Archive of SID

آلودگی ادویه و سبزی‌های معطر عرضه شده در تبریز: جمعیت میکروبی و تنوع گونه‌ای باکتری‌های روده‌ای

سولماز مولادوست[۱]، شهرام حنیفیان[۲،۳*]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۲.دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۳. مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
*نویسنده مسئول مکاتبات: hanifian@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۶/۵/۱۲ پذیرش نهایی: ۹۶/۱۰/۱٤)

چکیده

ادویه و چاشنی‌ها منشأ گیاهی دارند و برای بهبود عطر، طعم و رنگ مواد غذایی به‌کار می‌روند. آلودگی میکروبی گیاهان ادویه‌ای نظیر بسیاری از محصولات کشاورزی یکی از مهم‌ترین چالش‌ها در زمینه سلامت مواد غذایی است. باکتری‌های روده‌ای بیش‌ترین اهمیت را در ایمنی غذایی دارند و ردیابی آن‌ها در مواد غذایی از رایج‌ترین آزمون‌ها برای ارزیابی وضعیت بهداشتی است. این مطالعه با هدف بررسی بار میکروبی و تنوع گونه‌ای باکتری‌های روده‌ای در ادویه و سبزی‌های معطر عرضه شده در شهر تبریز انجام پذیرفت. تعداد ۱۲۵ نمونه شامل ۲۵ نوع ادویه و گیاه معطر از پنج منطقه مختلف تبریز جمع‌آوری گردید. طبق نتایج مطالعه، تمامی نمونه‌ها حاوی باکتری‌های مزوفیل هوازی و کلی‌فرم‌ها بودند. میانگین شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی و کلی‌فرم به‌ترتیب در ۲۸ و ٤۰ درصد نمونه‌ها بالاتر از استاندارد بین‌المللی برآورد شد. تعداد ۱۱۰ جدایه متشکل از ۱۳ گونه متنوع از باکتری‌های روده‌ای از نمونه‌های آزمایش شده، جداسازی شد که بالاترین میزان فراوانی به‌ترتیب مربوط به *اشریشیا کولای* با ۲۱/۸۱٪ و کم‌ترین فراوانی مربوط به *سالمونلا انتریکا* با ۰/۹٪ بود. وجود آلودگی میکروبی بیش از حد مجاز و به‌ویژه حضور انواع باکتری‌های روده‌ای با پتانسیل بیماری‌زایی در نمونه‌ها نشانگر یک مخاطره بهداشتی می‌باشد. در نتیجه لازم است ادویه و گیاهان معطر با استفاده از فرایندهای مناسب نظیر تیمار حرارتی، ازن یا پرتودهی برای رفع آلودگی میکروبی ادویه آلودگی‌زدایی شوند.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های روده‌ای، تنوع گونه‌ای، ادویه، سبزی‌های معطر

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

طبق تعریف استاندارد ملی ایران واژه ادویه و چاشنی به آن دسته از فرآورده‌های طبیعی گیاهی ساده یا مخلوط اطلاق می‌شود که خالص و عاری از مواد خارجی هستند و به‌صورت کامل و یا به‌حالت پودری از اندام‌های مختلف گیاه به‌دست آمده باشند. ادویه با هدف افزایش عطر و طعم و تندی در فرآورده‌های خوراکی استفاده می‌شوند (ISIRI/4696/2001). ارزش ادویه وابسته به رنگ، عطر و طعم ویژه آن‌هاست و جزو متنوع‌ترین و پرمصرف‌ترین ترکیباتی هستند که در سراسر جهان برای آماده‌سازی و فرآوری غذاها مورد استفاده قرار می‌گیرند. ادویه هم‌چنین به‌علت داشتن ترکیباتی نظیر آلکالوئیدها، پلی‌فنل‌ها، سینامیک آلدئید، کومارین و تانن دارای خاصیت ضدمیکروبی هستند (Raccach, 1984). همانند سایر محصولات کشاورزی ادویه پیش از برداشت، در معرض طیف وسیعی از آلودگی‌های میکروبی قرار دارند که از طریق گرد و خاک، فاضلاب، فضولات حیوانی و انسانی به آن‌ها راه پیدا می‌کنند (Banerjee and Sarkar, 2003). در مرحله پس از برداشت، بروز آلودگی از طریق روش‌های فرآوری، نگه‌داری، توزیع و عرضه در شرایط نامناسب اتفاق می‌افتد. به‌طور مثال در بسیاری از کشورهای تولیدکننده، روش سنتی خشک کردن ادویه و گیاهان معطر شامل پخش کردن آن‌ها روی سطح زمین، در فضای باز و زیر نور خورشید است. این روش محصول را در معرض آلودگی‌های جدی و متعدد میکروبی قرار می‌دهد. مضاف بر این‌که ادویه غالباً بدون اعمال فرآیندی که منجر به کاهش بار میکروبی آن‌ها شود، به بازار عرضه و مورد مصرف قرار می‌گیرند (Banerjee and Sarkar, 2003). در این حالت محصول حاوی سطح بالایی از آلودگی‌های میکروبی است و خطر آن به‌ویژه زمانی که ادویه در مرحله پایانی آماده‌سازی به مواد غذایی اضافه می‌شوند و تحت تأثیر حرارت قرار نمی‌گیرند، تشدید می‌یابد. استفاده از آب غیربهداشتی در برخی از فرآیندها (مانند خیساندن فلفل سیاه و تبدیل آن به فلفل سفید) آلودگی میکروبی ادویه را بالا می‌برد (Shabani and Zojaji, 2010).

به‌منظور بیان کیفیت میکروبیولوژیکی مواد غذایی از ارگانیسم‌هایی به‌عنوان شاخص استفاده می‌شود که با ماندگاری غذاها و عاری بودن آن‌ها از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در ارتباط هستند. این میکروب‌های شاخص بیشترین استفاده را در ارزیابی کیفیت بهداشتی مواد غذایی دارند. از آن‌جایی که شاخص وضعیت بهداشتی با جمعیت باکتری‌های خانواده روده‌ای سنجیده می‌شود، لذا به‌نسبتی که ادویه تولید شده در یک منطقه حاوی باکتری‌های این خانواده باشد، بیانگر عدم رعایت موازین بهداشتی طی مراحل مختلف تولید و عرضه است (ISIRI/4696/2001; Mortazavi *et al.*, 2001). خانواده باکتری‌های روده‌ای شامل باسیل و کوکوباسیل‌های گرم منفی، متحرک و اکسیداز منفی هستند و به‌دلیل این‌که اکثر آن‌ها ساکن مجاری گوارشی انسان و حیوانات هستند، باسیل‌های روده‌ای (Enteric Bacilli) نیز گفته می‌شود. این باکتری‌ها بی‌هوازی اختیاری بوده و هر دو عمل تنفس و تخمیر را انجام می‌دهند. از میان کربوهیدرات‌ها به‌ویژه گلوکز را تخمیر کرده و اسید و بعضاً گاز تولید می‌کنند.

www.SID.ir

Archive of SID

اما ویژگی کلیدی در تشخیص آن‌ها تخمیر لاکتوز است و بر این اساس این ویژگی به دو دسته لاکتوز مثبت (مانند *اشریشیا کولای* و انتروباکتر) و لاکتوز منفی (مانند *شیگلا* و *سالمونلا*) تقسیم می‌شوند. اصطلاح کلی‌فرم به گروهی از باکتری‌های این خانواده اطلاق می‌گردد که دارای توانایی تخمیر قند لاکتوز باشند. عموماً کلی‌فرم‌ها چهار جنس خانواده انتروباکتریاسه را تشکیل می‌دهند که عبارتند از: سیتروباکتر، انتروباکتر، اشریشیا و کلبسیلا (Mortazavi *et al*., 2001).

امروزه افزایش سطح آگاهی مصرف‌کنندگان سبب شده است که تقاضا برای مصرف محصولات با کیفیت و ایمنی بالا افزایش یابد (Tajkarimi *et al*., 2010). بنابراین انجام یک مطالعه جامع به‌منظور ارزیابی وضعیت میکروبی ادویه هر منطقه و اتخاذ تدابیری برای وضع قوانین کنترلی یا انتخاب تیمار مناسب جهت کاهش بار میکروبی ادویه ضروری است (Banerjee and Sarkar, 2003). درحال حاضر هیچ استاندارد میکروبی ویژه‌ای از سوی کمیسیون اروپا (European Commission) برای ادویه و گیاهان خشک شده وضع نشده است، اما طبق رویه‌های بهداشتی کدکس (Codex) ضروری است ادویه و گیاهان معطر بایستی عاری از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا باشند. باکتری سالمونلا نباید در ادویه که به غذاهای آماده مصرف افزوده می‌شود، حضور داشته باشد (CAC/RCP/1995).

در استانداردهای مختلف، میزان مجاز آلودگی میکروبی در ادویه و گیاهان معطر تعیین شده است. در جدول (۱) به چند مورد از این استانداردهای میکروبی اشاره شده است.

جدول (۱)- استانداردهای ملی و بین‌المللی میزان مجاز آلودگی میکروبی در ادویه و گیاهان معطر

استاندارد	آلودگی میکروبی	حد مجاز	منبع
انجمن ادویه اروپا*	سالمونلا	منفی/۲۵ گرم	Sagoo *et al*., 2009
	اشریشیا کولای	10^2 cfu/g	
استاندارد بین‌المللی**	باکتری‌های مزوفیل هوازی	10^6 cfu/g	Banerjee and Sarkar, 2003
استاندارد ملی ایران	جمعیت کپک	5×10^3 cfu/g	
	تخم انگل	منفی/گرم	ISIRI/3677/2008
	کلستریدیوم پرفرینجنس	10^2cfu/g	
	باسیلوس سرئوس	10^2cfu/g	
	اشریشیا کولای	منفی/گرم	
	کلی‌فرم‌ها	10^3 cfu/g	
	شمارش کلی	5×10^5 cfu/g	

European Spice Association
** ICMSF: International Commission on Microbiological Specification for Food

www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به استفاده زیاد ادویه و گیاهان معطر در غذاهای سنتی و محصولات غذایی صنعتی و هم‌چنین تولید و عرضه انواع مختلف ادویه محلی و وارداتی در منطقه تبریز، هدف این تحقیق بررسی میزان آلودگی میکروبی ادویه و گیاهان معطر این منطقه با تأکید بر تنوع باکتری‌های روده‌ای می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- نحوه نمونه‌گیری

نمونه‌برداری طی سال ۱۳۹۵ انجام گرفت. برای این منظور شهر تبریز به پنج منطقه مرکزی، شمال‌غربی، شمال‌شرقی، جنوب‌غربی و جنوب‌شرقی تقسیم گردید. ابتدا عطاری‌ها و محل‌های عرضه ادویه و گیاهان معطر در هر منطقه شناسایی شد و سپس به‌صورت تصادفی محل‌های نمونه‌گیری در هر منطقه انتخاب گردید. با فرض این‌که تمامی انواع ادویه در محل نمونه‌گیری اول موجود نباشد، محل‌های جایگزین برای نمونه‌برداری، به‌ترتیب اولویت و به‌طور تصادفی انتخاب شدند. طبق بررسی‌های اولیه مشخص گردید، ۲۵ نوع ادویه و گیاه معطر به‌طور متداول در بازار تبریز عرضه می‌شود. این ادویه از شهرها و روستاهای مجاور، دیگر استان‌های کشور و هم‌چنین از طریق واردات از کشورهای هند، پاکستان و ترکیه تأمین می‌شوند. لذا با در نظر گرفتن منبع تأمین ادویه، از هر نوع به‌تعداد ۵ عدد انتخاب شد که با احتساب ۲۵ نوع ادویه و گیاه معطر در مجموع ۱۲۵ نمونه جمع‌آوری گردید. نمونه‌های مورد آزمایش شامل زنجبیل، گل‌سرخ، دارچین، زردچوبه، سماق، آویشن، فلفل پرک‌شده، رازیانه، ادویه کاری، فلفل قرمز، فلفل سفید، فلفل سیاه، گل‌پر، پودر نعنا، پودر گشنیز، پودر شوید، میخک، هل، پودر لیمو عمانی، پودر موسیر، پودر سیر، زیره، جوز هندی، برگ بو و پاپریکا بودند.

از هر نوع ادویه مقدار ۱۰ گرم به‌همان شکلی که عرضه شده بود (اولیه یا پودر شده) در ۹۰ میلی‌لیتر سرم رینگر استریل مخلوط و به‌مدت ۱۰ دقیقه در شیکر با دور RPM ۲۳۰ هموژن گردید. از فاز میانی سوسپانسیون مقدار ۱ میلی‌لیتر برای تهیه رقت‌های سریال استفاده گردید. لوله‌های سریال رقت (تا 10^{-8}) با استفاده از محلول رینگر استریل تهیه شد (Imandel and Adibnia, 2000).

- شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل هوازی و کلی‌فرم‌ها

برای شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی از رقت‌های تهیه شده به‌صورت کشت مخلوط (Pour-plate method) در محیط Tryptic Soy Agar (TSA) حاوی ۰/۵ درصد (وزنی- حجمی) عصاره مخمر (Merck, Germany) کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌مدت ۲٤ تا ٤۸ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. برای شمارش کلی‌فرم‌ها از محیط کشت VRBA (Violet Red Bile Agar) و روش کشت و شرایط گرمخانه‌گذاری فوق استفاده شد (Imandel and Adibnia, 2000).

- جداسازی و شناسایی باکتری‌های روده‌ای

برای این منظور ۱۰ گرم از هر ادویه با ۹۰ میلی‌لیتر محیط کشت لوریل تریپتوز براث (Merck, Germany) مخلوط و به‌مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس غنی‌سازی شد. برای جداسازی گونه‌های انتروباکتریاسه مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های غنی‌سازی شده به‌صورت خطی در محیط مکانکی آگار

www.SID.ir

Archive of SID

(Merck, Germany) کشت داده شد. تعداد ۳ تا ۵ کلونی با مورفولوژی (قطر، ارتفاع، حاشیه و رنگ) متفاوت انتخاب و پس از کشت و خالص‌سازی در محیط کشت TSA، تحت آزمون‌های غربال‌گری قرار گرفتند (Pounch and Ito, 2001). برای این منظور آزمون‌های رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز و اکسیداز انجام گرفت و جدایه‌های باسیلی و کوکوباسیلی، گرم منفی، کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی برای آزمون‌های افتراقی انتخاب شدند. برای شناسایی جنس‌ها و گونه‌های باکتری‌های روده‌ای از آزمون‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی استاندارد و به‌شرح زیر استفاده شد: تولید H_2S در TSI آگار، تولید ایندول، قابلیت حرکت، متیل‌رد (MR) و وژ–پروسکوئر(VP) در دماهای ۳۷ و ۲۰ درجه سلسیوس، مصرف سیترات، اوره‌آز، آرژنین دی‌هیدرولاز، لیزین دکربوکسیلاز، اورنیتین دکربوکسیلاز، تولید گاز از گلوکز، تولید اسید از آدونیتول، آرابینوز، سلوبیوز، دولسیتول، گلیسرول، اینوزیتول، لاکتوز، مالتوز، مانیتول، رافینوز، رامنوز، سالیسین، سوربیتول، ساکارز، تره‌هالوز، زایلوز و نشاسته (Cowan *et al*., 2004).

یافته‌ها

در این مطالعه آلودگی به باکتری‌های مزوفیل هوازی و کلی‌فرم‌ها در تمامی نمونه‌های مشاهده شد. از بین نمونه‌های بررسی شده، بیشترین جمعیت باکتری‌های مزوفیل هوازی به‌ترتیب مربوط به فلفل قرمز، ادویه کاری و زیره و کم‌ترین جمعیت مربوط به نمونه جوز هندی بود. هم‌چنین نمونه‌های گل‌پر و زیره بالاترین میزان آلودگی و نمونه‌های جوزهندی، پودر لیمو و زنجبیل به‌ترتیب کمترین میزان آلودگی به کلی‌فرم‌ها را نشان دادند (جدول ۲).

طبق استاندارد بین‌المللی، حد مجاز برای تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی 10^6 cfu/g ذکر شده است که در این بررسی ۳۵ مورد (۲۸٪) از نمونه‌ها مقادیر بالاتری از حد مجاز را نشان دادند. هم‌چنین بر اساس این استاندارد و استاندارد ملی ایران (ISIRI, 3677/2008) حد مجاز و قابل قبول برای جمعیت کلی‌فرم‌ها 10^3 cfu/g می‌باشد. در این بررسی ۵۰ مورد (٤۰٪) از نمونه‌ها مقادیر آلودگی کلی‌فرمی بیش‌تر از حد مجاز داشتند.

www.SID.ir

Archive of SID

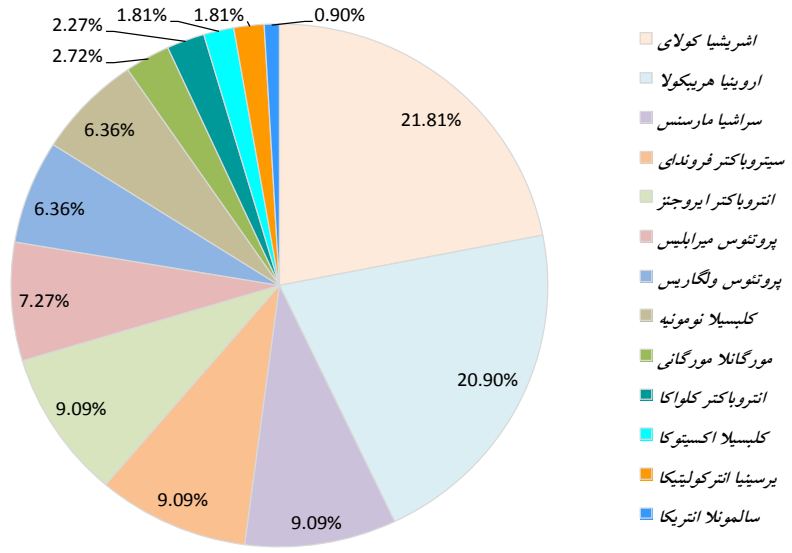
جدول (۲)- جمعیت مزوفیل‌های هوازی و کلی‌فرم (Log cfu/g) در نمونه‌های مختلف ادویه

ردیف	نوع ادویه	مزوفیل‌های هوازی		کلی‌فرم	
		دامنه	میانگین ± انحراف‌معیار	دامنه	میانگین ± انحراف‌معیار
۱	پاپریکا	۵/۳۰-۸/۵۱	۶/۷۲±۱/۳۰	۲/۶۹-۵/۶۵	۳/۵٤±۱/۱۱
۲	ادویه کاری	۵/۷۷-۸/۶۹	۸/۶۹±۱/۵۰	۲/۶۹-۵/۳۰	۳/۶۰±۱/۱٤
۳	دارچین	۲/۶۹-۶/۳۳	۳/۸۸±۱/۵۰	۲/۶۹-٤/۰٤	۲/۹۶±٤/۰٤
٤	فلفل قرمز	۲/۶۹-۸/۶۹	۷/۰۱±۲/۱۸	۲/۶۹-۵/۳۸	۳/۵۰±۱/۰۸
۵	لیمو عمانی	۲/۶۹-۶/۰۳	۳/۸۲±۱/٤۲	۲/۶۹-۲/۶۹	۲/۶۹±۰
۶	زردچوبه	۲/۶۹-۷/۱۷	۵/۳۵±۱/۸۷	۲/۶۹±۳/٤۷	۲/۹۱±۰/۳۱
۷	پودر سیر	۲/۶۹-۷/۶۹	۶/۱۰±۱/۸۰	۲/۶۹-۳/٤۷	۲/۸۵±۰/۳۱
۸	نعناع	٤/۶۹-۸/۶۹	۶/٤۹±۱/۶۵	۳/۶۰-۵/۶۹	٤/۸۱±۰/۷۱
۹	گلپر	۲/۶۹-۸/۶۹	۵/۸۱± ۲	٤/۱۶-۶/۹۲	۵/۱۸±۰/۹۹
۱۰	آویشن	۳/۶۹-۷/۶۹	٤/۹۱±۱/٤۳	۲/۶۹-٤/۸۱	۳/۶۰±۰/۸۳
۱۱	پودر موسیر	۲/۶۹ -۵/۱۱	۳/۹۹±۰/۸۶	۲/۶۹-۳/۳۰	۲/۸۱±۰/۲٤
۱۲	سماق	۲/۶۹-۳/۶۹	۳/٤٤±۰/٤۳	۲/۶۹-۳/۳۰	۲/۸۱±۰/۲٤
۱۳	فلفل سیاه	۲/۶۹-۶/۹۱	٤/۲۶±۱/۹۳	۲/۶۹-٤/۹۳	۳/۷۷±۰/۹۲
۱٤	فلفل پرک شده	۲/۶۹-۸/۳۸	۵/۷۸±۱/۸۳	۲/۶۹-۵/۳۲	۳/۵۶±۰/۹۲
۱۵	زنجبیل	۲/۶۹-۸/۶۹	۶/۱٤±۱/۹۷	۲/۶۹-۲/۶۹	۲/۶۹±۰
۱۶	شوید	۲/۶۹-۵/۹۰	٤/۶٤±۱/۱۹	۲/۶۹-٤/۸۳	۳/۸۲±۰/۸۶
۱۷	هل	۲/۶۹-۵/۸٤	٤/۲۷±۱/۰٤	۲/۶۹-۶/۹۵	۳/۵٤±۱/۷۰
۱۸	برگ‌بو	۲/۶۹-۶/۲۵	٤/۸۹±۱/۳۰	۲/۶۹-۶/۲۵	٤/۰۵±۱/۵۶
۱۹	فلفل سفید	۲/۶۹-۶/۲۵	٤/٤۰±۱/٤۵	۲/۶۹-۷/۰٤	٤/۵۶±۱/۷٤
۲۰	جوز هندی	۲/۶۹-۲/۶۹	۲/۶۹±۰	۲/۶۹-۲/۶۹	۲/۶۹±۰
۲۱	گشنیز	۲/۶۹-۵/٤۷	٤/۱۳±۱/۲۲	۲/۶۹-٤/۱۶	۳/۱۰±۰/۵۷
۲۲	گل سرخ	٤/٤۷-۶/۶۹	٤/۱۳±۱/۲۲	۲/۶۹-۷/۷۵	٤/۷۸±۱/۹۱
۲۳	رازیانه	۲/۶۹-۶/۹۰	۵/۰۶±۱/۳۷	۲/۶۹-۶/۶۰	۳/٤۷±۱/۵۶
۲٤	زیره	٤/۶۹-۹/٤٤	۶/۹۳±۱/۶۷	۲/۶۹-۸/۱۸	۵/۳۰±۲/۱۳
۲۵	میخک	٤/۳۰-۵/۳۶	٤/۸۵±۰/٤۳	۲/۶۹-۵/۲۵	۳/۱۱±۱/۱۳

بر اساس نتایج آزمون‌های افتراقی، ۱۱۰ جدایه به‌دست آمد که متشکل از ۱۳ گونه متنوع بودند. بالاترین میزان فراوانی گونه مربوط به *اشریشیا کولای* با ۲۱/۸۱٪ و کم‌ترین میزان فراوانی به گونه *سالمونلا انتریکا* (*Salmonella enterica*) با ۰/۹٪ اختصاص داشت (نمودار ۱).

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار (۱)- درصد فراوانی گونه‌های باکتری‌های روده‌ای جدا شده از ادویه و سبزی‌های معطر

تنوع گونه‌ای باکتری‌های روده‌ای و درصد فراوانی آن‌ها در نمودار (۱) آمده است. از گونه‌های غالب در این نمونه‌ها به‌ترتیب *اشریشیا کولای* و *اروینیا هریبکولا* بودند. هم‌چنین در جدول (۳) تنوع گونه‌ای باکتری‌های روده‌ای در نمونه‌های مورد مطالعه نشان داده شده است.

بیشترین تنوع گونه‌ای مربوط به نمونه پاپریکا با ۷ گونه و کم‌ترین تنوع گونه‌ای به نمونه‌های زنجبیل، پودر لیمو، زردچوبه و جوز هندی با یک گونه اختصاص داشت.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول (۳)- تنوع گونه‌ای باکتری‌های روده‌ای در ادویه و سبزی‌های معطر

نمونه	تعدادگونه	گونه‌های جداسازی شده
پاپریکا	۷	*اشریشیا کولای، پروتئوس میرابیلیس، سراشیا مارسسنس، اروینیا هربیکولا، پروتئوس ولگاریس، انتروباکتر کلواکا، کلبسیلا اکسیتوکا*
ادویه کاری	٦	*اشریشیا کولای، پروتئوس میرابیلیس، اروینیا هربیکولا، پروتئوس ولگاریس، انتروباکتر کلواکا، کلبسیلا اکسیتوکا*
گل پر	٦	*پرتئوس میرابیلیس، پرتئوس ولگاریس، اروینیا هربیکولا، سیتروباکتر فروندای، یرسینیا انتروکولیتیکا، اشریشیا کولای*
شوید	٦	*سراشیا مارسسنس، پروتئوس میرابیلیس، اروینیا هربیکولا، اشریشیا کولای، سیتروباکتر فروندای، پروتئوس ولگاریس*
نعناع	٥	*اشریشیا کولای، پروتئوس میرابیلیس، اروینیا هربیکولا، کلبسیلا نومونیه، سراشیا مارسسنس*
برگ بو	٥	*اشریشیا کولای، اروینیا هربیکولا، کلبسیلا نومونیه، مورگانلا مورگانی، سیتروباکتر فروندای*
پودرسیر	٤	*پروتئوس میرابیلیس، اشریشیا کولای، انتروباکتر آیروجنز، پروتئوس ولگاریس*
آویشن	٤	*مورگانلا مورگانی، اشریشیا کولای، انتروباکتر آیروجنز، سیتروباکتر فروندای*
هل	٤	*انتروباکتر آیروجنز، سراشیا مارسسنس، اروینیا هربیکولا، کلبسیلا نومونیه*
زیره	٤	*اروینیا هربیکولا، کلبسیلا نومونیه، سراشیا مارسسنس، انتروباکتر آیروجنز*
پودر سیر	٤	*پرتئوس میرابیلیس، اشریشیا کولای، انتروباکتر آیروجنز، پروتئوس ولگاریس*
فلفل پرک	۳	*اروینیا هربیکولا، کلبسیلا نومونیه، اشریشیا کولای*
فلفل سیاه	۳	*اشریشیا کولای، سالمونلا انتریکا، سیتروباکتر فروندای*
گشنیز	۳	*سراشیا مارسسنس، اروینیا هربیکولا، انتروباکتر آیروجنز*
گل سرخ	۳	*سیتروباکتر فروندای، اروینیا هربیکولا، یرسینیا انتروکولیتیکا*
رازیانه	۳	*مورگانلا مورگانی، اروینیا هربیکولا، سیتروباکتر فروندای*
پودر موسیر	۲	*اشریشیا کولای، انتروباکتر آیروجنز*
فلفل سفید	۲	*اروینیا هربیکولا، اشریشیا کولای*
دارچین	۲	*کلبسیلا نومونیه، اروینیا هربیکولا*
زنجبیل	۱	*پروتئوس میرابیلیس*
پودر لیمو	۱	*اشریشیا کولای*
زردچوبه	۱	*انتروباکتر آیروجنز*
جوز هندی	۱	*انتروباکتر آیروجنز*

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش کیفیت میکروبی و تنوع گونه‌ای باکتری‌های روده‌ای در ادویه و سبزی‌های معطر عرضه‌شده در شهر تبریز مورد بررسی قرار گرفت. از مجموع ۲۵ نمونه ادویه و سبزی معطر عرضه شده، دامنه تغییرات جمعیت باکتری‌های مزوفیل‌های هوازی و کلی‌فرم‌ها به‌ترتیب ۹/٤٤–۲/٦۹ (با میانگین ۵/۱٤) و ۸/۱۸–۲/٦۹ (با میانگین ۳/۵٤) واحد لگاریتمی در گرم به‌دست آمد. در بین ادویه مختلف، بار میکروبی مزوفیل‌های هوازی و کلی‌فرم‌ها به‌ترتیب در نمونه‌های فلفل قرمز و گل‌پر بالاترین میزان را داشت. طبق استاندارد بین‌المللی، حد مجاز برای تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی ٦ واحد لگاریتمی در هر گرم ذکر شده است. در این مطالعه نمونه‌های ادویه کاری، فلفل قرمز، زیره، پاپریکا، نعناع، زنجبیل و پودرسیر دارای آلودگی بالاتر از حد استاندارد بین‌المللی به مزوفیل‌های هوازی بودند.

در استاندارد بین‌المللی و استاندارد ملی ایران (ISIRI, 3677/2008) تعداد ۳ واحد لگاریتمی کلی‌فرم‌ها در هر گرم ادویه حد مجاز و قابل‌قبول تعیین شده است. بر اساس یافته‌های بررسی اخیر نمونه‌های گلپر، نعناع، برگ بو، گل‌سرخ، شوید، فلفل سیاه، آویشن، ادویه کاری، فلفل پرک شده، فلفل سفید، پاپریکا، هل، فلفل قرمز، رازیانه و گشنیز دارای آلودگی کلی‌فرمی بیش از حد استاندارد بودند. این یافته‌ها کم و بیش با داده‌های گزارش شده از چندین مطالعه در ایران مشابهت دارد. به‌طور مثال در مطالعه‌ایی که بر روی ۱۵۱ نمونه ادویه در تهران انجام شد، ۳٤٪ نمونه‌های فلفل سیاه، ٦٪ نمونه‌های دارچین و ۱۳٪ نمونه‌های زردچوبه به کلی‌فرم‌ها آلوده بودند. میانگین جمعیت باکتری‌های مزوفیل هوازی در فلفل سیاه ٦/۸٤، دارچین ٤/۲۸ و زردچوبه ۷/۵۵ واحد لگاریتمی در گرم برآورد شد (Shahraz *et al*., 2008). در تحقیق دیگری از مجموع ۹۰ نمونه جمع‌آوری شده از مراکز عرضه مواد غذایی تهران، بیش‌ترین جمعیت باکتری‌های هوازی به‌ترتیب مربوط به زردچوبه، پودر سیر، دارچین، فلفل سفید، فلفل قرمز و جوز هندی بود (Shabani and Zojaji, 2011). در بررسی‌ای که بر روی بار میکروبی ادویه در زنجان انجام گرفت، بیش‌ترین بار میکروبی (log cfu/g ۷/۳۹–۸/۹۱) را در فلفل سیاه، فلفل سفید، فلفل قرمز، ادویه مخلوط، زنجبیل، پودرسیر و زردچوبه به‌دست آوردند (Sedaghat *et al*., 2014). در مطالعه حاضر به‌ترتیب فلفل قرمز (۲/۱۸±۷/۰۱ log cfu/g)، ادویه کاری (۰/۹۵±٦/۹۷ log cfu/g) و زیره (log cfu/g ۱/٦۷±٦/۹۳) به نسبت سایر نمونه‌ها بیشترین تعداد را از نظر جمعیت مزوفیل‌های هوازی داشتند. بالا بودن آلودگی انواع نمونه فلفل احتمالاً ناشی از بالا بودن رطوبت، وجود فلور طبیعی متنوع یا کم بودن مواد ضدمیکروبی نظیر پلی‌فنل‌های آروماتیک و یا روغن‌های فرار می‌باشد. میزان آلودگی بالای باکتری‌های مزوفیل‌های هوازی دلیل بر شرایط حمل و نقل و نگهداری نامناسب و عدم رعایت بهداشت در طول آماده‌سازی و فرآوری این محصولات می‌باشد. در بررسی انجام شده روی فعالیت ضدمیکروبی ۸ نمونه ادویه در تهران، نمونه‌های زیره کم‌ترین فعالیت ضدمیکروبی را از خود نشان دادند (Zakerin *et al*., 2015). در تأیید این موضوع نمونه‌های زیره آزمایش شده در بررسی اخیر نیز آلودگی نسبتاً بالایی به

www.SID.ir

Archive of SID

باکتری‌های مزوفیل هوازی و کلی‌فرم‌ها داشتند. هرچند نباید تأثیر سایر عوامل نظیر محل نمونه‌گیری، نحوه نگه‌داری و فرآوری و هم‌چنین مدت زمان نگه‌داری ادویه را نادیده گرفت. چرا که مواد ضدمیکروبی با گذشت زمان تضعیف شده و اثر ضدباکتریایی آن‌ها را به‌تدریج کاهش خواهند یافت. این عوامل موجب شده است که نتایج آزمون‌های میکروبی در مطالعات مختلف بسیار متنوع و متفاوت باشند (Hassan and Altahi, 2013; Sagoo *et al*., 2011; Sospedra *et al*., 2010).

در مطالعه حاضر ۵۰ درصد از نمونه‌ها آلودگی کلی‌فرمی بالاتر از استاندارد نشان دادند که با یافته‌های تحقیقات متعدد هم‌خوانی داشت (Czech *et al*., 2001; Hassan and Altahi, 2013). آلودگی به کلی‌فرم‌ها نشان‌دهنده شرایط غیربهداشتی و دلیلی بر آلودگی با فاضلاب در مراحل کاشت، برداشت، فرآوری و بسته‌بندی و توزیع ادویه می‌باشد. با توجه به این‌که کود دامی به‌طور متداول جهت پرورش گیاهان استفاده می‌شود و از طرفی فرآوری و آماده‌سازی ادویه غالباً تحت شرایط نامناسب انجام می‌گیرد، لذا حضور کلی‌فرم‌ها در ادویه و گیاهان معطر بسیار محتمل بوده و متناسب با شرایط بهداشتی تهیه و فرآوری و عرضه ادویه است. متفاوت بودن شرایط فوق می‌تواند بر اختلاف جمعیت کلی‌فرم‌ها در ادویه تأثیرگذار باشد (Mortazavi *et al*., 2001).

گزارشات متعددی از سرتاسر دنیا مبنی بر آلودگی ادویه و سبزی‌های معطر به باکتری‌های بیماری‌زای مقاوم به آنتی‌بیوتیک و بروز عفونت به‌واسطه مصرف غذاهای حاوی ادویه آلوده، به‌عمل آمده است. در این راستا بررسی آلودگی میکروبی ادویه با تأکید بر باکتری‌های روده‌ای حائز اهمیت فراوانی است (Vandoren *et al*., 2012). طی مطالعات مختلف گونه‌های متفاوتی از باکتری‌های روده‌ای در ادویه و سبزی‌ها معطر جداسازی شده است. در اروپا گونه‌های *سالمونلا انترتیدیس* و *سالمونلا تایفی‌موریوم* بیشترین نقش را در شیوع بیماری‌های منتقله از مواد غذایی حاوی ادویه داشته‌اند (Zweifel and Stepha, 2012). در آمریکا *اشریشیا کولای*، *سالمونلا*، *انتروباکتر کلواکا* و *کلبسیلا نومونیه* شایع‌ترین باکتری‌های جداسازی شده از باکتری‌های روده‌ای در نمونه فلفل سیاه و رازیانه بودند (Stachell *et al*., 1998). در اسپانیا گونه‌های *اسینتوباکتر کالکواستیکوس* (*Acinetobacter calcoaceticus*) ۱۳٪، *انتروباکتر کلواکا* ۷٪، *انتروباکتر گرگوویا* (*Enterobacter gergoviae*) ۳٪، *انتروباکتر ساکازاکی* (*Enterobacter sakazaki*) ٤٪، *هافنیا آلوئی* ٤٪، *شیگلا سونئی* ٤٪ و *یرسینیا اینترمدیا* (*Yersinia intermedia*) ٤٪ در ادویه و سبزی‌ها معطر جداسازی گردید (Sospodra *et al*., 2010). در بمبئی گونه‌های *سالمونلا* ۱۱٪، *شیگلا* ٤٪، *ویبریو* ٤٪ و *اشریشیاکولای* در تمامی نمونه‌های پودر چیلی و زیره جداسازی گردید (Bhat *et al*., 1987). در انگلستان نیز گونه‌های *سالمونلا مونته‌ویدئو* (*Salmonella montevideo*) در نمونه‌های زیره، *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *سالمونلا سفتنبرگ* (*Salmonella seftenberg*) در نمونه‌های پودر چیلی، *سالمونلا سفتنبرگ* و *سالمونلا تنسی* *tennesse* (*Salmonella*) در نمونه‌های پودر زردچوبه، *سالمونلا سفتنبرگ*، *سالمونلا پونا* (*Salmonella poona*) و *سالمونلا اینفنتیس* (*Salmonella infantis*) در نمونه‌های فلفل سیاه جداسازی گردید (Sagoo *et al*.,

www.SID.ir

Archive of SID

2009). با توجه به یافته‌های بررسی‌های فوق می‌توان به این جمع‌بندی رسید که آلودگی با باکتری‌های روده‌ای تحت شرایط محیطی مختلف، متفاوت می‌باشد. در مطالعه حاضر از ۱۱۰ جدایه از ۲۵ نوع ادویه به‌دست آمد که شامل ۱۳ گونه متنوع باکتریایی بودند. در این میان گونه‌های *اشریشیا کولای* و *اروینیا هریبکولا* بیشترین فراوانی را در نمونه‌های ادویه به‌ترتیب (۲۱/۸۱٪ و ۲۰/۹۰٪) داشتند. یافته‌های مشابهی با نتایج مطالعه حاضر از نظر حضور گسترده *اشریشیاکولای* در ادویه گزارش شده است (DeBoer *et al*., 1985; Mckee, 1995; Garcia *et al*., 2001; Banerjee and Sarkar, 2003). در بین ادویه مختلف، پاپریکا دارای بالاترین تنوع گونه‌ای (۷ گونه) از باکتری‌های روده‌ای بود، در حالی‌که در پودر لیمو، زردچوبه، زنجبیل و جوزهندی فقط یک گونه جداسازی شد. *سالمونلا* در یک مورد از نمونه فلفل سیاه یافت شد. پایین بودن حضور گونه‌های *سالمونلا* در مقایسه با مطالعات دیگر، ممکن است ناشی از رقابت شدید گونه‌های غالب و در نتیجه کاهش احتمال جداسازی آن یا شیوع پایین این باکتری در منطقه مورد مطالعه باشد (Beki and Ulukanl, 2008). به‌علاوه، تنوع باکتریایی می‌تواند متأثر از شرایط فرآوری و نگهداری و نیز خصوصیات ضدمیکروبی ادویه باشد (Souza *et al*., 2005).

در مطالعه حاضر بسیاری از نمونه‌های ادویه و گیاهان معطر حاوی آلودگی بالایی از نظر باکتری‌های مزوفیل هوازی و کلی‌فرم‌ها بودند. به‌علاوه، گونه‌های متنوعی از باکتری‌های روده‌ای با پتانسیل بیماری‌زایی نظیر *اشریشیا کولای*، *سالمونلا انتریکا* و *یرسینیا انتروکولیتیکا* از نمونه‌ها جداسازی گردید. استفاده از کودهای دامی برای پرورش ادویه و گیاهان معطر، استفاده از روش‌های ابتدایی سنتی برای فرآوری و بسته‌بندی آن‌ها در کنار افرادی که فاقد دانش و اطلاعات کافی در زمینه بهداشت فردی هستند، باعث آلودگی بیشتر ادویه می‌شوند. با توجه به این‌که اغلب ادویه در مراحل پایانی تهیه مواد غذایی به غذا اضافه می‌شوند و به احتمال زیاد تحت تأثیر حرارت کشنده قرار نمی‌گیرند، لذا در صورت وجود شرایط لازم تکثیر پیدا کرده و موجبات عفونت غذایی را فراهم می‌آورند. بنابراین لازم است ارزیابی‌های کیفی اعم از آزمایش‌های میکروبیولوژیکی با هدف بررسی وضعیت آلودگی میکروبی در ادویه عرضه شده در بازار و به‌ویژه ادویه وارداتی صورت گیرد. در مرحله تولید ادویه، آموزش‌های بهداشتی برای تولیدکنندگان ارائه شود. در صورت بسته‌بندی ادویه، توصیه می‌شود از روش‌های مناسب نظیر تیمار با ازن، اشعه گاما، تیمار حرارتی و نظایر آن (متناسب با ترکیب و پایداری ادویه) جهت کاهش بار میکروبی استفاده گردد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

- Banerjee, M. and Sarkar, P.K. (2003). Microbiological quality of some retail spices in India. Food Research International, 36: 469-474.
- Beki, I. and Ulukanli, Z. (2008). Enumeration of microorganism and detection of some pathogen in commonly used spices sold openly from retail stores in Kars. Journal of Science, 21(3): 79-85.
- Bhat, R., Geeta, H. and Kulkarni, P. (1987). Microbial profile of Cumin seed and Chili powder sold in retail shopes in the city of Bombay. Journal of Food Protection, 50: 418-423.
- Commission, C.A. (1995). Code of hygienic practice for spices and dried aromatic plants. CAC/RCP, 42.
- Cowan, S.T., Barrow, G.I., Steel, K.J. and Feltham, R.K.A. (2004). Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. Cambridge University Press, p. 130.
- Czech, E., Kneifel, W. and Kopp, B. (2001). Microbiological status commerically avaiable medicinal herbal drug a screeng study. Planta Medica, 67: 263-269.
- De Boer, E., Spiegelenberg, W.M and Janssen, F.W. (1985). Microbiology of spices and herbs. Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology. 51(4): 435-438.
- Garcia, S., Iracheta, F., Galvan, F. and Heredia, N. (2001). Microbiology survey of retail herbs and spices from Mexica markets. Journal of Food Protection, pp. 99-100.
- Hassan, S.A. and Altahi, A.D. (2013). Safety assessment of spices and herbs consumed in Saudi Arabia, Microbiological quality and Toxin production, Life Science Journal, 10(4): 2819-2817.
- Imandel, K. and Adibnia, H. (2000). Microbial contamination of spices (turmeric, black pepper, and sumac) in western part of Tehran. Iranian Journal of Public Health, 29: 37-44. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2008). Microbiology and hygienic specification for spices in clemestic and public use. ISIRI No. 3677. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2001). Spices and condiments. Botanical nomenclature. ISIRI No. 4696. [In Persian]
- McKee, L. (1995). Microbial contamination of spices and herbs: a review. LWT-Food Science and Technology, 28: 1-11.
- Mortazavi, A., Kashani Nejad, M. and Ziaolhagh, H. (2002). Food Microbiology, (Translation). Authors: Frazier, W.C. and Westhoff, D.C. 2nd Reprint, Ferdowsi University of Mashhad Publication, pp. 72-91. [In Persian]
- Pouch, F and Ito, K. (2001). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, pp. 103-116.
- Raccach, M. (1984). The antimicrobial activity of phenolic antioxidants in Food: a review Journal of Food Safety, 6: 141-170.
- Satchell, F.B., Bruce, V.R., Allen, G., Andrews, W.H. and Gerber, H.R. (1988). Microbiological survey of selected imported spices and associated fecal pellet specimens. Journal-Association of Official Analytical Chemists, 72: 632-637.
- Sagoo, S., Little, C., Greenwood, M., Mithani, V., Grant, K., McLauchlin, J. et al. (2009). Assessment of the microbiological safety of dried spices and herbs from production and retail premises in the United Kingdom. Food Microbiology, 26: 39-43.
- Sospedra, I., Soriano, J. and Manes, J. (2010). Assement of the microbiological safety of dired spices and herbs commerialized in spain. Plant Foods for Human Nutrition, 65: 364-368.
- Sedaghat, Z., Mohseni, M., Kamali, K., Hassan, M., Shabani, Sh. and Ferdus, N. (2015). Assessment of contaminated spices released in bulk and packaging (black pepper, red pepper, Sumac, Cinnamon) with aerobic spore in Zanjan. Food Technology and Nutrition, 12(2): 41-48. [In Persian]

www.SID.ir

Archive of SID

- Souza, E.L.D., Stamford, T.L.M., Lima, E.D.O., Trajano, V.N. and Barbosa Filho, J.M. (2005). Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. Brazilian Archives of Biology andTechnology, 48(48): 549-558.
- Shabani, Sh. and Zojaji, M. (2010). Assessment of contaminated spices employed in food preparation concerned with the heat resistant spores. Nutrition Sciences and Food Technology, 4: 83-89. [In Persian]
- Shahraz, F., Kamran, M., Khaksar, R., Hosseini, H., Kargar, S. and Enteshari, M. (2009). Assessment of the microbiological quality of packed spices in the chain stores, Shahrvand, in Tehran in 2007. Iranian Food Science and Technology, 2: 125-131. [In Persian]
- Van Doren, J.M., Neil, K.P., Parish , M. and Gieraltowski, L., Hannah, G. and Gombas, K.L. (2013). Foodbrone illness out breaks from microbial contaminants in spices. Food Microbiology, pp: 456-464.
- Zakerin, A., Ahmadi, E . Fasihi-Ramandi, M., Abdollahi, S., Molazadeh, A., Jafari, S. et al. (2015). The effects of ecologic condition on antimicrobial activity of endemic herbal extracts in fars province. Journal of Fasa University of Medical Sciences, 5(1): 111-119. [In persian]
- Zweifel, C. and Stephan, R. (2012). Spices and herbs as source of Salmonella-related foodborne diseases. Food Research International, 45: 765-769.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Food Hygiene, Vol. 8, No. 30 Summer 2018

Contamination of spices and herbs marketed in Tabriz: microbial load and diversity of enteric bacteria

Moladoust, S.[1], Hanifian, S.[2, 3*]

1. M.Sc Graduate of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Associate Professor of Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
3. Biotechnology Research Center, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

*Corresponding Author's E.mail: hanifian@iaut.ac.ir

(Received: 2017/8/3 Accepted: 2018/1/4**)**

Abstract

Spices and seasonings are of herbal origin and are used to improve the aroma, flavor, and color of foods. Similar to the other agriculture products, microbial contamination of spice plants are a great challenge to the wholesomeness of foodstuff. *Enterobacteriaceae* are of great concern in food hygiene so that the determination of enteric bacteria is the most regular assay for the evaluation of food safety. This study aimed to investigate the microbiological load and the diversity of enteric bacteria in spices and herbs marketed in Tabriz. A total of 125 samples consisting of 25 types of spices and herbs from 5 distinct regions of Tabriz was collected. According to the results, all samples contained aerobic mesophilic bacteria and coliforms. In 28% and 40% of the samples, the mean population of aerobic mesophilic bacteria and coliforms were beyond the ICMSF limit, respectively. Moreover, 110 isolates of enteric bacteria consisting 13 various species were identified. Highest and lowest occurrence rate of enteric bacteria was determined as *Escherichia coli* (21.81%) and *Salmonella enterica* (0.9%), respectively. Excessive microbial contamination of the samples and particularly, the presence of various enteric bacteria -with the potential of pathogenicity- is considered as an indication of health hazard. Therefore, it is necessary to apply appropriate decontamination procedures such as thermal processes, ozone treatment or irradiation in order to eradicate the microbial contamination of spices.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: *Enterobacteriaceae*, Diversity, Spices, Herbs

www.SID.ir