نشریه آموزشی- پژوهشی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور
فصلنامه تحقیقات کاربردی در علوم دامی
شماره ۲۳، تابستان ۱۳۹۶
ص‌ص: ۵۳~۶۲

ارزیابی پتانسیل ضدمیکروبی فرآورده‌های تخمیری- پروبیوتیکی تهیه شده از شیر شتر علیه باکتری *باسیلوس سرئوس*

- **ع. نیکورز**
فارغ التحصیل دکتری عمومی دامپزشکی،دانشگاه شهید باهنر کرمان
- **ه. ابراهیم‌نژاد**
گروه بهداشت مواد غذایی ،دانشکده دامپزشکی،دانشگاه شهید باهنر کرمان
- **لادن منصوری‌نژند** (نویسنده مسئول)
گروه بهداشت مواد غذایی ،دانشکده دامپزشکی،دانشگاه شهید باهنر کرمان
- **ن.ا. فاطمی**
دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی ،دانشگاه شهید باهنر کرمان
- **ز. کمالی‌پور**
دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی ،دانشگاه شهید باهنر کرمان

Email: Mansouri39@yahoo.com

چکیده:

مهار پاتوژن‌های انسانی از طریق مواد غذایی اهمیت به‌سزایی دارد. شیر شتر یکی از مهارکننده‌ها است. امروزه فرآورده‌های متعددی مانند فرآورده‌های تخمیری-پروبیوتیکی از شیر شتر تولید می‌شوند. پروبیوتیک‌ها ضمن مهار میکروارگانیسم‌های مضر، در پیشگیری و درمان انواع عفونت‌ها نقش دارند. بنابراین، در این مطالعه تولید محصولات از استارتر هانسن (ABT-10) به نسبت ۰/۵ درصد استفاده شد. بدین منظور با استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک، فرآورده تخمیری-پروبیوتیکی از شیر شتر تولید شد. خاصیت ضدمیکروبی محصولات تخمیری پروبیوتیکی حرارت ندیده و حرارت دیده و شیر پاستوریزه علیه باکتری *باسیلوس سرئوس* مقایسه شد. جهت تعین تاثیر ضدمیکروبی نمونه‌ها از دو آزمون ارزیابی هاله مهاری رشد و حداقل غلظت مهاری رشد استفاده شد. تعداد باکتری‌های پروبیوتیک طی روزهای ششم و دهم نسبت به روز نخست به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. اما در هیچ روزی کمتر از 10^6 نبوده است. اثر ضدمیکروبی نمونه‌های حرارت دیده و حرارت ندیده در آزمون ارزیابی حداقل غلظت مهاری رشد علیه باکتری *باسیلوس سرئوس* مشاهده شد. در آزمون ارزیابی هاله مهاری رشد هر دو نمونه علیه باکتری *باسیلوس سرئوس* اثر ضدمیکروبی داشتند. علاوه بر آن در تمامی نتایج، اثر ضدمیکروبی محصول حرارت ندیده نسبت به محصول حرارت دیده بیش‌تر بوده است.

واژه‌های کلیدی: آزیترومایسین، بایل اسکولین مودیفایدآگار، بیفیدوباکتریوم، پروبیوتیک ABT-10 ، تستMIC ، سفیکسیم، محیط کشت ام آر اس آگار.

Applied Animal Science Research Journal No 23 pp: 53-62

Evaluation of the Antibacterial Potential of the Probiotic-Fermented Camel's Milk Against *Bacillus Cereus*

By*:* Nik varz, A. Ebrahim nejad, H. Mansouri nejand*, L. Fatemi, N.A. Kamali pour, Z.

Inhibition of human pathogens via food products has been an important issue in some areas and camel milk was one of them. Nowadays several products such as probiotic fermented ones are produced from the camel milk. The probiotics have prophylactic and therapeutic effects against many infections. Therefore, we produced a probiotic-fermented product (PFP) from the camel milk using a 0.5% concentration of Hansen starter (ABT-10). The effects of the non-heated PFP (N sample), heated PFP (H sample) and pasteurized milk (P sample) against *Bacillus cereus* have been compared. Zone of inhibition and minimum inhibitory concentration (MIC) tests were used for evaluating the antibacterial effects of the products. The number of the probiotic bacteria on days 6 and 10 was significantly lower than that of day 1. Moreover, the number of the bacteria was not less than 10^6 CFU/ml in each day. Results of the MIC tests showed that both the N and H samples had antimicrobial effects against *Bacillus cereus.* Based on the results of the zone of inhibition test non-heated and heated PFP samples had antibacterial effects against *Bacillus cereus.* Besides, all results of this study showed that the non-heated product had been more antimicrobial effects in comparison to the heated product.

Key words: ABT-10 probiotic, Azithromycin, *Bifidobacterium*, Bile Esculin Modified Agar, Cefixim, MIC test, MRS Agar

مقدمه

شیر شتر بخشی از نیازهای تغذیه‌ای روزانه انسان در مناطق بیابانی را تامین می‌کند. شیر شتر طبیعی به رنگ سفید و کف‌آلود است (El-Agamy, 1983). مزه این شیر بسته به تغذیه شتر دارد، در صورتی که از درختچه‌ها و گیاهان خاص مناطق خشک تغذیه کرده باشد شورمزه و اگر از علوفه سبز تغذیه کرده باشد دارای مزه شیرین است (El- Agamy, 1994; El-Agamy, 1983; Indra and Erdenebaatar, 1998).

شیر دارای عناصر غذایی محافظ ایمونولوژیکی و فعال زیستی برای نوزادان و بالغین است (Reynolds and Del Rio, 1984). هم‌چنین حاوی پروتئین‌های محافظتی شامل ترکیبات آنتی‌بادی و غیرآنتی‌بادی مثل لیزوزیم، لاکتوفرین[1] و لکوسیت‌ها[2] است (El-Agamy, 2009). شیر شتر برای تقویت عضله قلب کودکان و جلوگیری از ابتلا به بسیاری از انواع سرطان‌ها مفید است. استفاده از شیر شتر به منظور درمان زخم معده، زخم دوازدهه، آب‌آوردگی مفاصل، بیماری‌های طحال، یرقان، سل، ترمیم زخم‌ها، تنگی نفس توصیه می‌شود (شکری، ۱۳۷۶). هر لیتر شیر شتر ۶۶۵ کیلوکالری انرژی دارد. مقدار اسیدآمینه‌های ضروری پروتئین‌های شیر شتر در حد نیاز یا بالاتر از نیاز انسان است، در نتیجه این شیر دارای ارزش غذایی کافی در رژیم‌های انسانی است (Sawaya, *et al.*, 1984).

ایمنوگلوبولین‌ها[3] به‌عنوان آنتی‌بادی‌ها شناخته شده‌اند که در سرم خون یا مایعات بدن حیوان یا انسان در پاسخ به آنتی‌ژن‌های خاص، ویروس، باکتری و ... تولید می‌شوند. ایمنوگلوبولین‌ها در پنج دسته A، G، M، E و D طبقه‌بندی می‌شوند غلظت

[1] Lactoferrin
[2] Leukocyte
[3] Immune Globulin

ایمنوگلوبولین‌ها در شیر بسته به گونه دام، مرحله‌ی شیردوشی و وضعیت سلامت حیوان متفاوت است (El Agamy, 1994). شیر شتر حاوی بالاترین سطح ایمنوگلوبولین G نسبت به شیر گاو، بوفالو، بز و انسان است (Agamy, 1994). همین‌طور بالاترین سطح لاکتوفرین در شیر شتر و پایین‌ترین میزان آن مربوط به شیر میمون است (گودرزی و کسری‌کرمانشاهی، ۱۳۹۳-Abd El Gawad , *et al.*, 1996; Zhang, *et al.*, 2005; ولی غلظت لیزوزیم در شیر شتر پایین‌تر از شیر انسان، میمون و مادیان مشخص شده است (Indra and Erdenebaatar, 1998). بنابراین حفظ این ویژگی‌ها تحت‌تاثیر نحوه‌ی نگه‌داری از شیر قرار دارد. محصولات تخمیری ضمن محافظت تغذیه‌ای و ایمنی شیر هضم آن را راحت‌تر می‌کنند و تبدیل آن به محصولات پروبیوتیکی سبب افزایش این خواص در شیر خواهد شد.

انسان از روزهای آغازین تمدن، به خاصیت محصولات تخمیری حاصل از شیر پی برده بود. در شیر تخمیری کربوهیدرات‌ها با استفاده از باکتری‌ها تجزیه شده و تولید اسید لاکتیک و ترکیبات دیگر می‌کنند که از لحاظ تغذیه‌ای و پیشرفت سلامت نسبت به شیر تازه قابل توجه می‌باشند (Kumar, *et al.*, 2016).

واژه "پروبیوتیک[4] " از زبان یونانی و به‌معنای حیات‌بخش آمده است (Handan, 1999; Ziemer and Gibson, 1998). در قرن حاضر معنی پروبیوتیک‌ها گسترده شده و تحت‌عنوان میکروارگانیسم‌های زنده از جمله باکتری‌های لاکتیک یا سایر باکتری‌ها و مخمرها به‌صورت سلول‌های خشک در محصولات تخمیری، استفاده می‌شوند(Saxelin, *et al.*,1999).

میکروارگانیسم‌هایی که امروزه به‌عنوان پروبیوتیک استفاده می‌شوند، در دسته باکتری‌های اسیدلاکتیک و در برخی موارد، مخمرها جای می‌گیرند (Sawaya, *et al.*,1984). از بین میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک تیره‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[5] و *لاکتوباسیلوس کازئی* در به‌کارگیری کشت آزمایشگاهی پروبیوتیک طولانی‌ترین تاریخچه را دارند (بی‌نام. ۱۳۸۷). باکتری‌های لاکتیک و بیفیدوباکتریاها[6] متداول‌ترین پروبیوتیک‌هایی هستند که در فرآورده‌های لبنی مورد استفاده قرار می‌گیرند (محمودی و احسانی، ۱۳۸۹). لاکتوباسیل‌ها باکتری‌های گرم مثبت و طویلی هستند، به‌طوری که طول آن‌ها به ۱۰ میکرون می‌رسد. باکتری‌های این جنس بدون اسپور، عمدتاً غیرمتحرک، اما پرنیاز هستند. پلی‌مرف و بی‌هوازی اختیاری هستند، برخی گونه‌ها بی‌هوازی اجباری‌اند و دارای متابولیسم تخمیری می‌باشند که از طریق تخمیر قندها تولید انرژی می‌کنند و حداقل نیمی از فرآورده‌های آن اسیدلاکتیک است (فردوسی‌فرد و همکاران، ۱۳۹۰). باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* جزی لاکتوباسیلوس‌ها است. بیشتر گونه‌های این باکتری توانایی تخمیر فروکتوز، گلوکز، گالاکتوز، مالتوز و رامنوز را دارند (Sawaya, *et al.*,1984).

باسیلوس سرئوس[7] *باسیلی* گرم مثبت، هوازی - بی‌هوازی اختیاری و متعلق به خانواده *باسیلاسه*[8] که تولید هاگ می‌نماید. این باکتری سومین عامل بیماری‌های غذازاد است و قادر به تولید مواد خارج سلولی مانند لسیتیناز[9] C و همولیزین[10] بوده که در شناسایی آن مفید می‌باشند. این باکتری مولد انتروتوکسین‌های[11] مولد اسهال و تهوع بوده و قادر به ایجاد سندرم اسهال و سندرم تهوع می‌باشد (رحیمی‌فرد و همکاران، ۱۳۸۶؛Saxelin, *et al.*, 1999).

دو نوع انتروتوکسین مترشحه از *باسیلوس سرئوس* جدا شده است. یکی از این دو انتروتوکسین نسبت به حرارت مقاوم بوده و دمای ۱۲۶ درجه سلسیوس را بیش از ۹۰ دقیقه تحمل می‌نماید. نوع دیگر انتروتوکسین نسبت به حرارت حساس بوده و پس از یک دوره کمون به مدت ۸ تا ۱۶ ساعت موجب اسهال آبکی در مصرف‌کنندگان می‌گردد. عوارض هر دو نوع مسمومیت نامبرده معمولا پس از حدود ۱۲ ساعت از بین می‌رود و ضمناً احتمال مسمومیت توسط هر دو نوع انتروتوکسین به صورت توأم وجود دارد. *باسیلوس سرئوس* در موادغذایی مانند گوشت، شیر، تخم‌مرغ و ادویه‌هایی که آلوده به گرد و غبار و خاک شده‌اند، دیده میشود. در بین موادغذایی احتمال آلودگی در برنج بیشتر است و

[4] Probotic
[5] *lactobacillus acidophilus*
[6] Bifidobacteria
[7] Bacillus cereus
[8] Bacilaceae
[9] lecithinase
[10] Hemolysin
[11] Enterotoxin

پس از آن انواع سس‌ها، کالباس‌های پخته، سیب‌زمینی و سبزی-های پخته در معرض آلودگی قرار دارند (رکنی، ۱۳۷۵).

بیفیدوباکتریوم[12] باکتری‌های گرم مثبت، بدون اسپور، بی‌هوازی و با اشکال میله‌ای غیرمنظم است. اثرات بالقوه آن‌ها در اکوسیستم انسانی شناخته شده است (خمیری و همکاران، ۱۳۸۴; Cheikhyoussef, *et al.*, 2008).

مواد و روش‌ها

در مهرماه ۱۳۹۴، از گله‌ای در بخش چترود در نزدیکی کرمان، نمونه شیر از شتر نژاد بندری دریافت شد و بلافاصله پس از دوشش درون یخدان دارای یخ خشک قرار داده شد و در حداقل زمان ممکن به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان انتقال یافت. برای تهیه محصول، شیر به‌مدت ۱۵ دقیقه درون بن‌ماری ۹۵ درجه‌ی سلسیوس قرار داده شد، پس از سرد شدن نمونه تا دمای ۴۳ درجه سلسیوس، برای کشت آغازگر پروبیوتیک ABT-10 که حاوی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La 5 و *بیفیدوباکتریوم* BB-12 است، به نسبت ۰/۵ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر شیر به آن افزوده شد و به‌مدت ۵ ساعت در دمای ۴۳ درجه گرمخانه‌گذاری شد. سپس محصول به مدت ۱۸-۱۲ ساعت درون یخچال قرار داده شد. مقداری از محصول جدا شد و برای تهیه محصول حرارت دیده به مدت ۲ دقیقه درون بن ماری ۸۵ درجه‌ی سلسیوس قرار داده شد. آزمایش‌های ضدمیکروبی بر روی محصول حرارت ندیده، حرارت دیده و شیر پاستوریزه شده شتر (۶۳ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ دقیقه) در روزهای نخست، ششم و دهم پس از تولید محصول انجام گرفت.

کشت نگه‌داری شده باکتری *باسیلوس سرئوس* در ۲۰- درجه سلسیوس به محیط آبگوشت[13] BHI[14] منتقل شد و ۱۸-۱۶ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. سپس در محیط کشت BHI آگار کشت خطی داده شد و جهت استفاده در طول آزمایش در یخچال ۴ درجه سلسیوس نگه‌داری شد. برای تهیه دوز تلقیح باکتری‌ها از روش سنجش جذب نوری با استفاده از اسپکتروفتومتر[15] استفاده شد. باکتری از کشتBHI آگار تهیه شده به آبگوشت BHI منتقل و به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. از باکتری گرمخانه‌گذاری شده برای تهیه سوسپانسیون با جذب نوری ۰/۱ استفاده شد. ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر تنظیم شده و توسط لوله شاهد حاوی آبگوشت BHI استریل جذب نوری را صفر نموده و سپس مقدار مناسبی از کشت باکتریایی را به کووت حاوی ۱ میلی‌لیتر محیط آبگوشت BHI استریل اضافه کرده و جذب نوری را قرائت کردیم. از طریق افزودن باکتری این کار را تا حدی ادامه یافت تا به جذب نوری ۰/۱ برسیم. برای تست آنتی‌بیوگرام[16] از میزان کدر بودن نمونه در نیم‌مک‌فارلند[17] استفاده شد. سوسپانسیون نیم‌مک‌فارلند تقریباً معال۱×۱۰^{۸} تا ۲ واحد تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر(CFU\ml[18])است.

برای بررسی فعالیت ضدباکتریایی رقت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ از محصول حرارت ندیده، حرارت دیده و شیر تازه توسط آب مقطر استریل تهیه شدند. از سوسپانسیون نیم‌مک‌فارلند باکتری *باسیلوس سرئوس* با سوآپ استریل بر روی محیط کشت مولرهینتون‌آگار[19] به‌طور یکنواخت کشت داده شد. سپس، چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر در محیط حفر کرده و به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت در هر چاهک ریخته شد. پس از جذب شدن چاهک‌ها (به‌مدت یک ساعت)، پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند و پس از ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد باکولیس با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. هرآزمون شامل سه تکرار بود.

---

[12] Bifidobacterium

[13] محیط کشت مایع یا آب‌گوشتی (liquid or broth media)

[14] محیط کشت براین‌هارت‌اینفوشن‌براث Brain Heart Infusion Broth (BHI Broth)

[15] Spectrophotometr

[16] Antibiogram

[17] محیط نیم **مک فارلند** محیطی در تست آنتی‌بیوگرام است که میزان کدر بودن نمونه با آن مقایسه می‌شود. این محیط حاوی $۱/۵*۱۰^{۸}$باکتری است.

[18] Colony forming units (CFU) اشاره به کلنی مربوط به توده‌ای از سلول‌های انفرادی مربوط به یک نوع باکتری، قارچ یا مخمر است که با هم رشد می‌کنند.

[19] Muller-Hinton *Agar*

برای تست MIC [20] رقت‌های دو دهی مختلف محصول حرارت ندیده، حرارت دیده و شیر(گرم بر میلی لیتر) ضمن مخلوط کردن فرآورده با محیط کشت (مولرهینتون‌آگار) تهیه شدند. قابل ذکر است که غلظت نهایی آگار در همه‌ی پلیت‌ها به میزان ۱۷ گرم/لیتر با افزودن آگار تنظیم شد. دمای محیط کشت هنگام افزودن به محصول حدود ۴۰ درجه سلسیوس بود. پس از سرد شدن پلیت‌ها مقدار ۱ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری *باسیلوس سرئوس* (نیم مک فارلند) توسط نمونه‌بردار به‌صورت نقطه‌ای تلقیح شد. سپس پلیت‌ها در انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. (حداقل غلظت‌هایی از هر گروه که بیشتر یا مساوی ۹۹/۹ درصد سبب مهار رشد باکتری شود تحت عنوان MIC نامیده می‌شود).

برای شمارش *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* رقت‌های متوالی از محصول تهیه شد (10^{-1}تا 10^{-8}) و در محیط کشت MRS[21]- بایل[22] (به مقدار ۰/۱۵ درصد (W/V) به‌صورت کشت آمیخته دو لایه کشت داده شدند و در شرایط هوازی در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس به‌مدت ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند.

برای کشت بیفیدوباکتریوم از محیط کشتMRS آگار حاوی افزودنی‌های محلول آبگوشت سیستئین هیدروکلورید(۵ میلی‌لیتر بر لیتر کشت) و محلول آبگوشت میوپیروسین[23](۲/۵ میلی‌لیتر بر لیتر) استفاده شد و به‌صورت کشت آمیخته دو لایه کشت داده شد و پلیت‌ها در شرایط بی‌هوازی داخل جار حاوی گاز-پک در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس به‌مدت ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند.

در این آزمایش از آنتی‌بیوتیک سفیکسیم[24] و آزیترومایسین[25] (به‌ترتیب ۵ و ۱۵ میکروگرم در هر چاهک) به‌عنوان کنترل مثبت علیه باکتری‌های پاتوژن استفاده شد .

نتایج

محصولات تخمیری – پروبیوتیکی حرارت دیده، حرارت ندیده و اسیدلاکتیک در هر دو آزمون ارزیابی هاله مهاری رشد و ارزیابی حداقل غلظت بازدارندگی رشد علیه باکتری *باسیلوس سرئوس* اثر ضدمیکروبی از خود نشان دادند. حداقل غلظت مهاری محصولات تخمیری – پروبیوتیکی حرارت ندیده و حرارت دیده و اسیدلاکتیک علیه باکتری *باسیلوس سرئوس* به‌ترتیب ۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۰۵ (میلی‌گرم/میلی‌لیتر) بود، این میزان اسیدلاکتیک معادل اسیدلاکتیک موجود در رقت ۰/۲۵ گرم در میلی‌لیتر محصول تخمیری–پروبیوتیکی حرارت ندیده می‌باشد. شیر شتر پاستوریزه در غلیظ‌ترین حالت مورد بررسی اثر مهاری از خود نشان نداد (جدول و نمودار ۱).

چنان‌چه جدول و نمودار ۲ نشان می‌دهد، تعداد کلنی‌های مربوط به باکتری *بیفیدوباکتریوم انیمالیس*[26] در فرآورده تخمیری – پروبیوتیکی حاصل از شیر شتر در روزهای شش و ده نسبت به روز یک به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/05$). تعداد باکتری-های *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* در هیچ روزی کمتر از 10^6 نبود.

تعداد کلنی‌های مربوط به باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در فرآورده تخمیری – پروبیوتیکی حاصل از شیر شتر در روزهای ششم و دهم نسبت به روز یک به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند ($P<0/05$)، با این حال تعداد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در هیچ روزی کمتر از 10^6 نبوده است (جدول و نمودار ۳).

---

[20] منظور از Minimum Inihibitory Concentration (MIC)، غلظتی از یک آنتی‌بیوتیک است که می‌تواند رشد باکتری را در شرایط آزمایشگاهی مهار کند.

[21] محیط کشت ام آر اس آگار MRS Agar یا Lactobacilli MRS Agar این محیط کشت برای کشت lactobacilli مصرف می‌شود.

[22] محیط کشت بایل اسکولین مودیفاید آگار Bile Esculin Modified Agar، این نوع محیط کشت جامد برای شناسایی Probiotic Streptococci در نمونه مواد غذایی استفاده می‌شود.

[23] Mupirocin

[24] Cefixim

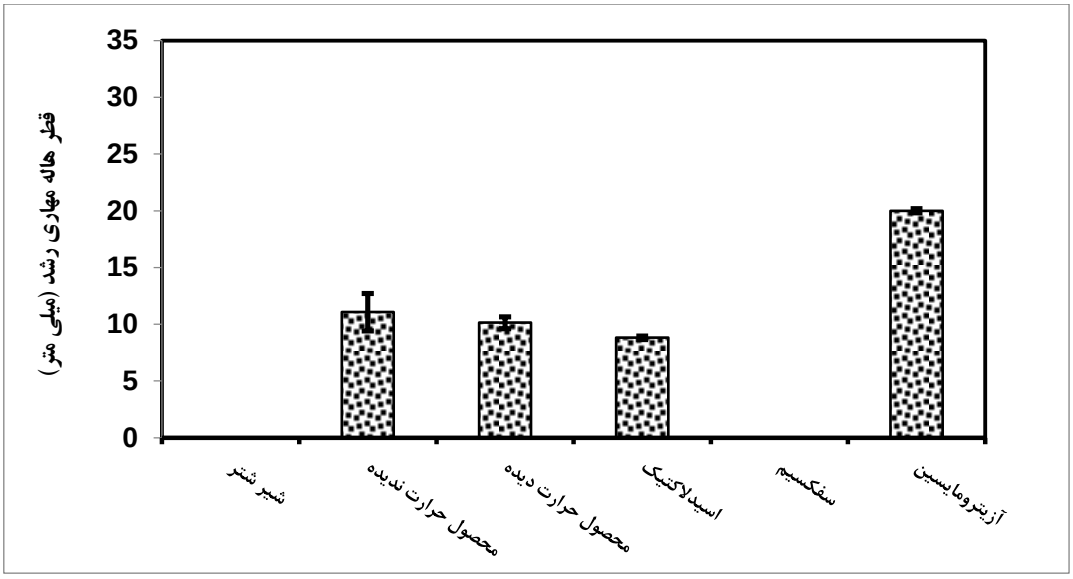
[25] *Azithromycin*

[26] LactisBifidobacteriu animalis Subsp

جدول۱ : حداقل غلظت مهاری محصولات تخمیری – پروبیوتیکی حرارت ندیده و حرارت دیده و اسیدلاکتیک علیه باکتری *باسیلوس سرئوس* (میلی گرم/میلی لیتر)

شیر	محصول حرارت ندیده	محصول حرارت دیده	اسیدلاکتیک	سفیکسیم	آزیترومایسین
۰/۵<	۰/۱۲۵ [a]	۰/۲۵ [b]	۰/۰۵[c]	۴۸<	۰/۷۵

*:حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

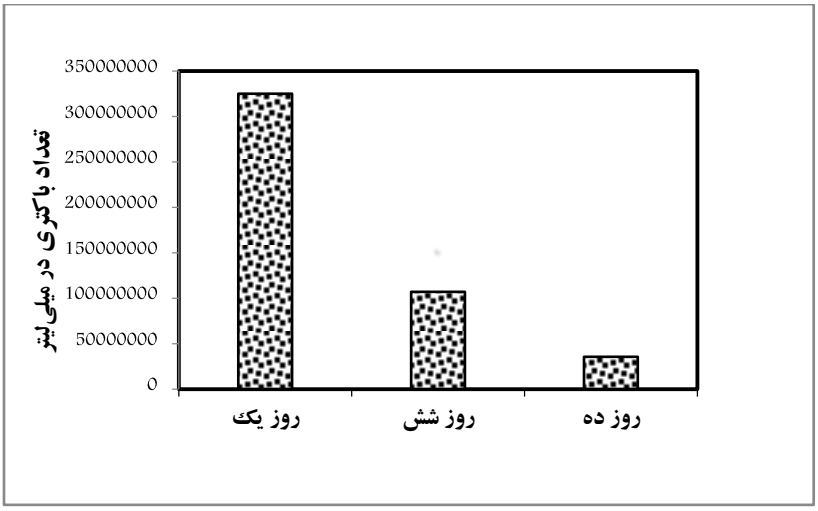


نمودار۱: قطر هاله مهاری (میلی‌متر) ایجاد شده (میانگین ± انحراف معیار) توسط شیر پاستوریزه، محصول حرارت ندیده، محصول حرارت دیده، اسیدلاکتیک و کنترل مثبت‌های آزیترومایسین و سفیکسیم علیه باکتری *باسیلوس سرئوس* (PTCC 1015) بر اساس روش انتشار از چاهک در آگار

جدول۲- میانگین تعداد کلنی‌های باکتری *بیفیدوباکتریوم* در هر میلی‌لیتر فرآورده تخمیری – پروبیوتیکی در روزهای مختلف (میانگین لگاریتم ± خطای استاندارد)

تیمارها	میانگین تعداد کلنی‌ها
فرآورده تخمیری- پروبیوتیکی روز یک	$۳/۲ \times ۱۰^{۸} \pm ۵/۳۱^{a}$
فرآورده تخمیری- پروبیوتیکی روز شش	$۱/۱ \times ۱۰^{۸} \pm ۶/۹۶^{b}$
فرآورده تخمیری- پروبیوتیکی روز ده	$۳/۵ \times ۱۰^{۷} \pm ۱/۰۵^{c}$

*:حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

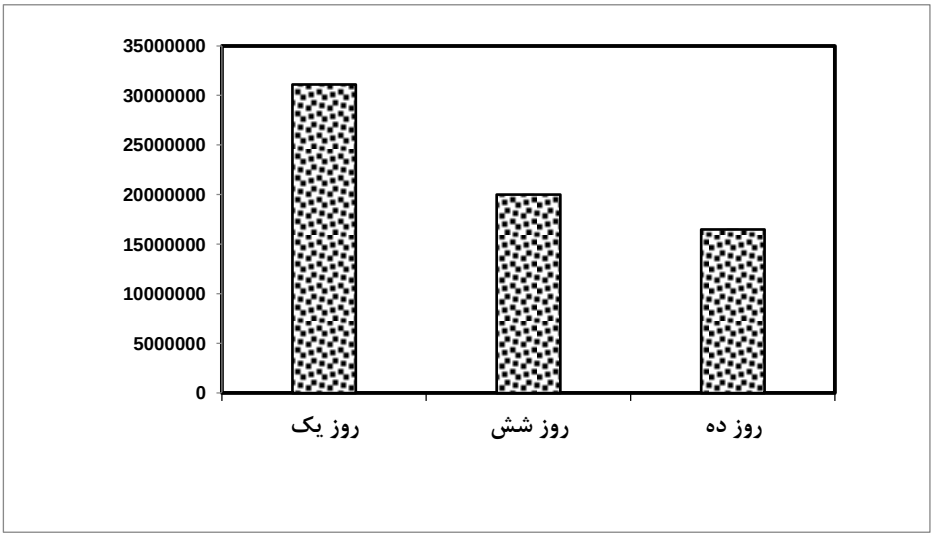


نمودار۲: میانگین تعدادکلنی‌های باکتری *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* رشد کرده درهرمیلی‌لیتر فرآورده تخمیری- پروبیوتیکی در روزهای مختلف

جدول۳- میانگین تعداد کلنی‌های باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در هر میلی‌لیتر فرآورده تخمیری- پروبیوتیکی روزهای مختلف (میانگین لگاریتم ± خطای استاندارد)

تیمار	میانگین تعداد کلنی ها
فرآورده تخمیری- پروبیوتیکی روز یک	$۳/۱ \times ۱۰^{۷} \pm ۶/۷۷^{a}$
فرآورده تخمیری- پروبیوتیکی روز شش	$۲/۰ \times ۱۰^{۷} \pm ۶/۹۳^{b}$
فرآورده تخمیری- پروبیوتیکی روز ده	$۱/۶ \times ۱۰^{۷} \pm ۶/۹۰^{c}$

*:حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند



نمودار۳- میانگین تعدادکلنی‌های باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* رشد کرده درهرمیلی‌لیتر فرآورده تخمیری - پروبیوتیکی روزهای مختلف

بحث و نتیجه‌گیری

اثرات ضدمیکروبی محصولات تخمیری - پروبیوتیکی حاوی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و بیفیدوباکتریوم انیمالیس BB12، علیه باکتری *باسیلوس سرئوس* در هر دو آزمون ارزیابی حداقل غلظت مهاری رشد و ارزیابی هاله مهاری رشد، مشاهده شد که می‌تواند دلیلی قوی بر مثبت بودن اثر محصولات حرارت ندیده و حرارت دیده شیر شتر علیه باکتری *باسیلوس سرئوس* باشد. در مطالعه کاظمی درسنکی و همکاران (۱۳۸۹) اثر مهارکنندگی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* علیه باکتری‌های مختلف مشاهده شده است، که بیشترین اثر ضدمیکروبی چه در روش چاهک و چه در روش دیسک علیه باکتری *باسیلوس سرئوس* بوده است (کاظمی‌درسنکی، قائمی و میرپور، ۱۳۸۹). در مطالعه تارماراج و شاه(۲۰۰۹)، اثر ضدمیکروبی پروبیوتیک‌های مختلف از جمله *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* BB-12 علیه پاتوژن‌های مختلف بررسی شد و اثر مهاری این‌دو نوع باکتری علیه باکتری *باسیلوس سرئوس* مشاهده شده است (Tharmaraj and Shah, 2009). در مطالعه پی‌تا و همکاران (۲۰۱۲) نیز، اثر مهاری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* LA-5 علیه *باکتری باسیلوس سرئوس* به روش agar spot diffusion مشاهده شده است (Posati and Orr, 1976; Chaikham, *et al.*, 2013)

منابع

فردوسی‌فرد، م. فاضلی، م. ر. صمدی، ن. جمالی‌فر، ح. (۱۳۹۰). پایداری شیر پروبیوتیک تخمیری و غیرتخمیری تهیه شده با استفاده از سه گونه بومی *لاکتوباسیلوس*. علوم غذایی و تغذیه، ۲۰-۱۳.

کاظمی‌درسنکی، ر. قائمی، ن. میرپور، م. س. (۱۳۸۹). بررسی فعالیت ضدمیکروبی باکتری های اسید لاکتیک جدا شده از محصولات پروبیوتیکی (*لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم*). نشریه زیست فناوری میکروبی،۲(۷): ۳۶-۲۹.

گودرزی، ل. کسری‌کرمانشاهی، ر. (۱۳۹۳). بررسی فعالیت ضدمیکروبی متابولیت‌های سویه های پروبیوتیکی *لاکتوباسیلوس* بر سویه هایی از *پروتئوس*. مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، ۱۹(۳):۱۶۰-۱۵۲.

محمودی، ر. احسانی، ع. (۱۳۸۹). ارزیابی بقاء لیستریامنوسیتوژنز طی فرآیند تولید، رسیدن و نگه‌داری پنیر سفید پروبیوتیک‌دار ایرانی. مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران، ۴ (۳):۷۰-۶۴.

بی‌نام. (۱۳۸۷). حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولیدکننده فرآورده‌های شیری پروبیوتیک. اداره کل نظارت بر مواد غذایی آشامیدنی آرایشی بهداشتی، وزارت بهداشت و درمان آموزش پزشکی، معاونت غذا و دارو، (۰۰۴۲).

خمیری، م. قدوسی، ح ب. مرتضوی، س. ع. خامسان، ع و احمد، د. (۱۳۸۴). جداسازی، شناسایی و بررسی چگونگی توزیع نژادهای بیفیدوباکتریوم در برخی از افراد ایرانی.مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۲ (۳): ۳۴-۳۳.

رحیمی‌فرد، ن. فتح‌اله‌زاده، ب. پیرعلی‌همدانی، م. نوری، ز. سعادتی، ش. زوار، م. پیروز، ب. اصغری، ش. خضری‌پور، م. صابری، س. (۱۳۸۶). باسیلوس سرئوس در شیر خشک نوزادان، یک مطالعه در اداره کل آزمایشگاه‌های کنترل غذا و داروی وزارت بهداشت. مجله دانشکده پزشکی، ۶۵ (۸): ۶۸-۶۴.

رکنی، ن. (۱۳۷۵). اصول بهداشت موادغذایی. انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، شماره دوم، ۲۹-۲۸.

شکری، م. م. (۱۳۷۶). شتر و پرورش آن. انتشارات نوربخش، تهران، ۱۰-۱۹.

Abd El-Gawad, I., El-Sayed, E. Mahfouz, M and Abd El-Salam, A. (1996). Changes of lactoferrin concentration in colostrum and milk from different species. Egyptian Journal of Dairy Science,24: 297-308.

Al–Ani, F. (2004). Camel Management and diseases. 1st edition. Al-Sharq Printing Press, 341- 342.

Chaikham, P., Apichartsrangkoon, A. Worametrachanon, S. Supraditareporn, W. Chokiatirote, E. Van der Wiele, T. (2013). Activities of free and encapsulated *Lactobacillus acidophilus* LA5 or *Lactobacillus casei* 01 in processed longan juices on exposure to simulated gastrointestinal tract. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(9): 2229-38.

Chandan, R. (1999). Enhancing market value of milk by adding cultures. Journal of dairy science, 82(10): 2245-56.

Cheikhyoussef, A., Pogori, N. Chen, W. Zhang, H. (2008). Antimicrobial proteinaceous compounds obtained from bifidobacteria: from production to their application. International Journal of Food Microbiology. 125(3):215-22.

El -Agamy, E. I. (1994). Camel colostrum. 1. Physico-chemical and microbiological study. Alexandria Science Exchange,15: 209.

El -Agamy, E. I.(1994). Camel colostrum. II: Antimicrobial factors. Proceedings of the workshop on camels and dromedaries as dairy animal, Nouakshott, Mauritania.

El-Agamy, E. I. (2009). Bioactive components in camel milk. In: Park YW, ed: Bioactive components in milk and dairy products. 1st ed. Oxford, Wiley-Blackwell,159-195.

El-Agamy, E.I. (1983). Studies on camel's milk. M.Sc. Thesis. Alexandria University, Egypt.

Indra, R., Erdenebaatar, B. (1998). Camel's milk processing and its consumption patterns in Mongolia. Colloques-CIRAD: 257-61.

Kumar, D., Verma, A. K. Chatli, M. K. Singh, R. Kumar, P. Mehta, N. *et al.*, (2016). Camel milk: alternative milk for human consumptionand its health benefits. Nutrition and Food Science, 46(2): 217-27.

Posati, L. P., Orr, M. L. (1976). Composition of foods: dairy and egg products-raw, processed, prepared, Agriculture Handbook-US Dept of Agriculture (USA), 1-8.

Reynolds, E., Del Rio, A. (1984). Effect of casein and whey-protein solutions on caries experience and feeding patterns of the rat. Archives of Oral Biology, 29(11): 927-33.

Sawaya, W., Khalil, J. AL-Shalhat, A. Al-Mohammad, H. (1984). Chemical composition and nutritional quality of camel milk. Journal of Food Science; 49(3): 744-7.

Saxelin, M., Grenov, B. Svensson, U. Fonden, R. Reniero, R. Mattila-Sandholm, T. (1999). The technology of probiotics. Trends in Food Science and Technology. 10(12): 387-92.

Shortt, C., (1999). The probiotic century: historicaland current perspectives. Trends in Food Science and Technology, 10(12): 411-7.

Tharmaraj, N., Shah, N. P. (2009). Antimicrobial effects of probiotics against selected pathogenic and spoilage bacteria in cheese-based dips. International Food Resarch Journal,16(3): 261-76.

Zhang, H., Yao, J. Zhao, D. Liu, H. Li, J. Guo, M. (2005). Changes in chemical composition of Alxa Bactrian camel milk during lactation. Journal of Dairy Science, 88(10): 3402-10.

Ziemer, C. J., Gibson, G. R. (1998). An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. International Dairy Journal, 8(5): 473-9.