نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۹، شماره ۱، بهار ۱۳۹۲، ص. ۳۹-۳۱

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 9, No. 1, Spring 2013, p. 31-39

کیفیت میکروبی و سطوح فراوانی باکتریهای روده ای در سطح سبزیجات خام پس از برداشت در شهر مشهد

معصومه بحرینی[1*]- محمد باقر حبیبی نجفی[2]- محمدرضا باسامی[3]- مرتضی عباس زادگان[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۶/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۴/۶

چکیده

در این مطالعه کیفیت میکروبی سبزیجات خام پس از برداشت در شهر مشهد مورد بررسی قرار گرفت و میزان فراوانی میکروبهای شاخص و بیماریزای روده ای در این منطقه تحقیق شد. در این پژوهش ۹۸ نمونه سبزی خام در طی یک دوره ۷ ماهه از اواسط بهار تا اواسط پاییز آزمایش شد. نتایج نشان داد که سطوح فراوانی باکتریهای مزوفیل هوازی بر روی ۸۳ درصد سبزیجات خام کمتر از 10^7 cfu/g بود و ۱۰۰ درصد سبزیجات به انتروباکتریاسه و باکتریهای کلی فرمی آلوده بودند و میانگین آنها از ۱ تا ۶/۲ سیکل لگاریتمی متغیر بود. میانگین باکتریهای خانواده اسید لاکتیک و کپک ومخمر به ترتیب عبارت بود از ۴/۱ و ۴/۵ سیکل لگاریتمی و میزان فراوانی کپک ومخمر در ۸۳ درصد سبزیجات خام کمتر از ۵ سیکل لگاریتمی بود. ۱۲/۷ درصد سبزیجات خام به اشرشیا کلی آلوده بودند اما فقط ۴/۱ درصد نمونه ها میزان آلودگیشان بیشتر از ۲ سیکل لگاریتمی بود. سطوح فراوانی اشرشیا کلی O157:H7 و سالمونلا بر روی سبزیجات خام به ترتیب ۴ و ۱۲/۷ درصد بود. ۹۴/۹ درصد نمونه ها به استافیلوکوکوس اورئوس آلوده بودند که ۷/۸ درصد آنها کواگولاز مثبت بودند.

واژه های کلیدی: سبزیجات خام، باکتریهای روده ای بیماریزا، کیفیت میکروبی، میزان فراوانی

مقدمه

سبزیجات خام بعنوان ناقل باکتریهای بیماریزای روده ای شناخته شده اند و تعدادی از گزارشات به این مسئله اشاره می کنند که سبزیجات خام بالقوه حامل باکتریهای بیماریزایی هستند که از طریق مواد غذایی منتقل می‌شوند (Nguyen-the, *et al.*, 1994, Beuchat, 1996).

در سالهای اخیر تعداد اپیدمی‌هایی که در اثر خوردن میوه و سبزیجات آلوده ایجاد شده افزایش یافته است (Mukherjee, et al., 2004). بیشتر این اپیدمی‌ها توسط باکتریها (مثل سالمونلا، اشرشیا کلی O157:H7 و لیستریا منوسایتوژنز)(Schlech, et al., 1989, FDA, 2006)، ویروسها (ویروس هپاتیت A و نرواویروس) (Koopmans, *et al.*, 2004, Le Guyader, *et al.*, 2004) و انگلها (کریپتوسپوریوم و سیکلوسپورا) (Tauxe, *et al.*, 1997) ایجاد میشود.

در امریکا بیشتر این اپیدمی‌ها به باکتریهای *سالمونلا* و *اشرشیا کلی O157:H7* نسبت داده می‌شود (Olsen, *et al.*, 2000). در سال ۲۰۰۶ در ۲۶ ایالت امریکا، ۲۰۰ نفر در اثر خوردن اسفناج خام آلوده به *اشرشیا کلی O157:H7* دچار عفونت ادراری خونریزی دهنده[5] شدند که منجر به فوت ۳ نفر شد (FDA, 2006). بررسی‌های انجام شده مشخص کرد که اسفناجهای کشت شده در ۳ شهر ایالت کالیفرنیا منبع آلودگی بودند. بنابر این میوه و سبزیجات تازه دارای ریسک آلودگی بالایی هستند چون به صورت خام مصرف می‌شوند و احتمال اینکه در مزرعه با مواد و خاک آلوده به فاضلاب انسانی در تماس باشند و آلوده شوند زیاد است (Mukherjee, *et al.*, 2004).

سبزیجات خام را بخاطر نوع روش کشت و آبیاری و کود دهی و اینکه هیچ تیمار شیمیایی در جهت کاهش بار میکروبی بر روی این محصولات خام انجام نمی شود، بعنوان یک ریسک خطر برای سلامت عمومی می دانند (McMahon, *et al.*, 2001). بررسی ها نشان می‌دهد که سبزیجات می توانند در مراحل کشت، برداشت، پس

۱- دانشجوی سابق دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: mbahreini@um.ac.ir)
۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- استادیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد
۴- استاد گروه مهندسی محیط زیست، دانشگاه ایالتی آریزونا

5- Hemolytic Uremic Syndrome (HUS)

از برداشت، کارگران و عملیات توزیع توسط باکتریهای بیماریزای انسانی آلوده شوند.

هدف اصلی این مطالعه بررسی کیفیت میکروبی و تعیین حضور و میزان فراوانی باکتریهای بیماریزای روده ای سبزیجات خام کشت شده در مشهد بود.

مواد و روش ها

تهیه نمونه

ابتدا از مکان‌های مختلف شهر مشهد انواع سبزی خام که آب زده نشده بودند و خشک بودند خریداری گردید و بعد از انتقال به آزمایشگاه و حذف گل، لای، زائدات و دم برای انجام آزمایشات میکروبیولوژی آماده شدند.

آزمایشات میکروبیولوژی

آزمایشات میکروبی بر طبق روش های استاندارد (HPA, 2005a, 2005b, 2004a, 2004b) انجام شد. در شرایط استریل ۲۵ گرم از هر نمونه وزن و به مخلوط کن استریل منتقل گردید و ml ۲۲۵ بافر پپتون واتر به آن اضافه و ۲ دقیقه مخلوط شد، سپس از آن در بافر پپتون واتر رقتهای ده تایی تا 10^{-6} تهیه و برای آزمایشات میکروبی استفاده گردید.

باکتریهای مزوفیل هوازی در محیط کشت پلیت کانت آگار به روش پورپلیت کشت و به مدت ۴۸ ساعت در دمای 30^{o} C قرار داده شدند. باکتریهای کلی فرمی و انتروباکتریاسه بر روی محیط کشت ویوله رد بایل لاکتوز آگار (VRBL) و ویوله رد بایل گلوکز آگار (VRBG) به روش پورپلیت به ترتیب کشت داده شدند و سپس یک لایه نازک از محیط کشت روی آنها ریخته شد تا شرایط میکروآئروفیل ایجاد شود و پتریها در دمای 30^{o} C به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری وسپس کلنی های قرمز شمارش شدند.

باکتریهای خانواده اسید لاکتیک بر روی محیط کشت MRS آگار به روش پورپلیت کشت شدند و یک لایه نازک از محیط کشت روی آنها ریخته شد تا شرایط میکروآئروفیل ایجاد شود و به مدت ۴۸ ساعت در دمای 35^{o} C قرار داده شدند.

کپک و مخمر در محیط کشت یست گلوکز کلرامفنیکل آگار[1] به روش پورپلیت کشت و به مدت ۵-۳ روز در دمای 25^{o} C گرمخانه گذاری شدند.

اشرشیا کلی بر روی محیط کشت کروم آگار اشرشیا کلی[2] کشت و در دمای 30^{o} C به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و فقط کلنی های سبز-آبی شمارش شد.

سپس کلنی های سبز آبی را انتخاب و بر روی محیط کشت SMAC Agar که حاوی آنتی بیوتیک سفکسیم و تلوریت بود کشت داده و در 37^{o}C گرمخانه گذاری شد. بعد از رشد کلنی های بی‌رنگ به عنوان *اشرشیا کلی O157:H7* انتخاب و توسط تست آگلوتیناسیون تأیید شد.

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

جهت شناسایی جنس *سالمونلا* از چهار مرحله کشت استفاده شد. برای این منظور بعد از تهیه رقت و انجام تستهای میکروبی لازم، نمونه هموژنیزه شده را به مدت ۲۴-۱۶ ساعت جهت تقویت اولیه *سالمونلا* در دمای 37^{o} C قرار داده شد، سپس ml ۰/۱ از آن برداشته و در دو محیط آبگوشتی راپاپورت واسیلیادیس (۹ ml) و تتراتیونات براث حاوی محلول ید و آنتی بیوتیک نوبیوسین (40µl/ml) منتقل و در دمای $41/5^{o}$ C به مدت ۲۴ ساعت دیگر گرمخانه گذاری شد تا اگر *سالمونلا* حضور دارد نسبت به سایر باکتریها بیشتر رشد کند. برای جداسازی و شناسایی *سالمونلا*، از دو محیط فوق بر روی سه محیط افتراقی برلیانت گرین بایل براث، XLD[3] و بیسموت سولفیت آیرون آگار[4] به روش خطی کشت شد و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ^{o}C ۳۷ قرار داده شدند. کلنی های قرمز با یک هاله روشن بر روی محیط برلیانت گرین بایل براث، کلنی های قرمز با یا بدون مرکز سیاه بر روی XLD و یا کلنی های سیاه با جلای فلزی بر روی محیط بیسموت سولفیت آیرون آگار بعنوان سالمونلا انتخاب شد و از هر پلیت مثبت یک یا دو کلنی برداشته و جهت تائید نهایی آنها را بر روی محیط های لیزین دکربوکسیلاز آگار، تریپل شوگر آیرون آگار و اوره براث کشت داده شد و در صورت مثبت بودن نتایج تستهای بیوشیمیایی، نمونه *سالمونلا* تشخیص داده شد و تستهای آنتی سرم O و H بر روی آنها انجام گردید.

نتایج

شمارش باکتریهای مزوفیل هوازی در سبزیجات خام از ۳ تا log cfu/g ۷/۵ متغیر بود و بیشترین بار آلودگی (۳۷ درصد) آنها در فاصله بین ۶ و ۷ بود (جدول ۱). هویج، کاهو و جعفری با میانگین ۷/۳، ۶/۷ و ۶/۶ سیکل لگاریتمی به ترتیب بیشترین بار آلودگی را داشتند و کلم سفید وکلم قرمز با میانگین log cfu/g ۵/۳ کمترین آلودگی را

1- YGCA
2- ChoromagarECC (trypton bile X- glucouronide agar)
3- Xylose lysine desoxycholate
4- Bismuth sulfite iron agar

داشتند.

تعداد انتروباکتریاسه در سبزیجات خام از ۱/۱ تا ۶/۵ فرق می‌کرد (جدول ۲) و بیشترین سطح فراوانی را در محدوده بین ۵ و ۶ داشت (۳۵ درصد)، در حالیکه تعداد کلی فرم در این سبزیجات از ۱/۱ تا ۶/۶ متغیر بود و میانگین ۳۴ درصد آنها بین ۴ و ۵ قرار داشت (جدول ۳). هویج، جعفری و ریحان با میانگین ۶/۲ log cfu/g بیشترین تعداد باکتریهای کلی فرمی و گوجه فرنگی چری با ۳/۳ log cfu/g کمترین میانگین را داشت.

همانطور که در جدول ۴ نشان داده شده است تعداد باکتریهای اسید لاکتیک از ۱ log cfu/g تا ۶/۴ log cfu/g میزانش فرق می‌کرد و ۹۲ درصد سبزیجات خام بار آلودگیشان کمتر از ۵ بود. تعداد کپک و مخمر در سبزیجات خام بین ۱ log cfu/g تا ۶/۴ log cfu/g متغیر بود و بیشترین بار آلودگی در حد فاصل بین ۴ و ۳ بود (۳۴ درصد).

نتایج شمارش کپک و مخمر در سبزیجات خام بین ۱ log cfu/g و ۶/۷ log cfu/g متغیر بود و بیشترین فراوانی را در محدوده بین ۳ و ۴ داشت. بیشرین میانگین آلودگی به کپک ومخمر را سبزیهای شاهی و جعفری با میانگین ۷/۴ نشان دادند و در درجه بعدی کاهو و هویج با میانگین ۶/۴ و ۶/۳ به کپک ومخمر آلوده بودند.

باکتری *اشرشیا کلی* در ۱۲/۷ درصد سبزیجات خام دیده شد ولی تعداد آنها در ۴/۱ درصد نمونه ها بیشتر از ۲ log cfu/g بود و دو سبزی شاهی و ریحان بیشترین بار آلودگی به *اشرشیا کلی* را داشتند. *اشرشیا کلی O157:H7* تنها در ۴ درصد سبزیجات خام دیده شد. ۱۲/۷ درصد سبزیجات خام به *سالمونلا* آلوده بودند. باکتری *سالمونلا* در نمونه های هویج، جعفری و ریحان مشاهده شد. *استافیلوکوکوس اورئوس* در تمام نمونه ها وجود داشت اما میانگین تعداد آن از log cfu/g ۴ کمتر بود (جدول ۶).

بحث

با وجود افزایش مصرف میوه و سبزیجات تازه در دنیا، ولی هنوز اطلاعات کمی در مورد کیفیت میکروبی و میزان فراوانی باکتریهای بیماریزای روده ای سبزیجات خام در سراسر دنیا و بخصوص ایران وجود دارد. این مقاله اولین گزارش از میزان فراوانی باکتریهای روده ای و کیفیت میکروبی سبزیجات خام از شهر مشهد می باشد.

یکی از مشکلات عمده ایران کمبود آب می‌باشد و به همین دلیل استفاده از پسابها و آبهای سطحی آلوده در بعضی از مناطق دیده میشود به خصوص در شهر مشهد این مشکل خیلی مشهود است و هر چند آبیاری با آبهای سطحی آلوده در ایران ممنوع شده است ولی بعلت مشکل کمبود آب بعضی از کشاورزان هنوز از این آبها استفاده می کنند و این باعث شده است میزان آلودگی سبزیجات افزایش یابد. در این مقاله سعی شده است فراوانی باکتریهای بیماریزای روده ای و کیفیت میکروبی آنها مورد ارزیابی قرار گیرد.

جدول ۱- درصد فراوانی و میانگین باکتریهای مزوفیل هوازی در نمونه های سبزیجات خام

		در صد نمونه ها در فواصل مشخص										
	تعداد نمونه	$<10^2$[1]	10^2-10^3	10^3-10^4	10^4-10^5	10^5-10^6	10^6-10^7	10^7-10^8	10^8-10^9	دامنه[2]	میانگین[2]
کاهو	۲۸	۵۰	۲۵	۲۵	۰	۰	۰	۰	۰	۱-۳/۹	۳/۱
کلم سفید	۶	۱۶/۷	۸۳/۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱/۴-۳/۷	۲/۳
کلم قرمز	۶	۱۶/۷	۶۶/۶	۱۶/۷	۰	۰	۰	۰	۰	۱/۸-۳/۶	۳/۵
هویج	۶	۰	۰	۳۳/۳	۳۳/۳	۱۶/۷	۱۶/۷	۰	۰	۳-۶/۴	۵/۷
گوجه فرنگی گیلاسی	۴	۰	۰	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۴/۳-۴/۶	۴/۴
اسفناج	۵	۰	۰	۰	۴۰	۶۰	۰	۰	۰	۴-۵/۷	۵/۴
کرفس	۴	۰	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۰	۳-۳/۷	۳/۳
بادرنجویه	۲	۰	۰	۵۰	۵۰	۰	۰	۰	۰	۳/۱-۴	۳/۶
ریحان	۹	۰	۲۲/۳	۷۷/۷	۰	۰	۰	۰	۰	۲/۴-۳/۳	۳/۲
جعفری	۹	۰	۰	۰	۶۶/۷	۳۳/۳	۰	۰	۰	۴/۳-۵	۴/۶
شوید	۵	۰	۳۳/۳	۰	۶۶/۷	۰	۰	۰	۰	۲-۴/۱	۳/۷
گشنیز	۶	۰	۰	۶۶/۷	۰	۳۳/۳	۰	۰	۰	۳/۳-۵/۷	۵/۳
تره	۴	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲/۲-۲/۶	۲/۴
شاهی	۴	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲/۱-۲/۵	۲/۳

*- تعداد نمونه بررسی شده

**- دامنه در تعداد واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم محصول

***- اعداد داده شده بر اساس $\log_{10}$ cfu/g محصول

جدول ۲- درصد فراوانی و میانگین کپک ها و مخمرها در نمونه های سبزیجات خام

		در صد نمونه ها در فواصل مشخص										
	تعداد نمونه	$10^2>^1$	10^2-10^3	10^3-10^4	10^4-10^5	10^5-10^6	10^6-10^7	10^7-10^8	10^8-10^9	دامنه [۲]	میانگین [۲]
کاهو	۲۸	۰	۴۶/۴	۳۵/۷	۰	۱۷/۸	۰	۰	۰	۲/۲-۵/۳	۴/۲
کلم سفید	۶	۰	۳۳/۳	۳۳/۳	۳۳/۴	۰	۰	۰	۰	۲/۵-۴/۶	۴/۲
کلم قرمز	۶	۳۳/۳	۳۳/۳	۱۶/۷	۱۶/۷	۰	۰	۰	۰	۱-۵/۳	۳/۶
هویج	۶	۰	۰	۵۰	۵۰	۰	۰	۰	۰	۳/۱-۴/۷	۴/۲
گوجه فرنگی گیلاسی	۴	۰	۰	۰	۵۰	۰	۵۰	۰	۰	۴/۷-۶/۷	۶/۴
اسفناج	۵	۰	۰	۲۰	۶۰	۲۰	۰	۰	۰	۳/۹-۵/۴	۵/۲
کرفس	۴	۰	۰	۵۰	۵۰	۰	۰	۰	۰	۳/۷-۴/۳	۴/۲
بادرنجویه	۲	۰	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۰	۳/۲-۳/۴	۳/۳
ریحان	۹	۰	۱۶/۷	۴۹/۹	۱۶/۷	۱۶/۷	۰	۰	۰	۲/۳-۵/۲	۴/۴
جعفری	۹	۰	۰	۰	۷۷/۸	۲۲/۲	۰	۰	۰	۴/۳-۵/۳	۴/۷
شوید	۵	۰	۲۰	۲۰	۴۰	۲۰	۰	۰	۰	۲/۱-۵	۳/۴
گشنیز	۶	۰	۰	۴۱/۷	۴۱/۶	۱۶/۷	۰	۰	۰	۳/۳-۵	۴/۵
تره	۴	۰	۰	۲۵	۲۵	۵۰	۰	۰	۰	۳/۵-۶/۵	۵/۲
شاهی	۴	۰	۰	۲۵	۵۰	۲۵	۰	۰	۰	۳/۳-۵	۴/۷

*- تعداد نمونه بررسی شده

**- دامنه در تعداد واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم محصول

***- اعداد داده شده بر اساس $\log_{10}$ cfu/g محصول

جدول ۳- درصد فراوانی و میانگین انتروباکتریاسه در نمونه های سبزیجات خام

		در صد نمونه ها در فواصل مشخص									
	تعداد نمونه	$10^2>^1$	10^2-10^3	10^3-10^4	10^4-10^5	10^5-10^6	10^6-10^7	10^7-10^8	10^8-10^9	دامنه [۲]	میانگین [۲]
کاهو	۲۸	۰	۸/۳	۱۶/۷	۳۳/۳	۲۵	۱۶/۷	۰	۰	۲-۶/۵	۵/۵
کلم سفید	۶	۰	۰	۱۶/۷	۶۶/۶	۱۶/۷	۰	۰	۰	۳/۲-۵	۴/۴
کلم قرمز	۶	۰	۱۶/۷	۳۳/۳	۳۳/۳	۱۶/۷	۰	۰	۰	۱/۱-۵	۴/۴
هویج	۶	۰	۰	۰	۱۶/۷	۱۶/۷	۶۶/۶	۰	۰	۴/۴-۶/۱	۶/۱
گوجه فرنگی گیلاسی	۴	۰	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۰	۳-۳/۶	۳/۴
اسفناج	۵	۰	۰	۲۰	۴۰	۲۰	۲۰	۰	۰	۳/۴-۵/۵	۵/۲
کرفس	۴	۰	۰	۲۵	۵۰	۰	۲۵	۰	۰	۳/۹-۶	۵/۳
بادرنجویه	۲	۰	۰	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۴-۴/۵	۴/۳
ریحان	۹	۰	۰	۳۳/۳	۱۶/۷	۱۶/۷	۳۳/۳	۰	۰	۳/۱-۶	۵/۸
جعفری	۹	۰	۰	۱۶/۷	۱۶/۷	۳۳/۳	۳۳/۳	۰	۰	۳-۶/۴	۶/۱
شوید	۵	۰	۰	۰	۶۰	۲۰	۰	۲۰	۰	۴-۷/۱	۶/۱
گشنیز	۶	۰	۰	۰	۳۳/۳	۴۴/۴	۱۶/۷	۰	۰	۴/۴-۶/۵	۵/۸
تره	۴	۰	۰	۰	۰	۵۰	۵۰	۰	۰	۵/۴-۶/۵	۶/۲
شاهی	۴	۰	۰	۰	۷۵	۰	۲۵	۰	۰	۴/۴-۶/۴	۵/۸

*- تعداد نمونه بررسی شده

**- دامنه در تعداد واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم محصول

***- اعداد داده شده بر اساس $\log_{10}$ cfu/g محصول

جدول ٤- درصد فراوانی و میانگین باکتریهای کلی فرمی در نمونه های سبزیجات خام

		در صد نمونه ها در فواصل مشخص										
	تعداد نمونه	10^2>[1]	10^2-10^3	10^3-10^4	10^4-10^5	10^5-10^6	10^6-10^7	10^7-10^8	10^8-10^9	دامنه[2]	میانگین[2]
کاهو	۲۸	۰	۸/۳	۱۶/۷	۴۲/۷	۱۶/۳	۱۶	۰	۰	۳-۶/۲	۵/۳
کلم سفید	۶	۰	۰	۳۳/۳	۵۰	۱۶/۷	۰	۰	۰	۳-۵/۵	۵/۲
کلم قرمز	۶	۱۶/۷	۰	۳۳/۳	۳۳/۳	۱۶/۷	۰	۰	۰	۱/۲-۵/۶	۵/۲
هویج	۶	۰	۰	۰	۱۶/۷	۱۶/۷	۶۶/۶	۰	۰	۴-۶/۵	۶/۲
گوجه فرنگی گیلاسی	۴	۰	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲-۳/۷	۳/۳
اسفناج	۵	۰	۰	۴۰	۲۰	۲۰	۲۰	۰	۰	۳/۳-۶/۴	۵/۷
کرفس	۴	۰	۰	۲۵	۲۵	۵۰	۰	۰	۰	۳-۵/۴	۵/۲
بادرنجویه	۲	۰	۰	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۴/۷-۵	۴/۹
ریحان	۹	۰	۰	۳۳/۳	۱۶/۷	۱۶/۷	۳۳/۳	۰	۰	۳/۷-۶/۶	۶/۲
جعفری	۹	۰	۰	۱۶/۷	۱۶/۷	۳۳/۳	۳۳/۳	۰	۰	۳-۶/۶	۶/۲
شوید	۵	۰	۰	۰	۲۰	۶۰	۰	۲۰	۰	۵-۷/۳	۶/۳
گشنیز	۶	۰	۰	۰	۱۶/۷	۳۳/۳	۳۳/۳	۱۶/۷	۰	۳-۶/۶	۶/۳
تره	۴	۰	۰	۰	۰	۷۵	۲۵	۰	۰	۵/۳-۶	۵/۶
شاهی	۴	۰	۰	۲۵	۵۰	۰	۲۵	۰	۰	۳/۹-۶/۳	۵/۶

*- تعداد نمونه بررسی شده

**- دامنه در تعداد واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم محصول

***- اعداد داده شده بر اساس $\log_{10}$ cfu/g محصول

جدول ۵- درصد فراوانی و میانگین باکتریهای اسید لاکتیک در نمونه های سبزیجات خام

		در صد نمونه ها در فواصل مشخص										
	تعداد نمونه	10^2>[1]	10^2-10^3	10^3-10^4	10^4-10^5	10^5-10^6	10^6-10^7	10^7-10^8	10^8-10^9	دامنه[2]	میانگین[2]
کاهو	۲۸	۵۰	۲۵	۲۵	۰	۰	۰	۰	۰	۱-۳/۹	۳/۱
کلم سفید	۶	۱۶/۷	۸۳/۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱/۴-۳/۷	۲/۳
کلم قرمز	۶	۱۶/۷	۶۶/۶	۱۶/۷	۰	۰	۰	۰	۰	۱/۸-۳/۶	۳/۵
هویج	۶	۰	۰	۳۳/۳	۳۳/۳	۱۶/۷	۱۶/۷	۰	۰	۳-۶/۴	۵/۷
گوجه فرنگی گیلاسی	۴	۰	۰	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۴/۳-۴/۶	۴/۴
اسفناج	۵	۰	۰	۰	۴۰	۶۰	۰	۰	۰	۴-۵/۷	۵/۴
کرفس	۴	۰	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۰	۳-۳/۷	۳/۳
بادرنجویه	۲	۰	۰	۵۰	۵۰	۰	۰	۰	۰	۳/۱-۴	۳/۶
ریحان	۹	۰	۲۲/۳	۷۷/۷	۰	۰	۰	۰	۰	۲/۴-۳/۳	۳/۲
جعفری	۹	۰	۰	۰	۶۶/۷	۳۳/۳	۰	۰	۰	۴/۳-۵	۴/۶
شوید	۵	۰	۳۳/۳	۰	۶۶/۷	۰	۰	۰	۰	۲-۴/۱	۳/۷
گشنیز	۶	۰	۰	۶۶/۷	۰	۳۳/۳	۰	۰	۰	۳/۳-۵/۷	۵/۳
تره	۴	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲/۲-۲/۶	۲/۴
شاهی	۴	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲/۱-۲/۵	۲/۳

*- تعداد نمونه بررسی شده

**- دامنه در تعداد واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم محصول

***- اعداد داده شده بر اساس $\log_{10}$ cfu/g محصول

جدول ٦- نتایج درصد فراوانی باکتریهای *اشرشیا کلی*، *اشرشیا کلی* O157:H7، *سالمونلا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه های بررسی شده سبزیجات خام

		در صد نمونه های مثبت			
	تعداد نمونه	اشرشیا کلی	O157:H7اشرشیا کلی	سالمونلا	استافیلوکوکوس اورئوس
کل سبزیجات خام	**۹۸**	**۱۲/۷**	**٤**	**۱۲/۷**	**۱۰۰**
کاهو	۲۸	۸/۳	ND	۱۶/۷	۱۰۰
کلم سفید	۶	ND[1]	ND	ND	۱۰۰
کلم قرمز	۶	ND	ND	ND	۱۰۰
هویج	۶	۱۶/۷	۱۶/۷	۱۶/۷	۱۰۰
گوجه فرنگی چری	۴	ND	ND	ND	۱۰۰
اسفناج	۵	۲۰	۲۰	۲۰	۱۰۰
کرفس	۴	ND	ND	ND	۱۰۰
بادرنجویه	۲	ND	ND	ND	۱۰۰
ریحان	۹	۳۳/۳[2]	۱۱	۳۳/۳	۱۰۰
جعفری	۹	۳۳/۳	ND	۱۱/۱	۱۰۰
شوید	۵	۲۰	۲۰	ND	۱۰۰
گشنیز	۶	۱۶/۷	ND	۱۶/۷	۱۰۰
تره	۴	۲۵	ND	۲۵	۱۰۰
شاهی	۴	۲۵[2]	ND	۲۵	۱۰۰

۱- در ۲۵ گرم نمونه دیده نشد

۲- بیشتر از ۱۰۰ کلنی در هر گرم نمونه

بار میکروبی سبزیجات برگدار و سبزیجاتی که با خاک در تماس هستند مثل هویج نسبتا زیاد است و شامل تعداد زیادی از میکروبهای سرمادوست و مزوفیل می شود. سبزیجات فرآیند شده نیز نتایج مشابه و حتی بیشتری را نشان می دهند. منتهی با وجود این، بار زیاد آلودگی در این محصولات نمیتواند نشانه فساد باشد.

تمام نمونه های مورد بررسی به باکتریهای مزوفیل هوازی آلوده بودند. نتایج نشان داد که میانگین باکتریهای مزوفیل هوازی در ۸۳ درصد سبزیجات خام کمتر از $۱۰^{۷}$cfu/g بود. دیگران نیز نتایج مشابه نتایج ما را گزارش کرده اند. Abadias و همکاران (2008) گزارش کردند که ۸۲ درصد سبزیجات ارگانیک مورد بررسی بار میکروبی کمتر از $۱۰^{۷}$ cfu/g دارند. Ruiz و همکاران (1987) نیز نشان دادند که سطح فراوانی باکتریهای مزوفیل هوازی بر روی نمونه های سبزی خام از ۵ log cfu/g تا ۷ log cfu/g متغیر است. Johnston و همکاران (2005) گزارش کردند که میزان فراوانی باکتریهای مزوفیل هوازی بر روی نمونه های مزرعه از ۴/۵ log cfu/g تا log cfu/g ۶/۶ فرق می کند.

در حقیقت سبزیجاتی که در محیط های طبیعی تولید می شوند نمی توانند بار میکروبی کمی داشته باشند (Sagoo, *et al*., 2003) و مراحل کشت که بر روی این سبزیجات اعمال می شود مثل کاشت، داشت، آبیاری با آبهای آلوده، کود و برداشت و توزیع همه منابع بالقوه آلودگی هستند که باعث افزایش بار میکروبی محصول نهایی می شوند. در سبزیجات خام، هویج بیشترین بار آلودگی به باکتریهای مزوفیل را داشت که ناشی از نحوه رشد آن و تماس با خاک و آبهای آلوده می باشد.

تعداد زیادی از باکتریهای اسید لاکتیک در سطح سبزیجات یافت می شوند. این باکتریها همراه با خانواده پسودوموناسه اصولا جزو فلور طبیعی سبزیجات و عامل اصلی فساد در آنها می باشند. *لوکونوستوک مزانتروئیدس* مهمترین جنس از خانواده باکتریهای اسید لاکتیک می باشد که علاوه بر فساد باعث لزج شدن، ترش شدن و نرم شدن بافت سبزیجات مثل هویج در ۱۰ ^{o}C می شود (Carlin, *et al*., 1989). میانگین شمارش باکتریهای این خانواده بر روی نمونه های سبزیجات خام log cfu/g ۴/۱ بود. میانگین گزارش شده توسط Abadias و همکاران (2008) بر روی سبزیجات ارگانیک log cfu/g ۱/۶ بود.

نقش کپک و مخمر در فساد سبزیجات بسته بندی به‌خوبی بررسی نشده است و مشخص نیست که آیا رشد آنها بر روی سبزیها می تواند منجر به مشکلات عمده ای بشود یا خیر (Heard, 1999). با این حال بعضی از کپکها ممکن است مایکوتوکسینها را تولید کنند و

بعضی دیگر ترکیبات آلرژیک را می توانند تولید کنند که در نتیجه، تولید این ترکیبات در محصولات تازه می تواند همراه با ایجاد مشکلاتی برای سلامت مردم باشد (Tournas, 2005, Tournas, *et al.*, 2005). میانگین کپک و مخمر در نمونه های سبزی خام log cfu/g ۴/۶ بود. دیگران نیز نتایج مشابهی را نشان داده اند. تورناس گزارش کرده است که مخمرها بر روی سبزیجات بسته بندی و جوانه ها از ۲ تا ۸/۶ سیکل لگاریتمی در هر گرم و کپکها کمتر از log cfu/g ۲ تا log cfu/g ۴/۶ تغیر می کند. Abadias و همکاران (2008) و Seo و همکاران (2010) میانگین کپک و مخمر را بر روی سبزیجات به ترتیب log cfu/g ۵/۲ و log cfu/g ۵/۱ گزارش کرده اند.

نتایج ما نشان داد که تمام نمونه های سبزیجات خام آلوده به انتروباکتریاسه و باکتریهای کلی فرمی هستند و بار آلودگی از ۳ تا ۸/۳ برای انتروباکتریاسه و از ۳/۲ تا ۷/۴ سیکل لگاریتمی در هر گرم برای کلی فرم فرق می کند. Abadias و همکاران (2008) و Nguz و همکاران (2005) گزارش کرده اند که سطوح فراوانی انتروباکتریاسه در سبزیجات ارگانیک ۷۸/۶ و ۷۳/۳ درصد به ترتیب می باشد. Johnston و همکاران (2005) نیز نشان دادند که میانگین باکتریهای کلی فرمی در سبزیجات برگی شکل از log cfu/g ۱ تا log cfu/g ۴/۳ می باشد. Little و همکاران (1999) گزارش کردند که سطح انتروباکتریاسه بر روی کاهوی تازه تا log cfu/g ۵ می‌باشد. آنها معتقد هستند که انتروباکتریاسه بعنوان قسمتی از فلور طبیعی سبزیجات خام هستند و نمی توانند شاخص خوبی برای تعیین کیفیت سبزیجات باشند.

کمیسیون علمی مواد غذایی اروپا (EU Scientific Committee on Food, 2002) اعلام کرده است که اپیدمیهایی که در اثر خوردن مواد غذایی تازه ایجاد می‌شود آلودگی مستقیم یا غیر مستقیم این محصولات به مواد مدفوعی می باشد. در این ارتباط شمارش کلی فرم می تواند شاخص مناسبی برای آلودگی مواد غذایی با مواد مدفوعی باشد. اما حضور کلی فرم در محصولات تازه نمی تواند دلیلی برای حضور باکتریهای بیماریزا باشد. نگوین–دا و کارلین (Nguyen-the, et al., 1994) معتقدند که *اشرشیا کلی* بهترین شاخص آلودگی می تواند باشد و امروزه بعنوان یک معیار بهداشتی در قوانین بهداشت مواد غذایی در نظر گرفته شده است (Abadias, et al., 2008, EU Scientific Committee on Food, 2002). سایر باکتریهای خانواده انتروباکتریاسه مثل *اروینیا هربی کولا*، *راهنلا آکوواتیس*، *انتروباکتر آگلومروس* و جنس *سراشیا* جرو میکروبهایی هستند که همیشه و به مقدار فراوان در سبزیجات بسته بندی حضور دارند (Ragaert, et al., 2007).

در این بررسی مشخص شد که ۱۲/۷ درصد نمونه های سبزی خام به *اشرشیا کلی* آلوده هستند. Abadias و همکاران (2008) گزارش کردند که ۷/۱ درصد سبزیجات کامل، ۱۱/۴ درصد سبزیجات بسته بندی و ۴۰ درصد جوانه ها به *اشرشیا کلی* آلوده اند و Soriano و همکاران (2000) نیز نشان دادند که ۲۵/۷ درصد کاهوهای تهیه شده در رستورانهای انگلستان به *اشرشیاکلی* آلوده هستند. Nguz و همکاران (2005) و Johnston و همکاران (2005) گزارش کردند که اکثر سبزیهای برگدار به *اشرشیا کلی* آلوده اند.

بسیاری از محققین در کشورهای مختلف، *اشرشیا کلی O157:H7* را در نمونه های مورد بررسی گزارش نکرده اند (McMahon, *et al*., 2001, Nguz, *et al*., 2005, Seo, *et al*., 2010, Soriano, *et al*., 2000) ولی متاسفانه نمونه های مورد بررسی در این مطالعه به این باکتری آلوده بودند و سطح فراوانی آن بر روی نمونه های سبزی خام ۴ درصد بود.

باکتری سالمونلا بعنوان یک باکتری بیماریزا در بسیاری از کشورها از سبزیجات خام و سبزیجات بسته بندی جدا شده است. Abadias و همکاران (2008)، Johnston و همکاران (2005) و Salleh و همکاران (2003) حضور این باکتری را در ۱/۳ ، ۳۵ ، ۰/۷ و ۳۵ درصد نمونه های بررسی شده گزارش کرده اند. ۱۲/۷ درصد سبزیهای خام بررسی شده در این تحقیق به *سالمونلا* آلوده بودند.

استافیلوکوکوس اورئوس بعنوان یک باکتری بیماریزا شناخته شده است که از طریق دستهای آلوده کارگران منتقل می‌شود (Beuchat, 1998). حضور *استافیلوکوکوس اورئوس* در سبزیجات خام و بسته بندی نشانه شرایط بهداشتی ضعیف در مراحل تولید محصول تازه میباشد و جمعیت بالاتر از log cfu/g ۴ آن از نظر بهداشتی خطرناک است. بر طبق نتایج، *استافیلوکوکوس اورئوس* در ۹۴/۹ درصد نمونه ها تشخیص داده شد و در ۲۲/۹ درصد نمونه ها تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر از log cfu/g ۴ بود. ۷/۸ درصد استافیلوکوکوسهای جدا شده کواگولاز مثبت بودند.

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. International Journal of Food Microbiology. 123: 121-129.

Beuchat, L. R., 1998, Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review. WHO/FSF/FOS/98.2.

Food Safety Unit. World Health Organization. URL: http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/surface_decon.pdf.

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

Carlin, F., Nguyen-the, C., Cudennec, P., and Reich, M., 1989, Microbiological spoilage of fresh, ready-to-use grated carrots. Science Aliments. 9: 371–386.

EU Scientific Committee on Food., 2002, Risk profile on the microbiological contamination of fruits and vegetables eaten raw. URL: http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out125_en.pdfs.visited 11 sep. 2010.

Food and Drug Administration, USA., 2006, Spinach and E. coli outbreaks. URL: http://www.fda.gov/oc/opacom/hottopics/spinach.html.

Heard, G., 1999, Microbial safety of ready-to-eat salads and minimally processed vegetables and fruits. Food Australia. 51: 414–420.

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

Health Protection Agency (HPA)., 2005b, Standard Methods for Food Products. Enumeration of Bacillus cereus and Other Bacillus species F15, Issue 1. HPA, London. Available from: <http://www.hpa-standardmethods.org.uk/documents/food/pdf/F15.pdf.06.02.2009.

Health Protection Agency (HPA)., 2004a, Direct Enumeration of Escherichia coli.National Standard Method Standard F20, Issue 1 Available from: <http://www.hpa–standardmethods.org.uk/documents/food/pdf/F20.pdf.06.02.2009.

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

Johnston, L. M., Jaykus, L., Moll, D., Martinez, M. C., Anciso, J., Mora, B., and Moe, C. L., 2005, A field study on the microbiological quality of fresh produce. Journal of Food Protection. 68: 1840–1847.

Koopmans, M., and Duizer, E., 2004, Food-borne viruses: an emerging problem. International Journal of Food Microbiology. 90: 23-41.

Le Guyader, F. S., Mittelholzer, C., Haugarreau, L., Hedlund, K., Alsterlund, R., Pommepuy, M., and Svensson, L., 2004, Detection of noroviruses in raspberries associated with a gastroenteritis outbreak. International Journal of Food Microbiology. 97: 179-186.

Little, C. L., Roberts, D., Youngs, E., and De Louvouis, J., 1999, Microbiological quality of retail imported unprepared whole lettuce. A PHLS food working group study. Journal of Food Protection. 62: 325–328.

McMahon, M. A. S., and Wilson, I. G., 2001, The occurrence of enteric pathogens and Aeromonas species in organic vegetables. International Journal of Food Microbiology. 70: 155–162.

Mukherjee A., Spec D., Dyck E., and Diez-Gonzalez, F., 2004, Preharvest evaluation of coliforms, Escherichia coli, Salmonella, and Escherichia coli O157:H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers in the upper Midwest. Journal of Food Protection. 67: 894-900.

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

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

Olsen, S. J., MacKinon, L. C., Goulding, J. S., and Slutsker, L., 2000, Surveillance for foodborne disease outbreaks-United States. Morbidity Mortality Weekly Reported (MMWR). 49:1-51.

Ragaert, P., Devlieghere, F., and Debevere, J., 2007, Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables. Postharvest Biology and Technology. 44: 185–194.

Ruiz, B. G. V. *et al*., 1987, Contamination of fresh vegetables during cultivation and marketing. International Journal of Food Microbiology. 4:285-291.

Sagoo, S. K., Little, C. L., Ward, L., and Mitchell, R. T., 2003, Microbiological study of ready-to-eat salad vegetables from retail establishments uncovers a national outbreak of salmonellosis. Journal of Food Protection. 66: 403-409.

Salleh, N. A., Rusul, G., Hassan, Z., Reezal, A., Isa, S. H., Nishibuchi, M., and Radu, S., 2003, Incidence of Salmonella spp. in raw vegetables in Selangor, Malaysia. Food Control. 14: 475–479.

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

Seo, Y. H., Jang, J. H., and Moon, K. W., 2010, Microbial evaluation of minimally processed vegetables and sprouts produced in Seoul, Korea. Food Science Biotechnology. 19 (5): 1283-1288.

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

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

Tournas, V. H., 2005, Moulds and yeasts in fresh and minimally processed vegetables, and sprouts. International Journal of Food Microbiology. 99: 71–77.

Tournas, V. H., and Katsoudas, E., 2005, Mould and yeast flora in fresh berries, grapes and citrus fruits. International Journal of Food Microbiology. 105: 11 – 17.