در سال ۲۰۰۸ تیمار ترکیبی (Nisin ۵۰۰ IU/gr) و (۵۰ mM) EDTA بیشترین تاثیر را در افزایش ماندگاری گوشت مرغ در شرایط اتمسفر تغییر یافته داشت [۲۳]. نتایج شمارش میکروارگانیسم‌های مزوفیل هوازی با نتایج امانی در سال ۲۰۱۲ و لوری در سال ۲۰۱۰ مطابقت داشت که در مطالعه انجام گرفته توسط آن‌ها، سرعت رشد میکروارگانیسم‌های مزوفیل هوازی به دلیل استفاده از باکتری‌های اسید لاکتیک در نمونه‌های گوشت گاو کاهش پیدا کرد[۲٤،۱٦].

۳-۲- تاثیر تیمارها بر جمعیت *سالمونلا تیفی موریوم*

در مطالعه حاضر در روز سوم تاثیر کاهشی تیمارها بر جمعیت باکتری سالمونلا مشاهده شد $p<$ ۰/۰۵ به طوریکه تعداد باکتری در نمونه‌های APE+C+S , AP+C+S به ترتیب به میزان ۰/٤٦ و ۰/۸۳ سیکل لگاریتمی کمتر از نمونه C+S بود. در روز ششم بین نمونه‌های C+S, AP+C+S اختلاف معنی داری وجود نداشت در حالی که بین نمونه‌های (APE+C+S, C+S) و (APE+C+S, AP+C+S) اختلاف معنی دار وجود داشت به طوریکه تعداد باکتری در نمونه APE+C+S به میزان ۰/۱۹ سیکل لگاریتمی کمتر از نمونه C+S بود و نیز تعداد باکتری در نمونه APE+C+S به میزان ۰/۱۵ سیکل لگاریتمی کمتر از نمونه AP+C+S بود.

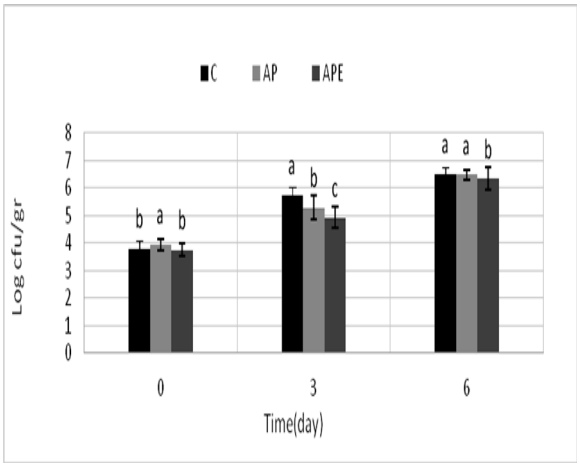

Fig 2 Effect of treatments on *salmonella typhimurium* during 6 days of storage at 4±1^{0}c (C:control+salmonella,AP:control+salmonella+*acidophilus+plantarum*,APE:control+salmonella+*acidophilus+plantarum*+EDTA)

1. International Commission on Microbiological Specifications for Foods.

www.SID.ir

Archive of SID

طبق نتایج، تیمار حاوی لاکتوباسیلوس‌ها به تنهایی فقط در روز سوم قادر به کاهش تعداد باکتری پاتوژن بود. طبق گزارش انانگ و همکاران نیز سالمونلاهای موجود در محصولات تخمیری شیر و گوشت مرغ نوعی تطابق با شرایط اسیدی موجود پیدا کردند، لذا بهره گیری از روش‌های هاردل در کنترل باکتری سالمونلا تیفی موریوم توصیه شد [۲۵]. از طرفی طبق نتایج کیلاو و همکاران تلقیح ترکیبی ٤ گونه مختلف از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (10^7 Cfu/g از هر کدام) در گوشت تازه گاو نگهداری شده در شرایط خلا در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد سبب کاهش ۳ سیکل لگاریتمی در جمعیت باکتری *ایکولای* بعد از ۵ روز نگهداری در شرایط خلا شد و تعداد باکتری سالمونلا به حد زیر قابل شمارش رسید [۲٦]. طبق گزارش کیلا و همکاران تاثیرگذاری عوامل بیوکنترلی بر باکتری‌های پاتوژن به شرایط نگهداری گوشت بستگی دارد به طوری که بیشترین تاثیر کاهشی بر سالمونلا در تیمارهای گوشت نگهداری شده در شرایط خلا و بیشترین تاثیر کاهشی علیه اشرشیاکلی در تیمارهای گوشت نگهداری شده در شرایط اتمسفر تغییر یافته مشاهده شد [۲٦]. طبق گزارش دورتو و همکاران تاثیرگذاری عوامل بیوکنترلی بر باکتری‌های پاتوژن به نوع گوشت نیز بستگی دارد به طوری که لاکتوباسیلوس ساکی و کورواتوس در حالت تکی قادر به کاهش تعداد لیستریامونوسیتوژنز در گوشت تازه گاو در شرایط هوازی و در دمای یخچال بودند ولی تاثیر کاهشی در گوشت مرغ آلوده شده با این پاتوژن نداشتند و فقط در حالت ترکیبی موثر بودند [۲۷].

۳-۳- تاثیر تیمارها بر جمعیت *ایکولای*

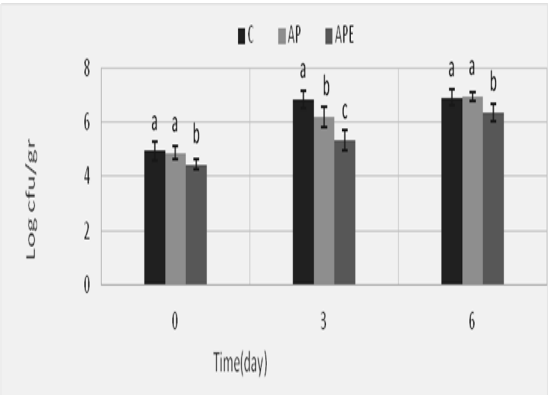

Fig 3 Effect of treatments on *E.coli* O157:H7 during 6 days of storage at 4 ± 1^0c (C:control+*E.coli*,AP:control+*E.coli+acidophilus+plantarum*,APE:control+*E.coli+acidophilus+plantarum*+EDTA)

تعداد باکتری ایکولای در روز صفر در نمونه APE+C+E حدود ۰/٤۹ سیکل لگاریتمی از نمونه C+E و حدود ۰/٤۲ سیکل لگاریتمی از نمونه AP+C+E کمتر بود که علت آن می‌تواند به دلیل تاثیر مستقیم EDTA بر باکتری ایکولای باشد. در روز سوم تعداد باکتری در نمونه‌های AP+C+E و APE+C+E به ترتیب ۰/٦۳ و ۱/٤۹سیکل لگاریتمی از نمونه C+E کمتر بود. در روز ششم تعداد باکتری در نمونه C+E و AP+C+E اختلاف معنی دار نداشتند در حالیکه تعداد باکتری در نمونه APE+C+E اختلاف ۰/۵۷ سیکل لگاریتمی با نمونه کنترل و ۰/٦۱سیکل لگاریتمی با نمونه AP+C+E داشت. در مطالعه حاضر جمعیت باکتری پاتوژن در طول ٦ روز نگهداری گوشت در دمای ^{0}C ۱ ± ٤ در تمام نمونه ها افزایش پیدا کرد با این تفاوت که رشد باکتری ایکولای در نمونه کنترل از روز سوم تا ششم در مقایسه با روز صفرام تا سوم خیلی کمتر بود که این روند احتمالاً به دلیل رشد بی‌رویه باکتری‌های دیگر خصوصاً باکتری‌های سرمادوست از روز سوم به بعد بوده که توانسته‌اند بر سایر باکتری‌ها از جمله ایکولای غلبه نموده و رشد این باکتری را محدود کنند. با این تفاوت که سرعت افزایش تعداد باکتری در نمونه‌های، APE+C+E AP+C+E نسبت به نمونه C+E کمتر بود این در حالی است که در مطالعه انجام گرفته توسط پاتریشیا و همکاران که تاثیر *لاکتوباسیلوس کورواتوس* و *لاکتوکوکوس لاکتیس* را به صورت ترکیبی با هم و همراه با EDTA بر جمعیت باکتری ایکولای در گوشت چرخ کرده گاو بررسی کردند تاثیر کاهشی در جمعیت باکتری پاتوژن نسبت به تعداد آن در روز صفر مشاهده شد که این تفاوت می‌تواند به دلیل تاثیر مهاری بیشتر پروبیوتیک های مورد استفاده و یا ماهیت کشت‌های محافظت کننده در آن تحقیق بوده و هم چنین میتواند به این دلیل باشد که چون در آن تحقیق از غلظت 10^7 لاکتوباسیلوس‌ها به ازای هر گرم گوشت استفاده شد در حالی که در مطالعه حاضر ازغلظت 10^9 cfu/gr استفاده شد[۲۸]. طبق نتایج تاثیر عوامل بیوکنترلی و تاثیر عوامل بیوکنترلی + EDTA در جلوگیری از رشد ایکولای بیشتر از *سالمونلا تیفی موریوم* بود. طبق گزارش پاتریشیا و همکاران در سال ۲۰۱۰ و نیز بزیاریس و ادمز در سال ۱۹۹۹ نیز سالمونلا مقاوم‌تر از ایکولای نسبت به باکتریوسین و مواد شلاته کننده می‌باشد و در میان باکتری های گرم منفی سودوموناس حساس ترین نسبت به عوامل ضد

www.SID.ir

Archive of SID

میکروبی مذکور می‌باشد [۲۸،۲۹]. بیشترین تاثیر کاهشی لاکتوباسیلوس‌ها و لاکتوباسیلوس‌ها + EDTA بر جمعیت ایکولای و سالمونلا در روز سوم مشاهد شد که با نتایج امانی و نتایج کیلاو و همکاران مطابقت داشت به طوریکه در طول دوره نگهداری تاثیر عوامل بیوکنترلی کاهش یافت و در روز هفتم دوره نگهداری تاثیر کاهشی لاکتوباسیلوس بر پاتوژن *بروکوتریکس ترموسفاکتا* مشاهده نشد[۲٦]. رشد باکتری‌های پاتوژن ایکولای و سالمونلا در طی ٦ روز نگهداری برای نمونه کنترل در دمای $1 \pm 4^{0}C$ به ترتیب حدود ۲ سیکل لگاریتمی و ۳ سیکل لگاریتمی بود که با نتایج گزارش شده توسط من و براشیر در سال ۲۰۰٦ و رابی وانیگام در سال ۲۰۰۹ مطابقت داشت.[۳۰،۳۱] اختلاف جزئی در رشد باکتری‌های پاتوژن در دمای ثابت و شرایط نگهداری و محیط یکسان می‌تواند به دلیل آلوده بودن خود گوشت با باکتری‌های پاتوژن و یا به میزان آداپته شدن باکتری‌های پاتوژن به محیط جدید قبل از انکوبه کردن در دمای مورد نظر و هم چنین به اختلاف در محیط کشت انتخابی برای شمارش باکتری‌های پاتوژن بستگی داشته باشد [۲۸].

در این تحقیق شمارش لاکتوباسیلوس‌ها انجام نشد ولی بر اساس گزارشات مقالات مشابه لاکتوباسیلوس‌ها در دمای یخچال قادر به فعالیت و اثرگذاری می باشند به طوری که در مطالعه انجام گرفته توسط پاتریشیا و همکاران در سال ۲۰۱۰ تعداد *لاکتوباسیلوس کورواتوس* در گوشت گاو در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد از مقدار ۷/٦۲ به ۹/۱۰ و تعداد *لاکتوکوکوس لاکتیس* نیز حدود ۱/۹۰ سیکل لگاریتمی افزایش یافت[۲۸].هم چنین طبق نتایج مطالعات قبلی که از *لاکتوباسیلوس پلانتارم* به عنوان کشت محافظت کننده در دمای یخچال استفاده شد این لاکتوباسیلوس در طول دوره نگهداری نمونه‌ها رشد نکرد و تعداد آن ثابت ماند ولی قادر به تاثیرگذاری علیه باکتری *ایکولای* در طول دوره نگهداری بود و بر اساس نتایج بدست آمده توسط راکاه و همکاران به منظور تاثیرگذاری *لاکتوباسیلوس پلانتارم* علیه باکتری *ایکولای* در شرایط هوازی نیاز به تعداد بالایی از سلول‌های این لاکتوباسیلوس می‌باشد [۳۲].

۳-٤-تاثیر تیمارها بر pH

PH نمونه کنترل در روز سوم از $\pm ۰,۰۵ \ ^{0}C$ ٦,۱۲ به $\pm ۰,۰۹ \ ^{0}C$ ٦,۱٤ رسید و در روز ششم افزایش معنی داری $P< ۰/۰۵$، $\pm ۰,۱ \ ^{0}C$ ٦,۵۸ نشان داد علت عدم تغییر pH در روز سوم احتمالا به این دلیل می‌باشد که چون محتوای کربوهیدراتی گوشت کم می‌باشد لذا باکتری‌ها برای تغذیه بعد از اتمام کربوهیدرات‌ها مجبور به تجزیه پروتئین‌ها و استفاده از آن‌ها شده‌اند که در نتیجه pH تقریبا ثابت مانده است.

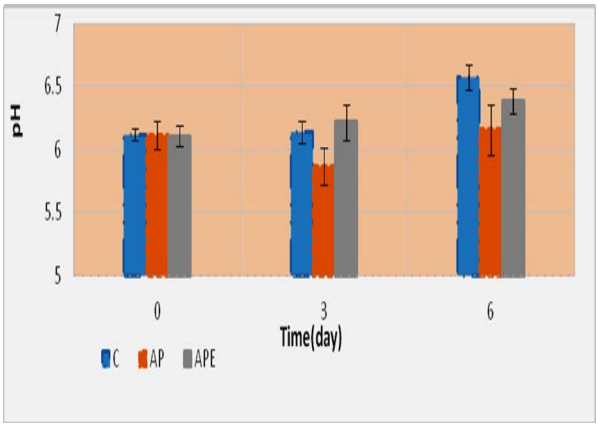

Fig 4 Effect of treatments on pH during 6 days of storage at $4\pm1^{0}c$ (C:control,AP:control+*acidophilus*+*plantarum*,APE:control+*acidophilus*+*plantarum*+EDTA)

افزایش معنی‌دار pH در روز ششم احتمالا به این دلیل می‌باشد که اتمام ذخایر کربوهیدراتی و خصوصاً باکتری‌های سرمادوست، سبب شده‌اند که باکتری‌ها از پروتئین از طرفی رشد سریع باکتری‌های موجود در گوشت ها برای تامین غذای خود استفاده کنند که در نتیجه آن تولید ترکیباتی همچون آمونیاک و آمین‌ها باعث افزایش بیشتر pH شده است که با نتایج لاتائو و همکاران در سال ۲۰۱۳ مطابقت داشت[۳۳]. pH نمونه‌های AP+C, APE+C در روز سوم به ترتیب از ٦,۱۲ ± ۰/۰۸ و ٦,۱۱ ± ۰/۱۵ به ۵/۸۷ ± ۰/۱٤ و ٦/۲۰ رسید و در روز ششم به ٦/۱٦ ± ۰/۲۰ و ٦/۳۹ ± ۰/۱ رسید.

کاهش pH در نمونه AP+C به دلیل تولید اسید توسط لاکتوباسیلوس‌ها می‌باشد که با نتایج امانی در سال ۲۰۱۲ مطابقت داشت[۱٦]. هم چنین با نتایج فدا و همکاران در سال ۲۰۰۸ مطابقت دارد که بر طبق نتایج آن‌ها تیمارهای حاوی لاکتوباسیلوس‌ها کاهش pH (۰/۷۰ تا ۰/۹۵ واحدی) نسبت به نمونه کنترل طی دوره نگهداری نشان دادند[۳٤]. این در حالی است که در مطالعه انجام گرفته توسط کاستلانو و همکاران اختلاف معنی دار بین pH نمونه‌های کنترل و نمونه‌های حاوی فقط لاکتوباسیلوس در طول ۹ روز نگهداری

www.SID.ir

Archive of SID

در ۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده نشد [۲۸]. عدم کاهش pH در نمونه APE+C در روز سوم احتمالاً به دلیل وجود EDTA می‌باشد که بر اساس گزارش کاستلانو و همکاران pH بالای نمونه‌های حاوی Na_2EDTA نسبت به نمونه‌های حاوی فقط لاکتیک اسید باکتری‌ها می‌تواند به دلیل متوقف کردن فعالیت باکتری‌های تولید کننده اسید توسط EDTA و یا تجزیه شیمیایی خود EDTA باشد که سبب بالارفتن pH می‌شوند.افزایش کمتر pH در نمونه‌های AP+C, APE+C در مقایسه با نمونه C از روز سوم به بعد احتمالاً به دلیل وجود لاکتیک اسید باکتری‌ها می‌باشد به طوری که از طرفی به دلیل وجود لاکتوباسیلوس‌ها در گوشت اسید تولید می‌شود و از طرف دیگر به دلیل تجزیه پروتئین‌ها ترکیبات تولیدی اجازه کاهش pH را نمیداد این در حالیست که نمونه C چون فاقد لاکتیک اسید باکتری‌ها در دز بالا بود، تجزیه پروتئین ها باعث افزایش بیشتر pH شده است. در مطالعه حاضر با وجود افزایش pH از روز سوم به بعد فعالیت ضدمیکروبی لاکتوباسیلوس‌ها و لاکتوباسیلوس‌ها + EDTA تا روز ششم نیز ادامه داشت که احتمالاً به دلیل تولید سایر عوامل ضد میکروبی همچون باکتریوسین‌ها و هیدروژن پراکسید توسط لاکتوباسیلوس‌ها می‌باشد به طوری که بر طبق گزارش کاستلانو و همکاران فعالیت باکتریوسین بعد از ۴۸ تا ۷۲ ساعت نگهداری گوشت گاو در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹ روز در نمونه‌های حاوی باکتری‌های پروبیوتیک شروع شد و در طول نگهداری ۹ روزه تولید باکتریوسین ادامه داشت و ثابت بود[۲۸]. در مطالعه حاضر در پایان دوره نگهداری ارزیابی حسی انجام نشد ولی هیچ گونه نشانه فساد (بوی بد – تغییر رنگ) در هیچ یک از نمونه‌ها در روز سوم مشاهده نشد. در مطالعه انجام گرفته توسط امانی از غلظت 10^7 لاکتوباسیلوس‌ها به ازای هر گرم گوشت استفاده شد و pH گوشت تا حدود ۵/۴ کاهش یافت ولی محصول از نظر ویژگی های حسی رد نشد [۱۶]. تنها مساله بحث برانگیز کاهش pH (۰/۲۷ واحد) در روز سوم در نمونه حاوی هر دو لاکتوباسیلوس در مقایسه با نمونه کنترل بود ولی از آنجایی که pH طبیعی گوشت در محدوده۶/۷-۵/۶ متغیر است، لذا احتمال ایجاد طعم ترش در محصول کم می‌باشد و دیگر اینکه از دیدگاه هوگاس لاکتوباسیلوس‌ها در گوشت به دلیل محتوای کم کربوهیدارت‌ها و ظرفیت بافری بالای گوشت بر خلاف میوه ها و سبزیجات و محصولات لبنی سبب تغییرات شدید ارگانولپتیکی نمی‌شوند [۳۵].

٤- نتیجه گیری

نتایج حاصل از تاثیر لاکتوباسیلوس ها در کاهش جمعیت میکروبی نشان داد که تیمار ترکیبی لاکتوباسیلوس‌ها + EDTA بیشترین تاثیر را در کاهش تعداد باکتری‌های پاتوژن و شمارش کلی میکروارگانیسم ها در طول دوره نگهداری داشت. بیشترین تاثیر در تعداد باکتری‌های پاتوژن در روز سوم نگهداری مشاهده شد و بیشترین تاثیر در تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی در روز ششم نگهداری مشاهده شد. هم چنین بر طبق نتایج گوشت مرغ معمولی (تیمار کنترل) به مدت ۳ روز قابل نگهداری و مصرف در دمای یخچال بود در حالیکه تیمار گوشت حاوی لاکتوباسیلوس ها و نیز لاکتوباسیلوس‌ها+ EDTA احتمالا ۱ یا ۲ روز ماندگاری بیشتری نسبت به نمونه کنترل داشتند. در حالت کلی این دو گونه لاکتوباسیلوس به صورت ترکیبی باهم (تیمار حاوی فقط لاکتوباسیلوس ها) با وجود تاثیر معنی دار قادر به کاهش چشمگیر در تعداد باکتری های مزوفیل هوازی و پاتوژن نبودند. در کل به منظور اثرگذاری بهتر استفاده از سیستم های ترکیبی و استفاده از گوشت با بار میکروبی اولیه کمتر توصیه میشود .

٥- منابع

[1] Acuff, G. R. (2005). Chemical decontamination strategies for meat. In J. N. Sofos (Ed.), Improving the safety of fresh meat. Boca Raton, FL: CRC Press, 350-363.

[2] Boyce, M.D., Swerdlow, D. L., Griffin, P. M . (1995). Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and Salmonella in ground beef using Lactic acid bacteria and the Impact on Sensory properties. Journal of Food Protection, 68(8), 1587-1592.

[3] Wacksmuth, I.K., Sparling, P,H., Barrettand, T.J., and Marhaben, A.(2004). Occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 in selected dairy and meat products marketed in the city of Rabat, Journal of Food Protection, 66, 418-25.

[4] Solhan, S., Chan, P.P., Kurupatham, L., Foong, B.H., Ooi, P.L., James, L., Tan, A.L., Koh, D., Goh, K,T.(2011). An outbreak of

www.SID.ir

Archive of SID

gastroenteritis caused Ato cream cakes. Western Pacific Surveillance and Response, 2, 23-30.

[5]Nguyen, H.D.N., Yuk, H,G. (2013). Changes in resistance of *Salmonella Typhimurium* biofilms formed under various conditions to industrial sanitizers. Food Control, 29, 236-240.

[6] Caplice, E. and G.F. Fizgernald, 1999. Food fermentation: role of microorganisms in food production and preservation. International Journal of Food Microbiology, 50: 131-194.

[7] Deegan, L. H., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, P. (2006) Bacteriocin: biological tools for biopreservation and shelf-life extension. International Dairy Journal, 16, 1058–1071.

[8] Zendo, T. (2013). Screening and characterization of novel bacteriocins from lactic acid bacteria Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 77, 893-899.

[9] Repaske, R. (1956). Lysis of Gram-negative bacteria by lysozyme. Biochimica et Biophysica Acta, 22, 189–191.

[10] Jones, R., Hussein, H.M., Zagorec, G., Brightwelland, J.R. (2008). Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat. Food Microbiol., 25: 228-234

[11]Hasapidou,A., Savvaidis,I.N.(2011).The effects of modified atmosphere packaging, EDTA and oregano oil on the quality of chicken liver. Meat.Food Research International, 44, 2751–2756.

[12] FDA (U.S Food and Drug administration), (2001). Bacteriological Analytical Manual Online.

[13] ISO 16654 (2001). Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour le dénombrement des Escherichia coli O157 (Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157).

[14] Capita, R., Alonso-Calleja, C.,Prieto, M (2007). Prevalence of Salmonella enterica serovars and genovars from chicken carcasses from slaughterhouses in Spain .Journal of Applied Microbiology, 103, 1366-1375.

[15] Masniyom, P., Soottawat, B., Visessanguan, W. (2005). Combination effect of phosphate and modified atmosphere on quality an.d shelf-life extension of refrigerated seabass slices. Journal of Food Science and Technology, 38, 745-756.

[16] Amani, M. S. (2012). Bio-Preservation Challenge for Shelf-Life and Safety Improvement of Minced Beef Global Journal of Biotechnology & Biochemistry, 7(2), 50-60.

[17] Ismail, S. A. S., Deak, T., Abd El-Rahman, H. A., Yassien, M. A. M., & Beuchat, L. R.(2000). Presenceand changes in populations of yeasts on raw and processed poultry products stored at refrigeration temperature. International Journal of Food Microbiology, 62(12), 113-121.

[18] Keokamnerd, T., Acton, J. C., Han, I. Y., & Dawson, P. L. (2008). Effect of commercial rosemary oleoresin preparations on ground chicken thigh meat quality packaged in a high-oxygen atmosphere. Poultry Science, 87, 170-179.

[19] Mead, P.S and Griffin, P.G. (1998). *Escherichia coli* O157: H7. The Lancet, 352-360.

[20] ICMFS. (1986) (2nd ed.). International Commission on Microbiological Specifications for Foods, sampling for microbiological analysis: Principles and scientific applications, Vol. 2 Toronto: University of Toronto Press.

[21] Mexis,S.F؛ E. Chouliara, M.G. Kontominas .(2012).Shelf life extension of ground chicken meat using an oxygen absorber and a citrus extract.Food Science and Technology 49 (2012) 21-27 .

[22] Caplice, E. and G.F. Fizgernald.(1999). Food fermentation: role of microorganisms in food production and preservation. International Journal of Food Microbiology, 50, 131-194.

[23] Economou ,T. N., Pournis, A., Ntzimani, I.N., Savvaidis.(2009). Nisin–EDTA treatments and modified atmosphere packaging to increase fresh chicken meat shelf-life Food Chemistry, 114 , 1470–1476.

[24]Leroi, F. (2010). Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products. Food Microbiol, 27, 698-709.

[25] Anang ,D .,Rusul ,G., Bakar, J., Ling, F.(2007) Effects of lactic acid and lauricidin on the survival of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* O157: H7 in chicken breast stored at $4\pm1c^0$. Food Control, 18, 961-9.

[26] Chaillou, S., Christieans, S., Rivollier, M., Lucquin, I.,Champomier-Verges , M, C., Zagorec, M. (2014). Quantification and efficiency of Lactobacillus sakei strain

www.SID.ir

Archive of SID

mixtures used as protective cultures in ground beef. Meat Science, 97, 332-338.

[27] Dorto, C.,Huch, M., Holzapfel, W.H.,Franz, C. M. A.P.,Thonart, P.(2009).Anti-listerial activity of bacteriocin-producing Lactobacillus Curvatus CWBI-B28 and Lactobacillus Sakei CWBI-B1365 on raw beef and poultry meat.Journal of Applied Microbiology, 47(6), 581-6.

[28] Castellano, P.,Gonzalez, C.,Carduza, F.,Vignolo, G.(2010). Protective action of Lactobacillus curvatus CRL705 on vacuum-packaged raw beef. Effect on sensory and structural characteristics, Meat Science, 85, 394–401.

[29] Boziaris, I. S., Adams, M. R . (1999). Effect of chelators and nisin produced in situ on inhibition and inactivation of Gram negatives, International Journal of Food Microbiology, 53, 105–113.

[30] Mann, J. E., & Brashears, M. M. (2006). Validation of time and temperature values as critical limits for the control of *Escherichia coli* O157:H7 during the production of fresh ground beef. Journal of Food Protection, 69(8), 1978-1982.

[31] Ruby, J. R., & Ingham, S. C. (2009). Evaluation of potential for inhibition of growth of *Escherichia coli* O157:H7 and multidrug-resistant Salmonella serovars in raw beef by addition of a presumptive *Lactobacillus sakei* ground beef isolate. Journal of Food Protection 72(2), 251-259.

[32] Raccah, M., Baker, R. C., Degenstein ,J .M. , Mulnix,J. E. (1979). Potential application of microbial antagonism to extend storage ability of a flesh type food. Journal of Food Science, 44, 43-46.

[33] Latou,E., Mexis, S.F., Badeka,A.V., Kontakos,S., Kontominas,M.G.(2013). Combined effect of chitosan and modified atmosphere packaging for shelf life extension of chicken breast fillets, Food Science and Technology ,doi: 10.1016/j.lwt.2013.09.010.

[34] Fadda, s., Chambon, C. M., Champomier -Verge`s, R.,Talon,c.,Vignolo, G.(2008).Lactobacillus role during conditioning of refrigerated and vacuum-packaged Argentinean meat. Meat Science 79, 603–610.

[35] Hugas,M.,(1998). Lactobacillus role during conditioning of refrigerated and vacuum-packaged Argentinean meat Meat Science, 49, 139-150.

www.SID.ir

Archive of SID

Combind effect of lactobacilluses with EDTA in controlling pathogenic counts in minced chicken meat

Aliabbasi, N. [1], Zeynali, F. [2*], Aliakbarlu , J. [3]

1. MS student of food industry, Faculty of Agriculture Urmia University-Iran
2.Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University-Iran
3. Associate professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University-Iran

(Received: 2016/12/05 Accepted: 2017/04/17)

Chicken meat is one of the most perishable foods because of high nutrition value, pH (5.5-6.5) and *aw* (0.98-0.99) which in this condition almost all kinds of microorganisms can proliferate easily. Among different kinds of natural preservatives Bio- preservation has gained more attention because of healthy effects that may have on their host. The present study was conducted to evaluate the combined effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum* (10^5 cfu/gr) also, the combined effect of Lactobacillus plus EDTA (50mM) on *E.coli* , Salmonella and mesophilic counts in minced chicken meat during 6 days of storage at 4± 1^0C under aerobic condition. Microbial analysis indicated that the use of lactobacilluses and lactobacilluses with EDTA had significant effects ($p < 0.05$) in reduction of the mesophilic count, probably with at least 1 day extension of shelf life and treatment with both of LAB and EDTA had more effect. Also, according to the results both of treatments had significant effects on pathogenic counts (Salmonella and *E. coli*) ($p < 0.05$). Treatment with LAB and EDTA at third day of storage reduced the population of Salmonella and *E.coli* respectively (0.83 and 1.49 log Cfu/gr) .Generally , it is suggested that for better influence of lactobacillus with high biopreservative activity, hurdle systems and less initial count of meat bacteria should be used.

Key Words: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, chicken meat, *E.coli*, Salmonella

*Corresponding Author E-mail Address: F.zeynali@urmia.ac.ir

www.SID.ir