

## بررسی آلودگی باکتریایی یخ مورد استفاده در نگهداری آبزیان در استان خوزستان (شهرستان خرمشهر)

\* جعفر احسانی<sup>۱</sup>، لاله رومیانی<sup>۱</sup>، سارا جرجانی<sup>۲</sup>، میلاد منیعات<sup>۳</sup>، آمنه نوشادی<sup>۴</sup> و اسماعیل عبدالله‌زاده<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup>دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آبادان، گروه شیلات، آبادان، ایران، <sup>۲</sup>دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزاد شهر، گروه شیلات، آزاد شهر، ایران

<sup>۳</sup>عضو باشگاه پژوهشگران جوان آبادان، آبادان، ایران، <sup>۴</sup>دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، گروه بیوتکنولوژی دریا، خرمشهر، ایران

<sup>۵</sup>دانشگاه تربیت مدرس، واحد نور، گروه شیلات، نور، ایران

تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۷/۱۶

### چکیده

مهم‌ترین عوامل بیماری‌های منتقل شده از طریق غذا که ناشی از مصرف غذاهای آلوده هستند، باکتری‌ها می‌باشند. بیماری‌های فوق همچنین از دستکاری‌های نادرست و نگهداری غذا در شرایط نامطلوب بوجود می‌آیند. تحقیق حاضر برای ارزیابی کیفیت خصوصیات میکروبیولوژی یخ مورد استفاده در نگهداری آبزیان شهرستان خرمشهر در چهار فصل بهار، تابستان، پاییز و زمستان سال ۱۳۹۰ انجام شد. مناطق مورد بررسی، ۲ کارخانه تولید یخ و بازار عمده توزیع آبزیان شهرستان خرمشهر بودند. تست‌های شیمیایی و میکروبی بر روی نمونه‌ها انجام شدند و نتایج مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. باکتری‌های جدا شده از یخ‌های مورد بررسی شامل *E. coli*، *Staphylococcus aureus*، *Citrobacter* و *Enterobacter* بودند. نتایج حاکی از آن بود که تعداد نمونه‌های باکتریایی در فصل زمستان و تابستان از اختلاف معنی‌دار برخوردار هستند ( $P < 0/05$ ) اما نمونه‌های بهار و تابستان از اختلاف معنی‌داری برخوردار نبودند ( $P > 0/05$ ). بیشترین آلودگی مشاهده شده در هر سه منطقه مورد مطالعه در فصل پاییز گزارش شد. قوانین مدیریتی خوب HACCP برای سیستم توزیع آب و یخ در لنگرگاه‌ها باید برای بهبود استانداردهای صنایع شیلاتی استفاده شود.

**واژه‌های کلیدی:** بیماری‌های منتقل شده از طریق غذا، آلودگی باکتریایی، آبزیان، یخ

### مقدمه

عوامل بیماری‌زای مواد غذایی، یکی از مهم‌ترین دغدغه‌های فکری جامعه بشری است. یکی از مهم‌ترین جنبه‌های نگهداری غذا کنترل میکروارگانیسم‌ها است. حذف ارگانیسم‌های مولد فساد از مواد غذایی هدف بسیاری از تحقیقات است. بطور تخمینی سالانه در ایالات متحده آمریکا، ۶/۵ تا ۳۳ میلیون نفر از طریق ارگانیسم‌های فساد مواد غذایی بیمار می‌شوند و ۲/۹ تا ۶/۷ بلیون دلار خسارت وارد می‌نمایند (Venugopal, ۲۰۰۶). چهاره

علیرغم مدرن شدن تکنیک‌های غذایی و بهداشتی، ایمنی غذایی یکی از مهم‌ترین مسائل بهداشتی به‌شمار می‌رود. تخمین زده می‌شود که ۳۰ درصد مردم در کشورهای صنعتی از بیماری‌های منتقله از طریق غذا رنج می‌برند، بطوری‌که در سال ۲۰۰۰ حداقل ۲ میلیون نفر در سراسر جهان به‌علت این بیمارها جان باختند (Tauxe, ۲۰۰۲).

\*مسئول مکاتبه: e.ehsani2@gmail.com

نکته مهمی که باید در مورد انجام آزمایش‌های کنترل کیفیت میکربی ماهیان مدنظر قرار داد، این است که قسمت اعظم این محصولات از آب‌های سرد صید می‌شوند و وجود فلور طبیعی میکربی سرماگرا در آنها و نگهداری آنها در شرایط سرمای یخچالی یا انجماد، بکارگیری درجه حرارت کمتر گرم‌خانه گذاری را برای رشد این میکرب‌های سرماگرا نسبت به کشت میکربی مزوفیل‌ها می‌طلبد. بسیاری از آنها به سطح ماده غذایی می‌چسبند و حتی بعد از ضدعفونی و تمیز کردن زنده می‌مانند (Lee و همکاران، ۲۰۰۹). در این میان، ۲۵ تا ۵۵ درصد هزینه‌ها مربوط به بیماری‌های حاصل از باکتری‌های گرم مثبت است. از آن جهت که کنترل این باکتری‌ها در مواد غذایی مهم است و نیز به علت مقاومت این باکتری‌ها در برابر مواد نگهدارنده که از تأثیر آنها در برابر باکتری کاسته می‌گردد و سبب انتشار بیماری و به خطر انداختن سلامت جامعه می‌گردد، بنابراین شناسایی سویه‌های مقاوم و پیشنهاد راه‌حلهائی جهت کنترل آنها در مواد غذایی ضروری به‌نظر می‌رسد (Berzins و همکاران، ۲۰۰۷).

### مواد و روش‌ها

نمونه‌های یخ از ۲ کارخانه تولید یخ در شهرستان خرمشهر و بازار عمده عرضه آبزیان تهیه گردید. در چهار فصل بهار، تابستان، پاییز و زمستان، ۱۳۹۰، نمونه‌گیری انجام شد. در هر فصل، ۱۰ نمونه از یخ موجود در سه ناحیه مورد مطالعه برای آزمایشات میکربی به آزمایشگاه منتقل شد، به‌طوری‌که در هر فصل ۳۰ نمونه از هر سه مکان وجود داشت. برای هر آنالیز ۱۰۰ گرم نمونه یخ بکار گرفته شد و هر تیمار سه بار تکرار گردید.

تمام نمونه‌های یخ برای آنالیزهای میکربی در بطری‌های شیشه‌ای استریل جمع‌آوری و فوراً در

اپیدمیولوژیک بیماری‌های با منشأ غذایی به‌سرعت در حال تغییر است و عوامل بیماری‌زای نوظهور و ارتباط آنها با ناقلین غذا در حال گسترش می‌باشد. ۱۰ تا ۳۰ درصد بیماری‌های منتقله از طریق غذا، مربوط به غذاهای دریایی است که بیشترین اپیدمی‌ها در جنوب شرق آسیا اتفاق افتاده است (Ho و همکاران، ۲۰۱۰). هدف عمده عمل‌آوران مواد غذایی رعایت موارد بهداشتی و امنیتی در تمام مراحل تولید آن و انتقال به مصرف‌کننده است. برای رسیدن به این هدف، کنترل میکروارگانیسم‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مهم‌ترین دسته از بیماری‌های منتقله از طریق غذا باکتری‌ها هستند. مواد غذایی با منشأ آبی نسبت به سایر مواد غذایی زودتر فاسد می‌شوند که بدلیل وجود مقادیر بیشتر مشتقات نیتروژن‌دار غیرپروتئینی یا به‌عبارتی مواد نیتروژنی ساده (مانند اسیدهای آمینه آزاد، تری‌متیل آمین اکساید یا اوره) که به‌راحتی توسط باکتری‌های عامل فساد مورد مصرف قرار می‌گیرند و وجود فلور میکربی طبیعی سرماگرای عامل فساد که در نتیجه، نگهداری این محصولات در شرایط یخچالی نسبت به موجودات خونگرم خشکزی (که فلور طبیعی باکتریایی عامل فساد آنها مزوفیل است) در جلوگیری و کاهش فعالیت باکتری‌های عامل فساد آنها، کمتر موثر است. وجود ذخایر گلیکوژنی کمتر در بیشتر آنها نسبت به موجودات خونگرم خشکزی و در نتیجه دارا بودن pH نهایی بیشتر گوشت بعد از صید و جمود نعشی موجب فسادپذیری بیشتر این محصولات می‌شود. فلور نرمال میکربی ماهیان با فلور میکربی محیطشان مطابقت دارد ولی بعد از صید در ضمن تهیه محصول و حمل و نقل، آلودگی‌هایی نیز از منشأ خشکی و موجودات خونگرم خشکزی پیدا می‌کند (Su و Phuvasate، ۲۰۱۰).

قابل اعتمادتری نسبت به تخمیر لاکتوز در تشخیص تفریقی این باکتری است. باکتری‌های اتروباکتر قادر به تولید اسید از لاکتوز و ساکارز بودند و اکشن آنها به تولید اندول مثبت گزارش شد. باکتری استافیلوکوکوس اورئوس غیر متحرک، کاتالاز مثبت است که برای تفکیک آن از سایر استافیلوکوک ها از تست کوآگولاز استفاده گردید که مثبت بود و توانست گلوکز را تخمیر کند. با توجه به آنالیزهای آماری در هر سه مکان در نمونه‌های بهار و تابستان از نظر آماری تفاوتی مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). اما در فصول مختلف تنوع گونه‌های باکتریایی دیده شد ( $P < 0.05$ ). با توجه به جدول ۱، گونه‌های باکتری جدا شده شامل *E. coli*، *Citrobacter*، *Enterobacter* و *S. aureus* بودند. در تمام فصول بجز پائیز گونه *Citrobacter* فراوان-ترین گونه باکتری جدا شده از نمونه‌های یخ کارخانه شماره ۱ بود. فقط در پائیز تعداد باکتری ایکولای بیشتر از سیتروباکترها بود. همانطور که از جدول ۲ پیداست، گونه‌های جدا شده از کارخانه شماره ۲، استافیلوکوکوس اورئوس و *E. coli* می‌باشند. باکتری *E. coli* در تمامی فصول مشاهده شد، اما باکتری استافیلوکوکوس اورئوس فقط در فصل زمستان دیده شد. بیشترین درصد مشاهده باکتری *E. coli* در فصل پاییز گزارش گردید.

جعبه‌های تیره در دمای زیر ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده و به آزمایشگاه منتقل شدند. برای تشخیص هر باکتری از محیط تفریقی آن استفاده گردید. برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس از محیط کشت برد پارکر، محیط کشت Tergitol-7 برای ایکولای و برای سایر باکتری‌ها از محیط کشت آگار استفاده گردید. برای تشخیص بهتر باکتری‌های گرم منفی تست‌های بیوشیمیایی مانند تولید اوره، استفاده از هیدرات‌های کربن و تولید ایندول، گاز  $H_2S$  و اکسیداز و تحرک باکتری‌ها بکار گرفته شدند. تست‌های کاتالاز و کوآگولاز برای باکتری‌های گرم مثبت مورد استفاده واقع شدند. نمونه‌ها بر اساس روش‌های استاندارد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. روش‌های استاندارد مورد استفاده بر اساس روش میکروبیولوژی Find-Gold بود (Kuplulu و Sarimehmetoglu, ۲۰۰۴). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون کای اسکوئر در سطح اطمینان ۵ درصد انجام گرفت.

## نتایج

تست‌های بیوشیمیایی بیانگر آن بود که باکتری *E. coli* قادر به تخمیر لاکتوز با تولید اسید و گاز و قادر به تولید اندول است. تولید اندول خصوصیت

جدول ۱- تعداد و درصد باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های یخ موجود در کارخانه شماره ۱

باکتری فصل	<i>S. aureus</i>		<i>Citrobacter</i>		<i>E. coli</i>		<i>Enterobacter</i>	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
بهار	۷	۲/۳۷	۱۸۹	۶۳/۸۶	۹۰	۳۰/۴	۱۰	۳/۳۷
تابستان	۱۸	۵/۲۷	۲۱۰	۶۱/۶	۱۰۴	۳۰/۵	۹	۲/۶۳
پائیز	۹	۰/۳۵	۱۰۰۰	۳۷/۹۳	۱۶۰۰	۶۰/۷	۲۷	۱/۰۲
زمستان	۳	۹/۳۷	۱۳	۴۰/۶۲	۱۱	۳۴/۳۸	۵	۱۵/۶۳

جدول ۲- تعداد و درصد باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های یخ موجود در کارخانه شماره ۲

<i>S.aureus</i>		<i>Citrobacter</i>		<i>E.coli</i>		<i>Enterobacter</i>		باکتری
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	فصل
-	-	-	-	۱۰۰	۲۰	-	-	بهار
-	-	-	-	۱۰۰	۵۴	-	-	تابستان
-	-	-	-	۱۰۰	۶۳	-	-	پائیز
۷۲	۵۴	-	-	۲۸	۲۱	-	-	زمستان

حد قابل شمارش نبود. در فصل پائیز باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده نگردید، در حالی که در فصل زمستان در نمونه‌های یخ از فراوانی بالایی برخوردار بود. در فصل زمستان باکتری سیتروباکتر دیده نشد.

در بازار عرضه آبزیان شهرستان خرمشهر (جدول ۳)، تفاوت معنی‌داری بین تعداد باکتری‌ها در فصول پائیز و زمستان دیده شد ( $P < 0/05$ ) ولی در بهار و تابستان این اختلاف معنی‌دار نبود ( $P > 0/05$ ). در تمام فصول، باکتری *E.coli* از فراوانی بالایی برخوردار بود، بویژه در فصل پائیز که به علت فراوانی بیش از

جدول ۳- درصد و تعداد باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های یخ موجود در بازار عرضه آبزیان

<i>S.aureus</i>		<i>Citrobacter</i>		<i>E.coli</i>		<i>Enterobacter</i>		باکتری
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	فصل
۰/۱	۲	۰/۴	۵	۹۶/۲	۱۶۰۰	۳/۳۶	۵۶	بهار
۰/۲	۹	۰/۴۸	۱۶	۹۵/۷	۳۲۰۰	۳/۶	۱۲۰	تابستان
-	-	۵۶/۷۵	۲۱۰۰	*	*	۴۳/۲۴	۱۶۰۰	پائیز
*	*	-	-	۵۰	۱۶۰۰	۵۰	۱۶۰۰	زمستان

\* بسیار زیاد - عدم مشاهده

کیفیت محصول را بعد از صید کاهش می‌دهند. یکی از مهم‌ترین مراحل برای اطمینان یافتن از یخ‌های سالم و بهداشتی، تعیین و شناسایی میزان باکتری‌های موجود در آنهاست. باکتری *E.coli* به‌عنوان شاخص آلودگی آب‌ها در نظر گرفته می‌شود که در تمام مناطق مطالعه حاضر این باکتری دیده شد و نشانگر آلوده بودن آب مورد استفاده برای تولید یخ است. این نتایج با یافته‌های Salak و همکاران (۲۰۰۰) مطابقت دارد، که خاطر نشان کردند ۶۸ درصد یخ‌های شهر تهران آلودگی داشتند. نتیجه یافته آنها نشان داد که تماس باکتری‌های آلوده با کارگران بسیار بالاست و کارگران

در هر سه مکان آزمایش شده، فصل پائیز بیشترین آلودگی را در بر داشت. نتایج آماری نشان دادند که بین دو کارخانه و رابطه آنها با بازار توزیع آبزیان شهرستان خرمشهر تفاوت معنی‌دار است ( $P < 0/05$ ).

### بحث و نتیجه‌گیری

بخش صید و صیادی نقش مهمی در استان خوزستان به‌عنوان یک استان ساحلی دارد، اما بخش صید و صیادی همیشه از فساد ناشی از میکروارگانیسم‌های فاسدکننده مواد غذایی رنج می‌برد. استفاده از یخ‌های آلوده برای حمل ماهیان صید شده نقش مهمی در این زمینه ایفا می‌کنند. یخ‌های آلوده

بود. کارخانه دوم از نظر تنوع باکتریایی کمتر از کارخانه اول است و بین آلودگی ناشی از دو کارخانه اختلاف معنی‌دار وجود دارد ( $P < 0/05$ ). در کارخانه ۲ باکتری ایکولای مهم‌ترین گونه گزارش شده بود که نمی‌توان گفت آلودگی کمتری داشته است. مسلماً عوامل استرس‌زا برای کارخانه اول بیشتر از کارخانه دوم بوده‌اند که گونه‌های باکتریایی سیتروباکتر و انتروباکتر ظاهر شده‌اند. عدم وجود باکتری استفیلوکوکوس اورئوس در کارخانه ۲ در تمام فصول بجز فصل زمستان، می‌تواند افزایش دمای تدریجی دما باشد. تحقیق دیگر نشان داد که باکتری‌های مزوفیل در طی بسته‌بندی محصولات نسبت به مراحل اولیه (مواد خام) افزایش یافتند که با نتایج مطالعه حاضر که نشانگر آلودگی بالای یخ مصرفی در بازار عرضه آبزیان نسبت به مراحل تولیدی در کارخانه است، مطابقت دارد. تاثیر بیشتر آلودگی‌های باکتریایی زمانی مشهود می‌گردد که در کنار آنالیزهای میکربی، متابولیت‌های فاسدکننده غذا نیز بررسی شوند (Rezaei و همکاران، ۲۰۰۷).

کنترل بهداشت و نظارت در طی پروسه تولید یخ بسیار حیاتی است. احتمال آلوده شده یخ در مراحل اولیه (آب) تا زمان تولید محصول وجود دارد. در تحقیق فوق، آب استفاده شده برای تولید یخ در کارخانجات در فصل پائیز از آلودگی بیشتری برخوردار بود، در حالی‌که آلودگی در فصل بهار و تابستان با وجود دمای بالای آب و هوا کمتر مشاهده گردید. احتمالاً در فصل تابستان نظارت و کنترل بخش بهداشت مواد غذایی بیشتر از فصل پائیز است. ضمن اینکه تجهیزات خنک کننده در تابستان مطلوب‌تر از پائیز هستند. در بازار نیز در فصول سرد سال آلودگی بیشتر مشاهده گردید و اختلاف معنی‌داری بین فصول گرم و سرد از نظر آلودگی مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). برای کنترل بار میکربی آب و

از بهداشت عمومی پائینی برخوردار بودند. حامدی و همکاران (۱۳۸۱) دریافتند که از ۲۰۰ مورد نمونه آب و یخ مورد آزمایش ۲۴ مورد به نوعی از ویبریون آلوده بودند.

مطالعه دیگر توسط Ehrampoush و همکاران (۲۰۱۰) بر روی آلودگی ناشی از باکتری‌های کلی‌فرم در یخ‌های تولید شده در کارخانجات صورت گرفت. نتیجه این مطالعه، آلودگی بالای کارخانجات تولید یخ به باکتری‌های فوق بود. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های Paez و همکاران (۲۰۰۴) نیز مطابقت دارد. مصرف یخ آلوده توسط توریست‌های اسپانیایی موارد گاستروانتریت روده را افزایش داده بود که ناشی از وجود باکتری ایکولای بود. وجود باکتری ایکولای در یخ‌های آلوده که برای عرضه آبزیان بکار گرفته می‌شوند سبب آلوده شدن ماهیان شده و نتیجه آن ایجاد بیماری‌های گوارشی برای انسان است. با توجه به بیماری‌های خاصی که توسط انواع بیماری‌زای اشریشیا کولای در انسان ایجاد می‌گردد و روز بروز به اهمیت آنها افزوده می‌شود، باید آزمایشات کنترل میکربی برای انواع غذاها، بخصوص انواع فسادپذیر آنها صورت پذیرد. طبق نتایج محققان منبع اصلی وجود باکتری اشریشیا کولای، مدفوع انسان‌های آلوده به عفونت است. مسلم است که در بازار عرضه آبزیان به‌علت دستکاری‌های زیاد و ازدحام جمعیت یخ‌های مورد استفاده از آلودگی بیشتری برخوردار بودند. از طرفی دیگر، رشد جمعیت و ازدحام افراد در شهرهای بزرگ در کشورهای در حال توسعه، سبب آلودگی جدی آب‌ها در مناطق فوق شده است. نظارت دقیق و پیوسته، بویژه آلودگی مدفوعی، برای فهمیدن گستردگی این موضوع بسیار مهم است (Jo و همکاران، ۲۰۰۷).

با توجه به نتایج بدست آمده، بازار عرضه آبزیان از آلودگی بیشتری نسبت به دو کارخانه برخوردار

یخ تولید شده باید استانداردهای صنعت مواد غذایی، بهداشتی در تمامی مراحل تولید باید رعایت گردند و بخصوص صنایع شیلاتی بررسی گردند. مقررات منوط به زمان و یا مکان خاصی نگردند.

## منابع

- ۱- حامدی، ع.، خسروی خراشاد، ا. و امید، ع. ۱۳۸۱. آلودگی یخ و آب مصرفی به ویبرکلرا در نقاط مختلف مشهد. مجله پژوهشی حکیم. دوره پنجم. شماره سوم.
2. Berzins, A., Horman, A., Lunden, J., and Korkeala, H. 2007. Factors associated with *Listeria monocytogenes* contamination of cold-smoked pork products produced in Latvia and Lithuania. *International Journal of Food Microbiology*. 115: 173–179.
3. Ehrampoush, M.H., Baghianimoghadam, M.H., Farsad, M., Dada, V., and Mahdavi, S.M. 2010. A survey about determining the total Coliforms Bacteria in process of introduction of ice in Yazd, Iran. *Middle-East Journal of Scientific Research* 5(5): 397-401.
4. Ho, C.H., Noryati, I., Sulaiman, S.F., and Rosma, A. 2010. In vitro antibacterial and antioxidant activities of *Orthosiphon stamineus* Benth. Extracts against food-borne bacteria. *Food Chemistry*. 122: 1168–1172.
5. Jo, Ch., Kim, H.J., Kim, D.H., Lee, W.K., Ham, J.S., and Byun, M.W. 2007. Radiation sensitivity of selected pathogens in ice cream. *Food Control*. 18: 859–865.
6. Kuplulu, O., and Sarimehmetoglu, B. 2004. Isolation and identification of *Brucella* spp. in ice cream. *Food Control*. 15: 511–514.
7. Lee, J.W., Kim, H.J., Yoon, Y., Kim, J.H., Ham, J.S., Byun, M.W., Baek, M., Jo, Ch., and Shin, M.G. 2009. Manufacture of ice cream with improved microbiological safety by using gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*. 78: 593–595.
8. Paez, J.A., and Pimentel, R. 2004. Martinez tourists in a holiday resort in the Dominican Republic, Euro. *Survil, Mar.*, 9(3):21-3.
9. Phuvasate, S., and Su, Y.Ch. 2010. Effects of electrolyzed oxidizing water and ice treatments on reducing histamine-producing bacteria on fish skin and food contact surface. *Food Control*. 21: 286–291.
10. Rezaei, M., Montazeri, N., Ershad Langrudi, H., Mokhayer, B., Parviz, M., and Nazarinia, A. 2007. The biogenic amines and bacterial changes of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored in ice. *Food Chemistry*. 103:150–154.
11. Salak, A.L., Farahesh, H., and Ravadgar, B. 2000. A survey about bacteria contamination of ices in Tehran: Fourth Seminar of Environmental Health, Yazd, Iran. pp: 673.
12. Tauxe, R.V. 2002. Emerging foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*. 78: 31–41.
13. Venugopal, V. 2006. *Seafood Processing*. Taylor and Francis Group Pub. 505p.