Archive of SID

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 7, No. 3, 2011, p. 235-242

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۷، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۰، ص. ۲۴۲-۲۳۵

ارزیابی بارمیکروبی سبزیجات تازه طی مراحل فرآوری با روش حداقل فرآیند در یک واحد بسته بندی

معصومه بحرینی[۱]- محمد باقر حبیبی نجفی[۲*]- محمد رضا باسامی[۳]- مرتضی عباس زادگان[۴]- احمد رضا بهرامی[۵]- حمید رضا اجتهادی[۵]

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۱/۲۴
تاریخ پذیرش: ۹۰/۷/۱۲

چکیده

در سالهای اخیر تعداد کارگاه هایی که بر روی بسته بندی سبزیجات تازه و برش زده فعالیت می کنند در بسیاری از کشورها از جمله ایران افـزایش یافته است. سبزیجات تازه نسبت به آلودگی میکروبی بعد از برداشت، فرآیندهای شستشو، بسته بندی و توزیع حساس می باشـند. هـدف از ایـن مطالعـه، تعیین و ارزیابی سطح آلودگی میکروبی طی مراحل شستشو و بسته بندی سبزیجات تازه و برش زده در یک کارگاه بسته بندی بـود تـا منـابع آلـودگی و نقاط بحرانی طی فرآیند و در محیط کارگاه شناسایی شوند. نمونه ها از مراحل قبل از شستشو، بعد از شستشو و ضدعفونی، خردکن، خشک کـن و بسـته بندی در یک کارگاه در شرایط استریل تهیه و سپس طبق روش های استاندارد، از نظر تعداد باکتری های مزوفیل هوازی، باکتری های اسـید لاکتیـک، باکتری های کلی فرمی، آنتروباکتریاسه، *اشرشیاکلی*، *سالمونلا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و کپک ومخمر بررسی شدند. همچنین سطوح مختلف کارگـاه و فضای آن از نظر تعداد باکتری های مزوفیل هوازی، انتروباکتریاسه و کپک و مخمر بررسی شد. نتایج نشان داد که مرحله شستشو و ضدعفونی حداکثر تا یک سیکل لگاریتمی جمعیت باکتریایی و ۱/۵ سیکل لگاریتمی کپک ومخمر را کاهش می دهد ولی در مراحل بعـد از شستشـو و ضـدعفونی بـه علـت آلودگی ثانویه مجدداً بار میکروبی افزایش می یابد. *سالمونلا* در هیچیک از مراحل شستشو دیده نشد ولی *اشرشیا کلی* در بعضـی از نمونـه هـا تشـخیص داده شد. *استافیلوکوکوس اورئوس* در تمام مراحل دیده شد. باکتری های مزوفیل هوازی، انتروباکتریاسـه، کپـک و مخمـر در ظـروف و تجهیـزات مـورد استفاده در فرآیند شستشو دیده شدند. از نتایج مشاهده می شود که کارگاه نیاز به بکارگیری یک سیستم عملیات بهداشتی خیلی قـوی در خطـوط تولیـد سبزیجات و بسته بندی دارد. چندین توصیه عملی برای عملیات سالم سازی، طراحی خطوط تولید، آموزش کارگران و بهبود کیفیت و بالا بردن بهداشـت سطوح وسایل مورد استفاده در تولید سبزیجات بسته بندی ارائه شده است.

واژه‌های کلیدی: سبزیجات بسته بندی، ارزیابی میکروبی، کیفیت میکروبی، حداقل فرایند، سطح بهداشت

مقدمه

سبزیجات و میوه های تازه جزو مـواد غـذایی ضـروری در رژیـم غذایی انسان می باشند و امروزه به خوبی ثابت شده است که این مواد ارزش تغذیه ای زیادی دارند و مصرف آنهـا در سـلامت انسـان مـوثر است. در بسیاری از کشورها به مردم توصیه زیادی مـی کننـد کـه در رژیم غذایی روزانه خود، حداقل روزی پنج نوبت از سـبزیجات و میـوه های تازه استفاده کنند (Abadias, et al. 2008)

علت این توجه زیاد به مصرف مواد غذایی تـازه، ارزش تغذیـه‌ای بالای آنها و ایجاد تغییرات عمده در سبک زندگی مردم می‌باشد. ایـن تغییرات باعث شده است که مردم وقت کمتری را در آشپزخانه صـرف کنند و اغلب بیرون از خانه غذا بخورند و در نتیجه تقاضا بـرای مـواد غذایی تازه مثل انواع سالادها و سبزی خـوردن بسـته بنـدی شـده و آماده مصرف و سایر موادی که فرآیند کمی روی آنها انجام می شـود و سریعتر آماده می شود، بیشتر گردد. در میان آنها، مصرف سبزیجات

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: habibi@ferdowsi.um.ac.ir)
۳- استادیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد.
۴- استاد گروه مهندسی محیط زیست، دانشگاه ایالتی آریزونا. ایالات متحده آمریکا
۵- عضو هیات علمی گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد.

www.SID.ir

Archive of SID

تازه و برش زده بیشتر از همه موارد ، مورد تقاضا قرار گرفته است.

آمار نشان می دهد که مصرف سبزیجات تازه آماده مصرف در کشورهای مختلف یکسان نیست و از ۱/۵-۱ کیلوگرم تا ۳۰ کیلوگرم به ازای هر شخص در سال متفاوت است (اسپانیا۱/۵-۱ کیلوگرم، انگلیس ۲ کیلوگرم، فرانسه ۶ کیلوگرم، ایتالیا ۴ کیلوگرم، آلمان و بلژیک ۳ کیلوگرم و امریکا ۳۰ کیلوگرم به ازای هر شخص در سال) (Anonymous, 2007). در ایران هر چند آمار رسمی در دسترس نیست ولی به نظر می رسد که میانگین مصرف از مقدار فوق کمتر باشد ولی آنچه مسلم است این است که با تغییرات شدیدی که در روش زندگی در کشور ما ایجاد شده است این مقدار هر ساله افزایش می یابد، بطوریکه در چند سال اخیر کارگاه های تولید محصولات تازه و بسته بندی چندین برابر شده است که نشانه تقاضای زیاد برای این نوع محصولات می باشد.

با توجه به افزایش تعداد این کارگاه ها، سلامت و کیفیت میکروبی محصول تولید شده اهمیت زیادی پیدا کرده است و این نه تنها به خود سبزیجات بلکه به بهداشت وسایل و محیط کارگاه نیز بستگی دارد، چون در آماده سازی و فرآوری سبزی و تا زمان مصرف هیچ فرآیند سالم سازی موثر مانند حرارت اعمال نمی شود. بنابراین خطر آلودگی این محصولات تازه به میکروبهای بیماریزا بسیار زیاد است و باید اصول HACCP و همچنین قوانین بهداشت در تمام مراحل زنجیره تولید توسط کارگاه های تولید کننده بکار گرفته شود.

این محصولات تازه و بدون فرآیند و یا با حداقل فرآیند، می توانند یک ناقل مناسب برای انتقال باکتری ها، انگل ها و ویروس های بیماریزا به انسان باشند. گزارشات متعددی وجود دارد که سبزیجات خام عامل انتقال عوامل بیماریزا هستند(Beuchat, 1996; Nguyen-the, et al., 1994). *سالمونلا* (Doyle, 1990) و *اشرشیا کلی* (Nguyen-the, et al., 1994) را توانسته اند از سبزیجات خام جدا کنند. این باکتری ها قادرند سبزی ها را درمراحل کاشت، داشت، برداشت، نگهداری، شستشو و توزیع آلوده کنند. هر ساله تعداد زیادی اپیدمی در اثر مصرف سبزیجات و میوه های تازه گزارش می شود(Mukherjee, et al., 2006). عوامل بیماریزایی که اغلب با این اپیدمی ها همراه هستند شامل باکتری ها (*سالمونلا*[1]، *اشرشیا کلی*[2]، *لیستریا منوسایتوژنز*[3])، ویروس ها (*نرواویروس*[4]، *ویروس هپاتیت A*[5]) و پارازیت ها (*کریپتوسپوریدیوم*[6]، *سیکلوسپورا*[7]) (Schlech, et al., 1983; Tauxe, et al., 1997) می باشند. به عنوان مثال در سال ۲۰۰۶ میلادی در امریکا، ۲۰۰ نفر در اثر خوردن سبزی خام (اسفناج) آلوده به *اشرشیا کلی O157:H7*[8] دچار عفونت ادراری[9] شدند که منجر به مرگ ۳ نفر شد (FDA, 2006).

بنابراین سبزیجات و میوه های تازه یکی از عوامل مهم ریسک پذیر برای سلامتی انسان هستند، چون بصورت خام مصرف می شوند و در معرض آلودگی در هر نقطه ای از مسیر مزرعه تا سفره می باشند (FDA, 2008).

برای کنترل آلودگی ابتدا باید منابع آلوده کننده و نقاط بحرانی را در مسیر فرآیند شناسایی نمود. ظروف و تجهیزات مورد استفاده یکی از منابع عمده آلودگی هستند که حتی باعث آلودگی ثانویه محصول می شوند. باکتری ها قادرند در سطوح مختلف بیوفیلم تشکیل دهند که با عملیات شستشوی روزانه نیز تمیز نمی شوند و ممکن است باقی بمانند و به عنوان یک منبع آلودگی در محیط کارگاه عمل کنند.

هدف این پژوهش، ارزیابی میزان حذف میکروبها در مراحل شستشو و بسته بندی سبزیجات تازه و برش زده در یک کارگاه تولید سبزیجات و سالاد بسته بندی بود. برای این منظور از تمام مراحل کار (از ابتدای ورود سبزی تا خروج آن به صورت بسته بندی) نمونه برداری شد و میزان آلودگی به باکتری ها و کپک و مخمر بررسی گردید. همچنین از تمام سطوحی که محصول در تماس با آن بود نمونه برداری شد تا نقاط بحرانی مراحل از نظر منبع آلودگی بررسی گردد و راهکار مناسب ارائه شود.

مواد و روش ها

مراحل کار

مراحل کار در یک کارگاه تولید سبزی و سالاد بسته بندی در شکل۱ نشان داده شده است. سبزی خوردن بسته بندی شده بیشتر شامل ریحان، گشنیز، شاهی، تربچه، بادرنجویه، پیازچه و نعنا می باشد و سالاد بسته بندی نیز عمدتا شامل کاهو، کلم سفید، کلم قرمز، هویج خرد شده، گوجه فرنگی و خیار حلقه شده می باشد. در کارگاه مراحل شستشو نمونه سبزی خوردن با نمونه سبزی سالادی کمی فرق می کند، در سبزی خوردن تعداد دفعات شستشو با آب بیشتر است چون گل ولای بیشتری دارد و همچنین مرحله برش زدن را ندارد. علاوه بر آن، طبق توصیه اداره بهداشت برای شستشوی سبزی خوردن از ماده نانوسیل[10] که همان آب اکسیژنه پایدار شده با یون نقره است و برای نمونه سالادی از هیپوکلریت سدیم[11] برای ضدعفونی استفاده می شود (Artes, et al., 2009; Gil, et al., 2009; IFPA, 2001; Sapers, 2003).

1- Salmonella
2- Escherichia coli
3- Listeria monocytogenes
4- Norovirus
5- Hepatite A virus
6- Cryptosporidium
7- Cyclospora

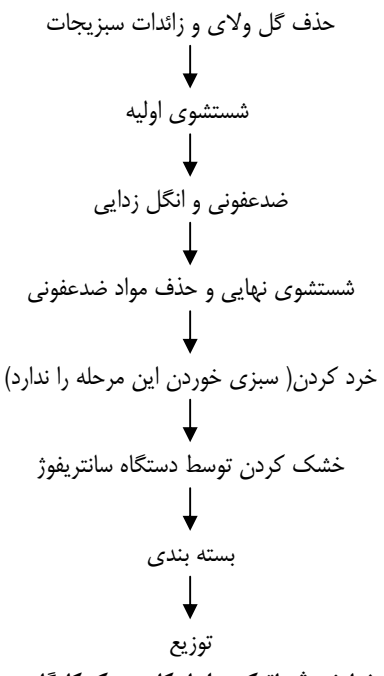
8- E.Coli O157:H7
9- Hemorrhagic Uremia Syndrome
10- Nanosil
11- Sodium hypochlorite

www.SID.ir

Archive of SID

نمونه برداری

نمونه برداری از مراحل قبل از شستشو، بعد از شستشو و ضدعفونی، بعد از خردکن، بعد از خشک کن و بسته بندی در شرایط استریل انجام و نمونه ها در داخل ظرف یخ به آزمایشگاه منتقل شد و آزمایش های میکروبیولوژی بر طبق روشهای استاندارد بر روی آنها انجام گرفت (HPA, 2005b; HPA, 2005a; HPA, 2004a; HPA, 2004b; Sapers, 2003; Abadias, 2008).



شکل۱- نمایش شماتیک مراحل کار در یک کارگاه بسته بندی سبزیجات.

آزمون های میکروبی

در شرایط استریل ۱۰ گرم از هر نمونه وزن و به مخلوط کن استریل منتقل گردید و ml ۹۰ بافر پپتون نمکی (۱٪ پپتون، ۸/۵ گرم نمک کلرید سدیم در یک لیتر آب مقطر) به آن اضافه و ۲ دقیقه هموژنیزه شد، سپس از آن در بافر پپتون نمکی رقت های ده تایی تا 10^{-7} تهیه و برای آنالیزهای میکروبی استفاده گردید. تمام محیط کشت های مورد استفاده از شرکت لیوفیلچم[1] کشور ایتالیا تهیه گردید.

باکتری های مزوفیل هوازی در محیط کشت پلیت کانت آگار به روش پورپلیت کشت وبه مدت ۴۸ ساعت در دمای 30^{o} C قرار داده شدند. باکتری های کلی فرمی و انتروباکتریاسه بر روی محیط کشت ویوله رد بایل لاکتوز آگار[2] و ویوله رد بایل گلوکز آگار[3] به روش پورپلیت به ترتیب کشت شدند و سپس یک لایه نازک از محیط کشت روی آنها ریخته شد تا شرایط میکروآئروفیل[4] ایجاد شود و پتری ها در دمای 30^{o} C به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری وسپس کلنی های قرمز شمارش شدند. باکتری های خانواده اسید لاکتیک بر روی محیط کشت MRS آگار به روش پورپلیت کشت شدند و به مدت ۴۸ ساعت در دمای 35^{o} C قرار داده شدند. *اشرشیا کلی* بر روی محیط کشت کروم آگار اشرشیاکلی[5] کشت و در دو دمای 30^{o} C و 44^{o} C به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و فقط کلنی های سبز-آبی شمارش شد.

کپک و مخمر در محیط کشت یست گلوکز کلرامفنیکل آگار[6] به روش پورپلیت کشت و به مدت ۵-۳ روز در دمای 25^{o} C گرمخانه گذاری شدند.

جهت شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* از محیط کشت برد-پارکر[7] حاوی امولسیون زرده تخم مرغ استفاده شد. بعد از کشت به صورت پورپلیت، پتری ها در دمای 35^{o} C به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند وسپس کلنی های سیاه شمارش شدند. سپس از هر پتری یک یا دو کلنی سیاه انتخاب و بر روی آنها تست کواگولاز انجام شد.

برای شناسایی جنس *سالمونلا* از چهار مرحله کشت استفاده شد. ابتدا ۲۵ گرم نمونه در ۲۲۵ میلی لیتر بافرپپتون واتر هموژنیزه شد و به مدت ۲۴-۱۶ ساعت جهت تقویت اولیه *سالمونلا* در دمای 37^{o} Cc قرار داده شد، سپس ۰/۱ میلی لیتر از آن برداشته و در دو محیط آبگوشتی راپاپورت واسیلیادیس (۹ میلی لیتر) و تتراتیونات براث حاوی محلول ید و آنتی بیوتیک نوبیوسین (۱۰ میلی لیتر) منتقل و در دمای $41/5^{o}$ C به مدت ۲۴ ساعت دیگر گرمخانه گذاری شد تا اگر *سالمونلا* حضور دارد نسبت به سایر باکتری ها بیشتر رشد کند. برای جداسازی و شناسایی *سالمونلا*، از دو محیط فوق بر روی سه محیط افتراقی برلیانت گرین بایل براث، XLD[8] و سولفیت آیرون آگار به روش خطی کشت شد و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمایc 37^{o} قرار داده شدند. کلنی های قرمز با یک هاله روشن بر روی محیط برلیانت گرین بایل براث، کلنی های قرمز با یا بدون مرکز سیاه بر روی XLD و یا کلنی های سیاه با جلای فلزی بر روی محیط سولفیت آیرون آگار بعنوان *سالمونلا* انتخاب شد و از هر پلیت مثبت یک یا دو کلنی برداشته و جهت تائید نهایی آنها را بر روی محیط های لیزین دکربوکسیلاز آگار، تریپل شوگر آیرون آگار و اوره براث کشت داده شد و در صورت مثبت بودن نتایج تستهای بیوشیمیایی، نمونه *سالمونلا*

1- Liofilchem co.
2- Violet red bail lactose agar
3- Violet red bail glucose agar
4- Microaerophile
5- Choromagar ECC
6- YGCA
7- Baird-Parker
8- Xylose lysine desoxycholate

www.SID.ir

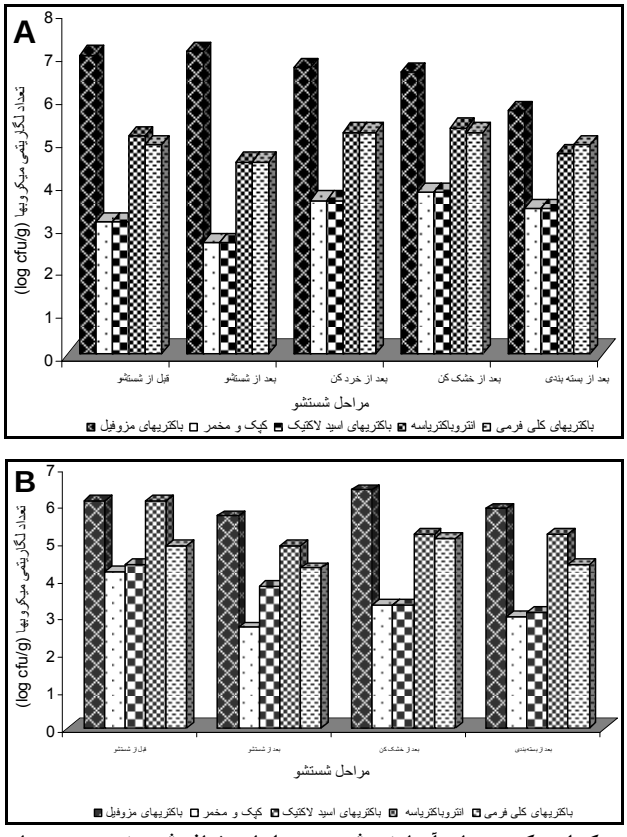
Archive of SID

تشخیص داده شد و تستهای آنتی سرم O و H بر روی آنها انجام گردید.

نمونه های سطحی توسط سواپ استریل از سطوح ماشین های پوست کنی، سانتریفوژ، خرد کن کاهو، خردکن هویج، میز سورتینگ و سبدهای حمل ونقل سبزیجات شسته شده، دست کارگران، دستکش، ظروف بسته بندی و روکش پلاستیکی مورد استفاده برای بسته بندی برداشته و در ۱ میلی لیتر بافر پپتون نمکی به آزمایشگاه حمل شد و سپس جهت سنجش نسبی تعداد باکتری ها و کپک و مخمر از آنها رقت تهیه و در محیط های پلیت کانت آگار، ویوله رد بایل گلوکز آگار، کروم آگار اشرشیا کلی و یست گلوکز کلرامفنیکل آگار، به ترتیب برای شناسایی باکتری های مزوفیل هوازی، انتروباکتریاسه، *اشرشیا کلی*، کپک و مخمر کشت گردید.

نتایج و بحث

شکل ۲ میزان آلودگی سبزیجات سالادی و خوردن را در مراحل مختلف شستشو نشان میدهد. همانطور که مشخص شده است تعداد باکتری های مزوفیل هوازی در نمونه اولیه سبزی خوردن بطور میانگین بین ۶/۹-۴/۶ سیکل لگاریتمی بود و در مرحله شستشو وضدعفونی تا ۰/۵ سیکل لگاریتمی کاهش یافت. در نمونه کاهو که به عنوان سبزی سالادی بررسی گردید بار آلودگی به باکتری های مزوفیل طی مرحله شستشو چندان کاهش نیافت و میانگین آلودگی در قبل و بعد از شستشو ۷ سیکل لگاریتمی بود. در مراحل بعد از شستشو و ضد عفونی میزان آلودگی در هر دو نمونه بیشتر شد. تعداد باکتری های خانواده اسید لاکتیک که در هر دو سری نمونه سبزی و کاهو بطور میانگین به ترتیب ۴/۴ و ۳/۱ سیکل لگاریتمی بود طی مرحله شستشو در هر دو سری نمونه حداکثر تا ۰/۵ سیکل لگاریتمی نسبت به نمونه شسته نشده کاهش یافت و در نمونه سبزی این کاهش ادامه داشت و تا مرحله بسته بندی جمعیت باکتری های خانواده اسید لاکتیک ۱/۳ سیکل لگاریتمی کم شد. ولی در نمونه کاهو بعد از شستشو در مراحل بعدی (خردکن و خشک کن) آلودگی ثانویه پیدا کرده و مجدداً بار آلودگی افزایش پیدا کرد.



شکل۲- نمایش میزان فراوانی هر یک از میکروب های آزمایش شده در مراحل مختلف شستشوی سبزیجات ، بالا (A) نمونه سبزی سالادی، پائین (B) نمونه سبزی خوردن.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- نتایج در صد فراوانی باکتریهای بیماریزایی که از طریق مواد غذایی انتقال میابند در مراحل شستشوی سبزیجات

مراحل شستشو	درصد نمونه های مثبت		
	S.areaus	*E. coli*	*Salmonella spp.*
قبل از شستشو	۱۰۰	۱۷/۶	-
بعد از شستشو و ضد عفونی	۱۰۰	۱۰	-
بعد از خردکن	۱۰۰	۴۰	-
بعد از خشک کن	۱۰۰	۲۲/۲	-
بعد از بسته بندی	۱۰۰	۲۰	-

باکتری های خانواده انتروباکتریاسه و باکتری های کلی فرمی نیز به ترتیب ۱/۶ تا ۰/۶ سیکل لگاریتمی در مرحله شستشو کاهش یافتند ولی در مراحل بعدی دوباره تعداد آنها زیاد شد.

جمعیت کپک و مخمر در مرحله شستشو و ضدعفونی در نمونه سبزی خوردن ۱/۵ سیکل لگاریتمی کاهش یافت و از میانگین ۴/۲ سیکل لگاریتمی در نمونه شسته نشده به میانگین ۲/۷ سیکل لگاریتمی در مرحله شستشو و ضدعفونی رسید و در مراحل بعدی افزایش زیادی پیدا نکرد. نمونه سالادی نیز تا ۱/۳ سیکل لگاریتمی در مرحله شستشو و ضدعفونی کاهش نشان داد.

Behrsing و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند با تاثیر غلظت های مختلف هیپوکلریت سدیم در زمان های مختلف بین ۲/۸-۱/۷ سیکل لگاریتمی جمعیت *اشرشیا کلی* تلقیح شده به کاهو کاهش می یابد. Velazquez و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان دادند هیپوکلریت سدیم قادر است جمعیت *اشرشیا کلی O157:H7* تلقیح شده به گوجه فرنگی و کاهو را ۲/۵ و ۱/۳ سیکل لگاریتمی به ترتیب کاهش دهد. Ukuku (2006) نیز گزارش کرد آب اکسیژنه ۲/۵ ٪ میتواند جمعیت باکتری های مزوفیل هوازی، باکتری های اسید لاکتیک و کپک و مخمر سطح هندوانه را به ترتیب تا ۲/۷، ۲/۱ و ۰/۱ سیکل لگاریتمی را کاهش دهد. Crowe و همکاران (۲۰۰۷) از دو باکتری *پسودوموناس فلورسانس* و *انتروباکتر آگلومرانس* که فلور طبیعی سطح سبزیجات هستند استفاده کردند و تاثیر آب اکسیژنه ۱٪ را بر روی آنها بررسی کردند و نشان دادند که تا ۲ سیکل لگاریتمی جمعیت آنها کاهش می یابد. Abadias و همکاران (۲۰۰۸) در بررسیهای خود ثابت کردند که آب اکسیژنه ۲ ٪ می تواند تا ۲/۵ سیکل لگاریتمی جمعیت *اشرشیا کلی* و *سالمونلا* تلقیح شده به قطعات سیب را کاهش دهد. سایرین نیز نشان داده اند که هیپوکلریت سدیم (Albrecht, et al., 1995; Artes, et al., 2009; Beuchat, et al., 1998; Soriano, et al., 2000) تا ۲ سیکل لگاریتمی و نانوسیل(Ukuku, 2004) تا ۳ سیکل لگاریتمی باکتری های مزوفیلی وکلی فرمی را به ترتیب کاهش می دهند، ولی از نتایج بدست آمده از این مطالعه مشخص شد که حداکثر تا۰/۵ سیکل لگاریتمی در جمعیت باکتری های مزوفیل، ۱/۵ سیکل لگاریتمی در باکتری های خانواده اسید لاکتیک و انتروباکتریاسه و ۱/۵ سیکل لگاریتمی در جمعیت کپک و مخمر کاهش ایجاد می شود. البته نتایج بالا در شرایط آزمایشگاهی بدست آمده است و با نتایج حاصل در شرایط واقعی (تحقیق حاضر) فرق می کند و شاید تفاوت نتایج به این دلیل باشد.

مراحل بررسی روش شستشو و ضدعفونی در کارگاه بنحوی انجام شد که از ابتدای ورود نمونه تا انتها که بصورت بسته بندی از کارگاه خارج می گردید نمونه برداری انجام گرفت و در بررسی ها مشخص شد که نمونه های آلوده به *اشرشیا کلی* در طی مراحل شستشو آلودگیشان را از دست نمی دهند و حتی تا مرحله بسته بندی نیز آلودگی را حفظ می کنند و همچنین مشخص شد که با ورود نمونه های آلوده به باکتری های بیماریزا در مراحل شستشو، آلودگی می تواند در مسیر باقی بماند و نمونه های غیر آلوده را نیز آلوده کند چون نمونه هایی که در ابتدا آلوده نبودند در مسیر شستشو آلوده شده بودند. همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است درصد فراوانی باکتری *اشرشیا کلی* در نمونه های اولیه سبزیجات که وارد کارگاه شده اند ۱۷/۶٪ می باشد ولی در مرحله خرد کن و خشک کن به ترتیب به ۴۰٪ و ۲۲/۲٪ می رسد، و حتی در نمونه های بسته بندی شده نیز آلودگی بیشتر از نمونه های بدون فرآیند می باشد (۲۰٪).

بوچت (Beuchat, 1996) معتقد است حضور باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در ماده غذایی نشانه شرایط غیر بهداشتی مراحل کار می باشد ونشان می دهد که ماده غذایی در مراحل تولید با دست های آلوده بیشتر در تماس بوده است. در بررسی های انجام شده مشاهده شد که نه تنها تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* در مسیر فرآیند کاهش پیدا نمی کند بلکه جمعیت آن در مراحل آخر کار افزایش می یابد.

این نتایج مشخص می کند که سیستم شستشو و ضدعفونی با روش موجود در واحد مذکور که غوطه ور کردن در آب شستشو حاوی ماده ضدعفونی است زیاد مناسب نمی باشد و قادر به کاهش باکتری های کلی فرمی و باکتری های مزوفیلی که از عوامل اصلی فساد سبزیجات است، نمی باشد چون در این روش باکتری های جدا شده از سطح سبزیجات در آب شستشو باقی مانده و می توانند سطح سبزی را مجدداً آلوده کنند و در نتیجه بار آلودگی کاهش چندانی در

www.SID.ir

Archive of SID

اثر شستشو پیدا نمی کند.

با نگاهی به جدول ۳ مشخص می شود کـه ماشـین هـای مـورد استفاده در مراحل کار بسیار آلوده هسـتند و حتـی بعضـی از آنهـا بـار آلودگیشان به باکتری های مزوفیل هوازی، انتروباکتریاسـه و کپـک و مخمر خیلی بیشتر ازخـود نمونـه هـا مـی باشـد، بعنـوان مثـال میـز سورتینگ که محل بسته بندی سبزیجات اسـت و یـا ماشـین پوسـت کنی هـویج، ماشـین خشـک کـن (سـانتریفوژ)، ماشـین خـرد کـن و سبدهای حمل و نگهداری نمونـه هـای شسـته شـده کـه در تمـاس مستقیم با نمونه هستند بسیار آلوده اند. این آلودگی های زیاد وسـایل و تجهیزات می تواند دلیلی برای آلودگی های ثانویه باشد و مشـخص می شود که چرا سبزیجات تازه بسته بندی شده آلوده تر از سبزیجات خام می باشند. Abadias و همکاران (۲۰۱۱) نیز در بررسی های خود نشان دادند که سبزیجات بسته بندی شده از سبزیجات خام آلـوده تـر هستند.

جدول۲- نتایج بهداشت سطوح مختلف و فضای کارگاه بر حسب شدت آلودگی

	میزان آلودگی سطوح*		
سطوح	باکتریهای مزوفیل	خانواده انتروباکتریاسه	کپک و مخمر
ماشین پوست کنی	++++	++++	++++
ماشین خرد کن هویج	+++	+++	+++
ماشین خرد کن کاهو	++++	++++	++++
ماشین خشک کن	++++	+++	+++
سبد حمل سبزی	++++	+++	+++
میز سورتینگ	++++	+++	+++
ظرف نگهداری سبزیجات	+++	++	++
ظرف بسته بندی	+	_	+
روکش ظرف بسته بندی	+	_	+
دستکش پلاستیکی	-	-	-
دست کارگر	+++	+	++

*میزان آلودگی سطوح : ++++ خیلی آلوده، +++ آلوده، ++ نسبتا آلوده، + کمی آلوده، - بدون آلودگی

Lehto و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان دادند که سطوح وسـایل در ماشین برش، پوست کنی، سـانتریفوژ و قسـمت سـورتینگ بیشـترین آلودگی را دارند و بنابراین می توانند باعث آلـودگی ثانویـه سـبزیجات شوند. همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است نمونه هـا بعـد از شستشو وضدعفونی دوباره افزایش آلودگی دارند و حتی تـا ۲ سـیکل لگاریتمی آلودگی افزایش می یابد که ناشی از آلودگی ثانویـه اسـت و وسایل و سطوح آلوده یکی از علل این آلودگی ثانویه می باشند.

Allende و همکـاران (۲۰۰۸) و López-Gálvez و همکـاران (۲۰۰۹) نیز نشان دادند که آلودگی ثانویه در تمام مسیر میتواند وجـود داشته باشد و باعث افزایش میـزان آلـودگی محصـول نهـایی شـود و معتقدند که باید به این مورد توجه ویژه ای نمود.

یک راه حل تغییر روش شستشـو (Sapers, 2003; Gil, et al., 2009) می باشد. همانطور که گفته شد در واحد مورد بررسی هماننـد تمام واحدهای دیگر، نمونه ها در آب شستشو غوطه ور مـی شـوند و این آب طی روز دائما استفاده می شـود و ایـن یعنـی افـزایش تعـداد میکروب و کاهش اثر عامل ضد میکروبی و در نتیجه کارایی ماده ضد میکروبی کم می شود. بنابر عقیده Sapers (۲۰۰۳) و Gil و همکاران (۲۰۰۹) بهترین روش، استفاده از روش دوش و سـورتینگ اسـت کـه ابتدا نمونه در حال حرکت با آب شسته شده وسپس در حوض حـاوی ماده ضدعفونی غوطه ور و دوباره با دوش آب تمیز شسته شود. علاوه بر این، برای کاهش آلودگی ثانویه بهتر است مـوارد زیـر نیـز رعایـت شود.

نواحی ورود مواد خام، شستشوی سبزیجات و بسـته بنـدی بـرای جلوگیری از آلودگی ثانویه از یکـدیگر کـاملاً جـدا باشـد و همچنـین سبدهای مورد استفاده در قسمت شستشو با سایر سبدها جدا گردد و تا حد امکان سبدها روی هم قرار نگیرند، چون سطح زیرین سبدها بعلت تماس با زمین آلوده می شـوند و آلـودگی را بـه سـبد بعـدی منتقـل می کنند.

دست کارگران یکی دیگر از مسائل مهمی است کـه بایـد بـه آن توجه ویژه نمود. به عنوان مثال بهتر است طی روز دستکش ها دائمـا تعویض شود واز ماده ضدعفونی برای شستشـوی دسـت هـا اسـتفاده شود و رفت و آمد کارگران از بخش غیر تمیز به بخش تمیز حتمـاً بـا

www.SID.ir

Archive of SID

یک سری تمهیدات همراه باشد.

سطوح بطور دائم از نظر آلـودگی کنتـرل شـود و در انتهـای هـر مرحله از کار با مواد ضدعفونی قوی و برس شسته شود. هوای سـالن یکی دیگر از عواملی است که می تواند در آلودگی ثانویه نقش داشـته باشد و ناقل خوبی در انتقال کپک، مخمر، گرد و غبار و باکتری هـای بیماریزا به ماده غذایی می باشد Lehto و همکاران (۲۰۱۱). بنـابراین بهتر است کیفیت آن دائم کنترل شود. استفاده از سیستم فشار مثبـت یا منفی هوا برای دور کردن عوامل بیماریزایی که می توانند از طریق هوا منتقل شوند در مکانهای حساس نیز می تواند مفید باشد.

منابع

Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C., Vinas, I. 2008. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. Food Microbiology, 123: 121-129.

Abadiasa, M., Alegreb, I., Usall, J., Torresa, R. and Viñasb, I. 2011. Evaluation of alternative sanitizers to chlorine disinfection for reducing food-borne pathogens in fresh-cut apple. Postharvest Biology and Technology, 59: 289–297.

Albrecht, J. A., Hamouz, F. L., Summer, S. S., Melch, V. 1995. Microbial evaluation of vegetable ingredients in salad bars. Journal of Food Protection, 58: 683-685.

Allende, A., Selma,M. V., López-Gálvez, F., Villaescusa, R., Gil, M. I., 2008. Impact of wash water quality on sensory and microbial quality, including Escherichia coli cross-contamination, of fresh-cut escarole. Journal of Food Protection, 71: 2514–2518.

Anonymous, 2007. Fresh-cut. The sector takes off in a big way but there is still a long road ahead. URL: http:/ /www. fruittoday. com/articulos.php/?id= 1184161180215227 & idioma=E.

Artes, F., Gomez, P., Aguayo, E., Escalona, V., Artez-hernandez, F., 2009. Sustainable sanitation techniques for keeping quality and saftey of fresh-cut plant commodities. Post harvest Biology and Technology, 51: 287-296.

Behrsing, J., Winkler, S., Franz, P., Premier, R., 2000. Efficacy of chlorine for inactivation of Escherichia coli on vegetables. Postharvest Biology and Technology, 19: 187–192.

Beuchat, L. R. 1996. Pathogenic microorganism associated with fresh product. Journal of Food Protection, 59: 204-216.

Beuchat, L. R., Nai, B. V., Clavero, M. R. S., 1998. Efficacy of spray application of chlorinated water in killing pathogenic bacteria on raw apples, tomatoes, and lettuce. Journal of Food Protection, 61: 1305-1311.

Crowe, K. M., Bushway, A. A., Bushway, R. J., Davis-Dentici, K. Hazen, R. A., 2007. A comparison of single oxidants versus advanced oxidation processes as chlorine alternatives for wild blueberry processing (Vaccinium angustifolium). International Journal of Food Microbiology, 116: 25–31.

Doyle, M. P., 1990. Fruits and vegetables safety-microbiological considerations. Horticulture science, 25: 1478-1481.

FDA (Food and Drug Administration, USA), 2006. Spinach and E. coli outbreaks. URL: <http:// www. fda. gov/ oc/opacom hottopics spinach.html. > (accessed 06.02. 2009).

FDA (Food and Drug Administration, USA), 2008. Guidance for industry. Guide to minimize microbial food safety hazards of fresh-cut fruits and vegetables. URL: < http:// www. fda. gov/ food/ guidance compliance regulatory in formation/guidance documents/> (accessed 06.02. 2009).

Gil, M. I., Selma, M. V., Lopez-Glavez, F., Allende, A., 2009. fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions. International Journal of Food Microbiology, 134: 37-45.

HPA (Health Protection Agency). 2004. Direct Enumeration of *Escherichia coli*. National Standard Method Standard F20, Issue 1 Available from: <http:// www. hpa−standard methods. org. uk/ documents/ food/ pdf/ F20. pdf> (accessed 06.02.2009).

HPA (Health Protection Agency), 2004b. Enumeration of Staphylococcus aureus. National Standard Method: F12, Issue 1 Available from: <http://www.hpa-standard methods.org.uk/documents/food/pdf/F12.pdf> (accessed 06.02. 2009).

HPA (Health Protection Agency), 2005a. Standard Methods for Food Products. Detection of Salmonella Spp. F13, Issue 3.1. HPA, London. Available from: <http://www.hpa-standardmethods.org.uk/documents/food/pdf/F13.pdf< (accessed 06.02.2009).

HPA (Health Protection Agency), 2005b. Standard Methods for Food Products. Enumeration of Bacillus cereus and Other Bacillus species. F15, Issue 1. HPA, London. Available from: <http://www.hpa-

www.SID.ir

Archive of SID

standardmethods.org.uk/documents/food/pdf/F15.pdf> (accessed 06.02.2009).

IFPA (International Fresh-cut Produce Association). 2001. Food safety guidelines for the fresh-cut produce industry. 4th ed. Alexandria, VA: IFPA.

Lehto, M., Kuisma, R., Maata, J., Kymalainen, H. R., Maki, M. 2011. Hygienic level and surface contamination in fresh-cut vegetable production plants. Food Control, 22: 469-475.

López-Gálvez, F., Allende, A., Selma, M. V., Gil, M. I., 2009. Prevention of Escherichia coli cross-contamination by different commercial sanitizers during washing of fresh-cut lettuce. International Journal of Food Microbiology doi: 10.1016/ j.ij food micro. 2009.05.017.

Mukherjee, A., Speh, D., Jones, A. T., Buesing, K. M., Diez-Gonzalez, F., 2006. Longitudinal microbiological survey of fresh produce grown by farmers in the upper Midves. Journal of Food Protection, 69: 1928-1936.

Nguyen-the, C., Carlin, F. 1994. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. Critical reviews in food science and nutrition, 34: 371-401.

Nguz, K., Shindano, J., Samapundo, S., Huyghebaert, A., 2005. Microbiological evaluation of fresh-cut vegetables produced in Zambia. Food Control, 16: 623-628.

Sapers, G.M. 2003. Washing and sanitizing raw materials for minimally processed fruits and vegetables. In Novak, J.S., G.M. Sapers, and V.K. Juneja. (Eds). Microbial Safety of Minimally Processed Foods. Boca Raton, FL: CRC Press: 221-253.

Schlech, W. F., Levigne, P. M., Bortolussi, R. A., Allen, A. C., Haldane, E. V., Wort, A. J., Hightower, A. W. 1983. Epidemic Listeriosis-evidence for transmission by food. New England Journal of Medicine, 308: 203-206.

Soriano, J. M., Rico, H., Molto, J. C., Manes, J., 2000. Assessment of the microbiology quality and wash treatments of lettuce served in University restaurants. International Journal of Food Microbiology, 58: 123-128.

Tauxe, R., Kruse, H., Hedberg, C., Potter, M., Madden, J., Wachsmuth, K., 1997. Microbial hazards and emerging issues associated with produce. A preliminary report to the national advisory committee on microbiological criteria for foods. Journal of Food Protection, 60: 1400-1408.

Ukuku, D. O., 2004. Effect of hydrogen peroxide treatment on microbial quality and appearance of whole and fresh-cut melons contaminated with Salmonella spp. International Journal of Food Microbiology, 95: 137-146.

Ukuku, D. O., 2006. Effect sanitizing treatments on removal of bacteria from cantaloupe suface, and re-contamination with Salmonella. Food Microbiology, 23: 289-293.

Velazquez, L. D. C., Barbini, N. B., Escudero, M. S., Estrada, C. L., De Guzman, M. S., 2009. Evaluation of chlorine, benzalkonium chloride and lactic acid as sanitizers for reducing Eschreichia coli O157:H7 and Yersinia entrocolitica on fresh vegetables. Food Control, 20: 262-268.

www.SID.ir

Archive of SID

Microbial Load Evaluation of Fresh-Cut Vegetables During Processing Steps in A Vegetable Processing Plant Using Minimally Processing Approach

M. Bahreini [1]- M.B. Habibi Najafi [2*]- M.R. Bassami [3]- M. Abbaszadegan [4] - A.R. Bahrami [5]- H. Ejtehadi [5]

Received: 13-02-2011
Accepted: 04-10-2011

Abstract

The number of vegetable processing plants has been increased during recent years in Iran as many other countries. On the other hand, fresh vegetable products are susceptible to microbial contamination after harvest, processing, handling, packing and distribution. The aim of this study was to determine and evaluate the level of microbial load of vegetables during different cleaning steps in a fresh-cut vegetable processing plant and to identify the critical points in the process lines and operating areas. Samples were taken from the plant before and after washing, disinfection, cutter, drying and packaging and kept in ice pack and delivered to the laboratory. The samples were analyzed for mesophilic aerobic count, yeasts and moulds, lactic acid bacteria, total coliforms, Enterobacteriaceae, *E. coli* and *Staphylococcus aureous* as well as for the presence of *Salmonella*, according to the standard guideline. The amounts of total aerobic bacteria, Enterobacteriaceae, *E. coli*, yeasts and moulds on surfaces and air were also determined. Results showed that bacteria as well as yeasts and moulds levels were decreased after washing and disinfectation up to 1 and 1.5 $\log_{10}$, respectively, but after that, the microbial load was increased due to secondary contamination. During all steps, salmonella was not detected, but *E. coli* detected in some of the steps and *S. aureous* was detected at all steps. The highest levels of total aerobic bacteria, Enterobacteriaceae, *E. coli*, yeasts and moulds were detected on the equipments (cutters, peeling, centrifuge machines, etc.). Different Hygienic areas should be separated enough to allow maintenance of good hygiene in cleaner areas in primary washing steps. Despite this, the results showed that there is a vital need to improve cleaning and hygienic practices in vegetable processing plants. Several practical recommendations were given for cleaning, design of production lines, training of employees and surface hygiene.

Keywords: Ready to eat vegetables, Microbial evaluation, Microbial quality, Minimal processing, Hygienic level

1- Ph.D Student , Dept. of Food Science and Technology, and Instructor of Department of Biology, Ferdowsi University of Mashhad.
2- Prof., Dept. of Food science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.
(*- Corresponding author Email: habibi@ferdowsi.um.ac.ir)
3- Prof., Dept. of Biotechnology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad.
4- Prof., Dept. of Civil and Environmental Engineering, Arizona State University, Tempe, AZ 85287-5306, USA
5- Prof., Dept. of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad.

www.SID.ir