مطالعهٔ تأثیر متقابل *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* بر ماندگاری *یرسینیا انتروکولیتیکا* در طی روند تولید و نگهداری پنیر سفید ایرانی

دکتر شهرام حنیفیان[۱]*، دکتر گیتی کریم[۲]

چکیده

ماندگاری *یرسینیا انتروکولیتیکا* در طی روند تولید و نگهداری پنیر سفید ایرانی و نیز تأثیر استارتر بر روی باکتری مزبور مورد مطالعه قرار گرفت. از آنجاییکه این میکروارگانیسم قابلیت رشد و تکثیر در دمای ۴-۰ °C را داراست و از طرفی در شرایط PH اسیدی و حضور نمک مقاومت خوبی از خود نشان می-دهد لذا امکان رشد و تزاید آن در شرایط یخچالی و در طی مدت زمان نگهداری پنیر جهت رسیدن وجود دارد. بمنظور فعال‌سازی باکتری لیوفیلیزه شده *یرسینیا انتروکولیتیکا* (سروتیپ O:3) در محیط آبگوشت BHI دو بار متوالی کشت و در محیط BHIآگار نگهداری گردید. برای تعیین تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* جهت تلقیح در شیر پنیر از روش اندازه‌گیری میزان کدورت لوله-های حاوی کشت باکتری بوسیله اسپکتروفتومتر استفاده شد. باکتری مزبور به تعداد 10^5 در هر میلی‌لیتر به شیر پنیر تلقیح گردید.شیر کامل و پاستوریزه گاو با باکتری مزبور تلقیح و جهت پنیرسازی استفاده شد. پنیر سفید ایرانی به دو صورت با و بدون استفاده از استارتر تهیه گردید. در طی روند ساخت 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 شد. نتایج نشانگر افزایش تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در طی مرحله ساخت پنیر بود ولی پس از افزودن نمک و طی دوره نگهداری تعداد باکتری کاهش ($P<۰/۰۵$) پیدا کرد. مقدار کاهش بر حسب میزان فعالیت استارتر متفاوت بود.

واژگان کلیدی: *پنیر سفید ایرانی، یرسینیا انتروکولیتیکا،لاکتوباسیلوس بولگاریکوس،استرپتوکوکوس ترموفیلوس*

A Study on the Effect of Lactobacillus bulgaricus & Streptococcus thermophilus on Survival of Yersinia enterocolitica during the manufacture and storage of Iranian White Cheese

Hanifian. Sh[1], Karim. G[2]

1-Graduated of Food Hygiene, Faculty of Specialised Veterinary Sciences, Islamic Azad University , Science & Research Branch, Tehran , Iran.
2-Department of Food Hygiene, Faculty of Specialised Veterinary Sciences, Islamic Azad University, Science & Resarch Branch, Tehran, Iran.

The ability of Yersinia enterocolitica to grow and survive during the manufacture and storage of Iranian White Cheese and also the effect of using yoghurt starter in cheese milk on the survival of Y. enterocolitica was studied. Because of the capability of Y. enterocolitica to grow at the refrigerator temperature, low pH and presence of salt, it may to survive during the manufacture and storage of Iranian White Cheese. In this study, lyophilized Y. enterocolitica (serotype O:3) was activated by two consecutive cultures in BHI broth and the stock cultures were maintained on BHI agar slants. To determine the initial inoculum level (10^5 cfu/ml of cheese milk) of Y. enterocolitica, the turbidity of culture tubes was measured by Spectrophotometer.
For making the cheese, the pasteurized whole cow's milk inoculated with Y. enterocolitica. Two types of Iranian White Cheese were prepared with and without using starter culture. Y. enterocolitica was enumerated during the manufacture and storage period and its colonies were confirmed biochemically. Cheeses were also examined periodically for total solids, moisture, salt contents and pH values. Results showed an increase in the number of Y. enterocolitica during manufacture, but after salting and during the storage period, the number of Y. enterocolitica was decreased, depending on the starter activity. Addition of starter culture had a significant ($P<0.05$) inhibitory effect on the activity Y. enterocolitica.

Keywords: *Iranian White Cheese, Yersinia enterocolitica , Lactobacillus bulgaricus , Streptococcus thermophilus*

مقدمه

اطلاع از میزان تحمل یک میکروارگانیسم نسبت به عوامل محیطی و آشنایی با تأثیرات هر یک از عوامل مزبور بر روی میکروارگانیسم مورد نظر، به ما این امکان را می‌دهد تا با دستکاری اکولوژی میکروبی بتوانیم به اهداف مختلفی از جمله افزایش ماندگاری مواد غذایی دست یابیم. بمنظور شناسایی اکولوژی میکروبی یک میکروارگانیسم خاص،

۱- دانش‌آموخته دوره دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات ، تهران،ایران.
۲- گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات ، تهران *ایران.

داشتن اطلاعاتی مانند نوع و تعداد اولیه میکروارگانیسم در غذا، دامنه تحمل پارامترهای مختلف درون‌گرا (Intrinsic) و برون‌گرا(Extrinsic)، همچنین سرعت رشد، خصوصیات ماده غذایی و شرایطی که غذا در آن نگهداری می‌گردد، ضروری است. می‌توان با طراحی مطالعات تلقیحی میکروبی (Inoculation Studies) در مرحله اول در محیط کشت و متعاقب آن در ماده غذایی که متأثر از شرایط درون‌گرا و برون‌گرای موثر بر رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشد الگوی رفتاری میکروارگانیسم‌ها را شناسایی نمود (۲۱).

یرسینیا انتروکولیتیکا (Yersinia enterocolitica) باسیل‌های کوتاه، گرم منفی، بی‌هوازی اختیاری و غیرهاگ‌زا هستند که جزو خانواده آنتروباکتریاسه طبقه‌بندی می‌گردد. این میکروارگانیسم می‌تواند در دمای ٤٥- ۰ درجه سانتی‌گراد (اپتیمم ۲۹- ۲۵ درجه سانتی‌گراد) رشد نماید (۲۰). در طبیعت بطور وسیعی (هم در محیط‌های خشک و هم آبی) یافت می‌شود. گزارشات متعددی از شیوع این ارگانیسم از سراسر جهان بعمل آمده است (١٤). سروتیپ‌های O:۳ و O:۸ بیشترین بیماریزایی را برای انسان دارند و در ٪۹۰- ٪۸۵ اپیدمی‌های گزارش شده سروتیپ O:۳ جداسازی شده است (١٦).

موارد زیادی از شیوع یرسینیوزیس در نتیجه مصرف شیر خام و پاستوریزه گزارش گردیده است طوریکه شیر را بعنوان یکی از عمده‌ترین راههای عفونت انسانی مطرح می‌سازند (٦، ١٤،١٦ و۲۳). بررسی‌ها نشاندهنده امکان آلودگی و بقاء *یرسینیا* در انواع پنیرها و بویژه پنیرهای تولیدی به شیوه سنتی می‌باشد (۵ و٦). شیمن Schieman (1978) و مصطفی در بررسی‌هایی شیوع ٪۱۸/۲ و ٪۲/۹ *یرسینیا انتروکولیتیکا* را بترتیب در شیر خام و پنیر گزارش نموده‌اند (۱۷). همچنین میزان آلودگی ٪۸/۲۸ و ٪۲/٤ از پنیرهای فتا گزارش گردیده است که می‌تواند خطر بالقوه‌ای برای مصرف کنندگان پنیر فتا و پنیرهای مشابه باشد (۳، ٦). پنیر سفید ایرانی که به لحاظ نحوه تهیه و نگهداری، از جمله پنیرهای آب‌نمکی محسوب می‌گردد جزء فرآورده‌های لبنی پر مصرف در کشور بوده و سهم قابل ملاحظه‌ای را در سبد غذایی خانوار به خود اختصاص داده است. پنیر سفید در اصل از شیر میش تهیه می‌گردد اما امروزه از شیر گاو نیز جهت تهیه آن بهره می‌برند. در حال حاضر این نوع پنیر در ایران با استفاده از شیوه‌های صنعتی و سنتی تولید گردیده و بصورت تازه و یا رسیده مصرف می‌گردد. 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 پایین‌تر از دمای پاستوریزاسیون (۲ ± ۷۲ درجه سانتی‌گراد بمدت ۱۵ ثانیه) بسیار محتمل است. لذا به نظر متخصصین بهداشت مواد غذایی از آنجاییکه *یرسینیا انتروکولیتیکا* قابلیت رشد و تکثیر در دمای ٤٥- ۰ سانتی‌گراد را داراست و از طرفی در شرایط PH اسیدی و حضور نمک مقاومت خوبی از خود نشان می‌دهد بنابراین امکان رشد و تزاید آن در شرایط یخچالی و در طی مدت زمان نگهداری پنیر جهت رسیدن وجود دارد.

در این مطالعه سعی شده است ضمن بازسازی شرایط تولید پنیر سفید ایرانی در آزمایشگاه، تأثیر هر یک از عوامل مختلف مانند استفاده از استارتر در شیر پنیر و همچنین طول مدت نگهداری پنیر بر بقاء *یرسینیا* ارزیابی گردد.

مواد و روش کار

الف- باکتری مورد آزمایش:

باکتری لیوفیلیزه شده یرسینیا انتروکولیتیکا سروتیپ O:۳ از کلکسیون میکروبی مؤسسه واکسن و سرم‌سازی رازی تهیه و بمنظور فعال‌سازی، در محیط آبگوشت BHI (Brain Heart Infusion broth) دوبار متوالی کشت داده شد. کشت‌های ذخیره در لوله‌های حاوی محیط BHI آگار با سطح مورب (BHI agar slant) و در دمای ٤ سانتی‌گراد نگهداری و هر ماه تجدید کشت داده شد.

ب- تهیه سوسپانسیون یرسینیا انتروکولیتیکا جهت تلقیح در

شیر پنیر:

سوسپانسیون یرسینیا انتروکولیتیکا جهت تلقیح در شیر پنیر، با استفاده از کشت ذخیره که در محیط آبگوشت BHI کشت و در دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد بمدت 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 تعیین گردید. مقدار اولیه سوسپانسیون میکروبی طوری در نظر گرفته شد تا نهایتاً تعداد آن در هر میلی‌لیتر از شیر پنیر در حدود 10^5 باشد (۱۲ و۲۰). از ماست بعنوان منبع لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس استفاده شد. برای این منظور از ماست تازه (۲٤ ساعته) متعاقب تهیه لام و رنگ‌آمیزی گرم – بمنظور تأیید برابر بودن تعداد باکتری‌های یاد شده – در ترکیب شیر پنیر استفاده گردید.

ج– تهیه پنیر سفید ایرانی:

شیر کامل گاو پس از پاستوریزاسیون در دمای ۲ ± ۷۲ درجه سانتی‌گراد بمدت ۱۵ ثانیه، برای تهیه پنیر سفید مورد استفاده قرار گرفت. چهار نوع پنیر طبق پروتکل ارائه شده در جدول (۱) تهیه و ماست به نمونه‌های پنیر دارای استارتر بمقدار۰/۵٪ (حجم به حجم) به شیر اضافه شد. سپس از کشت ۱۸ ساعته یرسینیا انتروکولیتیکا که در محیط آبگوشت BHI و در دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شده بود برای تلقیح استفاده گردید. قبل از تلقیح میکروب به شیر، ابتدا کدورت سوسپانسیون میکروبی اندازه‌گیری و با منحنی استاندارد تهیه شده مطابقت داده شد. در منحنی استاندارد رابطه بین میزان کدورت محیط کشت با تعداد باکتری زنده موجود در سوسپانسیون تعیین گردیده بود. به این ترتیب تعداد باکتری زنده در هر میلی‌لیتر از محیط کشت با اندازه‌گیری میزان کدورت محیط بدست می‌آمد. از آنجاییکه هر میلی‌لیتر از کشت میکروبی تقریباً حاوی 10^8 باکتری بود بنابراین مقدار ۰/۱ ٪ (حجم به حجم) از سوسپانسیون به شیر اضافه گردید. در این حالت میزان تلقیح اولیه باکتری طبق آزمایشات انجام شده بطور تقریبی در حدود $10^5 \times 1$ تا $10^5 \times 5/2$ در میلی‌لیتر از شیر برآورد شد. کلرید کلسیم ($CaCl_2$) بمیزان ۰/۰۲ ٪ (وزن به حجم) و رنت بمقدار ۰/۰۰۱ ٪ (وزن به حجم) به شیر اضافه گردید.

بمنظور کارایی بهتر رنت، دمای شیر در مدت زمان تشکیل لخته در حدود ۳۵ سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از گذشت مدت زمان یک ساعت، لخته تشکیل شده به قطعاتcm ۲– ۱ بریده و طبق پروتکل ساخت پنیر سفید ایرانی جهت خروج آب از لخته و قالب‌گیری به مدت شش ساعت تحت فشار وزنه ۱۰ کیلوگرمی قرار گرفت. سپس لخته را بصورت قطعاتی به اندازه cm ٦ × ۸ × ۱۲ بریده و در آب نمک ۲۲ ٪ (وزن به حجم) استریل بمدت ۸ ساعت و در دمای ١٦ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. متعاقب اینکار قالب‌های پنیر در آب نمک ۱۰ ٪ استریل (وزن به حجم) بصورت جداگانه بسته‌بندی و بمدت ۱۵ روز در دمای ١٤– ۱۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

بمنظور شمارش یرسینیا انتروکولیتیکا، اندازه‌گیری PH، تعیین درصد ماده خشک، درصد رطوبت و درصد نمک نمونه های پنیر، آزمایشات میکروبی و شیمیایی در طی مراحل ذیل 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٪۲۲(ساعت ۱۵)

د– متعاقب اتمام دوره رسیدن پنیر در ١٤– ۱۲ درجه سانتی‌گراد یا « انبار سبز» (ساعت ٣٦٠ یا ۱۵ روزگی)

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

۱۱٦٤۳٤) و بـا افـزودن مکمـل آنتـی‌بیـوتیکی(Yersinia Selective Supplement) (مرک؛ شـماره کاتـالوگ ۱۱٦٤٦٦) استفاده شد. مقـدار ۱۰ گـرم از نمونـه‌هـای پنیـر را متعاقـب هموژن نمودن با ۹۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ ٪ (وزن بـه حجـم) آب پپتونه(peptone water) استریل مخلوط نموده و لوله‌هـای رقت نیز با استفاده از آب پپتونه استریل ۰/۱ ٪ (از 10^{-2} تـا 10^{-8}) تهیه گردید (۱۹). سـپس از هـر لولـه رقـت مقـدار ۰/۱ میلی‌لیتر در سطح دو پلیت حاوی محیط آگار انتخابی یرسـینیا کشت داده شد. پلیت‌ها بمدت ٤۸ ساعت در دمای ۲۵ درجـه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری و نهایتاً پرگنه‌های ریز با قطـر ۲-۱ میلی‌متر قرمز رنگ، با مرکـز تیـره گرانـولی شـکل و حاشـیه روشن شمارش گردید. میانگین تعداد پرگنه‌ها شمارش شـده در دو پلیت برای رقت مربوطه در نظر گرفته شد. جهت تأیید پرگنه‌های شمارش شده یرسینیا انتروکولیتیکا در محیط جامـد انتخابی، جذر تعداد پرگنه در هر پلیت را به لوله‌هـای حـاوی محیط BHI آگار با سطح مورب منتقل نموده و در ۲۵ درجـه سانتیگراد بمدت ۱۸ ساعت گرمخانه‌گـذاری گردیـد. از ایـن پرگنـه‌هـا رنـگ‌آمیـزی گـرم بعمـل آمـد و پـس از مـشاهده باسیل‌های کوتاه گرم منفی، در محیط‌هـای مـک‌کـانکی آگـار (Mac Conkey agar)، آبگوشت گلوکز (Glucose broth) بـا لوله دورهـام، TSI (Triple Sugar Iron agar)، Indole-(SH_2-)، SIM (Motility medium، Urea agar، و تـست ONPG (O-Nitrophenyl-ß-D-galactopyranose) بـرای تأییـد یرسـینیا انتروکولیتیکا استفاده گردید (٦ و۱۹). بدلیل تأثیر دما بـر روی برخی از خصوصیات بیوشیمیایی ایـن بـاکتری نظیـر قابلیـت حرکت آن در محیط نیمه جامد وغیره برای انجـام ایـن قبیـل تست‌ها از دمای گرمخانه‌گذاری ۲۵ درجه سانتی‌گراد اسـتفاده شد (۱۹ و ۲۳).

هـ- بررسی خصوصیات شیمیایی نمونه‌های پنیر:

آزمایشات شیمیایی انجام شده شامل انـدازه‌گیـری رطوبـت، اندازه‌گیری ماده خـشک، انـدازه‌گیـری pH و انـدازه‌گیـری مقدار نمک بود که بر اسـاس روش AOAC (۱۹۹۵) انجـام پذیرفت (۲).

و- تجزیه و تحلیل آماری:

داده‌های مربوط به نتایج آزمون‌هـای مربوطـه بـا اسـتفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیـه و تحلیـل توصـیفی و تحلیلـی قرار گرفت. روش‌هـای توصـیفی شـامل محاسـبه شـاخص میانگین حسابی، انحراف و خطای معیـار و حـدود اطمینـان بود. روش‌های تحلیلی شامل آنالیز واریانس جهـت مقایـسه تیمارها بود.

جدول۱: نحوه استفاده از استارتر، افزودن ترکیبات شیمیایی و تلقیح میکروب به هر یک از چهار نوع پنیر سفید ایرانی تهیه شده

نوع پنیر	کلرید کلسیم (٪ ۰/۰۲W/V)	*یرسینیا انتروکولیتیکا* [1] (٪ ۰/۱V/V)	استارتر [2] (٪ ۰/۵V/V)	رنت (٪ ۰/۰۰۱W/V)
پنیر دارای استارتر	+	+	+	+
پنیر بدون استارتر	+	+	-	+
شاهد با استارتر	+	-	+	+
شاهد بدون استارتر	+	-	-	+

۱- حجم سوسپانسیون میکروبی به حجم شیر

۲- حجم استارتر (ماست) به حجم شیر

نتایج

نتایج حاصل از اندازه‌گیری pH، ماده خشک، رطوبت و مقدار نمک در نمونه‌های پنیر در جدول (۲) ارائه شده است. میانگین رطوبت و نمک پنیر در انتهای دوره نگهداری ۱۵ روزه بترتیب برابر با ٦۷/٦۱ و ۰۵/٦ درصد بود. میزان pH اولیه شیر از ۵/٦ به ۷۲/٤ و ۵/٦ به ۳٦/٦ بترتیب در پنیرهای ساخته شده با استارتر و بدون استارتر- متعاقب

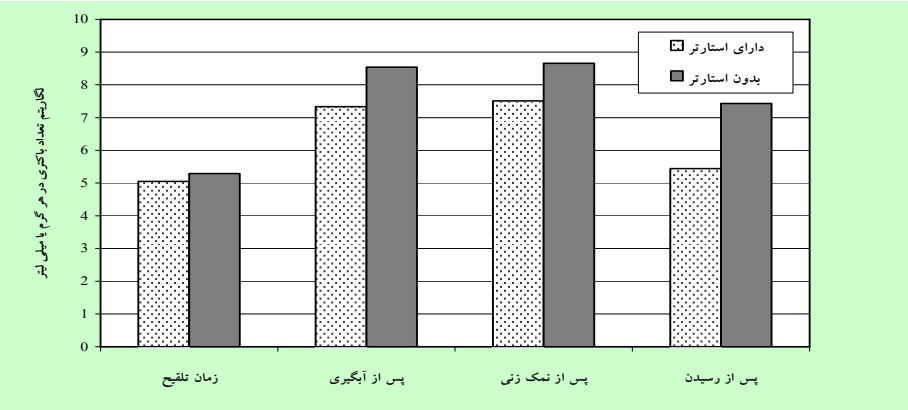
آبگیری- رسید. در طی دوره رسیدن پنیر (از ساعت ۱۵ تا ۳۶۰) میزان ماده خشک، نمک و pH افزایش یافت و نتایج نشان دهنده کاهش مقدار رطوبت در هر دو نوع پنیر بود.

تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در طی ساخت پنیر سفید ایرانی افزایش سریعی را نشان داده است (نمودار۱). مقدار افزایش ۲۸/۲ و ۲۵/۳ واحد لگاریتمی (Log Unit) بترتیب برای پنیرهای دارای استارتر و فاقد استارتر می‌باشد. در اینجا تفاوت یک واحد لگاریتمی در تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* برای پنیرهای دارای استارتر می‌تواند در نتیجه کاهش نسبی pH در طی ۷ ساعت اول پنیرسازی باشد. متعاقب نمک-زنی، تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در نمونه‌های پنیر تقریباً ثابت بوده که اینحالت می‌تواند در نتیجه تأثیر مهار کننده نمک بر روی باکتری مزبور باشد. پس از ۱۵ روز نگهداری پنیر، تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* به میزان ۰۷/۲ و ۲۳/۱ واحد لگاریتمی بترتیب در پنیرهای دارای استارتر و بدون استارتر کاهش یافت. تأثیر متقابل نمک و pH در پنیرهای دارای استارتر و همچنین تأثیر نمک در پنیرهای بدون استارتر موجب کاهش تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* در پایان دوره رسیدن پنیر گردیده است.

یرسینیا انتروکولیتیکا در طی روند تولید هر دو نوع پنیر بصورت معنی‌داری ($P<0/05$) افزایش یافت. میانگین تعداد *یرسینیا انتروکولیتیکا* پس از آبگیری از ۰۵/۵ به ۳۳/۷ و از ۲۹/۵ به ۵٤/۸ واحد لگاریتمی، بترتیب در پنیرهای دارای استارتر و بدون استارتر رسید. همچنین تعداد باکتری مزبور پس از نمک‌زنی تا اتمام ۱۵ روز نگهداری بترتیب در پنیرهای دارای استارتر و بدون استارتر به حدود ٤٤/۵ و ٤۳/۷ واحد لگاریتمی کاهش یافت. این میزان کاهش در نتیجه استفاده از استارتر معنی‌دار ($P<0/05$) بود.

جدول۲: میانگین میزان تغییرات شیمیایی و pH پنیر سفید ایرانی در طی روند ساخت و دوره نگهداری

زمان (ساعت)	پنیر دارای استارتر				پنیر بدون استارتر			
	ماده خشک (درصد)	رطوبت (درصد)	نمک (درصد)	PH	ماده خشک (درصد)	رطوبت (درصد)	نمک (درصد)	PH
صفر	–	–	–	۵۰/۶	–	–	–	۵۰/۶
۷	۷۴/۳۳	۲۵/۶۶	–	۷۲/۴	۳۴/۱۱	۸۹/۶۵	–	۳۶/۶
۱۵	۵۶/۳۴	۴۴/۶۵	۲۰/۵	۸۸/۴	۹۱/۳۴	۰۹/۶۵	۲۸/۵	۴۹/۶
۳۶۰	۱۸/۳۸	۸۲/۶۱	۰۵/۶	۶۹/۵	۴۸/۳۸	۵۲/۶۱	۰۶/۶	۵۵/۶



نمودار۱: میانگین میزان تغییرات شمارش *یرسینیا انتروکولیتیکا* در طی روند ساخت و دوره نگهداری پنیر سفید ایران

بحث

تأثیر برخی از عوامل درون‌گرا و برون‌گرای مؤثر بر رشد یرسینیا انتروکولیتیکا در مطالعات تلقیحی مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته است (٤، ٥، ٦، ٩، ١٠، ١٥ و ١٨). 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 گاستروآنتریت و دردهای شدیدی می‌کند که گاه با آپاندیسیت اشتباه گرفته می‌شود (٧، ٨، ١٤ و ١٦). لذا امروزه بدلیل مصرف بالای فرآورده‌های لبنی و از آن جمله پنیر در بین اقشار مختلف جامعه، تعیین الگوی رفتاری این باکتری از دیدگاه بهداشت مواد غذایی حائز اهمیت می‌باشد.

یرسینیا انتروکولیتیکا و یرسینیا سودوتوبرکلوزیس بعنوان یرسینیاهای بیماریزای مهم شناخته می‌شوند که باعث بیماری مشابه گاستروآنتریت بنام یرسینیوزیس می‌گردند. دو گونه یاد شده به لحاظ بیماریزا بودن در مواد غذایی اهمیت داشته و آلودگی با آنها از طریق غذا و آب آلوده صورت می‌پذیرد. آمارها نشان دهنده ابتلاء سالانه ٣٠٠٠ – ٢٠٠٠ نفر در ایالات متحده به یرسینیوزیس می‌باشد (١٦). همچنین گزارشات دیگری از این بیماری از سایر نقاط جهان مانند اروپا، کشورهای اسکاندیناوی و ژاپن صورت گرفته است که بطور کلی حاکی از گسترش جهانی گونه‌های مختلف یرسینیا بویژه در فصول سرد سال می‌باشد (١٣). در ایران یرسینیا انتروکولیتیکا سروتیپ O:٣ برای اولین بار از مدفوع یک کودک ١٠ ماهه جدا گردید (١١). سروتیپ O:٩ این گونه از باکتری در سال ١٣٦٥ برای اولین بار جداسازی و گزارش شده است (٢٣). متعاقب آن بررسی‌های دیگری میزان شیوع آنرا ٣ ٪ و ١ ٪ بترتیب در شیر خام و پاستوریزه (١) و نیز ١/٦ ٪ در شیر خام گزارش نموده‌اند (٢٢).

مطالعات مشابه انجام یافته در این مورد نشان داده‌اند زمانیکه اسیدیته در پنیر فتا در نتیجه استفاده از کشت مخلوط لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس سریعاً نزول پیدا کرده و PH محصول در طی ٤٨ ساعت به حدود ٦/٤ و حتی کمتر از آن برسد، تعداد یرسینیا انتروکولیتیکا (سروتیپ O:٩) در مدت ٩٦ – ٤٨ ساعت حدود ١ الی ٦ واحد لگاریتمی کاهش می‌یابد. همچنین تعداد آن پس از گذشت مدت زمان ١٢٠ – ٧٢ ساعت تا حد غیرقابل ردیابی می‌رسد (١٥). در اینجا تفاوت‌های عمدای در نتایج حاصله از مطالعه مذکور و مطالعه حاضر که بر روی پنیر سفید ایرانی انجام گرفته است مشاهده می‌گردد. دلیل این تفاوت احتمالاً در نتیجه اختلاف در نحوه ساخت پنیر، مقدار کشت استارتر بکار رفته در ترکیب پنیر و تأثیر آن بر میزان نزول PH و نیز تفاوت در سروتیپ مورد استفاده در دو مطالعه تلقیحی باشد. نتایج حاصله از این تحقیق (نمودار ١) نشان داد که نمک فاکتور مهار کننده برای رشد یرسینیا انتروکولیتیکا می‌باشد. همچنین نتایج حاکی از قابلیت رشد بهتر و بقاء طولانی‌تر یرسینیا در مقادیر PH بالا (مقادیر اسیدیته پایین) بوده است. از طرفی بنظر می‌رسد فاکتورهای PH، نمک و نگهداری پنیر اثر تجمعی بر روی رشد و بقاء باکتری داشته‌اند. این نتایج مشابه نتایج مطالعه‌ای است که بر روی پنیر فتای ترکیه (Turkish Feta Cheese) انجام گرفته است (٦). با توجه به نتایج بدست آمده بنظر می‌رسد فاکتورهای PH و نمک بیشترین تأثیر را بر روی این باکتری داشته‌اند. از طرفی اثر مهاری استارتر احتمالاً در نتیجه تأثیر آن در کاهش PH از طریق تولید اسید لاکتیک و نیز سنتز ترکیبات آنتی‌بیوتیکی و سایر متابولیت‌ها بوده است. این مطالعه نشان داد که PH پایین اثر مهاری مناسبی بر رشد یرسینیا انتروکولیتیکا داشته و جهت دستیابی به آن می‌توان از استارترهای مناسب در تهیه پنیر بهره برد.

در این مطالعه رشد سریع یرسینیا انتروکولیتیکا و افزایش تعداد آن در طی روند ساخت پنیر سفید ایرانی نشاندهنده این مطلب است که آلودگی پنیر با باکتری مزبور می‌تواند

موجب بروز خطر در سطح سلامتی عمومی گردد. از آنجاییکه مطالعات انجام یافته نشانگر بقاء طولانی مدت یرسینیا انتروکولیتیکا در پنیرهای فتا بوده است لذا پیشنهاد می‌گردد بمنظور ممانعت از آلودگی پنیر به این باکتری، در تمامی مراحل ساخت، عمل‌آوری و نگهداری پنیر ملاحظات بهداشتی رعایت گردد. از طرفی بدلیل امکان آلوده شدن شیر متعاقب پاستوریزاسیون حتی با وجود رعایت موازین بهداشتی، استفاده از کشت استارتر در تهیه پنیر می‌تواند تا حدود زیادی از میزان خطر احتمالی بکاهد.

فهرست منابع

۱- شریف‌زاده، ع. اخوان، م. زراسوندی، ع. 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 ، ۱۹-۱۵.

2-AOAC. (1995): Official Methods of Analysis, AOAS International. 16th edition, Vol: 2, Chap: 33, Subchapter 7, Cheese, pp: 58-61.

3-Aytac, S. A. and Ozbas, Z. Y. (1992): Isolation of Yersinia enterocolitica from Turkish Pickled White Cheese. Aust. J. Dairy Technol. 47(1): 60.

4-Aytac, S. A. and Z. Y. Ozbas. (1994): Survey of the Growth and Survival of Yersinia enterocolitica and Aeromonas HydroPHila in Yogurt. Milchwissenschaft 49(6): 322-325.

5-Bozkurt, H. and Erkmen. O. (2001): Predictive modeling of Yersinia enterocolitica inactivation in Turkish Feta cheese during storage. Journal of Food Engineering Volume 47, Issue 2 , February 2001, Pages 81-87.

6-Erkmen, O. (1997). Survival of virulent Yersinia enterocolitica during the manufacture and storage of Turkish Feta cheese. International Journal of Food Microbiology. Vol: 33, Issues 2-3 , December 1996, PP. 285-292.

7-Frazier, W. C. and Westhoff, D. C. (1995): Food Microbiology. Forth edition, Tata McGraw-Hill, pp: 431-432.

8-Gosting, D. C., Doyle, M. E., Steinhart, C. E. and Cochrane. B. A. (1990): Food Safety. PP: 412-418.

9-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. Vol: 24, Issues 1-2 , December 1994, PP. 83-92.

10-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].

11-Haghighi, L. (1979): The first successful isolation and identification of Yersinia enterocolitica in Iran. PMID: 535378 [PubMed - indexed for MEDLINE].

12-Harley, J. P. and Prescott. L. M., (2002): Laboratory Exercises in Microbiology. Fifth edition, McGraw-Hill Companies, Inc. Turbidity Determination of Bacterial Numbers, pp: 120-121.

13-Hui, Y. H., Merle. D., Pierson. J. and Gorham, R. (2001): Foodborne Diseases Handbook. CRC Press LLC, Vol: 1, PP: 471-499.

14-Jay, J. M. (2003): Modern Food Microbiology: yersiniosis. Chapman and Hall LTD, 5th edition, PP. 590-597.

15-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.

16-Marianne, D. M. and Jeffrey, W. B. (2003): International Handbook of Foodborne Pathogens. Marcel Dekker, Inc. PP. 143-144.

17-Moustafa, M. K., Ahmed. A. and Marth. E. H. (1983): Occurrence of Yersinia enterocolitica in raw and pasteruized milk. J. Food Prot. 46: 276-278.
18-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.
19-Pouch, D. F. and Ito. K. (2001): Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Third edition, American Public Health Association, Washington DC. pp: 53- 58 and 422-425.
20-Ray, B. (2004): Fundamental Food Microbiology. 3rd edition, CRC Press LLC, PP: 376-380.
21-Ross, T. and Nichols DS. (1999). Ecology of Bacteria and Fungi in foods, Influence of Temperature. Academic Press, Australia: 455-459.
22-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.IJFM,(94)1,1 ,Pages 87-91.
23-Varnam, A. H. (1996): Foodborne Pathogens: foods commonly involved in transmission of Yersinia. Wolfe published Ltd, PP. 143-144.
24-Zowghi, E. and Ebadi, A. (1986): Isolation and Identification of Yersinia enterocolitica Serotype 0:3 in cattle in Iran. Arch. Inst. Razi, 36, 37

.