دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

بررسی تاثیر گاز ازن بر جمعیت میکروبی و کیفیت جیره جوجه‌های گوشتی

سعید هونجانی[۱]، سید داوود شریفی[۲]، رضا صادقی[۳] و شکوفه غضنفری[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم دام و طیور دانشگاه تهران، پردیس ابوریحان، پاکدشت
۲- دانشیار، گروه علوم دام و طیور دانشگاه تهران، پردیس ابوریحان، پاکدشت، (نویسنده مسوول: rsdsharifi@ut.ac.i)
۳- دانشیار، گروه حشره شناسی و بیماری‌های گیاهی دانشگاه تهران، پردیس ابوریحان، پاکدشت
۴- دانشیار، گروه علوم دام و طیور دانشگاه تهران، پردیس ابوریحان، پاکدشت

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۴/۲۵
صفحه: ۱ تا ۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: با گسترش روزافزون صنعت مرغداری و پرورش مرغ گوشتی نگرانی‌ها برای داشتن خوراک عاری از عوامل بیماری‌زا و در نتیجه تولید محصول با کیفیت و سالم رو به افزایش است. بنابراین ضد عفونی صحیح و کارآمد خوراک طیور همراه با حفظ ماهیت اصلی خوراک اهمیت فراوانی دارد. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر گازدهی جیره جوجه‌های گوشتی با گاز ازن بر بار میکروبی و کیفیت خوراک بود.

مواد و روش‌ها: از تعداد ۴۳۲ قطعه جوجه گوشتی نر تجاری سویه راس در یک آزمایش فاکتوریل ۲×۳ با سه سطح از گاز ازن (صفر، ۲۰ و ۳۰ پی پی ام) و دو سطح چربی کم و زیاد (۱/۵ و ۲ درصد روغن گیاهی به ترتیب برای دوره رشد و پایانی و ۳ و ۴ درصد روغن گیاهی به‌ترتیب در دوره رشد و دوره پایانی) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۴ تکرار استفاده شدند. جیره‌های به مدت ۱۲۰ دقیقه در دو غلظت ۲۰ و ۳۰ پی‌پی‌ام ازن‌دهی شدند. میزان افلاتوکسین B1، بار میکروبی و فراوانی قارچها در خوراک و همچنین اکسیداسیون لیپیدهای خوراک جوجه‌های گوشتی بعد از ازن‌دهی اندازه گیری شد.

یافته‌ها: در هیچ‌یک از نمونه‌های خوراک مربوط به دوره رشد و پایانی، آفلاتوکسین B1 یافت نشد. میزان اکسیداسیون لیپید خوراک در جیره‌های گازدهی شده با ۳۰ پی‌پی‌ام به‌طور معنی‌داری بیشتر از جیره‌های بدون گازدهی بود ($p<0/05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش، استفاده از گاز ازن برای ضدعفونی کردن جیره کامل جوجه‌های گوشتی علی‌رغم نابودی و غیر فعال سازی میکروب‌ها و قارچهای موجود در خوراک، سبب افزایش اکسیداسیون چربی‌های جیره می‌شود.

واژه‌های کلیدی: جمعیت میکروبی، جوجه‌های گوشتی، خوراک کامل، کیفیت خوراک، گاز ازن

مقدمه

با گسترش روزافزون صنعت مرغداری و پرورش مرغ گوشتی نگرانی‌ها برای داشتن خوراک عاری از عوامل بیماری‌زا و در نتیجه تولید محصول باکیفیت و سالم رو به افزایش است. با توجه به مسائل مربوط به خوراک طیور نظیر نحوه دریافت دان، نحوه رسیدن دان به مقصد، نحوه‌ی انبارداری و فرآوری آن، امکان بروز گسترش عوامل بیماری‌زا مانند قارچها و میکروب‌ها و سموم مانند آفلاتوکسین‌ها، افزایش‌یافته و سبب کاهش کیفیت آن می‌شود. سازمان غذا و دارو (FAO) در سال ۲۰۰۵ تخمین می‌زند که بیش از ۲۵ درصد از خوراک دام و طیور در جهان با مایکوتوکسین‌ها آلوده شده‌اند و غلات به دلیل شیوع آلودگی بالاتر و همچنین مصرف زیاد آن‌ها توسط انسان و حیوانات، در اولویت قرار می‌گیرند. بنابراین ضدعفونی صحیح و کارآمد خوراک طیور همراه با حفظ ماهیت اصلی خوراک اهمیت فراوانی دارد. در این رابطه استفاده از ضدعفونی‌کننده‌های مناسب و مؤثر و بدون اثرات جانبی می‌تواند راهگشا باشد. ازن (O3) مولکول سه اتمی اکسیژن است که به‌عنوان قوی‌ترین اکسنده و ضدعفونی‌کننده در دنیا شناخته می‌شود. این گاز (ازن) به دلیل ساختار ناپایداری که دارد پس از انجام ضدعفونی و گازدهی به گاز اکسیژن تبدیل می‌شود. لذا از سوی سازمان غذا و داروی ایالات‌متحده آمریکا در زمره ترکیبات دارای وضعیت عموماً بی‌خطر (GRAS: Generally Recognized as Safe) قرارگرفته است (۱۲). این گاز دارای واکنش‌پذیری بالا، نفوذپذیری و تجزیه خود به خودی به یک ترکیب غیر سمی (اکسیژن) است و بدون ایجاد هرگونه باقیمانده خطرناک روی محصولات تحت درمان اثر می‌کند (۴). ازن باعث کاهش آلودگی میکروبی محصولات می‌شود و در کنترل با باکتری‌ها و قارچها مؤثر است (۵). غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها توسط ازن، عمدتاً به اختلال در غشای سلولی و انتشار محتویات سیتوپلاسم به خارج از سلول، به دلیل قدرت اکسیدکنندگی بالای این گاز نسبت داده می‌شود. غیرفعال کردن یا مهار رشد میکروارگانیسم‌ها ازنظر ایمنی مواد غذایی اهمیت زیادی دارد زیرا یک روش مناسب برای کنترل قارچها و درنتیجه جلوگیری از ساخت آفلاتوکسین‌ها می‌باشد (۳). علی‌رغم تأثیر مثبت گاز ازن در ضدعفونی خوراک و کاهش عوامل میکروبی، نگرانی‌هایی در خصوص مکانیسم اثر آن یعنی خاصیت اکسیدکنندگی قوی آن وجود دارد. بیشتر ترکیبات مغذی جیره نظیر ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه و به‌ویژه اسیدهای چرب نسبت به اکسیداسیون بسیار حساس هستند. لذا این احتمال وجود دارد که در کنار اثرات مطلوب ضدعفونی‌کنندگی این گاز، کیفیت خوراک و همچنین قابلیت دسترسی مواد مغذی جیره تحت تأثیر قرار گیرد. لذا این تحقیق، به‌منظور بررسی تأثیر گازدهی جیره کامل با ازن بر بار میکروبی، فراوانی قارچها و اکسیداسیون لیپیدهای جیره انجام شد.

مواد و روش‌ها

ازن‌دهی

برای تولید ازن و گازدهی خوراک از دستگاه ژنراتور ازن، دستگاه اکسیژن ساز و اتوکلاو استفاده شد. گاز ازن توسط ژنراتور ازن به مدل ODS-1300 P ساخت شرکت ازن آب ایران، با خروجی ازن ۳۰-۲۰ پی‌پی‌ام، دمای ۳۵-۱۰ درجه،

توان ۶۰-۵۰ هرتز و ولتاژ ۲۲۰ ولت در دو غلظت ۲۰ و۳۰ پی‌پی‌ام تولید میشد. در ابتدا دستگاه اکسیژن‌ساز، اکسیژن با غلظت حدود ۹۵ درصد را به ژنراتور ازن منتقل و سپس ژنراتور بسته به غلظت مورد نیاز (۲۰ یا ۳۰ پی‌پی‌ام) گاز ازن را تولید می کرد و سپس با شیلنگ پلاستیکی به یک مخزن اتوکلاو برای ازن‌دهی خوراک منتقل شد.

خوراک‌های مورد آزمایش

ترکیب خوراک‌های مورد آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. جیره‌های غذایی، با توجه به ترکیبات مواد مغذی اقلام خوراکی و با توجه به احتیاجات غذایی جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸ برای دو مرحله رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) با استفاده از نرم‌افزار UFFDA با دو سطح چربی کم (۱/۵ و ۲ درصد به‌ترتیب در دوره رشد و پایانی) و زیاد (۳ و۴ درصد به ترتیب برای دوره رشد و پایانی) تنظیم شدند. خوراک‌ها به مدت ۱۲۰ دقیقه با دو غلظت ۲۰ و ۳۰ پی‌پی‌ام ازن گازدهی شدند. به این ترتیب شش جیره آزمایشی(سه سطح از گاز ازن (صفر، ۲۰ و ۳۰ پی پی ام) و دو سطح چربی کم و زیاد (۱/۵ و ۲ درصد روغن گیاهی به ترتیب برای دوره رشد و پایانی و ۳ و ۴ درصد روغن گیاهی به ترتیب در دوره رشد و دوره پایانی) تهیه شدند. روش ازن‌دهی بدین صورت بود که دستگاه اکسیژن‌ساز اکسیژن را به ژنراتور ازن‌ساز انتقال می‌داد و خروجی دستگاه ازن ساز توسط لوله پلاستیکی به محفظه‌ی اتوکلاو متصل شد. خوراک مورد آزمایش در اتوکلاو قرار داده شد و با بستن درب اتوکلاو ازن دهی انجام شد. سپس خوراک‌های ازن‌دهی شده سریعا به مصرف جوجه‌های گوشتی رسید. ترکیب جیره‌های آزمایشی در جدول ۳-۲ آمده است.

جدول۱- مواد خوراکی مورد استفاده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی

Table 1. Used food ingredients and chemical compositions of experimental diets

ترکیب جیره غذایی	رشد (۲۴-۱۱ روزگی)		پایانی (۴۲-۲۵روزگی)	
مواد خوراکی(درصد)	۱/۵ درصد چربی	۳ درصد چربی	۲ درصد چربی	۴ درصد چربی
دانه ذرت	۶۱/۰۱	۵۶/۳۳	۶۵/۷۲	۵۹/۴۵
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین)	۳۲/۱۱	۳۳/۱۶	۲۸/۶۸	۲۹/۸۷
منو کلسیم فسفات	۱/۲۸	۱/۳۰	۱/۰۹	۱/۱۱
گلوتن ذرت	۱/۳۱	۱/۲۰	–	–
پودر صدف	۱/۳۷	۱/۳۵	۱/۲۴	۱/۲۲
نمک	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل ویتامینی[1]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی[2]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
DL - متیونین	۰/۲۷	۰/۲۸	۰/۲۶	۰/۲۶
L- لیزین هیدروکلراید	۰/۲۳	۰/۲۰	۰/۱۵	۰/۱۲
L - ترئونین	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰
ماسه	–	۲/۲۵	۰/۰۰۲	۳/۰۹
اجزای محاسبه‌شده				
انرژی متابولیسمی(کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۹۳۵	۲۹۳۵	۳۰۰۰	۳۰۰۰
پروتئین خام(درصد)	۲۰/۲۰	۲۰/۲۰	۱۸/۱	۱۸/۱
تعادل الکترولیتی(میلی اکی والان بر کیلوگرم جیره)	۲۵۵	۲۵۵	۲۵۰	۲۵۰
روغن گیاهی(درصد)	۱/۵	۳	۲	۴
کلسیم(درصد)	۰/۸۲	۰/۸۲	۰/۷۱	۰/۷۱
فسفر قابل دسترس(درصد)	۰/۴۲	۰/۴۲	۰/۳۶	۰/۳۶
متیونین قابل هضم(درصد)	۰/۵۶	۰/۵۶	۰/۵۲	۰/۵۲
متیونین + سیستئین(درصد)	۰/۸۳	۰/۸۳	۰/۷۴	۰/۷۴
لیزین قابل هضم(درصد)	۱/۰۸	۱/۰۸	۰/۹۳	۰/۹۳
سدیم(درصد)	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۷	۰/۱۷

[1]مکمل ویتامینی برای هر کیلوگرم جیره حاوی ۱۲۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۵۰۰۰ واحد بین المللی کوله کلسیفرول، ۴۵ واحد بین المللی ویتامین E، ۲/۴ میلی‌گرم ویتامین K3، ۲/۶ میلی‌گرم تیامین، ۶/۶ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۲۵ میلی‌گرم اسید پنتوتنیک، ۵۵ میلی‌گرم نیاسین، ۵۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۰/۱ میلی‌گرم بیوتین، ۱/۵ میلی‌گرم اسید فولیک، ۵/۵ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۰/۰۱۵ میلی‌گرم ویتامین B12 بود. [2]مکمل معدنی برای هر کیلوگرم از جیره حاوی ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۸۵ میلی‌گرم روی، ۹۰ میلی‌گرم منگنز، ۱ میلی‌گرم ید، ۱۰ میلی‌گرم مس و ۰/۲۵ میلی‌گرم سلنیوم بود.

[1]Vitamin supplement per kg of diet containing 12000 IU of vitamin A, IU5000 of calciferol, IU45 of vitamin E, 2.4 mg of vitamin K3, 2.6 mg of thiamine, 6.6 mg of riboflavin, 25 mg of pantothenic acid, 55 mg of niacin, 500 mg / 0 of choline chloride Biotin was 1.5 mg of folic acid, 5.5 mg of pyridoxine, 0.015 mg of vitamin B12 and 1 mg of BHT. [2]Mineral supplements per kg of diet contained 50 mg of iron, 85 mg of zinc, 90 mg of manganese, 1 mg of iodine, 10 mg of copper and 0.25 mg of selenium.

اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین B1 در خوراک

برای اندازه‌گیری مقدار آفلاتوکسینB1 از یک کیت تجاری ELISA (Romer، Tull، اتریش) استفاده شد. نمونه های مربوط به خوراک هر تیمار به صورت جفتی (دو نمونه از هر خوراک) از نظر میزان افلاتوکسینB1 مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور مقدار۲۰ گرم از نمونه‌های خوراک هر تیمار در دوره رشد و پایانی به‌خوبی آسیاب و در چاهک‌های مخصوص توزین شده و ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال استخراج (آب متانولی با نسبت حجمی/ حجمی ۷۰:۳۰) به هر چاهک اضافه شد. سپس، مخلوطها به مدت ۳ دقیقه با یک شیکر همگن‌شده و به مدت ۵ دقیقه اجازه داده شد تا ته‌نشین شوند. لایه‌های بالایی عصاره‌ها از طریق کاغذ صافی (واتمن شماره ۱و با قطر ۲۷ سانتی‌متر) فیلتر شده و طبق دستورالعمل سازنده، از فیلترها درروش ELISA استفاده می‌شود. پلیت‌های میکروتیتر با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (Thermo، Waltham، MA، USA) با فیلتر جذب ۴۵۰ نانومتر و فیلتر افتراقی ۶۳۰ نانومتر به‌صورت نوری اندازه‌گیری شدند (۲).

اندازه‌گیری میزان بار میکروبی و قارچ‌های خوراک

میزان بار میکروبی و قارچ‌های خوراک‌های مورد آزمایش نیز به صورت جفتی انجام شد. به‌منظور شمارش و بررسی باکتری‌ها، یک گرم خوراک از هر تکرار برداشته شد و در فالکن‌های استریل به آزمایشگاه منتقل شد در آزمایشگاه ۹ میلی‌لیتر محلول نوترینت براوس در محیط استریل و نزدیکی شعله به لوله اضافه شد. نمونه‌ها به‌وسیله ورتکس به‌خوبی هم زده و یکنواخت شدند تا باکتری‌ها از نمونه جداشده و در محیط مایع رها شوند. سری‌های رقت تا ۴ رقت با ضریب رقیق‌سازی ۱۰ تهیه شدند. برای شمارش کل باکتری‌ها از محیط نوترینت آگار (Merck company) استفاده شد. مقدار موردنیاز محیط کشت پس از تهیه، در اتوکلاو استریل و پس از رسیدن محیط کشت به دمای ۴۵–۴۰ درجه سلسیوس، به پتری دیش‌ها منتقل‌شده و مورداستفاده قرار گرفت. از هرکدام از رقت‌ها ۳۰ میکرو لیتر به محیط کشت اختصاصی میکروب در نزدیکی شعله تلقیح شد. پتری حاوی محیط کشت برای شمارش کل باکتری‌ها به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از طی انکوباسیون تعداد کلنی‌های باکتری روی پلت‌های مربوط به رقت‌هایی که ۳۰ تا ۳۰۰ عدد داشتند شمارش شدند. تعداد باکتری‌ها، ضرب تعداد کلنی شمارش‌شده در عکس رقت و تقسیم بر وزن نمونه محاسبه شد. درنهایت تعداد باکتری‌ها برحسب لگاریتم بر مبنای ۱۰ در هر گرم نمونه محاسبه و گزارش شد (۱۰).

برای اندازه‌گیری فراونی قارچها در خوراک، ۱۰ گرم از هر نمونه خوراک با ۹۰ میلی‌لیتر محلول رینگر در بگ میکسر۴۰۰ (French interscience company،) به مدت یک دقیقه با سرعت ۷ کاملا هموژن گردید و بعد از آن به مدت یک ساعت در دمای محیط به صورت ساکن گذاشته شدند. سپس رقت‌های متوالی از 10^{-1} تا 10^{-6} تهیه گردید و از هر کدام مقدار یک میلی‌لیتر روی محیط کشت استریل دکستروز آگار (PDA) حاوی کلرامفنیکل با میله شیشه‌ای استریل پخش و بعد از خشک شدن سطح محیط در حرارت ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت حداقل یک هفته در انکوباتور نگهداری و روزانه از لحاظ رشد قارچی کنترل گردیدند. تعداد کلنی‌های مختلف قارچی موجود در هر محیط کشت شمارش و نتایج بر اساس تعداد واحد کلنی در گرم گزارش شدند. با توجه به مورفولوژی کلنی‌های قارچهای مختلف، تشخیص اولیه احتمالی برخی از آن‌ها داده شد. سپس با استفاده از روش میکروسکوپی جزئیات ریزبینی آن‌ها نیز مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور ابتدا با استفاده از محلول الکتوفنل کاتن بلو و یک قطعه کلنی قارچی و با استفاده از بزرگنمایی ۱۰ و ۴۰ زیر میکروسکوپ نوری مشخصات آن‌ها ثبت گردید و با توجه به خصوصیات مورفولوژیک ریزبینی بویژه دستگاه زایشی، مورد شناسایی قرار گرفتند.

اندازه‌گیری میزان اکسیداسیون لیپیدهای خوراک

از روش حساس، سریع و اختصاصی تیوباربیوتیک اسید (TBA) برای تعیین پراکسیداسیون چربی در نمونه‌های خوراک استفاده شد. در این روش برای اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدئید (MDA) به‌عنوان پراکسیداسیون چربی در نمونه خوراک، استخراج با اسید تیوباربیوتیک انجام می‌شود. نمونه‌ها با اسیدتری کلرواستیک (TCA) در حضور هگزان و بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن (BHT) همگن می‌شود و سپس سانتریفیوژ می‌گردد. پس از واکنش با معرف اسید تیوباربیوتیک، مالون دی آلدئید مستقیماً بر اساس تبدیل مشتق سوم جذب در حدود ۵۲۱/۵ nm مربوط به کمپلکس صورتی اندازه‌گیری شد. در این تحقیق، هر نمونه خوراک با چهار تکرار از نظر میزان اکسیداسیون لیپیدهای خوراک مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور، نمونه‌های خوراک را پس از حدود دوماه از فریزر ۲۰– درجه سلسیوس خارج و اجازه داده شد به دمای اتاق برسد. سپس مقدار یک گرم از هر نمونه توزین و در هاون به‌خوبی خرد و پودر شد. سپس نمونه پودری را در لوله فالکون ریخته و ۴ میلی‌لیتر محلول TCA به آن اضافه گردید. در مرحله بعد ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول BHT نیز اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با دور بالا، ورتکس شد. پس از آن فاکلون‌ها را با دور ۳۰۰۰s برای مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ کرده تا فاز هگزان از محلول جدا شود. پس از انجام سانتریفیوژ فاز رویی که حاوی هگزان می‌باشد با دقت توسط سمپلر جدا و حذف شد. در مرحله بعد با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک و قیف کوچک و استوانه مدرج، محلول باقی‌مانده را صاف نموده و محلول حاصل با TCA به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد و ۳ میلی‌لیتر محلول TBA به آن اضافه گردید. نمونه‌ها را به بن ماری با دمای ثابت ۷۰ درجه سلسیوس برای مدت ۳۰ دقیقه انتقال یافت. سپس لوله فالکن‌ها سریعاً در آب یخ خنک شدند و در مرحله آخر نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتوفتومتری (پیکودراپ FX ۲۰۰) و بر اساس استانداردهای موجود در دستگاه با طول‌موج ۵۲۱/۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (۷).

با توجه به ماهیت داده‌های مربوط به میزان آفلاتوکسین و بار میکروبی و قارچی خوراک، داده‌های مذکور به صورت جفتی حاصل و میانگین آنها گزارش گردید. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری میزان اکسیداسیون لیپیدها به صورت یک آزمایش دو طرفه (فاکتوریل ۲×۳) با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (ویرایش ۹/۱)، رویه GLM برای مدل آماری زیر تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح ۵ درصد مقایسه شدند.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + e_{ijk}$$

که در این مدل Y_{ijk}: مقدار هر مشاهده، μ: میانگین کل؛ A_i: اثر جیره، B_j: اثر سطح ازن، AB_{ij}: اثر متقابل جیره × گاز ازن و e_{ijk}: اثر خطای آزمایش است.

نتایج و بحث

میزان آفلاتوکسین B1 خوراک

نتایج میزان آفلاتوکسین B1 خوراک های مورد آزمایش در جدول ۲ نشان داده شده است. در هیچ‌یک از نمونه‌های خوراک دوره رشد و پایانی آفلاتوکسین B1 مشاهده نشد و تمام تیمارهای آزمایشی فاقد آفلاتوکسین B1 بودند.

جمعیت میکروبی و قارچ‌های خوراک

میزان جمعیت میکروبی و قارچ‌های خوراک دوره رشد و دوره پایانی در جدول ۳ آورده شده است. نمونه‌ی گازدهی

شده با ازن (۳۰ پی‌پی‌ام) و حاوی چربی زیاد خوراک در دوره رشد دارای تعداد کمتری از کل باکتری‌های (Total Count) را در مقایسه با نمونه شاهد کم‌چرب و بدون گازدهی در همین دوره بود (p<۰/۰۵). همچنین تعداد قارچ‌های شمارش‌شده در نمونه‌ی خوراک پرچرب دوره رشد گازدهی شده با ۲۰ پی‌پی‌ام ازن در مقایسه با نمونه کم‌چرب بدون گازدهی به صفر رسید (p<۰/۰۵). تعداد باکتری‌ها در نمونه خوراک کم‌چرب گاز دهی شده با ۳۰ پی‌پی‌ام ازن در دوره پایانی در مقایسه با نمونه کم‌چرب بدون گازدهی همین دوره کمتر بود ولی باکتری‌های نمونه پرچرب و بدون گازدهی کمتر از باکتری‌های موجود در نمونه‌های دیگر بود. تعداد قارچ‌های شمارش‌شده در نمونه خوراک پرچرب دوره پایانی و گازدهی شده با ۲۰ پی‌پی‌ام ازن کمتر از سایر نمونه‌ها بود (p<۰/۰۵).

جدول ۲- میزان آفلاتوکسین B1 (پی‌پی‌ام) خوراک پس از گازدهی با ازن در دوره رشد و پایانی
Table 2.The level of Aflatoxin B1(ppm) after ozone gasification in grower and finisher period

منبع تغییرات	دوره رشد	دوره پایانی
نوع جیره[1] × گاز ازن		
چربی کم × صفر	۰/۶	۰/۸
چربی کم × ۲۰	۰/۳	۱
چربی کم × ۳۰	۰/۱	۲/۱
چربی زیاد × صفر	۱/۱	۱/۶
چربی زیاد ×۲۰	۰/۷	۱/۸
چربی زیاد ×۳۰	۱	۱/۹

۱- جیره با چربی کم در دوره رشد و پایانی حاوی ۱/۵ و ۲ درصد چربی و جیره با چربی زیاد در دوره رشد و پایانی حاوی ۳ و ۴ درصد چربی بود.

جدول ۳- میزان بار میکروبی و قارچ‌های خوراک دوره رشد و پایانی
Table 3. Microbial fungal population of grower and finisher period

منبع تغییرات	دوره رشد		دوره پایانی	
	بار میکروبی (تعداد در گرم خوراک)	قارچ‌ها (تعداد در گرم خوراک)	بار میکروبی (تعداد در گرم خوراک)	قارچ‌ها (تعداد در گرم خوراک)
نوع جیره[1] × گاز ازن				
چربی کم × صفر	۷۵۵۰	۷۵۰	۸۴۵۰	۶۵۰
چربی کم × ۲۰	۱۰۵۰	۵۰۰	۴۶۵۰	۱۵۰
چربی کم × ۳۰	۱۵۲۵	۲۱۵	۲۹۰۰	۳۰۰
چربی زیاد × صفر	۱۹۸۰	۱۰۰	۳۶۴	۲۹۰
چربی زیاد × ۲۰	۱۳۲۰	۰	۱۹۵۰	۱۰۰
چربی زیاد × ۳۰	۹۴۰	۱۰۰	۱۱۵۰	۲۰۰

۱- جیره با چربی کم در دوره رشد و پایانی حاوی ۱/۵ و ۲ درصد چربی و جیره با چربی زیاد در دوره رشد و پایانی حاوی ۳ و ۴ درصد چربی بود.

اکسیداسیون لیپیدهای خوراک

تأثیر نوع جیره و میزان گازدهی بر اکسیداسیون لیپیدهای خوراک دوره رشد و پایانی جوجه‌های گوشتی در جدول ۴ آورده شده است. در خوراک دوره رشد، سطح چربی تأثیری بر میزان اکسیداسیون لیپیدهای خوراک نداشت. میزان اکسیداسیون لیپید خوراک در جیره‌های ازن‌دهی شده (۳۰ پی‌پی‌ام) بیشتر از جیره‌های بدون گازدهی بود (p<۰/۰۵). اکسیداسیون لیپیدها در جیره‌های حاوی چربی زیاد و گاز دهی شده با ۳۰ پی‌پی‌ام ازن به‌طور غیر معنی‌داری بیشتر از جیره‌های پرچرب و فاقد گاز ازن بود. در خوراک دوره پایانی، میزان اکسیداسیون لیپیدهای خوراک در جیره‌های پرچرب بیشتر از خوراک‌های کم‌چرب بود (p<۰/۰۵). اکسیداسیون لیپید در جیره‌های گازدهی شده با ۳۰ پی‌پی‌ام ازن بیشتر از جیره‌های بدون گازدهی بود (p<۰/۰۵). جیره‌های پرچرب و گازدهی شده با ۳۰ پی‌پی‌ام ازن به‌طور غیر معنی‌داری دارای اکسیداسیون لیپیدی بیشتری در مقایسه با جیره‌های کم‌چرب و بدون ازن بودند.

آفلاتوکسین‌ها دسته ای از مایکوتوکسین‌های سرطان‌زا هستند که توسط قارچ های آسپرژیلوس تولید می‌شوند و به عنوان آلوده‌کننده بخش بزرگی از منابع غذایی جهان شناخته شده‌اند. آفلاتوکسین B1 قوی ترین این ترکیبات است (۹). آفلاتوکسین، نوعی مایکوتوکسین است که توسط دو نوع کپک به نام‌های *Aspergilus Flavous* و *Aspergilus Parasiticus* ایجاد می‌شود. بر اساس مطالعات صورت گرفته، در طبیعت، چهار نوع آفلاتوکسین شامل B_1، B_2، G_1 و G_2 و دو نوع فرآورده متابولیکی مانند M1 و M2 وجود دارد که می‌تواند دام‌ها و خوراک‌های انسان را مانند ذرت، سورگوم، گندم، سویا و پنبه‌دانه آلوده کند (۱۳). حد مجاز آلودگی به آفلاتوکسین B1 در خوراک طیور لاین و اجداد، ۵ میکروگرم بر کیلوگرم و در جیره طیور مادر، تخم‌گذار و جوجه گوشتی ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم تعیین‌شده است (۶).

ازن ۵۰ درصد سریع‌تر از کلر از غشای سلولی عبور می‌کند. حتی در غلظت کم، قدرت ضدعفونی‌کنندگی بالایی دارد و هنگام تبدیل به اکسیژن هیچ محصول جانبی تولید نمی‌کند (۶). ازن می‌تواند با ۸ و ۹ پیوند دوگانه حلقه فوران در آفلاتوکسین واکنش دهد. یک مطالعه نشان داده شد که ۸۹/۴ درصد AFB1 در بادام‌زمینی توسط ازن با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و سرعت جریان ۵ لیتر در دقیقه به مدت ۶۰ دقیقه تجزیه می‌شود (۱۳).

این نتایج حاکی از تأثیر مثبت گاز ازن بر روی تعداد باکتری‌ها و قارچ‌های خوراک می‌باشد. گاز ازن توانسته با نابودسازی و یا غیرفعال سازی میکروارگانیسم‌های این نمونه

خوراک‌ها باعث کاهش بار میکروبی و قارچ‌های خوراک شود. نکته جالب‌توجه در این آزمایش این است که میزان قارچ‌های اندازه‌گیری شده در طی دو بار تکرار در نمونه‌های خوراک بااینکه تعدادشان کم شده بود اما دوباره شروع به رشد رویشی کرده و تکثیر شدند. گاز ازن توانسته است رشد رویشی آسپرژیلوس‌ها را متوقف کند اما اسپورهای قارچ‌های آسپرژیلوس بدون آسیب باقی‌مانده‌اند و دوباره رشد رویشی خود را از سر گرفته‌اند. می‌توان گفت خوراک‌هایی که به مصرف جوجه‌های گوشتی در این آزمایش رسیده‌اند (هم در دوره رشد و هم در دوره پایانی) کاملاً از لحاظ میکروارگانیسم‌های باکتریایی و قارچی استریل و ایمن بوده‌اند. نکته جالب در مورد این آزمایش و به‌خصوص اندازه‌گیری قارچ‌ها این بود که اگرچه در طول آزمایش و ازن‌دهی خوراک‌ها میکروارگانیسم‌های خوراک نابود و یا غیرفعال شده‌اند اما در طی دو بار تکرار نمونه‌های خوراک، رشد رویشی متوقف‌شده گونه‌های آسپرژیلوس (توسط گاز ازن) دوباره فعال‌شده و باعث رویش مجدد این نمونه‌های آسپرژیلوس شد. به‌عبارت‌دیگر می‌توان گفت این نمونه قارچ‌ها در برابر گاز ازن از خود مقاومت نشان داده و تنها رشد رویشی خود را متوقف کرده‌اند ولی پس از مدتی اسپور آن‌ها دوباره فعال‌شده و رشد رویشی خود را از سر گرفته‌اند.

جدول ۴- تأثیر نوع جیره و گاز ازن بر اکسیداسیون لیپیدهای (میزان مالون دی آلدئید) جیره در دوره رشد و پایانی
Table 4.The effect of diet type and ozone gasification on lipid oxidation (malondialdehyde content) of diet in grower and finisher period

منبع تغییرات	دوره رشد (میلی‌گرم MDA درکیلوگرم)	دوره پایانی (میلی‌گرم MDA در کیلوگرم)
چربی جیره[1]		
چربی کم	۵/۹۳	۶/ ۸۴[b]
چربی زیاد	۵/۸۲	۱۰/۲۶[a]
SEM	۰/۷۰	۱/۰۹
سطح گاز ازن(پی‌پی‌ام)		
صفر	۲/۸۶[b]	۲/۵۶[b]
۲۰	۶/۲۸[a]	۱۰/۰۹[a]
۳۰	۸/۴۹[a]	۱۳/ ۰۱[a]
SEM	۰/۸۶	۱/۳۳
نوع جیره × گاز ازن		
چربی کم × صفر	۲/۹۵	۲/۴۲
چربی کم × ۲۰	۶/۶۶	۷/۹۵
چربی کم × ۳۰	۸/۲۰	۱۰/۱۵
چربی زیاد × صفر	۲/۷۷	۲/۷۰
چربی زیاد × ۲۰	۵/۹۱	۱۲/۲۳
چربی زیاد × ۳۰	۸/۷۹	۱۵/۹۸
SEM	۱/۲۱	۱/۸۹
احتمال		
جیره	۰/۹۱۱۱	۰/۰۴۶۶
گاز ازن	۰/۰۰۲۰	۰/۰۰۰۴
جیره × گاز ازن	۰/۸۶۰۰	۰/۳۶۱۴

۱- جیره با چربی کم در دوره رشد و پایانی حاوی ۱/۵ و ۲ درصد چربی و جیره با چربی زیاد در دوره رشد و پایانی حاوی ۳ و ۴ درصد چربی بود.
a-c: تفاوت ارقام در هر ستون با حروف نامشابه معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).
SEM : خطای استاندارد میانگین‌ها
MDA :مالون دی آلدئید

ازن می‌تواند با اکسیداسیون تدریجی اجزای سلولی حیاتی، میکروارگانیسم‌ها را از بین برد. سطح سلول باکتریایی به‌عنوان هدف اصلی گاز ازن می‌باشد. دو مکانیسم اساسی در خاصیت تخریبی ازن در موجودات زنده شناسایی‌شده است. مکانیسم اول این‌که ازن گروه‌های سولفیدریل و اسیدهای آمینه، آنزیم‌ها، پپتیدها و پروتئین‌های میکروارگانیسم‌ها را به پپتیدهای کوتاه‌تر اکسید می‌کند. مکانیسم دوم این است که ازن اسیدهای چرب اشباع‌نشده چندگانه را به اسید پراکسیدها، اکسید می‌کند. مرگ سلولی همچنین می‌تواند باعث تخریب و آسیب شدید اسیدهای نوکلئیک شود. اگر DNA باکتریایی هدف نهایی ازن باشد، باکتری‌ها قادر به ایجاد مقاومت در برابر ازن نخواهند بود که این نیز از دیگر مزایای آن است (۱). علاوه بر این، ازن دارای قابلیت انتشار بالایی است که باعث می‌شود سریع و به‌سرعت از طریق غشاهای سلولی بیولوژیکی عبور کند. موافق با نتایج این آزمایش، El-Desouky و همکاران در سال ۲۰۱۲ اظهار داشتند گازدهی دانه گندم با ۲۰ پی‌پی‌ام ازن برای ۵ و ۲۰ دقیقه به‌ترتیب باعث مهار رشد و غیر فعال‌سازی آسپرژیلوس فلاووس از ۴۶/۴ تا ۸۷/۸ درصد شد. همچنین با غلظت ۴۰ پی‌پی‌ام از گاز ازن این کاهش مهار رشد ۶۵/۶ تا ۹۵/۶ درصد رسید (۱۱).

در این آزمایش گازدهی خوراک‌ها هم‌دوره رشد و هم در دوره پایانی باعث افزایش میزان MDA (مالون دی آلدئید) و اکسیداسیون لیپیدهای خوراک شد. واکنش ازن با روغن‌های گیاهی تقریباً به‌طور انحصاری با پیوندهای دوگانه کربن=کربن در اسیدهای چرب اشباع‌نشده رخ می‌دهد. این واکنش چندین ترکیب اکسیژن‌دار مانند هیدروپراکسیدها، ازونیدها، آلدئیدها، پراکسیدها، دی پراکسید و پلی پراکسیدها را تولید می‌کند (۸). ازاین‌رو، خصوصیات شیمیایی و ساختاری روغن‌ها ممکن است تغییر کند. ازآنجاکه گاز ازن، روغن را تخریب می‌کند، اسیدهای چرب بیشتری از گلیسیرید آزاد

می‌شوند و سطح اسیدیته آزاد و میزان MDA (مالون دی آلدئید) را افزایش می‌دهند و در نتیجه باعث افزایش میزان ترشیدگی و تعفن می‌شوند.

اگرچه گاز ازن به‌عنوان عامل ضد میکروبی به‌طور گسترده‌ای مورداستفاده قرار می‌گیرد، اما در برخی موارد می‌تواند باعث اکسیداسیون لیپیدها، تخریب پروتئین، تغییر در رنگ‌دانه شده و گروه هیدروکسیل نشاسته را به گروه‌های کربونیل و کربوکسیل اکسید کند. اکسیداسیون ممکن است بسته به شرایط واکنش، باعث ایجاد اتصال متقاطع یا تخریب مولکول‌های نشاسته شود و همچنین ازن ممکن است پیوند دی سولفید را به اسید سیستئیک اکسید کند (۱۴)، باعث ایجاد رایحه‌های نامطلوب شده (۷) و محتوای پروتئین و لیپید را کاهش دهد و مستقیماً بر کیفیت تغذیه‌ای و حسی محصول تأثیر بگذارد. علاوه بر این، کارایی آن به عواملی مانند محتوای خوراک، غلظت ازن و زمان قرار گرفتن در معرض ازن بستگی دارد (۲).

موافق با نتایج این آزمایش، در مطالعه ساروئی و همکاران در سال ۲۰۱۹ که با غلظت ۶۰۰۰ پی‌پی‌ام گاز ازن برای ۴ ساعت بر روی دانه گندم انجام شد گازدهی موجب افزایش میزان MDA (مالون دی آلدئید) در نمونه‌ها تا میزان ۴/۱۹ شد (۱۰).

در مطالعه عبادی و همکاران در سال ۲۰۱۸، توسط گاز ازن (۵ گرم بر ساعت) غلظت اسید پالمیتیک آرد گندم به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت، درحالی‌که غلظت اسید لینولئیک، اسید استئاریک و اسید لینولنیک با افزایش زمان ازن دهی، اندکی کاهش یافت. ازن می‌تواند اسید لینولئیک را اکسید کند. نتایج به‌دست‌آمده از ترکیبات فرار، افزایش غلظت ترکیبات هگزانال را در پی گازدهی با ازن نشان می‌دهد (۸). اکسیداسیون سریع روغن استخراج‌شده از آرد گندم ازن‌دهی شده ممکن است منجر به حضور فراوان اسید چرب آزاد هیدرولیز شده توسط لیپاز، همراه با اسید لینولئیک که به‌عنوان بستر هدف موردنظر برای اکسیداسیون آنزیمی و اکسیداسیون است منجر شود. افزایش در هر دو مقادیر پراکسید و پی- آنیسیدین تأثیر قابل‌توجه گاز ازن را در توانایی اکسیداسیون این گاز نشان می‌دهد (۸).

با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش، استفاده از گاز ازن برای ضدعفونی کردن خوراک کامل جوجه‌های گوشتی علی‌رغم نابودی و غیرفعال سازی میکروب‌ها و قارچ‌های موجود در خوراک، سبب افزایش اکسیداسیون چربی‌های جیره می‌شود.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

منابع

1. Alexandre, A.P.S., N. Castanha, N.S. Costa, A.S. Santos, E. Badiale-Furlong, P.E.D. Augusto and M.A. Calori-Domingues. 2019. Ozone technology to reduce zearalenone contamination in whole maize flour: degradation kinetics and impact on quality. Journal of the Science of Food and Agriculture, 99: 6814-6821.
2. Christ, D., G. Savi and V. Scussel. 2016. Effectiveness of ozone gas in raw and processed food for fungi and mycotoxin decontamination–a review. Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences 6: 326-348.
3. de Alencar, E.R., L.R.D.A. Faroni, N.D.F.F. Soares, W.A. da Silva and M.C. da Silva Carvalho. 2012. Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92: 899-905.
4. Diao, E., H. Hou and H. Dong. 2013. Ozonolysis mechanism and influencing factors of aflatoxin B1: A review. Trends in food science & technology, 33: 21-26.
5. Glowacz, M., R. Colgan and D. Rees. 2015. The use of ozone to extend the shelf-life and maintain quality of fresh produce. Journal of the Science of Food and Agriculture 95: 662-671.
6. Hoveydi, H., B.G.R. Nabi, H.R. Jafari, T. Nasrabadi and T. Shahriari. 2008. Evaluating the Use of Ozone for Disinfection of Drinking Water, Case Study: Tehran Pars Water Treatment Plant (Iran).
7. Ianni, A., L. Grotta and G. Martino. 2019. Feeding influences the oxidative stability of poultry meat treated with ozone. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 32: 874.
8. Obadi, M., K.X. Zhu, W. Peng, A. Noman, K. Mohammed and H.M. Zhou. 2018. Characterization of oil extracted from whole grain flour treated with ozone gas. Journal of Cereal Science, 79: 527-533.
9. Rushing, B.R. and M.I. Selim. 2019. Aflatoxin B1: A review on metabolism, toxicity, occurrence in food, occupational exposure, and detoxification methods. Food and chemical toxicology, 124: 81-100.
10. Sarooei, S.J., A. Abbasi, S. Shaghaghian and E. Berizi. 2019. Effect of Ozone as a Disinfectant on Microbial Load and Chemical Quality of Raw Wheat Germ. Ozone: Science & Engineering, 41: 562-570.
11. Trombete, F., Y. Porto, O. Freitas-Silva, R. Pereira, G. Direito, T. Saldanha and M. Fraga. 2017. Efficacy of ozone treatment on mycotoxins and fungal reduction in artificially contaminated soft wheat grains. Journal of Food Processing and Preservation, 41: e12927.
12. White, 2010. Controlling deterioration of high-moisture maize with ozone treatment. Journal of stored products research, 46: 7-12.
13. Yang, Q. 2019. Decontamination of Aflatoxin B1. In "Aflatoxin B1 Occurrence, Detection and Toxicological Effects". IntechOpen.
14. Zhu, F. 2018. Effect of ozone treatment on the quality of grain products. Food chemistry, 264: 358-366.

Investigation of the Effect of Ozone Gas on Microbial Population and the Quality of Broilers Chicken Diets

Saeed Hoonjani[1], Seyed Davoud Sharifi[2], Reza Sadeghi[3] and Shokoofeh Ghazanfari[4]

1- Graduated M.Sc. Student, Department of Animal and Poultry Sciences, University of Tehran, Aburihan Campus, Pakdasht
2- Associate Professor, Department of Animal and Poultry Sciences, University of Tehran, Aburihan Campus, Pakdasht, (Corresponding author: rsdsharifi@ut.ac.i)
3- Associate Professor, Department of Entomology and Plant Diseases, University of Tehran, Aburihan Campus, Pakdasht
4- Associate Professor, Department of Animal and Poultry Sciences, University of Tehran, Aburihan Campus, Pakdasht
Received: 7 March, 2022 Accepted: 25 April, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: By increasing the poultry and broiler production industry, concerns for having a food free of pathogens, and as a result, producing a quality and healthy product are increasing. Therefore, correct and efficient disinfection of poultry diets with maintaining the quality of them is very important. The aim of this study was to investigate the effect of gasification of complete poultry feed by ozone on microbial papulation and the quality of broilers diets.

Material and Methods: From 432 commercial male Ross strains in a 2 × 2 factorial experiment with three levels of ozone gas (zero, 20 and 30 ppm) and two levels of low fat (1.5 and 2% vegetable oil for growth and finishing periods respectively) and high fat (3 and 4% of vegetable oil for growth and finishing periods, respectively) were used in a completely randomized design with 6 treatments and 4 replications. Diets were ozonated for 120 minutes at concentrations of 20 and 30 ppm. Aflatoxin B1 levels, microbial papulation and the presence of fungi in the feed as well as oxidation of feed lipids in broiler chickens were assayed after ozonation.

Results: Aflatoxin B1 was not found in grower and finishe diets. The lipid oxidation in ozonated diets with 30 ppm was significantly higher than non-ozonated diets ($P<0.05$).

Conclusion: According to the results of this experiment, the use of ozone gas to disinfect the broiler chickens diets, despite the destruction and inactivation of microbes and fungi, increases the oxidation of dietary fats.

Keywords: Broilers, Diet, Feed quality, Microbial population, Ozone gas