تأثیر آب الکترولیز شده خنثی و اسید سیتریک بر کاهش بار باکتریایی میگو در طی نگهداری در دمای معمولی و یخچال و بررسی اثر باکتری‌کشی آن بر سطوح کار

سیاوش مکتبی[۱*]، علی فضل‌آرا[۲] و شیرین محمدیاری[۳]

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۲

چکیده

مواد ضدعفونی‌کننده نقش مهمی را در کنترل باکتری‌های عامل فساد و بیمای‌زا در صنایع غذایی دارند. آب الکترولیز شده به عنوان یک ضدعفونی‌کننده‌ی جدید در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. این ضدعفونی کننده ایمن، بی‌خطر و ارزان روی بسیاری از باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها مؤثر است. این مطالعه در دو بخش انجام گرفت. در مطالعه‌ی نخست، تأثیر آب الکترولیز خنثی (NEW)، اسید سیتریک ۱ درصد، ترکیب آب الکترولیز خنثی و اسید سیتریک ۱ درصد بر کاهش بار باکتریایی میگو مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های میگو به طور جداگانه به مدت ۳۰ دقیقه تحت درمان تیمارهای مختلف قرار گرفتند و در دمای ۴، ۲۵ و ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری و از آن‌ها در زمان‌های متفاوت جهت شمارش باکتری‌های مزوفیل و سایکروفیل نمونه‌برداری صورت گرفت. در مطالعه‌ی دوم اثر آب الکترولیز خنثی و نیز ترکیب آن و اسید سیتریک ۱ درصد در کاهش میزان دو باکتری بیماری‌زا (*اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسایتوژنز*) روی سطوح سرامیک و استیل ضد زنگ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ترکیب آب الکترولیز خنثی و اسید سیتریک ۱ درصد نسبت به سایر تیمارها بیش‌ترین تأثیر را در کاهش جمعیت مزوفیل و سایکروفیل نمونه‌های میگو داشت. همچنین بهترین کارآیی در کاهش باکتری *اشریشیا کلی* با ترکیب آب الکترولیز خنثی و اسید سیتریک ۱ درصد روی سطح استیل به دست آمد. در حالی که در مورد *لیستریا مونوسایتوژنز* آب الکترولیز خنثی نسبت به ترکیب آب الکترولیز خنثی و اسید سیتریک ۱ درصد روی دو سطح اثر یکسانی داشت.

کلمات کلیدی: آب الکترولیز شده، ضدعفونی، میگو، استیل، سرامیک

مقدمه

کنترل میکروبی مواد غذایی جهت حفظ ایمنی و کیفیت مواد غذایی توسط ضدعفونی کننده‌های جدید یکی از اولویت‌های صنایع غذایی است (Allende et al. 2006). آب الکترولیز شده (Electrolyzed water) جزء ضدعفونی کننده‌های نسل جدید است که مطالعات صورت گرفته نشان داده است که دارای خاصیت میکروب‌کشی، ویروس‌کشی و قارچ‌کشی است. با بهبود تجهیزات تولید آب الکترولیز شده این محلول به عنوان یک تیمار غیرحرارتی برای کنترل بهداشتی مواد غذایی استفاده شده است (Yoshida et al. 2003). در سال‌های اخیر استقبال فراوانی برای استفاده از این ضدعفونی کننده در صنایع مختلفی چون کشاورزی، غذا، پزشکی و دندانپزشکی شده است (Huang et al. 2008). مراجع بین‌المللی مانند آژانس حفاظت از محیط زیست آمریکا (EPA) و سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) استفاده از آب الکترولیز شده را برای شستشوی مواد غذایی فراوری

[۱*] دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز E-mail: s.maktabi @scu.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)

[۲] استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

[۳] دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد بهداشت مواد غذایی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

نشده، شستشوی میوه‌ها و سبزیجات و نیز به صورت اسپری و غوطه‌وری برای تیمار گوشت گاو، مرغ و خوک قبل از فراوری بلامانع اعلام کرده‌اند (USDA, 2015 و FDA, 2015).

تا کنون تحقیقاتی در خصوص تأثیر انواع آب الکترولیز شده خصوصاً آب الکترولیز اسیدی بر حذف و یا کاهش باکتری‌های پاتوژن و یا بار میکروبی انواع مواد غذایی از جمله قارچ صدفی (Ding et al. 2011)، اسفناج (Rahman et al. 2010)، میگو (Xie et al. 2012)، ماهی کپور (Mahmoud et al. 2004)، تخم‌مرغ (Russel 2003) و سطوح مرتبط با مواد غذایی (Guentzel et al. 2008) صورت گرفته است که بیان‌گر کاربردی بودن این روش جهت کنترل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای مولد فساد مواد غذایی است.

آب الکترولیز شده درون ژنراتور مخصوص و با اضافه کردن نمک و آب و در نتیجه‌ی یکسری واکنش‌ها بین آب و نمک تولید می‌شود. به طور کلی با این روش می‌توان ۳ نوع محلول تولید کرد. محلول اول دارای pH بالای ۱۱ و پتانسیل اکسیداسیون-احیا کم‌تر از ۸۰۰ میلی‌ولت می‌باشد و آب الکترولیز قلیایی (AlEW) Alkaline electrolyzed water نامیده می‌شود، محلول دوم دارای pH حدود کم‌تر از ۲/۷ و پتانسیل اکسیداسیون-احیای بالای ۱۱۰۰ میلی‌ولت است و آب الکترولیز اسیدی یا Acidic electrolyzed water (AcEW) نامیده می‌شود. آب الکترولیز اسیدی دارای مقداری کلر آزاد (ppm ۸۰-۱۰) و اسید هیپو کلروس بوده و نسبت به آب الکترولیز قلیایی اثر ضدمیکروبی بیش‌تری دارد (Fabrizio and Cutter 2005, Huang et al. 2008) و محلول سوم که به نام آب الکترولیز شده خنثی Neutral Electrolyzed Water (NEW) شناخته می‌شود با روشی مشابه آب الکترولیز شده اسیدی تولید شده اما بعد از تولید به مقدار اندکی با یون هیدروکسید مخلوط می‌گردد. این محلول نیز با pH نزدیک به ۷، اثر باکتریوسیدی داشته که به علت وجود پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، یون پراکسید (O_2)، هیپوکلریت (ClO^-) و هیپوکلروس اسید (HOCl) است. به طور کلی تولید آب الکترولیز شده اثر سوئی بر محیط زیست ندارد (Kim et al. 2000). فاقد باقی‌مانده‌ی شیمیایی است (Park et al. 2009). برای سلامتی انسان مضر نیست (Huang et al. 2008) و بافت، ترکیب و طعم ماده‌ی غذایی را تغییر نمی‌دهد که این بر روش‌های حرارتی ارجحیت دارد (Yoshida et al. 2003).

هدف این مطالعه بررسی کارایی آب الکترولیز خنثی که اخیراً در ایران تولید و عرضه شده است بر کاهش بار باکتریایی میگوهای نگهداری شده در دمای یخچال و دمای محیط و نیز بررسی تأثیر آن بر کنترل دو نوع باکتری پاتوژن (*اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسایتوژنز*) در سطوح کار می‌باشد. علاوه بر این، چون استفاده از اسید سیتریک به عنوان طعم‌دهنده‌ی خوراکی و بی‌ضرر در مواد غذایی مرسوم است و بررسی‌های انجام شده نیز نشان داده است که ترکیب این اسید با آب الکترولیز شده اثر مضاعفی بر کنترل میکروارگانیسم‌ها دارد (Park et al. 2009). لذا در این مطالعه، اثرات هم‌افزایی این اسید با آب الکترولیز شده بر بار میکروبی میگوهای نگهداری شده در یخچال و دمای محیط نیز مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش کار

میگوی مورد نیاز (*Metapenaeus affinis*) با وزن تقریبی ۱۲-۱۰ گرم که از خلیج‌فارس صید شده بود در روز انجام آزمایش به صورت تازه از یک عرضه کننده‌ی معتبر در سطح بازار به صورت پوست کنده تهیه شد. میگوها سریعاً در شرایط سرد به آزمایشگاه بهداشت دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انتقال داده شدند. میگوها در زیر شیر آب شسته و سپس در سبدی پلاستیکی که توسط اشعه‌ی ماوراء بنفش ضدعفونی شده بود، قرار داده شدند تا آب اضافه‌ی آن‌ها خارج گردد.

جهت انجام این مطالعه از چهار محلول تیمار شامل، آب الکترولیز خنثی، آب دیونیزه حاوی ۱ درصد اسید سیتریک، آب الکترولیز خنثی و اسید سیتریک ۱ درصد و آب دیونیزه استریل به عنوان شاهد استفاده گردید. جهت این کار، آب الکترولیز شده خنثی تولید شرکت خسرو مدیسا طب (تهران، ایران) مورد استفاده قرار گرفت. محلول تازه تولیدی توسط شرکت مربوطه پس از تعیین خصوصیاتی مانند پتانسیل اکسیداسیون- احیا (Oxidation-reduction potential (ORP)، pH و میزان کلر آزاد Available free chlorine (AFC) در بسته‌های چهار لیتری با درب پلمپ شده به اهواز ارسال و مورد استفاده قرار می‌گرفت. با توجه به این که در این مطالعه از رقت ۱۰۰ppm کلر در محلول استفاده گردید، لذا قبل از استفاده ابتدا میزان کلر ضدعفونی کننده با استفاده از کیت کلر (شرکت کاریزآب، ایران) اندازه‌گیری شد و سپس با اضافه کردن مقادیر محاسبه شده آب مقطر، غلظت ۱۰۰ppm کلر به دست می‌آمد و همواره در آزمایش‌ها از همین رقت استفاده می‌گردید. میزان فاکتور-های فوق در محلول نهایی مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: میزان فاکتورهای مختلف آب الکترولیز شده مورد استفاده

فاکتور	مقدار
pH	6.8 ± 2
ORP	830 ± 5
AFC	100 ppm

جهت تهیه‌ی آب دیونیزه حاوی اسید سیتریک ۱ درصد مقدار ۱۰ گرم پودر اسید سیتریک مونو هیدرات (مرک، آلمان) با آب دیونیزه استریل به حجم ۱ لیتر رسید و با رعایت تمامی شرایط استریل کاملاً حل گردید. برای تهیه‌ی ترکیب آب الکترولیز خنثی و اسید سیتریک ۱ درصد، ده گرم پودر اسید سیتریک با آب الکترولیز شده با غلظت ppm ۱۰۰ کلر، به حجم ۱ لیتر رسانده شد و تحت شرایط استریل کاملاً حل گردیدند. آب دیونیزه مورد استفاده نیز از ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه استریل تولید شده در دانشکده دامپزشکی استفاده شد.

میگوهای پوست کنده و آماده به چهار گروه مساوی نیم کیلویی تقسیم شدند. هر گروه به طور جداگانه در یک لیتر از محلول‌های ۴ گانه‌ی فوق به مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۲۵ درجه غوطه‌ور شدند. سپس درون یک آبکش استریل آبکشی شده و درون ظروف PVC (Polyvinyl chloride) درب‌دار که با اشعه‌ی UV زیر هود استریل شده بودند، قرار گرفتند.

بسته‌های میگوی تیمار شده در یخچال ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز نگه‌داری شدند. در روزهای ۰، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ از بسته‌ها نمونه‌برداری و شمارش باکتری‌های مزوفیل و باکتری‌های سایکروفیل به عمل آمد. تمامی مراحل جهت اطمینان ۳ بار تکرار گردید.

جهت بررسی در دمای محیط ۲۵ و ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد نیز تمامی مراحل بالا صورت گرفت و این بار بسته‌ها در ۲ دمای ۲۵ و ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری و در ساعت‌های ۰، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ نمونه‌برداری صورت گرفت و باکتری‌های مزوفیل و سایکروفیل شمارش شدند. تمامی مراحل جهت اطمینان ۳ بار تکرار گردید.

برای انجام شمارش باکتریایی، تحت شرایط استریل درب بسته پلاستیکی باز و میزان ۱۰ گرم از گوشت میگو جدا و همراه ۹۰ سی‌سی سرم فیزیولوژی استریل کاملاً هموژن گردید تا رقت ۰/۱ به دست آید. سپس رقت‌های چند مرحله‌ای بر اساس روش APHA (American Public Health Association) تهیه گردید. طبق روش استاندارد از هر رقت میزان ۱۰۰ میکرولیتر روی پلیت حاوی محیط کشت آگار مغذی به صورت چمنی کشت داده شد و پلیت‌ها پس از خشک شدن به صورت

معکوس جهت طی دوره‌ی انکوباسیون در دمای مورد نظر انکوبه شدند. شرایط انکوباسیون برای شمارش باکتری-های معتدل‌دوست، مدت زمان ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و برای باکتری‌های سرمادوست ۷ روز در دمای ۷ درجه‌ی سانتی‌گراد بود. تمامی نتایج حاصل بر اساس لگاریتم واحد تشکیل دهنده‌ی کلونی بر گرم Colony Forming Unit (CFU) گزارش گردید.

به منظور بررسی تأثیر محلول ضدعفونی کننده بر باکتری‌های پاتوژن سطوح کار مرتبط با مواد غذایی، تعدادی قطعات سرامیک ضداسید و استیل زنگ نزن به ابعاد ۵ در ۵ سانتی‌متری تهیه شدند. طبق روش Phuvasate و Su در سال ۲۰۱۰ این قطعات ابتدا با آب و سپس با الکل ۷۰ درصد شسته شدند. قطعات پس از خشک شدن جهت استریلیزاسیون درون کاغذ الگو پیچیده شده و در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند. برای اطمینان از استریل بودن سطوح، یکی از قطعات انتخاب و با سواپ استریل طبق روش Deza و همکاران در سال ۲۰۰۵ از آن نمونه‌برداری به طریقه‌ی جارو کردن به عمل آمده و به درون محیط کشت انتقال داده شد. سپس عدم رشد کلنی باکتریایی در طی ۵ روز مورد بررسی قرار گرفت.

جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی و تهیه میزان تلقیح اولیه باکتری، باکتری‌های *لیستریا مونوسایتوژنز* (ATCC 7644) و *اشریشیا کلی* O157:H7 (ATCC 43895) که به صورت کشت ذخیره حاوی گلیسرول در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری می‌شد، جهت فعال‌سازی به محیط TSB (مرک- آلمان) منتقل و به مدت ۲۰ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

به منظور آماده کردن مایه‌ی تلقیح، میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت حاوی میکروارگانیسم فعال شده مورد آزمایش به ۵ میلی‌لیتر محیط TSB تلقیح شد و در دمای ۳۵°C انکوبه شد و بعد از گذشت ۲۴ ساعت این اقدام مجدداً تکرار و سپس اقدام به رقیق‌سازی متوالی و کشت سطحی روی محیط کشت TSA (مرک- آلمان) گردید. پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۶ ساعت انکوبه شدند. پس از شمارش کلنی‌ها، تعداد باکتری‌های زنده در هر میلی‌لیتر محیط کشت محاسبه گردید. این آزمایش در سه تکرار انجام گردید. با این عمل، تعداد باکتری‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* و *اشریشیا کلی* O157:H7 پس از دو بار کشت ۲۴ ساعته مشخص گردید و جهت انجام آزمایشات بعدی با رقیق‌سازی، سوسپانسیون باکتریایی مورد نظر تلقیح (10^7 واحد تشکیل دهنده‌ی کلنی در میلی‌لیتر) تهیه شد.

برای انجام آزمایش ابتدا سطح هود با الکل ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد کاملاً تمیز و ضدعفونی شد. سپس تعداد مورد نیاز قطعه ورق استیل یا سرامیک روی سطح چیده و میزان ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری در مرکز هر کدام از آن‌ها قرار گرفت. لازم به ذکر است که برای هر تیمار در سه زمان متفاوت و برای انجام سه تکرار هر بار از ۹ قطعه استفاده شد. سپس با آنس استریل سوسپانسیون تلقیح شده در محدوده‌ی یک سانتی‌متر در یک سانتی‌متر روی قطعه کاملاً پخش شد. تمامی قطعات تلقیح شده سپس به مدت ۴۵ دقیقه تحت شرایط استریل در فضای هود بسته نگهداری شدند. جهت بررسی تأثیر محلول ضدعفونی‌کننده به طور جداگانه با آب‌پاش دستی استریل حاوی یکی از محلول‌های تیماری به میزان ۲ پاشش (حدوداً یک میلی‌لیتر) روی هر کدام اسپری شد. پس از گذشت ۵، ۱۰، ۱۵ دقیقه با سواپ استریل محل اسمیر از روی قطعات به طور کامل جارو شده و سواپ‌ها به درون لوله‌های حاوی ۱۰ سی‌سی سرم فیزیولوژی انتقال داده شدند. سپس از این لوله‌ها به روش معمول، رقت‌های متوالی تهیه شد و از هر رقت میزان ۱۰۰ میکرولیتر برداشت و روی محیط کشت نوترینت آگار ریخته و کشت داده شد. پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد

قرار داده شد و پس از گذشت ۲۴ ساعت، تعداد کلنی‌های رشد یافته شمارش شدند. لازم به ذکر است، تمامی مراحل فوق در خصوص باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسایتوژنز* به طور جداگانه و روی سطوح سرامیک و استیل انجام شد. تمامی آزمایشات نیز جهت اطمینان از صحت نتایج ۳ بار تکرار گردید.

در این پژوهش، به منظور خلاصه و دسته‌بندی کردن اطلاعات، از آمار توصیفی و به شکل محاسبه شاخص‌های پراکندگی مرکزی و پراکندگی (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شده است. در همین راستا، برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2013 استفاده شد. کلیه‌ی عملیات آماری با استفاده از نسخه ۲۱ نرم‌افزار SPSS با استفاده از آزمون Repeated Measures برای میگو و ANOVA یک طرفه برای سطوح در سطح معنی‌داری $P\leq ۰/۰۵$، انجام گرفت.

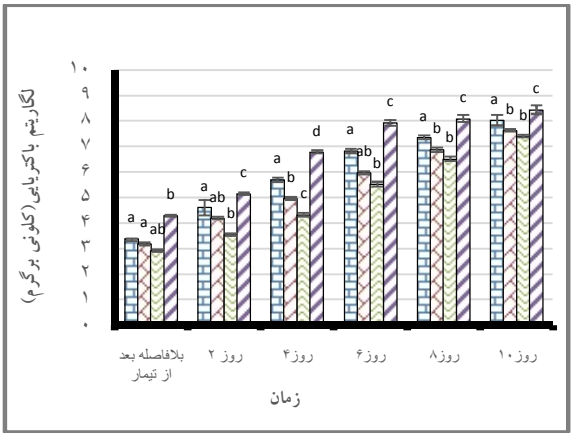
نتایج

نتایج شمارش باکتری‌ها در میگوهای تیمارشده

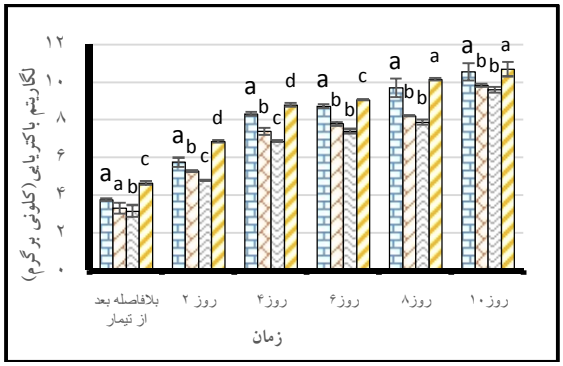
نتایج شمارش باکتری‌های مزوفیل و سایکروفیل در دماهای مختلف در نمودارهای ۱ تا ۶ آورده شده است. نمودار ۱ و ۲ نشان می‌دهند که میانگین بار باکترهای مزوفیل و سایکروفیل در کل دوره روندی افزایشی داشته و بیش‌ترین میزان بار باکتریایی مزوفیل‌ها بعد از ۱۰ روز نگهداری میگوها در دمای یخچال (۴ درجه‌ی سانتی‌گراد) log (cfu/gr) ۸/۴۶ و مربوط به گروه کنترل و کم‌ترین میزان آن log ۷/۴۳ و مربوط به تیمار ترکیبی آب الکترولیز خنثی و اسید سیتریک ۱ درصد می‌باشد. این ارقام برای سایکروفیل‌ها ۱۰/۷۲ برای گروه کنترل و ۹/۶۲ مربوط به تیمار ترکیبی آب الکترولیز خنثی و اسید سیتریک ۱ درصد می‌باشد. با توجه به نمودارها مشخص می‌گردد که از روز ششم تا دهم نیز تعداد باکتری‌های مزوفیل و سایکروفیل افزایش چشمگیری در همه‌ی گروه‌های تیمار و کنترل داشته است.

چنانچه در نمودارهای ۳ و ۴ دیده می‌شود میانگین تعداد باکترهای مزوفیل و سایکروفیل در میگوهای نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد نیز مجموعاً روندی افزایشی داشته است. تعداد اولیه‌ی باکتری‌ها حدود $۵/۵\times۱۰^{۴}$ بوده و بیش‌ترین میزان بار باکتریایی مزوفیل‌ها بعد از ۱۲ ساعت نگهداری، log ۸/۱۱ و مربوط به گروه کنترل و کم‌ترین میزان آن log ۶/۱۶ و مربوط به تیمار ترکیبی آب الکترولیز خنثی و اسید سیتریک ۱ درصد می‌باشد. این ارقام برای سایکروفیل‌ها ۷/۴ برای گروه کنترل و ۵/۶۲ مربوط به تیمار ترکیبی آب الکترولیز خنثی و اسید سیتریک ۱ درصد می‌باشد.

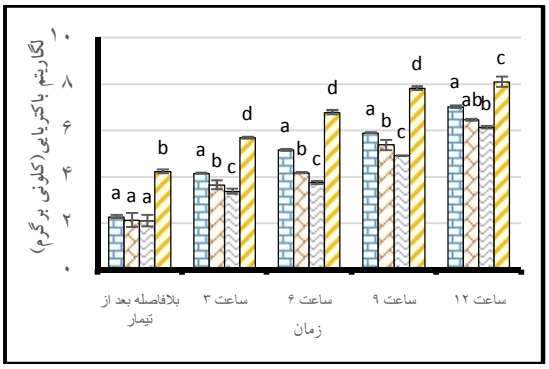
نمودارهای ۵ و ۶ نیز مشخص می‌کنند که به طور مشابه میانگین تعداد باکترهای مزوفیل و سایکروفیل در میگوهای نگهداری شده در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد رو به افزایش است. بیش‌ترین میزان بار باکتریایی مزوفیل‌ها بعد از ۱۲ ساعت نگهداری، log ۹/۲۵ و مربوط به گروه کنترل و کم‌ترین میزان آن log ۸/۱۸ و مربوط به تیمار ترکیبی آب الکترولیز خنثی و اسید سیتریک ۱ درصد می‌باشد. این ارقام برای سایکروفیل‌ها ۸/۹۴ برای گروه کنترل و ۷/۷۷ مربوط به تیمار ترکیبی آب الکترولیز خنثی و اسید سیتریک ۱ درصد می‌باشد.



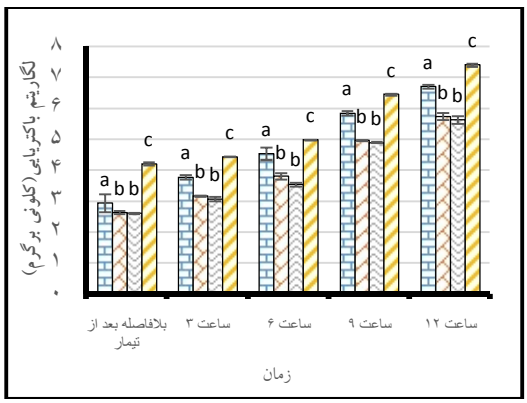
نمودار ۱: تغییرات میانگین و انحراف معیار شمارش باکتری‌های مزوفیلیک در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد در ۴ گروه تیماری



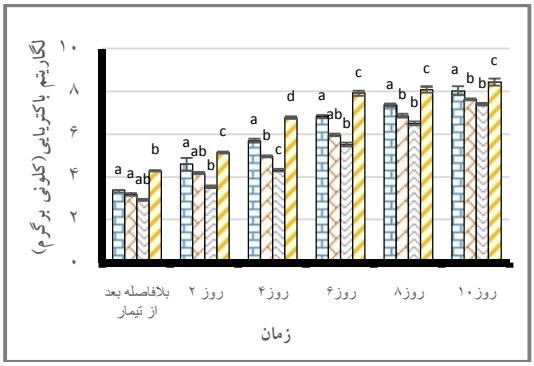
نمودار ۲: تغییرات میانگین و انحراف معیار شمارش باکتری‌های سایکروفیلیک در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد در ۴ گروه تیماری



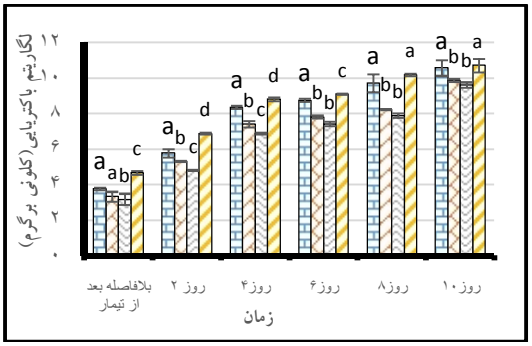
نمودار ۳: تغییرات میانگین و انحراف معیار شمارش باکتری-های مزوفیلیک در ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در ۴ گروه تیماری



نمودار ۴: تغییرات میانگین و انحراف معیار شمارش باکتری-های سایکروفیلیک در ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در ۴ گروه تیماری



نمودار ۵: تغییرات میانگین و انحراف معیار باکتری‌های مزوفیلیک در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد در ۴ گروه تیماری



نمودار ۶: تغییرات میانگین و انحراف معیار شمارش باکتری‌های سایکروفیلیک در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد در ۴ گروه تیماری

ستون ۱: الکترولیز خنثی، ستون ۲: آب دیونیزه + اسید سیتریک، ستون ۳ : آب الکترولیز + اسید سیتریک، ستون ۴ : آب دیونیزه.
وجود حروف غیرمشابه در هر زمان نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (توضیح مربوط به نمودارهای ۱ تا ۶ می‌باشد).

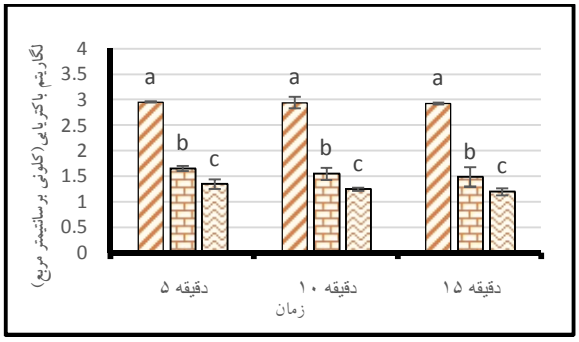
نتایج میانگین حاصل از ۳ بار تکرار به همراه انحراف معیار شمارش باکتری *اشریشیا کلی* تلقیح شده روی سطح استیل در دقایق مختلف در نمودار ۷ آورده شده است. چنانچه در نمودار دیده می‌شود، تیمار با آب الکترولیز خنثی به تنهایی و یا همراه با اسید سیتریک باعث کاهش بیش از log ۱/۵ در تعداد این باکتری پاتوژن پس از ۵ دقیقه شده است. در آزمون آنوای یک طرفه در دقیقه ۵، ۱۰ و ۱۵ تأثیر سه تیمار روی باکتری، اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌ها نشان داد. در دقیقه‌ی ۵ در تیمار با آب الکترولیز خنثی میزان log ۱/۶۶، در تیمار آب الکترولیز خنثی+ اسید سیتریک log ۱/۳۵ و در تیمار با آب دیونیزه میزان log ۲/۹۶ روی سطح شمارش شد. آنالیز آماری با

آزمون Duncan نشان داد که در دقیقه‌ی ۵، ۱۰ و ۱۵ آب الکترولیز خنثی در مقایسه با آب الکترولیز خنثی + اسید سیتریک و آب دیونیزه اختلاف معنی‌داری را دارد (P<۰/۰۵). نمودار ۸ نتایج حاصل از ضدعفونی این باکتری را بر سطح سرامیک نشان می‌دهد. چنانچه دیده می‌شود تأثیر تیمار بر این باکتری روی سطح سرامیک کاهش یافته است. در آزمون آنوای یک‌طرفه در دقیقه ۵، ۱۰ و ۱۵ تأثیر سه تیمار روی باکتری، اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌ها نشان داد. در دقیقه‌ی ۵ در تیمار با آب الکترولیز خنثی میزان log ۱/۸۵، در تیمار آب الکترولیز خنثی+ اسید سیتریک log ۱/۸۰ و در تیمار با آب دیونیزه میزان log ۲/۹۵ روی سطح شمارش شد. آنالیز آماری با آزمون Duncan نشان داد که در دقیقه‌ی ۵ آب الکترولیز خنثی در مقایسه با آب دیونیزه اختلاف معنی‌داری را دارد (P<۰/۰۵). در دقیقه‌ی ۵ اختلاف معنی‌داری بین آب الکترولیز خنثی با آب الکترولیز خنثی + اسید سیتریک دیده نشد (P>۰/۰۵). در دقیقه‌ی ۱۰ و ۱۵، آزمون Duncan اختلاف معنی‌داری بین آب الکترولیز خنثی با آب دیونیزه نشان داد (P<۰/۰۵). در این دقیقه، اختلاف معنی‌داری بین آب الکترولیز خنثی و آب الکترولیز خنثی + اسید سیتریک دیده نشد.

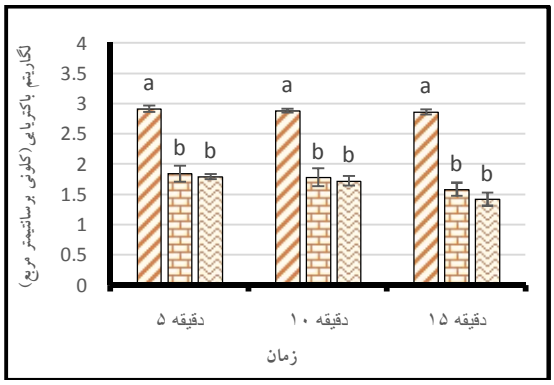
در دقیقه‌ی ۱۵، اختلاف معنی‌داری بین آب الکترولیز خنثی با آب دیونیزه و آب الکترولیز خنثی+ اسید سیتریک و آب دیونیزه دیده شد (P<۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری بین آب الکترولیز خنثی و آب الکترولیز خنثی + اسید سیتریک دیده نشد (P>۰/۰۵).

نتایج میانگین حاصل از ۳ بار تکرار به همراه انحراف معیار شمارش باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* تلقیح شده روی سطح استیل در دقایق مختلف در نمودار ۹ آورده شده است. بر خلاف *اشرشیاکلی* به نظر می‌رسد لیستریا نسبت به تیمار با آب الکترولیز خنثی و یا ترکیب آن با اسید سیتریک مقاومت بیش‌تری دارد. چنانچه در نمودار دیده می‌شود تیمار با آب الکترولیز خنثی به تنهایی و یا همراه با اسید سیتریک باعث کاهش حدود log ۰/۵ در تعداد این باکتری پاتوژن پس از ۱۰ دقیقه شده است. شمارش باکتری در دقیقه‌ی ۵ در تیمار با آب الکترولیز خنثی میزان log ۲/۸۰، در تیمار آب الکترولیز خنثی+ اسید سیتریک log ۳/۰۵ و در تیمار با آب دیونیزه میزان log ۳/۳۸ روی سطح را نشان داد. آنالیز آماری داده‌های حاصل از این آزمایش نیز با استفاده از آزمون آنوای یک طرفه و Duncan انجام شد. در دقیقه‌ی ۵ و ۱۰ یک اختلاف معنی‌دار بین آب الکترولیز خنثی با آب الکترولیز خنثی + اسید سیتریک و آب دیونیزه وجود داشت (P<۰/۰۵) . در دقیقه‌ی ۱۵، اختلاف معنی‌دار بین آب الکترولیز خنثی + اسید سیتریک با آب دیونیزه وجود داشت. اختلاف معنی‌داری نیز در همین زمان بین آب الکترولیز خنثی با آب الکترولیز خنثی + اسید سیتریک و آب دیونیزه دیده شد (P<۰/۰۵).

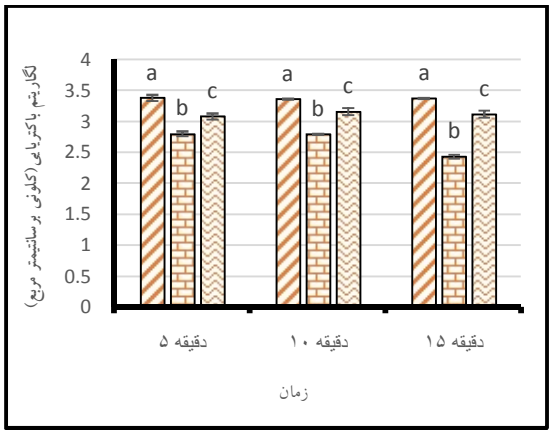
تیمار باکتری روی سطح سرامیک نیز نتایج تقریباً مشابهی را نشان داد. با این همه، اختلاف معنی‌دار بین گروهی در سه بازه‌ی زمانی دیده شد. نتایج در نمودار ۱۰ آورده شده است. در دقیقه‌ی ۵ در تیمار با آب الکترولیز خنثی میزان log ۳/۱۷، در تیمار آب الکترولیز خنثی+ اسید سیتریک log ۳/۶۴ و در تیمار با آب دیونیزه میزان log ۳/۶۱ روی سطح شمارش شد. نتایج حاصل از آزمون Duncan نشان دهنده‌ی وجود یک اختلاف معنی-دار در دقیقه‌ی ۵ و ۱۰ بین آب الکترولیز خنثی و آب الکترولیز خنثی + اسید سیتریک بود. اختلاف معنی‌داری بین آب الکترولیز خنثی و آب دیونیزه در هر سه زمان دیده شد (P<۰/۰۵).



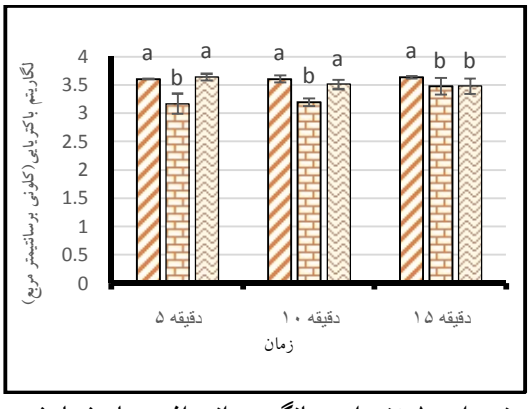
نمودار ۷: تغییرات میانگین و انحراف معیار شمارش باکتری *اشریشیا کلی* روی سطح استیل



نمودار ۸ : تغییرات میانگین و انحراف معیار شمارش باکتری *اشریشیا کلی* روی سطح سرامیک



نمودار ۹: تغییرات میانگین و انحراف معیار شمارش باکتری *لیستریا مونوسایتوژنز* روی سطح استیل



نمودار ۱۰: تغییرات میانگین و انحراف معیار شمارش باکتری *لیستریا مونوسایتوژنز* روی سطح سرامیک

ستون ۱: آب دیونیزه، ستون ۲: الکترولیز خنثی، ستون ۳: الکترولیز خنثی + اسید استیک.

وجود حروف غیرمشابه در هر زمان نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار می‌باشد (توضیح مربوط به نمودارهای ۷ تا ۱۰ می‌باشد).

بحث

امروزه در صنایع غذایی تلاش بر این است که به کمک روش‌های بهداشتی سالم و مناسب و کاهش بار باکتریایی روی محصول و نیز ضدعفونی کامل تجهیزات و وسایل مورد استفاده در کارخانجات، تا حد امکان محصولات تازه و بهداشتی و با مدت زمان ماندگاری بالا به بازار عرضه نمایند. در طی دهه‌ی گذشته، با تولید و عرضه‌ی آب الکترولیز شده، این محصول مورد توجه محققین قرار گرفته است. مطالعه‌ی حاضر نیز کاربرد این ماده در صنایع مرتبط با آبزیان را مورد بررسی قرار داد. شاخص‌های میکروبیولوژی به کار رفته در این تحقیق شامل بار باکتریایی مزوفیل و سایکروفیل است که تغییرات آن‌ها در طی ۱۰ روز نگهداری در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت نگهداری در دمای ۲۵ و ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد می‌باشد. به طور کلی میانگین بار باکتریایی مزوفیل و سایکروفیل با گذشت زمان در هر ۴ تیمار روندی افزایشی داشت، اما افزایش تعداد باکتری‌ها در تیمار با آب الکترولیز خنثی + اسید سیتریک به طور معنی‌داری از سایر تیمارهای دیگر کم‌تر بوده است. از نظر قدرت کنترل باکتری‌ها، سایر ترکیبات مؤثر به ترتیب آب دیونیزه و اسید سیتریک ۱ درصد و در نهایت آب الکترولیز خنثی بود. نتایج بیان‌گر آن بود که ترکیب این دو ماده با یکدیگر باعث حفظ بهتر کیفیت میکروبی و حسی محصول و همچنین سبب افزایش زمان ماندگاری میگو می‌گردد.

توجه به نمودار ۱ نشان می‌دهد که تأثیر محلول‌های مورد آزمایش در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد روی باکتری‌های مزوفیل بیش‌تر از باکتری‌های سایکروفیل بوده است در حالی که در دمای ۲۵ و ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، باکتری‌های مزوفیل تکثیر بیش‌تری داشته‌اند. این امر می‌تواند در اثر تأثیر دمای نگهداری میگوها باشد، به طوری که در میگوی نگهداری شده در یخچال ۴ درجه‌ی

سانتی‌گراد افزایش بیش‌تری در تعداد سایکروفیل‌ها مشاهده می‌گردد. اما در دماهای بالاتر (دمای ۲۵ و ۳۷ درجه) مزوفیل‌ها رشد بیش‌تری داشته‌اند ولی در هر صورت، تأثیر ترکیب آب الکترولیز + اسید سیتریک بهتر از سایر محلول‌ها بوده است. بررسی‌های متعددی در ارتباط با تأثیر انواع آب الکترولیز شده روی میگو، ماهی و سایر مواد غذایی صورت گرفته است. به طور مثال Park و همکاران در سال ۲۰۰۹ تأثیرات باکتری‌کشی آب الکترولیز شده به همراه اسید سیتریک را بر علیه *باسیلوس سرئوس* و اسپور آن روی دانه‌ی غلات مانند برنج قهوه‌ای و برنج گلوتینوز در دماها و زمان‌های غوطه‌وری مختلف مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که در تمامی دماهای مورد مطالعه (۲۵، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰) درجه‌ی سانتی‌گراد، ترکیب آب الکترولیز شده (قلیایی و اسیدی) با اسید سیتریک بیش‌ترین میزان کاهش را در جمعیت *باسیلوس سرئوس* در مقایسه با آب دیونیزه داشت که این موضوع نیز با نتایج حاصل از تحقیق حاضر سازگار بود. علاوه بر این Lin و همکاران در سال ۲۰۰۲ اثر آب الکترولیز شده اسیدی به صورت یخ را در حفظ کیفیت شیمیایی و حسی میگو وانامی مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق، کاهش بیش از log ۱ از جمعیت باکتری تا روز ششم نگهداری مشاهده شد. علاوه بر این، نتایج نشان داد که در مقایسه با آب یخ، آب الکترولیز شده به صورت یخ تأثیر چندانی در ایجاد تغییرات pH در گوشت میگو نداشته و تغییر رنگ میگو نیز به تأخیر افتاد. محققین نتیجه گرفتند که آب الکترولیز اسیدی هیچ نوع اثر سویی بر میگو ندارد. Xie و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش کردند که درمان با آب الکترولیز شده اسیدی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد باعث کاهش log ۳/۱۱ *ویبریوپاراهمولیتیکوس*، log ۱/۹۶ *لیستریا مونوسایتوژنز* و log ۱/۴۴ باکتری‌های هوازی روی میگو می‌شود. علاوه بر این نتایج نشان داد که آب الکترولیز اسیدی در ۵۰°C بهترین فعالیت باکتری‌کشی را دارد. تأثیر دما به عنوان یکی از فاکتورهای تأثیرگذار روی خاصیت باکتری‌کشی ضدعفونی کننده‌ها در سایر مطالعات نیز مورد تأیید قرار گرفته است. به طور مثال Ding و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز نشان دادند که اثربخشی ضدعفونی کننده‌ی آب الکترولیز شده با غلظت کم با افزایش دما، افزایش می‌یابد.

تأثیر باکتری‌کشی آب الکترولیز شده روی سایر مواد غذایی نیز مورد بررسی قرار گرفته است. مثلاً، Cao و همکاران در سال ۲۰۰۹ در چین، اثر آب الکترولیز شده کمی اسیدی را بر پوسته‌ی تخم‌مرغ آلوده به *سالمونلا اینتریتیدیس* بررسی کردند. آن‌ها این ضدعفونی‌کننده را برای کاهش باکتری *سالمونلا اینتریتیدیس* از روی پوست تخم‌مرغ مناسب عنوان نمودند (Cao et al. 2009). در مطالعه‌ی دیگری مشخص شد که آب الکترولیز شده‌ی اسیدی قدرت کافی جهت کاهش قابل ملاحظه‌ی باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* را روی لاشه‌ی طیور گوشتی متعاقب نگهداری در یخچال دارد (Fabrizio et al. 2002). Phuvasate و Su در سال ۲۰۱۰ در مطالعه‌ای روی تأثیر آب الکترولیز شده و یا یخ حاصل از آن گزارش کردند که این مواد می‌توانند جهت کاهش باکتری‌های مولد هیستامین پس از صید روی سطوح کار و پوست ماهی مفید و مؤثر باشند. گزارش‌هایی نیز مبنی بر عدم تأثیر این ضدعفونی کننده نیز وجود دارد. مثلاً Fabrizio و Cutter مشاهده کردند که آب الکترولیز شده قدرت کافی برای حذف *لیستریا مونوسیتوژنز* را از روی فرانکفورتر و کالباس خوک ندارد (Fabrizio and Cutter 2005).

تمامی مطالعات فوق نشان می‌دهند که آب الکترولیز شده‌ی اسیدی ماده‌ی ضدعفونی کننده‌ی مناسبی جهت کاربرد روی مواد غذایی است. در مطالعه‌ی حاضر نیز اضافه کردن اسید سیتریک به آب الکترولیز خنثی و کاهش pH آن باعث افزایش قدرت باکتری‌کشی آن گردیده است. غلظت ماده، مدت زمان تماس و دما از سایر فاکتورهای مهم در تأثیرگذاری این ضدعفونی کننده می‌باشند.

Huang و همکاران نیز در سال ۲۰۰۶ طی مطالعات خود مشاهده کردند که کاربرد آب الکترولیز شده جهت باکتری‌زدایی سطح ماهی و سایر سطوح کار با ماهی در بازار ماهی فروشان و فروشگاه‌ها بسیار مؤثر است. علاوه بر این Ayebah و Hung در سال ۲۰۰۵ در دانشگاه جورجیای آمریکا به مطالعه‌ی اثر آب الکترولیز شده روی سطوح مختلفی که غذا در حین فراوری با آن ارتباط دارد پرداختند و مشاهده کردند که محلول مذکور هیچ گونه اثر خورندگی روی سطوح مورد نظر نداشته و می‌تواند پاتوژن‌های منتقله از راه غذا را از بین ببرد. در مطالعه‌ی حاضر نیز تأثیر مثبت این ضدعفونی کننده مشخص گردید. نتایج نشان داد که ترکیب آب الکترولیز خنثی و اسید سیتریک بیش‌ترین تأثیر را روی کاهش میزان باکتری *اشریشیا کلی* روی سطح استیل دارد. همین نتیجه نیز در رابطه با سطح سرامیک مشاهده گردید. مقایسه‌ی نتایج بین دقیقه‌ی ۵، ۱۰ و ۱۵ روی سطح سرامیک و استیل نشان داد که محلول ضدعفونی کننده در سطح استیل تأثیر بیش‌تری نسبت به سطح سرامیک دارد. شاید این امر به خلل و فرج و زوایای پنهان سطوح ناصاف مرتبط باشد. اگرچه تأثیر سطوح صاف روی صیفی‌جات مورد تأیید قرار گرفته است (Izumi 1999) اما در خصوص سطوح کار بررسی‌های بیش‌تری لازم می‌باشد.

در خصوص باکتری *لیستریا مونوسایتوژنز* نتایج اندکی متفاوت به نظر می‌رسد زیرا، مشاهده می‌گردد که در دقیقه‌ی ۵ روی سطح استیل تأثیر آب الکترولیز خنثی به تنهایی مؤثرتر از سایر محلول‌ها واقع شده است. در حقیقت حضور اسید سیتریک نه تنها در کاهش *لیستریا مونوسایتوژنز* مؤثر نبوده بلکه به نوعی در مقاومت باکتری به تأثیر آب الکترولیز شده کمک نموده است. همین نتیجه در دقیقه‌ی ۱۰ و ۱۵ نیز تکرار شده است. این امر ممکن است به خصوصیات ویژه‌ی *لیستریا مونوسایتوژنز* در خصوص مقاومت بالا در شرایط اسیدی بازگردد و لذا مطالعه‌ی بیش‌تر در این خصوص قابل توصیه می‌باشد.

به طور کلی می‌توان گفت که نتایج این مطالعه و مطالعات مشابه روی مواد غذایی و سطوح کار بیان‌گر تأثیر آب الکترولیز شده خنثی بر حذف یا کاهش بار باکتریایی می‌باشد. شرایط آزمایش و ترکیبات مکمل به کار رفته به همراه آب الکترولیز شده می‌تواند در افزایش تأثیر آن مؤثر باشد. به نظر می‌رسد آب الکترولیز خنثی و یا کاربرد یک اسید ضعیف مانند اسید سیتریک در این رابطه مهم باشد. ضدعفونی مواد غذایی و سطوح کار با این ماده‌ی ضدعفونی چه در صنایع غذایی و چه در مراکز عرضه فروشگاهی می‌تواند در جهت کاهش بار باکتریایی و همچنین افزایش زمان نگهداری و نیز جلوگیری از آلودگی متقاطع مؤثر باشد. البته باید توجه داشت رفتار میکروارگانیسم‌های مختلف در مواجهه با مواد ضدعفونی کننده از جمله آب الکترولیز می‌تواند متفاوت باشد، بنابراین لازم است بررسی‌های بیش‌تری در این خصوص صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حوزه‌ی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که هزینه‌ی این تحقیق را در قالب پژوهانه پایان‌نامه‌ای فراهم نموده است سپاسگزاری می‌نماید.

منابع

Allende, A.; Tomás-Barberán, F.A. and Gil, M.I. (2006). Minimal processing for healthy traditional foods. Trends in Food Science and Technology, 17(9): 513-519.

Ayebah, B. and Hung, Y.C. (2005). Electrolyzed water and its corrosiveness on various surface materials commonly found in food processing facilities. Journal of Food Process Engineering, 28(3), 247-264.

Cao, W.; Zhu, Z.W.; Shi, Z.X.; Wang, C.Y. and Li, B.M. (2009). Efficiency of slightly acidic electrolyzed water for inactivation of *Salmonella enteritidis* and its contaminated shell eggs. International Journal of Food Microbiology, 130(2), 88-93.

Deza, M.A.; Araujo, M. and Garrido, M.J. (2005). Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* on stainless steel and glass surfaces by neutral electrolyzed water. Letters in Applied Microbiology, 40(5), 341-346.

Ding, T.; Rahman, S.M.E. and Oh, D.H. (2011). Inhibitory effects of low concentration electrolyzed water and other sanitizers against foodborne pathogens on oyster mushroom. Food Control, 22(2), 318-322.

Fabrizio, K.A.; Sharma, R.R.; Demirci, A. and Cutter, C.N. (2002). Comparison of electrolyzed oxidizing water with various antimicrobial interventions to reduce salmonella species on poultry. Poultry Science Association, 81: 1598-1605.

Fabrizio, K.A. and Cutter, C.N. (2005). Application of electrolyzed oxidizing water to reduce listeria monocytogenes on ready-to-eat meats. Meat Science, 71: 327-333.

FDA (2015). http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=ENV-FCN&id=692

Guentzel, J.L.; Liang Lam, K.; Callan, M.A.; Emmons, S.A. and Dunham, V.L. (2008). Reduction of bacteria on spinach, lettuce, and surfaces in food service areas using neutral electrolyzed oxidizing water. Food Microbiology, 25(1), 36-41.

Huang, Y.R.; Hsieh, H.S.; Lin, S.Y.; Lin, S.J.; Hung, Y.C. and Hwang, D.F. (2006). Application of electrolyzed oxidizing water on the reduction of bacterial contamination for seafood. Food control, 17(12), 987-993.

Huang, Y.R.; Hung, Y.C.; Hsu, S.Y.; Huang, Y.W. and Hwang, D.F. (2008). Application of electrolyzed water in the food industry. Food control, 19(4), 329-345.

Izumi, H. (1999). Electrolyzed water as a disinfectant for fresh-cut vegetables. Journal of Food Science, 64, 536–539.

Kim, C.; Hung, Y.C. and Brackett, R.E. (2000). Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of foodborne pathogens. International Journal of Food Microbiology, 61(2): 199-207.

Lin, C.M.; Moon, S.S.; Doyle, M.P. and McWatters, K.H. (2002). Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella enterica* serotype *enteritidis*, and *Listeria monocytogenes* on lettuce by hydrogen peroxide and lactic acid and by hydrogen peroxide with mild heat. Journal of Food Protection, 65(8), 1215-1220.

Mahmoud, B.S.M.; Yamazaki, K.; Miyashita, K.; II-Shik, S.; Dong-Suk, C. and Suzuki, T. (2004). Decontamination effect of electrolyzed NaCl solutions on carp. Letters in Applied Microbiology, 39, 169-173.

Park, Y.B.; Guo, J.Y.; Rahman, S.M.E.; Ahn, J. and Oh, D.H. (2009). Synergistic effect of electrolyzed water and citric acid against Bacillus cereus cells and spores on cereal grains. Journal of Food Science, 74(4), M185-M189.

Phuvasate, S. and Su, Y.C. (2010). Effects of electrolyzed oxidizing water and ice treatments on reducing histamine-producing bacteria on fish skin and food contact surface. Food Control, 21(3), 286-291.

Rahman, S.M.E.; Ding, T. and Oh, D.H. (2010). Effectiveness of low concentration electrolyzed water to inactivate foodborne pathogens under different environmental conditions. International Journal of Food Microbiology, 139(3), 147-153.

Russell, S.M. (2003). The effect of electrolyzed oxidative water applied using electrostatic spraying on pathogenic and indicator bacteria on the surface of eggs. Poultry Science, 82(1), 158-162.

USDA (2015). http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/bab10e09-aefa-483b-8be8-09a1f051d4c/7120.1.pdf?MOD=AJPERES

Yoshida, Y.; Min, J.S.; Park, J.B.; Isobe, S. and Suzuki, T. (2003). Disinfecting rice seeds using acidic electrolyzed water Journal of Agricultural and Food Chemistry, 33 (4): 31-37.

Xie, J.; Sun, X.H.; Pan, Y.J. and Zhao, Y. (2012). Physicochemical properties and bactericidal activities of acidic electrolyzed water used or stored at different temperatures on shrimp. Food Research International, 47(2), 331-336.

Effect of electrolyzed oxidizing water and citric acid on reduction of bacterial contamination in shrimps during storage in ambient and refrigerator and survey of bactericidal effects on surface contact

Maktabi, S.[1]; Fazlara, A.[2] and Mohammadyari, S.[3]

Received: 13.07.2015 Accepted: 21.02.2016

Abstract

Disinfectant plays an essential role in control of spoilage and infective bacteria in food industry and common places. Electrolyzed oxidizing water (EOW) has been regarded as a new sanitizer in recent years. (EOW) is safe, cheap and effective on different bacteria, molds and viruses. This study was conducted in two parts. In the first study, the effect of 1% citric acid, neutral electrolyzed water (NEW) alone and plus 1% citric acid on microbial load in shrimp was investigated. Shrimp samples separately were treated with different solutions for 30 min and stored at 4°C, 25 and 37°C and then mesophilic and psychrophilic bacterial count were Carried out for different times. In the second study the efficacy of NEW and mixture of (NEW) plus 1% citric acid on pathogenic bacteria (*Escherichia coli* and Listeria monocytogenes) on the ceramic and steel surfaces was investigated in ambient temperature. Results showed that the combination of citric acid and NEW was significantly reduced population of mesophilic and psychrophilic bacteria on shrimp samples in compare to other solutions, Also, the best efficacy on reduction of *E. coli* was obtained by mixture of NEW and 1% citric acid on steel surface. While, NEW alone was more effective on L. monocytogenes than NEW plus 1% citric acid on the both surfaces.

Key words: Disinfectant, Electrolyzed water, Shrimp, Steel, Ceramic

1- Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2- Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3- MSc Graduated of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
Corresponding Author: Maktabi, S., E-mail: s.maktabi@scu.ac.ir