

## اثر ترکیبی آب آزنه و اسیدلاکتیک بر بار آلودگی میکروبی لاشه مرغ در مرحله سرد کردن در کشتارگاه

نعیمه کاظمی طاسکوه<sup>۱\*</sup>، محمدحسین حدادخداپرست<sup>۲</sup>، محمدجواد وریدی<sup>۳</sup>، فریده طباطبایی یزدی<sup>۴</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد  
\* نویسنده مسئول (Naeimeh.kazemi@yahoo.com)

۲- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

### چکیده

در این پژوهش، تأثیر استفاده از آب آزن دار در غلظت‌های (۰/۲، ۰/۵ و ۱) پی‌پی‌ام در ۳ سطح زمانی (۵، ۱۰ و ۱۵) دقیقه و همچنین ترکیب آب آزن دار در غلظت‌های (۰/۲، ۰/۵ و ۱) پی‌پی‌ام و اسیدلاکتیک ۱٪ در زمان ثابت ۱۰ دقیقه روی کاهش باکتری اشریشیاکلی (به‌عنوان یک باکتری گرم منفی شاخص آلودگی لاشه)، استافیلوکوکوس اورئوس (به‌عنوان یک باکتری گرم مثبت شاخص آلودگی و مولد توکسین) و شمارش کلی میکروارگانسیم‌ها، در دمای مشابه سردکن آبی (۰-۴) درجه سانتی‌گراد، مورد بررسی قرار گرفت و نمونه‌ها بلافاصله از لحاظ آزمایش‌های میکروبیولوژیکی مورد بررسی قرار گرفتند، نتایج نشان داد که در تمامی سطوح اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بین نمونه‌های شاهد و نمونه‌های تیمار دیده وجود داشت، علاوه بر این اثر ترکیبی آزن و اسیدلاکتیک نسبت به آزن در حالت جداگانه، تأثیر بیشتری بر کاهش باکتری اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و شمارش کلی میکروارگانسیم‌ها داشت، بنابراین استفاده از آزن با غلظت ۱ پی‌پی‌ام به صورت جداگانه و ترکیب با اسیدلاکتیک ۱٪ می‌تواند در بخش سردکن آبی لاشه مرغ در کشتارگاه مورد استفاده قرار گیرد.

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۷/۲۶

تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۳/۱۸

### واژه‌های کلیدی

آزن

استافیلوکوکوس اورئوس

اسیدلاکتیک

اشریشیاکلی

لاشه مرغ

### مقدمه

نشان داده است که در روش‌های معمول در سردکن آبی، به ازای هر پرنده معادل ۷ گالن آب مصرف می‌شود. این در حالی است که استفاده از آب آزن دار که در حال چرخش می‌باشد، سبب کاهش آب مصرفی به ۴/۵ گالن به ازای هر پرنده می‌شود و این موضوع سبب ذخیره آب و انرژی می‌شود (Okolocha & Ellerbroek, 2005)، در سال ۱۹۸۲، آزن به وسیله سازمان غذا و داروی آمریکا<sup>۱</sup>، به‌عنوان یک ماده ایمن<sup>۲</sup>

امروزه استفاده از آزن، جهت ضدعفونی کردن لاشه طیور در مرحله سرد کردن لاشه با آب، مورد توجه محققان قرار گرفته است و به‌عنوان یک روش ضدعفونی که کمترین تأثیر را بر ویژگی‌های ارگانولپتیک می‌گذارد، شناخته شده است. این ماده هیچ‌گونه باقیمانده مضر از خود بر جای نمی‌گذارد، به آسانی تولید می‌شود و نیاز به مخازن نگهداری و ذخیره‌سازی ندارد (Graham et al., 2002). تحقیقات

<sup>۱</sup> FDA (Food & Drug Administration)

<sup>۲</sup> GRAS (Generally Recognized As Safe)

شناخته شد، در سال ۲۰۰۱ استفاده مستقیم آن در محصولات شامل ماهی و گوشت قرمز قانونی شناخته شد (Hecer *et al.*, 2007). آزن بر روی انواع باکتری‌های هوازی، بی‌هوازی (فرم رویشی و اسپور)، ویروس‌ها و انواع قارچ‌ها، بدون در نظر گرفتن ماهیت آنها و با سرعت بیشتری در مقایسه با هیپوکلریت‌ها مؤثر می‌باشد (Khadre *et al.*, 2001). آب آزن‌دار به‌عنوان یک ضدعفونی‌کننده مؤثر برای لاشه پرنده‌گان در سردکن آبی به‌منظور کاهش بار میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرد. استفاده از آب آزن‌دار برای شست‌وشوی لاشه پرنده‌گان منجر به تغییر قابل‌توجهی در رنگ یا طعم نمی‌شود. روش معمول در کشتارگاه‌ها برای ضدعفونی لاشه مرغ در مرحله سردکن آبی، استفاده از کلر می‌باشد، اما با توجه به ایجاد مسمومیت توسط کلر و تولید ماده سرطان‌زای تری‌هالومتان و همچنین به دلیل عدم تأثیر بر انگل‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها، استفاده از کلر مورد سؤال می‌باشد و مصرف آن در حال کاهش می‌باشد (Oguz & Guler, 2004)، نتایج مثبت استفاده از آزن در آب‌سردکن پرنده‌گان عبارتند از: افزایش ایمنی میکروبی محصولات حاصل از گوشت مرغ، افزایش عمر نگهداری لاشه مرغ، بهبود کیفیت میکروبی آب‌سردکن غوطه‌وری مرغ (Jindal *et al.*, 1995). Waldroup و همکاران (۱۹۹۳) تأثیر آزن را بر ضدعفونی آب‌سردکن کشتارگاه پرنده‌گان مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که این امر سبب کاهش ۹۹ درصدی باکتری‌های هوازی، اشریشیاکلی و کلی‌فرم آب‌سردکن می‌شود و بیان نمودند که ۹۰ درصد کل آب‌سردکن غوطه‌وری دوباره می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد که این موضوع سبب کاهش هزینه‌های مربوط به سردکردن آب مورد استفاده برای خنک کردن لاشه می‌شود. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که اسیدلاکتیک و اسیداستیک در کاهش اشریشیاکلی بسیار مهم می‌باشد. بیشتر فسادهای باکتریایی گوشت به جزء لاکتوباسیلوس‌ها به‌وسیله اسیدهای آلی ممانعت می‌شوند (Bostan *et al.*, 2001). اسیدلاکتیک جزء مواد ایمن شناخته شده است. این اسید به‌عنوان یک عامل ضد میکروبی می‌باشد که برای حذف میکروارگانسیم‌های بیماری‌زا و کاهش بار میکروبی

لاشه مورد استفاده قرار می‌گیرد. علاوه بر این، اسیدلاکتیک بر روی سطح لاشه باقی می‌ماند و به‌عنوان یک عامل ضد میکروبی روی سطح لاشه عمل می‌کند. غلظت‌های بالاتر از ۱/۲۵ درصد اسیدلاکتیک سبب رنگ پریدگی سطح لاشه می‌شود. علت این امر را می‌توان به واکنش‌های اکسیداسیون ربط داد. البته استفاده از اسیدلاکتیک تا این حد برای لاشه مشکلی ایجاد نمی‌کند. زیرا در این مورد پوست لاشه به‌عنوان یک لایه محافظ عمل می‌کند و از نفوذ و وارد شدن اسید به داخل بافت ماهیچه مرغ جلوگیری می‌کند. استفاده از اسیدلاکتیک به‌عنوان یک باکتریوسید سبب افزایش ایمنی بهداشتی لاشه مرغ آلوده می‌شود. همچنین غلظت پایین اسیدلاکتیک اثر زیان‌باری بر روی محیط‌زیست ندارد و همچنین به لحاظ اقتصادی برای صنعت مرغداری چندان گران نیست. اسیدلاکتیک معمولاً با درجه خلوص ۸۸ درصد خریداری می‌شود (Bautista *et al.*, 1997). فرو بردن لاشه مرغ در اسیدلاکتیک به غلظت ۱ درصد، ۰/۶ سیکل لگاریتمی باکتری‌های هوازی و ۱/۱ سیکل لگاریتمی انتروباکتریاسه را کاهش داد. علاوه بر این، سطح باکتری‌های هوازی و کلی‌فرم برای لاشه‌های آب‌کشی شده با اسیدلاکتیک به‌طور معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) کمتر از لاشه‌های شست‌وشو داده شده با کلر بوده است (Okolocha & Ellerbroek, 2005). تیمار ترکیبی اسیداستیک به غلظت ۱ درصد و آزن به غلظت ۳ پی‌پی‌ام در نوعی قارچ خوراکی، مؤثرتر از هر یک از این تیمارها به‌صورت جداگانه، در کاهش باکتری‌های اشریشیاکلی و لیستریامونوسیتوزنز<sup>۱</sup> بود (Yuk *et al.*, 2007). نتایج تحقیقات نشان داده است که کارایی آزن در حذف اشریشیاکلی و کلسترییدیوم پرفرنزس<sup>۲</sup> در pH=6 خیلی بیشتر از pH=8 می‌باشد (Leiguarda *et al.*, 1949). هرچه pH بالاتر باشد، یون‌های هیدروکسیل موجود در آب با رادیکال‌های آزاد آب‌آزنه واکنش می‌دهند و در نتیجه آزن خاصیت خود را از دست می‌دهد و سرعت تجزیه آن افزایش پیدا می‌کند (Foegeding, 1985)، با به‌کارگیری اثر ترکیبی آزن و اسید آلی در کاهش میکروارگانسیم‌های

<sup>1</sup> *Listeria monocytogenes*

<sup>2</sup> *Clostridium perfringens*

۱٪ و ۲٪ اسیداستیک و اسیدلاکتیک را بر شمارش کلی میکروبی و خواص ظاهری لاشه مرغ (رنگ-بو) مورد ارزیابی قرار دادند، نتایج این تحقیق نشان داد که هر دو اسید به یک میزان سبب کاهش بار میکروبی لاشه مرغ در غلظت‌های یاد شده، شدند، ولی اثر تخریبی اسیداستیک بر بو (در غلظت ۲٪) و رنگ (در غلظت‌های ۱٪ و ۲٪) لاشه مرغ به‌طور معنی‌داری در ( $P < 0.05$ ) بیشتر از اسیدلاکتیک بود، بنابراین باتوجه به اثر تخریبی کمتر اسیدلاکتیک ۱٪ بر خواص ظاهری لاشه مرغ، در تحقیق حاضر، این اسید با غلظت ۱٪ برای مرحله تیمار ترکیبی آزن و اسید آلی انتخاب گردید، از طرفی باتوجه به اینکه مرحله سرد کردن غوطه‌وری لاشه مرغ در کشتارگاه‌های صنعتی ایران، به‌طور معمول به مدت ۱۰ دقیقه به طول می‌انجامد، در تحقیق حاضر از زمان ۱۰ دقیقه در مرحله اثر ترکیبی آزن و اسیدلاکتیک استفاده شد.

#### جمع‌آوری نمونه‌ها

موقع نمونه‌برداری از بخش سردکن آبی به دلیل اینکه ممکن است بخش‌های مختلف سردکن از لحاظ آلودگی میکروبی با یکدیگر متفاوت باشند، به‌منظور دستیابی به بار میکروبی متوسط، در هر بار نمونه‌برداری، لاشه‌های شاهد از سه بخش سردکن آبی، یعنی بخش ورودی سردکن آبی، بخش میانی و بخش خروجی آن انتخاب شدند. درخصوص تیمار با آزن، نمونه‌های شاهد پس از طی مراحل سردکن آبی، در سه بازه زمانی (۵، ۱۰ و ۱۵) دقیقه از ۳ ناحیه مذکور در سردکن آبی انتخاب شدند، لاشه‌هایی که باید در آزمایشگاه تحت اثر آب آزن‌دار قرار می‌گرفتند نیز بلافاصله قبل از بخش سردکن غوطه‌وری کشتارگاه به‌صورت تصادفی انتخاب شدند، نمونه‌برداری باید به صورتی باشد که مطابق شرایط نمونه‌های شاهد باشد. درخصوص نمونه‌هایی که باید تحت اثر ترکیبی آب آزن و اسیدلاکتیک قرار می‌گرفتند نیز نمونه‌برداری و انتخاب شاهد با رعایت شرایط یکسان، صورت پذیرفت. بدین ترتیب که در این مرحله از کار، لاشه مرغ نمونه شاهد ۱۰ دقیقه در دمای سردکن آبی (۴-۰ درجه سانتی‌گراد) داخل آب بدون آزن و اسید قرار گرفت، سایر نمونه‌ها نیز بلافاصله قبل از بخش

لاشه مرغ می‌توان از غلظت کمتری از هر دو تیمار استفاده کرد و بدین ترتیب اثرات مضر غلظت‌های بالای هر یک از این تیمارها حذف خواهد شد.

هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر آزن بر کاهش آلودگی‌های میکروبی لاشه مرغ در مرحله سردکن آبی کشتارگاه صنعتی مرغ شهر مشهد و همچنین بررسی تأثیر همزمان آزن و اسید آلی به‌عنوان یک روش ترکیبی در کاهش بار میکروبی کل و باکتری‌های شاخص آلودگی سطح لاشه مرغ، شامل استافیلوکوکوس اورئوس به‌عنوان شاخص یک باکتری گرم مثبت و اشریشیاکلی به‌عنوان شاخص یک باکتری گرم منفی می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند، عبارت بودند از اسیدهای آلی شامل (اسیدلاکتیک و اسیداستیک)، Acetic acid, Glassial و Lactic acid 88%، از شرکت مرک آلمان، قرص DPD4 ساخت شرکت مرک آلمان که برای تعیین غلظت آزن به هنگام استفاده از دستگاه آزن‌متر به آب آزن‌دار اضافه می‌شود، جهت انجام آزمایش‌های میکروبی نیز آب پپتونه بافره با کد ISO6579 از شرکت مرک آلمان، محیط کشت برد پارکر آگار<sup>۱</sup> با کد 1.0546.0500، محیط کشت پلیت کانت آگار<sup>۲</sup> با کد 1.05463.0500 و محیط کشت اتوزین متیلن بلو آگار<sup>۳</sup> با کد 1.01347.0500 ساخت شرکت مرک آلمان مورد استفاده قرار گرفت. جهت شمارش میکروبی از کلنی‌کانت مدل 1004 استفاده شد. جهت آزن‌تراپی از دستگاه آزن‌ژنراتور مدل Ozonica 50 ساخت شرکت آزن آب ایران استفاده شد. جهت تعیین غلظت آزن از آزن‌متر مدل aero Q UAL Series 200 ساخت ایران استفاده شد. جهت توزین محیط کشت از ترازوی مدل EK 300i با دقت ۰/۰۱ استفاده شد.

#### انتخاب اسید آلی

کازمی طاسکوه و همکاران (۱۳۹۳)، تأثیر غلظت‌های

<sup>1</sup> Baird Parker Agar

<sup>2</sup> Plate Count Agar

<sup>3</sup> Eosin methylene blue Agar

لاشه که بار میکروبی مربوط به کل سطح لاشه را در بر می‌گیرد، جهت تهیهٔ محلول آزمایشگاهی و مشابه با نمونه‌های شاهد استفاده شد و از محلول حاصله جهت انجام آزمایش‌های میکروبی لازم استفاده شد (Jindal *et al.*, 1995; Bostan *et al.*, 2001; Northcutt *et al.*, 2008). آزمایش‌ها در ۳ تکرار و جهت شمارش کلی باکتری‌ها، شمارش/شیرشیاکلی، به‌عنوان شاخص گرم منفی و باکتری/استافیلوکوکوس/اورئوس، شاخص گرم مثبت مولد آلودگی انجام شد.

#### شمارش کلی میکروارگانسیم‌ها

به‌منظور شمارش کلی میکروارگانسیم‌ها، از استاندارد شماره ۵۲۷۲ سازمان ملی استاندارد ایران، سال انتشار ۱۳۸۶ و از محیط کشت P.C.A استفاده شد، در نهایت کلنی‌های سفید براق حاصله شمارش شد.

#### شمارش باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس

برای شمارش این باکتری از محیط کشت B.P.A طبق استاندارد شماره ۱-۶۸۰۶، سال انتشار ۱۳۸۵ استفاده شد. در نهایت روی کلنی‌های سیاه براق دارای هالهٔ شفاف تست کوآگولاز صورت گرفت، کلنی‌های حاصل شمارش شدند.

#### شمارش باکتری اشیرشیاکلی

در این مرحله، از محیط کشت ائوزین متیلن بلو آگار استفاده شد (Chaiba *et al.*, 2007; Levin, 1918). محیط کشت مطابق دستورالعمل شرکت سازنده، توزین و آماده شد، پلیت تلقیح شده به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. پس از انجام تست‌های بیوشیمیایی لازم بر روی کلنی‌های سبز رنگ با جلای فلزی به‌منظور تأیید باکتری اشیرشیاکلی، تعداد کلنی‌ها با استفاده از کلنی‌کانتر شمارش شد.

#### آنالیز آماری

در این پژوهش، تأثیر غلظت‌های مختلف آزن و زمان و اسیدلاکتیک، بر میزان کاهش باکتری‌های پاتوژن و جمعیت میکروبی کل، با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تمامی آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام شدند و نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از آزمون دانکن در سطح

سردکن آبی کشتارگاه به‌صورت تصادفی انتخاب شدند، تمامی لاشه‌های شاهد، به مدت ۵ دقیقه بر روی سطح مشبک استریل ساکن گذاشته شدند تا آب سطحی آنان چکیده شود (Bostan *et al.*, 2001). سپس نمونه‌ها داخل کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار استریل (استریل شده تحت اشعهٔ فرابنفش) قرار داده شدند و زیپ شدند، سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر آب پیتونه ۰/۱ درصد استریل به کیسه‌های پلاستیکی اضافه شد. سپس نمونه‌های لاشه‌های مرغ به مدت ۱ دقیقه به‌طور کامل در جهت‌های افقی و عمودی تکان داده شدند، به‌عبارت‌دیگر از روش آب‌کشی کل لاشه<sup>۱</sup> برای تهیهٔ محلول استفاده شد (Jindal *et al.*, 1995; Northcutt *et al.*, 2008; Bostan *et al.*, 2001). این روش نمونه‌برداری، تقریباً کل میکروارگانسیم‌های لاشه را در بر می‌گیرد. محلول حاصل داخل ظروف شیشه‌ای درب‌دار استریل اضافه شد و در مجاورت یخ در اسرع وقت به آزمایشگاه منتقل گردید و برای تهیهٔ رقت‌های سریالی و انجام آزمایش‌های میکروبی مورد استفاده قرار گرفتند. نمونه‌های انتخاب شده جهت تیمار با آزن یا ترکیب آزن و اسیدلاکتیک نیز پس از انتخاب در بخش سردکن آبی و قرار دادن در کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار استریل، در اسرع وقت در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شدند و تحت تیمار با آب آزن‌دار در غلظت‌های (۰/۲، ۰/۵ و ۱) پی‌پی‌ام در ۳ سطح زمانی (۵، ۱۰ و ۱۵) دقیقه و همچنین تیمار ترکیبی آب آزن‌دار در ۳ غلظت (۰/۲، ۰/۵ و ۱) پی‌پی‌ام و اسیدلاکتیک به غلظت ۱ درصد (حجمی به حجمی) به مدت ۱۰ دقیقه در دمای آب بخش سردکن غوطه‌وری (حدود ۴ درجه سانتی‌گراد) در دستگاه آزن‌ژنراتور و ایجاد شرایط مشابه با شرایط سردکن غوطه‌وری کشتارگاه، قرار گرفت. علت استفاده از زمان ثابت ۱۰ دقیقه در مرحلهٔ تیمار ترکیبی، همسان‌سازی زمان با مرحلهٔ سردکردن غوطه‌وری لاشهٔ مرغ در کشتارگاه‌های ایران بود. طی مدت زمان غوطه‌وری، غلظت آزن در آب، ثابت نگه داشته شد، سپس آب سطحی نمونه‌ها در شرایط استریل و مشابه نمونه‌های شاهد چکیده شد و از روش آب‌کشی کل

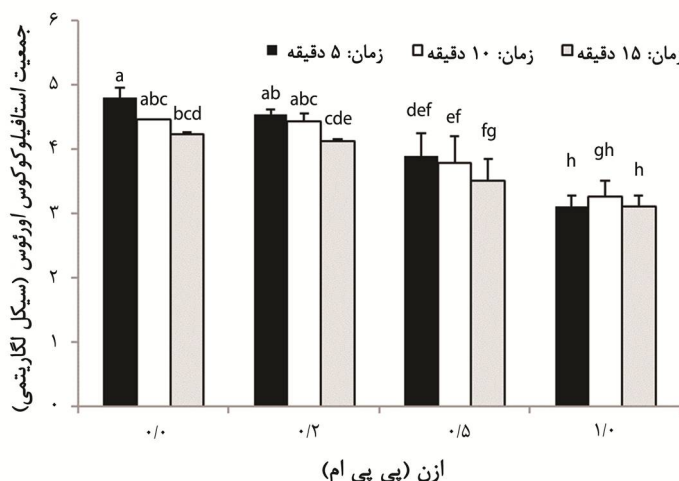
<sup>۱</sup> WCR (Whole Carcass Rinse)

شد. در یک بررسی مشابه بر روی برخی از ترکیبات مواد غذایی نشان داده شد که آزن سبب کاهش ۱/۰۲ عدد لگاریتمی از جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس شد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (Guzel-Seydim *et al.*, 2004). همچنین در تحقیق دیگری گزارش شد که تیمار تکه‌های گوشت مرغ با آزن سبب کاهش ۲۵ درصد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس شد (Hecer *et al.*, 2007).

معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) با یکدیگر مقایسه شدند. ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2003 صورت پذیرفت.

### نتایج و بحث

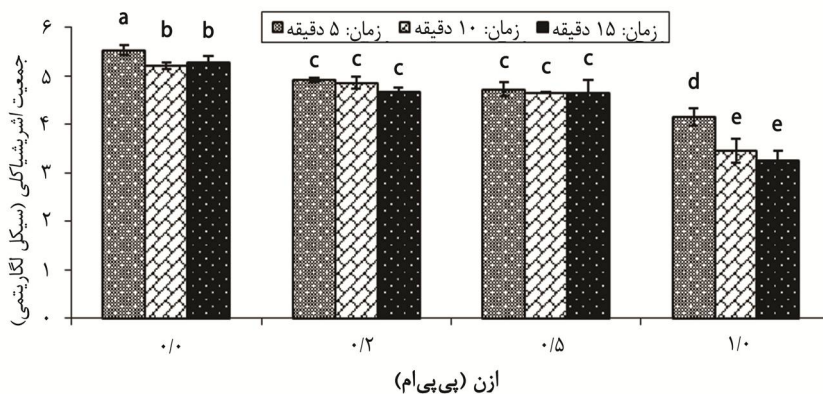
با بررسی شکل ۱ می‌توان دریافت که به‌کارگیری آزن در غلظت بالا، باعث کاهش ۳۵ درصدی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس معادل ۱/۱۲ سیکل لگاریتمی



شکل ۱- میانگین نتایج حاصل از اثر غلظت‌های مختلف آزن در سه سطح زمانی بر شمار باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس لاشه مرغ (مقیاس لگاریتمی است، حروف غیر مشابه، بیانگر تفاوت در سطح معنی‌داری پنج درصد است).

Seydim و همکاران (۲۰۰۴) می‌باشد که ثابت کردند آزن سبب کاهش ۱/۹۸ لگاریتمی جمعیت اشریشیاکلی در مدت زمان ۱۰ دقیقه شد. در تحقیق حاضر، در مدت زمان ۱۵ دقیقه، غلظت ۱ پی‌پی‌ام آزن سبب کاهش ۲/۳ عدد لگاریتمی اشریشیاکلی شد که می‌تواند در ایجاد شرایط بهداشتی مناسب در چیلر کشتارگاه مفید و مؤثر واقع شود.

مطابق شکل ۲، به‌کارگیری آزن با غلظت ۱ پی‌پی‌ام، میانگین جمعیت اشریشیاکلی از ۵/۵۳۰ به ۳/۲۴۰ رسید، به‌عبارت‌دیگر سبب ۴۲ درصد کاهش شد. همچنین در این مرحله، در مدت زمان ۱۰ دقیقه، آزن سبب کاهش جمعیت اشریشیاکلی از ۵/۲۰۳ به ۳/۴۵۰ عدد لگاریتمی شد. به‌عبارت‌دیگر سبب کاهش ۱/۷۵ عدد لگاریتمی شد که منطبق با نتایج Guzel-

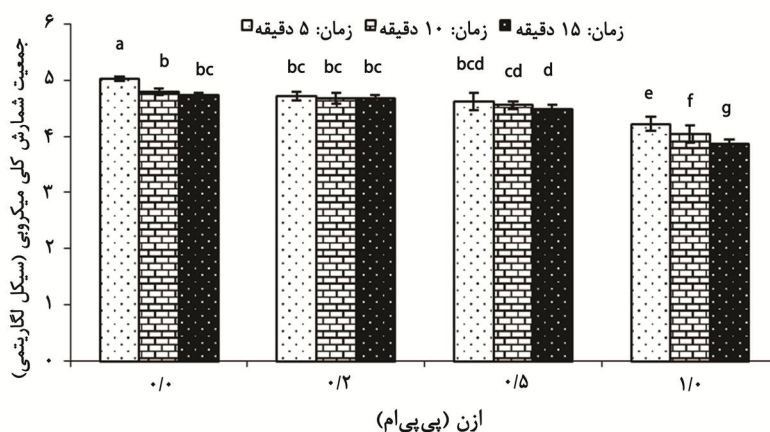


شکل ۲- میانگین نتایج حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف آزن در سه سطح زمانی بر شمار باکتری‌های اشریشیاکلی لاشه مرغ (مقیاس لگاریتمی است، حروف غیر مشابه، بیانگر تفاوت در سطح معنی‌داری پنج درصد است).

آبی حاوی ۰/۵۴ - ۰/۴۴ پی‌پی‌ام ازن سبب کاهش جمعیت کل باکتری‌های هوازی به میزان ۱/۱۱ عدد لگاریتمی شد که با نتیجه حاصل در این تحقیق همخوانی دارد (Jindal *et al.*, 1995)، علاوه بر این، به‌کارگیری آب ازن‌دار با غلظت ۲/۳ پی‌پی‌ام برای شست‌وشوی لاشه گاو قبل از قطعه‌قطعه کردن آن، جمعیت میکروبی کل را ۲/۳ لگاریتمی کاهش داد (Reagan *et al.*, 1996).

همانگونه که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، ازن با غلظت ۱ پی‌پی‌ام و مدت زمان ۱۵ دقیقه سبب کاهش میانگین لگاریتمی شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها از ۵/۲۳ به ۳/۸۶ شد، که معادل ۱/۱۶ لگاریتمی کاهش می‌باشد. در تحقیق دیگری گزارش شد که استفاده از آب ازن‌دار جهت ضدعفونی قطعات گوشت مرغ، سبب کاهش ۱ سیکل لگاریتمی در بار میکروبی کل گردید (Yang & Chen, 1979).

همچنین غوطه‌ورسازی لاشه پرندگان در سردکن



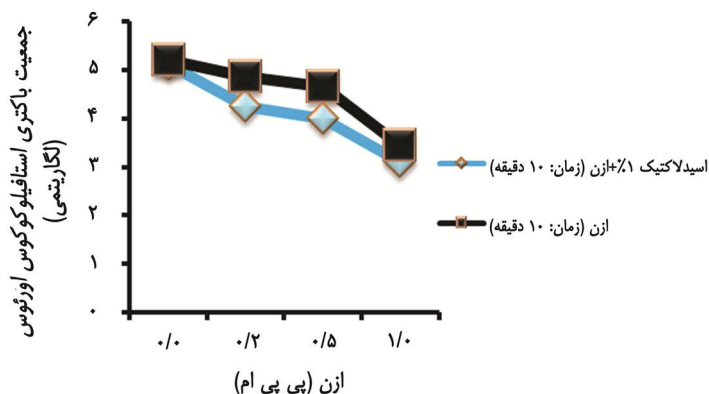
شکل ۳- میانگین نتایج حاصل از اثر غلظت‌های مختلف ازن در سه سطح زمانی بر شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها (مقیاس لگاریتمی است، حروف غیرمشابه، بیانگر تفاوت در سطح معنی‌داری پنج درصد است).

رشد این باکتری را کاهش داد، همان‌گونه که از شکل ۴ مشاهده می‌شود، در شرایط زمانی ثابت، اثر ترکیبی ازن و اسیدلاکتیک در تمام غلظت‌های ازن بیشتر از اثر ازن تنها بوده است. علت را می‌توان به عملکرد یون‌های تفکیک نشده اسید آلی، اسیدی شدن سیتوپلاسم و ایجاد اختلال در انتقال مواد ربط داد، علاوه بر این، هرچه pH بالاتر باشد و یون‌های هیدروکسیل موجود در آب بیشتر باشد، رادیکال آزاد اکسیژن که خاصیت ضدعفونی‌کنندگی ازن را ایفا می‌کند، با یون هیدروکسیل ترکیب می‌شود و در نتیجه اثر ازن کاهش پیدا می‌کند (Foegeding, 1985).

بررسی اثر ترکیبی ازن و اسید آلی بر کاهش باکتری

#### استافیلوکوکوس اورئوس

در این مرحله اثر هم‌زمان ازن در سطح (۰/۲، ۰/۵ و ۱) پی‌پی‌ام و اسیدلاکتیک با غلظت ثابت ۱٪ در زمان ثابت ۱۰ دقیقه بر روی میزان کاهش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس سطح لاشه مرغ مورد آزمایش و بررسی قرار گرفت و تأثیر آن با تیمار ازن جداگانه در مدت زمان ۱۰ دقیقه مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان‌دهنده آن است که با افزایش غلظت ازن، تعداد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس کاهش یافت، به طوری که شاهد ۳۴٪ کاهش تعداد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در این بخش بودیم، این در حالی است که ازن تنها، در شرایط مشابه ۲۶٪

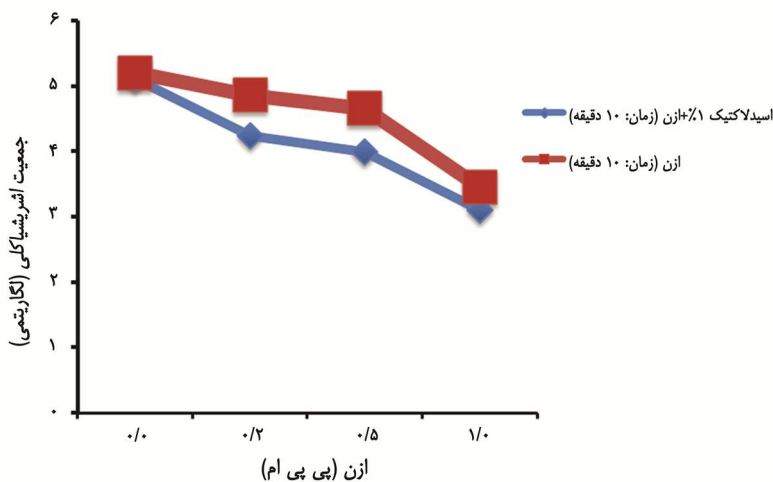


شکل ۴- مقایسه اثر ازن جداگانه و ازن همراه با اسیدلاکتیک، در زمان ثابت بر شمار باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس لاشه مرغ.

روی نوعی قارچ خوراکی گزارش کردند که استفاده از غلظت ۳ پی‌پی‌ام ازن جداگانه در مدت زمان ۵ دقیقه، سبب کاهش ۰/۹۴ سیکل لگاریتمی باکتری اشریشیاکلی، استفاده از ۰/۱ اسیدسیتریک جداگانه روی این قارچ در مدت زمان مذکور، سبب کاهش ۱/۶۴ سیکل لگاریتمی کاهش باکتری اشریشیاکلی و اثر هم‌زمان ازن و اسید در سطوح و زمان یاد شده، سبب کاهش ۲/۲۶ سیکل لگاریتمی در باکتری اشریشیاکلی شد. به عبارت دیگر اختلاف معنی‌داری بین نتایج حاصل از اثر جداگانه اسید و ازن روی قارچ مشاهده نشد، اما اثر ترکیبی ازن و اسید به‌طور معنی‌داری از اثر جداگانه بیشتر بود که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. همان‌گونه که از شکل ۵ فهمیده می‌شود، در تمامی موارد اثر ترکیبی ازن و اسید در کاهش لگاریتم باکتری اشریشیاکلی بیشتر از اثر جداگانه ازن در کاهش این باکتری می‌باشد.

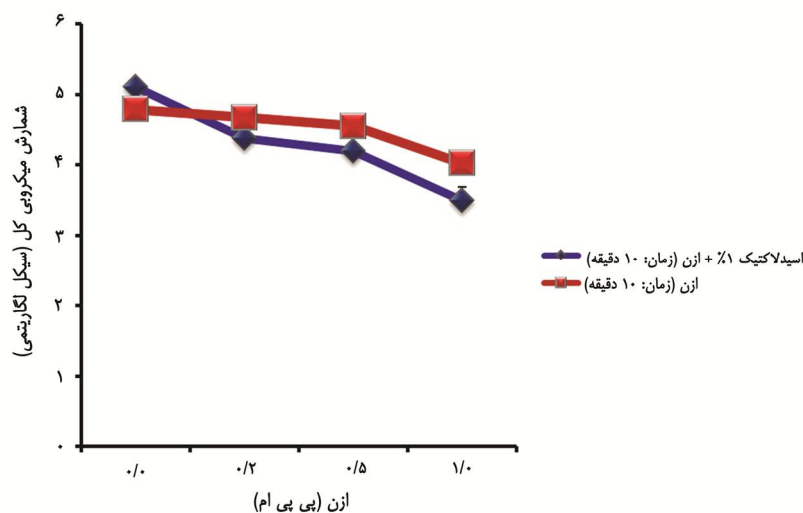
### بررسی اثر ترکیبی ازن و اسید آلی بر کاهش باکتری اشریشیاکلی

در این مرحله اثر هم‌زمان ازن در ۳ سطح (۰/۲، ۰/۵ و ۱ پی‌پی‌ام) و اسیدلاکتیک با غلظت ثابت ۰/۱٪ در زمان ثابت ۱۰ دقیقه بر روی میزان کاهش باکتری اشریشیاکلی سطح لاشه مرغ مورد آزمایش و بررسی قرار گرفت. همان‌گونه که از مشاهده شکل ۵ بر می‌آید، افزایش غلظت ازن سبب شده است که به‌طور معنی‌داری لگاریتم بار میکروبی اشریشیاکلی کاهش پیدا کند، به‌طوری‌که نمونه‌ای که تحت ازن ۱ پی‌پی‌ام و اسیدلاکتیک ۰/۱٪ قرار گرفته است، کمترین بار میکروبی را دارا می‌باشد. از مقایسه نمونه شاهد با نمونه مذکور می‌توان دریافت که کاربرد هم‌زمان اسید آلی و ازن سبب کاهش ۲ سیکل لگاریتمی باکتری اشریشیاکلی شده است. Yuk و همکاران (۲۰۰۷) اثر جداگانه و ترکیبی ازن به غلظت ۳ پی‌پی‌ام و اسیدسیتریک به غلظت ۰/۱٪ در مدت زمان ۵ دقیقه بر



شکل ۵- مقایسه اثر ازن جداگانه و ازن همراه با اسیدلاکتیک در زمان ثابت بر شمار باکتری‌های اشریشیاکلی لاشه مرغ.

توتال کانت لاشه مرغ شده است. Pohlman و همکاران (۲۰۰۲) اثر ترکیبی اسیدلاکتیک ۰.۵٪ و آب آزنه به غلظت ۱٪ را بر روی گوشت گاو مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که باکتری‌های توتال کانت هوازی ۱/۲۷ سیکل لگاریتمی کاهش یافت. نکته دیگر این است که در مدت زمان ثابت ۱۰ دقیقه، در تمامی سطوح آزن، اثر هم‌زمان آزن و اسید بیشتر از اثر آزن بوده است. به طوری که آزن ۱ پی‌پی‌ام در مدت زمان ۱۰ دقیقه، ۱۶ درصد سبب کاهش توتال کانت شد، حال آنکه آزن ۱ پی‌پی‌ام و اسیدلاکتیک ۰.۱٪ در مدت زمان ۱۰ دقیقه سبب کاهش ۳۲ درصد توتال کانت شد.



شکل ۶- مقایسه اثر آزن جداگانه و آزن همراه با اسیدلاکتیک در زمان ثابت بر شمارش کلی میکروبی لاشه مرغ.

باکتری‌های پاتوژن مرغ و جمعیت کل میکروبی بیشتر از اثر استفاده آزن تنها می‌باشد. بنابراین نتیجه‌گیری می‌شود استفاده هم‌زمان آزن با غلظت ۱ پی‌پی‌ام و اسیدلاکتیک با غلظت ۰.۱٪ طی مدت زمان ۱۰ دقیقه در بخش سردکن آبی کشتارگاه‌ها می‌تواند به‌عنوان یک روش مؤثر در ضدعفونی لاشه مرغ مورد استفاده قرار گیرد.

## بررسی اثر ترکیبی آزن و اسید آلی بر کاهش شمارش کلی میکروبی

در این مرحله اثر هم‌زمان آزن در ۳ سطح (۰.۲، ۰.۵ و ۱ پی‌پی‌ام) و اسیدلاکتیک با غلظت ثابت ۰.۱٪ در زمان ثابت ۱۰ دقیقه بر روی میزان کاهش شمارش کلی میکروارگانیسم‌های سطح لاشه مرغ مورد آزمایش و بررسی قرار گرفت.

همان‌گونه که از شکل ۶ بر می‌آید، با افزایش غلظت آزن در زمان ثابت به‌طور معنی‌داری لگاریتم شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها کاهش یافته است. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که اثر ترکیبی آزن و اسیدلاکتیک سبب کاهش ۱/۶ سیکل لگاریتمی

## نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت و مدت زمان قرار دادن لاشه مرغ در آب آزنه، جمعیت باکتری / استافیلوکوکوس / اورئوس، / شریشیا کلی و شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها کاهش می‌یابد، علاوه‌براین، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تأثیر استفاده هم‌زمان از آزن و اسید آلی در کاهش

## منابع

- ۱- سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۵. روش جامع برای شمارش استافیلوکوکوس اورئوس و سایرگونه‌ها. استاندارد ملی ایران، ۱-۳-۶۸۰۶-۱.
- ۲- سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۶. روش جامع برای شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها. استاندارد ملی ایران، ۱-۳-۵۲۷۲-۱.



۳- کاظمی طاسکوه، ن.، حدادخداپرست، م.ح.، وریدی، م.ح. و طباطبایی یزدی، ف.، ۱۳۹۳. تأثیر اسیدلاکتیک و اسیداستیک بر شمارش کلی میکروبی و خواص ظاهری لاشه مرغ. سومین همایش ملی علوم و صنایع غذایی، ۲۶-۲۷ آبان ماه. دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان.

- 4- Bautista, D.A., Sylvester, N., Barbut, S., & Griffiths, M.W. 1997. The determination of efficacy of antimicrobial rinses on turkey carcasses using response surface designs. *International Journal of Food Microbiology*, 34:279-292.
- 5- Bostan, K., Aksu, H., Ersoy, E., Ozgen, O., & Ugur, M. 2001. The effect of pre-chilling with Acetic and lactic acid on shelf-life of broiler carcasses. *Pakistan journal of Biological sciences*, 4:753-756.
- 6- Chaiba, A., Rhazi Filali, F., Chahlaoui, A., Soulaymani B.R., & Zerhouni, M. 2007. Microbiological quality of poultry meat on the meknes market (Morocco). *Internet Journal of Food safety*, 9:67-71.
- 7- Foegeding, P.M. 1985. Ozone inactivation of *Bacillus* and *Clostridium* spore populations and the importance of the spore coat to resistance. *Journal of Food Microbiology*, 2:123-134.
- 8- Graham, D.M., Strasser, J., & Mannapperuma, J.D. 2002. Applications of ozonation and membrane treatment in poultry processing. California Energy Commission. Final Report, Sacramento, CA. [http://www.energy.ca.gov/reports/2003-03-21-400-02-023\\_F.pdf](http://www.energy.ca.gov/reports/2003-03-21-400-02-023_F.pdf).
- 9- Guzel-Seydim, Z.B., Greene, A.K., & Seydim, A.C. 2004. Use of ozone in the food industry. *LWT-Food Science and technology*, 37:453-460.
- 10- Hecer, C., Balci, F., & Udum, C.D. 2007. The effects of ozone and chlorine application on microbiological quality of chickens during processing. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 1(3):131-138.
- 11- Jindal, V., Waldroup, A.L., Forsythe, R.H., & Miller, M.J. 1995. Ozone and improvement of quality and shelf life of poultry products. *The Journal of applied poultry Science*, 4:239-248.
- 12- Khadre, M.A., Yousef, A.E., & Kim, J.G. 2001. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. *Journal of food science*, 66(9):1242-1252.
- 13- Leiguarda, R.H., Peso, O.A., & Palazzolo, A.Z. 1949. The bactericidal action of ozone. *Journal of Water Pollution. (Abstract)*, 22: 268.
- 14- Levine, M. 1918. Differentiation of *e. coli* and *a. aerogenes* on a simplified eosin-methylene blue agar. *The Journal of infectious Diseases*, 23:43-47.
- 15- Northcutt, J.K., Smith, D., Huezo, R.I., & Ingram, K.D. 2008. Microbiology of broiler carcasses and chemistry of chiller water as affected by water reuse. *Journal of Poultry Science* 87:1458-1463.
- 16- Oğuz, R., & Güler, Ç. 2004. 21. Yüzyılda niçin klorlama. *TSK Koruyucu hekimlik bülteni*, 3(8):186-195.
- 17- Okolocha, E.C., & Ellerbroek, L. 2005. The influence of acid and alkaline treatments on pathogens and the shelf life of poultry meat. *Journal of Food control*, 16:217-225.
- 18- Pohlman, F.W., Stivarius, M.R., McElyea, K.S., Johnson, Z.B., & Johnson, M.G. 2002. The effects of ozone, chlorine dioxide, cetylpyridinium chloride and trisodium phosphate as multiple antimicrobial interventions on microbiological, instrumental color, and sensory color and odor characteristics of ground beef. *Journal of Meat Science*, 61:307-313.
- 19- Reagan, J.O., Acuff, G.R., Buege, D.R., Buyck, M.J., Dickson, J.S., Kastner, C.L., Marsden, J.L., Morgan, J.B., Nickelson R.II., Smith, G.C., & Sofos, J.N. 1996. Trimming and washing of beef carcasses as a method of improving the microbiological quality of meat. *Journal of Food Protection*, 59(7):751-756.
- 20- Waldroup, A.R., Hierholzer, R.E., Forsythe R.H., & Miller M.J. 1993. Recycling of poultry chill water using ozone. *The Journal of Applied poultry Science*, 2:330-336.
- 21- Yang, P.P.W., & Chen, T.C. 1979. Effects of ozone treatment on microflora of poultry meat. *Journal of Food Processing and Preservation*, 3:177-185.
- 22- Yuk, H.G., Yoo, M.Y., Yoon, J.W., Marshall, D.L & Oh, D.H. 2007. Effect of combined ozone and organic acid treatment for control of *Escherichia coli* 0157:H7 and *Listeria monocytogenes* on enoki mushroom. *Journal of Food control*, 18(5):548-553.

## The Effect of Combined Aqueous Ozone and Lactic acid Treatment for Control of Microbial Contamination of Poultry Carcass in Immersion Chiller of Slaughterhouse

Naeimeh Kazemi Taskooh<sup>1\*</sup>, Mohammad Hosein Haddad Khodaparast<sup>2</sup>,  
Mohammad Javad Varidi<sup>3</sup>, Farideh Tabatabaii Yazdi<sup>4</sup>

- 1- M.Sc. Graduate, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
- \* Corresponding Author (Naeimeh.kazemi@yahoo.com)
- 2- Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
- 3- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
- 4- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

### Abstract

This study evaluated the effects of ozonated water (0.2, 0.5, and 1 ppm) alone with different exposure times (5, 10, and 15 min) and combinations of ozonated water (0.2, 0.5, and 1 ppm) with 1% Lactic acid during 10 min exposure for control of *Escherichia coli* (As a Gram-Negative food infection bacteria), *Staphylococcus aureus* (As a Gram-Positive food infection and toxigenic bacteria) and total count of poultry carcass, at the same temperature condition of chiller water (0-4 °C) and samples immediately were analyzed for microbiological tests. The results showed that there were significant differences ( $P<0.05$ ) between control and treated samples. It was observed that the combined ozone-Lactic acid treatment was more effective than individual treatments (with ozone) in reducing *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and the total count of microorganisms on poultry carcass. Thus, the use of 1 ppm ozonated water or combination of Lactic acid 1% and 1 ppm ozonated water is recommended in poultry carcass in chiller water of slaughter house.

**Keywords:** *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Lactic acid, Ozone, Poultry carcass