

بررسی آلدگی میکروبیولوژیکی جوانه‌های خوراکی شبدر، ماش و گندم در شهر تهران

علیرضا باهنر^۱، علیرضا مختاری^{۲*}، پورداد پناهی^۲، مهزاد آقازاده مشگنی^۳، ایرج اشرافی‌تمای^۴، رضا محمدصالحی^۵

چکیده

عنوان غذاهای گیاهی حاوی ترکیبات مورد نیاز بدن مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۳). جوانه‌ها سرشار از ویتامین‌های E, B, C, سلیونیوم بوده، همچنین دارای خاصیت آنتی اکسیدانی، ضدسرطان و ضدکلسترول هستند و ماده غذایی مناسبی برای تغذیه افرادی است که تصمیم به کاهش وزن گرفته‌اند. جوانه سالم باید رنگ شفاف داشته و عاری از هرگونه آفت باشد. کترول بهداشت این محصول با توجه به رواج مصرف آن در بین مردم امری بدیهی می‌باشد. به دلیل مصرف این نوع ماده غذایی به صورت سرد در وعده‌های غذایی، احتمال ایجاد مسمومیت غذایی افزایش می‌باید (۱). به دلیل رشد جوانه‌ها در عرض ۳-۷ روز در دمای ۲۴-۳۰ درجه سانتیگراد، وجود pH مناسب و رطوبت کافی، وضعیت مناسبی برای رشد عوامل پاتوژن ایجاد می‌شود (۵). این آلدگی‌ها در طی مراحل مختلف از جمله زمان قبل از برداشت جوانه (وضعیت بهداشتی محیط، وضعیت بهداشتی خاک، کیفیت آب مصرفی جهت آبیاری) و بعد از برداشت (دخالت دست، وضعیت بسته بندی و شرایط نگهداری) می‌تواند ایجاد شود (۱). شمارش میکروارگانیسم‌های مزوپیل در این نوع ماده غذایی می‌تواند به عنوان شاخص کیفیت میکروبی مطرح باشد. عوامل بیماریزای میکروبی انسانی و حیوانی متعددی از انواع (باکتری، کپک، مخمر، انگل و ویروس‌ها) می‌توانند از طریق سبزیجات به انسان منتقل

سبزیجات تازه نقش مهمی در رژیم غذایی و حفظ سلامتی انسان دارند. یک دسته مهم از سبزیجات، جوانه گیاهان می‌باشد. این جوانه‌ها سرشار از ویتامین‌C، E، می‌باشد. با توجه به اینکه جوانه‌ها به صورت سرد مصرف می‌شوند، استفاده از انواع آلدگه شده آنها می‌تواند سبب پروز مسمومیت غذایی شود. جوانه‌ها، محیط مناسبی برای بقاء و حتی تکثیر میکروب‌ها می‌باشند. شیوع اپیدمی‌های متعدد در کشورهای مختلف و رواج مصرف جوانه‌های خوراکی در ایران و اهمیت سلامت غذا، نیاز به بررسی و ضعیت آلدگی میکروبیولوژی این ماده غذایی را پیش از پیش مورد توجه قرار داده است. در این مطالعه تعداد ۲۷ نمونه از جوانه‌های ماش، شبدر و گندم خریداری شد. بعد از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه و یکنواخت کردن، رقت‌های متوالی از نمونه‌ها ثبت و به روشن کشته سطحی به روی محیط‌های مورد نظر کشته شدند. در این تحقیق میزان کلی بار میکروبی و فارچی نمونه‌ها بررسی شد. از مجموع ۲۷ نمونه بیشترین بار میکروبی از نمونه شبدر و کمترین میزان آلدگی از نمونه گندم جداسازی شد. نمونه دارای آلدگی اشریشیاکولای و ۶ نمونه دارای آلدگی به کپک بودند. آلدگی با سالمونلا و اشریشیاکولای O157 مشاهده نشد. به نظر می‌رسد ضد عفنونی با مواد شیمیایی و یا شستشوی معمولی در منزل و پرتووده در مزارع پرورش نقش مهمی در کاهش آلدگی جوانه‌ها داشته باشد.

واژگان کلیدی: جوانه شبدر، جوانه ماش، جوانه گندم، آلدگی میکروبیولوژی، مسمومیت غذایی

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۱۸

مقدمه

سبزیجات تازه در رژیم غذایی و تأمین سلامتی نقش مهمی دارند و در سال‌های اخیر مردم بسیاری از کشورها به مصرف این ماده غذایی ترغیب شده‌اند (۹). یک دسته مهم از این سبزیجات، جوانه گیاهان مختلف می‌باشد که امروزه به

۱- گروه بهداشت و کترول مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه میکروبیولوژی، تهران، ایران.

alm3370@yahoo.com

۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، گروه بهداشت مواد غذایی، تهران، ایران.

۴- گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۵- مرکز تحقیقات ملکولی و میکروبیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

رقت‌های متوالی تهیه شد. جهت جداسازی و شمارش کلونی‌ها از روش کشت سطحی استفاده شد. محیط‌های استفاده شده در این آزمایش شامل موارد ذیل می‌باشد: پلیت کانت آکارجهت شمارش کلی باکتری‌های مزووفیل (Shark Company, PCA, Liofilchem), محیط کروم آکار (ECC) و کروم آکار O157 (جهت شمارش باکتری اشریشیاکولای) (CHROMagar Paris France) سایر کلیفرم‌ها (شرکت SDA حاوی کلرامفینیکل جهت شمارش قارچ‌ها و محیط (شرکت SDA, Himedia), محیط کروم آکار سالمونلا (Rambach Agar) (شرکت Agar). بعد از ۳۷ ساعت در دمای ۴۸ درجه سانتیگراد و محیط‌های کشت قارچ و مخمر به مدت ۵-۲۵ روز در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند. شمارش کلونی‌ها بر حسب CFU/g محسابه شد. کلونی‌های اشریشیاکولای رشد یافته بر روی کروم آکار که به رنگ آبی می‌باشد، به محیط‌های افتراقی انتقال داده شده و با آزمون IMVIC شناسایی شدند. جهت تعیین میزان کاهش بار میکروبی بعد از شستشو، مقدار ۱۰ گرم از یک نمونه جوانه شبدر را مطابق دستورالعمل شرکت تولیدی جوانه‌های خوراکی (آبکشی قبل از مصرف)، به مدت ۳۰ ثانیه بطور کامل در زیر جریان آب شهری شستشو داده و به مدت ۱۰ دقیقه داخل سبد استریل در زیر هود میکروبی قرار داده تا آب اضافی آن خارج شده، سپس بقیه مراحل آزمایش مانند سایر نمونه‌ها بر روی آن انجام شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS Statistics 19 تجزیه و تحلیل شد.

نتایج

شمارش کلی باکتری‌های مزووفیل هوایی، شمارش کلی فرم، شمارش کپک و مخمر و تعداد اشریشیاکولای جداسازی شده در این مطالعه در جدول ۱ بیان شده است. از کل نمونه‌های ماش سه نمونه دارای آلدگی *E.coli* بوده در حالی

شوند. تعدادی از عوامل باکتریایی که در جوانه گیاهان مختلف در بررسی‌های انجام شده گزارش شده است شامل: سالمونلا، اشریشیاکولای O157:H7 و لیستریا مونوسایتوژنر می‌باشد(۷). استافیلوکوک اورئوس، باسیلوس سرئوس و آنربوموناس هیدروفیلا نیاز جوانه‌ها، جداسازی شده‌اند(۳). وقوع عفونت با عوامل ذکر شده در مطالعات مختلفی از کشورهای کانادا، دانمارک، فنلاند، ژاپن، سوئد، انگلستان و آمریکا گزارش شده است(۱۵). اخیراً هم در سال ۲۰۱۱ یک اپیدمی وسیع اشریشیاکولای خوبنیزی دهنده روده‌ای (EHEC) وسیع در اکثر کشورهای اتحادیه اروپا در اثر مصرف جوانه آلدگی اتفاق افتاد. هدف از این مطالعه بررسی وضعیت بهداشتی و تعیین کیفیت میکروبی جوانه‌های (ماش، گندم و شبدر) عرضه شده در مراکز خرید (فروشگاه و سوپرمارکت) در سطح شهر تهران می‌باشد.

مواد و روش کار

*جمع آوری و تهیه نمونه‌ها

با توجه به عرضه سه نوع جوانه گندم، ماش و شبدر در بازار، تعداد ۱۵ نمونه جوانه ماش، ۵ نمونه جوانه گندم و ۷ نمونه جوانه شبدر با اسامی تجاری مختلف از فروشگاه‌های مناطق شمال، شرق و غرب تهران در سال ۱۳۸۸ تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. جوانه‌های مورد مطالعه در بسته‌بندی‌های یکبار مصرف با روکش سلفونی و با درج تاریخ تولید و انقضاء تهیه شدند.

*آماده سازی نمونه‌ها

در ابتدا به میزان ۱۰ گرم از هر نمونه بعد از یکنواخت سازی در کنار شعله و در زیر هود میکروبی برداشت شده و پس از توزین به کیسه‌های استریل دستگاه استومکر (Mdl Pulsifire) محتوی ۹۰ سی سی بافر پیتون واتر استریل (BPW, Applichem) انتقال داده شد. این نمونه‌ها در دستگاه به مدت ۲ دقیقه کاملاً یکنواخت شدند(۱). سپس از این حجم نمونه که برابر با رقت^{-۱} ۱۰ می‌باشد

نمونه‌های شبدر یک نمونه انتخاب و با انجام مرحله شستشو مشخص شد که این عمل موجب کاهش ۵ برابری بار میکروبی نمونه می‌شود. از میان نمونه جوانه‌های مورد مطالعه، بیشترین شمارش کلی میکروبی به میزان (9×10^9 CFU/g) مربوط به جوانه شبدر بوده و کمترین بار را به میزان ($1/8 \times 10^8$ CFU/g) جوانه گندم دارا بود.

که از نمونه‌های گندم یک مورد *E.coli* جداسازی و از نمونه‌های شبدر باکتری *E.coli* جداسازی نشد. نمونه‌ها آلدود به باکتری سالمونلا و اشریشیاکولای O157 نبوده و در نمونه‌های شبدر از ۴ نمونه، کپک‌های موکور و آسپرژیلوس فلاوروس جداسازی شد. از ۱۵ نمونه ماش دو نمونه دارای آلدگی قارچی موکور بوده و از نمونه‌های گندم هیچ آلدگی قارچی جداسازی نشد. از مجموع ۱۵ نمونه گندم هیچ آلدگی مخمري و کپکی جداسازی نگردید. همانطور که گفته شد از

جدول ۱- بار میکروبی نمونه‌های بررسی شده

نوع نمونه نمونه	تعداد نمونه	شمارش کلی باکتری		شمارش کلی باکتری	تعداد نمونه	شمارش مخمر	شمارش کلی باکتری	شمارش میانگین	بازه							
		شمارش کپک	شمارش <i>E.coli</i>													
ماش	۵															
شبدر	۷															
گندم	۱۵															
جمع کل	۲۷															

اعونت با باکتری باسیلوس سرئوس در سال ۱۹۷۳ در اثر مصرف جوانه اتفاق افتاد (۱۱). در مطالعه حاضر نیز جوانه‌های خوراکی دارای میزان بالایی از شمارش کلی باکتریابی بوده که این امر می‌تواند زنگ خطری برای سلامتی مصرف کننده‌های این ماده غذایی باشد. در این پژوهش مطابق جدول ۲ از مجموع ۲۷ نمونه، ۱ نمونه وضعیت «متوسط»، ۱۰ نمونه وضعیت «نامرغوب» و سایر نمونه‌ها (۱۶ نمونه) وضعیت «فاسد» داشتند، که این شاخص نشان‌دهنده پایین بودن کیفیت جوانه‌های تولیدی می‌باشد. بالا بودن بار میکروبی جوانه‌ها نشان از تاثیر وضعیت بهداشتی محیط بر کیفیت جوانه تولیدی دارد (۱). در مطالعه‌ای که در ترکیه سال ۲۰۰۱ صورت گرفت شمارش کلی باکتری‌های هوایی و شمارش کلی کلیفرم‌ها به ترتیب CFU/g 10^8 و 10^7 گزارش شد، که هیچ تفاوت معناداری بین آنها وجود نداشت (۱). در پژوهش اخیر نیز

جدول ۲- شاخص کیفیت میکروبی اعلام شده توسط HACCP-TQM (۱)

ردیف حسب CFU/g	وضعیت کیفیت رشاد کیفی میکروبی بر متوسط	شاخص کیفی میکروبی بر متوسط
۱	$< 10^4$	خوب
۲	$10^4 - 5 \times 10^7$	متوسط
۳	$5 \times 10^7 - 5 \times 10^7$	نامرغوب
۴	$> 5 \times 10^7$	فاسد

بحث

مطالعه حاضر بر روی ۲۷ نمونه از جوانه‌های خوراکی انجام شد. مطالعات انجام شده سایر محققین موید این نکته است که جوانه‌های خوراکی دارای میزان آلدگی بالایی می‌باشند. در ژاپن سال ۱۹۹۶ مصرف جوانه‌های آلدود به باکتری اشریشیاکولای O157:H7 موجب مرگ ۱۲ نفر شد (۸). شیوع

در شرکت‌های بزرگ، جوانه‌ها با آب داغ پاستوریزه می‌شوند و سپس در دمای ۵۰ درجه به مدت یک ساعت خشک شده و متعاقباً با اشعه گاما (kGy) ۲ پرتودهی می‌شود. این عمل باعث کاهش بار میکروبی به میزان $\log_{10} 4/6$ شده و تاثیری بر روی جوانه‌زنی ندارد، اگرچه موجب کاهش نسبت رشد جوانه می‌شود(۲). در تحقیق حاضر، همچنین برای تعیین میزان تاثیر شستشو با آب معمولی بر کاهش آلودگی سطحی و کاهش بار میکروبی یک نمونه انتخاب و مطابق دستورالعمل ذکر شده در بند روش کار شستشو داده و سپس آزمایش‌های لازم بر روی آن انجام شد. نتیجه شستشوی جوانه انتخاب شده گویای این نکته می‌باشد، در صورت دسترسی نداشتن به مواد ضدغذوی کننده، شستشو با آب شهری تاثیر بارزی بر کاهش شمارش کلی باکتری‌ها تا \log_5 را دارد.

دست آلوده پرسنل، رعایت نکردن مسائل بهداشتی توسط کارگران، عدم شستشوی مداوم دست‌ها و تمیز نبودن لباس کارگران نقش مهمی در انتقال آلودگی‌ها دارد (۶). شستشوی مداوم دستهای کارگران قبل و بعد از جابجایی جوانه‌ها، اجتناب از تماس مجدد با جوانه‌ها در هنگام برداشت و بسته‌بندی، توسط سازمان غذا و دارو آمریکا توصیه شده است (۵).

E.coli گزارش‌های منتشر شده نشان می‌دهد که جداسازی ناشی از آلودگی مدفعوعی جوانه‌ها بوده که آب آلوده و خاک نقش مهمی در انتقال آن ایفاء می‌کنند (۱۲). مطالعات نشان می‌دهد که می‌توان مواجهه با عوامل بیماری‌زا موجود در محیط پرورش گیاه را کترل نمود، ولی بعضی از این عوامل از طریق ریشه به گیاه متقل می‌شود که این نکه نشان‌دهنده دخالت سایر عوامل می‌باشد (۱۴).

برای کاهش خطرات ناشی از مصرف این نوع موادغذایی تازه باید:

1- با آموزش‌های لازم GMP (Good Manufacturing Practices) و GAP (Good Agriculture Practices) تولیدکنندگان این محصولات ضریب ایمنی را افزایش داد.

تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین شمارش کلی باکتری‌های مزو菲尔 و شمارش کلی کلیفرم‌ها مشاهده نشد. در مطالعه دیگر که در نروژ انجام شد تقریباً ۲۵٪ از نمونه جوانه‌های خوارکی مختلف از جمله (یونجه، جوانه لوپیا)، شمارش کلی کلیفرم‌های مقاوم به حرارت بین $0/2 \times 10^7$ CFU/g - $1/4 \times 10^7$ گزارش شده و از میان ۶۲ نمونه، باکتری‌های کلبسیلا و انتروباکتر و اشريشیاکولای از ۸ نمونه جداسازی شده است (۱۲ و ۱۰). همچنین بررسی که بر روی وضعیت میکروبی جوانه‌های عرضه شده در فروشگاه‌های فیلیپین انجام شده است، شمارش کلی باکتری‌ای بین $\log_{10} 4/54$ CFU/g - $\log_{10} 11/38$ و آلودگی به قارچ و مخمر بین $5/90$ CFU/g - $5/22$ ارزیابی شده و تعداد کلی فرم جوانه‌ها بین $5/40$ CFU/g - $5/11$ نمونه شمارش شده است (۶). در تحقیق اخیر از مجموع ۲۷ نمونه باکتری اشريشیاکولای از ۴ نمونه جداسازی شد. همچنین مقایسه نتایج مطالعه اخیر با نتایج تحقیقات صورت گرفته در فیلیپین، نشان‌دهنده میزان پایین‌تر شمارش کلی باکتری‌ای، ولی میزان بالای آلودگی به کپک و مخمر می‌باشد. شرایط خاکی که جوانه‌ها در آن تکثیر می‌یابند دارای قابلیت آلودگی میکروبی بالایی می‌باشد. همچنین کیفیت آب مصرفی در تولید جوانه‌های خوارکی تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر میزان آلودگی محصول دارد، که با ضدغذوی نمودن آب تا حدودی می‌توان این آلودگی‌ها را کترل نمود (۹). در آمریکا برنامه پیشگیرانه شامل، کترل و آزمایش میکروبی آب مصرفی در تولید جوانه‌ها باعث کاهش خطر ابتلاء به عوامل میکروبی خطرناک شده است، هرچند این برنامه پیشگیری در سایر کشورها موفقیت آمیز نبوده است (۹). در مطالعات صورت گرفته ثابت شده با توجه به وضعیت آلودگی جوانه‌های خوارکی و خطر بالقوه این ماده غذایی، ضدغذوی می‌تواند باعث کاهش سطح آلودگی شود (۱۲). از جمله راههای ضدغذوی جوانه‌ها، استفاده از محلول‌های شیمیایی (هیپوکلریت سدیم یا کلسیم ۳-۵٪)، محلول پراکسید هیدروژن ۶٪ به مدت ۱۰ دقیقه و یا اتانول ۸٪ به مدت ۱۰ دقیقه (برای رفع آلودگی از نظر سالمونلایی) می‌باشد (۳، ۵).

- bean sprouts vended in public markets of National Capital Region, Philippines. *Food. Control.* 18:1307-1313.
7. Harris, L., Farber, J., Beuchat, L., Parish, M., Suslow, T., Garrett, E. Busta, F. (2003) : Outbreaks Associated with Fresh Produce: Incidence, Growth, and Survival of Pathogens in Fresh and Fresh Cut Produce. *Comprehensive. Rev. food. Sci. food. Safety.* 2:78-141.
8. Michino, H., Araki, K., Minami, S., Takaya, S., Sakai N., Miyazaki, M., Ono, A., Yanagawa, H. (1999): Massive outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. *Am. J. Epidemiol.* 150:8:787-796.
9. Microbiological Risk Assessment Series.(2008): Microbiological hazards in fresh fruits and vegetables. FAO/WHO. p;1-28.
10. Montville, R., Schaffner, D. (2005): Monte Carlo simulation of pathogen behavior during the sprout production process. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:746-53.
11. Portnoy, B.L., Goepfert, J. M., Harmon, S.M. (1976): An outbreak of *Bacillus cereus* food poisoning resulting from contaminated vegetable sprouts. *Am. J. Epidemiol.* 103:6:589-594.
12. Robertson, L.J., Johannessen, G.S., Gjerde, B.K. Loncarevic, S. (2002): Microbiological analysis of seed sprouts in Norway. *Int. J. Food. Microbiol.* 75:119-126.
13. Shetty, K., McCue, P. (2003): Phenolic Antioxidant Biosynthesis in Plants for Functional Food Application: Integration of Systems Biology and Biotechnological Approaches. *Food.Biotechnol.* 17:2:67-97.
14. Solomon, E.B., Yaron, S Matthews, K.R. (2002): Transmission of *Escherichia coli* O157: H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization. *Appl . Environ. Microbiol.* 68:1:397-400.
15. Taormina, P.J., Beuchat, L.R . Slutsker, L. (1999): Infections associated with eating seed sprouts: an international concern. *Emerg. Infect. Dis.* 5:5:626-634.
- ۲- این محصولات باید با حداقل تماس فیزیکی کارگران تولید و حتی الامکان به صورت مکانیزه تولید شود.
- ۳- استفاده از بذرهای تمیز، روش‌های نگهداری صحیح و جابجایی کاملاً بهداشتی باعث کاهش آسودگی می‌شود.
- ۴- مواد ضدغونه کننده با یک برنامه مناسب می‌تواند میزان آسودگی را به کمتر از (Log-5) رسانده و خطر بیماری را کاهش دهد.
- ۵- به کار بردن استراتژی HACCP در کلیه مراحل مدیریتی
- ۶- ارتباط موثر و مداوم با مرکز تحقیقاتی جهت آشنایی با فناوری‌های نوین برای کنترل آسودگی‌ها و پیشگیری در کلیه مراحل تولید، بسته‌بندی و توزیع با توجه به بررسی مطالعات مختلف، بهترین و آسانترین راه جهت ضدغونه جوانه‌ها استفاده از محلول ۲۰۰۰۰ ppm کلرین به مدت ۱۵ دقیقه می‌باشد که در دسترس همگان می‌باشد (۴).

REFERENCES

1. Aycicek, H., oguz, U., Karci, K. (2006): Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara, Turkey. *Int. J.Hyg. Environ .Health.* 209:197-201.
2. Bari, M., Nazuka, E., Sabina, Y., Todoriki,S., Isshiki, K., (2003) : Chemical and irradiation treatments for killing *Escherichia coli* O157: H7 on alfalfa, radish, and mung bean seeds. *J. Food.Prot.* 174: 66:767-774.
3. Beuchat, L.R., Ryu J.H. (1997) Produce handling and processing practices. *Emerg. Infect. Dis.* 3:459-65.
4. Brooks, J. T., Rowe, S.Y., Shillam, P., Heltzel, D. M., Hunter, S. B., Slutsker, L, Hoekstra, R. M., Luby, S.P. (2001): *Salmonella* Typhimurium infections transmitted by chlorine-pretreated clover sprout seeds. *Am J. Epidemiol.* 154:11:1020-1028.
5. De Roever, C. (1998): Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce. *Food. Control.* 19:321-347.
6. Gabriel, A.A., Berja, M.C. , P. Estrada, A.M., Lopez M. G.A.A., Nery, J.G.B. Villaflor, E.J.B. (2007): Microbiology of retail mung