

بررسی آلودگی قارچی در یکی از کارخانه های تولید کننده پنیر اولترافیلتره

سولماز البرزی^۱، احمد کرباسی^۲

چکیده

سابقه و هدف: یکی از مهمترین نکات و اصول اولیه پنی‌سازی توجه به تولید بهداشتی و جلوگیری از هر گونه آلودگی می باشد. این تحقیق در یکی از کارخانه های تولید کننده پنیر UF با تولید ۲۱ تن در روز با این هدف تعیین میزان، نوع و منابع آلودگی قارچی انجام شد.

مواد و روش ها: برای تخمین شیوع آلودگی پنیر با ضریب اطمینان ۹۵٪، تعداد ۱۸۰ نمونه که دو ماه تاریخ انقضاء داشتند انتخاب و نگهداری شد. سپس در روز پنجاه و چهارم از آنها کشت میکروبیولوژی لازم به عمل آمد. برای بالارفتن دقت کار، نمونه گیری در سه نوبت در فصول سرد و گرم تکرار گردید و با بررسی مشخصات پرگنه و رنگ آمیزی اندام های زایشی جنس قارچ نیز مشخص گردید. جهت یافتن منابع آلودگی، نقاط زیر نیز از جهت آلودگی با قارچ بررسی شدند. شیرورودی، شیر عبوری از باکتریوفیژدوم، شیر عبوری از پاستوریزاتور، شیرغلیظ و پاستوریزه شده و تانک کالچر. از ظروف، کاغذ مومی، ورقه های آلومینیومی و مواد افزودنی در ساخت پنیر نیز کشت به عمل آمد. هوای کارخانه نیز با دو روش رسوبی و فیلتراسیون آزمایش شد.

یافته ها: میزان کل آلودگی قارچی پنیر UF در سه نوبت اول، دوم و سوم به ترتیب ۷۱٪، ۵۵٪ و ۴۸٪ بود که میانگین آلودگی قارچی ۶۰٪ محاسبه شد. قارچ *Penicillium* با میزان ۳۱٪ شایع ترین آلودگی و بعد از آن *A.niger* به میزان ۳۳٪، *Cladosporium* به میزان ۲۷٪، *Fusarium* به میزان ۲۶٪، *Alternaria* به میزان ۲۲٪ و *Paecilomyces* به میزان ۱۳٪ و قارچ های دیگر هر کدام کمتر از یک درصد مشاهده شدند. شیر ورودی به کارخانه ۱۰۰٪ آلودگی قارچی داشت که بعد از عبور از پاستوریزاتور، آلودگی قارچی آن به صفر رسید. مواد افزودنی، رنت ۱۶/۶٪، کالچر ترموفیل ۱۱٪، آنتی فوم ۵/۵٪، آنتی استیک ۵/۵٪، کالچر تروفیل صفر درصد و نمک صفر درصد آلودگی قارچی داشتند. ظروف مصرفی در خط بسته بندی ۴/۳٪، کاغذ ۸/۲۷٪، ورقه های آلومینیومی ۷/۱۶٪ و آب ۵/۵٪ آلودگی قارچی داشتند.

نتیجه گیری و پیشنهادات: علی رغم چند فاکتوری بودن علت آلودگی، با توجه به آلوده بودن صددرصد هوای کارخانه به قارچ *Penicillium* و با توجه به اینکه شایع ترین نوع آلودگی پنیر را قارچ *Penicillium* تشکیل داد، هوای کارخانه را می توان مهمترین عامل آلودگی به حساب آورد. به علت اینکه استفاده از مواد شیمیایی در لبنیات مجاز نیست، استفاده از روش فیزیکی پیشنهاد می شود.

مقدمه:

پنیر یکی از مواد غذایی اصلی و با ارزش به شمار می رود که نیاز بخش وسیعی از اقشار جامعه را برآورده می نماید. یکی از مهمترین نکات و اصول اولیه تولید پنیر توجه به تولید بهداشتی و جلوگیری از هرگونه آلودگی آن است. گزارشاتی مبنی بر آلودگی پنیر به انواع قارچ ها از جمله *P.citrinum* و *P.expansum* منتشر شده است (۱ و ۲). آلودگی پنیر به قارچ ها می تواند باعث مسمومیت غذایی، صدمات مختلف چشمی و کلیوی گردد (۳-۵). بنابراین با توجه به اهمیت تولید بهداشتی پنیر این تحقیق با اهداف زیر انجام شد:

الف) پی بردن به میزان آلودگی قارچی پنیرهای UF تولیدی. ب) مشخص نمودن نوع آلودگی قارچی.

ج) یافتن منابع آلودگی

مواد و روش ها

مدت لازم، نمونه هایی که مشخصاً روی آنها قارچ مشاهده گردید، به عنوان پنیر آلوده به ثبت رسید و با بررسی مشخصات پرگنه و رنگ آمیزی اندامهای زایشی، جنس قارچ تشخیص داده شد. در مورد پنیرهایی که از لحاظ ظاهری آلودگی نداشتند ۱۰ گرم پنیر به روش کاملاً سترون برداشته و در ۹۰ میلی لیتر نرمال سیلین حل شد و از این محلول آماده شده، ۱ میلی لیتر روی محیط کشت PDA کشت داده شد، پتری دیش ها در دمای ۲۵ °C نگهداری شدند و از روز سوم به مدت ۷ روز مورد بررسی قرار گرفتند و سپس جنس قارچ تشخیص داده شد. (۷) بعد از اثبات آلودگی پنیر و نوع آلودگی، جهت پی بردن به علل آلودگی خط تولید مورد ارزیابی قرار گرفت.

جهت بررسی آلودگی قارچی شیر قبل از ورود به محیط بسته بندی، از شیر ورودی، شیر عبوری از باکتریوفیژ، شیر عبوری از پاستوریزاتور و شیر تغلیظ شده نمونه برداری گردید و آزمایشها

خط تولید پنیر اولترافیلتره در کارخانه پنی‌سازی مورد مطالعه دارای ظرفیت تولید ۴۲۰۰۰ قوطی پنیر در دو شیفت کاری بود. در این تحقیق با این پیش فرض که شرایط در هر دو شیفت کاری یکسان است آزمایشها بر اساس تولیدی یک شیفت کارخانه انجام شد. برای اثبات وجود آلودگی و تخمین میزان آلودگی پنیر بر اساس روش Lot Quality Assurance (۹) از قوطی های پنیر نمونه برداری گردید و نوع آلودگی مشخص شد. جهت تخمین میزان آلودگی پنیر با ضریب اطمینان ۹۵٪، تعداد ۱۸۰ نمونه انتخاب شد. با توجه با اینکه هر قوطی پنیر تا دو ماه قابل مصرف می باشد، به مدت ۵۳ روز در دمای ۸ درجه سانتی گراد در محل نگهداری پنیرها در کارخانه نگهداری شدند. جهت بالارفتن دقت کار نمونه گیری در ۳ نوبت در فصول سرد و گرم تکرار شد. بعد از نگهداری پنیرها به

^۱ - مرکز تحقیقات میکروبیشناسی بالینی استاد عبدالوهاب البرزی

در زمان قبل از بسته بندی تمام شیرهای ورودی دارای آلودگی بودند. در این زمان بیشترین آلودگی مربوط به کپک *Penicillium* بود. ۷۰ درصد شیرها بعد از عبور از باکتوفیوژ دارای آلودگی بودند و بیشترین آلودگی در این مرحله نیز مربوط به کپک *Penicillium* بود. در شیر عبوری از پاستوریزاتور و شیر تغلیظ و پاستوریزه شده هیچگونه آلودگی دیده نشد. در بررسی مواد مورد استفاده در ساخت پنیر مشخص شد که میزان آلودگی در ترموفیل ۱۱٪، (قارچ *Cladosporium*)، اسپری آنتی استیک ۵/۵٪ (قارچ *A. niger*)، آنتی فوم مصرفی ۵/۵٪ (قارچ *Rhizopus*)، رنت مورد استفاده در خط تولید پنیر ۱۶/۶٪ (قارچ های *A. niger, Rhizopus*)، مزوفیل و نمک مصرفی در ساخت پنیر هیچگونه آلودگی قارچی نداشتند.

میزان آلودگی به کپک در هوای تونل ۱۰۰٪، هوای محیط ۱۰۰٪، کاغذ ۷/۸٪، ورق آلومینیومی ۶٪، ظرف ۴٪ و آب ۶٪ بود.

میزان آلودگی به مخمر در هوای تونل ۶۰٪، ورق آلومینیومی ۱/۴ درصد، کاغذ و ظرف هرکدام ۰/۶ درصد بود. هوای محیط و آب هیچگونه آلودگی به مخمر نداشتند.

از ۱۸۰ کاغذی که هنوز در خط تولید قرارنگرفته بود ۲/۷٪ آلودگی به قارچ *Cladosporium, Alternaria* دیده شد. در نوبت سوم نیز روی ۱۸۰ عدد ورقه آلومینیومی موجود در بسته بندی که هنوز در خط بسته بندی قرار نگرفته بود، آزمایش صورت گرفت که هیچگونه آلودگی قارچی مشاهده نشد. آب مورد استفاده در محیط بسته بندی ۵/۵٪ آلودگی به کپک *Penicillium* نشان داد. هوای محیط بسته بندی که شامل هوای آزاد سالن بسته بندی و هوای تونل انعقاد پنیری با استفاده از روش های *Membrane filtration, Sedimentation* به ترتیب آلوده به قارچ *Penicillium* (۱۰۰٪) و قارچ *Penicillium* (۱۰۰٪) و *A.*

در سه نوبت زمانی مختلف تکرار شدند. کشت های مزوفیل و ترموفیل آنتی فوم، مایه پنیر و نمک مصرفی در ساخت پنیر نیز در سه نوبت زمانی مختلف مورد آزمایش قرار گرفتند. همچنین ۱۸۰ عدد از هرکدام از ظروف بسته بندی ورقه های آلومینیومی و کاغذهای مومی مورد استفاده در بسته بندی پنیر به طور تصادفی و با روش استریل از خط بسته بندی برداشته و مورد آزمایش قرار گرفتند. برای بالارفتن دقت کار، این آزمایش دو بار در مدت زمانهای متفاوت انجام شد و جهت اطمینان از آلوده نبودن اولیه آنها، همین آزمایش در مورد ظروف، کاغذها و ورقه های آلومینیومی دست نخورده انجام شد. آب مورد استفاده در محیط بسته بندی پنیر نیز ۳ مرتبه در زمانهای متفاوت، جهت بررسی آلودگی قارچی مورد آزمایش قرار گرفت. آلودگی هوای محیط بسته بندی و تونل انعقاد پنیر نیز توسط دو روش رسوبی و فیلتراسیون در روزهای متفاوت مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها

میزان کل آلودگی پنیر در سه نوبت زمانی متفاوت، دو مرتبه در آذرماه به فاصله زمانی دو هفته و یک مرتبه در اردیبهشت ماه مورد بررسی قرار گرفت. میزان آلودگی در نوبت اول ۷۱٪ (۶۰٪ به کپک و ۱۱٪ به مخمر)، در نوبت دوم ۵۵٪ (۳۹٪ به کپک و ۱۶٪ به مخمر) و در نوبت سوم ۴۸٪ (۴۰٪ به کپک و ۸٪ به مخمر)، با میانگین آلودگی ۶۰٪ بود.

با انجام آزمون آماری (Pearson Chi-Square) مشخص شد که آلودگی در نوبت اول به طور معنی داری بالاتر از نوبت دوم و سوم است ($P < 0.0008$). بین آلودگی های نوبت دوم و سوم تفاوت قابل ملاحظه ای وجود نداشت. *Penicillium* با میزان ۳۱٪ بیشترین قارچ جدا شده بود. قارچهای *Paecilomyces, Alternaria, Fusarium, A. niger* ترتیب ۶/۳، ۲/۳، ۲/۲ و ۱/۳ درصد قارچهای جدا شده از پنیر را تشکیل می دادند. قارچهای *Aurobazidium, Rhizopus* نیز به *Mucor, Peyronelae, Aposphaeria, Phoma* نیز به مقادیر کمتر از ۱٪ از پنیر جدا شدند (جدول ۱) *niger* (۳۰٪) بود.

بحث:

اکراتوکسین باشد که این زهرابه می تواند باعث صدمات کلیوی در انسان شود. (۲ و ۶)

قارچ *Cladosporium* می تواند عفونت های چشمی و ابسه مغزی در انسان را به همراه داشته باشد. قارچ *Fusarium* می تواند عفونت چشمی به همراه داشته باشد (۴) که در سال ۱۹۹۲ Fedo, Hocking این قارچ را از پنیر چدار جدا نمودند. (۲) قارچ *Alternaria* می تواند عفونت های چشمی به همراه داشته باشد و با ترشح سموم، مسمومیت غذایی ایجاد کند. (۵) قارچ *Paecilomyces* می تواند در بیماران با نقص ایمنی باعث بیماری قارچی کشنده شود.

با توجه به آلودگی قارچی بالای شیر ورودی و با توجه به اینکه شیر بعد از عبور از پاستوریزاتورها و هنگام ورود به محیط بسته بندی هیچ گونه آلودگی قارچی نداشته است، به نظر می رسد که این کارخانه از لحاظ فرایند پاستوریزاسیون هیچ مشکلی نداشته و

هرچند که آلودگی در کارخانه غیر قابل اجتناب است، ولی میزان آلودگی در این کارخانه بیش از حد انتظار می باشد. گونه های مختلف قارچ *Penicillium* شناسایی شد که از بین گونه های شناسایی شده ۳ گونه *P. verrucosum, P. citrinum, P. expansum* قابلیت تولید زهرابه را دارند. به طوری که *P. expansum* عامل اصلی مواد پاتولین و سم سیتترین می باشد که در سال ۱۹۹۲ Fedo, Hocking این قارچ را از پنیر جدا نمودند. (۲) *P. citrinum* عامل اصلی مولد زهرابه سیتترین است که مصرف طولانی مدت این زهرابه توسط انسان باعث صدمات کلیوی می شود. (۱ و ۸) *P. verrucosum* نیز قادر به تولید اکراتوکسین A (سمی ترین نوع اکراتوکسین) می باشد. (۳) قارچ *A. niger* در مواردی می تواند عامل مولد زهرابه

پیشنهادهات:

مایکوتوکسین ها ترکیبات نسبتاً پایدار هستند که جهت جلوگیری از آلودگی به این ترکیبات از دو روش شیمیایی و فیزیکی می توان استفاده کرد. با توجه به اینکه استفاده از مواد شیمیایی در لبنیات مجاز نیست، روش فیزیکی باید مورد استفاده قرار گیرد. بدین منظور پیشنهاد می شود که:

- 1- جهت استریل نمودن هوای تونل انعقاد در دو قسمت ورودی و خروجی تونل از فیلترهای هپا استفاده شود.
- 2- از مواد افزودنی مورد استفاده در ساخت پنیر قبل از مصرف، نمونه برداری و در صورت مشاهده آلودگی جهت رفع این مشکل اقدامات لازم صورت پذیرد.
- 3- از آبهای فیلترشده استفاده گردد.
- 4- کاغذ و ظروف قبل از استفاده پی در پی نمونه برداری شوند و محل قراردادن آنها به طور متناوب ضدعفونی گردد. همچنین حین قرار دادن آنها در خط بسته بندی، موازین بهداشتی رعایت گردد.

سپاسگزاری:

از همکاری آقایان بهمن پورعباس، منوچهر رسولی، جلیل نصیری، مهدی کلانی و خانم پریسا بدیعی که در انجام این تحقیق صمیمانه مرا یاری نمودند سپاسگزارم.

شیر ورودی به محیط بسته بندی عاری از هرگونه آلودگی قارچی است. با انجام آزمایش بر روی مواد بسته بندی شده مشخص شد که ظروف از ابتدا مقداری آلودگی داشته ولی آلودگی اصلی در حین قرار گرفتن در خط تولید صورت می گیرد. ورقه های الومینیومی قبل از ورود به کارخانه آلودگی نداشتند و آلودگی آنها در حین قرار گرفتن در خط بسته بندی صورت می گیرد. همچنین کاغذهای مومی نیز از ابتدا دارای آلودگی قارچی بودند.

آلوده بودن آب مصرفی در محیط بسته بندی نیز می تواند منبعی جهت آلودگی پنیر باشد. همچنین آلوده بودن مواد مصرفی از جمله مایه پنیر، آنتی فوم و آنتی استیک می تواند عواملی از آلودگی پنیر به قارچ باشند.

با توجه به موارد ذکر شده علت آلودگی پنیر چندفاکتوری می باشد، ولی با توجه به آلوده بودن ۱۰۰٪ هوای کارخانه به *Penicillium*، بخصوص آلوده بودن تونل انعقاد پنیر که ۲۰ دقیقه پنیر به صورت سرباز در آن محل می ماند و با توجه به اینکه شایعترین نوع آلودگی پنیر را کپک *Penicillium* تشکیل می دهد، هوای کارخانه را می توان مهمترین عامل آلودگی به حساب آورد.

REFERENCES

- 1- Bailly J. D, Querin A, Benard G and Guerre D. Citrinin production and stability in cheeses. J. Food Prot. (2002). 65(8): 1317-21.
- 2- Hocking A. D and feado M. Fungi causing thread mould spoilage of vacume packaged cheddar cheese during maturation. Int. J. Food Microbiol. (1992). 16: 123- 128.
- 3- Rippon J. W. Aspergillosis In " Medical Microbiology." M. Wonsieswicz, (ed) W. B. Saunders company New York. (1988).pp. 618-650.
- 4- King D. White cheeses by ultrafiltration Food Tech. In New Zealand (1986). (Abst).
- 5- Moking A. D and Pitt J. I. Primary keys and miscellaneous fungi. In Fungi and Food Spoilage. "Blackie Academic and Professional, New York (1997). Pp.59- 170.
- 6- King A. D and Achade J. *Alternaria* toxins and their importance in Food. J. Food Prtoct. (1984). 47(11): 886- 901.
- 7- Larscn T. D and Svendsen A. bioclemical Characterization of Ochratoxin A producing strains of the Genus *Penicillium*. Applied and Enviromental Microbiology. (2001). 67(8): 3630-3635.
- 8- Shahram R. P and Salunkhe K. Introduction to Mycotoxins. In "Mycotoxins and Phytotoxins." CRC Press, Inc(1991). Pp: 3- 13.
- 9- Naladez J. and Brown L. D. Using Lot Quality Assurance sampling to assess measurements for growth monitoring in a developing countries primary health care system Int. J. Epidemiol. (1996) 9: 381- 387.

UF در سه نوبت (هر نوبت ۱۸۰ نمونه) جدول ۱- انواع قارچهای موجود در پنیر

نوع قارچ	نوبت اول	نوبت دوم	نوبت سوم	جمع الودگی هر قارچ	درصد آلودگی هر قارچ
<i>Penicillium</i>	۸۰	۳۴	۵۷	۱۷۱	۳۱/۶۰
<i>A.niger</i>	۴	۱۳	۱	۱۸	۳/۳۰
<i>Fusarium</i>	۵	۶	۳	۱۴	۲/۶۰
<i>Alternaria</i>	۶	۴	۲	۱۲	۲/۲۰
<i>Penicillium</i>	-	۳	-	۴	۰/۷۴
<i>A.niger & phoma</i>	-	۱	-	۳	۰/۵۵
<i>Cladosporium</i>	۶	۱	۸	۱۵	۲/۷۷
<i>Paecilomyces</i>	۵	۲	-	۷	۱/۳
<i>Aposphaerie</i>	-	۱	-	۱	۰/۱۸
<i>Peyronellae</i>	-	۱	-	۱	۰/۱۸
<i>Mucor</i>	-	۱	-	۱	۰/۱۸
<i>Rhizopus</i>	۱	-	-	۱	۰/۱۸
<i>Aurabazidium</i>	-	-	۱	۱	۰/۱۸
<i>Aspergillus & Cladosporium</i>	-	-	۱	۱	۰/۱۸
تعداد کل	۱۷۰	۷۰	۷۳	۲۵۰	۴۶/۱۴

Archive of SID