بررسی امکان باکتری‌زدایی از لاشه طیور به وسیله گاز ازون

مکتبی، س. [۱*]، پارتون، ر.[۲]

دریافت : ۱۳۸۹/۲/۱ پذیرش: ۱۳۸۹/۳/۲۶

خلاصه:

ازون یک اکسید کننده قوی است که تاکنون به طرز وسیعی جهت ضدعفونی آب آشامیدنی و فاضلاب مورد استفاده قرار گرفته است. این گاز به دلیل اثرات سریع و فوری، ارزان بودن و نیز به عنوان یک روش غیر حرارتی می‌تواند در صنایع غذایی جهت ضد عفونی آب، انواع مواد غذایی، سطوح و یا سایر تجهیزات و وسایل موجود در کارخانه‌های غذایی به کار گرفته شود. در این مطالعه به طور جداگانه سوسپانسیونی از *استافیلوکوک ارئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *اشرشیا کولی* و *کمپیلوباکتر ژژونی* تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از آن ها بر روی محیط کشت به صورت سطحی کشت گردید و یا ۱۰ میکرولیتر روی قطعاتی از پوست جدا شده مرغ قرار گرفته و درون محفظه‌ای با گاز ازون تیمار شدند. ۱۵ دقیقه ازون تراپی محیط‌های کشت باعث log ۳.۸ – ۳.۶ کاهش در تعداد باکتری‌های گرم منفی و log ۳.۳ – ۲.۹ موجب کاهش در تعداد باکتری‌های گرم مثبت گردید. اثرات گاز ازون بر روی باکتری‌ها هنگام آزمایش بر روی پوست مرغ، کاهش چشمگیری داشت. پس از ۱۵ دقیقه ازون تراپی حدود log ۱ کاهش در تعداد کلیه باکتری‌ها مشاهده گردید. *کمپیلو باکتر ژژونی* نسبت به سایر باکتری‌های مورد آزمایش، حساس‌ترین باکتری نسبت به گاز ازون بود. گرچه این گاز، برخی اثرات منفی روی چربی‌های غیر اشباع دارد ولی با توجه به تأثیر خوب گاز ازون در کنترل میکروارگانیسم ها، می‌توان از این گاز در صنایع غذایی جهت استریل نمودن تجهیزات، کارتن‌های بسته‌بندی، انواع مواد غذایی جامد و مایع بلاخص میوه‌ها و سبزی‌ها بهره گرفت؛ اما لازم است از دوزهای کمتر جهت مواد غذایی چرب استفاده کرد. در این رابطه بهره‌گیری از روش‌های ترکیبی ازون با سایر روش‌های فیزیکی و یا شیمیایی می‌تواند مفید باشد.

واژه های کلیدی: ازون، طیور، باکتری، ضدعفونی.

۱-گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز ، اهواز، ایران
۲-گروه عفونی و ایمنی دانشگاه گلاسکو، گلاسکو، اسکاتلند

*نویسنده مسؤول: siavash111 @hotmail.com

مقدمه:

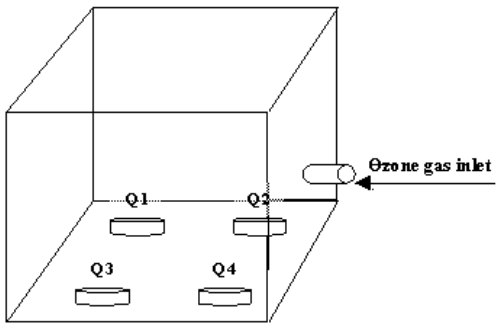
ازون (O_3) یک اکسید کننده قوی است که در طبیعت به طور دائم در طبقات بالای جو در اثر تأثیر اشعه ماورای بنفش خورشید بر روی اکسیژن به دست می‌آید. در آزمایشگاه می-توان در درون یک ژنراتور از طریق عبور هوای خشک یا اکسیژن از میان یک میدان الکتریکی با ولتاژ بالا ازون را تولید کرد. این گاز تاکنون جهت ضد عفونی کردن آب آشامیدنی و فاضلاب‌ها مورد استفاده وسیع قرار گرفته است. خاصیت اکسیداسیون قوی و توانایی عبور از غشاهای بیولوژیکی دو خصوصیت عمده هستند که سبب توانایی میکروب‌کشی ازون می شوند (Hoigene، ۱۹۸۲ ؛ Cho و همکاران، ۲۰۰۳ ؛ Smeets و همکاران، ۲۰۰۶). مطالعات مشخص کرده است که هم مولکول ازون و هم رادیکال‌های آزاد حاصل از تجزیه خودبه‌خودی مولکول ازون مسؤول مرگ میکروارگانیسم‌ها هستند. نظر به اینکه واکنش بین ترکیبات حیاتی میکروارگانیسم‌ها و ازون خیلی سریع صورت می‌گیرد لذا تعیین کنتیک مرگ سلولی دشوار می‌باشد (Hunt و Marinas۱۹۹۷). طی تحقیقاتی که بر تأثیر گاز ازون روی باکتری *اشرشیا کولی* صورت گرفت مشخص گردید که اولین ترکیبات موجود در باکتری که تحت تأثیر گاز قرار می‌گیرد گروه سولفیدریلی واقع در غشایِ سلول می‌باشند(Komanapalliو همکاران، ۱۹۹۷) در تحقیقات دیگری، اثرات باکتری‌کشی ازون و کلر بر روی *اشرشیا کولی* مقایسه گردید. نتایج نشان داد که هر دو گاز باعث ۲/۵ log کاهش در تعداد باکتری در شرایط متفاوت گردیدند (Arana و همکاران، ۱۹۹۹). مطالعاتی نیز در خصوص اثرات میکروب-کشی ازون بر روی باکتری‌های پاتوژن مختلف صورت پذیرفته است. به‌طور

مثال ازون در غلظت‌های کم قادر بود که *Vibrio anguillarum* را - که یک پاتوژن ماهی می‌باشد - در نمونه‌های آب دریا بخوبی کنترل نماید (Sugita و همکاران، ۱۹۹۲). سویه‌های مختلف *Listeria monocytogenes* در سرم فیزیولوژی نیز نسبت به ازون حساس بوده و مخصوصاً در دمای پایین توسط غلظت ppm ۱ این ماده کاملاً از بین رفته‌اند (Fisher و همکاران، ۲۰۰۰). در مطالعه دیگری مشخص گردید که باکتری‌های گرم مثبت مقاومت بیشتری نسبت به باکتری های گرم منفی در مقابل ازون داشته‌اند (Lee ، ۲۰۰۰). این گاز به دلیل اثرات سریع و فوری، ارزان بودن و نیز به عنوان یک روش غیر حرارتی می-تواند در صنایع غذایی جهت ضد عفونی کردن آب، انواع مواد غذایی، سطوح و یا سایر تجهیزات و وسایل موجود در کارخانه-های غذایی و یا سایر مکان‌ها به کار گرفته شود (Khadre و همکاران، ۲۰۰۱). در مطالعه‌ای، سیب‌های درختی تلقیح شده با *اشرشیا کولی* با حباب‌های گاز ازون هنگام شستشو ضدعفونی شد و نتایج، اثرات مثبت گاز ازون را جهت کنترل *اشرشیا کولی* نشان داد (Achen و Yousef، ۲۰۰۱). در مطالعه دیگری، اثرات گاز ازون در ضدعفونی کردن سطح آگار و نیز سطح گوشت ماهی تلقیح شده با انواع باکتری‌ها با یکدیگر مقایسه گردید. نتایج، بیانگر این بود که غلظت‌های بسیار کم گاز ازون باعث ۱ log کاهش در تعداد باکتری‌های سطح گوشت ماهی گردید؛ بدون آنکه آثار نامطلوب ظاهری و ارگانولپتیکی در مقایسه با نمونه‌های شاهد بر جای بگذارد (Da Silva و همکاران، ۱۹۹۸). در مطالعه دیگری مشخص شد که از گاز ازون می‌توان با موفقیت، جهت افزایش زمان ماندگاری ماهی نگهداری شده در دمای صفر درجه و نیز حفظ خصوصیات کیفی و میکروبیولوژیکی آن استفاده کرد (Gelman و همکاران، ۲۰۰۵). ازون بخوبی قادر است که از رشد و فعالیت اسپورهای قارچی در مواد غذایی انبار شده نیز جلوگیری کند (Antony-Babu وSingleton، ۲۰۰۹). با توجه به مطالعات فوق، از گاز ازون می‌توان برای ضدعفونی انواع مواد غذایی بهره برد. هدف از مطالعه حاضر بررسی امکان کاربرد این گاز در کنترل پاره‌ای میکروارگانیسم‌های مهم در مواد غذایی از جمله *استافیلوکوک ارئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *اشرشیا کولی* و *کمپیلوباکتر ژژونی* کشت شده بر روی محیط کشت و یا سطح پوست مرغ و مقایسه آن ها می‌باشد. نتایج این‌گونه تحقیقات می‌تواند به عنوان روشی در ضد عفونی کردن طیور کشتار شده در کشتارگاه‌ها قبل از بسته‌بندی و عرضه به بازار مصرف، مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر این می‌توان جهت ضد

عفونی وسایل کار و یا سایر سطوح آلوده از گاز ازون بهره گرفت.

مواد و روش کار

ازون‌تراپی درون محفظه‌ای مکعب شکل، صورت پذیرفت. از هر نمونه ۴ قسمت مشابه تهیه و در چهار طرف این محفظه به نام های Q1 تا Q4 قرار گرفتند (شکل۱). از یک ژنراتور (Fisher, Badgodesbergi, Germany) جهت تولید ازون از اکسیژن استفاده شد. شدت عبور اکسیژن به درون ژنراتور ۱۰۰ لیتر در ساعت تنظیم گردید و ازون تولید شده از طریق لوله رابط به درون محفظه وارد شد. بر اساس محاسبات غلظت گاز ازون درون محفظه ۶/۶ میلی گرم در هر دقیقه بود.



شکل ۱ – محل قرار گرفتن پلیت‌های حاوی نمونه تلقیح شده درون محفظه ازون‌تراپی

نمونه‌ها پس از ازون‌تراپی بلافاصله از محفظه خارج و هوای درون محفظه بسرعت تهویه گردید.

آزمایش ابتدا بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت انجام شد. به طور جداگانه سوسپانسیونی از *استافیلوکوکوس ارئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *اشرشیا کولی* و *کمپیلوباکتر ژژونی* تهیه و برای هر باکتری شمارش کلی باکتری در هر میلی لیتر صورت پذیرفت. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آن ها بر روی محیط کشت Tryptic soy agar به صورت سطحی کشت گردید. بدین ترتیب میانگین تعداد هر باکتری در پلیت‌ها مشخص گردید. پلیت‌های کشت شده به مدت ۱۵ دقیقه در هود میکروبیولوژیکی کلاس III قرار گرفتند تا کاملاً خشک شوند و سپس درون محفظه در مکان‌های Q1 تا Q4 قرار گرفته و برای زمان‌های ۱۰,۵,۲ و ۱۵ دقیقه تحت تأثیر گاز ازون قرار گرفتند.

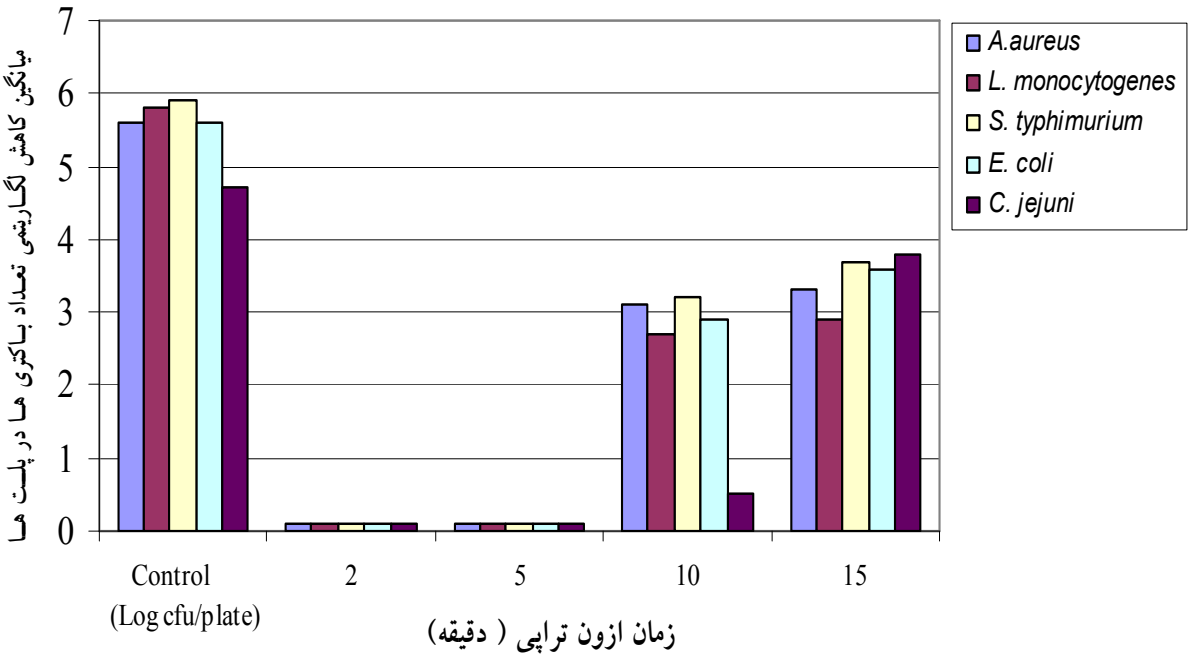
در مرحله بعدی، آزمایش بر روی پوست مرغ به عنوان نمونه غذایی صورت پذیرفت. ابتدا پوست مرغ با وسایل استریل از لاشه مرغ جدا و در قطعاتی با قطر ۱/۲ سانتیمتر بریده شد. قطعات سپس درون پتری دیش استریل قرار گرفتند. ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به طور جداگانه بر روی نمونه‌های پوست قرار گرفت و پس از خشک شدن، مشابه محیط‌های کشت، از هر نمونه در چهار مکان متفاوت به مدت ۵ ، ۱۰ و ۱۵ دقیقه ازون‌تراپی شدند. پوست‌های مرغ سپس به طور جداگانه درون یک لوله آزمایش حاوی ۹ میلی لیتر آب پپتونه قرار گرفته و توسط شیکر بخوبی مخلوط شدند. ۱۰۰ میکرولیتر از این مخلوط بر روی محیط کشت اختصاصی کشت داده شد و پس از ۴۸ ساعت کلیه کلنی‌های رشد یافته شمارش شدند. این روش توسط سایر محققین نیز به طور مشابه مورد استفاده قرار گرفته است (Al-Haddad و همکاران، ۲۰۰۵؛ Nieto و همکاران، ۱۹۸۴).

نتایج

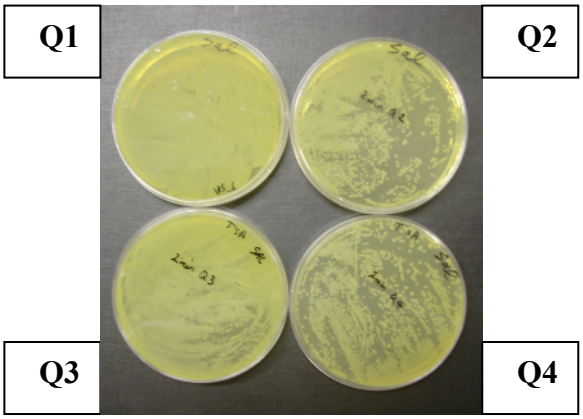
ازون‌تراپی محیط‌های کشت به مدت ۲ دقیقه بجز در خصوص *اشرشیا کولی* و پلیت‌هایی که نزدیک محل ورود گاز بودند تأثیر چندانی در کاهش بار میکروبی محیط‌های کشت نداشت. با افزایش زمان تیماری تعداد باکتری های زنده مانده کاهش چشمگیری یافت. پس از ۱۵ دقیقه ازون‌تراپی *سالمونلا تیفی موریوم* ۳/۷ و اشرشیا کولی ۳/۶ و *کمپیلوباکتر ژژونی* ۳/۸ log کاهش در تعداد باکتری در هر پلیت نشان دادند در حالی‌که در باکتری‌های گرم مثبت بترتیب ۲/۹ و ۳/۳ log برای *لیستریا مونوسیتوژنز* و *استافیلو کوکوس ارئوس* بود. در شکل ۲ میانگین کاهش لگاریتمی باکتری‌های مختلف پس از ۱۰ و ۱۵ دقیقه ازون‌تراپی در مکان‌های Q1 تا Q4 آورده شده است.به طور کلی نتایج بیانگر این بود که باکتری های گرم مثبت اندکی مقاومتر از باکتری های گرم منفی نسبت به ازون بودند. علاوه بر این توجه به توزیع باکتری‌های رشد یافته بر روی پلیت‌ها پس از ازون‌تراپی نشان می‌دهد که

خاصیت باکتری‌کشی ازون در تمام فضای محفظه پس از۲ دقیقه ازون‌تراپی یکسان نبوده است. عموماً پلیت‌های Q2 و Q4 که نزدیک محل ورود گاز بوده‌اند نسبت به پلیت‌های Q1 و Q3 که در مکانی دورتر از محل ورود گاز بوده‌اند کاهش بیشتری در شمارش باکتری از خود نشان داده‌اند. این مسأله در آزمایش‌هایی که در آن ها مدت گازدهی بیشتر بوده کمتر مشهود است (شکل۳). نتایج می‌تواند بیانگر این باشد که در صورتیکه محیط‌های کشت یا هر ماده دیگری در مدت زمان خیلی کوتاه به صورت فوق ازون‌تراپی گردد احتمالاً به صورت غیر همگن بار میکروبی خود را از دست می‌دهد.

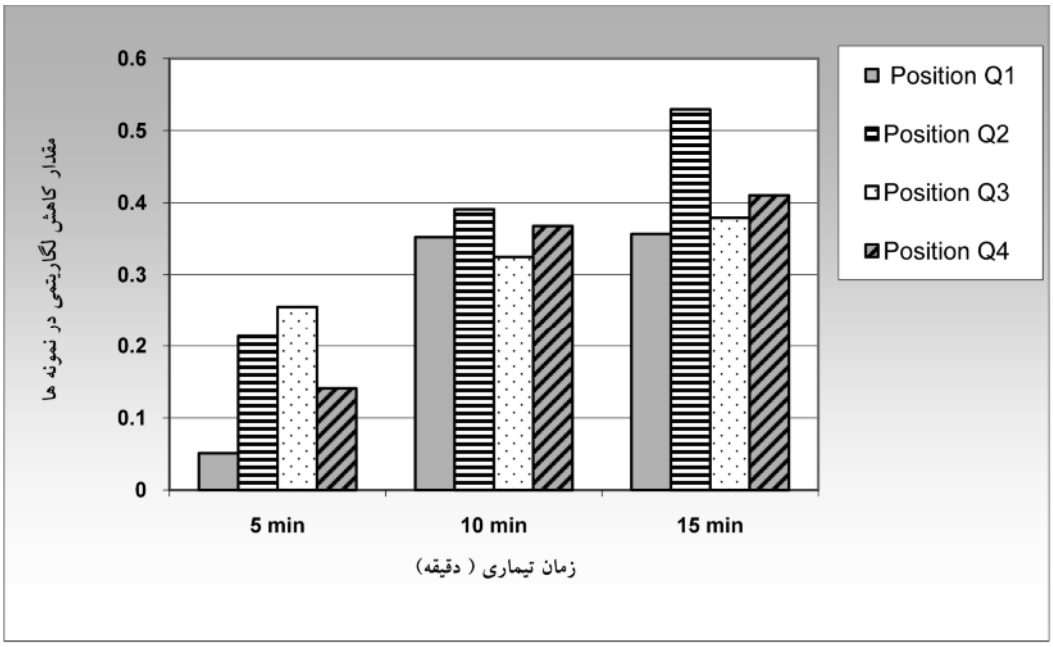
در مرحله بعد باکتری‌های *استافیلوکوک ارئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *سالمونلا تیفی موریوم* و *کمپیلوباکتر ژژونی* بر روی پوست مرغ به مدت ۵ و ۱۰ و ۱۵ دقیقه ازون‌تراپی شدند. پس از ۱۰ دقیقه ازون‌تراپی حدود ۰/۳۵ log کاهش در تعداد سالمونلا به دست آمد در حالی که این مقدار برای *استافیلوکوک ارئوس* ۰/۱۷ و *کمپیلوباکتر ژژونی* ۱ و *لیستریا مونوسیتوژنز* ۰/۶ log بود. پس از ۱۵ دقیقه ازون‌تراپی این مقادیر به ۰/۴ و ۰/۵ و ۲/۷ و ۰/۹ log رسید. نتایج نشان داد که گرچه بیشترین میزان کاهش باکتری در خصوص کمپیلوباکتر و پس از ۱۵ دقیقه ازون تراپی به دست آمد اما مجدداً تفاوت زیادی در بین مکان‌های Q1 تا Q4 وجود داشت (شکل ۴، ۵، ۶ و ۷).



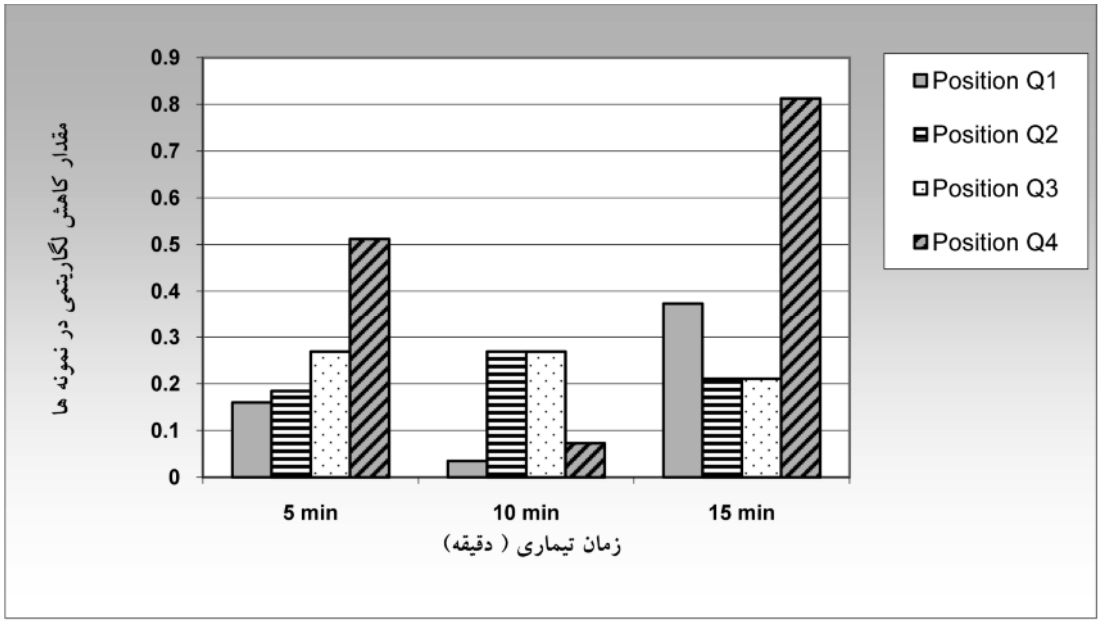
شکل ۲ – میانگین کاهش لگاریتمی باکتری‌های مختلف پس از۲، ۵ ، ۱۰ و ۱۵ دقیقه ازون‌تراپی در مکانهای Q1 تا Q4



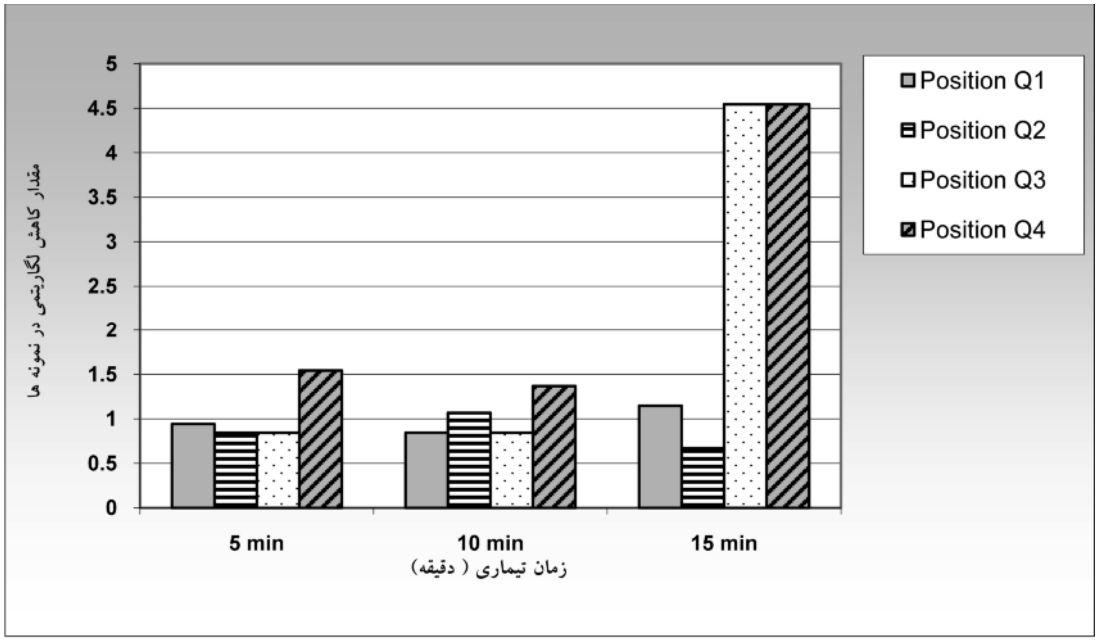
شکل ۳ – توزیع کلنی‌های *سالمونلا تیفی موریوم* بر روی محیط کشت بعد از ۲ دقیقه ازون‌تراپی



شکل ۴ – نمایش کاهش لگاریتمی تعداد باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* روی پوست مرغ پس از تیماری با ازون

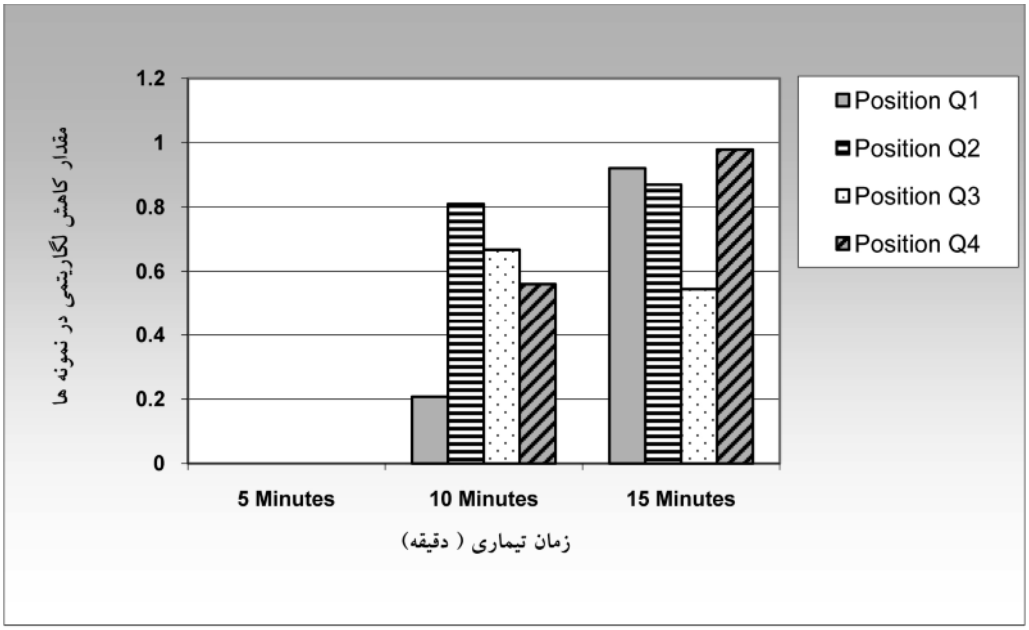


شکل ۵ – نمایش کاهش لگاریتمی تعداد باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* روی پوست مرغ پس از تیماری با ازون



✿ روی پلیت‌ها کلنی یافت نشد

شکل ۶ – نمایش کاهش لگاریتمی تعداد باکتری *کمپیلوباکتر ژژونی* روی پوست مرغ پس از تیماری با ازون



شکل ۷ – نمایش کاهش لگاریتمی تعداد باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* روی پوست مرغ پس از تیماری با ازون

بحث

اثرات ضد باکتریایی ازون مدت‌هاست که کاملاً مشخص شده است. از ازون می‌توان هم به صورت گازی و هم به صورت ورود حباب در محیط‌های مایع جهت ضد عفونی مواد غذایی بهره برد. روش حباب در مایع قبلاً جهت ضد عفونی گوشت گاو (Gorman و همکاران، ۱۹۹۷) , گوشت طیور (Dave ، ۱۹۹۹) و ماهی قزل آلا (Goche وCox، ۱۹۹۹) مورد مطالعه قرار گرفته است. علاوه بر این گاز ازون جهت کاهش رشد میکروب‌های سطحی گوشت گاو و مرغ بررسی شده است (Al-Haddad; و همکاران، ۲۰۰۵؛ Greer و Jones ، ۱۹۸۹).

مطالعه حاضر جهت بررسی اثرات گاز ازون بر روی باکتری-های تلقیح شده بر محیط کشت و پوست مرغ و مقایسه آن ها صورت پذیرفته است. نتایج نشان داد که گاز ازون بر روی تمامی باکتری‌های مورد مطالعه مؤثر است. باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی، اندکی به گاز ازون مقاومتر هستند. مکان قرار دادن نمونه در محفظه گاز مهم

است زیرا هنگامی که پلیت‌های حاوی باکتری‌های تلقیح شده در زمان کوتاه ۲ دقیقه ازون‌تراپی شدند، پلیت‌های قرار گرفته در مکان‌های Q2 و Q4 – که نزدیک محل ورود گاز بوده-اند – کاهش بیشتری در شمارش باکتری از خود نسبت به پلیت‌های Q1 و Q3 که در مکانی دورتر از محل ورود گاز بوده‌اند، نشان دادند. این مسأله هنگامی که پوست مرغ ازون-تراپی گردید مجدداً مشاهده شد. این امر نشان می‌دهد که هنگام استفاده از گاز ازون، باید تدابیری اندیشیده شود تا باعث توزیع یکنواخت گاز در محفظه گردد. مطالعات قبلی نشان داده است که خاصیت ضد باکتریایی ازون، هنگام اعمال روی مواد غذایی نسبت به محیط‌های کشت و یا محیط‌های مایع اثر کمتری دارد؛ زیرا خاصیت ضد باکتریایی ازون به ماهیت و

ترکیبات مواد غذایی، نوع میکروب‌ها، درجه آلودگی و یا اجتماع باکتری‌ها بر روی غذا بستگی دارد (Kim و Yousef ، ۲۰۰۰). در این آزمایش نیز مطابق با یافته‌های قبلی تأثیر گاز ازون بر باکتری‌های تلقیح شده روی مواد غذایی، کمتر از تأثیر آن بر روی باکتری های کشت شده بر روی آگار بود. ضدعفونی کردن پوست مرغ با ۱۵ دقیقه ازون باعث اندکی تغییر رنگ در آن ها گردید. اگر چه ۱۵ دقیقه ازون‌تراپی باعث کاهش قابل توجهی در تعداد باکتری ها گردید ولی مشخصاً به مدت طولانی نمی‌توان مواد غذایی مانند مرغ و ماهی را در معرض ازون قرار داد. واکنش بین ازون و چربی‌ها معمولاً در محل باند کربن– کربن اسیدهای چرب غیر اشباع صورت می-گیرد و علاوه بر این با ایجاد محصولات فرعی توکسیک مانند پراکسید هیدروژن و آلدئید باعث فساد و ایجاد تغییر در طعم و رنگ مواد غذایی می‌گردد. جهت رفع این مشکل می‌توان از روش‌های ترکیبی ازون با سایر تکنیک‌های ضد عفونی مانند پالس الکتریک فیلد (Pulsed electric filed)، کلر و

سایر روش‌های فیزیکی و شیمیایی جهت کاهش دوز و یا زمان ازون‌تراپی و نیز کاهش اثرات منفی آن بهره برد. در این آزمایش *کمپیلوباکتر ژژونی* حساسترین باکتری نسبت به ازون در مقابل سایر باکتری‌های مورد آزمایش بر روی پوست مرغ

بود. نظر به اینکه این باکتری جهت رشد نیاز به اتمسفر میکروآئروفیلیک دارد لذا حضور ازون می‌تواند باعث انهدام زود هنگام آن گردد. *استافیلوکوک ارئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* که باکتری‌های گرم مثبت می‌باشند نیز نسبت به ازون مقاومت بیشتری داشتند که این مسأله می‌تواند در اثر وجود پوشش ضخیم دیواره سلولی در باکتری‌های گرم مثبت باشد (Lee ، ۲۰۰۰).

به هر حال با توجه به تأثیر خوب گاز ازون در کنترل میکروارگانیسم‌ها می‌توان از این گاز در صنایع غذایی به عنوان یک ضد عفونی کننده قوی بهره برد. اگر چه این ماده اثرات منفی روی اسیدهای چرب غیر اشباع دارد ولی می‌توان از ازون جهت ضد عفونی سایر مواد غذایی مانند میوه، سبزیجات، خشکبار و صیفی‌جات بهره برد. نظر به ارزان بودن، سادگی استفاده، تأثیر قاطع و امکان کاربرد به صورت مایع و نیز به عنوان یک روش غیر حرارتی مؤثر از ازون می‌توان در طیف بسیار وسیعی از مواد غذایی بهره جست. علاوه بر این با بهره-گیری از روش‌های ترکیبی ازون با سایر روش‌های فیزیکی و یا شیمیایی می‌توان از اثرات منفی ازون بر مواد غذایی چرب جلوگیری کرد. از گاز ازون همچنین می‌توان در صنایع غذایی جهت ضد عفونی کردن تجهیزات، کارتن‌های بسته‌بندی، انواع مواد جامد و سایر سطوح بهره برد. در جهت حرکت به سمت امنیت پایدار غذایی انجام تحقیقات بیشتر در این خصوص و موارد مشابه می‌تواند مفید باشد.

Journal of Veterinary Medicine & Laboratory 2(2010) 31-41

Investigation of feasibility of bacterial decontamination of chicken carcasses by Ozone

Maktabi, S.*[1], Parton, R.[2]

Received: 21.4.2010 Accepted: 15.6.2010

Abstract:

Ozone gas (O3) is a powerful oxidizing agent. Ozone has been widely used for disinfection of drinking water and wastewater. Microbial decontamination by Ozone is fast, simple, cheep and as a non-thermal technique could be used in food industries for decontamination of water, solid or liquid foods, equipment or other places. In this study ozone was used to destroy *S. aureus, E. coli, L. monocytogenes, S. typhymorium* and *C. jejuni* on agar plates and chicken skin. 10 or 100 µl of the bacterial suspension was separately placed on chicken skin or agar plates and the samples were treated with ozone (6.6 mg/min) in a chamber for 5, 10 and 15 minutes. Colonies count were made before and after treatment. After 15 minutes ozonation of plate samples, about 2.9-3.3 Log reduction for Gram positive bacteria and 3.6-3.8 Log reduction for Gram negative bacteria were measured. The effect of ozone on chicken skin was significantly reduced when about 1 Log reduction on bacteria population on chicken skin for all strains was observed. *Campylobacter jejuni* was the most sensitive bacterium to ozone. Although ozone may have some adverse effects on fatty products but the techniques is effective and a wide range of liquid and solid foodstuffs such as fruits, vegetables and other equipments could be disinfected by ozone in the food industries. For fatty foods a combination of ozone treatment with other technique(s) should be used in order to reduce the dose of ozone.

Key Words: Ozone, Chicken, Bacteria, Decontamination**.**

1. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
2. Department of Infection and Immunity, University of Gla

*Corresponding author: siavash111 @hotmail.com

منابع

Achen, M. Yousef, A. E**.** 2001. Efficacy of ozone against *Escherichia coli* O157:H7 on apples. Journal of Food Science. **66**, 1380-1384.

Al-Haddad, K. S. H., Al-Qassemi, R. A. S., Robinson, R. K. 2005. The use of gaseous ozone and gas packing to control populations of S*almonella infantis* and *Pseudomonas aeruginosa* on skin of chicken portion. Food Control. **16**, 405-410.

Antony-Babu, S., Singleton, I. 2009. Effect of ozone on spore germination, spore production and biomass production in two Aspergillus species . Antonie Van Leeuwenhoek. **96**, 413-422.

Arana, I., Santorum, P., Muela, A., Barcina, I. 1999. Chlorination an ozonation of waste-water: comparative analysis of efficacy through the effect on *E. coli* membrane. Journal of Applied Microbiology. **86**, 883-888.

Cho, M., Chung ,H., Yoon, J. 2003. Disinfection of water containing natural organic matter by using ozone-initiated radical reactions. Applied and Environmental Microbiology. **69**, 2284-2291.

Da Silva, M. V., Gibbs, P. A., Kirby, M. R. 1998. Sensorial and microbial effects of gaseous ozone on fresh scad (Trachurus trachurus). Journal of Applied Microbiology. **84**, 802-810.

Dave, S. 1999. Efficacy of ozone against *Salmonella enteritidis* in aqueous suspensions and on poultry meat. MSc thesis, The Ohio State University, Columbus, USA.

Fisher, C. W., Lee, D., Dodge, B. A., Hamman, K. M., Robbens, J., Martin, S. E. 2000. Influence of catalase and superoxid dismutase on ozone inactivation of *L. monocytogenes*. Applied and Environmental Microbiology. **66**, 1405-1409.

Gelman, A., Sachs, O., Khanin, Y., Drabkin, V., Glatman, L. 2005. Effect of ozone pretreatment on fish storage life at low temperatures. Journal of Food Protection. **68**, 778-784.

Goche, L., Cox, B. 1999. Ozone treatment of fresh H&G Alaska salmon. Report to Alaska Science and Technology Foundation and Alaska Department of Environmental Conservation, Seattle, Wash, Sure fish, Nov. 1999.

Gorman, B. M., Kochevar, S. L., Sofos, J. N., Morgan, J. B., Schmidt, G. R**.,** Smith, G. C**.** 1997. Changes on beef adipose tissue following decontamination with chemical solutions or water of 35°C or 74°C. Journal of Muscle Foods. **8**, 185-197.

Greer, G. G., Jones, S. D. M. 1989. Effects of ozone on beef carcass shrinkage, muscle quality and bacterial spolage, Canadian Institute of Food Science and Technology. **22**, 156-160.

Hoigene, J. 1982. Mechanisms , rates and selectivity of oxidations of organic compounds initiated by ozonation of water. In Handbook of ozone technology and applications, pp. 341-379. Edited by R. R. Greer and A. Netzer: Ann Arrbor science publishers.

Hunt, N. K., Marinas, B. J. 1997 . Kinetics of *Escherichia coli* inactivation with ozone. Water Research. **31**, 1355-1362.

Khadre, M. A., Yousef, A. E., kim, J. G. 2001. Microbiological aspects of ozone application in food: A review. Journal of Food Protection. **66**, 1242-1252.

Kim, J. G., Yousef, A. E. 2000. Inactivation kinetics of foodborne spoilage and pathogenic bacteria by ozone. Journal of Food Science. **3**, 521-528**.**

Komanapalli, I. R., Mudd, J. B., Lau, B. H. 1997. Effect of ozone on metabolic activities of *Escherichia coli* K-12. Toxicology Letters. **90**, 61-66.

Lee, J. C. 2000. Survival of bacteria after ozonation. Ozone Science and Engineering. **22**, 65-75.

Nieto, J. C., Jimenez-Colmenero, F., Plaez, M. C. 1984. Effect of ozone on bacteria flora in poultry during refrigerated storage. International Journal of Refrigeration. **7**, 389-392.

Smeets, P. W., van der Helm, A. W., Dullemont, Y. J., Rietveld, L. C., van Dijk, J. C., Medema, G. J. 2006. Inactivation of *Escherichia coli* by ozone under bench-scale plug flow and full-scale hydraulic conditions. Water Research . **40**, 3239-3248

Sugita, H., Asai, T., Hayashi, K., Mitsuya, T., Amanuma, K., Maruyama, C., Deguchi, Y. 1992. Application of ozone disinfection to *remove Enterococcus seriolicida, Pasteurella piscicida*, and *Vibrio anguillarum* from seawater. Applied and Environmental Microbiology. **58**, 4072-4075.