

فصلنامه علمی - پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها  
سال سوم، شماره ۱۱، پاییز ۱۳۹۳، صفحه ۵۹-۷۰  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۵/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۲۴

## بررسی آلودگی محصولات مختلف لبنی عرضه شده در شهر اصفهان به قارچ‌های ساپروفیت

فاطمه فلاحی\*: دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران، fa.fallahi@yahoo.com  
محبوبه مدنی: استادیار قارچ‌شناسی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران، mmadani66@gmail.com

### چکیده

**مقدمه:** قارچ‌ها به‌ویژه برخی از گونه‌های پنی‌سیلیوم و آسپرژیلوس از دلایل اصلی آلودگی محصولات لبنی هستند که به‌علت تولید مایکوتوکسین‌ها، سلامت عمومی جامعه و امنیت غذا را تهدید می‌کنند. هدف از این تحقیق، جداسازی، شناسایی قارچ‌های ساپروفیت آلوده کننده محصولات مختلف لبنی اصفهان و بررسی توزیع فراوانی آلودگی کپکی (بیش از حد مجاز) نمونه‌های لبنی در مقایسه با حد مجاز استاندارد ملی ایران (۲۴۰۶) در سال ۱۳۹۱ بود.

**مواد و روش‌ها:** در این بررسی، ۲۰۰ نمونه مختلف از محصولات لبنی پاستوریزه شامل: ۷۰ نمونه پنیر، ۶۰ نمونه دوغ، ۴۰ نمونه ماست، ۲۰ نمونه کشک و ۱۰ نمونه خامه از مناطق مختلف شهر اصفهان جمع‌آوری و از نظر وجود قارچ‌های ساپروفیت بررسی شدند. جداسازی، شناسایی و شمارش کپک به روش پور پلیت و اسلاید کالچر انجام شد. سپس، نتایج با حد مجاز استاندارد ملی ایران مقایسه و با استفاده از برنامه SPSS نسخه ۱۶ و تحلیل آماری مربع کای تجزیه و تحلیل شد.

**نتایج:** در مجموع ۱۱۷ (۵۸/۵ درصد) نمونه مطلوب، ۵۰ (۲۵ درصد) نمونه قابل قبول و ۳۳ (۱۶/۵ درصد) نمونه غیرقابل قبول بودند. بیش‌ترین آلودگی کپکی (بیش از حد مجاز) به‌ترتیب در پنیر، خامه، کشک، دوغ و ماست مشاهده شد. قارچ‌های جنس پنی‌سیلیوم، آسپرژیلوس، کلادوسپوریوم و آکرمونیوم در نمونه‌ها شناسایی شدند. نتایج آزمون آماری اختلاف معنی‌داری را بین میزان آلودگی کپکی و نوع فرآورده لبنی نشان نداد ( $Pvalue < 0.05$ ).

**بحث و نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج این تحقیق، لازم است در راستای کنترل آلودگی قارچی محصولات لبنی، بدون استفاده از نگهدارنده‌ها اقدامات جدی انجام شود.

**واژه‌های کلیدی:** محصولات لبنی، قارچ‌های ساپروفیت، آلودگی

## مقدمه

محصولات لبنی تهیه شده از شیر نیازهای روزانه بدن را در تمام سنین تامین می‌کنند. این فرآورده به دو شکل تخمیری (ماست، خامه، کشک و پنیر) و تجاری (انواع شیر کم چرب، بدون چربی، تغلیظ شده و کره) موجود است. فرآورده‌های لبنی در طی مراحل تولید، عرضه و نگهداری تا انقضای مصرف در اثر عدم رعایت اصول بهداشتی توسط میکروارگانیسم‌ها از جمله کپک‌ها آلوده می‌شوند. کپک‌ها میکروارگانیسم‌های مقاوم در برابر محیط اسیدی و سرما هستند و در هر ماده غذایی می‌توانند رشد کنند. فرآورده‌های لبنی به سبب داشتن اسیدیته پایین خاصیت اسیدی داشته و کپک‌ها توانایی رشد در این شرایط را دارند. در صورت نگهداری طولانی مدت لبنیات اهمیت بررسی قارچ‌ها بیشتر آشکار می‌شود (۱-۳). فرآورده‌های لبنی مورد مصرف توسط انسان باید از نظر بار میکروبی در حد قابل قبول باشند. موسسه استاندارد و تحقیقات ایران حد مجاز بار میکروبی را مشخص کرده است (۳ و ۴). از نشانه‌های کپک‌زدگی تغییر در ویژگی‌های ارگانولپتیک (رنگ، طعم و بو) است. احتمال ابتلا به انواع سرطان، جهش‌زایی و عدم تعادل هورمونی در صورت مصرف این گونه از محصولات غذایی وجود دارد. گونه‌های آسپرژیلوس از متداول‌ترین قارچ‌هایی هستند که می‌توانند از طریق رشد در مواد غذایی و علوفه دامی مایکوتوکسین تولید کرده که از طریق شیر وارد چرخه غذایی انسان شده و باعث ایجاد انواع سرطان‌ها به‌ویژه سرطان کبد در انسان و دام شوند (۵). تعداد و نوع میکروارگانیسم‌های موجود در شیر و محصولات لبنی از جمله کپک‌ها نشانگر وجود مشکلاتی در عدم کفایت پاستوریزاسیون شیر، عدم شستشوی مناسب و استریل

کردن تجهیزات خط تولید، آلودگی وسایل و ظروف بسته بندی، نفوذ هوا به داخل بسته بندی، دمای نامناسب نگهداری در طول مدت ذخیره‌سازی، بهداشت محیط، کیفیت استارتر، کیفیت آب مورد استفاده برای شستشو، شرایط نادرست و غیر بهداشتی تولید، طراحی کارخانه، علوفه مورد استفاده دام و فصل است (۶-۸). به‌طور کلی آلودگی محصولات لبنی در فصل زمستان بیشتر از فصل تابستان است. نگهداری علوفه دامی در فصل گرم در انبارها و عدم تهویه مناسب در انبارهای علوفه شرایط را برای رشد قارچ‌ها فراهم کرده و استفاده از آن به منظور تغذیه دام در فصول سرد از موارد آلودگی شیر به کپک و به‌دنبال آن تولید مایکوتوکسین‌ها در شیر و محصولات لبنی است. از آنجا که مایکوتوکسین‌ها در طی فرآیند پاستوریزاسیون، اتوکلاو و پروسه‌های تولید پنیر و ماست از بین نمی‌روند، بنابراین، لازم است تدابیر لازم برای برداشت و ذخیره مناسب غلات و علوفه دامی به منظور جلوگیری از کپک‌زدگی محصولات غذایی اتخاذ شود (۹). در این تحقیق، محصولات لبنی شهر اصفهان از نظر آلودگی به قارچ‌های ساپروفیت و توزیع فراوانی آلودگی کپکی (بیش از حد مجاز) مطابق با حد مجاز استاندارد ملی ایران در سال ۱۳۹۱ بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه به روش توصیفی-مقطعی انجام شد. در این بررسی، ۲۰۰ فرآورده ی لبنی شامل: ۷۰ نمونه پنیر، ۶۰ نمونه دوغ، ۴۰ نمونه ماست، ۲۰ نمونه کشک و ۱۰ نمونه خامه تحت پوشش نظارت بر مواد غذایی استان اصفهان بررسی شدند. جداسازی، شناسایی و شمارش کپک بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۱۵۴ (شمارش کلونی‌های کپک و مخمر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در فرآورده‌های لبنی) انجام شد (۴).

### جمع آوری نمونه

در این بررسی نمونه‌های فرآورده‌های لبنی پاستوریزه و بسته بندی شده از سطح شهر از مراکز عرضه و واحدهای صنفی خریداری شد و تحت شرایط استاندارد (عدم آلودگی ثانویه) در کیسه‌های پلاستیکی یک‌بار مصرف بهداشتی یا به شکل بسته بندی شده (و کیوم شده) جمع آوری و به محل آزمایشگاه منتقل شدند (۱۰).

### آماده‌سازی سوسپانسیون اولیه

برای آماده‌سازی سوسپانسیون اولیه بر اساس نوع فرآورده از نمونه‌های جامد (پنیر، ماست و کشک) از نمونه‌ها در فلاسک شیشه‌ای درب‌دار سترون، با استفاده از محلول رقیق کننده (سرم رینگر) رقت ۰/۱ تهیه شد. سپس، مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه ساکن گذاشته شد تا ذرات درشت آن ته نشین شدند. برای آماده‌سازی سوسپانسیون اولیه از نمونه مایع (دوغ)، یک میلی‌لیتر به لوله حاوی ۹ میلی‌لیتر سرم رینگر منتقل شد و با استفاده از همزن مکانیکی به مدت ۵ تا ۱۰ ثانیه مخلوط شد (۱۱).

### شمارش کلونی‌های کپکی

به منظور شمارش کلونی‌های کپکی از روش کشت آمیخته (پور پلیت)<sup>۱</sup> استفاده شد. یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده به پلیت‌های استریل انتقال داده شد و سپس، ۱۰ تا ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت YGC<sup>۲</sup> آگار استریل مذاب که در دمای ۴۴ درجه سانتی‌گراد خنک شده بود به پلیت‌ها اضافه شد. پلیت‌ها به آرامی با حرکت چرخشی یکنواخت شدند. سپس، گرمخانه‌گذاری در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ تا ۵ روز انجام شد. پس از پایان زمان انکوباسیون، تعداد کلونی‌های کپکی (بر حسب CFU/ml یا CFU/g<sup>۳</sup>) ثبت و ضمن مقایسه با حد مجاز استاندارد ملی ایران (۲۴۰۶)، نسبت به سطح پذیرش

نمونه‌ها اظهار نظر شد (۱۲). نمونه‌هایی که در آن‌ها هیچ گونه کلونی کپکی رشد نکرد، مطلوب و نمونه‌هایی که در آن‌ها کلونی‌های کپکی شمارش شده کمتر از حد مجاز استاندارد بود، قابل قبول و نمونه‌هایی که کلونی‌های کپکی شمارش شده در آن‌ها بیش از حد مجاز استاندارد بود، غیر قابل قبول در نظر گرفته شدند. منظور از حد مجاز، حداکثر کلونی‌های قارچی شمارش شده در یک گرم یا یک میلی‌لیتر از نمونه است که برای نمونه‌های جامد (ماست، پنیر، خامه و کشک) بر حسب CFU/g و برای نمونه‌های مایع (دوغ) بر حسب CFU/ml است (۴).

### جداسازی و شناسایی قارچ‌های کپکی

کپک‌های جدا شده از محصولات لبنی به‌طور جداگانه در محیط کشت SDA<sup>۴</sup> پاساژ داده و به مدت ۳ تا ۵ روز در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. سپس، برای شناسایی انواع مختلف قارچ‌ها از همدیگر و تعیین هویت آن‌ها با توجه به ویژگی‌های ماکروسکوپی کلنی‌های قارچی مانند رنگ سطح و پشت کلنی‌ها، منظره سطح کلنی‌ها از نظر داشتن چین و شکن، خطوط شعاعی و یا دواير متحدالمرکز، صاف یا چین‌دار بودن سطح کلونی و همچنین، حالت سطح کلونی‌ها مانند داشتن حالت پرزی، پودری، پنبه‌ای، مخملی و سایر... کلونی‌ها بررسی شدند. به منظور بررسی میکروسکوپی قارچ از روش اسلاید کالچر<sup>۵</sup> استفاده شد (۱۳).

### تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل از آلودگی قارچی برای بررسی مقایسه‌ای میزان آلودگی با سطح استاندارد ملی ایران در نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۱۶ با استفاده از آزمون مربع کای در سطح معنی دار ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شد.

## نتایج

لبنی نشان نداد ( $Pvalue < 0/05$ ).

در شکل ۱ نتایج توزیع فراوانی انواع قارچ‌های جدا شده از هر یک از محصولات لبنی آورده شده است. از مجموع ۲۰۰ نمونه محصول لبنی جمع آوری شده از شهر اصفهان، قارچ‌های کپکی شامل: *آسپرژیلوس نیجر*، *پنی سیلیوم نوتاتوم*، *پنی سیلیوم کریزورنوم*، *پنی سیلیوم دیجیتاتوم*، *کلادوسپوریوم* و *آکرمونیوم* جداسازی شدند. بیش‌ترین و کم‌ترین درصد فراوانی جنس قارچی مشاهده شده در کل ۲۰۰ نمونه محصول لبنی مورد مطالعه به ترتیب توسط جنس *پنی سیلیوم* با ۲۹ درصد و *آکرمونیوم* با فراوانی یک درصد بود. بیش‌ترین درصد آلودگی کپکی پنیر و ماست توسط *پنی سیلیوم نوتاتوم*، خامه و دوغ توسط *پنی سیلیوم دیجیتاتوم* و کشک توسط *آسپرژیلوس نیجر* ایجاد شد. در این تحقیق، بیش‌ترین تنوع آلودگی کپکی در دوغ مشاهده شد.

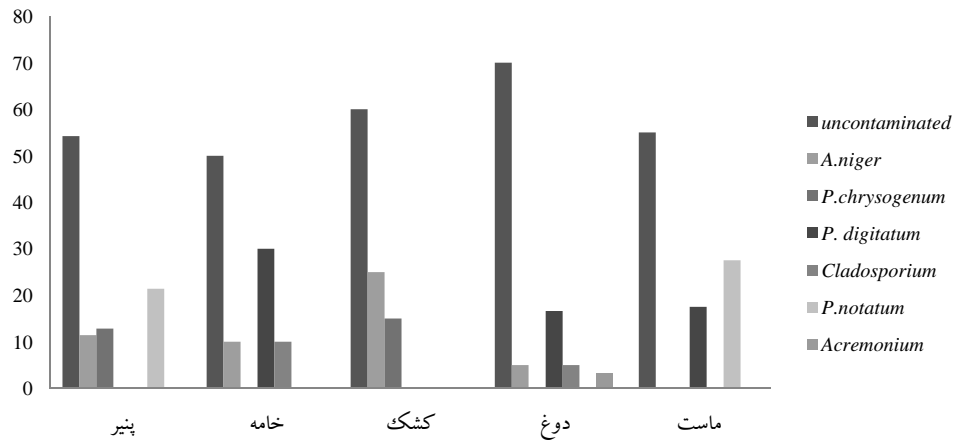
تصاویر ماکروسکوپی و میکروسکوپی تعدادی از قارچ‌های جدا شده از محصولات لبنی در شکل‌های ۲ و ۳ آورده شده است.

در این مطالعه، در کل ۲۰۰ نمونه محصول لبنی شامل: ۷۰ نمونه پنیر (۳۵ درصد)، ۶۰ نمونه دوغ (۳۰ درصد)، ۴۰ نمونه ماست (۲۰ درصد)، ۲۰ نمونه کشک (۱۰ درصد) و ۱۰ نمونه خامه (۵ درصد) مطالعه شد. در جدول ۱ توزیع فراوانی آلودگی کپکی نمونه‌های لبنی مورد مطالعه در مقایسه با حد مجاز استاندارد ملی ایران (۲۴۰۶) بر حسب سطح پذیرش نوع محصول یاد شده است. از کل نمونه‌های مورد مطالعه ۱۱۷ مورد (۵۸/۵ درصد) مطلوب، ۵۰ مورد (۲۵ درصد) قابل قبول بوده و در ۳۳ مورد (۱۶/۵ درصد) تعداد کلونی‌های کپکی بیش از حد مجاز و غیر قابل قبول بود. حداکثر و حداقل سطح پذیرش مطلوب، به ترتیب در دوغ (۶۶/۶ درصد) و خامه (۵۰ درصد) بود. حداکثر و حداقل فراوانی آلودگی کپکی بیش از حد مجاز به ترتیب در پنیر (۲۱/۵ درصد) و در ماست (۱۲/۵ درصد) مشاهده شد. بدین ترتیب ۴۱/۵ درصد از نمونه‌ها آلودگی کپکی داشتند و در ۵۸/۵ درصد از نمونه‌ها آلودگی کپکی دیده نشد. همچنین، نتایج آزمون آماری اختلاف معنی‌داری را بین میزان آلودگی کپکی و نوع فرآورده

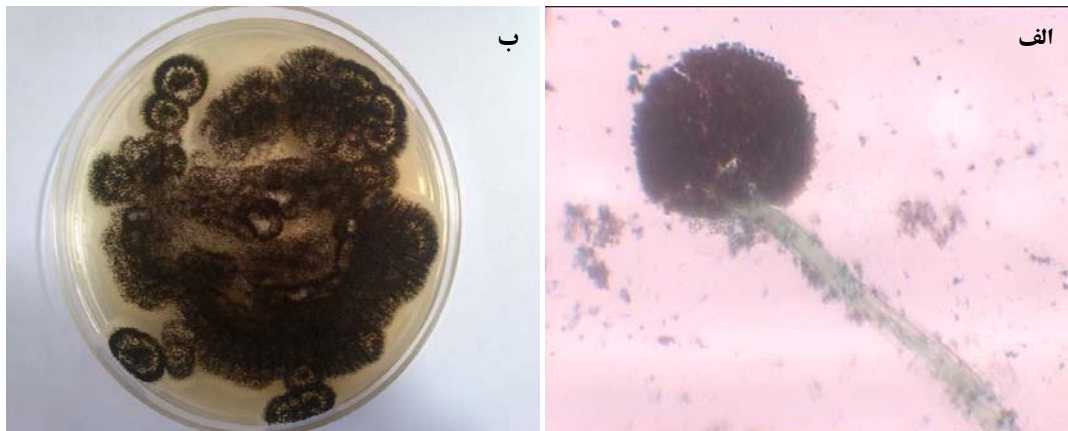
جدول ۱- توزیع فراوانی آلودگی کپکی نمونه‌های لبنی مورد مطالعه در مقایسه با حد مجاز استاندارد بر حسب سطح پذیرش نوع محصول

سطح پذیرش						حد مجاز استاندارد (cfu)	n	محصول
بیش از حد مجاز		در حد مجاز		مطلوب				
تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد			
۱۵	۲۱/۵	۱۷	۲۴/۳	۳۸	۵۴/۲	۱۰۰	۷۰	پنیر
۲	۲۰	۳	۳۰	۵	۵۰	۱۰	۱۰	خامه
۸	۱۳/۴	۱۲	۲۰	۴۰	۶۶/۶	۱۰۰	۶۰	دوغ
۳	۱۵	۵	۲۵	۱۲	۶۰	۱۰۰	۲۰	کشک
۵	۱۲/۵	۱۳	۳۲/۵	۲۲	۵۵	۱۰۰	۴۰	ماست
۳۳	۱۶/۵	۵۰	۲۵	۱۱۷	۵۸/۵		۲۰۰	جمع

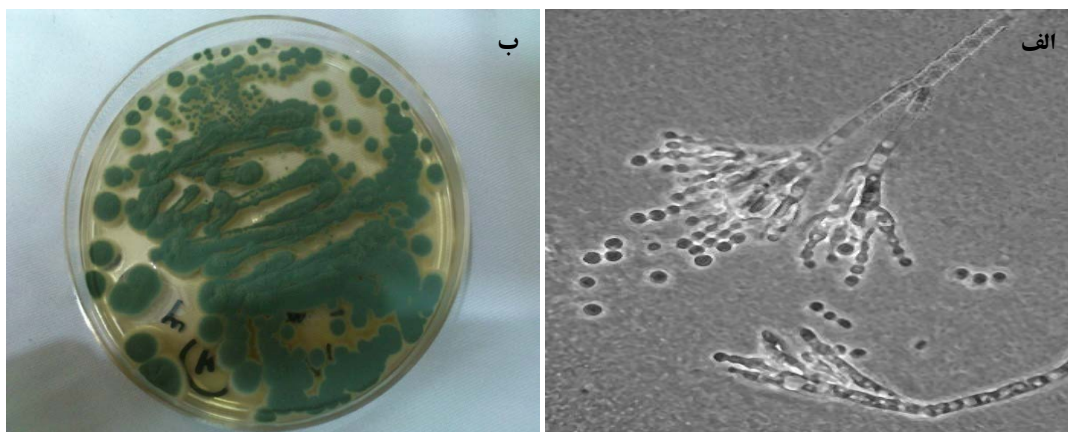
n = تعداد نمونه



شکل ۱- نمودار توزیع فراوانی انواع کپک‌های جدا شده در هر یک از محصولات لبنی



شکل ۲- قارچ آسپرژیلوس نیجر الف- کلونی قارچ بر روی محیط کشت ب- تصویر میکروسکوپی



شکل ۳- قارچ پنی سیلیوم نوتاتوم الف- کلونی قارچ بر روی محیط کشت ب- تصویر میکروسکوپی

## بحث و نتیجه‌گیری

مواد غذایی نظیر فرآورده‌های لبنی محیط مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از جمله قارچ‌ها هستند. قارچ‌ها عوامل مخرب در خور توجیه در علوفه در طول ذخیره و انبارداری بوده و مسئول بسیاری از آلودگی‌های غذایی در تمام دنیا هستند (۵). متابولیت‌های ثانویه مانند مایکوتوکسین‌ها در مراحل پایانی رشد قارچ‌ها تولید شده و در رشد یا متابولیسم قارچ تاثیری ندارند. در بین مایکوتوکسین‌ها، آفاتوکسین‌ها از نظر سرطان‌زایی دارای اهمیت هستند و در گروه وسیعی از مواد غذایی مانند خوراک دام و طیور، شیر و فرآورده‌های لبنی (ماست، پنیر و کشک) و دانه‌های روغنی (پسته، فندق و بادام زمینی) تولید می‌شوند. این گونه قارچ‌ها می‌توانند با جایگزین شدن به جای متابولیت‌های تولید شده طبیعی حاصل از ماده غذایی، باعث کاهش ارزش تغذیه‌ای و کاهش جذب ماده غذایی شده و به ضررهای اقتصادی، کاهش زمان ماندگاری و اختلال در خواص حسی محصول نهایی منجر شوند. علاوه بر این کاهش عملکرد سیستم ایمنی و اختلال در سیستم اندوکراین و آگزوکراین بدن را نیز موجب می‌شوند (۱۴).

چاپمن و شارپ<sup>۶</sup> علت آلودگی کپکی در فرآورده‌های لبنی را آلودگی دیوارها، قفسه‌ها، اتاقک عمل‌آوری پنیر، تجهیزات تولید، آب مصرفی و جریان هوا بیان کردند (۱۵).

در این تحقیق نیز با توجه به آلودگی نمونه‌ها قبل از رسیدن به تاریخ انقضای مصرف، بسته بندی زود هنگام فرآورده‌ای مانند پنیر قبل از طی کردن زمان رسیدن و عمل‌آوری، نرم بودن بافت پنیر و متعاقب آن پایین آمدن اسیدیته، شرایط را برای فعال شدن میکروارگانیسم‌های قارچی در محصول قبل از رسیدن به تاریخ انقضای

مصرف فراهم کرده و باعث عدم مطابقت محصول با استاندارد مربوطه شد.

لدن باخ و مارشال<sup>۷</sup> و هوکینگ و فادو<sup>۸</sup> در بررسی کپک‌های آلوده کننده محصولات لبنی جنس‌های پنی‌سیلیوم و کلادوسپوریوم را از جنس‌های شایع معرفی کردند. آن‌ها عوامل رشد کپک را دسترسی قارچ به اکسیژن (هوادهی سطحی) در سطح نمونه و اسیدیته پایین بیان کردند (۱۶ و ۱۷).

در تحقیق حاضر نیز جنس پنی‌سیلیوم با فراوانی ۲۹ درصد شایع‌ترین جنس قارچی را به خود اختصاص داد. از علل آلودگی کپکی در برخی از فرآورده‌های مورد بررسی، استفاده از ظروف حلب قلع اندود (گالوانیزه) بود که در محل‌های درزبندی دچار اکسیدشدگی بودند و همچنین، بالا بودن آب بسته‌بندی به علت افزایش اکسیژن، محیط را برای رشد کپک مساعد کرده بود.

کارمن و همکاران<sup>۹</sup> در مطالعه‌ای که بر روی میکروارگانیسم‌ها از جمله کپک‌های موجود در ۴۰ نمونه از انواع پنیر نرم، نیمه سخت و سخت داشتند از ۱۳ نمونه پنیر نرم ۹ مورد، از ۱۳ نمونه پنیر نیمه سخت ۵ مورد و از ۱۴ نمونه پنیر سخت ۱۰ مورد آلوده به کپک بودند. آن‌ها علت آلودگی را در عدم رعایت اصول بهداشتی در طول فرآوری و پراکندگی اسپور کپک در محیط بیان کردند و برای پیشگیری از آلودگی، توجه بر کاهش اکسیژن مورد نیاز برای رشد کپک و ایجاد یک سیستم تهویه مناسب برای جلوگیری از پراکندگی اسپور را مناسب دانستند. آن‌ها مشاهده کردند که بیش‌ترین جنس‌های غالب جداسازی شده از نمونه‌های مورد آزمایش، شامل: جنس‌های ژنوتریکوم (۹۱/۹ درصد)، مونیلیا (۵/۴ درصد) و آسپرژیلوس (۲/۷ درصد) بودند (۸).

در تحقیق حاضر نیز آلودگی محیط یخچال‌های نگهداری و ذخیره‌سازی محصولات لبنی و عدم رعایت

که انتقال از طریق علوفه دامی کپک زده یا حاوی اسپور قارچ به حیوان و سپس، از طریق شیر به فرآورده‌های دامی منتقل می‌شود. آن‌ها اظهار داشتند که بهترین راه برای جلوگیری از تولید مایکوتوکسین‌ها در پنیر (محصولات لبنی) جلوگیری از رشد قارچ است. علاوه بر این، برای تولید محصولات خاصی از لبنیات مانند محصولاتی که با استارترهای قارچی تولید می‌شوند سویه استفاده شده در تولید باید قدرت توکسیژنیسته پایینی داشته باشد که این مسئله نیز نمی‌تواند خطر تولید مایکوتوکسین در پنیر را از بین ببرد (۱۸).

در تحقیق حاضر نیز کپک‌هایی از جنس *پنی‌سیلیوم*، *آسپرژیلوس* و *کلادوسپوریوم* جداسازی شدند و صرف نظر از آلودگی غیر مستقیم که ناشی از آلودگی قارچی علوفه دامی است در این تحقیق، آلودگی از نوع مستقیم، به علت عدم رعایت بهداشت در مراحل توزیع و پخش، محصولات ایجاد شده بود.

در مطالعه ای که برای شناسایی و رده بندی قارچ‌های موجود در پنیر توسط روپرز و همکاران<sup>۱۱</sup> بر روی ۱۳۳ نمونه انجام شد از پنیر و استارتر پنیر، جنس‌های قارچی *پنی‌سیلیوم*، *اسفاروسپوریوم*، *فوزاریوم*، *اسپورندونما* و *تریکوتیکوم* شناسایی شدند (۱۹).

در تحقیق حاضر نیز قارچ‌های *پنی‌سیلیوم نوتاتوم*، *پنی‌سیلیوم کریزوژنوم* و *پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم* جداسازی شدند ولی سایر قارچ‌های یاد شده در این تحقیق مشاهده نشدند. این آلودگی قارچی مشابه در محصولات لبنی به ویژه پنیر، نشان از آلودگی محیط، وسایل و آلودگی لباس کارگران است که امکان انتقال غیر مستقیم اسپورکپک را به محصول در مسیرهای مختلف تولید تا مصرف فراهم آورده است. احتمال آلودگی توسط استارتر مصرفی نیز می‌تواند علت آلودگی کپکی باشد که در این تحقیق دسترسی به آن ممکن نبود.

بهداشت فردی توسط کارگران در محل انتقال و عرضه نشان دهنده آلودگی ثانویه‌ای است که باعث انتشار و گسترش آلودگی‌های قارچی و میکروبی در محیط شده‌اند. در این تحقیق نیز از فرآورده‌های لبنی مورد مطالعه جنس‌های مختلفی از جمله *آسپرژیلوس* (۸/۵ درصد) و *پنی‌سیلیوم* (۲۹ درصد) جداسازی شدند.

در مطالعه ای که موریرا و همکاران<sup>۱۱</sup> بر روی کپک‌های رشته ای و مخمر در ۷۲ نمونه ماست در برزیل داشتند دو نوع کپک رشته ای مونیلیا و *پنی‌سیلیوم* را مشاهده کردند. آن‌ها در این بررسی اظهار داشتند که شرایط آب و هوایی گرم و شرایط ناکافی سرما از علل افزایش تنوع گونه و تغییر در فلور میکروبی این محصول است (۹).

در تحقیق حاضر نیز قارچ‌های *پنی‌سیلیوم نوتاتوم*، *پنی‌سیلیوم کریزوژنوم* و *پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم* شناسایی شدند، جداسازی جنس *پنی‌سیلیوم* به عنوان جنس شایع با نتایج تحقیقات فوق مطابقت دارد. در مراکز عرضه و توزیع (سوپرمارکت‌ها) آلودگی ثانویه، باز و بسته نمودن متناوب درب یخچال و تغییرات دمای یخچال‌ها که ناشی از عدم کنترل دما بوده می‌تواند بستر مناسبی از نظر دمایی برای رشد قارچ فراهم کند.

در مطالعه‌ای که سنگون و همکاران<sup>۱۱</sup> در بررسی مایکوتوکسین‌ها و کپک‌های موجود در پنیر داشتند، قارچ‌هایی از جنس *پنی‌سیلیوم*، *آسپرژیلوس*، *کلادوسپوریوم*، *ژئوتریکوم*، *موکور* و *تریکودرما* را شناسایی کردند و بیشترین فراوانی کپکی به *پنی‌سیلیوم* مربوط بود. آن‌ها در ارزیابی خود، آلودگی قارچی محصولات لبنی را به دو دسته مستقیم و غیر مستقیم تقسیم‌بندی کردند. در نوع مستقیم آلودگی به طور اتفاقی و تصادفی است. مانند آلودگی ناشی از عدم رعایت بهداشت در فرآیند تولید و عرضه؛ و در نوع غیر مستقیم

از طریق هوای خارج از محیط تولید، سیستم تهویه یا مکان‌های مرطوب وارد فضای کارخانه شود. همچنین، لباس‌های کارگران شاغل در مسیر تولید نیز امکان انتقال غیر مستقیم کپک و مخمر را به محصول لبنی در حال تولید فراهم می‌کند. از راهکارهای مناسب برای عدم توسعه آلودگی میکروبی، رعایت نظافت، شست و شو و ضدعفونی موثر در کارخانجات تولید کننده لبنیات است (۲۳).

نتایج به‌دست آمده در این مطالعه، نشان می‌دهد که محصولات لبنی تولید شده به‌شکل صنفی یا کارخانه‌ای در استان اصفهان مطلوب و قابل قبول است، ولی برخلاف کوششی که در رابطه با پیشگیری از آلودگی مواد غذایی انجام شده، آلودگی برخی از محصولات لبنی در حد غیرقابل قبول بوده که می‌تواند موجب افزایش مرجوعیات این محصولات شده و در صورت استفاده برای سلامت عموم جامعه به‌ویژه کودکان، زنان باردار و سالمندان، تهدید آمیز باشد. افزایش بیماری‌های غذایی همراه با مشکلات اجتماعی و اقتصادی ناشی از آن از یک طرف و از طرف دیگر مشکلات متعدد مسئولین نظارت بر مواد غذایی در روش‌ها و سیستم کنترلی مواد غذایی که وقت گیر و گران قیمت است، توجه روز افزون تولیدکنندگان و مسئولین بهداشتی را به استفاده از روش‌های کنترلی کم هزینه و مطمئن معطوف کرده است. بر اساس ضوابط سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی ایران استفاده از هر گونه نگهدارنده در تولید محصولات لبنی ممنوع است. این درحالی است که بسیاری از کارخانجات تولید کننده فرآورده‌های غذایی به جای پیشگیری از آلودگی‌های میکروبی به استفاده از افزودنی‌هایی مانند نگهدارنده‌ها روی می‌آورند تا جبران کننده عدم رعایت اصول بهداشتی در کارخانجات باشد. در واقع رعایت شرایط بهداشتی برای تولید مواد غذایی ایمن و مناسب

کالهورتکا و همکاران<sup>۱۳</sup> در مطالعه ای بر روی شیر و پنیر، قارچ‌هایی از جنس پنی سیلیوم و آسپرژیلوس جداسازی کردند و علت اساسی فساد در محصولات لبنی را اسیدپتیه پایین بیان کردند که شرایط مناسبی را برای رشد کپک و مخمر فراهم می‌کند (۲۰).

محمدی ثانی و همکاران<sup>۱۴</sup> در بررسی تاثیر ناتامایسین در افزایش ماندگاری پنیر فتا، عوامل مستعد کننده فساد کپکی را ناشی از در معرض هوا قرار گرفتن فرآورده قبل از بسته بندی، تاخیر در انتقال پنیر عمل آوری شده (رسیده) از گرمخانه ۲۵ درجه سانتی گراد به سردخانه و تغییر اسیدپتیه پنیر در طی مراحل رسیدن و انبارمانی دانستند. آن‌ها اظهار داشتند که در محدوده زمانی چند ساعت اولیه پس از عمل آوری، تغییرات اسیدپتیه بسیار سریع است که موجب ایجاد اختلاف در خور توجه اسیدپتیه و تسریع رشد کپک و مخمر می‌شود. نکته دارای اهمیت این است که فراهم شدن شرایط رشد برای کپک و مخمر با تولید متابولیت‌های حاصل از رشد قارچ موجب افزایش بار میکروبی و فعال شدن شرایط رشد برای سایر باکتری‌ها می‌شود به طوری که محمدی ثانی و همکاران به وجود دو چرخه رشد که بیانگر دو جنس باکتریایی با اثر سمیوزیس بودند، پی بردند (۲۱).

سیلویا و همکاران<sup>۱۵</sup> عوامل مورد توجه در آلودگی قارچی محصولات لبنی را توانایی رشد قارچ در دماهای پایین، توانایی قارچ در تخمیر سوکروز و لاکتوز فرآورده، تولید آنزیم‌های هیدرولازی به منظور هیدرولیز چربی و پروتئین فرآورده، تولید لاکتیک اسید و سیتریک اسید در محصول و مقاومت در برابر نگهدارنده‌ها برشمردند (۲۲).

اسفندیاری و همکاران<sup>۱۶</sup> بیان کردند که عدم رعایت بهداشت در محیط از مسیرهای اصلی انتقال آلودگی میکروبی به محصول غذایی و به خطر افتادن کیفیت و ایمنی محصول به شمار می‌آید و کپک و مخمر می‌تواند



باستوریزاسیون در نابودی کامل اسپور قارچی، نفوذ هوا به داخل بسته بندی، کیفیت آب مورد استفاده، تغییرات دمایی و سرمای ناکافی در یخچال‌های نگهداری به‌ویژه در سوپرمارکت‌ها می‌تواند شرایط را برای رشد قارچ و ایجاد آلودگی قارچی در این محصولات فراهم کند. برای پیشگیری از رشد قارچی، استفاده از حضور رقابتی فلورهای میکروبی مناسب برای محدود کردن رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب، اضافه کردن نمک به منظور کاهش فعالیت آبی و کاهش آب بسته‌بندی برای محدود کردن اکسیژن در دسترس قارچ می‌تواند در محدود کردن پتانسیل آلودگی مجدد در محصول مفید بوده و باعث افزایش طول عمر و ماندگاری محصول تا انقضای مصرف شود (۸ و ۱۵). استفاده از علفه دامی سالم و بدون آلودگی قارچی (که در اثر انبارداری و تهویه نامناسب ایجاد می‌شود) برای تامین نیاز غذایی دام به‌شکل ریشه‌ای و اساسی در جلوگیری از ورود، نفوذ و نشر آلودگی به اندام‌های حیوان و متعاقب آن تاثیرگذاری از طریق مایکوتوکسین‌های تولید شده در شیر می‌تواند در بهبود و افزایش کیفیت شیر و محصولات لبنی نقش به‌سزایی داشته باشد (۹). با اجباری کردن پیاده‌سازی سیستم HACCP در کارخانجات تولید کننده مواد غذایی از طریق ارگان‌های نظارتی می‌توان گامی بزرگ در راستای بهبود مدیریت کیفیت و حمایت از مصرف کنندگان برداشت و زمینه رقابت را در صحنه بازارهای جهانی از نظر صادرات و تجارت بین‌المللی فراهم کرد (۲۳).

### تشکر و قدردانی

از مسؤولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان و همچنین، مسؤولین محترم معاونت غذا و داروی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که امکان انجام این تحقیق را فراهم ساختند، تشکر و قدردانی می‌شود.

برای مصرف در زنجیره مواد غذایی از تولید اولیه تا مصرف‌کننده نهایی یکی از روش‌های جلوگیری از آلودگی میکروبی محسوب می‌شود. در این زنجیره کارخانجات تولید کننده مواد غذایی یکی از مهم‌ترین بخش‌های تامین ایمنی محصول غذایی هستند. برنامه‌های مختلفی به‌شکل جهانی برای برقراری شرایط بهداشتی مطلوب تدوین شده است که می‌توان به برنامه‌های پیش‌نیازی (PRPs)<sup>۱۷</sup>، فرآوری محصول در شرایط بهداشتی و اصول تجزیه و تحلیل خطرات و نقاط کنترل بحرانی (HACCP)<sup>۱۸</sup> اشاره کرد (۲۳). در راستای نیل به این هدف لزوم شناسایی عوامل مستعدکننده فساد میکروبی (کپک زدگی) در مراحل مختلف تولید، حمل و نقل، عرضه و انبارمانی گام موثری در پیشگیری از آلودگی‌های ثانویه و بهبود کیفیت محصول است. با توجه به این که کپک‌ها برای رشد به شرایط کاملاً هوازی نیاز دارند و در محدوده وسیعی از اسیدیته ۲ تا ۸/۵ فعالیت می‌کنند و همچنین، دمای اپتیمم رشد در بیشتر آن‌ها در محدوده ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد است، توجه به دمای یخچال‌های نگهداری چه در مرحله انتهایی تولید و انبارمانی و چه در هنگام توزیع و حمل و نقل تا رسیدن به دست مصرف‌کننده نهایی به منظور جلوگیری از تغییرات دمایی (که به کاهش اسیدیته محصول و فراهم شدن شرایط رشد قارچ منجر می‌شود) موثر است. به نظر می‌رسد که مجموعه عواملی شامل: آلودگی قارچی علفه مورد استفاده دام، کیفیت نامناسب حمل و نقل شیر و فرآورده‌های لبنی و عدم رعایت بهداشت در محیط از مسیرهای اصلی انتقال آلودگی میکروبی به محصول غذایی و به خطر افتادن کیفیت و ایمنی محصول است (۷). انتشار اسپور کپک از طریق هوای خارج از محیط تولید و سیستم تهویه یا از طریق مکان‌های مرطوب، عدم رعایت اصول بهداشتی توسط کارگران در طول فرآوری، ناکارآمدی حرارت

## References

- (1) Robinson RK, Patel P. *Encyclopedia of Food Microbiology* vol 3. New York: Academic Press, 1999 .
- (2) .Bonyadian M, Giti K. The essential oils on industrial white cheese's moulds crowded. *Journal of Food Science & Technology* 2005; (2) 3: 1-8 .
- (3) .Razavilor V. *Pathogenic Microorganism in Food and Epidemiology of food poisoning*. Tehran: Tehran University, Institute of Publishing and Printing; 1999 .
- (4) Institute of Standards and Industrial Research of Iran ISIRI. *Milk and milk products – Enumeration of colony-forming units of yeasts and/or moulds-colony -Count technique at 25°C* 1st. ed., Standard No. 10154. Tehran: ISIRI Publisher; 2007. Available from: <http://www.isiri.org> .
- (5) Ivana DR, Milan S, Olgica DS, Marina DT, Ljiljana R, Čomic AM. Anti-Aspergillus properties of different extracts from selected plants. *African journal of microbiology* 2011; 5 (23): 3986- 90 .
- (6) Bramley A, McKinnon C. The microbiology of raw milk. *Dairy microbiology* 1990; 1: 163-208 .
- (7) Burgess KJ. *Recommendations for the hygienic manufacture of milk and milk based products*. New York: International Dairy Federation; 1994 .
- (8) Karmen GT, Slavica GT. The Presence of some pathogen Micro organism Yeast and Moulds in Cheese Sample Produced at small Dairy-Proccecing Plants. *Acta agriculturae Slovenica* 2006; 88 (1): 37-51 .
- (9) Moreira SR, Schwan RF, Carvalho EP, Wheals AE. Isolation and identification of yeasts and filamentous fungi from yoghurts in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 2001; 32 (2): 117-22 .
- (10) Institute of Standards and Industrial Researches of Iran ISIRI. *Milk and milk products –Guidance on sampling*. 3th rev, Standard No. 326. Tehran: ISIRI Publisher; 2008. Available from: <http://www.isiri.org> .
- (11) Institute of Standards and Industrial Researches of Iran ISIRI. *Microbiology of food and animal feeding stuffs-preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination* Part 5. 1st edn, Standard No. 8923-5. Tehran: ISIRI Publisher; 2011. Available from: <http://www.isiri.org> .
- (12) Institute of Standards and Industrial Researches of Iran ISIRI. *Microbiology of milk and milk products-Specifications*. 2nd Rev, Standard No. 2406, Tehran: ISIRI Publisher; 2008. Available from: <http://www.isiri.org> .
- (13) Fisher F, Cook NB. *Fundamentals of diagnostic mycology*. Philadelphia: Saunders WB. ; 1998 .
- (14) Richard j. *Mycotoxins: Economics and Health Risks* No. 116. New York: Council for Agricultural Science and Technology CAST; 1989 .
- (15) Chapman H, Sharpe M. Microbiology of cheese. *Dairy microbiology* 1981; 2: 157-243 .
- (16) Ledenbach LH, Marshall RT. Microbiological spoilage of dairy products. In: Sperber WH, Doyle MP, editor. *Compendium of microbiological spoilage of foods and beverage*. USA: Springer; 2010. p 41-67 .
- (17) Hocking AD, Faedo M. Fungi causing thread mould spoilage of vacuum packaged Cheddar cheese during maturation. *International journal of food microbiology* 1992; 16 (2): 123-130 .
- (18) Sengun IY, Yaman DB, Gonul SA. Mycotoxins and mould contamination in cheese. *World Mycotoxin Journal* 2008; 1 (3): 291- 8 .
- (19) Ropars J, Corinne C, Sandrine L, Joëlle D. A taxonomic and ecological overview of cheese fungi. *International Journal of Food Microbiology* 2012; 155: 199-210 .

- (20) Kalhotka L. Šustová K. Hůlová M. Přichystalová J. Important Groups of microorganism in raw goat milk and freash goat cheese determined during lactation. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 2013; 2 (5): 2314-17.
- (21) Mohammadi Sani A, Ehsani MR, Mazaheri Asadi M. Effect of natamycin on Uf-Feta-Cheese shelf life. *Pajouhesh & Sazandegi* 2006; 71: 19-25 .
- (22) Silvia R, Moreira R, Freitas S, Eliana PC, Alan EW. Isolation and identification of yeast and filamentous fungi from yoghurts in Brizil. *Brazilian Journal of Microbiology* 2001; 32: 117-22.
- (23) Esfandiari Z, Badiy M, Mahmodian P, Sarhangpour R, Yazdani E, Mirlohi M. Simultaneous determination of Sodium benzoate, Potassium sorbate and Natamycin content in Iranian yoghurt drink (doogh) and the associated risk of their intake through doogh consumption. *Iranian Journal of Public Health* 2013; 42 (8): 915-20

---

<sup>1</sup>- Poured Plate

<sup>2</sup>- Yeast extract Glucose Chloramphenicol Agar

<sup>3</sup>- Colony Formation Unity/gram –milli litr

<sup>4</sup>- Sabouraud Dextrose Agar

<sup>5</sup>- Slide culture

<sup>6</sup>- Chapman& Sharpe

<sup>7</sup>- Ledenbach & Marshall

<sup>8</sup>- Hocking & Faedo

<sup>9</sup>- Karmen et al

<sup>10</sup>- Moreira et al

<sup>11</sup>- Sengun et al

<sup>12</sup>- Ropers et al

<sup>13</sup>- Kalhotka et al

<sup>14</sup>- Mohammadi Sani et al

<sup>15</sup>- Silvia et al

<sup>16</sup>- Esfandiari et al

<sup>17</sup>- Pre Requisite Program

<sup>18</sup>- Hazard Analytical Critical Control Point



## Study of contamination of different dairy products distributed in Isfahan to saprophytic fungi

Fatemeh Fallahi \*

M.Sc Student of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran, fa.fallahi@yahoo.com

Mahboobeh Madani

Assistant Professor of Medical Mycology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran, mmadani66@gmail.com

### Abstract

**Introduction:** Fungi, especially some species of *penicillium* and *Aspergillus* are the main cause of dairy products contamination. Because of producing mycotoxins, they may jeopardize public health and food safety. This research aims at isolation, identification, counting of saprophytic fungi in different kinds of Isfahan dairy products and study of the frequency distribution of mould contamination (more than acceptable) of dairy samples compared to permitted Iranian national standard level (2406) in 2012.

**Materials and methods:** In this study, 200 samples from different types of pasteurized dairy products were collected from different parts of Isfahan city, including 70 samples of cheese, 60 samples of doogh, 40 samples of yoghurt, 20 samples of kashk (whey) and 10 samples of cream which were investigated based on the presence of saprophytic fungi point of view. Isolation, identification and mould count were conducted using pure plate and slide culture methods and the results were compared according to National Iranian Standard and analyzed using SPSS, version 16 and  $X^2$  statistical significance.

**Results:** Totally 117 (58/5%) samples were satisfactory, 50 (25%) samples were acceptable and 33 (16/5%) were non-acceptable. The most mould contamination (more than acceptable) was related to cheese, cream, kashk, doogh and yoghurt, respectively. Some fungi from the genera of *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Acremonium* were detected. The statistical analysis didn't show significant difference between mould contamination rate and kind of dairy product ( $Pvalue < 0/05$ ).

**Discussion and conclusion:** According to the results, attention to control of fungal contamination of dairy products without using preservatives is necessary.

**Key words:** Dairy product, Saprophytic fungi, Contamination

---

\* Corresponding author

**Received:** August 20, 2013 / **Accepted:** January 14, 2014