بررسی اثر رشد و تکثیر تعدادی از باکتری‌های لاکتیک بر روی تحول میکروبی گوشت چرخ کرده گاو در شرایط صنعتی

شعله درویشی[۱]، سید حسن لامع[۲]، فرخ اکبری نخجوانی[۳] و فرخ درویش[٤]

چکیده

اثـر رشـد و تکثیر یک سویه لاکتوباسیلوس کازئی زیرگونه کازئی و یک سویه از لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه لاکتیس واریته دی استی لاکتـیس جدا شده از فرآورده‌های شیر که فعالیت آنتی بیوز آنها بر روی استافیلوکوکوس ئورئوس واشریشیا کلی بررسی و تأیید شده بود، بـر فلـور طبیعـی گوشـت چرخ کرده گاو، در شرایط صنعتی، مورد بررسی قرار گرفت. سویه‌های مذکور به‌طور جداگانه و با غلظت 10^4 CFU/g گوشـت چـرخ کـرده اضـافه شـدند. نمـونه‌هـای تلقیح شده و شاهد در بسته‌های نیم کیلویی و در ظروف پلاستیکی بسته‌بندی شده و در -1-$5^\circ C$ بـه مـدت ۵ روز نگه‌داری گردیدند. شمارش گروه‌های مختلف میکروبی (شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی، باکتری‌های لاکتیک، سودوموناس‌ها، استافیلوکوکوس ئورئوس، کلی فرم‌ها، قارچ‌ها و جستجوی (اشریشیاکلی) در طول مدت نگه‌داری انجام شد.

نـتایج بررسـی نشـان مـی‌دهد که تعداد باکتری‌های لاکتیک در نمونه‌های تلقیح شده با لاکتوباسیلوس کازئی، در طول مدت نگه‌داری (۵ روز) افـزایش مـی‌یابـد، در حالـی که تعداد کل میکروارگانیسم‌های هوازی، سودوموناس‌ها، کلی فرم‌ها و مخمرها، در شرایط مذکور، کـاهش می‌یابند. در نمونه‌هایی که با لاکتوکوکوس لاکتیس تلقیح شده بودند، فقط تعداد مخمرها کاهش قابل توجهی نشان می‌دهند. سویه اخیر روی تعداد سایر گروه‌های میکروبی شمارش شده اثر قابل توجهی نداشته است. بدین ترتیب مشخص گردید که لاکتوباسیلوس کازئی، مـی‌تـواند یـک سـویه آنتاگونیسـت مناسب با توان بازدارندگی در برابر میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماری‌زای گوشت خامی که در بسته‌بندی‌های قابل نفوذ به هوا، در دمای بین -1 و $5^\circ C$ قرار گرفته است، مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: ***لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوکوکوس لاکتیس، فلور طبیعی گوشت گاو، فعالیت بازدارندگی باکتری‌های لاکتیک***

مقدمه

با وجود پیشرفت‌های اخیر در بیوتکنولوژی مواد غذایی و به‌کار بستن فن‌آوری‌های جدید، هنوز مسئله عدم اطمینان از سلامت مـواد غذایـی حل نشده است. تعداد عفونت‌ها و مسمومیت‌های غذایـی گزارش شده، در دهه گذشته زیاد است. نخستین بار در اوایـل سال‌های ۱۹۰۰ پدیده آنتاگونیسم میکروبی شناخته شد و نـتایج پـژوهـش‌هـای انجـام شـده در سـال‌های ۱۹۹۵ و ۱۹۹۶ نـشـان داد کـه نـگـه‌داری بـیـولـوژیـکـی(Biopreservation)

۱. استادیار صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، سنندج
۲. استاد صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، تهران
۳. استادیار میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
٤. استاد زراعت، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1383.8.2.14.2]

از مـواد غذایـی بـا استفاده از باکتری‌های لاکتیک باعث افزایش ایمنی آنها می‌گردد (۱۹).

گوشـت بـه دلـیل ویژگـی‌هـای اکولوژیکی خاصی که دارد (a_w، pH و مـواد مغـذی) به فساد میکروبی بسیار حساس است (۱۸). رایـج‌تـرین روش نگـه‌داری گوشـت از زمـان ذبح دام تا عرضـه بـه مصرف کننده، نگه‌داری آن در یخچال است. در این شـرایط امکان نشو و نما برای میکروارگانیسم‌های سرما دوست از جملـه میکـروب‌هـای مولد فساد و بیماری‌زا فراهم می‌باشد. مهـم‌تـرین باکتـری‌هـای عامل فساد گوشت، باکتری‌های جنس سودوموناس هستند که بسیاری از گونه‌ها و سویه‌های آن، سرما گـرا هسـتند (۶) و هـم‌چنـین اسـتافیلوکوکوس ئورئـوس، اشریشـیا کلـی، کلستریدیوم پرفرنژانس و لیستریا مونوسیتوژنس از مهـم‌تـرین باکتـری‌هـای بـیماری‌زای گوشت هستند (۴)، در گوشـت‌هـای مختـلف، باکتـری‌هـای لاکتیک، بخشی از فلورای میکروبـی اولـیه را تشکیل می‌دهند، که پس از قراردادن گوشت در سـردخانه، بـه مـنظور نگـه‌داری، سویه‌های سرمادوست آنها بـه‌سـهولت نشـو و نمـا مـی‌کنـند (۳۰). باکتـری‌هـای لاکتیک، باکتـری‌هایی هستند گرم مثبت، میکروآئروفیل و غیراسپورزا، که در طـی تخمیـر، کربوهیدرات‌ها را به لاکتات به عنوان محصول اصلی تبدیل می‌کنند. از مهم‌ترین جنس‌های متعلق به باکتری‌های لاکتـیک می‌توان لاکتوکوکوس،لاکتوباسیلوس، استرپتوکوکوس، کارنو باکتریوم، لوکونوستوک و پدیوکوکوس را نام برد (۱۴).

باکتـری‌های لاکتیک، هنگامی که در محیط‌های کشت همراه با میکروب‌های دیگر قرار می‌گیرند، باعث بازدارندگی یا از بین رفتن آنها می‌گردند. استفاده از این پدیده که آنتاگونیسم لاکتیکی خـوانده مـی‌شود، به‌عنوان یک روش مطلوب به‌جای استفاده از افزودنـی‌هـای شـیمیایی بـه‌مـنظور کنتـرل میکروارگانیسـم‌های نامطلـوب در مـواد غذایـی مـورد تـوجه متخصصـان قرار دارد. برخـــی از باکتـــری‌هـــای لاکتـــیک روی بســـیاری از میکروارگانیسـم‌هـای عامـل فسـاد بخصـوص سرمادوست گرم منفـی و هـم چنین برخی از بیماری‌زاها اثر بازدارندگی دارند. با ایـن که فرضیه‌های زیادی مطرح گردیده، ولی مکانیسم دقیق اثر بازدارندگی کشت‌های لاکتیکی تاکنون به‌طور دقیق روشن نشده اسـت. از بـین تـرکیبات بازدارنـده‌ای که به‌وسیله این باکتری‌ها تولـید مـی‌شود، می‌توان به آنتی بیوتیک‌ها، دی‌استیل (Dyacetyl)، روتـرین(Reuterin)، اسـتوئین(Acetoin)، ۲ و ۳- بـوتان‌دی‌ال (2,3-butandiol)، اسـتالدئید(Acetaldehyde)، اسـیدهای آلـی مانـند اسیدهای لاکتیک، استیک، پروپیونیک و فرمیک، اسیدهای چـرب آزاد، آمونـیاک، آنزیم‌های تجزیه کننده باکتری‌ها، اتانول، پراکسـید ئیدروژن، باکتریوسـین‌هـا، مواد مشابه باکتریوسین‌ها، تـرکیبات آنتاگونیست ناشناخته، تجمع D- آمینو اسیدها، کاهش پتانسـیل اکسیداسیون احیا، کاهش pH، تراکم جمعیت و رقابت در مصـرف مـواد غذایـی اشاره نمود (۷، ۹، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۷، ۲۸، ۳۱، ۳۲ و ۳۳).

یکـــی از روش‌هـــای معمـــول در عرضـــه گوشـــت بـــه مصرف‌کننده، بسته‌بندی آن در پلاستیک‌های قابل نفوذ به هوا و قـرار دادن آن در قفسـه‌هـای یخچـال دار روبـاز بـرای انتخاب راحـت‌تـر مصـرف کنـندگان اسـت (۳۰). در چنـین شـرایطی گوشـت، معمـولاً در معـرض تغییـرات و نوسـانات دمـا (دمای نـزدیک بـه انجمـاد تـا چـند درجـه بالاتر از آن) قرار می‌گیرد. پـژوهش‌هـای نسبتاً زیادی با هدف استفاده از سویه‌های لاکتیک یـا باکتریوسـین‌هـای آنهـا در یـک دمـای خـاص و در مقـیاس آزمایشگاهی به‌منظور کاهش تعداد میکروارگانیسم‌های نامطلوب و طولانـی نمودن ماندگاری انجام گرفته است. ولی نشو و نمای باکتری‌های لاکتیک و چگونگی اثر آنها بر فلور میکروبی طبیعی گوشـت بـا نوسـان دمـا، و در مقیاس صنعتی مورد بررسی قرار نگـرفته است. در این پژوهش سعی شده است که اثر مذکور در شرایط تولید صنعتی و نگه‌داری در سردخانه با نوسانات دمایی بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

مواد

۱. گوشت

در ایـن پـژوهش، از گوشـت گاو چرخ کرده استفاده شد. برای ایـن منظور، گوشت قلوه گاه لاشه گاو، پس از قطعه قطعه کردن و گذرانـیدن فقط یک‌بار از چرخ گوشت صنعتی با پنجره‌ای که

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1383.8.2.14.2]

دارای منافذی به قطر ۵ میلی‌متر بود، و با رعایت شرایط اسپتیک مورد استفاده قرار گرفت. چربی گوشت مورد استفاده ۲۳ درصد و pH آن حدود ۵/۷۵ بود.

۲. سویه‌های میکروبی لاکتیک

باکتری‌های لاکتیک مورد استفاده در این پژوهش عبارت‌اند از: لاکتوباسیلوس کازئی زیرگونه کازئی سویه ۱۰۲ و لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه لاکتیس واریته دی استی لاکتیس سویه ۲۰۲ که قبلاً از فرآورده‌های شیری بومی ایران جداسازی (۳) و در مجتمع آزمایشگاهی واحد علوم و تحقیقات شناسایی و نام‌گذاری گردیدند.

۳. محیط‌های کشت

به‌منظور شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی، باکتری‌های لاکتیک، سودوموناس‌ها، کلی فرم‌ها، استافیلوکوکوس-ئورئوس، قارچ‌ها (کپک‌ها و مخمرها)، جستجوی اشریشیا کلی به ترتیب از محیط‌های کشت پلیت کانت آگار(Plate count agar)، MRS آگار(deMan Rogosa and Sharp)، CFC آگار(Cetrimide fucidin cephaloridine)، VRBL آگار(Crystal violet neutral red bile lactose)، بردپارکر آگار(Baird Parker agar)، محیط حاوی عصاره مخمر- لاکتوز- کلرامفنیکل آگار، (CGA) (Yeast extract – dextrose – chloramphenicol agar) و EMB (Eosin- methylene blue agar) استفاده گردید. برای اندازه‌گیری غلظت معلقه‌های باکتری‌های لاکتیک از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل Shimadzu (P/N 204-00010-02-UV-120-02) Kyoto, Japan استفاده شد.

٤. بسته‌بندی

برای بسته‌بندی گوشت، از ظروف پلاستیکی نیم کیلویی پلی‌استیرن((Polystyrene (PS) موسوم به ظروف یک‌بار مصرف و فیلم پلی‌اتیلن با دانسیته کم(Low density poly ethylene (LDPE)) و قابل نفوذ به اکسیژن (۵۵۰cc/۲۴h/۱۰۰in^۲) استفاده شد.

روش‌ها

۱. روش اندازه‌گیری غلظت معلقه‌های (سوسپانسیون‌های) باکتری‌های لاکتیک

برای این منظور با استفاده از روش کدورت سنجی (Turbidimetry)، میزان جذب نور در طول موج ۶۰۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفوتومتر با مشخصات ذکر شده اندازه‌گیری شد. سپس براساس اعداد به‌دست آمده و با استفاده از میزان جذب لوله‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ مک فارلند (Mc. Farlaind)، تعداد باکتری‌ها در معلقه‌های مورد استفاده محاسبه گردید(۸).

۲. تلقیح گوشت

گوشت چرخ کرده به غلظت $CFU/g10^4$ از باکتری‌های لاکتیک مورد استفاده، تلقیح گردید. برای این منظور غلظت کشت‌های تهیه شده در محیط مایع MRS با محلول رینگر یک چهارم سترون تنظیم شد و مقدار ۵ میلی‌لیتر از آنها به‌طور جداگانه، به یک کیلو گوشت اضافه، و به‌مدت ۵ دقیقه به‌دقت مخلوط و یکنواخت گردید. به نمونه‌های شاهد نیز، ۵ میلی‌لیتر محلول رینگر یک چهارم سترون در کیلوگرم، اضافه شد. گوشت چرخ کرده تلقیح شده با لاکتو باسیلوس کازئی، تیمار ۱، و گوشت چرخ کرده تلقیح شده با لاکتوکوکوس لاکتیس، تیمار ۲، نام‌گذاری گردیدند.

۳. نمونه‌برداری و تهیه رقت‌های مختلف برای آزمایش‌های میکروبی

نمونه‌برداری و تهیه رقت‌های مختلف از گوشت تلقیح شده با استفاده از استانداردهای شماره ISO 3100-1، ISO 3100-2، ISO 6887 انجام گرفت (۲۱، ۲۲، ۲۴).

٤. آزمایش‌های میکروبیولوژیکی

شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی، شمارش باکتری‌های لاکتیک، شمارش سودوموناس‌ها، شمارش کلی فرم‌ها به ترتیب با استفاده از استانداردهای ISO 2293، ISO 13721،

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1383.8.2.14.2]

ISO 13720 و ISO 4832 انجام گرفتند (۲۰، ۲۳، ۲۵، ۲۶). برای شمارش استافیلوکوکوس ئورئوس و شمارش قارچها (کپکها و مخمرها) از استانداردهای ایران به ترتیب با شمارههای ۱۱۹۴ و ۹۹۷ استفاده گردید (۱، ۲). جستجوی اشریشیا کلی نیز طبق روش ارائه شده بهوسیله کاپاسینو و شرمن انجام شد (۱۱).

۵. روش تجزیه و تحلیل آماری

در مورد تغییرات هر یک از گروههای میکروبی، تجزیه واریانس بین سه تیمار در ۶ تکرار و مقایسه میانگینها بین شاهد و تیمار ۱ و ۲ به کمک نرم افزار Excel 97 انجام گرفت.

نتایج

میانگین تعداد کل پرگنههای میکروارگانیسمهای هوازی، باکتریهای لاکتیک، سودوموناسها، کلی فرمها و قارچهای مربوط به نمونههای آزمایشی و همچنین شاهد تیمارهای مختلف درطول مدت نگهداری (۵ روز) به ترتیب در جداول شماره ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ برحسب CFU/g (Colony forming unit /g) و لگاریتم آنها گنجانیده شده است. در طی مدت نگهداری نمونههای آزمایشی، پرگنه کپک و استافیلوکوکوس ئورئوس در هیچیک از نمونههای مشاهده نشد.

بحث

طبق جدول ۱، لگاریتم تعداد میکروارگانیسمهای هوازی نمونههای گوشت تلقیح شده با لاکتوباسیلوس کازئی (تیمار ۱)، ۶/۹ CFU/g بلافاصله پس از بستهبندی به ۵/۹CFU/g در روز پنجم نگهداری کاهش پیدا کرده است. در طول مدت نگهداری گوشت در سردخانه($5^{\circ}C$ -۵-۱)، تغییرات تعداد این میکروارگانیسمها در نمونههای تیمار ۱ همواره بهطور معنیداری ($P<0/01$) کمتر از نمونههای شاهد بوده است، در صورتی که تعداد آنها در نمونههای تلقیح شده بالاکتوکوکوس لاکتیس (تیمار ۲)، در زمان صفر یعنی قبل از نگهداری و همچنین در روز سوم اختلاف معنیداری با شاهد نداشتهاند ($P>0/05$).

تجزیه واریانس تعداد باکتریهای لاکتیک نمونههای مورد آزمایش نشان میدهد که اختلاف بین شاهد و تیمارها، در روزهای مختلف نگهداری (۵-۱ روز)، همواره معنیدار ($P<0/01$) است. روند تغییرات تعداد باکتریهای لاکتیک در مورد نمونه شاهد ابتدا به آرامی، افزایشی و سپس کاهشی است، در صورتی که نمونههای تیمار ۱ و ۲ روند تغییرات تعداد این باکتریها همواره افزایشی و طبق جدول ۲، لگاریتم تعداد آنها در تیمار ۱، از ۴/۸ CFU/g در ابتدای نگهداری، به ۶CFU/g در روز پنجم رسیده است. این نتایج نشان میدهند که باکتریهای لاکتیک به خوبی در گوشت چرخ کرده نشو و نما کردهاند. لازم به یادآوری است که به نمونههای شاهد، باکتری لاکتیک اضافه نشده است و باکتریهای لاکتیک شمارش شده مربوط به باکتریهایی است که بهطور طبیعی در گوشت وجود دارند.

نتایج شمارش سودوموناسهای گوشت چرخ کرده (جدول ۳) نشان میدهد که لگاریتم تعداد این باکتریها در تیمار ۱، از ۶/۱CFU/g بلافاصله پس از بستهبندی به ۴/۴CFU/g در روز پنجم رسیده است، در صورتی که تعداد آنها در شاهد و تیمار ۲ حتی در روز سوم، بیشتر از تیمار ۱ میباشد. نتایج تجزیه واریانس بیانگر این واقعیت است که اختلافات موجود بین شاهد و تیمارهای مورد آزمایش در روزهای مختلف (۵-۱ روز) همواره معنیدار ($P<0/01$) است.

طبق جدول ۴، تعداد کلی فرمهای نمونههای گوشت مربوط به تیمار ۱، از $3/1 \times 10^{4}$ CFU/g بلافاصله پس از بستهبندی، به 10^{2} CFU/g در روز پنجم رسیده است که نشان دهنده کاهش شدید تعداد آنهاست. محاسبات آماری نشان میدهند که اختلافات موجود بین شاهد و تیمارها معنیدار است ($P<0/01$).

تعداد مخمرها در نمونههای تیمار ۱ و ۲، در روزهای اول، دوم و سوم بهطور معنیداری ($P<0/01$)، کمتر از شاهد بود (جدول ۵)، به ویژه در تیمار ۲ که تعداد آنها در روز سوم، در

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1383.8.2.14.2]

جدول ۱. میانگین تعداد کلی میکروارگانیسم‌های هوازی گوشت در طول مدت نگه‌داری

مدت نگه‌داری (روز)	شاهد*		تیمار ۱**		تیمار ۲***	
	Log CFU/g	CFU/g	Log CFU/g	CFU/g	Log CFU/g	CFU/g
صفر	۶/۸	$۷/۰\times۱۰^{۶}$	۶/۹	$۷/۵\times۱۰^{۶}$	۶/۹	$۸/۱\times۱۰^{۶}$
۱	۷/۶	$۳/۶\times۱۰^{۷}$	۶/۰	$۹/۶\times۱۰^{۵}$	۶/۹	$۷/۲\times۱۰^{۶}$
۲	۷/۸	$۶/۹\times۱۰^{۷}$	۵/۸	$۶/۸\times۱۰^{۵}$	۵/۹	$۸/۰\times۱۰^{۵}$
۳	۶/۹	$۸/۰\times۱۰^{۶}$	۵/۹	$۸/۸\times۱۰^{۵}$	۶/۷	$۵/۶\times۱۰^{۶}$
۴	–	–	۶/۹	$۸/۱\times۱۰^{۵}$	–	–
۵	–	–	۵/۹	$۷/۳\times۱۰^{۵}$	–	–

* : گوشت چرخ کرده تلقیح نشده
** : گوشت چرخ کرده تلقیح شده بالاکتوباسیلوس کازئی
*** : گوشت چرخ کرده تلقیح شده بالاکتوکوکوس لاکتیس
ـ : توضیح این‌که در روزهای چهارم و پنجم نمونه‌های شاهد و تیمار ۲ فاسد شدند و بنابراین مورد آزمایش قرار نگرفتند.

جدول ۲. میانگین تعداد باکتری‌های لاکتیک گوشت در طول مدت نگه‌داری

مدت نگه‌داری (روز)	شاهد*		تیمار ۱**		تیمار ۲***	
	Log CFU/g	CFU/g	Log CFU/g	CFU/g	Log CFU/g	CFU/g
صفر	۳/۱	$۱/۳\times۱۰^{۳}$	۴/۸	$۵/۷\times۱۰^{۴}$	۴/۸	$۶/۳\times۱۰^{۴}$
۱	۳/۳	$۲/۰\times۱۰^{۳}$	۴/۷	$۴/۷\times۱۰^{۴}$	۵/۰	$۱/۱\times۱۰^{۵}$
۲	۳/۲	$۱/۷\times۱۰^{۳}$	۵/۳	$۱/۹\times۱۰^{۵}$	۵/۵	$۲/۹\times۱۰^{۵}$
۳	۳/۱	$۱/۳\times۱۰^{۳}$	۵/۴	$۲/۷\times۱۰^{۵}$	۵/۷	$۴/۷\times۱۰^{۵}$
۴	–	–	۵/۶	$۴/۳\times۱۰^{۵}$	–	–
۵	–	–	۶/۰	$۹/۶\times۱۰^{۵}$	–	–

* : گوشت چرخ کرده تلقیح نشده
** : گوشت چرخ کرده تلقیح شده بالاکتوباسیلوس کازئی
*** : گوشت چرخ کرده تلقیح شده بالاکتوکوکوس لاکتیس
ـ : توضیح این‌که در روزهای چهارم و پنجم نمونه‌های شاهد و تیمار ۲ فاسد شدند و بنابراین مورد آزمایش قرار نگرفتند.

جدول ۳. میانگین تعداد سودوموناس‌های گوشت در طول مدت نگه‌داری

مدت نگه‌داری (روز)	شاهد*		تیمار ۱**		تیمار ۲***	
	Log CFU/g	CFU/g	Log CFU/g	CFU/g	Log CFU/g	CFU/g
صفر	۶/۰	$۱/۰\times۱۰^{۶}$	۶/۱	$۱/۲\times۱۰^{۶}$	۶/۱	$۱/۳\times۱۰^{۶}$
۱	۶/۲	$۱/۶\times۱۰^{۶}$	۵/۹	$۷/۶\times۱۰^{۵}$	۶/۵	$۳/۳\times۱۰^{۶}$
۲	۶/۶	$۴/۳\times۱۰^{۶}$	۵/۷	$۵/۰\times۱۰^{۵}$	۶/۵	$۳/۱\times۱۰^{۶}$
۳	۶/۰	$۹/۰\times۱۰^{۵}$	۴/۷	$۵/۳\times۱۰^{۴}$	۵/۷	$۴/۷\times۱۰^{۵}$
۴	–	–	۴/۶	$۳/۷\times۱۰^{۴}$	–	–
۵	–	–	۴/۴	$۲/۷\times۱۰^{۴}$	–	–

* : گوشت چرخ کرده تلقیح نشده
** : گوشت چرخ کرده تلقیح شده بالاکتوباسیلوس کازئی
*** : گوشت چرخ کرده تلقیح شده بالاکتوکوکوس لاکتیس
ـ : توضیح این‌که در روزهای چهارم و پنجم نمونه‌های شاهد و تیمار ۲ فاسد شدند و بنابراین مورد آزمایش قرار نگرفتند.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1383.8.2.14.2]

جدول ۴. میانگین تعداد کلی فرم‌ها در گوشت در طول مدت نگه‌داری

مدت نگه‌داری	شاهد*		تیمار ۱**		تیمار ۲***	
(روز)	Log CFU/g	CFU/g	Log CFU/g	CFU/g	Log CFU/g	CFU/g
صفر	۴/۴	$۱/۲\times۱۰^{۴}$	۴/۵	$۳/۱\times۱۰^{۴}$	۴/۵	$۳/۳\times۱۰^{۴}$
۱	۴/۵	$۳/۲\times۱۰^{۴}$	۳/۳	$۲/۰\times۱۰^{۳}$	۴/۸	$۶/۷\times۱۰^{۴}$
۲	۴/۰	$۹/۰\times۱۰^{۳}$	۲/۹	$۸/۳\times۱۰^{۲}$	۴/۷	$۵/۶\times۱۰^{۴}$
۳	۴/۳	$۱/۹\times۱۰^{۴}$	۳/۱	$۱/۳\times۱۰^{۳}$	۴/۹	$۸/۶\times۱۰^{۴}$
۴	–	–	۲/۸	$۷/۰\times۱۰^{۲}$	–	–
۵	–	–	۲/۰	$۱/۰\times۱۰^{۲}$	–	–

* : گوشت چرخ کرده تلقیح نشده
** : گوشت چرخ کرده تلقیح شده بالاکتوباسیلوس کازئی
*** : گوشت چرخ کرده تلقیح شده بالاکتوکوکوس لاکتیس
ـ : توضیح این‌که در روزهای چهارم و پنجم نمونه‌های شاهد و تیمار ۲ فاسد شدند و بنابراین مورد آزمایش قرار نگرفتند.

جدول ۵. میانگین تعداد مخمرهای گوشت در طول مدت نگه‌داری

مدت نگه‌داری	شاهد*		تیمار ۱**		تیمار ۲***	
(روز)	Log CFU/g	CFU/g	Log CFU/g	CFU/g	Log CFU/g	CFU/g
صفر	۴/۹	$۸/۱\times۱۰^{۴}$	۴/۸	$۶/۱\times۱۰^{۴}$	۴/۸	$۵/۷\times۱۰^{۴}$
۱	۴/۹	$۸/۴\times۱۰^{۴}$	۴/۸	$۶/۳\times۱۰^{۴}$	۳/۹	$۸/۳\times۱۰^{۳}$
۲	۵/۰	$۹/۲\times۱۰^{۴}$	۴/۰	$۹/۵\times۱۰^{۳}$	۳/۹	$۷/۵\times۱۰^{۳}$
۳	۴/۹	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	۴/۱	$۱/۳\times۱۰^{۴}$	۳/۷	$۵/۲\times۱۰^{۳}$
۴	–	–	۳/۹	$۸/۶\times۱۰^{۳}$	–	–
۵	–	–	۳/۸	$۷/۰\times۱۰^{۳}$	–	–

* : گوشت چرخ کرده تلقیح نشده
** : گوشت چرخ کرده تلقیح شده بالاکتوباسیلوس کازئی
*** : گوشت چرخ کرده تلقیح شده بالاکتوکوکوس لاکتیس
ـ : توضیح این‌که در روزهای چهارم و پنجم نمونه‌های شاهد و تیمار ۲ فاسد شدند و بنابراین مورد آزمایش قرار نگرفتند.

پایین‌ترین حد خود نسبت به نمونه‌های شاهد و تیمار ۱ قرار داشت. در نتیجه به نظر می‌رسد که لاکتوکوکوس لاکتیس در این مورد، از لاکتوباسیلوس کازئی تأثیر بازدارندگی بیشتری داشته است. در هیچ‌یک از نمونه‌ها در طی مدت نگه‌داری در شرایط پژوهش، نشو و نمای کپک دیده نشد. این موضوع نتایج پژوهش‌های گذشته را در مورد گوشت چرخ کرده تأیید می‌نماید (۷).

نتایج جستجوی اشریشیا کلی (جدول ۶)، نشان می‌دهد که نمونه‌ها بلافاصله پس از بسته‌بندی و قبل از نگه‌داری در سردخانه، همگی از نظر وجود این باکتری مثبت هستند. در پایان روز اول نگه‌داری نیز، در نمونه‌های شاهد و تیمار ۲، این میکروارگانیسم‌ها همچنان وجود دارند. در حالی‌که در نمونه‌های مربوط به تیمار ۱، یعنی گوشت تلقیح شده با لاکتوباسیلوس کازئی از بین رفته و نتیجه کشت منفی است. این حالت احتمالاً نتیجه اثر بازدارندگی سویه فوق بر اشریشیاکلی است. ضریب تغییرات میکروبی گوشت (C.V.) (Coefficient of variability) در طول مدت نگه‌داری ۲۶/۷٪ محاسبه شده است.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1383.8.2.14.2]

جدول ۶. جستجوی اشریشیا کلی در گوشت در طول مدت نگه‌داری

مدت نگه‌داری (روز)	شاهد*	تیمار ۱**	تیمار ۲***
صفر	مثبت	مثبت	مثبت
۱	مثبت	منفی	مثبت
۲	منفی	منفی	منفی
۳	منفی	منفی	منفی
۴	–	منفی	–
۵	–	منفی	–

* : گوشت چرخ کرده تلقیح نشده
** : گوشت چرخ کرده تلقیح شده بالاکتوباسیلوس کازئی
*** : گوشت چرخ کرده تلقیح شده بالاکتوکوکوس لاکتیس
ـ : توضیح این‌که در روزهای چهارم و پنجم نمونه‌های شاهد و تیمار ۲ فاسد شدند و بنابراین مورد آزمایش قرار نگرفتند.

گوشت چرخ کرده گاو و همبرگر، برخلاف لاشه‌های تازه ذبح و شقه شده، معمولاً منحصراً به‌وسیله باکتری‌ها مورد تهاجم قرار گرفته و فاسد می‌شوند. گوشت معمولاً بلافاصله پس از تولید، در سردخانه با دمای صفر تا $2^{\circ}C$ و یا حداکثر $4^{\circ}C+$ نگه‌داری می‌شود. از این رو مهم‌ترین مسئله از نظر میکروبی، سرماگراها و سرما دوست‌ها هستند که نشو و نمایشان در این طیف حرارتی اجتناب ناپذیر است. در این رابطه جنس‌هایی چون سودوموناس دارای اهمیت زیادتری هستند. در بین سودوموناس‌ها، سودوموناس فراجی، نقش مهم‌تری در آلودگی گوشت داراست. و به همین سبب، تحت عنوان «میکروارگانیسم ویژه گوشت» شناخته شده است. برخلاف تصورات گذشته، یافته‌های جدید حاکی از آن است که گونه‌های مختلف اسینتوباکتر نقش چندانی در فساد گوشت گاو ندارند. در شرایط نگه‌داری در سردخانه $(2^{\circ}C+)$ از باکتری‌های خانواده آنتروباکتریاسه، سویه‌های سرماگرای آنتروباکتروکلبسیلا، نیز می‌توانند در گوشت نشو و نما کنند. ولی سالمونلاها فقط وقتی که درجه حرارت محیط از $5^{\circ}C+$ بالاتر رود، شروع به تکثیر خواهند نمود. در سردخانه‌های بالای صفر، یرسینیا آنتروکولیتیکا نیز می‌تواند، سهمی در آلودگی گوشت داشته باشد. به هرحال، مهم‌ترین باکتری‌هایی که در آلودگی گوشت نقشی دارند عبارت‌اند از: سودوموناس، اسینتوباکتر، موراکسلا، آلکالی ژنس، میکروکوکوس، استرپتوکوکوس، باسیلوس، کلستریدیوم، اشریشیا، سالمونلا و استرپتومیسس‌ها. البته نتایج تحقیقات مختلف نشان داده است که در گوشت‌های فاسد، برخلاف گوشت‌های سالم، جنس‌های باکتریایی معدود هستند. بررسی‌های مختلف نشان داده‌اند که هر گاه در گوشت چرخ کرده تازه گاو، ۹ جنس باکتریایی وجود داشته باشد، در صورت نگه‌داری آن در یخچال تا زمانی که فاسد گردد، تنها ۴ جنس، فلور غالب را تشکیل خواهند داد (۴، ۷، ۱۴).

نتایج پژوهش‌ها نشان داده‌اند که فرآورده‌های نهایی عمده متابولیسم سودوموناس‌ها، مواد لزج(Slime)، سولفیدها، استرها و اسیدهای آمینه هستند. در صورتی که لاکتوباسیلوس‌ها عمدتاً اسید لاکتیک، مواد فرار و اسیدهای چرب تولید می‌کنند. زمان تقسیم سلولی برخی از لاکتوباسیلوس‌ها در $2^{\circ}C$، حدود ۸/۴ ساعت گزارش گردیده است (۲۹)، که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد.

سیلان وهمکاران گزارش داده‌اند که لاکتوباسیلوس ساکی و پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی در طی تخمیر و خشک کردن سوسیس خشک ترکی موجب از بین رفتن یرسینیا آنتروکولیتیکا در دمای یخچال می‌شوند. این پژوهشگران هم‌چنین مشاهده کرده‌اند که در طی نگه‌داری این فرآورده، pH به شدت کاهش می‌یابد. نتایج برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که باکتری‌های لاکتیک در دماهای پایین قادر به نشو و نما هستند و به دلیل تولید ترکیبات بازدارنده رشد در دماهای مذکور، قادر به رقابت

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1383.8.2.14.2]

بـا میکروارگانیسم‌های عامل فساد در سرما می‌باشند (۳، ۷، ۱۲، ۱۴، ۲۹). به طور کلی، استرپتوکوکسی‌های لاکتیک در ۱۰ درجه سلسـیوس و کمتر از آن رشد و تکثیر می‌کنند ولی در ۴۵ درجه قادر به رشد نیستند(۱۰). بیشتر لاکتوباسیل‌ها نیز در حرارت‌های مزوفیلیک بهتر رشد و تکثیر می‌نمایند. بعضی از آنها در پایین‌تر از ۱۵ درجـه و بعضـی سویه‌ها حتی کمتر از ۵ درجه سلسیوس نیز نشو و نما می‌کنند(۱۰).

پـژوهش‌هـای بسـیاری انجـام گـرفته اسـت کـه در آنهـا از باکتری‌های لاکتیک مزوفیل به عنوان محافظت کنندهٔ بیولوژیکی مـواد غذایـی تحـت شرایط سرد کردن استفاده شده است. نتایج این پژوهش‌ها نشان داده است که در چنین شرایطی باکتری‌های لاکتـیک بـا عـوامل بیماری‌زا رقابت کرده، جلوتر از آنها رشد و تکثیـر مـی‌نمایـند (۱۹). بـه عـنوان مـثال زویـتن و همکارانش باکتری‌های لاکتیک را با غلظت $\log 5 \mathrm{CFU}/\mathrm{cm}^2$ روی گوشت مـرغ در ۲ درجـه سلسـیوس تلقـیح نمـودند (۳۳). هم‌چنین له ایســـنر(Leisner) و همکـــارانش از کـارنـــو باکتـــریوم مالتاروم‌ـیکوس LV17 و لوکونوسـتوک ژلـیدوم UAL187-22 بادانسـیته اولـیه $\log 2 \mathrm{CFU}/\mathrm{cm}^2$ از قطعـات گوشـت گـاو در بـرودت ۲ درجـه سلسـیوس استفاده نمودند(۳۰). وین کوسکی و همکـاران اثـبات نمـودند کـه لاکتوباسـیلوس باواریکـوس (لاکتوباسـیلوس ساکه‌ای) می‌تواند از رشد سه سویه لیستریامونو سـیتوژنس در گوشـت گـاو سـترون نگـه‌داری شده در برودت یخچـال جلوگـیری نمایـد. یوسـف و همکـاران دریافتـند کـه پدیوکوکـوس اسـیدی لاکتیسـی H قـادر اسـت تمام سویه‌های لیسـتریا مونوسـیتوژنس را در سوسیس وینر(Wiener) نگه‌داری شـده دردمـای ۴ درجـه سلسـیوس بعد از گذشت ۲۹ روز غیر فعـال نمایـد. در پـژوهش دیگـر گـروه بـری اثـبات کـردند که پدیوکوکـوس اسـیدی لاکتیسـی تلقـیح شـده بـه سوسـیس فرانکفورتـر در غلظـت هـای 10^3 ، 10^4 ، 10^7 CFU/g در دمـای ۴ درجه سلسیوس می تواند باعث از بین رفتن یا حداقل طولانـی شـدن فـاز تأخیـر رشـد لیستریامونوسـیتوژنس شـود. چلینگر(Schillinger) و همکارانش نمونه‌های گوشت گوساله و خـوک را پس از تلقیح باباکتری‌های لاکتیک در دماهای ۰،۲،۵و ۶ درجـه سلسـیوس تحت شرایط خلاء نگه‌داری نمودند. نتایج ایـن پـژوهش نشـان داد کـه تفـاوت بین سطوح مختلف درجه حـرارت‌هـای مخـتلف فـوق تأثیـر زیـادی بـر رشـد و تکثیـر باکتـری‌های لاکتیک ندارد. در بخشی از پژوهشی دیگر شهیدی و همکـارانش، گوشـت چـرخ کـرده گوسـاله غیـر استریل را با باکتـری‌هـای لاکتیک کارنو باکتریوم دیورژنس و لاکتوباسیلوس فـرمانتوم بـا غلظـت هـای بـه تـرتیب $۲\times۱۰^{۴}\ \mathrm{CFU}/\mathrm{g}$ و $۴/۸\times۱۰^{۶}\ \mathrm{CFU}/\mathrm{g}$ در ۴ و ۱۰ درجـه سلسـیوس در شـرایط هوازی تلقیح کردند. نتایج نشان می‌دهد که قابلیت مهار کنندگی فلـور میکروبـی طبیعی گوشت در ۴ درجه به مراتب بیشتر بوده اسـت. این پژوهش در مورد گوشت خام استریل نیز انجام شده اسـت. نـتایج نشان می‌دهد که باکتری‌های لاکتیک مورد استفاده در ایـن پـژوهش در ۴ درجـه سلسـیوس توانسـته‌اند از رشد و تکثیر باکتری‌های شاخص جلوگیری کنند(۵).

ارتـباط تولید باکتریوسین‌ها با دمای محیط نیز اثبات گردیده است. به عنوان مثال مشخص شده است که با واریسین MN که بـه‌وسـیله لاکتوباسـیلوس سـاکه‌ای MN (لاکتوباسـیلوس باواریکـوس) تولـید مـی‌شود، در درجه حرارت‌های پایین و در برودت یخچال تولید می‌شود(۱۹).

همان‌طوری‌که در مقدمه نیز اشاره شد، با این‌که مکانیسم اثر بازدارندگی کشت لاکتیکی، به‌طور دقیق روشن نشده است، ولی تولید ترکیباتی مانند آنتی بیوتیک‌ها، دی استیل، اتانول، پراکسید ئـیدروژن، اسـتالدئید، اسـیدهای آلـی مانـند اسـیدهای لاکتیک، اسـتیک، پـروپیونیک و فـرمیک، اسیدهای چرب آزاد، آمونیاک، بنـزوات، باکتریوسـین‌هـا، شـبه باکتریوسین‌ها، آنزیم‌های تجزیه کننده باکتری‌ها، و هم‌چنین کاهش پتانسیل اکسیداسیون- احیاء، کـاهش pH، تـراکم جمعیت و رقابت در مصرف مواد غذایی را از عـوامل ضـدمیکروبی آنهـا مـی‌دانـند. بـا تـوجه بـه ویژگـی‌هـای سـویه‌هـای مـورد اسـتفاده در ایـن پـژوهش، بـه نظـر می‌رسد، تولید باکتریوسین‌ها و مواد مشابه باکتریوسین، تـــرکیبات آنتاگونیســـت ناشـــناخته، مـــواد ضـــدقارچی،

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1383.8.2.14.2]

پراکسید ئیدروژن، استالدئید، اسید لاکتیک و آنزیم‌های تجزیه کننده باکتری‌ها در بازدارندگی از رشد میکروارگانیسم‌های مورد بررسی (کل میکروارگانیسم‌های هوازی، قارچ‌ها (مخمرها)، باکتری‌های لاکتیک، سودوموناس‌ها و کلی فرم‌ها) بیشتر مؤثر بوده‌اند. گرچه سایر عوامل نیز ممکن است در این زمینه دارای نقش باشند.

نتیجه‌گیری

با توجه به این‌که لاکتوباسیلوس کازئی قابلیت بازدارندگی خوبی از خود نشان می‌دهد، در نتیجه این باکتری می‌تواند، یک سویه آنتاگونیست با پتانسیل(توان) مناسب از بین بردن یا متوقف کردن نشو و نمای باکتری‌های مهم مولد فساد و بیماری‌زای گوشت بسته‌بندی شده‌ای، که در شرایط هوازی و در دماهای بین ۱- و $5^{\circ}C$ عرضه می‌گردد، باشد.

منابع مورد استفاده

۱. استاندارد ملی ایران، شماره ۹۹۷، ۱۳۷۴. روش جستجو و شمارش قارچ‌ها (کپک‌ها و مخمرها) به روش شمارش پرگنه در $25^{\circ}C$. تجدید نظر دوم، چاپ دهم، مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، کرج.

۲. استاندارد ملی ایران، شماره ۱۱۹۴، ۱۳۷۴. روش شناسایی و شمارش استافیلوکوکوس ئورئوس کواگولاز (+) در مواد غذایی. چاپ هشتم، تجدید نظر اول، مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، کرج.

۳. اکبری نخجوانی، ف. ۱۳۷۴. تهیه کشت‌های آغازگر لاکتیک مقاوم به باکتریوفاژ و تعیین توان آنتی باکتریال آنها، رساله دکترای تخصصی (Ph.D) در رشته میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

٤. رکنی،ن. ۱۳۷۷. *علوم و صنایع گوشت*. چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران ، ۲۳۰-۱۸۰.

۵. شهیدی، ف. ۱۳۷۵، *نگه‌داری بیولوژیکی گوشت، نقش ضد میکروبی باکتری‌های اسید لاکتیک*. انتشارات بارثاوا، مشهد.

٦. مرتضوی، ع.، م. ح. حداد خداپرست، ر. فرهوش، ب. ناصحی و ر. رضایی مکرم. ۱۳۷۲. *میکروبیولوژی غذایی مدرن*. جلد اول، نشر مشهد.

۷. مرتضوی، ع.، ع. معتمدزادگان، م. اعلمی و ک. نایب‌زاده. ۱۳۷۶. *میکروبیولوژی غذایی مدرن*. جلد دوم، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

8. Baron, E.J.D., L.R., Peterson. 1994. Diagnostic Microbiology. 9th ed., Bailey and Scotts, Mosby, Sydney.
9. Bozoglu, T.F. and B. Ray. 1996. Lactic Acid Bacteria. Current Advances in Metabolism, Genetics and Applications. Nato ASI series H: Cell Biology, vol. 98, Springer Verlag, Berlin, Germany,PP:5-86.
10. Buchanan, R. E. and N.E. Gibbon. 1984. Bergey's manule of determinatives Bacterilogy, 9th ed., The Williams& Wilkins Co.
11. Cappuccino, J.G., N. Sherman. 1998, Microbiology. A Laboratory Manual. 5th ed., the Benjamin Cummings Publishing Company, Redwood City, California.
12. Ceylan, E. and D. Y. C. Fung. 2000, Destruction of Yersinia enterocolitica by Lactobacillus sake and Pediococcus acidilactici during low temperature fermentation of turkish dry sausage (Sucuk), J.Food Sci. 65 (5): 876-879.
13. Degnan, A.J., C. W. Kasper, W. S. otwell, M. L. Tamplin and J. B. Luchansky. 1994. Evaluation of lactic acid bacterium fermentation products and food-grade-chemical to control Listeria monocytogenes in blue crab (Callinectes sapidus) meat . J. Appl. Environ. Microbiol. 60(9): 3198-3203.
14. De Vuyst, L.D. and E. J. Vandamme. 1994. Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria: Microbiology, Genetics and Applications. Chapman and Hall, Glasgow, UK.
15. EL-Khateib, T., A. E. Yousef and H. W. Ockerman. 1993. Inactivation and attachment of Listerial monocytogenes on beef muscle treated with lactic acid bacteria and selected bacteriocins. J. Food Prot. 56(1): 29-33.
16. Foegeding, P.M., A. B. Thomas, D. H. Pilkington and T. R. Klaenhammer. 1992. Enhanced control of Listeria monocytogenes by in situ-produced pediocin during dry fermented sausage production. J.Appl. Environ. Microbiol. 58(3): 884-890.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1383.8.2.14.2]

17. Gill, C.O. and K. G. Newton. 1982, Effect of lactic acid bacteria on growth on meat of gram-negative psychrothrops from a meatworks. J. Appl. Environ. Microbiol. 43(2): 284-288.
18. Gould, G.W. 1996. New Methods of Food Preservation, Blackie Academic and Professional. Chapman and Hall, Britain.
19. Hugas, M. 1998. Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopresevation of meat and meat products. J. Meat Sci. 49: 5139-5150.
20. International Standard, ISO 2293: 1988. Meat and meat products. Enumaration of micro-organisms colony count technique at 30°C (Reference method), 2nd ed., International Organization for Standardization, Switzerland.
21. International Standard, ISO 3100-1: 1991. Meat and meat products. Sampling and preparation of test samples, part 1: sampling, 2nd ed., International Organization for Standardization, Switzerland.
22. International Standard, ISO 3100-2: 1988. Meat and meat products. Sampling and preparation of test samples, part 2: preparation of test samples for microbiological examination, first edition, International Organization for Standardization, Switzerland.
23. International Standard, ISO 4832: 1991. General guidance for the enumeration of coliforms. Colony count technique, International Organization for Standardization, Switzerland.
24. International Standard, ISO 6887: 1983. Microbiology. General guidance for the preparation of dilutions for microbiological examination, first edition, International organization for Standardization, Switzerland.
25. International Standard, ISO 13720: 1995. Meat and meat products. Enumeration of Pseudomonas Spp., first edition, International Organization for Standardization, Switzerland.
26. International Standard, ISO 13721: 1995. Meat and meat products. Enumeration of lactic acid bacteria, colony count technique at 30°C, International Organization for Standardization, Switzerland.
27. Itoh, T., Y. Fujimoto, Y. Kawal, T. Toba and T. Saito. 1995. Inhabition of food-borne pathogenic bacteria by bacteriocins from Lactobacillus gasseri. J. Lett. Appl. Microbiol. 21: 137-141.
28. Kyzink, V. 1990. Developments in Food Science, Principles of food preservation. Elsevier Pub. Czechoslovakia.
29. Lambert, A.N., J. P. Smith and K. L. Dodds. 1991. Shelf life extention and microbiological safety or fresh meat. A review, J. food Microbiol. 8: 267-297.
30. Leisner, J.J., G. G. Greer, B. D. Dilts and M. E. Stiles. 1995. Effect of growth of selected lactic acid bacteria on storage life of beef stored under vacuum and in air. Int. J. Food. Micobiol. 26: 231-243.
31. Nader De Macias, M.E., N. C. Remore, M. C. Apella, S.N. Gonzalez and G. Liver. 1993. Preventation of infections produced by Escherichia coli and Listeria monocytogenes by feeding milk fermented with lactobacilli. J. Food prot. 56(5): 401-495.
32. Okeereke, A. and T. J. montville. 1991. Bacteriocin- mediated inhibition of Clostridium botulinum spores by lactic acid bacteria at refrigeration and abuse temperatures. J. Appl. Environ. Microbiol. 57(12): 3423-3428.
33. Zeuthen, P., J. C. Cheftel, C. Erikson, T. R. Gormley and K. Paulus. 1990. Food Biotechnology: Avenues to healthy and nutritions products, processing and quality of foods, vol. 2, Elsevier Pub. Applied Science, Northern Ireland.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1383.8.2.14.2]