

## بررسی کارایی گندزدهای الکیل دی متیل بنزینل آمونیوم کلراید و بنزالکونیوم کلراید و مقایسه با پرکلرین در کاهش بار میکروبی کاهو

فتح‌الله غلامی بروجنی<sup>۱</sup>، فاطمه نجات زاده<sup>۲</sup>، فائق حاجی ملأ<sup>۳</sup>، نازیلا نیلوفری<sup>۲</sup>، چیمین کاک اله پور<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت 1393/02/22 تاریخ پذیرش 1393/04/10

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** میوه‌ها و سبزی‌ها اغلب به دلیل استفاده از کودهای انسانی و حیوانی، آب آلوده و تماس حیوانات به عوامل بیماری‌زا آلوده می‌شوند. لذا لازم است به‌منظور بر طرف نمودن آلودگی‌های فوق سبزی‌ها قبل از مصرف سالم‌سازی شوند. در این مطالعه به بررسی میزان کارایی دو نوع گندزدای پرمصرف الکیل دی متیل بنزینل آمونیوم کلراید و بنزالکونیوم کلراید و همچنین مقایسه آن‌ها با پرکلرین به‌صورت هیپوکلریت کلسیم (کلر مادر) در کاهش بار میکروبی کاهو به‌منظور اطمینان دادن به مردم در مورد مصرف این گندزدها پرداخته شده است.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش کاهش بار میکروبی کاهو در مراحل چهارگانه شستشو و گندزدایی کاهو (با استفاده از گندزدهای الکیل دی متیل بنزینل آمونیوم کلراید و بنزالکونیوم کلراید و پرکلرین) مورد بررسی قرار گرفته و از شاخص حداکثر تعداد احتمالی کل کلیفرم (MPN) به‌منظور بررسی کارایی شستشو و گندزدایی در کاهش بار میکروبی استفاده شده است.

**یافته‌ها:** نتایج این مطالعه نشان داد میانگین بار اولیه کل کلیفرم موجود بر روی کاهوهای عرضه شده در بازار ارومیه  $2/557 \log_{10} \text{CFU/g}$  بود. پس از گندزدایی کاهو بر اساس دستورالعمل توصیه‌شده وزارت بهداشت در مرحله بعد از تمیز کردن و شستشو با آب میانگین کل کلیفرم به  $3/35 \log_{10} \text{CFU/g}$  و در مرحله شستشو با استفاده از دترجنت میزان کل کلیفرم به  $2/07 \log_{10} \text{CFU/g}$  کاهش یافته است. در مرحله گندزدایی با پرکلرین بار اولیه میکروبی به  $0/9 \log_{10} \text{CFU/g}$  و گندزدای بنزالکونیوم کلراید بار اولیه میکروبی کاهو را به  $1/8 \log_{10} \text{CFU/g}$  و گندزدای الکیل دی متیل بنزینل آمونیوم کلراید بار اولیه میکروبی کاهو را به  $1/6 \log_{10} \text{CFU/g}$  رسانده است.

**بحث و نتیجه‌گیری:** کلر به‌عنوان یک گندزدای مؤثر در گندزدایی کاهو منجر به کاهش  $2/6 \log_{10} \text{CFU/g}$  از کلیفرم موجود بر روی کاهو شده است و در مقایسه با دو گندزدای دیگر عملکرد بهتری داشته است.

**کلیدواژه‌ها:** گندزدایی، کاهو، کلر، بار میکروبی

مجله دانشکده پرستاری و مامایی ارومیه، دوره دوازدهم، شماره پنجم، پی‌درپی 58، مرداد 1393، ص 329-339

آدرس مکاتبه: دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، تلفن: ۰۴۴۱-۲۷۵۲۳۱۱

Email: fgholami@umsu.ac.ir

### مقدمه

است در مراحل کاشت، برداشت، حمل‌ونقل، مرحله توزیع و فروش محصول و یا هنگام آماده‌سازی مانند تهیه سالاد در منزل و یا مراکز تهیه غذا آلوده گردند (۲). جلوگیری از آلوده شدن میوه و سبزی‌ها توسط عوامل بیماری‌زا باید هدفی مهم در مرحله تولید، حمل‌ونقل و تحویل به مصرف‌کننده باشد، اما بسیاری از پاتوژن‌ها به‌عنوان فلور طبیعی خاک محسوب می‌شوند و ممکن است هنگام برداشت محصول روی آن‌ها وجود داشته باشد (۳).

میوه‌ها و سبزی‌ها منبع فوق‌العاده‌ای از مواد مغذی مربوط به رژیم غذایی، ویتامین‌ها و فیبرها برای انسان می‌باشند و برای سلامتی واجب و اساسی‌اند. میوه‌ها و سبزی‌ها به شکل گسترده‌ای در معرض آلودگی میکروبی موجود از طریق تماس با خاک، گردوغبار و آب و جابجایی در مراحل تولید قرار دارند و در معرض آلودگی میکروبی بالقوه هستند (۱). سبزی‌ها ممکن

<sup>۱</sup> استادیار مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت و گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)

<sup>۲</sup> استادیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوی

<sup>۳</sup> دانشجوی کارشناسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

جانبی گندزدایی مانند تری هالومتان‌ها (THMs) را در کاهو ایجاد می‌کند (۶).

پس یا باید جلوی این عوامل ذکر شده گرفته شود که سخت و گاه غیرممکن است یا از گندزدهایی که در بازار موجود است (غیر از ترکیبات کلره) استفاده شود به همین خاطر استفاده از گندزدهای تجاری در بین مردم مرسوم شده است. عمل شستشو نیز می‌تواند نقش مهمی در کاهش جمعیت میکروبی روی کاهوها و در نتیجه ارتقاء سلامت و کیفیت محصول ایفا کند. عوامل شستشو و پاکیزه سازی متداول در شرایط آزمایشگاهی معمولاً کاهش ۱ تا ۲ واحد لگاریتم را در جمعیت میکروبی گزارش نموده است و کاهش‌ها اساساً با برخی گندزدهای تجاری می‌تواند مورد بررسی قرار گیرد. در نقاط مختلف دنیا بسته به میزان آلودگی و فرایند تولید سبزی‌ها، از روش‌های مختلفی جهت گندزدایی و سالم‌سازی سبزی‌ها استفاده می‌نمایند در برخی از کشورها، آب کلرینه برای گندزدایی سبزی‌ها در مراحل مختلف از جمله پس از برداشت محصول، حمل‌ونقل و انجام پروسه بر روی آن، مورد استفاده قرار می‌گیرد. در کشور بزرگ‌ترین متداول‌ترین روش برای سالم‌سازی و گندزدایی سبزی‌ها، قرار دادن سبزی‌ها در محلول هیپوکلریت سدیم با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۵ دقیقه می‌باشد (۸). در برخی از کشورها از جمله ایالات متحده آمریکا توصیه شده است که میوه و سبزی‌ها را فقط با آب بشویند و استفاده از درجنت و هر نوع گندزدای تجاری دیگر پیشنهاد نشده است. مطالعات متعددی در مورد بررسی کارایی گندزدهای مختلف در کاهش بار میکروبی سبزی‌ها در نقاط مختلف جهان انجام شده است. مثلاً در مطالعه‌ای که توسط چائو و همکارانش در سال ۲۰۱۱ انجام شد به بررسی اثر دی‌اکسید کلر بر کاهش بار باکتریایی میوه و سبزی‌ها پرداختند. این تحقیق تأثیر ضد باکتریایی دی‌اکسید کلر و محلول هیپوکلریت سدیم را برای ۶ نوع از میوه و سبزی‌های تازه چیده شده (خیار - کاهو-هویج - سیب - گوجه‌فرنگی و گیاهان) را بررسی و ارزیابی کرد. نتایج حاکی از این است که ۱۰۰ ppm محلول دی‌اکسید کلر می‌تواند بار میکروبی را به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش داد و شمار کلیفرم را به ۳/۵ تا ۴ واحد لگاریتمی در کاهو، هویج و گوجه‌فرنگی رساند که بهتر از محلول هیپوکلریت سدیم گزارش شده است (۹،۸). همچنین در مطالعه‌ای که توسط ناسیمنتو در سال ۲۰۰۳ انجام گرفت به بررسی وضعیت بار میکروبیولوژیکی میوه و سبزی‌های تازه و اثر عوامل ضد میکروبی در کاهش بار میکروبی آن‌ها پرداختند. در این مطالعه ۵ عامل ضد میکروبی (هیدروژن پراکسید، کلرید کلسیم، اسیدبنزوئیک، اسیدسیتریک و اتانول) در کاهش بار میکروبی سبزیجات مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها با این محلول‌ها

طبق گزارش مرکز سلامت محیط وزارت بهداشت ۷۶۰۰ هکتار از سبزی‌کاری‌های کشور با فاضلاب آبیاری می‌شوند که علاوه بر استان تهران در نیمی از استان‌های کشور دیده می‌شود. مصرف‌کنندگان نیز نیاز به استفاده از سبزی‌ها و میوه‌های تازه‌ای دارند که از لحاظ میکروبی بی‌خطر باشند. بنابراین لازم است که آن‌ها را قبل از مصرف گندزدایی کرد (۴).

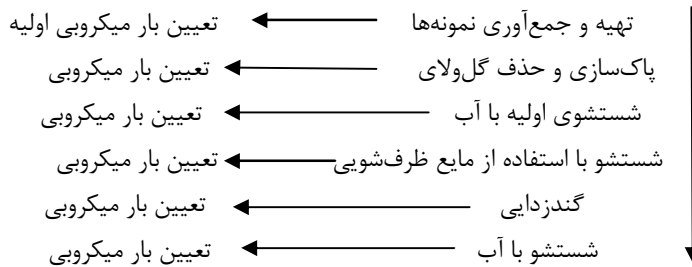
در سال‌های اخیر در نتیجه افزایش شیوع بیماری‌های ناشی از غذا که با تولید مرتبط است، توجه بیشتری به مداخلاتی شده که عوامل بیماری‌زای بشری را در سبزی‌های تازه از بین برده یا برطرف می‌کند. بنابراین یک هدف کلیدی اعمال شستشو و پاکیزه سازی چنین عوامل بیماری‌زای است (۲). در ایران، در سال‌های اخیر شیوع بیماری‌های قابل انتقال از مواد غذایی به علت مصرف سبزی‌های آلوده، باعث شیوع برخی از بیماری‌های واگیر از جمله بیماری‌های رودهای گردیده است. در مطالعه رهبر و همکاران در مورد اپیدمی وبا در سال ۱۳۸۴ در ایران، مصرف سبزی‌های آلوده و سبزی آبیاری شده با فاضلاب به‌عنوان عامل اصلی بیماری اعلام گردیده است (۴).

در مطالعات دیگری که در استان‌های مرکزی و گلستان انجام شد، مشاهده گردید که شستشوی نامناسب میوه و سبزی‌ها یکی از عوامل ابتلا به بیماری وبا در این دو استان گزارش شده است (۵). در طول چند سال گذشته نیز عموم مردم در مورد شیوه زندگی و تغذیه سالم از طریق رسانه‌ها آگاه شده‌اند. دولت و سازمان‌های بهداشتی و آموزشی نیز شروع به تمرکز بر روی موضوع‌های مشابه و تشویق به مصرف بیشتر میوه و سبزی‌ها و سالاد کرده‌اند. در ایران هرچند آمار رسمی در دسترس نیست ولی به نظر می‌رسد که میانگین مصرف از مقدار مصرف در کشورهای اروپایی کمتر باشد ولی آنچه مسلم است این است که با تغییرات شدیدی که در روش زندگی در کشور ما ایجاد شده است این مقدار هر ساله افزایش می‌یابد، بطوریکه در چند سال اخیر کارگاه‌های تولید محصولات تازه و بسته‌بندی چندین برابر شده است که نشانه تقاضای زیاد برای این نوع محصولات می‌باشد (۴،۵). بنابراین سبزی‌ها و میوه‌های تازه یکی از عوامل مهم خطرپذیر برای سلامتی انسان هستند، چون به‌صورت خام مصرف می‌شوند و در معرض آلودگی در هر نقطه‌ای از مسیر مزرعه تا سفره می‌باشند. در حال حاضر در ایران مصرف سبزی‌ها زیاد است ولی نحوه شستشو و گندزدایی آن در بین بیشتر افراد نادرست است. بسیاری از مردم مراحل شستشو را انجام می‌دهند ولی از ضد عفونی‌کننده‌ها استفاده نمی‌کنند که به‌احتمال زیاد فرهنگ‌سازی نشده و بیشتر مردم اطلاع ندارند. برخی از مردم هم از کلر به‌عنوان ضد عفونی‌کننده استفاده می‌کنند که کلر مشکلات خاص خود نظیر طعم و بو و تشکیل محصولات

نمونه‌های کاهو به‌صورت روزانه از بازار میوه و تره‌بار ارومیه تهیه‌شده و در یک کیسه‌ی پلاستیکی استریل قرار داده شد و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شد و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴-۷ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری می‌شد و در همان روز آزمایش‌های موردنظر بر روی نمونه‌ها انجام شد. به‌منظور یکنواخت نمودن نمونه‌ها ابتدا برگ‌های کاهو را از هم جدا نموده و برش زده می‌شوند و نمونه برداشته‌شده از مخلوطی از برش‌ها بوده است.

ابتدا بار میکروبی اولیه‌ی کاهو پس از شستشو موردسنجش قرار گرفت و در مرحله‌ی بعد کاهو بر اساس پروتکل‌های ارائه شده توسط کارخانه سازنده و همچنین وزارت بهداشت، شستشو و گندزدایی‌شده و پس از انجام کلیه‌ی مراحل گندزدایی (تأمین غلظت و زمان تماس)، بار میکروبی آن با استفاده از آزمایش MPN (APHA, 2005 No: 9221) موردسنجش قرار گرفت و با توجه به بار اولیه‌ی میکروبی موجود بر روی کاهو راندمان گندزدایی تعیین شد.

به‌طور کلی مطابق شماتیک زیر در مراحل مختلف شستشو و گندزدایی کاهو بار میکروبی تعیین شده است.



شکل (۱): مراحل انجام آزمایش‌ها

محلول گندزدا در غلظت‌های مختلف تهیه‌شده و انجام گندزدایی در زمان‌ها و غلظت‌های مختلف برای انواع گندزدها روی نمونه‌های کاهو انجام شد.

شستشوی نهایی: سبزی ضدعفونی شده را مجدداً با آب سالم شسته تا کلر باقیمانده از آن جدا شده و بار میکروبی آن تعیین شد.

آماده‌سازی محلول‌های گندزدا:

تهیه محلول کلر مادر (یک درصد)

در یک بطری یک لیتری تیره رنگ ۱۵ گرم در لیتر هیپوکلریت کلسیم اضافه نموده تا محلول کلر مادر یک درصد بدست آید و سپس در غلظت‌های مختلف (طبق پروتکل وزارت بهداشت، کمتر و بیشتر از آن) مورد استفاده قرار گرفت.

گندزدایی‌شده و سپس با آب مقطر استریل آبکشی شدند. نتایج این مطالعه نشان داد هیدروژن پراکسید مؤثرترین ماده در کاهش کل میکروارگانسیم‌ها در ۸۰ درصد نمونه‌ها بوده است (۱۰).

در ایران تاکنون مطالعه‌ای درخصوص بررسی کارایی گندزدهای تجاری در کاهش بار میکروبی سبزیجات انجام نشده است، اما در زمینه گندزدایی با استفاده از کلر و مشتقات آن مطالعات مختلفی انجام گرفته است. هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر گندزدهای تجاری در کاهش بار میکروبی کاهو و مقایسه کارایی گندزدهای تجاری موجود در بازار با کلر می‌باشد. در این پژوهش به بررسی کارایی گندزدهای تجاری و کلر در کاهش بار میکروبی کاهو و همچنین بررسی میزان کاهش بار میکروبی در مراحل مختلف پاک‌سازی، انگل زدایی و گندزدایی پرداخته شده است.

## مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌های کاهو:

مراحل انجام شستشو و گندزدایی کاهو مطابق پروتکل وزارت بهداشت به شکل زیر بوده است:

پاک‌سازی: ابتدا سبزیجات را به‌خوبی پاک‌کرده - شستشو داده می‌شوند تا مواد زائد و گل‌ولای آن برطرف گردد.

انگل زدایی: سبزیجات پاکیزه را در یک ظرف ۵ لیتری آب ریخته به ازای هر لیتر آب ۳-۵ قطره مایع ظرف‌شویی (طبق دستورالعمل وزارت بهداشت) به آن اضافه کرده و مدت ۵ دقیقه سبزی را داخل کفاب نگه داشته و سپس سبزی را مجدداً با آب سالم شستشو می‌دهیم تا تخم انگل‌ها جدا گردند.

گندزدایی و میکروب کشی:

مراحل انجام گندزدایی کاهو به شرح زیر بوده است:

تهیه محلول گندزدا:

(MPN) آن سنجیده شد و برای بررسی اثر شستشو با استفاده از دترجنت خانگی استفاده شد.

۵۰ گرم از نمونه‌ی باقیمانده را طبق پروتکل وزارت بهداشت و پروتکل‌های ارائه شده توسط کارخانجات سازنده گندزدایی شد و سپس آبکشی نهایی شدند و بار میکروبی (MPN) مورد بررسی قرار گرفت.

راندمان گندزدایی با استفاده از فرمول زیر و همچنین استفاده از معادله چیک لگاریتم کاهش بار میکروبی محاسبه شد:

$$\% \text{ Removal} = \frac{C_0 - C_t}{C_0} * 100$$

که در این معادله:

$C_t$ : بار ثانویه میکروبی

$C_0$ : بار اولیه میکروبی

سینتیک واکنش‌های گندزدایی که از واکنش‌های درجه اول می‌باشند از قانون چیک تبعیت می‌نمایند. یعنی مرگ و میر میکروارگانیسم‌ها با گذشت زمان از نوع واکنش درجه اول محسوب شده و طبق این قانون  $N=N_0e^{-kt}$  می‌باشد. هر لگاریتم کاهش در میکروارگانیسم‌ها از این فرمول قابل محاسبه می‌باشد. یعنی هر لگاریتم کاهش در میکروارگانیسم‌ها معادل ۹۰ درصد می‌باشد. با استفاده از این قانون میزان کاهش میکروارگانیسم‌ها محاسبه شد.

### یافته‌ها

بررسی کاهش بار میکروبی کاهو در مراحل مختلف شستشو: یافته‌های حاصل از تحقیق در مورد بار میکروبی کاهو قبل و بعد از تمیز کردن و شستشو با آب بر روی کاهو بر اساس دستورالعمل توصیه شده وزارت بهداشت به صورت جدول آورده شده است.

تهیه محلول گندزدای الکیل دی متیل بنزیل آمونیوم کلراید طبق پروتکل کارخانه:

این گندزدا با ترکیب شیمیایی: الکیل دی متیل بنزیل آمونیوم کلراید+آب دیونیزه می‌باشد. برای گندزدایی سبزیجات مطابق پروتکل کارخانه ۵ میلی لیتر (معادل یک قاشق مرباخوری) محلول گندزدای الکیل دی متیل بنزیل آمونیوم کلراید را به ۴ لیتر آب اضافه نموده و سبزیجات پس از شستشوی اولیه به مدت ۱۵ دقیقه در محلول قرار داده و سپس آبکشی شدند و آزمایشات میکروبی بر روی آن‌ها انجام شد.

تهیه محلول گندزدای بنز الکونیوم کلراید مطابق پروتکل کارخانه: این گندزدا با ترکیب شیمیایی: بنز الکونیوم کلراید+آب دیونیزه+اسانس می‌باشد که مطابق روش زیر برای گندزدایی استفاده شده است.

۲۶ میلی لیتر از محلول بنز الکونیوم کلراید را در ۴ لیتر آب ریخته و سبزیجات را به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه در آن قرار داده و سپس آبکشی شدند و آزمایشات میکروبی بر روی آن‌ها انجام شد.

انجام آزمایشات بار میکروبی روی کاهو:

بار میکروبی کاهو طبق مراحل زیر تعیین شده است:

۲۰۰ گرم از نمونه‌ی کاهو تهیه شد.

۵۰ گرم از نمونه جدا شد و بار میکروبی (MPN) آن موردسنجش قرار گرفت و به عنوان بار اولیه‌ی (MPN) کل نمونه در نظر گرفته شد.

۱۵۰ گرم از نمونه با آب شسته شد سپس ۵۰ گرم از آن در داخل ۲۲۵ میلی لیتر آب پیتونه (۱درصد) به مدت ۲ دقیقه مخلوط و بار میکروبی (MPN) آن موردسنجش قرار گرفت و به عنوان بار میکروبی ثانویه پس از شستشو قرار گرفت.

۱۰۰ گرم از نمونه‌ی باقیمانده در داخل ۱ لیتر آب حاوی ۳-۵ قطره دترجنت به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت و سپس بار میکروبی

**جدول (۱):** بار میکروبی کاهوهای عرضه شده در بازار ارومیه قبل و بعد از تمیز کردن و شستشو با آب

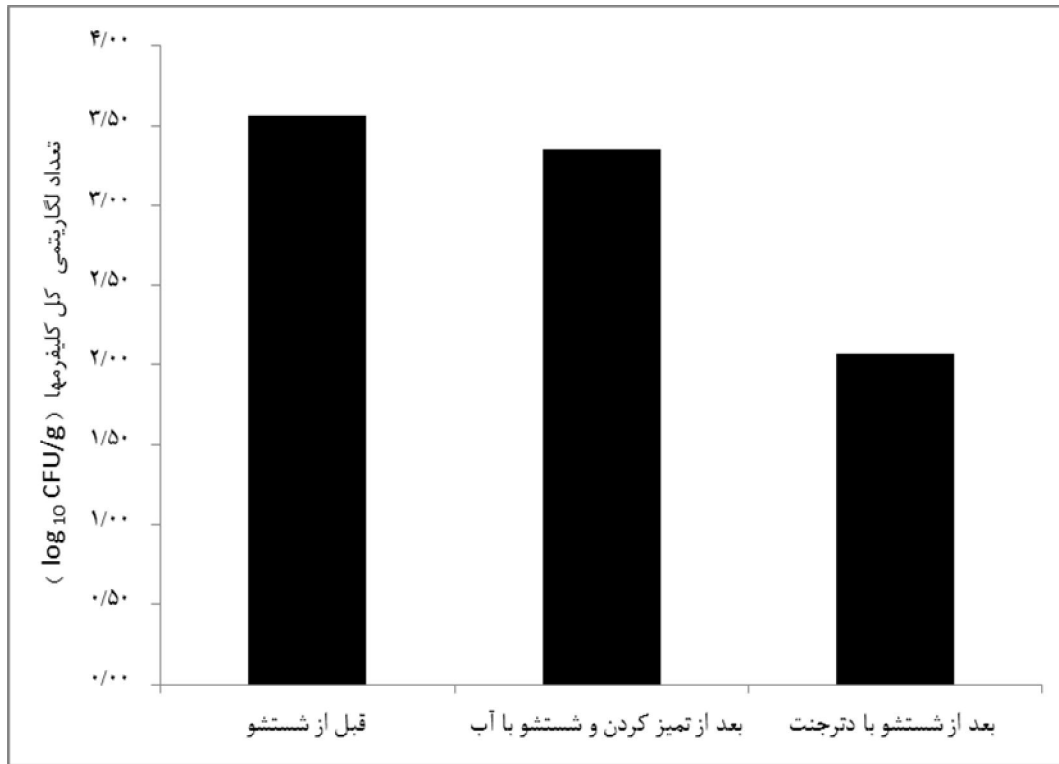
شماره نمونه	تعداد لگاریتمی کل کلیفرم (log10 CFU/g) قبل از تمیز کردن و شستشو با آب	تعداد لگاریتمی کل کلیفرم (log10 CFU/g) بعد از تمیز کردن و شستشو با آب
۱	۴/۴۱۵	۴/۱۴
۲	۳/۲۰	۲/۹۶
۳	۴/۲۳	۴/۱۵
۴	۲/۳۸	۲/۱۵
میانگین	۳/۵۵۷	۳/۳۵

بر اساس جدول شماره ۱ میانگین بار اولیه کل کلیفرم موجود در کاهوهای عرضه شده در بازار ارومیه برابر CFU/g ۳/۵۵۷ بوده است و بعد از تمیز کردن و شستشو با آب بار میکروبی آن به تنها میزان  $\log_{10} \text{CFU/g}$  ۰/۲۰۷ کاهش پیدا کرد

در کاهوهای عرضه شده در بازار ارومیه برابر CFU/g ۳/۵۵۷

در این مطالعه به بررسی اثر مراحل مختلف شستشو بر کاهش بار میکروبی کاهو پرداخته شده است این نتایج در نمودار شماره ۱ آورده شده است.

و به  $3/35 \log_{10} \text{CFU/g}$  رسیده است. این نتایج نشان می‌دهد با توجه به بافت خاص کاهو، شستشوی اولیه تأثیر چشم‌گیری در کاهش بار میکروبی آن‌ها نداشته است. به همین خاطر نیاز به گندزدایی کاهوها قبل از استفاده وجود دارد.

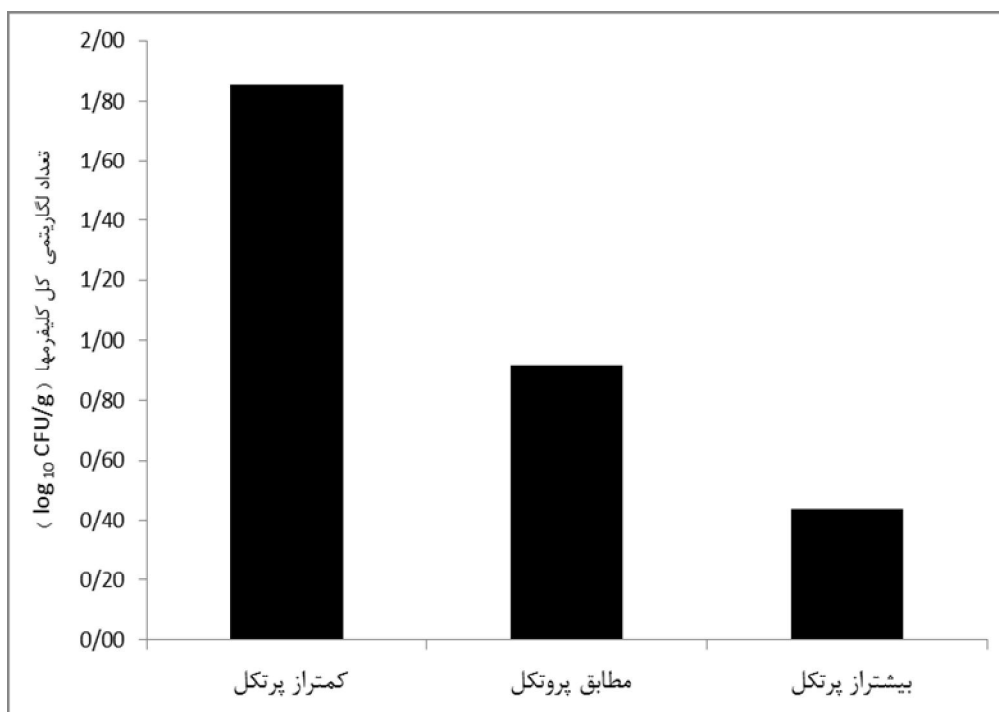


نمودار (۱): مقایسه اثر مراحل مختلف شستشو بر کاهش بار میکروبی کاهو

می‌دهد تا ضد عفونی کننده‌ها به میکروارگانیسم‌ها که در زیر و با بین آن‌ها قرار دارد دسترسی پیدا کنند، این مرحله شستشو باعث کاهش قابل‌ملاحظه‌ای در بار میکروبی شده است. بررسی کارایی کلر در کاهش بار میکروبی کاهو:

در این مطالعه به دلیل اینکه کلر به‌عنوان یکی از متداول‌ترین گندزدای مورد استفاده در ایران می‌باشد به بررسی کارایی کلر در کاهش بار میکروبی کاهو در سه سطح غلظت کمتر، مطابق و بیشتر از پروتکل ارائه شده توسط وزارت بهداشت پرداخته شده است. نتایج این بخش در نمودار شماره ۲ آورده شده است.

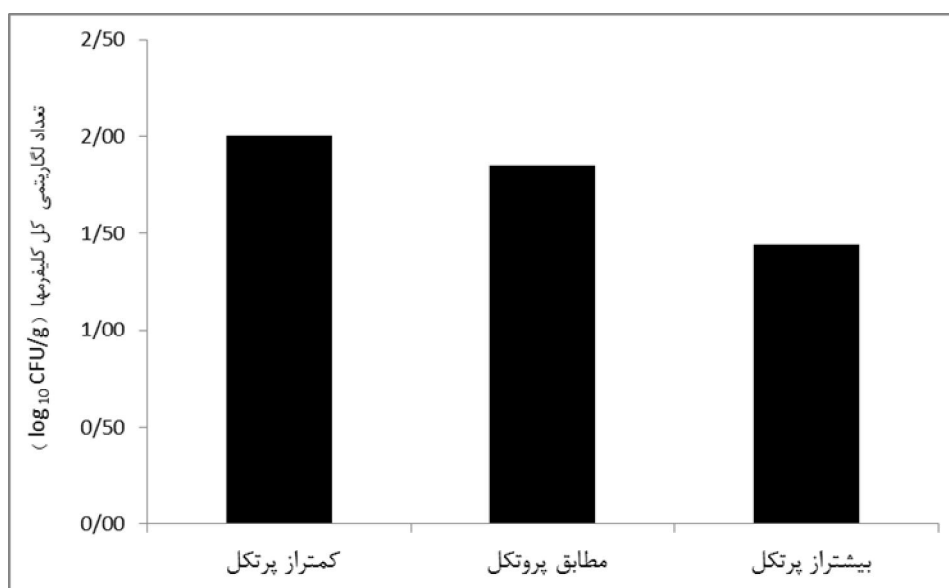
نتایج این مطالعه نشان داد شستشو با آب به تنهایی اثر قابل‌ملاحظه‌ای در کاهش بار میکروبی کاهو نداشته است. بعد از شستشو با دترجنت به مدت ۵ دقیقه و با غلظت ۵ قطره در یک لیتر مشاهده شد که بار میکروبی کاهو از  $3/35 \log_{10} \text{CFU/g}$  به  $2/07 \log_{10} \text{CFU/g}$  کاهش پیدا کرد که معادل ۳۸ درصد کاهش در بار میکروبی بوده است. با توجه به اینکه دترجنت ماده‌ای است که با کاهش کشش سطحی قابلیت نفوذپذیری آب را افزایش می‌دهند تا مواد آلی راحت‌تر از سطوح پاک شوند و همچنین آلودگی و ذرات و گردوغبار و ... را از سطوح پاک می‌کند و اجازه



نمودار (۲): بررسی کارایی کلر در کاهش بار میکروبی کاهو

پروتکل  $\log_{10} \text{CFU/g}$  ۳/۱۳۷ مشاهده شد. بررسی کارایی بنزالکونیوم کلراید در کاهش بار میکروبی کاهو: بررسی کارایی بنزالکونیوم کلراید در کاهش بار میکروبی کاهو را در سه غلظت کمتر، طبق و بیشتر در نمودار شماره ۳ نشان داده شده است.

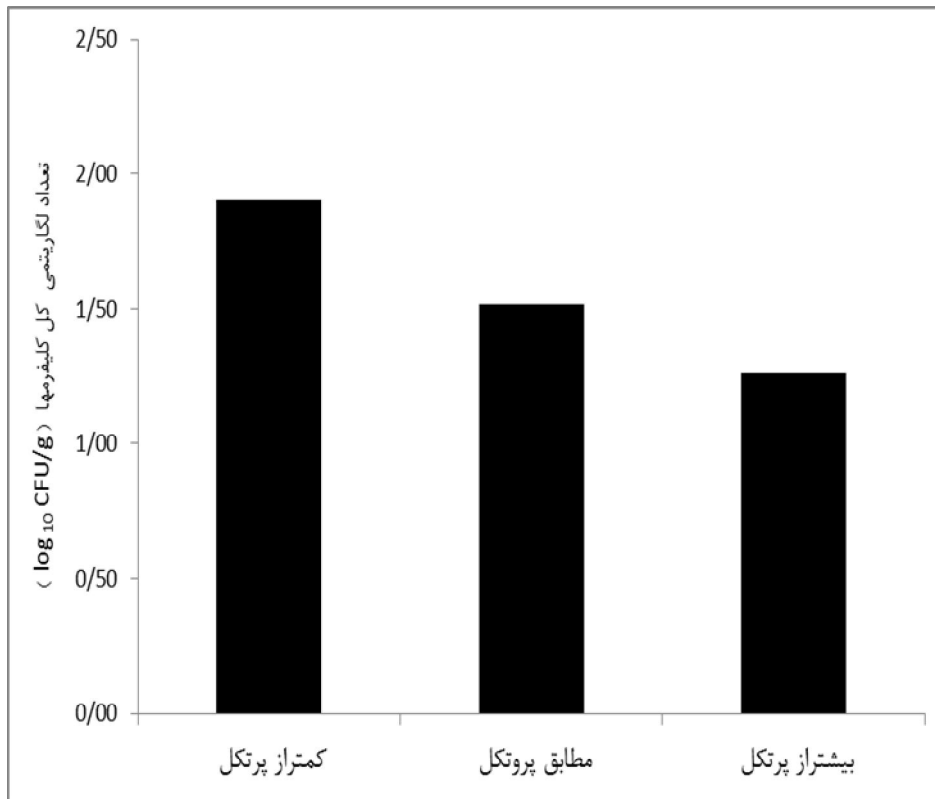
در این مرحله از گندزدایی از سه غلظت کلر استفاده شد غلظت کمتر از پروتکل ۳۰ میلی‌گرم در لیتر، مطابق پروتکل ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و بیشتر از پروتکل ۷۰ میلی‌گرم در لیتر بود که در غلظت کمتر از پروتکل کاهش بار میکروبی به میزان  $\log_{10} \text{CFU/g}$  ۲/۷۷، طبق پروتکل  $\log_{10} \text{CFU/g}$  ۲/۶۵۷ و بیشتر از



نمودار (۳): بررسی کارایی بنزالکونیوم کلراید در کاهش بار میکروبی کاهو

پروتکل  $2/0.47 \log_{10} \text{CFU/g}$  بوده است. بررسی کارایی الکیل دی متیل بنزیل آمونیوم کلراید در کاهش بار میکروبی کاهو: بررسی کارایی الکیل دی متیل بنزیل آمونیوم کلراید در کاهش بار میکروبی کاهو را در سه غلظت کمتر، طبق و بیشتر از پروتکل در نمودار شماره ۴ آورده شده است.

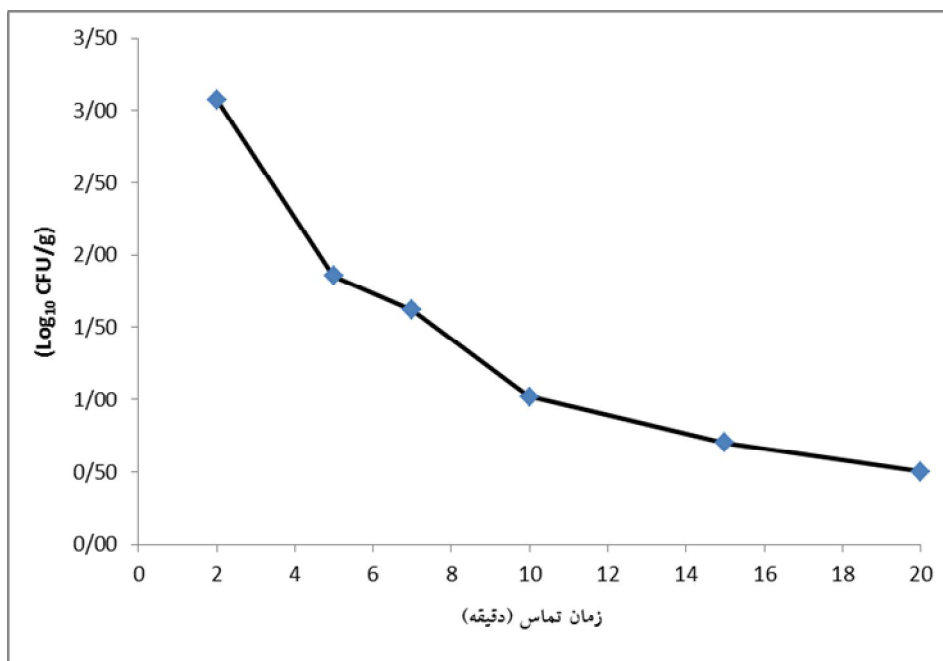
در این مرحله از گندزدایی از سه غلظت بنزالکونیوم کلراید استفاده شد غلظت کمتر از پروتکل  $0/75$  میلی لیتر در لیتر، مطابق پروتکل  $1/25$  میلی لیتر در لیتر و بیشتر از پروتکل  $1/75$  میلی لیتر در لیتر بود. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که در غلظت کمتر از پروتکل کارخانه کاهش بار میکروبی به میزان  $\log_{10} 1/557 \text{CFU/g}$ ، طبق پروتکل  $1/757 \log_{10} \text{CFU/g}$  و بیشتر از



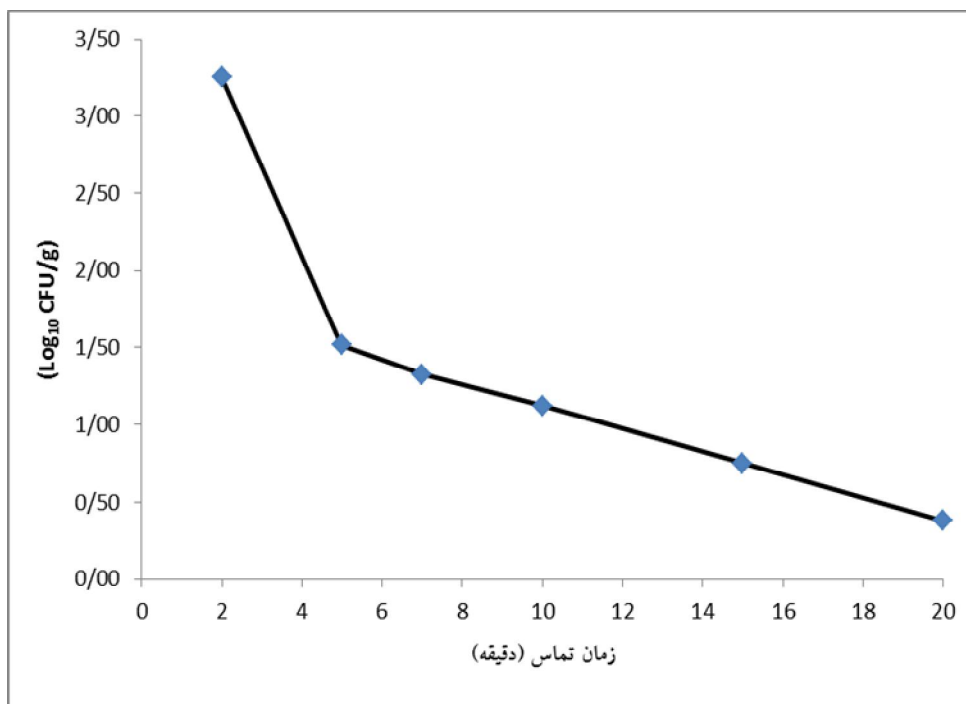
نمودار (۴): بررسی کارایی الکیل دی متیل بنزیل آمونیوم کلراید در کاهش بار میکروبی کاهو

با توجه به اینکه میزان مؤثر بودن گندزدایی به دو عامل غلظت (C) و زمان تماس (t) بستگی دارد، بنابراین از بین رفتن میکروارگانیسم‌ها با ضریب  $Ct \times$  متناسب است بدین معنی که اگر غلظت گندزدا کاهش یابد، زمان تماس می‌بایستی افزایش یابد تا اطمینان حاصل گردد گندزدایی تا حد مورد انتظار انجام شده است و بالعکس اگر غلظت گندزدا افزایش یابد در مدت زمان کمتری میزان گندزدایی موردنظر انجام می‌گردد. در این مطالعه به بررسی اثر زمان تماس بر کارایی گندزدهای تجاری مورد مطالعه پرداخته شده است. نتایج این مطالعه در نمودارهای شماره ۵ و ۶ آورده شده است.

در این مرحله از گندزدایی از سه غلظت الکیل دی متیل بنزیل آمونیوم کلراید استفاده شد غلظت کمتر از پروتکل  $0/75$  میلی لیتر در لیتر، مطابق پروتکل  $1/25$  میلی لیتر در لیتر و بیشتر از پروتکل  $1/75$  میلی لیتر در لیتر بود؛ که در غلظت کمتر از پروتکل کاهش بار میکروبی به میزان  $1/707 \log_{10} \text{CFU/g}$ ، طبق پروتکل  $1/957 \log_{10} \text{CFU/g}$  و بیشتر از پروتکل  $1/557 \log_{10} \text{CFU/g}$  مشاهده شده است.  $2/207$  بررسی اثر زمان تماس گندزدهای تجاری در کاهش بار میکروبی کاهو:



نمودار (۵): بررسی اثر زمان تماس در کاهش بار میکروبی کاهو با استفاده از گندزدای بنزالکونیوم کلراید



نمودار (۶): بررسی اثر زمان تماس در کاهش بار میکروبی کاهو با استفاده از گندزدای آلکیل دی متیل بنزیل آمونیوم کلراید

گندزدای بنزالکونیوم کلراید در زمان تماس ۲ دقیقه (کمتر از مان تماس ارائه شده در پروتکل کارخانه) بار میکروبی کاهو  $\log_{10}$  ۳/۰۷۵ CFU/g و با افزایش زمان تماس به تدریج با شیب تندی

همان‌طور که از نمودارهای شماره ۵ و ۶ مشخص است، با افزایش زمان تماس، کارایی گندزدایی افزایش یافته و موجب کاهش بار میکروبی روی نمونه‌های کاهو شده است؛ مثلاً در کاربرد



کاهش یافته بطوری که بعد از زمان تماس ۲۰ دقیقه به کمتر از  $10^5 \text{ CFU/g}$  رسیده است. همچنین در کاربرد گندزدای الکیل دی متیل بنزیل آمونیوم کلراید در زمان تماس ۲ دقیقه (کمتر از مان تماس ارائه شده در پروتکل کارخانه) بار میکروبی کاهو  $10^{3.25} \text{ CFU/g}$  و با افزایش زمان تماس به تدریج با شیب تندی کاهش یافته بطوری که بعد از زمان تماس ۲۰ دقیقه به کمتر از  $10^{3.8} \text{ CFU/g}$  رسیده است.

### بحث و نتیجه‌گیری

میانگین بار اولیه کل کلیفرم در این مطالعه  $10^5 \text{ CFU/g}$   $10^{3.57}$  بود در کل ذکر این نکته حائز اهمیت است که شرایط کاشت محصول، کیفیت آب مورد استفاده در کشاورزی، نوع کود مورد استفاده و نیز شرایط حمل‌ونقل و عرضه سبزیجات، در کشورهای مختلف باهم متفاوت است و باعث تغییر در میزان بار اولیه میکروبی در محصول می‌گردد به همین خاطر نتایج متفاوتی در مطالعات در این زمینه گزارش شده است. پس از گندزدایی کاهو در مرحله شستشو با آب میزان کل کلیفرم برابر  $10^5 \text{ CFU/g}$   $10^{3.5}$  شده است و در مرحله استفاده از دترجنت میزان حذف کل کلیفرم  $10^{3.57} \text{ CFU/g}$  و در مرحله استفاده از گندزدایی با پرکلرین کل کلیفرم  $10^{2.657} \text{ CFU/g}$  و گندزدای بنزالکونیوم کلراید بار اولیه میکروبی کاهو را به  $10^{1.8} \text{ CFU/g}$  و گندزدای الکیل دی متیل بنزیل آمونیوم کلراید با اولیه میکروبی کاهو را به  $10^{1.6} \text{ CFU/g}$  کاهش داده است و با نتایج حاصل از مطالعه یاراحمدی و همکاران همخوانی دارد. کارایی گندزدایی در کاهش بار میکروبی میوه و سبزیجات به نوع محصول، نوع سطح میوه و سبزیجات و نوع میکروارگانیسم بستگی دارد و باعث حصول نتایج متفاوت می‌گردد (۱۱).

بررسی اثر غلظت گندزدا در این مطالعه نشان داد طبق فرمول:  $C.t=n$  که در آن:  $n$ : برابر مقدار ثابت،  $C$ : غلظت گندزدا و  $t$ : زمان تماس می‌باشد و این فرمول بیانگر این است که هرچقدر غلظت گندزدا بالاتر باشد بایستی زمان تماس پایین باشد و اگر زمان تماس بالا باشد بایستی غلظت گندزدا پایین باشد. نتایج این مطالعه نیز نشان داده است که با افزایش زمان تماس گندزدا با کاهو راندمان گندزدایی افزایش یافته است بنابراین توصیه می‌شود در استفاده از گندزدهای تجاری توجه شود که برای حصول اطمینان از گندزدایی، زمان تماس بیش از توصیه کارخانه در نظر گرفته شود تا در صورتی که غلظت گندزدا به مرور زمان کاهش

یافته باشد در عمل گندزدا خللی ایجاد نکند. در مطالعه‌ای که توسط ناسیمنتو و همکاران در کشور برزیل انجام شد بار اولیه کل کلیفرم موجود بر روی ۱۰ نمونه کاهو مورد بررسی قرار گرفت و نتایج این مطالعه نشان داد که میانگین بار اولیه کل کلیفرم در نمونه‌های بررسی شده  $10^{3.25} \text{ CFU/g}$  بود. میزان کل کلیفرم در مطالعه ناسیمنتو و همکاران با نتایج حاصل از این مطالعه همخوانی دارد. نتایج مطالعه‌ای که توسط ایسیسک و همکاران در کشور ترکیه انجام گرفت، نشان داد بار اولیه کل کلیفرم موجود بر روی کاهو  $10^{7.4} \text{ CFU/g}$  بوده است. مطالعات نشان می‌دهد که جمعیت میکروارگانیسم‌های موجود بر روی سبزیجات می‌تواند وسیع و متنوع باشد (۱۱).

نتایج بدست آمده توسط زانگ نشان داد گندزدایی کاهو با گندزدای پرکلرین با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث کاهش کلیفرم بر روی کاهو به میزان  $10^{1.3} \text{ CFU/g}$  می‌گردد (۱۲). در مطالعه‌ای که توسط یاراحمدی و همکاران انجام شد میزان کل کلیفرم  $10^{3.36} \text{ CFU/g}$  بود، پس از گندزدایی کاهو در مرحله شستشو با آب میزان حذف کل کلیفرم  $10^5 \text{ CFU/g}$   $10^{0.75}$  (۷۸ درصد) بود و در مرحله استفاده از دترجنت میزان حذف کل کلیفرم  $10^{1.44} \text{ CFU/g}$  (۹۸/۴ درصد) و در مرحله استفاده از گندزدایی با پرکلرین کل کلیفرم  $10^{2.18} \text{ CFU/g}$  (۹۴ درصد) کاهش یافت (۶). بر اساس یافته‌های حاصل از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که اگرچه دستورالعمل توصیه شده وزارت بهداشت در ایران جهت گندزدایی سبزیجات به‌عنوان یک روش مؤثر قسمت اعظمی از میکروارگانیسم‌های موجود بر روی سبزیجات را حذف می‌نماید اما پرکلرین می‌تواند بامواد آلی موجود در میوه و سبزیجات ترکیب گردد و مواد سمی از قبیل کلرآمین و تری هالومتان را تولید نماید که برای سلامتی انسان مضر است، اما با توجه به آزمایشات انجام شده مشاهده شد که راندمان کلر در کاهش بار میکروبی کاهو نسبت به دو گندزدای دیگر بیشتر بود و راندمان گندزدای بنزالکونیوم کلراید در کاهش بار میکروبی کاهو نسبت به دو گندزدای دیگر کمتر بود.

### تقدیر و تشکر

از معاونت محترم تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ارومیه به خاطر حمایت مالی از این تحقیق (کد 91-03-34-801) و فراهم نمودن امکانات لازم تشکر و قدردانی می‌شود.

## References:

1. Eni A, Oluwawemitan I, Solomon O. Microbial Quality of Fruits and Vegetables Sold in Sango Ota, Nigeria. *African J Food Sci* 2010; 4(5): 291-6.
2. Sapers G. Efficacy of Washing and Sanitizing Methods for Disinfection of Fresh Fruit and Vegetables Products. *Food Technol. Biotechnol* 2001; 39:305-11.
3. Beuchat LR. Surface disinfection of raw produce. Dairy, Food Environ. Sanitation 1991; 12(1): 6-9.
4. Rahbar M, Sabourian R, Saremi M, Abbasi M, Masoomi A, Soroush M. Epidemiological and Drug Resistant Pattern of Summer of 2005 Outbrak In Iran. *JAUMS* 2007; 7(1): 41-5.
5. 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 Ggorgan. *J Gorgan Univ Med Sci* 2001; 3(8): 43-6.
6. Yarahmadi M, Yunesian M, Mubedi I, Purmand M R, Shahsavani A, Nomanpour B, Nadafi K. Survey of the efficiency of lettuce disinfection according to the Common method in Iran. *J Health Sys Res* 2012; 7(6) 1-10.
7. 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.
8. Chao Ch, Tzou H, Chen Y, Feng Sh, Hsien Ch. Bactericidal Effects of Fresh-Cut Vegetables and Fruits after Subsequent Washing with Chlorine Dioxide. *International Conference on Food Engineering and Biotechnology*. Tokyo: 2011.
9. 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.
10. 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 .
11. Barati HA, Golmohammadi A, Momeni I, Moradi G. A Cholera Outbreak Investigation in Karaj District in 2008. *Iran J Epidemio* 2010; 6(3): 28-34.
12. Zhang S, Farber JM. The Effects of Various Disinfectants against *Listeria monocytogenes* on Freshcutvegetables. *Food Microbiol* 1996; 13(4): 311-21.

## SURVEY AND COMPARISON EFFICACY OF ALKYL DIMETHYLBENZYL AMMONIUM CHLORIDE AND BENZALKONIUM CHLORIDE AND CHLORINE IN REDUCING OF MICROBIAL LOAD OF LETTUCE

Gholami Borujeni F<sup>1</sup>\*, Nejat-zadeh F<sup>2</sup>, Hajimala F<sup>3</sup>, Nilufari N<sup>3</sup>, Kakallahpur CH<sup>3</sup>

Received: 12 May, 2014; Accepted: 1 Jul, 2014

### Abstract

**Background & Aims:** Because of application human and animal manure, polluted water and contact of animals in farms, Fruits and vegetables generally are contaminated with pathogens. So, to removal of these contaminants, vegetables must be decontaminated before used. In this study, efficacy of two widely used disinfectants (Alkyl Dimethylbenzyl Ammonium Chloride and Benzalkonium chloride) in reduction of microbial load of lettuce were studied and also we compare these to chlorine in the form of Calcium hypochlorite in order to reassure the people that used these disinfectants.

**Materials & Methods:** In the present study, we determined the microbial load reduction in four steps of sanitizing and disinfection of lettuce obtained from market in Urmia (application of Alkyl Dimethylbenzyl Ammonium Chloride and Benzalkonium chloride and chlorine) and we used Most Probable Number of coliform (MPN) index to determine efficiency of washing and disinfection in reduction of microbial load.

**Results:** Results of this study show that, average initial levels of total coliform in lettuce obtained from market in Urmia samples were 3.557 log<sub>10</sub> CFU/g. After disinfection of lettuce according to the protocol of Iranian Ministry of Health, at step of completely washed in water after cleaning average levels of total coliform were decreased to 3.35 log<sub>10</sub> CFU/g and at step of washing with detergent, total coliform reduced to 2.07 log<sub>10</sub> CFU/g. At step of disinfection with chlorine, initial microbial load decreased to 0.9 log<sub>10</sub> CFU/g and Benzalkonium chloride caused decreased initial microbial load to 1.8 log<sub>10</sub> CFU/g and Alkyl Dimethylbenzyl Ammonium Chloride caused decreased initial microbial load to 1.6 log<sub>10</sub> CFU/g.

**Conclusion:** Chlorine is an effective disinfectant in disinfection of lettuce that caused decreased 2.6 log<sub>10</sub> CFU/g of coliform at lettuce, and have better efficiency than other two commercial disinfectants.

**Keywords:** Disinfection, Lettuce, Chlorine, Microbial load

**Address:** School of Health, Urmia University of Medical Science

Tel: (+98)4412752311

Email: fgholami@umsu.ac.ir

<sup>1</sup> Associate Professor Social Determinants of Health Research Center and Environmental Health Engineering, School of Health, Urmia University of Medical Science (Corresponding Author)

<sup>2</sup> Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Khoy Branch, Islamic Azad University, Khoy, Iran

<sup>3</sup> B.Sc. Student, Environmental Health Engineering, School of Health, Urmia University of Medical Science