مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، (JSIAU)
شماره ٦٦ زمستان ١٣٨٦

شمارش کلونی های باکتریایی در دوکفه ای *Anodonta cygnea* در تالاب انزلی (منطقه سلکه) در دو فصل پاییز و بهار (١٣٨٤ – ١٣٨٣)

آریا اشجع اردلان*
دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی تهران
ژاله خوش خو
دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی تهران
سهراب معینی
پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، گروه علوم و صنایع غذایی. کرج صندوق پستی
داود بهزادی
دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی تهران

چکیده

تالاب انزلی اکوسیستم با اهمیتی است که در پرورش و رشد آبزیان در حاشیه جنوبی دریای خزر نقش با ارزشی دارد. نرمتنان از جمله کفزیان این اکوسیستم هستند که در این میان دوکفه ای ***Anodonta cygnea*** نیز جایگاه ویژه ای را دارا می باشد. با توجه به اهمیت دوکفه ایها در صنایع غذایی، طبی و ... لذا شمارش کلونیهای باکتریایی این آبزیان می تواند در استفاده بهینه از آنها مفید باشد.

در این مطالعه از منطقه سلکه تالاب انزلی که دریافت کننده آ ب حوضه آبریز بخش جنوبی تالاب می باشد در فصل پاییز سال ١٣٨٣ و فصل بهار سال ١٣٨٤ نمونه برداری صورت گرفت. دلیل انتخاب منطقه سلکه وجود صدف دوکفه ای آنودونت در این منطقه و عدم دسترسی به آن در فصل پاییز در دیگر مناطق بوده است.

پس از نمونه برداری، صدفها بطور زنده به آزمایشگاه منتقل و بیومتری گردیدند وپارامترهای طول، عرض، ارتفاع، وزن کل و وزن تر قسمتهای نرم داخلی آنها مورد سنجش قرار گرفت و سپس شمارش کلونیهای باکتریایی نیز در بافت نرم این دوکفه ای (بصورت تازه و منجمد) و در معده آن مورد بررسی قرار گرفت. شمارش کلونی های باکتریایی در این دوکفه ای به روش **POUR PLATE** تعیین گردید.

نتایج بدست آمده نشان داد که در دو فصل پاییز و بهار کلونی باکتریها در معده دوکفه ای بیشتر از بافت نرم دوکفه ای بصورت تازه و در نمونه تازه بیشتر از نمونه منجمد می باشد.

* عهده دار مکاتبات

Archive of SID
www.SID.ir

تعداد باکتریهای هتروتروف در دو فصل پاییز و بهار به ترتیب در هر گرم از بافت نرم دوکفه ای (تازه) 4×10^5 و 7×10^5 ، در نمونه بافت نرم (منجمد) 1×10^3 و در نمونه معده در دو فصل پاییز و بهار به ترتیب 7×10^5 و 9×10^5 بود.

واژه های کلیدی: **باکتری، دوکفه ای، *Anodonta cygnea*، منطقه سلکه، تالاب انزلی.**

مقدمه

غذا و تغذیه بی شک مهمترین موضوع مورد بحث دنیای امروز را تشکیل می دهند و غذاهای دریایی به طور سنتی بخش مهمی از رژیم غذایی انسانها را در بیشتر نقاط جهان به خود اختصاص داده و در بعضی از کشورها به عنوان مهمترین منبع تامین پروتئین حیوانی شناخته شده است [۱]

دنیای میکروب ها جهانی زنده ولی غیر قابل رویت می باشد به این جهت است که علم میکروب شناسی از سایر علوم متمایز است [۲].

صدمات و لطمات ناشی از کاهش ارزش غذایی فرآورده های دریایی به ویژه در کشورهای جهان سوم که از امکانات و تجهیزات پیشرفته محروم می باشند، باعث هدر رفتن مواد غذایی می شود در صورتی که با تدوین برنامه های واقع بینانه وانجام اقدامات لازم و به موقع در زمینه های نگهداری وعمل آوری می توان تا حد زیادی از ضایعات جلوگیری نمود [۳].

یک چهارم از منابع غذایی جهانی از طریق فعالیت میکروبی تلف شده و بیش از هشتاد میلیون مورد شیوع بیماری در انسان مربوط به غذاهای دریایی در آمریکا گزارش شده است. با توجه به این مهم که فراهم کردن غذای سالم از نظر جنبه های بهداشتی و شیمیایی دارای ارزش فراوان بوده و در دنیای امروز تنها محصول خوب و مرغوب می تواند جایی برای خود باز کند، تعیین کلونیهای باکتریایی و کنترل صحیح مواد غذایی در مراحل مختلف تولید، تهیه وتوزیع حائز اهمیت می باشد.

بطور کلی یکی از کفزیان مهم تالاب انزلی، نرمتنان می باشند و آنها به مقدار زیادی در مقابل تغییرات زیست محیطی واکنش نشان می دهند و این رابطه هم در سازشهای فیزیولوژیک و هم در ساختار پوسته منعکس می گردد. این موجودات همچنین دارای اهمیت و استفاده اقتصادی هستند و منبعی برای تولید مروارید بوده و گوشت آنها نیز مصارف خوراک انسانی و حیوانی از جمله ماهیان و ماکیان دارد. این موجودات در مطالعات دیرینه شناسی نیز از اهمیت ویژه ای برخوردار هستند[٤].

یکی از دوکفه ایهای مهم تالاب انزلی صدف *Anodonta cygnea* است که در سال ۱۳۷۱ توسط مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان بررسی کاملی روی شناسایی، میزان رشد، تولید مثل، تغذیه و تاثیر برخی فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی بر روی زیست آن و امکان تهیه مروارید از آن انجام شد [۵].

شمارش کلونی های باکتریایی این دوکفه ای به روش POUR PLATE مورد بررسی قرار گرفت تا با توجه به ارزش غذایی این صدف، در صورت آلوده نبودن، روشهای بهره بردای مناسب از این آبزی را بعنوان غذایی مناسب برای صدور به سایر کشورها از جمله فرانسه، ژاپن، آمریکا و ... ارائه نمود.

Archive of SID

www.SID.ir

روش کار

از منطقه سلکه (بخش شرقی تالاب) تعدادی صدف آنودونت در فصل پاییز سال ۱۳۸۳ و فصل بهار سال ۱۳۸٤ به صورت تصادفی نمونه برداری گردید (شکل ۱). نمونه برداری از این صدف با دست و یا بوسیله ساچوک ٤٠ x ۲۰ سانتی متر انجام گردید. بعد از نمونه برداری از منطقه، نمونه ها را به صورت زنده به تهران منتقل کرده و سپس نمونه ها بلافاصله برای بیومتری به آزمایشگاه منتقل و تعیین میانگین اندازه طول، عرض و ارتفاع بوسیله کولیس ۰/۰۱ میلی متر و تعیین وزن کل و تر قسمتهای نرم بدن آنها با ترازوی دیجیتال ۰/۰۱ گرم صورت گرفت.

برای تعیین کلونیهای باکتریایی از روش POUR PLATE استفاده گردید (شکل ۲) (٦).

روش شمارش صفحه ای (Pour plate method)

روش شمارش صفحه ای متداولترین روش جهت نشان دادن کیفیت میکروبی مواد غذایی است که در اکثر موارد مبنای قضاوت کیفیت بهداشتی یک ماده غذایی می باشد ولی ارزش تشخیصی آن محدود است.

این روش در تعیین شرایط بهداشتی و کنترل حرارت ضمن تولید، شرایط حمل و نقل و نگهداری محصول، تعیین میزان فساد ماده اولیه، قابلیت نگهداری، شرایط خارج شدن ماده غذایی منجمد از حالت انجماد یا بالا رفتن درجه حرارت یخچالی که مواد غذایی فساد پذیر در آن نگهداری می شود یا تشخیص احتمالی منابع آلودگی در ضمن تولید حائز اهمیت می باشند.

کاربرد شمارش صفحه ای از نظر کنترل استانداردهای بهداشتی موسسات تولید کننده مواد غذایی کشورهای صادر کننده برای مواد غذایی وارداتی حائز اهمیت می باشد.

لوازم و مواد مورد نیاز :

برای آماده سازی نمونه و تهیه رقت از ماده غذایی همگن شده استفاده می شود.

پلیت های شیشه ای (۱۰ x ۱۵ mm) یا پلاستیکی (۹ x ۱۵ mm).

پی پت های باکتریولوژیکی به اندازه های ۱، ۵ و ۱۰ میلی لیتر.

انکوباتور جهت گرم نگه داشتن محیط کشت در حرارت ۳۷ و ٤٥ درجه سانتی گراد.

پرگنه شمار

محیط کشت پلیت کانت آگار یا محیط کشت استاندارد روش آگار

ابتدا محیط کشت نوترینت آگار را تهیه و به همراه لوله های حاوی سرم فیزیولوژیک (در داخل پنج لوله آزمایش به میزان ۹ میلی لیتر ریخته شد) و در داخل اتوکلاو قرار گرفت وقتی فشار به ۱۵ اتمسفر (دمای ۲۵۰ درجه سانتی گراد) رسید مدت ۲۰ دقیقه در این دما می ماند.

از طرفی قیچی، پنس، چاقو، بشر ۲۵۰ میلی لیتر و پیپت ۱ میلی لیتر (تعداد حدود ۳۰ عدد) در داخل فور در دمای ۱۸۰ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت قرار گرفت تا استریل گردند.

Archive of SID

www.SID.ir

بخشی از میز آزمایشگاه با پنبه و الکل خوب تمیز شد و در دو طرف محیط مذکور دو شعله (شعله ها باید آبی بسوزد، شعله های آبی رنگ برای مرگ باکتریها لازم می باشد و در میکروبیولوژی از شعله های آبی رنگ استفاده می شود) روشن گردید.

نمونه ها به سه صورت مورد آزمایش قرار گرفتند، ابتدا نمونه ها به صورت تصادفی انتخاب گردیده، سپس با قیچی و پنس و چاقوی استریل دوکفه صدف از هم جدا گردید و بافت نرم نمونه داخل بشری که در فور استریل شده بود ریخته شد و با هاون استریل و اسکارپل استریل نمونه له گردید. بعد از هموژن کردن نمونه، یک گرم از نمونه در لوله آزمایش اول ریخته شد. ۱ گرم در ۹ میلی لیتر می شود، ۰/۱ رقت، با پیپت دیگر از لوله آزمایش اول ۱ میلی لیتر به لوله آزمایش دوم اضافه گردید در این صورت، رقت ۰/۰۱ می باشد و به همین ترتیب ۱ میلی لیتر با پیپت دیگر در لوله آزمایش سوم و از لوله سوم در لوله چهارم و از لوله آزمایش چهارم ۱ میلی لیتر در لوله آزمایش پنجم ریخته تا رقتهای ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۱ و ۰/۰۰۰۰۱ بدست آید. برای نمونه بافت نرم منجمد (حدود یک هفته درفریزر نگهداری شده است) و نمونه معده دوکفه ای هم مانند نمونه تازه، مراحل به همین صورت انجام گرفت (هر رقت با سه تکرار، برای سه نمونه در دو دمای مختلف برای هر فصل ۹۰ پلیت شمارش گردید) (شکل ۲) .

در پلیت ها مقدار یک میلی لیتر از رقت های ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۱ و ۰/۰۰۰۰۱ را منتقل کرده (این ترتیب در مواقعی که تعداد باکتریهای نمونه ماده غذایی را نمی توان تخمین زد اجرا می گردد)، هنگامی که حدود تقریبی تعداد میکروب ها در یک گرم یا یک میلی لیتر ماده غذایی مشخص نمی باشد حداقل سه پلیت از سه رقت باید کشت داده شود.

محیط کشت نوترینت آگار را بعد از خارج کردن از اتوکلاو، حرارت آن را به ٤٤ تا٤٦ درجه سانتی گراد رسانده و بعد از کنترل درجه حرارت به طوری که باکتری ها در نمونه رقیق شده از بین نروند بلافاصله مقدار ۱۰ تا ۱۵ میلی لیتر از محیط کشت در پتری دیش ها ریخته شد. سعی گردید که فاصله زمانی بین تهیه رقت ها و ریختن محیط کشت کمتر از ۲۰ دقیقه و ترجیحا کمتر از ۱۰ دقیقه باشد.

بلافاصله نمونه های رقیق شده و محیط کشت را با تکان دادن و چرخاندن پلیت ها مخلوط کرده، بدین ترتیب که ابتدا پلیت ها را پنج بار در جهت عکس عقربه های ساعت و پنج بار در جهت عقربه های ساعت چرخانده تا خوب مخلوط شوند.

بعد از اینکه محیط های کشت بصورت جامد در آمد، پلیت ها به طور وارونه قرار گرفتند زیرا اولا برداشتن آنها راحت تر است و ثانیا بخار آب موجود در درب آن روی محیط کشت نمی ریزد. سپس در انکوباتور در درجه حرارت ۳۷ و ٤٥ درجه سانتی گراد به مدت ٤٨ ساعت قرار گرفتند و بعد از ٤٨ ساعت خارج شدند و شمارش انجام شد.

محاسبه شمارش کلی میکروبی استاندارد :

کلونی های مربوط به سه پلیت از هر رقت با استفاده از کلونی شمار شمارش شدند و میانگین حسابی سه شمارش را بدست آورده و رقت مربوط به کلونی های بین ۳۰ تا ۳۰۰ را انتخاب نموده و طبق فرمول شماره ۱ میزان باکتری در هر گرم از ماده غذایی محاسبه گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

فرمول شماره ١:

$$N = \frac{\epsilon C}{(n1 + 0.1\, n2)\, d}$$

N = تعداد کلی باکتریها

ϵc = مجموع باکتریهای شمارش شده درهر پلیت

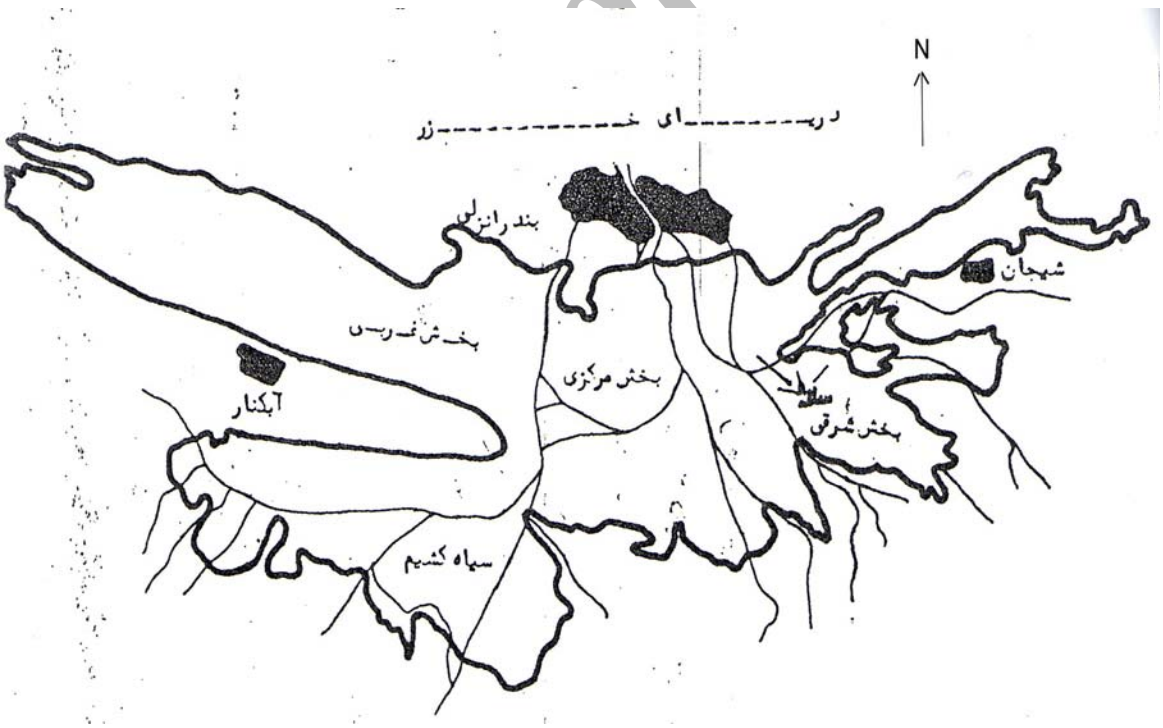
n1 = تعداد پلیت های شمارش شده در اولین رقت انتخابی

n2 = تعداد پلیت های شمارش شده در دومین رقت انتخابی

d = اولین رقت شمارش شده

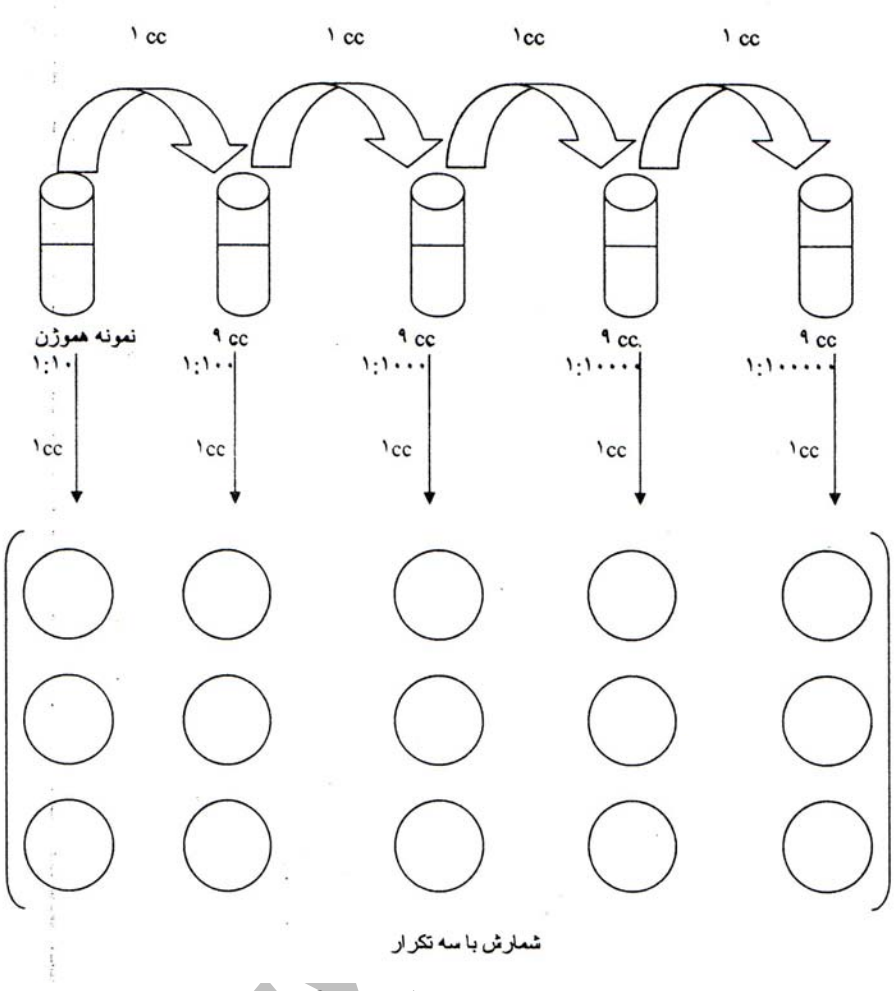
در این روش حتما باید حداقل دو پلیت شمارش شود حتی اگر یکی از آنها دارای کمتر از ٣٠ یا دیگری بیش از ٣٠٠ کلونی باشد (٢).

اطلاعات بدست آمده در برنامه EXCEL پردازش گردید.



شکل (١): موقعیت تالاب انزلی

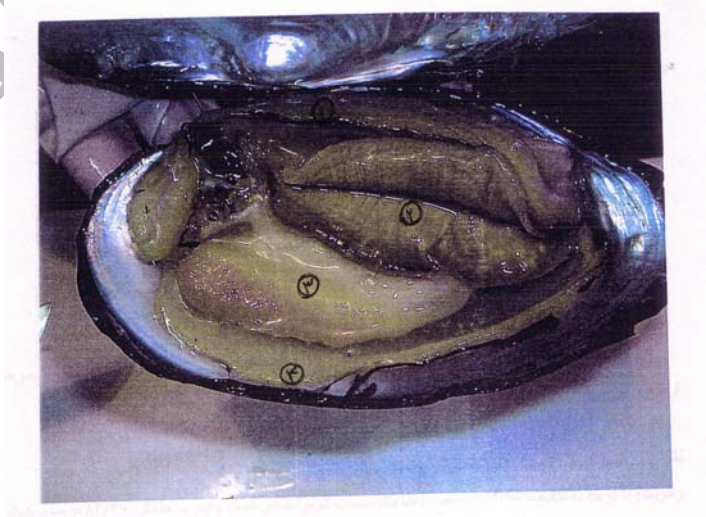
www.SID.ir



شکل (۲): روش POUR PLATE

نتایج

در جدول (۱): میانگین بیومتری صدف آنودونت منطقه سلکه در دو فصل پاییز و بهار نشان داده شده است. شکل ۳ تصویری از بافت نرم داخلی صدف را نشان می دهد.



شکل (۳): بافت نرم *Anodonta cygnea*

Archive
www.SID.ir

١- مانتو (لبه فوقانی)، ٢- آبشش، ٣- پای عضلانی، ٤- مانتو (لبه زیرین)

جدول (١): میانگین بیومتری صدف آنودونت سلکه در دو فصل پاییز و بهار (١٣٨٤- ١٣٨٣).

فصل	طول (سانتی متر)	عرض (سانتی متر)	ارتفاع (سانتی متر)	وزن کل (گرم)	وزن تر قسمتهای نرم داخل صدف (گرم)
پاییز	١١/٢٩	٥/٨٥	٤/٥٥	١٤٨/٠٨	٧٠/٩٢
بهار	١٠/٩٣	٥/٣٩	٤/٣١	١٢٨/٣٣	٦٠/٠١
متوسط	١١/١١	٥/٦٢	٤/٤٣	١٣٨/٢٠	٦٥/٤٦

طبق نتایج بدست آمده، آنودونت منطقه سلکه در فصل پاییز نسبت به فصل بهار دارای میانگین طول، عرض و ارتفاع و نیز میانگین وزن بیشتری می باشد.

جداول ٢ و ٣ نتایج شمارش کلونیهای باکتریایی را بعد از مدت زمان ٤٨ ساعت نگهداری در انکوباتور(37^{o} c) در دو فصل پاییز و بهار را نشان می دهد.

جدول (٢): شمارش باکتریهای بافت نرم صدف آنودونت در دمای 37^{o} c، پاییز ١٣٨٣.

رقت / نمونه	٠/١	٠/٠١	٠/٠٠١	٠/٠٠٠١	٠/٠٠٠٠١
(نمونه تازه)					
١	١٤٧٦٤	٥٦٢٤	١٧١	٢	٠
٢	١٥٩٠٤	٤٩٨٢	٢٧٥	٣	١
٣	١٦٥٨٢	٤٢٦٢	١٩٠	١	٠
متوسط	١٥٧٥٠	٤٩٥٦	٢١٢	٢	٠
SD	٩١٨/٧	٦٨١/٣	٥٥/٣	١	٠/٥
(نمونه منجمد)					
١	١٠١	١٠	٧	٠	٠
٢	١٠٠	١٥	٤	٢	٠
٣	١٠٠	٥	١	١	٠
متوسط	١٠٠	١٠	٤	١	٠
SD	٠/٥٧	٥	٣	١	٠
(نمونه معده)					
١	٥٠٦٢٤	٧٨٤٨	٧٢٨	٩٦	١٠
٢	٣٣٩٦٥	٧٩١٢	٦٨٠	٥٢	٩
٣	٣٣٧٠١	٨١٢٤	٧٢٠	٨٤	٩
متوسط	٣٩٤٣٠	٧٩٦١	٧٠٩	٧٧	٩
SD	٩٦٩٥/١	١٤٤/٤٦	٢٥/٧١	٢٢/٧٤	٠/٥٧

با استفاده از فرمول ١ میزان باکتریها را در هر گرم از ماده غذایی در نمونه تازه بدست آوردیم :

Archive of SID

www.SID.ir

$$N=\frac{٥٦٢٤+٤٩٨٢+٤٢٦٢+١٧١+٢٧٥+١٩٠}{(٣+٣/٣)\times ٠/٠١}=٤\times ١٠^{٥}$$

طبق محاسبات فوق در هر گرم از بافت نرم تازه صدف آنودونت در فصل پاییز تعداد ٤ X ١٠ ٥ باکتری هتروتروف موجود است.

با استفاده از فرمول شماره ١ و با محاسبات انجام شده مشخص گردید که در هر گرم از بافت نرم صدف آنودونت (منجمد) تعداد ١ X ١٠ ٣ و در نمونه معده صدف آنودونت تعداد ٧ X ١٠ ٥ باکتری هتروتروف در فصل پاییز موجود بود.

جدول (٣): شمارش باکتریهای بافت نرم صدف آنودونت در دمای $37\ ^{o}C$، بهار ١٣٨٤.

رقت / نمونه	٠/١	٠/٠١	٠/٠٠١	٠/٠٠٠١	٠/٠٠٠٠١
(نمونه تازه)					
١	٢١٢٣٢	٦٧٢٠	٦٦٨	١	٠
٢	٢٢٢٧٢	٨٨٠٦	٥٦٤	٠	٠
٣	٢٠٤٠٠	٦٥١٠	٧٧٦	٢	١
متوسط	٢١٣٠١	٧٣٤٥	٦٦٩	١	٠
SD	٩٣٧/٩	١٢٦٩/٣	١٠٦	١	٠/٨
(نمونه منجمد)					
١	١٧٠	١٤	٦	١	٠
٢	١٩٤	٩	٤	١	١
٣	١٤٩	١١	٢	٠	٠
متوسط	١٧١	١١	٤	١	٠
SD	٢٢/٥	٢/٥	٢	٠/٥	٠/٥
(نمونه معده)					
١	٤٦٤٤٠	٨٣٨٠	٩٢٨	٩٦	١٤
٢	٤٩٦٧٢	٨٤٨٠	٨٩٠	٧٥	١٠
٣	٤٨٠٥٦	٩٩١٢	٩٤٠	٨٤	١٢
متوسط	٤٣٠٥٦	٨٩٢٤	٩١٩	٨٥	١٢
SD	١٦١٦	٨٥٧	٢٦/١	١٠/٥٣	٢

با استفاده از فرمول شماره ١ و با محاسبات انجام شده مشخص گردید که در هر گرم از نمونه تازه صدف آنودونت در فصل بهار تعداد ٧ X ١٠ ٥ باکتری هتروتروف (شکل 4)، درهر گرم ازبافت نرم صدف آنودونت

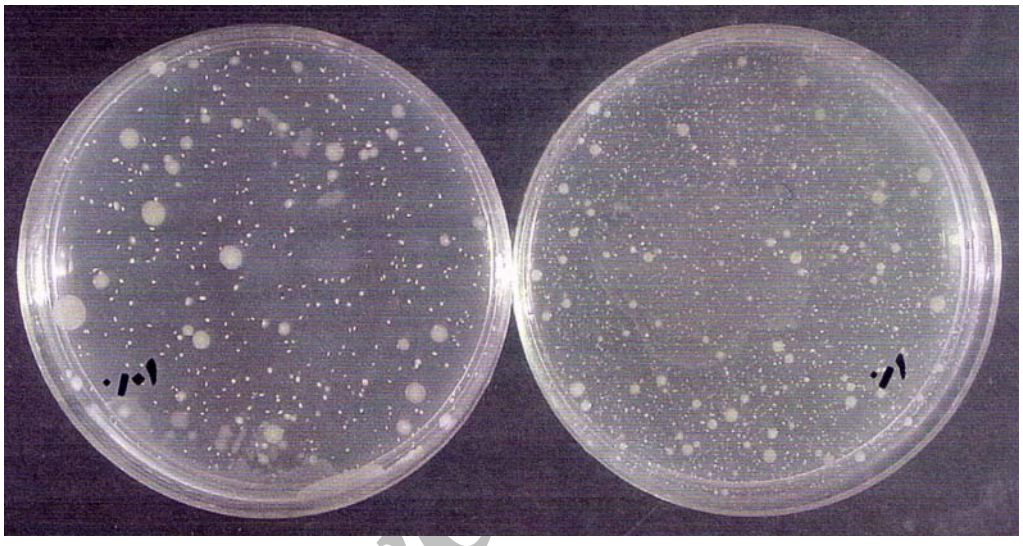
Archive of SID

www.SID.ir

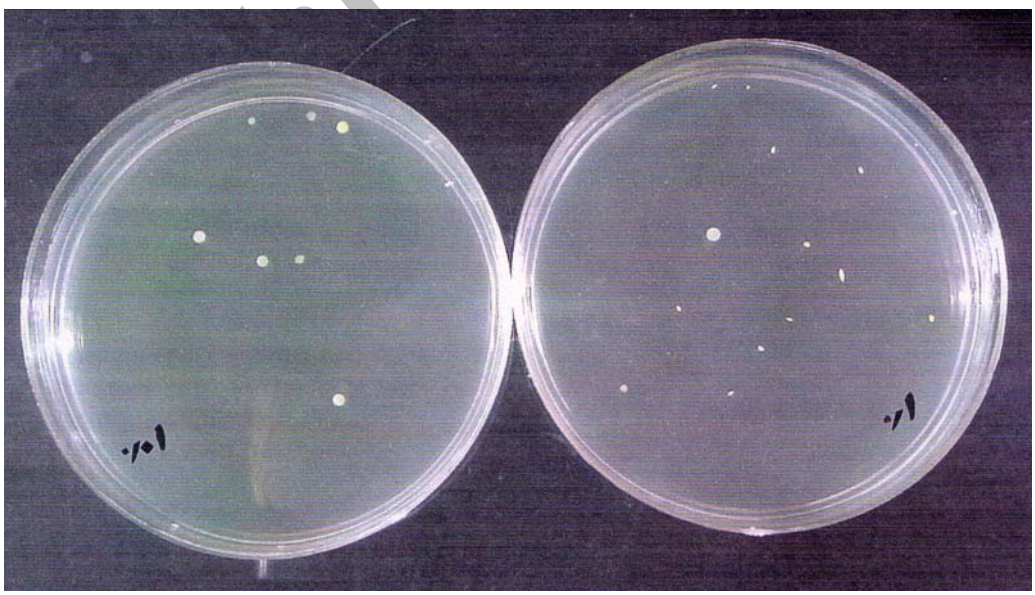
(منجمد) تعداد 1×10^{3} (شکل 5) و در نمونه معده تعداد 9×10^{5} باکتری هتروتـروف در فـصل بهـار موجـود بود.

نتایج جداول ۲ و ۳ نشان داد که در فصل بهار در نمونه زنده و نمونه معده تعداد کلونیهای باکتریـایی نـسبت بـه فصل پاییز بیشتر می باشد همچنین در نمونه معده دوکفه ای نسبت به نمونه زنده و نمونه منجمـد تعـداد کلونیهـای باکتریایی بیشتر می باشد.

نمونه معده > نمونه تازه > نمونه منجمد



شکل شماره ٤ : کلونیهای باکتریایی در بافت تازه به ترتیب در دو رقت ۰,۱ و ۰,۰۱ در بهار در ۳۷°



شکل شماره ٥ : کلونیهای باکتریایی در نمونه منجمد به ترتیب در دو رقت ۰,۱ و ۰,۰۱ در بهار در ۳۷۰

www.SID.ir

جداول ٤ و ٥ نتایج شمارش کلونیهای باکتریایی را در دمای c ٤٥^{o} در دو فصل پاییز و بهار را نشان می دهد.

جدول (٤): شمارش باکتریهای بافت نرم صدف آنودونت در دمای c^{o} ٤٥، پاییز ١٣٨٣.

رقت / نمونه	٠/١	٠/٠١	٠/٠٠١
(نمونه تازه)			
١	٧	١	٠
٢	٦	٣	٠
٣	٥	٥	٠
میانگین	٦	٣	٠
SD	١	١	٠
(نمونه منجمد)			
١	٢	٠	٠
٢	١	٠	٠
٣	٢	٠	٠
میانگین	٢	٠	٠
SD	٠/٥	٠	٠
(نمونه معده)			
١	٢٠	٥	٠
٢	١٦	٥	٠
٣	٢١	٢	٠
میانگین	١٩	٤	٠
SD	٢/٦	١/٧	٠

Archive of SID

www.SID.ir

جدول (٥): شمارش باکتریهای بافت نرم صدف آنودونت در دمای ^{o}c ٤٥، بهار ١٣٨٤.

رقت / نمونه	٠/١	٠/٠١	٠/٠٠١
(نمونه تازه)			
١	١١	٢	٠
٢	٩	١	١
٣	٧	٤	٠
میانگین	٩	٢	٠
SD	٢	١/٥٢	٠/٥
(نمونه منجمد)			
١	٥	١	١
٢	٤	٣	٠
٣	٣	٢	٠
میانگین	٤	٢	٠
SD	١	١	٠/٥
(نمونه معده)			
١	١٩	٢	٢
٢	٢٢	٥	١
٣	٢٠	٢	١
میانگین	٢٤	٣	١
SD	١/٥	١/٧	٠/٥

در رقتهای ٠/٠٠٠١ و ٠/٠٠٠٠١ در دو فصل پاییز و بهار کلونی های باکتری مشاهده نشد.

نتایج جداول ٤ و ٥ نشان دادند که در فصل بهار در نمونه زنده تعداد کلونیهای باکتریایی نسبت به فصل پاییز بیشتر می باشد و به ترتیب در فصل پاییز و بهار تعداد ٨٠ و ١٠٠ باکتری هتروتروف در هر گرم ثبت گردید، در هر گرم از ماده غذایی در نمونه منجمد در دو فصل پاییز و بهار به ترتیب ٢٠ و ٥٠ باکتری موجود بود همچنین با محاسبات مربوطه با فرمول شماره ١ مشخص گردید که در هر گرم از ماده غذایی تعداد ٢×١٠^{٢} باکتری هتروتروف موجود می باشد.

بحث

دو کفه ای آنودنت در سالهای گذشته در اکثر پهنه های آبی تالاب بین المللی انزلی وجود داشته است (٧) . در پاییز ١٣٨٣ طبق نمونه برداری اولیه مشخص گردید فقط در منطقه سلکه امکان دسترسی به این نمونه وجود دارد،

Archive of SID

www.SID.ir

که نمونه مورد مطالعه از همین منطقه برداشت گردید. دستاوردهای این مقاله بخشی از پروژه تحقیقاتی تعیین ارزش غذایی، بررسی میزان فلزات سنگین و بررسی کلونیهای باکتریایی در بافت نرم دوکفه ای آنودنت در تالاب انزلی بوده است که با توجه به اینکه این دوکفه ای در سایر کشورها ارزش خوراکی دارد بررسی میزان کلونیهای باکتریایی این گونه با ارزش میتواند دیدگاه مناسبی در خصوص میزان سلامت این نمونه در تالاب انزلی ارائه نماید. نتایج این پروژه میتواند مورد استفاده بخشهای اجرایی که تصمیماتی جهت عمل آوری و صدور آن در آینده به خارج از کشور دارند ، قرار گیرد. با توجه به نتایج بدست آمده از آزمایشات مختلف صورت گرفته روی بافت نرم صدفهای مورد مطالعه در دو فصل پاییز و بهار مشاهده می شود که بعد از ٤٨ ساعت نگهداری در انکوباتور در دمای ٣٧ درجه سانتی گراد، درهر گرم ازنمونه های تازه آنودونت دردو فصل پاییز و بهار به ترتیب ٥ ١٠ X ٤ و ٥ ١٠ X ٧ باکتری وجود داشت (در هر دو فصل از رقتهای ٠/٠١ و ٠/٠٠١ برای محاسبات استفاده گردید).

بعد از نگهداری بافت نرم آنودونت به مدت یک هفته در فریزر، شمارش کلونی ها و محاسبات صورت گرفت. در نمونه منجمد نسبت به نمونه زنده میزان کلونیهای باکتری بسیار کمتر می باشد که به دلیل پایین بودن حرارت و عدم تحمل این حرارت برای باکتریهای مزوفیل می باشد. که در هر گرم از ماده غذایی در دو فصل پاییز و بهار ٣ ١٠ X ١ می باشد (در هر دو فصل از رقتهای ٠/١ و ٠/٠١ استفاده گردید) .

در نمونه معده در هر گرم از ماده غذایی در دو فصل پاییز و بهار به ترتیب ٥ ١٠X ٧ و ٥ ١٠ X ٩ می باشد (در هر دو فصل از رقتهای ٠/٠٠١ و ٠/٠٠٠١ استفاده گردید).

بعد از ٤٨ ساعت نگهداری در انکوباتور در دمای ٤٥ درجه سانتی گراد، در نمونه های تازه در دو فصل پاییز و بهار در هر گرم به ترتیب ٨٠ و ١٠٠ باکتری و در نمونه منجمد در دو فصل پاییز و بهار، ٢٠ و٥٠ و در نمونه معده در هر دو فصل پاییز و بهار در هر گرم ٢ ١٠ X ٢ باکتری هتروتروف ثبت گردید (در دمای ٤٥ درجه سانتی گراد برای هر سه نمونه و در دو فصل مذکور از رقتهای ٠/١ و ٠/٠١ استفاده گردید).

این نتایج نشان می دهد که نمونه حاوی باکتری ترموفیل و ساکروفیل نمی باشد یا در صورت وجود بسیار کم می باشد ولی دارای باکتریهای مزوفیل هستند.

با توجه به نتایج فوق مشخص گردید که در نمونه منجمد میزان باکتریهای هتروتروف خیلی کمتر از دو نمونه دیگر می باشد.

افزایش ضرورت و نیاز بشر به مواد غذایی تولید کنندگان را بر آن داشت که با برخورداری از اصول عملی به مسائل و مشکلات باکتریولوژی این صنعت توجهی خاص مبذول نمایند.

بعضی از فرآورده های دریایی مانند صدف را بدون حرارت دادن، بسته بندی و در یخچال نگه می دارند.

محل زندگی و کیفیت آب، روشهای صید و حمل ماهی ممکن است باعث آلودگی شوند.

به جز موارد استثنایی آب منابع عمیق، آبهای طبیعی غالبا حاوی باکتریهایی هستند که از گرد و غبار هوا و آبهای سطحی که سطح زمین را شسته اند، به جریان آب وارد می شوند. استفاده مستقیم از آبهای آلوده ممکن است مشکلاتی را به وجود آورد. فراوانی باکتریها مرتبط با pH بالا، درجه حرارت آب، ترکیب خاک و اکسیژن موجود در آب می باشد (٨) .

Archive of SID

www.SID.ir

میزان باکتریها در نرمتنان پالایش خوار عمدتا بعلت تجمع آنها در اثر فیلتراسیون است.

تخمین شمارش باکتریها در مواد غذایی برای تشخیص کیفیت میکروبی ماده غذایی یا احتمال سالم بودن غذا مرتبا بکار برده می شود که شامل مراحل نمونه برداری از مواد غذایی، آزمایشها و آنالیزهای میکروبی و ارزیابی و مقایسه نتایج بدست آمده با حد مجاز میکروبی برای غذاهای دریایی می باشد(٩). جدول شماره ٦ حد استاندارد میکروبی را در ماهی و میگو و دیگر فرآورده های دریایی نشان می دهد (١٠).

جدول (٦): ویژگیهای میکروبی فرآورده های ماهی، میگو و دیگر آبزیان دریایی.

فرآورده	آزمون	تعداد حداکثر باکتری در گرم
ماهی، میگو و آبزیان دریایی	شمارش کلی میکروبی	10^{7}

با توجه به جدول شماره ٦ و نتایج بدست آمده، مشخص گردید که تعداد باکتریها در هر گرم از نمونه های مورد آزمایش چه به صورت تازه و منجمد و نمونه معده آنودونت زیر حداکثر مجاز قرار دارد.

برای جلوگیری از بروز آلودگی میکروبی تمام خط تولید و مراحل فن آوری باید کنترل میکروبی شوند و حتی الامکان از روشهایی برای شستشو، جداسازی گوشت از سایر ضمائم، افزودن مواد نگهدارنده و روشهای پخت و ... استفاده شود که آلودگی میکروبی به حداقل برسد و محصولی با کیفیت بالا عرضه شود.

تشکر و قدردانی

مراتب تشکر و قدردانی خود را از جناب آقای دکتر حسین عمادی و سرکار خانم دکتر صفائیان که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند اعلام می نمائیم همچنین از سرکار خانم هایده وکیلی مسئول محترم آزمایشگاه تحقیقات دانشکده علوم و فنون دریایی به دلیل مساعدتهای لازم، کمال تشکر را داریم و از همکاریهای صمیمانه مسئولین و پرسنل محترم مرکز تحقیقات شیلاتی بندر انزلی و آقای مهندس بابایی تقدیر و تشکر می گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

References:

1- Shaikhi Moghadam, L., *Microbial Standards in Aquaculture*, 36 (2003).
2- Karim, g., *Microbial tests in Foods. Univ. of Tehran*. 4th edit, 517 (2003).
3- Ranjbar, M., *Microbial infections in Fisheries products, Faculty of Marine Science and Technology*, 39 (2000).
4- Zhadin, V. I., Gerd, S. V., Fauna and Flora of the *RIVERS, LAKES AND RESERVOIRS OF THE U. S. S. R*. Translated by A. Mercado, M. Sc. 1970. Israel Program for Scientific Translations Ltd., 596 (1961).
5- Parvaneh, A., *Biological Characterristics and distribution of Anodonta in Anzali lagoon. Fisheries isstitute of Gillan*, 42 (1994).
6- Harry, W., Seeley, J. r., Vandemark, P. J. and Lee, J. J., *Microbes in action. A Laboratory Manual of Microbiology*, W. H. Freeman and Company, New York. USA (1991).
7- Babi, H. Heavy metals absorption in Anodonta in Anzali lagoon, Islamic Azad Univ. North Tehran Branch, 149 (2005).
8- Schothorst, M., *Food control*, **9**, 379 (1998).
9- Ababouch, L., *International Journal of Food Microbiology*, **62**(3), 211 (2000).
10- Standard institute and industrial research in Iran. Fish and Shrimp (Microbial Characteristics), Iranian National Standard, 9 (1999).

Archive of SID

www.SID.ir