مطالعه اثر غلظت‌های مختلف نایسین بر فعالیت باکتری‌های لاکتیکی کشت آغازگر در پنیر فراپالایشی

خسرو محمدی[۱*]، حسین جدیری[۲]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، تبریز، ایران.
۲- مدیر تحقیق و توسعه شرکت شیر پاستوریزه پگاه استان آذربایجان‌شرقی، تبریز، ایران.
* نویسنده مسئول مکاتبات: mohammadi@iaut.ac.ir
(دریافت مقاله: ۹۲/۴/۹ پذیرش نهایی:۹۲/۸/۷)

چکیده

نایسین یک نگه‌دارنده طبیعی است که توسط زیر گونه‌های *لاکتوکوکوس لاکتیس* تولید می‌شود و تنها باکتریوسین مورد استفاده در مواد غذایی می‌باشد که توسط FDA/FAO بعنوان یک افزودنی بی‌خطر مورد تأیید می‌باشد. نایسین دارای طیف اثر گسترده‌ای بر باکتری‌های گرم مثبت می‌باشد. بنابراین یکی از مشکلات کاربرد نایسین در پنیر اثر منفی بر رشد باکتری‌های لاکتیکی کشت آغازگر می‌باشد که برای ایجاد تغییرات مطلوب در طول دوره رسیدن پنیر ضروری هستند. در این مطالعه اثر غلظت‌های مختلف نایسین و دمای نگه‌داری بر رشد و بقای باکتری‌های لاکتیکی کشت آغازگر (Starter culture) در پنیر تهیه شده از شیر فراپالایشی مورد بررسی قرار گرفت. نایسین در غلظت‌های صفر، ۲، ٤ و ٦ میکروگرم در گرم به نمونه‌های پنیر اضافه شد و نمونه‌ها در دوره نگه‌داری در دماهای ۸ و ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ٦۰ روز نگه‌داری شدند. شمارش باکتری‌های لاکتیکی کشت آغازگر و آزمایش‌های فیزیکوشیمیایی پنیرها در روزهای صفر، ۱، ۸، ۱۵، ۳۰، ٤۵ و ٦۰ انجام گردید. بر اساس نتایج این مطالعه نایسین در غلظت‌های ٤ و ٦ میکروگرم در گرم باعث کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) رشد باکتری‌های لاکتیکی کشت آغازگر و در نتیجه ممانعت از نزول pH طی فرآیند رسیدن در نمونه‌های پنیر شد. همچنین دمای ۲۵ درجه سلسیوس بطور معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) اثر نایسین را کاهش داد. طبق نتایج مطالعه، نایسین در غلظت‌های کمتر از ٤ میکروگرم در گرم به همراه نگه‌داری در دمای یخچال می‌تواند بعنوان یک نگه‌دارنده طبیعی در پنیر فراپالایشی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: نایسین، کشت آغازگر، پنیر فراپالایشی، دمای نگه‌داری

مقدمه

امروزه به علت تولید انبوه مواد غذایی و طولانی بودن زنجیره‌های توزیع، سلامت مواد غذایی دارای اهمیت زیادی می‌باشد. مصرف‌کنندگان تمایلی به استفاده از نگه‌دارنده‌های شیمیایی و یا فرآیندهای حرارتی شدید ندارند. به جای آن مواد غذایی سالم با مدت زمان ماندگاری و کیفیت بالا را ترجیح می‌دهند (Gould, 1992).

نایسین یک نگه‌دارنده طبیعی است که توسط زیر گونه‌های *لاکتوکوکوس لاکتیس* تولید می‌شود و تنها باکتریوسین مورد استفاده در مواد غذایی می‌باشد که توسط FDA/FAO بعنوان یک افزودنی بی‌خطر (GRAS=Generally Regarded as Safe) مورد تأیید می‌باشد (FDA, 1988). مردم برای مدت‌های طولانی نایسین را بدون اثرات بیماری‌زایی مصرف کرده‌اند. زیرا لاکتوکوکوسی‌های تولیدکننده نایسین در شیر و پنیر وجود دارند (Delves Broughton, 1990). طبق نتایج محققین نایسین اثرات سمی خاصی ندارد (LD50 مشابه نمک‌های معمولی حدود ۷ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و یک ماده بی‌خطر در مواد غذایی می‌باشد (Thomas and Delves-Broughton, 2005) که خیلی سریع توسط آنزیم‌های گوارشی غیرفعال می‌شود (Heinemann and Williams, 1966; Jarvis and Mahoney, 1969). همچنین هیچ مدرکی دال بر افزایش مقاومت به نایسین همانند آنتی‌بیوتیک‌ها وجود ندارد (Szybalski, 1953; Hossack et al., 1983). این ترکیب پپتیدی دارای وزن مولکولی ۳/۵ کیلودالتون (۳٤ اسید آمینه)، بار مثبت و فعالیت ضدمیکروبی روی باکتری‌های گرم مثبت مانند *باسیلوس‌ها*، میکروکوکسی‌ها، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریامونوسایتوجنز* و *کلستریدیوم بوتولینوم* می‌باشد. اما فعالیت ضدمیکروبی کمی روی باکتری‌های گرم منفی، مخمرها و کپک‌ها دارد (Hurst, 1983). امروزه از نایسین برای ایمن‌سازی و افزایش مدت زمان ماندگاری پنیرهای پاستوریزه، دسرهای لبنی، غذاهای قوطی شده، گوشت‌های نمک سود شده و غذاهای دریایی استفاده می‌شود. به دلیل آنکه حرارت دادن شیر بر کیفیت پنیر تولید شده اثر نامطلوبی دارد، نایسین می‌تواند به عنوان یک نگه‌دارنده سالم در پنیر مورد استفاده قرار گیرد (Thomas and Delves-Broughton, 2005).

یکی از مشکلات کاربرد نایسین در پنیر اثر بازدارندگی بر رشد باکتری‌های لاکتیکی کشت آغازگر (Starter culture) می‌باشد که برای تغییر ویژگی‌های پنیر در طول دوره رسیدن و هم‌چنین کنترل رشد باکتری‌های بیماری‌زا ضروری هستند. هدف از انجام این مطالعه تعیین اثر غلظت‌های مختلف نایسین (۰، ۲، ٤ و ٦ میکروگرم در گرم) بر باکتری‌های لاکتیکی کشت آغازگر و خصوصیات فیزیکوشیمیایی پنیر تهیه شده از شیر فراپالایشی طی دوره تولید، رسیدن و نگه‌داری و همچنین اثر دمای نگه‌داری بر میزان عملکرد نایسین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- آماده‌سازی محلول نایسین

برای تهیه محلول نایسین مقدار یک گرم از نایسین Sigma–Aldrich Inc. (United Kingdom, EC 215-807-5) در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۰۲ نرمال (pH=۱/٦) حل شد تا غلظت آن به 10^4 IU/ml برسد (٤۰IU = ۱µg). سپس با استفاده از فیلتر ۰/٤۵

میکرومتری استریل شد و برای تهیه رقت‌های مختلف از آب مقطر استریل استفاده شد (Thomas and Delves-Broughton, 2005).

- تولید پنیر فراپالایشی

نمونه‌های پنیر طبق روش تولید صنعتی پنیر فراپالایشی در کارخانه شیر پاستوریزه استان آذربایجان شرقی تهیه شد. شیر خام با کیفیت مناسب برای تهیه پنیر سفید فراپالایشی پس از عبور از پیش سردکن، کلاریفایر، دستگاه باکتریفوژ و دستگاه خلاء، در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه گردید. در دستگاه اولترافیلتراسیون (Ultrafiltration) با عبور شیر پاستوریزه از صافی‌های غشایی لوله‌ای، آب، املاح و لاکتوز شیر جدا شده و ریتنتیت با فاکتور تغلیظ ۵/۱ کیلوگرم شیر به ۱ کیلوگرم ریتنتیت تهیه شد. پس از استاندارد سازی چربی، در دمای ۵۵ درجه سلسیوس هموژنیزه و در دمای ۷۸ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه پاستوریزه شد. سپس ریتنتیت تا دمای ۳۷ درجه خنک گردیده و در تانک، مخلوط کشت آغازگر مزوفیل و ترموفیل(FD-DVS FRC-65) هر دو به نسبت تقریباً مساوی شامل میکروارگانیسم‌های *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیرگونه *لاکتیس* (*Lactococcuslacti* subsp. *lactis*)، *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیرگونه *کرموریس* (*Lactococcuslactis* subsp. *cremoris*)، *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریکوس* (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* (*Streptococcus thermophilus*) طبق دستورالعمل شرکت سازنده (Chr. Hansen, Horsholm, Denmark) اضافه شد. پس از کاهش pH ریتنتیت به ۶/۲، نایسین در غلظت‌های صفر، ۲، ٤ و ٦ میکروگرم در گرم اضافه شد. سپس در دستگاه پرکن پس از ریختن ۱۰۰ گرم ریتنتیت در لیوان‌های پنیر، رنت (Chr. Hansen, Denmark) به مقدار ۰/۰۰۲ درصد اضافه گردید. برای انعقاد ریتنتیت لیوان‌ها در مدت زمان ۲۰ دقیقه از تونل انعقاد با دمای ۳۰ درجه سلسیوس عبور کردند. پس از قرار گرفتن کاغذ پارچمنت (Parchment paper) بر روی لخته مقدار ۳ درصد نمک گرانولی روی کاغذ ریخته شده و در دستگاه روتامین (Rotamin) با فویل آلومینیومی دربندی گردید. در مرحله پیش- رسیدن نمونه‌های پنیر به مدت یک روز در گرمخانه ۲۷ درجه سلسیوس قرار گرفتند و پس از افت pH نمونه‌های پنیر به ٤/٦، به منظور ارزیابی نتایج آزمون‌های میکروبی و نیز تکمیل فرآیند رسیدن نمونه‌های پنیر به مدت ۲ هفته در سردخانه ۸ درجه سلسیوس قرار گرفتند (روز ۸ و ۱۵). سپس به منظور ارزیابی اثر دمای نگه‌داری بر نایسین، نمونه‌های پنیر به مدت ٤۵ روز دیگر در دمای ۸ و ۲۵ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند.

آزمایشات میکروبی (شمارش لاکتوباسیل‌ها و لاکتوکوکوس‌ها) و فیزیکوشیمیایی (تعیین pH، تعیین درصد رطوبت و درصد نمک) طی مراحل ذیل بر روی نمونه‌های پنیر انجام گرفت:

الف- بلافاصله پس از تلقیح مایه کشت آغازگر (ساعت صفر)

ب- متعاقب نگه‌داری نمونه‌های پنیر در دمای ۲۷ درجه سلسیوس (روز ۱)

ج- در طول دوره رسیدن نمونه‌های پنیر در دمای ۸ درجه سلسیوس (روزهای ۸ و ۱۵)

د- در طول مدت نگه‌داری در دمای ۸ و ۲۵ درجه سلسیوس (روزهای ۳۰، ٤٥ و ٦٠)

- آزمایش‌های میکروبی

در این مطالعه دو گروه میکروبی لاکتوباسیل‌ها و لاکتوکوکوس‌ها پایش شدند. برای تهیه رقت، مقدار ۱۱ گرم از هر نمونه پنیر همگن شده در کیسه‌های زیپ‌دار استریل حاوی ۹۹ میلی‌لیتر مایع رقیق‌کننده پنیر (کلرید سدیم ۰/۵ درصد، کازیتون ۱ درصد و سیترات سدیم ۲ درصد) (Merck, Germany) توزین شد و به مدت ۲ دقیقه توسط استومیکر همگن گردید. به منظور تهیه سوسپانسیون یکنواخت به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد (Stephan et al., 2007). رقت‌های سریال با افزایش ۱ میلی‌لیتر از هر رقت به ۹ میلی‌لیتر آب پپتونه ۰/۱ درصد (وزنی- حجمی) تهیه شد. سپس از هر لوله رقت مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر در سطح دو پلیت حاوی محیط کشت انتخابی پخش گردید. شمارش لاکتوکوکوس‌ها در M17 آگار (Merck, Germany) در دمای ۳۰ درجه سلسیوس در شرایط هوازی به مدت سه روز و شمارش لاکتوباسیلوس‌ها در MRS آگار(Merck, Germany) در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در جار بی‌هوازی (Anaerocult A gas packs, Merck, Germany) به مدت سه روز انجام گرفت (Hanifian and Khani, 2012).

-آزمایش‌های فیزیکوشیمیایی

اندازه‌گیری pH توسط pH متر دیجیتال (Metrom, Switzerland) انجام گرفت (Sadler et al., 2003). تعیین درصد رطوبت به روش خشک کردن در آون (Oven drying method) در دمای ۲ ± ۱۰۲ درجه سلسیوس برای مدت ٦ ساعت (International Dairy Federation, 1993) و اندازه‌گیری نمک به روش مور (Mohr method) انجام شد (Carpenter et al., 2003).

- تجزیه و تحلیل آماری

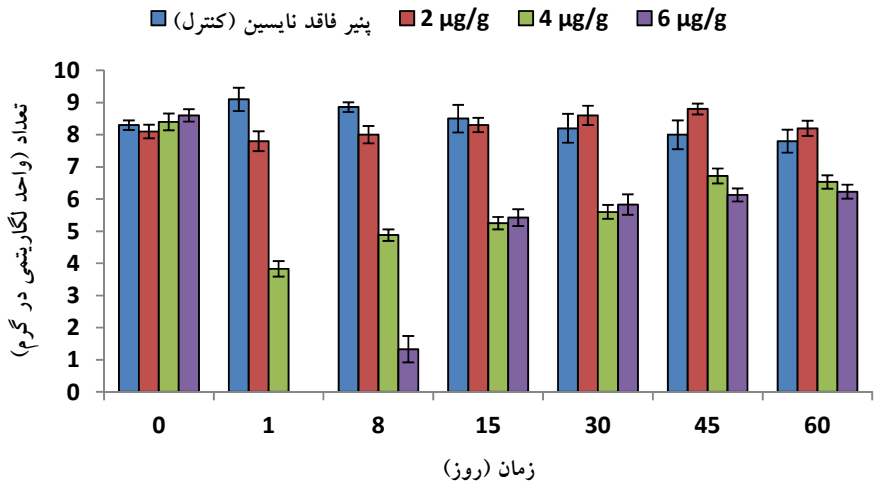
این مطالعه در قالب سه تیمار و شاهد (بدون تلقیح نایسین) و در پنج تکرار انجام شد. نتایج حاصل از شمارش گروه‌های باکتریایی ابتدا به مقیاس لگاریتمی تبدیل گردید. از آنجا که داده‌های حاصل از شمارش باکتری‌ها دارای توزیع نرمال بودند جهت بررسی آماری از آزمون ANOVA و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن و نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

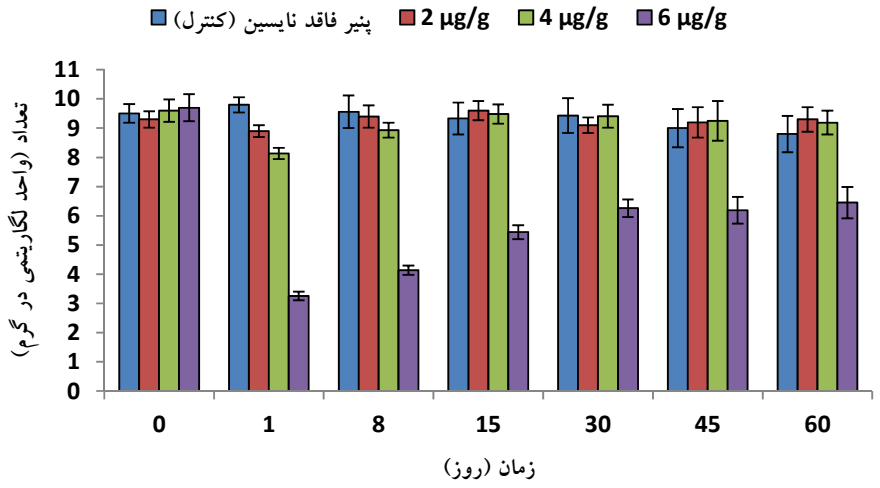
- اثرنایسین بر باکتری‌های لاکتیکی کشت آغازگر

لگاریتم تعداد لاکتوباسیلوس‌ها و لاکتوکوکوس‌هایکشت آغازگر در نمونه‌های پنیر متأثر از غلظت‌های مختلف نایسین (۰، ۲، ٤ و ٦ میکروگرم در گرم) به ترتیب در نمودار شماره ۱- الف و ۱- ب نشان داده شده است.

الف



ب



نمودار ۱- لگاریتم تغییر تعداد (میانگین ± انحراف استاندارد) لاکتوباسیلوس‌ها (الف) و لاکتوکوکوس‌ها (ب) در نمونه‌های پنیر تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نایسین در طی ۶۰ روز نگه‌داری در دمای ۸ درجه سلسیوس

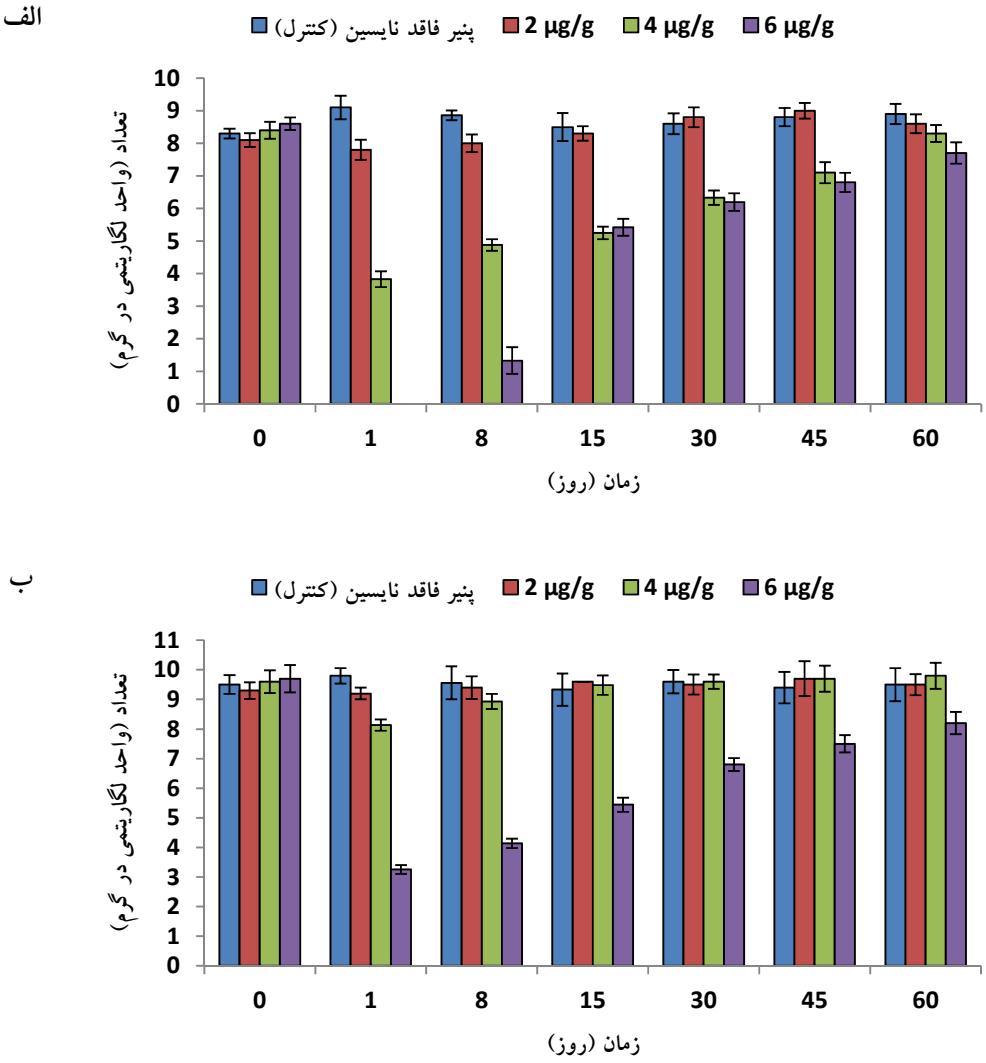
نسبت تلقیح اولیه لاکتوکوکوس‌ها (۹/۵ log cfu/g) به لاکتوباسیلوس‌ها (۸/۳ log cfu/g) در زمان تولید پنیر ۱/۱ به ۱ بود. جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها پس از افزایش در طی دوره پیش- رسیدن (تا۹/۱ log cfu/g)، در تمام نمونه‌های کنترل در طول دوره نگه‌داری بطور پیوسته کاهش یافت (۷/۸ log cfu/g در روز ٦٠). در حالیکه تعداد لاکتوکوکوس‌ها در دوره پیش- رسیدن تا log ۹/۸cfu/g افزایش یافته و در پایان دوره نگه‌داری به log ۸/۸cfu/g کاهش یافت.

آنالیز واریانس نشان داد که طی دوره پیش- رسیدن، در تیمار حاوی ۲ میکروگرم نایسین در گرم پنیر تغییر تعداد باکتری‌های لاکتیکی کشت آغازگر در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار نبود ($p>0/05$). اما با افزایش غلظت نایسین در تیمارهای حاوی ٤ و ٦ میکروگرم، تعداد باکتری‌های لاکتیکی به طور معنی‌داری ($p<0/01$) طی دوره پیش- رسیدن کاهش یافت. تحت تأثیر نایسین، لاکتوباسیلوس‌ها نسبت به لاکتوکوکوس‌ها حساس‌تر بودند. بطوریکه در غلظت حاوی ٦ میکروگرم نایسین در گرم پنیر طی دوره پیش- رسیدن تعداد لاکتوباسیلوس‌ها به کمتر از یک واحد تشکیل‌دهنده کلنی (CFU) کاهش یافت. در حالیکه ۱۰ میکروگرم نایسین لازم بود تا همان تعداد کاهش را در مورد لاکتوکوکوس‌ها انجام دهد (اطلاعات نشان داده نشده است).

طی دوره رسیدن (تا روز ۱۵ در دمای ۸ درجه سلسیوس) در پنیرهای حاوی ۲ میکروگرم نایسین تعداد باکتری‌های لاکتیکی در مقایسه با تیمارهای حاوی غلظت‌های بالای نایسین به طور معنی‌داری ($p<0/01$) افزایش یافت. در حالیکه در پنیرهای حاوی ٤ و ٦ میکروگرم نایسین احیای باکتری‌های لاکتیکی و افزایش تعداد آنها طی دوره نگه‌داری اتفاق افتاد. الگوی رشد لاکتوکوکوس‌ها نسبت به لاکتوباسیلوس‌ها متفاوت بود. پس از توقف رشد لاکتوکوکوس‌ها در دوره پیش- رسیدن، تعداد تا روز ۳۰ به طور معنی‌داری ($p<0/01$) افزایش یافت در حالیکه تعداد لاکتوباسیلوس‌ها تا روز ٤٥ کاهش معنی‌داری داشت.

- اثر تیمار نایسین بر باکتری‌های لاکتیکی کشت آغازگر در دمای اتاق

خصوصیات رشد لاکتوباسیلوس‌ها و لاکتوکوکوس‌های کشت آغازگر در نمونه‌های پنیر متأثر از غلظت‌های مختلف نایسین (۰، ۲، ٤ و ٦ میکروگرم در گرم) در دمای۲۵ درجه سلسیوس به ترتیب در نمودار ۲- الف و ۲- ب نشان داده شده است. اثر بازدارندگی نایسین بر رشد و فعالیت باکتری‌های لاکتیکی کشت آغازگر در دمای ۸ درجه سلسیوس بیشتر از دمای ۲۵ درجه بود. قرار گرفتن نمونه‌های پنیر در دمای اتاق طی دوره نگه‌داری باعث افزایش معنی‌دار ($p<0/01$) باکتری‌های لاکتیکی کشت آغازگر نسبت به دمای ۸ درجه سلسیوس شد. نایسین در غلظت‌های ٤ و ٦ میکروگرم تا روز ٤٥ در دمای ۸ درجه و تا روز ۳۰ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بر لاکتوباسیلوس‌های کشت آغازگر اثر بازدارندگی داشت. شروع رشد لاکتوباسیلوس‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بعد از روز ۱۵ در نمونه‌های پنیر حاوی ٤ و ٦ میکروگرم نایسین بیانگر آن است که احتمالاً نایسین در دمای اتاق با سرعت بیشتری تجزیه می‌شود.

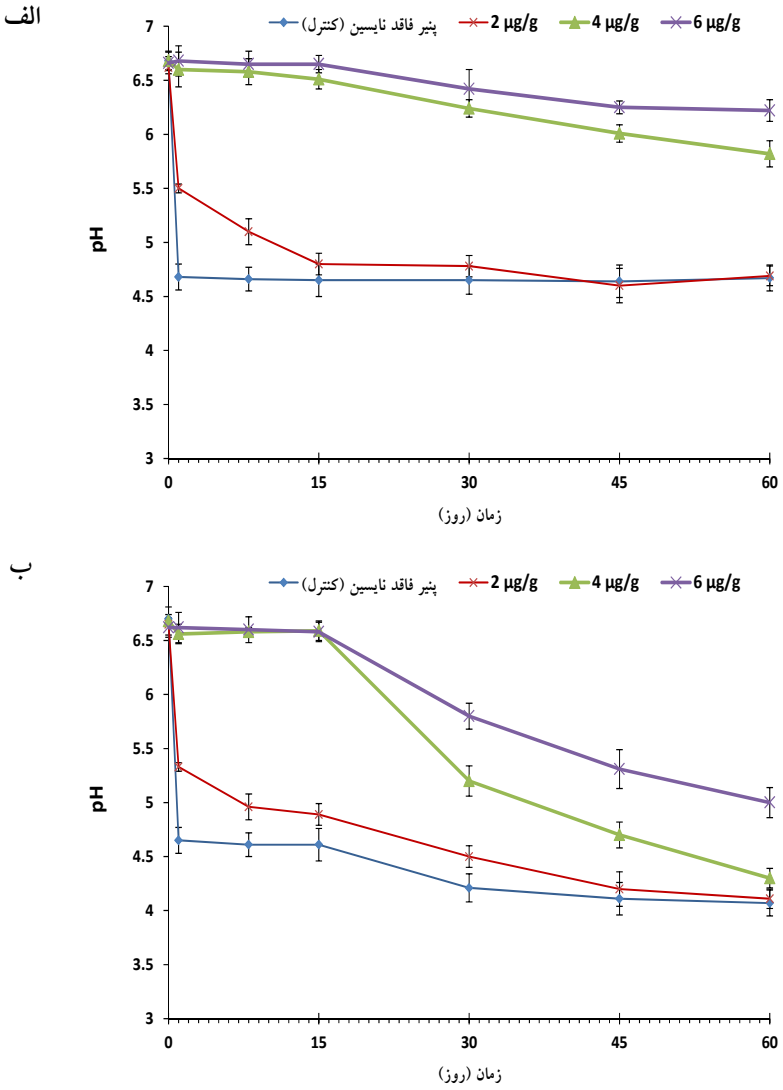


نمودار ۲- لگاریتم تغییر تعداد (میانگین ± انحراف استاندارد) لاکتوباسیلوس‌ها (الف) و لاکتوکوکوس‌ها (ب) در نمونه‌های پنیر تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نایسین در طی ۶۰ روز نگه‌داری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس

خصوصیات فیزیکوشیمیایی

تغییر در محتوای رطوبت (۳۷/۵–۳۶/۲ درصد)، نمک (۲/٤–۲/۲ درصد) و pH (٤/۷۰–٤/٦۷) نمونه‌های کنترل طی فرآیند تولید، رسیدن و نگه‌داری معنی‌دار نبود ($p>0/05$). همچنین تأثیر تیمار نایسین بر درصد نمک و رطوبت معنی‌دار نبود. در نمونه‌های حاوی نایسین فقط تغییرات pH معنی‌دار ($p<0/01$) بود (نمودار ۳-الف). مقادیر pH ثبت شده مربوط به پنیرهای کنترل و تیمار شده تا روز ٦۰ در محدوده ۱/۱۵ (برای نمونه‌های حاوی ٤ میکروگرم نایسین) و ۱/۵۵ (برای نمونه‌های حاوی ٦ میکروگرم نایسین) می‌تواند به دلیل توقف فعالیت باکتری‌های لاکتیکی باشد.

نگه‌داری نمونه‌های کنترل (فاقد نایسین) در دمای حدود ۲۵ درجه سلسیوس بر pH نهایی تأثیر معنی‌دار ($p<0/01$) داشت (از ٤/٦٧ به ٤/٠٧) که می‌تواند به دلیل تخمیر لاکتوز باقی‌مانده و تولید اسید لاکتیک باشد. همچنین کاهش pH نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف نایسین و نگه‌داری شده در مای اتاق نسبت به نمونه‌های نگه‌داری شده در دمای ۸ درجه سلسیوس معنی‌دار ($p<0/01$) بود (نمودار ۳- ب). این کاهش احتمالا می‌تواند به دلیل تجزیه نایسین در دمای اتاق و ترمیم باکتری‌های لاکتیکی و شروع رشد و فعالیت آنها در دمای مطلوب رشد این باکتری‌ها باشد.



نمودار ۳- میانگین تغییرات pH (± انحراف استاندارد) پنیرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف نایسین (۰، ۲، ۴ و ۶ میکروگرم) و نگه‌داری شده در (الف) ۸ و (ب) ۲۵ درجه سلسیوس

بحث و نتیجه‌گیری

تحقیقات زیادی در زمینه اثرات ضدباکتریایی نایسین در مدل‌های آزمایشگاهی و مواد خوراکی انجام شده است. Beuchat و همکاران (۱۹۹۷) تأثیر نایسین بر نحوه رشد و ترشح آنتروتوکسین مولد اسهال توسط *باسیلوس سرئوس* را در آبگوشت قلب و مغز (BHI broth) مورد مطالعه قرار دادند و بر اساس نتایج این مطالعه نایسین در غلظت ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر از رشد و ترشح آنتروتوکسین توسط سلول‌های رویشی *باسیلوس سرئوس* ممانعت کرد. در آزمایشی دیگر نایسین در غلظت ۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر در کنترل اسپورهای مزوفیل *کلستریدیوم* و اسپورهای ترموفیل *باسیلوس استیروترموفیلوس* (*B. stearothermophilus*) قبل از فرآیند حرارتی با F_0 = 3.2 مؤثر بود (Heinemann et al., 1965; Tramer, 1964; Shehata et al., 1976).

مدت زمان ماندگاری پودینگ کرم کارامل با افزودن ۳/۷۵ میکروگرم نایسین از کمتر از ٦ روز در دمای ۱۲ درجه سلسیوس به بیشتر از ۳۵ روز افزایش یافته است. شیرهای طعم‌دار (Flavored milk) مانند شیرشکلاتی ممکن است در اثر مواد افزودنی حاوی تعداد زیادی ارگانیسم‌های اسپوردار باشند. در این نوع مواد غذایی نایسین بعنوان یک نگه‌دارنده طبیعی مورد استفاده قرار گرفته است (Thomas and Delves-Broughton, 2005).

محل اثر نایسین غشاء سیتوپلاسمی سلول می‌باشد. نایسین باعث ایجاد سوراخ‌هایی در غشاء سیتوپلاسمی شده و نیروی محرک پروتونی را از کار می‌اندازد. بنابراین جذب اسیدهای آمینه متوقف شده و متابولیت‌های ریز، یون‌ها و یا مواد محلول داخل سیتوپلاسمی مانند اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها از سلول خارج می‌شوند (Abee, 1995). گروه دیگر از ارگانیسم‌های حساس به نایسین باکترهای لاکتیکی هستند. باکتری‌های لاکتیکی در محصولات تخمیری از جمله پنیر نرم مورد استفاده هستند و معمولاً خواص مفید مثل پتانسیل پروبیوتیکی دارند. در مطالعه Kykkidou و همکاران (۲۰۰۷) با افزودن ۳/۷۵ میکروگرم نایسین به نوعی پنیر نرم محلی یونانی بنام گالوتیری (Galotyri) مدت زمان ماندگاری پنیرها ۲۱ روز در دمای ٤ درجه سلسیوس با حفظ ویژگی‌های حسی پنیر افزایش یافت. اما همراه با کاهش باکتری‌های عامل فساد، تعداد لاکتوباسیلوس‌ها و لاکتوکوکوس‌های پنیر نیز کاهش یافت.

در تهیه پنیرهای نرم مانند ریکوتا (Ricotta)، پنیر (Paneer)، کسو (Queso)، فرسکو (Fresco) و هیسپانیک (Hispanic) از مایه کشت لاکتیکی استفاده نمی‌شود، بنابراین نایسین بدون هیچ مشکلی استفاده می‌شود. Davies و همکاران (۱۹۹۷) نایسین را به طور مستقیم به شیر اضافه کرده و با اسیدی کردن شیر پنیر ریکوتا تهیه کردند. در این مطالعه رشد *لیستریا مونوسایتوجنز* در دمای ۸-٦ درجه سلسیوس تا مدت ۸ هفته متوقف شد. اما در پنیرهای کنترل تعداد پاتوژن پس از دو هفته تا حد دوز عفونی افزایش یافت.

مقدار نایسین در دمای یخچال تقریباً ثابت می‌ماند اما با افزایش دما و مدت زمان نگه‌داری تجزیه شدن نایسین نیز سریع‌تر اتفاق می‌افتد (Delves Broughton 1990; Leverentz et al., 2003). طبق نمودار ۲- ب شکست زنجیره سرما در محل نگه‌داری پنیرهای حاوی نایسین باعث کاهش اثر نایسین و در نتیجه رشد و

فعالیت باکتری‌های لاکتیکی کشت آغازگر شده است. در مقایسه با این مطالعه، گزینه دیگر انتخاب سویه‌های *لاکتوکوکوس لاکتیس* مولد نایسین می‌باشد تا در شرایط طبیعی تولید پنیر، نایسین تولید کرده و اثرات آنها بر خصوصیات تکنولوژیکی محصول (ارزیابی کیفیت، سلامتی و ویژگی‌های حسی) آزمایش شود.

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان‌دهنده حساسیت باکتری‌های لاکتیکی کشت آغازگر مورد استفاده در نمونه‌های پنیر نسبت به نایسین می‌باشد. با توجه به نمودار ۱- الف نایسین در غلظت‌های ٤ و ٦ میکروگرم در گرم پنیر می‌تواند از رشد باکتری‌های لاکتیکی کشت آغازگر ممانعت کرده و فرآیند رسیدن پنیر را به تأخیر بیاندازد. علت کاهش تعداد باکتری‌های لاکتیکی صرفنظر از نوع تیمار می‌تواند به دلیل اثر نایسین بر این باکترهای گرم مثبت باشد. اگرچه احتمالاً به دلیل تجزیه شدن نایسین پس از روز ۳۰ تعداد لاکتوباسیلوس‌ها در تمام نمونه‌های پنیر افزایش یافت.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به دلیل حمایت‌های مالی از طرح انجام گرفته و همچنین مدیر محترم کارخانه شیر پاستوریزه پگاه آذربایجان‌شرقی که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

- Abee, T., Krockel, L. and Hill, C. (1995). Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. International Journal of Food Microbiology, 28: 169–185.
- Beuchat, L.R., Clavero, M.R.S. and Jaquette, C.B. (1997). Effects of nisin and temperature on survival, growth, and enterotoxin production characteristics of psychrotrophic *Bacillus cereus* in beef gravy. Applied and Environmental Microbiology, 63: 1953–1958.
- Carpenter, C.E. and Hendricks, D.G. (2003). Mineral analysis. In: Nielsen, S.S., (Ed.), Food analysis. 3rd Edition, New York, Springer Science and Business Media Publishers, pp. 195.
- Davies, E.A., Bevis, H.E. and Delves-Broughton, J. (1997). The use of the bacteriocin, nisin, as a preservative in ricotta-type cheeses to control the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes*. Letters in Applied Microbiology, 24: 343–346.
- Delves-Broughton, J. (1990). Nisin and its uses as a food preservative. Food Technology, 44: 100, 102, 104, 106, 108, 111–112 and 117.
- FDA. (1988). Nisin preparation: affirmation of GRAS status as a direct human food ingredient. Federal Register, 53: 11247–11251.
- Gould, G.W. (1992). Ecosystem approaches to food preservation. Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement, 73: 58S−68S.
- Hanifian, S. and Khani, S. (2012). Fate of *Yersinia enterocolitica* during manufacture, ripening and storage of Lighvan cheese. International Journal of Food Microbiology, 156: 141–146.
- Heinemann, B. and Williams, R. (1966). The inactivation of nisin by pancreatin. Journal of Dairy Science, 49: 312–313.
- Heinemann, B., Voris, L. and Stumbo, C.R. (1965). Use of nisin in processing food products. Food Technology, 19: 592–596.

- Hossack, D.J.N., Bird, M.C. and Fowler, G.G. (1983). The effect of nisin on the sensitivity of microrganisms to antibiotics and other chemotherapeutic agents. In: Antimicrobials and Agriculture. (Ed.) Woodbine, M., pp. 425-433.
- Hurst, A. (1983). Nisin and other inhibitory substances from lactic acid bacteria. In:Antimicrobials in Foods, Branen, A. L. and Davidson, P. M., (Eds.), Marcel Dekker, New York, pp. 327–351.
- International Dairy Federation. (1993). Analytical quality assurance and good laboratory practice indairy laboratories. International Dairy Federation 9302: 1–429.
- Jarvis, B. and Mahoney, R.R. (1969). Inactivation of nisin by alphacymotrypsin. Journal of Dairy Science, 52: 1448–1450.
- Kykkidou, S., Pournis, N., Kostoula, O.K. and Savvaidis, I.N. (2007). Effects of treatment with nisin on the microbial flora and sensory properties of a greek soft acid-curd cheese stored aerobically at 4 °C. International Dairy Journal, 17: 1254–1258.
- Leverentz, B., Conway, W.S., Camp, M.J., Janisiewicz, W.J., Abuladze, T., Yang, M., Saftner, R. and Sulakvelidze, A. (2003). Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on Fresh-Cut Produce by Treatment with Lytic Bacteriophages and a Bacteriocin. Applied and Environmental Microbiology, 69: 4519–4526.
- Sadler, G.D. and Murphy, P.A. (2003). pH and titratable acidity. In: Nielsen, S.S. (Eds.), Foodanalysis. 3rd Edition, New York, Springer Science and Business Media Publishers, pp. 207–225.
- Shehata, A.E., Khalafalla, S.M., Magdoub, M.N.I. and Hofi, A.A. (1976). The use of nisin in the production of sterilized milk drinks. Egyptian Journal of Dairy Science, 484: 37–42.
- Stephan, R., Schumacher, S., Tasara, T. and Grant, I.R. (2007). Prevalence of *Mycobacteriumavium* Subspecies *paratuberculosis* in Swiss Raw Milk Cheeses Collected at the Retail Level. Journal of Dairy Science, 90: 3590–3595.
- Szybalski, W. (1953). Cross resistance of *Micrococcuspyogenes*var. *aureus*to thirty-four antimicrobial drugs. Antibiotics and Chemotherapy, 3: 1095–1103.
- Thomas L.V. and Delves-Broughton, J. (2005). Nisin, In: Michael Davidson, P., John N. Sofos, J.N. and Branen, A.L., Antimicrobial in foods, Third edition, Published by CRC Press, pp. 237–274.
- Tramer, J. (1964). The inhibitory action of nisin on *B. stearothermophilus.* In:The Action, Use and NaturalOccurrence of Microbial Inhibitors in Foods, Molin, N., (Ed.), Almquist and Wiksell, Stockholm, pp. 25–33.