



## اثر حرارت در فرآیند تولید ماست روی بقای ویروس های روده ای با استفاده از باکتریوفاژ مدل: (MS2) Male-specific coliphage

سمیه مرادی مقدم<sup>۱</sup>، مسعود باورمنش<sup>۲</sup>، محمد باقر حبیبی نجفی<sup>۳</sup>،  
<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی - پردیس بین الملل دانشگاه فردوسی مشهد  
<sup>۲</sup> استادیار گروه علوم و صنایع غذایی - دانشکده کشاورزی - دانشگاه فردوسی مشهد  
<sup>۳</sup> استاد گروه علوم و صنایع غذایی - دانشکده کشاورزی - دانشگاه فردوسی مشهد

### چکیده:

ویروس ها به عنوان یک عامل مهم شیوع بیماری های ناشی از مواد غذایی شناخته شده اند و شیر خام هم به عنوان یک منبع بالقوه برای انتقال ویروس های روده ای است. هدف از این تحقیق، ارزیابی فرآیند حرارتی در تولید ماست، روی بقای انتروباکتریوفاژ MS2 بود. ابتدا بعد از شمارش اولیه باکتریوفاژ MS2، سه رقت ( $10^7$  و  $10^5$  و  $10^3$  PFU/ml) از آن را تهیه کرده و به شیر استریل با سه نوع چربی مختلف ۱/۱۵٪، ۲/۵٪ و ۳٪ تحت شرایط اسپتیک اضافه می گردد. سپس شیر را در دمای  $85^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده و بعد از آن نمونه ها مورد بررسی قرار می گیرند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد، حرارت باعث می شود بازیافت انتروباکتریوفاژ MS2 از  $7 \log_{10}$  (PFU/ml) به حدود  $0.97 \log_{10}$  (PFU/ml) و  $1/49$  به ترتیب در شیرهای با ۲/۵٪ و ۳٪ چربی کاهش یابد. علاوه بر این، هیچ انتروباکتریوفاژ MS2 در دیگر نمونه های شیر دیده نشد و حرارت باعث نابودی تمام این باکتریوفاژها گردید. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، می توان بیان کرد که بازیافت انتروباکتریوفاژ MS2 در اثر حرارت از حدود  $7 \log_{10}$  (PFU/ml) به مقدار قابل توجهی در نمونه های شیر با ۲/۵٪ و ۳٪ چربی کاهش پیدا کرد و در سایر نمونه های شیر این ویروس از بین رفت.

کلمات کلیدی: حرارت، انتروباکتریوفاژ MS2، ماست

### مقدمه

عفونت های ویروسی انتقال یافته از راه مواد غذایی به طور فزاینده ای علل بیماری در انسان است. در اروپا، عوامل ویروسی مسئول ۱۰/۲٪ از شیوع بیماری های ناشی از مواد غذایی در سال ۲۰۰۶ بودند و پس از سالمونلا، به عنوان دومین عامل، شناخته شده اند (۱). به تازگی، میزان بروز بیماری های ناشی از مواد غذایی به علت ویروس های روده ای افزایش یافته است و شیر خام هم به عنوان یک منبع بالقوه برای انتقال ویروس های روده ای معرفی شده است (۲ و ۳). ویروس های روده ای نیز در شیر پاستوریزه و سایر محصولات لبنی مانند ماست و پنیر گزارش شده اند (۴). امروزه اکثر ویروس های با منشأ غذایی به آسانی قابل کشت در آزمایشگاه نمی باشند. بنابراین، نتایجی که از بقا و غیر فعال کردن آن ها در مواد غذایی بدست می آید با استفاده از ویروس های جانشین عملی خواهد بود (۵). کلی فاز Male-specific F-RNA به خاطر شباهتش در ساختار، ترکیبات و مورفولوژی جانشین خوبی برای ویروس های روده ای گزارش شده است (۶). MS2 که یکی از اعضای اصلی سرگروپ ۱ کلی فاز F-RNA است، می تواند به عنوان یک شاخص بالقوه برای حضور ویروس های روده ای به خدمت گرفته شود (۷). در این مطالعه، به ارزیابی فرآیند حرارتی در تولید ماست، روی بقای انتروباکتریوفاژ MS2 خواهیم پرداخت.

### مواد و روشها

شیر استریلیزه میهن و رضوی به ترتیب با ترکیب ۳٪، ۱/۱۵٪ و ۲/۵٪ چربی از سوپرمارکت تهیه گردید. استارتر  $CH_1$  نوع DVS از شرکت کریستین هانسن<sup>۱</sup> کشور دانمارک تهیه شده و مورد استفاده قرار گرفت. این استارتر مخلوطی از دو باکتری استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس دلبروکی زیبرگونه بولگاریکوس با نسبت های مساوی بود. مواد شیمیایی مورد استفاده در آزمایش شامل محیط کشت<sup>۲</sup> TSB و آگار (ساخت شرکت لیوایتالیا) و آنتی بیوتیک های استرپتومایسین و آمپی سیلین (ساخت شرکت سیگما) بودند.

### مرحله عملیات حرارتی در تولید ماست:

ابتدا بعد از شمارش اولیه باکتریوفاژ MS2، سه رقت ( $10^7$  و  $10^5$  و  $10^3$  PFU/ml) از آن را برداشته و به شیر استریل با سه نوع چربی مختلف ۳٪، ۲/۵٪ و ۱/۱۵٪ تحت شرایط اسپتیک اضافه می گردد. سپس شیر را در دمای  $85^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده (۸) و بعد از آن نمونه ها مورد بررسی قرار گرفتند.

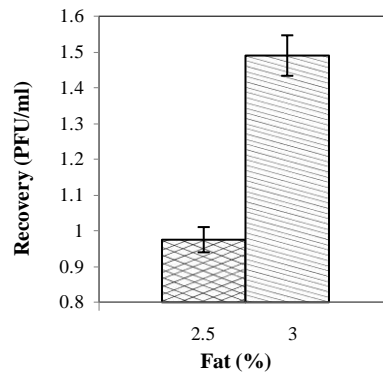
<sup>1</sup> Christian Hansen

<sup>2</sup> - Trgptic soy broth



## نتایج و بحث

همانطور که در شکل (۱-۱) مشاهده می شود، حرارت باعث شد باز یافت باکتریوفاژ MS2 از حدود  $7 \log_{10}$  (PFU/ml) به حدود  $0.97 \log_{10}$  و  $1/49$  به ترتیب در شیرهای با  $2/5\%$  و  $3\%$  چربی کاهش یابد. علاوه بر این، هیچ انتروباکتریوفاژ MS2 در دیگر نمونه های شیر دیده نشد و حرارت باعث نابودی تمام این باکتریوفاژها گردید.



شکل ۱-۱. اثر حرارت روی باز یافت انتروباکتریوفاژ MS2

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد، دما و زمان بکار رفته برای حرارت باعث گردید هدایت گرمایی به داخل ماده غذایی بخوبی انجام شود. زیرا یکی از اشکالات حرارت دادن کوتاه مدت، این است که حجم زیاد غذا باعث شده هدایت گرمایی به قسمت های داخلی غذا بخوبی انجام نشود (۹). بنابراین، این زمان بکار رفته برای حرارت دادن شیر باعث نابودی باکتریوفاژ MS2 گردیده است.

همچنین حساسیت به حرارت کلی فاژ MS2، می تواند تحت تاثیر ترکیبات غذایی باشد. شیر اثر حفاظتی زیادی روی ویروس MS2 دارد و موادی که در شیر این حفاظت را ایجاد می کنند شامل پروتئین ها، چربی ها، قندها و یا یونها هستند (۱۰ و ۱۱ و ۱۲). علاوه بر این، شیر اثر حفاظتی زیادی روی ویروس هپاتیت A دارد (۹). غلظت بالای لاکتوز و پروتئین شیر، روی مقاومت حرارتی موثر است (۱۳). در محصولاتی مانند خامه و بستنی افزایش مقاومت حرارتی بدلیل بالا بودن میزان چربی است. تحت این شرایط، انتروویروس ها قادرند در دمای پاستوریزاسیون  $71^{\circ}\text{C}$  برای  $30\text{ s}$  مقاوم باشند (۱۳). همچنین وجود ترکیبات حفاظتی در شیر بخصوص چربی، باعث شده از انتروباکتریوفاژ MS2 در برابر حرارت محافظت کند. علاوه بر این، بکار بردن مقدار زیاد ویروس برای تلقیح ( $>10^5$  PFU/ml) یک اثر حفاظتی برای آن در برابر فرایند حرارتی ایجاد می کند (۱۴).

## نتیجه گیری:

بر اساس نتایج حاصل از مطالعه پیش رو می توان گفت، حرارت باعث گردید مقدار  $7 \log_{10}$  (PFU/ml) انتروباکتریوفاژ MS2 در نمونه های شیر با  $2/5\%$  و  $3\%$  چربی به مقدار قابل توجهی کاهش پیدا کند و در دیگر نمونه های شیر این ویروس از بین رفت.

## منابع:

- European Food Safety Authorities. 2007. The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2006. *The EFSA Journal*, 130.
- Mortazavi, A., Habibi Najafi, M.B., Yavarmanesh, M., and Barouei, J. 2008. Application of commercial immuno assay (ELISA) technique for determination of hepatitis A antigen (HAV) in raw milk. *Food Control*, 19: 551-556.
- Raska, K., Helcl, J., Jezek, J., Kabelka, Z., Litiv, M., Novak, J., Radkovsky, J., Serg, V., Zejdl, J., and Zikmund, V. 1966. A milk-borne infectious hepatitis epidemic. *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology*, 10: 413-428.
- Tivon, S.V. 1992. Field and laboratory studies related to the persistence, survival and inactivation of enteroviruses in some foods. In: *Proceeding of the Third World Congress on Food-Borne Infections and Intoxications*, vol. 1, pp. 298-303.
- Baert, L., Debevere, J., and Uyttendaele, M. 2009. The efficacy of preservation methods to inactivate foodborne viruses. *International Journal of Food Microbiology*, 131: 83-94.



6. Grabow, W. 2001. Bacteriophages: update on application as models for viruses in Water. *Water SA*, 27: 251-258.
7. Gerba, C.P., Riley, K.R., Nwachuku, N., Ryu, H., and Abbaszadegan, M. 2003. Removal of encephalitozoon intestinalis, calicivirus, and coliphages by conventional drinking water treatment. *Journal of Environmental Science and Health*, 38: 1259-1268.
8. Liu, K. 1997. Soybeans: Chemistry Technology and Utilization. New York: Chapman and Hall. Pp. 415-418.
9. Parry, J.V., and Mortimer, P.P. 1984. The heat sensitivity of hepatitis A virus determined by a simple tissue culture method. *Journal of Medical Virology*, 17: 277-283.
10. Cliver, D.O. 1990. *Foodborne Diseases*. 1<sup>st</sup> ed. Academic Press. San Diego. pp. 275-292. Chap. 20.
11. Abad, F.X., Pinto, R.M., Diez, J.M., Bosch, A., 1994. Disinfection of human enteric viruses in water by copper and silver in combination with low levels of chlorine. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 2377-2383.
12. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1996. Microorganisms in Foods 5, Characteristics of Microbial Pathogens. 1<sup>st</sup> ed. Blakie Academic and Professional. London. pp. 440-457. Chap. 25
13. Cliver, D.O., and Salo, R.J. 1978. Indicators of viruses in foods pre-served by heat. In: Berg, G. (ed.), Indicators of Viruses in Water and Food. 1<sup>st</sup> ed. Ann Arbor Science Publishers. Michigan. pp. 329-354. Chap. 13.
14. Cliver, D.O. 1973. Cheddar cheese as a vehicle for viruses. *Journal of Dairy Science*, 56: 1329-1331.