دراسة تأثير الهايبوكلورايت في بعض الأحياء المجهرية الملوثة لبعض أنواع خضار السلطات من الأسواق المحلية

كركز محمد ثلج **أمين سليمان بدوي** **احمد محمد علي**

قسم علوم الأغذية والتقانات الإحيائية، كلية الزراعة، جامعة تكريت، العراق

كلية التمريض، جامعة الموصل، الموصل، العراق

الخلاصة

جمعت ثلاثمائة واثنان من أنواع خضراوات السلطة شملت الخيار والخس والبصل والكرفس والفلفل والطماطة من الأسواق المحلية لمحافظة صلاح الدين، وتم فحص محتواها من أعداد بكتريا القولون الكلية وبكتريا القولون البرازية وأعداد الاعفان كما حللت لمعرفة محتواها من أنواع بكتريا السالمونيلا. تم دراسة فعل هايبوكلورايت الصوديوم على محتوى نماذج الخضراوات من الأحياء المجهرية أعلاه عند غمرها مع التحريك لفترات ٥ و ١٠ و١٥ دقيقة. تبين من النتائج بان أعداد بكتريا القولون الكلية تراوحت مابين ٢.٨ × ١٠ ٥ في الطماطة إلى ٤.٢ × ١٠ ٨ خلية/غم من الخيار، أما أعداد بكتريا القولون البرازية فقد تراوحت من ١.١ × ١٠ ٣ خلية/غم في الطماطة إلى ٢.٩ × ١٠ ٦خلية/غم في الخس وتراوحت الاعفان من ١.٣ × ١٠ ٥ خلية/غم في الخيار إلى ٣.٤ × ١٠ ٦ خلية/غم في الخس. وقد وجدت أنواع بكتريا السالمونيلا في نسب من نماذج كل من الطماطة والبصل والخيار والفلفل والخس والكرفس تراوحت مابين ٤.١ و ٦.٥ و ٧.٤ و ٨.٣ و ١٣.٨ و ٢٢.٧ % على التوالي. أدى غمر نماذج الخضراوات في محلول الهايبوكلورايت لمدة ٥ دقائق إلى خفض أعداد بكتريا القولون الكلية إذ تراوحت من ١٧ في الطماطة و١٢٠خلية/غم في الخس بينما تواجدت بكتريا القولون البرازية فقط في نماذج كل من الخس والكرفس والخيار بأعداد ١٠ و ١٢ و ١٤خلية/غم على التوالي والاعفان بأعداد ١٣ و ١٢ و ١٠خلية/غم على التوالي. وعندما استخدم محلول الهايبوكلورايت لمدة ١٠ دقائق فأنه سبب في الانخفاض الحاد في أعداد الأحياء المجهرية في نماذج الخضراوات إذ لم تتواجد إلا في كل من الخس والكرفس حيث أصبحت ٢٢ و ١٨ من بكتريا القولون الكلية و٤ و٣ من بكتريا القولون البرازية و٦ و ٤خلية/غم من الاعفان على التوالي. وعند ترك النماذج في محلول الهايبوكلورايت لفترة ١٥ دقيقة فانها خلت تماما من كافة أنواع الأحياء المجهرية الملوثة لها.

المقدمة

تعد الفواكه والخضراوات الطازجة ذات أهمية بالغة كونها تعتبر احد العناصر الأساسية في غذاء الإنسان. وقد ازداد استهلاكها لأكثر من ٢٠% في السنوات الأخيرة لاسيما بعد الإلمام الكامل في دورها في الحد والوقاية من أمراض العصر كالسرطانات وأمراض القلب وداء السكري وارتفاع ضغط الدم (ICMSF ،١٩٨٠). تتلوث هذه الخضراوات بالأحياء المجهرية نتيجة للعمليات الزراعية التي تجري على المحصول كالتسميد العضوي أو التي تعقب نمو المحصول كالسقي(Rosas وآخرون ١٩٨٤ وHo وآخرون ١٩٨٦ و Pell ، ١٩٩٧) او خلال عمليات الجني او التداول او التغليف او التسويق وان البكتريا المرضية الملوثة لم يكن أي منها ذا امراضية لانسجة المحصول الحامل لها(Bolin وآخرون ١٩٧٧ و Berrang وآخرون ١٩٨٩). نتيجة لعمليات التلوث هذه فان الخضراوات الطازجة تصبح كناقل للكثير من البكتريا المرضية، لاسيما البكتريا المرضية المعوية (Ibrahim، ١٩٩٦ و Tauxe وآخرون ١٩٩٧). وان العوامل الموسمية ونوع التربة يمكن ان يكون لها تاثير مباشر في تواجد وحيوية انواع البكتريا *E.coli* و *Salmonella* في انواع الخضراوات (Lau Zibilske و Weaver ، ١٩٧٨ وIngham ،٢٠٠١ وSolomon وآخرون ٢٠٠٢). وقد ذكر مركز السيطرة والحد من الامراض في امريكا (Centers for Disease Control and Prevention) بأن اعداد الحالات المرضية المنقولة عن طريق الفواكة والخضراوات قد تضاعفت بسبب زيادة الاقبال على تناول الوجبات السريعة مابين الاعوام ٧٣-١٩٨٧م وتضاعفت ثانية في الاعوام ٨٨-١٩٩٢م (Bean وآخرون ١٩٩٧وMead وآخرون ١٩٩٩). كما تعتبر المطاعم من المصادر المهمة في زيادة التلوث عن طريق تداول الخضراوات قبل الاستهلاك فقد وجدت

تاريخ تسلم البحث ٢٠٠٧/٩/٢٣ وقبوله ٢٠٠٧/١٢/١

الكثير من حالات التسمم بالاغذية المتناولة بهذه الطريقة (CDC ، ١٩٩٩وCNN، ١٩٩٦و٢٠٠٣). تتباين المعقمات في مدى تأثيرها في الحد من الحمولة المايكروبية للخضراوات في حالة استخدامها اعتمادا على عوامل متعددة فقد وجد Sapers وآخرون (٢٠٠٠) بان استخدام محلول الهايبوكلورايت بتركيز ٣% ولفترة ١٠ دقيقة قد ازال ٩٠-٩٩% من التلوث الحاصل في ثمار التفاح المغسولة به . اما في حالة غمرها بأستخدام بيروكسيد الهيدروجين فأنه قد ازال نسبة من التلوث وصلت الى ٩٩.٩% (Annousوآخرون ٢٠٠١). ومن هذا فان الهدف من الدراسة هو بيان مدى التلوث من الانواع المايكروبية المختلفة الحاصل في الخضراوات الاكثر استعمالا في اعداد السلطات ، فضلا عن بيان مدى كفاءة هايبوكلورايد الصوديوم في الحد او التخلص من الانواع المايكروبية في بعض انواع الخضراوات.

مواد البحث وطرائقه

تم جمع عينات الخضراوات التالية الخيار والخس والبصل والكرفس والفلفل والطماطة وبأعداد ٥٣ و ٥١ و ٤٩ و ٥٠ و ٤٩ و ٥٠ على التوالي، من الاسواق المحلية في محافظة صلاح الدين، وحفظت في اكياس من البولي اثيلين المعقمة لنقلها الى المختبر وتم حفظها مباشرة في الثلاجة على ٤مْ لحين الاستخدام. تم وزن ١٠ غم من كل نموذج واضيف الى فلاسك حجم ١٠٠مل يحتوي على ٩٠مل من البيتون المحضر حسب تعليمات الشركة المصنعة (Oxoid) الذي تم تعقيمه بأستخدام الموصدة على ١٢١ مْ لمدة ٢٠ دقيقة للحصول على تخفيف ١٠-١. وبعد التحريك لمدة ١٠ دقائق تم اكمال التخافيف حسب الحاجة لكل نموذج.وقد تم التحري وتقدير اعداد الاحياء المجهرية التالية:

١- بكتريا القولون الكلية التي تم تنميتها على وسط MacConkey Agar (Oxoid) على درجة حرارة ٣٧ مْ لمدة ٢٤ ساعة. كذلك بكتريا القولون البرازية التي نميت مباشرة على وسط Agar Eosin Methelyne Blue (EMB) (Oxoid) وتم النحضين على ٤٤.٥ مْ لمدة ٢٤ ساعة وقدرت الاعداد الكلية لها وكما في AOAC ، (١٩٨٤).

٢- بكتريا السالمونيلا *Salmonella* بعد التلقيح على وسط Brilliant green agar (Oxoid) تم العزل على وسط Bismuth Sulfite Agar (Oxoid) وكما جاء في Noel وآخرون (١٩٩٤).

٣- الاعفان بعد ان تم تلقيح ١ مللتر من كل من التخفيفين الاخيرين وتلقيحها بطريقة النشر(Spreading) على كل من اوساط Potato Dextrose Agar و Malt Extract Agar و Zapadox Agar و Saboroued Agar وجميعها مجهزه من شركة (Oxoid) تم التحضين على ٢٨ مْ لمدة ٥-٧ ايام. بعدها تم التعرف على انواع الاعفان كما جاء في Washington وآخرون (٢٠٠٦).

وتم اعادة نفس العمل في تحضير والتحري عن انواع الاحياء المجهرية في الفقرات ١ و٢ و٣ في النماذج اعلاه بعد غمرها مع التحريك المستمر لفترات ٥ و ١٠ و ١٥ دقيقة في محلول ٢% من هايبوكلورايت الصوديوم.

النتائج والمناقشة

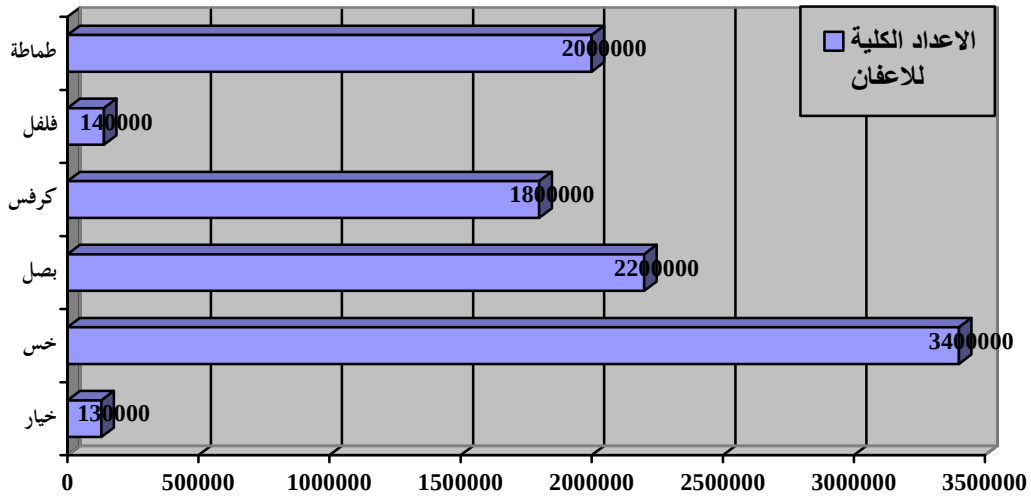
ان الاعداد الكلية لبكتريا القولون واعداد بكتريا القولون البرازية في نماذج الخضراوات لكل من الخيار والخس والبصل والكرفس والفلفل والطماطة تم توضيحها في الجدول (١) . اذ تبين من النتائج بان بكتريا القولون الكلية تراوحت اعدادها من ٢.٨ × ١٠ ^٥ خلية/غم في نماذج الطماطة الى ٤.٢ × ١٠ ^٨ خلية/غم في نماذج الخيار. بينما تراوحت اعداد بكتريا القولون البرازية من ١.١ × ١٠ ^٣ خلية/غم في نماذج الطماطة الى ٢.٩ × ١٠ ^٦ خلية/غم في نماذج الخس.

اما اعداد الاعفان الكلية في نماذج الخضراوات المدروسة التي وضحها الشكل (١). فقد كانت ١.٣ ×١٠ ^٥ و ٣.٤ ×١٠ ^٦ و ٢.٢ × ١٠ ^٦ و ١.٨ × ١٠ ^٦ ١.٤ × ١٠ ^٥ و ٢ × ١٠ ^٦ على التوالي. ومن ملاحظة الشكل (٢). فقد توضحت النسب المئوية لأنواع كل من اجناس الأعفان *Aspergillus spp* و *Penicillium spp* و *Alternaria spp* و*Fusarium spp* و *Cladosporium spp* في نماذج الخضراوات. تبين من النتائج بأن هناك سيادة لجنس *Aspergillus spp* (٥٩%) في نماذج الخيار تلتها انواع الاعفان من اجناس *Penicillium spp* و *Alternaria spp* و*Fusarium spp* و *Cladosporium spp* التي كانت ٢٣ و ٧ و ٦ و ٥ %

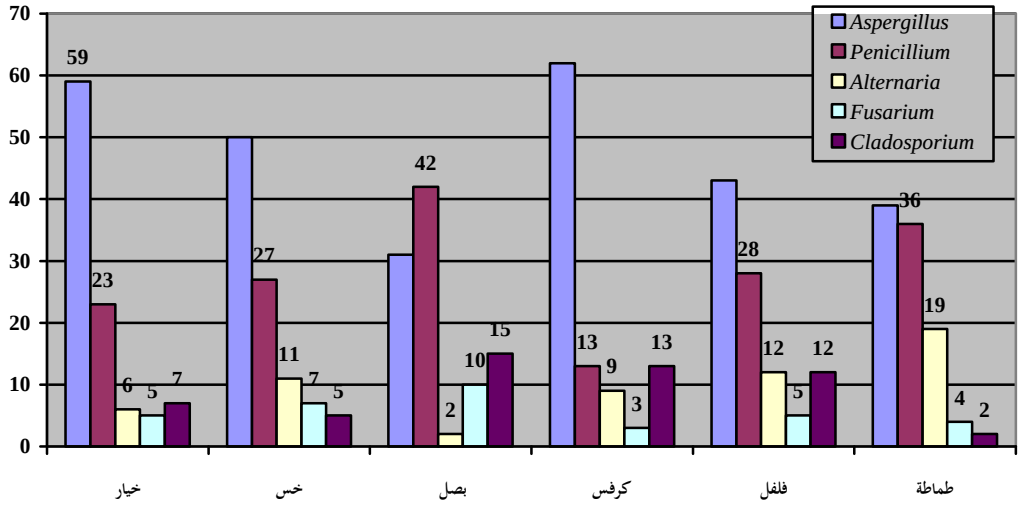
على التوالي. كذلك الحال في عينات الخس حيث سادت انواع جنس *Aspergillus spp* ولكن بنسبة ٥٠ % تلتها الانواع من الاجناس *Penicillium spp* و *Alternaria spp* و*Fusarium spp* و *Cladosporium spp* بالنسب ٢٧ و ١١ و ٧ و ٥ % على التوالي.

الجدول (١): الاعداد الكلية لبكتريا القولون وبكتريا القولون البرازية خلية/غم في نماذج الخضراوات

نوع النموذج	اعداد بكتريا القولون الكلية	اعداد بكتريا القولون البرازية
	خلية بكتيرية/غم	
خيار	٤.٢×١٠^{٨}	٣.٣×١٠^{٥}
خس	٣.٨×١٠^{٨}	٢.٩×١٠^{٦}
بصل	٣.١×١٠^{٥}	١.٣×١٠^{٤}
كرفس	٢.٣×١٠^{٧}	١.٨×١٠^{٤}
فلفل	٣.٧×١٠^{٦}	٢.٥×١٠^{٤}
طماطة	٢.٨×١٠^{٥}	١.١×١٠^{٣}



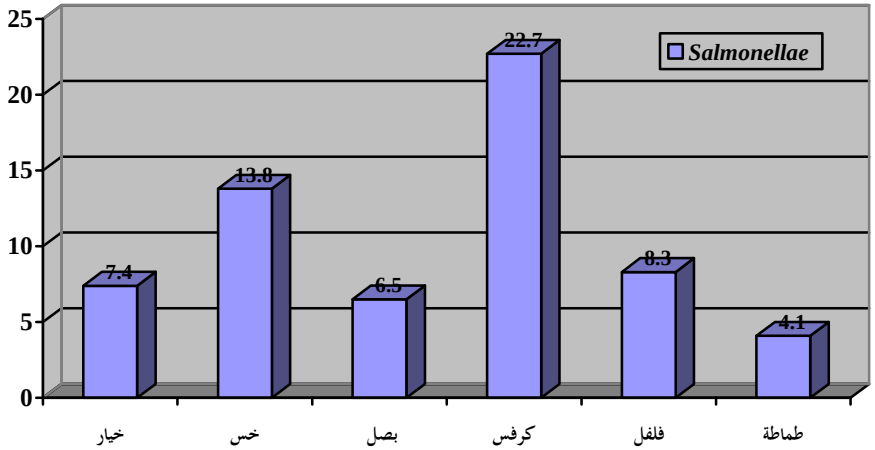
الشكل (١): الاعداد الكلية للاعفان خلية/غم في نماذج الخضراوات.



الشكل (٢): النسبة المئوية لانواع الاعفان في نماذج الخضراوات.

اما في نماذج البصل فقد كانت السيادة لانواع جنس *Penicillium spp* التي وصلت نسبته الى ٤٢% تلته الانواع من اجناس *Aspergillus spp* و *Cladosporium spp* و *Fusarium spp* و *Alternaria spp* بالنسب المئوية ٣١ و ١٥ و ١٠ و ٢ على التوالي.اما بالنسبة الى نماذج الكرفس فقد كانت نسبة انواع جنس *Aspergillus spp* مرتفعة وبنسبة ٦٢ % تلتها انواع الاجناس لكل من *Penicillium spp* و *Cladosporium spp* التي كانت لكل منهما ١٣ % ثم انواع جنس *Alternaria spp* ٩ % و *Fusarium spp* ٣ %. وكانت حالة السيادة متشابهة في نماذج الفلفل لانواع جنس *Aspergillus spp* التي كانت نسبة انواعة ٤٣ % وتلته الانواع من جنس *Penicillium spp* ٢٨ % وتساوت نسبتي كل من انواع جنسي *Alternaria spp* و *Cladosporium spp* التي كانت ١٢ % وبلغت نسبة انواع جنس العفن *Fusarium spp* ٥ %. اما في نماذج الطماطة فقد تدرجت نسبة انواع كل من اجناس *Aspergillus spp* و *Penicillium spp* و *Alternaria spp* و*Fusarium spp* و *Cladosporium spp* اذ كانت ٣٩ و ٣٦ و ١٩ و ٤ و ٢ % على التوالي.

وضح الشكل(٣) اعداد بكتريا السالمونيلا في نماذج الخضراوات المدروسة اذ تبين بان اعلى نسبة من نماذج الخضراوات التي اظهرت فحوصاتها نتائج موجبة لوجود بكتريا السالونيلا هي ٢٢.٧% من نماذج الكرفس وتلتها نسب من النماذج لكل من الخس والفلفل والخيار والبصل والطماطة التي كانت ١٣.٨ و ٨.٣ و ٧.٤ و ٦.٥ و ٤.١% على التوالي .

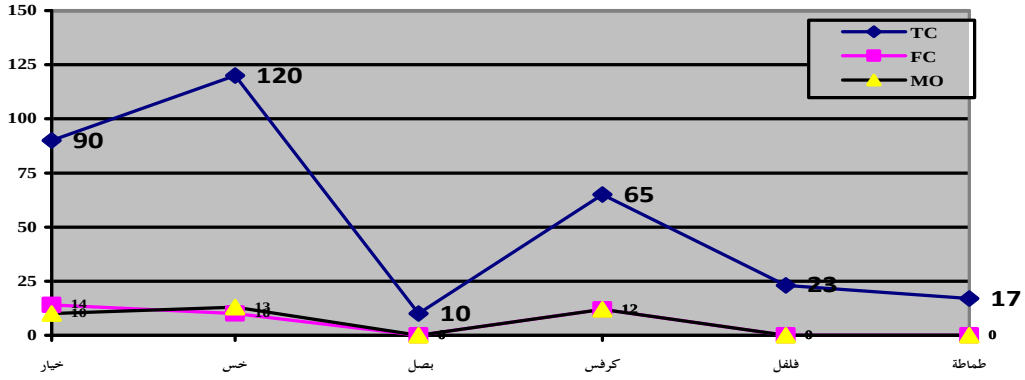


الشكل (٣): النسبة المئوية لنماذج الخضراوات التي احتوت على انواع من بكتريا السالمونيلا.

وعند استخدام محلول هايبوكلورايت الصوديوم المعقم وبعد غمر نماذج الخضراوات فيه لمدة ٥ دقائق مع التحريك فقد سببت هذه العملية في التخلص من اعداد بكتريا السالمونيلا بشكل تام ، فضلا عن خفض الاعداد الكلية لبكتريا القولون واعداد بكتريا القولون البرازية واعداد الاعفان في نماذج الخضراوات المدروسة وكما وضحها الشكل (٤).

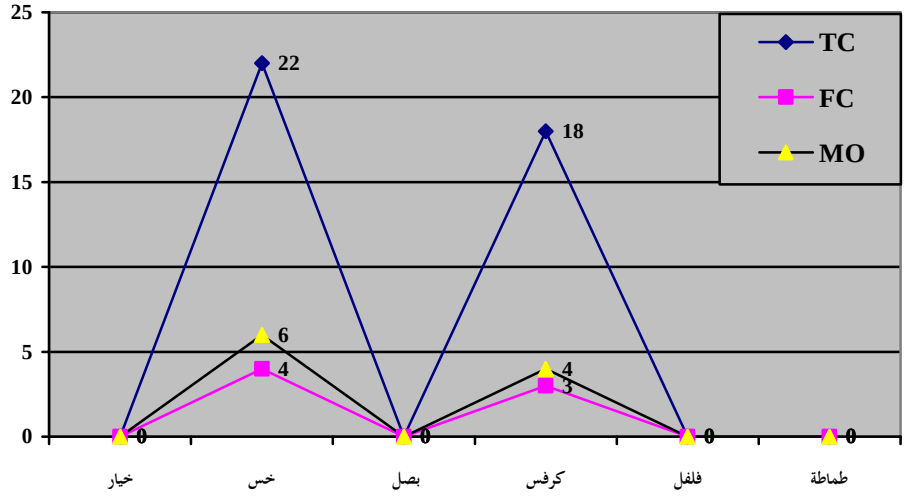
اذ تبين من النتائج بان اكثر اعداد بكتريا القولون قد تواجدت في نماذج الخس وتلتها في الخيار والكرفس والفلفل والطماطة والبصل التي كانت ١٢٠ و٩٠ و٦٥ و٢٣ و١٧ و١٠خلية/غم على التوالي. اما اعداد بكتريا القولون البرازية فقد تواجدت في كل من نماذج الكرفس والخيار والخس باعداد ١٤ و١٢ و١٠خلية/غم على التوالي ولم تتواجد في نماذج الخضراوات الاخرى. وتماثلت معها اعداد الاعفان التي تواجدت في الكرفس باعداد ١٢خلية/غم وفي الخس والخيار باعداد ١٠مستعمرة/غم لكل منهما ولم تتواجد في نماذج الخضراوات الاخرى.

اما عندما ازدادت مدة غمر الخضراوات لتصبح ١٠ دقائق مع التحريك ايضا فأن اعداد كل من بكتريا القولون الكلية واعداد بكتريا القولون البرازية والاعفان قد انخفضت بشكل حاد وكما وضحها الشكل (٥). اذ بينت النتائج بان بكتريا القولون تواجدت فقط في نماذج الخس والكرفس وباعداد ٢٢ و١٨خلية/غم على التوالي ولم تتواجد في نماذج الخضراوت الاخرى وتواجدت ايضا في نماذج كل من الخس والكرفس بكتريا القولون البرازية وباعداد ٤ و٣خلية/غم على التوالي والاعفان باعداد ٦ و٤ خلية/غم على التوالي ولم تتواجد ايضا بكتريا القولون البرازية والاعفان في نماذج الخضراوات الاخرى. وعندما استمرت فترة الغمر لنماذج الخضراوات لتصل الى ١٥ دقيقة مع التحريك فان النتائج بينت بانه لم يحصل أي نمو لكل من بكتريا القولون وبكتريا القولون البرازية والاعفان في جميع نماذج الخضراوات قيد الدراسة.



TC=بكتريا القولون FC=بكتريا القولون البرازية MO=الاعفان

الشكل(٤): الاعداد الكلية لبكتريا القولون وبكتريا القولون البرازية والاعفان بعد غمر نماذج الخضراوات في محلول هايبوكلورايت الصوديوم لفترة ٥ دقائق.



TC=بكتريا القولون FC=بكتريا القولون البرازية MO=الاعفان

الشكل (٥): الاعداد الكلية لبكتريا القولون وبكتريا القولون البرازية والاعفان بعد غمر نماذج الخضراوات في محلول هايبوكلورايت الصوديوم لفترة ١٠ دقائق.

اتفقت النتائج مع ماذكره كل من Geldreich وBorder (١٩٧١) وSaddik وآخرون (١٩٨٥) و Ibrahim (١٩٩٦) و Solomon وآخرون (٢٠٠٢) الذين ذكروا بان الخضراوات التي تستخدم كسلطات كانت ملوثة في الغالب بأنواع من بكتريا القولون الكلية والقولون البرازية والسالمونيلا واللستريا. إن الأعداد المرتفعة من بكتريا القولون وبكتريا القولون البرازية والاعفان وتواجد بكتريا السالمونيلا في نسب مختلفة من نماذج الخضراوات وخاصة في نماذج الخس والكرفس يمكن أن يعود إلى المساحة السطحية الواسعة للاوراق والى وجود الطيات الورقية التي يمكن أن نوفر مكانا تستقر فيه الأحياء المجهرية. فضلا عن أن تسويق هذه الخضراوات يكون بطريقة غير صحية خاصة في استخدام القطع الرطبة في لف وترطيب نماذج الخضراوات. وان الاختلاف في أعداد الكائنات المجهرية في الخضراوات قيد الدراسة يمكن أن يعود إلى الاختلاف في طريقة الزراعة التي تتضمن السقي والتسميد ونقل وتعبئة الحاصل. واتفقت كذلك النتائج مع ماذكره Sapers وآخرون (٢٠٠٠) في ان استخدام محلول الهايبوكلورايت قد ازال نسبة ٩٠-٩٩% من التلوث من الاحياء المجهرية الحاصل في ثمار التفاح. أن تأثير محلول الهايبوكلورايت عند غمر نماذج الخضراوات فيه لاسيما لفترة ١٥ دقيقة قد أدى إلى التخلص التام من جميع الأحياء المجهرية الملوثة لنماذج الخضراوات ويبدو أن هذه الفترة الزمنية هي الكافية لوصول المحلول المعقم إلى الأحياء المجهرية الموجودة في سطح أو طيات الأوراق الملفوفة وتثبيط نموها وبالتالي التخلص منها خاصة نماذج الخس أو الكرفس والتي تمتلك طيات ورقية ومساحة سطحية اكبر من الخضراوات الأخرى وكما تبين من النتائج عند استخدام المحلول الهايبوكلورايت لفترة ١٠ دقائق حيث تواجدت أنواع من بكتريا القولون والقولون البرازية والاعفان ملوثة لها وبأعداد قليلة.

STUDY THE EFFECTS OF HYPOCHORITE ON SOME MICROBIAL CONTAMINATION OF SOME TYPE OF SALAD VEGETABLES IN LOCAL MARKETS

Karkaz M. Thalij Amin S. Badwey Ahmad M. Ali
Food Sci. and Biotech. Dept., College of Agric., Univ. of Tikrit, Tikrit, IRAQ.
Nursing College, Univ. of Mosul, Mosul, IRAQ.

ABSTRACT

This study was done to analysis three hundred and tow samples of vegetables salad from local markets to found the total and fecal coliform, molds, and salmonella, in addition to study the role of sodium hypochlorite on counts of above microorganisms after infusion and shaking the samples for 5, 10, and 15 minutes. The results indicated the total counts of coliform were arranged from 2.8×10^5 in tomatoes to 4.2×10^8 cell/g in cucumber. When the fecal coliform counts were at range between 1.1×10^3 in tomatoes and 2.9×10^6 cell/g in lettuce, and the molds counts were from 1.3×10^5 in cucumber to 3.4×10^6 in lettuce. The bacterial types of salmonella were founds in tomatoes, Onion, Cucumber, Capsicums, Lettuce, and Celery samples at 4.1, 6.5, 7.4, 8.3, 13.8, and 22.7%, respectively. The infused of vegetables samples in hypochlorite for 5 minutes were causes reduced the total counts of coliform which became arranged between 17 in tomatoes to 120 cell/g in lettuce, and the fecal coliform were only founds in lettuce, celery, and cucumber samples at 10, 12, and 14 cell/g respectively, Also the molds were at 13, 12, and 10 cell/g respectively. Where the salmonella types were not founds in any samples after treatment. The infused vegetables samples in hypochlorite for 10 minutes causes a sharp reduced and non found any microorganism in all samples unless in lettuce and celery were found total coliform at 22 and 8, fecal coliform at 4 and 3 and molds at 6 and 4 cell/g, respectively. The infusion of vegetable samples in hypochlorite for 15 minutes causes clearance the samples from all microorganisms.

المصادر

Annous B.A., G.M. Sapers A.M. Mattrazzo and D.C.R. Riordan (2001). Efficacy of washing with acommercial flat-bed brush washer, using conventional and experimental washing agents,in reducing populations of *Escherichia coli* on artificially inoculated apples. J. Food Prot.,64 (2), 159–163.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1984). Official Methods of Analysis. 15th ed. Washington, D.C.: USA.

Bean, N.H. , J.S. Goulding, M.T. Daniels, and F.J. Angulo (1997). Surveillance for foodborne disease outbreaks: United States,1988-1992. J. Food Prot. 60:1265-1286.

Berrang, M.E. , R.E. Brackett and L. R. Beuchat (1989). Growth of *Listeria monocytogenes* on fresh vegetables stored under controlled atmosphere. J. Food Prot., 52:702-705.

Bolin, H.R. , A.E. Stafford A.D. king, Jr. and C.C. Huxoll (1977). Factores effecting the storage stability of Shredded Lettuce. J. Food Sci. 42:1319-1321.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC), (1999). Outbreaks of *Shigella sonnei* infection associated with eating fresh parsley – United States and Canada, July–August 1998.MMWR, 48 (14), 285–289 .

Ercolani, G.L. (1976). Bacteriological quality assessment of fresh marketed lettuce and fennel. Appl. Environ. Microbiol. 31:847-852.

Geldreich, E.E. and R.H. Border (1971). Fecal contamination of fruit and vegetables. A Review. J. Milk and Food Technol. 34: 184-195.

Ho, J.L., K.N Shends G. Friedland P. Eckind and D.W. Fraser (1986). An outbreak of type 4b *Listeria monosytogeneses* infection involving patients from eight boston hospitals. Arch.Intern. Med., 146; 520-524.

Ibrahim, S. Al-Mohizea (1996). Microbiological Studies on Some Salad Vegetables in Local Markets, J. King Saud Univ., Agric. Sci. 8 (1): 99-106.

International Commission on Microbiological Spesification for Foods (ICMSF). (1980). Microbial ecology of foods. Vol. 2. Food commodities. Acadmic Press. New york.

Lau, M. M. and S. C. Ingham (2001). Survival of faecal indicator bacteria in bovine manure incorporated in soil. Lett. Appl. Microbiol. 33:1-6.

Mead, P.S., L. Slutsker V. Dietz L.F. McGaig J.S. Bresee C. Shapiro P.M. Griffin and R.V. Tauxe (1999). Food-related illness and death in the United States. Emerg. Infect. Dis. 5: 607-625.

Pell, A. N. (1997). Manure and microbes: public and animal health problem. J. Dairy Sci. 80:2673-2681.

Rosas, I. , A. Baez and M. Couitino (1984). Bacteriological quality of crops irrigated with waste water in the xochimilco plots. Appl. And Environ. Microbiol., 47; 1074-1079.

Saddik, M.F. , M.R. El-Sherbeeny and L.B. Frank (1985). Microbiological profiles of Egyptian raw vegetables and salads. J. of Food Protection, 48 (10) :883-886.

Sapers,G.M., R.L.Miller M. Jantschke and A.M. Mattrazzo (2000). Factors limiting the efficacy of hydrogen peroxide washes for decontamination of apples containing *Escherichia coli.* J. Food Sci. 65 (3): 529–532 .

Solomon, E.B., S. Yaron and K.R. Matthews (2002). Transmission of *Escherishia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and subsequent internalization. Appl. Environ.Microbiol. 68:397-400.

Tauxe, R., H. Kruse C. Hedberg M. Potter J. Madden and K. Wachsmuth (1997). Microbial hazards and emerging issues associated with produce: a preliminary report to the National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. J. Food Prot. 60:1400-1408.

Winn, C.W., D.S. Allen M.W. Janda W.E. Koneman W.G. Procop C.P. Schreckenberger and L.G. Woods (2006). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Sixth Edtion, Lippincott Williams Wilkins.

Zibilske, L. M. and R. W. Weaver (1978). Effect of environmental factors on survival of *Salmonella typhimurium* in soil. J. Environ. Qual. 7:593-597.