



ارزیابی ارتباط بین پارامترهای میکروبی و شیمیایی با حضور آفلاتوکسین در نان خشک با استفاده از مدل‌های ریاضی پیشگو

محمد سهرابی بالسینی

استادان راهنما
دکتر فریده طباطبائی یزدی
دکتر مسعود یاور منش

استاد مشاور
دکتر سید علی مرتضوی

آبان ۱۳۹۰

تعهد نامه

عنوان پایان نامه: ارزیابی ارتباط بین پارامترهای میکروبی و شیمیایی باحضور آفلاتوکسین در نان خشک با استفاده از مدلهای ریاضی پیشگو

اینجانب محمد سهرابی بالسینی دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تحت راهنمایی سرکار خانم دکتر طباطبایی و جناب آقای دکتر یاورمنش متعهد می شوم:

- نتایج ارائه شده در این پایان نامه حاصل مطالعات علمی و عملی اینجانب بوده، مسئولیت صحت و اصالت مطالب مندرج را به طور کامل بر عهده می گیرم.
- در خصوص استفاده از نتایج پژوهش‌های محققان دیگر به مرجع مورد نظر استناد شده است.
- مطالب مندرج در این پایان نامه را اینجانب یا فرد یگری به منظور اخذ هیچ نوع مدرک یا امتیازی تاکنون به هیچ مرجعی تسلیم نکرده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد. مقالات مستخرج از پایان نامه، ذیل نام دانشگاه فردوسی مشهد (Ferdowsi University of Mashhad) به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت خواهد شد.
- در خصوص استفاده از موجودات زنده یا بافت‌های آنها برای انجام پایان نامه، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مربوطه رعایت شده است.

تاریخ

محمد سهرابی بالسینی

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.
- استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.

چکیده

نان یک بستر و محیط مغذی برای رشد کپکهای مولد مایکوتوكسین را فراهم می‌آورد که رشد این کپک در شرایط مساعد منجر به تولید انواع مایکوتوكسین می‌گردد . تحقیقات مختلف نشان داده است که حضور انواع مایکوتوكسین در مواد غذایی موجب بروز بیماریهای خطرناک در انسان و دام می‌گردد. در کشور ما بیش از ۲۵-۳۰درصد از نان تولیدی به صورت ضایعات نان یا نان خشک از چرخه مصرف مستقیم انسان خارج می‌شود و تقریباً اکثر ضایعات نان جهت تغذیه دام به مصرف می‌رسد . تحقیق پیش رو با هدف بررسی خصوصیات شیمیایی و میکروبی ضایعات نان شهر مشهد، تعیین میزان و فراوانی آلودگی ضایعات نان به انواع آفلاتوكسین و مقایسه آن با میزان مجاز اعلام شده آن در استاندارد ملی انعام گردید. این مطالعه بر مبنای طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با نمونه گیری از ۱۳۰ نمونه ضایعات نان خشک طی سالهای ۸۹-۸۸ در شهر مشهد در تمامی فصول سال صورت پذیرفت و در آن آزمایشات شیمیایی شامل اندازه گیری pH و رطوبت و آزمایشات میکروبی شامل کشت و شمارش باکتری های هوازی مزو菲尔 و کلنی های قارچی مطابق با استانداردهای میکروبی و همچنین اندازه گیری آفلاتوكسین با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا انجام پذیرفت. در این تحقیق میزان آفلاتوكسین های G₁,B₁,G₂,B₂ در نان خشک شهر مشهد، پارامترهای شیمیایی (pH و رطوبت) و همچنین پارامترهای میکروبی (شمارش کپک و مخمر(با توجه به تعداد و نوع قارچ غالب و مشاهده میکروسکوپی)) مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس بین پارامترهای شیمیایی به عنوان متغیر مستقل و شمارش کلنی قارچ به عنوان متغیر وابسته و همچنین بین پارامترهای میکروبی و شیمیایی به عنوان متغیر مستقل و تولید آفلاتوكسین به عنوان متغیر وابسته مدل های تجربی ریاضی پیشگو در رابطه با تولید توکسین ارائه گردید. در میان باکتری ها، جنس های استرپتوکوکوس، باسیل گرم منفی، کوکوباسیل گرم منفی و کوکسی گرم منفی، گونه های غالب باکتریایی و در میان جنس های قارچی، کپک های رایزوپوس، آسپرژیلوس، پنی سیلیوم، موکور و مخمرها در نمونه های نان خشک غالب بودند. در ۳۰ درصد از نمونه ها آفلاتوكسین B₁ و در ۶۹/۷ درصد از نمونه ها آفلاتوكسین B₂ وجود داشت، آفلاتوكسین B₂ در نمونه هایی شناسایی گردید که مجموع مقدار آفلاتوكسین آن بیش از ۱۰ ppm بود و همچنین آفلاتوكسین G₁ و G₂ در هیچ نمونه ای شناسایی نگردید. در ۷۰ درصد از نمونه های مورد آزمون، آلودگی به آفلاتوكسین مشاهده نگردید و در ۵/۲۱ درصد از نمونه ها میزان آلودگی به مجموع آفلاتوكسین و همچنین آفلاتوكسین B₁,B₂ ppm بود. در ۷۶۹/۰ درصد از نمونه ها میزان آلودگی در محدوده ۵-۱۰ و در ۶۹/۷ درصد از نمونه ها آلودگی بیش از ۱۰ ppm و حداقل ۹۲ ppm بود . یافته های این مطالعه باسایر پژوهش ها مطابقت دارد و نتایج نشان داد که در میان نمونه ها ۴۶/۸ درصد دارای آلودگی به آفلاتوكسین B₁ بیش از مقدار استاندارد ملی (5 ppm) و ۹۲/۶ درصد دارای آلودگی به مجموع آفلاتوكسین ها بیش از مقدار استاندارد ملی (20 ppm) بودند. بین رطوبت و pH با رشد کلنی قارچ در نان خشک ارتباطی مثبت و معنی دار وجود داشت و رشد کلنی قارچ و تولید آفلاتوكسین تحت تأثیر

شرایط محیطی و ویژگی های ماده اولیه (رطوبت و pH) قرار داشت. همچنین دما تاثیر معنی داری بر خصوصیات میکروبی نان خشک داشت و رشد کلنی قارچ، تعداد و مقادیر آلودگی به آفلاتوکسین در نمونه ها با تغییرات دمای محیط در فصول مختلف متفاوت بود. یافته های حاصل از مدل سازی مشخص نمود بین تعداد کپک به عنوان متغیر وابسته و پارامترهای شیمیایی به عنوان متغیر مستقل و همچنین بین مقدار آفلاتوکسین به عنوان متغیر وابسته و پارامترهای شیمیایی و میکروبی به عنوان متغیر مستقل ارتباط معنی داری وجود دارد. بررسی مجموع مدل های تجربی برآشن یافته مشخص نمود که مدل های رگرسیون چند جمله ای از ضریب تبیین و ضریب تبیین تصحیح شده بالاتری نسبت به سایر رگرسیون ها برخوردار می باشند.

کلمات کلیدی: آفلاتوکسین، ضایعات نان، مدل سازی تجربی، متغیر مستقل، متغیر وابسته.

فهرست مطالب

فصل اول

۱ ۱- مقدمه.

فصل دوم

۲- بررسی منابع	۵
۲-۱- خصوصیات عمومی قارچها	۵
۲-۱-۱- مشخصات کلی کپکها	۵
۲-۱-۲- مشخصات فیزیولوژیکی	۶
۲-۱-۳- نیازهای رطوبتی	۶
۲-۱-۴- نیازهای حرارتی	۶
۲-۱-۵- pH	۷
۲-۱-۶- نیاز به اکسیژن و	۷
۲-۱-۷- نیازهای غذایی	۷
۲-۱-۸- بازدارنده ها	۷
۲-۱-۹- مایکوتوكسین ها	۸
۲-۱-۱۰- آفلاتوكسین و خصوصیت آن	۹
۲-۱-۱۱- منابع غذایی و تولید آفلاتوكسین	۱۲
۲-۱-۱۲- عوامل موثر بر رشد کپک های آفلاتوكسین زا و عوامل موثر بر تولید آفلاتوكسین	۱۳
۲-۱-۱۳- شرایط محیطی یا فاکتورهای خارجی	۱۳
۲-۱-۱۴- تاثیر نوع کپک	۱۴
۲-۱-۱۵- حضور میکروگانیزم های رقیب	۱۴
۲-۱-۱۶- نیازهای محیطی و مکانهای دارای بیشترین فراوانی تولید آفلاتوكسین	۱۴
۲-۱-۱۷- بیماریزایی	۱۵
۲-۱-۱۸- انواع آفلاتوكسیکوز	۱۶
۲-۱-۱۹- نحوه بیماریزایی آفلاتوكسین	۱۷
۲-۱-۲۰- حد مجاز آفلاتوكسین در موادغذایی	۱۷
۲-۱-۲۱- آفلاتوكسین در محصولات پخت	۱۸
۲-۱-۲۲- سینتیک میکروبی	۲۱
۲-۱-۲۳- مدل های سینتیکی	۲۲
۲-۱-۲۴- مدل های نوع بُلرادک	۲۲
۲-۱-۲۵- مدل های نوع آرنیوس	۲۳
۲-۱-۲۶- مدل های آرنیوس اصلاح شده یا مدل های دیوی	۲۳
۲-۱-۲۷- مدل های چند جمله ای یا پاسخ سطحی	۲۳
۲-۱-۲۸- مدل های احتمالی	۲۴
۲-۱-۲۹- مدل های ارائه شده درخصوص رشد گونه های آسپرژیلوس و تولید توکسین	۲۵

فصل سوم

۲۷	۳- مواد و روش ها
۲۷	۱-۳- روش پژوهش
۲۸	۱-۱-۳- مواد و تجهیزات
۲۸	۱-۱-۱-۱- مواد شیمیایی
۲۹	۱-۱-۱-۲- تجهیزات
۳۰	۱-۱-۲- روش کار
۳۰	۱-۲-۱-۱- تهیه محلول ها
۳۲	۱-۲-۱-۳- آماده سازی نمونه
۳۲	۱-۳-۱-۱-۳- محلول استاندارد آفلاتوکسین های B و G
۳۲	۱-۳-۱-۲- محلول استاندارد ثانویه با غلظت 80 ng/ml
۳۲	۱-۳-۱-۳- محلول های استاندارد کاری
۳۳	۱-۴-۱-۳- مراحل انجام آزمون
۳۳	۱-۴-۱-۱-۳- استخراج
۳۴	۱-۴-۱-۳- تخلیص
۳۴	۱-۴-۱-۳- جداسازی، تخلیص و تعیین مقدار توسط دستگاه HPLC
۳۶	۲-۳- طرح آماری

فصل چهارم

۳۷	۴- نتایج و بحث
۳۷	۴-۱- نتایج آزمون های میکروبی و شیمیایی (آمار توصیفی)
۴۲	۴-۱-۱- فصل تابستان(مرحله اول)
۴۵	۴-۱-۲- فصل پاییز(مرحله دوم)
۴۷	۴-۱-۳- فصل زمستان(مرحله سوم)
۴۹	۴-۱-۴- فصل زمستان(مرحله چهارم)
۵۱	۴-۱-۵- فصل بهار(مرحله پنجم)
۵۳	۴-۱-۶- نتایج بررسی وشناسایی انواع میکرووارگانیسم های موجود در نمونه های نان خشک
۵۴	۴-۱-۷- اعتبار سنجی مقادیر آفلاتوکسین حاصله در HPLC
۵۵	۴-۱-۸- نتایج ارزیابی میزان آفلاتوکسین در نان خشک
۵۸	۴-۲- مدل سازی نتایج آزمایشات انجام شده
۵۸	۴-۲-۱- مدل های تجربی حاصل از اولین مرحله نمونه برداری(تابستان)
۵۹	۴-۲-۱-۱- ارتباط بین عوامل شیمیایی با تعداد کل کلنی های قارچ
۶۰	۴-۲-۱-۲- ارتباط بین عوامل شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۶۲	۴-۲-۱-۳- ارتباط بین تعداد کل کلنی های قارچ با میزان آفلاتوکسین
۶۷	۴-۲-۱-۴- ارتباط بین عوامل میکروبی وشیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۶۷	۴-۲-۲- مدل های تجربی حاصل از دومین مرحله نمونه برداری(پاییز)
۶۷	۴-۲-۲-۱- ارتباط بین عوامل شیمیایی با تعداد کل کلنی های قارچ

۶۹	-۲-۲-۲-۴- ارتباط بین عوامل شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۷۱	-۳-۲-۲-۴- ارتباط بین تعداد کل کلنی های قارچ با میزان آفلاتوکسین
۷۵	-۴-۲-۲-۴- ارتباط بین عوامل میکروبی و شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۷۵	-۳-۲-۴- مدل های تجربی حاصل از سومین مرحله نمونه برداری(زمستان)
۷۵	-۴-۳-۲-۴- ارتباط بین عوامل شیمیایی با تعداد کل کلنی های قارچ
۷۷	-۲-۳-۲-۴- ارتباط بین عوامل شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۷۹	-۳-۳-۲-۴- ارتباط بین تعداد کل کلنی های قارچ با میزان آفلاتوکسین
۸۲	-۴-۳-۲-۴- ارتباط بین عوامل میکروبی و شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۸۳	-۴-۲-۴- مدل های تجربی حاصل از چهارمین مرحله نمونه برداری(زمستان)
۸۳	-۱-۴-۲-۴- ارتباط بین عوامل شیمیایی با تعداد کل کلنی های قارچ
۸۵	-۲-۴-۲-۴- ارتباط بین عوامل شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۸۷	-۳-۴-۲-۴- ارتباط بین تعداد کل کلنی های قارچ با میزان آفلاتوکسین
۹۰	-۴-۴-۲-۴- ارتباط بین عوامل میکروبی و شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۹۱	-۵-۲-۴- مدل های تجربی حاصل از پنجمین مرحله نمونه برداری(بهار)
۹۱	-۱-۵-۲-۴- ارتباط بین عوامل شیمیایی با تعداد کل کلنی های قارچ
۹۲	-۲-۵-۲-۴- ارتباط بین عوامل شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۹۴	-۳-۵-۲-۴- ارتباط بین تعداد کل کلنی های قارچ با میزان آفلاتوکسین
۹۹	-۴-۵-۲-۴- ارتباط بین عوامل میکروبی و شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۹۹	-۶-۲-۴- مدل های تجربی حاصل از کل نمونه ها
۹۹	-۱-۶-۲-۴- ارتباط بین عوامل شیمیایی با تعداد کل کلنی های قارچ
۱۰۱	-۲-۶-۲-۴- ارتباط بین عوامل شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۱۰۳	-۳-۶-۲-۴- ارتباط بین تعداد کل کلنی های قارچ با میزان آفلاتوکسین
۱۰۷	-۴-۶-۲-۴- ارتباط بین عوامل میکروبی و شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۱۰۸	-۴- بررسی مدل های تجربی پیشگو و انتخاب مدل برتر
۱۱۱	-۱-۳-۴- مدل های منتخب برای مرحله اول نمونه برداری
۱۱۱	-۱-۱-۳-۴- ارتباط بین عوامل شیمیایی با تعداد کل کلنی های قارچ
۱۱۲	-۲-۱-۳-۴- ارتباط بین عوامل شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۱۱۳	-۳-۱-۳-۴- ارتباط بین تعداد کل کلنی های قارچ با میزان آفلاتوکسین
۱۱۳	-۴-۱-۳-۴- ارتباط بین عوامل میکروبی و شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۱۱۴	-۲-۳-۴- مدل های منتخب برای مرحله دوم نمونه برداری
۱۱۴	-۱-۲-۳-۴- ارتباط بین عوامل شیمیایی با تعداد کل کلنی های قارچ
۱۱۴	-۲-۲-۳-۴- ارتباط بین عوامل شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۱۱۵	-۳-۲-۳-۴- ارتباط بین تعداد کل کلنی های قارچ با میزان آفلاتوکسین
۱۱۶	-۴-۲-۳-۴- ارتباط بین عوامل میکروبی و شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۱۱۶	-۳-۳-۴- مدل های منتخب برای مرحله سوم نمونه برداری
۱۱۶	-۱-۳-۳-۴- ارتباط بین عوامل شیمیایی با تعداد کل کلنی های قارچ

۱۱۷	۴-۳-۲-۲-۴-۳-۲-۴-۴- ارتباط بین عوامل شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۱۱۸	۴-۳-۳-۲-۳-۴- ارتباط بین تعداد کل کلنی های قارچ با میزان آفلاتوکسین
۱۱۹	۴-۳-۳-۴-۴- ارتباط بین عوامل میکروبی و شیمیایی بل Mizan آفلاتوکسین
۱۱۹	۴-۳-۴-۴- مدل های بدست آمده برای مرحله چهارم نمونه برداری
۱۱۹	۴-۳-۴-۱- ارتباط بین عوامل شیمیایی با تعداد کل کلنی های قارچ
۱۲۰	۴-۳-۴-۲- ارتباط بین عوامل شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۱۲۱	۴-۳-۴-۳-۴- ارتباط بین تعداد کل کلنی های قارچ با میزان آفلاتوکسین
۱۲۲	۴-۳-۴-۴- ارتباط بین عوامل میکروبی و شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۱۲۲	۴-۳-۴-۵- مدل های بدست آمده برای مرحله پنجم نمونه برداری
۱۲۲	۴-۳-۴-۱- ارتباط بین عوامل شیمیایی با تعداد کل کلنی های قارچ
۱۲۳	۴-۳-۴-۲- ارتباط بین عوامل شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۱۲۴	۴-۳-۴-۳- ارتباط بین تعداد کل کلنی های قارچ با میزان آفلاتوکسین
۱۲۵	۴-۳-۴-۴- ارتباط بین عوامل میکروبی و شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۱۲۵	۳-۳-۶- مدل های منتخب در کل نمونه ها
۱۲۵	۳-۳-۶-۱- ارتباط بین عوامل شیمیایی با تعداد کل کلنی های قارچ
۱۲۶	۳-۳-۶-۲- ارتباط بین عوامل شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
۱۲۷	۳-۳-۶-۳- ارتباط بین تعداد کل کلنی های قارچ با میزان آفلاتوکسین
۱۲۸	۳-۳-۶-۴- ارتباط بین عوامل میکروبی و شیمیایی با میزان آفلاتوکسین
	فصل پنجم
۱۳۳	نفعه گردی و بیشنهدات
	فصل ششم
۱۳۵	منابع

فهرست اشکال

..... ۵۳	شکل ۴-۱. تنوع جنس های غالب قارچ در نمونه های نان خشک
..... ۵۹	شکل ۴-۲. رویه حاصل از رگرسیون خطی مرکب
..... ۶۰	شکل ۴-۳. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
..... ۶۱	شکل ۴-۴. رویه حاصل از رگرسیون خطی مرکب
..... ۶۲	شکل ۴-۵. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
..... ۶۳	شکل ۴-۶. نمودار حاصل از رگرسیون خطی
..... ۶۴	شکل ۷-۱. نمودار حاصل از رگرسیون نمایی
..... ۶۵	شکل ۴-۸. نمودار حاصل از رگرسیون توان
..... ۶۶	شکل ۴-۹. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای درجه ۳
..... ۶۷	شکل ۴-۱۰. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای درجه ۲
..... ۶۸	شکل ۴-۱۱. رویه حاصل از رگرسیون خطی مرکب
..... ۶۹	شکل ۱۲-۴. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
..... ۷۰	شکل ۱۳-۴. رویه حاصل از رگرسیون خطی مرکب
..... ۷۱	شکل ۱۴-۴. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
..... ۷۲	شکل ۱۵-۴. نمودار حاصل از رگرسیون خطی
..... ۷۳	شکل ۱۶-۴. نمودار حاصل از رگرسیون نمایی
..... ۷۴	شکل ۱۷-۴. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای درجه ۳
..... ۷۴	شکل ۱۸-۴. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای درجه ۲
..... ۷۶	شکل ۱۹-۴. رویه حاصل از رگرسیون خطی مرکب
..... ۷۷	شکل ۲۰-۴. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
..... ۷۸	شکل ۲۱-۴. رویه حاصل از رگرسیون خطی مرکب
..... ۷۹	شکل ۲۲-۴. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
..... ۸۰	شکل ۲۳-۴. نمودار حاصل از رگرسیون خطی
..... ۸۰	شکل ۲۴-۴. نمودار حاصل از رگرسیون نمایی
..... ۸۱	شکل ۲۵-۴. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای درجه ۳
..... ۸۲	شکل ۲۶-۴. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای درجه ۲
..... ۸۴	شکل ۲۷-۴. رویه حاصل از رگرسیون خطی مرکب
..... ۸۵	شکل ۲۸-۴. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
..... ۸۶	شکل ۲۹-۴. نمودار حاصل از رگرسیون خطی مرکب
..... ۸۷	شکل ۳۰-۴. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای
..... ۸۷	شکل ۳۱-۴. نمودار حاصل از رگرسیون خطی
..... ۸۸	شکل ۳۲-۴. نمودار حاصل از رگرسیون نمایی
..... ۸۹	شکل ۳۳-۴. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای درجه ۳
..... ۹۰	شکل ۳۴-۴. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای درجه ۲

۹۱ شکل ۴-۳۵. رویه حاصل از رگرسیون خطی مرکب
۹۲ شکل ۴-۳۶. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۹۳ شکل ۴-۳۷. رویه حاصل از رگرسیون خطی مرکب
۹۴ شکل ۴-۳۸. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۹۵ شکل ۴-۳۹. رویه حاصل از رگرسیون خطی
۹۶ شکل ۴-۴۰. رویه حاصل از رگرسیون نمایی
۹۷ شکل ۴-۴۱. نمودار حاصل از رگرسیون توان
۹۸ شکل ۴-۴۲. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای درجه ۳
۹۸ شکل ۴-۴۳. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای درجه ۲
۱۰۰ شکل ۴-۴۴. رویه حاصل از رگرسیون خطی مرکب
۱۰۱ شکل ۴-۴۵. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۰۲ شکل ۴-۴۶. رویه حاصل از رگرسیون خطی مرکب
۱۰۳ شکل ۴-۴۷. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۰۴ شکل ۴-۴۸. رویه حاصل از رگرسیون خطی
۱۰۴ شکل ۴-۴۹. رویه حاصل از رگرسیون نمایی
۱۰۵ شکل ۴-۵۰. نمودار حاصل از رگرسیون توان
۱۰۶ شکل ۴-۵۱. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای درجه ۳
۱۰۷ شکل ۴-۵۲. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای درجه ۲
۱۱۲ شکل ۴-۵۳. نقشه پیش بینی حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۱۲ شکل ۴-۵۴. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۱۲ شکل ۴-۵۵. نقشه پیش بینی حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۱۴ شکل ۴-۵۶. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۱۴ شکل ۴-۵۷. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۱۴ شکل ۴-۵۸. نقشه پیش بینی حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۱۴ شکل ۴-۵۹. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۱۵ شکل ۴-۶۰. نقشه پیش بینی حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۱۵ شکل ۴-۶۱. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۱۶ شکل ۴-۶۲. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۱۷ شکل ۴-۶۳. نقشه پیش بینی حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۱۷ شکل ۴-۶۴. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۱۸ شکل ۴-۶۵. نقشه پیش بینی حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۱۸ شکل ۴-۶۶. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۱۹ شکل ۴-۶۷. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۲۰ شکل ۴-۶۸. نقشه پیش بینی حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۲۰ شکل ۴-۶۹. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۲۱ شکل ۴-۷۰. نقشه پیش بینی حاصل از رگرسیون چند جمله ای

۱۲۱	شکل ۷۱-۴. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۲۱	شکل ۷۲-۴. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۲۳	شکل ۷۳-۴. نقشه پیش بینی حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۲۳	شکل ۷۴-۴. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۲۴	شکل ۷۵-۴. نقشه پیش بینی حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۲۴	شکل ۷۶-۴. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۲۵	شکل ۷۷-۴. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۲۶	شکل ۷۸-۴. نقشه پیش بینی حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۲۶	شکل ۷۹-۴. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۲۷	شکل ۸۰-۴. نقشه پیش بینی حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۲۷	شکل ۸۱-۴. رویه حاصل از رگرسیون چند جمله ای
۱۲۸	شکل ۸۲-۴. نمودار حاصل از رگرسیون چند جمله ای

فهرست جداول

جدول ۱-۳. راهنمای آمده سازی محلول های استاندارد کاری با حجم ۳ میلی لیتر ۳۳
جدول ۲-۳. درصد بازیافت قابل قبول بر حسب سطح آلودگی ۳۵
جدول ۳-۴. آنالیز واریانس متغیرهای پژوهش ۳۷
جدول ۴-۲. میانگین مقادیر آزمون های میکروبی و شیمیایی در مراحل مختلف نمونه برداری ۳۹
جدول ۴-۳. همبستگی بین آزمون های میکروبی و شیمیایی (کل نمونه ها) ۴۱
جدول ۴-۴. آنالیز میکروبی و شیمیایی در مرحله اول نمونه برداری (نان خشک شهر مشهد در فصل تابستان) ۴۲
جدول ۴-۵. همبستگی بین آزمون های میکروبی و شیمیایی در مرحله اول نمونه برداری (نان خشک شهر مشهد در فصل تابستان) ۴۳
جدول ۴-۶. آنالیز میکروبی و شیمیایی در مرحله دوم نمونه برداری (نان خشک شهر مشهد در فصل پاییز) ۴۵
جدول ۴-۷. همبستگی بین آزمون های میکروبی و شیمیایی در مرحله دوم نمونه برداری (منان خشک شهر مشهد در فصل پاییز) ۴۶
جدول ۴-۸. آنالیز میکروبی و شیمیایی در مرحله سوم نمونه برداری (نان خشک شهر مشهد در فصل زمستان) ۴۸
جدول ۴-۹. همبستگی بین آزمون های میکروبی و شیمیایی در مرحله سوم نمونه برداری (نان خشک شهر مشهد در فصل زمستان) ۴۹
جدول ۴-۱۰. آنالیز میکروبی و شیمیایی در مرحله چهارم نمونه برداری (نان خشک شهر مشهد در فصل زمستان) ۴۹
جدول ۴-۱۱. همبستگی بین آزمون های میکروبی و شیمیایی در مرحله چهارم نمونه برداری (نان خشک شهر مشهد در فصل زمستان) ۵۰
جدول ۴-۱۲. آنالیز میکروبی و شیمیایی در مرحله پنجم نمونه برداری (نان خشک شهر مشهد در فصل بهار) ۵۱
جدول ۴-۱۳. همبستگی بین آزمون های میکروبی و شیمیایی در مرحله پنجم نمونه برداری (نان خشک شهر مشهد در فصل بهار) ۵۲
جدول شماره ۴-۱۴. اعتبار سنجی مقادیر آفلاتوکسین نان خشک در HPLC ۵۴
جدول ۴-۱۵. میزان آلودگی نان خشک در مراحل مختلف نمونه برداری ۵۶
جدول ۴-۱۶. نتایج آنالیز تابعیت ۵۹
جدول ۴-۱۷. نتایج آنالیز واریانس ۵۹
جدول ۴-۱۸. نتایج آنالیز تابعیت ۶۰
جدول ۴-۱۹. نتایج آنالیز واریانس ۶۰
جدول ۴-۲۰. نتایج آنالیز تابعیت ۶۱
جدول ۴-۲۱. نتایج آنالیز واریانس ۶۱
جدول ۴-۲۲. نتایج آنالیز تابعیت ۶۲
جدول ۴-۲۳. نتایج آنالیز واریانس ۶۲
جدول ۴-۲۴. نتایج آنالیز تابعیت ۶۳
جدول ۴-۲۵. نتایج آنالیز واریانس ۶۳
جدول ۴-۲۶. نتایج آنالیز تابعیت ۶۳
جدول ۴-۲۷. نتایج آنالیز واریانس ۶۴

٦٤	جدول ٤-٢٨. نتائج آنالیز تابعیت
٦٤	جدول ٤-٢٩. نتائج آنالیز واریانس
٦٥	جدول ٤-٣٠. نتائج آنالیز تابعیت
٦٥	جدول ٤-٣١. نتائج آنالیز واریانس
٦٦	جدول ٤-٣٢. نتائج آنالیز تابعیت
٦٦	جدول ٤-٣٣. نتائج آنالیز واریانس
٦٧	جدول ٤-٣٤. نتائج آنالیز تابعیت
٦٧	جدول ٤-٣٥. نتائج آنالیز واریانس
٦٨	جدول ٤-٣٦. نتائج آنالیز تابعیت
٦٨	جدول ٤-٣٧. نتائج آنالیز واریانس
٦٩	جدول ٤-٣٨. نتائج آنالیز تابعیت
٦٩	جدول ٤-٣٩. نتائج آنالیز واریانس
٧٠	جدول ٤-٤٠. نتائج آنالیز تابعیت
٧٠	جدول ٤-٤١. نتائج آنالیز واریانس
٧١	جدول ٤-٤٢. نتائج آنالیز تابعیت
٧١	جدول ٤-٤٣. نتائج آنالیز واریانس
٧٢	جدول ٤-٤٤. نتائج آنالیز تابعیت
٧٢	جدول ٤-٤٥. نتائج آنالیز واریانس
٧٢	جدول ٤-٤٦. نتائج آنالیز تابعیت
٧٣	جدول ٤-٤٧. نتائج آنالیز واریانس
٧٣	جدول ٤-٤٨. نتائج آنالیز تابعیت
٧٣	جدول ٤-٤٩. نتائج آنالیز واریانس
٧٤	جدول ٤-٥٠. نتائج آنالیز تابعیت
٧٤	جدول ٤-٥١. نتائج آنالیز واریانس
٧٥	جدول ٤-٥٢. نتائج آنالیز تابعیت
٧٥	جدول ٤-٥٣. نتائج آنالیز واریانس
٧٥	جدول ٤-٥٤. نتائج آنالیز تابعیت
٧٦	جدول ٤-٥٥. نتائج آنالیز واریانس
٧٦	جدول ٤-٥٦. نتائج آنالیز تابعیت
٧٧	جدول ٤-٥٧. نتائج آنالیز واریانس
٧٧	جدول ٤-٥٨. نتائج آنالیز تابعیت
٧٧	جدول ٤-٥٩. نتائج آنالیز واریانس
٧٨	جدول ٤-٦٠. نتائج آنالیز تابعیت
٧٨	جدول ٤-٦١. نتائج آنالیز واریانس
٧٩	جدول ٤-٦٢. نتائج آنالیز تابعیت
٧٩	جدول ٤-٦٣. نتائج آنالیز واریانس

٨٠	جدول ٤-٦٤. نتائج آنالیز تابعیت
٨٠	جدول ٤-٦٥. نتائج آنالیز واریانس
٨١	جدول ٤-٦٦. نتائج آنالیز تابعیت
٨١	جدول ٤-٦٧. نتائج آنالیز واریانس
٨٢	جدول ٤-٦٨. نتائج آنالیز تابعیت
٨٢	جدول ٤-٦٩. نتائج آنالیز واریانس
٨٢	جدول ٤-٧٠. نتائج آنالیز تابعیت
٨٣	جدول ٤-٧١. نتائج آنالیز واریانس
٨٣	جدول ٤-٧٢. نتائج آنالیز تابعیت
٨٣	جدول ٤-٧٣. نتائج آنالیز واریانس
٨٤	جدول ٤-٧٤. نتائج آنالیز تابعیت
٨٤	جدول ٤-٧٥. نتائج آنالیز واریانس
٨٥	جدول ٤-٧٦. نتائج آنالیز تابعیت
٨٥	جدول ٤-٧٧. نتائج آنالیز واریانس
٨٦	جدول ٤-٧٨. نتائج آنالیز تابعیت
٨٦	جدول ٤-٧٩. نتائج آنالیز واریانس
٨٧	جدول ٤-٨٠. نتائج آنالیز تابعیت
٨٧	جدول ٤-٨١. نتائج آنالیز واریانس
٨٨	جدول ٤-٨٢. نتائج آنالیز تابعیت
٨٨	جدول ٤-٨٣. نتائج آنالیز واریانس
٨٩	جدول ٤-٨٤. نتائج آنالیز تابعیت
٨٩	جدول ٤-٨٥. نتائج آنالیز واریانس
٨٩	جدول ٤-٨٦. نتائج آنالیز تابعیت
٩٠	جدول ٤-٨٧. نتائج آنالیز واریانس
٩٠	جدول ٤-٨٨. نتائج آنالیز تابعیت
٩٠	جدول ٤-٨٩. نتائج آنالیز واریانس
٩١	جدول ٤-٩٠. نتائج آنالیز تابعیت
٩١	جدول ٤-٩١. نتائج آنالیز واریانس
٩٢	جدول ٤-٩٢. نتائج آنالیز تابعیت
٩٢	جدول ٤-٩٣. نتائج آنالیز واریانس
٩٣	جدول ٤-٩٤. نتائج آنالیز تابعیت
٩٣	جدول ٤-٩٥. نتائج آنالیز واریانس
٩٤	جدول ٤-٩٦. نتائج آنالیز تابعیت
٩٤	جدول ٤-٩٧. نتائج آنالیز واریانس
٩٥	جدول ٤-٩٨. نتائج آنالیز تابعیت
٩٥	جدول ٤-٩٩. نتائج آنالیز واریانس

٩٥	جدول ٤-١٠٠. نتائج آنالیز تابعیت
٩٦	جدول ٤-١٠١. نتائج آنالیز واریانس
٩٦	جدول ٤-١٠٢. نتائج آنالیز تابعیت
٩٦	جدول ٤-١٠٣. نتائج آنالیز واریانس
٩٧	جدول ٤-١٠٤. نتائج آنالیز تابعیت
٩٧	جدول ٤-١٠٥. نتائج آنالیز واریانس
٩٨	جدول ٤-١٠٦. نتائج آنالیز تابعیت
٩٨	جدول ٤-١٠٧. نتائج آنالیز واریانس
٩٩	جدول ٤-١٠٨. نتائج آنالیز تابعیت
٩٩	جدول ٤-١٠٩. نتائج آنالیز واریانس
٩٩	جدول ٤-١١٠. نتائج آنالیز تابعیت
١٠٠	جدول ٤-١١١. نتائج آنالیز واریانس
١٠٠	جدول ٤-١١٢. نتائج آنالیز تابعیت
١٠١	جدول ٤-١١٣. نتائج آنالیز واریانس
١٠١	جدول ٤-١١٤. نتائج آنالیز تابعیت
١٠١	جدول ٤-١١٥. نتائج آنالیز واریانس
١٠٢	جدول ٤-١١٦. نتائج آنالیز تابعیت
١٠٢	جدول ٤-١١٧. نتائج آنالیز واریانس
١٠٣	جدول ٤-١١٨. نتائج آنالیز تابعیت
١٠٣	جدول ٤-١١٩. نتائج آنالیز واریانس
١٠٤	جدول ٤-١٢٠. نتائج آنالیز تابعیت
١٠٤	جدول ٤-١٢١. نتائج آنالیز واریانس
١٠٥	جدول ٤-١٢٢. نتائج آنالیز تابعیت
١٠٥	جدول ٤-١٢٣. نتائج آنالیز واریانس
١٠٦	جدول ٤-١٢٤. نتائج آنالیز تابعیت
١٠٦	جدول ٤-١٢٥. نتائج آنالیز واریانس
١٠٦	جدول ٤-١٢٦. نتائج آنالیز تابعیت
١٠٧	جدول ٤-١٢٧. نتائج آنالیز واریانس
١٠٧	جدول ٤-١٢٨. نتائج آنالیز تابعیت
١٠٨	جدول ٤-١٢٩. نتائج آنالیز واریانس

فهرست علائم و اختصارات

معادل فارسی	معادل انگلیسی	علامت
آسپرژیلوس نومیوس	<i>Aspergillus nomius</i>	<i>A.nomius</i>
آسپرژیلوس فلاووس	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>A.flavus</i>
آسپرژیلوس اکراسئوس	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>A.ochraceus</i>
آسپرژیلوس پارازیتیکوس	<i>Aspergillus parasiticus</i>	<i>A.parasiticus</i>
آسپرژیلوس نیجر	<i>Aspergillus niger</i>	<i>A.niger</i>
آسپرژیلوس اوریزا	<i>Aspergillus oryzae</i>	<i>A.oryzae</i>
ضریب تبیین تصحیح شده	Adjusted R Square	Adj Rsqr
B ₁	Aflatoxin B ₁	AFB ₁
B ₂	Aflatoxin B ₂	AFB ₂
پوکسید ۲ و ۳-آفلاتوکسین B ₁	AFB ₁ -2,3-Epoxide	AFBO
آفلاتوکسین G ₁	Aflatoxin G ₁	AFG ₁
آفلاتوکسین G ₂	Aflatoxin G ₂	AFG ₂
L	Aflatoxin L	AFL
آفلاتوکسین LH ₁	Aflatoxin LH ₁	AFLH ₁
M ₁	Aflatoxin M ₁	AFM ₁
P ₁	Aflatoxin P ₁	AFP ₁
آفلاتوکسین Q ₁	Aflatoxin Q ₁	AFQ ₁
فعالیت آبی	Water acivity	a _w
تعداد پرگنه	colony form unit	cfu
ستون ایمنوآفینیتی	Immuno Affinity Column	IAC
میلی لیتر	milli liter	ml
نانو گرم	nano gram	ng
قسمت در بیلیون	part per billion	ppb
قسمت در میلیون	part per million	ppm
ضریب تبیین	R Square	Rsqr

فصل اول

۱- مقدمه

نان گندم یکی از قدیمی ترین، متداولترین و مهمترین مواد غذایی مورد مصرف انسان می باشد که در کشورهای متعددی از جمله کشور ما قوت غالب مردم را تشکیل می دهد. این ماده غذایی در بسیاری از کشورها به عنوان ماده غذایی مقدس شناخته می شود و در بین سایر محصولات غذایی، کم بهترین ماده غذایی بیشتر مردم دنیا می باشد. قدمت آشنایی انسان با این ماده به حدود ۴-۵ هزار سال قبل از میلاد بر می گردد (غلامی پریزاد و همکاران، ۱۳۸۴).

مطالعات نشان داده اند که مصرف حدود ۳۰۰ گرم نان در روز می تواند حدود ۵۰ درصد پروتئین، ۶۰ درصد تیامین و نیاسین، ۴۰ درصد کلسیم و ۸۰ درصد از آهن مورد نیاز بدن یک فرد بزرگسال را تأمین نماید (زنده و همکاران، ۱۳۷۵ و کارگر و مظفری، ۲۰۰۲).

در ایران ۶۰-۶۵ درصد از پروتئین و کالری ، ۲-۳ گرم از املاح معدنی و قسمت اعظم نمک طعام روزانه از خوردن نان تأمین می شود. به طور متوسط هر ایرانی روزانه ۳۰۰-۳۵۰ گرم نان مصرف می کند. در کشورهای مختلف نان بین ۱۸-۸۰ درصد مواد غذایی مردم را تأمین نموده و در مواردی نان به عنوان منبع اصلی تأمین برخی از مواد اساسی مورد نیاز بدن عمل می کند (رجب زاده، ۱۳۶۴؛ امیر احمدی، ۱۳۷۴ و ملکوتیان ولولوی، ۱۳۸۲).

پژوهش ها مشخص نموده است که نان مهمترین منبع تغذیه و اصلی ترین منبع تأمین کننده انرژی، پروتئین، مواد معدنی و برخی از ویتامینهای مورد نیاز روزانه انسانها در کشورهای مختلف می باشد (غلامی پریزاد و همکاران، ۱۳۸۷). در کشور ما به طور متوسط $46/2$ درصد از کل انرژی مصرفی روزانه یک نفر شهری و $59/3$ درصد از کل انرژی مصرفی روزانه یک نفر روستایی را نان تشکیل می دهد و وابستگی تغذیه ای به نان با کم شدن درآمد حیوانات، نسبت کاملا مستقیم دارد. بر اساس محاسبات انجام شده هر نفر در کم درآمد ترین خانوارهای روستایی 81 درصد و در کم درآمدترین خانوارهای شهری 73 درصد از انرژی مصرفی روزانه خود را از طریق نان **لُمین** می کند، به عبارت دیگر هر چه خانواده فقیرتر و کم درآمد تر باشد مقدار مصرف نان آن بیشتر است (امیر احمدی، ۱۳۷۴ و ملکوتیان ولولی، ۱۳۸۲).

بر اساس تحقیقی که توسط انتسی تو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور انجام شده است، میانگین مصرف نان در استانهای مختلف حداقل 314 (استان مازندران) وحداکثر 505 گرم (استان کهکیلویه و بویراحمد) بوده است (غفارپور، ۱۳۷۴ و شریعتی فر، ۱۳۸۰). با توجه به میزان مصرف و نقش **لُثیرگذار** نان در جامعه، در صورت عدم رعایت نکات بهداشتی در فر آیند تولید و نگهداری، نان می تواند آلودگی های شیمیایی، میکروبی و حتی ایجاد برخی بیماریها را در جامعه گسترش دهد (رجب زاده، ۱۳۶۴).

پژوهش های صورت پذیرفته در خصوص ضایعات نان در کشور تا قبل از اجرا ی طرح هدفمندسازی یارانه ها، مشخص نمود که $20-30$ درصد از نان تولیدی در کشور به عنوان ضایعات نان (نان خشک) یا ضایعات نانوایی از چرخه مصرف مستقیم انسان خارج می شود (بحرینی و تذهیبی، ۱۳۷۹ و شریعتی فر، ۱۳۸۰).

در ایران تقریباً اکثر ضایعات نان به مصرف تغذیه دام می رسد. مصرف ضایعات نان در دامداریها و مرغداریها موجب می شود مایکوتوكسین موجود در ضایعات نان وارد شیر، فرآورده های لبنی و گوشت آنها شده و در نهایت این سموم به بدن انسان وارد گردیده و ایجاد مایکوتوكسیکوز نماید (مؤذنی و نوذری، ۱۳۷۸ و مهدی زاده و همکاران، ۱۳۸۷).

نوروزی و همکاران(۱۳۷۸) گزارش دادند که بسیاری از گاوداریهای اطراف شیراز از نان خشک کپک زده به عنوان قسمتی از جیره غذایی استفاده می کنند که حاوی مقدار زیادی آفلاتوکسین است. این سومونه تنها باعث مسمومیت و تلفات در گاوهای می گردد، بلکه در گوشت ذخیره شده و یا به صورت آفلاتوکسین M_1 از راه شیر دفع می گردد.

از آنجا که نان های خشک جمع آوری شده به مصرف خوراک دام و طیور می رساند وجود هر گونه آلودگی در نان با ایجاد مشکل در محصولات تولیدی آنها، باعث انتقال بیماری به انسان می شود. بنابراین تا حد امکان باید از مصرف نانهای خشک در تغذیه دام خودداری کرد (علیقلی، ۱۳۸۲ و آزادبخت و همکاران ۱۳۸۷).

این تحقیق ارتباط بین حضور آفلاتوکسین و قارچهای مولد آن را با پارامترهای میکروبی و شیمیایی در نان خشک با استفاده از مدل های تجربی ریاضی پیشگو مورد ارزیابی قرار می دهد. اهداف این تحقیق عبارتند از:

- الف- بررسی میزان آلودگی میکروبی نان خشک شهر مشهد؛
- ب- ارزیابی میزان آلودگی نمونه های نان خشک به انواع آفلاتوکسین(G,B);
- پ- بررسی میزان آلودگی نمونه ها به آفلاتوکسین در فصول مختلف سال و بررسی ارتباط بین شرایط محیطی با میزان آلودگی؛
- ت- ارائه مدل های ریاضی جهت برقراری ارتباط بین تعداد کپک به عنوان متغیر وابسته و پارامترهای شیمیایی به عنوان متغیر مستقل؛
- ث- ارائه مدل های ریاضی جهت برقراری ارتباط بین مقدار آفلاتوکسین به عنوان متغیر وابسته و پارامترهای شیمیایی و میکروبی به عنوان متغیر مستقل.

در این تحقیق میزان آفلاتوکسین های B_1 , B_2 , G_1 و G_2 در نان خشک شهر مشهد، پارامترهای شیمیایی (pH و رطوبت) و همچنین پارامترهای میکروبی (شمارش کپک و مخمر (با توجه به تعداد و نوع

قارچ غالب و مشاهده میکروسکوپی)) ارزیابی گردید. سپس بین پارامترهای شیمیایی به عنوان متغیر مستقل و شمارش کلی قارچ به عنوان متغیر وابسته ، همچنین بین پارامترهای میکروبی و شیمیایی به عنوان متغیر مستقل و تولید آفلاتوکسین به عنوان متغیر وابسته مدل های تجربی ریاضی پیشگو در رابطه با تولید آفلاتوکسین ارائه گردید.