

بررسی و مقایسه سوش های لاکتیکی جدا شده از فرآورده های لبنی سنتی ایرانی (ریچال شیری) و ارمنی بر کنترل عوامل فساد مواد غذایی

فرزاد کریم پور^{۱*}، سید هادی رضوی^۲، فلورا تخرونی^۳

^۱گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۲گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تهران، تهران، ایران، ^۳گروه بیوتکنولوژی، آکادمی علوم ارمنستان، ایروان، ارمنستان

تاریخ وصول: ۱۳۹۵/۴/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۱۸

چکیده

زمینه و هدف: برخی از متابولیت های باکتریایی جدا شده از فرآورده های تخمیری دارای خواص ضدباکتریایی، در مقابل باکتری های عامل فساد مواد غذایی هستند. هدف از این مطالعه بررسی خواص ضدباکتریایی سوش های جدا شده از فرآورده های لبنی سنتی ارمنی شامل؛ پنیرها و ماست های سنتی (ماتزون) و ریچال شیری به عنوان یکی از فرآورده های لبنی سنتی از ایران بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، سوش های باکتریایی جدا شدند و قدرت مهارکنندگی مایه رویی آنها بر باکتری های عامل فساد مواد غذایی مختلف از جمله سالمونلا مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور تعیین تأثیر سویه های مطلوب بر زمان ماندگاری از بین سوش های جدا شده، مایع رویی دو سوش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و پدیوکوکوس پنتوسوس مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته ها: سوش های جدا شده به طور معنی داری آلودگی را در مواد غذایی مورد مطالعه کاهش و زمان ماندگاری را افزایش دادند. به علاوه سوش های جدا شده از ریچال شیری، خواص ضد باکتریایی مطلوبی در برابر سالمونلا تاییفی موربوم داشتند.

نتیجه گیری: سوش های لاکتیکی جدا شده با قدرت بازدارندگی و تخمیر مناسب به عنوان نگهدارنده طبیعی می توانند به عنوان محصولی جدید و عمل گرا در صنعت لبنیات مورد استفاده قرار گیرند.

واژه های کلیدی: خواص ضد باکتریایی، ریچال شیری، باکتری لاکتیکی، لبنیات سنتی ارمنی

* نویسنده مسئول: فرزاد کریم پور، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دانشکده بهداشت، گروه تغذیه

Email: farzad.karimpour@yums.ac.ir

مقدمه

به فردی دارد. این فرآورده سنتی از شیر حرارت دیده شده و مایه ماست محلی به همراه سبزیجات کوهی و نمک در پوست گوسفند یا بز فرآوری شده و دود داده شده (مشک دوغی) تولید می‌گردد. به دلیل حمل و نقل راحت مشک و زمان ماندگاری بالای محصول در آن، این روش فراوری به وسیله بومیان از باستان تاکنون بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. امروزه که استفاده از مشک به حداقل رسید و ریچال در ظروف آلومینیومی و پلی اتیلنی تهیه گردید، زمان ماندگاری آن پایین آمده و خواص ارگانولپتیکی و مقبولیت خود را از دست داده است (۵).

همان گونه که در بالا گفته شد، متابولیت سوش‌های لاکتیکی دارای خواص ضد باکتریایی و قارچی بود. به همین دلیل به عنوان یک فرصت جهت کاربردی کردن این مواد به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی آشامیدنی آرایشی و بهداشتی به وسیله دانشمندان و متخصصین زیست فن‌آوری مورد نظر بوده‌اند. بنابراین متابولیت سوش‌های لاکتوباسیلوس پلاننتاریوم^(۶) و لاکتو باسیلوس کوروایتوس^(۷) را در ایتالیا برای تولید، نگهداری و فرآیند پروراندن نوعی سوسیس مورد استفاده قرار داده‌اند. هم‌چنین از سویه‌های استریپتوکوکوس لاکتیس و انترکوکوس فکالیس^(۸) به عنوان استارتر برای حذف ماده آلرژیک

دانشمندان یافتند که باکتری‌های لاکتیکی، موادی چون اسیدلاکتیک و برخی اسیدهای آلی، آب اکسیژنه، اسیدهای آمینه و پپتیدها که همگی خواص ضد باکتریایی دارند، تولید می‌کنند (۱). این مواد دارای خاصیت باکتروسیدی و نگهدارنده‌ی طبیعی برای مبارزه با باکتری‌های مزاحم در صنایع غذایی، آشامیدنی، بهداشتی و آرایشی باشند (۲). خواص مورد بحث این مواد شناسایی و مورد استفاده قرار گرفته و همواره در حال توسعه جهت استفاده‌های بهینه در آینده می‌باشند (۳). مکانیسم عمل این‌گونه میکروارگانیسم‌ها و متابولیت‌های آنان که به عنوان مواد نگهدارنده طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند، متفاوت می‌باشد (۴). این باکتری‌ها و متابولیت‌های آن برای انسان و دام مضر نبوده و به عنوان باکتروسین و مواد نگهدارنده طبیعی در مقابل شیوع باکتری‌های مزاحم و بیگانه در مواد غذایی و خوراک دام مورد استفاده می‌باشند (۲). بهترین گواه بر این مدعا نایسین^(۱) استخراج شده از استریپتوکوکوس لاکتیس^(۲) است که داری تأثیری مناسب در مقابله با طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت شامل: لیستریامونسیتوزنز^(۳)، استریپتوکوکوس اورئوس^(۴) و کلاستریدیوم بوتولینوم^(۵) می‌باشد که در صنایع مختلف همواره مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱).

ریچال شیری یکی از فرآورده‌های نوشیدنی سنتی تخمیری بر پایه لبنی بوده و به دلیل استفاده از گیاهان بومی، و نگهداری و فرآوری آن در پوست دباغی شده (مشک)، طعم و خواص مناسب و منحصر

-
- 1-Nisin
 - 2-S.Lactis
 - 3-*Listeria monocytogenes*
 - 4-*Streptococcus aureus*
 - 5-*Clostridium botulinum*
 - 6-*Lactobacillus plantarum*
 - 7-*L. Curvatus*
 - 8- *E. faecalis*

مورد مطالعه در کنترل فساد مواد غذایی به عنوان نگهدارنده های طبیعی برای افزایش زمان ماندگاری برای پیشنهاد احتمالی آن‌ها به صنعت می‌باشد.

روش بررسی

برای تولید ریچال شیری و تهیه محصولات لبنی ارمنی، مقداری شیر کامل از روستای ایدنک از شهرستان لنده در استان کهگیلویه و بویراحمد تهیه و در شرایط کاملاً سنتی پخته شد (دمای جوش و زمان حدود نیم ساعت)، سپس تا دمای ۴۰-۵۰ خنک شد. در ادامه مایه ماست سنتی همان منطقه را به مشک دوغی چمتر (مشک عمل‌آوری شده برای نگهداری و تولید دوغ) ریخته و سبزیجات محلی بومی شامل کرفس کوهی (کلوس)، موسیر، کاسنی، نعناع و نمک را به محتوی مشک اضافه شد. مشک حاوی ریچال در سایه بر تلواره^(۷) (محلی است برای نگهداری مشک که از چهار پایه‌ای تخت مانند که روی آن حصیری از نی مفروش شده است و پایه‌های آن در زمین ثابت می‌باشد) جهت فرآیند در دمای محیط به مدت دو تا سه روز نگهداری گردید. سپس در همان مشک و شرایط به انستیتوی بیوتکنولوژی و محصولات آن در کشور ارمنستان برای انجام مطالعه انتقال داده شد. فرآورده‌های لبنی ارمنی از روستاها به صورت

زای هیستامین در تولید نوعی پنیر عملگر استفاده شد^(۲). سویه جدا شده انتروکوکوس میندتی جی آر آل^(۱) علی‌رغم تولید چندین باکتریوسین به عنوان گراس^(۳) معرفی نشد^(۶). در مطالعه‌ای، نتایج نشان داد که گونه لاکتیکی جدا شده، توان بازدارندگی در برابر لیستریا مونوسایتوزنز، باسیلوس سرئوس^(۴) و هم‌چنین جلوگیری از رشد قارچ‌های کلادوسپوریوم^(۵) و فوزاریوم^(۵) را دارد^(۳). یافته‌های مطالعه‌ای دیگر، حاکی از فعالیت ضد باکتریایی گونه‌های انتروکوکوس جدا شده از یک محصول لبنی سنتی مکزیکی، "پنیر کاتیجا" می‌باشد. همچنین جداسازی چندگونه انتروکوکوس از پنیر کاتیج^(۶)، نشان داد که آن‌ها فعالیت لیتیک خارج سلولی در برابر استافیلوکوکوس اورئوس، یرسینیا انتروکولیتیکا، سالمونلا تایفی موریوم و سودوموناس آئروژینوزا را دارند^(۷).

در طول قرن‌ها، ساکنان مناطق آسیای میانه، فرآورده‌های تخمیری سنتی غنی از پروتئین تولید کرده که خواص فیزیولوژیکی به خصوصی چون آنتاگونیستیکی و آنتی‌اکسیدان از خود نشان داده‌اند. در ایران هم مطالعه‌های متعددی مبنی بر جداسازی سوش‌هایی لاکتیکی و هم‌چنین بررسی خواص ضد باکتریایی آن‌ها و آنالیز این متابولیت‌ها صورت گرفت^(۸). هدف از این مطالعه بررسی خواص ضدباکتریایی سویه‌های لاکتیکی جدا شده از فرآورده‌های لبنی، پنیرهای سنتی نمکی ارمنستان و ریچال شیری جنوب ایران (شهرستان‌های لنده و کهگیلویه) و هم‌چنین استفاده از خواص گونه‌های

1- *Enterococcus mundtii* GRL-35
2- GRAS (Genral Recognize as Safe)
3- *B.sereus*
4- *Cladosporium*
5- *Fusarium*
6- Cotija
7- Talvareh

تصادفی در شرایط استریل نمونه‌برداری و در کنار یخ و در شرایط سرد به انسیتوی فوق جهت مطالعه انتقال داده شدند.

برای جداسازی سوش‌های لاکتیکی و شمارش کلی‌فرم، کپک و مخمر، نمونه را در شرایط استریل همگن، وزن و با استفاده از آب پپتون ۱:۱۰ رقیق‌سازی مستقیم انجام شد. نمونه‌ها در ادامه بر روی محیط‌های کشت MRS، Milk Agar، M17 و Lacto agar ساخت شرکت هایمدیا کشور هند کشت داده و در دمای ۳۷ و ۴۲ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. پس از نگهداری در انکوباتور و رشد سویه‌ها، جداسازی مورفولوژی کلنی‌های مشابه و متفاوت صورت پذیرفت. پس از جدا و خالص‌سازی مطالعه‌های تعقیبی سوش‌های لاکتیکی انجام پذیرفت. با توجه به رقت‌سازی انجام شده جهت شناسایی *اشریشیاکلی*، از محیط کشت بریلینت گرین بایل براث^(۱) ساخت شرکت هایمدیا، شمارش کلی‌فرم‌ها از محیط کشت ویولیت رد بایل آگار^(۲) تهیه شده از شرکت باسینگ استوک هند و دمای گرمخانه‌گذاری ۳۷ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. جهت شمارش کپک و مخمرها از محیط سابروود آگار^(۳) تهیه شده از شرکت همپشیر انگلستان^(۴) و دمای گرمخانه‌گذاری ۲۵ درجه سانتی‌گراد استفاده شد (۹ و ۱۰).

برای شناسایی خواص فیزومورفولوژیکی باکتری‌های لاکتیکی، بعد از رشد کلنی‌ها بر محیط‌های کشت اختصاصی، جدا و خالص‌سازی، رنگ‌آمیزی گرم، شناسایی میکروسکوپی و تست کاتالاز انجام

گرفت. باکتری‌های کاتالاز منفی و گرم مثبت جداسازی گردیدند. تست‌های بیوشیمیایی و تخمیر شیر و بررسی تعقیبی مولکولی انجام پذیرفت. تست شرمن^(۵) (باکتری‌های جدا شده پس از کشت شبانه^(۶) در محیط براث از نظر پایداری حرارتی غیرمستقیم در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت نیم ساعت و سپس با کشت مجدد بر روی محیط کشت MRS آگار و براث رشد کردند) و سپس زنده‌مانی باکتری‌ها در شرایط این تست اندازه‌گیری گردید (۱۰). جداسازی باکتری‌های عامل فساد در سوسیس و پنیر بر اساس استانداردهای ملی ایران انجام، سپس شمارش شدند (۱۱ و ۱۲).

برای استحصال مایع رویی، در ابتدا از سوش‌های لاکتیکی جدا شده، به صورت کلنی‌های تازه و تکی کشت مجدد تهیه شد. کشت شبانه با استفاده از کلنی‌های خالص‌سازی شده در محیط کشت MRS براث، ۲۴ و ۴۸ ساعت تهیه شد (۱۳). پس از سانتریفیوژ محیط‌های کشت براث با کلنی‌های رشد داده شده، توده زنده یا بیومس از مایع رویی آن‌ها جداسازی شد. برای خالص‌سازی مایع رویی از سیستم تعویض یونی و کرماتوگرافی استفاده شد (۱۴ و ۱۵). مایع رویی خالص شده در دامنه ۶- $\text{pH}=5/5$ و اسیدیته ۲۵۰-۳۰۰ درجه تورنر بود.

1- Brilliant Green Bile Broth
2-Violet Red Bile Agar
3-Sabouraud Agar
4-Hampshire, England
5-Sherman Test
6-Overnight Culture

پنتوسوس ۲۸ در تولید پنیرهای فرایند شده استفاده گردید. برای این بررسی مقدار ۱-۰/۵ درصد از مخلوط خالص شده مایع رویی با $WC=58$ درصد لاکتوباسیلوس *اسیدوفیلوس* ۱۹۹۱ ، هم‌چنین از مخلوط خالص شده مایع رویی به نسبت ۵-۲ درصد $WC=30$ درصد پدیوکوکوس *پنتوسوس* ۲۸ به‌طور جداگانه به پنیر فرآیند شده و سوسیس اضافه و هم‌گن شد. این مواد تحت دمای ۹۵-۸۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. نمونه‌های تولید شده پنیر پروسس در دمای ۳+ تا ۴+ نگهداری گردیدند (۱۷ و ۱۶). سپس در روزهای ۰، ۱۵، ۳۰ و ۱۰۰ روز نمونه‌های پنیر، مورد آزمایش‌های کنترل کیفی قرار گرفتند و با استاندارد ملی انطباق داده شدند (۱۸ و ۱۲، ۱۱) به دلیل بالا بودن مقادیر عددی میکرواورگانیزم‌ها از آن‌ها تابع لگاریتم گرفته شد و سپس مقادیر در نمودار گزارش گردید. کلیه سوش‌های لاکتیکی جداسازی شده در ابتدای مطالعه وارد شدند و در ادامه سویه‌های دارای بهترین متغیر پاسخ انتخاب نهایی و بقیه از مطالعه خارج گردیدند.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزهای اکسل و *SPSS* و آزمون آماری *آنالیز واریانس* یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

چهل و سه باکتری لاکتیکی از فرآورده‌های تخمیری لبنی جداسازی شدند. این سوش‌ها باسیل و کوکسی شکل بوده، توانایی تخمیر شیر در

برای اندازه‌گیری فعالیت مهارکنندگی از چهار مرحله تهیه محلول نیم مک فارلند، انتخاب سوش‌های پاتوژن، کشت چمنی یا سطحی از باکتری عامل فساد و تست نقطه‌ای از مایع رویی سوش‌های لاکتیکی استفاده شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان هاله اطراف مایع رویی چکانده شده بر سطح محیط کشت، به میلی‌متر گزارش گردید. سوش‌های جداسازی شده در محیط کشت ام آر اس برات در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در مدت ۲۴ ساعت رشد داده شدند. برای بررسی پایداری حرارتی خواص ضدباکتریایی مایع رویی حاصل کشت‌های شبانه کلنی خالص در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه تحت استرس حرارتی قرار گرفتند. پس از خنک شدن، خواص ضد باکتریایی این مایع رویی بر باکتری‌های عامل فساد مورد آزمون قرار گرفت. برای اندازه‌گیری قدرت تخمیر کلنی‌های خالص شده به صورت مستقیم یا رشد داده شده در ام آر اس برات به شیر بدون چربی مایع و استریل تلقیح و گرمخانه‌گذاری می‌شدند و پس از انعقاد لوله‌ها به یخچال منتقل و زمان آن یادداشت و بافت آن هم مورد ارزیابی کیفی قرار گرفت (۸).

برای اندازه‌گیری میزان اثر بخشی ضد باکتریایی، برخی از مواد دارای خواص ضدباکتری منتخب را به نمونه‌های پنیر فرآیند شده و سوسیس معمولی اضافه شد. متابولیت خالص‌سازی شده سوش‌هایی چون *استریپتوکوکوس ترموفیلوس* اچ ام دی، *LAB sp. 103* ، *LAB66*، *LAB sp.64*، *LAB sp.65* لاکتوباسیلوس *اسیدوفیلوس* ۱۹۹۱، پدیوکوکوس

نشان‌دهنده تفاوت تأثیر معنی‌دار ($p < 0.05$) متابولیت‌های سوش‌های لاکتیکی بر گونه‌های مختلف عامل فساد مواد غذایی می‌باشد. سوش‌های پدیوکوکوس و سوش‌های لاکتیکی شماره ۶۴ و ۶۶ دارای بیشترین اثر مهارکنندگی بر *انتروباکتر* بوده‌اند و سوش *لاکتوباسیلوس اسیدو فیلوس* دارای بیشترین تأثیر بر *سالمونلا* بوده است. کمترین تأثیر را سوش پدیوکوکوس بر مهار رشد *استافیلوکوکوس* داشته است. تقریباً همه متابولیت‌های مورد بررسی توانستند به‌طور معنی‌داری بر مهار رشد *سالمونلا* تأثیر مثبت داشته باشند.

قدرت مهارکنندگی برخی سوش‌های لاکتیکی در غلظت‌های مختلف در نمودار ۱ و ۲ نشان داده شده است.

تأثیر مایع رویی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدو فیلوس* ۱۹۹۹۱ در $pH=5/5$ و $WC=58$ از روز اول تا روز صدم در غلظت‌های صفر و نیم درصد در نمودار ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که مشخص است با افزایش غلظت مایع رویی قدرت مهارکنندگی به‌طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش یافته است به طوری که در استفاده از غلظت ۰/۵ درصد در همه روزهای مورد بررسی نتایج با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) داشتند.

تأثیر مایع رویی باکتری پدیوکوکوس ۲۸ در غلظت‌های صفر و پنج درصد با $WC=30$ درصد از روز اول تا روز صدم در نمودار ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشخص است با افزایش غلظت مایع

دماهای مختلف از ۱۶ تا ۲۴ ساعت را داشتند. یازده باکتری لاکتیکی از فرآورده لبنی سنتی تخمیری ریچال شیری ایرانی جداسازی گردید که از لحاظ فیزیومورفولوژیکی مشابه و لی با قدرت تخمیر شیربهتری (زمان بسیار پایین تر)، نسبت به سویه‌های جدا شده از فرآورده‌های تخمیری در ارمنستان بودند.

در این بررسی اثر ضد باکتریایی سوش‌های لاکتیکی جدا شده از فرآورده‌های لبنی سنتی در ارمنستان بر سوش‌های مختلف عامل فساد در مواد غذایی به خصوص سوسیس و پنیر از جمله *استافیلوکوک*، *سالمونلا*، *انتروباکتر*، و *رودوتورلا* انجام گرفت. نتایج نشان دادند که مایع رویی سوش‌های مورد مطالعه تأثیر معنی‌داری ($P < 0.05$) بر باکتری‌های آلوده کننده مورد مطالعه داشتند. تأثیر مهارکنندگی مایه رویی باکتری‌های لاکتیکی مورد بررسی بر میکرو فلور جداسازی شده از پنیر معنی‌دارتر از میکروفلور جداسازی شده از سوسیس بود. همچنین نتایج نشان دهنده حداقل درصد مهار رشد ۲۸-۲۳ درصد در هنگام مواجه مایع رویی سوش‌های *LAB sp. 64* و *LAB sp. 65* و حداکثر تأثیر درصد مهار رشد حدود ۸۰-۹۰ درصد مربوط به مایع رویی *LAB sp. 103* و پدیوکوکوس پتوسوس ۲۸ بود.

برای بررسی دقیق‌تر، اثر ضد باکتریایی و توانایی مهارکنندگی مایع رویی خالص‌سازی شده باکتری‌های لاکتیکی جداسازی شده در مقابل تعداد میکروب مولد فساد از جمله *استافیلوکوک*، *سالمونلا*، *انتروباکتر* و *رودوتورلا* محاسبه شد. نتایج

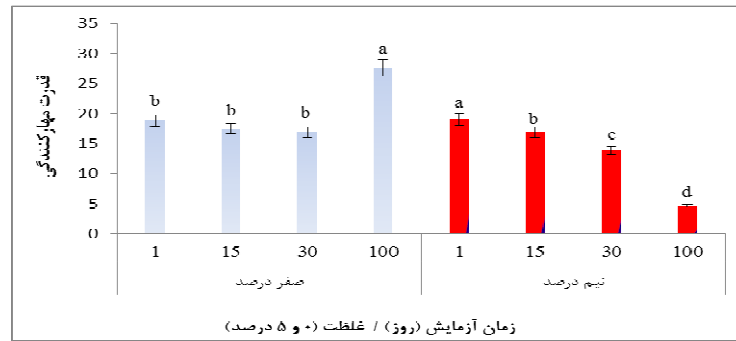
قدرت مهارکنندگی مربوط به سوش لاکتوباسیلوس *F17* می باشد که به طور معنی داری ($P < 0.05$) نسبت به بقیه سوش ها بر سالمونلا قدرت مهارکنندگی داشت. همچنین دو سوش لاکتیکی *F78* و *F11* کمترین اثر معنی داری را نسبت به بقیه سوش ها بر سالمونلا داشت.

همچنین تست پایداری حرارتی (تست شرمین) نشان دهنده وجود برخی باکتری های جدا شده از ریچال در مقابل شوک حرارتی بود. این باکتری های لاکتیکی داری پایداری حرارتی متفاوتی بودند، به طوری که هیچ باکتری لاکتیکی به غیر از لاکتوباسیلوس *F21* بعد از ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ رشدی بر محیط های براث و آگار نداشت و فقط این سوش بر محیط کشت MRS Broth رشد کرده بود. بهترین رشد در ۴۸ ساعت در دمای فوق بر محیط MRS Agar را لاکتوباسیلوس *F85* داشت. سوش های لاکتوباسیلوس *F67, F87* و *F18* رشد همسانی را بعد از ۴۸ ساعت در دمای فوق بر محیط MRS Agar داشتند. در خصوص سویه های جدا شده از ریچال شیری فرآورده های لبنی سنتی ایرانی هم بر سوش های سالمونلا تایفی موریوم، باسیلوس تیورینجینسیس *17-19* و باسیلوس سوبتیلوس *89-17* انجام پذیرفت، ولی هر دو گروه فرآورده های سنتی ایرانی و ارمنی در مطالعه بر سالمونلا مشترک بودند. بهترین اثر بر سالمونلا مربوط به سوش *LAB sp. F17* بعد از آن سویه های لاکتیکی *F16, F67, F85, F78, F18* بود.

رویی پدیوکوکوس قدرت مهارکنندگی محاسبه شده به طور معنی داری افزایش یافته است به طوری که در استفاده از غلظت ۵ درصد در همه روزهای مورد بررسی نتایج با یکدیگر اختلاف معنی داری داشتند. این امر نشان می دهد افزایش غلظت مورد استفاده از مایه رویی موجب کاهش تعداد کلنی های عامل فساد و افزایش زمان ماندگاری را به دنبال دارد.

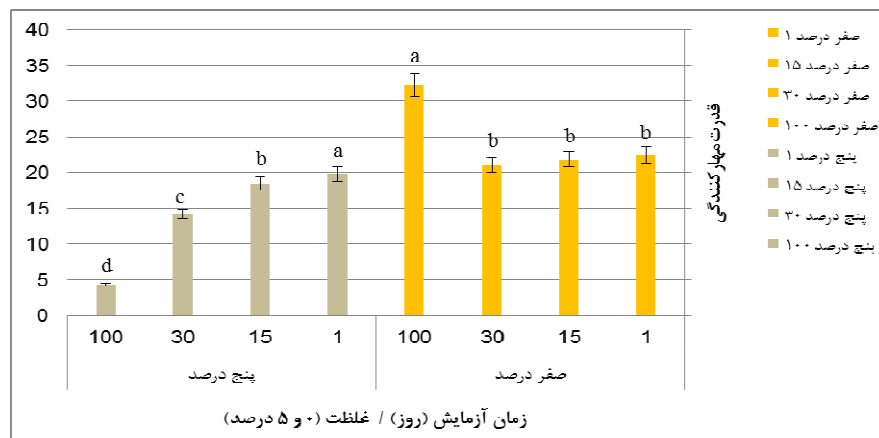
به طور کلی نتایج به دست آمده در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده دهنده غلظت و اثرگذاری معنی دار مایع رویی سوش های لاکتوباسیلوس اسیدو فیلیوس *1991* و پدیوکوکوس پنتوسوس در مقایسه با شاهد بود. نتایج نشان دهنده روند کاهشی رشد باکتری های عامل فساد و افزایش زمان ماندگاری محصولات بود. لازم به ذکر است سوش های استریپتوکوکوس ترموفیلوس *LAB sp. 64* و *LAB sp. 65* علی رغم داشتن خواص ضد باکتریایی در مقابل باکتری های عامل فساد مواد غذایی، در مطالعه حاضر فعالیت ضد باکتریایی مثبتی نشان ندادند، اما با افزایش ۱۰ برابری از مایع خالص شده این سوش ها که در شرایط مورد مطالعه اضافه شد، کاهش بار آلودگی باکتری های آلوده کننده در سی امین روز از نگهداری در سردخانه مشاهده شد.

مهارکنندگی مایع رویی سوش های لاکتیکی ریچال شیری، نتایج قدرت مهارکنندگی باکتری های لاکتیکی جداسازی شده از ریچال شیری، بر سالمونلا تایفی موریوم، حاکی از تأثیر متفاوت این سوش ها بر این گونه عامل فساد بوده است (نمودار ۳). بالاترین



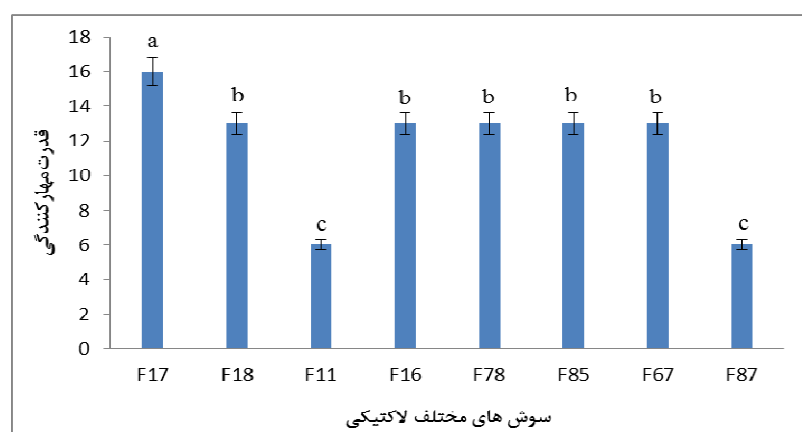
* حروف غیریکسان در ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵ درصد می‌باشد ($P < 0.05$).

نمودار ۱: مقایسه تأثیر مایع روی سوش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۱۹۹۹۱ در غلظت‌های متفاوت بر زمان ماندگاری مواد غذایی مورد مطالعه



* حروف غیریکسان در ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵ درصد می‌باشد ($P < 0.05$).

نمودار ۲: مقایسه تأثیر مایع روی سوش پدیوکوکوس پنتوسوس ۲۱ در غلظت‌های متفاوت بر زمان ماندگاری مواد غذایی مورد مطالعه



* حروف غیریکسان در ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵ درصد می‌باشد ($P < 0.05$).

نمودار ۲: تأثیر قدرت مهارکنندگی مایع روی سوش‌های لاکتیکی ریچال شیری بر سالمونلا تاییفی موریوم

بحث

خواص این سوش های لاکتیکی بررسی و سویه های انتخاب شدند. در ادامه با هدف کاربردی و استفاده سویه ها یا متابولیت آنها در مواد غذایی به عنوان نگهدارنده باید بررسی تعقیبی صورت پذیرد. مطالعه حاضر که نوعی طراحی شرایط موجود در تولید بوده و می تواند پیش بینی را برای متخصصین زیست فن آوری غذا جهت استفاده کاربردی آشکارتر و مطمئن تر سازد. در این راستا جهت توسعه و معرفی استفاده از باکتری های لاکتیکی یا متابولیت های آنها به عنوان یک نوآوری نیاز به مطالعه در شرایط مختلف می باشد؛ زیرا این مواد با خصوصیات ضد باکتریایی خاص سازی شده باید در شرایط و استرس های مختلف از جمله دما، pH و شرایط استریلیزاسیون یا استرس حرارتی با باکتری های مولد فساد مواجهه داده شوند (۱۹ و ۱۶). بررسی ها حاکی از آن است که برخی از نگهدارنده های طبیعی در مواد غذایی با استفاده از فعالیت تخمیری و فعل و انفعالات میکرواورگانیزم ها به عنوان یک متابولیت طبیعی بوده و باعث افزایش زمان ماندگاری محصولات فاسد شدنی می شوند که این مطالعه ها با تحقیق حاضر انطباق دارد (۲۴ و ۱۳). تعدادی از پژوهشگران فعالیت آنتاگونیستی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را در برابر عفونت *هلیکوباکتر* در شرایط آزمایشگاهی و در داخل بدن انسان مورد ارزیابی قرار دادند که نتایج نشان داد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به عنوان باکتری لاکتیکی توانست فعالیت ضد باکتریایی مطلوبی داشته باشد و

سوش ها از فرآورده های لبنی تخمیری ارمنی و ایرانی جداسازی شدند. برای استفاده کاربردی متابولیت آنها مطالعه برمنتخبین این سویه ها صورت گرفت. به دلیل حجم بالای سویه های جداسازی برخی از آنها شناسایی مولکولی شدند. در مطالعه مشابهی که آزادنی بر دوغ های سنتی در استان فارس داشته سوش های متعدد لاکتیکی را به همین روش فیزیو مورفولوژیکی و بیوشیمیایی جداسازی کرده و با مطالعه حاضر همخوانی کامل داشته است (۱۰). در پژوهشی که بر فرآورده لبنی سنتی آش ترخینه صورت گرفت تعدادی سوش لاکتیکی در ابتدا جداسازی و شناسایی شدند و در ادامه برخی از منتخبین را شناسایی مولکولی نمود. نتایج نشان داد که تعدادی از این سوش های لاکتیکی دارای خاصیت ضدباکتریایی و پروبیوتیکی هستند و با مطالعه حاضر انطباق دارند (۱۹). باکتری های لاکتیکی موجود در محصولات لبنی سنتی تخمیری در ارمنستان و آسیای میانه مورد مطالعه قرار گرفتند و به نتایج کاملاً مشابهی با پژوهش حاضر از جمله؛ بررسی های فیزیو مورفولوژیکی، بیوشیمیایی، میکروسکوپی و ضد باکتریایی و پروبیوتیکی دست یافت (۲۰). نتایج این پژوهش با مطالعه صورت گرفته که کار شمارش، جداسازی و شناسایی بر فرآورده سنتی تخمیری روب از کشور سودان بود انطباق داشت (۲۳). همان گونه که اشاره شد در بررسی های دیگری برخی

با نتایج این پژوهش که کنترل باکتری‌های پاتوژن بود هم‌خوانی کاملی داشت (۲۵).

پژوهشگران نشان دادند که عصاره کفیر حاوی باکتری‌های لاکتیکی بر باکتری‌های سودوموناس خاصیت ضد باکتریایی داشته و حتی در کنترل عفونت‌های حاصل از سوختگی، قدرت باکتریوسیدی زیادی داشته و بر نتایج این پژوهش صحه‌گذاری می‌گذارد (۱۳). از طرفی مطالعه تخرونی که از نگاه کاربردی مطالعه نموده و از متابولیت‌های خالص شده در درمان طیور و حیوانات با اضافه کردن به خوارک آنها نتایج قابل قبولی را گزارش کرده است، با مطالعه حاضر انطباق کامل دارد (۲). تحقیق صورت گرفته به وسیله احمدوف که به بررسی تأثیر متابولیت‌های حاصل از سوش‌های لاکتیکی جدا شده از فرآورده‌های تخمیری سنتی بر مهار قارچ‌ها پرداخته است، نتایج مطالعه حاضر را تأیید می‌نماید. این در حالی است که در مطالعه حاضر به جای تأثیر بر قارچ از مخمر استفاده شده که با یافته‌های این مطالعه بر مخمر مطابقت کامل دارد (۳). بورل و کوت به مقایسه عمل این مواد ضد باکتری طبیعی پرداختند و کلیات مطالعه حاضر را تأیید می‌کند، ولی بررسی حاضر به کاربرد این مکانیسم‌ها در مواد غذایی و زمان ماندگاری آنها پرداخته که می‌تواند وجه تمایز آن باشد (۴). زنگنه و همکاران بر استفاده کاربردی مواد حاصل از سوش‌های لاکتیکی به عنوان نگهدارنده یا مهار کننده مطالعه کردند که با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت داشت (۶). در مطالعه دئو مکادو و

همکاران که در خصوص کاربرد متابولیت سوش‌های لاکتیکی بر زمان ماندگاری سوسیس تولیدی بوده، یافته‌های تحقیق حاضر را تأیید می‌نمایند (۱۵). یزدانیان و همکاران در مقایسه‌ای که برخی از مواد نگهدارنده طبیعی بر زمان ماندگاری مواد غذایی انجام دادند مطالعه حاضر را از نظر سیستم کاربردی تأیید می‌کنند (۱۶). ثبت اختراع تخرونی در خصوص تأثیر مواد حاصل از متابولیت سوش‌های لاکتیکی تحت عنوان آم.پ بر چندین سوش بیماری‌زا مؤید و تأیید کننده نتایج حاضر می‌باشد (۱۷). مطالعه تاج آبادی و همکاران در خصوص بررسی خواص آنتاگونیستی سوش‌های لاکتیکی جدا شده از فرآورده سنتی ترخینه با تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (۲۳). بررسی کارخانیان و هام بارچومیان در خصوص کاربرد متابولیت سوش‌های لاکتیکی بر پنیر فرآیند شده با مطالعه حاضر انطباق کامل دارد (۲۴). مطالعه کریم پور در خصوص افزایش زمان ماندگاری به وسیله استفاده از نانو پلی استایرین در شیر پاستوریزه مدرسه از لحاظ طراحی مطالعه با بررسی حاضر انطباق کامل دارد (۱۸). از ماده نگهدارنده باکتریوسین دو جزئی لاکتیسین ۳۱۴۷ در پنیر برای مهار باکتری‌های آلوده‌کننده تا سطح $2\log_{10}$ به عنوان مرجع استفاده شد. این داده‌ها برای اثبات ضرورت استفاده از پتانسیل سوش‌های لاکتیکی جهت جستجو و مقایسه گونه‌های جدیدی با کاربردهای عمومی و تخصصی به عنوان مواد نگهدارنده طبیعی ضروری به نظر می‌رسد. نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های حمیدی

و همکاران در خصوص خواص ضد باکتریایی متابولیت سوش های لاکتیکی همخوانی داشته، گرچه در مطالعه مورد اشاره فقط به ساختار شیمیایی و پپتیدی این مواد پرداخته، ولی همواره خواص ضد باکتریایی متابولیت سوش های لاکتیکی را در مطالعه حاضر تأیید می‌کند (۱). در خصوص خواص سوش هایی با پتانسیل پروبیوتیکی مطالعه ای در ایران صورت گرفته که از نقطه نظر کاربردی کردن این سوش ها به جهت استفاده برای افزایش سطح زندگی و تهیه غذاهای عملگر با مطالعه حاضر همخوانی دارد، گرچه به نظر می‌رسد این سویه ها تجاری بوده و سویه ها در مطالعه حاضر بومی می‌باشند (۲۶).

نتیجه‌گیری

میزان قطر هاله و حساسیت مایع رویی بر سالمونلا در سوش های ارمنی بیشتر و خواص باکتریوسینی بهتری نسبت به ریچال شیری ایرانی داشتند. البته این نکته حائز اهمیت است که سوش های انتخابی ارمنی در استرس های مختلف با غربالگری از بین تعداد زیادی سوش و فرآورده انتخاب شدند. این در حالی است که سویه های ایرانی فقط از بین سویه های لاکتیکی جدا شده از ریچال شیری بودند.

REFERENCES

1. Hamidi M, Mousavi Nasab SD, Ahmadi N, Basati Gh, Aolad GR, Salimian J, et al. Synthesis of antimicrobial peptides in bacteria. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences* 2012; 20(4):158-170.
2. Tkhruni FN. The use of Metabiotics of the lactic acid bacteria for The treatment of Salmonellosis in farms. *Asian Academic Research Journal of Multidisciplinary* 2015; 32(1): 176-83.
3. Ahmadova A, Todorov SD, Hadji-Sfaki I, Choiset Y, Rabesona H, Messaoudi S, et al. Antimicrobial and antifungal activities of *Lactobacillus curvatus* strain isolated from homemade Azerbaijani cheese. *Anaerobe Journal* 2013; 20: 42-9.
4. Brul S, Coote P. Preservative agents in foods, Mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal Food Microbiology* 1999; 50:1-6.
5. Karimpour F, Tkhruni FN, Razavi SH, Karapetyan KJ. The characteristic of microflora of Iranian traditional dairy beverage. *Proceedings of the First international Scientific-Research Conference of Iranian students*. 2011; 16-17 September, Yerevan-Armenia.
6. Zanganeh H, Shahidi F, Mortazavi A, Edalatiyan MR, Milani E. Using bacteriocin as natural preservatives in food products. In: *proceedings of 21th National Congress of Food Science*. 2013; 29- 31 Oct., Shiraz University, Shiraz, Iran (In Farsi).
7. García-Cano I, Serrano-Maldonado CE, Olvera-García M, Mendoza-Hernández G, Quirasco M. Antibacterial activity produced by *Enterococcus* spp. isolated from an artisanal Mexican dairy product: Cotija cheese. *LWT - Food Science and Technology* 2014; 59(1): 26-34.
8. Karimpour F. Study of Iranian Traditional Fermented Dairy Beverage "Richal" and Investigation of Its Production Possibility. Ph. D. Dissertation. 2014; National Academy of Sciences of Armenia, Yerevan, Armenia.
9. Karimpour F, Tkhruni FN, Karapetyan KJ, Razavi SH. Certain probiotic properties of lactic acid bacteria from the Iranian dairy product "Richal". *Life Science Journal* 2013; 10(6s): 508-512
10. Azadnia P, Khan Nazer AH. Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional drinking yoghurt in tribes of Fars province. *Iranian Journal of Veterinary Research* 2009; 10(3): 235-4.
11. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. ISIRI Number 2303. Milk and milk products- Yogurt- Specification and test methods. 2004; from <http://www.isiri.org/portal/files/std/2303.doc>
12. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2004. ISIRI Number 2406. Milk and milk products- Yogurt- Specification and test methods. 2004; from <http://www.isiri.org/portal/files/std/2406.doc>
13. Rahimzadeh G, Bahar M, AmirMozafari N, Salehi M. Antimicrobial activity Kefir on *Pseudomonas aeruginosa*. *Razi Journal of Medical Sciences* 2011; 18(82 - 83): 8-16.
14. Khay E, Idaomar M, Pastrana Castro LM, Bernárdez PF, Senhaji NS, Abrini J. Antimicrobial activities of the bacteriocin-like substances produced by lactic acid bacteria isolated from Moroccan dromedary milk. *African Journal of Biotechnology* 2011; 10(51): 10447-55.
15. De Macedo REF, Lye Miyague Costa LB, Luciano FB. Control of growth by bacteriocin-producing starter cultures in the manufacturing of dry fermented sausage. *African Journal of Microbiology Research* 2013; 7(9): 710-8.
16. Yazdanyan G, Bakherad Z, Rashidi M, Khazri M. Quantification of potassium sorbate in dairy products and its effect as a preservative for yeast control. 2006; Mashad university of medical sciences as plan research at Mashhad medical science. (In Farsi).
17. Tkhruni FN, Agajaniyn. A Patent No. 1403 A2. 2004; Republic of Armenia.
18. Karimpour F, Ahari H, Beglaryan A, Anvar AA, Rahman-nya J. Effect of synthesizing antibacterial polymer with silver nano particle on pasteurized milk shelf life. *Proceedings of International Food Congress Novel Approaches in Food Industry* 2011; 26-29 MAY, Izmeyr- Turkey
19. Tafvizi F, TajabadiEbrahimi M, Khojare L. Genotypic and 25Phylogenic Analysis of *Lactobacilli* Producing Bacteriocin Isolated from Traditional Dairy Products and Food. *Journal of Fasa University of Medical Sciences* 2012; 2(2), 84-90.
20. Afrikian E. Studies of lactic-acid bacteria in Armenia with emphasis on radioprotective properties. *The Environmentalist Journal* 2012; 32(2): 256-68.
21. Abdalla MOM, Hussain SIK. Enumeration and Identification of Microflora in Roub: A Sudanese Traditional Fermented Dairy Product. *British Journal of Dairy Sciences* 2010; 1(2): 30-3.

22. Nayeri N, Edalatiyan M. Applied of bacteriocinin food preservation with plant source .In: proceedings of 21th National Congress of Food Science.2013;29-31 Oct., Shiraz University, Shiraz, Iran. (In Farsi).
23. Tajabadi Ebrahimi M, Hejaazi MA, Ghafary R, Jafari P. Antagonistic ability of acid and bile tolerance Lactobacillus were isolated from dairy products. Journal of Arak University of Medical Sciences 2009; 12(2):17-27.
24. Karakhanyan MG, Hambarzomyan EV. Use of supernatants in the processed cheese technology. Journal Agrogitutsyun 2005; 1: 63-4.
25. Coconnier MH, Lievin V, Hemery E, Servin AL. Antagonistic activity against Helicobacter infection in vitro and in vivo by the human Lactobacillus acidophilus strain LB. Applied and Environmental Microbiology Journal 1998; 64(11): 4573-80.
26. Soltan Dallal MM, Mojarrad M, Baghbani F, Raoofian R, Mardaneh J, Salehipour Z. Effects of probiotic Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei on colorectal tumor cells activity (CaCo-2). Arch Iran Med 2015; 18(3): 167-72.

Evaluation and Comparison of Lactic Strains Isolated from Traditional Iranian Dairy Products (*Richal Shiri*) with Armenian Dairy Products on Control of Food Spoilage Agents

Karimpour F^{1*}, Razavi SH², Nubar Tkhruni F³

¹Department of Nutrition, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ²Department of Food Science and Technology, Tehran University, Tehran, Iran, ³Department of Biotechnology, National Academy of Sciences of Armenia, Yerevan, Armenia

Received: 10 Jul 2016

Accepted: 29 Sep 2016

Abstract

Background & aim: Some bacterial metabolites isolated from fermentative products have antibacterial properties against food spoilage bacteria. The aim of this study was to evaluate the antibacterial properties of the isolated strains of traditional Armenian dairy products including cheese and traditional yogurts (Matson) and *Richal shiri* as a traditional dairy products from Iran.

Material and method: In the present experimental study, bacterial strains were isolated, and subsequently the antibacterial activity of supernatants of strains on several types of spoilages bacteria such as *Salmonella* was assessed. In addition, isolated strains from Rachel shiri showed a good antibacterial properties against *Salmonella typhimurium*.

Results: The isolated strains were significantly reduced food contamination and increased the shelf -life. Furthermore, isolated strains from Richal shiri showed a good antibacterial properties against *Salmonella typhimurium*

Conclusion: LAB strains isolated with appropriate inhibition, fermented power as a natural preservative and pragmatic as new products may be used in the dairy industry.

Keywords : Antibacterial activity, *Richal Shiri*, Lactic Acid Bacteria, Armenian Traditional Dairy

*Corresponding author: Karimpour F, Department of Nutrition, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Email: Saverzida@yahoo.com

Please cite this article as follows:

Karimpour F, Razavi SH, Nubar Tkhruni F. Evaluation and Comparison of Lactic Strains Isolated from Traditional Iranian Dairy Products (*Richal Shiri*) with Armenian Dairy Products on Control of Food Spoilage Agents. Armaghane-danesh 2016; 21 (7): 655-668.