

“Research article”

DOI: 10.30495/JFH.2020.1901127.1276

Assessment of microbial contamination in packed fresh vegetable to ready for use, in Mashhad

Ghodusi, R.¹, Azhdari, A.^{2*}

1. MSc Graduate of Food Science and Technology, Birjand Branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran
2. Assistance Professor, Department of Food Science and Technology, Birjand Branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran

*Corresponding Author: ataazhdari@yahoo.com
(Received: 2020/6/12 Accepted: 2020/11/28)

Abstract

Vegetables are one of the main categories of the food pyramid and their consumption plays a vital role in the health promotion of the community. On the other hand, the incidence of microbial diseases caused by the consumption of contaminated vegetables has been increasing. The aim of this study was to determine the microbial contamination of different kinds of ready for use packaged vegetables in Mashhad, Iran. For this, a total of 200 vegetable samples were randomly collected from different regions of Mashhad. samples were examined with the standard methods in terms of the aerobic mesophilic bacteria, coliforms, *Escherichia coli*, mold, and parasitic eggs. Results showed that in 19%, 14%, 8%, 13%, and 3.5% of the samples, the contamination rate of aerobic mesophilic bacteria, coliform, *Escherichia coli*, mold, and the parasitic eggs was higher than Iranian National Standard limits, respectively. In addition, a total of 31% of the samples were unusable due to excessive microbial contamination. Therefore, producers and consumers should be given the necessary training to use hygienic rules and stricter preventive measuring is also recommended.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Vegetable, Microbial Contamination, *Escherichia coli*, Parasitic eggs, Mashhad

DOI: 10.30495/JFH.2020.1901127.1276

«مقاله پژوهشی»

بررسی آلودگی میکروبی در سبزی‌های بسته‌بندی شده آماده مصرف مشهد

رضیه قدوسی^۱، عطااله اژدری^{۲*}

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران

۲. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: ataaazhdari@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۹/۱/۶ پذیرش نهایی: ۹۹/۹/۶)

چکیده

سبزیجات از گروه‌های اصلی هرم غذایی محسوب شده و مصرف آن‌ها نقش اساسی در ارتقاء سطح سلامت افراد جامعه دارد. از طرفی امروزه ابتلا به بیماری‌های میکروبی ناشی از مصرف انواع سبزی آلوده روند افزایشی پیدا کرده است. این مطالعه باهدف تعیین میزان آلودگی میکروبی سبزی‌های بسته‌بندی شده آماده مصرف در شهر مشهد انجام گرفت. در این پژوهش در مجموع تعداد ۲۰۰ نمونه سبزی خوردن از مناطق مختلف شهر مشهد به صورت کاملاً تصادفی جمع‌آوری و هر یک از نمونه‌ها بر اساس روش‌های مرجع و استاندارد از لحاظ شمارش مزوفیل‌های هوازی، میزان آلودگی به کلی‌فرم‌ها، /شیریشیاکولای، کپک و همچنین تخم انگل مورد آزمون قرار گرفتند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد میزان آلودگی به مزوفیل‌های هوازی، کلی‌فرم‌ها، /شیریشیاکولای، کپک و تخم انگل به ترتیب در ۱۹، ۱۴، ۸، ۱۳ و ۳/۵ درصد نمونه‌ها بالاتر از حد مجاز بود. در مجموع ۳۱ درصد نمونه‌های مورد آزمون به دلیل آلودگی میکروبی بیش‌ازحد غیرقابل مصرف گزارش شدند. در این زمینه ارائه آموزش‌های لازم به تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان سبزیجات جهت رعایت قوانین بهداشتی ضروری است، ضمن آن‌که اعمال نظارت‌های پیشگیرانه دقیق‌تر از جانب سازمان‌ها و ارگان‌های ذی‌ربط نیز توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آلودگی میکروبی، /شیریشیاکولای، تخم انگل، سبزی خوردن، مشهد

مقدمه

از قبیل باکتری‌های کلی‌فرم مدفوعی به شمار می‌آیند (Doyle, 1990). از این رو سالانه موارد متعددی از آلودگی به پاتوژن‌هایی نظیر *اشریشیاکولای*، *سالمونلا*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *شیگلا*، و *ویروس هپاتیت آ* و نظایر آن به واسطه مصرف سبزیجات تازه آلوده گزارش می‌شود (De Roever, 1998). در ایران شیوع بعضی بیماری‌های واگیردار نظیر وبا در اثر مصرف سبزیجات آلوده گزارش شده است (Rahbar et al., 2007).

سبزیجات به دلیل داشتن فعالیت آبی بالا و مواد مغذی کافی، محیط مناسبی برای رشد انواع باکتری‌ها به شمار می‌روند (Song et al., 2006). شمارش کلی میکروارگانیزم‌های مزوفیل، یکی از شاخص‌های میکروبی ارزیابی کیفیت انواع مواد غذایی محسوب شده و منعکس‌کننده وضعیت قرارگرفتن محصول موردنظر در معرض هرگونه آلودگی است. این پارامتر جهت ارزیابی مراحل مختلف تمیز کردن، ضدعفونی، بسته‌بندی و کنترل دما در هر یک از مراحل تولید و انبارمانی به کار می‌رود (Aycicek et al., 2006). کلی‌فرم‌ها بخشی از خانواده اتروباکتریاسه هستند که محل زندگی آن‌ها در روده انسان و حیوانات و یا مکان‌هایی غیر از دستگاه گوارش نظیر خاک و آب می‌باشد. این باکتری‌ها، نسبت به مهارکننده‌هایی نظیر کریستال‌ویوله، املح صفاوی و سبز درخشان مقاومند و در دمای ۳۷-۳۲ درجه سلسیوس طی مدت‌زمان ۲۴ الی ۴۸ ساعت قادر به تخمیر قند لاکتوز بوده و اسید و گاز تولید می‌کنند (ISIRI, 9263/2007). *اشریشیاکولای* منشأ مدفوعی داشته و از آن جهت که در محتویات روده انسان و حیوانات یافت می‌شود وجودش در انواع مواد غذایی از جمله سبزیجات بسته‌بندی شده نامطلوب بوده

بیماری‌های منتقله از غذا، طیف وسیعی از بیماری‌هایی هستند که پس از خوردن غذاهای آلوده بروز می‌کنند. این بیماری‌ها هزینه هنگفتی برای جوامع بشری به بار می‌آورند، ضمن آن‌که بسیاری از پاتوژن‌های غذایی می‌توانند عوارض مزمن ایجاد کنند (Hanson et al., 2012). سبزی خوردن بسته‌بندی شده آماده مصرف عبارت است از فرآورده‌ای شامل انواع سبزیجات مانند جعفری، پیازچه، ریحان، نعناع تازه، تره، شنبلیله، ترخان و مرزه که پس از پاک کردن، شستشو، ضدعفونی و آبگیری، بسته‌بندی و آماده مصرف می‌شود (ISIRI, 10082/2008). سبزیجات حاوی انواع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ویتامین‌ها و مواد معدنی ضروری برای بدن انسان بوده و از ارزش تغذیه‌ای بالایی برخوردارند. خواص ضد سرطانی سبزیجات و تأثیر آن‌ها در کاهش ابتلا به برخی بیماری‌ها نظیر بیماری‌های قلبی و عروقی به اثبات رسیده است لذا استفاده از این گروه مواد غذایی باارزش در رژیم غذایی روزانه افراد در گروه‌های سنی مختلف ضروری است (Atoui et al., 2005). بر همین اساس سازمان جهانی بهداشت مصرف حدود ۴۰۰ گرم انواع سبزی در روز را جهت حفظ سلامتی انسان مفید می‌داند (Abdi et al., 2015).

در دهه‌های اخیر با توجه به مشکل کمبود منابع آب شیرین و بالا بودن هزینه‌های تصفیه فاضلاب، مواردی از آبیاری زمین‌های تحت کشت سبزیجات با استفاده از فاضلاب خام و پساب‌های آلوده گزارش شده و از کودهای انسانی و حیوانی جهت تقویت رشد این‌گونه محصولات استفاده می‌شود. سبزیجات حاصل از این زمین‌ها از منابع مهم مواجهه با پاتوژن‌های مهم انسانی

به صورت آماده برای مصرف اشاره کرد (Estiri *et al.*, 2010).

با عنایت به این که تاکنون بررسی‌های کاربردی و عملی در مورد وضعیت آلودگی میکروبی انواع سبزی خوردن بسته‌بندی شده و آماده مصرف در شهر مشهد انجام نشده است، این تحقیق باهدف تعیین وضعیت این فرآورده از لحاظ میزان آلودگی به باکتری‌های مزوفیل هوازی، کلی فرم‌ها، اشریشیاکولای، کپک و تخم انگل انجام گردید.

مواد و روش‌ها

- روش نمونه‌گیری

در مجموع تعداد ۲۰۰ نمونه سبزی خوردن بسته‌بندی شده و آماده مصرف از مناطق مختلف شهر مشهد نمونه‌گیری شد. حجم هر نمونه معادل یک بسته از سبزی خوردن بسته‌بندی شده در نظر گرفته شد. نمونه‌ها در کوتاه‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه میکروبیولوژی منتقل و در اسرع وقت بر اساس روش‌های مرجع و استاندارد آزمون‌های لازم در مورد آن‌ها صورت پذیرفت (ISIRI, 622/1993).

- شمارش مزوفیل‌های هوازی

قبل از انجام کشت‌های میکروبی، از هر یک از نمونه‌های سبزی که قبلاً کدگذاری و همگن شده بود، با استفاده از رقیق‌کننده آب پپتونه بافری رقت‌های سریالی تهیه شد (ISIRI, 8923-4/2019). برای شمارش کلی میکروارگانسیم‌های مزوفیل از دو رقت متوالی تهیه شده از هر نمونه به روش کشت مخلوط در محیط کشت پلیت کانت آگار (Merck, Germany) کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۷۲-۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه

و می‌تواند دلیلی بر آلودگی آن فرآورده با مدفوع انسان یا حیوان باشد (Karim, 2015).

علاوه بر باکتری‌ها، کپک‌ها نیز نقش مهمی در کاهش کیفیت مواد غذایی داشته و باعث کاهش مدت زمان نگهداری انواع مواد غذایی از جمله سبزیجات می‌شوند. آلودگی سبزیجات به کپک‌ها علاوه بر احتمال ایجاد عوارض بهداشتی و کاهش کیفیت محصول، از نظر ایجاد ضرر و زیان اقتصادی نیز بسیار بااهمیت است. حد مجاز آلودگی به کپک در سبزی خوردن بسته‌بندی شده $3 \log \text{cfu/g}$ می‌باشد (ISIRI, 10082/2008). در این رابطه محققین طی پژوهشی میانگین جمعیت کپک و مخمر را در نمونه‌های سبزی شسته نشده $4/2 \log \text{cfu/g}$ و در سبزی‌های شسته شده و ضدعفونی شده $2/7 \log \text{cfu/g}$ گزارش کردند (Bahreini *et al.*, 2011).

بیماری‌های انگلی از مشکلات مهم بهداشتی محسوب شده و مبارزه با آن‌ها همواره بخش مهمی از برنامه‌ریزی‌های ملی را به خود اختصاص داده است. آلودگی‌های انگلی از طریق خاک، آب و انواع مواد غذایی آلوده از جمله سبزی به انسان سرایت می‌کنند و عوارضی از قبیل اختلالات گوارشی، سوءتغذیه، کم‌خونی و آلرژی ایجاد کرده و حتی گاهی زندگی بیمار را تهدید می‌نمایند (Shahnazi, 2009).

استفاده از انواع گندزداها و مواد ضدعفونی‌کننده مناسب از جمله راه‌های پیشگیری از ابتلا به بیماری‌های منتقله از سبزیجات آلوده به شمار می‌رود. در کشور ما در سال‌های اخیر تلاش‌های فراوانی در جهت سالم‌سازی سبزیجات صورت پذیرفته است که از آن جمله می‌توان به استفاده از فناوری‌های جدید فراوری، باکتری‌زدایی و انگل‌زدایی سبزیجات در کارگاه‌ها و بسته‌بندی آن‌ها

پی‌پت در شرایط استریل مجدداً به لوله‌های آزمایش حاوی لوله دورهام و محیط کشت بریلیانت گرین بایل لاکتوز براث و همچنین به محیط کشت پیتون واتر (Merck, Germany) منتقل و این‌بار به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۴۴ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید. در این مرحله در صورت تجمع گاز در لوله دورهام باکتری موردنظر به‌عنوان کلی‌فرم مدفوعی در نظر گرفته می‌شد. در مورد جدایه‌های کلی‌فرم مدفوعی که اندول مثبت بودند جهت تأیید، آزمون‌های IMVIC و همچنین کشت در محیط‌های کشت اتوزین متیلن بلو (Merck, Germany) و سه قندی آهن‌دار (Merck, Germany) نیز صورت گرفت (Karim, 2015).

- شمارش جمعیت کپک

برای تعیین میزان آلودگی به کپک از رقت‌های تهیه‌شده در محیط کشت عصاره مخمر دکستروز کلرامفنیکل آگار (Merck, Germany) به روش کشت سطحی کشت داده شد و پلیت‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۳-۵ روز گرمخانه‌گذاری گردیدند. در صورتی که در روز پنجم گرمخانه‌گذاری قسمت‌هایی از پلیت با رشد بیش‌ازحد کپک پوشانده شده و شمارش کلنی‌های مجزا با مشکل مواجه می‌شد کلنی‌های شمارش‌شده در روزهای سوم و چهارم معیار محاسبه میزان آلودگی به کپک در هر گرم از نمونه‌های سبزی قرار می‌گرفت (ISIRI, 10899-1/2008).

- بررسی میزان آلودگی با تخم انگل

جهت بررسی میزان آلودگی به تخم انگل، نمونه‌های سبزی به مدت ۳۰ دقیقه در یک سطل حاوی ۵ لیتر آب و ۱۰ گرم دترجنت آنیونی ریخته شد تا چسبندگی لاروها و تخم‌های انگلی به سبزی‌ها برطرف و وارد آب شوند.

سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. نهایتاً تعداد کلنی‌ها در هر پلیت شمارش و تعداد مزوفیل‌های هوازی در هر گرم از نمونه محاسبه شد (ISIRI, 5272/2007).

- شمارش کلی‌فرم‌ها و ردیابی اشریشیا کولای

جهت شمارش کلی‌فرم‌ها از هر یک از رقت‌های تهیه‌شده در محیط ویولت رد بایل لاکتوز آگار (Merck, Germany) کشت مخلوط به‌صورت دولایه انجام گرفت و پلیت‌ها به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. پس‌از این مدت در محیط کشت مذکور کلنی‌هایی که به رنگ قرمز مایل به بنفش بودند به‌عنوان باکتری‌های کلی‌فرم احتمالی شمارش شدند (ISIRI, 9263/2007). کلنی‌های مشکوک به کلی‌فرم به لوله‌های آزمایش حاوی لوله دورهام و محیط کشت بریلیانت گرین بایل لاکتوز براث (Merck, Germany) منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. هر یک از لوله‌های آزمایش حاوی حباب گاز به‌عنوان کلی‌فرم تأییدشده و تعداد آن‌ها در هر گرم از نمونه محاسبه گردید. در این رابطه از پلیت‌هایی که تعداد کلنی‌های مشکوک به کلی‌فرم آن‌ها بیش از ۱۰ عدد بود، تعداد ۵ کلنی از قسمت‌های مختلف پلیت انتخاب و تأیید شد (ISIRI, 9263/2007).

اکتری اشریشیا کولای، کلی‌فرم مدفوعی بوده و در دمای ۴۵-۴۴ درجه سلسیوس نیز قند لاکتوز را تخمیر کرده و گاز تولید می‌کند. در همین دما قادر است اسیدآمینه تریپتوفان را تجزیه کرده و اندول تولید نماید (Karim et al., 2009)؛ بنابراین جهت شناسایی اشریشیا کولای حدود ۱ میلی‌لیتر از محیط کشت بریلیانت گرین بایل لاکتوز براث گازدار حاصل از مرحله قبل با کمک

یافته‌ها

این مطالعه توصیفی تحلیلی بر روی تعداد ۲۰۰ نمونه سبزی خوردن بسته‌بندی شده انجام شد. در جدول (۱) میانگین آلودگی نمونه‌های سبزی مورد مطالعه به باکتری‌های مزوفیل هوازی، کلی‌فرم‌ها و کپک با حد مجاز استاندارد ملی ایران مقایسه شده است (ISIRI, 10082/2008). بر این اساس میانگین مزوفیل‌های هوازی معادل $5/05 \log \text{cfu/g}$ ، میانگین کلی‌فرم‌ها $1/098 \log \text{cfu/g}$ و میانگین میزان آلودگی به کپک $2/244 \log \text{cfu/g}$ تعیین گردید. میانگین شمارش مزوفیل‌های هوازی و نیز میانگین آلودگی به کلی‌فرم‌ها در هر گرم از مجموع نمونه‌های سبزی مورد مطالعه به‌طور معنی‌داری کمتر از استاندارد ملی بود ($P < 0/01$) ولی میانگین تعداد کپک در هر گرم از مجموع نمونه‌های سبزی مورد مطالعه با استاندارد ملی ایران تفاوت آماری معنی‌داری نداشت.

سطح حدود ۲۴ ساعت به‌حالت سکون نگه‌داشته شد تا اجزای انگلی ته‌نشین شوند. مایع رویی خارج‌شده و رسوب ته‌سطل در ظروف کوچک یک لیتری جمع‌آوری گردید. مایع روی رسوب تخلیه و رسوب‌های هر نمونه در چند لوله سانتریفیوژ تقسیم و به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. از رسوب حاصله با استفاده از سرم فیزیولوژی و لوگل، لام میکروسکوپی تهیه و از لحاظ وجود تخم انگل مورد ارزیابی قرار گرفت (Bier, 1991).

- تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل از هر یک از آزمون‌های میکروبی با حد مجاز استاندارد ایران در زمینه آلودگی میکروبی سبزی خوردن بسته‌بندی شده (ISIRI, 10082/2008) مقایسه و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بدین منظور از نرم‌افزار SPSS-19 و آزمون آماری t-test استفاده شده و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول (۱): مقایسه میانگین مزوفیل‌های هوازی، کلی‌فرم‌ها و کپک با حد مجاز استاندارد ملی ($\log \text{cfu/g}$) در نمونه‌های سبزی مورد مطالعه

گروه میکروبی	دامنه تغییرات	انحراف معیار \pm میانگین	حد مجاز استاندارد	p-value
مزوفیل‌های هوازی	۲/۶۹ - ۷/۲۵	$5/05 \pm 0/98$	۶	$t = 13/75$ $p < 0/001^*$
باکتری‌های کلی‌فرم	۰ - ۳/۴	$1/098 \pm 0/87$	۲	$t = 14/7$ $P < 0/001^*$
کپک	۹۴ - ۰	$2/24 \pm 6/58$	۳	$t = 13/75$ $P = 0/11$

مزوفیل‌های هوازی، کلی‌فرم‌ها و کپک نیز به ترتیب $\log \text{cfu/g}$ ۶، ۲ و ۳ تعیین گردید (ISIRI, 10082/2008). نتایج این پژوهش نشان داد که به ترتیب ۸ و ۳/۵ درصد از نمونه‌های سبزی مورد مطالعه به *اشریشیا کولای* و تخم انگل آلوده بودند. ضمن آن‌که بر اساس میزان

در جدول (۲) توزیع فراوانی وضعیت آلودگی به هر یک از میکروب‌های مورد مطالعه در نمونه‌های سبزی بسته‌بندی شده ذکر شده است. سبزی خوردن بسته‌بندی شده نباید به باکتری *اشریشیا کولای* و نیز تخم انگل آلوده باشد ضمن آن‌که حد مجاز آلودگی به

آلودگی به مزوفیل‌های هوازی، کلی‌فرم‌ها و کپک نیز به ترتیب ۱۹، ۱۴ و ۱۳ درصد از نمونه‌های مورد مطالعه غیرقابل مصرف بودند.

جدول (۲) - توزیع فراوانی وضعیت آلودگی به هر یک از میکروب‌های مورد مطالعه در نمونه‌های سبزی بسته‌بندی شده

نام متغیر	قابل استفاده (درصد) فراوانی	غیر قابل استفاده (درصد) فراوانی
اشریشیا کولای	۱۸۴(۹۲)	۱۶(۸)
تخم انگل	۱۹۳(۹۶/۵)	۷(۳/۵)
مزوفیل‌های هوازی	۱۶۲(۸۱)	۳۸(۱۹)
باکتری‌های کلی‌فرم	۱۷۲(۸۶)	۲۸(۱۴)
کپک	۱۷۴(۸۷)	۲۶(۱۳)

بحث و نتیجه‌گیری

سبزیجات تازه منابع مهم انواع مواد مغذی، ویتامین و فیبر بوده و مصرف آن‌ها در سال‌های اخیر به دلیل توجه ویژه به ارتقای سطح سلامت و تغذیه صحیح افزایش یافته است (Olaïmat and Holley, 2012). بی‌توجهی به موازین بهداشتی در مراحل مختلف کاشت، داشت، برداشت، عدم رعایت کامل اصول بهداشت فردی کارکنان و همچنین عدم شستشوی صحیح در اکثر موارد می‌تواند منجر به آلودگی این محصولات به انواع میکروب‌های پاتوژن شود (Brackett and Splittstoesser, 2001) که این امر بروز بیماری‌های منتقله از غذا در نتیجه مصرف چنین محصولات آلوده‌ای را افزایش می‌دهد (Beuchat, 2002). به‌عنوان مثال در یک همه‌گیری در آمریکا به‌واسطه مصرف اسفناج آلوده به باکتری اشریشیا کولای سویه O157:H7 تعداد ۲۰۰ نفر مبتلا به بیماری شده و ۳ نفر فوت کردند (Bahreini et al., 2011).

حد مجاز شمارش مزوفیل‌های هوازی در انواع سبزی خوردن بسته‌بندی شده و آماده مصرف $\log \text{cfu/g}$ ۶ است (ISIRI, 10082/2008). در این مطالعه میانگین شمارش مزوفیل‌های هوازی در نمونه‌های سبزی مورد ارزیابی $\log \text{cfu/g}$ ۵/۰۵ تعیین گردید که این میزان به‌طور معنی‌داری کمتر از حد مجاز استاندارد ملی بود ($P < 0/001$) ولی در ۱۹ درصد از نمونه‌های مورد مطالعه آلودگی به این باکتری‌ها بیش از حد مجاز استاندارد ارزیابی گردید. محققین در هندوستان طی بررسی چند نوع جوانه از جمله جوانه ماش، میانگین شمارش کلی میکروب‌های هوازی را $\log \text{cfu/g}$ ۸/۹ تا ۷/۶ گزارش کردند (Saroj et al., 2006). در مطالعه‌ای دیگر میانگین شمارش مزوفیل‌های هوازی در اسفناج بسته‌بندی شده $\log \text{cfu/g}$ ۷/۷ در نوع معمولی و $\log \text{cfu/g}$ ۷/۲ در نوع ارگانیک تعیین گردید که نشان‌دهنده میزان بالای آلودگی در این محصول می‌باشد (Valentin-Bon et al., 2008). در آمریکا میزان آلودگی به میکروب‌های هوازی را در نمونه‌های گشنیز، شوید،

در مطالعه حاضر تعداد ۱۶ نمونه (۸ درصد) به *اشریشیا کولای* و ۷ نمونه (۳/۵ درصد) به تخم انگل آلوده بودند. در حالی که انواع سبزی خوردن آماده مصرف نباید آلوده به این میکروب‌ها باشند (ISIRI, 10082/2008). گزارش‌های متعددی مبنی بر آلودگی انواع غذاها از جمله سبزی‌ها به *اشریشیا کولای* وجود دارد. مثلاً حضور این میکروب در آب سیب، کلم، کرفس، گشنیز، جوانه شاهی، کاهو و گوجه‌فرنگی گزارش شده است (Buck, 2003). در ارزیابی میکروبی انواع ارگانیک و معمولی اسفناج در کانادا به ترتیب ۳/۸ درصد و ۲/۱ درصد به باکتری *اشریشیا کولای* آلوده بودند (Bohaychuk et al., 2009). در ترکیه آلودگی به کلی‌فرم‌ها و *اشریشیا کولای* در نمونه‌های سبزی به ترتیب $7/4 \log \text{cfu/g}$ و $3/8$ تخمین زده شد (Aycicek, 2006). در اسپانیا ۴۰ درصد نمونه‌های مورد مطالعه به این باکتری آلوده بودند (Abadias et al., 2008) ولی در مینه‌سوتا فراوانی *اشریشیا کولای* در کلم بروکلی و فلفل سبز صفر درصد گزارش شد که بیانگر رعایت دقیق موارد بهداشتی در روند تهیه و عرضه این فرآورده‌ها است (Mukherjee et al., 2004). در بررسی تعداد ۱۲۰ نمونه از سبزیجات خام شهر اراک $68/3$ درصد آلودگی به انگل‌های مختلف گزارش شد (Davami et al., 2000). در مطالعه‌ای دیگر در بوشهر مشخص شد که $12/5$ درصد از سبزیجات خام به انگل‌های مختلف آلوده بوده‌اند (Sahebani et al., 1999). طی ارزیابی میزان آلودگی انگلی سبزی‌های مصرفی شهر قزوین مشخص گردید که از مجموع ۱۵۰ نمونه، ۵۳ مورد ($35/3$ درصد) آلودگی انگلی داشتند (Shahnazi, 2009). میزان آلودگی انگلی سبزیجات در این مطالعه نسبت به برخی از مطالعات مشابه که

جعفری و اسفناج به ترتیب $6/1$ ، $5/4$ ، $5/6$ و $5/8$ اعلام کردند (Johnston et al., 2005). در اسپانیا شمارش مزوفیل‌های هوازی در جوانه‌ها به طور متوسط $7/3 \log \text{cfu/g}$ گزارش گردید (Abadias et al., 2008). در ژاپن نیز میانگین شمارش کلی میکروبی در نمونه‌های اسفناج مورد مطالعه بین $4/5$ تا $4/9$ $\log \text{cfu/g}$ بود (Izumi et al., 2004). محققین طی ارزیابی میزان آلودگی سبزی در مراحل مختلف شستشو و بسته‌بندی، تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی در نمونه‌های سبزی را به طور میانگین $6/9 \log \text{cfu/g}$ تا $4/6$ گزارش کردند (Bahreini et al., 2011).

در زمینه آلودگی سبزیجات به کلی‌فرم‌ها و کپک حد مجاز استاندارد به ترتیب $2 \log \text{cfu/g}$ و $3 \log \text{cfu/g}$ می‌باشد (ISIRI, 10082/2008). در این پژوهش میانگین آلودگی به میکروب‌های فوق به ترتیب $1/098$ و $2/24 \log \text{cfu/g}$ بود. در این رابطه میانگین آلودگی به کلی‌فرم‌ها به طور معنی‌داری از حد مجاز استاندارد ملی کمتر بود ($P < 0/01$) ولی میانگین تعداد کپک در هر گرم از نمونه‌ها با حد مجاز استاندارد ملی ایران تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. لازم به ذکر است میزان آلودگی نمونه‌های سبزی مورد بررسی به کلی‌فرم‌ها و کپک به ترتیب در 86 درصد و 87 درصد نمونه‌ها در حد مجاز استاندارد بود (ISIRI, 10082/2008). در برزیل در نمونه‌های کاهو میانگین آلودگی به باکتری‌های کلی‌فرم را $3/25 \log \text{cfu/g}$ گزارش کردند (Nascimento, 2003). در مطالعه‌ای دیگر میانگین آلودگی اولیه نمونه‌های کاهو به کلی‌فرم‌ها $36 \log \text{cfu/g}$ گزارش گردید (Yarahmadi et al., 2011).

حشرات، کود کمپوست نشده، حیوانات اهلی و وحشی و دست‌کاری‌های انسان باشد. منابع آلودگی پس از برداشت نیز شامل مدفوع، دست‌کاری‌ها، تجهیزات برداشت محصول، وسایل و ظروف حمل و نقل، حیوانات اهلی و وحشی، حشرات، گردوغبار، آب شستشو، یخ و وسایل فراوری است (Beuchat, 2002). در بسیاری از کشورها، فاضلاب‌های شهری برای آبیاری مزارع کشاورزی استفاده می‌شود که پاتوژن‌های روده‌ای موجود در آن‌ها، در خاک و محصولات باقی‌مانده و مشکلات بهداشتی برای انسان ایجاد می‌کنند. کود یکی دیگر از عوامل آلوده‌کننده مزارع به باکتری‌هایی از قبیل *شریشیاکولای* است که می‌تواند هفته‌ها و ماه‌ها در خاک باقی‌مانده و باعث آلودگی محصول گردد (Ceuppens, 2014). هرچند شستن پس از برداشت محصول تازه، روش مهمی برای کاهش پاتوژن‌ها می‌باشد ولی برخی عوامل از جمله وجود پاتوژن در داخل بافت گیاه، تشکیل بیوفیلم توسط باکتری و نیز آب‌گریزی سطح گیاه اثربخشی آن را محدود می‌کنند (Olaïmat and Holley., 2012).

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان بیان داشت که میزان آلودگی در سبزی بسته‌بندی شده و آماده مصرفی که در شهر مشهد عرضه می‌شود تا حدودی نگران‌کننده است لذا در این زمینه ارائه راهکارهای مناسب به مصرف‌کنندگان سبزیجات جهت رعایت قوانین بهداشتی ضروری بوده ضمن آن‌که اعمال نظارت‌های پیشگیرانه دقیق‌تر از جانب سازمان‌ها و ارگان‌های ذی‌ربط نیز توصیه می‌شود. علاوه بر آن ارزیابی وضعیت میکروبی منابع آبی مورد استفاده در مزارع سبزی و نیز ارائه آموزش‌های لازم در رابطه با

پیش‌ازاین اشاره شد کمتر بود. از دلایل عمده این امر می‌توان به شرایط آب‌وهوایی منطقه، میزان کم رطوبت هوا و میانگین پایین بارندگی سالانه اشاره کرد که این شرایط جهت رشد و تکثیر انگل‌ها چندان مطلوب نیست.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ۳۱ درصد نمونه‌های سبزی مورد آزمون به دلیل آلودگی میکروبی بیش‌ازحد، غیرقابل مصرف بودند. در این رابطه محققین در بررسی *شریشیاکولای*، *انتروکوکوس* و شمارش مزوفیل‌های هوازی در سبزی‌های تازه بسته‌بندی شده و غیربسته‌بندی شده در تهران نشان دادند که ۱۰۰ درصد نمونه‌های اسفناج، جوانه گندم و جوانه ماش و نیز به ترتیب ۶۰، ۹۰ و ۴۰ درصد نمونه‌های پیازچه، ریحان و قارچ غیرقابل مصرف بودند. در مجموع نیز ۸۲ درصد نمونه‌ها آلودگی بیش‌ازحد مجاز به یک یا چند عامل داشتند (Soltan Dallal, et al., 2016). در اسپانیا نیز در ۵۰ درصد سبزی‌های مورد مطالعه، آلودگی مشاهده شد (Falomir et al., 2013).

به‌طورکلی نتایج حاصل از این تحقیق در مواردی با آنچه محققین دیگر در پژوهش‌های مشابه خود در سایر مناطق ارائه کرده‌اند مشابه بوده و در برخی موارد نیز تفاوت‌هایی در این خصوص به چشم می‌خورد. در این زمینه می‌توان بیان داشت که آلودگی میکروبی سبزیجات بازتاب مستقیمی از کیفیت بهداشتی آب مورد استفاده در مرحله کاشت، چگونگی روند برداشت، حمل و نقل، ذخیره‌سازی، فرآوری و عرضه محصول است. منابع بالقوه آلوده‌کننده پیش از برداشت محصولات می‌تواند خاک، مدفوع، آب آبیاری، آب به‌کاربرده شده جهت استفاده از قارچ‌کش‌ها و حشره‌کش‌ها، گردوخاک،

استفاده مناسب از منابع آبی، انواع کودها و غیره به کشاورزان و افراد دخیل در امر تولید و عرضه این محصولات نیز مفید خواهد بود.

تعارض منافع
نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

منابع

- Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C. and Vinas, I. (2008). Microbiological quality of fresh, minimally processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *Food Microbiology*, 123: 121-129.
- Abdi, F., Atarodi kashani, Z., Mirmiran, P. and Esteki, T. (2015). Surveying Global and Iranian Food Consumption Patterns: A Review of the Literature. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*; 5(2): 159-167
- Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G. and Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*; 89 (1):27-36.
- Aycicek, H., Oguz, U. and Karci, K. (2006). Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara, Turkey. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 209(2): 197-201
- Bahreini, M., Habibi Najafi, M.B., Bassami, M.R., Abbaszadegan, M., Bahrami, A.R. and Ejtehadi H. (2011). Microbial Load Evaluation of fresh-cut vegetables during processing steps in a vegetable processing plant using minimally processing approach. *Iranian Food science and Technology Research Journal*; 7(3): 235-242. [In Persian]
- Beuchat, L.R. (2002). Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes and Infection*; 4(4): 413-423.
- Bier, J.W. (1991). Isolation of parasites on fruits and vegetables. *Southeast Asian Journal Tropical Medicine and Public Health*. 22: 144-145.
- Bohaychuk, V.M., Bradbury, R.W., Dimock, R., Fehr, M., Gensler, G.E., King, R.K., et al. (2009). A microbiological survey of selected Alberta-grown fresh produce from farmers' markets in Alberta, Canada. *Journal of Food Protection*; 72(2): 415-420
- Brackett, R.E. and Splittstoesser, D.F. (2001). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. In: Downes FP, Ito K, Editors. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4th ed. Washington, DC: American Public Health Association; p. 515-520
- Buck, J.W., Walcott, R.R. and Beuchat, L.R. (2003). Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables. *Plant Health Progress*; 10(1): 1094.
- Ceuppens, S., Hessel, C.T., Quadros Rodrigues, R., Bartz, S., Tondo, E.C. and Uyttendaele, M. (2014). Microbiological quality and safety assessment of lettuce production in Brazil. *International Journal of Food Microbiology*; 181(1): 67-76.
- Davami, M., Mosayyebi, M. and Mahdavi-pour, A. (2000). Prevalence of parasitic infections in consumed vegetables in Ardabil city. *Journal of Radiation Application and Instrumentation*. 3(2): 18-22.
- De Roeve, C. (1998). Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce. *Journal of Food Control*; 9(6): 321-347.
- Doyle, M.P. (1990). Fruit and vegetable safety-microbiological considerations. *Journal of Horticultural Science*; 25 (12): 1478-82.

- Estiri, H., Ranjbar Bahadori, S. and Kashefinejad, M. (2010). Comparing the vegetable infection before and after washing, disinfecting and packaging vegetable processing farms in Sabzevar, Iran. *Journal of Sabzevar University of Medical Science*. 16(4): 234-239
- Falomir, M.P., Rico, H. and Gozalbo, D. (2013). Enterobacter and Klebsiella species isolated from fresh vegetables marketed in Valencia (Spain) and their clinically relevant resistances to chemotherapeutic agents. *Foodborne Pathogens and Disease*. 10(12): 1002-1007
- Hanson, L.A., Zahn, E.A., Wild, S.R., Döpfer, D., Scott, J. and Stein, C. (2012). Estimating global mortality from potentially foodborne diseases: an analysis using vital registration data. *Population Health Metrics*; 10(1): 5.0
- Iranian National Standards Organization. (1993). Fresh fruits and vegetables – sampling. No. 622, 1st Revision, 2nd Edition. [In Persian]
- Iranian National Standards Organization. (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of Coliforms- Colony count method. No. 9263, 1st Edition. [In Persian]
- Iranian National Standards Organization. (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of microorganisms at 30 °C. No. 5272, 1st Revision. [In Persian]
- Iranian National Standards Organization. (2008). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds -Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95. NO.10899-1, 1st Edition. [In Persian]
- Iranian National Standards Organization. (2019). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination Part 4: Specific rules for the preparation of miscellaneous products. No. 8923-4, 2nd Revision. [In Persian]
- Iranian National Standards Organization. (2008). Packed fresh vegetable to ready for use – Specifications and test methods. No.10082, 1st Edition. [In Persian]
- Izumi, H., Nagano, M. and Ozaki, Y. (2004). Microbial evaluation of fresh marketed vegetables. *Memoirs of the School of Biology-Oriented Science and Technology of Kinki University*. 13: 15-22.
- Johnston, L.M., Jaykus, L.A., Moll, D., Martinez, M.C., Anciso, J., Mora, B. et al. (2005). A field study of the microbiological quality of fresh produce. *Journal of Food Protection*. 68: 1840-1847.
- Karapinar, M. and Gonul SA. (1992). Removal of *Yersinia enterocolitica* from fresh parsley by washing with acetic acid or vinegar. *International Journal of Food Microbiology*; 16(3): 261-264
- Karim, G. (2015). Microbiological examination of foods, Tehran University Press, pp. 88-111.
- Karim, G., Mohammadi, K., Khandaghi, J. and Karimi Drehaby, H. (2009). Analysis of milk products. Tehran University Press, pp. 194-195.
- Mukherjee, A., Speh, D., Dyck, E. and Diez-Gonzalez, F. (2004). Pre harvest evaluation of coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* O157: H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. *Journal of Food Protection*. 67(5): 894-900.
- Nascimento, M.S., Silva, N., Catanozi, M.P. and Silva, K.C. (2003). Effects of different disinfection treatments on the natural microbiota of lettuce. *Journal of Food Protection*. 66(9): 1697-1700.
- Olaimat, A.N. and Holley, R.A. (2012). Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. *Food Microbiology*. 32: 1-19.
- Rahbar, M., Sabourian, R., Saremi, M., Abbasi, M., Masoumi, A. and Soroush, M. (2007). Epidemiologic and drug resistant pattern of *Vibrio cholerae* O1 Biotype el tor, serotype inaba during the summer of 2005 outbreak in Iran. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*; 7(1):41-45. [In Persian]

-
- Sahebani, N., Fouladvand, M., Dalimi, A., Rahbar, A. R. and Ghafarian, H.R. (1999). Parasitic infections of consumed vegetables in Boushehr city. Iranian South Medical Journal; 2(1): 59-63. [In Persian]
 - Saroj, S.D., Shashidhar, R., Dhokane, V., Hajare, S., Sharma, A. and Bandekar, J.R. (2006). Microbiological evaluation of sprouts marketed in Mumbai, India, and its suburbs. Journal of Food Protection; 69(10): 2515-8.
 - Shahnazi, M., Sharifi, M., Kalantari, Z., Allipour Heidari, M. and Agamirkarimi, N. (2009) The study of consumed vegetable parasitic infections in Qazvin. Journal of Qazvin University of Medical Sciences, 12 (4):83-89. [In Persian]
 - Soltan Dallal, M., Shojaei Zinjanab, M., Vahedi, S., Mahmoudi, H., Ghanbarzadeh, S.H. and Hedayati Rad, F, (2016). A Survey of *Escherichia coli*, *Enterococcus* and total microbial count of packaged and non-packaged fresh vegetables in Tehran. Journal of Paramedicine School, Tehran University of Medical Science, 10: 220-229. [In Persian]
 - Song, H.P., Kim, D.H., Jo, C., Lee, C.H., Kim, K.S. and Byun, M.W. (2006). Effect of gamma irradiation on the microbiological quality and antioxidant activity of fresh vegetable juice. Food Microbiology; 23(4): 372-378.
 - Valentin-Bon, I., Jacobson, A., Monday, S.R. and Feng, P.C.H. (2008). Microbiological quality of bagged cut spinach and lettuce mixes. Applied and Environmental Microbiology; 74(4): 1240-2.
 - Yarahmadi, M., Yunesian, M., Mubedi, I. and et al, (2011). Evaluating the Efficiency of the Common Method of Lettuce Disinfection in Iran. Journal of Health System Research, 7(6): 1138-1147.