✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۴۵، زمستان ۱۳۷۸

ارزیابی اثرات بهداشتی اسیدلاکتیک بر سطح لاشه گوسفند

● ابوالفضل کامکار، گروه آموزش بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
● مهران رضایی مجاز، گروه آموزش بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
تاریخ دریافت: اردیبهشت ماه ۱۳۷۸

چکیده
همانطور که می‌دانیم استفاده از روش‌هایی که موجب کاهش بار میکروبی سطح لاشه‌ها می‌گردند جهت افزایش زمان ماندگاری لاشه‌ها در سردخانه و جلوگیری از فساد زودرس آنها مؤثر و سودمند است. از بین این روشها، استفاده از اسید لاکتیک به شکل غوطه‌وری و اسپری در سطح لاشه در بسیاری از کشورهای اروپائی و آمریکائی مورد توجه بوده است. دراین مطالعه، اثرات بهداشتی اسپری محلول اسید لاکتیک و غوطه‌وری لاشه در محلول اسید در غلظت‌های ۳ و ۵ درصد در دمای ۲۵ و ۵۰ درجهٔ سانتیگراد بر سطح لاشه‌های گوسفند تازه کشتار شده مورد ارزیابی قرار گرفت و قبل از تیمار (بعد از شستشوی لاشه) و بعد از اسپری اسید یا غوطه‌وری در اسید و نگهداری لاشه‌های تیمارشده در دمای صفر تا ۲ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت، نمونه‌گیری جهت شمارش میکروبی صورت گرفت. هر یک از انواع هشتگانه روش تیمار بواسطهٔ اسید، موجب کاهش معنادار تعداد میکروبها در لاشه‌های تیمار شده نسبت به لاشه‌های تیمارنشده (شاهد) گردید ($P<0/05$) از طرفی، روش اسپری یا غوطه‌وری در اسید لاکتیک ۵ درصد در دمای ۵۰ درجهٔ سانتیگراد (H , D) موجب کاهش معنادار در تعداد میکروبها نسبت به سایر روشهای تیمار، گردید. علاوه بر آن، بین دو روش D و H و نیز بین روش‌های دیگر تیمار، اختلاف معناداری در کاهش تعداد باکتری‌ها وجود نداشت ($P>0/05$) - در مجموع چنین نتیجه گیری شد که غوطه‌وری یا اسپری با غلظت ۵ درصد اسیدلاکتیک در دمای ۵۰ درجهٔ سانتیگراد مؤثرترین روش در کاهش تعداد باکتری‌های لاشه بوده است.

✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 45 PP: 106-107

Evaluation of Sanitizing effect of Lactic acid on surface of sheep carcasses

By: Kamkar A., Rezaie Mojaz M.; Department of food hygiene, faculty of veterinary medicine, Tehran university

As we know, it is helpful to use procedures that reduce microbial load of carcasses surfaces in order to increase shelf life of the carcasses. Among these procedures , applying lactic acid on the surface of carcass has been important in many American and European countries. This study evaluates the sanitizing effects of applying, by spraying or dipping in 3% or 5% Lactic acid at either 25^C or 50^C to freshly slaughtred sheep carcasses. After treating carcasses and keeping them at $0\text{-}2^C$ for 24 hours, samples were examined for microbial counts and compared with samples taken before treatment. Each treatment reduced counts significantly compared with counts of untreated controls ($P<0.05$). Additionally, spraying or dipping in 5% Lactic acid at 50^C (D,H) reduced counts significantly compared with counts of other treatments. There was no significant difference between counts of other treatment ($P>0.05$). Overall, dipping or spraying in 5% Lactic acid at 50^C was the most effective treatment in this study.

مقدمه

امروزه نگهداری گوشت در حرارت معمولی بعید بنظر می‌رسد و انتظار می‌رود که گوشت بلافاصله پس از تولید و تهیه، در سردخانه و یا یخچال قرار داده شود تا اینکه به دست مصرف کننده برسد. متأسفانه هنوز در بسیاری از نقاط جهان از جمله کشورما، به علت عدم‌آگاهی و عدم توجه به رعایت موازین بهداشتی در کشتارگاه‌ها و آلودگی میکروبی سطح لاشه‌ها در طول فرآیند کشتار و عملیات کشتارگاهی، احتمال بالا بودن بار میکروبی سطح لاشه و نیز خطر تکثیر باکتری‌های پاتوژن و مولد فساد، همواره وجود دارد که این موضوع می‌تواند سبب کاهش زمان ماندگاری (shelflife) لاشه‌ها در سردخانه‌ها شده و از این رو به علت افزایش خطر فساد لاشه‌ها در زمان سردخانه گذاری، مشکلات عمده‌ای در ارائه گوشت سالم به دست مصرف کننده و نیز صادرات آن که احتیاج به زمان نگهداری طولانی مدت دارند، بوجود می‌آید (۲). بنابراین استفاده از روشهایی که موجب کاهش بار میکروبی سطح لاشه‌ها می‌گردد می‌تواند کمک زیادی به افزایش زمان ماندگاری لاشه‌ها کرده یا از غیر قابل مصرف شدن آنها، جلوگیری بعمل آورد. یکی از این روشها، استفاده از اسید لاکتیک در سطح لاشه است که جوانب کاربردی آن در کشورهای اروپائی و آمریکائی مورد توجه قرار گرفته است (۱۰). اسید لاکتیک از اسیدهای آلی ضعیف بوده که طی روندهای طبیعی از ترکیبات موجود در مواد غذایی بوجود می‌آید به همین خاطر جزو اسیدهای خوراکی نیز محسوب می‌شود. این اسید علاوه بر پائین آوردن pH مواد غذائی، خود نیز دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشد با این مکانیسم که بخش غیر قابل تجزیهٔ آن که لیپوفیل (چربی دوست) است از غشای سلول باکتری عبور کرده و در داخل سیتوپلاسم، تولید یون هیدروژن می‌کند که بدین صورت موجب تخریب و انهدام غشای سلول باکتری و نیز اختلال درمتابولیسم آن می‌گردد (۱). در این مبحث، اثر ضد باکتریائی اسید لاکتیک در دماها، غلظت‌ها و روشهای مختلف کاربردی آن روی ۴ گروه میکروبی سطح لاشه شامل هوازی مزوفیل، سرماگراها،کلیفرم‌ها و لاکتوباسیلوس‌ها بررسی می‌شود. علت انتخاب این ۴ گروه آنست که این باکتری‌ها از مهمترین و فراوانترین عوامل فساد سطحی لاشه‌های تازه کشتار شده‌ای هستند که تا ۴۸ ساعت اولیه نگهداری آنها در سردخانه صفرتا ۲ درجهٔ سانتیگراد، رشد و تزاید قابل توجهی دارند، بویژه آنکه در این فاصلهٔ زمانی، ابتدا سرماگراها رشد و تکثیر نموده آنگاه حدوداً بعد از ۴۸ ساعت یاد شده، به علت تبخیر سطحی لاشه و کاهش aw، کلیفرمها و سپس باسیلوس‌ها به اجتماع میکروبی فوق الذکر اضافه می‌گردند. در ضمن، بدلیل آلودگی‌های ثانویه لاشه‌ها در کشتارگاه قبل از ورود به سردخانه، جمعیت غالب میکروبی سطح لاشه‌ها را باکتری‌های هوازی مزوفیل تشکیل می‌دهد (۱). به هر حال امید است که استفاده از این روش در کشتارگاه‌های کشورما، مورد توجه و عنایت بیشتر قرار گیرد.

مواد و روش کار

الف- مواد لازم

۱)محلول اسیدلاکتیک تهیه‌شده‌ازمحصولات‌شرکت Merck آلمان که با غلظت‌های مختلف در بازار وجود دارد.
۲) آب معمولی آشامیدنی جهت تهیه محلولهای اسیدلاکتیک با غلظت‌های لازم (۳ و ۵ درصد)
۳) دستگاه اسپری (سمپاش پرتابل باظرفیت ۱۲ لیتر) ویک تشت پلاستیکی جهت غوطه ور سازی.
۴)اسکالپل،کیسه‌پلی‌اتیلن،دستگاه‌استوما کر(مخلوط کن)
۵) آب پپتونه و محیط های کشت لازم همراه با منابع در جدول شماره ۱ آمده است.
۶) جارcandle Oat: دسیکاتوری است که در محفظهٔ زیر آن جودوسر مرطوب قرا داده شده و در قسمت سکوی دسیکاتور شمعی قرار دارد که درست قبل از بستن در دسیکاتور روشن می‌شود.اتمسفر درون دسیکاتور بسیار مرطوب و حاوی گاز کربنیک است. این وسیله جهت کشت لاکتوباسیلوس ها بکار میرود(۳).
۷) اجاق معمولی جهت رسانیدن دمای محلول اسید به مقادیر مورد نظر.

ب- روش کار

تعداد ۹ لاشه گوسفند تازه کشتار شده (نژادهای مختلف پرواری با میانگین وزنی ۴۵ الی ۵۵ کیلوگرم) بصورت تصادفی (sample random) انتخاب شدند(۸ لاشه جهت تیمار با اسید و یک لاشه به عنوان شاهد) و این آزمایش روی ۴ سری ۹ تایی لاشه صورت گرفت (روی هر سری ۹ تایی، آزمایش تکرار می‌شد) که در مجموع ۳۶ لاشه مورد نیاز بود. ۸ لاشه جهت تیمار بااسید به این صورت است که ۴ لاشه برای اسپری اسید در دمای و غلظت‌های مختلف محلول و ۴ لاشه برای غوطه‌وری لاشه در اسید در دماها و غلظت های مختلف آن، در نظر گرفته می‌شود.

هر لاشه بلافاصله پس از کشتار، شستشو داده و ۱۰ دقیقه فرصت داده می‌شود تا آب آن کاملاً از سطح لاشه چکیده شود آنگاه در هرسری ۹ تایی، نمونه گیری از یک لاشه جهت شمارش باکتریایی (شاهد) صورت گرفته و ۸ لاشه دیگر راپس از تیمار با اسید (اسپری و غوطه وری در غلظت ۳ و ۵ درصد و دمای ۲۵ و ۵۰ درجهٔ سانتیگراد) در سردخانه ۰ تا ۲ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری کرده آنگاه نمونه‌برداری انجام می‌گیرد.

جدول شماره ۱- نوع باکتری‌های مورد شمارش، اتمسفر، دما و زمان گرمخانه‌گذاری و محیط بکار رفته

نوع باکتری	اتمسفر	دما (درجه سانتیگراد)	زمان	محیط بکاررفته
باکتری‌های‌هوازی‌مزوفیل	هوای‌معمولی	۳۲	۴۸ ساعت	Plat ecount agar(۹)
سرماگراها	هوای معمولی	۷	۱۰ روز	Plate count agar(۹)
کلیفرم	هوای معمولی	۳۵	۴۸ ساعت	Violet bile agar(۹)
لاکتوباسیلوس‌ها	جارحاویCO_2	۳۷	۹۶ ساعت	Rogosa agar(۳)

جدول شماره ۲- مقایسه تعداد ۴ نوع باکتری (*Log10) در سطح لاشه قبل از تیمار (شاهد**) و لاشه‌های تیمارشده *** (به ۸ روش مختلف) با یکدیگر

نوع تیمار (سانتیگراد)		تعدادلاشه	هوازی مزوفیل	سرماگرا	کلیفرم	لاکتوباسیلوس
غوطه‌وری	A-۳/۰-۲۵	۴	۲/۶۲±۰/۷۰	۲/۳۰±۰/۴۵	۱/۸۹±۰/۱۴	۱/۲۲±۰/۱۲
	B-۳/۰-۵۰	۴	۲/۵۶±۰/۷۵	۲/۲۰±۰/۴۲	۱/۸۵±۰/۱۲	۱/۱۹±۰/۱۶
	C-۵/۰-۲۵	۴	۲/۵۸±۰/۸۰	۲/۲۳±۰/۴۵	۱/۸۶±۰/۲۰	۱/۲۰±۰/۱۵
	D-۵/۰-۵۰	۴	۱/۰۲±۰/۱۰	۰/۸۶±۰/۰۵	۰/۸۲±۰/۰۸	۰/۵۸±۰/۰۲
اسپری	E-۳/۰-۲۵	۴	۲/۶۱±۰/۷۰	۲/۳۷±۰/۲۵	۱/۹۸±۰/۱۶	۱/۲۳±۰/۱۰
	F-۳/۰-۵۰	۴	۲/۵۸±۰/۷۵	۲/۳۴±۰/۳۰	۱/۹۶±۰/۱۸	۱/۱۸±۰/۲۰
	G-۵/۰-۲۵	۴	۲/۶۰±۰/۸۰	۲/۳۲±۰/۴۳	۱/۹۴±۰/۲۰	۱/۲۰±۰/۱۳
	H-۵/۰-۵	۴	۱/۰۸±۰/۱۷	۰/۹۲±۰/۱۲	۰/۸۷±۰/۰۹	۰/۵۳±۰/۰۱
	شاهد	۴	۴/۸۲±۰/۷۵	۳/۹۵±۰/۲۶	۳/۱۲±۰/۳۰	۲/۰۵±۰/۸۰

* تعداد باکتری برحسب X±SD (میانگین ± انحراف معیار)

** بین تعداد ۴ نوع باکتری در نمونه‌های شاهد با تعداد آنها در نمونه‌های تیمار شده اختلاف معنادار وجود دارد (P<۰/۰۵)

*** نتایج آماری بین نمونه‌های تیمار شده D=H مخالف با A=B=C=E=F=G

دستگاه اسپری در واقع سمپاش پرتابل باظرفیت ۱۲ لیتری است که روی شانهٔ شخص سوار شده و با کار افتادن پمپ آن، محلول اسید ازظرف مخزن ازطریق شیلنگ با فشار از دهانه پخش‌کننده آن، خارج می‌شود. لاشه‌ها از مقابل شخص اسپری کننده با سرعت ثابت حرکت داده شده بطوری که با عمل اسپری، محلول اسید کاملاً سطح لاشه را می‌پوشاند. اسپری با حجم زیاد اسید، موجب داشتن اثر شویندگی علاوه بر اثر بهداشتی می‌گردد (۱۲) در حالی که اسپری با حجم اندک فقط اثر بهداشتی دارد (۵). لازم به ذکر است که در غوطه‌وری لاشه‌ها، هر لاشه به مدت ۱۰ ثانیه در محلول اسید درون تشت پلاستیکی با حجم مناسب، قرار می‌گیرد.

نمونه گیری از سطحی با وسعت ۵ سانتیمتر مربع و ضخامت ۵ میلی‌متر طوری انجام می‌گیرد که ۵ نمونه ازران و ۵ نمونه از قلوه‌گاه در نیمهٔ خلفی لاشه و ۵ نمونه از شانه و ۵ نمونه از سینه در نیمهٔ قدامی‌لاشه،منظور شده است. در واقع از هر لاشه ۲۰ نمونه برداشت شده که پس از مخلوط شدن با مخلوط کن به عنوان یک نمونهٔ واحد تلقی می‌شود. هرنمونه واحد از هر لاشه به طور جداگانه داخل کیسه های پلی اتیلن استریل حاوی ۲±۹۹ میلی‌لیتر آب پپتونه ۰/۱درصد قرار گرفته وسپس محتویات هر کیسه توسط استوماکر (مخلوط کن) به مدت ۶۰ ثانیه مخلوط می‌شوند. سپس رقت های مختلف ازاین محلول، در پلیت ها داخل انکوباتور کشت می‌شوند. پس از گرمخانه گذاری، شمارش باکتریائی صورت گرفته (اعداد به شکل لگاریتم برمبنای ۱۰ آمده است - جدول ۲) واین ارقام توسط روش آنالیز واریانس (Duncan multiple range test) با سطح اطمینان ۹۵٪مورد‌تجزیه وتحلیل آماری قرار می‌گیرند.

نوع باکتری های مورد شمارش ومحیط های به کار رفته در زمان - دما واتمسفرهای خاص با ذکر منابع در جدول شماره یک وتعداد ۴ نوع باکتری درسطح لاشه قبل وپس از تیمار بااسید (به شکل لگاریتم برمبنای ده) در جدول شماره ۲ آمده است.

بحث و نتیجه گیری

انتظار می‌رود که دما، غلظت و روش بکارگیری اسید لاکتیک روی لاشه، بطور قابل توجهی روی تعداد ۴ گروه باکتریائی مورد بررسی، تاثیرگذار باشند. همانطور که از آنالیز آماری ارقام موجود در جدول ۲ مشهود است، هریک از انواع هشت گانه روش‌های تیمار بواسطه اسید، موجب کاهش معنادار در تعداد هر ۴ نوع باکتری در لاشه‌های تیمارشده نسبت به لاشه‌های تیمارنشده (شاهد) شده است ($p<0/05$) همچنین از مقایسه آماری بین نمونه‌های تیمار شده چنین پیداست که بین روشهای A,B,C,E,F,G کاهش معناداری در تعداد هر ۴ نوع باکتری یادشده وجود ندارد.

ولی هر چند که روش D و H تاثیر مشابهی روی کاهش تعداد باکتری‌ها دارند لیکن این دو روش توانسته‌اند کاهش معناداری در تعداد هر ۴ نوع باکتری نسبت به سایر روش‌های تیمار، ایجاد کنند. بنابراین استفاده از اسید لاکتیک (اسپری و غوطه‌وری) درغلظت ۵ درصد ودمای ۵۰ درجه سانتیگراد دارای اثرات بهداشتی حائزاهمیت وبیشتری نسبت به سایر روش‌ها، روی سطح لاشه می‌باشد.

یادآوری

اگر چه همهٔ روشهای تیمار تاثیر معناداری روی تعداد باکتری‌ها نسبت به نمونه‌های شاهد گذاشته‌اند لیکن در دور روش D و H، این تاثیر روی باکتریهای هوازی مزوفیل و سرماگراهابیشتر است چراکه به احتمال قوی دمای ۵۰ درجه سانتیگراد دردو روش مذکور، اثر مضاعفی روی مهار رشد باکتری‌های هوازی مزوفیل و سرماگرا(علاوه بر اسید باغلظت ۵ درصد) دارند(۹) مثلاً در روش D، اختلاف بین ۰/۰۵ ±۰/۸۶ (تاثیر روی سرماگرا) و۰/۲۶±۳/۹۵ (شاهد)بیش از سایر روش‌ها با شاهد می‌باشد(به غیر از روش H با شاهد که وضعیت مشابه با روش D دارد). نتایج کارهای مشابهی که دیگران انجام داده‌اند به شرح زیر می‌باشد:

Eustace و همکاران (۱۹۷۹) و Snijders و همکاران (۱۹۸۵) نتایج کار خودشان را به شرح ذیل گزارش نمودند (۶ و ۸):

۱- باکتریهای هوازی مزوفیل و سرماگرا به میزان مشابه تحت تاثیر اسید قرار می‌گیرند. دما وغلظت بالای اسید وغوطه‌وری به جای اسپری، طریقهٔ موثری در کاهش تعداد سرماگراها به میزان کمتر از ۲Log/cm می‌باشد. حدود نصف نمونه‌ها قبل از تیمار، تعداد بیش از ۳Log/cm باکتری سرماگرا دارند. لذا موثرترین روش برای کاهش تعداد هوازیها وسرماگراها روی سطح لاشه‌گوسفند، غوطه‌وری در محلول اسید لاکتیک ۵ درصد در دمای ۵۰ درجهٔ سانتیگراد می‌باشد.

۲- همهٔ روشهای تیمار، تأثیر مشابهی در کاهش جمعیت کلیفرمها در سطح لاشه دارند. قبل از تیمار حدود ۲۵ درصد نمونه‌ها، تعداد کلیفرم بیش از ۲log/cm داشته درصورتیکه پس از تیمار حدود ۹۰ درصد نمونه‌ها تعداد کمتر از ۱log/cm دارند. این امر بیانگر این است که کلیفرمها به راحتی توسط اسید،کاهش می‌یابند.

بنابر تحقیق WoolThuis و همکاران (۱۹۸۴) معلوم شد که اثر ضد باکتریایی اسید لاکتیک نمی‌تواند به طور کامل ضامن سلامت عمومی باشد. چراکه برخی از باکتریهای گرام منفی بیشتر تحت تأثیر دمای محلول اسید قرار می‌گیرند تا غلظت آن (۱۱).

بنابر پیشنهاد Frans و همکاران (۱۹۸۵)، اسیدلاکتیک یک اثر تأخیری دارد یعنی در حداقل ۲۴ ساعت پس از کشتار اثر ضد باکتریایی بیشتری دارد چرا که اثر تحت کشندگی اولیه اسید وجراحت ناشی از آن در باکتریهایی است که بعداً تحت استرس سردخانه و کاهش فشار اکسیژن قرار می‌گیرد (۷).

طبق تحقیقات Avens و همکاران (۱۹۹۶)، محلول یک درصد اسید استیک به شکل اسپری بر سطح لاشه‌های گاو تأثیر قابل توجهی بر باکتریهای مورد بررسی شامل هوازی مزوفیل، کلیفرم و استرپتوکوکهای مدفوعی ندارد (۴).

در مجموع چنین استنباط می‌شود که غوطه‌وری و اسپری با اسید لاکتیک با غلظت ۵٪ و دمای ۵۰ درجه سانتیگراد مؤثرترین روش جهت کاهش تعداد باکتری‌های متداول سطح لاشه بوده اما هر یک از باکتریهای یاد شده در این بررسی کاهشهای مختلفی را در تعداد شان بسته به غلظت، دمای محلول اسید و روش استفاده از اسید نشان می‌دهد.

منابع مورد استفاده

۱- رکنی، ن.، ۱۳۷۲. اصول بهداشت و مواد غذایی (چاپ اول) انتشارات دانشگاه تهران، شماره ۲۲۰۸، صفحه ۱۴۰-۱۳۷.

۲- رکنی، ن.، ۱۳۷۴. علوم و صنایع گوشت (چاپ اول) انتشارات دانشگاه تهران، شماره ۲۲۶۶، صفحه ۲۳۸.

۳- کریم، گ.، ۱۳۷۰. آزمونهای میکروبی مواد غذایی انتشارات دانشگاه تهران، شماره ۲۱۰۳، صفحه ۳۱۲-۳۰۸.

4- Avens Js., Clayton P., Jones D.K. and Bolin R., 1996. Acetic acid spray infective on beef carcasses with low bacteria counts- Lebensmittel- wissenschaft- und- Technologie, Vol: 29(1/2), PP: 28-32.

5- Dezeure-wallays B. and Van Hoof J., 1980. Effect of Lactic acid spray on beef carcass contamination-26th European Meat-Meat. Res. Work, Colorado, Spring, Vol: 11, PP:316-319.

6- Eustace I.J., Powell V.H and Bill B.A., 1979. Use of Lactic acid to extend chilled storage life. Meat Report, 3179. CSIRO-Meat Res. Lab, Canon, Hill-Australia.

7- Frans J., Smulder M. and Caspar H., 1985. Immediate and delayed microbial effects of Lactic acid decontamination of calf carcasses. J. Food Prot. Vol:48, PP: 838-846.

8- Snijders J.M., Van. Logtestijn, Mossel D.A. and Smulder M., 1985. Lactic acid as a decontaminant in slaughter and processing procedures. The Vet. Quarterly (Netherlands), Vol: 7, PP:277-282.

9- Speck M.L., 1984. Compendium of methods for the microbiological examination of food, 2nd ed. American Public Health Association, Washinton, D.C.

10- Sutherland, J.P, Patterson, J.T and Murray J.G., 1975. Change in the microbiology of Vacum-Package beff, J.Appl. Bact, Vol: 39, PP: 227-237.

11- Woolthuis C.H.J, Mossel D.A.A. and Vanlogtestijn J.G., 1984. Microbial decontamination of porcine liver with lactic acid or hot water, J. Food . Prot, Vol:47, PP: 220-226.

12- Woolthuis C.H.J. and Smulder M., 1985. Microbial decontamination of calf carcasses by lactic acid spray, J. Food . Prot, Vol:48, PP:832-837.