# بررسی آلودگی شمارش کلی میکروبی همبرگرهای صنعتی در طول نگهداری در شرایط نامطلوب دمایی

**مهدی احمدی[1]، سید عباس سیدمیرزایی[2*]**

۱. دانشجوی کارشناس ارشد میکروب شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران
۲. مربی، گروه ریاضی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۰۵)

## چکیده

**سابقه و هدف:** امروزه به دلیل صنعتی شدن جوامع انسانی استفاده از غذاهایی همچون همبرگر افزایش یافته است. با توجه به مصرف همبرگر، اهمیت تولید بهداشتی این محصول و عدم بررسی ویژگی میکروبی آن در زمان نگهداری در شرایط واقعی، مطالعه تأثیر شرایط نامطلوب نگهداری در خصوصیات میکروبی همبرگر ضروری است. هدف از این تحقیق، بررسی میزان آلودگی شمارش کلی میکروبی همبرگرها و تغییرات آن نسبت به شرایط نامساعد دمایی می‌باشد.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه بر روی ۲۵ نمونه همبرگر ۶۰ درصد گوشت قرمز از ۵ برند مختلف، آزمون میکروبی انجام شد. آزمون میکروبی شامل شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. نمونه‌ها بعد از آزمون اولیه در ۴ دوره زمانی یک هفته ای در دمای ۵- درجه سانتیگراد نگهداری شدند و بعد از طی هر دوره، آزمون میکروبی بر روی آن‌ها انجام شد.

**نتایج:** در این آزمون‌ها بیشترین و کمترین میزان آلودگی به ترتیب مربوط به آزمون ۵ و ۱ گزارش شده است. همچنین مشخص شد هر چه مدت زمان نگهداری در شرایط نامطلوب دمایی(۵- درجه سانتیگراد) بیشتر باشد، احتمال رشد میکروب‌ها افزایش یافته و در آزمون شمارش مقدار بیشتری گزارش می‌شود.

**نتیجه گیری:** نگهداری نمونه‌های همبرگر در شرایط نامساعد دمایی یکی از عواملی محیطی است که سلامت محصول و مصرف کننده را به خطر می‌اندازد.

## کلیدواژگان

شمارش کلی میکروبی، نگهداری، همبرگر.

* نویسنده مسئول، رایانامه: seyedmirzaei95@gmail.com

## مقدمه

امروزه به دلیل مشکلات ناشی از جوامع صنعتی و پیامدهای شغلی حاصل از آن و علاقه مردم به استفاده از غذاهای آماده نظیر فرآورده‌های گوشتی در رفع کمبود مواد پروتئینی، مصرف آن‌ها افزایش یافته است. غذا می‌تواند به عنوان یک حامل، بسیاری از اجرام عفونی و غیر عفونی را در خود حمل کند که در بعضی شرایط رشد جرم عفونی را حمایت کرده و به عنوان ناقل فعال عمل نموده و یا تنها نقش ناقل غیر فعال را ایفا نماید که در این صورت عامل عفونت در غذا رشد نکرده و تنها به وسیله غذا به انسان منتقل می‌شود. در طول دهه گذشته وقوع بیماری‌های میکروبی ناشی از مواد غذایی نه تنها در کشورهای در حال توسعه با فقر بهداشتی بلکه در کشورهای توسعه یافته با استانداردهای بالای بهداشتی نیز رو به افزایش بوده است. با توجه به استفاده روز افزون مردم از همبرگر و با توجه به استفاده از گوشت در تهیه این فرآورده و افزایش مصرف آن خطر احتمالی مسمومیت غذایی و امکان آلودگی این محصول به عمده باکتری‌های مولد مسمومیت غذایی بالاست(۱). ویژگی‌های میکروبیولوژی همبرگر خام منجمد در کشور ما مطابق جدول ذیل است(۲).

**جدول ۱- ویژگی میکروبیولوژی همبرگر مطابق استاندارد ملی ایران**

| نوع آزمون میکروبی | حداکثر مجاز میکروبی |
|---|---|
| شمارش کلی میکروبی | $۱\times۱۰^{۶}$ در هر گرم |
| استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت | $۱\times۱۰^{۳}$ در هر گرم |
| کپک و مخمر | $۱\times۱۰^{۳}$ در هر گرم |
| سالمونلا | منفی در ۲۵ گرم |

عوامل موثر در رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی به دو دسته عوامل درونی شامل pH، رطوبت، پتانسیل اکسیداسیون و احیا، مواد مغذی، عوامل ضد میکروبی، ساختار بیولوژیکی و عوامل بیرونی شامل درجه حرارت، رطوبت نسبی محیط، وجود و تراکم گازها در محیط تقسیم می‌شوند(۳). به طور کلی تعداد و نوع میکروارگانیسم‌های موجود در یک محصول غذایی فرآوری شده تحت تأثیر عوامل ذیل است: ۱ -محیطی که ماده غذایی از آن بدست آمده است ۲-کیفیت میکروبی غذای خام یا فرآیند نشده ۳-شرایط بهداشتی جابجایی و فرآوری محصول ۴-میزان کفایت بسته بندی، جابجایی و شرایط نگهداری جهت پایین نگه داشتن فلور میکروبی. با توجه به تأثیر میکروارگانیسم‌ها بر سلامت عمومی و مدت انبار مانی محصول، جهت تولید ماده غذایی با کیفیت بالا، بایستی شمارش میکروبی تا حد امکان پایین باشد. در حالت ایده آل شرایط تولید باید به گونه ای باشد تا شمارش میکروبی حداقل بوده، در صورت شمارش بیش از حد، مواد غذایی تازه با خطر فساد مواجه خواهند شد(۴). مسیحا و همکارانش در سال ۱۳۹۳ مطالعه ای بر روی کیفیت میکروبی مواد غذایی از جمله فرآورده‌های گوشتی انجام دادند که در آن بر روی نمونه‌ها آزمون کلیفرم، اشریشیاکلی، سالمونلا، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، باکتری‌های مزوفیل هوازی، کپک، مخمر و لیستریا انجام دادند(۵). فرامرزی و همکاران در سال ۱۳۹۱ میزان آلودگی به باکتری‌های مزوفیل در فرآورده‌های گوشتی را ۶/۳۶درصد و آلودگی به کلیفرم‌ها را ۱/۷۳ درصد اعلام کردند(۶). اوزورال و همکارانش در سال ۲۰۱۶ بر روی ویژگی‌های میکروبیولوژی همبرگرهای غنی شده با عصاره چای سبز آزمون انجام دادند(۷). کوربو و همکارانش در سال ۲۰۰۸ مطالعه ای بر روی اثر سینرژی ترکیبات طبیعی بر روی کاهش کیفیت میکروبی همبرگر ماهی انجام دادند(۸). لی و همکارانش در سال ۲۰۰۵ با بررسی اثر اشعه گاما و عصاره رزماری بر روی ماندگاری همبرگر اعلام کردند که از جنبه میکروبیولوژی، تابش با دوز ۲۰kGy یا بالاتر برای غیر فعال سازی میکروفلور طبیعی مورد

نیاز بود و اثر آنتی اکسیدانی کمی مشاهده شد(۹). این مطالعه با هدف بررسی آلودگی شمارش کلی میکروبی همبرگرهای صنعتی در طول مدت نگهداری در شرایط نامطلوب دمایی(۵-درجه سانتیگراد) انجام شد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه پژوهشی، با توجه به محدودیت امکانات آزمایشگاهی تعداد ۲۵ نمونه از همبرگر خام منجمد ۶۰٪ گوشت قرمز از ۵ برند مختلف فرآورده‌های گوشتی در آبان ماه سال ۱۳۹۵ نمونه برداری شد به طوریکه از هر برند، ۵ نمونه با درصد گوشت و تاریخ تولید یکسان انتخاب شد. با توجه به اینکه نمونه‌های مختلف از واحدهای تولیدی مختلف تهیه شده است لذا تهیه نمونه‌های همبرگر با تولید یکسان در عمل امکان پذیر نمی باشد اما اختلاف زمانی تاریخ تولید نمونه‌های همبرگر برندهای مختلف حداکثر یک ماه انتخاب شدند. بعد از نمونه برداری، نمونه‌ها بلافاصله با حفظ زنجیره سرد به آزمایشگاه منتقل شده و در دمای انجماد مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۹۸۹۹ (کمتر از ۱۵- درجه سانتیگراد) نگهداری شدند(۱۰). به منظور بررسی رفتار میکروبی نمونه‌ها در طول زمان در شرایط نامطلوب دمایی، برای نمونه‌ها با توجه به محدودیت‌های زمانی و ابزاری و نیز هدف گذاری پژوهش، ۴ دوره زمانی یک هفته ای در نظر گرفته شد؛ همچنین با توجه به تحقیقات صورت گرفته در بازار تولید و عرضه فرآورده‌های گوشتی منجمد، برای شرایط نگهداری نامطلوب دمایی، دمای ۵- درجه سانتیگراد در نظرگرفته شد. بعد از اولین آزمون میکروبیولوژی، بقیه نمونه‌های همبرگر(که آزمون میکروبی نشدند) در فریزر با دمای ۵- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. هر کدام از نمونه‌ها برای آزمون میکروبیولوژی از زمان صفر تا پایان هفته چهارم، پس از ثبت مشخصات آن ها، به طور یکسان و مطابق استانداردهای ملی ایران به شماره ۱-۸۹۲۳ و ۳-۸۹۲۳ مقدار ۱۰ گرم از آزمایه در ۹۰ میلی لیتر محلول پپتون واتر بافری رقیق شد(۱۱, ۱۲). با تهیه رقت‌های اعشاری مناسب طبق دستورالعمل استانداردهای فوق، برای شمارش کلی باکتری‌های هوازی مزوفیل از روش کشت سطحی، با استفاده از محیط کشت پلیت کانت آگار و انکوباسیون در دمای ۱±۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت و مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲-۵۲۷۲ و نیز برای شمارش کپک و مخمر نیز از روش کشت سطحی، با استفاده از محیط کشت دی کلران رزبنگال کلرامفنیکل آگار(DRBC) و انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳-۵ روز و مطابق استاندارد ۱-۱۰۸۹۹ آزمون انجام شد(۱۳, ۱۴).

## نتایج

مطالعه بر روی ۲۵ نمونه همبرگر ۶۰ درصد گوشت قرمز انجام شد. در شروع نگهداری هیچ یک از نمونه‌ها از حد مجاز تعیین شده بالاتر نبودند. در هفته اول و دوم۲۰ درصد از نمونه‌ها از نظر شمارش کلی میکروبی بالاتر از حد استاندارد بودند. در هفته سوم ۲۰ درصد از نمونه‌ها از نظر شمارش کلی میکروبی بالاتر از حد استاندارد بوده و در هفته چهارم ۸۰ درصد از نمونه‌ها از نظر شمارش کلی میکروبی بالاتر از حد استاندارد بودند. جدول شماره ۳ میانگین و انحراف معیار مربوط به شمارش کلی میکرو اورگانیسم‌های نمونه‌ها را در پنج مرحله آزمون نشان می‌دهد. به عنوان مثال میانگین آزمون شمارش کلی میکرو اورگانیسم‌های پنج نمونه را در آزمون ۱، ۲۰۱۲۰۰ بیان می‌کند. لازم به ذکر است که در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ استفاده شده است.

جدول ۲- وضعیت آلودگی همبرگرها از لحاظ شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها

| آزمون / نمونه | نمونه ۱ | نمونه ۲ | نمونه ۳ | نمونه ۴ | نمونه ۵ |
|---|---|---|---|---|---|
| آزمون۱ | ۴۰۰۰۰۰ | ۲۴۵۰۰۰ | ۲۶۰۰۰۰ | ۴۸۵۰۰ | ۵۲۵۰۰ |
| آزمون۲ | ۵۸۶۳۶۳ | ۵۸۶۳۶۴ | ۴۰۴۵۴۵ | ۴۱۰۰۰۰۰ | ۱۸۲۷۲۷ |
| آزمون۳ | ۶۵۰۰۰۰ | ۶۶۳۶۳۶ | ۵۱۳۶۳۶ | ۵۱۳۶۳۶۳ | ۲۰۰۰۰۰ |
| آزمون۴ | ۹۶۸۱۸۱ | ۸۷۲۷۲۷ | ۶۶۳۶۳۶ | ۱۲۲۲۷۲۷۳ | ۸۷۲۷۲۷ |
| آزمون۵ | ۱۳۱۸۱۸۱ | ۱۰۴۳۲۵۵ | ۹۷۷۲۷۲ | ۱۴۰۴۵۴۵۴ | ۳۲۵۰۰۰۰ |

جدول ۳- میانگین و ا نحراف معیار آزمون‌های شمارش کلی میکروارگانیسم ها

| | | آزمون۱ | آزمون۲ | آزمون۳ | آزمون۴ | آزمون۵ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| تعداد | معتبر | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ |
| | خطا | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ |
| میانگین | | ۲۰۱۲۰۰ | ۱۱۷۱۷۹۹/۸۰ | ۱۴۳۳۳۲۷ | ۳۱۲۰۹۰۸/۸۰ | ۴۱۲۶۸۳۲/۴۰ |
| انحراف معیار | | ۱۵۰۲۷۱/۶۷۱ | ۱۶۴۵۳۱۹/۷۳۹ | ۲۰۷۸۵۱۰/۲۱۹ | ۵۰۹۱۸۳۰/۱۸۱ | ۵۶۲۲۸۲۳/۸۵۶ |

## بحث

یه دلیل میزان آلودگی کم همبرگرهای صنعتی به پاتوژن‌های شاخص مندرج در استاندارد ملی یعنی استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا ، لزوم نیاز به مثبت شدن آزمون‌های میکروبی انتخاب شده به منظور تعیین میزان رشد آن و نیز اولویت داشتن تحت پوشش قرار گرفتن مجموعه ی وسیعی از میکروب‌ها توسط آزمون انتخاب شده، از آزمون شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در این مطالعه استفاده شد. همبرگر ۶۰٪ گوشت قرمز بیشترین تولید را توسط واحدهای تولیدی دارد به همین دلیل از آن به عنوان نمونه مورد آزمون استفاده شد. میزان آلودگی نمونه‌ها از لحاظ بار کلی میکروبی بعد از نگهداری در ۴ دوره زمانی تغییرات شدیدی کرد به طوری که اکثر نمونه ها(به جز یک نمونه) در تمام بندهای مورد آزمون به بالاتر از حد مجاز استاندارد رسید در حالی که در ابتدای زمان نگهداری، گزارش هیچ یک از نمونه‌ها بالاتر از حد مجاز داشتند. میزان بالای آلودگی در این محصول ناشی از آلودگی هوای سالن‌های تولید، نبود تهویه مناسب طبق اصول تولید خوب Good Manufacture Practice(GMP) و همچنین بالا بودن آلودگی در مواد اولیه مورد استفاده می‌باشد(۱). بررسی نمونه‌های همبرگر از نظر آلودگی به مزوفیل‌های هوازی با مطالعات انجام شده توسط رضایی، حسینی، تربتی و همکارانشان مشابهت زیادی داشت (۱, ۱۵, ۱۶). بخشی از تحقیقات انجام شده بر روی محصول همبرگر با هدف بررسی یک گونه یا سروتایپ مهم پاتوژن انجام شده است مثل اشریشیاکلی سروتایپ O157:H7 (۱۷-۲۰) ، سالمونلا(۲۱)، باسیلوس سرئوس(۲۲)و کلستریدیوم دیفیسیل(۲۳) در حالیکه مابقی میکروب‌ها مورد ارزیابی قرار نگرفته و مهم تلقی نشده است اما در این پژوهش کل جمعیت میکروارگانیسم‌های مزوفیل، کپک‌ها و مخمرها مورد آزمون قرار گرفته و از لحاظ کمی بررسی شده اند. بخشی دیگری از تحقیقات انجام شده بر روی همبرگر شامل مجموعه ای از آزمون‌های میکروبی است که از این نظر با تحقیق حاضر شباهت دارند اما تفاوت هایی هم در آن‌ها وجود دارد. در مطالعاتی که سلطان دلال و همکاران

انجام شد نمونه‌های همبرگر از نوع دست ساز بوده و میزان درصد گوشت و تاریخ ساخت آن‌ها مشخص نشده است در حالی که در این مطالعه، آزمون بر روی همبرگرهای صنعتی با میزان ۶۰٪ گوشت قرمز و تاریخ تولید مشخص انجام شد(۲۴). در مطالعه رحیمی و همکاران در سال ۱۳۸۵ میزان آلودگی میکروبی ماده اولیه تولید فرآورده‌های گوشتی را ۶۸٪ استافیلوکوکوس اورئوس، ۵۹٪ اشریشیاکلی، ۵۳ ٪ سالمونلا، ۶۲٪ مخمر و ۲۱٪ کپک گزارش نموده و شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در ۱۰٪ نمونه‌ها را فراتر از حد مجاز استاندارد دانسته اند و با توجه به نبود اختلاف معنی دار بین آلودگی میکروبی برندهای مختلف همبرگر، می‌توان آلودگی مواد اولیه مورد استفاده را یکی از دلایل دانست در حالی که در این مطالعه بر روی محصول آزمون انجام شده است(۲۵). در تحقیقی که توسط رضایی و همکارانش انجام شد نمونه‌های همبرگر صنعتی بوده اما درصد گوشت نمونه‌های همبرگر اعلام نشده است و آزمون میکروبی به صورت دفعی انجام شد در حالیکه در این مطالعه میزان گوشت قرمز، ۶۰٪ انتخاب شده و علاوه بر آزمون نمونه‌ها بعد از نمونه برداری، بعد از نگهداری نمونه‌ها در شرایط خاص به صورت پیوسته نیز آزمون میکروبی انجام شده است(۱).در مطالعه ی حسینی و همکارانش علاوه بر رشد میکروبی مزوفیل‌های هوازی، کپک و مخمر، رشد میکروبی میکروارگانیسم‌های سرماگرا نیز در سوسیس و کالباس طی مدت نگهداری ۸۷ روزه بررسی شد اما در این بررسی در مدت زمان ۲۸ روز و بدون آزمون بر روی میکروارگانیسم‌های سرماگرا و مبتنی بر استاندارد ملی بر روی محصول همبرگر انجام شد(۱۵).در مطالعه ی تربتی و همکارانش همبرگر صنعتی با ۳۰ درصد گوشت قرمز انتخاب شد در حالیکه در این مطالعه همبرگر صنعتی با ۶۰ درصد گوشت قرمز با اختلاف تاریخ‌های تولید حداکثر یک ماه نمونه برداری شد اما در هر دو مطالعه آزمون‌های میکروبی یکسانی انجام شد(۱۶).

با توجه به مطالعات صورت گرفته، انجام تحقیق به منظور بررسی بار کلی میکروبی در همبرگر در طول زمان نگهداری ضروری به نظر می‌رسد. نتایج به دست آمده بیانگر تأثیرات منفی شرایط نامساعد دمایی در سلامت همبرگر و خارج شدن از حدود مجاز مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۲۳۰۴ است به طوری که بعد از نگهداری در این شرایط نتیجه آزمون شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها به چندین برابر حد مجاز و یا مقدار اولیه آن رسید. به عبارتی دیگر با خارج شده نمونه‌های همبرگر از شرایط مطلوب دمایی در زمان نگهداری، نمونه‌های همبرگری که ویژگی میکروبی مطابق استاندارد دارند به مرور زمان به همبرگرهای غیر استاندارد و غیر قابل مصرف تبدیل می‌شوند که سلامت مصرف کننده را به خطر می‌اندزد.

## نتیجه گیری

نتایج نشان می‌دهد که یکی از عواملی که علاوه بر شرایط تولید می‌تواند میزان جمعیت میکروبی در همبرگر را تعیین کند شرایط نگهداری است به طوری که پس از نگهداری نمونه‌ها در شرایط نامطلوب، رشد میکروب‌ها افزایش یافته و باعث افزایش آلودگی میکروبی در همبرگرها خواهد شد. از آنجایی که محصولات غذایی صنعتی توسط مراجعی از قبیل سازمان ملی استاندارد و سازمان غذا و دارو در سطح بازار ارزیابی می‌شود پیشنهاد می‌شود نمونه‌های همبرگر حتی الامکان با تاریخ تولید یکسان نمونه برداری شود و در صورت مشاهده شرایط نامطلوب دمایی در نگهداری همبرگر در حین بازرسی از انجام نمونه برداری و آزمون بر روی نمونه خودداری شود یا در گزارش نتیجه آزمون حتما ذکر شود.

## منابع و مآخذ


1. Rezaei M, Shariatifar N, Parviz M, Behzadi AA. microbiological Infection of hamburgers consumed in Arak city. Medical Laboratory Journal. 2015;9(2):139-43. [Full Text in Persian].
2. Iran IOSAIRO. Raw frozen hamburger – Specifications. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of IRAN; 2008. p. 1-5.
3. Tavakoli HR, Moghaddam AD, Meshgi MA, Khaksar R, Ghanati K. Food microbiology and health control of food supply and distribution centres. 1 ed. Tehran: Marze danesh; 2008. 200 p.
4. Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. Modern food microbiology. 2 ed. Tehran: Sarva; 2009. 366 p.
5. Masiha AR, Majid Khoshlahjeh MR, Isazadeh K, Asadi F. Study of microbial quality of some foods collected from East Gilan region. Food Microbiology. 2015;2(4):27-37. [Full Text in Persian].
6. Faramarzi T, Jonidi Jafari A, Dehghani S, Mirzabeygi M, Naseh M, Rahbar Arasteh H. A survey on Bacterial Contamination of Food Supply in the West of Tehran. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2012;2(1):11-8. [Full Text in Persian].
7. Özvural EB, Huang Q, Chikindas ML. The comparison of quality and microbiological characteristic of hamburger patties enriched with green tea extract using three techniques: Direct addition, edible coating and encapsulation. LWT - Food Science and Technology. 2016;68:385-90.
8. Corbo MR, Speranza B, Filippone A, Granatiero S, Conte A, Sinigaglia M, et al. Study on the synergic effect of natural compounds on the microbial quality decay of packed fish hamburger. International Journal of Food Microbiology. 2008;127(3):261-7.
9. Lee J-W, Park K-S, Kim J-G, Oh S-H, Lee Y-S, Kim J-H, et al. Combined effects of gamma irradiation and rosemary extract on the shelf-life of a ready-to-eat hamburger steak. Radiation Physics and Chemistry. 2005;72(1):49-56.
10. Organization INS. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations Tehran: INSO; 2015. p. 50-3.
11. Organization INS. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination Part 1: General rules for the preparation of initial suspension and decimal dilutions. Tehran: INSO; 2007. p. 12-5.
12. Iran IOSAIRO. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination- Part 3: specific rules for the preparation of meat and meat products. Tehran: ISIRI; 2006. p. 11-4.
13. Iran IOSAIRO. 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. Tehran: ISIRI; 2008. p. 11-7.
14. Organization INS. Microbiology of the food chain —Horizontal method for the enumeration of microorganisms — Part 2 :Colony count at 30 °C by the surface plating technique. Tehran: INSO; 2014. p. 6-8.
15. Hosseini H, Ahmadi H, Akhavan H, Ferdowsi R, Khaksar R, Shahraz F, et al. Growth patterns of aerobic mesophilic and psychrotrophic microorganisms, moulds and yeasts in four heated red-meat product groups during storage. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology. 2008;3(2):33-40. [Full Text in Persian].
16. Torbati MA, Javadi A, Saderi H, Tavakoli F. Study of the effects of microwave and frying on microbial properties of hamburger. Food Hygiene. 2011;1(3 ):47-53. [Full Text in Persian].
17. Boniadian M, Zahraei Salehi MT, Momtaz H, Poorami H. Isolation of O157 strains of Escherichia coli

and determination of their actin genes from minced meat and hamburger in Shahrekord. Veterinary Iran. 2011;5(4):5-12. [Full Text in Persian].

18. Hosseini SM, Ezzatpanah H, Lari MA, Mazaheri Asadi M, Ataei D. Evaluation of E. coli O157: H7 contamination in processed meat products from two factories in Shiraz and Tehran. Food Science and Nutrition. 2011;8(3):37-. [Full Text in Persian].
19. Jamshidi A, Basami MR, KHanzadi S, Soltani Nejad V. Isolation and identification of E. coli O157: H7 from hamburger samples in Mashhad using multiplex PCR technique. Science and Technology of Iran. 2012;9(35):101-7. [Full Text in Persian].
20. Kargar M, Dianati P, Homayoon M, Jamali H. Isolation, Characterization and Antibiotic Resistance of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli in Hamburger and Evolution of Virulence Genes stx1, stx2, eaeA and hly by Multiplex PCR. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2013;3(3):208-14. [Full Text in Persian].
21. Sharafati Chaleshtori R, Mazroii Arani N, Taghizadeh M, Sharafati Chaleshtori F. Antibiotic Resistance Pattern of Salmonella Isolated from Hamburgers and Detection of their Sensitivity to Some Essential Oils. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2017;27(148):136-42. [Full Text in Persian].
22. Deilami Khiabani Z, Shams almaali G. Identification of Entrotoxic Genetic Bacillus Serosa in Prepared Meat Products in Zanjan. Physiology and Animal Development. 2013;6(3):75-80. [Full Text in Persian].
23. Esfandiari Z, Jalali M, Ezzatpanah H, Chamani M. Frequency of Clostridium Diphylesil in the Process of Production of Hamburger Meat Products. Health system research (Nutrition supplement). 2013:9. [Full Text in Persian].
24. Soltan Dallal M, Vahedi S, Zeraati H, Salsali M, Norooz Babaei H, Kaffashi T, et al. Evaluating the effects of cooking on the decrease microbial contamination of kebabs and hamburgers supplied for selling in southern areas of Tehran. Payavard Salamat. 2007;1(1):24-31. [Full Text in Persian].
25. Rahimi F, Yousefi R, Aghaie S. Isolation of Salmonlla spp. E.coli, Staph.aureus, and mold and yeast from the raw material for sausage, halibut and hamburger. Infectious and tropical diseases. 2006;11(33):1-7. [Full Text in Persian].