Arc JFM ID

میزان آلودگی، کمیت و تنوع گونه‌ای باکتری‌های اسپوردار هوازی در ادویه‌ها و گیاهان معطر عرضه شده در تبریز

نسترن لسانی فر[1]، شهرام حنیفیان[2*]

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

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

[*]نویسنده مسئول: *hanifian.s@gmail.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۱۴

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی میزان آلودگی، کمیت و تنوع گونه‌ای باکتری‌های اسپوردار هوازی در ادویه‌ها و سبزی‌ها معطر عرضه شده در تبریز انجام گرفت. برای تهیه نمونه‌های ادویه و گیاهان معطر به عطاری‌ها و مراکز فروش در نواحی مختلف شهر تبریز مراجعه و به‌صورت تصادفی تعداد ۵ نمونه از ۲۵ ادویه مختلف (در مجموع ۱۲۵ نمونه)، جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها با استفاده از روش استاندارد پلیت کانت و آزمون‌های بیوشیمیایی متداول شمارش و تشخیص تفریقی داده شدند. طبق نتایج، پایین‌ترین و بالاترین تعداد باکتری‌های اسپوردار مزوفیل به‌ترتیب در گشنیز (میانگین ۰/۵۶± log cfu/g ۴/۱۵) و زردچوبه (میانگین ۰/۶۰± log cfu/g ۷/۰۲) مشاهده شد. از نظر باکتری‌های اسپوردار ترموفیل، شوید (میانگین ۰/۸۶± log cfu/g ۴/۷۳) و فلفل سیاه (میانگین ۰/۸۱± log cfu/g ۷/۲۰) به‌ترتیب کم‌ترین و بیشترین بار میکروبی را داشتند. بیشترین درصد فراوانی گونه‌های مزوفیل مربوط به *باسیلوس کواگولانس* (۱۳/۹) بود؛ در حالی‌که بیشترین گونه‌های ترموفیل شامل *باسیلوس ماسرانس* (۱۶/۹۹ درصد)، *پانتوتنتیکوس* (۱۵/۵۳ درصد) و *سرئوس* (۱۴/۰۷ درصد) بودند. در بین ادویه‌های مورد بررسی، بیش‌ترین تنوع گونه‌ای باسیلوس‌های مزوفیل و ترموفیل به‌ترتیب در گلپر (۱۱ گونه) و سماق (۱۰ گونه) یافت شد. یافته‌های مطالعه نشان داد اکثر ادویه‌های عرضه شده در تبریز دارای بار میکروبی بالایی از نظر باکتری‌های اسپوردار هوازی ترموفیل و مزوفیل بودند و از این نظر می‌توانند منبع آلودگی در غذایی باشند که در ترکیب آن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند.

واژگان کلیدی: باکتری‌های اسپوردار هوازی، ادویه و گیاهان معطر، تبریز

مقدمه

ادویه به تمام یا بخشی از گیاه اطلاق می‌شود که به‌خاطر تأثیر طعم‌دهندگی، اشتهاآوری، هضم‌کنندگی، ایجاد مزه، رنگ و عطر به‌طور مستقیم یا پس از فرآیندهای مختلف به مواد غذایی اضافه می‌شود. ادویه‌ها به‌صورت تازه یا خشک به فرم‌های خالص یا مخلوط به بازار فروش عرضه می‌شوند (شهراز و همکاران، ۱۳۸۷) در دهه گذشته متوسط تولید و تجارت سالانه ادویه در جهان به‌ترتیب ۴/۳ درصد و ۵/۸ درصد رشد داشته است. بیشترین مقدار تولید ادویه‌ها مربوط به فلفل دلمه و فلفل فرنگی، زنجبیل، رازیانه، فلفل قرمز و سبز، میخک، دارچین، جوز هندی و هِل می‌باشد (SADC, 2009). در بررسی‌های مختلف آمار متفاوتی از میزان تولید ادویه‌جات در مناطق مختلف جهان به‌دست آمده است. بر اساس این آمار، به‌ترتیب جنوب و شرق آسیا و جنوب آفریقا و خاورمیانه بیشترین تولید ادویه را در جهان داشته‌اند. در مجموع پنج کشور چین، هند، اندونزی، ویتنام و برزیل بیشترین صادرکننده‌های ادویه‌جات هستند (FAO, 2005) و ایران رتبه هفدهم را در میان صادرکننده‌های ادویه در جهان داراست و بیشترین صادرات آن زعفران و آویشن می‌باشد (SADC Trade, 2009).

ادویه‌ها به‌دلیل اثرات دارویی و آنتی‌اکسیدانی کاربرد وسیعی در مواد غذایی دارند. استفاده از ادویه‌جات در کنار افزایش مدت زمان ماندگاری غذاها، فاقد اثرات مضر نگه‌دارنده‌های شیمیایی هستند. مواد ضدمیکروبی موجود در بسیاری از

www.SID.ir

Archive of SID

ادویه‌ها از جمله پلی‌فنل‌ها، سینامیک‌آلدئید، کومارین و تانین باعث متلاشی شدن غشای میکروارگانیسم‌ها شده و این امر در مورد باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با گرم منفی‌ها مشهودتر است (شهراز و همکاران، ۱۳۸۷؛ Mckee, 1995). ادویه‌ها به‌علت دارا بودن روغن اسانسی، آلکالوئیدها و مواد تخمیری خاصیت ضدباکتریایی دارند؛ لذا به نظر می‌رسد جمعیت باکتریایی ادویه‌جات بسیار محدود باشد. اما استفاده از مواد اولیه ناسالم یا به‌کارگیری روش‌های فرآوری نادرست و غیربهداشتی نظیر استفاده از آب غیربهداشتی (برای خیساندن فلفل سیاه و تبدیل آن به فلفل سفید) و یا فرآیند سنگ‌زنی (برای فلفل خشک)، عدم توجه به نکات لازم در بسته‌بندی ادویه‌جات، علاوه بر عوامل میکروبی اولیه موجود بر روی گیاه، موجب راه‌یابی آلودگی‌های ثانویه نیز خواهد شد. از آن‌جایی که ادویه‌ها غالباً با روش‌های سنتی تولید و عرضه می‌گردند، در نتیجه طیف گسترده‌ای از آلودگی‌ها را در خود جای می‌دهند که مزایا و خواص آن‌ها را تحت‌الشعاع قرار می‌دهد. به‌ویژه ادویه‌هایی که مستقیماً و بدون حرارت دیدن به مصرف می‌رسند ممکن است باعث بیماری نیز شوند (Carlin, 2011; Iurlina et al., 2006; Louka et al., 2013). بسیاری از ادویه‌ها از کشورهایی نظیر هند، بنگلادش و سریلانکا وارد می‌شوند. این مناطق از نظر استانداردهای بهداشتی در وضعیت مطلوبی نیستند و از طرفی آب و هوای این کشورها اغلب مرطوب و گرم است و امکان تماس با طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌ها، کپک‌ها و مخمرها فراهم می‌گردد. در این میان باکتری‌های اسپوردار به‌دلیل گستردگی بالا در طبیعت، مقاومت و بقای طولانی مدت در محیط و مواد غذایی و هم‌چنین وجود انواع مولد فساد و بیماری در میان آن‌ها از اهمیت ویژه‌ای در بهداشت و ایمنی غذایی برخوردار هستند (شهراز و همکاران، ۱۳۸۷؛ Doren et al., 2013).

باکتری‌های اسپوردار هوازی متعلق به جنس باسیلوس هستند. اعضای این جنس باکتری‌هایی میله‌ای شکل، گرم مثبت، بی‌هوازی‌اختیاری، مزوفیل و ترموفیل، غیرمتحرک و متحرک، و اغلب آرایش زنجیری دارند. این جنس پراکندگی زیادی در طبیعت دارد و در خاک، آب، سطح گیاهان و در بدن حیوانات یافت می‌شوند. به‌دلیل توانایی تولید اسپور در برابر شرایط محیطی نامساعد (گرما و سرما، خشکی، کمبود مواد مغذی، مواد ضدعفونی کننده و ...) مقاوم هستند و به‌مدت طولانی به‌حالت غیرفعال به حیات خود ادامه می‌دهند. در طول آماده‌سازی و به‌ویژه فرآوری حرارتی مواد غذایی، اسپورها در نتیجه شوک حرارتی به‌حالت فعال تبدیل شده و پس از جوانه زدن، رشد و تکثیر پیدا می‌کنند. در صورت مهیا بودن شرایط محیطی تولید توکسین نموده و موجب مسمومیت در مصرف‌کنندگان می‌شوند (Curlin, 2011; Iurlina et al., 2006; Louka et al., 2013). شیوع بیماری حاصل از باسیلوس‌ها در اثر مصرف غذاهای طعم‌دار شده با فلفل سیاه، سفید و قرمز، زردچوبه و سس خردل مشاهده شده است (Beki et al. 2008; Doren et al., 2013). در مطالعات انجام شده در کشورهای مختلف مشخص شده است که *باسیلوس‌ها* جزو جمعیت غالب میکروبی در ادویه‌ها و گیاهان معطر می‌باشند و تنوع گونه‌ای آن‌ها در محصولات مختلف، متفاوت است (صداقت و همکاران، ۱۳۹۳؛ Antai, 1988; Aksu et al., 2000; Garbowska et al., 2015; Iurlina et al., 2006). در این بین، *باسیلوس سرئوس* با فراوانی بیشتری در قیاس با سایر گونه‌ها از ادویه‌جات و گیاهان معطر جداسازی شده است. *باسیلوس سرئوس* گونه‌ای با گستردگی بالا و یک بیماری‌زای بالقوه است که می‌تواند با تولید توکسین‌ها در مواد غذایی باعث بروز سندرم اسهال و سندرم استفراغ در مبتلایان گردد (Carlin, 2011).

www.SID.ir

Arc JFM ID

با توجه به کاربرد وسیع ادویه‌ها و چاشنی‌ها در تهیه مواد غذایی ایرانی و از سوی دیگر تولید و عرضه انواع مختلف ادویه بومی و وارداتی در منطقه آذربایجان، لذا بررسی کیفیت میکروبی ادویه‌ها و گیاهان معطر عرضه شده در شهر تبریز با تأکید بر تنوع باکتری‌های اسپوردار هوازی می‌تواند کیفیت میکروبی این محصولات را نشان دهد.

مواد و روش کار

نحوه نمونه‌برداری و شمارش باکتری‌های اسپوردار هوازی برای تهیه نمونه‌های ادویه و گیاهان معطر به عطاری‌ها و مراکز فروش در ۵ ناحیه مختلف شهر تبریز مراجعه و به‌صورت تصادفی تعداد ۵ نمونه از ۲۵ نوع ادویه مختلف (در مجموع ۱۲۵ نمونه) خریداری گردید. هر نمونه ادویه شامل مقدار تقریبی ۵۰ گرم بود که به‌صورت بسته‌بندی جمع‌آوری و در شرایط استریل به آزمایشگاه انتقال یافت. مقدار ۱ گرم ادویه یا گیاه معطر با ۹۰ میلی‌لیتر سرم رینگر استریل مخلوط و پس از همگن‌سازی کامل، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون به لوله آزمایش استریل انتقال یافت و به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب‌گرم با دمای ۸۰ درجه سلسیوس تحت تیمار حرارتی قرار گرفت. سپس نمونه تا رقت 10^{-8} رقیق‌سازی شده و از هر رقت در دو محیط تریپتیک سوی آگار[1] حاوی ۰/۵ درصد عصاره مخمر به‌صورت مخلوط دولایه کشت داده شد. برای شمارش باکتری‌های اسپوردار مزوفیل از دمای ۳۷ درجه سلسیوس و برای انواع ترموفیل از دمای ۵۰ درجه سلسیوس به‌مدت مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت استفاده شد. جمعیت هر گروه از اسپورداران به‌طور جداگانه و طبق قوانین شمارش در پلیت استاندارد محاسبه شد (Mohammad and Akhter, 2001).

جداسازی و خالص‌سازی جنس *باسیلوس*

از کلنی‌های شمارش شده با مورفولوژی (اندازه، رنگ، شکل) متنوع برای تعیین تنوع گونه‌ای استفاده شد. ابتدا کلنی مورد نظر در محیط عصاره قلب و مغز کشت و خالص‌سازی شد. سپس بر روی جدایه‌ها آزمون‌های غربالگری مانند رنگ‌آمیزی گرم و اندوسپور و کاتالاز انجام شد و جدایه‌های باسیلی شکل، اسپوردار و کاتالاز مثبت برای آزمون‌های افتراقی انتخاب شدند (Barrow and Feltham, 2003). برای تشخیص تفریقی گونه‌های باسیلوس از آزمون‌های مرفولوژیکی و بیوشیمیایی مطابق با جدول (۱) استفاده شد.

نتایج

جمعیت اسپورداران هوازی مزوفیل و ترموفیل در ۲۵ نمونه ادویه مورد مطالعه در جدول (۲) نشان داده شده است. مطابق نتایج جدول (۲) بیشترین جمعیت اسپورداران مزوفیل در زردچوبه با میانگین log cfu/g ۰/۶۰±۷/۰۲ و کمترین میزان آن در گشنیز با میانگین log cfu/g ۰/۵۶±۴/۱۵ مشاهده شد. در بین ادویه‌های مختلف، شوید با میانگین log cfu/g ۰/۸۶±۴/۷۳ و فلفل سیاه با میانگین log cfu/g ۰/۸۱±۷/۲۰ به‌ترتیب حاوی کمترین و بیشترین میزان باکتری‌های اسپوردار ترموفیل بودند.

در نمودار (۱) و (۲) به‌ترتیب تنوع گونه‌ای و درصد فراوانی انواع مزوفیل و ترموفیل *باسیلوس* نشان داده شده است. با توجه به نمودار (۱)، بیشترین فراوانی مربوط به *باسیلوس کواگولانس* با فراوانی ۱۳/۹ درصد بود. بعد از آن *باسیلوس اسفاریکوس* (۱۱/۲۱درصد)، *پانتوتنتیکوس* و *استئاروترموفیلوس* نوع III (۹/۸۶ درصد) و *استئاروترموفیلوس* نوع I (۹/۴۱ درصد) بیشترین درصد فراوانی را داشتند.

[1] Tryptic Soy agar

www.SID.ir

Archive of SID

جدول (۱)- جدول تشخیص تفریقی گونه‌های *باسیلوس*

آزمون	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲	۲۳	۲۴
واکنش گرم	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	d	D	d	-	d	+	-	-	d	+	d	d	d
زنجیره سلولی	+	+	+	+	d	d	+	+	d	d	d	d	D	d	-	d	-	-	-	-	+	d	-	d
تحرک*	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
طول سلول	+	+	+	+	-	-	d	-	-	-	-	+	-	+	d	d	d	d	d	+	+	-	-	-
رشد در ۵۰ °C	-	-	-	-	-	d	-	d	+	+	+	+	+	-	+	d	-	+	-	-	d	+	+	+
رشد در ۱۰٪ کلریدسدیم	+	d	d	d	+	-	-	d	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
رشد بیهوازی	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	d	-	-	-
تولید اسید از:																								
گلوکز	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
سلوبیوز	-	d	d	d	-	d	+	+	+	+	+	d	-	+	-	+	d	+	+	-	-	d	d	d
گالاکتوز	-	-	d	-	-	d	+	+	d	+	d	d	-	d	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-
مانوز	-	-	-	d	d	+	d	+	+	+	d	+	D	d	-	+	d	+	+	-	-	+	d	+
ملیبیوز	-	-	-	-	-	d	+	d	d	d	d	+	-	d	-	+	-	+	+	-	-	d	-	+
رافینوز	-	-	-	-	-	-	d	+	+	d	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	d	d	+
سالیسین	-	+	d	d	-	d	+	+	+	+	+	d	D	d	-	+		+	+	-	-	d	+	d
زایلوز	-	-	-	-	-	-	+	+	d	+	d	d	-	-	-	+	-	+	+	-	-	d	+	-
ONPG	-	-	d	-	d	+	+	+	+	+	d	d	D	d	d	+	-	+	+	-	-	d	-	-
استفاده از سیترات	-	d	d	+	-	-	+	+	+	+	d	d	-	-	d	-	-	-	d	d	-	-	-	-
اورهآز	-	d	d	-	-	+	d	-	-	d	-	-	-	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-
ایندول	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	+	+	+	+	-	-	-	+	d	+	d	d	d	+	-	d	+	d	+	-	-	d	+	d
کاهش نیترات	+	+	+	+	+	-	d	-	+	+	+	d	d	-	d	d	+	+	+	d	-	+	-	d
هیدرولیز کازئین	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	d	+	+	+	d	-	-	d
هیدرولیزهیپورات	-	-	-	-	+	+	-	+	d	-	-	+	-	+	+	-	d	d	-	-	d	+	+	+
هیدرولیز نشاسته	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+
اکسیداز	d	d	d	d	-	+	-	-	-	-	-	-	d	+	-	-	-	-	-	+	d	-	-	-

۱- *باسیلوس آنتراسیس* ۲- *باسیلوس سیرکولانس* ۳- *باسیلوس میکوئیدیس* ۴- *باسیلوس تورنج* ۵- *باسیلوس سوبتیلیس* ۶- *باسیلوس لیشنی فورمیس* ۷- *باسیلوس مگاتریوم* ۸- *باسیلوس کوآگولانس* ۹- *باسیلوس آمیلولیکونیفاسینس* ۱۰- *باسیلوس پومیلوس* ۱۱- *باسیلوس لانتروسپورس* ۱۲- *باسیلوس پاپیلی ماسرانس* ۱۳- *باسیلوس بادیوس* ۱۴- *باسیلوس استئاروترموفیلوس گروه I* ۱۵- *باسیلوس بروویس* ۱۶- *باسیلوس پلیمیکسا* ۱۷- *باسیلوس استئاروترموفیلوس گروه II* ۱۸- *باسیلوس کوگولانس* ۱۹- *باسیلوس استئاروترموفیلوس گروه III*

*گونههای متحرک ممکن است موتانتهای غیرمتحرک تولید کنند. T: اسپورها در حالت ترمینال؛ V: اسپورها در حالت مرکزی/ساب ترمینال؛ X: اسپورها بهشکل بیضی؛ O: اسپورها بهشکل گرد؛ (+): ۹۰-۱۰۰٪ مثبت؛ d: ۱۱-۸۹٪ مثبت؛ (-): ۰-۱۰٪ منفی

www.SID.ir

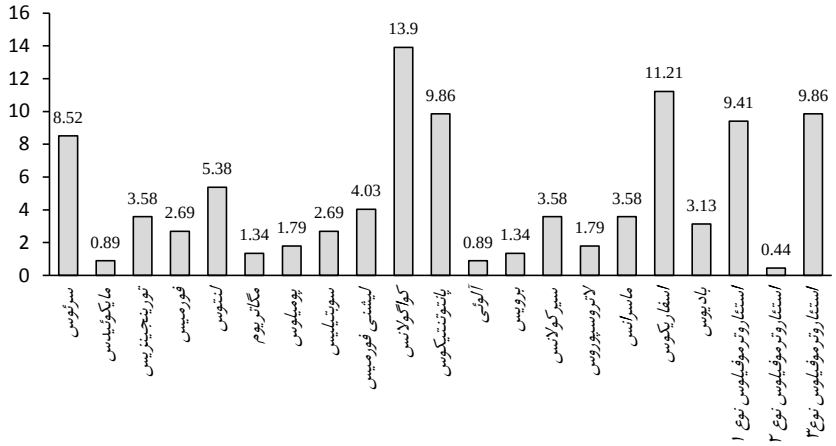
Arc JFM ID

جدول ۲- جمعیت (log cfu/g) باسیلوس‌های مزوفیل و ترموفیل در ادویه‌های عرضه شده در تبریز

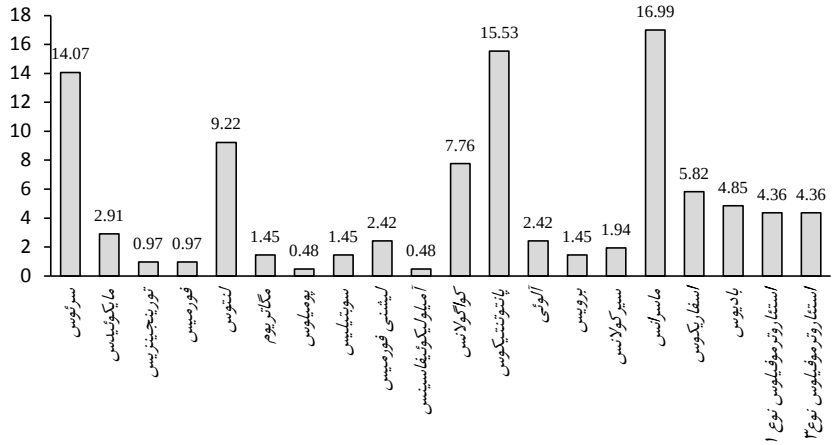
ردیف	نوع ادویه	جمعیت اسپورداران هوازی			
		مزوفیل		ترموفیل	
		دامنه	میانگین ± انحراف معیار	دامنه	میانگین ± انحراف معیار
۱	پاپریکا	۴/۱۱-۶/۵۲	۵/۶۳±۰/۸۲	۴/۷۰–۷/۱۱	۵/۹۳±۰/۹۳
۲	ادویه کاری	۵/۴۴-۷/۶۸	۶/۵۰±۰/۸۴	۵/۸۲–۸/۲۰	۷/۰۵±۰/۷۸
۳	دارچین	۳/۷-۵/۲۳	۴/۴۷±۰/۵۴	۴/۷۸–۶/۷۰	۵/۲۹±۰/۷۲
۴	فلفل قرمز	۵/۷۰-۸/۳	۶/۹۸±۰/۹۲	۴/۹۵–۷/۸۰	۶/۸۷±۱/۱۳
۵	لیمو عمانی	۳/۷۰-۶/۰۲	۴/۴۳±۰/۸۷	۴/۷۵–۷/۶۵	۶/۴۶±۱/۱۶
۶	زردچوبه	۶/۳۶-۸/۱۱	۷/۰۲±۰/۶۰	۶/۴۶–۷/۵۶	۶/۸۶±۰/۳۷
۷	پودر سیر	۳/۷۰-۷/۴۷	۵/۲۲±۱/۲۸	۴/۷۰–۶/۸۴	۶/۱۹±۰/۸۰
۸	نعناع	۴/۰۱-۷/۷۰	۵/۷۰±۱/۳۳	۳/۷۰–۶/۷۰	۵/۲۸±۱/۰۰
۹	گلپر	۳/۷۰-۷/۷۰	۵/۴۹±۱/۵۳	۴/۰۳–۶/۶۵	۵/۱۷±۰/۸۹
۱۰	آویشن	۴/۰۳-۶/۷۰	۵/۷۹±۰/۹۴	۳/۶۹–۶/۷۱	۴/۸۵±۱/۱۴
۱۱	پودر موسیر	۴/۰۱-۷/۷۰	۵/۷۵±۱/۳۱	۴/۰۳–۶/۷۰	۵/۱۰±۰/۹۴
۱۲	سماق	۳/۷۰-۶/۷۰	۴/۸۲±۱/۱۹	۳/۶۸–۶/۶۵	۵/۲۷±۱/۱۳
۱۳	زنجبیل	۳/۷۰-۶/۱۳	۴/۸۴±۰/۹۵	۵/۰۳–۷/۷۲	۶/۱۰±۱/۰۴
۱۴	فلفل سیاه	۳/۶۵-۷/۷۵	۶/۰۵±۱/۴۲	۵/۶۰–۷/۷۰	۷/۲۰±۰/۸۱
۱۵	فلفل پرک شده	۴/۳۰–۷/ ۷۰	۵/۷۹±۱/۳۶	۴/۰۳–۸/۷۹	۶/۶۳±۱/۶۲
۱۶	شوید	۳/۷۰–۷/۶۸	۵/۳۸±۱/۵۲	۳/۷۲–۵/۶۸	۴/۷۳±۰/۸۶
۱۷	هل	۳/۷۰–۵/۶۰	۴/۸۲±۰/۶۵	۴/۰۳–۷/۷۰	۵/۶۳±۱/۲۷
۱۸	برگ بو	۳/۶۵–۷/۳۶	۵/۲۹±۱/۵۸	۴/۴۷–۷/۷۰	۶/۴۱±۱/۲۰
۱۹	فلفل سفید	۳/۷۵–۶/۵۳	۴/۸۴±۱/۰۶	۴/۳۰–۶/۱۱	۵/۴۵±۰/۶۸
۲۰	جوز هندی	۳/۷۵–۵/۶۵	۴/۶۶±۰/۶۶	۴/۷۰–۷/۱۹	۵/۷۶±۱/۰۰
۲۱	گل سرخ	۳/۷۰–۶/۲۵	۴/۶۸±۱/۰۸	۳/۶۶–۶/۷۴	۵/۱۲±۱/۲۵
۲۲	گشنیز	۳/۶۵-۴/۹۷	۴/۱۵±۰/۵۶	۳/۷۴–۶/۶۶	۴/۹۶±۱/۴۱
۲۳	رازیانه	۳/۰۳–۷/۴۷	۵/۲۵±۱/۵۹	۴/۴۷–۷/۱۳	۵/۴۵±۱/۰۰
۲۴	زیره	۵/۳۲–۷/۳۵	۶/۷۰±۰/۷۲	۳/۷۰–۶/۷۰	۵/۴۸±۱/۰۲
۲۵	میخک	۴/۴۷–۵/۶۰	۵/۱۲±۰/۴۲	۳/۷۰–۶/۴۷	۵/۰۵±۰/۹۲
	کل	۳/۰۳–۸/۳	۵/۴۲±۱/۳۴	۳/۷۰–۸/۷۹	۵/۷۷±۱/۲۷

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱- درصد فراوانی گونه‌های مزوفیل باسیلوس در ادویه‌های عرضه شده در تبریز



نمودار ۲- درصد فراوانی گونه‌های ترموفیل باسیلوس در ادویه‌های عرضه شده در تبریز

نمودار (۲) نشان می‌دهد که بیشترین گونه های ترموفیل *باسیلوس* در ادویه‌های مورد مطالعه *باسیلوس ماسرانس* (۱۶/۹۹ درصد)، *پانتوتنتیکوس* (۱۵/۵۳درصد) و *باسیلوس سرئوس* (۱۴/۰۷ درصد) بودند. *باسیلوس پومیلوس* و *باسیلوس آمیلولیکوئیفاسینس* نیز کمترین فراوانی را دارا بودند.

در جدول (۳) تنوع گونه‌ای باسیلوس‌های مزوفیل و ترموفیل در هر یک از ادویه‌ها نشان داده شده است. بر این اساس گلپر با ۱۱ گونه بیشترین تنوع گونه‌ای باسیلوس‌های مزوفیل را داشت و بعد از آن زنجبیل و فلفل سیاه با ۱۰ گونه قرار گرفتند. از نظر انواع ترموفیل، سماق با ۱۰ گونه و هل و شوید با ۹ گونه بیشترین تنوع گونه‌ای باسیلوس‌های ترموفیل را دارا بودند (جدول ۳).

www.SID.ir

Arc JFM ID

جدول ۳- تنوع گونه‌ای باسیلوس‌های مزوفیل و تروفیل به تفکیک نوع ادویه

ادویه	تعداد گونه	مزوفیل	تعداد گونه	ترموفیل
پاپریکا	۶	*پانتوتنتیکوس، لنتوس، استئاروترموفیلوس III، کواگولانس، سیرکولانس، سرئوس*	۴	*پانتوتنتیکوس، اسفاریکوس، ماسرانس، آلوئی*
ادویه کاری	۶	*استئاروترموفیلوس III، ماسرانس، لنتوس، مگاتریوم، کواگولانس، پانتوتنتیکوس*	۸	*اسفاریکوس، آلوئی، سرئوس، پانتوتنتیکوس، ماسرانس، کواگولانس، لنتوس، بادیوس*
دارچین	۹	*سیرکولانس، سوبتیلیس، لنتوس، کواگولانس، پانتوتنتیکوس، اسفاریکوس، لاتروسپوروس استئاروترموفیلوس III، استئاروترموفیلوس I،*	۶	*پانتوتنتیکوس، تورینجینزیس، سرئوس، کواگولانس، ماسرانس، استئاروترموفیلوس I،*
فلفل قرمز	۶	*لیشنی‌فورمیس، پانتوتنتیکوس، کواگولانس، لنتوس، سیرکولانس، آلوئی*	۶	*آلوئی، سرئوس، استئاروترموفیلوس III، ماسرانس، مایکوئیدس، اسفاریکوس*
لیمو عمانی	۵	*استئاروترموفیلوس III، کواگولانس، لیشنی‌فورمیس، استئاروترموفیلوس I، پانتوتنتیکوس*	۲	*پانتوتنتیکوس، سرئوس*
زردچوبه	۴	*استئاروترموفیلوس III، پانتوتنتیکوس، سرئوس، کواگولانس*	۴	*سرئوس، لنتوس، ماسرانس، پانتوتنتیکوس*
سیر	۴	*لیشنی‌فورمیس، کواگولانس، استئاروترموفیلوس I، سرئوس*	۳	*مایکوئیدس، پانتوتنتیکوس، ماسرانس*
نعناع	۵	*بادیوس، استئاروترموفیلوس I، لنتوس، سرئوس، پانتوتنتیکوس*	۸	*سرئوس، ماسرانس، بادیوس. استئاروترموفیلوس I، تورینجینزیس، مایکوئیدس، اسفاریکوس، پانتوتنتیکوس*
گلپر	۱۱	*استئاروترموفیلوس I، سیرکولانس، سرئوس، پانتوتنتیکوس، کواگولانس، بادیوس، ماسرانس، فورمیس، لنتوس، استئاروترموفیلوس III، مایکوئیدس*	۵	*آلوئی، ماسرانس، بادیوس، اسفاریکوس، پانتوتنتیکوس*
آویشن	۷	*ماسرانس، اسفاریکوس، کواگولانس، پانتوتنتیکوس، تورینجینزیس، استئاروترموفیلوس III، استئاروترموفیلوس I*	۳	*سرئوس، کواگولانس، بادیوس*
موسیر	۶	*سرئوس، اسفاریکوس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، پانتوتنتیکوس، لنتوس، سیرکولانس*	۵	*ماسرانس، سرئوس، لنتوس، پانتوتنتیکوس، اسفاریکوس*
سماق	۸	*بادیوس، اسفاریکوس، ماسرانس، استئاروترموفیلوس نوع ۳، سوبتیلیس، پانتوتنتیکوس، سرئوس، تورینجینزیس*	۱۰	*سیرکولانس. استئاروترموفیلوس نوع ۱، سرئوس، لنتوس، استئاروترموفیلوس نوع ۳، کواگولانس، ماسرانس، بادیوس، سوبتیلیس، اسفاریکوس*
زنجبیل	۱۰	*سرئوس، پانتوتنتیکوس، فورمیس، سوبتیلیس،*	۵	*ماسرانس، پانتوتنتیکوس، لنتوس، استئاروترموفیلوس*

www.SID.ir

Archive of SID

		لاتروسپوروس، کواگولانس، تورینجینزیس، پومیلوس، اسفاریکوس، استئاروترموفیلوس نوع ۱		*نوع ۱، مایکوئیدس*
فلفل سیاه	۱۰	*سرئوس، کواگولانس، برویس، لنتوس، پومیلوس، اسفاریکوس، پانتوتنتیکوس، ماسرانس، تورینجینزیس، استئاروترموفیلوس نوع ۳*	۷	*پانتوتنتیکوس، اسفاریکوس، ماسرانس، سرئوس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، برویس، سوبتیلیس*
فلفل پرک	۴	*کواگولانس، فورمیس، اسفاریکوس، سرئوس*	۶	*سرئوس. لنتوس، ماسرانس، پانتوتنتیکوس، سوبتیلیس، بادیوس*
شوید	۵	*استئاروترموفیلوس نوع ۱، سیرکولانس، مگاتریوم. استئاروترموفیلوس نوع ۳، اسفاریکوس*	۹	*پانتوتنتیکوس، سرئوس، کواگولانس، لیشنی فورمیس، مگاتریوم، استئاروترموفیلوس نوع ۱، لنتوس، سیرکولانس، استئاروترموفیلوس نوع ۳*
هل	۳	*استئاروترموفیلوس نوع ۱، کواگولانس، لنتوس*	۹	*پانتوتنتیکوس. ماسرانس. مگاتریوم، لنتوس، استئاروترموفیلوس نوع ۳، فورمیس، کواگولانس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، سرئوس*
برگ بو	۵	*فورمیس، اسفاریکوس، برویس، سوبتیلیس، بادیوس*	۴	*پانتوتنتیکوس، استئاروترموفیلوس نوع ۳، ماسرانس، لنتوس*
فلفل سفید	۸	*کواگولانس، اسفاریکوس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، پومیلوس، سوبتیلیس، استئاروترموفیلوس نوع ۲، برویس، سیرکولانس*	۷	*بادیوس، اسفاریکوس، سرئوس، سیرکولانس، آلوئی، لنتوس، کواگولانس*
جوز هندی	۶	*کواگولانس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، لیشنی فورمیس، اسفاریکوس، بادیوس، تورینجینزیس*	۶	*پانتوتنتیکوس، لنتوس، ماسرانس، کواگولانس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، سرئوس*
گل سرخ	۲	*کواگولانس، لیشنی فورمیس*	۷	*بادیوس. پومیلوس. برویس، سرئوس، ماسرانس، مگاتریوم، پانتوتنتیکوس*
گشنیز	۵	*سرئوس، کواگولانس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، لیشنی فورمیس، پانتوتنتیکوس*	۳	*کواگولانس. پانتوتنتیکوس. لنتوس*
رازیانه	۸	*بادیوس، پانتوتنتیکوس، اسفاریکوس، فورمیس، مگاتریوم، مایکوئیدس، لیشنی فورمیس، سرئوس*	۸	*پانتوتنتیکوس، کواگولانس، برویس، سرئوس، لیشنی فورمیس، آمیلولیکوئیفاسینس، ماسرانس، لنتوس*
زیره	۵	*استئاروترموفیلوس نوع ۱، کواگولانس، استئاروترموفیلوس نوع ۳، سرئوس، لاتروسپوروس*	۸	*استئاروترموفیلوس نوع ۳، لیشنی فورمیس، پانتوتنتیکوس، کواگولانس، ماسرانس، سیرکولانس، فورمیس، سرئوس*
میخک	۸	*آلوئی، ماسرانس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، کواگولانس، استئاروترموفیلوس نوع ۳، اسفاریکوس، پانتوتنتیکوس، سوبتیلیس*	۲	*ماسرانس، اسفاریکوس*

بحث

در این پژوهش کیفیت میکروبی و تنوع گونه‌ای باکتری‌های اسپوردار هوازی در ادویه‌ها و سبزیجات معطر عرضه شده در شهر تبریز مورد بررسی قرار گرفت. از مجموع ۲۵ نمونه ادویه و سبزی معطر بررسی شده، میانگین کل جمعیت اسپورداران هوازی مزوفیل و ترموفیل به‌ترتیب log cfu/g ۵/۴۲ و ۵/۷۷ log cfu/g بود. در بین ادویه‌های مختلف، بار میکروبی اسپورداران هوازی مزوفیل و ترموفیل به‌ترتیب در

www.SID.ir

Arc JFM ID

زردچوبه و فلفل سیاه بیشترین میزان را داشت. براساس استاندارد بین‌المللی[2]، میزان کمتر از 10^4 log cfu/g حد قابل‌قبول و مطلوب به‌حساب می‌آید، در حالی‌که میزان log 10^4-10^6 cfu/g حد متوسط را از نظر آلودگی به باکتری‌های هوازی است (Banerjee and Sarkar, 2003). از ادویه‌های مورد مطالعه، ادویه کاری، فلفل قرمز، زردچوبه، فلفل سیاه و زیره دارای باسیلوس‌های مزوفیل بیش از حد استاندارد بودند. هم‌چنین از نظر انواع ترموفیل، ادویه‌های کاری، فلفل قرمز، لیمو عمانی، زردچوبه، پودر سیر، زنجبیل، فلفل سیاه، فلفل پرک شده و برگ بو دارای بار میکروبی بیش از حد استاندارد برآورد شدند. در بررسی‌های دیگر انجام یافته در قسمت‌های مختلف ایران، کم و بیش نتایج مشابهی به‌دست آمده است. چنان‌چه در تحقیق توسط شعبانی و زجاجی (۱۳۹۰)، از مجموع ۹۰ نمونه تهیه شده از مراکز عرضه مواد غذایی تهران، بیشترین شمارش باکتری‌های هوازی به‌ترتیب مربوط به زردچوبه، پودر سیر، دارچین، فلفل سفید، فلفل قرمز و جوز هندی بود. هم‌چنین شهراز و همکاران (۱۳۸۷) در مطالعه‌ای آلودگی میکروبی ادویه‌های بسته‌بندی شده در فروشگاه‌های زنجیره‌ای شهروند تهران را در سال ۱۳۸۶ بررسی نمودند. نتایج نشان داد میانگین شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی در مورد زردچوبه $3/6\times10^7$، فلفل سیاه 7×10^6 و دارچین cfu/g $1/92\times10^4$ بود. در مطالعه اخیر نیز آلودگی زردچوبه و دارچین نسبت به سایر ادویه‌ها در سطح بالاتری گزارش شد. هر چند در بررسی‌های دیگر نتایج متفاوتی به‌دست آمده است؛ به‌طوری که زارع و قطبی کهن (۱۳۷۵) بیشترین آلودگی در میان ادویه‌جات بررسی شده را در انواع فلفل گزارش کردند.

هم‌چنین در مطالعه صداقت و همکاران (۱۳۹۳)، بیشترین بار میکروبی (log/g $2/5\times10^7$ تا cfu/g $8/2\times10^8$) را در فلفل سیاه، سفید، قرمز، ادویه مخلوط، زنجبیل، پودرسیر و زردچوبه به‌دست آوردند که نوع ادویه و میزان آلودگی بسیار بیشتر از مطالعه حاضر بود. در مطالعات خارج از ایران نیز میزان بالایی از آلودگی در ادویه‌ها گزارش شده است؛ به‌طوری که در یک بررسی در هند شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی در نصف (۵۱ درصد) ادویه‌ها با دستورالعمل استاندارد بین‌المللی مطابقت داشتند و در بین نمونه‌ها، بیش‌ترین بار میکروبی مربوط به فلفل و کم‌ترین آن مربوط به پودر سیر بود (Banerjee and Sarkar, 2003).

باسیل‌های مزوفیل به‌عنوان آلوده‌کننده بالقوه در مواد غذایی به‌ویژه سبزیجات خشک شده و ادویه‌ها هستند. بررسی‌های انجام شده روی نمونه‌ها نشان داد فلور میکروبی غالب در انواع ادویه، باکتری‌های اسپوردار هوازی مزوفیل متشکل از گونه‌های مختلف می‌باشند. اما با توجه به بیماری‌زا بودن گونه سرئوس، بسیاری از مطالعات با تأکید بیشتری بر این گونه انجام شده اند (Witkowska et al., 2011). چنان‌چه در تحقیقی بر روی جمعیت میکروبی باسیلوس در ادویه‌های عرضه شده در نیجریه، غالباً گونه‌های *سرئوس* و *سوبتیلیس* جداسازی شدند. *باسیلوس سرئوس* در ۶۰ درصد از نمونه‌های مورد بررسی و به‌خصوص در فلفل قرمز و آویشن مشاهده شد. دیگر گونه‌ها شامل *سوبتیلیس*، *پلی‌میکسا* و *کواگولانس* در مقادیر قابل‌توجهی مشاهده شدند (Antai, 1988). در مقابل در مطالعه دیگری در هند گونه *سرئوس* در اقلیت قرار داشت و فقط در ۷ نمونه از ادویه یافت شد (Banerjee and Sarkar, 2003). در پژوهش حاضر ۲۱ گونه باکتری باسیلوس مزوفیل و ۲۰ گونه باکتری *باسیلوس* ترموفیل از ادویه‌های مورد بررسی جداسازی شد. از بین ادویه‌های مورد مطالعه، گلپر با ۱۱ گونه *باسیلوس* مزوفیل،

[2] International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF)

www.SID.ir

Archive of SID

بیشترین تنوع را دارا بود و بعد از آن زنجبیل و فلفل سیاه (۱۰ گونه) قرار داشتند. گونه *سرئوس* جز نمونه میخک و برگ‌بو در تمامی نمونه‌های ادویه‌ها و سبزیجات معطر یافت شد. اختلاف در نتایج مطالعات مختلف ممکن است ناشی از تنوع جغرافیایی کشور تولیدکننده ادویه و میزان رعایت استانداردهای بهداشتی در کشورهای مبدأ باشد. پس از واردات، روش‌های مرتبط با عملیات آماده‌سازی و فرآوری ادویه‌جات نظیر هوادهی، جداسازی، الک‌کردن، شستشو و استریل کردن ادویه و هم‌چنین شیوه‌های نگهداری آن‌ها در کشورهای مقصد از عوامل مهمی هستند که در بار میکروبی تأثیرگذار می‌باشند (شعبانی و زجاجی، ۱۳۹۰؛ شهراز و همکاران، ۱۳۸۷). شایان ذکر است وجود ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی با طیف میکروب‌کشی متفاوت عامل دیگری است که بر بار میکروبی ادویه‌ها و گیاهان معطر تأثیر دارد. بار میکروبی پایین شوید و گشنیز در مطالعه حاضر و مطالعات دیگر (Mckee, 1995) ممکن است متأثر از چندین عامل فوق باشد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان‌دهنده آلودگی میکروبی بیش از حد استاندارد بین‌المللی در بسیاری از نمونه‌های ادویه بود. از آن‌جایی که ادویه‌ها معمولاً در مراحل انتهایی تهیه و آماده‌سازی مواد غذایی به آن‌ها اضافه می‌شوند، لذا به نوعی تحت هیچ تیمار کشنده‌ای قرار نگرفته و با قرار گرفتن در محیط مغذی، به سرعت تکثیر پیدا می‌کنند. وجود گونه سرئوس در غالب نمونه‌ها مخاطره مضاعف به‌حساب می‌آید. با توجه به سرماگرا بودن برخی سویه‌های *باسیلوس سرئوس*، احتمال رشد و تکثیر آن‌ها در خلال مدت نگهداری در یخچال و تولید توکسین وجود دارد. فراوانی بالای گونه‌های *کواگولانس*، *ماسرانس*، *پومیلوس* و *آمیلولیکوئیفاسینس* می‌توانند موجب فساد و بادکردگی در برخی از مواد غذایی شوند. با توجه به موارد فوق، لازم است از تدابیر کنترلی لازم از جمله تیمارهای حرارتی، گازهای استریل کننده و ازن برای از بین بردن یا کاهش باکتری‌های اسپودار در ادویه و سبزیجات معطر بهره برد.

منابع

۱. زارع، زینب؛ قطبی کهن، خدیجه (۱۳۷۵). پرتو فراوری انواع ادویه در ایران. مجموعه مقالات نهمین کنگره ملی صنایع غذایی، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. انجمن متخصصین علوم و صنایع غذایی ایران. صفحات ۵۲۵-۵۳۴.

۲. شعبانی، شاهرخ؛ زجاجی، مهدی (۱۳۹۰). بررسی میزان آلودگی ادویه های مصرفی در تولید مواد غذایی به اسپورهای مقاوم به حرارت. مجله علوم غذایی و تغذیه، سال هشتم، شماره ۴ ،صفحه ۸۹-۸۳.

۳. شهراز، فرزانه؛ کامران، منیژه؛ خاکسار، رامین؛ حسینی، هدایت؛ کارگر، ساره؛ انتشاری، مریم (۱۳۸۷). بررسی آلودگی میکروبی ادویه‌های بسته‌بندی عرضه شده در فروشگاه‌های زنجیره‌ای شهروند شهر تهران در سال ۸۶. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، شماره ۲، دوره ۶، صفحه ۱۲-۱۳۱.

۴. صداقت، زینب؛ محسنی، مهران؛ کمالی، کوروش؛ حسن، مریم؛ شعبانی، شاهرخ؛ فردوسی، نیکتا (۱۳۹۳). بررسی میزان آلودگی ادویه‌های عرضه شده به صورت فله و بسته‌بندی (فلفل سیاه، فلفل قرمز، سماق و دارچین) به اسپورهای هوازی در استان زنجان. مجله علوم غذایی و تغذیه ، شماره ۲، سال ۱۲، صفحه ۴۱-۴۸.

۵. مرتضوی، علی؛ کاشانی‌نژاد، مهدی؛ ضیاءالحق وزیری، حمیدرضا (۱۳۸۴). میکروبیولوژی مواد غذایی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، چاپ چهارم، صفحه ۷۰-۳۴.

6. Antai, S. 1988. Study of the Bacillus flora of Nigerian spices. Int J Food Microbiol. 6: 259–261.
7. Aksu, H., Bostan, K. and Ergun, O. (2000). Presence of *Bacillus cereus* in packaged some spices and herbs soled in Istanbul. Pak J Biol Sci. 5: 710–712.
8. Banerjee, M., Sarkar, P. 2003. Microbiological quality of some retail spices in India. Food Res Int. 36, 469–474.

www.SID.ir

spices and herbs including the presence of Cronobacter spp. Food Microbiol. 49: 1–5.
15. Louka, E., Zouki, J., Dabboussi, F. (2013). Assessment of the microbiological quality and safety of common spices and herbs sold in Lebanon. J Food Nut Dis. 2: 2–4.
16. Mckee, L. 1995. Microbial contamination of spices and herbs: a review. LWT. 28: 1–11.
17. Mohammad, N., and Akhter, M. 2001. Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, pp. 210–217, 225-230, 241-246.
18. SADC Trade, (2009) Trade Information Brief: Spices. http://sadctrade.org
19. Witkowska, A., Hickey, D., Gomez, M., and Wilkinson, M. 2011. The microbiological quality of commercial herb and spice preparations used in the formulation of a chicken supreme ready meal and microbial survival following a simulated industrial heating process. Food Contr. 22, 616–625.
9. Barrow, G., Feltham, R. 2003. Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria, Cambridge University Press, p. 88.
10. Beki, I., Ulukanli, Z. (2008). Enumeration of microorganisms and detection of some pathogens in commonly used spices sold openly from retail stores in Kars, Gazi Uni J Sci. 21: 79–85.
11. Carlin, F. (2011**).** Origin of bacterial spores contaminating foods. Food Microbiol. 28: 177–182.
12. Doren, V., Jare, M., Neil, K., Parish, M., Gieraltowski, L., Gould, L., Gombas, K. (2013). Foodborne illness outbreaks from microbial contaminants in spices, 1973-2010, Food Microbiol. 36: 456–464.
13. FAO. (2005). Herbs, spices and essential oils. http://fao.org.
14. Garbowska, M., Pluta, A., Rozanska, L. (2015). Microbiological quality of selected

www.SID.ir

Archive of SID

Occurrence, quantity and diversity of aerobic spore-forming bacteria in spices and herbs of Tabriz retails

Lesanifar N[1], Hanifian S[2*]

1. M.Sc Graduate of Food Science and Technology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Department of Food Science and Technology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

*__Corresponding author__: *hanifian.s@gmail.com*

Received: 5 August 2017 Accepted: 5 November 2017

Abstract

The aims of the present work were to evaluate the contamination rate, quantity and diversity of aerobic spore-forming bacteria in spices and herbs marketed in Tabriz. To this end, randomly 5 specimens from 25 different spices and aromatic herbs (totally 125 samples) were obtained from the groceries and shopping centers in different parts of Tabriz. The samples were analyzed using standard plate count and conventional biochemical assays. Results showed that the highest levels of mesophilic spore-forming bacteria were observed in Turmeric spice with an average of 7.02 ± 0.60 log cfu/g and the lowest amount of these bacteria in Coriander spice with average of 4.15 ± 0.56 log cfu/g was observed. From studied spices, sure with average of 4.73 ± 0.86 log cfu/g and the black pepper with average of 7.20 ± 0.81 log cfu/g had lowest and highest thermophilic spore-forming bacteria, respectively. The highest frequency of mesophilic bacteria was related to *Bacillus coagulans*. The most thermophilic Bacillus species in studied spices were *B. macerans* (16.99 %), *pantotenticus* (15.53%) and *cereus* (14.7 percent). Bacillus species diversity in studied spices showed that marjoram spice had the greatest number of mesophilic Bacillus species (11 species) and Sumac spice had the highest species of thermophilic Bacillus (10 species) had the. Generally, results showed that most of the spices in Tabriz region had a high microbial load of aerobic spore-forming bacteria; and can be a source of contamination and spoilage in foods that used in their combination.

Keywords: Aerobic spore-forming bacteria, Spices and herbs, Tabriz

www.SID.ir