جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله میکرب شناسی پزشکی ایران
سال ۶ شماره ۱۰، زمستان ۱۳۹۱، صفحات ۱۵ - ۷

اثر ممانعت کنندگی مونولورین و EDTA علیه *اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی موریوم* در لورک (غذای سنتی حاصل از آب پنیر)

علی احسانی
استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ۰۹۱٤٤٣٣٣٧٥، a.ehsani@urmia.ac.ir
رزاق محمودی
استادیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، ۰۹۱۲۷۸٦۸٥۷۱، Mahmodi@tabrizu.ac.ir
مجتبی رئیسی
دستیارگروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه،
محمد هاشمی
دستیارگروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، mo_hashemi@hotmail.com
جواد جعفرپور
دانش آموخته دکتری عمومی دامپزشکی دانشگاه ارومیه، javadjaafarpour@yahoo.ie
نویسنده رابط: علی احسانی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه،
a.ehsani@urmia.ac.ir،۰۹۱٤٤٣٣٣٧٥

چکیده:

زمینه وا هداف: تولید محصولات غذایی جدید حاصل از فرآورده های جانبی کارخانه های پنیرسازی از اهمیت بسزایی در صنایع غذایی برخوردار می باشد. در همین راستا لور یا لورک یک فرآورده حاصل از آب پنیر بوده که در برخی مناطق ایران از جمله کردستان و آذربایجان تولید می شود. این فرآورده به دلیل دارا بودن خصوصیاتی همچون حضور مقادیر بالای مواد مغذی و پروسه تولیدش، بسیار مستعد آلودگی با میکروارگانیسم های بیماریزا و عامل فساد می باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی اثرات ممانعت کنندگی مونولورین و EDTA به تنهایی و توام بر روی سالمونلا تیفی موریوم و اشرشیا کلی در لورک می باشد.

روش بررسی: میزان $۱/٥ \times ۱۰^{٦}$ CFU/g از باکتری های پاتوژن اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی موریوم پس از تهیه لورک از آب پنیر به آن تلقیح وسپس مونولورین و EDTA به آن اضافه شد. این فرآورده به مدت سه هفته در دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری شد. اثرات ضد میکروبی مونولورین و EDTA علیه این باکتری های پاتوژن در روزهای صفر، ۳، ۷، ١٤ و ۲۱ با استفاده از محیط های کشت اختصاصی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: یافته های حاصل نشان داد که مونولورین به تنهایی مانع از رشد اشرشیا کلی نشده ولی در تیمار توام با EDTA از فعالیت ضد میکروبی مناسبی علیه این باکتری بر خوردار می باشد. ($P<0.05$). فعالیت ضد میکروبی مونولورین علیه سالمونلا تیفی موریوم مطلوب بوده به گونه ای که به تنهایی از رشد این

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

باکتری ممانعت نموده است. تاثیر گذشت زمان بر اثر ضد میکروبی مونولورین علیه هر دو باکتری پاتوژن بکار رفته در این مطالعه معنی دار بوده است($P<0.05$).

نتیجه گیری: با توجه به فعالیت ضد میکروبی مناسب مونولورین، می توان از این ممانعت کننده همراه با EDTA جهت کاهش خطرات آلودگی، ممانعت از رشد، بیماریزایی و مسمومیت حاصل از باکتری های گرم منفی در فرآورده های غذایی بهره جست.

کلید واژه ها: مونولورین، لورک، *اشرشیاکلی*، *سالمونلا تیفی موریوم*، ممانعت کننده.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه :

لورک فراورده لبنی حاصل از آب پنیر می باشد، که از حرارت دادن آب پنیر (حاصل از پنیر تولید شده از شیر خام) در دمای ۹۸-۹۵ درجه سانتیگراد و به صورت لخته های سفید رنگی بر روی آب پنیر تهیه می شود(۱). به دلیل حضور مقادیر قابل ملاحظه ای از پروتئین ها ، لور یک ماده مغذی و سهل الهضم بوده و وجود مقادیر زیادی از اسیدهای آمینه همچون ترئونین، والین، لوسین، ایزولوسین و سیستئین از نظر ترکیب با آلبومین تخم مرغ قابل مقایسه می باشد. با توجه به تهیه لورک از آب پنیر، این ماده غذایی حاوی مقدار زیادی مواد مغذی مانند لاکتوز، چربی و پروتئین های محلول در آب پنیر بوده و بدلیل وجود همین مواد مغذی از فسادپذیری بالایی برخوردار می باشد(۲). برخلاف پیشرفت های محسوس صورت گرفته در زمینه رعایت بهداشت در فرآیند تولید و اصلاح تکنیک های تولید مواد غذایی، بحث امنیت غذایی به طرز فزاینده ای به یکی از مباحث بسیار مهم در بهداشت عمومی تبدیل شده است. تخمین زده می شود سی درصد مردم در کشورهای صنعتی از بیماری های با منشاء غذایی رنج می برند (۳). بنابراین هنوز هم به روش های جدید برای کاهش یا حذف باکتری های بیماری زا و عامل فساد در حد امکان ترکیب روش های جدید با روش های موجود مورد نیاز است (٤). با توجه به اثرات سوء استفاده از مواد شیمیایی صنعتی و بحث های قابل قبولی که در خصوص سرطانزایی و سمیت آنها برای انسان صورت گرفته است . علاقه روز افزونی به استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی وجود دارد (۵). مونولورین مونوگلیسریدی است که از واکنش بین اسید لوریک و گلیسرول ایجاد می شود. یک سورفاکتانت غیر یونی است که موارد استعمال بسیار مهمی در داروسازی، صنعت مواد غذایی و تولید مواد آرایشی بعلت طبیعت غیر توکسیک آن دارد. مونولورین تجاری به شکل مخلوطی از مونو _دی _تری گلیسرید اسید لوریک می باشد و نقطه ذوب آن ٥٦_٥٥ می باشد(٧،٦). مونولورین به عنوان یک افزودنی در مواد غذایی نتایج جالبی را به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی از خود نشان داده است(٦). اسید لوریک بطور طبیعی به مقدار زیادی در روغن نارگیل موجود بوده و استفاده وسیع مونولورین در فرآورده های گوشتی نیز به مانند فرآورده های لبنی گزارش شده است(۷). مونولورین در پنیر هم بخاطر خاصیت ضد میکروبی آن و هم به عنوان امولسیفایر مورد استفاده قرار گرفته و باعث افزایش کیفیت آن می شود(۸). شلاته کننده های غذایی مثل EDTA تاثیر نگهدارنده هایی مانند مونولورین را قوت می بخشند و به عنوان بازدارنده اکسیداسیون شیمیایی عمل می کنند و همچنین EDTA حساسیت باکتری های گرم منفی به آنتی بیوتیک هایی مانند نایسین و ریفامپین را افزایش می دهد(۹). باکتری *اشرشیاکلی* یک باکتری فرصت طلب بوده که به راحتی توسط مواد غذائی قادر به انتقال به انسان بوده و به همین واسطه اغلب فرآورده های غذائی از نظر وجود این باکتری مورد آزمون قرار می گیرند. مسمومیت های *اشرشیاکلی* در اثر مصرف فرآورده های حاصل از شیر بویژه پنیر نرم و سالاد های حاوی سبزیجات گزارش شده است. این باکتری شاخص بهداشتی در بسیاری از غذاها از جمله فرآورده های شیر می باشد(۱۰). *سالمونلا* قادر به رشد در اغلب مواد غذایی بوده، که گوشت قرمز، تخم مرغ و بویژه محصولات لبنی را بیشتر آلوده می کند. عفونت *سالمونلا* ممکن است به یکی از سه شکل بالینی گاستروانتریت خود محدود شونده، سپتی سمی همراه با ضایعات موضعی و یا یک تب روده ای حصبه یا تب تیفوئید بروز کند(۱۲،۱۱). در این مطالعه اثر ممانعت کنندگی مونولورین به تنهایی و توام با EDTA بر روی رشد باکتریهای پاتوژن *سالمونلا تیفی موریوم* و *اشرشیاکلی* در لورک مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار:

آماده سازی ومحاسبه میزان تلقیح باکتری های مورد مطالعه: باکتری های *اشرشیا کلی* ATCC25922 و *سالمونلا تیفی موریوم* ATCC 13311 تهیه شده از بخش بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه استفاده گردید. به منظور محاسبه میزان باکتری لازم

(CFU/g ۱۰^۶ ×۱/۵) جهت تلقیح در لورک از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٦٠٠ نانومتر و شمارش باکتریایی به کمک کشت سطحی استفاده گردید(۱۳).

تهیه مونولورین: رقت های متوالی ppm/mL ۵۰۰۰،۲۵۰۰،۱۲۵۰،۱۰۰۰۰ از مونولورین بکار رفته در این مطالعه (ساخت شرکت LAURICIDIN INC) تهیه شد.

تهیه EDTA: EDTA به شکل پودر سفید رنگی بوده که برای حل کردن آن از آب مقطر استفاده شد، به گونه ای که برای تهیه رقت 500ppm/mL از آن مقدار ۰/۰۰۵ از آن در ۱۰ mL آب مقطر استریل حل گردید.

تهیه لورک: پس از تهیه پنیر از شیر، آب پنیر حاصل از آن تحت تیمار حرارتی ۹۷-۹۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت. توده سفید رنگی بعد از این تیمار حرارتی بر روی آب پنیر تجمع می یابد که پس از جداسازی توده مورد نظر آبگیری از آن صورت می گیرد که ماده جدا شده همان لورک می باشد. در ادامه تیمار های لورک حاوی باکتری های پاتوژن، مونولورین و الکل به شرح زیر تهیه گردید: برای هر کدام از باکتری های مورد مطالعه ۲ گروه شامل گروه اول حاوی ۷ پاکت استریل استوماکر و گروه دوم حاوی ۵ پاکت استریل استوماکر انتخاب شد. به هر کدام از پاکت های موجود در ۲ گروه ۱۰ گرم از لور تهیه شده و۱mL از باکتری مورد نظر با رقت CFU/g ۱/۵×۱۰^۶ اضافه گردید. سپس به ۵ پاکت از گروه اول ۲ mL از رقت های متوالی مونولورین اضافه گردید.۲ پاکت دیگر که مونولورین به آنها افزوده نمی شد به عنوان شاهد در نظر گرفته شده و به یکی از آنها ۲cc اتانول و به دیگری هیچ ماده ای اضافه نگردید. در پاکت های موجود در گروه دوم پس از اضافه کردن لورک و رقت مد نظر از از باکتری های مورد مطالعه ۲mL از رقت های مختلف مونولورین و ۲mL از EDTA با رقت ۵۰۰ppm/mL اضافه شد. مراحل بعدی در مورد هر ۲ گروه مورد مطالعه مشترک بوده و شامل قرار دادن پاکت ها در داخل دستگاه استوماکر و مخلوط کردن آنها با دور ۲۳۰rpm به مدت ۳ دقیقه بوده است. نمونه های تهیه شده به مدت ۲۱ روز در دمای ٤ درجه سانتیگراد قرار گرفت. به منظور شمارش باکتری های *اشرشیاکلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* در طی مراحل مختلف نگهداری لورک (بلافاصله پس از تلقیح و روزهای ۳، ۷، ١٤ و ۲۱) از محیط های کشت اختصاصی هر کدام از باکتری های استفاده شد(١٤).

تحلیل آماری: کلیه آزمایش ها در سه تکرار صورت پذیرفت. ارزیابی رفتار رشد باکتری های مورد مطالعه با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) صورت گرفت. آزمون مذکور از طریق نرم افزار MINITAB ورژن 15انجام پذیرفت. نتایج معنی دار در $P<$ ۰/۰۵ مد نظر قرار گرفت.

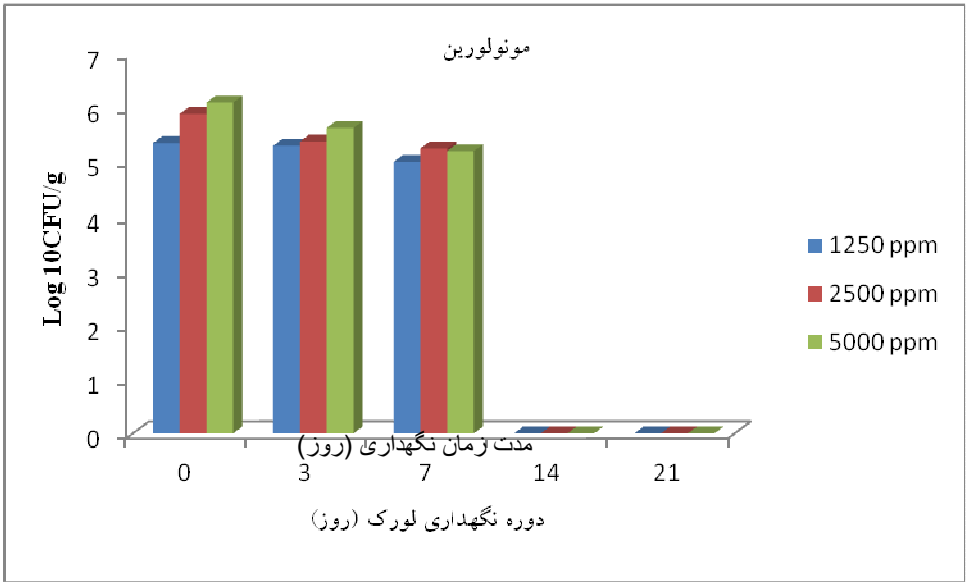
یافته ها:

حداقل غلظت ممانعت کنندگی (MIC[1]) مونولورین برای *سالمونلا* ppm ۱۰۰۰۰ و در مورد *اشرشیاکلی* ۱۲۵۰۰ppm مونولورین به تنهایی و ۲۵۰۰ ppm تیمار توام مونولورین و EDTA بود. در مطالعه حاضر تاثیر فاکتورهای زمان و غلظت برفعالیت ضد میکروبی مونولورین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج وجود رابطه معنی داری بین غلظت های مختلف مونولورین و میزان رشد باکتری های مورد مطالعه را نشان داد($P<$ ۰/۰۵). مونولورین به تنهایی مانع از رشد *اشرشیاکلی* شده (نمودار شماره ۲) ولی اثر توام آن با EDTA (تصویر شماره ۳) باعث تسریع اثر ممانعت کنندگی آن گردید($P<$ ۰/۰۵). تاثیر فاکتور زمان بر فعالیت ضد میکروبی مونولورین و EDTA معنی دار بود ($P<$ ۰/۰۵). رقت های سریالی مونولورین رابطه ی معنی داری را در مورد باکتری اشرشیاکلی نشان نداد. نتایج بدست آمده نشان داد که مونولورین می تواند مانع از رشد سالمونلا تیفی موریوم در لورک گردد(تصویر شماره ۵). فاکتور زمان در فعالیت ضد میکروبی مونولورین کاملا معنی دار بوده و همچنین افزایش غلظت مونولورین و کاهش رشد این باکتری رابطه ی معنی داری را باهم نشان داد($P<$ ۰/۰۵). آنالیز داده های حاصل از گروه شاهد دارای الکل (تصاویر شماره ۱و ٤) نشان دهنده معنی دار بودن اثر الکل در طول زمان بر

[1] Minimum Inhibitory Concentration

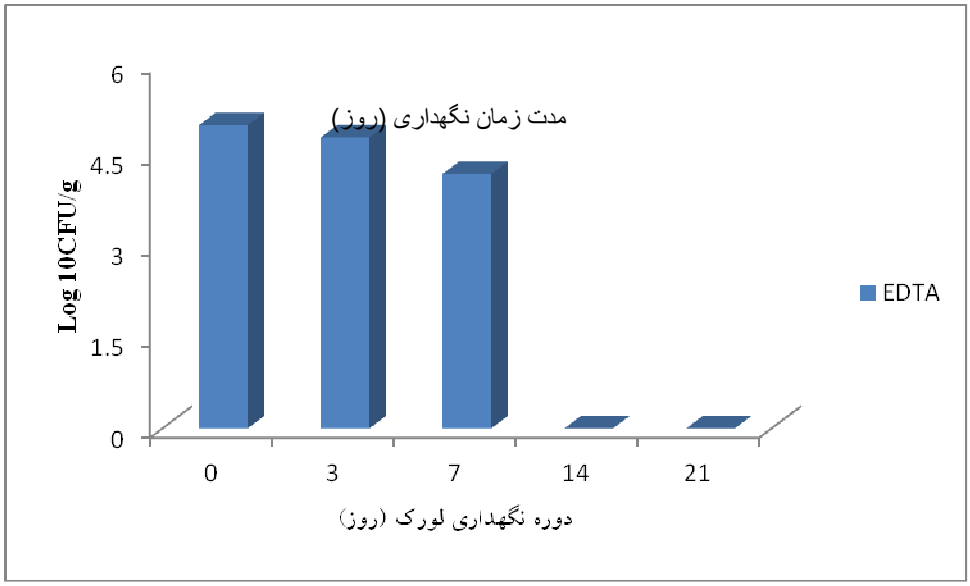
ممانعت از رشد باکتری های مورد مطالعه و معنی دار بودن مقایسه آن با اثر مونولورین در طی دوره نگهـداری لـورک بود($P<$ ۰/۰۵).

تصویر شماره۱ـ رشد *اشرشیاکلی* در لورک حاوی EDTA (طی ۲۱ روز نگهداری)



تصویر شماره ۲ـ رشد *اشرشیاکلی* در لورک حاوی غلظت های مختلف مونولورین (طی ۲۱ روز نگهداری)

تصویر شماره ۳ـ رشد *اشرشیا کلی* در لورک حاوی مونولورین و EDATA (طی ۲۱ روز نگهداری)



تصویر شماره ٤ـ رشد سالمونلا در لورک حاوی EDTA(طی ۲۱ روز نگهداری)

تصویر شماره ۵ـ رشد سالمونلا در لورک حاوی غلظت های مختلف مونولورین (طی ۲۱ روز نگهداری)

بحث:

نتایج حاصل دراین مطالعه نشان دهنده تاثیر مهار نسبی مونولورین بر رشد باکتری های *اشرشیاکلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* و مهار کامل رشد باکتری *اشرشیاکلی* در زمان استفاده توام با EDTA بود. نتایج مشابه بدست آمده توسط محققان دیگر نشان داد که مونولورین به همراه EDTA اثر مهاری قابل توجهی بر رشد باکتری های گرم منفی دارد، به گونه ای که نتایج حاصل از مطالعه رضوی روحانی و گرفیتس (۱۹۹٤) نشان داد که مونولورین بر علیه همه باکتری های گرم مثبت مورد مطالعه موثر بوده اما روی باکتری های گرم منفی مورد مطالعه فقط در حضور EDTA موثر است(۱۲). MICمونولورین به طور قابل توجهی در زمانی که EDTA به مقدار مساوی با مونولورین به محیط اضافه شود، کاهش پیدا می کند (۱۵،۱٦). که با نتایج بدست آمده از مطالعه ما در زمینه میزان MIC مونولورین برای باکتری اشرشیاکلی کاملاً همخوانی دارد. در زمان اضافه کردن مونولورین pH پایین و محیط اسیدی نیز اغلب از رشد باکتری ها ممانعت می نماید (۱٦). با افزایش مقدار مونولورین در حضور EDTA هر دو رشد هوازی و بی هوازی اشرشیاکلی متوقف شده و این اثر ممانعت کنندگی در شرایط بی هوازی ماده غذایی مشهود تر می باشد(۱۷،۱۵). از دو تحقیق مشابه که در آنها از مونولورین در پنیر استفاده شد چنین بر می آید که بخاطر پروسه های متفاوت تولید و تهیه پنیر سفید ایرانی و لورک و همچنین ترکیب متفاوت این دو نوع فرآورده، اثر مونولورین در غلظت های یکسان تاثیر و نتیجه یکسانی را در بر نداشته ولی در هر صورت استفاده از مونولورین از فاسد شدن محصولات جدید حاصل از آب پنیر نیز جلوگیری و باعث مدت زمان ماندگاری لورک حاصل از آب پنیر می شود(۱۸). در تحقیق انجام شده توسط Skrivanova (۱۹۹۲)، اثر ضد میکروبی اسیدهای چرب، مونولورین و اسید سیتریک در محیط کشت علیه ۲ سویه *اشرشیاکلی* و ۳ سویه از *سالمونلا* مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد که pH محیط های کشت در گروه شاهد و چه در گروه های تیمار در طول دوره انکوباسیون از حدود ٦/۷ به ٥/٦ رسید(۱۵) در تحقیق حاضر نیز pH لور از حدود ٦/٥ در ابتدای دوره به حدود ٥/۳ در انتهای دوره رسید، که با یافته های موجود در این زمینه کاملاً همخوانی دارد. فعالیت ضد میکروبی مونولورین ماده لیپوفیلیک، نشان می دهد که

مکانیسم های دیگری علاوه بر خروج پروتئین داخل سلول به بیرون وجود داشته و در بسیاری از تحقیقات اثرات تخریبی اسیدهای آلی بر جدار بیرونی یا غشای سیتوپلاسمی سلول باکتری، ممانعت از سنتز ماکرومولکول ها و دناتوره شدن پروتئین و DNA گزارش شده است(۱۹). این نکته اثبات شده است که باکتری های گرم مثبت نسبت به دخالت اجزایی که در انتقال یون ها از غشای سلولی اثر دارند ،حساس تر بوده و به همین دلیل نسبت به مونولورین حساس تر از باکتری های گرم منفی ها می باشند(۱۹،۲۰). با توجه به اینکه در چندین تحقیق به مانند مطالعه حاضر حساسیت کم باکتری های گرم منفی بویژه *اشرشیا کلی* و برخی سویه های *سالمونلا* به مونولورین به اثبات رسیده است. نظر بر آن است که حضور عوامل شلاته کننده نظیر EDTA می تواند بواسطه ترکیب با کاتیون ها، پل های ارتباطی بین لایه لیپوپلی ساکاریدی و پپتیدوگلیکان باکتری های گرم منفی، سبب سست و ناپایدار شدن غشاء شده و از این طریق زمینه حساسیت آنها را نیز به تاثیرات مهاری مونولورین فراهم آورند(۲۱). قابل ذکر است است که با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق می توان نتیجه گرفت که مونولورین یک ترکیب ضد میکروب دیر اثر بوده ودر طول زمان خاصیت ضدمیکروبی خود را بروز می دهد.

نتیجه گیری:

مونولورین یک ماده طبیعی و مغذی با خواص ضد میکروبی و طیف اثر محدود بوده که خاصیت آن را می توان به کمک مواد شلاته کننده یا مواد اسیدی کننده تقویت نمود. لذا می توان از آن در قالب یک نگهدارنده قوی و ایمن مواد غذایی بویژه در فرآورده های لبنی و همچنین یک غذا_دارو(Medicinal food) در رژیم های تغذیه_درمانی بهره های فراوان جست.

فهرست مراجع:

1. H, Jafari MM. Milk and milk Products, Danesh Pazir Publisher co 1384; PP: 86-93.
2. Mortazavi SA, Dezyani M, Ezzati R, Arab H and Azizi R. Production and use of whey Protein in foodindustry, Parivar Publisher co 1386; PP:207-212 .
3. Burt S.Essential oils: their Antibacterial Propertied and potential application in food-a review. Int. Food microbial 2004; **94**, 223-253.
4. Skandamis P, Koutsoumanis K, Fasseas K and Nychass r. inhibtion of ovegano essential and EDTA on *E coli O157:H7*. Italian J. of Food sci. 2001; **13**, 55-65.
5. Schuenzed KM and Harrison MA. Microbial antagonists of food borne Pathogens on Fresh minimally processed vegetable. J. of food protect 2001; **65**, 1909-1915.
6. Kabara JJ. A new Preservative system for food. Food Preservative a system approach. J.food safety 1982; **4**: 13-25.
7. Beuchat LR and Golden DA. Antimicrobial occurring naturally IN FOOD . j. Food Technolog 1982; **16**:134-142.
8. Sorencen C and Donnell Jo. Nutritional Properties of whey and Lactose and milk minerals Products. Whey Protein institute 2002; **19**:50-8.
9. Mclay JK. The effect of monolaurin and lacto Peroxidase on Ecoil 0157:H7.Int. J. of food microbial 2002; **73**:11-19.
10. Varnam AH. Food born pathogen. Wolf publishing Ltd. 1996; Ppt: 235- 265.
11. Jay Mj. Modern food microbiology, 2nd Ed.2000; PP: 114-118. (Publication, Chapman and hall New York, London)
12. Razavi-Rohani SM and Griffiths MW. The effect of Mono Nad Polyglycerol Laurate in Spoilage and Pathogenic bacteria associated with foods. J. Food safety 1994; **16**: 59-74.
13. Basti AA, Misaghi A and Khaschabi D. Growth response and modelling of the effects of *Zataria multiflora Boiss*. essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. LWT- Food Science and Tecnol 2007; **40**(6): 973-81.

14. Baron EJO, Peterson LR and Finegold SM. Baily and scott's Diagnostic microbiology. Toronto, Mosbey 1994; PP: 168-1760.

15. Skrivanova E, Maroune KM, Bend V and Brezina P. Susceptibility of Escherichia coli, Salmonella SP and Clostridium Perfringens to organic acids and monolaurin. Veterinary medicine. 2006; **51**:81-88.

16. Witcher KJ, Novich RP and Schlievert PM. Glycerol monolaurate Cline Diag Lab Immunol 1996; **3**: 10-13.

17. Kabara JJ,Orth DS. Presevative Free and self Preserving cosmetics and drugs Principles and Practice. New York, Marcel Decker. 1997; PP:119-134.

18. Razavi-Rohani SM and Griffiths MW. The effect of lysine and butilated hydroxyanizole on spoilage and Pathogenic Bactria associated with foods. J. food safety 1996; **16**: 59-74.

19. Harrigan WF and Mac cance ME. Laboratory methods in food and dairy microbiogy. London, Academic Press 1976; PP: 157-158.

20. Schlievert PM, Deringer JR, Kim MH, Projan S and Novick RP. Effect of glycerolmonolaurate and Bacterial growth and toxin Production. Antimicrob Agents Chemother 1992; **36**: 262-631.

21. Nagaraja TG. Inophores and antibiotics in ruminants. Biotechnology in animal feeding 1995; **51**: 173-204.