٢٣٩٥٠

دانشگاه فردوسی مشهد

دانشکده کشاورزی

گروه علوم و صنایع غذایی

۱۳۷۸ /۴/ ۲۰

مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران
تهیه مدارک

پایان نامه تحصیلی

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

عنوان:

کنترل استافیلوکوکوس اورئوس در همبرگر

اساتید راهنما:

سرکار خانم دکتر فخری شهیدی

جناب آقای دکتر محمد حسین حداد خداپرست

اساتید مشاور:

جناب آقای دکتر سید علی مرتضوی

جناب آقای مهندس علی شعر باف طوسی

نگارش:

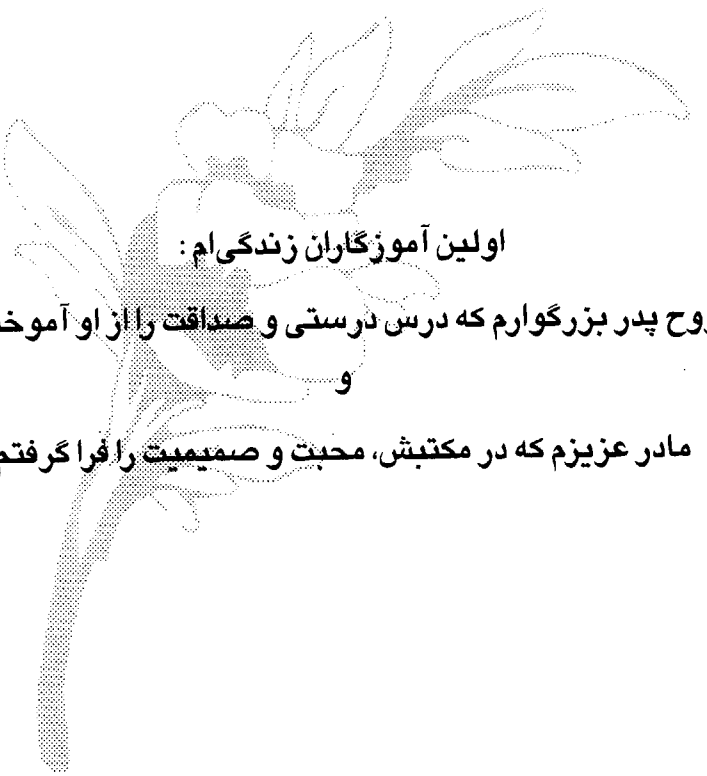
مجتبی رحیم زاده اسکویی

۱۲۲۱/2

۲۴۹۵۰

تیر ۷۶

تقدیم به :



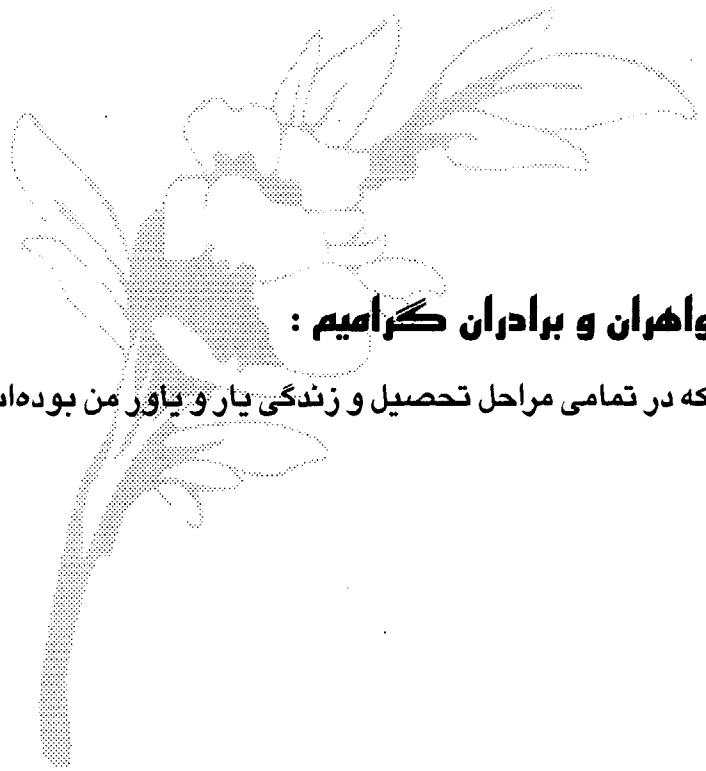
اولین آموزگاران زندگی‌ام :

روح پدر بزرگوارم که درس درستی و صداقت را از او آموختم.

و

مادر عزیزم که در مکتبش، محبت و صمیمیت را فرا گرفتم.

تقدیم به :



خواهران و برادران گرامیم :

که در تمامی مراحل تحصیل و زندگی یار و یاور من بوده‌اند

با تشکر و قدردانی از:

لازم می‌دانم از تمامی اساتید، دانشجویان و کارکنان محترمی که در مراحل مختلف این پژوهش همفکری و همکاری نمودند، صمیمانه قدردانی نمایم. بدون تردید، چنانچه مساعدتهای این عزیزان نمی‌بود، امکان به پایان رساندن این پژوهش مسیر نمی‌شد.

از جناب آقای **دکتر مرتضوی** استاد مشاور این طرح تحقیقاتی، بخاطر راهنمایی‌ها و محبت‌هایشان صمیمانه قدردانی می‌نمایم.

از جناب آقای **دکتر حداد خداپرست**، استاد راهنمای محترم پایان نامه، بخاطر مساعدت فراوان ایشان، به ویژه در اختیار قرار دادن منابع علمی ارزنده، سپاسگزاری می‌نمایم.

از سرکار خانم **دکتر فخری شهیدی**، استاد راهنمای محترم، که در تمامی مراحل این پژوهش، صمیمانه اینجانب را راهنمایی نمودند.

از جناب آقای **دکتر پورآذرنگ**، مدیر محترم وقت گروه صنایع غذایی بخاطر فراهم آوردن امکانات و موقعیت‌های مورد نیاز انجام پایان‌نامه، تشکر می‌نمایم.

از جناب آقای **مهندس توسلی**، بخاطر مساعدت فراوان ایشان در مسائل و مشکلات میکروبی طرح، تشکر می‌نمایم.

از جناب آقای **مهندس شریف**، بخاطر راهنمایی‌های ارزندهٔ ایشان، در تفسیر نتایج، هم‌چنین مساعدت فراوان ایشان در تهیه وسایل و موارد مورد نیاز این طرح، صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایم.

از جناب آقای **مهندس طوسی** مشاور محترم آماری طرح، که نهایت محبت را در تجزیه و تحلیل آماری نمودند، سپاسگزارم.

از خانم **مهندس شهرزاد حقیقی**، هم چنین دانشجویان گرامی، خانم‌ها افسانه مرشدی و بیتا فرقانی بخاطر همکاری صمیمانه در مراحل عملی این پژوهش، که با صداقت تمام صورت پذیرفت، کمال سپاسگزاری را می‌نمایم.

از سرکار خانم **مهندس فریده طباطبایی** و آقای **مهندس عطاردی** نیز سپاسگزارم.

از کارکنان محترم دانشکده کشاورزی آقایان بینایی، رئوف، خیری و ادیبی، هم چنین پرسنل محترم بخش چاپ و تکثیر دانشکده کشاورزی نیز کمال سپاس را دارم.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

چکیده ۱

فصل اول : مقدمه ۳

فصل دوم : بررسی منابع ۵

۱-۲- ترکیبات ضد میکروبی طبیعی ۵

۲-۲- لاکتو پراکسیداز و لاکتوفرین ۶

۱-۲-۲- لاکتوپراکسیداز ۷

۲-۲-۲- لاکتوفرین ۸

۱-۲-۲-۲- عملکرد فیزیولوژیکی ۹

۲-۲-۲-۲- نقش ضد میکروبی ۹

۳-۲- نقش ضدمیکروبی ادویه‌ها ۱۰

عنوان | صفحه

۱-۳-۲-گونه‌های آلیوم ۱۱

۲-۳-۲- آویشن ۱۲

۳-۳-۲- دارچین ۱۳

۴-۳-۲- میخک ۱۴

۵-۳-۲- وانیلین ۱۴

۶-۳-۲- سایر موارد ۱۵

۴-۲- آلبومین ۱۵

۱-۴-۲- لیزوزیم ۱۷

۲-۴-۲- اووترانسفرین ۱۹

۵-۲- متابولیتهای ضدمیکروبی میکروارگانیسمها ۱۹

۱-۵-۲- پراکسید هیدروژن ۲۰

۲-۵-۲- دی استیل ۲۱

۳-۵-۲- روترین ۲۱

۴-۵-۲- نایسین ۲۲

نقش نایسین در گوشت و فرآورده‌های گوشتی ۲۳

۶-۲- اسیدهای آلی ۲۴

۱-۶-۲- اسیدلاکتیک ۲۵

کاربردهای اسیدلاکتیک ۲۷

۲-۶-۲- اسید استیک ۲۸

عنوان | صفحه

۳ـ۶ـ۲ـ اسید سیتریک ۲۹

۴ـ۶ـ۲ـ اسیدپروپیونیک ۳۲

۵ـ۶ـ۲ـ اسید سوکسینیک ۳۳

۶ـ۶ـ۲ـ اسید فوماریک ۳۴

۷ـ۶ـ۲ـ اسید مالیک ۳۶

۸ـ۶ـ۲ـ اسید تارتاریک ۳۸

۷ـ۲ـ تأثیر اسیدهای آلی بر باکتریها ۳۹

فصل سوم : مواد و روشها ۴۲

۱-۳- مراحل انجام پژوهش ۴۲

۲-۳- آزمایشهای دستگاهی ۴۵

۱-۲-۳- تعیین pH ۴۵

۲-۲-۳- شمارش میکروبی ۴۶

۳-۲-۳- سانتریفوژ کردن ۴۶

۴-۲-۳- شناسایی میکروارگانیسمها ۴۶

۳-۳- آزمایشهای میکروبی ۴۶

۱-۳-۳- شمارش کلی ۴۶

۲-۳-۳- شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس ۴۶

۳-۳-۳- ۴۶

۳-۴- مواد شیمیایی ۴۷
۱-۳-۴- ۴۷
۲-۳-۴- ۴۷
۳-۵- طرح آماری ۴۷

فصل چهارم : نتایج و بحث ۴۹

۱-۴- نتایج حاصل از بررسی میزان آلودگی موجود در مواد اولیه ۴۹
۲-۴- نتایج شمارش میکروبها در همبرگر مادر ۵۰
۳-۴- نتایج حاصل از شمارش کلی میکروبها در همبرگر بعد از افزودن استافیلوکوکوس اورئوس ۵۱
۴-۴- نتایج شمارش میکروب و pH پس از ۱۵ روز نگهداری در فریزر ۵۱
۱-۴-۴- نتایج شمارش استافیلوکوکوس اورئوس ۵۱
۲-۴-۴- نتایج شمارش کلی میکروبها ۵۴
۳-۴-۴- نتایج بررسی pH ۵۶
۵-۴- نتایج شمارش میکروبها و pH پس از ۳۰ روز نگهداری در فریزر ۵۸
۱-۵-۴- نتایج شمارش استافیلوکوکوس اورئوس ۵۸
۲-۵-۴- نتایج شمارش کلی میکروبها ۶۰
۳-۵-۴- نتایج بررسی pH ۶۲
۶-۴- نتایج شمارش میکروبها و pH پس از ۴۵ روز نگهداری در فریزر ۶۴
۱-۶-۴- نتایج شمارش استافیلوکوکوس اورئوس ۶۴

عنوان **صفحه**

۲-۶-۴- نتایج شمارش کلی میکروبها ۶۶
۳-۶-۴- نتایج بررسی pH ۶۹
۷-۴- بررسی علل اثر بیشتر اسیداستیک نسبت به اسیدلاکتیک ۷۱
۸-۴- رابطه بین pH، تعداد استافیلوکوکوس اورئوس و شمارش کلی میکروبها ۷۲
۹-۴- بررسی علل اثر کمتر مخلوط اسیداستیک و اسید لاکتیک ۷۴
۱۰-۴- بررسی تغییرات تعداد استافیلوکوکوس اورئوس، شمارش کلی میکروبها و میزان pH در طی ۴۵ روز نگهداری نمونهٔ شاهد ۷۵
۱۱-۴- بررسی تغییرات تعداد استافیلوکوکوس اورئوس، شمارش کلی میکروبها و میزان pH در طی ۴۵ روز نگهداری تیمار A۱B۱ ..... ۷۶
۱۲-۴- بررسی تغییرات تعداد استافیلوکوکوس اورئوس، شمارش کلی میکروبها و میزان pH در طی ۴۵ روز نگهداری تیمار A۱B۲ ..... ۷۸
۱۳-۴- بررسی تغییرات تعداد استافیلوکوکوس اورئوس، شمارش کلی میکروبها و میزان pH در طی ۴۵ روز نگهداری تیمار A۱ ..... ۷۹
۱۴-۴- بررسی تغییرات تعداد استافیلوکوکوس اورئوس، شمارش کلی میکروبها و میزان pH در طی ۴۵ روز نگهداری تیمار A۲B۱ ..... ۸۰
۱۵-۴- بررسی تغییرات استافیلوکوکوس اورئوس، شمارش کلی میکروبها و میزان pH در طی ۴۵ روز نگهداری تیمار A۲ ..... ۸۲
۱۶-۴- بررسی تغییرات تعداد استافیلوکوکوس اورئوس، شمارش کلی میکروبها و میزان pH در طی ۴۵ روز نگهداری تیمار B۱ ..... ۸۳

عنوان | صفحه

۴-۱۷- بررسی تغییرات تعداد استافیلوکوکوس اورئوس، شمارش کلی میکروبها و میزان pH در طی ۴۵ روز نگهداری تیمار A۲B۲ ..... ۸۵

۴-۱۸- بررسی تغییرات تعداد استافیلوکوکوس اورئوس، شمارش کلی میکروبها و میزان pH در طی ۴۵ روز نگهداری تیمار B۲ ..... ۸۶

فصل پنجم : چشم‌انداز پژوهشهای آتی ۸۹

فصل ششم : منابع ۹۰

چکیده

استافیلوکوکوس اورئوس از مهمترین میکروارگانیسمهای آلوده کننده در همبرگر می‌باشد. این ارگانیسم به دلیل ترشح توکسین، باعث بروز نوعی مسمومیت می‌گردد. هدف از این پژوهش بررسی امکان استفاده از اسیدهای آلی در کنترل استافیلوکوکوس اورئوس در همبرگر بوده است. اثر اسیدلاکتیک و اسیداستیک در دو سطح ۱ درصد و ۲ درصد، به تنهایی و همچنین به صورت مخلوط با یکدیگر بر استافیلوکوکوس اورئوس موجود در همبرگر مورد بررسی قرار گفت. برای این منظور ابتدا استافیلوکوکوس اورئوس به همبرگر اضافه شد و همبرگر بخوبی مخلوط گردید. سپس به آن مقدار لازم از اسیدهای آلی (اسیدلاکتیک ۱٪ و ۲٪ و اسیداستیک ۱٪ و ۲٪، همچنین مخلوط اسیدلاکتیک و اسیداستیک) اضافه شد. در مجموع ۹ تیمار مورد بررسی عبارت بودند از : نمونهٔ شاهد، B_1 (اسیداستیک ۱ درصد)، B_2 (اسیداستیک ۲ درصد)، A_1 (اسیدلاکتیک ۱ درصد)، A_2 (اسیدلاکتیک ۲ درصد)، B_1 و A_1 (اسیدلاکتیک ۱ درصد + اسیداستیک ۱ درصد)، B_1 و A_2 (اسیدلاکتیک ۲ درصد + اسیداستیک ۱ درصد)، A_1 B_2 (اسیدلاکتیک ۱ درصد + اسیداستیک ۲ درصد)، A_2 B_2 (اسیدلاکتیک ۲ درصد + اسیداستیک ۲ درصد). همبرگرها به صورت نمونه‌های بیست گرمی وزن گردیده، و به فریزر ۱۲- درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند. در سه تناوب زمانی (بعد از گذشت ۱۵ روز، ۳۰ روز و ۴۵ روز) تیمارهای مختلف از فریزر خارج شدند. تعداد استافیلوکوکوس

اورئوس و کل میکروبها در آنها شمارش شد. pH تک‌تک تیمارها نیز اندازه‌گیری گردید. نمونهٔ شاهد (نمونه‌ای که به آن اسید آلی اضافه نشده بود) در همهٔ تناوبهای زمانی، از نظر تعداد استافیلوکوکوس اورئوس و شمارش کلی میکروبی افزایش نشان داد. اما سایر تیمارها در تمامی تناوبهای زمانی، از نظر تعداد استافیلوکوکوس اورئوس و شمارش کلی میکروبی کاهش نشان دادند. هرچه زمان افزایش یافت، کاهش استافیلوکوکوس اورئوس و شمارش کلی میکروبی بیشتر شد. در بین تیمارهای مورد استفاده، تیمار B_2 (اسیداستیک ۲ درصد) و تیمار B_2 و A_2 (اسیداستیک ۲ درصد + اسیدلاکتیک ۲ درصد) بیشترین تأثیر و تیمار B_1 و A_1 (اسیدلاکتیک ۱ درصد + اسیداستیک ۱ درصد) کمترین اثر را داشتند pH تمامی تیمارها با گذشت زمان کاهش یافت. در هر تناوب زمانی بیشترین کاهش pH را تیمار B_2 (اسیداستیک ۲ درصد) و کمترین کاهش pH را نمونهٔ شاهد نشان داد.

مقدمه

یکی از فرآورده‌های گوشتی که در سطح کشور، از تولید نسبتاً بالایی برخوردار است، همبرگر می‌باشد. مصرف همبرگر به دلایل گوناگون از جمله سهولت مصرف این مادهٔ غذایی، استفاده از گوشت در ترکیب آن و طعم مطلوب همبرگر، در حال افزایش است. با توجه به مصرف بالای این مادهٔ غذایی، توجه به ویژگیهای مختلف آن، بخصوص کیفیت میکروبی ضروری به نظر می‌رسد. ترکیبات مورد استفاده در فرمولاسیون همبرگر عبارتند از گوشت، سویا، تخم‌مرغ، پیاز، نمک، آرد نخود، آرد سوخاری، ادویه‌ها و روغن.

مهمترین میکروارگانیسمهای آلوده کننده همبرگر شامل باکتریهایی از قبیل باسیلوسها، استافیلوکوکها، باکتریهای اسیدلاکتیک، مخمرهایی نظیر کاندیدا می‌باشند. از مهمترین ارگانیسمهای آلوده کننده می‌توان به استافیلوکوکوس اورئوس اشاره نمود. حضور استافیلوکوکوس از آن جهت در مواد غذایی حائز اهمیت است که به دلیل تولید انتروتوکسین می‌تواند سندرم مسمومیت استافیلوکوکال را ایجاد نماید.[۸۷] این سندرم در اثر مصرف غذای حاوی انتروتوکسین استافیلوکوکوس به وجود می‌آید. علائم کلاسیک این مسمومیت عبارتند از دردهای ناحیهٔ شکمی، تهوع، استفراغ و اسهال. در بعضی بیماران سردرد نیز تظاهر می‌نماید (۱۴).

مسمومیت استافیلوکوکی یکی از عمده‌ترین بیماریهای ناشی از مصرف مواد غذایی در آمریکا

می‌باشد. در طی سالهای ۱۹۷۳ تا ۱۹۸۷ در بین ۱۰۸۹۰۶ مورد بیماری ناشی از مصرف مواد غذایی، ۱۷۲۴۸ مورد آن ناشی از مسمومیت استافیلوکوکی بوده است (۱۴). متأسفانه در ایران آمار دقیقی از میزان شیوع این مسمومیت موجود نیست، اما با توجه به شواهد می‌توان نتیجه گفت که مسمومیت ناشی از مصرف ماده غذایی آلوده به انتروتوکسین استافیلوکوکوس اورئوس طیف وسیعی دارد.

انتروتوکسینهای استافیلوکوکوس اورئوس براساس ویژگیهای آنتی‌ژنیک به پنج گروه SEF، SED، SEC، SEB و SEA تقسیم می‌شوند. انتروتوکسین C خود به سه زیر گروه SEC_3، SEC_2 و SEC_1 تقسیم گردیده است. غیر از ۵ گروه انتروتوکسین مذکور، گروههای دیگری نیز وجود دارند که کاملاً شناسایی نشده‌اند، تقریباً ۵ درصد از کل مسمومیتهای استافیلوکوکی در اثر انتروتوکسینهای نامشخص بوده است (۱۴).

یکی از برنامه‌ریزیهای مشخص در کشورهای پیشرفتهٔ صنعتی، جلوگیری از حضور استافیلوکوکوس اورئوس در مواد غذایی می‌باشد.[۸۷] برنامه‌ریزی دقیق و علمی جهت کنترل استافیلوکوکوس اورئوس در مواد غذایی یکی از مهمترین اقدامات بهداشتی است که می‌باید در کشور ما اعمال گردد. هدف این پژوهش در راستای تقلیل بار کلی میکروبی، بخصوص کنترل استافیلوکوکوس اورئوس در همبرگر و در نهایت ایجاد شرایطی است که با مصرف همبرگر ایمنی مصرف کننده تضمین گردد.