مجله پژوهش های معاصر در علوم و تحقیقات
سال اول، شماره ۳، مهر ۱۳۹۸
ISSN: ۲۶۷۶-۵۷۶٤
www.jocrisar.ir

بررسی آلودگی لیستریا مونوسیتوژنز و لیستریا اینوکوآ در کره های تولیدی شهر نیشابور با رویکردی متفاوت

سبیکه جوینی پور [۱]

[۱] دانشجوی دکترای صنایع غذایی ،دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور ،نیشابور ،ایران

چکیده

زمینه :کره یکی از قدیمی ترین محصولات لبنی است که در تغذیه انسان نقش مهمی دارد فساد کره بر اثر میکرو اورگانیسم هایی است که قادر به رشد در حرارت های پایین هستند یکی از مهمترین آلودگی ها در کره آلودگی لیستریایی خصوصا لیستریا مونوسیتوژنز است که باعث ایجاد بیماریهای نادر و شدید مانند لیستیوزیس می گردد. روش بررسی :در این مطالعه ۳۰ نمونه کره از ۵ کارخانه تولیدی در شهر نیشابور بطور تصادفی از سطح بازار نمونه برداری و آنالیزهای میکروبی و شیمیایی بر روی آنها انجام گرفت همچنین از مدل سازی ریاضی جهت اثبات مهمترین آلودگی لیستریایی در کره های فوق استفاده گردید. یافته ها :نتایج مدل ریاضی دندروگرام نشان داد که مهمترین آلودگی در بین کره های تولید شده در این شهر آلودگی لیستریا اینوکوآ میباشد .نتایج آزمون آماری برخی شاخص های شیمیایی کره ، اختلاف معنی داری را بین میزان آلودگی لیستریایی و کره نشان نداد .همچنین مقایسه میانگین ها نشان داد که آلودگی مخمر میتواند بر آلودگی لیستریایی موثر باشد اما آلودگی کلی فرم موثربر الودگی لیستریایی نیست. نتیجه گیری :آلودگی لیستریا اینوکوآ مهمترین آلودگی در بین کره های تولید شده در شهر نیشابور است که تهدیدی برای سلامت و ایمنی مصرف کننده بشمار نمی آید با رعایت موازین بهداشتی میتوان بطور چشمگیری باعث کاهش آلودگی های میکروبی گردید.

واژه‌های کلیدی: کره، آلودگی، لیستریا مونوسیتوژنز، لیستریا اینوکوآ، مدل ریاضی، مخمر، نیشابور

مقدمه

شیر و فرآورده های لبنی یکی از مهمترین گروه مواد غذایی مصرفی روزانه هر فرد محسوب می شوند .کره یکی از قدیمی ترین محصول لبنی شناخته شده در دنیاست و نقش مهمی در تغذیه بشر دارد (ارلی ،۲۰۰۴)کره از زدن خامه بدست می آید تولید صنعتی این فرآورده مبتنی بر ۴ مرحله اساسی ،تغلیظ فاز چربی شیر ،کریستالیزاسیون شیر ،ناپایدار کردن امولسیون روغن در آب و تشکیل امولیسیون آب در روغن می باشد (فرهنودی، ۱۹۹۸).در طی مراحل کره سازی در ابتدا خامه به منظور سالم سازی پاستوریزه شده سپس برای کریستالیزه شدن گلبولهای چربی ،در سرما قرار می گیرد در صورتیکه هدف تهیه کره کشت داده شده باشد ،میتوان به خامه مقداری مایه کشت لاکتیکی افزود تا خامه ترش حاصل شود در مرحله بعد هم زدن شدید برای شکسته شدن گلبول های چربی شیر و پیوستن آنها به یکدیگر و در نهایت ظهور دانه های کره است که به مرحله چرن[1] موسوم است. پس از ظاهر شدن دانه های کره ،دوغ کره را تخلیه نموده و کره را شستشو میدهند سپس به منظور ایجاد پیوستگی بین فاز چربی و آب و تنظیم نهایی رطوبت ،کره مالش داده میشود و در نهایت بسته بندی شده ودر دمای سرد نگهداری میگردد (ارلی و همکاران ۱۹۹۸).فساد کره اغلب بر اثر فعالیت میکرو اورگانیسم هایی ایجاد میگردد که قادر به رشد در حرارت های پایین هستند یا پس از ذوب قادر به فعالیت میباشند این میکرو اورگانیسم ها با تولید لیپاز و عمل لیپولیز و پرتأولیز ،باعث طعم بد و تغییر رنگ کره میگردند (رابینسون ۲۰۰۲)لیستریا مونوسیتوژنز و لیستریا اینوکوآدو میکرو اورگانیسمی هستند که میتوانند باعث فساد کره شوند لیستریا مونوسیتوژنز باکتری غیر هاگزا ،غیر شاخه دار ،منظم ،کوتاه و گرم مثبت بوده که قادر به حرکت است و درهمه جا یافت میشود .(موری و همکاران ۲۰۰۵)لیستریا مونوسیتوژنز یک پاتوژن وابسته سلولی است که باعث میشود بیماریهای نادر ،شدید ودر عین حال سخت و طاقت فرسا مانند انواع سپتمی سمی ،سقط جنین و انسفالیت ها برای بشر ایجاد شوند (مک لوجین و همکاران ۲۰۰۹)یکی دیگر از گونه های لیستریا لیستریا اینوکوآاست این باکتری غیر پاتوژن و غیر همولیتیک است (دن باکرکر و همکاران ۲۰۱۰).این باکتری گرم مثبت و میله ای شکل و غیر اسپوردار است و ممکن است بطور منحصر به فردی در زنجیره با باکتری لیستریا منوسیتوژنز زنده بماند (بورگریز و همکاران ۲۰۰۳)لیستریوزیس یک بیماری است که عموما بوسیله خوردن غذاهای آلوده به گونه های لیستریا ایجاد میشود (هایوانگ و همکاران ۲۰۱۵)ویژگی هایی همچون پراکندگی گسترده در محیط ،توانایی رشد در دامنه وسیعی از PH،تحمل شرایط یخچال و غلظت های بالای نمک ،باعث گردیده تا باکتری لیستریا بعنوان یک بیماریزای بسیار خطرناک در صنعت مواد غذایی مطرح باشد (بورگریز و همکاران ۲۰۰۳،محمودی و همکاران ۲۰۰۸)در زمینه ویژگی های میکروبی کره خصوصا آلودگی لیستریایی تحقیقات زیادی در جهان صورت گرفته است بالابیو و ل‌ءون در سال ۱۹۹۸سالمونلا و اشرشیا کلی و لیستریا را در کره بعنوان مخاطرات بهداشتی برای بهداشت عمومی اعلام نمودند .هالیدی و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش نمودند که اشرشیا کلی و لیستریا مونوسیتوژنز میتوانند در کره های نمک دار حاصل از خامه که با PH=٦در حال نگهداری در شرایط با چربی۸۵/و دمای ۲۱ درجه سانتیگراد میتوانند رشد کنند کره تهیه شده از شیر خام میکرو اورگانیسم های اصلی خطرناک مانند لیستریا مونوسیتوژنز ،اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس دارد زیرا این پاتوژن ها در کره یافت شده بودند (سی ورانس و همکاران ۲۰۱۵)همچنین آمارها نشان داد که از ۵۱۹نمونه کره در کشور بلژیک بطور آشکارا دو دهم درصد از نمونه ها لیستریا مونوسیتوژنز داشتند (اسکی کام ۲۰۱۵).از ۴۱۵ نمونه شیر و فرآورده های تولید شده از شیر که بطور تصادفی از دستفروش های خیابانها و سوپر مارکت ها و مغازه های خرده فروشی و فروشگاههای جزیی و کوچک در اطراف شهر تیرو چیروپالی در ایالت تامیر هند

۱- Churning

گرفته شد ،از نقطه نظر الودگی لیستریا مونوسیتوژنز بررسی شد نتایج نشان داد که فراوانی لیستریا مونوسیتوژنز در این کره ها ۲۴درصد بود (شیلاماری و همکاران ۲۰۱۷).هدف از این مطالعه بررسی آلودگی لیستریایی در کره های تولیدی شهر نیشابور با استفاده از مدل ریاضی می باشد همچنین در این مطالعه ارزیابی ویژگی های شیمیایی بر آلودگی لیستریایی و ارتباط آلودگی هایی مانند کلی فرم و مخمر بر این آلودگی بررسی می گردد .

مواد و روشها

محیط کشتهای مورد استفاده در این تحقیق، محیط کشت کروموژنیک از شرکت کروم اگار فرانسه و مرک آلمان است مواد مورد نیاز جهت آزمونهای شیمیایی از شرکت مرک آلمان تهیه و طبق استاندارد ملی ایران آزمونها انجام گرفت .

نمونه برداری

نمونه برداری و آزمونها در زمستان ۱۳۹۶ انجام گرفت .نمونه ها بطور کاملا تصادفی از سطح توزیع از ۵ کارخانه تولید کره ،واز هر کارخانه ۶ نمونه ،نمونه برداری گردید.در مجموع ۳۰ نمونه کره در شرایط دمایی مناسب و دمای ۴ درجه سانتی گراد به آزمایشگاه جهت آزمونهای مورد نیاز منتقل گردید سپس تا زمان انجام آزمون در فریزر نگهداری گردید .

جدول شماره ۱- کد بندی نمونه های کره

کد	نام فرآورده
۱	کره پاستوریزه جلگه
۲	کره پاستوریزه صبرا
۳	کره پاستوریزه بله
۴	کره پاستوریزه بینالود
۵	کره پاستوریزه نوبر

آزمون های شیمیایی:

با توجه به اهمیت نقش اسیدهای چرب ترانس در سلامتی انسان و ایمنی محصولات لبنی به ویژه کره به منظور احتمال وجود تقلب و افزودن سایر چربی ها به جای بخشی از چربی شیر ابتدا آنالیز اسیدهای چرب صورت گرفت. آنالیز اسیدهای چرب :به منظور آنالیز اسیدهای چرب نمونه ها از روش کروماتوگرافی گازی مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۴۸۸۷انجام گرفت .پیش از تزریق نمونه ها به دستگاه از آنها متیل استر اسیدهای چرب تهیه گردید. تهیه متیل استر اسیدهای چرب :ابتدا به نمونه های کره سود متانولی نیم نرمال اضافه شد به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شد پس از پایان ۱۰ دقیقه به نمونه ها BF_3 و هپتان افزوده شدو محلول به مدت ۱ دقیقه جوشانده شد پس از اتمام ۱ دقیقه محلول را خنک نموده و آب نمک اشباع اضافه شد با افزودن آب نمک اشباع محلول متیل استر اسیدهای چرب روی سطح ظرف جمع شدند به این محلول جمع اوری شده سولفات سدیم اضافه شد و سپس به دستگاه تزریق شد (استاندارد ملی ایران شماره ۸۸۱۹).

تزریق به GC : برای انالیز نمونه ها از ستون Chrompack capillary colum حاوی فاز ثابت سیلیکا fused silicaگاز هلیوم دتکتور FID با مقدار تزریق نمونه ۴/ میکرولیتر استفاده شد.برخی ویژگیهای شیمیایی کره های تولیدی به شرح ذیل اندازه گیری گردید تا ارتباط این ویژگیها با آلودگی لیستریایی مورد بحث قرار گیرد. اندازه گیری اندیس پراکسید :برای بدست اوردن اندیس پراکسید از روش ارایه شده توسط موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به شماره ۴۱۷۹استفاده شد . اندازه گیری اسیدیته :اندازه گیری اسیدیته بر اساس اضافه کردن مخلوط اتانول ۹۵/و اکسید دی اتیلیک با حجم مساوی به نمونه و تیتراسیون با محلول قلیایی و محاسبه اسیدیته با استفاده از فرمول مربوطه انجام شد .(طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۴۱۷۸)

اندازه گیری رطوبت :با استفاده از آون و درجه حرارت ۱۰۵میزان رطوبت نمونه ها اندازه گیری شد (مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۶۹۳). اندازه گیری چربی و مواد غیر جامد غیر چرب :میزان مواد جامد غیر چرب نمونه ها پس از حل کردن مواد باقی مانده از اندازه گیری رطوبت در اتر دوپترول و ضاف کردن انها با کاغذ صافی و محتویات ان بدست امد درصد چربی از تفاضل مجموع درصد رطوبت و مواد باقی مانده شیر از عدد ۱۰۰ محاسبه شد .(مطابق با استانداردملی ایران به شماره ۱۲۵۵و۲-۸۳۸۹)(پروانه ۱۹۹۵).

اندازه گیری نقطه ذوب :مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۴۸۸۷انجام گرفت.

آزمون های میکروبی :

آزمونهای میکروبی طبق استاندارد کشور فرانسه و ایران انجام گرفت.

۱-۱-شناسایی و جداسازی گونه های لیستریا

از محیط کشت کرموژنیک به منظور شناسایی و جداسازی گونه های لیستریا استفاده گردید عملیات کشت مطابق روش آزمون استاندارد AFNOR فرانسه به شماره ۲۰۰۱)CHR-۲۱/۱-۱۲/O) انجام شد. ابتدا نمونه ها جهت غنی سازی اولیه به نسبت ۱ به ۹ در محیط پپتون واتر بافره کشت داده شدند وبه مدت ۱ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد انکوبه گردید سپس یکدهم لیتر از کشت فوق روی سطح محیط کشت CHROMAGAR Identification Listeria بصورت خطی کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه گردید. کلنی های مثبت پس از شمارش جهت تایید بر روی دومین محیط کشت به نام CHROM agar Identification Listeria برده شدند .با توجه به اینکه وجود کلنی های صورتی روشن با هاله سفید نشان دهنده لیستریا مونوسیتوژنز و کلنی های صورتی پر رنگ بدون هاله نشان دهنده لیستریا اینوکوآمی باشد (AFNOR ۲۰۰۱-۱۲/۰-۲۱/۱-CHR)لذا بر این اساس شناسایی و شمارش انجام شد.

۲-۱-شمارش کلی فرم

آزمون میکروبی کلی فرم مطابق با روش آزمون استاندارد آفنور فرانسه و با محیط کشت کرموژنیک انجام گردید. مقدار ۳۲/۸گرم پودر را با ۱۰۰۰.میلی لیتر آب مقطر مخلوط نموده ودر حین همزدن میجوشانیم دمای محلول هرگز نباید به بیش از ۱۰۰ درجه سانتیگراد برسد سپس به روش پورپلیت ابتدا ۱ میلی لیتر از رقت استاندارد تهیه شده نمونه را با ۱۰ میلی لیتر

محلول محیط کشت در پلیت استریل ۹ سانتی مخلوط نموده وبه مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه مینماییم .کلنی های قرمز کلی فرم و کلنی های آبی اشرشیا کلی هستند (AFNORCH-۲۱/۱-۱۲/۰-۲۰۰۱)

جستجو و شمارش مخمر

شمارش مخمر با استفاده از محیط کشت YGC در ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتیگراد مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۹۹۷ انجام پذیرفت.

ر وش آماری

نمونه ها در پنج تکرار با استفاده از طرح کاملا تصادفی آزمایش گردید .از آنالیز واریانس آنوا جهت معنی دار بودن برخی ویژگی های شیمیایی کره های تولیدی با آلودگی لیستریایی استفاده گردید از ماتریس مشابهت و ماتریس الگو با استفاده از نمودار دوبعدی دندروگرام جهت بررسی آلودگی لیستریایی کره های تولیدی کارخانه های مختلف شهر نیشابور و مقایسه نوع کره های تولید شده با یکدیگر استفاده گردید همچنین خوشه بندی کره های تولید شده جهت ایجاد مشخصه آلودگی لیستریایی انجام پذیرفت.

نتایج و بحث :

مدل ریاضی بررسی آلودگی لیستریایی:

جهت بررسی اهمیت آلودگی لیستریایی در کره های تولیدی شهر نیشابور از مدل ریاضی آنالیز دندروگرام و خوشه بندی استفاده گردید و نتایج به شرح ذیل بدست امد :

بررسی اهمیت آلودگی لیستریایی در انواع کره بر اساس خوشه بندی

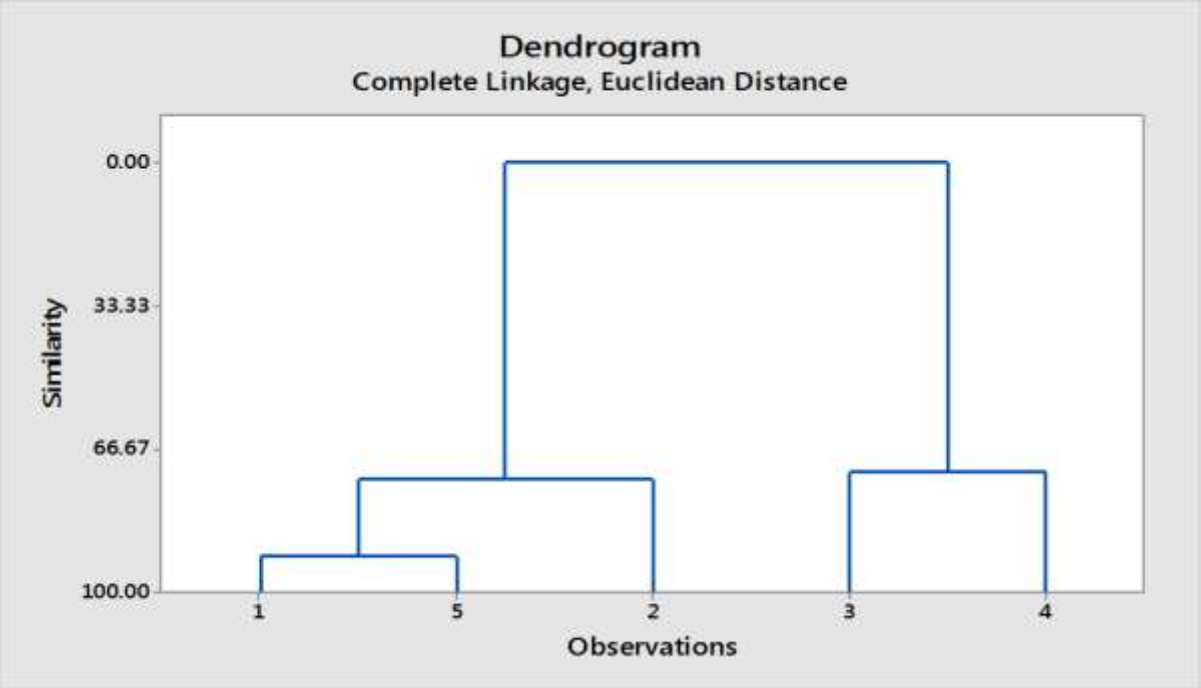
آنالیز خوشه بندی کره های مورد بررسی در شکل های ۱و ۲ نشان داده شده است . همانطور که در شکل ۱ و ۲ مشاهده می کنیم آنالیز خوشبندی دندروگرام صورت گرفته در مورد کره های مورد بررسی نشان می دهد که ما می توانیم ۵ کره تجاری مورد بررسی را به دو گروه با شاخص شباهت بالای ۰/۶۸ به صورت ذیل تقسیم بندی کنیم.

خوشه ۱: کره پاستوریزه جلگه، کره پاستوریزه نوبر، کره پاستوریزه صبرا (Similarity index =۰/۶۸)
خوشه ۲: کره پاستوریزه بینالود، کره پاستوریزه بله(Similarity index =۰/۶۵)

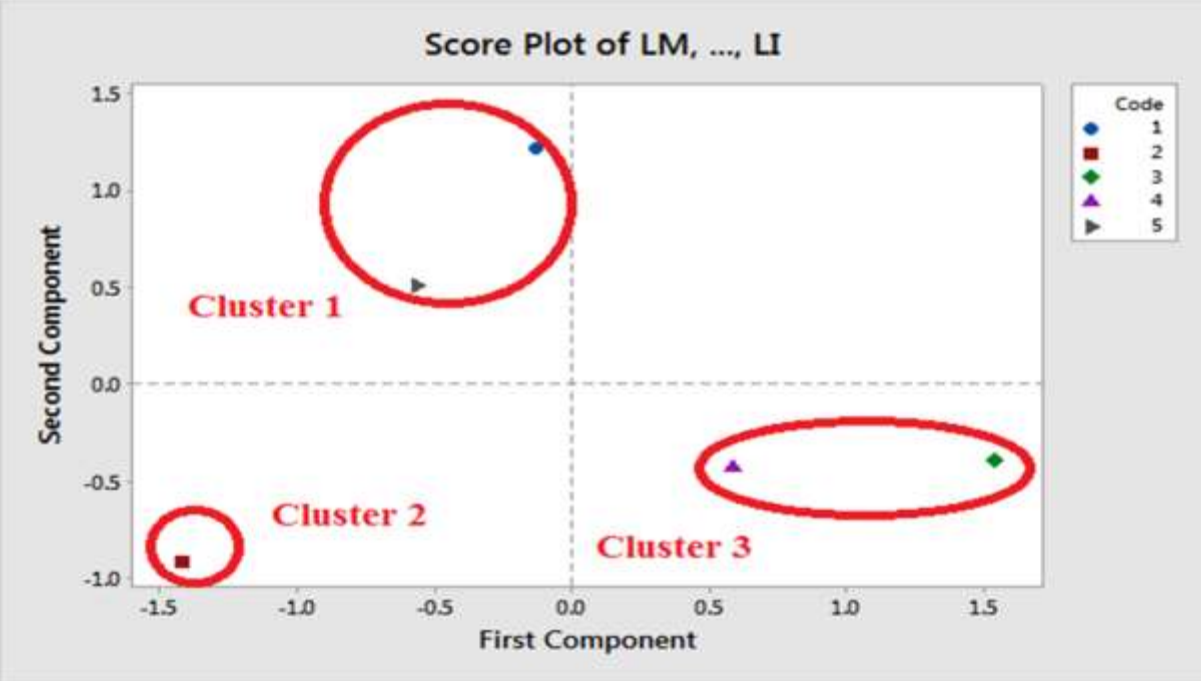
همجنین نتایج نشان می دهد که در خوشه ۱، نمونه های کره پاستوریزه جلگه، کره پاستوریزه نوبر دارای شباهت بیشتری به یکدیگر می باشند (Similarity index =۰,۸۹) نسبت به نمونه کره پاستوریزه صبرا. با بررسی پارامتر های مورد نظر در این خوشبندی می توان نتیجه گرفت که مهمترین عاملی که سبب کنترل فرایند خوشبندی نمونه های تجاری کره شده است پارامتر تعداد باکتری های لیستریا اینوکوآ می باشد.

لویس و همکاران در سال ۲۰۰۶ بیان داشتند که کره هایی که در شرایط محیطی تهیه می شوند در طی زمان نگهداری انواع لیستریا در ان رشد می نماید که این نتیجه با نتایج خوشه بندی های کره در این تحقیق مطابقت دارد .در سال ۲۰۰۱ میجالا و همکاران کره های تولید شده در فنلاند را مورد آزمایش قرار دادند آنها دریافتند که سطوح آلودگی لیستریا مونوسیتوژنز در

بسته های ۵۰۰ گرمی نسبت به بسته های کوچکتر افزایش میابد. این نتایج با نتایج خوشه ۱ مطابقت دارد. در خوشه ۱ آلودگی لیستریا مونوسیتوژنز بیشتر است و سطوح این آلودگی در بسته های ۵۰۰ گرمی و اوزان بالاتر در این کره ها بیشتر است . دی رئو و هرمان در سال ۲۰۰۴ بیان کردند که رشد لیستریا مونوسیتوژنز در کره اتفاق نمی افتد یا محدود می شود این نتایج با نتایج خوشه ۲ مطابقت دارد در خوشه ۲ رشد لیستریا مونوسیتوژنز محدود شده و لیستریا اینوکواآفزایش یافته است .در واقع در خوشه ۲ آلودگی لیستریا اینوکوا بسیار بیشتر از آلودگی لیستریا مونوسیتوژنز در خوشه های دیگر هم است .



شکل شماره ۱- منحنی دندروگرام خوشه بندی نمونه های کره



شکل شماره ۲- خوشه بندی کره های تولیدی بر اساس آلودگی

بررسی نتایج برخی ویژگی های شیمیایی بر آلودگی لیستریایی :

۱- بررسی ارتباط اسیدهای چرب کره های تولیدی با آلودگی لیستریایی :

۱-۱ -آنالیز اسیدهای چرب :با توجه به اینکه چربی شیر جزو پیچیده ترین لیپیدهاست که عمدتا بصورت تری گلیسیرید یا استر اسیدهای چرب با چربی آزاد و مقادیر متفاوتی از ویتامین های محلول در چربی وجود دارد ،انالیز اسیدهای چرب توسط کروماتوگرافی گازی بر روی نمونه ها انجام شد تا علاوه بر تعیین گلیسرول ۹۸-۹۷درصد ،فسفولیپید ۴۴/-۲۲/درصد استرول آزاد ،مقادیر اندک هریک از اسیدهای چرب عمده شیر ،احتمال وجود تقلب و افزودن سایر چربی ها به جای بخشی از چربی شیر و همچنین مقدار اسیدهای چرب ترانس مورد بررسی قرار گیرد .نتایج انالیز نشان داد که این نوع تقلب در کره های تولیدی درکارخانه های شهر نیشابور وجود ندارد.با توجه به ااینکه در شیر گاو اسیدهای چرب ترانس در اثر هیدرو ژناسیون بیولوژیکی اسیدهای لینولءیک و لینولنیک خوراک دام توسط میکرو اورگانیسم های گوارشی تولید میشوند ،مقادیر اسیدهای چرب ترانس هم اندازه گیری شد که نتایج انالیز اسیدهای چرب این ترکیبات را مطابق با استاندارد نشان داد نتایج مبین ان بود که شیر تحویلی کارخانه ها جهت تولید کره از دامداریهای معتبر که تغذیه دام کنترل شده میباشد انجام گرفته است .همچنین با توجه به اهمیت نقش اسیدهای چرب ترانس در سلامتی انسان میزان اسیدهای چرب ترانس نمونه ها که توسط کروماتوگرافی گازی اندازه گیری شد در حد قابل قبول بدست امد .

جدول ۲- آنالیز اسیدهای چرب کره های تولید شده در شهر نیشابور با کروماتوگرافی گازی

	C٤	C٦	C٨	C١٠	C١٢	C١٤	C١٤:١	C١٦	C١٦:١
نمونه۱	۱,۶۹	۱,۴۸	۱,۱	۲,۸	۳,۴۰	۱۲,۶۷	۱	۳۱,۶۵	۱,۳
نمونه ۲	۴	۲	۱,۵	۳	۳,۶	۱۳	۱,۵	۳۳,۵	۳
نمونه۳	۴,۸۹	۳,۵۵	۱,۷	۳,۸	۴,۵	۱۴,۳	۱,۸۰	۳۸	۴
نمونه ۴	۱,۷۸	۱,۹۰	۱,۲	۲,۹۰	۳,۸	۱۲,۶۷	۱	۳۱,۸۵	۲
نمونه ۵	۲,۸۰	۳	۱,۷	۳,۶۰	۴	۱۳,۶۰	۱,۷۰	۳۵,۲۰	۳,۳

	C١٨	C١٨:١t	C١٨:١	C١٨:٢tt	C١٨:٢	C٢٠	C١٨:٣
نمونه۱	۹,۳	۲۳,۱۳	۰	۰	۲,۳۰	.۴۲	–
نمونه ۲	۱۰	۲۵	۰	۰	۲,۷۰	.۷۶	–
نمونه۳	۱۴	۳۰	۰	۰	۲,۸۰	.۹۸	–
نمونه ۴	۹,۵	۲۴,۱۰	۰	۰	۲,۵۰	.۴۰	–

نمونه ۵	۱۲,۵۰	۳۳,۱۰	۰	۰	۲,۸۰	.۸۵	-

بررسی ارتباط برخی ویژگی های شیمیایی کره بر آلودگی لیستریایی :

جدول شماره ۳- میانگین ویژگی های شیمیایی کره های تولید شده در شهر نیشابور

ردیف	ویژگی	نمونه۱	نمونه۲	نمونه۳	نمونه۴	نمونه۵	حدودقابل قبول استاندارد
۱	رطوبت	۱۴,۹۵	۱۶,۴۰	۱۶,۳۰	۱۷,۸۰	۱۶,۱۱	حداکثر۱۶
۲	چربی	٪۸۴,۳۳	٪۸۲,۱۰	٪۸۱,۸۰	٪۸۱,۴۰	٪۸۲,۱۰	حداکثر۸۲٪
۳	اسیدیته	۰,۲۵	۰,۲۸	۰,۴۷	۰,۳۸	۰,۴۵	حداکثر۰,۵
۴	پراکسید	۰,۵۵	٪۱,۰۶	۰,۸۴	۰,۸۶	۰,۷۶	حداکثر۱,۷٪
۵	موادجامدبدون چربی	۰,۹۰	٪۱,۴۹	٪۱,۸۹	٪۱,۴۶	٪۱,۸۷	حداکثر۲
۶	نقطه ذوب	۲۸	۲۸	۲۹	۳۰	۲۹	۲۸-۳۴

لازم به ذکر است که کره های تولید شده از نوع بی نمک می باشد .

۲ -۱ نتایج اندازه گیری اندیس پراکسید :اندیس پراکسید شاخصی برای اندازه گیری میزان اکسیداسیون چربی است عوامل مختلفی مانند نور ،یون های فلزی و اکسیژن قادر به بالا بردن اندیس پراکسید میباشند (صارم نژاد و همکاران ۱۳۸۷).نتایج این مطالعه نشان داد که بین الودگی لیستریایی و خصوصا لیستریا اینوکوا اختلاف معنی داری وجود ندارد .

بررسی اثر نوع کره بر روی عدد پراکسید آن

مطابق نتایج آنالیز واریانس بدست آمده نوع کره بر روی میزان عدد پراکسید آن اثر معنی دار ندارد ($P > ۰/۰۵$).

جدول - نتایج تجزیه واریانس اثر نوع کره بر روی عدد پراکسید آن

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	P
نوع کره	۴	۰/۰۰۰۰۲۶۹	۰/۰۰۰۰۰۶۷۳	۰/۶۳۸
میزان خطا	۱۵	۰/۰۰۰۱۵۶۱۴	۰/۰۰۰۰۱۰۴۱	
کل	۱۹	۰/۰۰۰۱۸۳۰۴		

با توجه به اینکه نوع کره بر روی عدد پراکسید آن اثر معنی دار ندارد لذا تفاوت معنی دار نیز در این بین دیده نشد.

۳-۱ نتایج اندازه گیری اسیدیته :نتایج این مطالعه نشان داد که بین آلودگی لیستریایی و اسیدیته کره اختلاف معنی داری وجود ندارد این نتیجه با نتایج هالیدی همکاران در سال ۲۰۰۳مطابقت دارد .

بررسی اثر نوع کره بر روی اسیدیته آن

مطابق نتایج آنالیز واریانس بدست آمده ، نوع کره بر روی اسیدیته آن اثر معنی داری ندارد ($P > ۰/۰۱$).

جدول- نتایج تجزیه واریانس اثر نوع کره بر روی اسیدیته آن

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	P
نوع کره	۴	۰/۰۰۰۰۰۷۷۶	۰/۰۰۰۰۰۱۹۴	۰/۵۹۶
میزان خطا	۱۵	۰/۰۰۰۰۴۰۸۷	۰/۰۰۰۰۰۲۷۲	
کل	۱۹	۰/۰۰۰۰۴۸۶۳		

با توجه به اینکه نوع کره بر روی اسیدیته آن اثر معنی دار ندارد لذا تفاوت معنی دار نیز در این بین دیده نشد.

بررسی اثر نوع کره بر روی چربی آن

مطابق نتایج آنالیز واریانس بدست آمده نوع کره بر روی میزان چربی آن اثر معنی دار ندارد ($P > ۰/۰۵$).

جدول- نتایج تجزیه واریانس اثر نوع کره بر روی چربی آن

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	P
نوع کره	۴	۰/۰۲۸۳۶۵۰۲	۰/۰۰۷۰۹۱۲۶	۰/۹۸۹
میزان خطا	۱۵	۱/۴۴۴۴۲۰۰۱	۰/۰۹۶۲۹۴۶۷	
کل	۱۹	۱/۴۷۲۷۸۵۰۳		

با توجه به اینکه نوع کره بر روی چربی آن اثر معنی دار ندارد لذا تفاوت معنی دار نیز در این بین دیده نشد.

بررسی اثر نوع کره بر روی میزان ASH

مطابق نتایج آنالیز واریانس بدست آمده، نوع کره بر روی میزان ash آن اثر معنی دار ندارد ($P > ۰/۰۵$).

جدول نتایج تجزیه واریانس اثر نوع کره بر روی *ash* آن

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	*P*
نوع کره	۴	۰/۰۰۰۱۳۰۹۵	۰/۰۰۰۰۳۲۷۴	۰/۵۰۳
میزان خطا	۱۵	۰/۰۰۰۵۶۳۱۱	۰/۰۰۰۰۳۷۵۴	
کل	۱۹	۰/۰۰۰۶۹۴۰۶		

با توجه به اینکه نوع کره بر روی ash آن اثر معنی دار ندارد لذا تفاوت معنی دار نیز در این بین دیده نشد

۴-۱ نتایج اندازه گیری چربی و مواد غیر جامد غیر چرب :نتایج این تحقیق نشان داد که بین الودگی لیستریایی خصوصا لیستریا مونوسیتوژنز با چربی و مواد غیر جامد غیر چرب اختلاف معنا داری وجود ندارد این نتایج با نتایج هالیدی و همکاران در سال ۲۰۰۳ مطابقت دارد .

بررسی اثر نوع کره بر روی میزان Fuse point **آن(نقطه ذوب)**

مطابق نتایج آنالیز واریانس بدست آمده، نوع کره بر روی میزان Fuse point آن اثر معنی دار ندارد ($P > ۰/۰۵$).

جدول - نتایج تجزیه واریانس اثر نوع کره بر میزان Fuse point آن

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	P
نوع کره	۴	۶/۴۶۲۳۳۰	۱/۶۱۵۵۸۳	۰/۹۹
میزان خطا	۱۵	۱۹۴۵/۳۵۵۲۵	۱۲۹/۶۹۰۳۶۸	
کل	۱۹	۱۹۵۱/۸۱۷۸۵۵		

با توجه به اینکه نوع کره بر روی Fuse point آن اثر معنی دار ندارد لذا تفاوت معنی دار نیز در این بین دیده نشد.

۵-۱ نتایج ازمون نقطه ذوب :نتایج این مطالعه نشان داد که نقطه ذوب با الودگی لیستریایی اختلاف معنی داری ندارد این نتیجه باپژوهش رابینسون در سال ۲۰۰۲ که فساد کره را براثر فعالیت میکرو اورگانیسم هایی میدانست که پس از ذوب قادر به فعالیت میباشند ،مطابقت دارد.

میانگین مربعات

ردیف	منبع تغییرات	DF	Peroxide	Aciditeh	Fat	Ash	Fusepoint
۱	تیمار	۴	۰/۰۰۰۰۰۶۷۳	۰/۰۰۰۰۰۱۹۴	۰/۰۰۷۰۹۱۲۶	۰/۰۰۰۰۳۲۷۴	۱/۶۱۵۵۸۳
۲	خطا	۱۵	۰/۶۳۸ns	۰/۵۹۶ns	۰/۹۸۹ns	۰/۵۰۳ns	۰/۹۹ns

ns =عدم معنی داری

نتایج بررسی ویژگیهای میکروبی کره های آزمون شده :

جدول شماره ۴-میانگین میزان ۴ نوع آلودگی در نمونه های کره تولیدی در شهر نیشابور

ردیف	آلودگی / نمونه	کلی فرم	لیستریا مونوسیتوژنز	لیستریا اینوکوآ	مخمر
۱	نمونه۱	۱۲۲۲×10^{-2}	$۹,۱\times10^{1}$	$۱,۵\times10^{1}$	۴۴۴۴×10^{-2}
۲	نمونه ۲	$۷,۱\times10^{1}$	$۱,۴\times10^{1}$	$۹,۸\times10^{1}$	۱×10^{2}
۳	نمونه۳	$۳,۸\times10^{1}$	$۱۴,۸\times10^{1}$	۳۴.۶×10^{3}	۲×10^{1}
۴	نمونه ۴	$۱,۴\times10^{1}$	۶	۱۰	۰
۵	نمونه ۵	۴×10^{1}	۱×10^{2}	۳×10^{1}	$۸,۴\times10^{1}$

جدول شماره یک نشان می دهد که در نمونه های کره تولید شده آلودگی های کلی فرم و لیستریا مونوسیتوژنز و لیستریا اینوکوآو مخمر وجود دارد .جهت بررسی تاثیر آلودگی های کلی فرم و مخمر بر آلودگی لیستریایی ،از آنالیز واریانس آنوا استفاده گردید و نتایج ذیل بدست آمد :

-ارتباط آلودگی کلی فرم و مخمر با الودگی لیستریایی :

نتایج انالیز واریانس آنوای میکروبی کلی فرم و مخمر در ارتباط با الودگی لیستریایی نشان داد که این دو آلودگی اختلاف معنی داری با آلودگی لیستریایی دارند

۳-بررسی اثر نوع کره بر روی شمارش کلی کلیفرم ها آن

مطابق نتایج آنالیز واریانس بدست آمده نوع کره بر روی میزان شمارش کلی کلیفرم ها آن اثر معنی دار ندارد ($P > ۰/۰۵$).

جدول - نتایج تجزیه واریانس اثر نوع کره بر میزان شمارش کلی کلیفرم ها آن

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	P
نوع کره	۴	۲۰۲۸/۷۰۰۰۰۰	۵۰۷/۱۷۵۰۰۰	۰/۰۶۳
میزان خطا	۱۵	۲۷۰۰/۲۵۰۰۰۰	۱۸۰/۰۱۶۶۶۷	
کل	۱۹	۴۷۲۸/۹۵۰۰۰۰		

با توجه به اینکه نوع کره بر روی شمارش کلی کلیفرم ها آن اثر معنی دار ندارد لذا تفاوت معنی دار نیز در این بین دیده نشد.

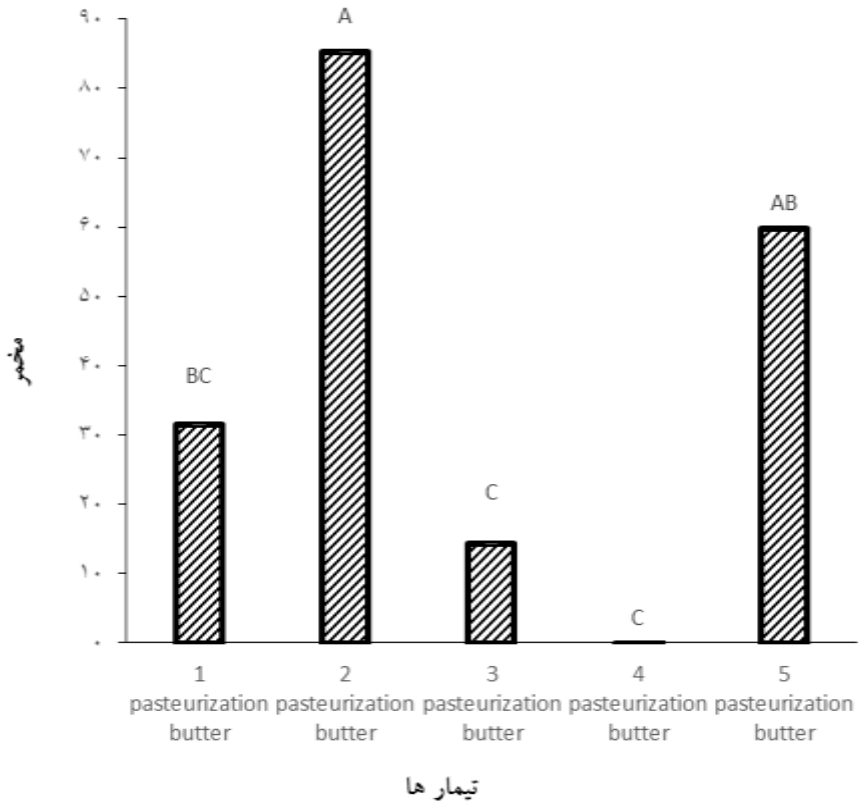
۴-بررسی اثر نوع کره بر روی شمارش کلی مخمرهای آن

مطابق نتایج آنالیز واریانس بدست آمده نوع کره بر روی میزان شمارش کلی مخمرهای آن اثر معنی دار دارد (P < ۰/۰۱).

جدول - نتایج تجزیه واریانس اثر نوع کره بر میزان شمارش کلی مخمرهای آن

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	P
نوع کره	۴	۱۹۰۲۳/۳۰۰۰۰	۴۷۵۵/۸۲۵۰۰	۰/۰۰۲
میزان خطا	۱۵	۱۰۷۵۹/۲۵۰۰۰	۷۱۷/۲۸۳۳۳	
کل	۱۹	۲۹۷۸۲/۵۵۰۰۰		

با توجه به اینکه نوع کره بر روی شمارش کلی مخمرهای آن اثر معنی دار دارد لذا نمودار مقایسه میانگین ها در نمودار آورده شده است.



نمودار: مقایسه میانگین میزان مخمر در بین تیمارها

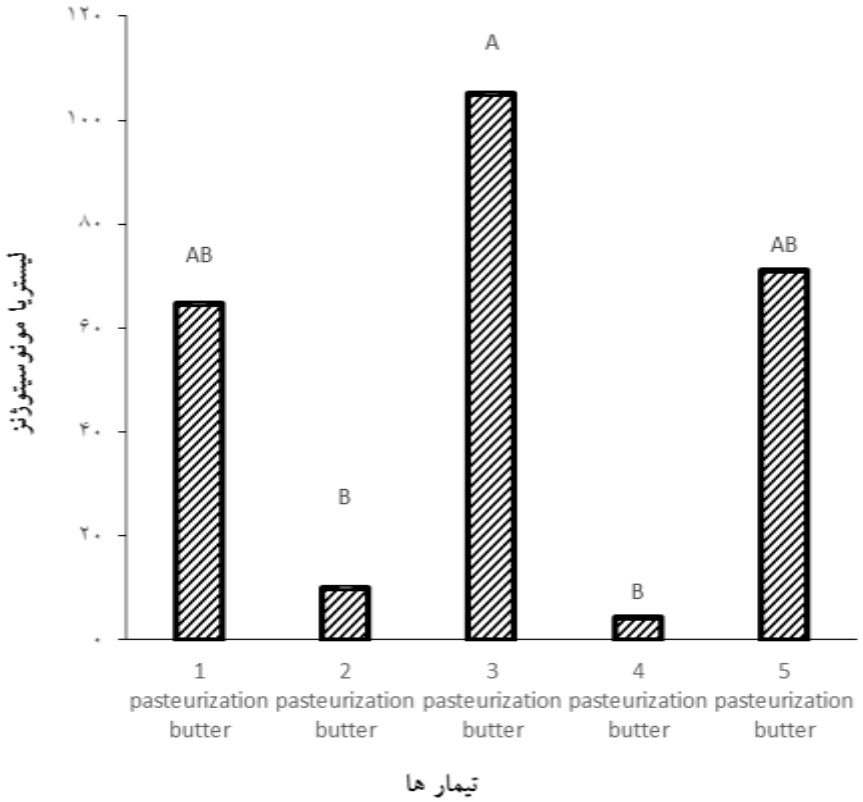
۵-بررسی اثر نوع کره بر روی شمارش لیستریا مونوسیتوژنز آن

مطابق نتایج آنالیز واریانس بدست آمده ،نوع کره بر روی میزان شمارش لیستریا مونوسیتوژنز آن اثر معنی دار دارد (P < ۰/۰۱).

جدول نتایج تجزیه واریانس اثر نوع کره بر میزان شمارش لیستریا مونوسیتوژنز آن

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	P
نوع کره	۴	۲۹۴۸۶/۵۰۰۰۰	۷۳۷۱/۶۲۵۰۰	۰/۰۰۴
میزان خطا	۱۵	۱۸۲۲۷/۵۰۰۰۰	۱۲۱۵/۱۶۶۶۷	
کل	۱۹	۴۷۷۱۴/۰۰۰۰۰		

با توجه به اینکه نوع کره بر روی شمارش لیستریا مونوسیتوژنز آن اثر معنی دار دارد لذا نمودار مقایسه میانگین ها در نمودار آورده شده است.



نمودار: مقایسه میانگین میزان لیستریا مونوسیتوژنز در بین تیمارها

نمودار فوق نشان میدهد که نمونه شماره ۳بیشترین میزان الودگی لیستریا مونوسیتوژنز را دارد و نمونه شماره ۴ کمترین میزان الودگی را دارا است حروف مشابه نشان دهنده تفاوت معنا دار و حروف غیر مشابه نشان دهنده ان است که تفاوت معنا داری بین میانگین ها وجود ندارد.

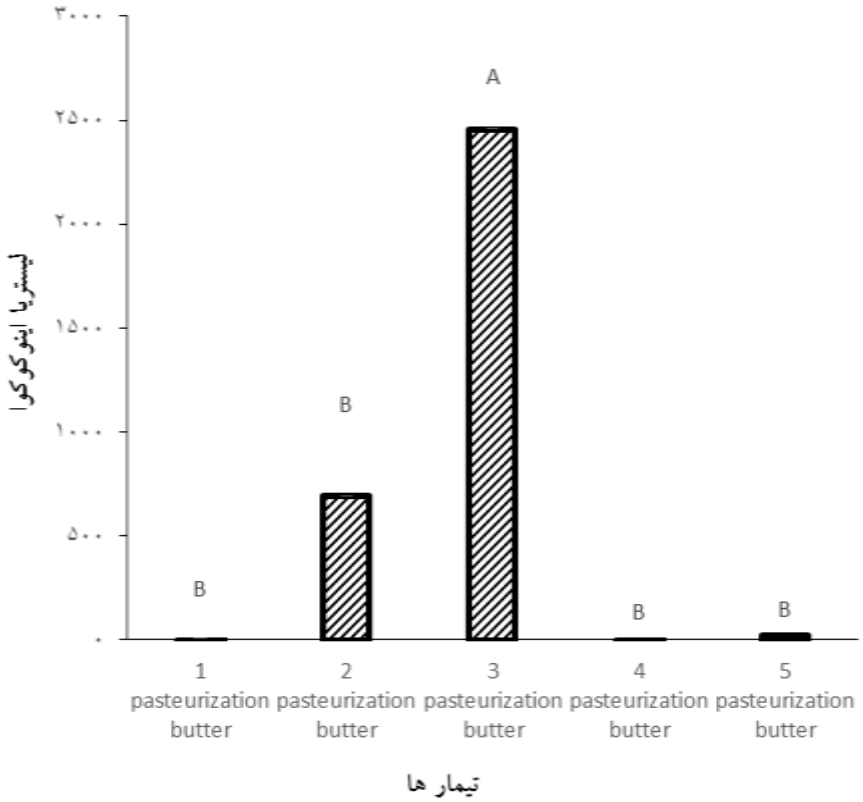
۶-بررسی اثر نوع کره بر روی شمارش لیستریا اینوکوکوا آن

مطابق نتایج آنالیز واریانس بدست آمده ، نوع کره بر روی میزان شمارش لیستریا اینوکوکوا آن اثر معنی دار دارد ($P < ۰/۰۱$).

جدول- نتایج تجزیه واریانس اثر نوع کره بر میزان شمارش لیستریا اینوکوکوا آن

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	P
نوع کره	۴	۱۷۹۴۶۲۰۶/۳۰	۴۴۸۶۵۵۱/۵۸	۰/۰۰۰
میزان خطا	۱۵	۵۸۴۱۲۲۶/۲۵	۳۸۹۴۱۵/۰۸	
کل	۱۹	۲۳۷۸۷۴۳۲/۵۵		

با توجه به اینکه نوع کره بر روی شمارش لیستریا اینوکوکوا آن اثر معنی دار دارد لذا نمودار مقایسه میانگین ها در نمودار آورده شده است.



نمودار : مقایسه میانگین میزان لیستریا اینوکوکوا در بین تیماره

نمودار فوق نشان می دهد که نمونه شماره ۳ه بیشترین میزان الودگی لیستریا اینوکوا نمونه های شماره و ۱و ۴و۵ و کمترین میزان الودگی لیستریا اینوکوا را در بین نمونه های مورد ازمون دارند.

میانگین مربعات

ردیف	منبع تغییرات	DF	L.Innocoa	L.Monocytogenes	Yeast	Coliform
۱	تیمار	۴	۴۴۸۶۵۵۱/۵۸	۷۳۷۱/۶۲۵۰۰	۴۷۵۵/۸۲۵۰۰	۵۰۷/۱۷۵۰۰۰
۲	خطا	۱۵	۰/۰۰۰**	۰/۰۰۴**	۰/۰۰۲**	۰/۰۶۳ns

ns =عدم معنی داری

****معنی داری در سطح اطمینان۹۹٪ p<۰/۱**

*** معنی داری در سطح اطمینان۹۵٪ p<۰/۰۵**

نتیجه گیری

در این تحقیق کره های تولید شده در کارخانه های لبنی شهر نیشابور در کشور ایران از نقطه نظر آلودگی لیستریایی بررسی گردید .مدل ریاضی دندروگرام و خوشه بندی بعنوان مدلی جهت بررسی آلودگی لیستریایی در این تحقیق استفاده گردید نتایج آنالیز دندروگرام کره نشان داد که مهمترین آلودگی در بین کره های تولید شده در این شهر آلودگی لیستریا اینوکوآ میباشد .با توجه به اینکه باکتری لیستریا اینوکوآ غیر پاتوژن است ، این آلودگی تهدیدی برای سلامت مصرف کننده بشمار نمیاید. اسیدهای چرب ترانس نقش مهمی در سلامتی انسان ایفا مینمایند نتایج آنالیز اسیدهای چرب کره های تولید شده در شهر نیشابور با کروماتوگرافی گازی نشان داد که کره های تولید شده در این شهر از لحاظ میزان اسیدهای چرب قابل قبول هستند و خطری برای سلامت مصرف کننده ایجاد نمی نمایند همچنین فاقد تقلب روغن های گیاهی غیر استاندارد می باشند . نتایج آزمون های آماری کره نشان داد که بین شاخص های شیمیایی مانند اسیدیته ،پراکسید ،چربی ،رطوبت ،نقطه ذوب ،مواد جامد بدون چربی اختلاف معنی داری وجود ندارد. مقایسه میانگین ها در بررسی تاثیر آلودگی میکروبی کلی فرم و مخمر بر آلودگی لیستریایی نشان داد که آلودگی مخمر میتواند بر آلودگی لیستریایی موثر باشد ،اما کلی فرم بر آلودگی لیستریایی موثر نیست. با توجه به بیماریزایی بودن با کتری لیستریا مونوسیتوژنز در ایجاد بیماری های نادر و خطرناک مانند لیستریوزیس ،مننژیت ،انسفالیت ،انواع سپتوم ها شامل سپتمی سمی ،سقط جنین ،خوشبختانه در کره های تولید شده در کارخانه های لبنی شهر نیشابور این آلودگی مهمترین آلودگی بشمار نمیاید و مصرف کره های تولید شده در این شهر از لحاظ آلودگی لستریایی قابل اعتماد می باشد .اما همواره رعایت اصول اولیه بهداشت فردی و بهداشت تجهیزات و وسایل کار در حین تولید فرآورده کره باید مورد اهتمام و توجه قرار گیرد باتوجه به تحقیقات محققین باکتری لیستریا در اثر پاستوریزاسیون نابود می گردد و آلودگی پس از فرایند در ایجاد این آلودگی موثر می باشد، لذا رعایت موازین بهداشتی در حین تولید توصیه می گردد .

REFERENs

۱.A۰cs official Method ce ۱-٦۲. fatty acid composition by Gc-chromatography .۸۸۱۹

۲.Ballabiol Leon S.Microbiological standards for some food of animal origin.J food Science۱۹۹۸

۳.Burchrieser C.Rusniko C.Kunst f.cossort p.& Glaser P.(۲۰۰۳)listeria Consortium:comparsion of the genome sequence of Listeria monocytogenes and Listeria innocua:clues of evolution and pathogenicity.FEMS Immunol and Med Microbiol ۳۵ ۲۰۷-۲۰۱۳

۳.C.Veraes GVlaemynck S.VanWeyenberg L.DC Zutter GDaube M .Sindic M.Uttendael L.Herman(۲۰۱۵).International Dairy Journal ۵۰(۲۰۱۵)۳۲-٤٤.Areview of the microbiological hazards of dairy product made from raw milk

٤.DenBak ker HC Cummings CA Ferrira Vattap Orsi RH Degoricijal Barker M petranskene

O,Furtado MR,Wiedman M,(۲۰۱۰)Listeria:genome evolution is characterized by limited gene acquisition and limited gene loss.comparative genomics of the bacteria genus ,۱۱:٦٦۸doi:۱۰,۱۱۸/۱٤۷۱-۲۱٦٤-۱۱-٦۸۸.

۵.DeReu,K,&Herman.(۲۰۰٤)Rapport۲۰۰۳-۲۰۰٤ Aanwezigheid en overleving van Listeria monocytogenes in rauwmelkse hoeveboter.source:ILVO-T۸V.

٦.Early R,The technology of dairy products.z.ed USA,Springer.۲۰۰٤,pp:۱۵۸-۱۹۸

۷.Early,Rulph.۱۹۹۸,The technology of dairy products .Blackie Academic and professional,۱۵۸-۱۹۵

۸.farahnudi,f(۱۹۹۸).Milk Technology.Tehran Training and Reserch group publishing co.,pp.۱۷۰-۱۸۰

۷.Halliday sl,Barbara B,Beuchat LR.Food microbiology.۳red ed.USA,MC Graw-Hill.۲۰۰۳

۸.Huang HW,HMlung,YH change, BB yang and CY wang ۲۰۱۵.Inactivation of pathogenic listeria monocytogenes in Raw Milk by High Hydrostatic pressure.foodborne pathogen Dis.۱۲:۱۳۹-۱٤٤

۹.Iran National Standard.Butter water contact determination method.NO.٦۹۳.first edition,Iran standard Institute.pp.۷-۹

۱۰.IranNational Standard (۱۹۹۸)peroxide value determination of edible fats and oils NO٤۱۷۹.Iran standard and Institute.pp.۱-۷

۱۱.Iran National standard (۱۹۹٦) Acidity measurement of edible fats &oil.No ٤۱۷۸.Iran standard and Industerial Reseatch Institute.pp.۱-۱۰

۱۲.Iran National standard.(۱۹۹۳)Finding and counting for molds and yeast using coloni counting method in ۲۲-۲۵ c.NO ۹۹۷.Iran standard and Industerial Research Institute.pp.۱-۸

۱۳.Lewis HC,Little CL,Elson R,Green wood M,Grant Ka,Mclauchlin J,Prevalence of Listeria monocytogenes and other Listeria species in batter from United Kingdom

production,retail,and catering premises j food port,۲۰۰٦ Jul,٦۹(۷):۱۵۱۸-۲٦(Us National Institues of Health)

۱٤.Murray PJ (۲۰۰۵) NO Proteins:an intercellular pathogen-recognition system or singnal transduction modificrs? Curropin Immunol ۱۷:۳۵۲-۳۵۸

۱۵.Majilar-Lyytlka"inenO,Autiot,AattoT,Haavistol,Honkanen-BuzalskiT.(۲۰۰۱)oct۲۲.Exposure of Listeria monocytogenes within an epidemic caused by butter in fanland Int J food Microbiol, ۷۰ (۱-۲):۹۷-۱۰۹

۱٦.Mahmoodi MM(۲۰۱۰).Occurrence of Listria monocytogenes in Raw M ilk and Dairy products in Noorabad,Iran.Journal of Animal and Veternary Advances. ۹:۱٦-۹

۱۷.McLauchlin J,ReesC,etal.Genus(۲۰۰۹).I.Listeria pirie ۱۹٤۰ a۳۸۳AL.In:vosp,etal,editors.Beryey's manual of systematic bacteriology,vol ۳-۲.New york:springer,۲۰۰۹.pp.۲٤٤-۲۵۷

۱۸.Parvaneh.V(۱۹۹۵) Food quality control & chemical experiments.Tehran University publishing Institute Iran,pp.۱٦٦-۱۷۹

۱۹.Robinson Rk.(۲۰۰۲).Dairy microbiology hand book.۳rd ed.UK,Wiley.pp:۱۲۳-۱۷۰

۲۰.Scicom(۲۰۱۵).Advice ۰۲-۲۰۱۵ of ۲۷ february ۲۰۱۵ of scientific Committee of the FASFC on the evaluation of the microbiological risks of the consumption of dairy products based on raw milk.

۲۱.Sheela Mary and shrinithivi hahshin ND (۲۰۱۷),pervasiveness of Listeria monocytogenes in Milk and Dairy products J food M icrobioal HGY

منابع فارسی :

۱- سولماز صارم نژاد و همکاران ،۱۳۸۷،ارزیابی برخی ویژگیهای شیمیایی و میکروبی کره های حیوانی بسته بندی شده توسط کارخانجات لبنی کشور ،فصلنامه علوم و صنایع غذایی ،دوره ۵ شماره ۴ زمستان ۱۳۸۷