

DECONTAMINAZIONE MEDIANTE OZONO DI CARCASSE DI POLLO REFRIGERATE

OZONE DECONTAMINATION OF CHILLED POULTRY CARCASSES

Cortesi M.L.¹, Sarno E.¹, Costanzo N.², Ferrante S.³, Santoro A.¹

Dipartimento di Scienze Zootecniche e Ispezione degli Alimenti, Università degli Studi di Napoli "Federico II"

²Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica "Gaetano Salvatore" Università degli Studi "Magna Græcia" di Catanzaro

³Medico Veterinario Libero Professionista

SUMMARY

Ozone is a strong oxidant and disinfecting agent. The bactericidal effects of ozone have been documented on a wide range of organisms, including Gram positive and Gram negative bacteria. In this study, the effect of treatment with gaseous ozone on microbial contamination (Total Aerobic Mesophilic and Psicrophilic Microorganism Count, Enterobacteriaceae, Total and Fecal Coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*) and sensory characteristics of poultry carcasses were investigated. N.50 carcasses were divided into two parts. The first batch was used as control and stored in a cool-room at 0-1°C; the second one was kept in another cool room, with the same dimensions and at the same temperature, provided with an ozone generator, working for 60 minutes every 4 hours in order to reach an ozone concentration of 0.4 ppm. Significant differences were found between the control batch and the treated one for Total Aerobic Counts (at 32° and 20°C) and Enterobacteriaceae. *Salmonella arizonae*, *Campylobacter fetus spp fetus* and *Listeria monocytogenes* were sometimes found in both batches. Acceptable sensory qualities were observed until day 14 and 20 after slaughter for the control and the treated batch, respectively.

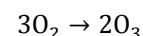
KEYWORDS

Poultry carcasses, Ozone, Decontamination.

INTRODUZIONE

Le strategie di intervento per il controllo dei microrganismi presenti negli alimenti sono oggetto di studio continuo in quanto trattamenti fisici, chimici e biologici, applicati tal quali o in combinazione, ne hanno mostrato l'efficacia ai fini del prolungamento della conservabilità (4). L'uso di sostanze diverse dall'acqua potabile o pulita, per ridurre la contaminazione microbica superficiale, è stato consentito con l'entrata in vigore del Regolamento (CE) n. 853/2004 (GUUE, 2004a) ma è comunque necessario presentare un dossier molto particolareggiato ed acquisire il parere favorevole dell'EFSA prima di qualsiasi reale utilizzo (4). A seguito dell'implicazione delle carni di pollo in casi di campilobatteriosi e salmonellosi (4) si è intensificato l'interesse verso proce-

dure di decontaminazione di queste carni anche mediante l'applicazione dell'ozono (O₃) in diverse concentrazioni e in diverse forme. Adoperato da tempo per usi non alimentari, l'O₃ è stato riconosciuto come GRAS (Generally Recognized As Safe) (3) nel 2000 e approvato come additivo, sia in fase gassosa che acquosa, per il trattamento e la conservazione di alimenti (3,2). A temperatura ambiente l'O₃ è un gas di colore blu, con un caratteristico odore pungente, descritto come simile ad "aria fresca dopo un temporale" (2). Si forma naturalmente da molecole di ossigeno (O₂) in prossimità di scariche elettriche, scintille, fulmini secondo la reazione



Sebbene a basse concentrazioni non sia tossico, ad alte concentrazioni può provocare severi di-

sturbi al sistema respiratorio e, in casi estremi, avere esito letale (2). È un potente ossidante (3), secondo solo al fluoro (Manley e Niegowski, 1967), e il suo effetto antimicrobico si esplica nei confronti delle componenti glicoproteiche e/o glicolipidiche della membrana della maggior parte dei batteri Gram positivi e negativi (spore e forme vegetative) comprendendo in tal modo anche i patogeni alimentari. Restaino et al. (1995) (2) ne hanno riportato l'efficacia nella distruzione di molti batteri potenzialmente patogeni, come *Escherichia coli* O157:H7 (3) ed hanno dimostrato che *Listeria monocytogenes* risulta la più sensibile tra tutti quelli studiati (*S. typhimurium*, *Y. enterocolitica*, *S. aureus*). Considerati quindi il frequente consumo di carni avicole e l'ingente contaminazione che si verifica nel corso della macellazione (5), scopo del presente lavoro è stato quello di valutare l'efficacia di un trattamento di decontaminazione con ozono, nei confronti di microrganismi responsabili di spoilage e di microrganismi potenzialmente patogeni eventualmente presenti, su carcasse avicole verificando parallelamente le eventuali modificazioni fisico-organolettiche indotte da tale trattamento.

MATERIALI E METODI

N. 50 broiler a pelle bianca della specie *Gallus gallus domesticus*, con caratteristiche omogenee e del peso medio di 2,5 kg, sono stati macellati in uno stabilimento campano riconosciuto e le carcasse sono state immediatamente trasferite in un vicino stabilimento CE, sede della sperimentazione. Le 50 carcasse sono state suddivise in due lotti, uno, conservato in una cella frigorifera (H: 3.60 m, D: 3.24 m, L: 1.32 m) dotata di teletermografo e settata a 0 -1°C (lotto controllo), l'altro, stoccato in una cella frigorifera delle stesse dimensioni, anch'essa dotata di teletermografo e settata a 0 -1°C, nella quale era stato installato un generatore di ozono gassoso (OZONET della OXITECH S.r.l., Pianezze) controllato da un timer funzionante per 60 minuti ogni 4 ore. La concentrazione di ozono all'interno della cella, fissata a 0.4 ppm, è stata monitorata da una sonda dotata di display esterno.

Per tutta la durata della sperimentazione sono state monitorate la temperatura all'interno delle celle frigorifere e la quantità di ozono. Ai giorni 0, 4, 6, 8, 11, 14 e 20 della sperimentazione si è proceduto al prelievo di tre unità campionarie da ciascun lotto. I campioni sono stati immediatamente trasportati, con contenitore isotermico refrigerato, al laboratorio di Microbiologia degli Alimenti "Teresa Sarli" (DISCIZIA) dove sono state effettuate valutazioni sensoriali e microbiologiche. Tutti i test

sensoriali sono stati effettuati da un panel di 5 persone valutando l'aspetto generale delle carcasse, l'odore e il colore della cute e, successivamente ai prelievi, la consistenza del tessuto muscolare e le caratteristiche delle superfici interne.

Per ciascuna carcassa il campionamento è stato condotto con metodo distruttivo, prelevando, mediante bisturi sterile, un'aliquota di cute dalla zona del collo, del piatto della coscia e del dorso, per un totale di 25g. Sono stati ricercati i seguenti microrganismi, impiegando i terreni di seguito indicati:

- Flora aerobia totale (F.A.T.) a 32°C, 20°C e 5°C (ISO 4833:2003);
- Enterobatteri totali (ISO 21528-1:2004);
- Coliformi totali e fecali *E.coli* (ISO 4831:1991);
- *Salmonella* spp. (UNI EN 12824: 1999);
- *Campylobacter* spp. (ISO 10272-1:2006);
- *Listeria monocytogenes* (UNI EN ISO 11290-1:1997).

L'identificazione è avvenuta sulla base della valutazione della morfologia della colonia, dell'osservazione al microscopio ottico, dopo colorazione di Gram, e della valutazione biochimica, mediante API 20 E®, API Campy® e ListeriaAPI® tests (bioMérieux), utilizzati secondo le istruzioni del produttore. I risultati sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA) e le differenze tra le medie sono state valutate mediante GraphPad Prism 5.1.

RISULTATI

L'analisi sensoriale, nel gruppo controllo, ha mostrato, al giorno 14, un generale scadimento delle caratteristiche organolettiche. Nelle carcasse sono state infatti evidenziate la presenza di piccole aree verdastre, persistente odore di stantio, ridotta elasticità del tessuto muscolare e patine microbiche in corrispondenza della regione ascellare. Il gruppo trattato con ozono ha presentato invece, alla medesima scadenza, un aspetto decisamente migliore ed è risultato ancora accettabile al giorno 20, non presentando odori sgradevoli né di stantio ma unicamente il caratteristico odore di ozono.

I risultati di alcuni controlli microbiologici sono riportati nei grafici 1-7, espressi come medie delle tre unità campionarie.

Il valore della F.A.T. a 32°C, che al giorno 0 era intorno a 5 Log UFC/g, ha raggiunto 8.23 Log UFC/g nel gruppo controllo e 7.47 Log UFC/g in quello trattato al giorno 14. Per la F.A.T. a 20°C, il valore iniziale, anch'esso intorno a 5 Log UFC/g, ha raggiunto, sempre al giorno 14, 8.23 Log UFC/g nel controllo e 7.85 Log UFC/g nel trattato.

La F.A.T. a 5° C , da 2,58 Log UFC/g al giorno

0, è giunta, al giorno 14, a 7.94 Log UFC/g nel controllo e a 7.73 Log UFC/g nel trattato. Gli Enterobatteri totali sono risultati pari a 3.33 Log UFC/g al giorno 0 mentre, al giorno 14, sono stati individuati i livelli di 6.70 Log UFC/g nel controllo e 4.87 Log UFC/g nel trattato. Coliformi totali, fecali ed *E. coli* sono stati tutti isolati a livelli di 1233.33 MPN/g al giorno 0 per poi passare, al giorno 14, rispettivamente a 5246.66, 94 e 5246.66 MPN/g nel lotto controllo e 250, 50, 250 MPN/g in quello trattato. *Salmonella spp.* è stata isolata in 2 campioni del lotto di controllo, al giorno 4 della sperimentazione, e in 3 campioni del lotto trattato, al giorno 11.

Grafico 1

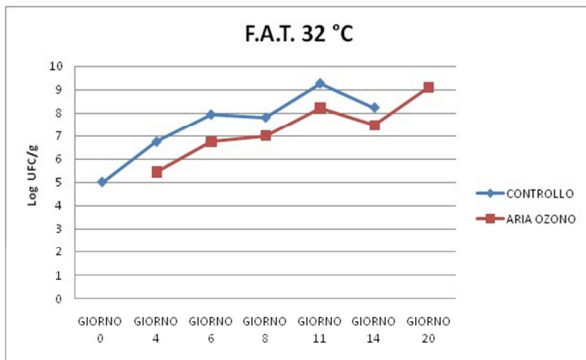


Grafico 2

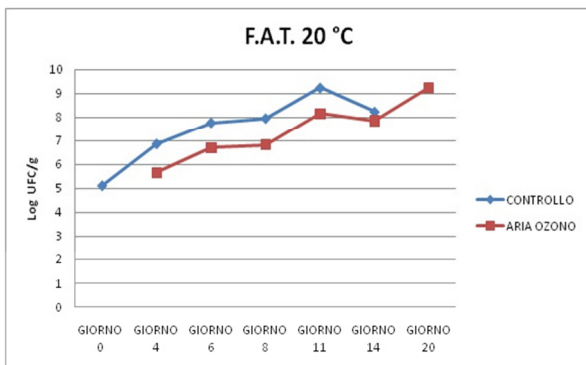
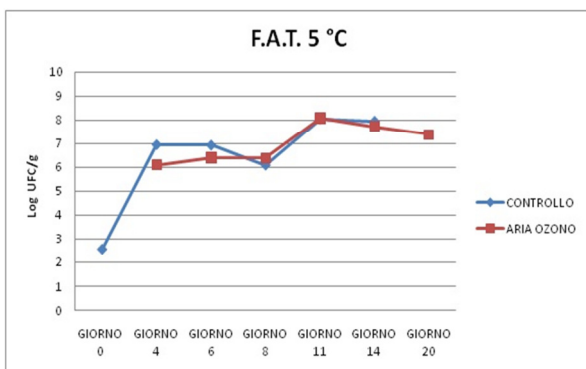


Grafico 3



Per tutti i campioni il sierotipo biochimicamente identificato è stato *Salmonella arizonae*. *Campylobacter spp* è stato isolato, nel lotto controllo, in 2 campioni al giorno 0 e in 1 campione

al giorno 6 e, per il lotto trattato, in 2 campioni al giorno 6 e in 3 al giorno 8.

Il sierotipo individuato è stato *Campylobacter fetus spp fetus*. *Listeria monocytogenes* è stata isolata al giorno 6 della sperimentazione in un campione di controllo e in uno sottoposto a ozonizzazione.

Grafico 4

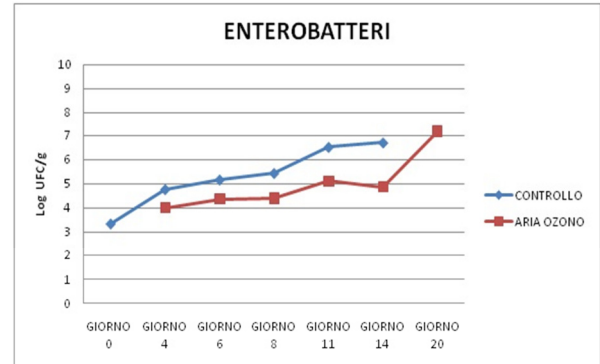


Grafico 5

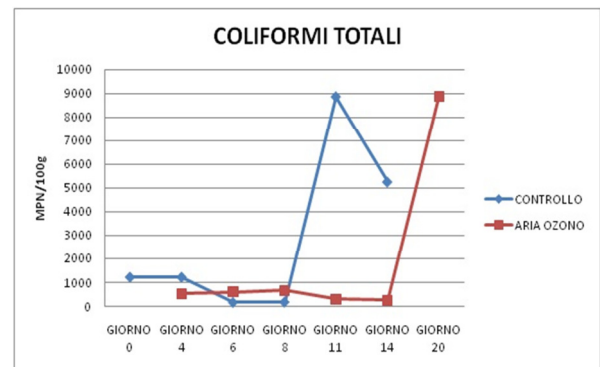


Grafico 6

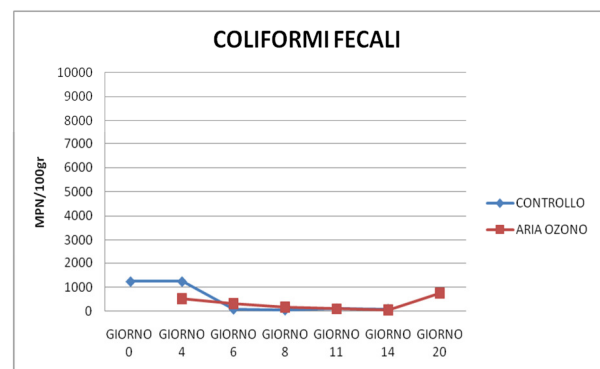
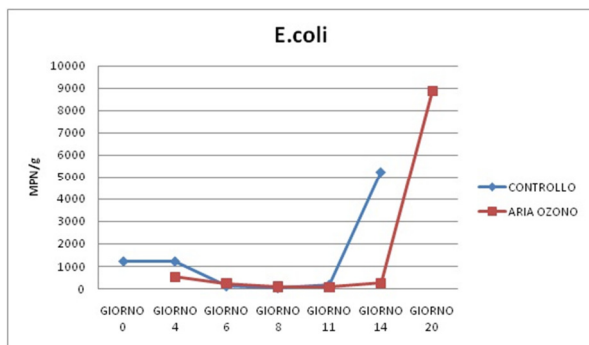


Grafico 7

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

Dall'analisi microbiologica emerge una differenza significativa ($p < 0.05$) tra il lotto trattato e il lotto di controllo per i risultati relativi alla F.A.T. a 32°C ed a 20°C. Per entrambi i parametri i valori riscontrati sono sempre stati più contenuti nel lotto trattato rispetto a quello di controllo, nel quale sono stati osservati i valori massimi di contaminazione già al giorno 11. I livelli della F.A.T. a 5°C hanno invece mostrato un andamento sovrapponibile per entrambi i lotti. Il numero degli Enterobatteri totali è risultato decisamente più contenuto nel lotto trattato, pur mostrando un deciso incremento al giorno 20. Anche in questo caso il grado di contaminazione dei due lotti è stato significativamente diverso ($p < 0,05$). In entrambi i lotti i valori di Coliformi totali, fecali ed *E. coli* non hanno mostrato differenze significative, mostrando livelli contenuti nei primi giorni della sperimentazione per poi subire un deciso aumento a partire dal giorno 11. L'inefficacia del trattamento con ozono nei confronti della contaminazione da coliformi è in linea con quanto evidenziato in altre ricerche (7).

I livelli microbici più contenuti del lotto trattato sono da ritenersi dovuti non solo all'effetto dell'ozono, il cui effetto battericida e/o batteriostatico su flora contaminante e deteriorante è stato peraltro ampiamente confermato (6), ma anche ad una costante temperatura di refrigerazione vicina a 0°C. Questa considerazione è confermata dal fatto che in un lotto di carcasse, trattato in precedenza, il cui stoccaggio, per problemi tecnici, era di fatto avvenuto a circa 4°C, non erano state rilevate sostanziali differenze fra soggetti trattati e non.

L'isolamento di *Salmonella arizonae*, *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter fetus spp fetus* anche nel lotto trattato conferma sia la contaminazione delle carcasse, peraltro frequentemente segnalata, da parte di potenziali patogeni sia le difficoltà connesse alla loro eliminazione. La decontaminazione può essere pertanto considerata non una misura primaria ma solo

aggiuntiva nella riduzione della contaminazione superficiale e deve sempre seguire ad una corretta applicazione di tutte le misure di gestione della sicurezza alimentare, con un'attenzione particolare nei riguardi delle fasi più critiche. Anche Wagenaar et al. (2006) ritengono, ad esempio, che la misura più efficace adottabile per il controllo di *Campylobacter spp.*, durante la macellazione del pollame, è la riduzione della contaminazione fecale durante le fasi di scottatura e spennatura, seguita da applicazioni di tecniche di decontaminazione fisica o chimica.

I risultati ottenuti nel corso della presente ricerca permettono di concludere, in linea generale, che il trattamento con ozono si è dimostrato valido nel prolungare la shelf-life delle carcasse, dal punto di vista microbiologico e organolettico, fino al giorno 20, data alla quale, nelle condizioni sperimentali descritte, le carcasse sono state considerate ancora accettabili in quanto non erano rilevabili odori anomali persistenti e modifiche cromatiche della cute, ma solo aree con una lieve disidratazione superficiale. Difficile è risultata una corretta comparazione con i risultati di altre ricerche a causa delle diversità nelle modalità di applicazione (acqua ozonizzata o ozono in forma gassosa) (3), dei tempi di esposizione all'ozono e delle tipologie di carni sottoposte a trattamento.

BIBLIOGRAFIA

1. Marianne Loretz, Roger Stephan, Claudio Zweifel (2010). Antimicrobial activity of decontamination treatments for poultry carcasses: A literature survey. *Food Control* 21 (2010) 791–804
2. Zeynep B. Guzel-Seydima., Annel K. Greeneb, A. C. Seydim. (2003). Use of ozone in the food industry. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 37 (2004) 453–460
3. Coll Cárdenas, F., Andrés, S., Giannuzzi, L., Zaritzky, N. (2011). Antimicrobial action and effects on beef quality attributes of a gaseous ozone treatment at refrigeration temperatures, *Food Control* (2011), doi: 10.1016/j.foodcont.2011.03.006
4. Marta Hugas, Eirini Tsigarida (2007). Pros and cons of carcass decontamination: The role of the European Food Safety Authority. *Meat Science* 78 (2008) 43–52
5. Canan Hecer1, Faruk Balci2, and Cevahir Duygu Udum (2007). The Effects of Ozone and Chlorine Applications on Microbiological Quality of Chickens During Processing *J. BIOL. ENVIRON. SCI.*, 2007, 1(3), 131-138
6. J. C. Nieto, F. Jimnez-Colmenero and Ma. C. Pelàez (1984), Effect of ozone on bacterial