Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:52 +0330 on Tuesday February 18th 2020

مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال چهاردهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، صفحات ۶۶-۵۵

اثر ضدمیکروبی استارترهای زیست محافظ *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* علیه باکتری‌های بیماری‌زای غذایی در گوشت مرغ تخمیر شده

مهرداد ورنان[۱]، محمد محسن زاده[۲]، امیر سالاری[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد بهداشت و کنترل کیفی موادغذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. پست الکترونیکی: mohsenzadeh@um.ac.ir
۳- استادیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۱/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۴

چکیده

سابقه و هدف: استارترهای زیست‌محافظ خصوصاً باکتری‌های اسیدلاکتیک در تخمیر و نگهداری بیولوژیکی فرآورده‌های گوشتی کاربرد دارند و جایگزین مناسبی برای نگهدارنده‌های شیمیایی محسوب می‌شوند. هدف از این تحقیق استفاده از سویه‌های *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* و *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* به عنوان استارترهای زیست‌محافظ و پروبیوتیکی در عمل‌آوری تخمیری گوشت سینه‌مرغ و بررسی فعالیت ضدمیکروبی آن‌ها علیه باکتری‌های بیماری‌زای مهم در گوشت مرغ می‌باشد.

مواد و روش‌ها: کشت‌های آغازگر در غلظت $۸/۵ \times ۱۰^{۷}$ CFU/g و باکتری‌های بیماری‌زا به میزان $۱۰^{۵}$ CFU/g به همراه ۱ درصد اسید سیتریک و ۷ درصد لاکتوز به گوشت سینه‌مرغ تلقیح شدند. تمامی تیمارها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و سپس تا زمان ۷۲ ساعت در دمای ۱±۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. روند تغییرات جمعیت کشت‌های آغازگر، میزان کاهش باکتری‌های بیماری‌زا و روند تغییرات pH طی مدت ۷۲ ساعت ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج بدست آمده نشان داد که جمعیت باکتریهای اسیدلاکتیک در تیمارهای حاوی پاتوژن افزایش یافته است. کشت‌های *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* و *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* در مقایسه با نمونه شاهد توانستند تا روز سوم تخمیر به طور معنی‌داری جمعیت *لیستریامونوسایتوژنز* و *سالمونلاتایفی موریوم* را به ترتیب به میزان ۱/۶ و ۱/۵ سیکل لگاریتمی کاهش دهند. تیمار *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* بیشترین اثر را در کاهش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا داشت ($p<۰/۰۵$). در طی مدت تخمیر و نگهداری، روند ثابت کاهش pH در نمونه‌های تلقیح شده با کشت‌های آغازگر لاکتیکی نسبت به نمونه شاهد مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: استفاده از استارترهای مذکور علاوه بر ایجاد خواص مطلوب می‌تواند در ایمنی فرآورده‌های‌گوشتی و افزایش زمان ماندگاری آن‌ها به طور مؤثری ایفای نقش کند.

واژگان کلیدی: *لیستریامونوسایتوژنز*، *سالمونلاتایفی‌موریوم*، باکتریهای اسید لاکتیک، تخمیر، گوشت مرغ

• مقدمه

امروزه علی‌رغم بـه کـارگیری روش‌هـای مختلـف حفـظ و نگهداری موادغذایی، هنوز بسیاری از مشکلات حاصل از فساد، مسمومیت‌ها و عفونت‌های غذایی پابرجاسـت. بـه علـت ایجـاد مقاومت باکتریایی ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و نیـز اثـرات سوء استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و همچنین با افـزایش سـطح آگـاهی مـردم، تقاضـا بـرای تهیـه غـذاهای حـاوی نگهدارنده‌های طبیعی و محصولات فرآوری شده به روش‌هـای تخمیری و طبیعی در حال افزایش است. شواهد نشان دهنـده رشد بسیار سریع این بخـش از صـنعت غـذا در دهـه گذشـته می‌باشد که علاوه بر اثرات سـلامت‌بخشـی در جامعـه، از نظـر اقتصادی نیز بسیار حائز اهمیت است (۲، ۱). گوشت مرغ یکی از انواع موادغذایی است که اغلب در عفونت‌های حاصل از غـذا نقش دارد. آلودگی مرغ خام به *لیستریامونوسایتوژنز* که یکی از مهمترین باکتری‌های عامـل بیمـاری‌هـای بـا منشـاءغـذایی و

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:52 +0330 on Tuesday February 18th 2020

مسئول لیستریوزیس است، خطرات شدیدی را به خصوص در افراد مسن، زنان باردار، نوزادان تازه متولد شده و افراد با ضعف سیستم ایمنی به وجود می‌آورد (۳). *سالمونلاتایفی‌موریوم* نیز یکی از عمده‌ترین عوامل بیماری‌زا در گوشت‌مرغ و مسئول سالمونلوزیس بوده و تهدید کننده جدی برای سلامت عمومی است (۴). مخاطرات و آلودگی حاصل از این باکتری‌های بیماری‌زای مهم می‌تواند با روش خوب تولید به حداقل برسد. یکی از این روش‌ها استفاده از باکتری‌های ایمن به عنوان کشت‌های نگهدارنده است (۳). استفاده از باکتری‌های اسیدلاکتیک در ایمنی و حفظ کیفیت، توسعه طعم‌های جدید و بهبود خواص تغذیه‌ای موادغذایی مؤثر است. اثر آنتاگونیستی باکتری‌های اسیدلاکتیک عمدتاً به دلیل کاهش pHموادغذایی به علت تولید اسیدلاکتیک به عنوان اصلی‌ترین متابولیت تخمیر کربوهیدرات‌ها می‌باشد. رقابت برای مواد مغذی و تولید دیگر متابولیت‌های مهارکننده از دیگر ویژگی‌های کشت‌های لاکتیکی است (۶، ۵). باکتری‌های اسیدلاکتیک از جمله استارترهای زیست‌محافظ و پروبیوتیکی به شمار می روند و اغلب بهترین انتخاب در کاربرد به عنوان کشت‌های محافظ می‌باشند. زیرا آن‌ها در همه موادغذایی تخمیری با سابقه طولانی استفاده شده و به صورت طبیعی در برخی موادغذایی مانند انواع گوشت حضور دارند. باکتری‌های اسیدلاکتیک به عنوان بخش مهمی از میکروبیوم انسانی به شمار می‌روند (۸، ۷).

گوشت تخمیرشده نوعی غذای عملگرا و سلامتی‌بخش است که در رویکردی جدید به واسطه اثرات ضدمیکروبی خود جهت نیل به اهداف سلامت وکاهش ریسک بیماری‌ها عمل می‌کند (۹). گزارش‌های بسیارکمی در مورد نگهداری بیولوژیکی گوشت قرمز تازه و گوشت مرغ تازه وجود دارد (۱۰). علی‌رغم افزایش تمایل به مصرف محصولات‌گوشت مرغ در کشور، هنوز به طور قابل ملاحظه‌ای روش‌های تخمیری برای عمل‌آوری گوشت‌مرغ در صنایع‌گوشتی رواج ندارد. از باکتری‌های لاکتیکی مهم در تخمیر گوشت، *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* می‌باشد. این باکتری اثر مهمی بر روی باکتری‌های بیماری‌زا نظیر *سالمونلا*، *لیستریامونوسیتوژنز* و *اشرشیاکلی* نشان داده است. *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* می‌تواند به عنوان کشت آغازگر در تخمیر محصولات‌گوشتی مختلف استفاده شود و علاوه بر بهبود خواص ارگانولپتیکی قادر است با تولید اسیدلاکتیک و دیگر ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی موجب ایمنی محصولات نهایی گردد. از دیگر سویه‌های مهم در این رابطه *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* می‌باشد که اخیراً به طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته و مورد توجه تولیدکنندگان است (۱۲، ۱۱). هدف از این مطالعه استفاده از سویه‌های *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* و *پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی* به عنوان آغازگرهای زیست محافظ و پروبیوتیکی در عمل‌آوری تخمیری گوشت مرغ و بررسی فعالیت ضدمیکروبی آن‌ها علیه باکتری‌های بیماری‌زای *لیستریامونوسایتوژنز* و *سالمونلاتایفی‌موریوم* می‌باشد.

• مواد و روش‌ها

در این مطالعه از فرآیند تخمیر به کمک سویه‌های *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم*، *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* و کشت مخلوط آن‌ها به همراه ۱ درصد اسیدسیتریک و ۷ درصد لاکتوز برای عمل‌آوری گوشت سینه‌مرغ با هدف بررسی اثر ضدمیکروبی آن‌ها بر روی رشد و بقا باکتری‌های بیماری‌زای *لیستریامونوسایتوژنز* (ATCC 7644) و *سالمونلاتایفی‌موریوم* (ATCC 14028) استفاده شد. روند تغییرات جمعیت کشت‌های آغازگر، تغییرات جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا و تغییرات pH کلیه تیمارها و نمونه شاهد به مدت سه روز پس از تلقیح طی زمان‌های صفر (۲ ساعت پس از تلقیح) و ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه‌سلسیوس و در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت در دمای ۴ درجه‌سلسیوس مورد ارزیابی قرارگرفت.

با مروری بر مطالعات انجام شده مشخص گردید که غلظت‌های مختلفی شامل ۱ و ۲ درصد لاکتوز و تا ۱۰ درصد گلوکز به همراه باکتریهای مولد اسیدلاکتیک برای فرایند تخمیر مواد غذایی مختلف استفاده شده است (۱۴، ۱۳) لذا در این تحقیق به صورت آزمایشی از غلظت‌های ۱، ۵ و ۷ درصد قند لاکتوز در فرایند تخمیر استفاده گردید تا غلظت مناسب انتخاب گردد. نتایج آزمایش مقدماتی نشان داد که با توجه به وجود مقدار کم کربوهیدرات در سینه مرغ، مقدار ۷ درصد لاکتوز دارای اثر بهتری در فرایند تخمیر می باشد. لذا از قند لاکتوز به میزان ۷ درصد در جهت افزایش سرعت رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* و *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* استفاده گردید.

آماده سازی کشت‌های لاکتیکی: آمپول‌های لیوفیلیزه سویه‌های *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* (ATCC 14917) و *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* (ATCC 25740) از کلکسیون میکروبی گروه بهداشت مواد غذایی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه و مطابق دستورالعمل مربوط فعال گردیدند. سپس از کشت‌های فعال شده اولیه، کشت‌های خطی بر روی MRS agar صورت گرفت و به مدت ۴۸ ساعت در شرایط بی‌هوازی در گرمخانه با دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری گردید (۱۵).

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:52 +0330 on Tuesday February 18th 2020

از کلنی‌های باکتریایی موجود در سطح پلیت MRS agar جهت تهیه سوسپانسون باکتری‌های اسیدلاکتیک استفاده شد.

تهیه سوسپانسیون‌های میکروبی: غلظت‌های میکروبی باکتری‌های اسیدلاکتیک و باکتری‌های پاتوژن به کمک استاندارد مک‌فارلند مطابق روش توصیف شده توسط محمد طاهری و حسینی تهیه گردیدند (۱۵). برای تعیین میزان دقیق تلقیح، استاندارد ۳ مک‌فارلند برای سویه‌های باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی* و استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند برای باکتری‌های *لیستریامونوسایتوژنز* و *سالمونلاتایفی موریوم* تهیه‌گردید. با توجه به اینکه حداکثر جذب استاندارد ۳ مک‌فارلند و ۰/۵ مک‌فارلند در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر به ترتیب ۰/۶ و ۰/۱۳۴ می‌باشد، کلنی هر یک از باکتری‌های مورد نظر را به صورت مجزا به سرم فیزیولوژی انتقال داده و پس از یکنواخت‌کردن آن‌ها به کمک دستگاه ورتکس، کدورت سوسپانسیون باکتری‌ها را طوری تنظیم می‌کنیم که در همان طول موج، همان جذب را نشان دهد. همچنین جهت تأیید آن، غلظت‌های متوالی از سوسپانسیون میکروبی تهیه کرده، کشت داده و تعداد کلنی‌ها شمارش شد و بدین صورت تعداد دقیق باکتری‌ها و میزان تلقیح تعیین شد. بدین ترتیب به میزان $۸/۵ \times ۱۰^{۷}$ CFU/g از استارترهای لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی* و ۱×۱۰^{۵} CFU/g از *لیستریامونوسایتوژنز* و *سالمونلاتایفی موریوم* جهت تلقیح به گوشت سینه‌مرغ (۱۶).

نمونه‌گیری: گوشت سینه‌مرغ از مراکز عرضه مرغ کشتار روز تحت نظارت سازمان دامپزشکی خریداری و تحت شرایط استریل با حفظ زنجیره سرما در داخل جعبه‌های عایق‌بندی حاوی پودر یخ در اسرع وقت به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شد و تا زمان آزمایش در یخچال نگهداری گردید.

تلقیح کشت‌های آغازگر لاکتیکی و باکتری‌های بیماری‌زا به گوشت‌مرغ: گوشت سینه‌مرغ پس از برش خوردن به اندازه‌های ۲۰ گرمی، در شرایط سترون به زیپ پک‌های استریل منتقل شد. در هر بسته به منظور تلقیح باکتری‌های اسیدلاکتیک از غلظت $۸/۵ \times ۱۰^{۷}$ CFU/g استفاده شد. پس از انجام کشت‌های اختصاصی *لیستریامونوسایتوژنز* و *سالمونلاتایفی موریوم* از نمونه‌های مورد آزمایش و اطمینان از آلوده نبودن نمونه ها، باکتری‌های بیماری‌زا به غلظت ۱×۱۰^{۵} CFU/g در بسته‌های تیمار مورد نظر تلقیح و تیمارها مطابق جدول ۱ آماده گردید. همچنین به هریک از تیمارها ۱ درصد اسیدسیتریک و ۷ درصد لاکتوز افزوده شد. تمامی تیمارها در شرایط یکسان از زمان صفر تا ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه‌سلسیوس و از زمان ۲۴ تا ۷۲ ساعت در اینکوباتور یخچال‌دار با دمای ۱±۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. لازم به ذکر است که استفاده از دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت به عنوان دمای اولیه تخمیر باعث رشد و تکثیر مطلوب کشت‌های آغازگر و افزایش سرعت تخمیر گردید. سپس کاهش دما به ۴ درجه سلسیوس تا پایان زمان ۷۲ ساعت باعث نگهداری بهینه محصول شد (۱۷).

جدول ۱. تیمارهای گوشت سینه مرغ تلقیح شده با استارترها، پاتوژن ها، اسید سیتریک و لاکتوز

کد تیمار	توصیف
L + CA	نمونه کنترل (گوشت مرغ حاوی ۱٪ اسیدسیتریک + ۷٪ لاکتوز)
L + CA + L.p	گوشت مرغ + ۱٪ اسیدسیتریک + ۷٪ لاکتوز + لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم
L + CA + P.a	گوشت مرغ + ۱٪ اسیدسیتریک + ۷٪ لاکتوز + پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی
L + CA + L.p + P.a	گوشت مرغ + ۱٪ اسیدسیتریک + ۷٪ لاکتوز + لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم + پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی
L + CA + L.m	گوشت مرغ + ۱٪ اسیدسیتریک + ۷٪ لاکتوز + لیستریامونوسایتوژنز
L + CA + L.p + L.m	گوشت مرغ + ۱٪ اسیدسیتریک + ۷٪ لاکتوز + لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم+ لیستریامونوسایتوژنز
L + CA + P.a + L.m	گوشت مرغ + ۱٪ اسیدسیتریک + ۷٪ لاکتوز + پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی + لیستریامونوسایتوژنز
L + CA + L.p + P.a + L.m	گوشت مرغ + ۱٪ اسیدسیتریک + ۷٪ لاکتوز + لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم + پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی + لیستریامونوسایتوژنز
L + CA + S.t	گوشت مرغ + ۱٪ اسیدسیتریک + ۷٪ لاکتوز + سالمونلاتایفی‌موریوم
L + CA + LP + S.t	گوشت مرغ + ۱٪ اسیدسیتریک + ۷٪ لاکتوز + لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم + سالمونلاتایفی‌موریوم
L + CA + P.a + S.t	گوشت مرغ + ۱٪ اسیدسیتریک + ۷٪ لاکتوز + پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی + سالمونلاتایفی‌موریوم
L + CA + L.p + P.a + S.t	گوشت مرغ + ۱٪ اسیدسیتریک + ۷٪ لاکتوز + لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم + پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی + سالمونلاتایفی‌موریوم

L: Lactose; CA: Citric Acid; L.p: *Lactobacillus plantarum*; P.a: Pediococcus acidilactici; L.m: Listeria monocytogenes; S.t: Salmonella Typhimurium

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:52 +0330 on Tuesday February 18th 2020

شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک: شناسایی و شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک مطابق با استاندارد ملی ایران، شماره ۴۷۲۱ انجام شد (۱۸). بدین صورت که در شرایط استریل ۱۰ گرم از نمونه گوشت سینه مرغ درون بسته که با کشت‌های آغازگر اختصاصی تلقیح شده را برداشته و ۹۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر استریل به آن افزوده شد و بر روی محیط کشت MRS Agar (Merck,Germany) کشت داده شد. پلیت‌های کشت داده شده به مدت ۴۸ ساعت در شرایط میکروائروفیل در اینکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شد و پس از آن مطابق با استاندارد ملی ایران شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک صورت گرفت.

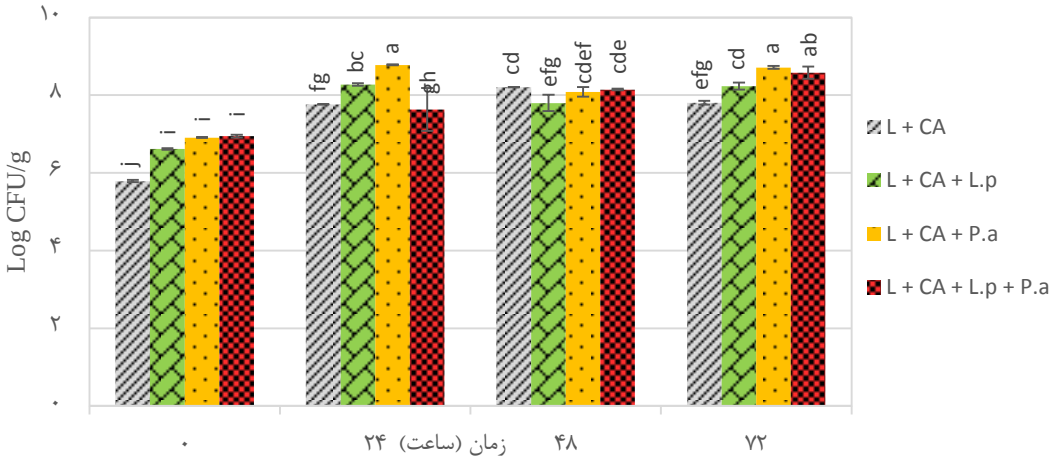
شناسایی و شمارش باکتری‌های بیماری‌زا: شناسایی و شمارش *لیستریامونوسایتوژنز* با استفاده از محیط کشت Listeria Oxford agar (Merck,Germany) مطابق استاندارد ملی ایران، به شماره‌های ۱-۸۰۳۵ و ۲-۸۰۳۵ و شناسایی و شمارش *سالمونلاتایفی‌موریوم* مطابق استاندارد ملی ایران، به شماره ۱۸۱۰ انجام شد (۱۹).

اندازه‌گیری pH: مقادیر pH نمونه‌ها در طول مدت تخمیر و نگهداری در زمان‌های صفر (۲ ساعت پس از تلقیح)، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تلقیح بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۲۸ اندازه‌گیری و قرائت شد (۲۰). بدین صورت که ۱۰ گرم نمونه از محتوای هر بسته را به صورت مجزا وزن نموده و پس از همگن کردن با ۱۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر با pH خنثی مخلوط کرده و با دستگاه ورتکس کاملا یکنواخت شد. سپس به کمک دستگاه pH متر، pH مربوط به هریک از تیمارها اندازه‌گیری گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: آزمایشات کلیه تیمارها در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن توسط نرم‌افزار SPSS V20 انجام گردید ($p<0/05$). برای رسم نمودارها از نرم‌افزار "EXCEL" استفاده شد.

• یافته‌ها

بررسی سینتیک رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک در گوشت مرغ: نتایج سینتیک رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک در گوشت مرغ تلقیح شده با کشت‌های آغازگر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی* در نمودار ۱ ارائه شده است. طبق این نمودار تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در زمان‌های مختلف تخمیر و نگهداری، در بین تیمارها و نمونه شاهد همواره در حال افزایش است به طوریکه که در ۲۴ ساعت اولیه تخمیر به علت بالا بودن دمای نگهداری (۲۵ درجه سلسیوس) باکتری‌های اسیدلاکتیک دارای حداکثر رشد بوده و پس از آن تا زمان ۷۲ ساعت به دلیل نگهداری نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سلسیوس از سرعت رشد آن‌ها کاسته شده است. در زمان‌های صفر، ۲۴ و ۷۲ ساعت اختلاف میانگین تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک بین تیمارها و نمونه شاهد همواره معنی‌دار می‌باشد ($p<0/05$). تا زمان ۷۲ ساعت بیشترین میزان رشد مربوط به *پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی* می‌باشد که میزان آن از حدود ۶/۹ log CFU/g در روز صفر به حدود ۸/۶۷ log CFU/g در روز سوم افزایش یافت و کمترین میزان جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی* مربوط به فلور طبیعی نمونه شاهد بود که میزان آن از ۵/۸ log CFU/g در روز صفر به حدود ۷/۸ log CFU/g در روز سوم رسید.



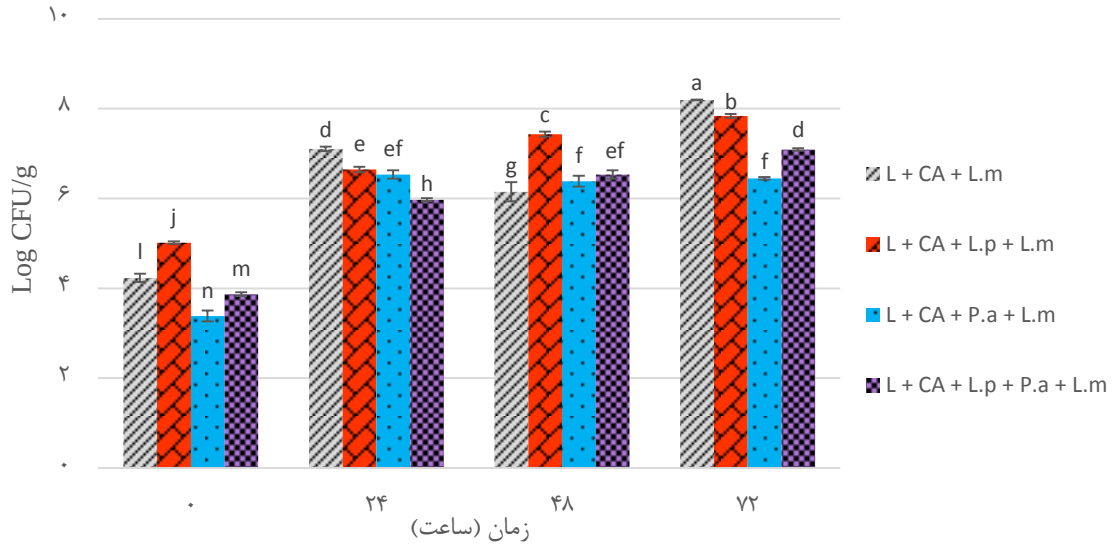
نمودار ۱. سینتیک رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک در طی تخمیر و نگهداری گوشت مرغ (طی ۷۲ ساعت)

* حروف لاتین غیر یکسان نشان دهنده اختلاف معنی دار میانگین ها در سطح ۵٪ می باشد.

www.SID.ir

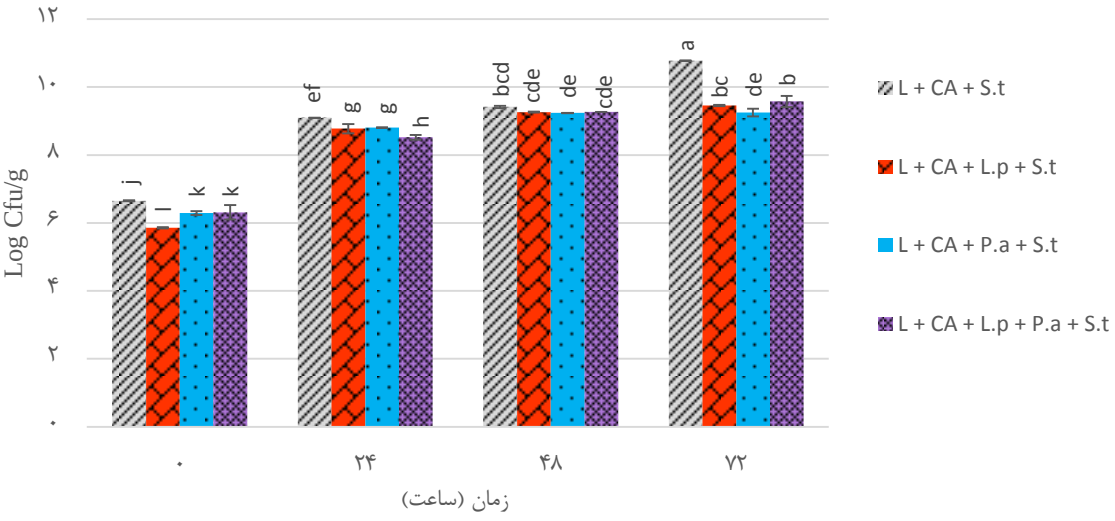
Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:52 +0330 on Tuesday February 18th 2020

بررسی روند تغییرات جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا: نتایج شمارش باکتری‌های بیماری‌زا *لیستریامونوسایتوژنز* و *سالمونلاتایفی‌موریوم* و روند تغییرات رشد و بقا آن‌ها در حضور *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* و *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* به عنوان کشت‌های‌لاکتیکی محافظ در گوشت مرغ تخمیر شده به ترتیب در نمودارهای ۲ و ۳ ارائه شده‌است. طبق نتایج ارائه شده در نمودار ۲، طی زمان‌های صفر (۲ ساعت پس از تلقیح) و ۲۴ ساعت، تعداد جمعیت *لیستریامونوسایتوژنز* در تیمارهای مختلف و نسبت به نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در مدت زمان ۴۸ ساعت پس از تلقیح و کاهش دمای نگهداری تا ۴ درجه سلسیوس باعث کاهش رشد استارترها و افزایش رشد *لیستریامونوسایتوژنز* گردید. به دلیل اینکه *لیستریامونوسایتوژنز* قادر به رشد و بقا در دمای یخچال می‌باشد، توانست سریع‌تر از استارترها رشد و تکثیر کند. در روز سوم تخمیر و در دمای ۱±۴ درجه‌سلسیوس تعداد جمعیت *لیستریامونوسایتوژنز* در حضور *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* و *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* و نیز کشت‌مخلوط آن‌ها نسبت به نمونه شاهد کاهش معنی‌داری داشت و همچنین در میزان اثرگذاری بین تیمارها اختلاف معنی‌دار بود. در نتیجه تا پایان روز سوم تیمار *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* بیشترین اثرگذاری را داشت و توانست به میزان ۱/۶ log CFU/g از جمعیت *لیستریامونوسایتوژنز* را کاهش دهد.



نمودار ۲. روند تغییرات جمعیت *لیستریامونوسایتوژنز* در حضور باکتری‌های‌اسیدلاکتیک در طی تخمیر و نگهداری گوشت مرغ (۷۲ ساعت)

* حروف لاتین غیر یکسان نشان دهنده اختلاف معنی دار میانگین ها در سطح ۵٪ می باشد.



نمودار ۳. روند تغییرات جمعیت *سالمونلاتایفی‌موریوم* در حضور باکتری‌های‌اسیدلاکتیک در طی تخمیر و نگهداری گوشت مرغ (۷۲ ساعت)

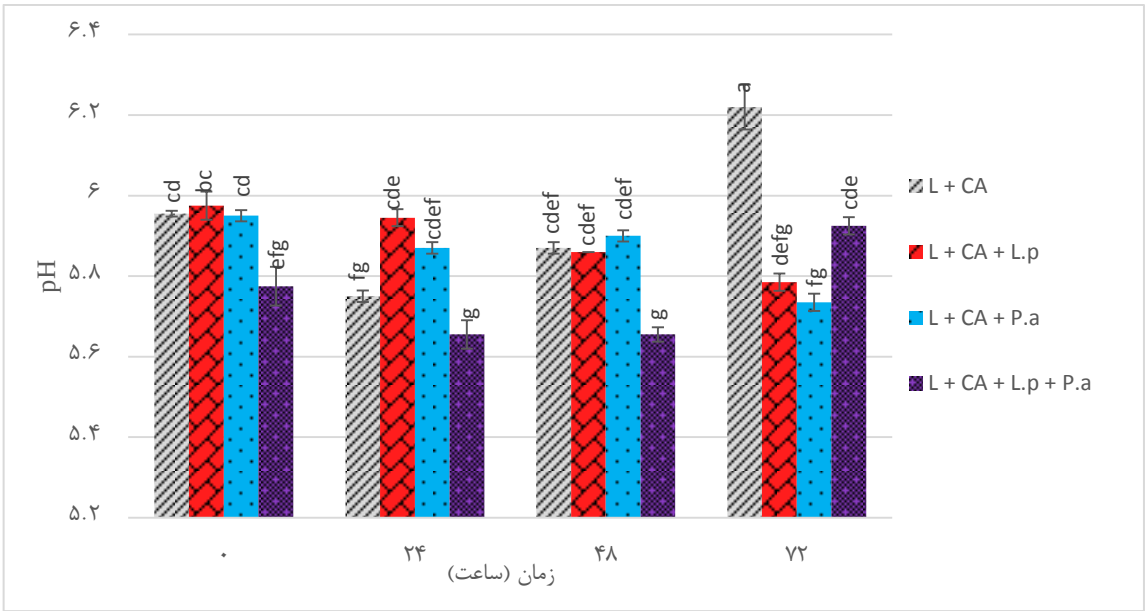
* حروف لاتین غیر یکسان نشان دهنده اختلاف معنی دار میانگین ها در سطح ۵٪ می باشد.

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:52 +0330 on Tuesday February 18th 2020

طبق نتایج ارائه شده در نمودار ۳، باکتری‌های‌اسیدلاکتیک طی مدت تخمیر گوشت مرغ، نسبت به *لیستریامونوسایتوژنز* تأثیر کمتری بر روی رشد *سالمونلاتایفی‌موریوم* داشتند و تا روز سوم تخمیر، جمعیت *سالمونلاتایفی‌موریوم* در حضور *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم*، *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* و نیز کشت مخلوط آن‌ها ، به حدود CFU/g log ۹/۵ رسید. در این خصوص *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* در کاهش رشد *سالمونلاتایفی‌موریوم* مؤثرتر از سایر تیمارها بود و تا روز سوم توانست حدود CFU/g log ۱/۵ از جمعیت *سالمونلاتایفی‌موریوم* را کاهش دهد.

بررسی تغییرات pH: نتایج روند تغییرات pH نمونه‌های تلقیح شده با *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم*، *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* و کشت مخلوط آن‌ها در نمودار ۴ ارائه شده است. همان‌طور که در این نمودار مشاهده می‌شود در زمان‌های صفر، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تخمیر، میزان pH نمونه‌های تلقیح شده با کشت مخلوط *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* و *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* به طور معنی‌داری کمتر از pH نمونه شاهد بود و نسبت به دیگر تیمارها نیز اختلاف معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵). لازم به ذکر است که احتمالاً کاهش اندک pH نمونه‌های شاهد طی زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت به علت استفاده از اسیدسیتریک می‌باشد. ۷۲ ساعت پس از نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس، pH تمامی نمونه‌های تلقیح شده با *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم*، *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* و کشت مخلوط آن‌ها نسبت به نمونه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود (p<۰/۰۵). به طوریکه تا روز سوم میزان pH از ۶/۲۲ در نمونه شاهد به ترتیب تا میزان ۵/۷۸، ۵/۷۳ و ۵/۹۲ توسط تیمارهای *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم*، *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* و کشت مخلوط آن‌ها کاهش یافت. تا پایان روز سوم بیشترین میزان تأثیر در کاهش pH مربوط به تیمار *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی بود*. از روز سوم به بعد به علت فاسد شدن نمونه‌ها آزمایش صورت نگرفت.



نمودار ۴. روند تغییرات pH در طی مدت تخمیر گوشت مرغ توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک (۷۲ ساعت)

* حروف لاتین غیر یکسان نشان دهنده اختلاف معنی دار میانگین ها در سطح ۵٪ می باشد.

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:52 +0330 on Tuesday February 18th 2020

• بحث

نتایج نشان می‌دهد که کشت‌های آغازگر لاکتیکی به خوبی در گوشت سینه‌مرغ حاوی ۱ درصد اسیدسیتریک و ۷ درصد لاکتوز رشد کرده و توانستند جمعیت باکتریایی غالب را تشکیل دهند. تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در زمان‌های مختلف تخمیر و نگهداری همواره در حال افزایش است به طوریکه که در ۲۴ ساعت اولیه تخمیر به علت بیشتر بودن دما دارای حداکثر رشد بودند. تا زمان ۷۲ ساعت بیشترین میزان رشد مربوط به *پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی* می‌باشد که میزان آن از حدود ۶/۹ log CFU/g در روز صفر به حدود ۸/۶۷ log CFU/g در روز سوم افزایش یافت و کمترین میزان جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک مربوط به نمونه شاهد بود که میزان آن از ۵/۸ log CFU/g در روز صفر به حدود ۷/۸ log CFU/g در روز سوم رسید. لازم به ذکر است که باکتری‌های اسیدلاکتیک شمارش شده در نمونه شاهد مربوط به فلور طبیعی خود گوشت مرغ می‌باشد. اکثر لاکتوباسیل‌ها در دماهای مزوفیل بهتر رشد و تکثیر می‌نمایند. بعضی از آنها در پایین تر از ۱۵ درجه و برخی سویه‌ها حتی در کمتر از ۵ درجه سلسیوس نیز رشد می‌کنند (۲۱). رشد سریع باکتری‌های اسیدلاکتیک در نمونه‌های تحت تیمار و شاهد توانایی آنها در انطباق خود با محیط گوشت را نشان می‌دهد و این امر بدین علت است که باکتری‌های اسیدلاکتیک جزئی از فلور طبیعی گوشت مرغ می‌باشند. ثبات و رشد آهسته باکتری‌های اسیدلاکتیک از زمان ۲۴ ساعت به بعد می‌تواند به دلیل کاهش دمای نگهداری به ۴ درجه سلسیوس باشد. در مورد نمونه شاهد با گذشت زمان تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک مربوط به فلور طبیعی گوشت به تدریج افزایش یافت. باکتری‌های اسیدلاکتیک به طور گسترده‌ای برای نگهداری محصولات گوشتی تخمیری و پخته‌شده استفاده شده‌است و در چند دهه گذشته انواعی از سویه‌های آن کشف شده‌است که در برابر عوامل بیماری‌زا و فسادزا وابسته به آن محصولات مؤثر است (۲۳، ۲۲). با این وجود گزارش‌های بسیارکمی در مورد نگهداری بیولوژیکی گوشت‌قرمز تازه و گوشت‌مرغ تازه وجود دارد (۱۰). طی پژوهش رهنما و نقوی (۱۳۹۶) بر روی تخمیر بسته گوشت گاو، بیشترین میزان رشد *لاکتوباسیلوس‌پلانتاورم* و تولید اسید در دمای ۳۶ درجه سلسیوس و حضور ۱۰ درصد گلوکز و تلقیح ۹۰۰۰ واحد تشکیل دهنده کلنی تشخیص داده شد و باکتری‌های اسیدلاکتیک افزایش ۴ برابری را پس از اتمام تخمیر نشان دادند. ۶۰ درصد آن‌ها پس از حرارت‌دهی زنده ماندند (۱۳). درویشی و همکاران (۱۳۸۳) طی پژوهش خود در بررسی اثر باکتری‌های اسیدلاکتیک بر روی تحول میکروبی گوشت چرخ کرده گاو نگهداری شده در ۱- تا ۵ درجه سلسیوس گزارش کردند که روند تغییرات تعداد باکتری‌های‌اسیدلاکتیک در مورد نمونه شاهد ابتدا به آرامی، افزایشی و سپس کاهشی است. در مورد تیمارهای باکتری‌های اسیدلاکتیک روند تغییرات تعداد این باکتری‌ها همواره افزایشی بود به طوری‌که در مورد گوشت تلقیح شده با *لاکتوباسیلوس‌کازئی* تعداد آن‌ها از ۴/۸ log CFU/g در ابتدای نگهداری به ۶ log CFU/g در روز پنجم رسید. تعداد کل میکروارگانیسم‌های هوازی، سودوموناس‌ها، کلی‌فرم‌ها و مخمرها، در شرایط مذکور کاهش یافت. نتایج نشان دهنده رشد خوب باکتری‌های اسیدلاکتیک در محیط گوشت می‌باشد (۲۱). نتایج تحقیق حاضر با اکثر پژوهش‌های موجود مطابقت دارد. نوسانات جزئی در تعداد شمارش شده باکتری‌های‌اسیدلاکتیک می‌تواند به علت تفاوت در نوع محصول گوشتی مورد مطالعه، دمای تخمیر و نگهداری، میزان غلظت اولیه استارتر تلقیح شده و حضور میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا به عنوان عامل رقابت‌کننده باشد.

کشت‌های *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* و *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* در مقایسه با نمونه شاهد توانستند تا روز سوم تخمیر به طور معنی‌داری جمعیت *لیستریامونوسایتوژنز* و *سالمونلاتایفی موریوم* را به ترتیب به میزان ۱/۶ و ۱/۵ سیکل لگاریتمی کاهش دهند. تیمار *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* بیشترین اثر را در کاهش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا داشت ($p<0/05$). پژوهش‌های بسیاری انجام شده که در آن‌ها از باکتری‌های اسیدلاکتیک مزوفیل به عنوان محافظت‌کننده بیولوژیکی موادغذایی تحت شرایط سردکردن استفاده شده‌است. نتایج این پژوهش‌ها نشان داده است که در چنین شرایطی باکتری‌های اسیدلاکتیک با عوامل بیماری‌زا رقابت کرده، سریع‌تر از آن‌ها رشد و تکثیر می‌نمایند (۲۴). به عنوان مثال طی تحقیقی استفاده از سویه‌های *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* تولیدکننده پدیوسین (Pediocin AcH) در گوشت‌مرغ منجمد شده، باعث کنترل معنی‌داری رشد *لیستریامونوسایتوژنز* شد (۲۵). همچنین توسط Enan (۲۰۰۶) اثر ضد لیستریایی سویه‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* تولید کننده پلانتاریسین (plantaricin) در گوشت مرغ خام (نپخته) و پخته گزارش شده است (۲۶). در یافته‌های مشابه مقابله با *لیستریامونوسایتوژنز* هنگام استفاده از *بیفیدوباکتریوم‌بیفیدوم* و *لاکتوباسیلوس‌لاکتیس* در گوشت خام مرغ نگهداری شده در

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:52 +0330 on Tuesday February 18th 2020

یخچال گزارش شده است (۲۷). در مطالعه‌ای دیگر خلیلی‌صدقیانی و همکاران (۱۳۹۴)، استفاده از لاکتوباسیل‌ها در کنترل رشد *لیستریامونوسیتوژنز* را در ۶۵ نمونه گوشت مورد بررسی قرار دادند. در نتیجه ۶ سویه از باکتری‌های‌اسیدلاکتیک شناسایی شده اثر خوبی در کنترل رشد *لیستریامونوسیتوژنز* نشان دادند (۲۸). در پژوهش Todorov و همکاران (۲۰۱۷) استفاده از برخی از باکتری‌های اسیدلاکتیک در گوشت تخمیر شده بلغاری سنتی با تولید پپتیدهای ضدمیکروبی و باکتریوسین موجب بروز فعالیت بسیارقوی مقابل *لیستریامونوسایتوژنز* گردید (۲۹). Rzepkowska و همکاران (۲۰۱۷) طی پژوهشی به منظور ارزیابی ایمنی و ویژگی‌های ضدمیکروبی باکتری‌های اسیدلاکتیک از ۲۱ سویه از جنس‌های *لاکتوباسیلوس* و *پدیوکوکوس* جدا شده از محصولات گوشتی خام تخمیر شده لهستانی استفاده کردند. نتایج نشان دهنده حداکثر تأثیر ضدمیکروبی سویه‌های مذکور علیه *لیستریامونوسایتوژنز* بود و گزارش شد که باکتری‌های اسیدلاکتیک در برابر باکتری‌های شاخص گرم‌مثبت نسبت به گرم‌منفی فعالیت بیشتری دارند (۳۰). Nieto-Lozano و همکاران (۲۰۰۶) طی بررسی اثرات باکتریوسین حاصل از *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* علیه *لیستریامونوسایتوژنز* و *کلستردیوم‌پرفرینجنس* در گوشت خام اسپانیایی دریافتند که استفاده از پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی در مدت زمان نگهداری در ۱۵ و ۴ درجه‌سلسیوس باعث کاهش ۳ تا ۳/۵ سیکل لگاریتمی از باکتری‌های بیماری‌زا شد (۳۱). Garg and Kaur (۲۰۱۵) با بررسی پتانسیل نگهداری زیستی غذا به کمک *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* BA28 دریافتند که باکتری‌های اسیدلاکتیک اثر محافظتی خوبی در دمای پایین (۴ درجه سلسیوس) ایجاد می‌کنند و پدیوسین تولید شده توسط *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* BA28 دارای فعالیت ضدمیکروبی گسترده‌ای علیه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از جمله *لیستریامونوسایتوژنز* و *سالمونلاتایفی* و همچنین میکروب‌های عامل فساد بود. پدیوسین مذکور دارای فعالیت ضدلیستریایی بسیارقوی بود (۳۲). توجه کمتری به کنترل سالمونلا در غذاها توسط کشت‌های محافظ شده است زیرا همانطور که قبلا ذکر شد، تعداد کمی از موارد گزارش شده از مهار باکتری‌های گرم منفی توسط باکتری‌های‌اسیدلاکتیک وجود دارد. با این وجود، برخی از مطالعات اخیر نشان‌دهنده پتانسیل استفاده از کشت‌های محافظ برای کنترل آلودگی سالمونلا در غذاهاست. طی پژوهش تیزفهم و همکاران (۱۳۹۰) در بررسی اثر پروبیوتیکی (عصاره اسیدی و خنثی) ۵ سویه *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* بر روی *سالمونلاتایفی‌موریوم* مشخص شد که تمامی سویه‌های *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* بررسی شده اثر مهاری بر روی *سالمونلاتایفی‌موریوم* داشتند و با افزایش درصد عصاره پروبیوتیکی میزان رشد پاتوژن مذکور کمتر گردید. برخی از سویه‌ها در شرایط اسیدی نسبت به شرایط خنثی اثر بیشتری بر روی *سالمونلاتایفی‌میوریوم* نشان دادند (۳۳). در مطالعه‌ای دیگر Maragkoudakis و همکاران (۲۰۰۹)، دو سویه *انتروکوکوس فاسیوم* PCD71 و *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* ACA-DC179 را به عنوان کشت نگهدارنده در گوشت خام مرغ استفاده کردند که باعث کاهش قابل توجه دو باکتری بیماری‌زای *لیستریامونوسایتوژنز* و *سالمونلا اینتریدیس* گردید. فعالیت ضدلیستریایی این دو باکتری اسیدلاکتیک با تولید باکتریوسین‌های کلاس II مانند انتروسین‌ها (Enterocins) و پدیوسین‌ها (Pediocins) مرتبط بود. عمدتا فعالیت ضدباکتریایی مقابل باکتری‌های شاخص گرم مثبت مانند گونه‌های *لیستریا* و *بروکوتریکس* مشهود بود در حالی که هیچگونه فعالیت ضد باکتریایی مقابل باکتری‌های گرم منفی آزمایش شده به دست نیامد (۳۴). Sakaridis و همکاران (۲۰۱۲) به منظور بررسی فعالیت مهارکنندگی باکتری‌های اسیدلاکتیک موجود در لاشه‌های مرغ علیه گونه‌های *سالمونلا* و *لیستریامونوسایتوژنز*، ۱۰۰ نمونه جوجه گوشتی را از لحاظ حضور باکتری‌های اسید لاکتیک بررسی کردند که ۹۲ سویه جدا شده دارای اثرات ضدمیکروبی علیه گونه‌های *سالمونلا* و *لیستریامونوسایتوژنز* بود (۱۰). توانایی ضدمیکروبی بسیاری از باکتری‌های اسیدلاکتیک علیه باکتری‌های بیماری‌زای غذایی عمدتاً به علت تولید اسیدهای آلی (مانند اسیدلاکتیک) و همچنین باکتریوسین‌ها (از جمله انتروکوسین‌ها و پدیوسین‌ها) نسبت داده شده است (۳۵).

در طی مدت تخمیر و نگهداری، روند ثابت کاهش pH در نمونه‌های تلقیح شده با کشت‌های آغازگر لاکتیکی نسبت به نمونه شاهد مشاهده شد. میزان pH نهایی در پژوهش‌ها متفاوت می‌باشد اما به طورکلی روند تغییرات pH در اکثر مطالعات مشابه نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. Amin (۲۰۱۲) پس از بررسی اثر *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* در نگهداری بیولوژیکی گوشت چرخ شده گاو بسته‌بندی و نگهداری‌شده در دمای ۴ درجه‌سلسیوس گزارش کرد که pH نمونه‌ها طی ۲۴ ساعت اول تا میزان ۵/۶ کاهش یافت اما پس از آن تا پایان روز سوم به طور متوسط تا ۷/۰۱ افزایش یافت. در این خصوص pH نمونه کنترل در روز سه تا ۶/۹۱ افزایش یافت و

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:52 +0330 on Tuesday February 18th 2020

به علت فاسد شدن نمونه‌ها از روز سه به بعد آزمونی صورت نگرفت. ماندگاری نمونه‌های تلقیح شده با کشت محافظ ۳ روز و گروه شاهد ۲ روز در دمای ۴ درجه سلسیوس ارزیابی شد (۳۵). در مطالعه‌ای که توسط Rantsiou و همکاران (۲۰۰۵) صورت گرفت از *لاکتوباسیلوس ساکئی* تولیدکننده باکتریوسین به همراه ۱ درصد قند لاکتوز برای تولید سوسیس خشک تخمیری استفاده شد. افزایش میزان قند باعث کاهش مدت زمان تخمیر گردید. در غلظت مشابه میزان و سرعت تأثیر لاکتوز بر روی فرآیند تخمیر بیشتر از قندهای گلوکز و ساکارز بود. وجود لاکتوز تأثیر مهمی در رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک و تولید باکتریوسین داشت. همچنین کاهش pH تا میزان ۵/۴ باعث کمک به فرآیند فوق شد و بهترین میزان رشد استارتر در دمای ۲۵ درجه‌سلسیوس بود و کاهش دما به ۱۰ درجه‌سلسیوس باعث افزایش فاز تاخیر رشد *لاکتوباسیلوس ساکئی* و کاهش میزان اسیدیته گردید اما تولید باکتریوسین مانند گذشته بود. *لاکتوباسیلوس* در دماهای مختلف رفتارهای گوناگونی از خود نشان داد (۱۴). میزان pH نهایی در پژوهش‌ها ممکن است متفاوت باشد اما به طور کلی روند تغییرات آن در اکثر مطالعات مشابه روند تغییرات pH در این تحقیق است.

برخی از پارامترها ممکن است نگهداری بیولوژیکی گوشت‌تازه را کم کند. اولاً، حضور آنزیم‌های پروتئولیتیک که باعث تخریب باکتریوسین‌ها می‌شود بنابراین اثر ضدمیکروبی کشت‌های محافظ کم می‌شود. ثانیاً، این واقعیت وجود دارد که گوشت‌تازه اغلب با رشد باکتری‌های گرم منفی که عموماً هم تحت تأثیر باکتریوسین تولید شده توسط باکتری‌های‌اسیدلاکتیک قرار نمی‌گیرند، آلوده می‌شود. نهایتاً اینکه، گوشت تازه شامل تعداد زیادی از باکتری‌های متنوع است که باکتری‌های‌اسیدلاکتیک باید قادر به رقابت با آن‌ها باشد تا در طول دوره ذخیره‌سازی تبدیل به فلور باکتریایی غالب گردد. برای غلبه بر این عوامل، برخی از محققان اسیدلاکتیک را به عنوان وسیله‌ای برای کمک به کاهش یا کنترل رشد میکروب ها در گوشت‌تازه مرغ استفاده کرده‌اند (۳۸-۳۶). لذا در این تحقیق از ۱ درصد اسید سیتریک بدون هیچگونه عوارض ارگانولپتیکی در گوشت‌مرغ استفاده شد. همچنین استفاده از ۷ درصد قند لاکتوز در مقایسه با غلظت‌های ۱ و ۵ درصد تأثیر بهتری در تخمیر گوشت مرغ داشت که تا پایان آزمون‌ها به عنوان غلظت مورد نظر مورد استفاده قرارگرفت. حضور کربوهیدرات جهت مصرف باکتری‌های‌اسیدلاکتیک باعث کمک به رشد و تکثیر آن‌ها و تولید اسیدلاکتیک بیشتر و در نتیجه کاهش pH می‌گردد. گوشت سینه‌مرغ حاوی میزان کربوهیدرات اندک می‌باشد، لذا کاهش جزئی pH با استفاده از ۱ درصد اسید سیتریک و به‌کارگیری ۷ درصد لاکتوز باعث کمک به رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک و بهبود فرآیند تخمیر و نگهداری گوشت مرغ گردید.

نتیجه‌گیری

با توجه به امکان سنجی به عمل آمده در این پژوهش، توانایی رشد و تکثیر استارترهای زیست‌محافظ *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* و *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی* بر روی گوشت مرغ در حضور ۷ درصد قند لاکتوز و ۱ درصد اسید سیتریک نمایانگر امکان استفاده از این استارترها در صنایع گوشت می‌باشد. در این مطالعه اثر ضدباکتریایی این سویه‌ها بر علیه *لیستریامونوسایتوژنز* و *سالمونلاتایفی‌موریوم* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این استارترها بخوبی می توانند در افزایش زمان ماندگاری گوشت مؤثر باشند. بنابراین استفاده از استارترها می‌تواند از طریق تولید ترکیبات مغذی، عملگرا و سلامتی بخش بر غنای تغذیه‌ای محصولات گوشتی بیفزاید و جایگزین مناسبی برای بسیاری از ترکیبات نگهدارنده شیمیایی و مضر در فرآورده‌های گوشتی گردد.

• References

1. Lavermicocca P, Valerio F, Visconti A. Antifungal activity of phenyllactic acid against molds isolated from bakery products. Appl Environ Microbiol. 2003; 69(1):634-640.
2. Oroojalian F, Kasra-Kermanshahi R, Azizi M, Bassami MR. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. Food Chem. 2010; 120(3):765-770.
3. Liu L, O'conner P, Cotter P, Hill C, Ross R. Controlling Listeria monocytogenes in Cottage cheese through heterologous production of enterocin A by Lactococcus lactis. J Appl Microbiol. 2008; 104(4):1059-1066.
4. Ranjbar R, Torabi R, Mirzaie A. Molecular typing of Salmonella enteritidis strains isolated in several laboratory centers in Tehran by ERIC-PCR. Sci J Kurdistan Univ Med Sci. 2013; 18(2):77-85.

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:52 +0330 on Tuesday February 18th 2020

5. Calo-Mata P, Arlindo S, Boehme K, de Miguel T, Pascoal A, Barros-Velazquez J. Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their bacteriocins for the biopreservation of aquatic food products. Food Bioprocess Tech. 2008; 1(1):43-63.

6. Soleimani NA, Kermanshahi RK, Yakhchali B, Sattari TN. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli against Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis. Afr J Microbiol Res. 2010; 4(20):2169-2173.

7. Nasr A, Kasra KR, Nahvi I. The effect of some chemical and natural preservatives with sub-mic concentrations against milk-isolated Listeria monocytogenes. Iranian J Food Sci Technol. 2007; 4(1):17-25.

8. Cotter PD, Hill C, Ross RP. Food microbiology: bacteriocins: developing innate immunity for food. Nat Rev Microbiol. 2005; 3(10):777-788.

9. Hathwar SC, Rai AK, Modi VK, Narayan B. Characteristics and consumer acceptance of healthier meat and meat product formulations—a review. J Food Sci Technol. 2012; 49(6):653-664.

10. Sakaridis I, Soultos N, Dovas C, Papavergou E, Ambrosiadis I, Koidis P. Lactic acid bacteria from chicken carcasses with inhibitory activity against Salmonella spp. and Listeria monocytogenes. Anaerobe. 2012; 18(1):62-66.

11. Wang X, Ren H, Liu D, Zhu W, Wang W. Effects of inoculating Lactobacillus sakei starter cultures on the microbiological quality and nitrite depletion of Chinese fermented sausages. Food Control. 2013; 32(2):591-596.

12. Sawitzki MC, Fiorentini ÂM, Cunha Junior A, Bertol TM, Sant'Anna ES. Lactobacillus plantarum AJ2 isolated from naturally fermented sausage and its effects on the technological properties of Milano-type salami. Food Sci Technol. 2008; 28(3):709-717.

13. Rahnama E, Naghavi NS. Optimization of fermented cow meat quality by lactic acid bacteria in batch fermentation. J Microbial World. 2017; 10(3):263-274.

14. Rantsiou K, Urso R, Comi G, Cocolin L. Use of bacteriocin-producer Lactobacillus sakei for fermented sausages production. In: Proceeding of the 4th Int. Cong. Of safepork 2005, Italy 2005:135-138.

15. Mohammad Taheri M, Hosseini SE. Effect of two species of lactic primer cultures of Lactobacillus plantarum and Lactobacillus sakei on physicochemical and microbial characteristics of fermented meat product. Food Sci Technol. 2017; 14(69):243-331. [In Persian]

16. Neetoo, H., Ye, M., Chen, H., Joerger, R.D., Hicksand D.T. and Hoover, D.G. Use of nisin-coated plasticfilms to control Listeria monocytogenes on vacuum-packaged cold-smoked salmon. Int J Food Microbiol. 2007; 29(122): 8-15.

17. El Adab S, Essid I, Hassouna M, El Adab S, Essid I, Hassouna M, Effect of starter cultures microbial and physicochemical parameters of dry fermented poultry meat sausage. Afr. J Biotechnol. 2014; 13(43): 4155-4164.

18. ISIRI. Standard No. 4721. Enumeration Of mesophilic Lactic acid Bacteria in food stuffs colony count Technique at 30ºc (First Edition). Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2008.

19. ISIRI. Standard No. 8035-1 & 8035-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for detection and enumeration of listeria monocytogenes Part 1: Detection method & Part 2: Enumeration method (Revision). Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2008.

20. ISIRI. Standard No. 1028. Meat and meat products Measurment of pH Reference test method (Revision). Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2008.

21. Darvishi Sh, Lamea H, Akbari Nakhjavani F, Darvish F. Effect of Growth of Selected Lactic Acid Bacteria on Microbial Flora of Ground Beef under Workshop Conditions. J Water Soil Sci. 2004;8(2):169-179. [In Persian]

22. Vermeiren L, Devlieghere F, Debevere J. Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. Int J Food Microbiol. 2004; 96(2):149-164.

23. Kostrzynska M, Bachand A. Use of microbial antagonism to reduce pathogen levels on produce and meat products: a review. Can J Microbiol. 2006; 52(11):1017-1026.

24. Hugas M. Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. Meat Sci. 1998; 49:5139-5150.

25. Goff JH, Bhunia AK, Johnson MG. Complete inhibition of low levels of Listeria monocytogenes on refrigerated chicken meat with pediocin AcH bound to heat-killed Pediococcus acidilactici cells. J Food Protec. 1996; 59(11):1187-1192.

26. Enan G. Behaviour of Listeria monocytogenes LMG 10470 in poultry meat and its control by the bacteriocin Plantaricin UG 1. Int J Poult Sci. 2006; 5(4):355-359.

27. Yildirim Z, Yildirim M, Johnson MG. Effects of bifidocin B and lactococcin R on the growth of Listeria monocytogenes and Bacillus cereus on sterile chicken breast. J Food Safety. 2007; 27(4):373-385.

28. Khalili Sadagiani S, Tajik H, Aliakbarlu J. Isolation, biochemical and molecular haracterization of lactobacillus isolated from beef and evaluating their antibacterial effects on listeria monocytogenes. Urmia Med J. 2016; 27(2):130-139. [In Persian]

29. Todorov SD, Stojanovski S, Iliev I, Moncheva P, Nero LA, Ivanova IV. Technology and safety assessment for lactic acid bacteria isolated from traditional Bulgarian fermented meat product "lukanka". Brazillian J Microbiol. 2017; 48(3):576-586.

30. Rzepkowska A, Zielińska D, Ołdak A, Kołożyn-Krajewska D. Safety assessment and antimicrobial properties of the lactic acid bacteria strains isolated from polish raw fermented meat products. Int J Food Prop. 2017;20(11):2736-2747.

31. Nieto-Lozano JC, Reguera-Useros JI, Peláez-Martínez MdC, de la Torre AH. Effect of a bacteriocin produced by Pediococcus acidilactici against Listeria monocytogenes and Clostridium perfringens on Spanish raw meat. Meat Sci. 2006; 72(1):57-61.

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:52 +0330 on Tuesday February 18th 2020

32. Garg N, Kaur B. Biopreservative potential and stability assessment of Pediococcus acidilactici BA28. Int J Adv Res. 2015; 3(9): 980-989.

33. Tizfahm H ,Takme Dash S, Nassiri Semnani M, Taj Abadi Ebrahimi M, Damshaghian M, Alizadeh H. Effect of probiotic effect of 5 Lactobacillus plantarum strains on Salmonella typhimurium Salmonella typhimurium growth. The First International Congress of Medical Bacteriology 2011; TUOMS. [In Persian]

34. Maragkoudakis PA, Mountzouris KC, Psyrras D, Cremonese S, Fischer J, Cantor MD, et al. Functional properties of novel protective lactic acid bacteria and application in raw chicken meat against Listeria monocytogenes and Salmonella enteritidis. Int J Food Microbiol. 2009; 130(3):219-226.

35. Amin RA. Effect of biopreservation as a modern technology on quality aspects and microbial safety of minced beef. Global J Biotechnol Biochem. 2012; 7:38-49.

36. Anang D, Rusul G, Bakar J, Ling FH. 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 C. Food Control. 2007; 18(8):961-969.

37. Gonzalez-Fandos E, Dominguez J. Efficacy of lactic acid against Listeria monocytogenes attached to poultry skin during refrigerated storage. J Appl Microbiol. 2006; 101(6): 1331-1339.

38. Zeitoun A, Debevere J. Inhibition, survival and growth of Listeria monocytogenes on poultry as influenced by buffered lactic acid treatment and modified atmosphere packaging. Int J Food Microbiol. 1991; 14(2):161-169.

www.SID.ir

Antimicrobial Effects of *Lactobacillus Plantarum* and *Pediococcus Acidilactici* Bioprotective Starters against Foodborne Pathogens in Fermented Chicken Meats

*Varnan M[1], Mohsenzadeh M[*2], Salari A[3]*

1- M.Sc Student of Food Hygiene and Quality Control, Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

2- Corresponding author: Associate Prof, Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. Email: mohsenzadeh@um.ac.ir*

3- Assistant Prof, Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received 10 Jan, 2019 **Accepted 25 May, 2019**

Background and Objectives: Bioprotective starters, especially lactic acid bacteria, are used in fermentation and biological preservation of the meat products and considered as appropriate substitutes for the chemical preservatives. The aim of this study was to use *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* as bioprotective cultures and probiotics for the growth control of important foodborne pathogens and increase of the poultry meat shelf life.

Materials & Methods: Starter culture of 8.5×10^7 CFU/g, pathogenic bacteria of 10^5 CFU/g, citric acid concentration of 1% and lactose concentration of 7% were inoculated in chicken breasts. All treatments were stored at 25 °C for 24 h followed by 4°C ±1 for 72 h. Changes in population of the starter cultures, decreases in pathogenic bacteria and changes in pH values were assessed within a period of 72 h.

Results: Results showed that the population of lactic acid bacteria increased in pathogen-containing treatments. *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* cultures respectively decreased *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* typhimurium populations by 1.6 and 1.5 log folds until the Day 3 of fermentation, compared to control samples. *Pediococcus acidilactici* treatment included the strongest effects on decreasing populations of the pathogenic bacteria ($p < 0.05$). During fermentation and storage, a constant pH decrease was observed in inoculated samples with lactic acid culture, compared to control samples.

Conclusion: Use of bioprotective starters can play a significant role in safety of meat products and increase of their shelf-life as well as creating desired properties in meats.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* typhimurium, Lactic acid bacteria, Bioprotection, Fermentation, Chicken

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:52 +0330 on Tuesday February 18th 2020

www.SID.ir