Agricultural Sci. J. 48 : 3 (Suppl.) : 121-124 (2017) ว. วิทย. กษ. 48 : 3 (พิเศษ) : 121-124 (2560)

ประสิทธิภาพในการลดปริมาณอี. โคไลในถั่วงอกของกรดเปอร์ออกซีอะซิติก โพลีซอร์เบต และคลื่นเหนือเสียง

Decontamination Efficiency of Peroxyacetic Acid, Polysorbate and Ultrasound on *Escherichia coli* of Mung Bean Sprouts

บุษกร ทองใบ[1] ศศิธร ไหมน้ำคำ[1] และนวรัตน์ เผ่ามงคล[1]

Bussagon Thongbai[1], Sasitorn Mainamkhum[1] and Nawarat Phaomongkon[1]

Abstract

Decontamination efficiency of peroxyacetic acid, polysorbate and ultrasound on *Escherichia coli* of mung bean sprouts were investigated. The initial *E. coli* of mung bean sprouts was 5.56 log CFU/g. Inoculated bean sprouts were washed with sterile distilled water (SDW; control) for 5 min, 70 ppm peroxyacetic acid (PAA) for 5 min, 0.1% polysorbate 20 (PB) for 5 min, ultrasound (US) (40KHz) for 3 min, peroxyacetic acid with polysorbate (PAA-PB) for 5 min, peroxyacetic acid with ultrasound (PAA-US) for 3 min, polysorbate with ultrasound (PB-US) for 3 min and combined treatment of peroxyacetic acid with polysorbate and ultrasound (PAA-PB-US) for 3 min. The results showed the population of *E. coli* of mung bean sprouts were reduced to 4.51, 3.90, 4.37, 4.35, 3.85, 3.73, 4.26 and 3.71 log CFU/g, respectively, ($p<0.05$). This finding showed the appropriate treatment in reducing *E. coli* of mung bean sprouts were PAA-US and PAA-PB-US. The result demonstrated that the antimicrobial efficacy of peroxyacetic acid, polysorbate and ultrasound have a potential as washing treatment for reducing microbes and improving safety of fresh mung bean sprouts.

Keywords: *E. coli*, Peroxyacetic acid, Ultrasound

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพในการลดปริมาณของอี. โคไลในถั่วงอกโดยการใช้กรดเปอร์ออกซีอะซิติก โพลีซอร์เบต และคลื่นเหนือเสียง โดยถั่วงอกถูกสร้างสภาพการปนเปื้อนด้วยอี. โคไล นำถั่วงอกที่มีอี. โคไลปนเปื้อนเริ่มต้น 5.56 log CFU/g มาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (SDW) เป็นชุดควบคุม เป็นเวลา 5 นาที กรดเปอร์ออกซีอะซิติก (PAA) ความเข้มข้น 70 ppm เป็นเวลา 5 นาที โพลีซอร์เบต 20 (PB) ความเข้มข้น 0.1% w/v เป็นเวลา 5 นาที คลื่นเหนือเสียง (US) (40 KHz) เป็นเวลา 3 นาที กรดเปอร์ออกซีอะซิติกร่วมกับโพลีซอร์เบต (PAA-PB) เป็นเวลา 5 นาที กรดเปอร์ออกซีอะซิติกร่วมกับคลื่นเหนือเสียง (PAA-US) เป็นเวลา 3 นาที โพลีซอร์เบตร่วมกับคลื่นเหนือเสียง (PB-US) เป็นเวลา 3 นาที และกรดเปอร์ออกซีอะซิติกร่วมกับโพลีซอร์เบตร่วมกับคลื่นเหนือเสียง (PAA-PB-US) เป็นเวลา 3 นาที พบว่าปริมาณอี. โคไลที่ปนเปื้อนถั่วงอกลดลงเหลือ 4.51, 3.90, 4.37, 4.35, 3.85, 3.73, 4.26 และ 3.71 log CFU/g ตามลำดับ ($p<0.05$) ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า PAA-US และ PAA-PB-US เป็นชุดทดสอบที่เหมาะสมในการลดปริมาณอี. โคไลที่ปนเปื้อนถั่วงอก โดยประสิทธิภาพร่วมกันของกรดเปอร์ออกซีอะซิติก โพลีซอร์เบต และคลื่นเหนือเสียงมีศักยภาพใช้เป็นวิธีการล้างเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์และเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคถั่วงอกสดได้

คำสำคัญ: อี. โคไล กรดเปอร์ออกซีอะซิติก คลื่นเหนือเสียง

คำนำ

ถั่วงอก (mung bean sprout) เป็นพืชงอกที่คนไทยรู้จักและบริโภคกันมาเป็นเวลานาน ซึ่งในประเทศไทยนิยมบริโภคถั่วงอกดิบร่วมกับอาหารไทยหลากหลายชนิดๆ เช่น ผัดไทย ขนมจีน เป็นต้น แต่การบริโภคพืชงอกสดอาจประสบปัญหาเรื่องการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ต่างๆ และจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร (foodborne pathogens) เช่น *Salmonella*, *Staphylococcus* และ *Escherichia coli* เป็นต้น ซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคที่มีความกังวลอย่างมากในปัจจุบันนี้ ทั้งนี้การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่พบในพืชงอกอาจเกิดได้จากหลายเหตุผลด้วยกัน เช่น มีขั้นตอนการเพาะเป็นพืชงอกที่ไม่ถูกสุขลักษณะ อีกทั้ง

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาสารคาม 44150

[1] Department of Food Technology and Nutrition, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Maha Sarakham 44150

สภาวะในการเพาะให้เมล็ดพืชเกิดการงอก (germination) เป็นพืชงอกนั้นยังเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกด้วย เพราะมีความชื้นและอุณหภูมิที่สูงขึ้นจึงทำให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพืชหรือจากน้ำและสิ่งแวดล้อมในระหว่างกระบวนการเพาะพืชงอกสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณขึ้นได้ในระหว่างการเพาะนั้นเอง นอกจากนี้ปัญหาการระบาดของโรคที่มีอาหารเป็นสื่อ (foodborne outbreak) ที่เพิ่มสูงขึ้นซึ่งการระบาดนี้สัมพันธ์กับการบริโภคผักสดและพืชงอกสดที่เพิ่มขึ้นด้วย (Health Canada, 2011) วิธีการแก้ปัญหาเหล่านี้ทำได้โดยก่อนบริโภคพืชงอกหรือผักสดควรต้องผ่านวิธีการลดปริมาณหรือกำจัดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเสียก่อน ซึ่งวิธีการล้างผักเป็นวิธีการที่นิยมใช้เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนพืชงอกและผักสดมากที่สุด แต่เนื่องจากการล้างผักสดด้วยน้ำประปาเพียงอย่างเดียวนั้นมีรายงานว่าปริมาณจุลินทรีย์ที่ลดลงไม่มีความแตกต่างจากปริมาณจุลินทรีย์ในผักที่ไม่ล้างเลย (Ruiz-Cruz *et al*., 2007) ซึ่งองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาได้ให้คำแนะนำว่าพืชงอกควรล้างด้วยสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรต์ (คลอรีนอิสระ 20,000 ppm) เพื่อลดปริมาณของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในพืชงอก (Food and Drug Administration, 1999) แต่เนื่องจากในปัจจุบันมีรายงานถึงอันตรายจากการใช้สารประกอบคลอรีนเพราะมีสาเหตุจากสาร trihalomethanes ที่เป็นสารก่อมะเร็งที่พบในการใช้สารประกอบคลอรีนซึ่งเป็นสารที่อันตรายต่อผู้บริโภค ดังนั้นการเลือกใช้สารฆ่าเชื้อชนิดอื่นทดแทนสารประกอบคลอรีนจึงเป็นทางเลือกใหม่ที่กำลังได้รับความสนใจ กรดเปอร์ออกซีอะซิติก (peroxyacetic acid) หรือกรดเปอร์อะซิติก (peracetic acid) เป็นสารฆ่าเชื้อ (sanitizer) ที่เป็นสารละลายผสมของกรดอะซิติกกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ได้รับการยอมรับจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้สำหรับล้างผักและผลไม้สดได้ (Ruiz-Cruz *et al*., 2007) กรดเปอร์ออกซีอะซิติกมีอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์และสิ่งแวดล้อมน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับสารประกอบคลอรีน โดย สารนี้จะสลายตัวเป็นกรดอะซิติกและออกซิเจนหลังการใช้งาน (Monarca *et al*., 2002) ส่วนโพลีซอร์เบตเป็นสารลดแรงตึงผิว (surfactant) สามารถลดแรงตึงผิวของน้ำเพื่อให้เกิดกระบวนการต่างๆ การเกิดฟอง การทำให้เปียก ทำให้ความสะอาดได้ง่ายขึ้น ในขณะที่คลื่นเหนือเสียง (ultrasound) เป็นคลื่นเสียงที่มีความถี่สูงทำให้เกิดและสลายตัวของฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมากอย่างรวดเร็ว (cavitation) เกิดฟองอากาศทั้งชนิดแตกทันที (temporary bubble) และชนิดที่เป็นฟองระยะเวลาหนึ่งแล้วจึงแตก (stable bubble) เป็นพลังงาน shock wave ส่งผลทำลายจุลินทรีย์หรือการหลุดจากการเกาะติดที่ผิวของผักผลไม้ได้ (São José *et al*., 2014) ซึ่งเป็นวิธีเหล่านี้ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคเพราะไม่มีสารเคมีอันตรายเข้ามาเกี่ยวข้องหรือตกค้าง งานวิจัยนี้จึงศึกษาประสิทธิภาพในการลดปริมาณอี. โคไลในถั่วงอกของกรดเปอร์ออกซีอะซิติก โพลีซอร์เบต และคลื่นเหนือเสียงเพื่อเพิ่มความปลอดภัยอาหารด้านจุลชีววิทยาในการบริโภคพืชงอกสดได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมถั่วงอกและการสร้างสภาพการปนเปื้อนอี. โคไลในถั่วงอก

ถั่วงอกสดซื้อจากร้านค้าที่เพาะถั่วงอกส่งจำหน่ายในจังหวัดมหาสารคาม นำมาล้างด้วยน้ำประปาไหลผ่านเพื่อกำจัดสิ่งออกไป (15-20 วินาที) ล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70% (1 นาที) เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนเริ่มต้น และล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (15 วินาที) เพื่อล้างแอลกอฮอล์ที่ตกค้าง นำมาสร้างสภาพการปนเปื้อนจุลินทรีย์เลียนแบบการปนเปื้อนในธรรมชาติโดยการแช่ถั่วงอกในเซลล์แขวนลอยของ *Escherichia coli* (10^6 CFU/ml) เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง วางให้สะเด็ดน้ำบนตะแกรงปลอดเชื้อในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 30 นาที (ดัดแปลงจากวิธีของ Neo *et al*., 2013) เก็บถั่วงอกที่สร้างสภาพปนเปื้อนด้วยอี. โคไลที่อุณหภูมิ 7 $\pm$ 1°C เป็นเวลา 16 - 18 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้ออี. โคไลเกาะติดแน่นบนถั่วงอก โดยสุ่มเก็บตัวอย่างถั่วงอกมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณอี. โคไล (*E. coli*) ที่ปนเปื้อนในถั่วงอกเริ่มต้น (Initial *E. coli*) (log CFU/g)

ศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีอะซิติก โพลีซอร์เบตและคลื่นเหนือเสียงในการลดปริมาณอี. โคไลในถั่วงอก

นำถั่วงอกสร้างสภาพปนเปื้อนอี. โคไลแล้วมาทำการทดสอบ 8 ชุดดังนี้ ชุดที่ 1 ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (SDW) เป็นชุดควบคุม เป็นเวลา 5 นาที ชุดที่ 2 ล้างด้วยกรดเปอร์ออกซีอะซิติก (PAA) ความเข้มข้น 70 ppm เป็นเวลา 5 นาที ชุดที่ 3 ล้างด้วยโพลีซอร์เบต 20 หรือ Tween 20 (PB) ความเข้มข้น 0.1% (w/v) เป็นเวลา 5 นาที ชุดที่ 4 ล้างด้วยคลื่นเหนือเสียง (40 kHz, US) เป็นเวลา 3 นาที ชุดที่ 5 ล้างด้วยกรดเปอร์ออกซีอะซิติกร่วมกับโพลีซอร์เบต (PAA - PB) เป็นเวลา 5 นาที ชุดที่ 6 ล้างด้วยกรดเปอร์ออกซีอะซิติกร่วมกับคลื่นเหนือเสียง (PAA - US) เป็นเวลา 3 นาที ชุดที่ 7 ล้างด้วยโพลีซอร์เบตร่วมกับคลื่นเหนือเสียง (PB - US) เป็นเวลา 3 นาที ชุดที่ 8 ล้างด้วยกรดเปอร์ออกซีอะซิติกและโพลีซอร์เบตร่วมกับคลื่นเหนือเสียง (PAA - PB - US) เป็นเวลา 3 นาที โดยตัวอย่างถั่วงอกหลังทดสอบด้วย PAA และ PB นำมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (15 วินาที) 2 ครั้ง เพื่อ

ล้างสารที่ตกค้างออกจากถั่วงอก และวิเคราะห์ปริมาณอี. โคไลที่รอดชีวิตในถั่วงอกด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey agar (MAC) บ่มที่ 35 - 37ºC เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รายงานปริมาณอี. โคไลที่รอดชีวิตเป็น log CFU/g วางแผนการทดลองแบบ Completely Random Design (CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ (ดัดแปลงจากวิธีของ Neo *et al.*, 2013) วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลและวิจารณ์

ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการลดปริมาณอี. โคไลในถั่วงอกของกรดเปอร์ออกซีอะซิติก โพลีซอร์เบต และคลื่นเหนือเสียง (Table 1) พบว่าภายหลังการสร้างสภาพการปนเปื้อนด้วยอี. โคไลแล้วถั่วงอกที่นำมาทดสอบมีปริมาณอี. โคไล ปนเปื้อนเริ่มต้นเท่ากับ 5.56 log CFU/g และเมื่อนำถั่วงอกมาล้างด้วย SDW, PAA, PB, US, PAA - PB, PAA - US, PB - US และ PAA - PB - US พบว่าถั่วงอกมีปริมาณอี. โคไลที่ปนเปื้อนลดลงเป็น 4.51, 3.90, 4.37, 4.35, 3.85, 3.73, 4.26 และ 3.71 log CFU/g ตามลำดับ ($P < 0.05$) ซึ่งจากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้ PAA, PB และ US มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณอี. โคไลที่ปนเปื้อนถั่วงอกได้ ($P < 0.05$) แต่การใช้ PAA, PB และ US เพียงอย่างเดียวนั้นมีประสิทธิภาพในการการลดปริมาณอี. โคไลได้ต่ำกว่าการใช้หลายวิธีร่วมกัน ยกเว้น PAA ซึ่งเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการทำลายอี. โคไลได้ดีโดยสามารถลดปริมาณอี. โคไลที่ปนเปื้อนถั่วงอกได้ 1.66 log CFU/g ในขณะที่ PB และ US สามารถลดปริมาณอี. โคไลที่ปนเปื้อนถั่วงอกได้เพียง 1.19 และ 1.21 log CFU/g ตามลำดับ และเมื่อใช้ PAA - PB, PA - US, PB - US และ PAA - PB - US พบว่าสามารถลดปริมาณอี. โคไลที่ปนเปื้อนถั่วงอกได้ 1.71, 1.83, 1.30 และ 1.85 log CFU/g ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณอี. โคไลที่ปนเปื้อนถั่วงอกเริ่มต้น (5.56 log CFU/g) ซึ่งจาก Table 1 จะเห็นได้ว่า PAA - US และ PAA - PB - US เป็นวิธีการล้างถั่วงอกที่มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณอี. โคไลในถั่วงอกได้ดี ($P > 0.05$) โดยสามารถลดปริมาณอี. โคไลได้ 0.78 และ 0.80 log CFU/g ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (SDW) และลดได้ 1.83 และ 1.85 log CFU/g ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณอี. โคไล ที่ปนเปื้อนถั่วงอกเริ่มต้น

Table 1 Population of *Escherichia coli* on treated bean sprouts

Treatments	Populations (log CFU/g)	
	Viable cells	Microbial load reduction
SDW	4.51 ± 0.08^{e}	-
PAA	3.90 ± 0.02^{b}	0.61 ± 0.06^{c}
PB	4.37 ± 0.05^{d}	0.14 ± 0.03^{a}
US	4.35 ± 0.02^{d}	0.16 ± 0.06^{ab}
PAA-PB	3.85 ± 0.04^{b}	0.66 ± 0.04^{c}
PAA-US	3.73 ± 0.05^{a}	0.78 ± 0.03^{d}
PB-US	4.26 ± 0.04^{c}	0.25 ± 0.04^{b}
PAA-PB-US	3.71 ± 0.04^{a}	0.80 ± 0.04^{d}

$^{a-e}$ means in the column followed by different letters are significantly different ($p< 0.05$)

Initial *E. coli* of mung bean sprout: 5.56 ± 0.04 log CFU/g

SDW: Sterile distilled water, PAA: Peroxyacetic (70 ppm), PB: Polysorbate 20 (0.1%),

US: Ultrasound (40KHz), PAA-PB: Peroxyacetic and polysorbate,

PAA-US: Peroxyacetic and ultrasound, PB-US: Polysorbate and ultrasound,

PAA-PB-US: Peroxyacetic with polysorbate and ultrasound

จากฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ของ PAA ซึ่งเป็นสารออกซิไดส์อย่างแรงและเป็นสารฆ่าเชื้อประเภทกรดอินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ ทำให้ PAA สามารถซึมผ่านผนังเซลล์แบคทีเรียเข้าไปทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่อยู่ภายในเซลล์ของแบคทีเรียและมีผลทำให้เกิดสภาวะเป็นกรดขึ้นภายในเซลล์แบคทีเรียและทำให้โปรตีนภายในเซลล์เกิดการเสียสภาพ อีกทั้งยังขัดขวางการขนส่งของผนังเซลล์ รบกวนการผ่านเข้าออกที่เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียส่งผลให้เซลล์ของอี. โคไลเกิดการบาดเจ็บ

และทำให้ตายในที่สุด (Davidson and Branen, 1993) PB หรือ Tween 20 เป็นสารลดแรงตึงผิวช่วยทำให้การล้างด้วยน้ำมีประสิทธิภาพสูงขึ้น ทำให้แบคทีเรียเกาะที่ผิวด้านนอกของผักได้ไม่ดีถูกชะล้างออกได้ง่ายขึ้นในขั้นตอนการล้าง (Dikici *et al*., 2013) ในขณะที่ US เป็นการใช้คลื่นเสียงที่มีความถี่สูงจนทำให้ของเหลวเกิดฟองอากาศจำนวนมากและเกิดขึ้นซ้ำๆ เกิดการสั่นสะเทือนของน้ำขนาดเล็กจำนวนมาก เกิดเป็นพลังงาน shock wave มีผลให้แบคทีเรียที่เกาะติดบริเวณผิวและซอกมุมต่างๆ ของผักเกิดการหลุดออกไปได้ ผลการทดลองใน Table 1 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sagong *et al*. (2013) ที่ใช้คลื่นเหนือเสียงร่วมกับ Tween 20 (0.1%) สามารถลดปริมาณสปอร์ของ *Bacillus cereus* ในผักกาดหอมและแครอทได้เท่ากับ 2.49 และ 2.22 log CFU/g ตามลำดับ ดังนั้นเมื่อใช้ PAA - US และ PAA - PB - US จึงพบว่ามีประสิทธิภาพในการลดปริมาณอี. โคไลที่ปนเปื้อนถั่วงอกได้ดีที่สุดอาจเป็นเพราะ PAA ทำให้เซลล์แบคทีเรียบางส่วนเกิดการบาดเจ็บและบางส่วนตายไป ในขณะที่ PB ก็ไปช่วยลดความสามารถในการเกาะติดของแบคทีเรียที่ผิวของถั่วงอกลงได้ จึงส่งผลให้เซลล์ของอี. โคไลที่เกาะติดถั่วงอกถูกชะล้างด้วยน้ำออกไปได้ง่ายขึ้น และเมื่อใช้ PAA-PB-US ซึ่งทำงานเสริมฤทธิ์กัน (synergistic effect) จึงทำให้เซลล์ของอี. โคไลในถั่วงอกตายหรือหลุดไปได้สูงขึ้น พบปริมาณของอี. โคไลในถั่วงอกลดลงมากที่สุด โดยถั่วงอกที่ล้างด้วย PAA - US และ PAA - PB - US มีลักษณะทางกายภาพของถั่วงอกสดสีขาว เต่งตึง และไม่มีกลิ่นผิดปกติ (ไม่ได้แสดงข้อมูล)

สรุป

การล้างถั่วงอกด้วย PAA - US และ PAA - PB - US เป็นเวลา 3 นาที มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณอี. โคไลในถั่วงอกได้ดีที่สุดมีศักยภาพในการใช้เป็นวิธีทางเลือกในการล้างพืชงอกและผักสด เพื่อช่วยเพิ่มความปลอดภัยด้านจุลชีววิทยาของผลิตผลสดหลังการเก็บเกี่ยวให้แก่ผู้บริโภคได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนาศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่สนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ และสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Davidson, P.M. and A.L. Branen. 1993. Antimicrobials in Foods. 2nd ed. Marcel Dekker, Inc. N.Y

Dikici, A., A. Arslan, H. Yalcin, P. Ozdemir, I. Aydin and M. Calicioglu. 2013. Effect of Tween 20 on antibacterial effects of acidic, neutral and alkaline decontaminants on viability of *Salmonella* on chicken carcasses and survival in waste decontamination fluids. Food Control 30: 365 – 369.

Food and Drug Administration. 1999. Guidance for industry: reducing microbial food safety hazards for sprouted seeds and guidance for industry: sampling and microbial testing of spent irrigation water during sprout production. [Online]. Available Source: http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/sprougd1.html. (8 June 2017).

Health Canada. 2011. Risks associated with sprouts. [Online]. Available Source: http://www.hc-sc.gc.ca/hl-vs/iyh-vsv/food-aliment/sprouts-germes-eng.php. (9 June 2017).

Monarca, S., S.D. Richardson, D. Feretti, M. Grottolo, A.D. Thruston Jr., C. Zani, G. Navazio, P. Ragazzo, I. Zerbini and A. Alberti, 2002. Mutagenicity and disinfectionby-products in surface drinking water disinfected with peracetic acid. Environmental Toxicology and Chemistry 21: 309-318.

Neo, S. Y., P.Y. Lim, L.K. Phua, G.H. Khoo, S. Kim, S. Lee and H. Yuk. 2013. Efficacy of chlorine and peroxyacetic acid on reduction of natural microflora, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. on mung bean sprouts. International Journal of Food Microbiology. 36: 475 - 480

Ruiz-Cruz, S., E. Acedo-Félix, M. Díaz-Cinco, M.A. Islas-Osuna and G.A. González-Aguilar. 2007. Efficacy of sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* populations on fresh-cut carrots. Food Control 18: 1383-1390.

Sagong, H., H. Cheon, S. Kim, S. Lee, K. Park, M. Chung, Y. Choi and D. Kang. 2013. Combined effects of ultrasound and surfactants to reduce *Bacillus cereus* spores on lettuce and carrots. International Journal of Food Microbiology. 160: 367 - 372.

São José, J.F.B., N.J. Andrade, A.M. Ramos, M.C.D. Vanetti, P.C. Stringheta and J.B.P. Chaves. 2014. Decontamination by ultrasound application in fresh fruits and vegetables. Food Control 45: 36 – 50.