# بررسی استفاده از روش‌های مختلف شستشوی کاهو در کاهش بار میکروبی باسیلوس سرئوس

**زهره دیدار**[1*]

1- استادیار، گروه صنایع غذایی، دانشکده علوم پایه، واحد نیشابور دانشگاه آزاد اسلامی ، نیشابور، ایران
وعضو باشگاه پژوهشگران جوان ، واحد نیشابور دانشگاه آزاد اسلامی ، نیشابور، ایران

تاریخ دریافت: 96 /10/22 تاریخ پذیرش: 97/4/3

**چکیده**

یکی از عوارض مصرف سبزیجات تازه، احتمال آلودگی آن‌ها به باکتری‌های بیماریزا است. شستشوی سبزیجات تازه نقش مهمی در کاهش جمعیت میکروبی و افزایش ایمنی مصرف این گونه محصولات دارد. آب الکترولیز شده به عنوان یک ضدعفونی‌کننده جدید در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. این ضدعفونی‌کننده، بی خطر، ارزان و ایمن است که اثر آن بر روی گونه-های مختلف میکروب‌ها، قارچ ها و ویروس‌ها تأیید شده است. در این مطالعه استفاده از انواع مختلف آب شستشو بر کاهش جمعیت باکتریایی باسیلوس سرئوس در کاهو مورد بررسی قرار گرفته است. انواع آب مورد استفاده شامل آب آشامیدنی، آب آشامیدنی اسیدی شده، آب دیونیزه کلر زنی شده با غلظت‌های کلر باقیمانده 50 و 25 میلی‌گرم در لیتر، آب الکترولیز شده خنثی، آب الکترولیز شده اسیدی با غلظت کلر باقیمانده 50 و 25 میلی‌گرم در لیتر در زمان‌های مختلف شستشو (60 و 180 ثانیه) و دماهای مختلف شستشو ( 4 و 25 درجه سانتی‌گراد) می باشد. نتایج این تحقیق نشان داد، الکترولیز نمودن آب بیشترین کارایی در کاهش بار میکروبی کاهو داشته است (80%)($p\leq0/05$) و اسیدی کردن آب الکترولیز شده سبب افزایش راندمان ضدعفونی کنندگی آن می‌شود (82/6%)($p\leq0/05$). علاوه بر آن، بررسی جمعیت میکروبی کاهو در طی زمانهای ماندگاری 1 تا 4 روز نیز نشان داد که در نمونه‌های کاهو شستشو شده با آب الکترولیز روند افزایش جمعیت میکروبی، نسبت به سایر روش‌های شستشو آهسته‌تر است.

**واژه های کلیدی** : باسیلوس سرئوس، کاهو، آب شستشو، الکترولیز

[*]مسوول مکاتبات: z_didar57@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

**1-مقدمه**

سبزیجات به علت دارا بودن ارزش غذایی و نیز فیبر خوراکی توسط مصرف کنندگان به میزان زیادی مورد مصرف قرار می‌گیرند (26). البته سبزیجاتی که به صورت خام مصرف می‌شوند، به علت وجود آلودگی میکروارگانیسم‌های بیماریزا ممکن است سبب بروز بیماری شوند (24) علاوه براین رشد میکروارگانیسم‌های مختلف روی سبزیجات خام سبب محدود شدن مدت ماندگاری سبزیجات می‌گردد که این مسأله بستگی به برخی فاکتورها نظیر میزان فعالیت آبی سبزیجات، پتانسیل اکسایش و احیاء و نیز میزان اسیدیته آنها دارد (7). امروزه عرضه سبزیجات خام به صورت سالادهای آماده رو به افزایش است. کاهو از جمله مهمترین سبزیجات خامی است که در رستورانها و سالادهای آماده استفاده می‌شود. آلوده بودن کاهو به میکروارگانیسم‌های مختلف بیماریزا توسط محققین مختلف بررسی گردیده است (13). مرکز کنترل و جلوگیری بیماریها گزارش نموده است که محصولات خام فرآوری نشده عامل حداقل12درصد بروز بیماریهای غذایی در سال 1990 بوده اند (11). باسیلوس سرئوس باکتری گرم مثبت، هوازی اختیاری است که در محیط به صورت گسترده ای یافت می شود و توانایی جوانه زنی آن سبب شیوع این نوع باکتری در تمام مواد غذایی شده است (8). شیوع این باکتری بیشتر در شیر خام، گوشت و سبزیجات عامل بسیاری از بیماریهای مرتبط با غذا معرفی شده است (6). دامنه وسیعی از مسمومیت‌های غذایی مرتبط با علائم اسهال ناشی از باسیلوس سرئوس است. آب و مواد آلی از منابع مهم آلوده شدن سبزیجات به این باکتری هستند (23). این باکتری توانایی زندگی ساپروفیتی دارد و به عنوان پاتوژن فرصت طلب انسان نیز می‌تواند عمل کند. مسمومیت غذایی باسیلوس سرئوس در کل طول سال و بدون هیچ گونه توزیع جغرافیایی خاص رخ می‌دهد. از دیگر دلایل اهمیت این نوع باکتری در صنعت مواد غذایی، توانایی تحمل پاستوریزاسیون و همچنین امکان رشد در یخچال است (27). بررسی های انجام شده نشان دهنده میزان زیاد آلودگی سبزیجات خام (58/6%) و بیش از 30% سبزیجات فرآوری شده نظیر سالاد سبزیجات به باسیلوس سرئوس آلوده بوده‌اند (23). گزارش‌های متعددی مسمومیت غذایی ایجاد شده توسط باسیلوس سرئوس به صورت وجود باکتریهای بیماریزا در کاهو را نشان داده است (17) باکتریها می‌توانند از طریق خاک، کود، آبیاری، دستگاهها و انسانها به کاهو منتقل شوند (10). فرآوری‌ها می‌توانند سبب صدمه به برگها شوند در نتیجه احتمال رشد میکروبها در آنها را افزایش می‌دهند (15). به‌علاوه، چون این محصولات به صورت خام مصرف می‌شوند، آماده سازی و سایر مراحل تهیه باید با دقت و در شرایط بهداشتی صورت گیرد. مطالعات مختلفی پیرامون بهبود شرایط بهداشتی کاهو از طریق روشهای فیزیکی و شیمیایی همچون پرتوتابی و و اولتراسونیک صورت گرفته است (14). کارایی استفاده از پرتوتابی روی باکتریهای بیماریزای انسانی محدود است از طرفی مصرف کنندگان نیز تمایلی به مصرف غذاهای پرتوتابی شده ندارند. شستشو همراه با استفاده از ترکیبات ضدعفونی کننده سبب کاهش بار میکروبی می‌گردد ولی اثرات منفی بر سلامت و همچنین محیط زیست دارد (14). بیشتر محلولهای ضدعفونی کننده مورد استفاده سبب کاهش بار میکروبی می‌شوند ولی تا زمان رسیدن محصول به مصرف کننده، ممکن است بار میکروبی به علت رشد سریع میکروارگانیسم‌ها مجدد افزایش پیدا کند (5). آب الکترولیز شده از جمله روش‌هایی است که جهت شستشو و نابودی برخی باکتریهای بیماریزا مورد توجه قرار گرفته است. آب الکترولیز شده توسط الکترولیز محلول رقیق نمک کلرید سدیم تهیه می‌شود. آژانس حفاظت محیط زیست و سازمان غذا و داروی ایالات متحده، استفاده از آب الکترولیز شده را برای شستشوی مواد غذایی فرآوری نشده ، شستشوی میوه‌ها و سبزیجات و نیز به صورت اسپری و غوطه وری برای تیمار گوشت گاو، مرغ وخوک قبل از فراوری مجاز اعلام نموده است (28). اثر آب الکترولیز در حذف باکتریهای مختلف مانند سودوموناس آئروژنوزا (19)، استافیلوکوکوس اورئوس (20) استافیلوکوکوس

Archive of SID

www.SID.ir

اپیدرمیدیس و اشرشیاکلی (22) سالمونلا انتریدس (25) لیستریا مونوسیتوژنز (16) تأیید شده است. همچنین اثر آن در کاهش بار میکروبی مواد غذایی مانند حذف کمپیلوباکتر ژژونی در گوشت مرغ (21) و حذف باکتریهای سایکروفیل و مزوفیل در میگو (3) نیز ثابت شده است. هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر استفاده از شستشو با انواع مختلف آب روی جمعیت میکروبی باسیلوس سرئوس در کاهو است.

## 2-مواد و روش‌ها

باکتری مورد استفاده در این تحقیق شامل باکتری باسیلوس سرئوس (PTCC 1665) تهیه شده از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران است که به صورت آمپول لیوفیلیزه تهیه گردید، سپس در شرایط استریل، شکسته شده و به محیط BHI[1] منتقل گردید و برای مدت 24 ساعت در دمای 32 درجه سانتی گراد، گرمخانه گذاری گردید (4). سلول‌های میکروبی توسط سانتریفیوژ مدل ALC4232 با دور 4000rpm جدا شدند (30) و کدورتی معادل با نیم مک فارلند (کدورت معادل $10^8$×1/5 در هر میلی لیتر) تهیه گردید. سپس با رقیق کردن آن به نسبت 0/01 کدورت حدود $10^6$ باکتری در هر میلی لیتر به دست آمد که به منظور تلقیح باکتری به برگ‌های کاهو، استفاده گردید.

### 2-1-آماده سازی محلولهای عمل آوری کاهو

با استفاده از آند مس و کاتد روی به مدت 1 دقیقه جریان 14 آمپر از محلول رقیق کلرید سدیم ( حدود 0/1%) عبور داده شد سپس آب مورد نیاز برای آزمایش از قسمت آند، جمع‌آوری گردید. جهت اسیدی کردن آن پودر اسید سیتریک (10g/L) به آن اضافه شد. برای تهیه آب الکترولیز رقیق با غلظت حدود 25 میلی‌گرم کلر در هر لیتر، تا زمانی که باقیمانده کلر در آب به میزان 25 میلی گرم در لیتر برسد، آب دیونیزه به آب الکترولیز شده اولیه اضافه گردید (3).مقادیر pH و میزان پتانسیل کاهش اکسیداسیون آب الکترولیز شده و نیز آب کلره، قبل و بعد از عملیات شستشو، با استفاده از pH متر (Jenway 3520) و پتانسیل کاهش اکسیداسیون با استفاده از دستگاه Jenway 4520 اندازه-گیری شد. کلر باقیمانده با استفاده از روش یدومتری (1) تعیین شد.

### 2-2-تلقیح میکروبی نمونه‌های کاهو

نمونه‌های کاهو با وزن حدود 50 گرم آماده و شستشو گردید. هر یک از نمونه‌ها با میزان 0/1 میلی لیتر از سوسپانسیون میکروبی باسیلوس سرئوس در تمام قسمت‌های برگ کاهو، تلقیح شد و به مدت 10 دقیقه در دمای 25 درجه سانتی گراد در شرایط استریل، به منظور اتصال باکتریها به سطح برگ کاهو قرار داده شد (21). این مدت زمان برای اتصال باکتری به برگهای کاهو بدون تشکیل بیوفیلم کافی است (12).

### 2-3-شستشوی برگهای کاهو

نمونه‌های برگ کاهو تلقیح شده به مدت 60 و 180 ثانیه در دمای 25 و 4 درجه سانتی گراد توسط نمونه‌های آب الکترولیز شده خنثی، آب الکترولیز شده اسیدی، آب کلره با غلظت 50 میلی گرم در لیتر، آب کلره با غلظت 25 میلی گرم در لیتر و آب یونیزه در شرایط استریل و تحت شیکر با سرعت 100 rpm قرار گرفتند. سپس با استفاده از سوآپ استریل از تمام بخش‌های برگ کاهو، نمونه برداری شد و نمونه‌ها به محیط کشت بلاد آگار منتقل گردید و به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند سپس شمارش سلولی صورت گرفت.

### 2-4-بررسی اثر زمان ماندگاری روی جمعیت میکروبی باسیلوس سرئوس در برگهای کاهو

جهت بررسی جمعیت میکروبی باسیلوس سرئوس در طی مدت ماندگاری کاهو در روزهای 1، 2، 3 و 4 روز با استفاده از سوآپ استریل از تمام بخش‌های برگ کاهو، نمونه برداری شد و نمونه‌ها به محیط کشت بلاد آگار منتقل گردید و به 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. سپس شمارش سلولی صورت گرفت.

[1] - Brain Heart Infusion

Archive of SID

www.SID.ir

**2-5-آنالیزهای آماری**

تمامی آزمایشات، در سه تکرار صورت گرفت. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار STATISTICA در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. جهت مقاصد توصیفی از آمار توصیفی شامل جداول توزیع فراوانی، میانگین‌ها و انحراف معیار استفاده گردید.

## 3-نتایج و بحث

ویژگیهای انواع مختلف آب مورد استفاده جهت شستشو

در این تحقیق از انواع مختلف آب جهت شستشو استفاده گردید که شامل آب آشامیدنی، آب آشامیدنی اسیدی شده، آب دیونیزه کلر زنی شده با غلظت های 50 و 25 میلی گرم کلر باقیمانده، آب الکترولیز شده خنثی، آب الکترولیز شده اسیدی بود. بررسی ها نشان داد ویژگیهای شیمیایی شامل میزان pH و پتانسیل اکسایش احیاء در انواع مختلف آب شستشوی مورد استفاده در این تحقیق، متفاوت است. جدول 1 خلاصه‌ای از مقادیر اندازه گیری شده را نشان می-دهد. همانطور که در جدول 1 نشان داده شده است، کلر زنی آب و همچنین الکترولیز نمودن آب سبب کاهش میزان pH و افزایش میزان پتانسیل اکسایش احیاء می شود. این نتایج با سایر مطالعات انجام شده مطابقت دارد. پارک (2002) گزارش نموده است که الکترولیز کردن آب سبب افزایش اسیدیته و نیز افزایش پتانسیل اکسایش احیاء می‌شود (21).

**جدول1: ویژگیهای شیمیایی آب شستشو**

| کد نمونه | | pH | پتانسیل اکسایش احیا (میلی ولت) |
|---|---|---|---|
| 1 | آب آشامیدنی | 6/8±0/02 | 520±4 |
| 2 | آب آشامیدنی اسیدی | 4/5±0/03 | 550±5 |
| 3 | آب کلره ( 50 میلی گرم در لیتر کلر باقیمانده) | 3±0/04 | 1018±5 |
| 4 | آب کلره ( 25 میلی گرم در لیتر کلر باقیمانده) | 3/04±0/02 | 980±4 |
| 5 | آب الکترولیز خنثی (50 میلی گرم در لیتر باقیمانده کلر) | 2/97±0/03 | 1022±6 |
| 6 | آب الکترولیز اسیدی (50 میلی گرم در لیتر باقیمانده کلر) | 2/32±0/02 | 1025±4 |
| 7 | آب الکترولیز خنثی (25میلی گرم در لیتر باقیمانده کلر) | 3/4±0/03 | 1000±5 |
| 8 | آب الکترولیز اسیدی (25 میلی گرم در لیتر باقیمانده کلر) | 2/8±0/02 | 1005±5 |

**3-1-بررسی اثر فاکتورهای مختلف بر میزان جمعیت میکروبی باسیلوس سرئوس در کاهو**

بررسی‌ها نشان داد تمامی فاکتورهای مورد بررسی شامل درجه حرارت، زمان و نوع آب مورد استفاده برای شستشو اثر معنی‌داری بر میزان جمعیت نهایی باسیلوس سرئوس در کاهو داشته است ($p\leq0/05$).

**3-2-اثر نوع آب مورد استفاده جهت شستشوی کاهو در میزان بار میکروبی**

بررسی‌ها نشان داد که شستشو با آب الکترولیز شده خنثی و اسیدی نسبت به سایر انواع آب شستشو اثر بیشتری بر کاهش جمعیت میکروبی باسیلوس باقیمانده بر سطح کاهو دارد (جدول2). هر قدر غلظت کلر آب الکترولیز باشد، اثر بیشتری در کاهش بار میکروبی دارد. همچنین اسیدی کردن آب الکترولیز سبب افزایش اثر آن در کاهش بار میکروبی می‌شود. بیشترین میزان کاهش بار میکروبی باسیلوس سرئوس در کاهو در مورد شستشو با آب الکترولیز اسیدی مشاهده گردید که در این شرایط جمعیت میکروبی به میزان

Archive of SID

www.SID.ir

82/6 % کاهش نشان داد. آب کلره نیز اثر خوبی در کاهش میزان بار میکروبی باسیلوس سرئوس در کاهو داشته است به طوری که در شرایط لگاریتم جمعیت میکروبی به 1/42 در هر گرم می‌رسد که حدود 79/5% کاهش نسبت به جمعیت اولیه میکروبی داشته است. با وجود یکسان بودن غلظت کلر در آب الکترولیز و آب کلره، اما آب الکترولیز شده، اثر بیشتری در کاهش جمعیت میکروبی نشان داد که این اثر به علت میزان pH کمتر آب الکترولیز شده و میزان بیشتر پتانسیل کاهش اکسیداسیون نسبت به آب کلره است (جدول1). بالا رفتن میزان پتانسیل اکسایش احیاء در آب الکترولیز سبب تغییرات در متابولیسم و تشکیل ATP می شود که علت آن تغییر در جریان الکترون در سلولها است. کم بودن pH نیز سبب حساس شدن غشاهای خارجی سلول‌های باکتریایی و سهولت ورود اسید هیپوکلرو به داخل سلول باکتری می‌شود. ورود اسید هیپوکلرو به داخل سلول باکتری سبب ممانعت از اکسایش گلوکز، ممانعت از سنتز پروتئین، دکربوکسیلاسیون اکسایشی اسیدهای آمینه و تبدیل آنها به نیتریت و آلدهید، واکنش با اسیدهای نوکلئیک، پورین و پیرمیدین و اثر بر آنزیمهای اصلی متابولیسم می‌شود(16). افزودن اسید سیتریک در تمامی تیمارها سبب افزایش راندمان میکروب کشی می‌شود (جدول2). سایر تحقیقات نیز اثر افزودن اسید در نابودی بیشتر میکروارگانیسم‌های مختلف را نشان داده‌اند. مکتبی (1395) نشان داد شستشوی میگو با ترکیب آب الکترولیز خنثی و اسید سیتریک، بیشترین کاهش در جمعیت باکتریهای سایکروفیل و مزوفیل در میگو را داشته است (3). کائو (2009) اثرات میکروب کشی مناسب آب الکترولیز شده اسیدی بر پوسته تخم مرغ آلوده به سالمونلا اینتریدیس را تأیید نموده‌اند (9). دمای آب شستشو و مدت زمان شستشو نیز بر کاهش باکتری باسیلوس سرئوس در تیمارهای مختلف شستشو تأثیر گذار بوده است. همانطور که در جدول 2 مشاهده می‌شود، دمای کمتر (4°C) و زمان طولانی‌تر شستشو (180 ثانیه) بیشترین کاهش جمعیت باکتری را ایجاد می‌کند به طوری که در این شرایط لگاریتم جمعیت میکروبی از 6/46 در نمونه شاهد به میزان 1/12 در آب الکترولیز اسیدی با غلظت کلر 50 میلی گرم در لیتر رسیده است.

Archive of SID

www.SID.ir

**جدول2: لگاریتم جمعیت میکروبی باسیلوس سرئوس براساس نوع آب در زمان و دماهای مختلف شستشو**

| | | لگاریتم جمعیت میکروبی | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| دما | زمان( | جمعیت اولیه | نمونه 1 | نمونه2 | نمونه3 | نمونه 4 | نمونه 5 | نمونه6 | نمونه 7 | نمونه 8 |
| 4°C | 60 | ±0/057 | ±0/0057 | ±0/0057 | ±0/0057 | ±0/032 | ±0/01 | ±0/000 | ±0/0057 | ±0/0057 |
| | | 6/4667 | 2/7033 | 2/0833 | 1/4267 | 1/5633 | 1/34 | 1/22 | 1/4533 | 1/3533 |
| | 180 | ±0/057 | ±0/01155 | ±0/01528 | ±0/02082 | ±0/03512 | ±0/01 | ±0/0057 | ±0/02 | ±0/01 |
| | | 6/4667 | 2/1067 | 1/ 6467 | 1/ 3267 | 1/4567 | 1/24 | 1/1233 | 1/34 | 1/28 |
| °C 25 | 60 | ±0/057 | ±0/011 | ±0/015 | ±0/02 | ±0/0057 | ±0/0057 | ±0/0057 | ±0/0057 | ±0/01 |
| | | 6/4667 | 3/1067 | 2/6467 | 1/5267 | 1/6167 | 1/3833 | 1/3167 | 1/4838 | 1/4 |
| | 180 | ±0/057 | ±0/01155 | ±0/02082 | ±0/005 | ±0/005 | ±0/005 | ±0/0057 | ±0/01 | ±0/005 |
| | | 6/4667 | 2/2333 | 2/0267 | 1/3533 | 1/4667 | 1/2533 | 1/2133 | 1/31 | 1/3433 |

تحقیقات ثابت کرده است که میزان پتانسیل کاهش اکسیداسیون یک فاکتور اصلی در خاصیت میکروب کشی محلول‌ها است (18). گرچه مکانیسم دقیق اثر مقدار بالای پتانسیل کاهش اکسیداسیون بر افزایش خاصیت میکروب کشی مشخص نیست اما فرضیه مطرح شده درا ین زمینه بدین صورت است که پتانسیل کاهش اکسیداسیون احتمالاً سبب تغییراتی در متابولیت‌ها و تولید آدنوزین تری فسفات به دلیل تغییر در جریان الکترون در داخل سلول‌ها می‌شود. مکانیسم غیر فعال شدن سلول‌های میکروبی توسط آب الکترولیز شده به دلیل وجود اسید هیپوکلرو و میزان بالای پتانسیل کاهش اکسیداسیون دراین نوع آب است. مطالعات نشان داده است که اسید هیپوکلرو سبب 1- اکسیداسیون ترکیبات سولفیدریل سطح سلول باکتری می‌شود 2- سبب غیر فعال شدن آنزیم‌های تنفسی می‌گردد و 3- سبب غیر فعال شدن تشکیل آدنوزین تری فسفات در سلول میکروب می‌شود (21).

**3-3-اثر دمای آب شستشو بر میزان بار میکروبی کاهو**

بررسی ها نشان داد شستشوی کاهو در دمای پایین‌تر (4°C) اثر بیشتری در نابودی باسیلوس سرئوس دارد (جدول2). پارک(2002) اثر دمای پایین‌تر در کاهش کمپیلوباکتر ژژونی در شستشوی گوشت مرغ را نشان داده است (20) که این اثر را به میزان پتانسیل اکسایش احیاء بالاتر در دمای کم نسبت داده است.

**3-4-اثر زمان شستشو بر میزان بار میکروبی کاهو**

زمان طولانی‌تر شستشو سبب کاهش بیشتر بار میکروبی در کاهو در تمام تیمارها شده است و بیشترین کاهش در مورد شستشوی کاهو با آب الکترولیز اسیدی برای مدت زمان 180 ثانیه بود (جدول2). اثر زمان توسط پارک (2002) نیز بیان شده است که زمان 30 ثانیه شستشوی گوشت مرغ اثر بیشتری در کاهش جمعیت میکروبی کمپیلوباکتر ژژونی نسبت به زمان 10 ثانیه داشته است (21).

Archive of SID

www.SID.ir

**3-5-اثر شرایط مختلف شستشوی کاهو بر ماندگاری کاهو**

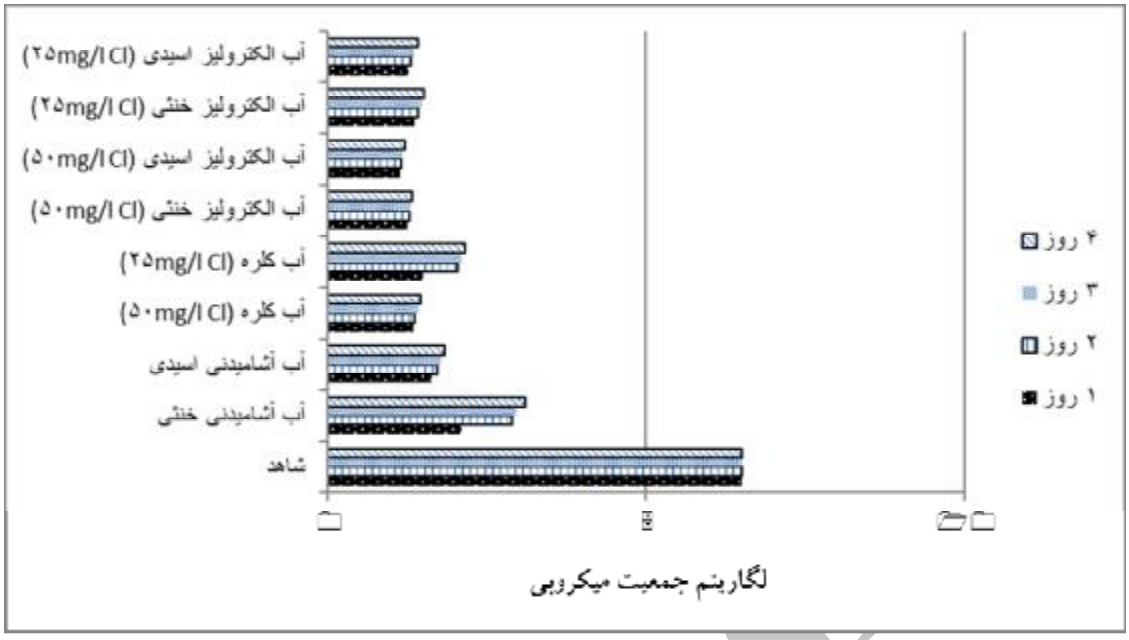
در میان روش‌های مختلف شستشوی کاهو، تیمارهای آب الکترولیز بیشترین کاهش در جمعیت میکروبی را ایجاد نموده‌اند. اضافه کردن اسید سیتریک به انواع مختلف آب شستشو سبب بهبود کارایی میکروب کشی شده است (جدول2). در سایر تحقیقات نیز اثر بیشتر آب اسیدی شده بر نابودی میکروارگانیسم‌ها گزارش شده است. اکسی(2012) اثر استفاده از آب الکترولیز شده اسیدی در کاهش ویبرو پاراهمولیتیکوس و لیستریا مونوسیتوژنز را به میزان 3/11 و 1/96 لگاریتم اعلام نموده است (29). pH پایین سبب حساس کردن غشای بیرونی سلول‌های باکتریایی و نفوذ بهتر اسید هیپوکلرو به داخل سلول‌های باکتری می‌شود. اسید هیپوکلرو از طریق جلوگیری از اکسیداسیون گلوکز توسط گروه‌های سولفیدریل اکسید کننده-کلرین برخی آنزیم‌های خاص که در متابولیسم کربوهیدرات‌ها نقش دارند، سبب نابودی باکتری‌ها می‌شود. دیگر روش-های عملکرد کلرین شامل 1- دکربو کسیلاسیون اکسیداتیو اسیدهای آمینه به نیتریت‌ها و آلدهیدها 2- تخریب سنتز پروتئین ها 3- واکنش با اسیدهای نوکلئیک، پورین‌ها و پیریمیدین‌ها 4- متابولیسم غیر متعادل پس از تخریب آنزیم-های کلیدی 5- القاء تجزیه DNA است. سلول‌های عمل-آوری شده با آب اسیدی سبب چروکیده شدن دیواره سلولی همراه با منافذ مدوری می‌شود که ساختارهای سیتوپلاسمیک از آن خارج می‌شوند (16). علاوه براین، افزودن اسید بر میزان قدرت ضدعفونی کنندگی اسید هیپوکلرو مؤثر است زیرا در pH کمتر نسبت HOCl به $OCl^-$ افزایش پیدا می‌کند و به دلیل اینکه قدرت ضدعفونی کنندگی HOCl 40 تا 80 برابر $OCl^-$ است، نسبت این دو بسیار حائز اهمیت است (2). لذا با افزودن اسید سیتریک به دلیل کاهش میزان pH، اثر ضدعفونی کنندگی اسید هیپوکلرو افزایش می‌یابد که سبب افزایش قدرت ضدعفونی‌کنندگی می‌شود.

**3-6-بررسی ماندگاری کاهو شستشو شده در زمان‌های مختلف نگهداری**

جهت بررسی اثر مدت زمان نگهداری، کاهو شستشو شده برای مدت زمانهای 1، 2، 3 و 4 روز نگهداری شد و جمعیت میکروبی باسیلوس سرئوس در پایان هر روز کشت شده و شمارش گردید. با توجه به بررسی های انجام شده، افزایش جمعیت میکروبی در تمامی نمونه های کاهو شسته شده در طی زمان‌های نگهداری مشاهده گردید. در مورد آب الکترولیز و آب کلره با غلظت 50 میلی‌گرم در لیتر، روند افزایش جمعیت میکروبی نسبت به سایر تیمارهای شستشو شده کمتر بود (شکل1). دلایل احتمالی این موضوع، وجود باقیمانده ترکیبات شوینده نظیر اسید هیپوکلرو در آب الکترولیز شده و نیز باقیمانده اسیدی است بعلاوه، صدمات وارده به میکروارگانیسم‌ها در حین شستشو با آب الکترولیز شده و آب کلره ناشی از ترکیبات اکسید کننده موجود در این نمونه‌های آب، سبب عدم امکان رشد و تکثیر باسیلوس سرئوس در زمان‌های مختلف ماندگاری شده است. مکتبی(1395) نیز گزارش نموده است جمعیت باکتریهای مزوفیل و سایکروفیل در میگو شستشو شده با آب الکترولیز شده اسیدی کمترین روند افزایشی را نسبت به سایر تیمارها نشان داده است (3).

Archive of SID

www.SID.ir




**شکل1: نمودار خطی اثر زمانهای مختلف نگهداری بر جمعیت میکروبی باسیلوس سرئوس (شستشو شده با انواع مختلف آب با دمای $4^{o}C$ برای مدت 180 ثانیه)**

## 4-نتیجه گیری

شستشوی کاهو می‌تواند نقش مهمی در کاهش بار میکروبی آن داشته باشد. آب الکترولیز شده به عنوان یک ضدعفونی کننده ایمن و ارزان قیمت اثر زیادی در جمعیت باقیمانده باسیلوس سرئوس در کاهو پس از شستشو دارد. افزودن اسید سیتریک سبب افزایش کارایی آب الکترولیز شده در حذف میکروب‌های کاهو دارد. بیشترین راندمان حذف میکروب‌ها در شرایط استفاده از آب الکترولیز شده اسیدی در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مدت 180 ثانیه به دست می‌آید (82/6% کاهش جمعیت میکروبی).

## 5-منابع


1. دیدار، ز. 1392. کنترل کیفیت آب و فاضلاب. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی نیشابور. 54-51.
2. دیدار، ز. 1395. تصفیه فاضلاب کارخانجات صنایع غذایی. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی نیشابور. 112-110.
3. مکتبی، س.، فضل آرا، ع.، محمدیاری، ش. 1395. تأثیر آب الکترولیز شده خنثی و اسید سیتریک بر کاهش بار باکتریایی میگو در طی نگهداری در دمای معمولی و یخچال و بررسی اثر باکتری کشی آن بر سطوح کار. مجله دامپزشکی ایران، دوره دوازدهم، شماره 4، 129-118.
4. یلمه، م.، حبیبی نجفی، م. ب.، نجف زاده، م. 1394. ارزیابی اثر پرتو فرابنفش بر رشد اشریشیا کلی و باسیلوس سرئوس جدا شده از شیرخام و برنج خام. نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران. شماره4. 324-319.
5. Allende, A., Selma, M. V., López-Gálvez, F., Villaescusa, R., & Gil, M. I. 2008. Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. Postharvest Biology and Technology. 49: 155–163.
6. Altaf, M.S., Iqbal, A., Ahmad, M., Hussain, S.A., Ahmad, R. and


Archive of SID

www.SID.ir

disinfection: Problems and solutions. International Journal of Food Microbiology. 134: 37–45.
15. Gleeson, E., & O'Beirne, D. 2005. Effects of process severity on survival and growth of Escherichia coli and Listeria innocua on minimally processed vegetables. Food Control. 16: 677–685.
16. Hati, S., Mandal, S., Minz, P.S., Vij, S., Khetra, Y., Singh, B.P. 2012. Electrolyzed Oxidized Water (EOW): Non-Thermal Approach for Decontamination of Food Borne Microorganisms in Food Industry. Food and Nutrition Sciences. 3: 760-768.
17. Jackson, C. R., Randolph, K. C., Osborn, S. L., & Tyler, H. L. 2013. Culture dependent and independent analysis of bacterial communities associated with commercial salad leaf vegetables. BMC Microbiology. 13: 274-285.
18. Kim, C., Hung, Y.-C., Brackett, R.E., 2000. Roles of oxidation–reduction potential in electrolyzed oxidizing and chemically modified water for the inactivation of food-related pathogens. Journal of Food Protection. 63: 19–24.
19. Kiura, H., Sano, K., Morimatsu, S. 2002. Bactericidal Activity of Electrolyzed Acid Water from Solution Containing Sodium Chloride at Low Concentration, in Comparison with That at High Concentration, International Journal of Food Microbiology Methods. 49: 285-293.
20. Koseki, S., Yoshida, K., Kamitani, Y. 2004. Effect of Mild Heat Pre-Treatment with Alkaline Electrolyzed Water on the Efficacy of Acidic Electrolyzed Water against Escherichia coli O157:H7 and Salmonella on Lettuce, Food Microbiol. 21(5):559-566.
21. Park, H., Hung, Y.C., Brackett, R.E. 2002. Antimicrobial effect of electrolyzed water for inactivating Campylobacter jejuni during poultry washing. International Journal of Food Microbiology 72: 77-83.
22. Park, H., Hung, Y.C., Chung,D. 2004. Effects of Chlorine and pH on

Willayat, M.M. 2012. Study of enterotoxigenicity of B.cereus emetic strain by skin vasopermeability reaction in rabbits and poultry. International Journal of Pharma and Bio Sciences. 3(2):166-172.
7. Bibek R. 2005. Fundamental of Food Microbiology, CRC press, Boca Raton: London New York Washington D.C.
8. Beru, N., and P.A. Salsbury. 2002. FDA's produce safety activities. Food Safety Magazine. 8(No.1 Feb/Mar):14–19.
9. Cao, W.; Zhu, Z.W.; Shi, Z.X.; Wang, C.Y. and Li, B.M. 2009. Efficiency of slightly acidic electrolyzed water for inactivation of Salmonella enteritidis and its contaminated shell eggs. International Journal of Food Microbiology. 130(2): 88-93.
10. Castro-Rosas, J., Cerna-Cortés, J. F., Méndez-Reyes, E., Lopez-Hernandez, D., Gómez-Aldapa, C. A., & Estrada-Garcia, T. 2012. Presence of fecal coliforms, Escherichia coli and diarrheagenic E. coli pathotypes in ready-to- eat salads, from an area where crops are irrigated with untreated sewage water. International Journal of Food Microbiology. 156: 176–180.
11. CFSAN/Office of Plant and Dairy Foods. 2004. Produce safety from production to consumption: 2004 action plan to minimize foodborne illness associated with fresh produce consumption. October 2004. Available at: http://www.cfsan.fda.gov/;dms/prodpla2.html.
12. Elhariry, H.M. 2011. Attachment strength and biofilm forming ability of Bacillus cereus on green-leafy vegetables: cabbage and lettuce. Food Microbiology. 28(7): 1266-74.
13. Feroz, F., Senjuti, J.D., Noor, R. 2013. Determination of microbial growth and survival in salad vegetables through in vitro challenge test. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 2(6):312-319
14. Gil, M. I., Selma, M. V., López-Gálvez, F., & Allende, A. 2009. Fresh-cut product sanitation and wash water

Archive of SID

www.SID.ir

Efficacy of Electrolyzed Water for Inactivating Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes, International Journal of Food Microbiology. 91(1): 13-18.
23. Sood, B., Sahota, P.P., Hunjan, M. 2017. Multidrug Resistant Bacillus cereus in Fresh Vegetables: A Serious Burden to Public Health. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 6(4): 649-661.
24. Starutch, D. 1991. Survival of pathogenic microorganisms and parasites in excreta, manure sand sewage sludge. Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties. 10(3): 813-846.
25. Venkitanarayanan, K.S., Ezeike, G.O., Hung, Y.C. 1999. Efficacy of Electrolyzed Oxidizing Water for Inactivat-ing Escherichia coli O157:H7, Salmonella enteritidis and Listeria monocytogenes, Applied and Environment Microbiology. 65(9): 4276-4279.
26. Wachtel, M.R., Whitehand, L.C. and Mandrell, R.E. 2002. Association of Escherichia coli O157:H7 with pre harvest leaf lettuce upon exposure to contaminated irrigation water. Journal of Food Protection. 65(1): 18-25.
27. Wong HC, Chang M, Fan J. 1988. Incidence and characterization of Bacillus cereus isolates contaminating dairy products. Applied and Environmental Microbiology.54(3):699-702.
28. USDA. 2015. http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/bab1 0e09-aefa-483b-8be8-09a1f051d4c/7120.1.pdf?MOD=AJPERES.
29. Xie, J.; Sun, X.H.; Pan, Y.J. and Zhao, Y. 2012. Physicochemical properties and bactericidal activities of acidic electrolyzed water used or stored at different temperatures on shrimp. Food Research International. 47(2), 331-336.
30. Zapata, A., Ramirez-Arcos, S. 2015. A Comparative Study of McFarland Turbidity Standards and the Densimat Photometer to Determine Bacterial Cell Density. Current Microbiology. 70: 907-909.

Archive of SID

www.SID.ir