

ارزیابی وضعیت میکروبی عرقیات گیاهی عرضه شده در کاشان در سال ۱۳۹۱

نوید مزروعی آرانی^۱، رضا شرافتی چالشتی^{۲*}

۱. آزمایشگاه کنترل مواد غذایی و بهداشتی، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

۲. مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

* نویسنده مسئول: sharafati33@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۸/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۶/۵

چکیده

در ایران، عرقیات گیاهی یکی از فراورده دارویی سنتی بوده و به طور گسترده مصرف می‌شوند. لذا ایمنی میکروبی این محصولات از نظر سلامت عمومی حائز اهمیت است. هدف از این مطالعه بررسی میزان آلودگی میکروبی عرقیات گیاهی عرضه شده در شهرستان کاشان در سال ۱۳۹۱ بود. در این مطالعه توصیفی مقطعی طی سال ۱۳۹۱، تعداد ۱۳۲ نمونه از عرقیات گیاهی (۲۷ نمونه سنتی، ۱۰۵ نمونه صنعتی) از مراکز عرضه آن و به آزمایشگاه منتقل شد. سپس آزمون‌های میکروبی براساس استاندارد ملی ایران برای شمارش کلی باکتری‌های هوازی، شمارش کپک و مخمر، شناسایی کلی فرم‌ها، انتروکوکوس، سودوموناس آئروژینوزا و کلستریدیوم‌های احیاء کننده سولفیت صورت گرفت. نتایج نشان داد که هیچ کدام از نمونه‌های عرقیات گیاهی سنتی و صنعتی تولید شده به کلی فرم‌ها، اشریشیاکلی و کلستریدیوم‌های احیاء کننده سولفیت آلوده نبودند. به ترتیب ۵۱/۵۲٪ و ۱۱/۱۶٪ نمونه‌ها شمارش بیش از حد استاندارد باکتری‌های مزوفیل و مخمر را نشان دادند. همچنین تعداد ۵۷ نمونه از عرقیات گیاهی صنعتی (۵۴/۲۹٪) و ۴ نمونه (۱۴/۸۹٪) از عرقیات گیاهی سنتی براساس استاندارد ملی ایران قابل مصرف بودند. براساس نتایج به دست آمده و آلوده بودن تعدادی از این فراورده‌ها به کپک، مخمر و شمارش بالای باکتری‌های مزوفیل هوازی، پیشنهاد می‌گردد از پاستوریزاسیون، مواد بسته‌بندی مناسب و رعایت شرایط بهداشتی در زمان تولید عرقیات گیاهی جهت کاهش این مخاطرات استفاده شود.

واژه‌گان کلیدی: بهداشت، شمارش باکتریایی، کلستریدیوم، انتروکوکوس.

مقدمه

ملاحظه‌ای پایین‌تر است (شرافتی چالشتی و همکاران، ۱۳۸۸). در مطالعه‌ای نشان داده شد که میزان مصرف گیاهان دارویی در سال‌های ۱۹۹۰ تا ۱۹۹۷، ۳۸ درصد افزایش داشته و درآمد حاصله از فروش این محصولات در سال ۱۹۹۷ حدود ۵/۱ میلیارد دلار بوده است (Alkhateeb et al., 2006).

باکتری‌ها از مهم‌ترین عوامل میکروبی عفونت‌ها و مسمومیت‌های ناشی از مواد غذایی می‌باشند. در طول دهه گذشته وقوع بیماری‌های میکروبی ناشی از مواد غذایی در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته روبه افزایش بوده است، در حالی که آمار دقیقی از میزان ابتلا و وقوع عفونت‌ها و مسمومیت‌های غذایی خصوصا در کشورهای در حال توسعه وجود ندارد (ذوالفقاری و همکاران، ۱۳۹۱).

گیاهان دارویی یکی از منابع بسیار ارزشمند در گستره وسیع منابع طبیعی ایران هستند. استفاده از گیاهان برای درمان بیماری‌ها در بسیاری از کشورها و به ویژه ایران قدمت دیرینه‌ای دارد (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۱) در سال‌های اخیر، استفاده از گیاه درمانی و داروهای با منشأ گیاهی روبه فزونی است به طوری که در حال حاضر حدود یک سوم تا نیمی از فرآورده‌های دارویی موجود در آمریکا دارای منشأ گیاهی هستند (شرافتی چالشتی و همکاران، ۱۳۸۸). همچنین در انگلستان تولیدات گیاهی و مکمل‌های فراوانی به شکل سالم و بی‌خطر تولید شده است (شرافتی چالشتی و همکاران، ۱۳۸۸؛ صفوی و همکاران، ۱۳۹۲). علاوه بر مردم، میکروب شناسان بالینی تمایل زیادی به استفاده از این داروها جهت درمان عفونت‌ها دارند، زیرا عوارض این داروها در مقایسه با داروهای شیمیایی به طور قابل

آلودگی متناوب معرفی شوند (سلطان دلال و همکاران، ۱۳۸۸؛ Lee et al., 2012). در یکی از بررسی های انجام شده بر روی کیفیت میکروبی عرقیات گیاهی در بیرجند، میزان آلودگی میکروبی عرقیات سنتی تهیه شده را ۸۰ درصد گزارش کردند (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۱). با توجه به اینکه تا کنون مطالعات کمی در مورد کیفیت بهداشتی و میکروبی عرقیات گیاهی صورت پذیرفته و همچنین رویکرد مصرف کنندگان به مصرف این فراورده به صورت خام به عنوان یک فراورده گیاهی دارویی، این تحقیق با هدف بررسی کیفیت میکروبی عرقیات گیاهی عرضه شده در شهرستان کاشان در سال ۱۳۹۱ انجام گرفت.

مواد و روش کار

این مطالعه از نوع توصیفی مقطعی بود و بر روی تعداد ۱۳۲ نمونه عرقیات گیاهی سنتی و صنعتی عرضه شده در کاشان در سال ۱۳۹۱ به صورت تصادفی انجام گرفت. نمونه های اخذ شده جهت انجام آزمایشات به آزمایشگاه مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی کاشان منتقل شدند، سپس انجام آزمون های میکروبی طبق استاندارد های ملی ایران با شماره های ۳۵۴۵، ۵۲۷۲، ۷۷۲۴-۲، ۷۷۲۵-۱، ۵۳۵۳، ۴۲۰۷ و ۸۸۶۹ (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۱؛ a۱۳۸۳؛ b۱۳۸۳؛ c۱۳۸۵؛ a۱۳۸۶؛ b۱۳۸۶؛ c۱۳۸۶) انجام گرفت.

جهت شمارش کلی باکتری ها پس از تهیه رقت های متوالی به روش پورپلیت^۲ در محیط پلیت کانت آگار^۳ کشت داده شدند و در دمای 30 ± 1 درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شدند (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۶).

برای شمارش کلی کپک و مخمر ابتدا نمونه گلاب را خوب تکان داده و سپس ۱۰۰ میلی لیتر از نمونه در شرایط استریل از فیلتر عبور داده شد. سپس با استفاده

بررسی وجود انواع میکروارگانیسم ها در عرقیات گیاهی جهت شناسایی وضعیت بهداشتی این فراورده می باشد. یکی از پایش های مهم این فراورده ها وجود کلی فرم ها بوده که نشان دهنده آلودگی مدفوعی آن می باشد. باکتری های گروه کلی فرم به طور گسترده در آب و خاک وجود دارند (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۱). اشریشیاکلی به عنوان فلور طبیعی روده انسان و سایر حیوانات خونگرم مطرح بوده و تعداد آن 10^9 cfu/gr^۱ گزارش شده است، بنابراین به عنوان معرف اختصاصی آلودگی مدفوعی در سال ۱۹۸۲ پیشنهاد شد با این حال با توجه به تغییرات در آزمون های میکروبی هنوز جستجوی کلی فرم ها به عنوان یک شاخص مهم سلامتی محصولات، همانند عرقیات گیاهی نیز کاربرد دارد (سلطان دلال و همکاران، ۱۳۸۸).

انتروکوکوس ها باکتری های مقاوم به نمک های صفاوی بوده و این باکتری ها در حضور یا عدم حضور کلی فرم ها و اشریشیاکلی می توانند تایید کننده آلودگی مدفوعی ماده غذایی باشند و از این رو از آنها به عنوان شاخص ثانویه آلودگی مدفوعی در مواد غذایی استفاده می گردد (صفری و یعقوب زاده، ۱۳۹۱).

با توجه به صرف هزینه و وقت زیاد در شناسایی انواع عوامل بیماریزا در مواد غذایی شناسایی میکروارگانیسم های شاخص انجام می گیرد. به عنوان نمونه کلستریدیوم های احیاء کننده سولفیت باکتری های بی هوازی هستند، که اسپور تولید می کنند و به خانواده باسیلاسه و جنس کلستریدیوم ها تعلق دارند. اسپور کلستریدیوم های احیاء کننده سولفیت، به طور وسیعی در محیط پراکنده هستند و در مدفوع انسان، حیوان، فاضلاب و خاک یافت می شوند. آن ها برخلاف کلی فرم ها و اشریشیاکلی به مدت طولانی در آب باقی می ماندند و نسبت به مواد شیمیایی و عوامل فیزیکی از اشکال رویشی مقاوم ترند و می توانند نشانه وجود نقص در فرآیند تصفیه فراورده ها باشند و به عنوان شاخص

2. Pour plate
3. plate count agar

1. Colony forming unit/gram

جهت جستجوی کلستریدیوم‌های احیاء کننده، نمونه‌های مورد نظر به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد در حمام آب جهت ایجاد شوک حرارتی و تبدیل اسپورها به شکل رویشی قرار داده شد. پس از سرد شدن، ۱۰۰ میلی‌لیتر از نمونه از فیلتر غشایی عبور داده شد و با استفاده از پنس استریل فیلتر بر روی محیط کشت اختصاصی سولفیت-پلی میکسین-سولفادبازین (SPS) قرار گرفت. سپس محیط‌های کشت در جار بی‌هوازی در دمای ۴۲ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری گردیدند. در صورت وجود کلستریدیوم‌های احیاء کننده سولفیت کلنی‌های سیاه رنگ مشاهده می‌شود (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۱).

نتایج به دست آمده با استفاده از آزمون‌های توصیفی و تحلیلی فیشر برای تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۱/۵ تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

بر اساس نتایج به دست آمده از تعداد کل نمونه‌ها ۴۶/۲۱ درصد (۶۱ نمونه) عرقیات گیاهی طبق استاندارد ملی ایران قابل مصرف بودند و ۵۳/۷۹ درصد (۷۱ نمونه) آنها غیر قابل مصرف بودند. تعداد ۶۳ (۴۷/۷۲٪) مورد از نمونه‌ها از نظر شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل غیر قابل شمارش بودند و تعداد ۶۴ (۴۸/۴۸٪) مورد تعداد شمارش کلی باکتری‌های آنها از ۱۰۰ کم تر بود. همچنین تعداد ۵ نمونه (۳/۷٪) شمارش کلی باکتریایی بین 4×10^2 تا 6×10^3 cfu/ml داشتند که میانگین به دست آمده برابر با $2 \times 10^3 \pm 47$ cfu/ml بود. تعداد ۲ نمونه (۱/۵٪) آلودگی توام به کپک و مخمر و شمارش بالای آلودگی به باکتری‌های مزوفیل را نشان دادند. تنها در یک مورد (۰/۷٪) از نمونه‌ها آلودگی به تعداد زیادی از باکتری‌های مزوفیل و شناسایی انتروکوکوس اثبات شد. در یک نمونه (۰/۷٪) نیز آلودگی همزمان باکتری‌های مزوفیل، کپک، مخمر و سودوموناس مشاهده شد.

از پنس استریل، فیلتر را بر روی سطح محیط YGC^۴ قرار داده و محیط را در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳ تا ۵ روز گرمخانه گذاری گردید (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۶b).

برای جستجوی کلی‌فرم‌ها و شناسایی اشیریشیاکلی پس از تکان دادن نمونه، ۱۰۰ میلی‌لیتر از نمونه در شرایط استریل از فیلتر عبور داده و با استفاده از پنس استریل، فیلتر، بر روی سطح محیط مک‌کانگی آگار قرار داده شد و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری گردید. سپس تعداد کلونی‌ها شمارش و در مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر نمونه کلاب گزارش گردید. جهت تشخیص افتراقی کلونی‌های رشد کرده از تست های MR-VP، SIM، TSI و اوره استفاده شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۳b).

به منظور جستجوی انتروکوکوس‌ها، ۱۰۰ میلی‌لیتر از نمونه مورد نظر در شرایط استریل از فیلتر عبور داده و با استفاده از پنس استریل، فیلتر را بر روی سطح محیط کشت اختصاصی انتروکوکوس KF قرار داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه- سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. تشکیل کلنی‌هایی با رنگ قرمز، آلبالویی و صورتی نشان دهنده وجود انتروکوکوس بود (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۳a).

برای جستجوی سودوموناس آئروژینوزا، ۱۰۰ میلی‌لیتر از نمونه در شرایط استریل از فیلتر عبور داده و با استفاده از پنس استریل، فیلتر را بر روی سطح محیط ستریماید قرار داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند. تشکیل کلنی‌هایی با رنگ سبز نشان دهنده وجود سودوموناس بود (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۵).

است. میزان حد مجاز میکروب‌های مورد نظر در ۱۰۰ میلی‌لیتر عرقیات گیاهی، طبق استاندارد ملی ایران در مورد شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل هوازی برابر 200 CFU/ml و شمارش کپک، مخمر، کلسترییدیوم‌های احیا کننده سولفیت، سودوموناس‌ها، انتروکوکوس‌ها و کلی‌فرم‌ها برابر صفر است (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۶).

میزان آلودگی عرقیات گیاهی تهیه شده به روش سنتی نسبت به روش تهیه صنعتی بیشتر بود به طوری که ۸۵/۱۹ درصد نمونه‌های سنتی غیر قابل مصرف بودند. نتایج به دست آمده در مورد آزمون‌های میکروبی، قابل قبول بودن و غیر قابل بودن نمونه‌ها از نظر استاندارد ملی ایران در جدول شماره ۱ ارائه شده است. همچنین قابلیت مصرف و عدم قابلیت مصرف نمونه‌ها بر اساس تولید صنعتی و سنتی در جدول شماره ۲ قابل مشاهده

جدول ۱- توزیع مقایسه‌ای قابلیت مصرف نمونه‌های عرقیات گیاهی بر اساس استاندارد ملی ایران

کل	عدم قابلیت مصرف	قابلیت مصرف	روش
درصد	درصد	درصد	شمارش کلی باکتری‌ها
٪۱۰۰	٪۵۱/۵۲	٪۴۸/۴۸	شمارش کپک‌ها
٪۱۰۰	٪۶/۸	٪۹۳/۲	شمارش مخمرها
٪۱۰۰	٪۱۱/۳۶	٪۸۸/۶۴	جستجوی کلی‌فرم‌ها
٪۱۰۰	٪۰	٪۱۰۰	شناسایی اشریشیاکلی
٪۱۰۰	٪۰	٪۱۰۰	جستجوی انتروکوکوس‌ها
٪۱۰۰	٪۰/۷	٪۹۹/۳	جستجوی سودوموناس آئروژینوزا
٪۱۰۰	٪۰/۷	٪۹۹/۳	جستجوی کلسترییدیوم‌های احیا کننده
٪۱۰۰	٪۰	٪۱۰۰	

جدول ۲- توزیع مقایسه‌ای قابلیت مصرف نمونه‌های عرقیات گیاهی سنتی و صنعتی بر اساس استاندارد ملی ایران

تعداد کل	عدم قابلیت مصرف	قابلیت مصرف	نوع نمونه
۲۷	٪۸۵/۱۹ (نمونه ۲۳)	٪۱۴/۸۱ (نمونه ۴)	عرقیات سنتی
۱۰۵	٪۴۵/۷۱ (نمونه ۴۸)	٪۵۴/۲۹ (نمونه ۵۷)	عرقیات صنعتی

بحث

بهداشت فردی کارکنان و عدم آلودگی تقاطعی در زمان تولید و پس از تهیه عرقیات گیاهی باشد. با این وجود حضور یک مورد سودوموناس و یک مورد انتروکوکوس در عرقیات گیاهی صنعتی سبب غیر قابل مصرف شدن آن شد.

همان‌طور که در بالا ذکر شد غیر قابل مصرف بودن نمونه‌ها طبق استاندارد ملی ایران بر پایه شمارش کلی میکروارگانیسم‌های مزوفیل به روش پورپلیت و شمارش کپک و مخمر بر اساس فیلتراسیون غشایی بود. به طوری که ۵۱/۵۲٪ نمونه میزان شمارش کلی باکتریایی بالاتر از حد استاندارد را نشان دادند و به ترتیب ۶/۸٪ و ۱۱/۳۶٪ نمونه‌ها از نظر شمارش کپک و مخمر خارج

بر اساس نتایج به دست آمده ۲۳ مورد از نمونه‌های عرقیات سنتی تولید شده (۸۵/۱۹٪) و ۴۸ نمونه از عرقیات تولید شده صنعتی (۴۵/۷۱٪) از نظر استاندارد ملی ایران غیر قابل مصرف بودند و علت آن شمارش بیش از حد استاندارد باکتری‌های مزوفیل هوازی، شمارش کپک و مخمر، شناسایی سودوموناس و انتروکوکوس در آنها بود. با این حال در هیچ‌کدام از نمونه‌های سنتی و صنعتی کلسترییدیوم‌های احیا کننده سولفیت، کلی‌فرم و اشریشیاکلی مشاهده نشد. با توجه به اینکه هیچ‌کدام از میکروارگانیسم‌های شاخص بهداشتی به‌ویژه آلودگی مدفوعی در نمونه‌ها جدا نگردید این امر می‌تواند نشان دهنده رعایت شرایط

۱۳۸۴، کیفیت میکروبی گلاب‌های تولید شده به‌روشن صنعتی و سنتی توسط کارگاه‌های تولیدی در کاشان نشان داده شد که ۶۳/۹۷ درصد کلیه نمونه‌ها از نظر استاندارد ملی ایران غیر قابل مصرف بودند به‌طوری که کلیه نمونه‌های تولید شده سنتی غیر قابل مصرف بودند و ۳۵/۴۱ درصد از نمونه‌های گلاب صنعتی قابل مصرف بودند و پیشنهاد شده که کارگاه‌های سنتی گلابگیری تبدیل به کارخانه‌های صنعتی شوند (پیمان‌عابدی محتسب و همکاران، ۱۳۸۵). در بررسی حاضر نیز آلودگی عرقیات گیاهی تولید شده سنتی بیشتر بود.

در مطالعه دیگری آلودگی میکروبی عرقیات گیاهی تولید شده سنتی عرضه شده در بیرجند ۸۰ درصد و عرقیات گیاهی صنعتی تولید شده ۶۰ درصد گزارش شد به‌طوری که ۱۰۰ درصد آلودگی به کلی‌فرم‌های مدفوعی را نشان دادند (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۱). هم‌چنین در بررسی دیگری در ۱۴/۸۱ درصد نمونه‌های عرقیات گیاهی تهیه شده به‌روشن سنتی، انتروکوکوس‌ها به‌روشن امپدانس شناسایی شدند (فضل آرا و توسرکانی، ۱۳۸۸). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان‌دهنده آلودگی میکروبی عرقیات گیاهی تولید شده صنعتی و سنتی بوده ولی در هیچ‌کدام از نمونه‌ها شاخص‌های میکروبی آلودگی مدفوعی شناسایی نشد. هم‌چنین درصد غیر قابل مصرف بودن نمونه‌های سنتی میزان بالاتری از نمونه‌های صنعتی بود. با این وجود با توجه به خواص ضدباکتریایی انواع گیاهان دارویی و عرقیات تهیه شده از آنها شاید یکی از دلایل فعالیت باکتری‌ها در عرقیات گیاهی مورد مطالعه، عدم رعایت نکات بهداشتی در حین عملیات جمع‌آوری و تهیه عرقیات باشد و دلیل دیگر، مرتبط با رقیق بودن این عرقیات و در نتیجه کاهش اثر ضدباکتریایی آنها باشد (خدادادی و همکاران، ۱۳۹۱).

بنابراین براساس نتایج به‌دست آمده از این تحقیق پیشنهاد می‌گردد که تولید کنندگان عرقیات گیاهی در فرایند تولید محصول رعایت شرایط بهداشتی، استفاده

از محدوده استاندارد بودند. وجود این آلودگی‌ها می‌تواند به‌دلیل عدم پاستوریزاسیون عرقیات گیاهی، استفاده از بطری‌های شیشه‌ای و پلاستیکی آلوده و عدم درب بندی مناسب گلاب‌ها باشد (پیمان‌عابدی محتسب و همکاران، ۱۳۸۵).

طبق نظر سازمان بهداشت جهانی و مطالب مندرج در سرویس بهداشت عمومی (NHS)^۱ روش شمارش باکتری‌ها به‌روشن پورپلیت به‌تنهایی نمی‌تواند برای نشان دادن خطراتی که سلامت مواد غذایی مانند آب را تهدید می‌کند به‌کار رود و این روش بیشتر برای ارزیابی صحت و سالم بودن منابع آب زیرزمینی و تعیین کارایی پروسه‌های تصفیه آب نظیر کواگولاسیون، فیلتراسیون و گندزدایی مناسب است و می‌تواند بیانگر صحت و تمیزی سیستم توزیع آب باشد (سلطان دلال و همکاران، ۱۳۸۸؛ Jayakody et al., 2014). در مطالعه حاضر که هم‌سو با برخی مطالعات قبلی بود استفاده از روش فیلتراسیون غشایی در شناسایی کلی‌فرم‌ها و اشریشیاکلی، همراه با سایر میکروارگانیسم‌هایی مانند سودموناس آئروژینوزا، کلسترییدیوم‌های احیاء کننده سولفیت و انتروکوک‌ها مناسب تشخیص داده شد. به‌طوری که به‌عنوان نمونه استفاده از روش تخمیر در لوله‌های چند تایی (MPN) برای شناسایی کلی‌فرم‌ها و اشریشیاکلی به‌علت وقت‌گیر بودن، زحمت زیاد، نیروی کار و میزان محیط کشت زیاد می‌تواند استفاده از روش فیلتراسیون غشایی را جهت شناسایی میکروارگانیسم‌های مذکور در مواد غذایی مایع مانند آب و گلاب افزایش دهد. هم‌چنین می‌تواند صرفه‌جویی مالی، معادل ۵۰۰۰ دلار در سال به‌علت کاهش مصرف محیط کشت در پی داشته باشد (سلطان دلال و همکاران، ۱۳۸۸).

مطالعات معدودی در مورد کیفیت میکروبی گلاب و عرقیات گیاهی وجود دارد. در مطالعه‌ای در سال

1. National Public Health Service

- از پاستوریزاسیون، رعایت شرایط ساختمانی کارگاه و هم‌چنین بسته بندی مناسب جهت کاهش آلودگی‌های ثانویه و افزایش کیفیت محصول نهایی را مورد توجه قرار دهند.
- تقدیر و تشکر**
- نویسندگان مقاله لازم می‌دانند از کارمندان معاونت غذا و داروی دانشگاه علوم پزشکی کاشان به‌دلیل همکاری در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی نمایند.
- منابع**
۱. پیمان‌عابدی محتسب، ترانه، حیدر زاده آرانی، حسن، دولتی، محمد علی، حسینی، سید احمد. (۱۳۸۵). بررسی کیفیت میکروبی گلاب‌های سنتی در مقایسه با گلاب‌های صنعتی شهر کاشان ۱۳۸۴. نهمین کنگره سراسری تغذیه ایران، تبریز، ۱۳-۱۶ شهریور ۸۵، صفحه ۵۰۳۰.
 ۲. خدادادی، مریم، معتمد رضایی، ام‌البنین، جهانی، مهدی، درّی، حدیقه. (۱۳۹۱). بررسی آلودگی باکتریایی و فارچی در عرقیات عرضه شده در سطح شهر بیرجند. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. سال ۱۹، شماره ۱، صفحه ۵۱-۵۸.
 ۳. ذوالفقاری، محمدرضا، گائینی، ریحانه، کلهر، ناصر، خلیلیان، محدثه، رضویان، سیدمحمدحسین، سلیمانی ساسانی، محبوبه. (۱۳۹۱). بررسی آلودگی میکروبی انواع شیر و فرآورده‌های لبنی پاستوریزه در استان قم. مجله دنیای میکروب‌ها. سال ۵، شماره ۱ و ۲، صفحه ۴۷-۵۷.
 ۴. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۱). جستجو و شمارش اسپورکلستریدیوم‌های احیاکننده سولفیت با استفاده از صافی غشایی در آب. استاندارد شماره ۵۳۵۳.
 ۵. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۳). کیفیت آب-جستجو و شمارش انتروکوک‌های روده ای قسمت دوم : روش صافی غشایی. استاندارد شماره ۷۷۲۴-۲.
 ۶. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۳). کیفیت آب-جستجو و شناسایی اش‌ریشیاکلی و کلی‌فرم‌ها قسمت اول: روش صافی غشایی. استاندارد شماره ۷۷۲۵-۱.
 ۷. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۵). کیفیت آب-شناسایی و شمارش سودوموناس آئروژینوزا به روش صاف کردن غشایی. استاندارد شماره ۸۸۶۹.
 ۸. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۶). کیفیت آب-شمارش میکروارگانسیم‌ها در آب با استفاده از روش کشت-راهنما. استاندارد شماره ۴۲۰۷.
 ۹. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۶). میکروبیولوژی عرقیات گیاهی-ویژگیها. استاندارد شماره ۳۵۴۵.
 ۱۰. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۶). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام-روش جامع برای شمارش کلی میکروارگانسیم‌ها در ۳۰ درجه سلیسیوس. استاندارد شماره ۵۲۷۲.
 ۱۱. سلطان دلال، محمدمهدی، خاکسار، رامین، طباطبایی پناه، اکرم سادات، نوروزیان، شعله، فاضلی فرد، پرستوسادات، فخراریان، فرحناز، رشیدی، سمیه، سیدامیری، سونیا. (۱۳۸۸). بررسی آلودگی آب‌های آشامیدنی بسته بندی در سطح عرضه به روش فیلتراسیون. مجله زیست فناوری میکروبی. سال ۱، شماره ۱، صفحه ۱۴-۱۷.
 ۱۲. شرافتی چالشتری، فرهاد، شرافتی چالشتری، رضا، مومنی، مریم. (۱۳۸۷). اثر ضد میکروبی عصاره آبی و اتانولی گیاه گل میمونی. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. سال ۱۰، شماره ۴، صفحه ۳۲-۳۷.
 ۱۳. شرافتی چالشتری، رضا، شرافتی چالشتری، فرهاد، شرافتی چالشتری، علی، اشرفی، کوروش. (۱۳۸۸). بررسی اثر ضد میکروبی و تعیین میزان ترکیبات فنولی فلاونوئیدی و فلاونولی عصاره اتانولی گل میمونی (*Scrophularia striata*). مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. سال ۱۱، شماره ۴، صفحه ۳۲-۳۷.

17. Alkhateeb, F.M., Doucette, W.R., Ganther-Urmie, J.M. 2006. Influences on consumer spending for herbal products. *Res Social Adm Pharm.* 2: 254-65.
18. Jayakody, P., Parajuli, P.B., Brooks, J.P. 2014. Evaluating Spatial and Temporal Variability of Fecal Coliform Bacteria Loads at the Pelahatchie Watershed in Mississippi. *Hum Ecol Risk Assess.* 20: 1023-41.
19. Lee, F.C., Hakim, S.L., Kamaluddin, M.A., Thong, K.L. 2012. Clostridium perfringens and sulphite reducing clostridia densities in selected tropical Malaysian rivers. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 43: 129-35.
۱۴. صفری، رضا، یعقوب زاده، زهرا. (۱۳۹۱). ارزیابی بیواندیکاتورهای میکروبی رودخانه شیرود در استان مازندران. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران. سال ۲۳، شماره ۹۸، صفحه ۲۸۹-۲۹۹.
۱۵. صفوی، فرشته، ابراهیمی، پونه، میقانی، حسین. (۱۳۹۲). خواص ضد میکروبی ریشه و اندام هوایی گیاه گل میمونی سازویی علیه باکتری های اشریشیاکلی، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس در شرایط آزمایشگاهی. ماهنامه ارمغان دانش، سال ۱۸، شماره ۸، صفحه ۶۰۳-۶۱۴.
۱۶. فضل آرا، علی، توسرکانی، اعظم. (۱۳۸۸). بررسی وضعیت بهداشتی عرقیات گیاهی از نظر آلودگی به انتروکوکها با استفاده از روش امپدانس. دهمین کنگره سراسری میکروبی شناسی ایران، ایلام، ۱ تا ۳ اردیبهشت ۸۸، صفحه ۲۱۴.