بر کاهش بار میکروبی دو رقم خرمای مضافتی و زاهدی(H_2O_2) اثر پراکسید هیدروژن

محمدجواد کرمی[۱]

[۱]استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران،

[*] نویسنده مسئول: jkarami299@yahoo.com

چکیده

فساد مواد غذایی مشکل بزرگ اقتصادی است و سالانه تقریباً یک چهارم مواد غذایی در سراسر جهان از طریق انواع آلودگی‌های میکروبی فاسد شده یا ارزش خوراکی خود را از دست می‌دهند. عملیات سنتی برداشت و بسته بندی خرما، روش‌های خشک کردن میوه های خرما در مزرعه و عملیات ضعیف حمل و نقل پس از آن مصرف این میوه را مستعد آلودگی‌های میکروبی خطرناک برای سلامتی انسان می‌نماید. منظور تعیین میزان آلودگی میکروبی میوه دو رقم عمده خرمای موجود در بازار و امکان ضدعفونی آنها با استفاده از پراکسید هیدروژن (H_2O_2) با استفاده از طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که نمونه‌های میوه هر دو رقم خرمای مضافتی و زاهدی (قصب) دارای آلودگی میکروبی بودند. در تمامی موارد آلودگی میکروبی خرمای زاهدی (قصب) بیشتر از خرمای مضافتی بود. ضدعفونی با پراکسید هیدروژن موجب کاهش شدید آلودگی میکروبی در نمونه های هردو رقم خرما گردید. غلظت ۰/۳ درصد پراکسید هیدروژن برای ضدعفونی خرمای مضافتی و ۰/۹ درصد برای ضدعفونی خرمای زاهدی (قصب) مؤثر بود و برای این منظور توصیه می شوند. برای ضدعفونی و عاری‌سازی میوه هر دو رقم خرمای مضافتی و زاهدی از قارچ آسپرژیلوس غلظت ۰/۹ درصد پراکسید هیدروژن توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: خرمای زاهدی (قصب)، خرمای مضافتی، پراکسید هیدروژن، آلودگی میکروبی

مقدمه:

درخت خرما با نام علمی.*Phoenix dactylifolia* L به منظور استفاده از میوه خوراکی و شیرین آن کاشته می شود و یکی از قدیمی‌ترین درختان جهان است که حدود ۶۰۰۰ سال است که به‌عنوان غذا مورد استفاده بشر قرار می گیرد (Amer, 1994). ترکیبات شیمیایی خرما عمدتاً به رقم و مراحل رسیدن میوه بستگی دارد (Rastegar *et al.*, 2012). دما، اکسیژن و مقدار رطوبت مهمترین عواملی هستند که نوع رشد میکروبی و ضایعات مواد غذایی در محیط و بخصوص در شرایط انبار نگهداری مواد غذایی را تشکیل می دهند. ضایعات میکروبی خرما می تواند از مخمرها و باکتری ها باشد. مخمرها عموماً از گونه zygosaccharomyces هستند که به مقدار قند بالا تحمل بیشتری دارند

فساد مواد غذایی مشکل بزرگ اقتصادی است و سالانه تقریباً یک چهارم مواد غذایی در سراسر جهان از طریق فعالیت‌های میکروبی ارزش خوراکی خود را از دست می‌دهند (Oksuz *et al.*, 2004: AOAC, 1999). فسادپذیری میوه‌های خرما به وسیله تخمیر و مخمر با افزایش محتوای آب میوه بیشتر می شود. بنابراین دمای محیط و محتوای آب عوامل اصلی هستند که عمر میوه‌های خرما را تحت تأثیر قرار می دهند (Rygg, 1956). روش‌های قدیمی برداشت، التیام‌دهی و خشک‌کردن میوه‌های خرما در مزرعه و عملیات ضعیف حمل و نقل پس از آن علاوه بر محتوای رطوبت بالای میوه خرما، در ضایعات میوه خرما مشارکت نموده و آن را مستعد آلودگی میکروبی می سازد (Mustafa *et al.*, 1983). میکروارگانیسم‌هایی مانند باکتری‌ها به مقدار زیادی در سطح میوه‌های تازه خرما و حتی میوه‌های بسته‌بندی شده و نگهداری شده در انبار که به بازارهای عمده و خرده فروشی ارائه می‌گردد وجود دارند. اطلاعات زیادی در خصوص وضعیت آلودگی میکروبی احتمالی میوه‌های خرما موجود در بازار ایران وجود ندارد این درحالی است که برای میوه های خرما در ایران بر اساس اطلاعات موجود هیچ اقدام بهداشتی در مراحل بسته‌بندی و حمل و نقل توسط تولیدکنندگان، فروشندگان و حتی در زمان مصرف توسط مصرف کنندگان صورت نمی‌گیرد. همچنین این محصولات به‌طور سنتی بسته بندی می‌شوند و در هنگام بسته‌بندی هیچگونه

عملیات ضدعفونی صورت نمی‌گیرد و حتی بدون انجام یک شستشوی معمولی میوه به بازار عرضه می‌گردد. معمولاً اعتقاد بر این است که میوه خرما مستعد آلودگی میکروبی نیست به همین دلیل در بسیاری از موارد این میوه به صورت نشسته و آماده مصرف می‌شود. به همین دلیل نگرانی و دلواپسی در میان مصرف کنندگان این میوه به واسطه خطرات احتمالی ناشی از مصرف خرماهای نشسته در حال افزایش است و بهداشتی بودن یا نبودن این میوه برای بسیاری از مصرف کنندگان مورد سؤال بوده است.
مشخص شدن جمعیت میکروارگانیسم‌های عامل ضایعات خرما می تواند منجر به ارائه فرآیندهایی شود که از فساد این میوه جلوگیری کند. هدف از این پژوهش تعیین بار میکروبی میوه دو رقم مهم خرما موجود در بازار ایران (استان فارس) و امکان استفاده از پراکسید هیدروژن (H_2O_2) برای ضدعفونی و ارائه میوه خرمای بهداشتی و سالم به بازار می‌باشد.

مواد و روش ها:

در این پژوهش از دو رقم خرمای مهم موجود در بازار استان فارس و همچنین از ماده ضدعفونی‌کننده پراکسید هیدروژن با سه غلظت برای ضدعفونی آنها استفاده گردید. برای آماده‌سازی نمونه‌ها ابتدا با مراجعه تصادفی به سوپرمارکت‌های شهر شیراز در استان فارس نمونه‌های خرمای مضافتی به عنوان یک رقم خرمای تر و نمونه خرمای زاهدی (قصب) به‌عنوان خرمای خشک تهیه شدند. از هر رقم حدود ۱/۵ کیلوگرم تهیه گردید و هر کدام به دو نمونه مساوی ۰/۷۵ کیلوگرمی تقسیم شدند. و برای بررسی آلودگی میکروبی به آزمایشگاه ارسال گردید. بر روی هر نمونه پنج اندازه گیری شامل شمارش کلی میکروبی، تعیین مقدار کپک (فقط برای خرمای زاهدی)، مخمر، قارچ آسپرژیلوس و باکتری های کلیفرم و اشرشیاکلای انجام شد.
نمونه های ارسال شده به آزمایشگاه برای هر کدام به دو دسته تقسیم شدند. دسته اول نمونه آبشویی اولیه و بدون انجام هیچگونه عملیات ضدعفونی (غلظت ۰٪ H_2O_2) و نمونه دوم نمونه‌های آبشویی شدند و سپس با ماده ضدعفونی‌کننده پراکسید هیدروژن در غلظت های ۰/۳ درصد و ۰/۹ درصد ضدعفونی شدند. برای تهیه نمونه‌های اولیه و ضدعفونی نشده یا شاهد (غلظت ۰٪ H_2O_2) از هر نمونه خرما مقدار ۲۰۰ گرم با استفاده از ترازوی آزمایشگاه وزن گردید و داخل ارلن ۱۰۰۰ میلی‌لیتری سترون شده قرار داده شد سپس مقدار ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد و مدت ۵ دقیق تکان داده شدند تا کاملاً سطح نمونه خرما با آب مقطر شستشو شود. سپس مقدار ۵۰ میلی‌لیتر از نمونه آبشویی‌شده خرما به آزمایشگاه جهت بررسی میزان آلودگی میکروبی ارسال گردید. برای شمارش میکروبی هر یک از نمونه ها و همچنین شمارش باکتری‌های کلیفرم از روش Hojjati وAzizi (۲۰۰۵) و karimi (۱۹۹۵) استفاده شد. بررسی آماری نمونه ها قالب طرح کاملاً صادفی با سه تکرار صورت گرفت. دو رقم خرمای مضافتی و زاهدی (قصب) و سه غلظت پراکسید هیدروژن (۰٪ به عنوان شاهد، ۰/۳٪ و ۰/۹٪) تیمارهای آزمایشی بودند. با توجه به اینکه شمارش کپک فقط برای خرمای زاهدی (قصب) انجام شد در نهایت میانگین داده ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ مقایسه شدند.

نتایج:

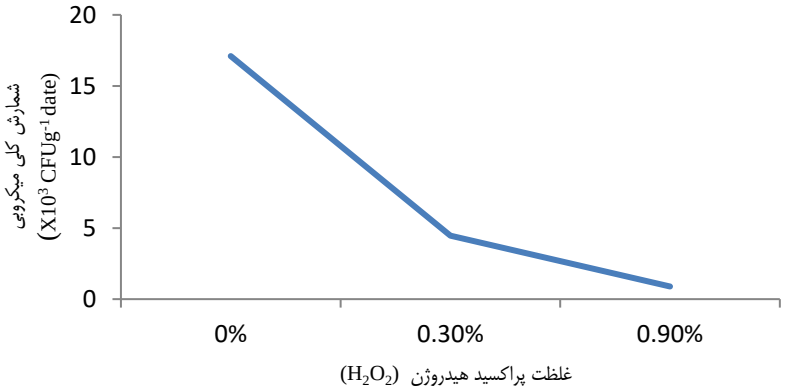
نتایج تجزیه واریانس داده های آزمایشی نشان داد که بین رقم خرمای مضافتی و زاهدی (قصب) از نظر شدت آلودگی به تمام موارد میکروبی بررسی شده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت ودر تمام موارد آلودگی خرمای زاهدی (قصب) بیشتر از خرمای مضافتی بود، جدول ۱. همچنین از نظر شدت آلودگی به تمام موارد میکروبی بررسی شده بین تیمارهای غلظت‌های پراکسید هیدروژن (H_2O_2) اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ مشاهده شد. اثر متقابل تیمارهای آزمایشی نیز برای تمام موارد بررسی شده از نظر شدت آلودگی میکروبی نمونه‌های خرمای آزمایشی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها برای تیمار غلظت‌های پراکسید هیدروژن در سطح احتمال ۱٪ نشان داد که غلظت ۰/۹ درصد این ماده برای هر دو رقم خرما بیشترین تأثیر را در کاهش شمارش کلی میکروبی، باکتری های کلیفرم و اشرشیا کلای داشت، نمودار ۱. و برای آلودگی به مخمر اثرات غلظت های ۰/۳ درصد با غلظت ۰/۹ درصد یکسان بود و این دو غلظت در یک گروه قرار گرفتند،نمودار ۲.

جدول ۱- مقایسه میانگین آلودگی میکروبی ($X10^3$ CFU g^{-1} date) انواع خرما در سطح احتمال ۱٪

موارد آزمون	شمارش کلی میکروبی	کلیفرم	اشرشیاکولای	مخمر	کپک	آسپرژیلوس
خرمای قصب ضدعفونی نشده (شاهد)	۸۵/۷ **a	۰/۰۶۲**a	۰/۰۰۲**a	۹/۸۴۰**a	۱۶/۹۸۲**a	+
خرمای قصب ضدعفونی شده با H_2O_2 ۳ در هزار	۱۳/۶۰ **b	۰/۰۰۹**b	۰/۰۰۲**a	۰/۳۰۰**b	۰/۷۴۶**b	+
خرمای قصب ضدعفونی شده با H_2O_2 ۹ در هزار	۰/۹۳ **c	۰/۰۰۰**b	۰/۰۰۰**b	۰/۰۸۹**b	۰/۰۱۰**c	-
خرمای مضافتی ضدعفونی نشده (شاهد)	۳/۴۱ **bc	۰/۰۰۰**b	۰/۰۰۰**b	۰/۰۴۱**b	——	+
خرمای مضافتی ضدعفونی شده با H_2O_2 ۳ در هزار	۱/۴۷**c	۰/۰۰۰**b	۰/۰۰۰**b	۰/۰۰۲**c	——	+
خرمای مضافتی ضدعفونی شده با H_2O_2 ۹ در هزار	۰/۸۵**c	۰/۰۰۰**b	۰/۰۰۰**b	۰/۰۰۰**c	——	-

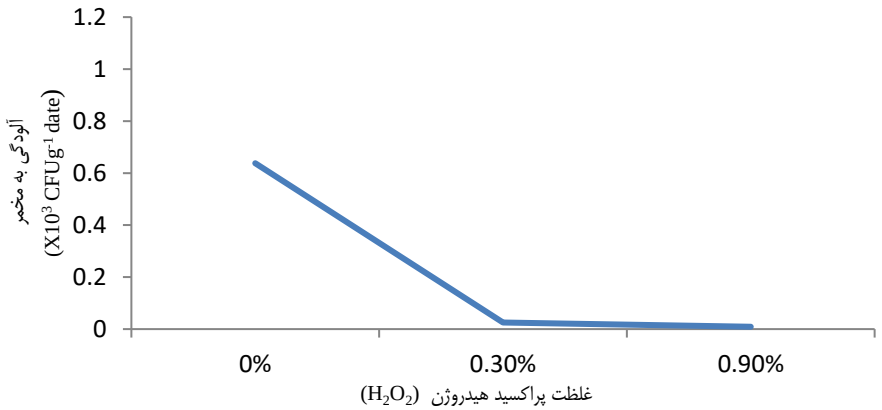
حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪ است.

علامت های – و + به ترتیب به معنی فقدان و وجود قارچ آسپرژیلوس است



نمودار ۱- اثر غلظت پراکسید هیدروژن (H_2O_2) برشمارش کلی میکروبی در همه نمونه های خرمای آزمایشی

مقایسه میانگین اثرات برهمکنش تیمارهای آزمایشی، واکنش بار میکروبی نمونه‌های میوه هر رقم به غلظت‌های پراکسید هیدروژن را نشان داد و مشخص شد که در خرمای زاهدی (قصب) غلظت ۰/۳ درصد و ۰/۹ درصد نسبت به غلظت ۰٪ پراکسید هیدروژن بر کاهش شمارش کلی میکروبی این رقم مؤثر بود و با افزایش غلظت پراکسید هیدروژن روند کاهش شمارش کلی میکروبی ادامه داشت بطوریکه غلظت ۰/۹ درصد پراکسید هیدروژن شمارش کلی میکروبی را از تعداد ۸۵/۷ توان سوم کلونی تشکیل شده در هر گرم میوه خرما (X103 CFU g^{-1} date) در این رقم را به ۰/۹۳ کاهش داد. البته همانگونه که در جدول ۱ نشان داده شده است، شمارش کلی میکروبی (آلودگی میکروبی اولیه) خرمای مضافتی نسبت به خرمای زاهدی(قصب) خیلی کمتر بود و مقدار آن در حد آلودگی نمونه‌های خرمای زاهدی (قصب) ضد عفونی شده با غلظت ۰/۹ درصد پراکسید هیدروژن بود با این صف غلظت های مختلف پراکسید هیدروژن در کاهش شمارش کلی میکروبی این رقم نیز مؤثر بود و غلظت های ۰/۳٪ و ۰/۹٪ در یک گروه قرار گرفتند



نمودار ۲- اثر غلظت پراکسید هیدروژن (H_2O_2) برآلودگی به مخمر در همه نمونه‌های خرمای آزمایشی

در تمامی موارد بررسی شده در این آزمایش، آلودگی نمونه‌های خرمای زاهدی (قصب) بیشتر از نمونه‌های خرمای مضافتی بود و با توجه به اینکه فساد پذیری میوه‌های خرما به وسیله تخمیر و مخمر با افزایش محتوای آب میوه بیشتر می شود (Rygg, 1956) بنابراین احتمال دارد که به‌دلیل بالا بودن محتوای آب میوه‌های خرمای مضافتی عمر انباری آن کمتر از نمونه های خرمای زاهدی (قصب) باشد اما در نتیجه این تحقیق مشخص شد که از لحاظ بهداشتی نمونه‌های خرمای مضافتی موجود در بازار آلودگی میکروبی کمتری دارند و همانطور که در نمودار ۴ نشان داده شده است، آلودگی میکروبی خرمای مضافتی به حدی پایین است که قابل مقایسه با خرمای زاهدی (قصب) نیست. البته دلیل این موضوع می تواند قیمت بالای خرمای مضافتی در بازار باشد که تولیدکنندگان این نوع خرما را ترغیب به انجام مراقبت‌های بیشتر در برداشت محصول و عملیات بعد از برداشت بخصوص نگهداری اولیه و بسته بندی بهداشتی‌تر آن می نماید. بطوریکه بهترین موارد بسته بندی خرما، چه از نظر اندازه و چه از نظر کیفیت و اشکال ظاهری و بازارپسندی ظروف بسته بندی خرمای موجود در بازار ایران به رقم مضافتی اختصاص دارد.

نحوه عمل پراکسید هیدروژن در ویژگی ضدعفونی کننده آن به این صورت است که برخی از میکروارگانیسم‌ها توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و پراکسیداز از خود در برابر اثرات مضر H_2O_2 محافظت می‌کنند. با این حال، در سیستم‌های بیولوژیکی هیچ آنزیمی وجود ندارد که رادیکال هیدروکسیل واکنش‌پذیرتر تشکیل شده توسط تجزیه H_2O_2 را تخریب کند (Vattanaviboon and Mongkolsuk, 1998). بنابراین، اثر ضد میکروبی H_2O_2 عمدتاً به دلیل رادیکال هیدروکسیل بسیار واکنش پذیر آن (OH^-) است که سلول‌های میکروبی را متلاشی و به DNA آنها آسیب می‌رساند. اکسیداسیون گروه‌های سولفیدریل و پیوندهای دوگانه در پروتئین‌ها، لیپیدها و غشاهای سطحی سلول های میکروبی نیز در مرگ سلول‌های میکروبی موثر است.

به طورکلی هر دو نمونه‌های خرمای مضافتی و زاهدی (قصب) دارای آلودگی میکروبی بودند. در تمامی موارد آلودگی میکروبی خرمای زاهدی (قصب) بیشتر از خرمای مضافتی بود. بر خلاف خرمای زاهدی، خرمای مضافتی عاری از باکتری‌های کلیفرم و اشرشیاکلای بود. ضدعفونی با پراکسید هیدروژن موجب کاهش شدید آلودگی میکروبی در نمونه های هردو رقم خرما گردید. غلظت ۰/۳ درصد پراکسید هیدروژن برای ضدعفونی خرمای مضافتی و ۰/۹ درصد برای ضدعفونی خرمای زاهدی مؤثر بود و برای این منظور توصیه می‌شوند. غلظت ۰/۳ درصد پراکسید هیدروژن در کاهش آلودگی نمونه‌های هر دو رقم به قارچ آسپرژیلوس تأثیری نداشت اما غلظت ۰/۹ درصد این ماده موجب حذف کامل این آلودگی در هر دو نمونه خرما گردید در نتیجه برای عاری‌سازی نمونه‌های میوه هر دو رقم غلظت ۰/۹ درصد پراکسید هیدروژن توصیه می شود.

منابع:

Amer, W.M. 1994. Taxonomic and documentary study of food plants in Ancient Egypt. Ph.D. Thesis. Cairo University Egypt.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1999. Official Methods of Milk Analysis. 16th. Washington, USA: News Flash: pp. 600-792.

Hojjati, M., Azizi, M.H. 2005. Evaluation of microbial flora of main date palm varieties in Khozestan province. Iranian Journal of Food Science and Technology, 2(2): 29-37.

Karim, G. 1995. Microbial Analysis of Food. Tehran University Press. P. 197.

Oksuz, O., Arici M., Kurultay S. 2004. Incidence of Esherichia coli O127 in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey. Food Control, 15453-6

Rastegar, S., Rahemi, M., Baghizadeh, A., Ghplami, M. 2012. Enzyme activity and biochemical changes of three date palm cultivars with different softening pattern during ripening. Food Chemistry, 134: 1279-1286.

Rygg, G.L. 1956. Effect temperature and moisture content on the rate of deterioration in Deglet Noor dates. Date Grower Inst, 33: 8-11.

Vattanaviboon. P., Mongkolsuk. S, 1998. Evaluation of the role hydroxyl radicals and iron play in hydrogen peroxide killing of Xanthomonas campestris pv. Phaseoli" FEMS Microbiology Letters, 169: 255-260.

Effect of Hydrogen peroxide (H_2O_2) on microbial load of Mazafati and Zahedi date palm fruit varieties

M.J.Karami
Assistant Professor of Fars Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran.

**Corresponding Author: jkarami299@yahoo.com*

Abstract:
Food spoilage is a major economic problem, and approximately a quarter of the world's food is spoiled or lost its nutritional value each year due to various microbial contaminants. Traditional date harvest practices and its packaging processesm methods of drying date fruits on the farm and poor transportation operations afterwards are the main establishing contamination of risky microbial infections. Present research was conducted to evaluate the microbial infection of date fruits for two major commercial cultivars. Furthermore, their disinfection method using hydrogen peroxide was investigated by means of a factorial experiment including three replications. The results revealed that both Mozfati and Zahedi (Ghasb) date cultivars suffering by microbial contaminations. The intensity of contamination for Zahedi cultivar was higher in most samples. Disinfection technique using H_2O_2 was resulted in the reduced contamination levels for both cultivars, intensively. The recommended and most effective concentrations of H_2O_2 were defined as 0.3 and 0.9% diminishing Mozafati and Zahedi contaminations, respectively. The last concentration was the best For disinfection and stripping of both Mazafati and Zahedi dates from Aspergillus, a concentration of 0.9% hydrogen peroxide is recommended.
Keywords: Zahedi date, Mazafati date, Hydrogen peroxide, Microbial load.