

Investigating the Efficiency of Different Steps of the Most Common Method for Disinfecting Vegetables to Reduce the Microbial Population

Sharafi K^{1,2}, Jaafari J³, Pirsahab M^{1,2}, Massahi T^{*4}, Azizi N², Amini J², Ebrahimzadeh Gh⁵

1. Research Center for Environmental Determinants of Health (RCEDH), Research Institute for Health, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

2. Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

3. Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.

4. Student research committee, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

5. Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran

* *Corresponding author.* Tel: +989934202045, Fax: +988339386060, E-mail: toorajmassahi@gmail.com

Received: Aug 10, 2022 Accepted: Dec 15, 2022

ABSTRACT

Background & objectives: Considering the importance of sanitizing vegetables before consumption, this study aims to evaluate the effectiveness of different stages of the most common vegetable disinfection methods in Iran in reducing total coliform and fecal coliform for the most consumed edible vegetables.

Methods: Three stages of disinfection were done, including

- Scraping and pre-wash of vegetables (first step),
- Separation of parasites by 3-5 droplets of detergent per liter for 5 minutes (second step), and
- Disinfection of vegetables with calcium hypochlorite solution (200 mg/l free chlorine) for 5 min (third step).

Finally, disinfected vegetables were washed out with water. MPN test was used to determine total and fecal coliform. The efficiency of each stage was determined using the difference between total and fecal coliforms before and after each and total disinfection stage.

Results: The fecal coliform amount did not reach zero even after all the disinfection steps in vegetables with more foliage and hidden holes (such as basil and onion). Besides, according to this study's results, radish, onion, and coriander leaves had the highest contamination, and lettuce had the lowest total and fecal coliform. The highest total coliform removal efficiency related to beets (93.3%) was obtained under calcium hypochlorite disinfection, and the highest fecal coliform removal efficiency related to leeks, parsley, and beets (100%) under calcium hypochlorite disinfection.

Conclusion: To achieve the highest efficiency in reducing microbial agents in vegetables, it is necessary to complete the different disinfection stages following its instructions. In this regard, the efforts of the media and health experts are essential.

Keywords: Edible Vegetables; Disinfection; Total coliform; Fecal coliform

بررسی کارایی مراحل مختلف متداول‌ترین روش گندزدایی سبزیجات در کاهش جمعیت میکروبی

کیومرث شرفی^{۱،۲}، جلیل جعفری^۳، مقداد پیرصاحب^{۱،۲}، تورج مساحی^{۴*}، ناهید عزیزی^۲، ژیلای امینی^۲،
غلامرضا ابراهیم زاده^۵

۱. مرکز تحقیقات عوامل محیطی مؤثر بر سلامت، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
 ۲. گروه آموزشی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
 ۳. گروه آموزشی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
 ۴. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
 ۵. گروه آموزشی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران
- * نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۹۳۴۲۰۲۰۴۵ فکس: ۰۸۳۳۹۳۸۶۰۶۰ ایمیل: toorajmassahi@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به اهمیت سالم سازی سبزیجات قبل از مصرف، هدف از این مطالعه، ارزیابی کارایی مراحل مختلف متداول‌ترین روش‌های گندزدایی سبزیجات در ایران در کاهش کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی برای پرمصرف‌ترین سبزیجات خوراکی بود.

روش کار: برای انجام این مطالعه سه مرحله گندزدایی شامل شست و شو با آب (مرحله اول)، انگل‌زدایی سبزیجات توسط ۳-۵ قطره دترجنت به ازای هر لیتر با زمان تماس ۵ دقیقه (مرحله دوم) و گندزدایی با استفاده از گندزدای پرکلرین با کلر آزاد ۲۰۰ میلی گرم در لیتر با زمان تماس ۵ دقیقه (مرحله سوم) و سپس شستشوی مجدد سبزیجات با آب انجام شد. از آزمایش MPN به منظور تعیین کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی استفاده شد. همچنین بر اساس تفاوت میزان کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی نمونه‌های سبزی قبل از گندزدایی و بعد از هر یک از مراحل مختلف گندزدایی، راندمان گندزدایی هر مرحله بدست آمد.

یافته‌ها: نتایج نشان دادند که در سبزیجات پر شاخ و برگ و دارای زوایای پنهان (مانند ریحان، پیازچه و گشنیز) میزان کلیفرم مدفوعی با وجود اعمال تمام مراحل گندزدایی، به صفر نرسید. علاوه بر آن برگ تربچه، پیازچه و گشنیز، دارای بیشترین میزان آلودگی و کاهو دارای کمترین میزان آلودگی اولیه از نظر کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی بودند. بیشترین راندمان حذف کلیفرم کل مربوط به چغندر (۹۳/۳٪) تحت گندزدایی با پرکلرین و بیشترین راندمان حذف کلیفرم مدفوعی مربوط به تره فرنگی، جعفری و چغندر (۱۰۰٪) تحت گندزدایی با پرکلرین به دست آمد.

نتیجه‌گیری: برای دستیابی به بالاترین کارایی در کاهش عوامل میکروبی سبزیجات، نیاز است که مراحل مختلف دستورالعمل گندزدایی بطور کامل و طبق شرایط مربوطه انجام شود. در این راستا، کوشش رسانه‌ها و کارشناسان بهداشتی ضروری است.

واژه‌های کلیدی: سبزیجات خوراکی، گندزدایی، کلیفرم کل، کلیفرم مدفوعی

پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۲۴

دریافت: ۱۴۰۱/۵/۱۹

مقدمه

میوه و سبزیجات به عنوان منبع فوق‌العاده‌ای از مواد مغذی، یک بخش ضروری در رژیم غذایی افراد محسوب می‌شوند و برای سلامتی واجب و اساسی هستند (۱). در صورت آلودگی میوه و سبزیجاتی که به صورت خام مصرف می‌شوند، آنها می‌توانند ابزاری برای انتقال آلودگی‌ها، انگل‌ها و ویروس‌های بیماری‌زا به انسان باشند و باعث ایجاد بیماری در انسان و افزایش شیوع بیماری‌های قابل انتقال از غذا گردند (۲-۴). از جمله پاتوژن‌هایی که بر روی سبزیجات شناسایی و جدا گردیده‌اند می‌توان به لیستریامونوسیتوزنز، سالمونلا (۵) و اشریشیا کلی (۲،۶) اشاره کرد.

بر اساس مطالعات، در سال‌های اخیر وقوع بیماری‌های با منشأ مواد غذایی در نتیجه مصرف میوه و سبزیجات افزایش یافته است (۲،۶). در بین سال‌های ۱۹۹۵ تا ۲۰۰۶ میلادی در ایالات متحده آمریکا ۲۲ مورد شیوع بیماری گزارش شده است که تقریباً نیمی از آنها به علت مصرف کاهو و اسفناج آلوده بوده است. همچنین بر طبق نتایج مطالعات، گوجه، جوانه غلات و اسفناج علت اصلی شیوع بیماری‌های مرتبط با غذا در ایالات متحده آمریکا گزارش شده است (۷). سبزیجات ممکن است در مراحل کاشت، برداشت، حمل و نقل، توزیع و فروش و یا هنگام تهیه سالاد در منزل و یا آماده‌سازی در مراکز تهیه غذا آلوده گردند (۸). سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) در گزارشی اعلام نمود موضوع شیوع بیماری‌های قابل انتقال از غذا، در نتیجه مصرف سبزیجات عاملی نگران‌کننده و هشدارآمیز است (۹).

جلوگیری از آلوده‌شدن میوه و سبزیجات توسط عوامل بیماری‌زا باید هدفی اساسی در مرحله تولید، حمل و نقل و تحویل به مصرف‌کننده باشد؛ اما بسیاری از پاتوژن‌ها به عنوان فلور طبیعی خاک محسوب می‌شوند و ممکن است هنگام برداشت محصول روی آنها وجود داشته باشند (۳). از عوامل

مهم آلودگی سبزیجات می‌توان به استفاده از فاضلاب و پساب آلوده در زمین کشاورزی و همچنین استفاده از کودهای نارس انسانی و حیوانی اشاره نمود (۱۰). بر اساس مطالعات انجام شده در سال ۲۰۰۶ میلادی، تخمین زده شده است بیش از ۲۰ میلیون هکتار از زمین‌های کشاورزی در دنیا جهت آبیاری از فاضلاب خام، پساب آلوده و یا فاضلاب تصفیه شده استفاده می‌نمایند (۱۱).

شستشوی سبزیجات با آب فقط $1 \log_{10} \text{CFU/g}$ از بار میکروبی را کاهش می‌دهد (۴،۱۲). استفاده از آب روشی ساده و نسبتاً موثر در سالم‌سازی سبزیجات با بار آلودگی پایین است، اما استفاده از یک گندزدای مناسب جهت سالم‌سازی سبزیجاتی که بار آلودگی بالای دارند، ضروری بنظر می‌رسد (۱۳). در مطالعه سینگا و همکاران گزارش شد که شستشوی کاهو با آب دیونیزه جمعیت باکتری اشریشیاکلی O157: H7 تلقیح شده بر روی سطح کاهو را با چند بار شستشو $(1 \log_{10} \text{CFU/g})$ و با یک بار شستشو $(0.22 \log_{10} \text{CFU/g})$ کاهش می‌دهد (۱۲).

در سراسر دنیا بسته به میزان آلودگی و فرآیند تولید سبزیجات، روش‌های مختلفی جهت گندزدایی سالم‌سازی سبزیجات مورد استفاده قرار می‌گیرد. در برخی از کشورها آب کلرینه برای گندزدایی سبزیجات در مراحل مختلف از جمله پس از برداشت محصول، حمل و نقل و انجام پروسه بر روی آن، مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۴،۱۳). بر اساس نتایج مطالعه گارسیا-گومز^۱ و همکاران در مکزیک، مشخص شد که بیش از ۳۰ درصد از جمعیت مورد مطالعه، از یک محلول گندزدا با ماده موثر نقره^۲ برای گندزدایی سبزیجات استفاده می‌نمودند، ۲۸ درصد سبزیجات را فقط با آب و ۲۵ درصد نیز از هیپوکلریت سدیم جهت گندزدایی سبزیجات می‌نمودند، مابقی جمعیت مورد مطالعه از روش‌هایی مانند استفاده از نمک، دترجنت،

¹ Garcia-Gomez

² Colloidal Silver

مختلف از نظر فراوانی شاخ و برگ، داشتن فضای تقریباً بسته برای نگهداری عوامل بیماریزا که باعث می‌شود بر کارایی گندزدایی تأثیر بگذارد و در نتیجه با نظر به اطلاعات محدود در این زمینه، هدف اصلی این مطالعه، بررسی کارایی مراحل مختلف متداول‌ترین روش گندزدایی سبزیجات (در ایران) در کاهش کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی هشت نوع از پرمصرف‌ترین سبزیجات خوراکی می‌باشد.

روش کار

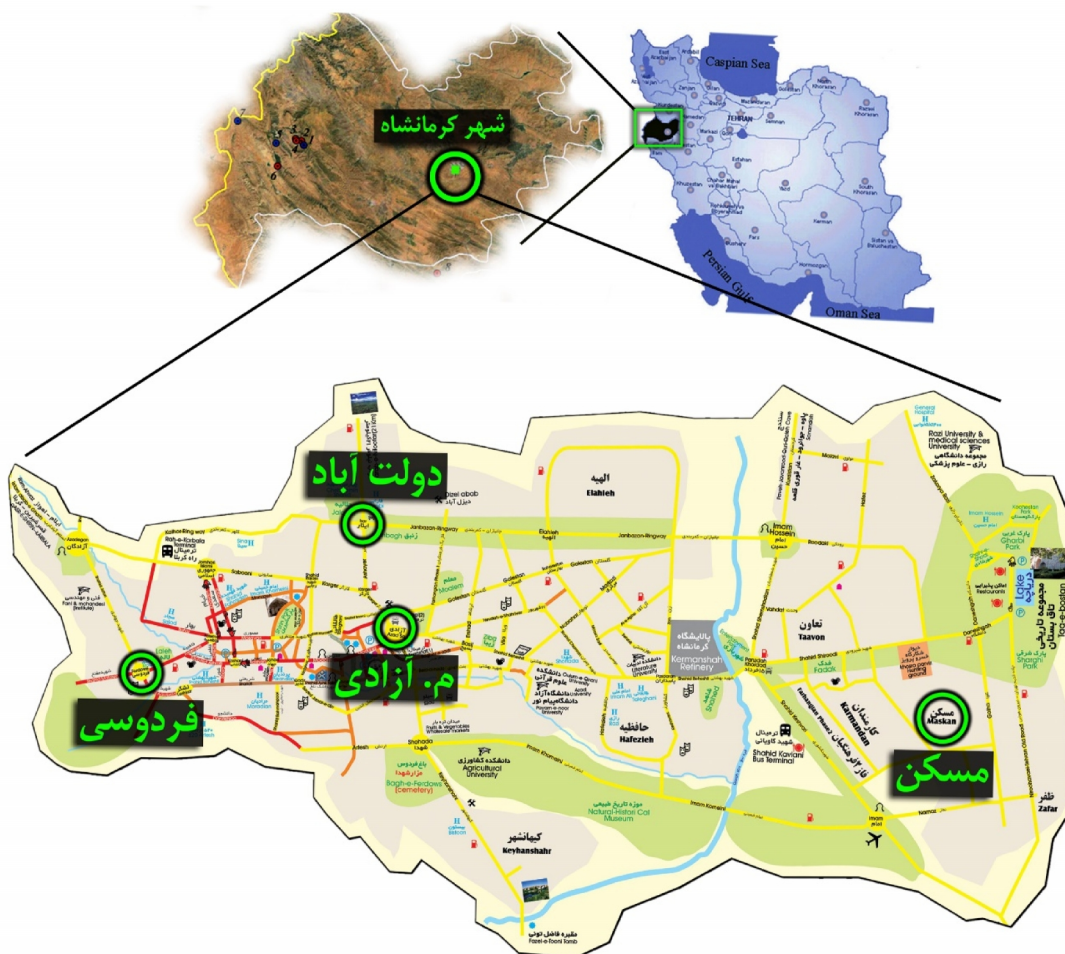
نمونه برداری

این مطالعه از نوع توصیفی-تحلیلی است. برای انجام این مطالعه، ابتدا ۸ منطقه از شهر کرمانشاه (فردوسی، میدان آزادی، دولت آباد و مسکن) در نظر گرفته شد (شکل ۱). ملاک انتخاب ۸ منطقه مذکور بر اساس لحاظ نمودن جهت‌های مختلف جغرافیایی (به ترتیب شمال، مرکز، شرق و غرب) شهر بود. از بازار هر یک از مناطق انتخاب شده، دو مغازه به‌طور تصادفی بر اساس اینکه بزرگترین مغازه سبزی‌فروشی آن منطقه از لحاظ مساحت و تنوع سبزیجات مورد فروش باشد انتخاب شد. از هر مغازه، هشت نوع سبزی مورد نظر (هر نوع ۲۰۰ گرم) به‌طور جداگانه داخل کیسه استریل قرار داده و بر روی کیسه‌ها برچسپ زده شد و نام سبزی و محل نمونه‌برداری یادداشت گردید. بر این اساس در کل مطالعه ۶۴ نمونه مورد بررسی قرار گرفت. لازم به توضیح است که هر آزمایش، ۳ بار تکرار شد و نتایج بصورت میانگین گزارش شد.

نمک به همراه لیمو، دترجنت به همراه محلول یددار و لیمو استفاده می‌نمودند (۱۵). در برزیل جهت گندزدایی و سالم‌سازی سبزیجات، از روش قراردادن سبزیجات در محلول هیپوکلریدت سدیم با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱۵ دقیقه استفاده می‌شود (۱۶).

در ایران، در سال‌های اخیر شیوع بیماری‌های قابل انتقال از مواد غذایی به علت مصرف سبزیجات آلوده باعث شیوع برخی از بیماری‌های واگیر از جمله بیماری‌های روده‌ای گردیده است (۱۷). در آیدمی سال ۱۳۸۴ خورشیدی در ایران، مصرف سبزیجات آلوده و سبزی آبیاری شده با فاضلاب به عنوان عامل اصلی بیماری و با اعلام گردیده است (۱۷). در مطالعه‌ای که در استان‌های مرکزی و گلستان انجام شد، مشاهده گردید که شستشوی نامناسب میوه و سبزیجات یکی از عوامل ابتلا به بیماری وبا در این دو استان است (۱۸). وزارت بهداشت ایران نیز دستورالعملی را جهت سالم‌سازی میوه و سبزیجاتی که به صورت خام مصرف می‌شوند ارائه نموده است که شامل: مرحله اول، شستشوی سبزیجات با آب (به‌منظور حذف گل و لای)، مرحله بعد انگل‌زدایی سبزیجات (۳ تا ۵ قطره دترجنت به ازای هر لیتر با زمان تماس ۵ دقیقه) و در مرحله سوم، گندزدایی سبزیجات با استفاده از گندزدای پرکلرین (کلر آزاد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر با زمان تماس ۵ دقیقه) و سپس شستشوی مجدد سبزیجات گندزدایی‌شده با آب می‌باشد (۱۹).

تاکنون تحقیقات مختلفی در خصوص تأثیر بسیاری از گندزداها جهت از بین بردن میکروارگانیزم‌های موجود بر روی سبزیجات در دنیا انجام گرفته است (۹، ۲۰-۲۲)، اما مطالعات محدودی در ارتباط با ارزیابی کارایی مراحل مختلف متداول‌ترین روش گندزدایی در کاهش عوامل میکروبی و انگلی انواع مختلف سبزی در نقاط مختلف ایران انجام شده است. علاوه بر آن با توجه به خصوصیات فیزیکی سبزیجات



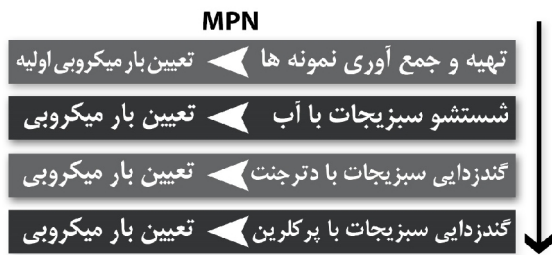
شکل ۱. موقعیت ۴ نقطه نمونه برداری در شهر کرمانشاه

آنالیز میکروبی و تعیین کارایی هر یک از مراحل

برای بررسی کارایی روش گندزدایی، در ابتدا لازم است که بار میکروبی اولیه نمونه‌های سبزی مورد ارزیابی قرار گیرد. به طور کلی در شکل ۲ شماتیک مراحل انجام این مطالعه آورده شده است. **مرحله اول:** در این مرحله، ۵۰ گرم از هر نمونه سبزی جدا شده و در داخل کیسه استریل حاوی ۲۵۰ میلی لیتر پیتون واتر (۱/۰ درصد، $pH=7/2$ ساخت شرکت مخلوط و یکنواخت شد. با استفاده از آزمایش کلیفرم و کلیفرم مدفوعی محلول مذکور تعیین شد (۲۳،۲۴).

مرحله دوم: در این مرحله، جهت تعیین تأثیر شستشوی سبزیجات با آب در کاهش بار میکروبی موجود بر روی آن، ۱۵۰ گرم از نمونه سبزیجات باقی‌مانده با آب بطور کامل شستشو داده شد (منظور از شستشوی کامل سبزی، ابتدا غرقاب نمودن آن به مدت ۵ دقیقه و سپس آبکشی آن می‌باشد). سپس ۵۰ گرم از آن را جدا نموده و در داخل کیسه استریل حاوی ۲۵۰ میلی لیتر پیتون واتر (۱/۰ درصد، $pH=7/2$ ، ساخت شرکت مرک) قرار گرفت و پس از تهیه سریال رقت از آن محلول، با استفاده از آزمایش MPN، جمعیت کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی آن تعیین شد. **مرحله سوم:** در این مرحله، جهت تعیین تأثیر دترجنت در کاهش بار میکروبی موجود بر روی سبزیجات،

¹ Most Probable Number



شکل ۲. مراحل انجام مطالعه

یافته‌ها

میزان میانگین کلیفرم کل در مراحل مختلف گندزدایی در نمونه سبزی‌های ریحان، تره فرنگی، کاهو، جعفری، گشنیز، برگ تربچه، چغندر و پیازچه در جدول ۱ ارائه شده است. بر این اساس میزان میانگین کلیفرم کل ریحان شسته نشده (خام)، شستشوشده با آب، شستشوشده با دترجنت و شستشوشده با محلول پرکلرین بر طبق نتایج آزمایش MPN به ترتیب برابر با ۶۱۶۶/۷ CFU/gr و ۷۵۰۰۰، ۱۷۶۶۶/۷، ۷۵۰۰۰۰ بود. برای تره فرنگی این مقادیر به ترتیب برابر با ۱۷۳۳۳/۳، ۶۸۶۶۶/۷، ۶۷۰۰۰ و ۶۱۶۶۶/۷ CFU/gr؛ برای کاهو به ترتیب برابر با ۶۲۲۵۰۰، ۸۵۰۰۰، ۲۶۵۰۰ و ۵۷۵۰ CFU/gr؛ برای جعفری به ترتیب برابر با ۲۴۰۰۰۰۰، ۲۴۰۸۰۰، ۲۲۰۸۰ و ۴۷۸۹۲/۸ CFU/gr؛ برای گشنیز به ترتیب برابر با ۲۱۰۰۰۰۰، ۳۵۵۰۰۰، ۱۱۰۰۰۰ و ۹۱۹۰۰ CFU/gr؛ برای برگ تربچه به ترتیب برابر با چغندر به ترتیب برابر با ۲۴۰۰۰۰۰، ۲۰۷۵۰۰، ۲۳۰۰۰۰۰ و ۱۷۵۲۵۰ CFU/gr؛ برای پیازچه به ترتیب برابر با ۲۲۰۰۰۰۰، ۱۱۷۷۵ و ۱۱۷۷۵ CFU/gr؛ در جدول ۲ نیز میزان میانگین کلیفرم مدفوعی در مراحل مختلف گندزدایی نمونه‌های مختلف سبزیجات مذکور ارائه گردیده است، که بر این اساس میزان میانگین کلیفرم مدفوعی ریحان شسته نشده (خام)، شستشوشده با آب، شستشوشده با دترجنت و شستشوشده با محلول پرکلرین بر اساس نتایج آزمایش MPN به ترتیب برابر با ۶۷۵۰۰۰، ۴۵۰۰۰

۱۰۰ گرم از نمونه سبزی باقی‌مانده از مرحله دوم (شستشو داده شده با آب)، در داخل یک لیتر آب حاوی ۳ قطره دترجنت خانگی به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد. سپس با آب شستشو داده شد و در نهایت ۵۰ گرم از آن را جدا گردید و در داخل کیسه استریل حاوی ۲۵۰ میلی لیتر پیتون واتر (۱/۱ درصد، pH=۷/۲ ساخت شرکت مرک) قرار گرفت و پس از تهیه سریال رقت از از محلول، با استفاده از آزمایش MPN، جمعیت کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی آن تعیین شد.

مرحله چهارم: در این مرحله، جهت تعیین تأثیر محلول پرکلرین، ۵۰ گرم نمونه باقی‌مانده در مرحله سوم (شستشو داده شده با آب + قرار داده شده در آب حاوی دترجنت)، در داخل محلول گندزدای پرکلرین (هیپوکلریت کلسیم، کلر فعال ۷۰٪، ساخت شرکت مرک) با غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. در ادامه نمونه سبزی، در داخل کیسه استریل حاوی ۲۵۰ میلی لیتر پیتون واتر (۱/۱ درصد، pH=۷/۲ ساخت شرکت مرک) قرار گرفته و پس از تهیه سریال رقت از محلول، با استفاده از آزمایش MPN، جمعیت کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی بر روی آن تعیین شد. لازم به توضیح است که در تمامی مراحل، میزان کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی بصورت ¹CFU/g گزارش شد. در نهایت تفاوت میزان کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی مراحل قبل و بعد گندزدایی بصورت راندمان حذف این دو پارامتر گزارش گردید. کلیه مراحل آزمایشات بر اساس مستندات کتابخانه‌ای استاندارد و تحت نظارت متخصصان آزمایشگاه، در آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه انجام گرفت، همچنین ضمن تهیه کلیه مواد شیمیایی مورد نیاز از فروشگاه‌های مورد تایید دانشگاه، کلیه مواد شیمیایی تهیه شده نیز از لحاظ کیفی توسط متخصصین مورد بررسی قرار گرفتند.

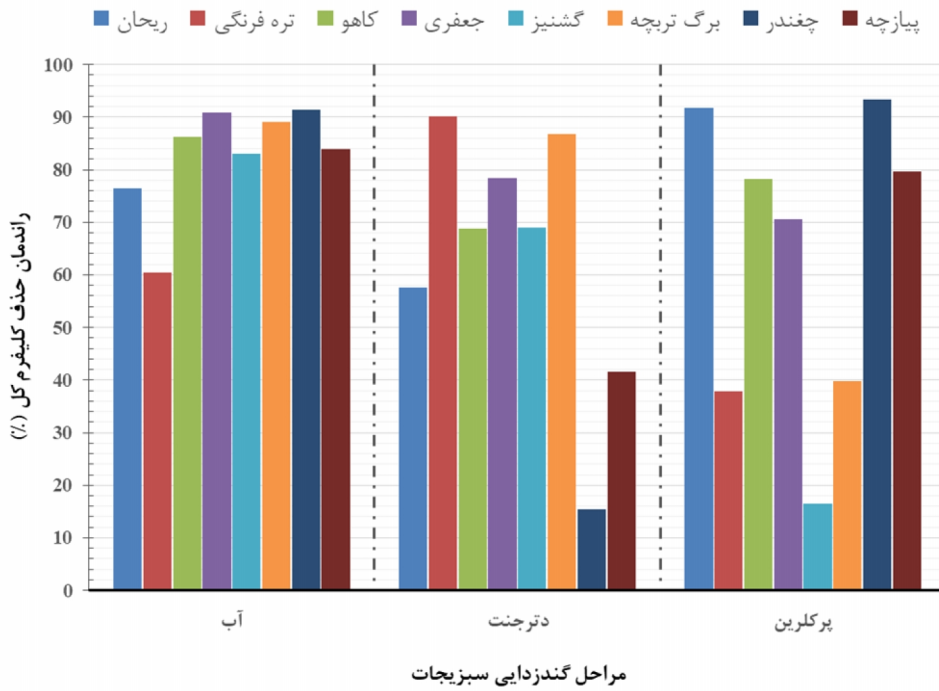
¹ Colony Forming Units per Gram

ترتیب ۶۰/۴، ۹۰/۲ و ۳۷/۸ درصد، برای کاهو به ترتیب ۸۶/۳، ۶۸/۸ و ۷۸/۳ درصد، برای جعفری به ترتیب ۹۰/۸، ۷۸/۴ و ۷۰/۵ درصد، برای گشنیز به ترتیب ۸۳/۱، ۶۹ و ۱۶/۵ درصد، برای برگ تربچه به ترتیب ۸۹/۱، ۸۶/۷ و ۳۹/۸ درصد، برای چغندر به ترتیب ۹۱/۴، ۱۵/۵ و ۹۳/۳ درصد و برای پیازچه ۸۳/۹، ۴۱/۵ و ۷۹/۶ درصد به دست آمد. همچنین بر اساس نمودار ۲، میزان راندمان حذف کلیفرم مدفوعی برای ریحان شستشوشده با آب، شستشوشده با دترجنت و شستشوشده با محلول پرکلرین به ترتیب برابر با ۹۳/۳، ۶۵ و ۸۸/۹ درصد، برای تره فرنگی به ترتیب ۹۲/۹، ۱۱/۸ و ۱۰۰ درصد، برای کاهو به ترتیب ۳۴/۶، ۲۳/۵ و ۶۹/۲ درصد، برای جعفری به ترتیب ۶۰/۹، ۸۵/۶ و ۱۰۰ درصد، برای گشنیز به ترتیب ۶۵/۵، ۷۵/۵ و ۸۹/۲ درصد، برای برگ تربچه به ترتیب ۸۰/۱، ۴۸/۳ و ۸۹/۵ درصد، برای چغندر به ترتیب ۷۶/۳، ۷۸ و ۱۰۰ درصد و برای پیازچه ۶۲/۵، ۹۵/۲ و ۵۵/۶ درصد به دست آمد.

۱۵۷۵۰ CFU/gr و ۱۷۵۰ CFU/gr بود. برای تره فرنگی این مقادیر به ترتیب برابر با ۶۰۰۰۰۰، ۴۲۵۰۰ و ۳۷۵۰۰ CFU/gr؛ برای کاهو به ترتیب برابر با ۶۵۰۰۰، ۴۲۵۰۰، ۳۲۵۰۰ و ۱۰۰۰۰ CFU/gr؛ برای جعفری به ترتیب برابر با ۲۸۷۵۰۰، ۱۱۲۴۱۲/۵، ۱۶۱۸۷/۴ و ۳۵۵۰۰۰ CFU/gr؛ برای گشنیز به ترتیب برابر با ۳۰۰۰۰، ۱۲۲۵۰۰، ۳۲۵۰ CFU/gr؛ برای برگ تربچه به ترتیب برابر با ۲۵۵۰۰۰، ۵۰۷۵۰ و ۲۶۲۵۰ CFU/gr؛ برای چغندر به ترتیب برابر با ۲۷۵۰ CFU/gr؛ برای پیازچه به ترتیب برابر با ۲۸۷۵۰، ۶۸۲۵۰، ۱۵۰۰۰ و ۰ CFU/gr و برای تره فرنگی به ترتیب برابر با ۵۶۷۵۰۰، ۲۱۳۰۰۰، ۱۰۲۵۰ و ۴۵۵۰ CFU/gr بود. میزان راندمان حذف کلیفرم کل و مدفوعی به ترتیب در نمودار ۱ و ۲ توسط مراحل مختلف گندزدایی در نمونه‌های مختلف سبزیجات مذکور آورده شده است، که بر طبق نمودار ۱ میزان راندمان حذف کلیفرم کل برای ریحان شستشوشده با آب، شستشوشده با دترجنت و شستشوشده با محلول پرکلرین به ترتیب برابر با ۷۶/۴، ۵۷/۵ و ۹۱/۸ درصد بود. مقادیر مذکور برای تره فرنگی به

جدول ۱. میزان کلیفرم کل در مراحل مختلف گندزدایی در نمونه‌های سبزیجات

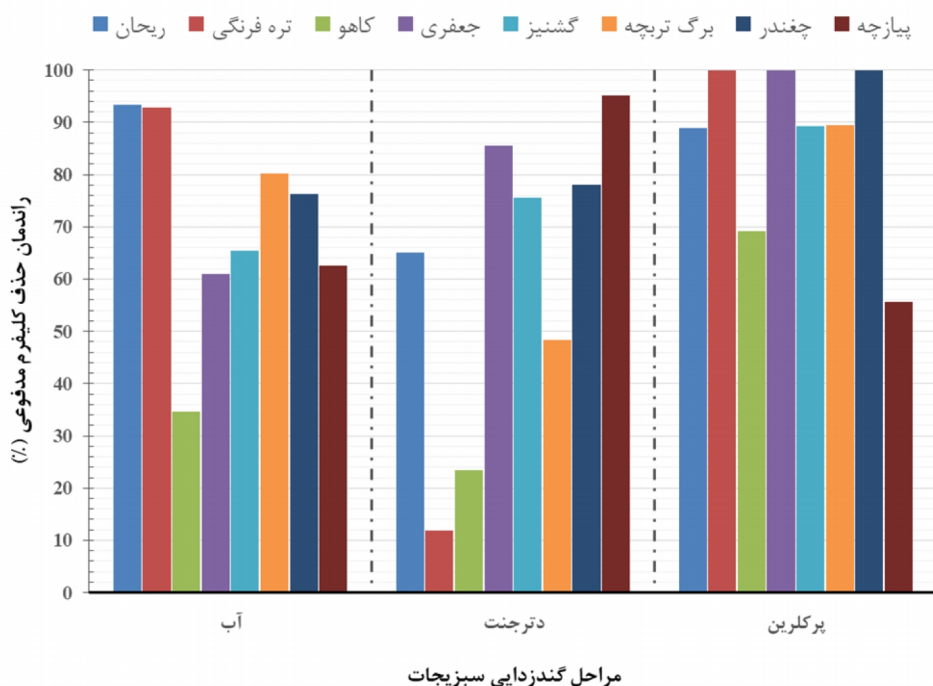
| نوع سبزی | پارامتر توصیفی | مراحل گندزدایی | | | |
|-----------|------------------|----------------|----------|----------|---------|
| | | اول (سبزی خام) | دوم | سوم | چهارم |
| ریحان | میانگین (CFU/gr) | ۷۵۰۰۰۰ | ۱۷۶۶۶۶/۷ | ۷۵۰۰۰ | ۶۱۶۶/۷ |
| | انحراف معیار | ۴۹۴۹۷۴/۷ | ۱۵۱۷۶۷/۴ | ۳۵۰۰۰ | ۵۶۱۹/۹ |
| تره فرنگی | میانگین (CFU/gr) | ۱۷۳۳۳۳۳/۳ | ۶۸۶۶۶۶/۷ | ۶۷۰۰۰ | ۴۱۶۶۶/۷ |
| | انحراف معیار | ۵۵۰۷۵۷/۱ | ۴۴۸۳۶۷/۴ | ۲۸۴۷۸/۱ | ۵۱۳۱/۶ |
| کاهو | میانگین (CFU/gr) | ۶۲۲۵۰۰ | ۸۵۰۰۰ | ۲۶۵۰۰ | ۵۷۵۰ |
| | انحراف معیار | ۳۳۳۹۰۳/۷ | ۹۳۲۷۳/۸ | ۱۹۷۴۰ | ۱۱۵۰۰ |
| جعفری | میانگین (CFU/gr) | ۲۴۰۰۰۰۰ | ۲۲۰۸۰۰ | ۴۷۸۹۲/۸ | ۱۴۱۲۸/۴ |
| | انحراف معیار | ۰ | ۶۵۰۰۰ | ۱۳۸۹۷/۴ | ۶۸۲۹/۵ |
| گشنیز | میانگین (CFU/gr) | ۲۱۰۰۰۰۰ | ۳۵۵۰۰۰ | ۱۱۰۰۰۰ | ۹۱۹۰۰ |
| | انحراف معیار | ۱۱۳۱۳۷۰/۸ | ۱۰۶۰۶۶ | ۱۶۳۲۹/۹ | ۹۱۶۶۶/۳ |
| برگ تربچه | میانگین (CFU/gr) | ۲۳۰۰۰۰۰ | ۲۵۰۰۰۰ | ۳۳۲۵۰ | ۲۰۰۰۰ |
| | انحراف معیار | ۳۴۶۴۱۰/۲ | ۱۲۹۳۵۷/۴ | ۲۸۹۳/۴ | ۸۶۶۰/۳ |
| چغندر | میانگین (CFU/gr) | ۲۴۰۰۰۰۰ | ۲۰۷۵۰۰ | ۱۷۵۲۵۰ | ۱۱۷۷۵ |
| | انحراف معیار | ۰ | ۶۵۰۰۰ | ۱۳۱۸۹۷/۴ | ۶۸۲۹/۵ |
| پیازچه | میانگین (CFU/gr) | ۲۲۰۰۰۰۰ | ۳۵۵۰۰۰ | ۲۰۷۵۰۰ | ۴۲۲۵۰ |
| | انحراف معیار | ۷۷۰۲۸۱/۳ | ۱۵۵۰۲۶/۹ | ۵۰۰۰ | ۱۳۲۰۰/۴ |



نمودار ۱. میزان راندمان حذف کلیفرم کل توسط مراحل مختلف گندزدایی در نمونه‌های سبزیجات

جدول ۲. میزان کلیفرم مدفوعی در مراحل مختلف گندزدایی در نمونه‌های سبزیجات

| نوع سبزی | پارامتر توصیفی | مراحل گندزدایی | | | |
|-----------|------------------|----------------|----------|---------|--------|
| | | اول (سبزی خام) | دوم | سوم | چهارم |
| ریحان | میانگین (CFU/gr) | ۶۷۵۰۰۰ | ۴۵۰۰۰ | ۱۵۷۵۰ | ۱۷۵۰ |
| | انحراف معیار | ۸۰۵۷۰۸/۸ | ۴۶۵۴۷/۵ | ۱۹۴۶۵/۸ | ۳۵۰۰ |
| تره فرنگی | میانگین (CFU/gr) | ۶۰۰۰۰۰ | ۴۲۵۰۰ | ۳۷۵۰۰ | ۰ |
| | انحراف معیار | ۶۹۲۸۲۰/۳ | ۳۶۸۵۵/۶ | ۷۵۰۰۰ | ۰ |
| کاهو | میانگین (CFU/gr) | ۶۵۰۰۰ | ۴۲۵۰۰ | ۳۲۵۰۰ | ۱۰۰۰۰ |
| | انحراف معیار | ۲۸۸۶۷/۵ | ۲۶۸۵۵/۶ | ۴۲۷۲۰ | ۲۰۰۰۰ |
| جعفری | میانگین (CFU/gr) | ۲۸۷۵۰۰ | ۱۱۲۴۱۲/۵ | ۱۶۱۸۷/۴ | ۰ |
| | انحراف معیار | ۲۳۶۶۹۶ | ۴۹۲۶۳/۷ | ۷۳۲۰/۵ | ۰ |
| گشنیز | میانگین (CFU/gr) | ۳۵۵۰۰۰ | ۱۲۲۵۰۰ | ۳۰۰۰۰ | ۳۲۵۰ |
| | انحراف معیار | ۲۱۶۷۱۷/۹ | ۱۰۷۱۹۹/۲ | ۴۰۸۲۴/۸ | ۲۲۱۷/۴ |
| برگ تربچه | میانگین (CFU/gr) | ۲۵۵۰۰۰ | ۵۰۷۵۰ | ۲۶۲۵۰ | ۲۷۵۰ |
| | انحراف معیار | ۱۱۷۰۴۷ | ۳۶۰۶۸/۲ | ۳۰۳۷۹/۵ | ۳۴۰۳/۴ |
| چغندر | میانگین (CFU/gr) | ۲۸۷۵۰۰ | ۶۸۲۵۰ | ۱۵۰۰۰ | ۰ |
| | انحراف معیار | ۲۳۶۶۹۶ | ۴۹۲۶۳/۷ | ۱۷۳۲۰/۵ | ۰ |
| پیازچه | میانگین (CFU/gr) | ۵۶۷۵۰۰ | ۲۱۳۰۰۰ | ۱۰۲۵۰ | ۴۵۵۰ |
| | انحراف معیار | ۱۶۶۶۰۸/۳ | ۱۰۳۴۵۳/۷ | ۸۶۱۶/۸ | ۵۲۵۳/۹ |



نمودار ۲. میزان راندمان حذف کلیفرم مدفوعی توسط مراحل مختلف گندزدایی در نمونه‌های سبزیجات

بحث

نتایج مطالعه نشان داد که در سبزی‌های با شاخ و برگ بیشتر و دارای زوایای پنهان (مانند ریحان، پیازچه و گشنیز) میزان کلیفرم مدفوعی با وجود اعمال تمام مراحل گندزدایی بر روی آنها، به صفر نرسید. یکی از دلایل این امر می‌تواند، وجود شاخ و برگ فراوان نسبت سایر سبزیجات باشد که باعث می‌شود محلول آب، دترجنت و پرکلرین به بعضی منافذ این نوع سبزیجات نرسد. از دلایل دیگر این امر، شاید عدم زمان ماند کافی در نظر گرفته شده (در دستورالعمل وزارت بهداشت) برای تماس محلول پر کلرین با سبزیجات باشد. از دلایل احتمالی دیگر، عدم اختلاط کامل و کافی سبزیجات با محلول پر کلرین باشد. در واقع ممکن است صرفاً غوطه‌ور کردن سبزیجات در محلول آب و پرکلرین کافی نباشد و نیاز است که چندین بار سبزیجات در محلول تهیه شده بهم زده شود. کسکین^۱ و همکاران گزارش دادند که دترجنت

¹ Keskinen

خاصیت آبگریزی پوست سبزیجات و همچنین سبزیجات برگی شکل را کاهش می‌دهد و در نتیجه باعث افزایش تماس بین سلول‌های پاتوژن و ماده گندزدا می‌گردد و کارایی ماده گندزدا را افزایش می‌دهد (۲۵).

طبق نتایج بیشترین راندمان حذف کلیفرم کل در مرحله شستشو با آب مربوط به چغندر با ۹۱/۴ درصد و برای کلیفرم مدفوعی در این مرحله شستشو بیشترین راندمان حذف مربوط به ریحان با ۹۳/۳ درصد بود. بیشترین راندمان حذف کلیفرم کل در مرحله شستشو با دترجنت مربوط به تره فرنگی با ۹۰/۲ درصد و برای کلیفرم مدفوعی در این مرحله شستشو، پیازچه با ۹۵/۲ درصد بیشترین راندمان حذف را به دست آورد و بیشترین راندمان حذف کلیفرم کل در مرحله شستشوی سبزیجات با محلول پرکلرین مربوط به چغندر با ۹۳/۳ درصد و برای کلیفرم مدفوعی بیشترین راندمان در این مرحله مربوط به جعفری و چغندر هر دو با ۱۰۰ درصد به دست آمد.

بر اساس مطالعه غلامی و همکاران میانگین بار اولیه کلیفرم کل موجود بر روی کاهوهای عرضه شده در بازار ارومیه $3/557 \log_{10}$ CFU/g بود، که پس از تمیز کردن و شستشو با آب میانگین کل کلیفرم به $3/35 \log_{10}$ CFU/g، در مرحله شستشو با دترجنت به $2/07 \log_{10}$ CFU/g و در مرحله گندزدایی با پرکلرین به $0/9 \log_{10}$ CFU/g یافت (۲۶). در مطالعه حاضر، برای کاهو بیشترین راندمان، مربوط به حذف کلیفرم کل در مرحله شستشو با آب (۰/۸۶/۳) به دست آمد. مطالعه انجام شده توسط یاراحمدی و همکاران نشان داد که پس از گندزدایی کاهو بر اساس دستورالعمل توصیه شده وزارت بهداشت در مرحله شستشو با آب، میزان حذف کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی به ترتیب ۷۸/۱ درصد و ۷۹/۶ درصد، در مرحله استفاده از دترجنت به ترتیب ۹۴/۸ درصد و ۹۸/۵ درصد و در مرحله گندزدایی با پرکلرین به ترتیب ۹۸/۳ درصد و ۱۰۰ درصد کاهش یافت (۲۷). نتایج مطالعه ژانگ^۱ و همکاران نشان داده است که گندزدایی کاهو با پرکلرین (غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) باعث کاهش کلیفرم بر روی کاهو به میزان $1/3 \log_{10}$ CFU/g شد (۲۸). بر اساس نتایج حاصله از مطالعه حاضر، بطور کلی سبزیجات، برگ ترپچه، پیازچه و گشنیز بیشترین میزان آلودگی و کاهو کمترین میزان آلودگی اولیه از نظر کلیفرم کل و مدفوعی را دارا بودند. در مطالعه‌ای که توسط ناسکیمنتو^۲ و همکاران در کشور برزیل انجام شد، بار اولیه کل کلیفرم و اشرشیاکلی موجود بر روی ۱۰ نمونه کاهو مورد بررسی قرار گرفت و نتایج این مطالعه نشان داد که میانگین بار اولیه کل کلیفرم و اشرشیاکلی در نمونه‌های بررسی شده به ترتیب $3/25 \log_{10}$ CFU/g و $1/64$ CFU/g بوده است (۱۶).

مطالعه آیسيسک^۳ و همکاران نیز نشان داد که بار اولیه کل کلیفرم و اشرشیاکلی موجود بر روی سبزیجات کاهو، شوید، هویج و جعفری به ترتیب \log_{10} $7/4$ CFU/g و $3/8 \log_{10}$ CFU/g و کل باکتری‌های بی‌هوازی و $1/64 \log_{10}$ CFU/g بوده است (۲۹).

با توجه به نقش سبزی‌های خوراکی در رژیم غذایی روزانه مردم، این میزان آلودگی می‌تواند قابل توجه باشد. از طرفی دیگر با توجه به اینکه، بعضی از خانوارها قبل از مصرف سبزیجات، فقط به شستشو و یا اگر امکان آن فراهم باشد از دترجنت نیز استفاده نمایند، لذا با توجه به میزان آلودگی اولیه بالای سبزیجات، این نوع شستشو می‌تواند مشکلات سلامتی را در مصرف‌کننده‌ها ایجاد نماید. بنابراین تأکید و توصیه لازم از طرف رسانه‌ها و همچنین کارشناسان بهداشت محیطی در جهت استفاده از پرکلرین در گندزدایی سبزیجات، طبق دستورالعمل وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، امری ضروری است.

بیشترین و کمترین آلودگی اولیه میکروبی در این مطالعه، به ترتیب منطقه دولت آباد و منطقه فردوسی به دست آمد. دلایل احتمالی تفاوت در میزان آلودگی در مکان‌های مختلف نمونه‌برداری، شامل مواردی از جمله: تفاوت در شیوه انتقال سبزیجات به مغازه‌های سبزی فروشی، شستشو و یا عدم شستشوی اولیه در مغازه‌ها برای جذب مشتری، تفاوت در نوع منبع آبیاری مزارع سبزیجات، تفاوت در نوع کود مصرفی در مزارع سبزیجات، وجود عوامل ایجاد آلودگی ثانویه در هنگام برداشت، حمل و نقل و فروش و غیره می‌باشد. تفاوت سبزیجات مورد بررسی در تأثیرپذیری از فرآیندهای مختلف (شستشوی با آب، استفاده از دترجنت و کاربرد کلر) برای حذف کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی نیز می‌تواند به دلایل مختلفی باشد. پر شاخ و برگ بودن سبزیجات می‌تواند یک عامل محافظتی در برابر مراحل مختلف ضدعفونی

¹ Zhang

² Nascimento

³ Aycicek

بویژه کاربرد کلر و دترجنت باشد. علاوه بر آن، جنس بافت خود سبزیجات (صاف یا زبر بودن) می‌تواند پارامتر مهمی بر اثرگذاری هر یک مراحل مختلف ضدعفونی در کاهش کلیفرم‌ها باشد. پیشنهاد می‌شود محققان در مطالعات آتی مواردی که در این مطالعه مورد بررسی قرار نگرفته‌اند، از جمله تاثیر شیوه انتقال سبزیجات به مراکز فروش، تاثیر روش آبیاری، تاثیر نوع کود مصرفی و دیگر موارد مربوط که احتمالاً بر میزان آلودگی اولیه میکروبی سبزیجات تاثیر می‌گذارند، و همچنین تاثیر زمان ماند طولانی‌تر در هنگام شستشو و گندزدایی که احتمالاً می‌تواند پارامتری تاثیرگذار برای میزان کارایی حذف کلیفرم کل و مدفوعی بر روی سبزیجات باشد، مورد مطالعه و بررسی قرار دهند.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه نشان داد که برای دستیابی به بالاترین کارایی در کاهش عوامل میکروبی سبزیجات نیاز است که مراحل مختلف دستورالعمل گندزدایی بطور کامل و طبق شرایط مربوطه انجام شود. علاوه بر آن برای سبزیجات با شاخ و برگ زیاد، لازم است عمل بهم‌زدن

(مخلوط نمودن) محلول پرکلرین و سبزیجات انجام شود تا گندزدایی بطور کارا و مؤثرتری صورت پذیرد. در این راستا، کوشش رسانه‌ها و کارشناسان بهداشتی ضروری است. همچنین پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آتی مطالعه بر روی پارامترهای مؤثر بر فرآیند گندزدایی و مراحل مختلف گندزدایی از جمله کافی بودن یا نبودن زمان ماند در نظر گرفته شده (طبق دستورالعمل اعلام شده) انجام شود. علاوه بر آن آموزش عرضه‌کنندگان سبزیجات در جهت عدم ایجاد آلودگی ثانویه در سبزیجات از راه‌های مختلف، ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه تحت حمایت معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه- با شماره طرح: ۹۵۱۰۷ و کد اخلاق: KUMS.REC.1395.61 انجام شد.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافی از طرف نویسندگان وجود ندارد.

References

- 1- Dimitri C, Tegene A, Kaufman PR. U.S. Fresh Produce Markets: Marketing Channels, Trade Practices, and Retail Pricing Behavior, Agricultural Economic Report No. (AER-825). [Online]. 2003 [cited 2003 Sep]; Available from: URL: <http://www.ers.usda.gov/Publications/AER825/>.
- 2- Allende A, Mcevoy JL, Tao Y, Luo Y. Antimicrobial effect of acidified sodium chlorite, sodium chlorite, sodium hypochlorite, and citric acid on Escherichia coli O157:H7 and natural microflora of fresh-cut cilantro. *Food Control* 2008; 20: 230-4.
- 3- Beuchat LR, Ryu JH. Produce handling and processing practices. *Emerg Infect Dis* 1997; 3(4): 459-65.
- 4- Nguyen-the C, Carlin F. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1994; 34(4): 371-401.
- 5- Johannessen GS, Loncarevic S, Kruse H. Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. *Int J Food Microbiol* 2002; 77(3): 199-204.
- 6- Abadias M, Usall J, Anguera M, Solsona C, Vinas I. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *Int J Food Microbiol* 2008; 123(1-2): 121-9.
- 7- Elano RR, Kitagawa T, Bari ML, Kawasaki S, Kawamoto S, Inatsu Y. Comparison of the effectiveness of acidified sodium chlorite and sodium hypochlorite in reducing Escherichia coli. *Foodborne Pathog Dis* 2010; 7(12): 1481-9.
- 8- Beuchat LR. Surface disinfection of raw produce. *Dairy, Food Environ. Sanitation* 1991;12(1): 6-9.

- 9- Beuchat LR. Pathogenic Microorganisms Associated with Fresh produce. *J Food Prot* 1996; 59(2): 204-16.
- 10-The FDA: fresh leafy greens grown in the United States are safe. *FDA Consum* 2006; 40(6): 11.
- 11-Hamilton AJ, Stagnitti F, Premier R, Boland AM, Hale G. Quantitative microbial risk assessment models for consumption of raw vegetables irrigated with reclaimed water. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72(5): 3284-90.
- 12-Singh N, Singh RK, Bhunia AK, Stroshine RL. Efficacy of Chlorine Dioxide, Ozone & Thyme Essential Oil or a Sequential Washing in Killing *E. coli* O157:H7 on Lettuce and Baby Carrots. *Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie*, 2002; 35(8): 720-9.
- 13-Adams HR, Hartley AD, Cox LJ. Factors Affecting the Efficiency of Washing Procedures Used in Production of Prepared Salads. *Food Microbiol* 1989; 6: 69-77.
- 14-Weissinger WR, Chantarapanont W, Beuchat LR. Survival and growth of *Salmonella* bairdii in shredded lettuce and diced tomatoes, and effectiveness of chlorinated water as a sanitizer. *Int J Food Microbiol* 2000; 62(1-2): 123-31.
- 15-Garcia-Gomez R, Chavez-Espinosa J, Mejia-Chavez A, Durande-Bazua C. Microbiological determinations of some vegetables from the Xochimilco zone in Mexico City, Mexico. *Rev Latinoam Microbiol* 2002; 44(1): 24-30.
- 16-Nascimento MS, Silva N, Catanozi MP, Silva KC. Effects of different disinfection treatments on the natural microbiota of lettuce. *J Food Prot* 2003; 66(9): 1697-700.
- 17-Rahbar M, Sabourian R, Saremi M, Abbasi M, Masoomi A, Soroush M. Epidemiological and Drug Resistant Pattern of Summer of 2005 Outbreak In Iran. *JAUMS* 2007; 7(1): 41-5.
- 18-Khodabakhshi B, Heidari M, Fazeli MR, Ghaemi E, Karimi MS. Epidemiological Study of Clinical and Paraclinical Manifestation of Cholera Patients and Report of Uncommon Manifestation of During the Epidemic Episode in Gorgan. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences* 2001; 3(8):43-6.
- 19-Ministry of Health and medical education of Iran. Guideline to disinfection vegetable [Online]. 2010; Available from: URL: [www. behdasht .gov. ir/](http://www.behdasht.gov.ir/).
- 20-Baert L, Vandekinderen I, Devlieghere F, Van CE, Debevere J, Uyttendaele M. Efficacy of sodium hypochlorite and peroxyacetic acid to reduce murine norovirus 1, B40-8, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* O157:H7 on shredded iceberg lettuce and in residual wash water. *J Food Prot* 2009; 72(5): 1047-54.
- 21-Lopez-Galvez F, Allende A, Selma MV, Gil MI. Prevention of *Escherichia coli* cross contamination by different commercial sanitizers during washing of fresh-cut lettuce. *Int J Food Microbiol* 2009; 133(1-2): 167-71.
- 22-Lopez-Galvez F, Gil MI, Truchado P, Selma MV, Allende A. Cross-contamination of fresh-cut lettuce after a short-term exposure during pre-washing cannot be controlled after subsequent washing with chlorine dioxide or sodium hypochlorite. *Food Microbiol* 2010; 27(2): 199-204.
- 23-Eaton AD, Franson MA. Standard methods for the examination of water & wastewater. 21st ed. Washington, DC:American Public Health Association; 2005.
- 24-Jay JM. Modern food microbiology. 6th ed. New York: Aspen Publishers; 2000.
- 25-Keskinen LA, Annous BA. Efficacy of adding detergents to sanitizer solutions for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on Romaine lettuce. *Int J Food Microbiol* 2011; 147(3): 157-61.
- 26-Gholami F, Nejatizadeh F, Hajimala F, Nilufari N, Kakallahpur C. Survey and comparison efficacy of alkyl dimethylbenzyl ammonium chloride and benzalkonium chloride and chlorine in reducing of microbial load of lettuce. *Nursing and Midwifery Journal* 2014; 12 (5) :329-339
- 27-Yarahmadi M, Younesian M, Moebedi I, Pourmand M, Shahsavani A, Naemanpour B, et al. Evaluating the Efficiency of the Common Method of Lettuce Disinfection in Iran. *Health Sys. Res* 2012; 7(6). [Persian]
- 28-Zhang S, Farber JM. The Effects of Various Disinfectants against *Listeria monocytogenes* on Fresh-cut vegetables. *Food Microbiol* 1996; 13(4):311-21.
- 29-Aycicek H, Oguz U, Karci K. Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara, Turkey. *Int J Hyg Environ Health* 2006; 209(2): 197-201.