

## کاربرد ازن برای کاهش بار میکروبی گوشت مرغ استخوان گیری شده با روش مکانیکی

محمد هادی اسکندری<sup>۱\*</sup>، سعیده هاشمی نسب<sup>۲</sup>، مهرداد نیاکوثری<sup>۳</sup>، شهرام شکر فروش<sup>۴</sup>

۱. دانشیار علوم و صنایع غذایی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۲. دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳. استاد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۴. استاد بهداشت مواد غذایی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

\* نویسنده مسئول مکاتبات: eskandar@shirazu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۶/۳/۱۱ پذیرش نهایی: ۹۷/۵/۴)

### چکیده

ازن یک اکسید کننده و ضد عفونی کننده قوی می باشد و کاربردهای زیادی در نگهداری مواد غذایی پیدا کرده است. هدف از این مطالعه بررسی اثر آب ازنه بر افزایش ماندگاری خمیر مرغ نگهداری شده در سردخانه ( $2 \pm 4^{\circ}\text{C}$ ) بود. نمونه های خمیر مرغ تحت اثر ازن (۰، ۰/۰۳۲، ۰/۰۶۵، ۰/۰۹۸، ۰/۱۳ ppm) تیمار گردید و در بسته بندی های مجزا در دمای  $2 \pm 4^{\circ}\text{C}$  نگهداری شدند. نمونه ها از نظر ویژگی های شیمیایی (عدد پراکسید) و میکروبی (باکتری های مزوفیل هوازی، سرماگراها، استافیلوکوکوس آورئوس، کلی فرم و کپک و مخمر) در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ازن در طول دوره نگهداری سبب کاهش شمار باکتری های مزوفیل هوازی، سرماگراها، استافیلوکوکوس آورئوس، کلی فرم و کپک و مخمر نسبت به نمونه کنترل می شود ( $P < 0/05$ ). نمونه تیمار شده با ۰/۱۳ ppm آب ازنه بهترین نتایج را داشت و عمر ماندگاری محصول را در مقایسه با نمونه کنترل، چهار روز افزایش پیدا کرد. همچنین عدد پراکسید نمونه های تیمار شده با آب ازنه به طور معنی داری بیش از نمونه کنترل بود ( $P < 0/05$ ). با توجه به نتایج مطالعه می توان بیان کرد ازن دهی می تواند در کاهش بار میکروبی خمیر مرغ مفید باشد و به طور معنی داری سبب افزایش عمر نگهداری این فرآورده گردد.

**واژه های کلیدی:** خمیر مرغ، ازن، شمار میکروبی، عدد پراکسید، عمر ماندگاری

## مقدمه

خمیر مرغ یا گوشت مرغ جداسازی شده با روش مکانیکی شامل فرآورده‌های یکنواخت از گوشت مرغ (گوشتی، تخم‌گذار و مادر) و مناسب برای مصرف انسان است که با استفاده از وسایل مکانیکی از لاشه کامل فاقد پوست و اندرونه یا استخوان‌های حاوی گوشت مرغ حاصل می‌شود؛ به‌گونه‌ای که استخوان تحت فشار جدا شده و ساختمان فیبر عضلانی از دست می‌رود یا دچار تغییر می‌شود (ISIRI, 9529/2008). خمیر مرغ از سال ۱۹۶۰ در جهان تولید می‌شود و امروزه به دلیل قیمت و ویژگی‌های تکنولوژیک مناسب، استفاده از آن در برخی فرآورده‌های گوشتی مورد استقبال تولیدکنندگان قرار گرفته است (Henckel et al., 2004). از مهم‌ترین چالش‌های پیش روی استفاده از خمیر مرغ می‌توان به بار میکروبی بالا و امکان آلودگی به پاتوژن‌هایی چون *شریشیا کولای*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کامپیلوباکتر ججونی* و *سالمونلا* اشاره کرد (Bostan et al., 2001). در سال‌های گذشته روش‌های مختلفی برای کاهش میزان این باکتری‌ها در خمیر مرغ به کار رفته است که از روش‌های مورد استفاده می‌توان به کاربرد کلر (del Río et al., 2007) و اسیدهای آلی (Bostan et al., 2001) چون اسید لاکتیک (Bautista et al., 1997) و اسید استیک (Jasass et al., 2008; Bostan et al., 2001) اشاره کرد. محققان گزارش کردند استفاده از کلر باعث تولید مواد سرطان‌زا هم‌چون تری‌هالومتان می‌گردد (Dickens et al., 1994). علاوه بر این، کلر پیامدهای زیست‌محیطی ایجاد می‌کند و بر قارچ‌ها، ویروس‌ها و انگل‌ها اثر ندارد. این پژوهش‌گران اسیدهای آلی از قبیل

اسید استیک، اسید لاکتیک و مشتقات آن‌ها را به‌عنوان جایگزین‌های طبیعی برای افزایش عمر نگهداری و ایمنی میکروبی محصولات غذایی پیشنهاد دادند. اما اشکال آن‌ها تغییر رنگ، ایجاد مزه اسیدی و بوی تند در گوشت می‌باشد و روی محیط زیست نیز اثر منفی دارند. هم‌چنین پراکسید هیدروژن و تری‌سدیم فسفات جهت ضدعفونی لاشه و حتی گوشت طیور مورد استفاده قرار گرفته‌اند، اما بعضی از این ترکیبات بقایای مضر بر جای می‌گذارند و قیمت بالایی دارند (Dickens et al., 1994). هم‌چنین بیشتر این ترکیبات می‌توانند سبب کاهش کیفیت در فرآورده گوشتی نهایی گردند. از این‌رو مطالعه در رابطه با روش مناسب برای کاهش میزان باکتری‌های پاتوژن و فسادزا در این مواد غذایی کماکان ادامه دارد.

ازن به‌عنوان یک عامل بازدارنده رشد میکروارگانیسم‌ها در بسیاری از محصولات غذایی استفاده گردیده است و سازمان‌های نظارتی چون سازمان غذا و داروی آمریکا، آژانس حفاظت محیط زیست و سازمان بهداشت جهانی، استفاده از ازن در مواد غذایی را مورد تأیید قرار داده‌اند (Sopher et al., 2002). این گاز کارایی بسیار مناسبی در جلوگیری از رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی دارد (Sopher et al., 2002). محققان طی تحقیقی بیان کردند آب از نه مورد استفاده برای ضدعفونی لاشه مرغ سبب نابودی ۹۰ درصد میکروارگانیسم‌های سطح لاشه مرغ شده است (Hecer et al., 2007). مقایسه اثر استفاده ازن با غلظت ۱/۵ ppm و کلر با غلظت ۳۰ ppm نشان داد که استفاده از ازن باعث کاهش تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی تا ۸۰ درصد می‌گردد، که این میزان برای استفاده

روش متداول‌ترین روش در مقیاس صنعتی می‌باشد. در این سامانه دو الکتروود در محل تخلیه کرونا وجود دارد که یکی از آن‌ها الکتروود با تنش بالا و دیگری الکتروود با تنش کمتر (الکتروود متصل به زمین) می‌باشد. این دو الکتروود به وسیله ماده دی‌الکتریک سرامیکی از هم جدا می‌شوند و یک شکاف باریک تخلیه را ایجاد می‌نمایند. وقتی الکترون‌ها انرژی سنتتیک کافی (حدود ۶-۷ الکترون ولت) را به دست می‌آوردند، مولکول اکسیژن متلاشی گردیده و مولکول ازن از ترکیب مولکول اکسیژن حاصله از بخش اکسیژن‌ساز دستگاه ازن ژنراتور با اتم‌های اکسیژن حاصل می‌شود (Hecer et al., 2007). آب توسط پمپ وارد دستگاه شد و پس از فرآیند ازن زنی به صورت چرخشی بین مخزن و دستگاه ازن ژنراتور سیرکوله گردید. در این مسیر یک محفظه مخصوص قبل از ورود آب از زنه به مخزن وجود دارد که در آن‌جا نمونه برداری جهت اندازه‌گیری میزان غلظت ازن در آب با دستگاه غلظت‌سنج ازن (Palintest-A6, UK) انجام گرفت. اساس کار با دستگاه غلظت‌سنج بر پایه رنگ‌سنجی می‌باشد. برای کالیبراسیون دستگاه ابتدا نمونه آب مقطر درون لوله نورسنج دستگاه ریخته شد و سپس قرص شناساگر DPD<sub>4</sub> به محیط آبی افزوده شد تا به خوبی حل شود. سپس لوله در مکان مورد نظر بر روی دستگاه قرار داده شد، در این حالت دستگاه باید عدد صفر را نشان دهد. سپس این مراحل برای نمونه آب حاوی ازن انجام گرفت. تفاوت جذب نور دو نمونه نشانگر میزان ازن محلول در نمونه است که به صورت میلی گرم بر لیتر یا ppm گزارش گردید.

از کلر ۵۷/۲ درصد به دست آمد. هم‌چنین تحقیقات و آزمایش‌ها ثابت کرده‌اند که اثر ازن در میزان نابودی میکروارگانیزم‌های *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس آورئوس* بیشتر از اثر کلر می‌باشد، ضمن این‌که هیچ باقی‌مانده‌ای از خود بر جای نمی‌گذارد؛ اما کلر سبب بر جای ماندن بقایای خطرناک می‌شود (Hecer et al., 2007).

با توجه به ویژگی‌های مناسب ازن در کاهش بار میکروبی، هدف از این مطالعه بررسی کارایی ازن در کاهش بار میکروبی خمیر مرغ و نیز تأثیر غلظت‌های مختلف ازن بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی خمیر مرغ در مدت ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال بود.

## مواد و روش‌ها

### - آماده‌سازی نمونه خمیر مرغ

مرغ گوشتی مورد نیاز از نژاد راس (ROSS) و از کشتارگاه شیراز، چهار ساعت پس از کشتار و در دمای ۴ درجه سلسیوس به دست آمد. ابتدا لاشه کامل مرغ گوشتی که امعاء و احشاء آن به صورت کامل تخلیه گردیده بود وارد دستگاه استخوان‌گیر (LIMA 300, France) شد و تنظیمات مکانیکی دستگاه به گونه‌ای انجام گرفت تا خمیر مرغ با ۷۰ درصد استحصال به دست آید. سپس خمیر مرغ به دست آمده با حفظ شرایط بهداشتی در کیسه‌های پلاستیکی استریل توزین و درون یخچال با دمای  $\pm 1$  ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد.

### - آماده‌سازی محلول آب ازن‌دار

در این پژوهش تولید ازن به وسیله دستگاه صنعتی و بر اساس روش کرونا بود (Ozonica 50, Iran). این

## - ازن زنی به نمونه‌های خمیر مرغ

به دلیل ناپایداری ازن، آب از نه شده با چهار غلظت ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ ppm تولید شد و طبق روش بالا میزان ۷ درصد وزنی/وزنی به نمونه‌های خمیر مرغ افزوده شد تا به ترتیب غلظت‌های ۰/۰۳۲، ۰/۰۶۵، ۰/۰۹۸ و ۰/۱۳ ppm ازن در نمونه‌های خمیر مرغ به دست آید. در تیمار شاهد، تنها ۷ درصد آب بدون ازن به نمونه افزوده شد. آزمون‌های اولیه نشان داد که نسبت ۷ درصد نسبت مناسبی برای پخش یکنواخت آب از نه در خمیر مرغ می‌باشد. افزودن نسبت‌های بیشتر آب به خمیر مرغ سبب کاهش کیفیت محصول می‌گردد. سپس نمونه‌ها به یخچال ۴ درجه سلسیوس انتقال یافتند و تا زمان آزمون در آن جا نگهداری شدند. نمونه‌ها در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ مورد ارزیابی میکروبی و شیمیایی قرار گرفتند.

## - آزمون‌های میکروبی

بدین منظور در شرایط استریل مقدار ۱۰ گرم از نمونه یکنواخت شده با ۹۰ میلی‌لیتر محلول سرم فیزیولوژی استریل مخلوط و به مدت ۵ دقیقه توسط دستگاه استومکر همگن گردید و سپس رقت‌سازی متوالی ده‌دهی تهیه شد. به منظور شمارش مزوفیل‌های هوازی میکروارگانیسم‌ها از استاندارد ملی ایران و از محیط کشت PCA استفاده گردید (-ISIRI, 5272/1/2015). به منظور شمارش میکروارگانیسم‌های سرمادوست از رقت‌های مناسب به صورت پورپلیت روی محیط PCA کشت داده شد. پلیت‌ها برای ۱۰ روز در دمای ۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند.

شمارش کلی فرم‌ها با روش پورپلیت روی محیط VRBA انجام شد. پلیت‌ها برای ۲ روز در دمای ۳۷

درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری و کلونی‌های صورتی شمارش شدند (ISIRI, 9263/2008).

برای شمارش استافیلوکوکوس اورئوس از محیط کشت بردپارکر آگار استفاده گردید. پلیت‌های کشت شده در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸-۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند و کلنی‌های سیاه براق با هاله شفاف توسط کلنی کانتر شمرده شدند (ISIRI, 6806-1/2007).

برای شمارش کپک و مخمر از محیط YGC (Yeast Glucose Chloramphenicol) استفاده شد و پلیت‌ها برای ۳ روز در دمای ۲۶-۲۴ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند (ISIRI, 10899/2009). تمامی محیط‌های کشت مورد استفاده در این پژوهش از شرکت (Merck, Germany) تهیه شد. نتایج به صورت Log CFU/g گزارش گردید.

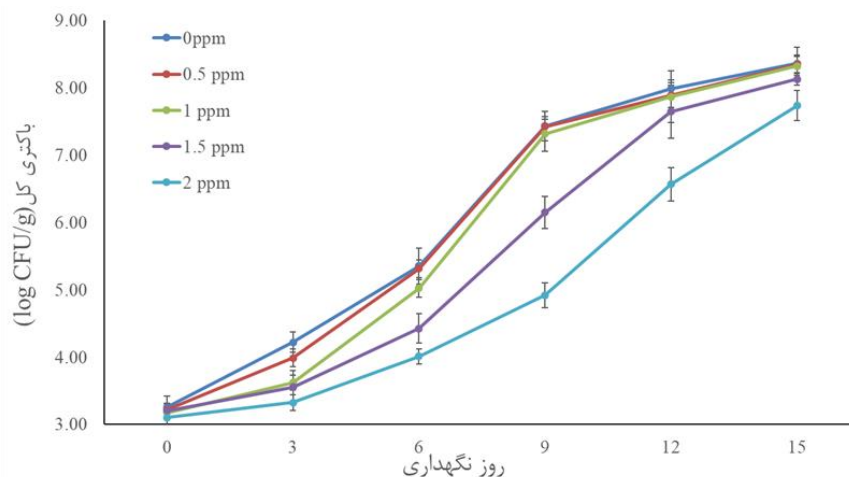
## - آزمون شیمیایی

## - آزمون میزان پراکسید

نمونه مورد آزمایش به میزان ۱۵ گرم با ۳۰ میلی‌لیتر کلروفرم و ۳۰ میلی‌لیتر متانول مخلوط و بعد از ۴ ساعت درون آن ۴۰ درجه سلسیوس به مدت نیم ساعت گذاشته شد. سپس با سانتریفوژ ۱۲۰۰ دور در دقیقه کلروفرم و متانول از نمونه اصلی جداسازی شد. ۵ گرم از محلول رویی درون ارلن مایر ۲۵۰ سی‌سی ریخته و ۳۰ سی‌سی از محلول اسیداستیک و کلروفرم (۳ حجم اسید استیک + ۲ حجم کلروفرم) به آن افزوده تا روغن در آن به خوبی حل گردید. سپس ۰/۵ سی‌سی یدور پتاسیم اشباع اضافه و بعد از یک دقیقه ۳۰ سی‌سی آب مقطر افزوده و با تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال تیتراسیون انجام شد. پس از زائل شدن رنگ زرد، ۰/۵

### یافته‌ها

در نمودار (۱)، روند تغییرات شمار باکتری‌های مزوفیل هوازی در طول دوره نگهداری خمیر مرغ در یخچال نشان داده شده است. در تمامی تیمارها شمار باکتری‌های مزوفیل هوازی در طول دوره نگهداری یک روند افزایشی معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) مشاهده گردید. نمونه کنترل بیش‌ترین افزایش تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی در طول دوره نگهداری نسبت به دیگر تیمارها مشاهده شد. به طوری‌که میزان باکتری‌های مزوفیل هوازی از  $3/26 \pm 0/16$  Log CFU/g در زمان صفر نگهداری به  $8/36 \pm 0/24$  Log CFU/g در پایان روز پانزدهم نگهداری رسید. هم‌چنین در این نمودار زمان اتمام عمر نگهداری نمونه‌های خمیر مرغ با توجه به استاندارد ملی ایران نمایش داده شده است.



نمودار (۱) - مقایسه اثر غلظت‌های مختلف ازن بر شمار باکتری‌های مزوفیل هوازی در خمیر مرغ

سی‌سی معرف نشاسته یک درصد افزوده و عمل تیتراسیون تا زائل شدن رنگ آبی ادامه داده شد (AOCS, 1997). نتیجه بر حسب میلی‌اکی‌والان/کیلوگرم روغن گزارش گردید.

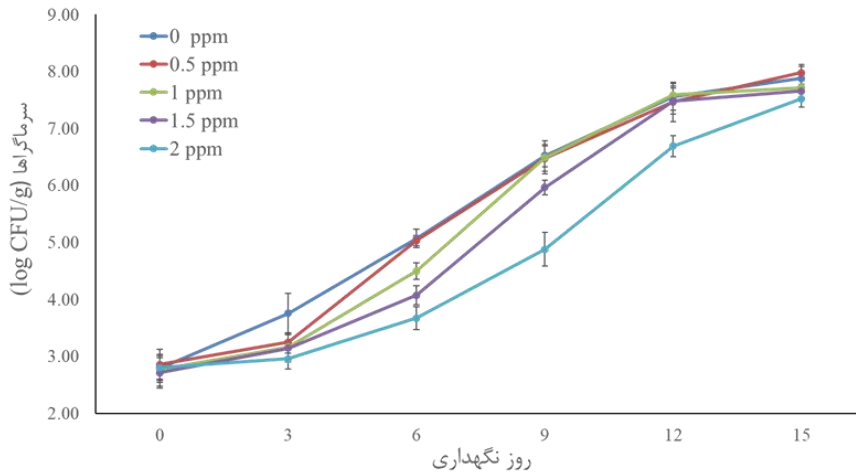
### - آنالیز آماری

تمامی آزمایش‌ها در این پژوهش در ۳ تکرار انجام گرفت و نتایج حاصل در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. به‌منظور آنالیز میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ( $P < 0/05$ ) استفاده شد.

سرماگرا در تمامی تیمارها افزایش یافته است. سریع‌ترین میزان رشد باکتری‌های سرماگرا، در نمونه بدون ازن دیده شد. این در حالی است که نمونه حاوی بیش‌ترین میزان ازن ( $0/13$  ppm)، سبب کاهش سرعت

در نمودار (۲)، روند تغییرات شمار میکروب‌های سرماگراها، در نمونه‌های خمیر مرغ نگهداری شده درون یخچال نمایش داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش مدت زمان نگهداری، شمار میکروب‌های

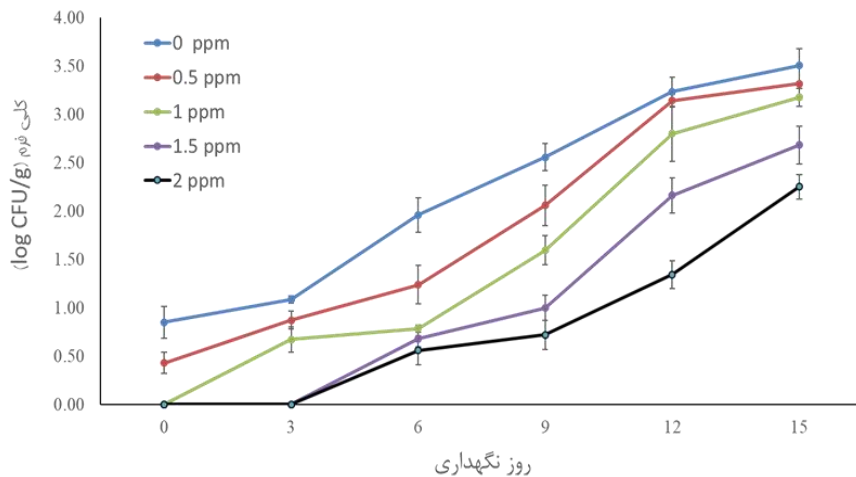
رشد باکتری‌های سرماگرا در طول مدت نگهداری شد.



نمودار (۲) - مقایسه اثر غلظت‌های مختلف ازن بر شمار باکتری‌های سرماگرا در خمیر مرغ

هیچ رشدی در زمان صفر مشاهده نشد. در بین نمونه‌ها، تیمار حاوی غلظت ۰/۱۳ ppm بیشترین اثر را در کل دوره نگهداری در جلوگیری از رشد باکتری‌های کلی‌فرم داشت. به طوری که در نمونه‌هایی که با این میزان ازن تیمار شده‌اند، تا شش روز پس از نگهداری هیچ رشدی در باکتری‌های کلی‌فرم دیده نشد.

در تمامی تیمارها با افزایش دوره نگهداری، افزایش رشد کلی‌فرم‌ها مشاهده شد (نمودار ۳). در نمونه کنترل میزان کلی‌فرم در روز پایانی به  $3/51 \log \text{CFU/g}$  افزایش یافت. در این نمونه سرعت رشد کلی‌فرم‌ها نسبت به دیگر تیمارها بیشتر بود. در تیمارهای ۰/۰۶۵، ۰/۰۹۸ و ۰/۱۳ ppm به دلیل اثر قوی ازن بر کلی‌فرم‌ها،



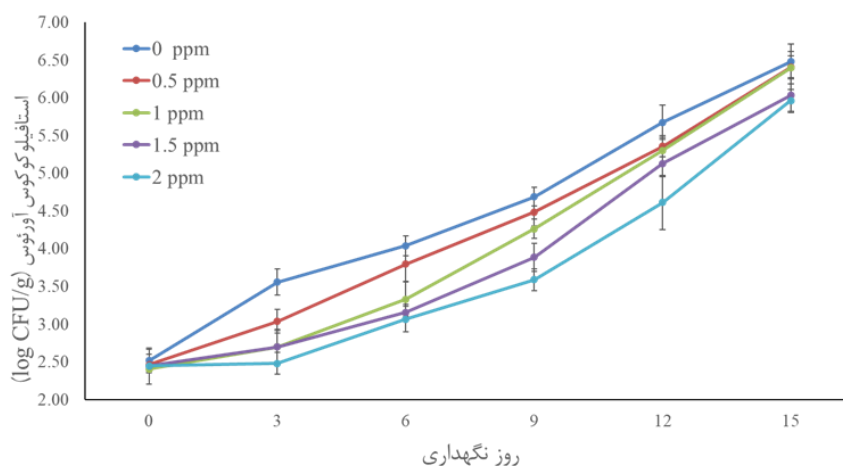
نمودار (۳) - مقایسه اثر غلظت‌های مختلف ازن بر باکتری‌های کلی‌فرم در خمیر مرغ

استافیلوکوکوس اورئوس در خمیر مرغ ازن‌دهی شده

در نمودار شماره (۴)، نتایج روند تغییرات شمار

نشاند. با افزایش دوره نگهداری تا روز سوم، میزان رشد در نمونه کنترل نسبت به دیگر تیمارها افزایش معنی دار داشت ( $P < 0/05$ ). در پایان زمان نگهداری مشاهده گردید که نمونه ۰/۱۳ ppm دارای بیشترین اثر بازدارندگی معنی دار ( $P < 0/05$ ) نسبت به دیگر نمونه‌ها بوده است.

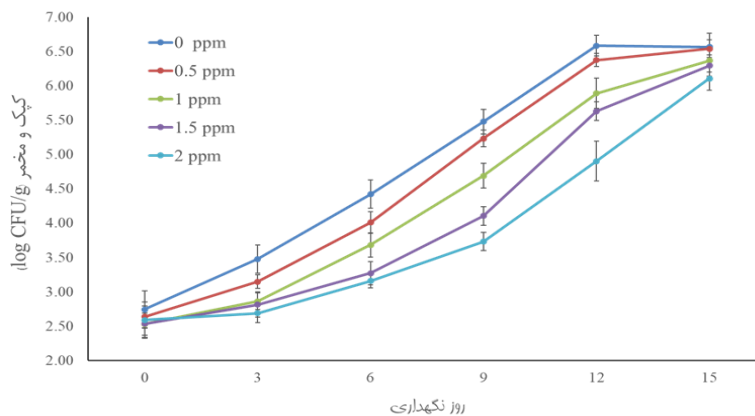
نشان داده شده است. در تمامی تیمارها با افزایش دوره نگهداری، افزایش شمار استافیلوکوکوس آورئوس دیده شد. نمونه کنترل دارای کمترین و نمونه خمیر مرغ حاوی ۰/۱۳ ppm دارای بیشترین اثر در جلوگیری از رشد باکتری استافیلوکوکوس آورئوس بوده است. در مقایسه نمونه‌ها در زمان‌های مختلف می‌توان بیان کرد در زمان صفر نگهداری هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده



نمودار (۴) - مقایسه اثر غلظت‌های مختلف ازن بر شمار استافیلوکوکوس آورئوس در خمیر مرغ

داده است (نمودار ۵). این روند در تمامی تیمارها نشان داده شده است.

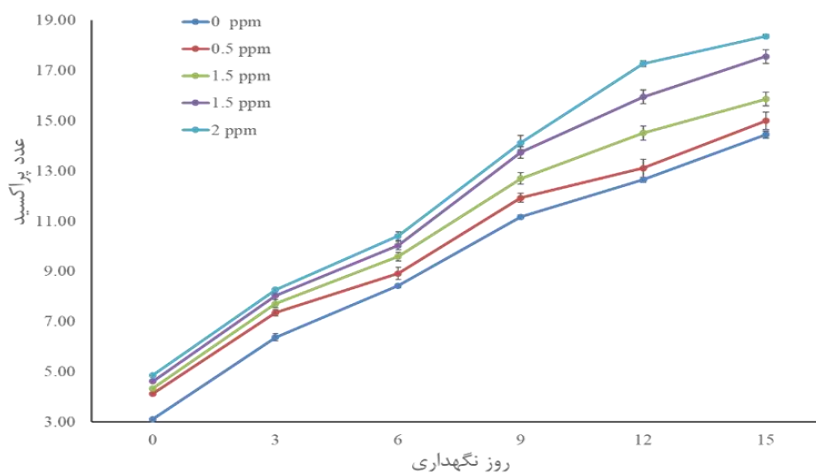
همانند دیگر میکروارگانیسم‌های مورد بررسی، در طول دوره نگهداری، افزایش رشد کپک و مخمرها رخ



نمودار (۵) - مقایسه اثر غلظت‌های مختلف ازن بر شمار کپک و مخمر در خمیر مرغ

و میزان افزایش عدد پراکسید آن بسیار کم تر بود (نمودار ۶). در بررسی تیمارهای ازن دهی شده، تیمار ۰/۱۳ ppm دارای اختلاف معنی داری ( $P < 0/05$ ) نسبت به دیگر تیمارها بود.

در بررسی نمونه‌ها با یکدیگر در زمان‌های نگه‌داری خمیر مرغ مشاهده گردید که در ابتدای تولید، تمامی نمونه‌ها از پراکسید یکسانی برخوردار بودند اما با افزایش دوره نگه‌داری تا زمان سوم، نمونه کنترل نسبت به دیگر تیمارها دارای اختلاف معنی دار ( $P < 0/05$ ) بود



نمودار (۶) - مقایسه اثر غلظت‌های مختلف ازن بر میزان عدد پراکسید خمیر مرغ

نگه‌داری به پایان رسید. پژوهش‌ها نشان داده است که مکانیسم اثر ازن بر میکروارگانیسم‌ها یک فرایند پیچیده است. محققین اثر ازن بر میکروارگانیسم‌ها را حاصل از چند فرآیند می‌دانند که مجموع این فرآیندها در نهایت منجر به از بین رفتن سلول می‌گردد. آن‌ها معتقدند ازن هر چند که یک اکسیدکننده بسیار قوی محسوب می‌گردد اما بر روی میکروارگانیسم‌ها اثر متوقف‌کنندگی (باکتریواستاتیکی) داشته و فرآیند حیاتی آن‌ها را مختل می‌نماید و از رشد طبیعی آن‌ها جلوگیری می‌کند. شایان ذکر است این عملکرد به شرایط محیط ازن‌دهی، غلظت ازن مصرفی و نحوه کاربرد ازن هم بستگی دارد. هم‌چنین ازن می‌تواند به‌عنوان یک رادیکال آزاد باعث اکسید شدن ترکیباتی چون اسیدهای چرب چند

## بحث و نتیجه‌گیری

افزایش بار میکروبی خمیر مرغ سبب فساد آن و در نتیجه غیرقابل مصرف شدن آن می‌گردد. طبق استاندارد ملی ایران مقدار مجاز میکروارگانیسم‌های مزوفیل هوازی در خمیر مرغ  $5 \times 10^6$  می‌باشد (ISIRI, 9529/2008). با توجه به نتایج می‌توان بیان کرد که با افزایش غلظت ازن به میزان ۰/۰۹۸ ppm و بالاتر عمر نگه‌داری نمونه‌های خمیر مرغ افزایش می‌یابد و بیش‌ترین کاهش رشد میکروب‌ها در نمونه خمیر مرغ حاوی ۰/۱۳ ppm ازن دیده شد که بار میکروبی آن تا روز یازدهم نگه‌داری در حد مجاز بود. این در حالی است که عمر نگه‌داری نمونه بدون ازن در روز هفتم



از جمعیت سالمونلا و ۵۷ درصدی از سودوموناس گردیدند (Al-Haddad *et al.*, 2005). در مطالعه‌ای اثر ضدمیکروبی ازن بر لاشه ماکیان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد تیمار ازن‌دهی شده نسبت به نمونه کنترل در طول مدت نگهداری، باعث کاهش معنی‌دار رشد باکتری‌های مزوفیل هوازی و سرماگراها گردید. حالت مشابه این روند برای کلی‌فرم‌ها مشاهده گردید (Sheldon *et al.*, 1986).

در تیمارهای ۰/۰۶۵، ۰/۰۹۸ و ۰/۱۳ ppm به دلیل اثر قوی بر کلی‌فرم‌ها هیچ‌گونه رشدی در زمان صفر نگهداری مشاهده نگردید. به نظر می‌رسد باکتری‌های گرم منفی (نظیر کلی‌فرم‌ها) حساسیت بیشتری نسبت به ازن داشته باشند. تحت اثر ازن و وجود گلیکولپید در دیواره سلولی آن‌ها، مکانیسم اکسیداسیون در لیپیدها رخ می‌دهد که باعث تخریب دیواره سلولی و در نتیجه از بین رفتن باکتری می‌گردد. با توجه به این‌که میزان مجاز وجود کلی‌فرم‌ها در خمیر مرغ طبق استاندارد ملی ایران  $5 \times 10^2$  CFU/g می‌باشد. بر اساس نتایج می‌توان بیان نمود که نمونه کنترل و نمونه حاوی ۰/۰۳۲ ppm ازن، از روز نهم نگهداری دارای مقادیر بیش از حد مجاز از این میکروارگانیسم بودند. هم‌چنین نمونه‌های ۰/۰۶۵ و ۰/۰۹۸ ppm در زمان دوازدهم از حد مجاز عبور می‌کنند ولی نمونه حاوی ۰/۱۳ ppm کماکان تا روز آخر در حد مجاز استاندارد ملی ایران می‌باشد. اثر ضد میکروبی گاز ازن و اثر آن بر خصوصیات کیفی گوشت گاو در دمای یخچال مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش اثر دماهای ۰ و ۴ درجه سلسیوس بر عملکرد ازن‌دهی بررسی گردید. نتایج بررسی رشد باکتری *شریشیا کولای* نشان داد که در تمامی نمونه‌ها، باکتری

غیراشباعی غشاء، گلیکوپروتئین و گلیکولپیدها گردد که باعث ایجاد حفره در غشای سلول باکتری می‌شود. وجود این منافذ سبب نفوذپذیری کنترل نشده باکتری می‌گردد که این مسئله منجر به تجزیه سلول و مرگ باکتری می‌شود. نشان داده شده که علت اصلی اثر ضدمیکروبی ازن را می‌توان فعالیت اکسیداسیونی ازن بر ترکیبات حیاتی دیواره سلولی باکتری‌ها دانست (Guzel-Seydim *et al.*, 2004). اثر ازن بر خصوصیات گوشت صدف مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان داد در طول ۱۲ روز زمان نگهداری در تمامی تیمارها رشد باکتری‌ها افزایش داشته است اما تیمارهای ازن‌دهی شده نسبت به نمونه کنترل از رشد کم‌تری برخوردار بوده است (Manousaridis *et al.*, 2005).

به دلیل نگهداری خمیر مرغ در یخچال، باکتری‌های سرماگرا از مهم‌ترین عوامل محدود کننده عمر آن محسوب می‌شوند. در بررسی تیمارهای مختلف در طول دوره نگهداری مشاهده شد که نمونه کنترل بیش‌ترین و نمونه تیمار شده با غلظت ۰/۱۳ ppm ازن، کم‌ترین میزان رشد باکتری سرماگرا را دارا بوده‌اند که این نشان‌دهنده کارایی ازن و وابستگی اثر بازدارندگی آن به غلظت این ماده در رشد باکتری‌های سرماگرا می‌باشد. پژوهشگران، اثر کنترلی گاز ازن و گاز بسته‌بندی را بر جمعیت باکتری‌های *سالمونلا اینفانتیس* و *سودوموناس ایروجینوزا* روی پوست مرغ مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق باکتری‌های ذکر شده به مرغ تلقیح شدند. نتایج نشان داد تیمار حاوی گاز ازن باعث کاهش ۹۷ درصدی سالمونلا و ۹۵ درصدی سودوموناس گردیده است اما بسته‌بندی حاوی گازهای دی‌اکسیدکربن و نیتروژن تنها باعث کاهش ۷۲ درصدی

دوازدهم نگره‌داری، خارج از حد مجاز بودند. با بررسی نتایج می‌توان اثر مناسب ازن‌دهی در افزایش ماندگاری خمیر مرغ نسبت به نمونه کنترل مشاهده نمود اما میزان غلظت ازن نیز فاکتور دیگری می‌باشد که در کاهش میزان باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* اثرگذار می‌باشد. اثر ضد میکروبی ازن بر جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در سوبستراهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* به میزان  $6.48 \times 10^7$  در بافر،  $6.47 \times 10^7$  در نشاسته،  $4.94 \times 10^7$  در صمغ لوبیای خرنوب و  $1.02 \times 10^8$  log CFU/g در خامه هم‌زده کاهش یافت (Guzel-Seydim et al., 2004).

در روند کلی رشد کپک و مخمرها، اختلاف معنی‌داری در بین زمان‌های نگره‌داری برای هر تیمار مشاهده شد. در نمونه‌های حاوی  $0.098$  و  $0.13$  ppm تا روز سوم نگره‌داری اختلاف معنی‌داری دیده نشد ولی با افزایش دوره نگره‌داری اختلاف معنی‌داری همانند دیگر تیمارها مشاهده می‌گردد.

در تمامی تیمارها اکسیداسیون طی دوره نگره‌داری مشاهده شد؛ اما نمونه‌های تیمار شده با ازن از میزان تغییرات بیش‌تری برخوردار بودند که علت آن اثر منفی ازن بر اسیدهای چرب موجود در خمیر مرغ می‌باشد. با افزایش غلظت میزان ازن، میزان عدد پراکسید بیشتر گردید به طوری که در نمونه تیمار شده با  $0.13$  ppm بیش‌ترین میزان عدد پراکسید مشاهده شد و در نمونه شاهد روند تغییرات پراکسید نسبت به دیگر تیمارها کم‌تر برآورد شد. طبق مطالعات انجام شده ازن‌دهی باعث افزایش میزان اکسیداسیون در گوشت می‌گردد. به این معنی که تیمار گوشت گاو ازن‌دهی شده تحت اثر ۳ ساعت گاز ازن تغییر معنی‌داری نسبت به نمونه

*اشریشیا کولای* به میزان  $1 \log$  CFU/g نسبت به نمونه کنترل کاهش داشته است (Coll Cardenas et al., 2011). هم‌چنین گزارش شد که از روش‌های مؤثر در کاهش آلودگی میکروبی در لاشه ماکیان استفاده از آب ازن‌دار می‌باشد. نتایج بررسی نشان داد در تیمارهای ازن‌دهی شده میزان باکتری مزوفیل هوازی، کلی‌فرم، *اشریشیا کولای* و *سالمونلا تیفی* موریم به میزان  $0.4$ ،  $0.6$ ،  $0.7$  و  $0.9 \log$  CFU/g به ترتیب نسبت به نمونه کنترل کاهش یافتند که نشان دهنده اثر مناسب آب حاوی ازن در کاهش میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (Loretz et al., 2010). اثر ازن‌دهی در افزایش ماندگاری لاشه ماکیان مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در ابتدای زمان نگره‌داری میزان کلی‌فرم در تمامی تیمارها نزدیک به صفر می‌باشد اما با افزایش دوره نگره‌داری مشاهده گردید که نمونه‌های ازن‌دهی شده از افزایش رشد کمتری نسبت به نمونه کنترل برخوردار بود (Jindal et al., 1995).

میزان حد مجاز باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در استاندارد ملی ایران به میزان  $5 \times 10^3$  می‌باشد. در بررسی تیمارها مشاهده گردید که در نمونه کنترل با توجه به استاندارد ملی ایران، *استافیلوکوکوس اورئوس* تا روز سوم نگره‌داری دارای حد مجاز بود اما با افزایش دوره نگره‌داری به بالاتر از حد مجاز رسید. در تیمارهای  $0.32$  و  $0.65$  ppm ازن مشاهده گردید که تا روز شش نگره‌داری دارای حد مجاز در میزان باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشند اما با افزایش دوره نگره‌داری، از میزان باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بیش‌تری نسبت به استاندارد ملی ایران برخوردار بودند. تیمارهای حاوی  $0.65$  و  $0.98$  ppm ازن، در روز

میکروبی، فاکتورهای دیگری نظیر عدد پراکسید در ارزیابی کیفی خمیر مرغ تأثیرگذار هستند. با توجه به این که افزایش عدد پراکسید بر عطر و طعم خمیر مرغ و به تبع آن محصولاتی مانند سوسیس و کالباس دارد، کاربرد ازن در خمیر مرغ می تواند اثرات منفی در خصوصیات حسی داشته باشد.

### سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه شیراز جهت تأمین منابع مالی این پژوهش قدردانی می کنند. هم چنین از همکاری صمیمانه کارشناسان محترم بخش علوم و صنایع غذایی دانشگاه شیراز در انجام پژوهش، سپاسگزاری می شود.

### تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

کنترل نداشت اما تیمار تحت اثر ازن در ۲۴ ساعت باعث افزایش اکسیداسیون گردید که میزان اکسیداسیون آن برای مصرف کننده غیرقابل قبول می باشد. در تیمارهای ۲۴ ساعت، تیمار ازن دهی شده در دمای صفر به دلیل حلالیت بیشتر ازن اثر سوء بیشتری داشت (Coll *et al.*, 2011). هم چنین گزارش شده است که افزایش میزان ازن دهی باعث افزایش میزان اکسیداسیون در فیله های ماهی سالمون می شود (Crowe *et al.*, 2012).

خمیر مرغ به سبب داشتن بار میکروبی اولیه نسبتاً بالا، pH نزدیک به خنثی و نداشتن هرگونه نگهدارنده، مستعد فساد میکروبی می باشد، اما استفاده از روش های نگهداری نوین می تواند در افزایش عمر نگهداری خمیر مرغ و استفاده مناسب از آن در محصولات غذایی اثرگذار باشد. ازن دهی از جمله روش های مناسب در کاهش آلودگی های میکروبی در مواد غذایی می باشد. با توجه به اثر مهاری میزان ازن دهی در کاهش میکروارگانیسم ها مؤثر می باشد اما جدای از بار

### منابع

- Al-Haddad, K.S., Al-Qassemi, R.A. and Robinson, R.K. (2005). The use of gaseous ozone and gas packaging to control populations of *Salmonella infantis* and *Pseudomonas aeruginosa* on the skin of chicken portions. *Food Control*, 16(5): 405-410.
- AOCS. (1997). *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist Society*. Champaign, American Oil Chemist Society. IL: USA.
- Bautista, D.A., Sylvester, N., Barbut, S. and Griffiths, M.W. (1997). The determination of efficacy of antimicrobial rinses on turkey carcasses using response surface designs. *International Journal of Food Microbiology*, 34(3): 279-292.
- Bostan, K., Aksu, H., Ersoy, E., Ozgen, O. and Ugur, M. (2001). The effect of prechilling with acetic and lactic acid on shelf-life of broiler carcasses. *Pakistan Journal of Biological Science*, 4(6): 753-756.
- Coll Cárdenas, F., Andrés, S., Giannuzzi, L. and Zaritzky, N. (2011). Antimicrobial action and effects on beef quality attributes of a gaseous ozone treatment at refrigeration temperatures. *Food*

Control, 22(8): 1442-1447.

- Crowe, K.M., Skonberg, D., Bushway, A. and Baxter, S. (2012). Application of ozone sprays as a strategy to improve the microbial safety and quality of salmon fillets. *Food Control*, 25(2): 464-468.
- Del Río, E., Muriente, R., Prieto, M., Alonso-Calleja, C. and Capita, R. (2007). Effectiveness of trisodium phosphate, acidified sodium chlorite, citric acid, and peroxyacids against pathogenic bacteria on poultry during refrigerated storage. *Journal of Food Protection*, 70(9): 2063-2071.
- Dickens, J.A., Lyon, B.G., Whittmore, A.D. and Lyon, C.E. (1994). The effect of an acetic acid dip on carcass appearance, microbiological quality, and cooked breast meat texture and flavor. *Poultry Science*, 73(4): 576-581.
- Guzel-Seydim, Z.B., Greene, A.K. and Seydim, A.C. (2004). Use of ozone in the food industry. *LWT-Food Science and Technology*, 37(4): 453-460.
- Güzel-Seydim, Z., Bever, P.I. and Greene, A.K. (2004). Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. *Food Microbiology*, 21(4): 475-479.
- Hecer, C., Balci, F. and Udum, C.D. (2007). The effects of ozone and chlorine applications on microbiological quality of chickens during processing. *Journal of Environmental Biology*, 1(3): 131-138.
- Henckel, P., Vyberg, M., Thode, S. and Hermansen, S. (2004). Assessing the quality of mechanically and manually recovered chicken meat. *LWT-Food Science and Technology*, 37(6): 593-601.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Enumeration of coagulase – positive staphylococci. 1<sup>st</sup> edition, ISIRI No. 6806-1. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Enumeration of coagulase – positive staphylococci. 1<sup>st</sup> edition, ISIRI No. 6806-1. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2008). Microbiology of mechanically deboned chicken meat – Specifications and test methods. 1<sup>st</sup> edition, ISIRI No. 9529. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2009). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds. 1<sup>st</sup> edition, ISIRI No. 10899-1. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2015). Microbiology of the food chain – Horizontal method for the enumeration of microorganisms. 1<sup>st</sup> edition, ISIRI No. 5272-1. [In Persian]
- Jasass, F.B. (2008). Effectiveness of trisodium phosphate, lactic acid, and acetic acid in reduction of *E. coli* and microbial load on chicken surfaces. *African Journal of Microbiology Research*, 2(3): 050-055.
- Jindal, V., Waldroup, A.L., Forsythe, R.H. and Miller, M.J. (1995). Ozone and improvement of quality and shelf life of poultry products. *The Journal of Applied Poultry Research*, 4(3): 239-248.
- Liew, C. and Robert, B. (1994). Effect of ozone and storage temperature on post harvest diseases and physiology of carrots. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 119(11): 563-567.
- Loretz, M., Stephan, R. and Zweifel, C. (2010). Antimicrobial activity of decontamination treatments for poultry carcasses: a literature survey. *Food Control*, 21(6): 791-804.
- Manousaridis, G., Nerantzaki, A., Paleologos, E.K., Tsiotsias, A., Savvaidis, I.N. and Kontominas, M.G. (2005). Effect of ozone on microbial, chemical and sensory attributes of shucked mussels.

Food Microbiology, 22(1): 1-9.

- Sheldon, B.W. and Brown, A.L. (1986). Efficacy of ozone as a disinfectant for poultry carcasses and chill water. *Journal of Food Science*, 51(2): 305-309.
- Sopher, C.D., Graham, D.M., Rice, R.G. and Strasser, J.H. (2002). Studies on the use of ozone in production agriculture and food processing. *Proceedings of the International Ozone Association, Pan American Group*, 1-15.

## Application of ozone for reducing the microbial count of mechanically deboned chicken meat

Eskandari, M.H.<sup>1\*</sup>, Hasheminasab, S.<sup>2</sup>, Niakosari, M.<sup>3</sup>, Shekarforoush, S.<sup>4</sup>

1. Associate Professor of Food Science and Technology, Shiraz University, Shiraz, Iran
2. MSc. Graduate of Food Science and Technology, Shiraz University, Shiraz, Iran
3. Professor of Food Science and Technology, Shiraz University, Shiraz, Iran
4. Professor of Food Hygiene, Shiraz University, Shiraz, Iran

\*Corresponding Author: eskandar@shirazu.ac.ir

(Received: 2017/6/1 Accepted: 2018/7/24)

### Abstract

Ozone is a strong oxidant and potent disinfecting agent and it has gained a lot of applications to preserve food commodities. The aim of this study was to investigate the effect of ozonated water on the shelf-life of mechanically deboned chicken (MDC) during storage at 4 °C. Five different MDC samples were treated with ozone (0, 0.032, 0.065, 0.098, 0.13 ppm/g) and individually wrapped and stored at  $4 \pm 2$  °C. The samples were analyzed for chemical (peroxide value) and microbiological (aerobic mesophilic counts, psychrotrophic counts, *Staphylococcus aureus* counts, coliform counts and mold and yeast counts) at 0, 3, 6, 9, 12 and 15 days of refrigerated storage. The result showed that in comparison with the control sample, ozone treatment caused a significant ( $P < 0.05$ ) reduction in the populations of aerobic mesophilic counts, psychrotrophic counts, *Staphylococcus aureus* counts, coliform counts and mold and yeast counts. The samples treated with 0.13 ppm/g of ozone had the highest inhibitory effect on the tested microorganisms; Consequently, in comparison with the control group, the MDC shelf-life was increased for 4 days. In all ozone-treated samples, the peroxide values were significantly higher ( $P < 0.05$ ) than the control group. It can be concluded that the application of ozone can be an effective method to reduce microbial population and increase the shelf-life of a mechanically deboned chicken.

**Conflict of interest:** The authors report no conflict of interest.

**Keywords:** Mechanically deboned chicken, Ozone, Microbial counts, Peroxide value, Shelf life