

(مقاله پژوهشی)

بررسی استفاده از روش‌های مختلف شستشوی کاهو در کاهش بار میکروبی باسیلوس سرئوس

زهره دیدار^{۱*}

۱- استادیار، گروه صنایع غذایی، دانشکده علوم پایه، واحد نیشابور دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۲۲

تاریخ پذیرش: ۹۷/۴/۳

چکیده

یکی از عوارض مصرف سبزیجات تازه، احتمال آلودگی آن‌ها به باکتری‌های بیماری‌زا است. شستشوی سبزیجات تازه نقش مهمی در کاهش جمعیت میکروبی و افزایش ایمنی مصرف این گونه محصولات دارد. آب الکترولیز شده به عنوان یک ضد عفونی کننده جدید در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. این ضد عفونی کننده، بی خطر، ارزان و ایمن است که اثر آن بر روی گونه‌های مختلف میکروب‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها تأیید شده است. در این مطالعه استفاده از انواع مختلف آب شستشو بر کاهش جمعیت باکتریایی باسیلوس سرئوس در کاهو مورد بررسی قرار گرفته است. انواع آب مورد استفاده شامل آب آشامیدنی، آب آشامیدنی اسیدی شده، آب دیونیزه کلر زنی شده با غلظت‌های کلر باقیمانده ۵۰ و ۲۵ میلی گرم در لیتر، آب الکترولیز شده خنثی، آب الکترولیز شده اسیدی با غلظت کلر باقیمانده ۵۰ و ۲۵ میلی گرم در لیتر در زمان‌های مختلف شستشو (۶۰ و ۱۸۰ ثانیه) و دماهای مختلف شستشو (۴ و ۲۵ درجه سانتی گراد) می باشد. نتایج این تحقیق نشان داد، الکترولیز نمودن آب بیشترین کارایی در کاهش بار میکروبی کاهو داشته است ($p \leq 0/05$) ($0/80$) و اسیدی کردن آب الکترولیز شده سبب افزایش راندمان ضد عفونی کنندگی آن می شود ($p \leq 0/05$) ($0/82/6$). علاوه بر آن، بررسی جمعیت میکروبی کاهو در طی زمان‌های ماندگاری ۱ تا ۴ روز نیز نشان داد که در نمونه‌های کاهو شستشو شده با آب الکترولیز روند افزایش جمعیت میکروبی، نسبت به سایر روش‌های شستشو آهسته تر است.

واژه های کلیدی: باسیلوس سرئوس، کاهو، آب شستشو، الکترولیز

۱- مقدمه

سبزیجات به علت دارا بودن ارزش غذایی و نیز فیبر خوراکی توسط مصرف کنندگان به میزان زیادی مورد مصرف قرار می گیرند (۲۶). البته سبزیجاتی که به صورت خام مصرف می شوند، به علت وجود آلودگی میکروارگانیسم های بیماریزا ممکن است سبب بروز بیماری شوند (۲۴) علاوه بر این رشد میکروارگانیسم های مختلف روی سبزیجات خام سبب محدود شدن مدت ماندگاری سبزیجات می گردد که این مسأله بستگی به برخی فاکتورها نظیر میزان فعالیت آبی سبزیجات، پتانسیل اکسایش و احیاء و نیز میزان اسیدیته آنها دارد (۷). امروزه عرضه سبزیجات خام به صورت سالادهای آماده رو به افزایش است. کاهو از جمله مهمترین سبزیجات خامی است که در رستورانها و سالادهای آماده استفاده می شود. آلوده بودن کاهو به میکروارگانیسم های مختلف بیماریزا توسط محققین مختلف بررسی گردیده است (۱۳). مرکز کنترل و جلوگیری بیماریها گزارش نموده است که محصولات خام فرآوری نشده عامل حداقل ۱۲ درصد بروز بیماریهای غذایی در سال ۱۹۹۰ بوده اند (۱۱). باسیلوس سرئوس باکتری گرم مثبت، هوازی اختیاری است که در محیط به صورت گسترده ای یافت می شود و توانایی جوانه زنی آن سبب شیوع این نوع باکتری در تمام مواد غذایی شده است (۸). شیوع این باکتری بیشتر در شیر خام، گوشت و سبزیجات عامل بسیاری از بیماریهای مرتبط با غذا معرفی شده است (۶). دامنه وسیعی از مسمومیت های غذایی مرتبط با علائم اسهال ناشی از باسیلوس سرئوس است. آب و مواد آلی از منابع مهم آلوده شدن سبزیجات به این باکتری هستند (۲۳). این باکتری توانایی زندگی ساپروفیتی دارد و به عنوان پاتوژن فرصت طلب انسان نیز می تواند عمل کند. مسمومیت غذایی باسیلوس سرئوس در کل طول سال و بدون هیچ گونه توزیع جغرافیایی خاص رخ می دهد. از دیگر دلایل اهمیت این نوع باکتری در صنعت مواد غذایی، توانایی تحمل پاستوریزاسیون و همچنین امکان رشد در یخچال است (۲۷). بررسی های انجام شده نشان دهنده میزان زیاد آلودگی

سبزیجات خام (۵۸/۶٪) و بیش از ۳۰٪ سبزیجات فرآوری شده نظیر سالاد سبزیجات به باسیلوس سرئوس آلوده بوده اند (۲۳). گزارش های متعددی مسمومیت غذایی ایجاد شده توسط باسیلوس سرئوس به صورت وجود باکتریهای بیماریزا در کاهو را نشان داده است (۱۷) باکتری ها می توانند از طریق خاک، کود، آبیاری، دستگاہها و انسانها به کاهو منتقل شوند (۱۰). فرآوری ها می توانند سبب صدمه به برگها شوند در نتیجه احتمال رشد میکروبها در آنها را افزایش می دهند (۱۵). به علاوه، چون این محصولات به صورت خام مصرف می شوند، آماده سازی و سایر مراحل تهیه باید با دقت و در شرایط بهداشتی صورت گیرد. مطالعات مختلفی پیرامون بهبود شرایط بهداشتی کاهو از طریق روشهای فیزیکی و شیمیایی همچون پرتوتابی و اولتراسونیک صورت گرفته است (۱۴). کارایی استفاده از پرتوتابی روی باکتریهای بیماریزای انسانی محدود است از طرفی مصرف کنندگان نیز تمایلی به مصرف غذاهای پرتوتابی شده ندارند. شستشو همراه با استفاده از ترکیبات ضد عفونی کننده سبب کاهش بار میکروبی می گردد ولی اثرات منفی بر سلامت و همچنین محیط زیست دارد (۱۴). بیشتر محلول های ضد عفونی کننده مورد استفاده سبب کاهش بار میکروبی می شوند ولی تا زمان رسیدن محصول به مصرف کننده، ممکن است بار میکروبی به علت رشد سریع میکروارگانیسم ها مجدداً افزایش پیدا کند (۵). آب الکترولیز شده از جمله روش هایی است که جهت شستشو و نابودی برخی باکتریهای بیماریزا مورد توجه قرار گرفته است. آب الکترولیز شده توسط الکترولیز محلول رقیق نمک کلرید سدیم تهیه می شود. آژانس حفاظت محیط زیست و سازمان غذا و داروی ایالات متحده، استفاده از آب الکترولیز شده را برای شستشوی مواد غذایی فرآوری نشده، شستشوی میوه ها و سبزیجات و نیز به صورت اسپری و غوطه وری برای تیمار گوشت گاو، مرغ و خوک قبل از فراوری مجاز اعلام نموده است (۲۸). اثر آب الکترولیز در حذف باکتریهای مختلف مانند سودوموناس آئروژنوزا (۱۹)، استافیلوکوکوس اورئوس (۲۰) استافیلوکوکوس

اکسیداسیون با استفاده از دستگاه Jenway 4520 اندازه‌گیری شد. کلر باقیمانده با استفاده از روش یدومتری (۱) تعیین شد.

۲-۲- تلقیح میکروبی نمونه‌های کاهو

نمونه‌های کاهو با وزن حدود ۵۰ گرم آماده و شستشو گردید. هر یک از نمونه‌ها با میزان ۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون میکروبی باسیلوس سرئوس در تمام قسمت‌های برگ کاهو، تلقیح شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در شرایط استریل، به منظور اتصال باکتریها به سطح برگ کاهو قرار داده شد (۲۱). این مدت زمان برای اتصال باکتری به برگهای کاهو بدون تشکیل بیوفیلم کافی است (۱۲).

۲-۳- شستشوی برگهای کاهو

نمونه‌های برگ کاهو تلقیح شده به مدت ۶۰ و ۱۸۰ ثانیه در دمای ۲۵ و ۴ درجه سانتی گراد توسط نمونه‌های آب الکترولیز شده خنثی، آب الکترولیز شده اسیدی، آب کلره با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر، آب کلره با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر و آب یونیزه در شرایط استریل و تحت شیکر با سرعت ۱۰۰ rpm قرار گرفتند. سپس با استفاده از سوآپ استریل از تمام بخش‌های برگ کاهو، نمونه برداری شد و نمونه‌ها به محیط کشت بلاد آگار منتقل گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند سپس شمارش سلولی صورت گرفت.

۲-۴- بررسی اثر زمان ماندگاری روی جمعیت

میکروبی باسیلوس سرئوس در برگهای کاهو

جهت بررسی جمعیت میکروبی باسیلوس سرئوس در طی مدت ماندگاری کاهو در روزهای ۱، ۲، ۳ و ۴ روز با استفاده از سوآپ استریل از تمام بخش‌های برگ کاهو، نمونه برداری شد و نمونه‌ها به محیط کشت بلاد آگار منتقل گردید و به ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. سپس شمارش سلولی صورت گرفت.

اپیدرمیدیس و اشرشیاکلی (۲۲) سالمونلا انتریدیس (۲۵) لیستریا مونوسیتوزنز (۱۶) تأیید شده است. همچنین اثر آن در کاهش بار میکروبی مواد غذایی مانند حذف کمپیلوباکتر ژرونی در گوشت مرغ (۲۱) و حذف باکتریهای سایکروفیل و مزوفیل در میگو (۳) نیز ثابت شده است. هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر استفاده از شستشو با انواع مختلف آب روی جمعیت میکروبی باسیلوس سرئوس در کاهو است.

۲- مواد و روش‌ها

باکتری مورد استفاده در این تحقیق شامل باکتری باسیلوس سرئوس (PTCC 1665) تهیه شده از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران است که به صورت آمپول لیوفلیزه تهیه گردید، سپس در شرایط استریل، شکسته شده و به محیط BHI^۱ منتقل گردید و برای مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتی گراد، گرمخانه گذاری گردید (۴). سلول‌های میکروبی توسط سانتریفیوژ مدل ALC4232 با دور ۴۰۰۰ rpm جدا شدند (۳۰) و کدورتی معادل با نیم مک فارلند (کدورت معادل $1/5 \times 10^8$ در هر میلی لیتر) تهیه گردید. سپس با رقیق کردن آن به نسبت ۰/۰۱ کدورت حدود 10^6 باکتری در هر میلی لیتر به دست آمد که به منظور تلقیح باکتری به برگ‌های کاهو، استفاده گردید.

۲-۱- آماده سازی محلولهای عمل آوری کاهو

با استفاده از آند مس و کاتد روی به مدت ۱ دقیقه جریان ۱۴ آمپر از محلول رقیق کلرید سدیم (حدود ۰/۰۱٪) عبور داده شد سپس آب مورد نیاز برای آزمایش از قسمت آند، جمع‌آوری گردید. جهت اسیدی کردن آن پودر اسید سیتریک (۱۰ g/L) به آن اضافه شد. برای تهیه آب الکترولیز رقیق با غلظت حدود ۲۵ میلی گرم کلر در هر لیتر، تا زمانی که باقیمانده کلر در آب به میزان ۲۵ میلی گرم در لیتر برسد، آب دیونیزه به آب الکترولیز شده اولیه اضافه گردید (۳). مقادیر pH و میزان پتانسیل کاهش اکسیداسیون آب الکترولیز شده و نیز آب کلره، قبل و بعد از عملیات شستشو، با استفاده از pH متر (Jenway 3520) و پتانسیل کاهش

۲-۵- آنالیزهای آماری

تمامی آزمایشات، در سه تکرار صورت گرفت. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار STATISTICA در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. جهت مقاصد توصیفی از آمار توصیفی شامل جداول توزیع فراوانی، میانگین ها و انحراف معیار استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

ویژگیهای انواع مختلف آب مورد استفاده جهت شستشو در این تحقیق از انواع مختلف آب جهت شستشو استفاده گردید که شامل آب آشامیدنی، آب آشامیدنی اسیدی شده، آب دیونیزه کلر زنی شده با غلظت های ۵۰ و ۲۵

میلی گرم کلر باقیمانده، آب الکترولیز شده خنثی، آب الکترولیز شده اسیدی بود. بررسی ها نشان داد ویژگیهای شیمیایی شامل میزان pH و پتانسیل اکسایش احیاء در انواع مختلف آب شستشوی مورد استفاده در این تحقیق، متفاوت است. جدول ۱ خلاصه ای از مقادیر اندازه گیری شده را نشان می دهد. همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، کلر زنی آب و همچنین الکترولیز نمودن آب سبب کاهش میزان pH و افزایش میزان پتانسیل اکسایش احیاء می شود. این نتایج با سایر مطالعات انجام شده مطابقت دارد. پارک (۲۰۰۲) گزارش نموده است که الکترولیز کردن آب سبب افزایش اسیدیته و نیز افزایش پتانسیل اکسایش احیاء می شود (۲۱).

جدول ۱- ویژگیهای شیمیایی آب شستشو

کد نمونه	pH	پتانسیل اکسایش احیا (میلی ولت)
۱	۶/۸±۰/۰۲	۵۲۰±۴
۲	۴/۵±۰/۰۳	۵۵۰±۵
۳	۳±۰/۰۴	۱۰۱۸±۵
۴	۳/۰۴±۰/۰۲	۹۸۰±۴
۵	۲/۹۷±۰/۰۳	۱۰۲۲±۶
۶	۲/۳۲±۰/۰۲	۱۰۲۵±۴
۷	۳/۴±۰/۰۳	۱۰۰۰±۵
۸	۲/۸±۰/۰۲	۱۰۰۵±۵

۳-۱- بررسی اثر فاکتورهای مختلف بر میزان جمعیت

میکروبی باسیلوس سرئوس در کاهو

بررسی ها نشان داد تمامی فاکتورهای مورد بررسی شامل درجه حرارت، زمان و نوع آب مورد استفاده برای شستشو اثر معنی داری بر میزان جمعیت نهایی باسیلوس سرئوس در کاهو داشته است ($p \leq 0.05$).

۳-۲- اثر نوع آب مورد استفاده جهت شستشوی کاهو

در میزان بار میکروبی

بررسی ها نشان داد که شستشو با آب الکترولیز شده خنثی و اسیدی نسبت به سایر انواع آب شستشو اثر بیشتری بر کاهش جمعیت میکروبی باسیلوس باقیمانده بر سطح کاهو دارد (جدول ۲). هر قدر غلظت کلر آب الکترولیز باشد، اثر بیشتری در کاهش بار میکروبی دارد. همچنین اسیدی کردن آب الکترولیز سبب افزایش اثر آن در کاهش بار میکروبی می شود. بیشترین میزان کاهش بار میکروبی باسیلوس سرئوس در کاهو در مورد شستشو با آب الکترولیز اسیدی مشاهده گردید که در این شرایط جمعیت میکروبی به میزان

۸۲/۶٪ کاهش نشان داد. آب کلره نیز اثر خوبی در کاهش میزان بار میکروبی باسیلوس سرئوس در کاهو داشته است به طوری که در شرایط لگاریتم جمعیت میکروبی به ۱/۴۲ در هر گرم می‌رسد که حدود ۷۹/۵٪ کاهش نسبت به جمعیت اولیه میکروبی داشته است. با وجود یکسان بودن غلظت کلر در آب الکترولیز و آب کلره، اما آب الکترولیز شده، اثر بیشتری در کاهش جمعیت میکروبی نشان داد که این اثر به علت میزان pH کمتر آب الکترولیز شده و میزان بیشتر پتانسیل کاهش اکسیداسیون نسبت به آب کلره است (جدول ۱). بالا رفتن میزان پتانسیل اکسایش احیاء در آب الکترولیز سبب تغییرات در متابولیسم و تشکیل ATP می‌شود که علت آن تغییر در جریان الکترون در سلولها است. کم بودن pH نیز سبب حساس شدن غشاهای خارجی سلولهای باکتریایی و سهولت ورود اسید هیپوکلرو به داخل سلول باکتری می‌شود. ورود اسید هیپوکلرو به داخل سلول باکتری سبب ممانعت از اکسایش گلوکز، ممانعت از سنتز پروتئین، دکربوکسیلاسیون اکسایشی اسیدهای آمینه و تبدیل آنها به نیتريت و آلدهید، واکنش با اسیدهای نوکلئیک، پورین و پیرمیدین و اثر بر آنزیمهای اصلی

متابولیسم می‌شود (۱۶). افزودن اسید سیتریک در تمامی تیمارها سبب افزایش راندمان میکروب کشتی می‌شود (جدول ۲). سایر تحقیقات نیز اثر افزودن اسید در نابودی بیشتر میکروارگانیسم‌های مختلف را نشان داده‌اند. مکتبی (۱۳۹۵) نشان داد شستشوی میگو با ترکیب آب الکترولیز خنثی و اسید سیتریک، بیشترین کاهش در جمعیت باکتریهای سایکروفیل و مزوفیل در میگو را داشته است (۳). کائو (۲۰۰۹) اثرات میکروب کشتی مناسب آب الکترولیز شده اسیدی بر پوسته تخم مرغ آلوده به سالمونلا اینتریدیس را تأیید نموده‌اند (۹). دمای آب شستشو و مدت زمان شستشو نیز بر کاهش باکتری باسیلوس سرئوس در تیمارهای مختلف شستشو تأثیر گذار بوده است. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، دمای کمتر (۴°C) و زمان طولانی‌تر شستشو (۱۸۰ ثانیه) بیشترین کاهش جمعیت باکتری را ایجاد می‌کند به طوری که در این شرایط لگاریتم جمعیت میکروبی از ۶/۴۶ در نمونه شاهد به میزان ۱/۱۲ در آب الکترولیز اسیدی با غلظت کلر ۵۰ میلی گرم در لیتر رسیده است.

جدول ۲- لگاریتم جمعیت میکروبی باسیلوس سرئوس براساس نوع آب در زمان و دماهای مختلف شستشو

لگاریتم جمعیت میکروبی									
دما	زمان (جمعیت اولیه)	نمونه ۱	نمونه ۲	نمونه ۳	نمونه ۴	نمونه ۵	نمونه ۶	نمونه ۷	نمونه ۸
۴°C	۶۰	±۰/۰۰۵۷	±۰/۰۰۵۷	±۰/۰۰۵۷	±۰/۰۰۳۲	±۰/۰۰۱	±۰/۰۰۰	±۰/۰۰۵۷	±۰/۰۰۵۷
	۶/۴۶۶۷	۲/۷۰۳۳	۲/۰۸۳۳	۱/۴۲۶۷	۱/۵۶۳۳	۱/۳۴	۱/۲۲	۱/۴۵۳۳	۱/۳۵۳۳
۱۸۰	±۰/۰۵۷	±۰/۰۱۱۵۵	±۰/۰۱۵۲۸	±۰/۰۲۰۸۲	±۰/۰۳۵۱۲	±۰/۰۱	±۰/۰۰۵۷	±۰/۰۰۲	±۰/۰۱
	۶/۴۶۶۷	۲/۱۰۶۷	۱/۶۴۶۷	۱/۳۲۶۷	۱/۴۵۶۷	۱/۲۴	۱/۱۲۳۳	۱/۳۴	۱/۲۸
۶۰	±۰/۰۵۷	±۰/۰۱۱	±۰/۰۱۵	±۰/۰۲	±۰/۰۰۵۷	±۰/۰۰۵۷	±۰/۰۰۵۷	±۰/۰۰۵۷	±۰/۰۱
	۶/۴۶۶۷	۳/۱۰۶۷	۲/۶۴۶۷	۱/۵۲۶۷	۱/۶۱۶۷	۱/۳۸۳۳	۱/۳۱۶۷	۱/۴۸۳۸	۱/۴
۱۸۰ °C	±۰/۰۵۷	±۰/۰۱۱۵۵	±۰/۰۲۰۸۲	±۰/۰۰۵	±۰/۰۰۵	±۰/۰۰۵	±۰/۰۰۵۷	±۰/۰۱	±۰/۰۰۵
	۶/۴۶۶۷	۲/۲۳۳۳	۲/۰۲۶۷	۱/۳۵۳۳	۱/۴۶۶۷	۱/۲۵۳۳	۱/۲۱۳۳	۱/۳۱	۱/۳۴۳۳

۳-۳- اثر دمای آب شستشو بر میزان بار میکروبی کاهو
 بررسی ها نشان داد شستشوی کاهو در دمای پایین تر (۴°C) اثر بیشتری در نابودی باسیلوس سرئوس دارد (جدول ۲). پارک (۲۰۰۲) اثر دمای پایین تر در کاهش کمپیلوباکتر ژرونی در شستشوی گوشت مرغ را نشان داده است (۲۰) که این اثر را به میزان پتانسیل اکسایش احیاء بالاتر در دمای کم نسبت داده است.

۳-۴- اثر زمان شستشو بر میزان بار میکروبی کاهو
 زمان طولانی تر شستشو سبب کاهش بیشتر بار میکروبی در کاهو در تمام تیمارها شده است و بیشترین کاهش در مورد شستشوی کاهو با آب الکترولیز اسیدی برای مدت زمان ۱۸۰ ثانیه بود (جدول ۲). اثر زمان توسط پارک (۲۰۰۲) نیز بیان شده است که زمان ۳۰ ثانیه شستشوی گوشت مرغ اثر بیشتری در کاهش جمعیت میکروبی کمپیلوباکتر ژرونی نسبت به زمان ۱۰ ثانیه داشته است (۲۱).

تحقیقات ثابت کرده است که میزان پتانسیل کاهش اکسیداسیون یک فاکتور اصلی در خاصیت میکروب کشی محلولها است (۱۸). گرچه مکانیسم دقیق اثر مقدار بالای پتانسیل کاهش اکسیداسیون بر افزایش خاصیت میکروب کشی مشخص نیست اما فرضیه مطرح شده در این زمینه بدین صورت است که پتانسیل کاهش اکسیداسیون احتمالاً سبب تغییراتی در متابولیتها و تولید آدنوزین تری فسفات به دلیل تغییر در جریان الکترون در داخل سلولها می شود. مکانیسم غیر فعال شدن سلولهای میکروبی توسط آب الکترولیز شده به دلیل وجود اسید هیپوکلرو و میزان بالای پتانسیل کاهش اکسیداسیون در این نوع آب است. مطالعات نشان داده است که اسید هیپوکلرو سبب ۱- اکسیداسیون ترکیبات سولفیدریل سطح سلول باکتری می شود ۲- سبب غیر فعال شدن آنزیمهای تنفسی می گردد و ۳- سبب غیر فعال شدن تشکیل آدنوزین تری فسفات در سلول میکروب می شود (۲۱).

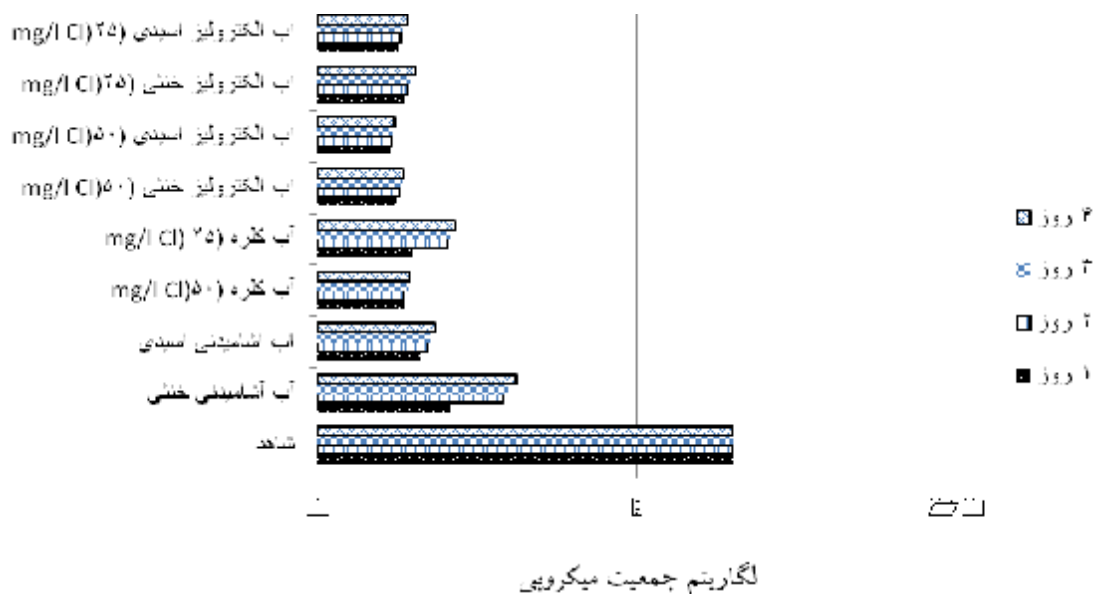
۳-۵- اثر شرایط مختلف شستشوی کاهو بر ماندگاری کاهو

در میان روش‌های مختلف شستشوی کاهو، تیمارهای آب الکترولیز بیشترین کاهش در جمعیت میکروبی را ایجاد نموده‌اند. اضافه کردن اسید سیتریک به انواع مختلف آب شستشو سبب بهبود کارایی میکروبی کشتی شده است (جدول ۲). در سایر تحقیقات نیز اثر بیشتر آب اسیدی شده بر نابودی میکروارگانیسم‌ها گزارش شده است. اکسی (۲۰۱۲) اثر استفاده از آب الکترولیز شده اسیدی در کاهش ویرو پاره‌مولتیپلکس و لیستریا مونوسیتوزن را به میزان ۳/۱۱ و ۱/۹۶ لگاریتم اعلام نموده است (۲۹). pH پایین سبب حساس کردن غشای بیرونی سلول‌های باکتریایی و نفوذ بهتر اسید هیپوکلرو به داخل سلول‌های باکتری می‌شود. اسید هیپوکلرو از طریق جلوگیری از اکسیداسیون گلوکوز توسط گروه‌های سولفیدریل اکسید کننده-کلرین برخی آنزیم‌های خاص که در متابولیسم کربوهیدرات‌ها نقش دارند، سبب نابودی باکتری‌ها می‌شود. دیگر روش‌های عملکرد کلرین شامل ۱- دکربو کسلاسیون اکسیداتیو اسیدهای آمینه به نیتريت‌ها و آلدهیدها ۲- تخریب سنتز پروتئین‌ها ۳- واکنش با اسیدهای نوکلئیک، پورین‌ها و پیریمیدین‌ها ۴- متابولیسم غیر متعادل پس از تخریب آنزیم‌های کلیدی ۵- القاء تجزیه DNA است. سلول‌های عمل-آوری شده با آب اسیدی سبب چروکیدگی شدن دیواره سلولی همراه با منافذ مدوری می‌شود که ساختارهای سیتوپلاسمیک از آن خارج می‌شوند (۱۶). علاوه بر این، افزودن اسید بر میزان قدرت ضد عفونی کنندگی اسید هیپوکلرو مؤثر است زیرا در pH کمتر نسبت HOCl به OCl⁻ افزایش پیدا می‌کند و به دلیل اینکه قدرت ضد عفونی

کنندگی HOCl ۴۰ تا ۸۰ برابر OCl⁻ است، نسبت این دو بسیار حائز اهمیت است (۲). لذا با افزودن اسید سیتریک به دلیل کاهش میزان pH، اثر ضد عفونی کنندگی اسید هیپوکلرو افزایش می‌یابد که سبب افزایش قدرت ضد عفونی کنندگی می‌شود.

۳-۶- بررسی ماندگاری کاهو شستشو شده در زمان‌های مختلف نگهداری

جهت بررسی اثر مدت زمان نگهداری، کاهو شستشو شده برای مدت زمانهای ۱، ۲، ۳ و ۴ روز نگهداری شد و جمعیت میکروبی باسیلوس سرئوس در پایان هر روز کشت شده و شمارش گردید. با توجه به بررسی‌های انجام شده، افزایش جمعیت میکروبی در تمامی نمونه‌های کاهو شسته شده در طی زمان‌های نگهداری مشاهده گردید. در مورد آب الکترولیز و آب کلره با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر، روند افزایش جمعیت میکروبی نسبت به سایر تیمارهای شستشو شده کمتر بود (شکل ۱). دلایل احتمالی این موضوع، وجود باقیمانده ترکیبات شوینده نظیر اسید هیپوکلرو در آب الکترولیز شده و نیز باقیمانده اسیدی است بعلاوه، صدمات وارده به میکروارگانیسم‌ها در حین شستشو با آب الکترولیز شده و آب کلره ناشی از ترکیبات اکسید کننده موجود در این نمونه‌های آب، سبب عدم امکان رشد و تکثیر باسیلوس سرئوس در زمان‌های مختلف ماندگاری شده است. مکتبی (۱۳۹۵) نیز گزارش نموده است جمعیت باکتریهای مزوفیل و سایکروفیل در میگو شستشو شده با آب الکترولیز شده اسیدی کمترین روند افزایشی را نسبت به سایر تیمارها نشان داده است (۳).



شکل ۱- نمودار خطی اثر زمانهای مختلف نگهداری بر جمعیت میکروبی باسیلوس سرئوس (شستشو شده با انواع مختلف آب با دمای ۴°C برای مدت ۱۸۰ ثانیه)

۴- نتیجه گیری

شستشوی کاهو می‌تواند نقش مهمی در کاهش بار میکروبی آن داشته باشد. آب الکترولیز شده به عنوان یک ضد عفونی کننده ایمن و ارزان قیمت اثر زیادی در جمعیت باقیمانده باسیلوس سرئوس در کاهو پس از شستشو دارد. افزودن اسید سیتریک سبب افزایش کارایی آب الکترولیز شده در حذف میکروبهای کاهو دارد. بیشترین راندمان حذف میکروبهای در شرایط استفاده از آب الکترولیز شده اسیدی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸۰ ثانیه به دست می‌آید (۸۲/۶٪ کاهش جمعیت میکروبی).

سیتریک بر کاهش بار باکتریایی میگو در طی نگهداری در دمای معمولی و یخچال و بررسی اثر باکتری کشی آن بر سطوح کار. مجله دامپزشکی ایران، دوره دوازدهم، شماره ۴، ۱۱۸-۱۲۹.

۴. یلمه، م.، حبیبی نجفی، م. ب.، نجف زاده، م. ۱۳۹۴. ارزیابی اثر پرتو فرابنفش بر رشد اشیریشیا کلی و باسیلوس سرئوس جدا شده از شیرخام و برنج خام. نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران. شماره ۴. ۳۲۴-۳۱۹.

- Allende, A., Selma, M. V., López-Gálvez, F., Villaescusa, R. and Gil, M. I. 2008. Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. *Postharvest Biology and Technology*. 49: 155-163.
- Altaf, M.S., Iqbal, A., Ahmad, M., Hussain, S.A., Ahmad, R. and Willayat, M.M. 2012. Study of enterotoxigenicity of *B.cereus* emetic strain by skin vasopermeability reaction in rabbits and poultry.

۵- منابع

- دیدار، ز. ۱۳۹۲. کنترل کیفیت آب و فاضلاب. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی نیشابور. ۵۴-۵۱.
- دیدار، ز. ۱۳۹۵. تصفیه فاضلاب کارخانجات صنایع غذایی. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی نیشابور. ۱۱۲-۱۱۰.
- مکتبی، س.، فضل آرا، ع.، محمدیاری، ش. ۱۳۹۵. تأثیر آب الکترولیز شده خنک و اسید

15. Gleeson, E., and O'Beirne, D. 2005. Effects of process severity on survival and growth of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* on minimally processed vegetables. *Food Control*. 16: 677–685.
16. Hati, S., Mandal, S., Minz, P.S., Vij, S., Khetra, Y., Singh, B.P. 2012. Electrolyzed Oxidized Water (EOW): Non-Thermal Approach for Decontamination of Food Borne Microorganisms in Food Industry. *Food and Nutrition Sciences*. 3: 760-768.
17. Jackson, C. R., Randolph, K. C., Osborn, S. L., and Tyler, H. L. 2013. Culture dependent and independent analysis of bacterial communities associated with commercial salad leaf vegetables. *BMC Microbiology*. 13: 274-285.
18. Kim, C., Hung, Y.-C., Brackett, R.E., 2000. Roles of oxidation–reduction potential in electrolyzed oxidizing and chemically modified water for the inactivation of food-related pathogens. *Journal of Food Protection*. 63: 19–24.
19. Kiura, H., Sano, K., Morimatsu, S. 2002. Bactericidal Activity of Electrolyzed Acid Water from Solution Containing Sodium Chloride at Low Concentration, in Comparison with That at High Concentration, *International Journal of Food Microbiology Methods*. 49: 285-293.
20. Koseki, S., Yoshida, K., Kamitani, Y. 2004. Effect of Mild Heat Pre-Treatment with Alkaline Electrolyzed Water on the Efficacy of Acidic Electrolyzed Water against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on Lettuce, *Food Microbiol*. 21(5):559-566.
21. Park, H., Hung, Y.C., Brackett, R.E. 2002. Antimicrobial effect of electrolyzed water for inactivating *Campylobacter jejuni* during poultry washing. *International Journal of Food Microbiology* 72: 77-83.
22. Park, H., Hung, Y.C., Chung, D. 2004. Effects of Chlorine and pH on *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 3(2):166-172.
7. Bibek R. 2005. *Fundamental of Food Microbiology*, CRC press, Boca Raton: London New York Washington D.C.
8. Beru, N., and Salsbury, P.A. 2002. FDA's produce safety activities. *Food Safety Magazine*. 8(No.1 Feb/Mar):14–19.
9. Cao, W., Zhu, Z.W., Shi, Z.X., Wang, C.Y. and Li, B.M. 2009. Efficiency of slightly acidic electrolyzed water for inactivation of *Salmonella enteritidis* and its contaminated shell eggs. *International Journal of Food Microbiology*. 130(2): 88-93.
10. Castro-Rosas, J., Cerna-Cortés, J. F., Méndez-Reyes, E., Lopez-Hernandez, D., Gómez-Aldapa, C. A. and Estrada-Garcia, T. 2012. Presence of fecal coliforms, *Escherichia coli* and diarrheagenic *E. coli* pathotypes in ready-to-eat salads, from an area where crops are irrigated with untreated sewage water. *International Journal of Food Microbiology*. 156: 176–180.
11. CFSAN/Office of Plant and Dairy Foods. 2004. Produce safety from production to consumption: 2004 action plan to minimize foodborne illness associated with fresh produce consumption. October 2004. Available at: http://www.cfsan.fda.gov/dms/prodpl_a2.html.
12. Elhariry, H.M. 2011. Attachment strength and biofilm forming ability of *Bacillus cereus* on green-leafy vegetables: cabbage and lettuce. *Food Microbiology*. 28(7): 1266-74.
13. Feroz, F., Senjuti, J.D., Noor, R. 2013. Determination of microbial growth and survival in salad vegetables through in vitro challenge test. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2(6):312-319
14. Gil, M.I., Selma, M.V., López-Gálvez, F., and Allende, A. 2009. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions. *International Journal of Food Microbiology*. 134: 37–45.

- harvest leaf lettuce upon exposure to contaminated irrigation water. *Journal of Food Protection*. 65(1): 18-25.
27. Wong, H.C., Chang, M., Fan, J. 1988. Incidence and characterization of *Bacillus cereus* isolates contaminating dairy products. *Applied and Environmental Microbiology*. 54(3):699-702.
 28. USDA. 2015. <http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/bab10e09-aefa-483b-8be8-09a1f051d4c/7120.1.pdf?MOD=AJPERES>.
 29. Xie, J., Sun, X.H., Pan, Y.J. and Zhao, Y. 2012. Physicochemical properties and bactericidal activities of acidic electrolyzed water used or stored at different temperatures on shrimp. *Food Research International*. 47(2): 331-336.
 30. Zapata, A., Ramirez-Arcos, S. 2015. A Comparative Study of McFarland Turbidity Standards and the Densimat Photometer to Determine Bacterial Cell Density. *Current Microbiology*. 70: 907-909.
 - Efficacy of Electrolyzed Water for Inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*, *International Journal of Food Microbiology*. 91(1): 13-18.
 23. Sood, B., Sahota, P.P., Hunjan, M. 2017. Multidrug Resistant *Bacillus cereus* in Fresh Vegetables: A Serious Burden to Public Health. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 6(4): 649-661.
 24. Starutch, D. 1991. Survival of pathogenic microorganisms and parasites in excreta, manure sand sewage sludge. Scientific and Technical Review of the Office *International des Epizooties*. 10(3): 813-846.
 25. Venkitanarayanan, K.S., Ezeike, G.O., Hung, Y.C. 1999. Efficacy of Electrolyzed Oxidizing Water for Inactivating *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes*, *Applied and Environment Microbiology*. 65(9): 4276-4279.
 26. Wachtel, M.R., Whitehand, L.C. and Mandrell, R.E. 2002. Association of *Escherichia coli* O157:H7 with pre

(Original Research Paper)
**Investigating the Effect of Different Methods of Lettuce
Washing on *Bacillus cereus* Population**

Zohreh Didar^{1*}

1-Assistant Professor of Food Science and Technology, Neyshabur Branch, Islamic Azad University,
Neyshabur, Iran.

Received: 22/01/2018

Accepted: 24/06/2018

Abstract

One of the problems with the consumption of fresh vegetables is the possibility of contamination with pathogenic bacteria. Washing fresh vegetables plays an important role in reducing the microbial population and increasing the safety of these products. Electrolyzed water has been considered as a new disinfectant in recent years. It is antiseptic, inexpensive and safe that affects different species of bacteria, fungi and viruses. In this study, the use of various types of washing water has been studied on the reduction of *Bacillus cereus* population in lettuce. Types of water used include drinking water, acidified drinking water, chlorinated deionized water with chlorine concentrations of 50 and 25 mg /L, neutralized electrolyzed water, acidified electrolyzed water with a chlorine concentration of 50 and 25 mg /L were studied at different washing times (60 and 180 seconds) and different washing temperatures (4 and 25°C). The results of this study showed that electrolysis of water had the most efficiency in reducing the microbial load of lettuce (80%)($p \leq 0.05$) and the acidification of electrolyzed water increased its disinfection efficiency up to 82.6% ($p \leq 0.05$). In addition, the study of lettuce microbial population at different preservation time (1, 2, 3 and 4 days) showed lettuce samples which washed with electrolyzed water, had lower microbial growth rate than other ones.

Keywords: *Bacillus cereus*, Lettuce, Washing Water, Electrolysis

*Corresponding Author: z_didar57@yahoo.com

