Archive of SID

مطالعه تأثیر دوز تلقیح *یرسینیا انتروکولیتیکا* بر بقاء آن در پنیر سفید نگه‌داری شده در آب‌نمک

شهرام حنیفیان [۱*]

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات: *hanifian_shm@yahoo.com*

(دریافت مقاله: ۸۷/۱۲/۲۲ **پذیرش نهایی:** ۸۸/۶/۱)

چکیده

تأثیر دوز تلقیح *یرسینیا انتروکولیتیکا* بر ماندگاری آن در طی ساخت و نگه‌داری پنیر آب نمکی مورد مطالعه قرار گرفت. *یرسینیا انتروکولیتیکا* قابلیت رشد و تکثیر در دمای ٤-۰ درجه سانتی‌گراد را دارا بوده و نیز در شرایط pH اسیدی و حضور نمک مقاومت نسبی از خود نشان می‌دهد. لذا امکان رشد و بقاء آن در دمای یخچال و طی رساندن پنیر وجود دارد. باکتری لیوفیلیزه شده *یرسینیا انتروکولیتیکا* (سروتیپ O:۳) در محیط آبگوشت BHI دو بار متوالی کشت و فعال‌سازی گردید. برای تعیین تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* جهت تلقیح در شیر پنیر از روش کدورت‌سنجی استفاده شد. باکتری مزبور به تعداد 10^2، 10^3 و 10^4 در هر میلی‌لیتر به شیر پاستوریزه گاو تلقیح و جهت پنیرسازی استفاده شد. در طی روند ساخت، رسیدن و نگه‌داری پنیر، تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* شمارش و پرگنه‌های آن به لحاظ خصوصیات بیوشیمیایی مورد تأیید قرار گرفت. محتوای رطوبت، ماده خشک، نمک و میزان pH پنیرها نیز اندازه‌گیری گردید. نتایج نشانگر افزایش تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در طی ساخت پنیر بوده ولی متعاقب افزودن نمک و در طی دوره رسیدن و نگه‌داری تعداد باکتری کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) یافت. دوز تلقیح تأثیر معنی‌داری در بقاء *یرسینیا انتروکولیتیکا* داشت.

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۸۸، دوره ۳، شماره ۱، ٤٣٤-٤٢٧.

کلمات کلیدی: پنیر سفید آب نمکی، مطالعه تلقیحی، *یرسینیا انتروکولیتیکا*

مقدمه

یرسینیا انتروکولیتیکا (*Yersinia enterocolitica*) باسیل کوتاه، گرام منفی، بی‌هوازی اختیاری و غیر هاگ‌زا است که جزو خانواده *آنتروباکتریاسه* طبقه‌بندی می‌گردد. این میکروارگانیسم گسترش وسیعی در طبیعت دارد و می‌تواند در دمای ۰-٤٥ درجه سانتی‌گراد (اپتیمم ۲۹-۲۵ درجه سانتی‌گراد) رشد نماید (۲، ۱۵ و ۲٤). گزارشات متعددی از شیوع این ارگانیسم از سراسر جهان به‌عمل آمده است و در اکثر آن‌ها سروتیپ‌های O:۳ و O:۸ جداسازی شده‌اند و برخی منابع ۹۰- ۸۵ درصد اپیدمی‌های گزارش شده را به سروتیپ O:۳ نسبت می‌دهند (۱٦، ۲۳، ۲۸ و ۳۱).

موارد زیادی از بیماری یرسینیوزیس در نتیجه مصرف شیر خام و پاستوریزه گزارش گردیده است طوری‌که شیر را به‌عنوان یکی از عمده‌ترین راه‌های عفونت انسانی مطرح می‌سازد (٦، ۱٤، ۱٦ و ۳٤). بررسی‌ها نشان‌دهنده امکان آلوده شدن و بقاء *یرسینیا انتروکولیتیکا* در انواع پنیرها و به‌ویژه پنیرهای تولید شده به روش سنتی می‌باشد (۵ و ٦). Mustafa و همکاران در بررسی‌هایی شیوع ۱۸/۲٪ و ۲/۹٪ *یرسینیا انتروکولیتیکا* را

www.SID.ir

Archive of SID

به‌ترتیب در شیر خام و پنیر گزارش نموده‌اند (۲۹). همچنین میزان آلودگی ۲۸/۸٪ و ۲/٤٪ از پنیرهای فتا گزارش گردیده است که می‌تواند خطر بالقوه‌ای برای مصرف کنندگان پنیر فتا و پنیرهای مشابه (آب نمکی) باشد (۹). در ایران *یرسینیا انتروکولیتیکا* سروتیپ O:۳ برای اولین بار از مدفوع یک کودک ۱۰ ماهه جدا گردید (۲۰). سروتیپ O:۹ این گونه از باکتری در سال ۱۳٦۵ برای اولین بار جداسازی و گزارش شده است (۳۵). متعاقب آن بررسی‌های دیگری میزان شیوع آن را ۳ ٪ و ۱ ٪ به‌ترتیب در شیر خام و پاستوریزه (۳) و نیز ۱/٦ ٪ در شیر خام گزارش نموده‌اند (۳۳).

پنیر سفید ایرانی نگهداری شده در آب نمک به لحاظ روش تولید، رساندن و نگهداری، شباهت زیادی به پنیرهای فتا دارد و جزو فرآورده‌های شیری پر مصرف در کشور بوده و سهم قابل ملاحظه‌ای را در سبد غذایی خانوار به خود اختصاص داده است (۱ و ٤). این پنیر در اصل از شیر میش تهیه می‌گردد اما امروزه به‌دلیل کمبود شیر میش و تقاضای زیاد برای این نوع پنیر، از شیر گاو نیز جهت تهیه آن استفاده می‌کنند. در حال حاضر این نوع پنیر در ایران با استفاده از شیوه‌های سنتی و صنعتی تولید می‌گردد اما حتی در روش صنعتی نیز بسیاری از مراحل به‌وسیله کارگران و با دخالت انجام می‌پذیرد. در شرایط تولید سنتی با هدف حصول پنیر با کیفیت بالاتر و همچنین افزایش راندمان پنیرسازی، امکان استفاده از شیر خام و یا استفاده از درجه حرارت‌های سالم‌سازی کمتر از دمای پاستوریزاسیون (۲±۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه) بسیار محتمل است (۵). لذا از آنجایی‌که *یرسینیا انتروکولیتیکا* قابلیت رشد و تکثیر در دمای ٤۵- ۰ درجه سانتی‌گراد را داراست و از طرفی در شرایط pH اسیدی و حضور نمک مقاومت خوبی از خود نشان می‌دهد، بنابراین امکان بقاء آن در دمای یخچال و در طی مدت زمان نگهداری پنیر جهت رسیدن وجود دارد (۱۰، ۱۲، ۱۷ و ۳٤).

در این مطالعه شرایط تولید پنیر آب نمکی در آزمایشگاه بازسازی گردیده و تأثیر میزان تلقیح *یرسینیا انتروکولیتیکا* بر بقاء آن طی مدت زمان نگهداری پنیر ارزیابی شده است.

مواد و روش‌کار

الف- باکتری مورد آزمایش:

جهت فعال‌سازی باکتری لیوفیلیزه *یرسینیا انتروکولیتیکا* (ATCC 35669)، در محیط آبگوشت BHI دو بار متوالی کشت داده شد. کشت‌های ذخیره باکتری مزبور در لوله‌های حاوی محیط BHI آگار با سطح مورب و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری و هر ماه تجدید کشت یافت.

ب- تهیه دوزهای مختلف *یرسینیا انتروکولیتیکا* جهت تلقیح در شیر:

سوسپانسیون *یرسینیا انتروکولیتیکا* جهت تلقیح در شیر مورد استفاده در ساخت پنیر، با استفاده از کشت ذخیره که در محیط آبگوشت BHI کشت و در دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شده بود، تهیه گردید. سپس تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی با استفاده از اسپکتروفتومتر و اندازه‌گیری کدورت سوسپانسیون در طول موج ۵۸۰ نانومتر تعیین گردید (۲۲). به‌منظور ردیابی کدورت قابل قرائت در دستگاه، می‌بایست تعداد باکتری در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون بیش از یک میلیون باشد. لذا جهت قرائت کدورت یک سوسپانسیون در اسپکتروفتومتر، حدود ۱۰ تا ۱۰۰ میلیون سلول در هر میلی‌لیتر نیاز است. بنابراین کدورت‌سنجی روش مناسبی جهت اندازه‌گیری آلودگی مایعات با تعداد نسبتاً کم باکتری نمی‌باشد. از سوی دیگر این روش قادر به تفکیک میکروب‌های زنده از مرده نبوده و این درحالیست که در مطالعات تلقیحی، میکروب‌های زنده مورد نظر می‌باشند (۲۲). به همین دلیل برای تعیین دقیق تعداد میکروب زنده تلقیح شده به شیر، رقت‌های نزدیک به رقت اصلی (صفر) تهیه و سپس جذب نوری آن‌ها اندازه‌گیری گردید. سپس برای تعیین تعداد باکتری زنده در هر

www.SID.ir

Archive of SID

میلی‌لیتر از محیط کشت، آزمایش شمارش در پلیت برای هر یک از رقت‌ها انجام پذیرفت. این آزمایش ۲۰ بار تکرار و میانگین نتایج آزمایش جذب نوری و شمارش در پلیت ثبت گردید. پس از رسم منحنی رگرسیون، رابطه زیر به‌دست آمد که با دقت ۹۹/۵۲ (r^2=99.52) درصد ارتباط بین میزان جذب نوری (X) و تعداد باکتری زنده (Y) را در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی نشان می‌داد.

Y : تعداد باکتری (واحد لگاریتمی در هر میلی‌لیتر)

X : میزان جذب نوری در ۵۸۰ نانومتر

$$Y = 9\times10^{-13}. X^{12.83}$$

ج- تهیه پنیر:

برای تهیه پنیر، شیر پاستوریزه گاو که در دمای ۲±۷۲ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه شده بود، مورد استفاده قرار گرفت. سه نوع پنیر بر اساس مقدار تلقیح باکتری تهیه شد. بدین ترتیب که از کشت ۱۸ ساعته *یرسینیا انتروکولیتیکا* که در محیط آبگوشت BHI و در دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شده بود، پس از اندازه‌گیری کدورت سوسپانسیون میکروبی و مطابقت آن با منحنی استاندارد، دوزهای 10^2، 10^3 و 10^4 از *یرسینیا انتروکولیتیکا* تهیه و در شیر تلقیح گردید. دوز تلقیح بلافاصله پس از اضافه کردن سوسپانسیون میکروبی به شیر، با روش کشت در پلیت تعیین گردید. در نهایت کلرید کلسیم ($CaCl_2$) به‌میزان ۰/۰۲٪ (وزنی- حجمی) و رنت به‌مقدار ۰/۰۰۱٪ (وزنی - حجمی) به شیر اضافه گردید (۱، ٤ و ٥).

به‌منظور کارآیی بهتر رنت، دمای شیر در مدت زمان تشکیل لخته در حدود ۳۵ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. پس از گذشت نیم ساعت، لخته تشکیل شده به قطعات ۲ × ۲ × ۲ سانتی‌متر مکعب بریده و طبق دستورالعمل ساخت پنیر سفید آب‌نمکی جهت خروج آب از لخته و قالب‌گیری به مدت شش ساعت تحت فشار قرار گرفت. سپس لخته به‌صورت قطعاتی به اندازه ٦ × ٨ × ١٠ سانتی‌مترمکعب برش داده شد و در آب نمک ۲۰٪ (وزنی- حجمی) سترون به‌مدت ۸ ساعت و در دمای ١٦ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. متعاقب این‌کار قالب‌های پنیر در آب نمک ۸٪ سترون (وزنی-حجمی) بسته‌بندی و به‌مدت ۱۵ روز در دمای ١٤-١٢ درجه سانتی‌گراد و سپس به مدت ٤٥ روز دیگر در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (٥، ٦ و ١٦).

مطالعه در ده تکرار انجام گرفت و آزمایشات میکروبی (شمارش *یرسینیا انتروکولیتیکا*) و شیمیایی (اندازه‌گیری pH، تعیین درصد ماده خشک، درصد رطوبت و درصد نمک) طی مراحل ذیل بر روی نمونه‌های پنیر انجام پذیرفت:

الف- بلافاصله پس از تلقیح *یرسینیا انتروکولیتیکا* در شیر (ساعت صفر)

ب- متعاقب آبگیری لخته (ساعت ۷)

ج- پس از خارج ساختن لخته از آب نمک ۲۰٪ (ساعت ۱۵)

د- متعاقب اتمام دوره رسیدن پنیر در دمای ١٤-١٢ درجه سانتی‌گراد (۱۵ روزگی)

هـ- در طول مدت نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد (روزهای ۳۰، ٤٥ و ٦٠)

د- شمارش *یرسینیا انتروکولیتیکا*:

جهت شمارش *یرسینیا انتروکولیتیکا* در پنیر از روش کشت سطحی (Surface-Plating) در محیط (پایه) آگار انتخابی *یرسینیا* (*Yersinia* Selective agar (base) acc. to SCHIEMANN (CIN-agar)) (مرک؛ شماره کاتالوگ ١١٦٤٣٤) و با افزودن مکمل آنتی‌بیوتیکی (*Yersinia* Selective Supplement) (مرک، شماره کاتالوگ ١١٦٤٦٦) استفاده شد (۲۱ و ۳۱).

مقدار ۱۰ گرم از نمونه‌های پنیر متعاقب هموژن نمودن با ۹۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۱٪ (وزنی- حجمی) آب پپتونه سترون مخلوط نموده و لوله‌های رقت نیز با استفاده از آب‌پپتونه

www.SID.ir

Archive of SID

استریل ۰/۱٪ از 10^{-1} تا 10^{-8} تهیه شد (۲۱). سپس از هر لوله رقت مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر در سطح دو پلیت حاوی محیط آگار انتخابی *یرسینیا* پخش گردید. پلیت‌ها به‌مدت ٤٨ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. پرگنه‌های ریز با قطر ۲-۱ میلی‌متر، قرمز رنگ، با مرکز تیره گرانولی شکل و حاشیه روشن شمارش گردید. میانگین تعداد پرگنه شمارش شده در دو پلیت برای رقت مربوطه در نظر گرفته شد (۱۱ و ۱۹). جذر تعداد پرگنه‌های شمارش شده از هر پلیت را به لوله‌های حاوی محیط BHI آگار با سطح مورب منتقل نموده و در ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری صورت گرفت. جهت تأیید پرگنه‌های رشد کرده در BHI آگار ابتدا رنگ‌آمیزی گرام به‌عمل آمد و پس از مشاهده باسیل‌های کوتاه گرام منفی، از محیط‌های مک‌کانکی آگار، TSI agar، آبگوشت گلوکز با لوله دورهام، (Lysine Arginine Iron Agar) LAIA، SIM medium، Urea agar، و تست ONPG برای تفریق *یرسینیا انتروکولیتیکا* استفاده گردید (۱۱، ١٤، ۱۸، ۲۷ و ۳۱). به‌دلیل وابستگی برخی خصوصیات فیزیولوژیکی این باکتری به دما و عدم بروز این خصوصیات در ۳۷ درجه سانتی‌گراد (نظیر قابلیت حرکت آن در محیط نیمه‌جامد)، لذا برای انجام این تست، دمای گرمخانه‌گذاری ۲۵ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد (۳۱ و ٣٤).

هـ- بررسی خصوصیات شیمیایی نمونه‌های پنیر:

آزمایشات شیمیایی از جمله اندازه‌گیری رطوبت، اندازه‌گیری ماده خشک، اندازه‌گیری pH و اندازه‌گیری مقدار نمک بر اساس روش AOAC (۱۹۹۵) انجام پذیرفت (۷).

و- تجزیه و تحلیل آماری:

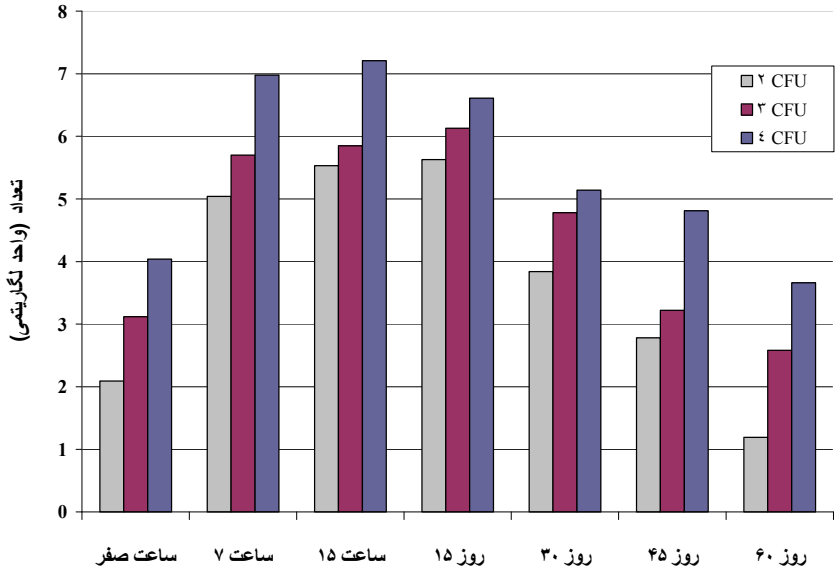
این مطالعه در قالب سه تیمار و شاهد (بدون تلقیح باکتری) و در ده تکرار انجام پذیرفت. داده‌های حاصل از شمارش *یرسینیا انتروکولیتیکا* (نمودار ۱) به روش ANOVA و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن و نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

در ۲۰ تکرار آزمایش تلقیحی، نتایج نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) *یرسینیا انتروکولیتیکا* در طی مرحله تهیه پنیر می‌باشد. اما متعاقب افزودن نمک به لخته تشکیل شده و همچنین در طی مراحل رساندن و نگه‌داری نمونه‌های پنیر، کاهش تدریجی در تعداد باکتری مزبور مشاهده گردید (نمودار ۱). نتایج حاکی از تأثیر معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) دوز تلقیح در بقاء *یرسینیا انتروکولیتیکا* در نمونه‌های پنیر می‌باشد. در جدول ۱ برخی ویژگی‌های شیمیایی نمونه‌های پنیر نشان داده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱- میانگین تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* بر حسب میزان تلقیح و مدت زمان نگه‌داری

جدول ۱- میانگین تغییرات شیمیایی و pH پنیر سفید آب نمکی در طی ساخت و نگه‌داری

زمان (ساعت/ روز)	ماده خشک (٪)	رطوبت (٪)	نمک (٪)	pH
ساعت صفر (۱)	-	-	-	٦/٥
ساعت ۷ (۲)	۳۰/۲۰	٦٩/٨٠	-	٦/۳٥
ساعت ۱۵ (۳)	۳۱/۱۲	٦٨/٨٨	٤/٩٢	٦/٤٧
روز ۱۵ (٤)	۳٤/٦٤	٦٥/۳٦	٥/٦٠	٦/٥١
روز ۳۰ (٥)	۳٥/۳٩	٦٤/٦١	٥/٧٢	٦/٥٨
روز ٤٥ (٦)	۳٦/٠٢	٦۳/٩٨	٥/٧٩	٦/٦١
روز٦٠ (۷)	۳٥/٧١	٦٤/۲٩	٥/٨١	٦/٦٤

(۱) = زمان تلقیح، (۲)=زمان آبگیری، (۳) = پس از نگه‌داری در آب‌نمک ۲۰ درصد، (٤) = دوره رساندن (نگه‌داری در ١٦-١٤ درجه سانتی‌گراد)، (٥)، (٦) و (۷) = دوره نگه‌داری پنیر

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و نتیجه‌گیری

تأثیر برخی از عوامل درون‌گرا و برون‌گرای مؤثر بر رشد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در مطالعات تلقیحی مورد بررسی قرار گرفته است (۱۸، ۱۹، ۲۵، ۲۶، ۳۰ و ۳۲). رشد و حضور باکتری در غذا و ورود آن به بدن، خصوصاً در افراد کم سن و سال، سالمندان و کسانی‌که دچار ضعف سیستم ایمنی هستند ایجاد عوارض شدیدی می‌کند. امروزه به‌دلیل مصرف بالای فرآورده‌های شیر و از آن جمله پنیر در بین اقشار مختلف جامعه، تعیین الگوی رفتاری این باکتری از دیدگاه بهداشت مواد غذایی حائز اهمیت است (۱۰، ۲۸ و ۳۰).

در این مطالعه تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در طی ساخت پنیر (از ساعت صفر تا ساعت ۷) افزایش سریعی داشته و مقدار آن ۲/۹۵، ۲/۵۸ و ۲/۹٤ واحد لگاریتمی به‌ترتیب در دوزهای تلقیحی ۲، ۳ و ٤ واحد لگاریتمی می‌باشد. متعاقب نمک‌زنی، شتاب افزایشی تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در نمونه‌های پنیر کاهش پیدا کرده و تعداد باکتری در خلال مدت ۸ ساعت به ترتیب در دوزهای تلقیحی ۲، ۳ و ٤ واحد لگاریتمی مقدار ۰/٤۹، ۰/٦۸ و ۰/۲۳ افزایش یافته است. این‌حالت می‌تواند در نتیجه اثر مهارکننده نمک بر روی باکتری باشد. میانگین تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در پایان دوره نگه‌داری ۱۵ روزه در دمای ۱٦-۱٤ درجه سانتی‌گراد (انبار سبز)، در دوزهای تلقیحی ۲ و ۳ واحد لگاریتمی، به‌ترتیب ۰/۱ و ۰/۲۸ واحد نسبت به ساعت ۱۵ افزایش پیدا کرده است. در حالی‌که در دوز تلقیحی ٤ واحد لگاریتمی، ۰/٦ واحد لگاریتمی نسبت به ساعت ۱۵ کاهش یافته است. طی دوره نگه‌داری پنیر در آب‌نمک ۸ درصد و ٤ درجه سانتی‌گراد، یعنی از روز ۱۵ تا روز ٦۰، تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* سیر نزولی نشان داده است. این کاهش تعداد در هر دوره ۱۵ روزه نسبت به دوره ما قبل آن (روز ۳۰ نسبت به روز ۱۵، روز ٤۵ نسبت به روز ۳۰ و روز ٦۰ نسبت به روز ٤۵) کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) داشته است. همچنین تعداد نهایی *یرسینیا انتروکولیتیکا* در پایان دوره نگه‌داری ٦۰ روزه به ۱/۱۹، ۲/۵۸ و ۳/٦٦ واحد لگاریتمی به‌ترتیب در دوزهای تلقیحی ۲، ۳ و ٤ واحد لگاریتمی رسیده است. در پایان ٦۰ روز نگه‌داری نمونه‌های پنیر، تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکای* زنده قابل شمارش در نمونه‌هایی با دوز تلقیحی ۳ واحد لگاریتمی در مقایسه با ۲ واحد لگاریتمی، ۱/۳۹ واحد لگاریتمی (۲٤/۵٤ برابر) بیشتر می‌باشد. این تعداد در نمونه‌هایی با دوز تلقیحی ٤ واحد لگاریتمی، ۱/۰۸ واحد لگاریتمی (۱۲/۰۲ برابر) بیشتر از نمونه‌هایی است که ۳ واحد لگاریتمی تلقیح شده‌اند. ضمناً تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکای* شمارش شده در نمونه‌های پنیر با دوز تلقیحی ٤ واحد لگاریتمی، ۲/٤۷ واحد لگاریتمی (۲۹۵/۱۲ برابر) بیشتر از نمونه‌های پنیر با دوز تلقیحی ۲ واحد لگاریتمی است. اختلاف تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* ما بین هر یک از دوزهای تلقیحی، تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) با یکدیگر دارند.

نتایج حاصله از این تحقیق نشان می‌دهد که بقاء *یرسینیا انتروکولیتیکا* ارتباط بسیار معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) با دوز تلقیح باکتری داشته است. تفاوت یافته‌های این مطالعه با نتایج مطالعه Erkmen (۱۹۹۷) بر روی پنیر فتا در ترکیه، می‌تواند در نتیجه اختلاف در مقادیر تلقیح باکتری در دو مطالعه باشد (۱۲). بدین معنی که در آن مطالعه مقادیر تلقیح *یرسینیا انتروکولیتیکا* با فاصله ۰/۵ واحد لگاریتمی (۵ برابری) از هم صورت گرفته و در این مطالعه از فواصل ۱ واحد لگاریتمی (۱۰ برابری) برای تلقیح استفاده شده است. اما در مطالعه دیگری که Erkmen (۲۰۰۰) غیرفعال شدن *لیستریا مونوسایتوجنز* را در طی دوره رسیدن پنیر سفید ترکیه (Turkish White Cheese) مورد ارزیابی قرار داد، دوز تلقیح به‌صورت معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) بر روی بقاء باکتری مزبور تأثیر گذار بوده است (۱۳). از طرف دیگر تأثیر متقابل دوز تلقیح با زمان نیز به‌صورت معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) در ماندگاری باکتری موثر بوده است. به‌عبارتی تعداد نهایی باکتری پس از ٦۰ روز نگه‌داری در ٤ درجه سانتی‌گراد در نمونه‌های پنیر تلقیح شده با دوزهای بالاتر

www.SID.ir

Archive of SID

یرسینیا انتروکولیتیکا بیشتر ($p<۰/۰۱$) از نمونه‌هایی بوده است که دوزهای کمتری از تلقیح میکروبی را دریافت نموده‌اند. به‌طوریکه با وجود اختلاف تقریبی ۱۰ برابری دوز تلقیح در ابتدای مطالعه، در پایان ٦۰ روز نگه‌داری نیز اختلاف ۲٤/٥٤ برابری بین دوزهای ۲ و ۳ واحد تلقیح شده و همچنین اختلاف ۱۲/۰۲ برابری بین دوزهای ۳ و ٤ واحد لگاریتمی و اختلاف ۲۹٥/۱۲ برابری بین دوزهای ۲ و ٤ واحد لگاریتمی تلقیحی مشاهده می‌گردد.

نمک فاکتور مهارکننده برای *یرسینیا انتروکولیتیکا* به‌حساب می‌آید. به طوری که در این مطالعه شتاب رشد باکتری متعاقب افزودن نمک تا حدود زیادی محدود شده است. این نتیجه، مشابه یافته‌های مطالعه Erkmen (۱۹۹۷) است که نشان داد، استفاده از نمک خصوصاً در غلظت‌های زیاد موجب کاهش چشمگیر *یرسینیا انتروکولیتیکا* در پنیر فتای ترکیه می‌گردد. اما به‌دلیل محدودیت‌های استفاده از نمک در نگهداری پنیر، نمی‌توان از اثرات مهارکننده غلظت‌های بالاتر نمک بهره برد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که مقادیر زیادتر تلقیح *یرسینیا انتروکولیتیکا* موجب طولانی‌تر شدن بقاء باکتری می‌گردد. بنابراین، رعایت نکات بهداشتی هنگام تهیه پنیر، نظیر استفاده از آب مناسب و ظروف بهداشتی، می‌تواند با جلوگیری از ورود میکروب‌های بیشتر، میزان مخاطرات ناشی از بقای طولانی مدت بیماری‌زاهای غذایی را محدودتر سازد. از سوی دیگر نمک فاکتور مهارکننده برای *یرسینیا انتروکولیتیکا* بوده و ممکن است هنگام به‌کارگیری آن با سایر پارامترهای مهار کننده، اثر مضاعف روی این باکتری داشته باشد. حضور باکتری مزبور در نمونه‌های روز ٦۰، نشانگر بقاء آن پس از دو ماه نگه‌داری در آب نمک ۸ درصد می‌باشد. بنابراین می‌تواند مخاطره‌ای برای افرادی به‌حساب آید که از این قبیل پنیرهای سنتی استفاده می‌کنند. این نتایج در راستای نتایج Karaionnoglou و همکاران (۱۹۸٥) می‌باشد.

فهرست منابع

۱. بهادری قدوسی، ح.، حبیبی نجفی، م.، مظاهری تهرانی، م. و رضوی، م. (۱۳۷۹): تولید پنیر فتا به روش صنعتی و سنتی، چاپ دوم، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، صفحات: ۳۲-۱۱ و ٤۳-٤۰.

۲. رضویلر، و. (۱۳۸۷): میکروب‌های بیماری‌زا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیت‌های غذایی، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ۹۸-۹٦.

۳. شریف‌زاده، ع.، اخوان، م.، زراسوندی، ع. و آل آقا، س. (۱۳۸۳): جداسازی *یرسینیا انتروکولیتیکا* و *لیستریا مونوسایتوجنز* از شیرهای خام و پاستوریزه عرضه شده در سطح فروشگاه‌های استان چهارمحال و بختیاری، فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران، دوره ۱ ، شماره ۱، صفحات: ۱٥-۱۹.

٤. کریم، گ. (۱۳۸۰): شیر و فرآورده‌های آن، چاپ دوم، نشر واقعه، صفحات: ۱۹۹- ۱۸۰.

٥. مشایخی، م. (۱۳٦۹): آشنایی مقدماتی با تولید پنیر سفید، وزارت جهاد سازندگی، صفحات: ۷-۲.

6. Akin, N., Aydemir, S., Kocak, C. and Yildiz, M.A. (2003): Changes of free fatty acid contents and sensory properties of white pickled cheese during ripening, Food Chemistry, pp: 77-83.
7. AOAC. (1995): Official Methods of Analysis, AOAC International. 16th ed., Vol: 2, Chap: 33, Subchapter 7, Cheese, pp: 58-61.
8. Atlas, R.M. (2004): Handbook of Microbiological Media, 3rd ed., CRC Press, pp: 1945.
9. Aytac, S.A. and Ozbas, Z.Y. (1992): Isolation of *Yersinia enterocolitica* from Turkish Pickled White Cheese. Aust. J. Dairy Technol. 47(1): 60.
10. Aytac, S.A. and Ozbas, Z.Y. (1994): Survey of the Growth and Survival of Yersinia enterocolitica and *Aeromonas hydrophila* in Yogurt. Milchwissenschaft, 49(6): 322-325.

www.SID.ir

Archive of SID

11. Barrow, G.I. and Feltham, R.K.A. (2003): Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria, 3rd ed., Cambridge University Press, pp: 146-148.
12. Bozkurt, H. and Erkmen, O. (2001): Predictive modeling of *Yersinia enterocolitica* inactivation in Turkish Feta cheese during storage. Journal of Food Engineering, 47(2): 81-87.
13. Erkmen, O. (2000): Inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes* in Turkish white cheese during the ripening period, Journal of Food Engineering, 46(2):127-131.
14. Erkmen, O. (1997): Survival of virulent *Yersinia enterocolitica* during the manufacture and storage of Turkish Feta cheese. International Journal of Food Microbiology. 33(2-3): 285-292.
15. Frazier, W.C. and Westhoff, D.C. (1995): Food Microbiology. 4th ed., Tata McGraw-Hill, pp: 431-432.
16. Georgala, A., Moschopoulou, E. and Aktypis, A. (2005): Evolution of lipolysis during the ripening of traditional Feta cheese, Food Chemistry, 93(1): 73-80.
17. Gosting, D.C., Doyle, M.E., Steinhart, C.E. and Cochrane. B.A. (1990): Food Safety. Tata McGraw-Hill, pp: 412-418.
18. Guerzoni, M.E., Lanciotti, R., Torriani, S. and Dellaglio, F. (1994): Growth modelling of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* in food model systems and dairy products, International Journal of Food Microbiology, 24(1-2): 83-92.
19. Gulmez, M. and Given. A. (2003): Survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* 4b and *Yersinia enterocolitica* O: 3 in different yogurt and kefir combinations as prefermentation contaminant. PMID: 12911712 [PubMed - indexed for MEDLINE].
20. Haghighi, L. (1979): The first successful isolation and identification of *Yersinia enterocolitica* in Iran. PMID: 535378 [PubMed - indexed for MEDLINE].
21. Harrigan, W.F. (1998): Laboratory Methods in Food Microbiology, 3rd ed., Academic Press, pp: 189-191.
22. Harley, J.P. and Prescott, L.M. (2002): Laboratory Exercises in Microbiology. 5th ed., McGraw-Hill Companies, Inc. Turbidity Determination of Bacterial Numbers, pp: 120-121.
23. Hui, Y.H., Merle, D., Pierson, J. and Gorham, R. (2001): Foodborne Diseases Handbook. CRC Press LLC, Vol: 1, pp: 471-499.
24. Jay, J.M. (2003): Modern Food Microbiology: yersiniosis. Chapman and Hall LTD, 5th ed., pp: 590-597.
25. Karaioannoglou, P., Koidis, P., Papageorgioti, D. and Mantis, A. (1985): Survival of *Yersinia enterocolitica* during the manufacture and storage of Feta Cheese. Milchwissenschaft, 40, 204-206.
26. Tamagnini, L.M., de Sousa, G.B., González, R.D., Revelli, J. and Budde, C.E. (2005): Behavior of *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella typhimurium* in Crottin goat's cheese, International Journal of Food Microbiology, 99(2): 129-134.
27. Mac Faddin, J.F. (2000): Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, Lippincott Williams & Wilkins, pp: 113, 185 & 481.
28. Marianne, D.M. and Jeffrey, W.B. (2003): International Handbook of Foodborne Pathogens. Marcel Dekker, Inc., pp: 143-144.
29. Moustafa, M.K., Ahmed, A. and Marth, E.H. (1983): Occurrence of *Yersinia enterocolitica* in raw and pasteurized milk. J. Food Prot., 46: 276-278.
30. Moustafa, M.K., Ahmed, A. and Marth, E.H. (1983): Behavior of virulent *Yersinia enterocolitica* during manufacture and storage of Colby-like cheese. J. Food Prot. 46: 318-320.
31. Pouch, D.F. and Ito, K. (2001): Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3rd ed., American Public Health Association, Washington DC., pp: 53- 58 and 422-425.
32. Ray, B. (2004): Fundamental Food Microbiology. 3rd ed., CRC Press LLC, pp: 376-380.
33. Ross, T. and Nichols, D.S. (1999): Ecology of Bacteria and Fungi in Foods, Influence of Temperature. Academic Press, Australia: 455-459.
34. Soltan-Dallal, M.M., Tabarraie, A. and MoezArdalan, K. (2004): Comparison of four methods for isolation of *Yersinia enterocolitica* from raw and pasteurized milk from northern Iran. International Journal of Food Microbiology, 94(1): 87-91.
35. Varnam, A.H. (1996): Foodborne Pathogens: foods commonly involved in transmission of Yersinia. Wolfe published Ltd, pp: 143-144.
36. Zowghi, E. and Ebadi, A. (1986): Isolation and identification of *Yersinia enterocolitica* serotype 0:3 in cattle in Iran. Arch. Inst. Razi, pp: 36, 37, 79-83.

www.SID.ir