

ارزیابی کیفیت میکروبی خرما جنوب غرب خوزستان در سال ۱۴۰۰-۱۳۹۹

مهرداد خدادوست^{۱*}، سمیه الهی^۲، معصومه مرادی^۱، حدیث کویی^۱، حسن دهقان^۱، مینا گنجعلی دشتی^۱

۱. دانشگاه علوم پزشکی آبادان، آبادان، ایران

۲. گروه مهندسی شیمی، واحد آبادان، دانشگاه آزاد اسلامی، آبادان، ایران

*نویسنده مسئول: mehrdad.khodadost@abadanums.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۰۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۰۸

چکیده

خرما یکی از مهم ترین محصولات کشاورزی می باشد که دارای ارزش غذایی بالایی است. کنترل کیفیت خرما جهت حفظ سلامت این ماده غذایی و رقابت در بازارهای جهانی حائز اهمیت می باشد. سالانه مقادیر زیادی خرما به دلیل آلودگی میکروبی کیفیت خود را از دست می دهند. این مطالعه جهت آنالیز کیفیت میکروبی محصول خرمایی است که در واحدهای تولیدی و بازار جنوب غرب استان خوزستان عرضه شده، انجام گرفته است. در این مطالعه ۷۰ نمونه خرما که طی ۲۰ ماه جمع آوری شده بودند طبق استانداردهای ملی و بین المللی مربوطه مورد بررسی و تحلیل میکروبی قرار گرفتند. شمارش کلی میکروارگانیسیمها، کپک و مخمر، انتروباکتریاسه و شناسایی/شریشیالکی در مورد نمونه های خرما انجام و نتایج آن مورد تحلیل آماری قرار گرفت. از کل ۷۰ نمونه بررسی شده، ۳۸ (۵۴/۲۸ درصد) نمونه ها به میکروب های مختلف آلوده بودند. ۵۴/۲۷ درصد از کل نمونه ها کپک، ۱۸/۵۷ درصد مخمر، ۱۰ درصد شمارش کلی میکروارگانیسیم ها، ۷/۱۴ درصد انتروباکتریاسه و ۴/۲۸ درصد موارد/شریشیالکی، بالاتر از حد مجاز استاندارد خرما بودند. نتایج نشان دهنده رشد انواع میکروب ها به ویژه کپک و مخمر در تعداد قابل ذکری از نمونه های خرما بود، که به عنوان یک خطر جدی برای به چالش کشیدن کیفیت و ایمنی خرما در نظر گرفته می شود. بنابراین باید روش های مختلف شستشو، فرآوری و بسته بندی خرما در مناطق مختلف بررسی و بهترین روش ها را با توجه به شرایط جغرافیایی و نوع رقم خرما انتخاب کرد تا کیفیت محصول نهایی خرما حفظ شود.

کلید واژه ها: خرما، میکروبیولوژی، کپک و مخمر، اشریشیالکی.

مقدمه

دلیل مزایای نسبی فراوانی که در مقایسه با دیگر محصولات کشاورزی دارد بسیار مورد توجه است. خرما یک کالای صادراتی است و سالانه حدود ۱۰۰ تا ۱۵۰ هزار تن از این کالا به کشورهای دیگر صادر می شود. در بررسی های به عمل آمده توسط سازمان خوار و بار جهانی (FAO) در سال ۲۰۰۰ میلادی، ایران بیشترین سهم تولید خرما را در بین کشورهای تولید کننده خرما به خود اختصاص داده است (Turantas et al., 2018). در سال های اخیر، تولید جهانی خرما افزایش یافته، به طوری که میزان تولید خرما دو برابر شده و از سال ۱۹۹۱ تا

خرما یکی از قدیمی ترین میوه ها در جهان است، که از ۶۰۰۰ سال پیش مورد استفاده قرار گرفته است (ISO 6887-1., 2017). میوه خرما یک ماده غذایی مهم و پایدار در رژیم غذایی جمعیت ساکن در مناطق دارای این درخت است. درخت خرما در بسیاری از کشورهای جهان از جمله: ایران، الجزایر، چین، مصر، عراق، پاکستان، عربستان سعودی، سودان و امارات متحده عربی رشد می کند (Ibrahim et al., 2021). خرما، یکی از مهم ترین محصولات کشاورزی در ایران می باشد (Edalatian et al., 2008) و به عنوان دومین محصول باغی کشور به

ذخیره سازی دارد، که می‌تواند پارامترهای ارگانولپتیک خرما را تغییر و در نتیجه کیفیت خرما را کاهش دهد (Taouda et al., 2016). میوه خرما به دلیل داشتن مقدار زیادی قند در برابر آلودگی میکروبی مقاوم هستند اما تحت تأثیر انواع مختلف قارچ، آلودگی به حشرات و آلودگی‌های باکتریایی قرار دارند (Siddig et al., 2012) که باعث کاهش بافت، طعم و ماندگاری خرما می‌شود. از نظر میکروبیولوژی، میکروارگانیسم‌هایی که بیشترین امکان رشد و تکثیر و ایجاد آلودگی را دارند کپک‌ها و مخمرها هستند. کپک دسته ای از قارچ‌ها هستند که با اینکه بیماری خطرناکی را ایجاد نمی‌کنند اما در صورت تضعیف سیستم ایمنی میزبان، قابلیت تولید مواد سمی را داشته و برای انسان بسیار مضر می‌باشد (Shiralipour et al., 2016).

فساد پس از برداشت خرما با قارچ‌های مولد کپک از مهمترین عوامل موثر بر کیفیت خرما در زمان نگهداری می‌باشد. قارچ‌ها (*Alternaria Aspergillus* و *Penicillium Spp*) ممکن است در زمانی که رطوبت بالا باشد (خرما نرم)، به ویژه هنگامی که برداشت بعد از دوره‌های بارانی یا رطوبت محیطی بالا انجام شود، رشد کنند (Gherbawy et al., 2009 و Ibrahim et al., 2012). به طور کلی خرما تازه ممکن است میکروارگانیسم‌های غیر بیماری‌زا داشته باشد، اما وجود عوامل بیماری‌زا؛ از جمله *اشریشیا کلی*، *سالمونلا*، *استرپتوکوکوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس* هم ممکن است (Risiquat et al., 2013). (Atharinia et al., 2014 و AlHazzani et al., 2014). معیارهای مهم کیفیت یک محصول عبارتند از: ظاهر (شامل رنگ، اندازه و شکل، شرایط و عدم نقص)، بافت، طعم و مزه و ارزش غذایی. بنابراین به دلیل اهمیت میوه خرما، تعدادی از کشورها از جمله ایران استانداردهای خرما را در سطح ملی چه برای خرما تولید داخل و چه برای واردات، تدوین و اعمال کرده اند.

۲۰۱۰ به هشت میلیون تن رسیده است (Manickavasagan et al., 2012). بیش از ۲۰۰۰ رقم مختلف خرما برای حدود هشت ماه از سال در دسترس بوده و مورد مصرف قرار می‌گیرد (Bhatti et al., 2021). ترکیب شیمیایی و کیفیت خرما به عوامل مختلفی از جمله نوع رقم، آب و هوا، شرایط کشاورزی و اقدامات قبل و بعد از برداشت محصول بستگی دارد (Zamir et al., 2018). با توجه به متفاوت بودن اندازه و نوع رقم هر خرما، ۲۰ تا ۷۰ کالری انرژی دارد (Risiquat et al., 2013). ترکیبات شیمیایی خرما بیشتر حاوی فروکتوز و قند گلوکز، همچنین آب، فیبر، پروتئین، چربی، مواد معدنی و ویتامین‌ها می‌باشد. این محصول حاوی کربوهیدرات (۴۴-۸۸ درصد)، چربی (۰/۲-۰/۴ درصد)، فیبر (۶/۴-۱۱/۵ درصد)، مواد معدنی، ویتامین‌ها و غلظت جالب توجه پروتئین (۲/۳-۵/۶ درصد) می‌باشد که در مقایسه با سایر میوه‌های زراعی پروتئین قابل توجهی دارد (Elleuch et al., 2008). این میوه همچنین حاوی مواد معدنی مانند کلسیم، آهن، منیزیم، فسفر، پتاسیم، سدیم، روی، منگنز، مس و سلنیوم است (Siddig et al., 2012).

کیفیت و ماندگاری خرما با توجه به انواع و سطوح میکروارگانیسم‌های مرتبط تعیین می‌شود. سالانه مقادیر زیادی خرما به دلیل آلودگی میکروبی کیفیت خود را از دست می‌دهند که میزان آلودگی به عوامل مهمی از جمله آب و هوا، اندازه، مرحله رسیدن، شرایط پس از برداشت مانند اقدامات بهداشتی در هنگام پردازش، حمل و نقل، ذخیره‌سازی و حمل و نقل بستگی دارد (Farag et al., 2013). یکی از مهمترین دلایل آلودگی خرما شرایط ذخیره سازی نامناسب است که منجر به فساد آنزیمی و میکروبیولوژیکی و در نتیجه آلودگی به مایکوتوکسین‌ها می‌شود (Taouda et al., 2018). گونه‌های قارچی متعددی در آلودگی میوه خرما نقش دارند. آلودگی قارچی رابطه مستقیمی با زمان اولیه برداشت فیزیکی خرما و شرایط محیطی محل نگهداری از جمله دما و رطوبت

تغییری در آن‌ها ایجاد نشده بود، برای آزمون انتخاب شدند.

جهت آماده سازی نمونه‌ها در زیر هود لامینار و در شرایط سترون ابتدا تعدادی خرما به صورت اتفاقی از هر بسته انتخاب و هسته آنها جدا و سپس توزین گردید. از هر نمونه خرما، با استفاده از ترازو دیجیتال ۰/۰۰۱ (Sartorius, Germany) به میزان ۱۰ گرم خرما ± 0.1 گرم تهیه و برای آماده سازی سوسپانسیون اولیه در ۹۰ میلی لیتر آب پیتونه بافری (BPW, Merck, Germany) که در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه استریل شده بود استفاده گردید (ISO 6887-1, 2017). محلول حاصله را به کیسه های استریل مخصوص دستگاه استومیکر (France, Bagmixer 400 interscience) منتقل و به مدت دو دقیقه در این دستگاه کاملاً مخلوط شد تا سوسپانسیون همگنی تشکیل شود. رقت به دست آمده اکنون 10^{-1} می‌باشد، که از این رقت به میزان یک میلی لیتر برداشته و به نه میلی لیتر آب پیتونه بافری (BPW, Merck, Germany) اضافه تا رقت 10^{-2} حاصل گردد، در صورت لزوم، به همین ترتیب با استفاده از رقت 10^{-2} این کار تا تهیه رقت مورد نظر ادامه می‌یابد.

آنالیز میکروبی

شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها: طبق استاندارد ملی خرما، حدود استاندارد آزمون شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها $10^4 \times 5$ CFU/g می‌باشد. به منظور ارزیابی تعداد کل میکروارگانیسم‌ها (ISO 4883-1, 2013)، با استفاده از پیپت سترون یک میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه را به صورت دوتایی به پتری دیش اضافه و سپس از محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA, Merck, Germany) که در اتوکلاو (Daihan, South Korea) با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه استریل شده اضافه و به صورت پورپلیت (آمیخته) کشت داده شد سپس به مدت سه روز در دمای ۳۰ درجه سلسیوس در انکوباتور

آلودگی میکروبی خرما در سطح بالاتر از حد مجاز تعیین شده توسط نهادهای نظارتی مسئول (سازمان استاندارد و سازمان غذا و دارو)، از نظر ایمنی مواد غذایی خطر بالقوه برای بهداشت و سلامت عمومی است. باوجود جایگاه ایران در بین چهار کشور نخست تولید کننده خرما در دنیا، تنها ۱۰ درصد خرما تولیدی به بازارهای خارج از کشور صادر می‌شود. یکی از دلایل اصلی از بین رفتن خرما در ایران آلودگی میکروبی در زمان برداشت، حمل و نقل، بسته بندی و نگهداری در شرایط نامناسب است. بنابراین برای حفظ کیفیت و ایمنی خرما باید راه‌های احتمالی آلودگی میکروبی را کاهش داد. این مطالعه جهت تجزیه و تحلیل کیفیت میکروبی نمونه‌های خرما که در سطح بازار و واحدهای تولیدی جنوب غرب استان خوزستان (آبادان، خرمشهر و شادگان) عرضه شده، انجام گرفته است.

مواد و روش کار

نمونه برداری: در این مطالعه مقطعی تعداد ۷۰ نمونه خرما که از فروردین سال ۱۳۹۹ تا آبان سال ۱۴۰۰ به آزمایشگاه کنترل کیفی معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی آبادان ارسال شده بود مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به مطالعات قبلی و با استفاده از روش‌های آماری ($p=q=0.5$ و $d=0.1$)، جامعه آماری این مطالعه تعداد ۷۰ نمونه تعیین شد (Turantas et al., 2018). نمونه برداری از کارخانه‌ها و کارگاه‌های بسته بندی خرما و سطح عرضه طبق استانداردهای سازمان ملی استاندارد ایران صورت گرفت. نمونه‌ها در ظروف تمیز، خشک، در شرایط سترونی جمع آوری و در شرایطی که امکان آلودگی و رشد میکروب‌ها وجود نداشته باشد به طور جداگانه در بسته‌های مهر و موم شده به آزمایشگاه انتقال داده شد و تا زمان تجزیه و تحلیل در دمای چهار درجه سلسیوس ذخیره شدند. پس از دریافت، نمونه‌هایی که در طی حمل و نقل، جابجایی و نگهداری صدمه ندیده و

(Memmert, Germany) گرمخانه‌گذاری گردید. در صورت نیاز، روش فوق را برای رقت‌های بعدی با استفاده از یک پی‌پت سترون دیگر ادامه داده شد. پس از پایان زمان گرمخانه‌گذاری، با استفاده از دستگاه شمارشگر کلنی (Funke Gerber, Germany) پتری دیش‌های حاوی کمتر از ۳۰۰ کلنی به عنوان پتری دیش‌های استاندارد انتخاب و شمارش شدند و محاسبه تعداد باکتری در هر گرم به شکل زیر انجام شد:

تعداد کلنی \times عکس رقت \times عکس حجم استفاده شده =
تعداد میکروارگانیسم در یک گرم نمونه
کپک و مخمر: طبق استاندارد ملی خرما حدود استاندارد آزمون شمارش کپک و مخمر 5×10^2 CFU/g می‌باشد. به منظور ارزیابی تعداد کپک و مخمر (ISO 21527-2, 2008)، با استفاده از پیپت سترون ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه را به صورت دوتایی به پتری دیش حاوی محیط کشت دی کلران ۱۸ درصد گلیسرول آگار (DG18, Merck, Germany) که در اتوکلاو (Daihan, South Korea) با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه استریل شده، به کمک پخش کننده سترون روی سطح محیط کشت صورت سطحی کشت داده و به مدت پنج تا هفت روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در انکوباتور (Memmert, Germany) گرمخانه‌گذاری گردید. در صورت نیاز، روش فوق را برای رقت‌های بعدی با استفاده از یک پی‌پت سترون دیگر ادامه دادیم. پس از پایان زمان گرمخانه‌گذاری، با استفاده از دستگاه شمارشگر کلنی (Funke Gerber, Germany) پتری دیش‌های حاوی کمتر از ۳۰۰ کلنی به عنوان پتری دیش‌های استاندارد انتخاب گشته، شمارش شدند و محاسبه تعداد باکتری در هر گرم به شکل زیر انجام شد:

تعداد کلنی \times عکس رقت \times عکس حجم استفاده شده =
تعداد میکروارگانیسم در یک گرم نمونه
انتروباکتریاسه: طبق استاندارد ملی خرما حدود استاندارد انتروباکتریاسه 10^2 CFU/g می‌باشد. به منظور ارزیابی تعداد انتروباکتریاسه (ISO 21528-1, 2017)، از روش

محتمل‌ترین تعداد (MPN) استفاده شد، این روش هنگامی مورد استفاده قرار می‌گیرد که تعداد مطلوب انتروباکتریاسه در یک محدوده مورد انتظار، بین ۱ تا ۱۰۰ در هر میلی لیتر یا گرم باشد. ابتدا با استفاده از پیپت سترون ۱۰ میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه را برداشته و به ۹۰ میلی لیتر آب پیتونه بافری (BPW, Merck, Germany) اضافه و مقادیر ۱۰ میلی لیتر (10×3) از این رقت اولیه به سه لوله خالی منقل کردیم. سپس 1×3 میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه (10^{-1}) را به سه لوله حاوی نه میلی لیتر آب پیتونه بافری (BPW, Merck, Germany) و 1×3 میلی لیتر از رقت بعدی (10^{-2}) به سه لوله حاوی نه میلی لیتر آب پیتونه بافری (BPW, Merck, Germany) اضافه شد. لوله‌ها به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در انکوباتور (Memmert, Germany) گرمخانه‌گذاری گردید. پس از این مدت با استفاده از حلقه کشت از محیط غنی‌سازی شده برداشته و به صورت خطی روی سطح پلیت حاوی محیط کشت ویولت رد بایل گلوکز آگار (VRBG, Merck, Germany) کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در انکوباتور (Germany) (Memmert, Germany) گرمخانه‌گذاری گردید. کلنی‌های مشخص (صورتی تا قرمز یا ارغوانی) را برای آزمون‌های تاییدی بیوشیمیایی انتخاب کردیم. کلنی‌های انتخابی را در محیط کشت غیر انتخابی نوترینیت آگار (Nutrient Agar, Merck, Germany) که در اتوکلاو (Daihan, South Korea) با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه استریل شده اضافه کشت خطی داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در انکوباتور (Memmert, Germany) گرمخانه‌گذاری و یک کلنی کاملاً مجزا را برای آزمون‌های تاییدی بیوشیمیایی انتخاب کردیم. کلنی‌هایی که اکسیداز منفی بوده ولی گلوکز را تخمیر کردند انتروباکتریاسه بوده و محتمل‌ترین تعداد انتروباکتریاسه در هر گرم خرما از روی تعداد لوله

مشخص می‌کند. از نظر وجود اشریشیا کلی در حجم و یا وزن مورد آزمون، مثبت در نظر گرفته شد. این تحقیق بر پایه کاملاً تصادفی و هر نمونه آزمایش در دو تکرار انجام شد. از نرم افزارهای WORD، EXCEL و SPSS با استفاده از روش K^2 استفاده شده و درصد آلودگی محاسبه و اختلاف بین گروه های مختلف مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت که سطح معنی داری در سطح $p < 0.05$ تعیین شد.

نتایج

با بررسی داده‌های مطالعه حاضر مشخص گردید که ۳۸ نمونه (۵۴/۲۸ درصد) از کل ۷۰ نمونه بررسی شده، به میکروب‌های مختلف آلوده (بالاتر از حد مجاز استاندارد ملی خرما) بودند. ۵۴/۲۷ درصد از کل نمونه‌ها کپک، ۱۸/۵۷ درصد مخمر، ۱۰ درصد شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها، ۷/۱۴ درصد انتروباکتریاسه و ۴/۲۸ درصد موارد/شرشیاکلی بالاتر از حد مجاز استاندارد خرما بودند، در جدول شماره ۱ میزان کل آلودگی میکروبی مشاهده شده (مجاز و بیش از حد مجاز استاندارد) نشان داده شده است.

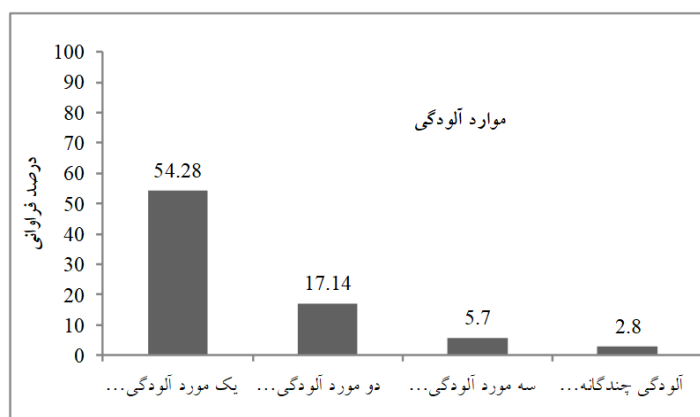
آلودگی با کپک در بیشتر نمونه‌های خرما مشخص بود (جدول ۱)؛ در حالی که قسمت اعظمی از آن‌ها بیشتر از حد مجاز (5×10^2 CFU/g) بودند، همچنین پس از کپک بیشترین فراوانی آلودگی مربوط به مخمرها بود (جدول یک). کپک و مخمر به طور کلی عامل فساد هستند، هرچند که برخی از آن‌ها می‌توانند بیماری‌زا باشند. همچنین در بررسی کاملتری از تعداد ۷۰ نمونه خرما؛ ۳۸ نمونه (۵۴/۲۸ درصد) یک مورد آلودگی، ۱۲ نمونه (۱۷/۱۴ درصد) دو مورد آلودگی، ۴ نمونه (۵/۷ درصد) سه مورد آلودگی، و ۲ نمونه (۲/۸ درصد) ۴ مورد آلودگی بالاتر از حد مجاز استاندارد ملی خرما را داشتند. فراوانی آن در شکل شماره ۱ آورده شده است.

جدول ۱- تجزیه و تحلیل میکروبیولوژی نمونه های خرما

های مثبت تأیید شده با استفاده از جدول MPN استاندارد ISO 7218 (ISO 7218, 2017) محاسبه شد. اشریشیاکلی: طبق استاندارد ملی خرما، باکتری اشریشیاکلی در یک گرم خرما منفی می باشد، و در صورت شناسایی این باکتری، خرما با استاندارد مطابقت ندارد. به منظور شناسایی اشریشیاکلی (ISO 7251, 2005)، ابتدا با استفاده از پیت سترن یک میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه را برداشت و به لوله حاوی نه میلی لیتر لوریل سولفات برات (LSB, Merck, Germany) که در آن لوله دوره‌ام قرار دارد و در اتوکلاو (Daihan, South Korea) با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه استریل شده، اضافه گردید. لوله‌ها به مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در انکوباتور (Memmert, Germany) گرمخانه‌گذاری گردید. در صورت مشاهده گاز و یا کدورت بوسیله حلقه کشت، از آن برداشت نموده و به محیط کشت انتخابی آبگوشت EC (EC, Merck, Germany) که در آن لوله دوره‌ام قرار دارد و در اتوکلاو (Daihan, South Korea) با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه استریل شده، تلقیح و در حمام آب گرم یا گرمخانه در ۴۴ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت در انکوباتور (Memmert, Germany) گرمخانه‌گذاری گردید. پس از این مدت چنانچه در آن‌ها گاز مشاهده شد، از آن‌ها بوسیله حلقه کشت، به محیط آب پپتونه بدون اندول (peptone water, indol free, Merck, Germany) تلقیح و در حمام آب گرم یا گرمخانه در ۴۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور (Germany) گرمخانه‌گذاری گردید. در انتها ۰/۵ میلی لیتر از معرف کواکس (Kovacs reagent, Merck, Germany) اضافه و خوب مخلوط نموده و پس از یک دقیقه ایجاد رنگ قرمز در فاز الکلی وجود اندول را

عوامل میکروبی	آلودگی کمتر از حد مجاز	*حدود مجاز (CFU/g)	آلودگی بیش از حد مجاز
شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها	۵۷ (۸۱/۴۲) درصد	5×10^4	۷ (۱۰) درصد
کپک	۵۳ (۷۵/۷۱) درصد	5×10^2	۳۸ (۵۴/۲۸) درصد
مخمر	۲۷ (۳۸/۵۷) درصد	5×10^2	۱۳ (۱۸/۵۷) درصد
انتروباکتریاسه	۱۶ (۲۲/۸۵) درصد	10^2	۵ (۷/۱۴) درصد
اشریشیاکلی	۳ (۴/۲۸) درصد	۰	۳ (۴/۲۸) درصد

* حدود مجاز بر اساس استاندارد ملی ایران می باشد.



شکل ۱- فراوانی آلودگی میکروبی خرما

بحث

می دهد (Serdengecti et al., Siriken et al., 2009).

میوه‌ها همیشه حامل تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌ها در تمام مناطق جغرافیایی و شرایط آب و هوایی قبل و بعد از برداشت هستند (Hasnaoui et al., 2010). آلودگی میوه خرما عمدتاً از طریق قشر خروجی خرما تازه صورت می‌گیرد که در مرحله بلوغ توسط قارچ‌ها و باکتری‌ها آلوده می‌شوند.

کپک‌ها عامل اصلی فساد خرما در تمام مراحل رسیدن روی درختان و همچنین در هنگام ذخیره سازی و فرآوری محسوب می‌شوند. مطالعات مختلف قبلی نیز با نتایج این مطالعه مطابقت دارد؛ دلخواه و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه خود اعلام نمودند که همه نمونه‌های خرما دارای آلودگی با کپک و مخمر بودند (Delkhah et al., 2015). همچنین صدیق و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه خود نتایج مشابه این مطالعه به دست آمد (Siddig et al., 2012). حسناوی و همکاران (۲۰۱۰) از مراکش در مطالعه خود اعلام نمودند مخمرها و کپک‌ها در همه نمونه‌ها وجود

شمارش کلی میکروارگانیسم‌های خرما نشان داد، بیش از ۸۰ درصد نمونه‌های آزمایش شده آلوده به میکروارگانیسم‌ها بودند هرچند مقدار آلودگی اکثر آن‌ها پایین تر از حد مجاز استاندارد بود (جدول ۱). صدیق و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه خود در عربستان نتایج مشابهی به دست آوردند (Siddig et al., 2012). همچنین ضمیر و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه خود اعلام نمودند که در بنگلادش، ۹۲ درصد (۲۳ از ۲۵ نمونه) از نمونه‌های خرما جمع آوری شده دارای آلودگی میکروبی در محدوده بالاتر از حد مجاز بودند (Zamir et al., 2018)، که میزان آلودگی خیلی بالاتر از نتایج مطالعه ما بود. میزان آلودگی به این میکروارگانیسم‌ها شاخص‌های کلی میکروبیولوژیک است و ایده‌ای راجع به ماندگاری احتمالی محصول مورد نظر را ارائه می‌دهد. برای تعیین کیفیت میکروبیولوژیکی مواد غذایی، اندازه‌گیری این مورد روش قابل اعتمادی است که میزان آلودگی کلی را نشان

خرما بود. رشد و تکثیر این میکروبه‌ها می‌تواند مایکوتوکسین‌هایی مانند آفلاتوکسین و اوکراتوکسین را تولید کند، که به عنوان یک عامل خطر جدی برای به چالش کشیدن کیفیت و ایمنی خرما در نظر گرفته می‌شود، که بررسی جزئیات آن نیاز به مطالعات مفصلی در این زمینه دارد. یکی از دلایل اصلی از دست رفتن خرما در ایران بسته بندی، فراوری و نگهداری نامناسب در شرایط نامناسب است، وجود آلودگی میکروبی در خرما به دلیل پردازش کمتر یا حتی عدم پردازش بیشتر است. با در نظر گرفتن خطرات مرتبط با ایمنی مواد غذایی، به حداقل رساندن و از بین بردن آلودگی میکروبی باید بدون تغییر منفی یا با کمترین تغییر منفی در خرما انجام گیرد. چندین روش خوب شناخته شده ممکن است به کاهش این تلفات کمک کند. از این رو، جلوگیری از تغییرات دما در حین فراوری به منظور جلوگیری از انباشت رطوبت در سطح خرما، ممکن است رشد میکروبی را کاهش دهد. حفظ دما و رطوبت نسبی توصیه شده در طول ذخیره سازی، خشک شدن تا ۲۰ درصد رطوبت یا کمتر قبل از ذخیره سازی، و استفاده از روش‌های بهداشتی مناسب در اتاق بسته بندی و انبارها، به طور قابل توجهی اکثر میکروبه‌ها را کاهش می‌دهد.

گرچه گزارش شده است که گوشت خرما حاوی مقدار زیادی قند و اجزای ضد میکروبی مانند تانن است (حدود ۲/۵ درصد)، که باعث مهار بخشی از باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌شود (Myhara et al., 2000 و Beuchat et al., 2004)، اما این سطوح آلودگی میکروبی (جدول ۲) به وضوح عدم رعایت بهداشت اصولی را در طی دوره فرآوری خرما پس از برداشت نشان می‌دهد. با توجه به میزان آلودگی نمونه‌های خرما در این مطالعه و نتایج مشابه در سایر مطالعات انجام شده در ایران و سایر کشورها، اقدامات مختلفی جهت کاهش آلودگی میکروبی خرما انجام می‌شود، یکی از این روش‌ها شستشوی این محصول پس از برداشت است که در کارخانجات بسته بندی انجام

دارد (Hasnaoui et al., 2010). بلاوچی و همکاران (۲۰۱۷) از مراکش در مطالعه خود اعلام نمودند مخمرها و کپک‌ها در همه نمونه‌ها با سطوح مختلف شناسایی شدند (Bellaouchi et al., 2017). توسط اسلام و همکاران (۲۰۱۹) از پاکستان صورت گرفت میکروارگانسیم‌های مزوفیل و پس از آن کپک و مخمر بالاترین میزان آلودگی را نشان دادند (Aslam et al., 2019).

در مورد باکتری‌های بیماری‌زا در این تحقیق انتروباکتریاسه و /شیریشاکلی به میزان کمی یافت شدند (جدول شماره ۱) که در دیگر مطالعات هم این باکتری‌ها و سایر باکتری‌های بیماری‌زا مشاهده شده بود. حسناوی و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه خود اعلام نمودند باکتری اشیریشاکلی مشاهده نشد اما /ستافیلوکوکوس یافت شد (Hasnaoui et al., 2010). صدیق و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه خود اعلام نمودند در عربستان کلی‌فرم و /ستافیلوکوکوس مشاهده شد (Siddig et al., 2012). ضمیر و همکاران (۲۰۱۸) از بنگلادش، در مطالعه خود اعلام نمودند همه نمونه‌های خرما مورد بررسی، فاقد باکتری /شیریشاکلی بودند (Zamir et al., 2018). بلاوچی و همکاران (۲۰۱۷) از در مطالعه خود اعلام نمودند انتروباکتریاسه در همه نمونه‌های مورد بررسی مشاهده نشد اما /ستافیلوکوکوس شناسایی شد (Bellaouchi et al., 2017). همچنین اسلام و همکاران (2019) از پاکستان در مطالعه خود اعلام نمودند حضور کلی‌فرم در نمونه‌های خرما مشخص بود (Aslam et al., 2019). این عدم شباهت در انواع میکروبه‌های بیماری‌زا مورد بررسی در خرما بدلیل این است که تعدادی از کشورهای استاندارددهای خرما را در سطح ملی، تدوین و اعمال کرده اند. همچنین اختلاف در مقدار میکروب و شناسایی انواع مختلف میکروبه‌ها را می‌توان با اختلاف شرایط آب و هوایی توضیح داد.

نتایج این مطالعه نشان دهنده رشد انواع میکروبه‌ها به ویژه کپک و مخمر در تعداد قابل توجهی از نمونه‌های

گندزدایی الکتروشیمیایی یکی از گزینه‌های عملی است. آنولیت یکی از گزینه‌های بالقوه برای ضدعفونی میکروبی با طیف گسترده محیط زیست است. آنولیت با ۹۹/۸ درصد آب حاوی ۰/۲ درصد کلرید سدیم تولید می‌شود. دو نوع آب فعال الکتروشیمیایی تولید می‌شود، آنولیت و کاتولیت. آنولیت برای اهداف ضد عفونی سبزیجات، در pH خنثی تولید می‌شود. استفاده از آب الکترولیز شده در pH خنثی باعث حفظ رنگ سطح، شکل ظاهری عمومی و pH طبیعی سبزیجات تازه چیده شده می‌باشد (Manickavasagan et al., 2012). این روش در از بین بردن عوامل بیماری‌زای ناشی از مواد غذایی در شرایط آزمایشگاهی موثر است (Kim et al., 2000) و در کاهش تعداد میکروب‌ها و عوامل بیماری‌زا در میوه‌ها و سبزیجات موثر می‌باشد (Deza et al., Abadias et al., 2008, 2003, Park et al., 2008 و Seyoum et al., 2011).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان دهنده رشد انواع میکروب‌ها به ویژه کپک و مخمر در تعداد قابل توجهی از نمونه‌های خرما بود. همچنین برخی از نمونه‌های خرما علاوه بر کپک و مخمر چندین نوع آلودگی میکروبی را داشتند. در خصوص نتایج میکروبی و اینکه آیا وجود کپک شامل ارگانسیم‌های خطرناکتر نظیر میکوتوکسین نیز شده است و اینکه میزان آنها حدی رسیده که سلامت مصرف کننده را با خطر مواجه کند یا خیر، نیاز به بررسی بیشتری دارد. خرما اغلب به صورت تازه مصرف و فرایند ویژه‌ای که منجر به حذف عوامل میکروبی شود، بر آن انجام نمی‌شود، لذا بهداشت کارگران که برداشت و بسته بندی خرما را انجام می‌دهند باید مورد توجه ویژه قرار گیرد. از طرف دیگر شست و شوی خرما توسط مصرف کننده توصیه می‌شود. با توجه به اینکه خرما یکی از مهمترین محصولات کشاورزی جنوب غرب خوزستان می‌باشد؛ مطالعه حاضر مقدماتی برای ارزیابی آلودگی میکروبی نمونه‌های خرما است، لذا برای داشتن اطلاعات علمی و مفید، تحقیقات باید در مورد این موضوع گسترش یابد.

می‌گیرد که می‌توان با افزایش واحدهای مکانیزه بزرگ شستشو و بسته بندی؛ محصولات سالم و مطمئن را به بازار عرضه نمود. اما این روش دارای معایبی می‌باشد و بر کیفیت ماندگاری محصول تاثیر منفی دارد. به طور مثال دلخواه و همکارن (۲۰۱۵) در مطالعه خود اعلام نمودند پس از یک سال ماندگاری، مشاهده شد که تمام نمونه‌های شستشو نشده پس از طی این مدت در مقابل آفات انباری و حشره زدگی بدون تغییر باقی مانده و از نظر ظاهری سالم بودند؛ در حالیکه ۹۱/۶ درصد نمونه‌های شستشو شده پس از یک سال دچار حشره‌زدگی شدید شدند و بافت خرما دارای وضعیت ظاهری بسیار نامناسبی گردیده بود (Delkhah et al., 2015).

ضد عفونی از طریق آب کلرزی شده رایج ترین روشی است که برای کاهش فعالیت میکروبی میوه‌ها و سبزیجات در مرحله شستشو استفاده می‌شود می‌باشد (Beuchat et al., 2004)، با این حال در این روش، pH بسیار پایین می‌تواند بر طعم محصول تأثیر بگذارد. علاوه بر این، بخار کلر باعث تحریک پوست و دستگاه تنفسی می‌شود (EPA, 1998). بعلاوه ارتباط کلر با مواد آلی می‌تواند سرطان زا باشد (Rico et al., 2008). کارخانجات خرما هنوز در مرحله اول فرآوری خرما یعنی شستشو به دنبال یک روش ضد عفونی کننده مناسب برای کاهش جمعیت میکروبی هستند. یکی از روش‌ها ضدعفونی با استفاده از متیل بروماید، که همزمان گندزدایی را تضمین می‌کند، اما این روش در سال ۲۰۱۵ ممنوع شده است (UNEP., 2008). تحقیقات زیادی به دنبال یافتن گزینه‌هایی مناسبی برای جایگزینی متیل بروماید با اثرات مشابه علیه تکثیر میکروبی انجام شده است. از جمله؛ اثرات مواد شیمیایی، اتمسفر کنترل شده (MAP) و روش‌های فیزیکی بررسی شده است (Chao et al., 2007 و Dehghanet et al., 2010). MAP یکی از روش‌های بسته‌بندی مناسب است که می‌تواند در کاهش ضایعات و افزایش ماندگاری محصولات مفید باشد.

acid sanitizer in killing (*Listeria monocytogenes*) on iceberg and romaine lettuce using simulated commercial processing conditions. J Food Prot. 67: 1238–1242.

8. Bhatti Z., Ilyas S.Z., Shar A.I., Lal S., Fatima S., Kehar A., Hussain A., Mufti H., Shar G.A and Korai M.B. 2021. Fungi linkage in rotting of date fruits (*Phoenix dactylifera L*) after sharecropping and reduction in its nutritional values. Biosci Res. 18(4): 3347-3352.

9. Chao C.T and Krueger R.R. 2007. The date palm (*Phoenix dactylifera L.*): Overview of biology, uses, and cultivation Hortscience. 42: 1077–1082.

10. DehghanE-shoar Z., Hamidi-esfahani Z. and Abbasi S. 2010. Effect of temperature and modified atmosphere on quality preservation of sayer date fruits (*Phoenix Dactylifera L.*). Food Process Preserv. 34: 323–334.

11. Deza M.A., Araugo M. and Garrido M.J. 2003. Inactivation of (*Escherichia coli O157:H7*), (*Salmonella enteritidis*) and (*Listeria monocytogenes*) on the surface of tomatoes by neutral electrolyzed water. Lett Appl Microbiol. 37: 482–487.

12. Delkhah H Mohebbi GH, Hasanzadeh N, Kohan GR, Tahmasebi R, Sadri S, Rezaei Y, Vahdat K Hasanzadeh A and Darabi H. 2015. The effect of dust on the chemical and microbiological qualities of the date palm fruits from Bushehr-Iran. ISMJ. 18(1): 80-91.

13. Edalatian MR and Fazlara A. 2008. Evaluation of microbial characteristics of Stamaran cultivar dates during storage in 1384. JFST. 5: 45-52.

14. Elleuch M., Besbes S., Roiseux O., Blecker C., Deroanne C., Drira N.E and Attia, H. 2008. Date flesh: Chemical composition and characteristics of the dietary fiber. Food Chem. 111(3): 676-682.

15. EPA (Environmental Protection Agency). 1998. National Primary Water Regulation: Disinfectants and disinfection byproducts. Rules & Regul. 63: 69389–69476.

16. Farag S.E.A., Shaloot A., Emam M., ElNawawey M and Asmaa E.E.D. 2013.

سپاسگزاری

نویسندگان از مدیریت و همکاران مجموعه آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی، آشامیدنی، آرایشی و بهداشتی معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی آبادان جهت همکاری در این پژوهش تشکر و قدردانی می نمایند.

منابع

1. Abadias M., Usall J., Oliveira M., Alegre I and Vinas I. 2008. Efficacy of neutral electrolyzed water for reducing microbial contamination on minimally-processed vegetables. Food Microbiol. 123: 151–158.

2. Abekhti A., Zarour K., Boulal A., Benmechernene Z and Kihal M. 2013. Evaluation of Microbiological Quality of the Date Fruit Product “*Btana*” Produced in Adrar South Algeria. Journal of Microbiology Research. 3:(5). 163-170.

3. AlHazzani A.A., Shehata A.I., Rizwana H., Moubayed N.M.S., Alshatwi A.A., Munshi A and Elgaaly G. 2014. Postharvest fruit spoilage bacteria and fungi associated with date palm (*Phoenix dactylifera L*) from Saudi Arabia. Afr J Microbiol Res. 8 (2):1228–1236.

4. Aslam A., Leghari SK., Asrar M., Saeed S., Shafi M., Siddiqi M.F., Sumalani M.A., Mahma F and Merri A.A. 2019. Physico-Chemical diversity and microbial burden in four dates palm (*Phoenix dactylifera*) fruit varieties grown in agro-climatic condation of TURBAT, BALOCHISTAN-PAKISTAN. Ecology and Environmental Research. 17 (3): 6625-6642.

5. Atharinia M and Nojoumi S.A. 2014. Evaluation of (*Bacillus cereus*) contamination in packed Mazafati dates. Journal of Genes, Microbes and Immunity. 1–4.

6. Bellaouchi R., Ghomari I., Hasnaoui A., Hakkou A., Bechchari A., Chihib N.E and Asehraou A. 2017. Physico-chemical and microbial properties of undervalued dates and processed dates by-products in Morocco. Int Food Res J. 24 (3): 963-969.

7. Beuchat, L.R., Adler B.B and Lang M.M. 2004. Efficacy of chlorine and a peroxyacetic

- Physicochemical microbiological studies on irradiated date fruits with studying migration monomers of packages materials. *JMBT*. 5(1): 6–12.
17. Gherbawy Y.A., Elhariry H.M and Bahobial A.A.S. 2012. Mycobiota and mycotoxins (*aflatoxins and ochratoxin*) associated with some Saudi date palm fruits. *Foodborne Pathog Dis*. 9: 561–567.
18. Hamad S.H. 2008. Microbial spoilage of date rutab collected from the markets of Al-Hofuf City in the Kingdom of Saudi Arabia. *J Food Prot*. 71: 1406–1411.
19. . Hasnaoui A., Elhoumaizi A. Asehraou A and Hakkou A. 2010. Chemical composition and microbial quality of main varieties of dates grown in figuig oasis of Morocco. *Int J Agric Biol*. 12: 311–314.
20. Ibrahim M.M and Mohamed M.A. 2021. Influence of Leaf/ Bunch Ratio on Yield and Fruit Quality of “Zaghloul” Dates. *Egypt J Hort*. 48(2): 157-163.
21. Ibrahim S and Rahma M.A. 2009. Isolation and identification of *fungi* associated with date fruits (*Phoenix Dactylifera, Linn.*) sold at Bayero University, Kano, Nigeria. *Bayero. J Pure Appl Sci*. 2: 127–130.
22. International Organization for Standardization. 2017. ISO 6887-1.
23. International Organization for Standardization. 2013. ISO 4883-1.
24. International Organization for Standardization. 2008. ISO 21527-2.
25. International Organization for Standardization. 2017. ISO 21528-1.
26. International Organization for Standardization. 2013. ISO 7218.
27. International Organization for Standardization. 2005. ISO 7251.
28. Ishida K., Mello J.C.P., Cortez D.A.G., Filho B.P.D., Ueda-Nakamura T and Nakamura C.V. 2006. Influence of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on growth and virulence factors of (*Candida albicans*). *J Antimicrob Chemother*. 58(5): 942–949.
29. Kim C., Hung Y.C and Brackett, R.E. 2000. Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of food-borne pathogens. *Int Food Microbiol*. 61: 199–207.
30. Manickavasagan A., Essa M.M and Sukumar E. 2012. Dates: production, processing, food, and medicinal values. CRC press, Boca Raton, U.S.A.
31. Myhara R.M., Al-Alawi A., Karkalas J and Taylor M.S. 2000. Sensory and textural changes in maturing Omani dates. *J Sci Food Agric*. 80(15): 2181–2185.
32. Park E.J., Alexander E., Taylor G.A., Costa R and Kang, D.H. 2008. Effect of electrolyzed water for reduction of foodborne pathogens on lettuce and spinach. *Food Sci*. 73: 268–272.
33. Zamir R., Nazmul Islam A.B.M., Rahman A., Ahmed S and Faruque, M.O. 2018. Microbiological Quality Assessment of Popular Fresh Date Samples Available in Local Outlets of Dhaka City, Bangladesh. *Int J Food Sci*. 1:1-4.
34. Rico D., Martin-diana A.B., Barry-ryan C., Frisa J.M., Henehan G.T.M and Barat J.M. 2008. Use of neutral electrolysed water (EW) for quality maintenance and shelf-life extension of minimally processed lettuce. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 9: 37–48.
35. Risiquat R.O. 2013. Microbiological assessment of date fruits purchased from owode market, in Offa, Kwara State Nigeria. *J environ sci toxicol food technol*. 4(3): 23–26.
36. Serdengecti N., Yildirimi I and Gokoglu N. 2006. Effects of sodium lactate, sodium acetate and sodium diacetate on microbiological quality of vacuum-packed beef during refrigerated storage. *J Food Safety*. 26: 62–71.
37. Seyoum T., Osthoff G., Steyn M.S., Engelbrecht G.M and Pretorius J.C. 2011. The effect of preharvest treatment, disinfection and storage environment on quality of carrots. *Food Process Preserv*. 35: 331–341.
38. Shiralipour R., Alborzi M., Fathizadeh E. 2016. Evaluation of heavy metals, aflatoxins and microbial contamination sayer date. *Journal of Food Technology and Nutrition*. 1(49): 87 - 96.

39. Siddig H.H. 2012 a. The microbial quality of processed date fruits collected from a factory in Al-Hofuf City, Kingdom of Saudi Arabia. Emir J Food Agri. 24: 105-112.
40. Siddig H.H., Farag A.Saleh., Mutlag M.A. 2012 b. Microbial Contamination of Date Rutab Collected from the Markets of Al-Hofuf City in Saudi Arabia. Sci World J. 124892: 1-4.
41. Siriken B., Cadirci O., Inat G and Pamuk S. 2009. Microbiological examination of meatball, cream cake and Turkish delight (Lokum). J Anim Vet Adv. 8(10): 2049-2054.
42. Taouda H., Aarab L., Chabir R., Miyah Y., Azdad O., Mejrhit N and Errachidi F. 2018. Effect of Packaging Conditions on Microbiological and Physicochemical Quality of Moroccan Date Fruit. Der Pharma Chemica. 10(2): 42-46.
43. Turantaş F., Bilek S E., Somek O and Kuşçu A. 2018. Decontamination effect of electrolyzed water washing on fruits and vegetables. J Microbiol Biotech Food Sci. 7 (4): 337-342.
44. United Nations Environment Program (UNEP). 2008. Assessment of alternatives to methyl bromide. In Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer. Nairobi, Kenya: 263-264.

Evaluation of microbial quality of date fruit in southwest of Khuzestan in 2020-2021

Khodadoust M^{1*}, Elahi S², Moradi M¹, Koopi H¹, Dehghan H¹, Ganjali Dashti M¹

1. Abadan University of Medical Sciences, Abadan, Iran

2. Department of Chemical Engineering, Abadan Branch, Islamic Azad University, Abadan, Iran

Received: 30 October 2022

Accepted: 23 July 2023

*Corresponding author: mehrdad.khodadost@abadanums.ac.ir

Abstract

Dates are one of the most important agricultural products and have a high nutritional value. Quality control of dates is important to maintain the health of this food and also to compete in global markets. Annually, large quantities of dates lose their quality due to microbial contamination. This study is performed to analyze the microbiological quality of the date that is offered in the production units and the market in the southwest of Khuzestan province. 70 date samples collected during 20 months were examined and analyzed according to relevant national and international standards. Total counts, mold and yeast, Enterobacteriaceae and Escherichia coli identification were performed on all date samples and the results were statistically analyzed. It was found that 38 samples (54.28%) of the total samples were infected with various microbes. 54.27% of the total samples were mold, 18.57% yeast, 10% total counts, 7.14% of Enterobacteriaceae and 4.28% of E.coli cases were higher than the standard allowable date. The results showed the growth of microbes, especially mold and yeast in a significant number of date samples, which is considered as a serious risk factor to challenge the quality and safety of dates. Therefore, different methods of washing, processing and packaging of dates in different regions that have this product should be studied and the best methods should be selected according to geographical and local conditions and type of date cultivar to maintain microbial quality and subsequent quality of the final date product.

Keywords: Dates, Microbiology, *Mold* and *Yeast*, *E.coli*.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Copyright © 2023 Shahrekord Branch, Islamic Azad University.

