

## جداسازی و شناسایی مهمترین باکتریها و قارچهای مولد

### فساد از پودر ماهی کیلکا در استان گیلان

منیره فئید<sup>(۱)</sup>؛ نور امیر مظفری<sup>(۲)</sup> و ابوالفتح شجاعی ارانی<sup>(۳)</sup>

m\_faheed@yahoo.com

۱- مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان شیلات کشور، بندرانزلی

صندوق پستی: ۴۳۱۴۵-۱۶۵۵

۲- گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی لاهیجان، لاهیجان صندوق پستی: ۱۶۱۶

تاریخ ورود: آبان ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۸۴

#### چکیده

این تحقیق بر روی ۷۵ نمونه پودر ماهی ۷ کارخانه استان گیلان (با کدهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷) در فواصل ۱۵ روزه از خرداد ماه تا آبان ماه ۱۳۷۹ به منظور ارزیابی کیفیت پودر ماهی کارخانه‌های استان گیلان به اجرا درآمد. در این مطالعه باکتریها و قارچهای مختلف از نمونه‌ها جداسازی و مورد شناسایی قرار گرفتند. باکتریهای شناسایی شده عبارت بودند از: *شرشیاکلی* (۶۳/۸ درصد *شرشیاکلی* مدفوعی و ۳۶/۷ درصد سایر *شرشیاکلی*ها)، *پروتوس* (۵۵/۵ درصد *پروتوس* و *لگاریس* و ۴۵ درصد *پروتوس میرابیلیس*)، *سالمونلا شیگلا فلکسنری*، *کلبسیلا* (۵۵ درصد *کلبسیلا پنومونه* و ۴۵ درصد *کلبسیلا اکسی توکا*)، *آنتروباکتر آئروژنز*، *سیتروباکتر* (۶۶/۶ درصد *سیتروباکتر فروندی*)، ۳۳/۴ درصد *سیتروباکتر دیورس*)، *یرسینیا آنتروکولیتیکا هافنیا آلوبی* و *ادوارد سیلا کلستریدیوم* (۶۶ درصد *کلستریدیوم پرفرین ژنز* و ۳۴ درصد سایر *کلستریدیومها*)، *استافیلوکوک* (۴۲/۱ درصد *استافیلوکوک اورنوس* و ۵۸/۹ درصد سایر *استافیلوکوکها*)، *باسیلوس*، *استرپتوکوک*، *سودوموناس* و *آنروموناس*. بیشترین و کمترین میزان آلودگی باکتریایی در کارخانه‌های استان گیلان برترتیب متعلق به *شرشیاکلی* و *هافنیا آلوبی* بوده که برترتیب در کارخانه‌های ۱ و ۲ مشاهده گردید. میزان آلودگی باکتریایی در کارخانه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری داشته است ( $P < 0/05$ ). قارچهای جداسازی شده عبارت بودند از: *پنی‌سیلیوم*، *ریزوپوس*، *آسپرژیلوس* (۵۰ درصد *آسپرژیلوس*، ۳۳/۳ درصد *آسپرژیلوس نایجر* و ۱۶/۷ درصد *آسپرژیلوس فلاووس*)، *کلادسپوریوم*، *فوزاریوم*، *پسیلومایسس* و *موکور* و *مخمر*.

بیشترین و کمترین میزان آلودگی قارچی برترتیب *پنی‌سیلیوم* و *ریزوپوس* بود که برترتیب در کارخانه‌های ۷ و ۲ مشاهده گردید. بطور کلی عوامل باکتریایی و قارچی شناسایی شده در این تحقیق فرصت طلب بوده و ابتدا به بیماری در اثر عوامل بستگی به بروز مشکل در فرآیند تولید پودر ماهی دارد و بواسطه عوامل مدیریتی (مانند عدم رعایت دستورالعمل‌های بهداشتی توسط کارکنان خط تولید، پایین بودن سطح آموزش کارگران خط تولید، عدم رعایت مسائل فنی تولید و...) می‌باشد.

**لغات کلیدی:** پودر ماهی، کیلکا، آلودگی، باکتری، قارچ، گیلان

## مقدمه

نیاز کشور به پودر ماهی سالیانه ۱۷۰۰۰۰ تن برآورد می‌گردد. در صورتیکه بهره‌برداری از منابع غنی داخلی به درستی انجام نگیرد کشورمان در رده یکی از بزرگترین واردکننده‌های این محصول قرار خواهد گرفت. سالانه بالغ بر ۱۱۰ هزار تن کیلکا از دریای خزر صید می‌گردد که حدود ۴۰۰۰۰ هزار تن پودر ماهی از آن بدست می‌آید که این منبع ۱۰ تا ۱۴ درصد از پودر ماهی مورد نیاز کشور را تامین می‌کند و با ابزار و امکانات برداشت مناسب و سرمایه‌گذاری به موقع می‌توان در سالهای آتی سالیانه بالغ بر ۲۰۰۰۰۰ تن پودر ماهی از ذخایر دریای خزر و دریای عمان برای کشور تولید نمود و از خروج ۴۰ تا ۵۰ میلیون دلار ارز جلوگیری بعمل آورد (شویک لو، ۱۳۷۳).

اهمیت پودر ماهی بعنوان یک ماده خوراکی جهت تامین قسمتی از پروتئین جیره حیوانی دام، طیور و ماهیان از دیر باز مورد توجه بوده است. این فرآورده بعلت داشتن اسیدهای آمینه مناسب و مقادیر کافی انرژی، مواد معدنی و ویتامین‌های A، E و B و گروه B بخصوص B12 (که عناصر مذکور غالباً جزء تسریع‌کننده‌های رشد هستند (استاندارد ملی ایران، ۱۳۷۰). همچنین بعنوان غذای مناسب حیوانی (A.P.F) محسوب می‌گردد و با داشتن عوامل ناشناخته رشد (U.G.F)، از ارزش و اهمیت زیادی در حیوانات برخوردار است (Winton & Winton, 1999)

تاثیر این فرآورده در تغذیه گاوهای شیرده مورد آزمایش قرار گرفته و بهره شیر و چربی و تولید گوشت رضایت بخش بوده است (هاشمی، ۱۳۷۵). همچنین در تخمگذاری بیشتر مرغان تخمگذار و افزایش میزان جوجه‌آوری تخمها تاثیر بسزایی داشته است (نیکخواه و امانلو، ۱۳۷۱). بسیاری از میکروارگانیسمها از جمله باکتریها و قارچها نقش بسزایی در فساد و تخریب پودر ماهی دارند که عبارتند از میکروارگانیسمهای پروتئولیتیک، لیپولیتیک، نمک دوست، مقاوم به حرارت، هاگزای مزوفیل، سرما دوست و باکتریهای تولید کننده هیستامین.

میکروارگانیسمهای پروتئولیتیک قادر به هیدرولیز پروتئین و تولید انواع بو و طعم‌های نامطبوع می‌گردند که می‌توان از جنس باسیلوس، کلستریدیوم، سودوموناس و پروتئوس نام برد. میکروارگانیسمهای نمک دوست که غالبترین جنس آن سودوموناس می‌باشد. میکروارگانیسمهای لیپولیتیک قادر به هیدرولیز و اکسیدکردن چربی و باعث ایجاد طعم و بوی نامطبوع می‌گردند که می‌توان از سودوموناس، آلکالی ژنز و استافیلوکوک نام برد. از میکروارگانیسمهای مقاوم به حرارت کلستریدیومها، باسیلوس و استریپتوکوکوس می‌باشند. میکروارگانیسمهای تولیدکننده هیستامین شامل اشرشیاکلی، پروتئوس ولگاریس، کلستریدیوم پرفرین ژنز، آنتروباکتر آئروژنزف سیترو باکتر فروندی، کلبسیلا پنومونیه و هافنیا آلوئی می‌باشند (کریم، ۱۳۷۸).

سازمان خواربارو کشاورزی سازمان ملل متحد (FAO, 1986) در نشریه علمی خود در رابطه با پودر ماهی، تازگی مواد خام مورد استفاده در تولید پودر ماهی را به واسطه اثر آن در کیفیت پروتئین محصول نهایی مهم دانسته است. از سوی دیگر برخی از میکروارگانیسمها بعلت بیماریزا بودن برای

انسان و حیوانات، نباید در مواد غذایی وجود داشته باشند به همین دلیل نمونه‌هایی مانند سالمونلا و اشرشیاکلی و کپک‌ها در پودر ماهی یا نباید وجود داشته باشند یا در حد مجاز قابل قبول از نظر استاندارد باشند (استاندارد ملی ایران، ۱۳۷۳). در مطالعه حاضر سعی بر این بوده تا میکروارگانیس‌م‌هایی که باعث کاهش کیفیت غذایی پودر ماهی می‌شوند، مورد ارزیابی قرار گیرند.

## مواد و روش کار

در این مطالعه، ۷۵ نمونه پودر ماهی از ۷ کارخانه استان گیلان (هر ۱۵ روز یکبار) از خرداد ماه تا آبان ماه ۱۳۷۹ مورد بررسی قرار گرفت. پودر ماهی کارخانه‌ها به صورت فله‌ای بوده و از نواحی سطحی و عمقی آن نمونه‌برداری شد. کارخانه‌های مورد بحث با کدهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ نامگذاری شدند. نمونه‌ها در شرایط کاملاً استریل به آزمایشگاه انتقال داده شدند. برای شمارش کلی میکروارگانیس‌م‌ها، ابتدا رقت تهیه کرده و در محیط‌های پایه نظیر نوترینت آگار و تربیتکاز سویا آگار به صورت پور پلیت کشت داده شدند. باکتری‌های مختلف رشد یافته در این محیط‌ها، بر روی سایر محیط‌های افتراقی کشت داده شدند. آزمایشات در وهله اول بر پایه شناسایی میکروارگانیس‌م‌هایی که وجود آنها در پودر ماهی از نظر استاندارد مردود شمرده می‌شود و نیز وجود میکروارگانیس‌م‌هایی که سبب ایجاد فساد در مواد غذایی می‌شوند، انجام پذیرفت. برای شناسایی سالمونلا و اشرشیاکلی از روش‌های استاندارد جداسازی سالمونلا و اشرشیاکلی (روش IKMAN) در مواد غذایی استفاده گردید (استاندارد ملی ایران، ۱۳۷۲). محیط‌های مورد استفاده برای جداسازی سالمونلا و سایر کلی فرم‌ها عبارتند از: تتراتیونات، سلینت سدیم، بیسموت سولفیت، آگار سبز درخشان، سالمونلا - شیگلا آگار، لیزین دکربوکسیلاز، تربیتکاز سوی آبیرون آگار، اتوزین متیلن بلوآگار و قندها.

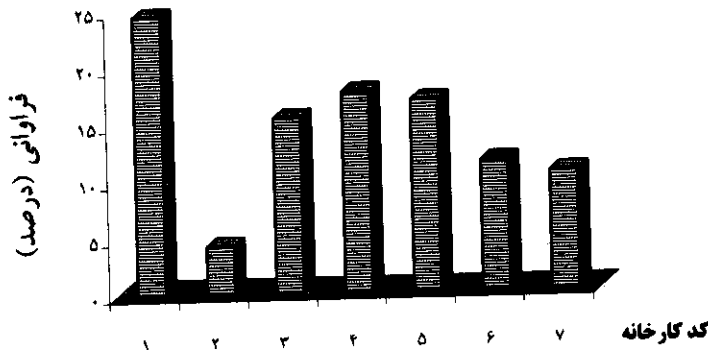
استافیلوکوک‌ها از طریق مانیتول سالت آگار، استرپتوکوک‌ها از طریق بلاد آگار، سودوموناس‌ها از طریق سودوموناس آگار و کلسترییدیوم‌ها از طریق محیط SPS جداسازی گردیدند و سپس با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی و تکمیلی دیگر مانند سیمون سترات، ژلاتین، متیل رد-وژ اسایام و قندها و با انجام رنگ‌آمیزی باکتری‌های مختلف شناسایی گردیدند (کریم، ۱۳۷۸).

برای شناسایی قارچ‌ها نیز از رقت اولیه به محیط سابرو دکستروز آگار انتقال داده و قارچ‌ها حداقل بمدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. از پرگنه‌های قارچی رشد یافته پس از خالص‌سازی در پاساژ دوم، اسلاید کالچر تهیه گردید. پس از تشکیل ساختمان اسپورزایی، لامل توسط پنس استریل برداشته شد و روی سطح داخل لامل یک قطره الکل متیلیک ریخته شد تا قارچ پایدار بماند. پس از خشک شدن سطح لامل، قطره‌ای لاکتوفنل کاتن بلو روی لام استریل دیگری ریخته و لامل را روی آن قرار داده سپس قارچ‌ها براساس ساختمان میسلیوم و اندام‌های زایا بررسی و شناسایی شدند (Baron & Fingold, 1990).

میزان رطوبت، چربی، پروتئین و خاکستر با روشهای استاندارد آزمایشگاهی تعیین گردید (پروانه، ۱۳۷۴). از نرم‌افزار SPSS برای انجام تجزیه و تحلیل آماری و از نرم‌افزار Excell برای رسم نمودارها استفاده شد.

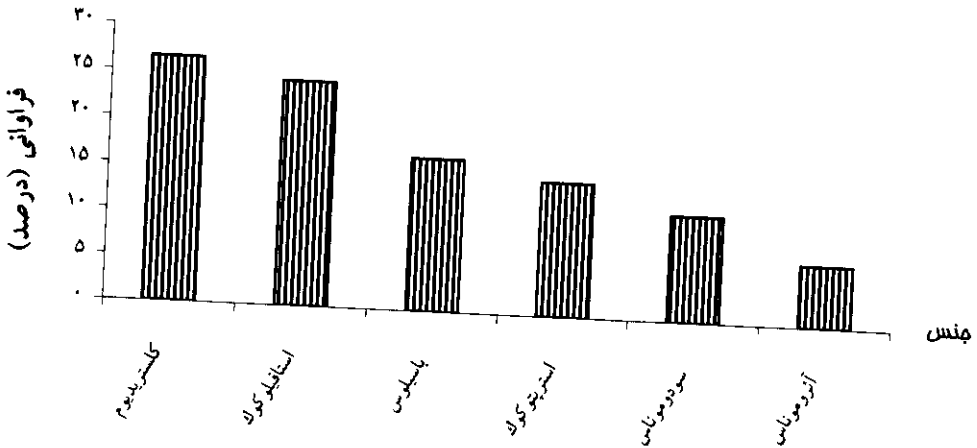
## نتایج

نتایج نشان می‌دهد که بخش عمده آلودگی باکتریایی متعلق به خانواده آنتروباکتریاسه است. بیشترین میزان آلودگی آنتروباکتریاسه به جنس اشرشیاکلی و کمترین میزان آلودگی به ادواردسیلا تعلق داشته است. موارد مثبت آلودگی از آنتروباکتریاسه‌های جداسازی شده از کارخانه‌های پودر ماهی استان گیلان عبارت بودند از اشرشیاکلی ۶۲/۷ درصد (۶۳/۸ درصد اشرشیاکلی مدفوعی و ۳۶/۷ درصد سایر اشرشیاکلی‌ها)، پروتئوس ۵۳/۳ درصد (۵۵/۵ درصد کلبسیلا پنومونیه و ۴۵ درصد کلبسیلا اکسی)، آنتروباکتروآئروژنز ۳۶ درصد، سیتروباکتر ۱۲ درصد (۶۶/۶ درصد سیتروباکتر فروندی، ۳۳/۴ درصد سیتروباکتر دیورس)، یرسینیا آنتروکولتیکا ۹/۳ درصد، هافنیا آلوبی ۴ درصد و ادوارد سیلا ۱/۳ درصد. در نمودار ۱ درصد فراوانی آنتروباکتریاسه‌ها در کارخانه‌های پودر ماهی استان گیلان نشان داده شده است. میزان آلودگی باکتریایی برحسب آنتروباکتریاسه‌ها نیز نشان می‌دهد کارخانه کد ۱ (۲۴/۸ درصد) و کارخانه کد ۲ (۷/۸ درصد) بترتیب بیشترین و کمترین میزان آلودگی را داشته‌اند.

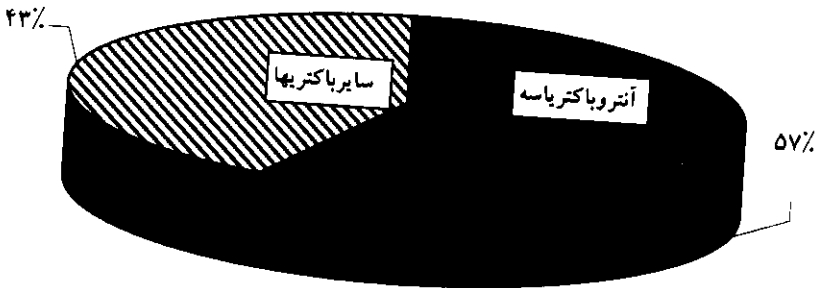


نمودار ۱: میزان آلودگی آنتروباکتریاسه در کارخانه‌های پودر ماهی استان گیلان (سال ۱۳۷۹)  
 نمودار ۲ درصد فراوانی سایر باکتریها در کارخانه‌های پودر ماهی استان گیلان را نشان می‌دهد که بیشترین میزان کلستریدیوم و کمترین میزان آئروموناس می‌باشد. نمودار ۳ بیشترین میزان آلودگی باکتریایی به خانواده آنتروباکتریاسه با ۵۷ درصد را نشان می‌دهد و در نمودار ۴ بیشترین و کمترین

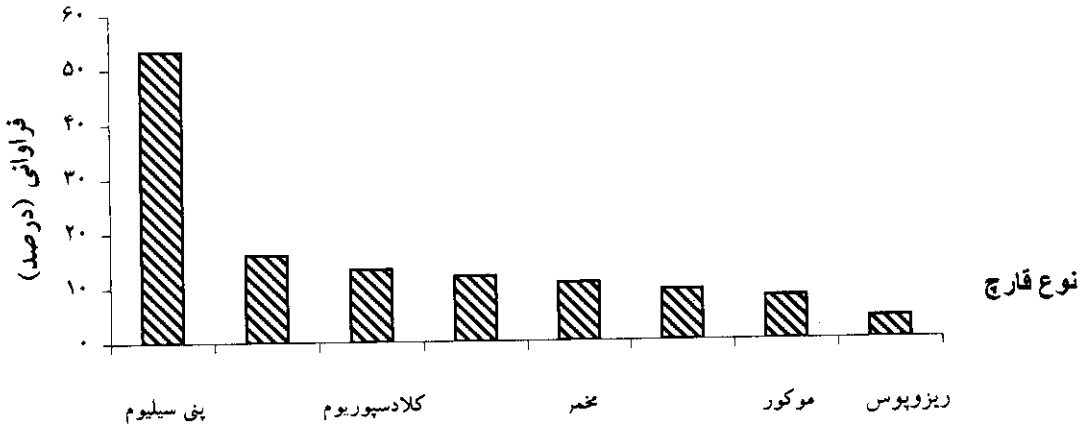
میزان فراوانی قارچی بترتیب به پنیسیلیوم وریزوپوس را در این کارخانه‌ها نشان می‌دهد. بیشترین و کمترین میزان آلودگی قارچی بترتیب به کارخانه های ۷ و ۲ تعلق داشته است (نمودار ۵).



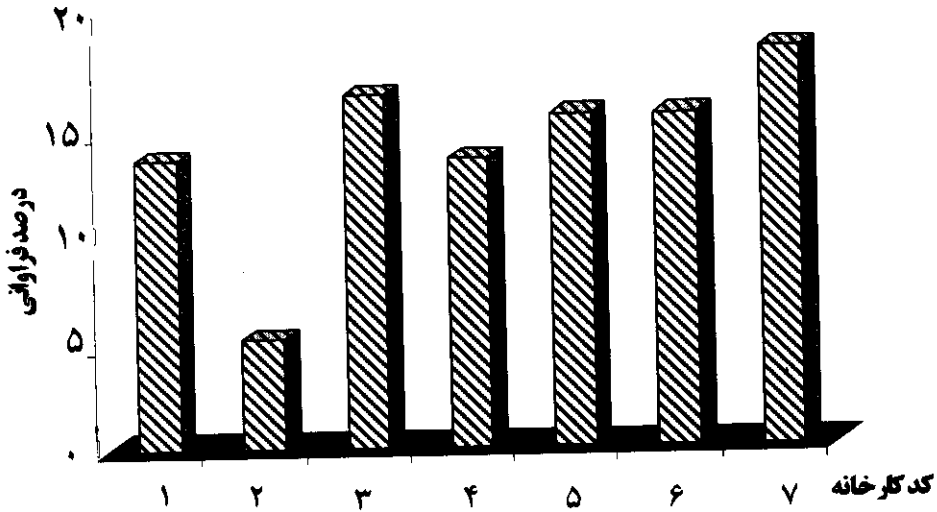
نمودار ۲: درصد فراوانی سایر باکتریها در کارخانه‌های پودر ماهی استان گیلان (سال ۱۳۷۹)



نمودار ۳: میزان آلودگی باکتریایی در کارخانه‌های پودر ماهی استان گیلان (سال ۱۳۷۹)



نمودار ۴: درصد فراوانی قارچی‌های مختلف در کارخانه‌های پودر ماهی استان گیلان (سال ۱۳۷۹)



نمودار ۵: میزان آلودگی قارچی در کارخانه‌های پودر ماهی استان گیلان (سال ۱۳۷۹)

میزان آلودگی قارچی در پودر ماهی کارخانه‌های استان گیلان نشان داد که بیشترین و کمترین میزان آلودگی قارچی بترتیب به پنی‌سیلیوم و ریزوبوس تعلق دارد (نمودار ۶). موارد مثبت آلودگی از قارچهای جداسازی شده از کارخانه‌های استان گیلان عبارت بودند از: پنی‌سیلیوم (۵۳/۳ درصد)، اسپرژیلوس (۱۶ درصد) (۵۰ درصد اسپرژیلوس، ۳۳/۳ درصد اسپرژیلوس نایجر و ۱۶/۷ درصد اسپرژیلوس فلاووس)، کلادسپوریوم (۱۳/۳ درصد)، فوزاریوم (۱۲ درصد)، مخمر (۱۰/۷ درصد)، پسیلومایسس (۹/۳ درصد)، موکور (۸ درصد) و ریزوبوس (۴ درصد). در جدول ۱ ترکیبات پودر ماهی استان گیلان از نظر پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر آورده شده است.

جدول ۱: ترکیبات پودر ماهی کارخانه‌های استان گیلان (سال ۱۳۷۹)

شاخص	تعداد آزمایشها	درصد پروتئین انحراف معیار±	درصد چربی انحراف معیار±	درصد رطوبت انحراف معیار±	درصد خاکستر انحراف معیار±
کارخانه ۱	۸	۵۰/۶±۲/۲	۱۰/۷±۰/۸	۱۴/۱±۳/۲	۱۳/۱±۱/۲
۲	۸	۶۶/۶±۲/۲	۷/۶±۰/۶	۹/۲±۲/۲	۹/۸±۱/۱
۳	۸	۵۴/۸±۲/۴	۱۰/۶±۱/۲	۱۲/۲±۳/۲	۱۲/۴±۱/۴
۴	۸	۵۳/۸±۱/۶	۱۱±۰/۸	۱۲/۵±۲/۴	۱۲/۴±۱/۲
۵	۸	۵۴/۸±۲/۰	۱۰/۸±۰/۸	۱۲/۸±۲/۲	۱۲/۲±۱/۲
۶	۸	۵۶±۲/۴	۱۰/۷±۱/۱	۱۴/۲±۲/۸	۱۱/۴±۱/۲
۷	۸	۵۷/۶±۱/۸	۱۱/۸±۱/۲	۱۳/۸±۳/۰	۱۱/۱±۱/۴

## بحث

نتایج بدست آمده نشان داد که بیشترین میزان آلودگی باکتریایی در کارخانه‌های پودر ماهی متعلق به خانواده آنتروباکتریاسه (۵۹ درصد) بوده است که اشرشیاکلی پودر ماهی، (در کل نمونه‌ها ۶۲/۷ درصد آلودگی آنتروباکتریاسه‌ها متعلق به اشرشیاکلی است) باکتری غالب این خانواده است که محل طبیعی آن روده انسان، حیوان، خاک و آب می‌باشد. باکتریهای دیگر این خانواده نیز بطور ساپروفیت در آب، خاک، فاضلاب، روده انسان و حیوان یافت می‌شوند. این باکتریها ممکن است در گل، لجن، سطح بدن ماهیها و محتویات شکمی آنها وجود داشته باشند. هر چه میزان این باکتریها بر روی ماهی بیشتر باشد، فساد سریعتر رخ می‌دهد. این روند بوسیله آنزیمهای گوارشی که به جدار روده حمله کرده و آن را تخریب نموده‌اند، تسریع می‌گردد (رضوی شیرازی، ۱۳۷۳). بنابراین آلودگیهای پودر ماهی می‌تواند از سه طریق شامل قبل از فرآوری، در حین فرآوری و بعد از فرآوری باشد. آلودگیهای قبل از فرآوری

ناشی از میزان باکتریهای موجود در ماهی (به دلیل تازه نبودن آن)، وسایل و ابزار صید، یخ مصرفی آلوده، دست کارگران و غیره باشد که باتوجه به حرارت دستگاه در حین تهیه پودر بسیاری از میکروارگانیسمها بغیر از میکروارگانیسمهای مقاوم از بین خواهند رفت. آلودگی در حین فرآوری مربوط به زمانی است که مواد خام اولیه بعلت خرابی دستگاه مدتی مانده باشد و بعد با شروع کار مجدد این مواد با مواد جدید مخلوط شده و بعضی از باکتریها از جمله برخی از گونه‌های سالمونلا قادر به بقا می‌باشند (رضوی شیرازی، ۱۳۷۳). با توجه به این مسئله که در پودر ماهی سالمونلا جداسازی شد و برخی از کارخانه‌ها هم شرایط فوق را داشتند، چنین امری دور از ذهن نمی‌باشد. در سومین طریقه آلودگی‌ها بعد از فرآوری، عمده آلودگیها از این طریق در کارخانه‌های پودر ماهی مشاهده می‌گردد. عدم رعایت استاندارد در داخل کارخانه، وجود حیوانات اهلی در اطراف کارخانه، وجود حیوانات مودی و حشرات در داخل کارخانه و عدم تهویه باعث انتقال آلودگی شده است (شریعت پناهی، ۱۳۷۳). براساس تحقیقاتی که از وضعیت پودر ماهی در ایران انجام پذیرفت، بیشترین مشکلات پودر ماهی در شمال را نامناسب بودن شرایط حمل و نقل کیلکا، موجود نبودن انبار نگهداری ماده خام در کارخانه‌های پودر ماهی و نداشتن سیستمهای برودتی برشمرده اند که موجب گردیده که کارخانه‌داران نتوانند ماهی مورد نیاز خود را بمدت طولانی نگهداری کنند (شویک لو، ۱۳۷۳). باکتریهای نظیر کلستریدیوم، باسیلوس، سودوموناس و آئروموناس از جمله باکتریهای ساپروفیتی هستند که در آب، خاک و.. وجود دارند. برخی از باکتریها نظیر استافیلوکوک و استرپتوکوک علاوه بر خاک، هوا و غیره از طریق افراد آلوده که در سطح پوست، بینی و گلو خود دارای این باکتریها هستند از طریق سرفه، عطسه و سطوح آلوده سطحی پوست مانند جوش و کورک فرد آلوده قادر به انتقال در مواد غذایی هستند. میزان استافیلوکوک در کل نمونه‌ها، ۵۲ درصد بوده که از این تعداد ۴۲/۱ درصد به استافیلوکوک آئرنوس تعلق داشته و ۵۸/۹ درصد به سایر استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی نظیر اپیدرمیس تعلق داشته است. چون در بیشتر کارخانه‌های پودر ماهی بصورت فله‌ای و روی زمین ریخته شده و با خاک در تماس می‌باشد، نبودن استاندارد و شرایط بهداشتی کارخانه و کارکنان در این کارخانه‌ها دلیل مهم آلودگی بوده است. در این تحقیق بیشترین میزان آلودگی در کارخانه‌ها در تابستان و کمترین میزان آلودگی در بهار بوده است و این می‌تواند بعلت بالا رفتن درجه حرارت محیط باشد که باعث افزایش رشد و تکثیر باکتریها می‌گردد که به سرعت کیفیت محصول را تغییر داده و در ادامه منجر به ظهور علائم فساد می‌گردد (Fujioka et al., 1951).

رطوبت بیش از ۱۵ درصد پودر ماهی را در معرض فساد ناشی از عمل قارچها قرار می‌دهد. درصد رطوبت پودر ماهی کارخانه‌ها بین ۹ تا ۱۸ درصد متغیر بوده است. کمترین میزان رطوبت پودر ماهی در کارخانه ۲ بوده که میزان آلودگی باکتریایی هم در آن کمتر بوده است. بیشترین درصد رطوبت پودر ماهی متعلق به کارخانه ۱ بوده و همچنین بیشترین میزان آلودگی باکتریایی و آنتروباکتریاسه هم متعلق به این کارخانه است. آلودگی قارچی در این کارخانه‌ها بعلت شرایط نامطلوب انبار و رطوبت زیاد،



دیده می‌شود. بیشترین میزان آلودگی قارچی متعلق به کارخانه ۷ با میانگین رطوبت ۱۴/۶ درصد بوده است.

از طرفی قارچهای پنی سیلیوم، فوزاریوم و آسپرژیلوس از عمده‌ترین مایکوتوکسین‌ها هستند و سم موجود این قارچها در کاهش کیفیت و انتقال بیماری در حیوانات که از این فرآورده استفاده می‌کنند سهم عمده‌ای دارد. لازم به ذکر است مایکوتوکسین‌ها، اوکراتوکسین (توسط پنی‌سیلیوم این سم تولید می‌شود) و آفلاتوکسین در پودر تولیدی بدلیل نگهداری نامناسب در فصل زمستان در سیلو بوجود می‌آید (Willoughby, 1994) البته بسیاری از قارچهای تولید کننده سم اگر به شرایط مطلوب (مانند رطوبت، دما و زمان) نرسد هیچگاه سم‌زایی نخواهند کرد. با وجود این همواره خطر آلودگی آفلاتوکسین یا دیگر سموم قارچی وجود دارد (نصر اصفهانی، ۱۳۷۷). مواردی که در نمونه‌های پودر ماهی پذیرفتنی نیست عبارتند از: حداکثر بار میکروبی بمیزان ۴ میلیون در هر گرم و میزان اشرشیاکلی کمتر از ۱۰ کلنی در هر گرم و عدم وجود سالمونلا در ۲۵ گرم نمونه پودر ماهی است. همچنین وجود هر گونه کپک زدگی به هر مقدار، ترشیدگی و گندیدگی، وجود آفات انباری به هر مقدار و وجود سموم ناشی از قارچ بخصوص آفلاتوکسین بیش از ۳۰ ppb غیر مجاز می‌باشد (استاندارد ملی ایران، ۱۳۷۳).

بار میکروبی در تمام کارخانه‌ها بجز کارخانه (۲) بیشتر از حد استاندارد بوده است و در تمام کارخانه‌ها آلودگی سالمونلایی وجود داشته است و میزان آلودگی *E. coli* در ۶۰ درصد موارد نمونه‌برداری بیشتر از میزان تعیین شده در هر گرم نمونه بوده است. البته بعضی از باکتریها نظیر اشرشیاکلی، پرتئوس ولگاریس، کلبسیلا پنومونیه، سیترو باکتر فروندی، کلستریدیوم پرفریجنس، انترو باکتر اثرورنز و هافنیا آلوئی جزء باکتریهای تولیدکننده هیستامین می‌باشند (کریم، ۱۳۷۸). افزایش هیستامین در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی باعث کاهش سرعت رشد و خوراک مصرفی گردیده و مسمومیت‌های هیستامینی ایجاد می‌نماید (پزشکیان، ۱۳۷۵)

از طرفی برخی از باکتریهای جنس کلستریدیوم، پروتئوس، باسیلوس، استرپتوکوکوس، سودوموناس و استافیلوکوک که از پودر ماهی جداسازی گردیده جزء باکتریهای پروتئولیتیک، مقاوم به حرارت، لیپولیتیک هستند که باعث کاهش کیفیت و به مرور فساد فرآورده می‌گردد (کریم، ۱۳۷۸). استفاده از بسته‌بندی کاغذی و پلی اتیلن موجب جلوگیری از آلودگی پودر ماهی، استفاده از آنتی بیوتیک در حد مجاز، استفاده از مواد شیمیایی از جمله فرم آلدئید، سرد نگهداشتن ماهی، انبار کردن مواد اولیه در کانتینرها و همچنین نگهداری از مواد خام را نیز به حداقل ممکن کاهش داد (ساعدی و همکاران، ۱۳۷۱).

از سوی دیگر آزمایش روی کارکنان کارخانه‌های مواد غذایی نشان می‌دهد که هر انسانی در هر دقیقه ۱۰<sup>۲</sup> تا ۱۰<sup>۳</sup> میکروب زنده از خودش اشاعه می‌دهد. دقت افراد عمل آورنده مواد غذایی در تمیز کردن و بهداشتی نمودن وسایل کار، در کاهش چنین آلودگیهایی در مواد غذایی بسته‌بندی شده بسیار

موثر خواهد بود (امتیازی، ۱۳۷۹). آموزش به کارگران در ارتباط با رعایت بهداشت فردی و لوازم مصرفی کارخانه، کنترل آب و کنترل حشرات و جوندگان در محوطه، از اصول کنترل محسوب می‌گردند. اگرچه ایجاد غذای عاری از هر گونه آلودگی امکانپذیر نیست اما کاهش آلودگی هدف مدیرانه‌ای است. در این راستا سیستم HACCP جهت حفظ امنیت و کاهش آلودگی غذایی روشی مناسب است.

### منابع

- استاندارد ملی ایران، ۱۳۷۰. پودر ماهی جهت خوراک دام و طیور. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. شماره ۷۷۲، صفحات ۱ تا ۵.
- استاندارد ملی ایران، ۱۳۷۲. روش جستجو و شناسایی سالمونلاها. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، صفحات ۴ تا ۲۷.
- استاندارد ملی ایران، ۱۳۷۳. روش جستجو و شمارش قارچها (کپکها و مخمرها) در مواد غذایی. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، صفحات ۱ تا ۸.
- امتیازی، گ.، ۱۳۷۹. میکروبیولوژی و کنترل آب و هوا و پساب. انتشارات مانی اصفهان، ۲۲ صفحه.
- پروانه، و.، ۱۳۷۱. کنترل کیفی و آزمایشهای شیمیایی مواد غذایی. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ دوم، صفحات ۱۸۵ تا ۱۸۶.
- پزشکیان، س.، ۱۳۷۵. آمین‌های بیوژنیک و نقش بیماریزایی آنها در طیور. نشریه داخلی انجمن صنفی تولیدکنندگان جوجه یکروزه، شماره ۳۵، صفحات ۲۷ تا ۳۲.
- رضوی شیرازی، ؟، ۱۳۷۳. تکنولوژی فرآورده‌های دریایی اصول نگهداری و عمل آوری. چاپ اول، انتشارات شیلانه، صفحات ۲۸۳ تا ۳۱۰.
- ساعدی، ه.؛ شماع، م.؛ نیکپور، ت. و مروارید، ع.، ۱۳۷۱. غذاهای دام و طیور و روشهای نگهداری آنها. جلد دوم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۲۹۵ تا ۳۰۲.
- شریعت پناهی، م.، ۱۳۷۳. مبانی بهداشت محیط. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی تهران، صفحات ۴۲ تا ۴۶.
- شویک‌لو، غ.، ۱۳۷۳. وضعیت تولید پودر ماهی در ایران، معاونت صید و صنایع شرکت سهامی شیلات ایران.
- کریم، گ.، ۱۳۷۸. آزمونهای میکروبی. چاپ سوم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۲۳۶ تا ۲۵۳.
- نصر اصفهانی، م.، ۱۳۷۷. کپکها و مخمرها و اهمیت آنها در صنعت مواد غذایی. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان. صفحات ۱۱۰ تا ۱۲۴.
- نیکخواه، ع. و امانلو، ح.، ۱۳۷۱. راهنمای تغذیه طیور. چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، ۲۲۰ صفحه.

هاشمی، م. ، ۱۳۷۵. تغذیه دام و طیور و آبزیان، خوراکیها و خوراک دادن و جیره نویسی (۲). انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۶۰۱ تا ۷۲۳.

**Baron, E.J. and Fingold, S.M. , 1990.** Diagnostic Microbiology thed. The C.V. Mosby Co., St. Louis.USA. pp.742-748.

**FAO , 1986.** The production of fish meal and oil .Tech .pp.142-163.

**Fujioka, S. ; Harlan, R. ; Hashimoto, H. and Siwak, E.B. , 1951.** Effect of sunlight on survival of indican bacteria in sea water. Applid environmental microbiology, Vol. 4, No. 3, pp.690-695.

**Willoughby, L.G. , 1994.** Fungi and fish disase. Pisco Press, Stirling. 37P.

**Winton, A.I. and Winton, K.B. , 1999.** Fish and fish products. Agalo Published. 38P.

## Isolation and identification bacteria and fungi of spoilage in Kilka meal production in Guilan Province

Faeed M.<sup>(1)</sup> ; Mozafari N.A.<sup>(2)</sup> and Shojaee Arany A.<sup>(3)</sup>

M\_faeed@yao.com

1-Iranian Fisheries National Fish Processing Research Center,

P.O.Box: 43145-1655 Bandar Anzali ,Iran

2,3 - Dept. of Microbiology, Islamic Azad University Lahijan Branch,

P.O.Box:1616 Lahijan, Iran

Received: November 2004

Accepted: September 2005

**Keywords:** Fish meal, Kilka, Spolige, Bacteria, Fungi, Guilan Province, Iran

### *Abstract*

We Collected 75 samples from fish meal factories in Guilan Province (codes: 1,2,3,4,5,6,7) based on two times per month during June to December 2001. Standard referene are used in bacterial and fungous identification. The isolated bacteria are *E. coli*, *Proteus spp.*, *Citrobacter spp.*, *Shigella spp.*, *Enterobacter*, *Aerogens*, *Salmonella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Hafina Alvei*, *Yersinia Enterocolitica*, *Edwardsiella spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Clostridium spp.*, *Aeromonas Hydrophila*, *Streptococcus spp.* The hightest and lowest bacterial conamination observed in *E. coli* and *Hafina Alvei* respectively. The most important isolated fungi were *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Yeasts Rizopous spp.* The maximum and minimum fungi decay in samples were *Penicillium spp.*, and *Rizopus* respectively. The most and the least microbial spoilage have been seen in factories 1 and 2 respectively.