

مقاله تحقیقی

شناسایی و تعیین میزان آلودگی باکتریایی آنتروباکتریاسه و اشریشیاکلی حلوا ارده در شهرستان‌های یزد و اردکان

محمدرضا اسحاقی*

مربی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، دانشکده کشاورزی، گروه صنایع غذایی

* مسؤل مکاتبات: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا، دانشکده کشاورزی، گروه صنایع غذایی، تلفن:

۰۲۹۱-۴۲۲۰۶۵۰، پست الکترونیکی: Mr.Eshaghi@yahoo.com

محل انجام تحقیق: بخش آزمایشگاه کنترل کیفیت گروه صنعتی حلواای عقاب

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۲۱

تاریخ پذیرش: ۸۹/۹/۳

چکیده

حلوا ارده، محصول به‌دست آمده از مخلوط کردن کنجد آسیاب‌شده (ارده) و شیر به‌دست آمده از پخت شکر و گلوکز همراه با مواد طعم‌دهنده است. تولید این محصول تا حد زیادی به‌روشن سنتی انجام می‌شود. در این پژوهش، وضعیت میکروبیولوژی ۱۴۴ نمونه حلوا ارده خریداری‌شده از کارگاه‌های تولیدکننده این محصول در سطح شهرستان‌های یزد و اردکان مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها مطابق با استاندارد مربوطه از نظر شمارش تعداد باکتری‌های آنتروباکتریاسه و اشریشیاکلی، مورد آزمون قرار گرفتند. نتایج تحقیق نشان داد که از مجموع ۷۲ نمونه-برداری صورت پذیرفته در شهرستان یزد، تعداد ۱۲ نمونه، دارای آلودگی بالاتر از حد مجاز آنتروباکتریاسه (حداکثر ۱۰۰ عدد در هر گرم) بودند و محدوده آلودگی از کمتر از ۱۰ تا $3/6 \times 10^2$ متغیر بود و تعداد ۹ نمونه نیز از نظر آلودگی به اشریشیاکلی، مثبت بودند. در شهرستان اردکان نیز از مجموع ۷۲ نمونه‌برداری صورت پذیرفته، ۱۰ نمونه دارای آلودگی بالاتر از حد مجاز آنتروباکتریاسه و محدوده آلودگی از کمتر از ۱۰ تا $1/8 \times 10^2$ متغیر بود. همچنین ۶ نمونه، از نظر آلودگی به اشریشیاکلی، مثبت بودند. از نظر آماری، بین آلودگی حلوا ارده در شهرستان‌های یزد و اردکان، اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید، اما بین کارگاه‌های هر شهر، از نظر آلودگی، اختلاف معنی‌دار وجود داشت. اگر چه رطوبت نسبی و aw پایین و درصد بالای مواد قندی در حلوا ارده می‌تواند به عنوان عوامل ضد میکروبی تلقی شود، اما این قطعیت را در عدم امکان آلودگی این محصول فراهم نمی‌آورد و به‌ویژه حضور میکروارگانسیم‌های پاتوژن و بیماری‌زا نظیر اشریشیاکلی می‌تواند به‌عنوان یک خطر بهداشتی برای سلامت عمومی جامعه تلقی شود، لذا لازم است کنترل وضعیت میکروبیولوژی این محصول را مهم تلقی کرد.

واژه‌های کلیدی: حلوا ارده، آنتروباکتریاسه، اشریشیاکلی

مقدمه

و گلوکز به همراه برخی مواد طعم‌دهنده و مغزهای خوراکی به‌دست می‌آید و به‌عنوان یک محصول

حلوا ارده، محصولی است که از مخلوط کردن کنجد آسیاب‌شده (ارده) و شیر به‌دست آمده از پخت شکر

دارند، زمان نمونه‌برداری، شش ماه دوم سال در نظر گرفته شد.

روش نمونه‌برداری

نمونه‌برداری به مدت ۴ ماه از ابتدای آبان تا پایان بهمن‌ماه سال ۱۳۸۸ صورت پذیرفت. بدین صورت که در فواصل زمانی ۱۵ روز، از سه کارگاه در شهرستان یزد و سه کارگاه در شهرستان اردکان، تعداد سه بسته حلوا ارده به صورت تصادفی، انتخاب و خریداری شد و لذا ۱۴۴ بسته حلوا ارده در طی مدت ۴ ماه جمع‌آوری گردید. کلیه نمونه‌ها در شرایط معمول محیطی از نظر درجه حرارت و رطوبت، نگهداری و پس از ارسال نمونه‌ها به آزمایشگاه، آزمون‌های میکروبی مورد نظر روی آن‌ها صورت پذیرفت.

محیط‌های کشت

در این تحقیق، از محیط‌های کشت ویولت رد بایل دکستروز آگار، گلوکز آگار، لوریل سولفات تریپتوز برات، آبگوشت اشريشیاکلی و آب تریپتونه، (Merck) استفاده گردید.

ترکیبات شیمیایی

در این تحقیق، از ترکیبات شیمیایی N-N-N- N تترامتیل ۲ و ۴ فنیل‌دی‌آمین و کلرورسدیم، (Merck) استفاده گردید.

روش آزمون‌های میکروبی

روش تعیین و شمارش تعداد باکتری‌های آنتروباکتریاسه

تعیین و شمارش تعداد باکتری‌های آنتروباکتریاسه، مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲-۲۴۶۱ انجام پذیرفت (۶). مراحل کار، شامل تهیه رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-3} از نمونه مورد نظر و کشت روی محیط کشت ویولت رد بایل دکستروز آگار و سپس انجام آزمون‌های اختصاصی، شامل آزمون اکسیداز و تخمیر روی کلنی‌های مشکوک به آنتروباکتریاسه و شمارش کلنی‌های تاییدشده و در

پرانرژی، مقوی و مغذی، از غذاهای قدیمی و سنتی مردم ایران محسوب می‌شود که هم به‌عنوان غذا و هم دسر و شیرینی، مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱). حلوا ارده، از ارزش غذایی بالایی برخوردار است. این محصول، نسبت متعادلی از ترکیبات کربوهیدراتی، پروتئین و چربی مرغوب را دارا است. همچنین این محصول غذایی، منبع خوبی از مواد معدنی، به‌ویژه کلسیم و آهن و ترکیبات آنتی‌اکسیدان محسوب می‌شود، (۲،۳). ایران یکی از کشورهای اصلی تولیدکننده و مصرف‌کننده حلوا ارده در جهان است و تولید این محصول در ایران، به جز در چند کارخانه بزرگ، عموماً به‌روش سنتی و کارگاهی صورت می‌پذیرد که تا حد زیادی وابسته به نیروی انسانی است. از طرف دیگر، در این کارگاه‌ها به دلیل عدم حضور مسؤول فنی و آزمایشگاه مجهز، کنترل شیمیایی و به‌ویژه میکروبیولوژی محصول نهایی، صرفاً در حد نمونه‌برداری‌های انجام‌شده توسط مامورین بهداشت و اداره نظارت بر مواد غذایی است. با توجه به مصرف بالای حلوا ارده در ایران و ضرورت اطمینان از سلامت، بهداشت و ایمنی این محصول و نظر به این که تاکنون تحقیق جامع و علمی در خصوص بررسی وضعیت میکروبیولوژی حلوا ارده صورت نپذیرفته و از طرف دیگر، این محصول دارای استاندارد ملی به شماره ۲۴۶۲ است (۴). در این تحقیق وضعیت میکروبیولوژی حلوا ارده از نظر دو شاخص میکروبی، شامل شمارش تعداد باکتری‌های آنتروباکتریاسه و شناسایی و تشخیص اشريشیاکلی مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به این که دو شهرستان یزد و اردکان، از مراکز عمده تولید این محصول به‌شمار می‌آیند، محل اجرای طرح نیز شهرستان‌های مذکور در نظر گرفته شد.

مواد و روش‌ها

حلوا ارده

تعداد ۱۴۴ بسته حلوا ارده در اوزان ۵۰۰-۲۵۰ گرم از کارگاه‌های موجود در دو شهر یزد و اردکان خریداری گردید. با توجه به این که کارگاه‌های حلواسازی عموماً با شروع فصل بهار و گرم‌شدن هوا تعطیل بوده و یا به تولید محصولات دیگری اشتغال

روش آنالیز آماری

آنالیز آماری نتایج حاصل از بررسی آلودگی میکروبی حلوا ارده‌های نمونه‌برداری شده بین کارگاه‌های هر شهرستان و همچنین مقایسه کارگاه-های دو شهرستان یزد و اردکان، با استفاده از نرم‌افزار Minitab و به روش GLM در سطح ۹۵ درصد انجام پذیرفت.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی میزان آلودگی حلوا ارده به باکتری‌های خانواده آنتروباکتریاسه و اشریشیاکلی در دو شهرستان یزد و اردکان به ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ ارائه شده است.

نهایت، تعیین تعداد باکتری‌های آنتروباکتریاسه با توجه به رقت مورد استفاده بودند.

روش شناسایی اشریشیاکلی

شناسایی و تشخیص اشریشیاکلی، مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲۹۴۶ انجام پذیرفت (۷). مراحل کار، شامل بررسی احتمال وجود اشریشیاکلی با انجام تست لوله دورهام در محیط کشت لوریل سولفات تریپتوز براث و سپس انجام آزمون‌های تاییدی با انتقال نمونه‌های مثبت به لوله حاوی محیط کشت‌های مایع آبگوشت اشریشیاکلی و آب تریپتونه به صورت مجزا و تشخیص این میکروارگانیسم با استفاده از معرف کواکس بودند.

جدول ۱- میزان آلودگی به باکتری‌های خانواده آنتروباکتریاسه در حلواهای تولیدشده در شهرستان‌های یزد و اردکان.

نام شهرستان	تعداد آنتروباکتریاسه در هر گرم حلوا*		
	کمتر از ۱۰	۱۰ تا ۱۰۰	بالاتر از ۱۰۰
یزد	۴۳	۱۷	۱۲
اردکان	۴۲	۲۰	۱۰

* حد مجاز آلودگی به آنتروباکتریاسه، حداکثر ۱۰۰ کلنی در هر گرم حلوا ارده است (۸).

جدول ۲- میزان آلودگی به اشریشیاکلی در حلواهای تولیدشده در شهرستان‌های یزد و اردکان.

نام شهرستان	تعداد حلوای نمونه‌برداری شده	تعداد نمونه‌های آلوده به اشریشیاکلی*
یزد	۷۲	۹
اردکان	۷۲	۶

* حلوا ارده از نظر آلودگی به اشریشیاکلی باید منفی باشد (۸).

بررسی نتایج میزان آلودگی حلوا ارده به باکتری‌های خانواده آنتروباکتریاسه

تعداد باکتری‌های آنتروباکتریاسه در حلواهای تولید شده در شهرستان اردکان از کمتر از ۱۰ تا $10^2 \times 1/8$ متغیر بود و همان‌گونه که از مفاد جدول ۱ برمی‌آید، از مجموع ۷۲ نمونه‌برداری صورت پذیرفته، تعداد ۱۰ نمونه، دارای آلودگی بالاتر از حد مجاز بودند (معادل ۱۳/۹ درصد). حد مجاز تعیین شده برای باکتری‌های خانواده آنتروباکتریاسه در حلوا ارده، مطابق با استاندارد ملی ایران، 10^2 کلنی در هر گرم است (۸). همچنین، تعداد باکتری‌های آنتروباکتریاسه در حلواهای نمونه‌برداری شده در شهرستان یزد نیز از کمتر از ۱۰ تا $10^2 \times 3/6$ متغیر

بود و از مجموع ۷۲ نمونه‌برداری صورت‌پذیرفته، تعداد ۱۲ نمونه، دارای آلودگی بالاتر از حد مجاز بودند (معادل ۱۶/۶ درصد). از این بابت، میزان آلودگی در حلواهای تولید شده در شهرستان یزد، هم از نظر تعداد نمونه‌های آلوده و هم از نظر محدوده آلودگی، بالاتر از حلواهای نمونه‌برداری شده از شهرستان اردکان بودند. اما نتایج آنالیز آماری نشان داد اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های آلوده در دو شهر یزد و اردکان وجود ندارد. به نظر می‌رسد یکسان بودن شرایط محیطی و فرآیند تولید این محصول در دو شهر یزد و اردکان، باعث این امر باشد. اما در هر یک از دو شهر به طور مستقل بین کارگاه‌های نمونه‌برداری شده، از نظر آلودگی به

نمونه برداری شده باشد، به ویژه آن که آلودگی معمولاً در تمامی نمونه‌های برداشته شده در هر بار نمونه برداری از کارگاه‌ها نیز مشاهده گردید. نتایج آنالیز آماری در قالب جدول ۳ نشان داده شده است.

باکتری‌های خانواده آنتروباکتریاسه، اختلاف معنی دار مشاهده گردید. این امر ممکن است ناشی از عدم رعایت شرایط بهداشتی در تولید این محصول در برخی از کارگاه‌ها در مقایسه با سایر کارگاه‌های

جدول ۳- تجزیه واریانس آلودگی به آنتروباکتریاسه بین متغیرهای مورد بررسی.

متغیر	Df	میانگین مربعات	P value
شهر	۱	۸۸۶۷	۰/۱۱۰ (ns)
کارگاه	۲	۷۰۶۳۳	۰/۰۰ (*)
نمونه حلوا	۷	۶۴۲۳	۰/۰۷۸ (ns)
خطا	۱۳۳	۳۴۲۱	

ns و * به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار بودن در سطح ۹۵ درصد است.

بحث و نتیجه گیری

حلوا ارده، محصولی است که در فرمولاسیون آن معمولاً از ۵۰ درصد یا بیشتر شکر و گلوکز استفاده می‌شود و فرآیند تولید آن به نحوی است که رطوبت محصول نهایی، کمتر از ۲ درصد است. این عوامل موجب می‌شود که فعالیت آبی کمتر از ۰/۲ در حلوا ارده ایجاد گردد (۱۰) و لذا انتظار می‌رود که پایین بودن رطوبت و aw از یک سو و بالابودن مواد قندی از سوی دیگر، به عنوان عوامل ضد میکروبی عمل نموده و از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری به عمل آورند. بالابودن درجه حرارت پخت شیره (C⁰ ۱۰۰- ۹۰) نیز عامل کمک کننده دیگر در از بین بردن میکروارگانیسم‌ها در تولید این فرآورده است. پایین بودن بار میکروبی تعدادی از نمونه‌های آزمایش شده در این تحقیق نیز ممکن است ناشی از همین امر باشد. اما باید توجه داشت که عوامل یاد شده فوق، این قطعیت را در عدم امکان آلودگی در محصول حلوا ارده فراهم نمی‌آورد، به ویژه آن که تمامی عملیات پس از مخلوط کردن ارده و شیره، از جمله عمل آوری حلوا و توزین آن در قوطی، به روش دستی و توسط کارگران انجام می‌پذیرد که شرایط بالقوه برای آلودگی مجدد حلوا ارده را فراهم می‌آورد. همچنین، پایین بودن رطوبت در محصول نهایی تولید شده و عدم استفاده از بسته بندی مناسب و غیر قابل نفوذ بودن نسبت به عواملی از جمله رطوبت و اکسیژن، می‌تواند شرایطی را فراهم آورد که با جذب

بررسی نتایج میزان آلودگی حلوا ارده به اشریشیاکلی

نتایج به دست آمده از نظر آلودگی به میکروارگانیسم اشریشیاکلی در حلواهای تولید شده در سطح شهرستان‌های یزد و اردکان نشان داد که در شهرستان اردکان از مجموع ۷۲ نمونه حلوا آزمایش شده، ۶ نمونه از نظر آلودگی به اشریشیاکلی، مثبت بوده است (معادل ۸/۳ درصد). این تعداد در بین ۷۲ نمونه حلوا آزمایش شده در شهرستان یزد، ۹ نمونه بوده است (معادل ۱۲/۵ درصد) که از این بابت نیز حلواهای تولید شده در شهرستان یزد، از نظر آلودگی به اشریشیاکلی، دارای آمار بالاتری در مقایسه با شهرستان اردکان است. مقایسه نتایج به دست آمده از نظر آلودگی به آنتروباکتریاسه و اشریشیاکلی در حلواهای نمونه برداری شده از سطح کارگاه‌ها نیز نشان می‌دهد نمونه‌هایی که دارای حد بالاتری از نظر آلودگی به آنتروباکتریاسه بوده‌اند، معمولاً از نظر آلودگی به اشریشیاکلی نیز مثبت هستند. با توجه به این که حضور اشریشیاکلی در مواد غذایی، نشان دهنده آلودگی مسلم ماده غذایی به مدفوع است، به نظر می‌رسد که عدم رعایت بهداشت فردی می‌تواند به عنوان یک عامل موثر در آلودگی حلوا از هر دو شاخص آنتروباکتریاسه و اشریشیاکلی باشد (۹).

نیز یافت شود. حضور این میکروارگانیسم در مواد غذایی، نشان‌دهنده آلودگی مسلم ماده غذایی به مدفوع است (۹).

در این تحقیق نیز آلودگی به اشریشیاکلی بیشتر در نمونه‌هایی مشاهده گردید که دارای حد بالاتری از نظر آلودگی به آنتروباکتریاسه بودند و لذا به نظر می‌رسد عدم رعایت شرایط بهداشتی، به ویژه بهداشت فردی در تولید حلوا ارده، از جمله عوامل موثر بر افزایش بار میکروبی این محصول است و حضور میکروارگانیسم‌هایی نظیر اشریشیاکلی در حلوا ارده می‌تواند به‌عنوان خطری بهداشتی برای سلامت عمومی جامعه تلقی شود.

با توجه به این‌که حلوا ارده محصولی است پرمصرف که چه به‌عنوان صبحانه یا شام و چه به‌عنوان دسر، علاقه‌مندان زیادی دارد، ضرورت کنترل و نظارت بیشتر بر آلودگی میکروبی این محصول و کنترل شرایط بهداشتی کارگاه‌ها از نظر ویژگی‌های ساختمانی و بهداشت فردی، آشکارتر می‌شود. یکی از راه‌کارهای مناسب در این رابطه، الزامی کردن استفاده از مسؤول فنی در کارگاه‌های تولیدکننده محصولات غذایی همانند کارخانجات صنایع غذایی است که ضمن ایجاد اشتغال برای فارغ‌التحصیلان رشته صنایع غذایی، موجب نظارت دقیق‌تر بر فرآیند تولید محصول و بهداشت و ایمنی آن نیز خواهد شد.

در خاتمه پیشنهاد می‌شود برای تکمیل تحقیق حاضر، تحقیقات دیگری در خصوص بررسی رابطه بین شرایط بهداشتی کارگاه‌ها و آلودگی میکروبی حلوا ارده، بررسی آلودگی حلوا ارده به سایر میکروارگانیسم‌ها به ویژه سالمونلا، بررسی و مقایسه آلودگی میکروبی انواع حلوا ارده از جمله حلوا ارده مغزی، کاکائویی، کنجدی و ساده، بررسی و مقایسه آلودگی میکروبی بین حلوا ارده تولید شده در کارگاه‌های سنتی و کارخانجات صنعتی و اندازه‌گیری انواع آفلاتوکسین در حلوا ارده انجام پذیرد.

تقدیر و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا به دلیل تامین بودجه مورد نیاز جهت انجام پژوهش حاضر و همچنین از مدیریت

مجدد رطوبت، میزان aw در سطح حلوا ارده افزایش یافته و در حضور هوا و اکسیژن، زمینه برای رشد میکروارگانیسم‌ها به‌ویژه میکروارگانیسم‌های هوازی فراهم گردد. تغییرات دما و رطوبت محصول در طول فرایندهای تولید، نگهداری، توزیع و مصرف مواد غذایی می‌تواند به‌عنوان عاملی مهم در پایداری میکروبی آن‌ها به‌شمار رود (۹،۱۰). استفاده از مغزهای آجیلی و یا پودر کاکائو که معمولاً دارای آلودگی میکروبی بالایی هستند و عموماً در مراحل آخر آماده‌سازی حلوا به آن اضافه می‌شوند نیز می‌تواند عامل دیگری برای انتقال آلودگی به حلوا و افزایش بار میکروبی آن باشد (۱۰،۱۱).

نتایج حاصل از تحقیقات صورت پذیرفته روی وضعیت میکروبیولوژی ارده و حلوا ارده در کشورهای دیگر، از جمله عربستان سعودی، یونان و ترکیه، نشان‌دهنده همین امر است که حلوا ارده علی‌رغم دارابودن رطوبت و فعالیت آبی پایین، قابلیت آلودگی با انواع میکروارگانیسم‌های مختلف از جمله کپک و مخمر، آنتروباکتریاسه، استافیلوکوک اورئوس و اشریشیاکلی را دارد (۱۲-۱۰).

نتایج حاصل از این تحقیق نیز موید همین امر است که در تعدادی از حلوا ارده‌های مورد آزمون، حد بالایی از نظر آلودگی به میکروارگانیسم‌های خانواده آنتروباکتریاسه مشاهده گردید و تعدادی نیز از نظر آلودگی به اشریشیاکلی مثبت بودند.

خانواده آنتروباکتریاسه از مهم‌ترین خانواده‌های میکروبی موثر در فساد مواد غذایی به‌شمار می‌روند و بسیاری از میکروارگانیسم‌های شاخص در فساد و عفونت‌های غذایی، از جمله اشریشیا، آنتروباکتر، سالمونلا و شیگلا به این خانواده تعلق دارند (۹) و لذا تعیین تعداد باکتری‌های آنتروباکتریاسه در مواد غذایی می‌تواند به‌عنوان شاخصی در ارزیابی وضعیت بهداشتی و آلودگی مواد غذایی به انواع میکروارگانیسم‌های مستعد برای ایجاد عفونت‌های غذایی محسوب گردد. از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های متعلق به این خانواده می‌توان به اشریشیاکلی اشاره نمود. محل سکونت اصلی این باکتری، ناحیه روده‌ای انسان و سایر حیوانات خون‌گرم است، اما ممکن است در آب، خاک و بسیاری از مناطق دیگر

پرسنل محترم آزمایشگاه به دلیل انجام آزمایش‌های میکروبی روی نمونه‌های حلوا آمده، تشکر و قدردانی می‌گردد.

محترم عامل شرکت حلوی عقاب به‌دلیل فراهم آوردن امکانات مورد نیاز برای انجام آزمون‌های میکروبیولوژی در آزمایشگاه آن شرکت و همچنین

منابع مورد استفاده

جستجو و شمارش اشریشیاکلی با استفاده از روش بیشترین تعداد احتمالی، تجدید نظر دوم، چاپ اول، استاندارد ۲۹۴۶.

۵. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ۱۳۸۶. میکروبیولوژی فرآورده‌های قنادی و شیرینی - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون، تجدید نظر اول، چاپ اول، استاندارد ۳۳۹۵.

۶. مرتضوی، سیدعلی،، کاشانی نژاد، مهدی، ضیاء الحق، حمیدرضا. ۱۳۷۹. میکروبیولوژی مواد غذایی، چاپ سوم، انتشارات دانشگاه فردوسی، مشهد، صفحات ۸۴-۹۱.

7. Hui, Y. H., 1996. Bailey's industrial oil and fat products. John wily and sons pub. co, PP 457-495.

8. Sawaya, W. N., Mohammad, A., 1985. Chemical composition and nutritional quality of tehneh (Sesame butter). Food Chem 18: 35-45.

9. Namiki, M., 1995. The chemistry and physiological functions of sesame. Food Reviews International 11: 281-329.

10. Kotzekidou, P., 1998. Microbiological stability and fate of *salmonella enteritidis*

۱. آذر، م، حق پرست، ف. ۱۳۶۴. صنایع غذایی سنتی ایران، حلوا آمده. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، چاپ اول.

۲. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ۱۳۸۶. حلوا آمده، ویژگی‌ها و روش‌های آزمون، تجدید نظر دوم، چاپ اول، استاندارد ۲۴۶۲.

۳. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ۱۳۸۷. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام، روش جامع برای جستجو، شناسایی و شمارش آنتروباکتریاسه، قسمت دوم، روش شمارش کلنی، چاپ اول، استاندارد. ۲۴۶۱.

۴. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ۱۳۸۴. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش in Halva, a low moisture confection. Journal of Food Protection 61: 181-185.

11. Sengum, I. Y., Hancioglu, O., Karapinar, M., 2005. Microbiological profile of halva sold at retail markets in Izmir city and survival of *staphylococcus aureus* in this product. Food Control 16: 840-844.

12. Ayaz, M., Sawaya, W. N., 1986. Microbiological quality of tehneh manufactured in Saudi Arabia. J Food Prot 49: 504-506.