Journal of Food Hygiene, Vol. 10, No. 39, Autumn 2020

"Research article" **DOI: 10.30495/JFH.2020.1901127.1276**

Assessment of microbial contamination in packed fresh vegetable to ready for use, in Mashhad

Ghodusi, R.[1], Azhdari, A.[2*]

1. MSc Graduate of Food Science and Technology, Birjand Branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran
2. Assistance Professor, Department of Food Science and Technology, Birjand Branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran

[*]Corresponding Author: ataazhdari@yahoo.com

(Received: 2020/6/12 Accepted: 2020/11/28)

Abstract

Vegetables are one of the main categories of the food pyramid and their consumption plays a vital role in the health promotion of the community. On the other hand, the incidence of microbial diseases caused by the consumption of contaminated vegetables has been increasing. The aim of this study was to determine the microbial contamination of different kinds of ready for use packaged vegetables in Mashhad, Iran. For this, a total of 200 vegetable samples were randomly collected from different regions of Mashhad. samples were examined with the standard methods in terms of the aerobic mesophilic bacteria, coliforms, *Escherichia coli*, mold, and parasitic eggs. Results showed that in 19%, 14%, 8%, 13%, and 3.5% of the samples, the contamination rate of aerobic mesophilic bacteria, coliform, *Escherichia coli*, mold, and the parasitic eggs was higher than Iranian National Standard limits, respectively. In addition, a total of 31% of the samples were unusable due to excessive microbial contamination. Therefore, producers and consumers should be given the necessary training to use hygienic rules and stricter preventive measuring is also recommended.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Vegetable, Microbial Contamination, *Escherichia coli*, Parasitic eggs, Mashhad

«مقاله پژوهشی» DOI: 10.30495/JFH.2020.1901127.1276

بررسی آلودگی میکروبی در سبزی‌های بسته‌بندی‌شده آماده مصرف مشهد

رضیه قدوسی[۱]، عطاله اژدری[۲*]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران

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

*نویسنده مسئول مکاتبات:ataazhdari@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۹/۱/٦ پذیرش نهایی: ۹۹/۹/٦)

چکیده

سبزیجات از گروه‌های اصلی هرم غذایی محسوب شده و مصرف آن‌ها نقش اساسی در ارتقاء سطح سلامت افراد جامعه دارد. از طرفی امروزه ابتلا به بیماری‌های میکروبی ناشی از مصرف انواع سبزی آلوده روند افزایشی پیدا کرده است. این مطالعه باهدف تعیین میزان آلودگی میکروبی سبزی‌های بسته‌بندی‌شده آماده مصرف در شهر مشهد انجام گرفت. در این پژوهش در مجموع تعداد۲۰۰ نمونه سبزی‌خوردن از مناطق مختلف شهر مشهد به‌صورت کاملاً تصادفی جمع‌آوری و هر یک از نمونه‌ها بر اساس روش‌های مرجع و استاندارد ازلحاظ شمارش مزوفیل‌های هوازی، میزان آلودگی به کلی‌فرم‌ها، *اشریشیاکولای*، کپک و همچنین تخم انگل مورد آزمون قرار گرفتند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد میزان آلودگی به مزوفیل‌های هوازی، کلی‌فرم‌ها، *اشریشیاکولای*، کپک و تخم انگل به ترتیب در ۱۹، ۱٤، ۸، ۱۳ و ۳/۵ درصد نمونه‌ها بالاتر از حد مجاز بود. در مجموع ۳۱ درصد نمونه‌های مورد آزمون به دلیل آلودگی میکروبی بیش‌ازحد غیرقابل‌مصرف گزارش شدند. در این زمینه ارائه آموزش‌های لازم به تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان سبزیجات جهت رعایت قوانین بهداشتی ضروری است، ضمن آن‌که اعمال نظارت‌های پیشگیرانه دقیق‌تر از جانب سازمان‌ها و ارگان‌های ذی‌ربط نیز توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آلودگی میکروبی، *اشریشیاکولای*، تخم انگل، سبزی‌خوردن، مشهد

مقدمه

بیماری‌های منتقله از غذا، طیف وسیعی از بیماری‌هایی هستند که پس از خوردن غذاهای آلوده بروز می‌کنند. این بیماری‌ها هزینه هنگفتی برای جوامع بشری به بار می‌آورند، ضمن آن‌که بسیاری از پاتوژن‌های غذایی می‌توانند عوارض مزمن ایجاد کنند (Hanson *et al.*, 2012). سبزی‌خوردن بسته‌بندی‌شده آماده مصرف عبارت است از فرآورده‌ای شامل انواع سبزیجات مانند جعفری، پیازچه، ریحان، نعناع تازه، تره، شنبلیله، ترخان و مرزه که پس از پاک کردن، شستشو، ضدعفونی و آبگیری، بسته‌بندی و آماده مصرف می‌شود (ISIRI, 10082/2008). سبزیجات حاوی انواع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ویتامین‌ها و مواد معدنی ضروری برای بدن انسان بوده و از ارزش تغذیه‌ای بالایی برخوردارند. خواص ضد سرطانی سبزیجات و تأثیر آن‌ها در کاهش ابتلا به برخی بیماری‌ها نظیر بیماری‌های قلبی و عروقی به اثبات رسیده است لذا استفاده از این گروه مواد غذایی باارزش در رژیم غذایی روزانه افراد در گروه‌های سنی مختلف ضروری است (Atoui *et al.*,2005). بر همین اساس سازمان جهانی بهداشت مصرف حدود۴۰۰ گرم انواع سبزی در روز را جهت حفظ سلامتی انسان مفید می‌داند (Abdi *et al*, 2015).

در دهه‌های اخیر با توجه به مشکل کمبود منابع آب شیرین و بالا بودن هزینه‌های تصفیه فاضلاب، مواردی از آبیاری زمین‌های تحت کشت سبزیجات با استفاده از فاضلاب خام و پساب‌های آلوده گزارش‌شده و از کودهای انسانی و حیوانی جهت تقویت رشد این‌گونه محصولات استفاده می‌شود. سبزیجات حاصل از این زمین‌ها از منابع مهم مواجهه با پاتوژن‌های مهم انسانی از قبیل باکتری‌های کلی‌فرم مدفوعی به شمار می‌آیند (Doyle, 1990). ازاین‌رو سالانه موارد متعددی از آلودگی به پاتوژن‌هایی *نظیر اشریشیاکولای، سالمونلا، لیستریا مونوسیتوژنز، شیگلا*، ویروس *هپاتیت آ* و نظایر آن به‌واسطه مصرف سبزیجات تازه آلوده گزارش می‌شود (De Roever, 1998). در ایران شیوع بعضی بیماری‌های واگیردار نظیر وبا در اثر مصرف سبزیجات آلوده گزارش‌شده است (Rahbar *et al*., 2007).

سبزیجات به‌دلیل داشتن فعالیت آبی بالا و مواد مغذی کافی، محیط مناسبی برای رشد انواع باکتری‌ها به‌شمار می‌روند (Song *et al.*, 2006). شمارش کلی میکروارگانیسم‌های مزوفیل، یکی از شاخص‌های میکروبی ارزیابی کیفیت انواع مواد غذایی محسوب شده و منعکس‌کننده وضعیت قرارگرفتن محصول موردنظر در معرض هرگونه آلودگی است. این پارامتر جهت ارزیابی مراحل مختلف تمیز کردن، ضدعفونی، بسته‌بندی و کنترل دما در هر یک از مراحل تولید و انبارمانی به کار می‌رود (Aycicek *et al*., 2006). کلی‌فرم‌ها بخشی از خانواده انتروباکتریاسه هستند که محل زندگی آن‌ها در روده انسان و حیوانات و یا مکان‌هایی غیر از دستگاه گوارش نظیر خاک و آب می‌باشد. این باکتری‌ها، نسبت به مهارکننده‌هایی نظیر کریستال‌ویوله، املاح صفراوی و سبز درخشان مقاومند و در دمای ۳۷-۳۲ درجه سلسیوس طی مدت‌زمان۲٤ الی ٤٨ ساعت قادر به تخمیر قند لاکتوز بوده و اسید و گاز تولید می‌کنند (ISIRI, 9263/2007). *اشریشیاکولای* منشأ مدفوعی داشته و ازآن‌جهت که در محتویات روده انسان و حیوانات یافت می‌شود وجودش در انواع مواد غذایی ازجمله سبزیجات بسته‌بندی‌شده نامطلوب بوده

و می‌تواند دلیلی بر آلودگی آن فرآورده با مدفوع انسان یا حیوان باشد (Karim, 2015).

علاوه بر باکتری‌ها، کپک‌ها نیز نقش مهمی در کاهش کیفیت مواد غذایی داشته و باعث کاهش مدت‌زمان نگهداری انواع مواد غذایی ازجمله سبزیجات می‌شوند. آلودگی سبزیجات به کپک‌ها علاوه بر احتمال ایجاد عوارض بهداشتی و کاهش کیفیت محصول، ازنظر ایجاد ضرر و زیان اقتصادی نیز بسیار بااهمیت است. حد مجاز آلودگی به کپک در سبزی‌خوردن بسته‌بندی‌شده ۳ log cfu/g می‌باشد (ISIRI, 10082/2008). در این رابطه محققین طی پژوهشی میانگین جمعیت کپک و مخمر را در نمونه‌های سبزی شسته نشده ٤/٢log cfu/g و در سبزی‌های شسته‌شده و ضدعفونی شده log ٢/٧cfu/g گزارش کردند (Bahreini *et al.*, 2011).

بیماری‌های انگلی از مشکلات مهم بهداشتی محسوب شده و مبارزه با آن‌ها همواره بخش مهمی از برنامه‌ریزی‌های ملی را به خود اختصاص داده است. آلودگی‌های انگلی از طریق خاک، آب و انواع مواد غذایی آلوده ازجمله سبزی به انسان سرایت می‌کنند و عوارضی از قبیل اختلالات گوارشی، سوءتغذیه، کم‌خونی و آلرژی ایجاد کرده و حتی گاهی زندگی بیمار را تهدید می‌نمایند (Shahnazi, 2009).

استفاده از انواع گندزداها و مواد ضدعفونی‌کننده مناسب ازجمله راه‌های پیشگیری از ابتلا به بیماری‌های منتقله از سبزیجات آلوده به‌شمار می‌رود. در کشور ما در سال‌های اخیر تلاش‌های فراوانی در جهت سالم‌سازی سبزیجات صورت پذیرفته است که از آن جمله می‌توان به استفاده از فناوری‌های جدید فراوری، باکتری‌زدایی و انگل‌زدایی سبزیجات در کارگاه‌ها و بسته‌بندی آن‌ها به‌صورت آماده برای مصرف اشاره کرد (Estiri *et al.*, 2010).

با عنایت به این‌که تاکنون بررسی‌های کاربردی و عملی در مورد وضعیت آلودگی میکروبی انواع سبزی‌خوردن بسته‌بندی‌شده و آماده مصرف در شهر مشهد انجام‌نشده است، این تحقیق باهدف تعیین وضعیت این فرآورده ازلحاظ میزان آلودگی به باکتری‌های مزوفیل هوازی، کلی‌فرم‌ها، *اشریشیاکولای*، کپک و تخم انگل انجام گردید.

مواد و روش‌ها

- روش نمونه‌گیری

در مجموع تعداد ۲۰۰ نمونه سبزی‌خوردن بسته‌بندی‌شده و آماده مصرف از مناطق مختلف شهر مشهد نمونه‌گیری شد. حجم هر نمونه معادل یک بسته از سبزی‌خوردن بسته‌بندی‌شده در نظر گرفته شد. نمونه‌ها در کوتاه‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه میکروبیولوژی منتقل و در اسرع وقت بر اساس روش‌های مرجع و استاندارد آزمون‌های لازم در مورد آن‌ها صورت پذیرفت (ISIRI, 622/1993).

- شمارش مزوفیل‌های هوازی

قبل از انجام کشت‌های میکروبی، از هر یک از نمونه‌های سبزی که قبلاً کدگذاری و همگن‌شده بود، با استفاده از رقیق‌کننده آب‌پپتونه بافری رقت‌های سریالی تهیه شد (ISIRI, 8923-4/2019). برای شمارش کلی میکروارگانیسم‌های مزوفیل از دو رقت متوالی تهیه‌شده از هر نمونه به‌روش کشت مخلوط در محیط کشت پلیت کانت آگار (Merck, Germany) کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت٧٢-٤٨ ساعت در دمای ٣٠ درجه

سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. نهایتاً تعداد کلنی‌ها در هر پلیت شمارش و تعداد مزوفیل‌های هوازی در هر گرم از نمونه محاسبه شد (ISIRI, 5272/2007).

- شمارش کلی‌فرم‌ها و ردیابی *اشریشیاکولای*

جهت شمارش کلی‌فرم‌ها از هر یک از رقت‌های تهیه‌شده در محیط ویولت رد بایل لاکتوز آگار (Merck, Germany) کشت مخلوط به‌صورت دولایه انجام گرفت و پلیت‌ها به‌مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. پس‌ازاین مدت در محیط کشت مذکور کلنی‌هایی که به رنگ قرمز مایل به بنفش بودند به‌عنوان باکتری‌های کلی‌فرم احتمالی شمارش شدند (ISIRI, 9263/2007). کلنی‌های مشکوک به کلی‌فرم به لوله‌های آزمایش حاوی لوله دورهام و محیط کشت بریلیانت‌گرین بایل لاکتوز براث (Merck, Germany) منتقل و به مدت۲۴ ساعت در دمای۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. هر یک از لوله‌های آزمایش حاوی حباب گاز به‌عنوان کلی‌فرم تأییدشده و تعداد آن‌ها در هر گرم از نمونه محاسبه گردید. در این رابطه از پلیت‌هایی که تعداد کلنی‌های مشکوک به کلی‌فرم آن‌ها بیش از۱۰ عدد بود، تعداد ۵ کلنی از قسمت‌های مختلف پلیت انتخاب و تأیید شد (ISIRI, 9263/2007).

اکتری *اشریشیا کولای*، کلی‌فرم مدفوعی بوده و در دمای ۴۵-۴۴ درجه سلسیوس نیز قند لاکتوز را تخمیر کرده و گاز تولید می‌کند. در همین دما قادر است اسیدآمینه تریپتوفان را تجزیه کرده و اندول تولید نماید (Karim *et al.*, 2009)؛ بنابراین جهت شناسایی *اشریشیا کولای* حدود ۱ میلی‌لیتر از محیط کشت بریلیانت گرین بایل لاکتوز براث گازدار حاصل از مرحله قبل با کمک پی‌پت در شرایط استریل مجدداً به لوله‌های آزمایش حاوی لوله دورهام و محیط کشت بریلیانت گرین بایل لاکتوز براث و همچنین به محیط کشت پپتون واتر (Merck, Germany) منتقل و این‌بار به مدت۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۴۴ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید. در این مرحله در صورت تجمع گاز در لوله دورهام باکتری موردنظر به‌عنوان کلی‌فرم مدفوعی در نظر گرفته می‌شد. در مورد جدایه‌های کلی‌فرم مدفوعی که اندول مثبت بودند جهت تائید، آزمون‌های IMVIC و همچنین کشت در محیط‌های کشت ائوزین متیلن بلو (Merck, Germany) و سه قندی آهن‌دار (Merck, Germany) نیز صورت گرفت (Karim, 2015).

- شمارش جمعیت کپک

برای تعیین میزان آلودگی به کپک از رقت‌های تهیه‌شده در محیط کشت عصاره مخمر دکستروز کلرامفنیکل آگار (Merck, Germany) به روش کشت سطحی کشت داده شد و پلیت‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۵-۳ روز گرمخانه‌گذاری گردیدند. درصورتی‌که در روز پنجم گرمخانه‌گذاری قسمت‌هایی از پلیت با رشد بیش‌ازحد کپک پوشانده شده و شمارش کلنی‌های مجزا با مشکل مواجه می‌شد کلنی‌های شمارش‌شده در روزهای سوم و چهارم معیار محاسبه میزان آلودگی به کپک در هر گرم از نمونه‌های سبزی قرار می‌گرفت (ISIRI,10899-1/2008).

- بررسی میزان آلودگی با تخم انگل

جهت بررسی میزان آلودگی به تخم انگل، نمونه‌های سبزی به‌مدت۳۰ دقیقه در یک سطل حاوی۵ لیتر آب و۱۰ گرم دترجنت آنیونی ریخته شد تا چسبندگی لاروها و تخم‌های انگلی به سبزی‌ها برطرف و وارد آب شوند.

سطل حدود ٢٤ ساعت به‌حالت سکون نگه‌داشته شد تا اجزای انگلی ته‌نشین شوند. مایع رویی خارج‌شده و رسوب ته سطل در ظروف کوچک یک لیتری جمع‌آوری گردید. مایع روی رسوب تخلیه و رسوب‌های هر نمونه در چند لوله سانتریفیوژ تقسیم و به‌مدت ۲ دقیقه با سرعت۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. از رسوب حاصله با استفاده از سرم فیزیولوژی و لوگل، لام میکروسکوپی تهیه و ازلحاظ وجود تخم انگل مورد ارزیابی قرار گرفت (Bier, 1991).

- تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل از هر یک از آزمون‌های میکروبی با حد مجاز استاندارد ایران در زمینه آلودگی میکروبی سبزی‌خوردن بسته‌بندی‌شده (ISIRI, 10082/2008) مقایسه و مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. بدین منظور از نرم‌افزارSPSS-19 و آزمون آماری t-test استفاده‌شده و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

این مطالعه توصیفی تحلیلی بر روی تعداد۲۰۰ نمونه سبزی‌خوردن بسته‌بندی‌شده انجام شد. در جدول (۱) میانگین آلودگی نمونه‌های سبزی موردمطالعه به باکتری‌های مزوفیل هوازی، کلی‌فرم‌ها و کپک با حد مجاز استاندارد ملی ایران مقایسه شده است (ISIRI, 10082/2008). بر این اساس میانگین مزوفیل‌های هوازی معادل log cfu/g ۵/۰۵، میانگین کلی‌فرم‌ها log cfu/g ۱/۰۹۸ و میانگین میزان آلودگی به کپک log cfu/g ۲/۲٤٤ تعیین گردید. میانگین شمارش مزوفیل‌های هوازی و نیز میانگین آلودگی به کلی‌فرم‌ها در هر گرم از مجموع نمونه‌های سبزی موردمطالعه به‌طور معنی‌داری کمتر از استاندارد ملی بود (P< ۰/۰۱) ولی میانگین تعداد کپک در هر گرم از مجموع نمونه‌های سبزی موردمطالعه با استاندارد ملی ایران تفاوت آماری معنی‌داری نداشت.

جدول (۱): مقایسه میانگین مزوفیل‌های هوازی، کلی‌فرم‌ها و کپک با حد مجاز استاندارد ملی(log cfu/g) در نمونه‌های سبزی موردمطالعه

گروه میکروبی	دامنه تغییرات	انحراف معیار± میانگین	حد مجاز استاندارد	p-value
مزوفیل‌های هوازی	۲/٦۹ -۷/۲۵	۵/۰۵ ± ۰/۹۸	٦	t= ۱۳/۷۵ p<۰/۰۰۱*
باکتری‌های کلی‌فرم	۰ -۳/٤	۱/۰۹۸ ± ۰/۸۷	۲	t= ۱٤/۷ P< ۰/۰۰۱*
کپک	۹٤-۰	۲/۲٤ ± ٦/۵۸	۳	t= ۱۳/۷۵ P= ۰/۱۱

در جدول (۲) توزیع فراوانی وضعیت آلودگی به هر یک از میکروب‌های مورد مطالعه در نمونه‌های سبزی بسته‌بندی‌شده ذکر شده است. سبزی‌خوردن بسته‌بندی‌شده نباید به باکتری *اشریشیا کولای* و نیز تخم انگل آلوده باشد ضمن آن‌که حد مجاز آلودگی به مزوفیل‌های هوازی، کلی‌فرم‌ها و کپک نیز به‌ترتیب log cfu/g ٦، ۲ و ۳ تعیین گردید (ISIRI,10082/2008). نتایج این پژوهش نشان داد که به ترتیب ۸ و ۳/۵ درصد از نمونه‌های سبزی مورد مطالعه به *اشریشیا کولای* و تخم انگل آلوده بودند. ضمن آن‌که بر اساس میزان

آلودگی بـه مزوفیل‌های هوازی، کلی‌فرم‌ها و کپک نیز به ترتیب ۱۹، ۱٤ و۱۳ درصـــد از نمونه‌های مورد مطالعه غیرقابل مصرف بودند.

جدول (۲)- توزیع فراوانی وضعیت آلودگی به هر یک از میکروب‌های موردمطالعه در نمونه‌های سبزی بسته‌بندی‌شده

نام متغیر	قابل‌استفاده (درصد) فراوانی	غیر قابل‌استفاده (درصد) فراوانی
اشریشیا کولای	۱۸٤(۹۲)	۱٦(۸)
تخم انگل	۱۹۳(۹٦/٥)	۷(۳/٥)
مزوفیل‌های هوازی	۱٦۲(۸۱)	۳۸(۱۹)
باکتری‌های کلی‌فرم	۱۷۲(۸٦)	۲۸(۱٤)
کپک	۱۷٤(۸۷)	۲٦(۱۳)

بحث و نتیجه‌گیری

سبزیجات تازه منابع مهم انواع مواد مغذی، ویتامین و فیبر بوده و مصـرف آن‌ها در سال‌های اخیر به‌دلیل توجه ویژه بـه ارتقـای ســطح ســلامـت و تغذیه صـــحیح افزایش‌یـافتـه اســـت (Olaimat and Holley, 2012). بی‌توجهی به موازین بهداشتی در مراحل مختلف کاشت، داشـت، برداشـت، عدم رعایت کامل اصـول بهداشـت فردی کارکنان و همچنین عدم شستشوی صحیح در اکثر موارد می‌تواند منجر به آلودگی این محصـــولات به انواع مـیـکـروب‌هـای پـاتـوژن شـــود (Brackett and Splittstoesser, 2001) کـه این امر بروز بیمـاری‌هـای منتقله از غذا درنتیجه مصـرف چنین محصولات آلوده‌ای را افزایش می‌دهـد (Beuchat, 2002). بـه‌عنوان‌مثال در یک همه‌گیری در آمریکا به‌واسـطه مصرف اسفناج آلوده به باکتری *اشریشیاکولای* سویه O157:H7 تعداد ۲۰۰ نفر مبتلا به بیماری شده و ۳ نفر فوت کردند (Bahreini *et al.*, 2011).

حـد مجـاز شـــمارش مزوفیل‌های هوازی در انواع سـبزی‌خوردن بسته‌بندی‌شده و آماده مصرف log cfu/g ٦ اســت (ISIRI,10082/2008). در این مطالعه میانگین شـمارش مزوفیل‌های هوازی در نمونه‌های سـبزی مورد ارزیـابیlog cfu/g ٥/۰٥ تعیین گردیـد کـه این میزان بـه‌طور معنی‌داری کمتر از حد مجاز اســتاندارد ملی بود(P<۰/۰۰۱) ولی در ۱۹درصـــد از نمونه‌های مورد مطـالعـه آلودگی بـه این بـاکتری‌هـا بیش‌ازحـد مجـاز اســـتاندارد ارزیابی گردید. محققین در هندوســـتان طی بررســـی چنـد نوع جوانه ازجمله جوانه ماش، میانگین شمارش کلی میکروب‌های هوازی را log cfu/g ۸/۹ تا ۷/٦ گزارش کردند (Saroj *et al.*, 2006). در مطالعه‌ای دیگر میانگین شـــمارش مزوفیل‌های هوازی در اســـفناج بســـته‌بندی‌شـــده log cfu/g ۷/۷ در نوع معمولی و log cfu/g ۷/۲ در نوع ارگانیک تعیین گردید که نشـــان‌دهنده میزان بالای آلودگی در این محصول می‌باشد (Valentin-Bon *et al.*, 2008). در آمـریـکـا مـیزان آلودگی بـه میکروب‌های هوازی را در نمونه‌های گشـــنیز، شـــوید،

جعفری و اسفناج به ترتیب log cfu/g ۶/۱، ۵/٤، ۵/٦ و ۵/۸ اعلام کردند (Johnston *et al*., 2005). در اسپانیا شمارش مزوفیل‌های هوازی در جوانه‌ها به‌طور متوسط log cfu/g ۷/۳ گزارش گردید (Abadias *et al*., 2008). در ژاپن نیز میانگین شمارش کلی میکروبی در نمونه‌های اسفناج مورد مطالعه بین log cfu/g ٤/۵ تا ٤/۹ بود (Izumi *et al*., 2004). محققین طی ارزیابی میزان آلودگی سبزی در مراحل مختلف شستشو و بسته‌بندی، تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی در نمونه‌های سبزی را به‌طور میانگین log cfu/g ٦/۹ تا ٤/٦ گزارش کردند (Bahreini *et al*., 2011).

در زمینه آلودگی سبزیجات به کلی‌فرم‌ها و کپک حد مجاز استاندارد به ترتیب log cfu/g ۲ و log cfu/g ۳ می‌باشد (ISIRI, 10082/2008). در این پژوهش میانگین آلودگی به میکروب‌های فوق به ترتیب log cfu/g ۱/۰۹۸و log cfu/g ۲/۲٤بود. در این رابطه میانگین آلودگی به کلی‌فرم‌ها به‌طور معنی‌داری از حد مجاز استاندارد ملی کمتر بود (P<۰/۰۱) ولی میانگین تعداد کپک در هر گرم از نمونه‌ها با حد مجاز استاندارد ملی ایران تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. لازم به ذکر است میزان آلودگی نمونه‌های سبزی موردبررسی به کلی‌فرم‌ها و کپک به ترتیب در ۸٦ درصد و ۸۷ درصد نمونه‌ها در حد مجاز استاندارد بود (ISIRI, 10082/2008). در برزیل در نمونه‌های کاهو میانگین آلودگی به باکتری‌های کلی‌فرم را log cfu/g ۳/۲۵ گزارش کردند (Nascimento, 2003). در مطالعه‌ای دیگر میانگین آلودگی اولیه نمونه‌های کاهو به کلی‌فرم‌ها log cfu/g ۳٦ ٦ /۳ گزارش گردید (Yarahmadi *et al*., 2011).

در مطالعه حاضر تعداد ۱٦نمونه (۸ درصد) به *اشریشیاکولای* و ۷ نمونه (۳/۵ درصد) به تخم‌انگل آلوده بودند. درحالی‌که انواع سبزی‌خوردن آماده مصرف نباید آلوده به این میکروب‌ها باشند (ISIRI, 10082/2008). گزارش‌های متعددی مبنی بر آلودگی انواع غذاها ازجمله سبزی‌ها به *اشریشیا کولای* وجود دارد. مثلاً حضور این میکروب در آب سیب، کلم، کرفس، گشنیز، جوانه شاهی، کاهو و گوجه‌فرنگی گزارش‌شده است (Buck, 2003). در ارزیابی میکروبی انواع ارگانیک و معمولی اسفناج در کانادا به ترتیب ۳/۸ درصد و ۲/۱ درصد به باکتری *اشریشیا کولای* آلوده بودند (Bohaychuk *et al*, 2009). در ترکیه آلودگی به کلی‌فرم‌ها و *اشریشیا کولای* در نمونه‌های سبزی به ترتیب log cfu/g ۷/٤ و ۳/۸ تخمین زده شد (Aycicek, 2006). در اسپانیا٤۰ درصد نمونه‌های موردمطالعه به این باکتری آلوده بودند (Abadias *et al*., 2008) ولی در مینه‌سوتا فراوانی *اشریشیا کولای* در کلم‌بروکلی و فلفل‌سبز صفر درصد گزارش شد که بیانگر رعایت دقیق موارد بهداشتی در روند تهیه و عرضه این فرآورده‌ها است (Mukherjee *et al*, 2004). در بررسی تعداد ۱۲۰ نمونه از سبزیجات خام شهر اراک ٦۸/۳ درصد آلودگی به انگل‌های مختلف گزارش شد (Davami *et al*., 2000). در مطالعه‌ای دیگر در بوشهر مشخص شد که ۱۲/۵ درصد از سبزیجات خام به انگل‌های مختلف آلوده بوده‌اند (Sahebani *et al*., 1999). طی ارزیابی میزان آلودگی انگلی سبزی‌های مصرفی شهر قزوین مشخص گردید که از مجموع ۱۵۰ نمونه، ۵۳ مورد (۳۵/۳ درصد) آلودگی انگلی داشتند (Shahnazi, 2009). میزان آلودگی انگلی سبزیجات در این مطالعه نسبت به برخی از مطالعات مشابه که

پیش‌ازاین اشـاره شـد کمتر بود. از دلایل عمده این امر می‌توان به شـرایط آب‌وهوایی منطقه، میزان کم رطوبت هوا و میانگین پایین بارندگی سـالانه اشـاره کرد که این شـرایط جهـت رشـد و تکثیر انگل‌ها چندان مطلوب نیست.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ۳۱ درصد نمونه‌های سـبزی مورد آزمون به دلیل آلودگی میکروبی بیش‌ازحد، غیرقابل‌مصـرف بودند. در این رابطه محققین در بررسی *اشـریشـیا کولای*، *انتروکوکوس* و شـمارش مزوفیل‌های هوازی در سـبزی‌هـای تـازه بسـتـه‌بندی‌شـده و غیربسـته‌بندی‌شده در تهران نشان دادند که ۱۰۰ درصد نمونه‌های اسـفناج، جوانه گندم و جوانه ماش و نیز به ترتیب۴۰، ٦۰ و۹۰ درصـد نمونه‌های پیازچه، ریحان و قارچ غیرقابل مصـرف بودند. درمجموع نیز۸۲ درصـد نمونه‌ها آلودگی بیش‌ازحد مجاز به یک یا چند عامل داشـتند (Soltan Dallal,*et al.*, 2016). در اسـپانیا نیز در۵۰ درصـد سـبزی‌های موردمطالعه، آلودگی مشـاهده شد (Falomir *et al*., 2013).

به‌طورکلی نتایج حاصـل از این تحقیق در مواردی با آنچه محققین دیگر در پژوهش‌های مشابه خود در سایر مناطق ارائه کرده‌اند مشـابه بوده و در برخی موارد نیز تفاوت‌هایی در این خصـوص به چشم می‌خورد. در این زمینه می‌توان بیان داشت که آلودگی میکروبی سبزیجات بازتاب مستقیمی از کیفیت بهداشتی آب مورداستفاده در مرحله کاشـت، چگونگی روند برداشـت، حمل‌ونقل، ذخیره‌سـازی، فرآوری و عرضـه محصـول اسـت. منابع بالقوه آلوده‌کننده پیش از برداشـت محصـولات می‌تواند خـاک، مدفوع، آب آبیاری، آب به‌کاربرده شـده جهت اسـتفـاده از قارچ‌کش‌ها و حشـره‌کش‌ها، گردوخاک، حشـرات، کود کمپوست نشده، حیوانات اهلی و وحشی و دسـت‌کاری‌های انسـان باشـد. منابع آلودگی پس از برداشـت نیز شـامل مدفوع، دسـت‌کاری‌ها، تجهیزات برداشت محصول، وسایل و ظروف حمل‌ونقل، حیوانات اهلی و وحشی، حشرات، گردوغبار، آب شستشو، یخ و وسـایل فراوری است (Beuchat, 2002). در بسیاری از کشـورها، فاضـلاب‌های شـهری برای آبیاری مزارع کشـاورزی اسـتفاده می‌شـود که پاتوژن‌های روده‌ای موجود در آن‌هـا، در خـاک و محصـولات باقی‌مانده و مشـکلات بهداشـتی برای انسان ایجاد می‌کنند. کود یکی دیگر از عوامـل آلوده‌کننده مزارع به باکتری‌هایی از قبیل *اشریشیاکولای* است که می‌تواند هفته‌ها و ماه‌ها در خاک باقی‌مانده و باعث آلودگی محصـول گردد (Ceuppens, 2014). هرچند شـستن پس از برداشـت محصول تازه، روش مهمی برای کاهش پاتوژن‌ها می‌باشـد ولی برخی عوامـل از جملـه وجود پـاتوژن در داخـل بـافت گیاه، تشـکیل بیوفیلم توسـط باکتری و نیز آب‌گریزی سـطح گیـاه اثربخشـی آن را محدود می‌کنند (Olaimat and Holley., 2012).

با توجه به نتایج حاصـل از این پژوهش می‌توان بیان داشت که میزان آلودگی در سبزی بسته‌بندی‌شده و آماده مصـرفی که در شـهر مشـهد عرضـه می‌شود تا حدودی نگران‌کننـده اسـت لـذا در این زمینـه ارائه راهکارهای مناسـب به مصـرف‌کنندگان سـبزیجات جهت رعایت قوانین بهداشـتی ضـروری بوده ضـمن آن‌که اعمال نظارت‌های پیشـگیرانه دقیق‌تر از جانب سـازمان‌ها و ارگـان‌های ذی‌ربط نیز توصـیه می‌شـود. علاوه بر آن ارزیابی وضـعیت میکروبی منابع آبی مورداسـتفاده در مزارع سـبزی و نیز ارائـه آموزش‌های لازم در رابطه با

استفاده مناسب از منابع آبی، انواع کودها و غیره به کشاورزان و افراد دخیل در امر تولید و عرضه این محصولات نیز مفید خواهد بود.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

منابع

- Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C. and Vinas, I. (2008). Microbiological quality of fresh, minimally processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. Food Microbiology, 123: 121-129.
- Abdi, F., Atarodi kashani, Z., Mirmiran, P. and Esteki, T. (2015). Surveying Global and Iranian Food Consumption Patterns: A Review of the Literature. Journal of Fasa University of Medical Sciences; 5(2): 159-167
- Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G. and Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. Food Chemistry; 89 (1):27-36.
- Aycicek, H., Oguz, U. and Karci, K. (2006). Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara, Turkey. International Journal of Hygiene and Environmental Health 209(2): 197-201
- Bahreini, M., Habibi Najafi, M.B., Bassami, M.R., Abbaszadegan, M., Bahrami, A.R. and Ejtehadi H. (2011). Microbial Load Evaluation of fresh-cut vegetables during processing steps in a vegetable processing plant using minimally processing approach. Iranian Food science and Technology Research Journal; 7(3): 235-242. [In Persian]
- Beuchat, L.R. (2002). Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. Microbes and Infection; 4(4): 413-423.
- Bier, J.W. (1991). Isolation of parasites on fruits and vegetables. Southeast Asian Journal Tropical Medicine and Public Health. 22: 144-145.
- Bohaychuk, V.M., Bradbury, R.W., Dimock, R., Fehr, M., Gensler, G.E., King, R.K., et al. (2009). A microbiological survey of selected Alberta-grown fresh produce from farmers' markets in Alberta, Canada. Journal of Food Protection; 72(2): 415-420
- Brackett, R.E. and Splittstoesser, D.F. (2001). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. In: Downes FP, Ito K, Editors. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. Washington, DC: American Public Health Association; p. 515-520
- Buck, J.W., Walcott, R.R. and Beuchat, L.R. (2003). Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables. Plant Health Progress; 10(1): 1094.
- Ceuppens, S., Hessel, C.T., Quadros Rodrigues, R., Bartz, S., Tondo, E.C. and Uyttendaele, M. (2014). Microbiological quality and safety assessment of lettuce production in Brazil. International Journal of Food Microbiology; 181(1): 67-76.
- Davami, M., Mosayyebi, M. and Mahdavipour, A. (2000). Prevalence of parasitic infections in consumed vegetables in Ardabil city. Journal of Radiation Application and Instrumentation. 3(2): 18-22.
- De Roever, C. (1998). Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce. Journal of Food Control; 9(6): 321-347.
- Doyle, M.P. (1990). Fruit and vegetable safety-microbiological considerations. Journal of Horticultural Science; 25 (12): 1478-82.

- Estiri,H., Ranjbar Bahadori.,S.and Kashefinejad,M.(2010). Comparing the vegetable infection before and after washing, disinfecting and packaging vegetable processing farms in Sabzevar, Iran. Journal of Sabzevar University of Medical Science. 16(4): 234-239
- Falomir, M.P., Rico, H. and Gozalbo, D. (2013). Enterobacter and Klebsiella species isolated from fresh vegetables marketed in Valencia (Spain) and their clinically relevant resistances to chemotherapeutic agents. Foodborne Pathogens and Disease.10(12): 1002-1007
- Hanson, L.A., Zahn, E.A., Wild, S.R., Döpfer, D., Scott, J. and Stein, C. (2012). Estimating global mortality from potentially foodborne diseases: an analysis using vital registration data. Population Health Metrics; 10(1): 5.0
- Iranian National Standards Organization. (1993). Fresh fruits and vegetables – sampling. No. 622, 1st Revision, 2st Edition. [In Persian]
- Iranian National Standards Organization. (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of Coliforms- Colony count method. No. 9263, 1st Edition. [In Persian]
- Iranian National Standards Organization. (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of microorganisms at 30 °C. No. 5272, 1st Revision. [In Persian]
- Iranian National Standards Organization. (2008). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds -Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95. NO.10899-1, 1st Edition. [In Persian]
- Iranian National Standards Organization. (2019). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination Part 4: Specific rules for the preparation of miscellaneous products. No. 8923-4, 2nd Revision. [In Persian]
- Iranian National Standards Organization. (2008). Packed fresh vegetable to ready for use – Specifications and test methods. No.10082, 1st Edition. [In Persian]
- Izumi, H., Nagano, M. and Ozaki, Y. (2004). Microbial evaluation of fresh marketed vegetables. Memoirs of the School of Biology-Oriented Science and Technology of Kinki University. 13: 15-22.
- Johnston, L.M., Jaykus, L.A., Moll, D., Martinez, M.C., Anciso, J., Mora, B. et al. (2005). A field study of the microbiological quality of fresh produce. Journal of Food Protection. 68: 1840-1847.
- Karapinar, M. and Gonul SA. (1992). Removal of *Yersinia enterocolitica* from fresh parsley by washing with acetic acid or vinegar. International Journal of Food Microbiology; 16(3): 261-264
- Karim, G. (2015). Microbiological examination of foods, Tehran University Press, pp. 88-111.
- Karim, G., Mohammadi, K., Khandaghi, J. and Karimi Drehaby, H. (2009). Analysis of milk products. Tehran University Press, pp. 194-195.
- Mukherjee, A., Speh, D., Dyck, E. and Diez-Gonzalez, F. (2004). Pre harvest evaluation of coliforms, Escherichia coli, Salmonella, and Escherichia coli O157: H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. Journal of Food Protection. 67(5): 894-900.
- Nascimento, M.S., Silva, N., Catanozi, M.P. and Silva, K.C. (2003). Effects of different disinfection treatments on the natural microbiota of lettuce. Journal of Food Protection. 66(9): 1697-1700.
- Olaimat, A.N. and Holley, R.A. (2012). Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. Food Microbiology. 32: 1-19.
- Rahbar, M., Sabourian, R., Saremi, M., Abbasi, M., Masoumi, A. and Soroush. M. (2007). Epidemioloic and drug resistant pattern of *Vibrio cholerae* O1 Biotype el tor, serotype inaba during the summer of 2005 outbreak in Iran. Journal of Ardabil University of Medical Sciences; 7(1):41-45. [In Persian]

- Sahebani, N., Fouladvand, M., Dalimi, A., Rahbar, A. R.and Ghafarian, H.R. (1999). Parasitic infections of consumed vegetables in Boushehr city. Iranian South Medical Journal; 2(1): 59-63. [In Persian]
- Saroj, S.D., Shashidhar, R., Dhokane, V., Hajare, S., Sharma, A. and Bandekar, J.R. (2006). Microbiological evaluation of sprouts marketed in Mumbai, India, and its suburbs. Journal of Food Protection; 69(10): 2515-8.
- Shahnazi, M., Sharifi, M., Kalantari, Z., Allipour Heidari, M. and Agamirkarimi, N. (2009) The study of consumed vegetable parasitic infections in Qazvin. Journal of Qazvin University of Medical Sciences, 12 (4):83-89. [In Persian]
- Soltan Dallal, M., Shojaei Zinjanab, M., Vahedi, S., Mahmoudi, H., Ghanbarzadeh, S.H. and Hedayati Rad, F, (2016). A Survey of *Escherichia coli*, *Enterococcus* and total microbial count of packaged and non-packaged fresh vegetables in Tehran. Journal of Paramedicine School, Tehran University of Medical Science, 10: 220-229. [In Persian]
- Song, H.P., Kim, D.H., Jo, C., Lee, C.H., Kim, K.S. and Byun, M.W. (2006). Effect of gamma irradiation on the microbiological quality and antioxidant activity of fresh vegetable juice. Food Microbiology; 23(4): 372-378.
- Valentin-Bon, I., Jacobson, A., Monday, S.R. and Feng, P.C.H. (2008). Microbiological quality of bagged cut spinach and lettuce mixes. Applied and Environmental Microbiology; 74(4): 1240-2.
- Yarahmadi, M., Yunesian, M., Mubedi, I. and et al, (2011). Evaluating the Efficiency of the Common Method of Lettuce Disinfection in Iran. Journal of Health System Research, 7(6): 1138-1147.