

میزان آلودگی، کمیت و تنوع گونه‌ای باکتری‌های اسپوردار هوایی در ادویه‌ها و گیاهان معطر عرضه شده در تبریز

نسترن لسانی فر^۱، شهرام حنیفیان^{۲*}

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

*نویسنده مسئول: hanifian.s@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۱۴

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی میزان آلودگی، کمیت و تنوع گونه‌ای باکتری‌های اسپوردار هوایی در ادویه‌ها و سبزی‌ها معطر عرضه شده در تبریز انجام گرفت. برای تهیه نمونه‌های ادویه و گیاهان معطر به عطاری‌ها و مرکز فروش در نواحی مختلف شهر تبریز مراجعه و به صورت تصادفی تعداد ۵ نمونه از ۲۵ ادویه مختلف (در مجموع ۱۲۵ نمونه)، جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها با استفاده از روش استاندارد پلیت کانت و آزمون‌های بیوشیمیایی متداول شمارش و تشخیص تغیریقی داده شدند. طبق نتایج، پایین‌ترین و بالاترین تعداد باکتری‌های اسپوردار مزووفیل به ترتیب در گشنبیز (میانگین $\log \text{cfu/g}$ $4/15 \pm 0/56$) و زردچوبه (میانگین $\log \text{cfu/g}$ $7/02 \pm 0/60$) مشاهده شد. از نظر باکتری‌های اسپوردار ترموفیل، شوید (میانگین $\log \text{cfu/g}$ $4/73 \pm 0/86$) و فلفل سیاه (میانگین $\log \text{cfu/g}$ $7/20 \pm 0/81$) به ترتیب کم‌ترین و بیشترین بار میکروبی را داشتند. بیشترین درصد فراوانی گونه‌های مزووفیل مربوط به باسیلوس کوکولانس (۱۳/۹) بود؛ در حالی که بیشترین گونه‌های ترموفیل شامل باسیلوس ماسرانس (۱۶/۹۹ درصد)، پانتوتنتیکوس (۱۵/۵۳) و سرئوس (۱۴/۰۷ درصد) و سرئوس (۱۴/۰۷ درصد) بودند. در بین ادویه‌های مورد بررسی، بیشترین تنوع گونه‌ای باسیلوس‌های مزووفیل و ترموفیل به ترتیب در گلپر (۱۱ گونه) و سماق (۱۰ گونه) یافت شد. یافته‌های مطالعه نشان داد اکثر ادویه‌های عرضه شده در تبریز دارای بار میکروبی بالایی از نظر باکتری‌های اسپوردار هوایی ترموفیل و مزووفیل بودند و از این نظر می‌توانند منع آلودگی در غذایی باشند که در ترکیب آن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند.

واژگان کلیدی: باکتری‌های اسپوردار هوایی، ادویه و گیاهان معطر، تبریز

ادویه‌جات در مناطق مختلف جهان به دست آمده است. بر اساس این آمار، به ترتیب جنوب و شرق آسیا و جنوب آفریقا و خاورمیانه بیشترین تولید ادویه را در جهان داشته‌اند. در مجموع پنج کشور چین، هند، اندونزی، ویتنام و برزیل بیشترین صادرکننده‌های ادویه‌جات هستند (FAO, 2005) و ایران رتبه هفدهم را در میان صادرکننده‌های ادویه در جهان داراست و بیشترین صادرات آن زعفران و آویشن می‌باشد (SADC Trade, 2009).

ادویه‌ها به دلیل اثرات دارویی و آنتی‌اکسیدانی کاربرد وسیعی در مواد غذایی دارند. استفاده از ادویه‌جات در کنار افزایش مدت زمان ماندگاری غذاها، فاقد اثرات مضر نگهدارنده‌های شیمیایی هستند. مواد ضد میکروبی موجود در بسیاری از

ادویه به تمام یا بخشی از گیاه اطلاق می‌شود که به خاطر تأثیر طعم‌دهندگی، اشتها‌آوری، هضم‌کنندگی، ایجاد مزه، رنگ و عطر به طور مستقیم یا پس از فرآیندهای مختلف به مواد غذایی اضافه می‌شود. ادویه‌ها به صورت تازه یا خشک به فرم‌های خالص یا مخلوط به بازار فروش عرضه می‌شوند (شهراز و همکاران، ۱۳۸۷) در دهه گذشته متوسط تولید و تجارت سالانه ادویه در جهان به ترتیب $4/3$ درصد و $5/8$ درصد رشد داشته است. بیشترین مقدار تولید ادویه‌ها مربوط به فلفل دلمه و فلفل فرنگی، زنجبل، رازیانه، فلفل قرمز و سبز، میخک، دارچین، جوز هندی و هل می‌باشد (SADC, 2009). در بررسی‌های مختلف آمار متفاوتی از میزان تولید

باکتری‌های اسپوردار هوایی متعلق به جنس *Basiliowis* هستند. اعضای این جنس باکتری‌هایی میله‌ای شکل، گرم مثبت، بی‌هوای اختیاری، مزووفیل و ترموفیل، غیرمحرك و محرك، و اغلب آرایش زنجیری دارند. این جنس پراکنده‌ی زیادی در طبیعت دارد و در خاک، آب، سطح گیاهان و در بدن حیوانات یافت می‌شوند. بهدلیل توانایی تولید اسپور در برابر شرایط محیطی نامساعد (گرما و سرما، خشکی، کمبود مواد مغذی، مواد ضدغوفونی کننده و ...) مقاوم هستند و بهمدت طولانی به حالت غیرفعال به حیات خود ادامه می‌دهند. در طول آماده‌سازی و بهویژه فرآوری حرارتی مواد غذایی، اسپورها در نتیجه شوک حرارتی به حالت فعال تبدیل شده و پس از جوانه زدن، رشد و تکثیر پیدا می‌کنند. در صورت مهیا بودن شرایط محیطی تولید توکسین نموده و *Curlin*, (2011; Iurlina et al., 2006; Louka et al., 2013) موجب مسمومیت در مصرف کنندگان می‌شوند (Beki et al. 2008; Doren et al., 2013). در مطالعات انجام شده در کشورهای مختلف مشخص شده است که *Basiliowis*‌ها جزو جمعیت غالب میکروبی در ادویه‌ها و گیاهان معطر می‌باشند و تنوع گونه‌ای آن‌ها در محصولات مختلف، متفاوت است (صداقت و همکاران، ۱۳۹۳؛ Aksu et al., 2000; Antai, 1988; Garbowska et al., 2015; Iurlina et al., 2006) در این بین، *Basiliowis* سرئوس با فراوانی بیشتری در قیاس با سایر گونه‌ها از ادویه‌جات و گیاهان معطر جداسازی شده است. *Basiliowis* سرئوس گونه‌ای با گستردگی بالا و یک بیماری‌زای بالقوه است که می‌تواند با تولید توکسین‌ها در مواد غذایی باعث بروز سندرم اسهال و سندرم استفراغ در مبتلايان گردد (Carlin, 2011).

ادویه‌ها از جمله پلی‌فنل‌ها، سینامیک‌آلدئید، کومارین و تانین باعث متلاشی شدن غشای میکرووارگانیسم‌ها شده و این امر در مورد باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با گرم McKee, (1387)، 1995) ادویه‌ها به علت دارا بودن روغن اسانسی، آکالوئیدها و مواد تخمیری خاصیت ضدباکتریایی دارند؛ لذا به نظر می‌رسد جمعیت باکتریایی ادویه‌جات بسیار محدود باشد. اما استفاده از مواد اولیه ناسالم یا به کارگیری روش‌های فرآوری نادرست و غیربهداشتی نظیر استفاده از آب غیربهداشتی (برای خیساندن فلفل سیاه و تبدیل آن به فلفل سفید) و یا فرآیند سنگزنانی (برای فلفل خشک)، عدم توجه به نکات لازم در بسته‌بندی ادویه‌جات، علاوه بر عوامل میکروبی اولیه موجود بر روی گیاه، موجب راهیابی آلودگی‌های ثانویه نیز خواهد شد. از آن جایی که ادویه‌ها غالباً با روش‌های سنتی تولید و عرضه می‌گردند، در نتیجه طیف گسترهای از آلودگی‌ها را در خود جای می‌دهند که مزایا و خواص آن‌ها را تحت الشاعع قرار می‌دهد. بهویژه ادویه‌هایی که مستقیماً و بدون حرارت دیدن به مصرف می‌رسند ممکن است باعث Carlin, 2011; Iurlina et al., 2006 (Bek et al., 2013) بیماری نیز شوند (Louka et al., 2013). بسیاری از ادویه‌ها از کشورهایی نظیر هند، بنگلادش و سریلانکا وارد می‌شوند. این مناطق از نظر استانداردهای بهداشتی در وضعیت مطلوبی نیستند و از طرفی آب و هوای این کشورها اغلب مرطوب و گرم است و امکان تماس با طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌ها، کپک‌ها و مخمرها فراهم می‌گردد. در این میان باکتری‌های اسپوردار بهدلیل گستردگی بالا در طبیعت، مقاومت و بقای طولانی مدت در محیط و مواد غذایی و همچنین وجود انواع مولد فساد و بیماری در میان آن‌ها از اهمیت ویژه‌ای در بهداشت و ایمنی غذایی برخوردار هستند (Doren et al., 2013) (شهراز و همکاران، ۱۳۸۷).

جداسازی و خالص‌سازی جنس باسیلوس

از کلنی‌های شمارش شده با مورفولوژی (اندازه، رنگ، شکل) متنوع برای تعیین تنوع گونه‌ای استفاده شد. ابتدا کلنی مورد نظر در محیط عصاره قلب و مغز کشت و خالص‌سازی شد. سپس بر روی جدایه‌ها آزمون‌های غربالگری مانند رنگ‌آمیزی گرم و اندوسپور و کاتالاز انجام شد و جدایه‌های باسیلی شکل، اسپوردار و کاتالاز مثبت برای آزمون‌های افتراقی انتخاب شدند (Barrow and Feltham, 2003).

برای تشخیص تفریقی گونه‌های باسیلوس از آزمون‌های مرفولوژیکی و بیوشیمیایی مطابق با جدول (۱) استفاده شد.

نتایج

جمعیت اسپورداران هوایی مزووفیل و ترموفیل در ۲۵ نمونه ادویه مورد مطالعه در جدول (۲) نشان داده شده است. مطابق نتایج جدول (۲) بیشترین جمعیت اسپورداران مزووفیل در زردچوبه با میانگین $\log \text{cfu/g}$ 7.0 ± 0.60 و کمترین میزان آن در گشنیز با میانگین $\log \text{cfu/g}$ 4.0 ± 0.56 مشاهده شد. در بین ادویه‌های مختلف، شوید با میانگین $\log \text{cfu/g}$ 4.73 ± 0.86 و فلفل سیاه با میانگین $\log \text{cfu/g}$ 7.20 ± 0.81 بهترین حاوی کمترین و بیشترین میزان باکتری‌های اسپوردار ترموفیل بودند.

در نمودار (۱) و (۲) بهتری ترتیب تنوع گونه‌ای و درصد فراوانی توجه به نمودار (۱)، بیشترین فراوانی مربوط به باسیلوس کواگولانس با فراوانی $13/9$ درصد بود. بعد از آن باسیلوس اسفاریکوس ($11/21$ درصد)، پانتوتنتیکوس و استئاروترموفیلوس نوع III ($9/86$ درصد) و استئاروترموفیلوس نوع I ($9/41$ درصد) بیشترین درصد فراوانی را داشتند.

با توجه به کاربرد وسیع ادویه‌ها و چاشنی‌ها در تهیه مواد غذایی ایرانی و از سوی دیگر تولید و عرضه انواع مختلف ادویه بومی و وارداتی در منطقه آذربایجان، لذا بررسی کیفیت میکروبی ادویه‌ها و گیاهان معطر عرضه شده در شهر تبریز با تأکید بر تنوع باکتری‌های اسپوردار هوایی می‌تواند کیفیت میکروبی این محصولات را نشان دهد.

مواد و روش کار

نحوه نمونه‌برداری و شمارش باکتری‌های اسپوردار هوایی برای تهیه نمونه‌های ادویه و گیاهان معطر به عطاری‌ها و مراکز فروش در ۵ ناحیه مختلف شهر تبریز مراجعه و به صورت تصادفی تعداد ۵ نمونه از ۲۵ نوع ادویه مختلف (در مجموع ۱۲۵ نمونه) خریداری گردید. هر نمونه ادویه شامل مقدار تقریبی ۵۰ گرم بود که به صورت بسته‌بندی جمع‌آوری و در شرایط استریل به آزمایشگاه انتقال یافت. مقدار ۱ گرم ادویه یا گیاه معطر با ۹۰ میلی‌لیتر سرم رینگر استریل مخلوط و پس از همگن‌سازی کامل، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون به لوله آزمایش استریل انتقال یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب‌گرم با دمای ۸۰ درجه سلسیوس تحت تیمار حرارتی قرار گرفت. سپس نمونه تا رقت $^{10^7}$ رقیق‌سازی شده و از هر رقت در دو محیط تریپتیک سوی آگار^۱ حاوی 0.5 درصد عصاره مخمیر به صورت مخلوط دولایه کشت داده شد. برای شمارش باکتری‌های اسپوردار مزووفیل از دمای 37 درجه سلسیوس و برای انواع ترموفیل از دمای 50 درجه سلسیوس به مدت مدت 24 تا 48 ساعت استفاده شد. جمعیت هر گروه از اسپورداران به طور جداگانه و طبق قوانین شمارش در پلیت استاندارد محاسبه شد (Mohammad and Akhter, 2001).

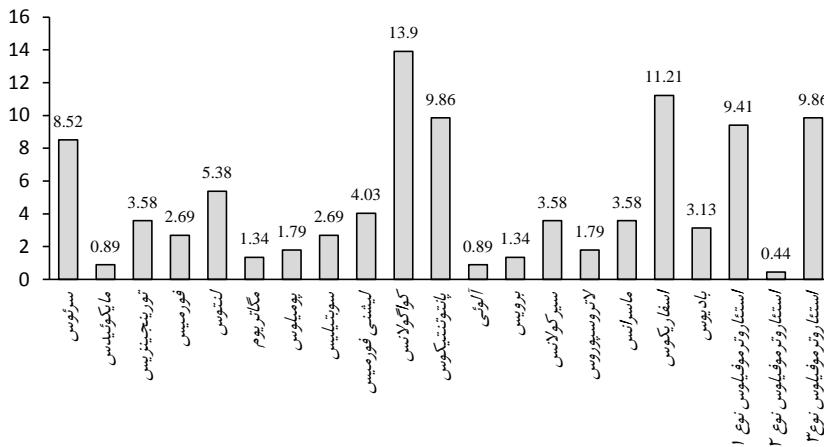
^۱ Tryptic Soy agar

جدول (۱۱)- جدول تشخیص تغیریقی گونه‌های باسیلوس

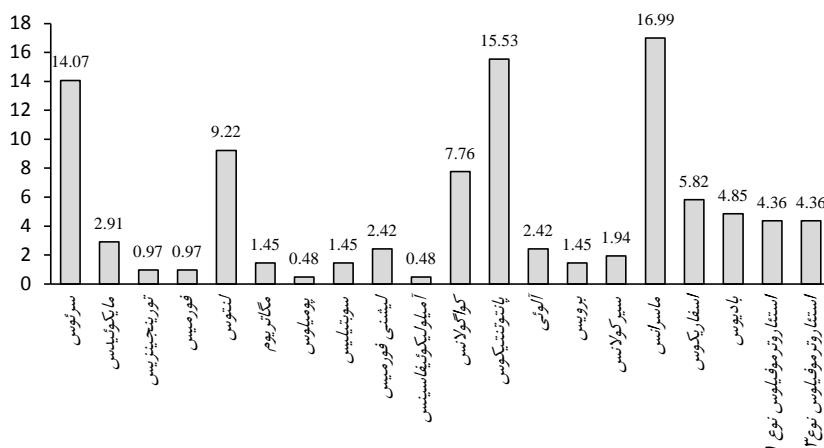
آزمون	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲	۲۳	۲۴
واکنش گرم	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
زنگیره سلولی	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
تحرک*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
طول سلول	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
رشد در ۵۰°C	+	+	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
رشد در ۱۰%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
کلریدسدیم	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
رشد بیهوایی	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
تولید آسید از:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
کلرک	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
سلوبیوز	d	d	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
گالاکتوز	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
مانوز	+	d	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ملبیوز	+	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
رافینوز	+	d	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
سالیسین	d	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
زایلوز	-	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
استفاده از سیترات	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
اورهاز	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ایندول	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	d	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
کاهش نیترات	d	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
هیدروولیز کازین	d	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
هیدروولیزهپورات	+	+	d	-	-	d	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
هیدروولیز نشاسته	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
اکسیداز	-	-	d	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۱- باسیلوس آنجلیمیس	۱	با																						
۲- باسیلوس سوبتیلیس	۵	با																						
۳- باسیلوس استئاروترموفیلوس گروه I	۲۲	با																						
۴- باسیلوس استئاروترموفیلوس گروه II	۲۳	با																						
۵- باسیلوس میکوئیدیس	۷	با																						
۶- باسیلوس تورنج	۱۲	با																						
۷- تئوکس	III	با																						
* گونه‌های متحرک ممکن است موتانهای غیرمتحرک تولید کنند. T: اسپورها در حالت ترمیナル؛ V: اسپورها در حالت مرکزی اسپ ترمیナル؛ X: اسپورها به شکل بیضی؛ O: اسپورها به شکل گرد؛ (+): ۱۰۰٪، (-): ۵٪.	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	۰	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۱- سوپهای منفی: d: انکوایله‌گلا/امثیت	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	۰	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

جدول ۲- جمعیت ($\log \text{cfu/g}$) پاسیلوس‌های مزووفیل و ترموفیل در ادویه‌های عرضه شده در تبریز

ردیف	نوع ادویه	جمعیت اسپورداران هوایی			
		ترموفیل میانگین \pm انحراف معیار	دامنه	مزوفیل میانگین \pm انحراف معیار	دامنه
۱	پاپریکا	۵/۹۳ \pm ۰/۹۳	۴/۷۰-۷/۱۱	۵/۶۳ \pm ۰/۸۲	۴/۱۱-۶/۵۲
۲	ادویه کاری	۷/۰۵ \pm ۰/۷۸	۵/۸۲-۸/۲۰	۶/۵۰ \pm ۰/۸۴	۵/۴۴-۷/۶۸
۳	دارچین	۵/۲۹ \pm ۰/۷۲	۴/۷۸-۶/۷۰	۴/۴۷ \pm ۰/۵۴	۳/۷-۵/۲۳
۴	فلفل قرمز	۶/۸۷ \pm ۱/۱۳	۴/۹۵-۷/۸۰	۶/۹۸ \pm ۰/۹۲	۵/۷۰-۸/۳
۵	لیمو عمانی	۶/۴۶ \pm ۱/۱۶	۴/۷۵-۷/۶۵	۴/۴۳ \pm ۰/۸۷	۳/۷۰-۶/۰۲
۶	زرد چوبه	۶/۸۶ \pm ۰/۳۷	۶/۴۶-۷/۵۶	۷/۰۲ \pm ۰/۶۰	۶/۳۶-۸/۱۱
۷	پودر سیر	۶/۱۹ \pm ۰/۸۰	۴/۷۰-۶/۸۴	۵/۲۲ \pm ۱/۲۸	۳/۷۰-۷/۴۷
۸	نعناع	۵/۲۸ \pm ۱/۰۰	۳/۷۰-۶/۷۰	۵/۷۰ \pm ۱/۳۳	۴/۰۱-۷/۷۰
۹	گلپر	۵/۱۷ \pm ۰/۸۹	۴/۰۳-۶/۶۵	۵/۴۹ \pm ۱/۵۳	۳/۷۰-۷/۷۰
۱۰	آویشن	۴/۸۰ \pm ۱/۱۴	۳/۶۹-۶/۷۱	۵/۷۹ \pm ۰/۹۴	۴/۰۳-۶/۷۰
۱۱	پودر موسیر	۵/۱۰ \pm ۰/۹۴	۴/۰۳-۶/۷۰	۵/۷۵ \pm ۱/۳۱	۴/۰۱-۷/۷۰
۱۲	سماق	۵/۲۷ \pm ۱/۱۳	۳/۶۸-۶/۶۵	۴/۸۲ \pm ۱/۱۹	۳/۷۰-۶/۷۰
۱۳	زنجبیل	۶/۱۰ \pm ۱/۰۴	۵/۰۳-۷/۷۲	۴/۸۴ \pm ۰/۹۵	۳/۷۰-۶/۱۳
۱۴	فلفل سیاه	۷/۲۰ \pm ۰/۸۱	۵/۶۰-۷/۷۰	۶/۰۵ \pm ۱/۴۲	۳/۶۵-۷/۷۵
۱۵	فلفل پرک شده	۶/۶۳ \pm ۱/۶۲	۴/۰۳-۸/۷۹	۵/۷۹ \pm ۱/۳۶	۴/۳۰-۷/۷۰
۱۶	شوید	۴/۷۳ \pm ۰/۸۶	۳/۷۲-۵/۶۸	۵/۳۸ \pm ۱/۰۲	۳/۷۰-۷/۶۸
۱۷	هل	۵/۶۳ \pm ۱/۲۷	۴/۰۳-۷/۷۰	۴/۸۲ \pm ۰/۶۵	۳/۷۰-۵/۶۰
۱۸	برگ بو	۶/۴۱ \pm ۱/۲۰	۴/۴۷-۷/۷۰	۵/۲۹ \pm ۱/۰۸	۳/۶۵-۷/۳۶
۱۹	فلفل سفید	۵/۴۵ \pm ۰/۶۸	۴/۳۰-۶/۱۱	۴/۸۴ \pm ۱/۰۶	۳/۷۵-۶/۵۳
۲۰	جوز هندی	۵/۷۶ \pm ۱/۰۰	۴/۷۰-۷/۱۹	۴/۶۶ \pm ۰/۶۶	۳/۷۵-۵/۶۵
۲۱	گل سرخ	۵/۱۲ \pm ۱/۲۵	۳/۶۶-۶/۷۴	۴/۶۸ \pm ۱/۰۸	۳/۷۰-۶/۲۵
۲۲	گشنیز	۴/۹۶ \pm ۱/۴۱	۳/۷۴-۶/۶۶	۴/۱۵ \pm ۰/۵۶	۳/۶۵-۴/۹۷
۲۳	رازیانه	۵/۴۵ \pm ۱/۰۰	۴/۴۷-۷/۱۳	۵/۲۵ \pm ۱/۰۹	۳/۰۳-۷/۴۷
۲۴	زیره	۵/۴۸ \pm ۱/۰۲	۳/۷۰-۶/۷۰	۶/۷۰ \pm ۰/۷۲	۵/۳۲-۷/۳۵
۲۵	میخک	۵/۰۵ \pm ۰/۹۲	۳/۷۰-۶/۴۷	۵/۱۲ \pm ۰/۴۲	۴/۴۷-۵/۶۰
کل				۳/۰۳-۸/۳	
۵/۷۷ \pm ۱/۲۷				۵/۴۲ \pm ۱/۳۴	



نمودار ۱- درصد فراوانی گونه‌های مزو菲尔 باسيلوس در ادویه‌های عرضه شده در تبریز



نمودار ۲- درصد فراوانی گونه‌های ترموفیل باسیلوس در ادویه‌های عرضه شده در تبریز

در جدول (۳) تنوع گونه‌ای باسیلوس‌های مزو菲尔 و ترموفیل در هر یک از ادویه‌ها نشان داده شده است. بر این اساس گلپر با ۱۱ گونه بیشترین تنوع گونه‌ای باسیلوس‌های مزو菲尔 را داشت و بعد از آن زنجبیل و فلفل سیاه با ۱۰ گونه قرار گرفتند. از نظر انواع ترموفیل، سماق با ۱۰ گونه و هل و شوید با ۹ گونه بیشترین تنوع گونه‌ای باسیلوس‌های ترموفیل را دارا بودند (جدول ۳).

نمودار (۲) نشان می‌دهد که بیشترین گونه‌های ترموفیل باسیلوس در ادویه‌های مورد مطالعه باسیلوس ماسرانس (۱۶/۹۹ درصد)، پانتوتنتیکوس (۱۵/۵۳ درصد) و باسیلوس سرئوس (۱۴/۰۷ درصد) بودند. باسیلوس پومیلوس و باسیلوس آمیلولیکوئیفاسینس نیز کمترین فراوانی را دارا بودند.

جدول ۳- تنوع گونه‌ای باسیلوس‌های مزووفیل و تروفیل به تفکیک نوع ادویه

ادویه	تعداد گونه	مزوفیل	تعداد گونه	ترموفیل
پاپریکا	۶	پانتوئنیکوس، لنتوس، استئاروترموفیلوس III کواگولانس، سیرکولانس، سرئوس	۴	پانتوئنیکوس، اسفاریکوس، ماسرانس، آلوئی
ادویه کاری	۶	استئاروترموفیلوس III ماسرانس، لنتوس، پانتوئنیکوس ماگاتریوم، کواگولانس، پانتوئنیکوس	۸	اسفاریکوس، آلوئی، سرئوس، ماسرانس، بادیوس
دارچین	۹	سیرکولانس، سوبتیلیس، لنتوس، کواگولانس، استئاروترموفیلوس III استئاروترموفیلوس I پانتوئنیکوس، اسفاریکوس، لاتروسپوروس	۶	پانتوئنیکوس، تورینجینزیس، سرئوس، کواگولانس، ماسرانس، استئاروترموفیلوس I
فلفل قرمز	۶	لیشنی فورمیس، پانتوئنیکوس، کواگولانس، لنتوس، سیرکولانس، آلوئی	۶	آلوئی، سرئوس، استئاروترموفیلوس III، ماسرانس، ماکوئیدس، اسفاریکوس
لیمو عمانی	۵	استئاروترموفیلوس III کواگولانس، استئاروترموفیلوس I لیشنی فورمیس، پانتوئنیکوس	۲	پانتوئنیکوس، سرئوس
زرد چوبه	۴	استئاروترموفیلوس III، پانتوئنیکوس، سرئوس، کواگولانس	۴	سرئوس، لنتوس، ماسرانس، پانتوئنیکوس
سیر	۴	لیشنی فورمیس، کواگولانس، استئاروترموفیلوس I سرئوس	۳	ماکوئیدس، پانتوئنیکوس، ماسرانس
نعمان	۵	بادیوس، استئاروترموفیلوس I لنتوس، سرئوس، پانتوئنیکوس تورینجینزیس، ماکوئیدس، اسفاریکوس	۸	سرئوس، ماسرانس، بادیوس، استئاروترموفیلوس I
گلپر	۱۱	استئاروترموفیلوس I سیرکولانس، سرئوس، پانتوئنیکوس، کواگولانس، بادیوس، ماسرانس، فورمیس، لنتوس، استئاروترموفیلوس III ماکوئیدس	۵	آلوئی، ماسرانس، بادیوس، اسفاریکوس، پانتوئنیکوس
اویشن	۷	MASرانس، اسفاریکوس، کواگولانس، بادیوس، تورینجینزیس، استئاروترموفیلوس III استئاروترموفیلوس I	۳	سرئوس، کواگولانس، بادیوس
موسیر	۶	سرئوس، اسفاریکوس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، پانتوئنیکوس، لنتوس، سیرکولانس پانتوئنیکوس، لنتوس، سیرکولانس	۵	سرئوس، اسفاریکوس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، اسفاریکوس
سماق	۸	بادیوس، اسفاریکوس، اسفاریکوس، ماسرانس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، سیرکولانس استئاروترموفیلوس نوع ۳، سوبتیلیس، پانتوئنیکوس، سرئوس، تورینجینزیس، اسفاریکوس	۱۰	سرئوس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، سیرکولانس، لنتوس، استئاروترموفیلوس نوع ۳، کواگولانس، ماسرانس، بادیوس، سوبتیلیس
زنجبیل	۱۰	سرئوس، پانتوئنیکوس، فورمیس، سوبتیلیس، سیرکولانس، استئاروترموفیلوس	۵	سرئوس، پانتوئنیکوس، پانتوئنیکوس، لنتوس، سیرکولانس

نوع ۱، مایکوئیدس	لاتروسپوروس، کواگولانس، تورینجینزیس، پومیلوس، اسفاریکوس، استئاروترموفیلوس نوع ۱	
۷	سرئوس، کواگولانس، برویس، لنتوس، پومیلوس، اسفاریکوس، پانتوتنتیکوس، ماسرانس، سرئوس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، برویس، سوبتیلیس	فلفل سیاه ۱۰
۶	سرئوس، لنتوس، ماسرانس، پانتوتنتیکوس، سوبتیلیس، بادیوس	فلفل پرک ۴
۹	پانتوتنتیکوس، سرئوس، کواگولانس، مگاتریوم، فورمیس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، سیرکولانس، لیشنی فورمیس، مگاتریوم، استئاروترموفیلوس نوع ۳، برویس، سیرکولانس، لنتوس، سیرکولانس، استئاروترموفیلوس نوع ۳	شوبید ۵
۹	پانتوتنتیکوس، ماسرانس، مگاتریوم، لنتوس، استئاروترموفیلوس نوع ۳، فورمیس، کواگولانس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، سرئوس	هل ۳
۴	پانتوتنتیکوس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، سیرکولانس، لنتوس، بادیوس	برگ بو ۵
۷	کواگولانس، اسفاریکوس، سیرکولانس، لنتوس، بادیوس، سوبتیلیس، فورمیس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، پومیلوس، سوبتیلیس، استئاروترموفیلوس نوع ۲، برویس، سیرکولانس	فلفل سفید ۸
۶	کواگولانس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، ماسرانس، کواگولانس، فورمیس، اسفاریکوس، سیرکولانس، لنتوس، بادیوس	جوز هندی ۶
۷	کواگولانس، لیشنی فورمیس، بادیوس، پانتوتنتیکوس، سرئوس، فورمیس، سیرکولانس، بادیوس، پومیلوس، برویس، سرئوس، مگاتریوم، پانتوتنتیکوس	گل سرخ ۲
۳	سرئوس، کواگولانس، پانتوتنتیکوس، لنتوس، لیشنی فورمیس، پانتوتنتیکوس	گشنیز ۵
۸	بادیوس، پانتوتنتیکوس، اسفاریکوس، سیرکولانس، مگاتریوم، مایکوئیدس، لیشنی فورمیس، فورمیس، آمیلولیکوئیفاسینس، ماسرانس، لنتوس	رازیانه ۸
۸	استئاروترموفیلوس نوع ۱، کواگولانس، استئاروترموفیلوس نوع ۳، سرئوس، لاتروسپوروس، ماسرانس، سرئوس، فورمیس، سیرکولانس	زیره ۵
۲	آلئی، ماسرانس، اسفاریکوس، کواگولانس، استئاروترموفیلوس نوع ۱، کواگولانس، استئاروترموفیلوس نوع ۳، اسفاریکوس، پانتوتنتیکوس، سوبتیلیس	میخک ۸

ادویه و سبزی معطر بررسی شده، میانگین کل جمعیت

اسپورداران هوایی مزو菲尔 و ترموفيل به ترتیب $\log \text{cfu/g}$ ۵/۴۲ و ۵/۷۷ بود. در بین ادویه‌های مختلف، بار میکروبی اسپورداران هوایی مزو菲尔 و ترموفيل به ترتیب در

در این پژوهش کیفیت میکروبی و تنوع گونه‌ای باکتری‌های اسپوردار هوایی در ادویه‌ها و سبزیجات معطر عرضه شده در شهر تبریز مورد بررسی قرار گرفت. از مجموع ۲۵ نمونه

همچنین در مطالعه صداقت و همکاران (۱۳۹۳)، بیشترین بار میکروبی $\log/g \times 10^7$ تا $2/5 \times 10^8$ cfu/g را در فلفل سیاه، سفید، قرمز، ادویه مخلوط، زنجبیل، پودرسیر و زردچوبه به دست آورده که نوع ادویه و میزان آلودگی بسیار بیشتر از مطالعه حاضر بود. در مطالعات خارج از ایران نیز میزان بالایی از آلودگی در ادویه‌ها گزارش شده است؛ به طوری که در یک بررسی در هند شمارش باکتری‌های مزو菲尔ی هوازی در نصف (۵۱ درصد) ادویه‌ها با دستورالعمل استاندارد بین‌المللی مطابقت داشتند و در بین نمونه‌ها، بیشترین بار میکروبی مربوط به فلفل و کمترین آن مربوط به پودر سیر بود (Banerjee and Sarkar, 2003).

باسیلهای مزو菲尔ی به عنوان آلوده‌کننده بالقوه در مواد غذایی بهویژه سبزیجات خشک شده و ادویه‌ها هستند. بررسی‌های انجام شده روی نمونه‌ها نشان داد فلور میکروبی غالب در انواع ادویه، باکتری‌های اسپوردار هوازی مزو菲尔ی مشکل از گونه‌های مختلف می‌باشند. اما با توجه به بیماری‌زا بودن گونه سرئوس، بسیاری از مطالعات با تأکید بیشتری بر این گونه انجام شده اند (Witkowska et al., 2011). چنان‌چه در تحقیقی بر روی جمعیت میکروبی باسیلوس در ادویه‌های عرضه شده در نیجریه، غالباً گونه‌های سرئوس و سوتیلیس جداسازی شدن. باسیلوس سرئوس در ۶۰ درصد از نمونه‌های مورد بررسی و به خصوص در فلفل قرمز و آویشن مشاهده شد. دیگر گونه‌ها شامل سوتیلیس، پلی‌میکسا و Antai، کوگولانس در مقادیر قابل توجهی مشاهده شدند (Antai, 1988). در مقابل در مطالعه دیگری در هند گونه سرئوس در اقلیت قرار داشت و فقط در ۷ نمونه از ادویه یافت شد (Banerjee and Sarkar, 2003). در پژوهش حاضر ۲۱ گونه باکتری باسیلوس مزو菲尔ی و ۲۰ گونه باکتری باسیلوس ترموفیل از ادویه‌های مورد بررسی جداسازی شد. از بین ادویه‌های مورد مطالعه، گلپر با ۱۱ گونه باسیلوس مزو菲尔ی،

زردچوبه و فلفل سیاه بیشترین میزان را داشت. براساس استاندارد بین‌المللی^۲، میزان کمتر از $\log \text{cfu/g} \times 10^4$ حد قابل قبول و مطلوب به حساب می‌آید، در حالی که میزان $\log \text{cfu/g} \times 10^6$ حد متوسط را از نظر آلودگی به باکتری‌های هوازی است (Banerjee and Sarkar, 2003).

ادویه‌های مورد مطالعه، ادویه کاری، فلفل قرمز، زردچوبه، فلفل سیاه و زیره دارای باسیلوس‌های مزو菲尔ی بیش از حد استاندارد بودند. همچنین از نظر انواع ترموفیل، ادویه‌های کاری، فلفل قرمز، لیمو عمانی، زردچوبه، پودر سیر، زنجبیل، فلفل سیاه، فلفل پرک شده و برگ بو دارای بار میکروبی بیش از حد استاندارد برآورد شدند. در بررسی‌های دیگر انجام یافته در قسمت‌های مختلف ایران، کم و بیش نتایج مشابهی به دست آمده است. چنان‌چه در تحقیق توسط شعبانی و زجاجی (۱۳۹۰)، از مجموع ۹۰ نمونه تهیه شده از مراکز عرضه مواد غذایی تهران، بیشترین شمارش باکتری‌های هوازی به ترتیب مربوط به زردچوبه، پودر سیر، دارچین، فلفل سفید، فلفل قرمز و جوز هندی بود. همچنین شهراز و همکاران (۱۳۸۷) در مطالعه‌ای آلودگی میکروبی ادویه‌های بسته‌بندی شده در فروشگاه‌های زنجیره‌ای شهرورند تهران را در سال ۱۳۸۶ بررسی نمودند. نتایج نشان داد میانگین شمارش باکتری‌های مزو菲尔ی هوازی در مورد زردچوبه $1/92 \times 10^7$ و دارچین 7×10^6 cfu/g دارچین نسبت به بود. در مطالعه اخیر نیز آلودگی زردچوبه و دارچین نسبت به سایر ادویه‌ها در سطح بالاتری گزارش شد. هر چند در بررسی‌های دیگر نتایج متفاوتی به دست آمده است؛ به طوری که زارع و قطبی کهنه (۱۳۷۵) بیشترین آلودگی در میان ادویه‌جات بررسی شده را در انواع فلفل گزارش کردند.

² International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF)

از جمله تیمارهای حرارتی، گازهای استریل کننده و ازن برای از بین بردن یا کاهش باکتری‌های اسپوردار در ادویه و سبزیجات معطر بهره برد.

منابع

۱. زارع، زینب؛ قطبی کهن، خدیجه (۱۳۷۵). پرتو فراوری انواع ادویه در ایران. مجموعه مقالات نهمین کنگره ملی صنایع غذایی، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. انجمن متخصصین علوم و صنایع غذایی ایران. صفحات ۵۲۵-۵۳۴
۲. شعبانی، شاهرخ؛ زجاجی، مهدی (۱۳۹۰). بررسی میزان آلودگی ادویه‌های مصرفی در تولید مواد غذایی به اسپورهای مقاوم به حرارت. مجله علوم غذایی و تغذیه، سال هشتم، شماره ۴، صفحه ۸۳-۸۹
۳. شهرآز، فرزانه؛ کامران، منیژه؛ خاکسار، رامین؛ حسینی، هدایت؛ کارگر، ساره؛ انتشاری، مریم (۱۳۸۷). بررسی آلودگی میکروبی ادویه‌های بسته‌بندی عرضه شده در فروشگاه‌های زنجیره‌ای شهریوند شهر تهران در سال ۸۶. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، شماره ۲، دوره ۶، صفحه ۱۲-۱۳۱
۴. صداقت، زینب؛ محسنی، مهران؛ کمالی، کوروش؛ حسن، مریم؛ شعبانی، شاهرخ؛ فردوسی، نیکتا (۱۳۹۳). بررسی میزان آلودگی ادویه‌های عرضه شده به صورت فله و بسته‌بندی (فلفل سیاه، فلفل قرمز، سماق و دارچین) به اسپورهای هوایی در استان زنجان. مجله علوم غذایی و تغذیه، شماره ۲، سال ۱۲، صفحه ۴۸-۴۱
۵. مرتضوی، علی؛ کاشانی‌نژاد، مهدی؛ ضیاء الحق وزیری، حمیدرضا (۱۳۸۴). میکروبیولوژی مواد غذایی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، چاپ چهارم، صفحه ۳۴-۷۰
6. Antai, S. 1988. Study of the *Bacillus* flora of Nigerian spices. Int J Food Microbiol. 6: 259-261.
7. Aksu, H., Bostan, K. and Ergun, O. (2000). Presence of *Bacillus cereus* in packaged some spices and herbs soled in Istanbul. Pak J Biol Sci. 5: 710-712.
8. Banerjee, M., Sarkar, P. 2003. Microbiological quality of some retail spices in India. Food Res Int. 36, 469-474.

بیشترین تنوع را دارا بود و بعد از آن زنجیبل و فلفل سیاه (۱۰ گونه) قرار داشتند. گونه سرئوس جز نمونه میخک و برگ بو در تمامی نمونه‌های ادویه‌ها و سبزیجات معطر یافت شد. اختلاف در نتایج مطالعات مختلف ممکن است ناشی از تنوع جغرافیایی کشور تولیدکننده ادویه و میزان رعایت استانداردهای بهداشتی در کشورهای مبدأ باشد. پس از واردات، روش‌های مرتبط با عملیات آماده‌سازی و فرآوری ادویه‌جات نظیر هواده‌ی، جداسازی، الکردن، شستشو و استریل کردن ادویه و همچنین شیوه‌های نگهداری آن‌ها در کشورهای مقصد از عوامل مهمی هستند که در بار میکروبی تأثیرگذار می‌باشند (شعبانی و زجاجی، ۱۳۹۰؛ شهرآز و همکاران، ۱۳۸۷). شایان ذکر است وجود ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی با طیف میکروب‌کشی متفاوت عامل دیگری است که بر بار میکروبی ادویه‌ها و گیاهان معطر تأثیر دارد. بار میکروبی پایین شوید و گشنبیز در مطالعه حاضر و مطالعات دیگر (McKee, 1995) ممکن است متأثر از چندین عامل فوق باشد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان‌دهنده آلودگی میکروبی بیش از حد استاندارد بین‌المللی در بسیاری از نمونه‌های ادویه بود. از آنجایی که ادویه‌ها عموماً در مراحل انتهایی تهییه و آماده‌سازی مواد غذایی به آن‌ها اضافه می‌شوند، لذا به نوعی تحت هیچ تیمار کشنده‌ای قرار نگرفته و با قرار گرفتن در محیط مغذی، به سرعت تکثیر پیدا می‌کنند. وجود گونه سرئوس در غالب نمونه‌ها مخاطره مضاعف به حساب می‌آید. با توجه به سرماگرا بودن برخی سویه‌های باسیلوس سرئوس، احتمال رشد و تکثیر آن‌ها در خلال مدت نگهداری در یخچال و تولید توکسین وجود دارد. فراوانی بالای گونه‌های کواگولانس، ماسرانس، پومیلوس و آمیلولیکوئیفاسینس می‌توانند موجب فساد و بادکردگی در برخی از مواد غذایی شوند. با توجه به موارد فوق، لازم است از تدبیر کنترلی لازم

- spices and herbs including the presence of *Cronobacter* spp. *Food Microbiol.* 49: 1–5.
15. Louka, E., Zouki, J., Dabboussi, F. (2013). Assessment of the microbiological quality and safety of common spices and herbs sold in Lebanon. *J Food Nut Dis.* 2: 2–4.
 16. McKee, L. 1995. Microbial contamination of spices and herbs: a review. *LWT.* 28: 1–11.
 17. Mohammad, N., and Akhter, M. 2001. *Microbiological Examination of Foods.* American Public Health Association, pp. 210–217, 225–230, 241–246.
 18. SADC Trade, (2009) Trade Information Brief: Spices. <http://sadctrade.org>
 19. Witkowska, A., Hickey, D., Gomez, M., and Wilkinson, M. 2011. The microbiological quality of commercial herb and spice preparations used in the formulation of a chicken supreme ready meal and microbial survival following a simulated industrial heating process. *Food Contr.* 22, 616–625.
 9. Barrow, G., Feltham, R. 2003. *Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria,* Cambridge University Press, p. 88.
 10. Beki, I., Ulukanli, Z. (2008). Enumeration of microorganisms and detection of some pathogens in commonly used spices sold openly from retail stores in Kars, *Gazi Uni J Sci.* 21: 79–85.
 11. Carlin, F. (2011). Origin of bacterial spores contaminating foods. *Food Microbiol.* 28: 177–182.
 12. Doren, V., Jare, M., Neil, K., Parish, M., Gieraltowski, L., Gould, L., Gombas, K. (2013). Foodborne illness outbreaks from microbial contaminants in spices, 1973–2010, *Food Microbiol.* 36: 456–464.
 13. FAO. (2005). Herbs, spices and essential oils. <http://fao.org>.
 14. Garbowska, M., Pluta, A., Rozanska, L. (2015). Microbiological quality of selected

Occurrence, quantity and diversity of aerobic spore-forming bacteria in spices and herbs of Tabriz retails

Lesanifar N¹, Hanifian S^{2*}

1. M.Sc Graduate of Food Science and Technology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Department of Food Science and Technology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

*Corresponding author: hanifian.s@gmail.com

Received: 5 August 2017

Accepted: 5 November 2017

Abstract

The aims of the present work were to evaluate the contamination rate, quantity and diversity of aerobic spore-forming bacteria in spices and herbs marketed in Tabriz. To this end, randomly 5 specimens from 25 different spices and aromatic herbs (totally 125 samples) were obtained from the groceries and shopping centers in different parts of Tabriz. The samples were analyzed using standard plate count and conventional biochemical assays. Results showed that the highest levels of mesophilic spore-forming bacteria were observed in Turmeric spice with an average of 7.02 ± 0.60 log cfu/g and the lowest amount of these bacteria in Coriander spice with average of 4.15 ± 0.56 log cfu/g was observed. From studied spices, sure with average of 4.73 ± 0.86 log cfu/g and the black pepper with average of 7.20 ± 0.81 log cfu/g had lowest and highest thermophilic spore-forming bacteria, respectively. The highest frequency of mesophilic bacteria was related to *Bacillus coagulans*. The most thermophilic *Bacillus* species in studied spices were *B. macerans* (16.99 %), *pantotenticus* (15.53%) and *cereus* (14.7 percent). *Bacillus* species diversity in studied spices showed that marjoram spice had the greatest number of mesophilic *Bacillus* species (11 species) and Sumac spice had the highest species of thermophilic *Bacillus* (10 species) had the. Generally, results showed that most of the spices in Tabriz region had a high microbial load of aerobic spore-forming bacteria; and can be a source of contamination and spoilage in foods that used in their combination.

Keywords: Aerobic spore-forming bacteria, Spices and herbs, Tabriz