

بررسی آلودگی با گونه‌های قارچی در سه نوع ادویه مصرفی رایج: گزارش کوتاه

چکیده

محمد منصوری^۱

انسبه زیبا فر^۱، سید جمال هاشمی^۲ و

محسن گرامی شعار^۱

روشنک داعی قزوینی^{۳*}

۱- گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۲- گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، خیابان ۱۶ آذر، خیابان

پورسینا، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی

تهران، واحد قارچ‌شناسی تلفن: ۰۲۱-۴۲۹۳۱۴۱

E-mail: rdaie@tums.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۳/۰۷/۰۲ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۲۸ آنلاین: ۱۳۹۴/۰۲/۲۰

زمینه و هدف: ادویه‌ها در روند تولید، آلودگی‌های قارچی پیدا می‌کنند. هدف این مطالعه بررسی آلودگی‌های قارچی زردچوبه، فلفل سیاه و دارچین موجود در فروشگاه‌های تهران بود.

روش بررسی: در این مطالعه مقطعی - توصیفی که در دانشگاه علوم پزشکی تهران از دی ۱۳۹۱ تا شهریور ۱۳۹۳ انجام شد، تعداد ۱۶۵ ادویه شامل ۵۵ مورد از گونه‌های مختلف دارچین، زردچوبه و فلفل سیاه از نواحی مختلف تهران انتخاب گردید. از رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-4} نمونه‌های آنها، کشت بر روی محیط‌های مختلف قارچ‌شناسی انجام پذیرفت. کلنی‌های حاصله شمارش و شناسایی شدند.

یافته‌ها: در کل، ۴۳۱۷ کلونی شامل ۲۹ گونه قارچی از دارچین (۱۵۲۰)، زردچوبه (۱۳۷۳) و فلفل سیاه (۱۴۲۴) جداسازی و شناسایی گردیدند. عوامل، به‌طور عمده آسپرژیلوس نایجر (۷/۳٪)، پنی‌سیلیوم (۴/۱٪)، پسیلومایسس (۲/۸٪) و آسپرژیلوس فلاووس (۲/۳٪) بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه و شواهد موجود در جامعه حاکی از بالا بودن میزان آلودگی قارچی می‌باشد. بنابراین کنترل واحدهای متخلف تولیدی ضروری است.

کلمات کلیدی: مطالعات مقطعی، ادویه‌جات، قارچ‌ها، ایران.

مقدمه

ذخیره‌سازی در انبار به دلیل شرایط نامطلوب از نظر دما و رطوبت و سایر آلودگی‌ها بر میزان آن افزوده شود. از آنجایی که برخی از این عوامل قارچی توکسین‌زا می‌باشند مصرف آنها می‌تواند علاوه بر ایجاد آلودگی‌های قارچی موجب ایجاد مسمومیت‌های مزمن و حاد در طولانی مدت گردد.^۱

با توجه با تأثیرات ناگوار متابولیت‌های قارچی و عوارض جانبی ناشی از کاربرد ادویه‌های آلوده در فرآورده‌های غذایی، مصرف آنها و ایجاد اختلال در متابولیسم و عملکرد سیستم ایمنی بدن انسان، این مطالعه به منظور بررسی آلودگی‌های قارچی ادویه‌های زردچوبه، فلفل سیاه و دارچین که مصرف بالایی در مواد غذایی دارند انجام گردید.^۲

امروزه ادویه‌ها به عنوان یکی از متداول‌ترین طعم‌دهنده‌ها با منشای طبیعی در تهیه و فرآوری مواد غذایی کاربرد فراوان دارند. از آنجایی که برخی از ادویه‌ها در کشور ما موجود نبوده و باید از خارج از کشور وارد گردند و بیشتر گیاهان ادویه‌ای در مناطق گرم و مرطوب و نامطلوب از نظر شرایط بهداشتی کشت می‌گردند، بنابراین به‌طور عموم در معرض آلودگی‌های میکروبی به‌خصوص عوامل قارچی منتقله از محیط قرار می‌گیرند.^۱ همچنین ممکن است علاوه بر آلودگی اولیه در معرض آلودگی با مدفوع پرندگان، جوندگان و حشرات نیز واقع شوند. فرآیند انتقال آلودگی می‌تواند در طول سه مرحله کاشت، داشت و برداشت انجام گیرد و در نهایت در مرحله

روش بررسی

یافته‌ها

در جدول ۱ فراوانی مطلق و همچنین فراوانی نسبی (درصد) هر یک از قارچ‌های جدا شده به صورت کلی تک آورده شده است. با توجه به نتایج حاصله، بیشترین فراوانی آلودگی‌ها مربوط به قارچ *آسپرژیلوس نایجر* (*Aspergillus niger*) با ۷/۳٪، گونه‌های پنی‌سیلیوم

این مطالعه مقطعی - توصیفی در آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران از دی ۱۳۹۱ تا شهریور ۱۳۹۳ انجام پذیرفت. جهت تعیین آلودگی قارچی سه نوع ادویه مصرفی رایج، بسته‌بندی از فروشگاه‌های شهر تهران شامل زردچوبه، فلفل سیاه و دارچین به طور تصادفی تعداد ۱۱ نام تجاری معتبر (بدون ذکر نام به دلیل ملاحظات اخلاقی) از سه نوع ادویه (در کل، ۱۶۵ نمونه) از سوپرمارکت‌های مناطق مختلف شهر تهران به صورت بسته‌های صد گرمی تهیه گردید.

جدول ۱: فراوانی مطلق و فراوانی نسبی (درصد) هر یک از قارچ‌های جدا شده از ادویه‌های مورد بررسی

جنس قارچ	فراوانی (درصد)
بدون آلودگی	۷۴/۷
<i>آسپرژیلوس آمستلودامی</i>	۱۷(۰/۴)
<i>آسپرژیلوس کاندیدوس</i>	۱(۰)
<i>آسپرژیلوس فلاووس</i>	۹۹(۲/۳)
<i>آسپرژیلوس ملئوس</i>	۵(۰/۱)
<i>آسپرژیلوس ورسیکالر</i>	۴۴(۱/۰)
<i>آسپرژیلوس فومیگاتوس</i>	۴(۰/۱)
<i>آسپرژیلوس نایجر</i>	۳۱۵(۷/۳)
<i>آسپرژیلوس اوکراسئوس</i>	۵(۰/۱)
<i>آسپرژیلوس ترئوس</i>	۲۳(۰/۵)
گونه‌های ناشناخته <i>آسپرژیلوس</i>	۲۰(۰/۵)
موکور	۶۵(۱/۵)
پسیلومایس	۲(۰)
پنی‌سیلیوم	۱۷۸(۴/۱)
سودآلشیریا بوییدی	۱۰(۰/۲)
رایزوپوس	۵(۰/۱)
اسکوپولاریوپسیس	۱(۰)
میسلیوم استریل	۱۳(۰/۲)
سنسفالستروم	۸۴(۱/۹)
تریکوسپورون	۱(۰)
کلادوسپوریوم	۵(۰/۱)
هندرسونلا تورولوبیدا	۱(۰)

اسامی ادویه‌های انتخاب شده باید شامل سه ادویه مورد بررسی می‌بود در غیر این صورت از مطالعه حذف می‌گردید. زمان نمونه‌برداری، مدت هشت ماه تعیین شد. وجه تمایز نمونه‌ها از نظر نوع ادویه، تاریخ تولید و انقضا، کنترل شدند. نمونه‌ها مطابق پروتکل روش‌های موسسه استاندارد و پژوهش‌های صنعتی ایران مورد آزمون‌های قارچی قرار گرفتند.

موارد آزمون شامل شمارش کلنی‌های رشد یافته حاصل از کشت و بررسی مستقیم بود. مقدار ۱۰ g از هر نمونه ادویه پس از توزین، در ml ۹۰ سرم فیزیولوژی استریل (۰/۰۹٪) حل و به طور کامل ورتکس گردید. سریال رقت‌ها نیز (10^{-1} تا 10^{-4}) مطابق استاندارد ملی ایران تهیه گردید. پس از تهیه سریال رقت‌ها و نیز تهیه محیط‌های کشت مورد استفاده سابورو دکستروز آگار (SDA)، پتیتودکستروز آگار (PDA) و چاپکس آگار (CZA) همراه با کلرامفینیکل (Biolife Italiana S.r.l., Milan, Italy) بر اساس دستورکار درج شده بر روی ظروف حاوی محیط کشت اقدام به کشت رقت‌های تهیه شده بر اساس روش پورپلیت شد. بر این اساس کشت‌ها به صورت دو تایی شامل ۱ ml از هر رقت به همراه ۱۵ ml از هر یک از محیط‌های کشت حاوی ۰/۵ g کلرامفینیکل تهیه گردید. به مدت یک هفته در دمای 25°C گرم‌خانه‌گذاری شد. پس از سپری شدن زمان گفته شده، شمارش تعداد کلنی‌های رشد یافته و نیز تهیه تیزمان با لاکتوفنل کاتن بلو به منظور شناسایی جنس عوامل قارچی رشد یافته و تا حد امکان در حد گونه انجام شد.

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از Kruskal-Wallis H test و SPSS software, version 18 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) با کمک Tukey's test استفاده شد. $P < 0/05$ معنادار در نظر گرفته شد.

تریکو تیشیوم، رازیوپوس و کلادوسپوریوم گزارش نمود که نتایج آن نیز با نتایج مطالعه حاضر از نظر فراوانی قارچ *آسپرژیلوس* به عنوان بیشترین گونه قارچی جدا شده همخوانی زیادی داشت.^۶

Abdullah و همکاران در بررسی فلور قارچی و شیوع *آسپرژیلوس* های آفلاتوکسیکوژنیک گروه *flavi* در گیاهان دارویی در کشور عراق موفق به جداسازی *آسپرژیلوس* (۱۲ گونه) کتومیوم (پنج گونه)، اسکوپولاریوپسیس، بای پولاریس و نیگروسپورا (سه گونه) *آلترناریا*، امرسیلا، فوزاریوم، پسیلومایسس و اولوکلادیوم (دو گونه) شدند که نتایج از نظر بالا بودن میزان فراوانی گونه های قارچ *آسپرژیلوس* با این مطالعه مطابقت داشت.^۷

در ادویه جات، خاصیت ضد میکروبی به ویژه ضد قارچی مشاهده شده است. Hitokoto و همکاران گزارش کردند که دارچین بازدارنده رشد قارچ است در حالی که فلفل و دارچین باز دارنده توکسین به تنهایی می باشند.^۸ Azzouz و همکاران طی مطالعه ای نشان دادند که دارچین می تواند به عنوان بازدارنده رشد کپک های توکسین زا عمل نماید.^۹ Llewellyn و همکاران، نشان دادند که دارچین خاصیت ضد مایکوتوکسینی نیز دارد. به طور کلی پژوهش های انجام شده نشان داده است که ادویه جات در رقت ۲٪، تولید آفلاتوکسین را تا ۹۷٪ کاهش داده اند. روغن های این ترکیبات خاصیت باز دارندگی را در رقت های ۰/۰۲٪ تا ۰/۲۵٪ نشان داده اند. مهمترین ترکیب این روغن ها آلدئید دارچین است که خاصیت بازدارندگی در رقت ۲۲۰-۱۵۰ ppm دارد. او- متوکسی سینامالدهید (O-methoxy cinamaldehyde) از پودر دارچین خاصیت بازدارندگی رشد *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* را در رقت های ۰/۰۱٪ تا ۰/۰۲٪ دارد. سطوح کمتر از ۰/۰۰۵٪ از این ترکیبات تولید آفلاتوکسین B1 را تا ۹۰٪ کاهش داده است.^{۱۰}

محدودیت هایی که در روند این مطالعه وجود داشت شامل عدم وجود برخی از این سه نوع ادویه در یک نام تجاری منتخب و خاص بود که موجب حذف آن و انتخاب ادویه ای با نام تجاری دیگر می گردید. همچنین به دلیل عدم پوشش دهی روش های معمول آزمایشگاهی جهت شناسایی عوامل قارچی احتمالی، لزوم استفاده از روش های مولکولی احساس می شد که به دلیل مشکلات مالی به طور محدود از آنها استفاده گردید. پیشنهادی که می تواند در زمینه جلوگیری از آلودگی میکروبی ادویه جات موثر واقع شود، شامل:

(*Penicillium spp*) با ۴/۸٪ و همچنین پس از آن قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* (*Aspergillus flavus*) با ۲/۳٪ بیشترین آلودگی ها را در ادویه جات مورد بررسی ایجاد کرده اند. قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* با فراوانی ۲/۳٪ پس از قارچ *آسپرژیلوس نایجر* (۷/۳٪) به عنوان بیشترین قارچ جدا شده در این جنس بین تمامی نمونه های مورد بررسی معرفی گردید که با توجه به توکسین زا بودن این قارچ، حائز اهمیت می باشد.

با Kruskal-Wallis test نشان داده شد که بین برندها در هر سطح آماری اختلاف معناداری وجود داشت. همچنین می توان گفت که برندهای یک و دو آلوده ترین برندها بوده اند. سپس به ترتیب برندهای سه، چهار و پنج آلوده ترین برندها بوده و در مقابل، برندهای شش، هفت، هشت و ۹ کمترین میزان آلودگی را نشان دادند. همچنین آزمون بالا نشان داد که بین ادویه های مورد بررسی در این پژوهش، اختلاف معناداری (P=۰/۰۰۰۳) وجود داشته و دارچین بیشترین و زردچوبه کمترین میزان آلودگی را به خود اختصاص دادند.

بحث

از آنجایی که فراوان ترین قارچ های جدا شده از ادویه های مورد بررسی اغلب از دو جنس *آسپرژیلوس* و *پنی سیلیوم* بوده که تولیدکننده عمده آفلاتوکسین می باشند و سرطان زایی این سموم در انسان به اثبات رسیده است بنابراین نتایج این مطالعه حائز اهمیت می باشد.

Geeta و همکاران طی مطالعه ای که بر روی تعیین آلودگی های قارچی ادویه جات انباری انجام شد دریافتند که ابتدا *آسپرژیلوس فلاووس* و سپس سایر گونه های قارچ *آسپرژیلوس* و به دنبال آن قارچ های موکور، رازیوپوس، *پنی سیلیوم*، *تریکو تیشیوم* و فوزاریوم به عنوان فراوان ترین قارچ های آلوده کننده فلفل سیاه تعیین گردیدند که این امر به خصوص در مورد *آسپرژیلوس فلاووس* با مطالعه حاضر همخوانی داشت.^۵

Mandeel به بررسی آلودگی قارچی در بعضی ادویه های وارداتی پرداخت و در بررسی ۱۷ نمونه ادویه از فروشگاه های سطح شهر دریافت که فلفل قرمز و سیاه دارای بیشترین درصد آلودگی قارچی بوده است و عوامل آلوده کننده را به ترتیب *آسپرژیلوس*، *پنی سیلیوم*،

تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی با کد ۹۱-۰۴-۱۷۲-۲۰۵۶۰ در سال ۱۳۹۱ می‌باشد که بدین‌وسیله مراتب سپاسگزاری و تشکر نویسندگان را به‌جهت همکاری صمیمانه مسئولین این مرکز اعلام می‌دارم. همچنین نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از دکتر سید حسین میرهندی به‌جهت تشخیص مولکولی و تعیین هویت برخی گونه‌های قارچی تعیین هویت‌نشده به روش‌های معمول آزمایشگاهی ابراز می‌دارند.

کنترل بهداشتی مراحل تولید، پرسنل شاغل در مراکز مربوطه، بهداشت کار، حمل و نقل، نگهداری مواد خام اولیه و نیز محصولات غذایی فرآوری‌شده نهایی و همچنین رعایت اصول صحیح و استاندارد بسته‌بندی جهت کاهش آلودگی‌های قارچی و میکروبی می‌باشد. در پژوهش‌های آینده می‌توان به بررسی آلودگی‌های قارچی در سایر ادویه‌ها و نیز مواد غذایی دیگر پرداخت. سپاسگزاری: این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد و طرح

References

1. Clandsborough M, Ynne LA. Food Microbiology Laboratory. University of Massachusetts, USA, 2005.
2. Hurwitz W. Official Methods Analysis of the AOAC International. 17th ed. Rockville, MD: Association of Official Analytical Chemists, 2002.
3. Raghavan S. Handbook of Spices, Seasonings, and Flavoring. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2007.
4. Galvano F, Ritieni A, Piva G, Pietri A. Mycotoxins in the human food chain. In: Diaz D, editor. Mycotoxins Blue Book. Nottingham, UK: Nottingham University Press; 2007. p. 1-22.
5. Geeta GS, Reddy TKR. Aspergillusflavus Link and its occurrence in relation to other mycoflora on stored spices. *J Stored Prod Res* 1990;26(4):211-3.
6. Mandeel QA. Fungal contamination of some imported spices. *Mycopathologia* 2005;159(2):291-8.
7. Abdullah SK, Saadullah AA. Detection of Aspergillus species in dried fruit collected from Duhok market and studies their aflatoxic properties. *Raf J Sci* 2014;25(1):12-8.
8. Hitokoto H, Morozumi S, Wauke T, Sakai S, Kurata H. Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi. *Appl Environ Microbiol* 1980;39(4):818-22.
9. Azzouz MA. Antimicrobial effects of spices and herbs. *J Food Protect* 1997;45:1248-301.
10. Llewellyn GC, O'Dell VL, Flannigan B. Spices and mycotoxins: review of biodeterioration and health implications. In: Houghton DR, Smith RN, Eggins HO, editos. Biodeterioration 7. Springer Netherlands: Elsevier Science Publisher Ltd.; 1988. p. 634-41.

The study of fungal contamination in three current packed spices in the markets of Tehran: *brief report*

Abstract

Received: 24 Sep. 2014 Accepted: 18 Jan. 2015 Available online: 10 May 2015

Mohammad Mansouri M.Sc. student¹

Ensieh Zibafar Ph.D.¹

Seyed Jamal Hashemi Ph.D.^{1,2}

Mohsen Gerami Shoar M.Sc.¹

Roshanak Daie Ghazvini

Ph.D.^{1*}

1- Department of Medical Mycology and Parasitology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Department of Medical Mycology and Parasitology, School of Public Health, Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Background: Spices (flavorings) are contaminated to microbial agents such as filamentous and yeast fungi during production processing. Almost these are grown and harvested in warm and humid areas of the world where the growth of a wide variety of organisms is readily supported. The aim of this study was to assess the fungal contaminations of three current spices including turmeric, black pepper and cinnamon from some supermarkets in Tehran and evaluating of their hygienic quality.

Methods: In this cross-sectional study that was performed in laboratory of Medical Mycology, School of Public Health in Tehran University of Medical Sciences from December 2012 to September 2014, 165 packed spices including 55 samples from each 11 valid brands of cinnamon, turmeric and black pepper were selected from different regions of Tehran. Culture was performed on many different fungal media from 10^{-1} to 10^{-4} dilutions of their samples. The fungal colonies obtained from cultures were studied by traditional laboratory methods. On the other hand, the number of unknown possible colonies was identified by molecular methods and then all identified colonies were counted.

Results: Totally, from 165 packed spices, 4317 colonies include 29 different fungal species were isolated and identified from cinnamon (1520), turmeric (1373) and black pepper (1424). The etiologic agents were mainly including *Aspergillus niger* (7.3%), *Penicillium* spp. (4.1%), *Paecilomyces* spp. (2.8%) and *Aspergillus flavus* (2.3%), respectively. Non-parametric Kruskal-wallis test indicated that there was no significant difference statistically among brands at each level. Also the present study showed $P = 0.0003$ among under study spices. The most contaminated spices were cinnamon, while turmeric had the lowest contamination rate.

Conclusion: The obtained results of this cross-sectional study and the available proofs in community indicate that, there are the high levels of fungal contaminations in current used spices. Therefore, it is necessary to control the production units.

Keywords: cross-sectional studies, fungi, Iran, spices.

* Corresponding author: School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Department of Medical Mycology, Poursina St., 16 Azar St., Tehran, Iran.
Tel: +98-21-42933141
E-mail: rdaie@tums.ac.ir