

-6 138 506 96

U.O.V.S. BIBLIOTEK

01 at T

HIERDIE EKSEMPLAAR MAG ONDER
GEEN OMSTANDIGHED E UIT DIE
BIBLIOTEK VERWYDER WORD NIE

University Free State



34300000424857

Universiteit Vrystaat

DIE VOORKOMS VAN GISTE TYDENS HOENDERPRODUKSIE

deur

Willem Diederik Froneman Laubscher
(BSc. Hons)

Voorgelê ter vervulling van die vereistes vir die Graad

MAGISTER SCIENTIAE

in die Departement Mikrobiologie en Biochemie,
Fakulteit Natuurwetenskappe en Landbou, Universiteit van die Oranje Vrystaat
Bloemfontein

Desember 2000

Promotor: Prof. BC Viljoen

Daar is twee maniere
waarvolgens 'n mens kan leef.
Jy kan leef asof niks 'n wonderwerk is nie.
Of jy kan leef asof alles 'n wonderwerk is.

ALBERT EINSTEIN

Hierdie verhandeling word opgedra aan my vrou, Ilse asook aan my pa, ma, Joey
en skoonouers

Universiteit van die
Oranje-Vrystaat
BLOEMFONTEIN
2 1 MAY 2001
UOVS SASOL BIBLIOTEEK

INHOUD

DANKBETUIGINGS

HOOFSTUK 1

INLEIDING EN LITERATUUROORSIG	1
-------------------------------	---

HOOFSTUK 2

DIE GISFLORA WAT VOORKOM IN DIE TRACHEA VAN GROEIHOKKUIKENS	58
--	----

HOOFSTUK 3

DIE VOORKOMS VAN GISTE IN 'N HOENDERSLAGPALE	69
--	----

HOOFSTUK 4

EVALUASIE VAN DIE GEBRUIK VAN ONTSMETTINGSMIDDELS IN DIE IMMERSIE VERKOELINGSBAD OP MIKROBIESE VLAKKE VAN HEEL HOENDER KARKASSE	94
---	----

HOOFSTUK 5

ALGEMENE BESPREKING EN GEVOLGTREKKING

120

HOOFSTUK 6

OPSOMMING

125

DANKBETUIGINGS

Hiermee wil ek graag die volgende mense bedank.

My promotor: Bennie Viljoen wat my nie net in vak kennis onderrig het nie, maar ook in wysheid. Ook vir al sy hulp en vriendskap.

Hanlie Schreuder vir al haar hulp by Country Bird.

Analie Lourens vir haar bystand in die laboratoruim en haar vriendelikheid.

Johan Wolmarans vir sy vriendskap.

Johan Welthagen vir die morele ondersteuning.

Bridgette Ikalafeng vir die lekker saam lag.

Akua vir al die gesels.

Die dames by voorbereiding met hul hulp by die outoklaaf en praktiese lokale.

Al die wonderlike vriende in die mikrobiologie departement.

Country Bird vir die skenking van die hoenders wat nodig was vir die projek.

Die SNO vir die beurs.

My Skepper vir al sy genade.

My Ma en Pa.

Vir Ilse wat elke tree saam met my geloop het.

HOOFSTUK 1

INLEIDING EN LITERATUUROORSIG

1.1 INLEIDING

Sedert 1973 is daar 'n ommekeer in die verhouding van rooivleis tot hoendervleis verbruik per kop per jaar in Suid Afrika. Waar die hoeveelheid verbruik 22 kg rooivleis en 10 kg hoender was, is die hoeveelheid verbruik tans 20 kg hoender en 10 kg rooivleis. Die tendens is as gevolg van 'n groter wordende gesondheids bewustheid maar kan ook weens ekonomiese redes wees. Daar is egter 'n merkwaardige groei in die hoenderbedryf en dit maak 'n al groter deel uit van die mark wat gedeel word met onder andere rooivleis. Weens die enorme groei in die pluimvee-vleismark, lei die vergrote mark ook tot groter bewustheid van ongewenste en patogeeniese mikroorganismes. Om die mikrobiologiese probleme hok te slaan, word al meer geneig na die instelling van kwaliteits versekering programme, die monitor van mikroorganismes en die voorkoming van mikrobiologiese invasie.

1.2 DOEL VAN STUDIE

Tans word die grootste gedeelte van die voorsiening van hoenders bedryf volgens die kommersiële proses van braaikuikens waarna dit deur verskillende graderings in die slagpales geprosesseer word. Hierdie proses het tot gevolg dat groot volumes braaikuikens tot oppervlakte verhouding gegroei word. As gevolg hiervan kan siektes baie maklik uibreek en groot finansiële verliese tot gevolg hê. Die verspreiding van siektes geskied dan ook baie vinniger in hierdie proses van kultivering.

Omdat die rol van trachea infeksies in lewendige hoenders buitensporige hoë persentasies verteenwoordig van die totale siektes by groeihokkuikens is daar voorgeneem om te gaan kyk met hierdie studie watter mikrobiologiese organismes betrokke is by hierdie algemene kliniese waarnemings in die groeihokke. Weens die toename in gis kontaminasie in kuikens wat aanleiding

gee tot trachea infeksies, word daar veral gekonsentreer op die voorkoms en tipe van giste in Hoofstuk 2.

Die hoë voorkoms van giste in die tracheas van kuikens, kan egter ook lei tot verhoogde kontaminasie van die volwasse hoender na slagting. Alhoewel giste nie die grootste rol speel tydens die bederf van hoenderkarkasse nie, kan die organismes ontwikkel as sekondêre populasie indien die bakteriese populasies geïnhibeer word deur omgewings toestande en ander prosesserings faktore. Derhalwe is die voorkoms en tipe van giste geassosieer met die hoenderkarkasse bepaal in Hoofstuk 3. Eers na die tipe en kwantifisering van die getalle van giste bepaal is, kan verder gekyk word na die bronne van giskontaminasie, en metodes om die getalle te verlaag.

Die grootste verlaging in die getalle van mikrobiële kontaminasie vind plaas tydens die onderdompeling van hoenderkarkasse by verlaagde temperatuur in 'n immersie-wentel verkoeler. In die verkoeler word gebruik gemaak van chloor as saneermiddel of ontsmettingsmiddel (Baxter and Illston, 1976). Weens verhoogde teenkanting teen die gebruik van chloor in voedselsisteme, veral op hoenderkarkasse bedoel vir die uitvoermark, word daar gedurig gekyk na alternatiewe metodes om die mikrobiologiese populasies te inhibeer en te dood. In Hoofstuk 4 word verskeie ontsmettingsmiddels geëvalueer vir die moontlike oplossing om mikrobiële getalle te verminder na slagting in die immersie-wentelverkoeler. Daar word verder ook gepoog om die mikrobiologiese populasies teenwoordig te vergelyk na ontweiding met die hand en outomaties.

1.3 LITERATUUROORSIG

1.3.1 GISTE AS BEDERF ORGANISMES IN VOEDSEL

Die mikrobiologiese bederf van voedsel is 'n kompeterende proses tussen giste, bakterieë, en swamme (Walker, 1977). Voedselverliese as gevolg van gisbederf

is klein in vergelyking met bederf wat geïnduseer word deur bakterieë en ander fungi. Die redes vir beperkte voedselbederf as gevolg van gisbederf is: giste omvat slegs 'n klein fraksie van die totale oorspronklike mikroflora, hulle vermenigvuldig baie stadiger in vergelyking met bakterieë, en hulle oorlewing kan beperk word deur metaboliese stowwe wat deur bakterieë geproduseer word (Fleet, 1992). Gispopulasies kan egter soms vinnig vermeerder tot hoë getalle en derhalwe bederf veroorsaak (Fleet, 1989). Dit is veral die geval wanneer bakterieë en ander fungi geïnhibeer word deur verskeie omgewings spanningsfaktore. Hierdie faktore kan sinergisties saamwerk en die groei van giste bevoordeel. Die faktore sluit onder meer in: lae wateraktiwiteit (A_w), lae pH, hoë suikerinhoud, lae temperature, en teenwoordigheid of opsetlike byvoeg van antimikrobiese agente tot voedselprodukte (Tudor en Board, 1993). Ander faktore wat die ontwikkeling van giste tot die mate van 'n substansiële bydraende faktor vir bederf tot gevolg kan hê is; die inisiële gisspesies wat aanvanklik teenwoordig is, voedingstof beskikbaarheid in die voedsel en oksidasie-reduksie potensiaal in die voedsel.

Bederf veroorsakende giste veroorsaak na-oes sowel as voor-oes verliese van voedsel en verwante produkte regoor die wêreld. Hierdie verliese vind plaas gedurende oes, vervoer van die produkte sowel as tydens die prosessering daarvan. Addisionele verliese kan ook voorkom as gevolg van die nalaat van preservering, onvoldoende verpakking sowel as verkeerde verpakkingstechnologieë wat toegepas word. Hierdie probleem word verder bemoeilik omdat giste die ongewone vermoë het om fisiologies aktief te bly in uiterste omgewings (Neves et al., 1994). Die mees waarskynlike produkte wat bederf kan word deur giste is die produkte wat 'n hoë fermenteerbare hoeveelheid suiker bevat en produkte met 'n hoë suurinhoud wat die kompeterende bakteriese groei beperk. Dit is dan ook produkte soos alkoholiese verversings waarin gisbederf dominant waargeneem kan word (Deak en Beuchat, 1996).

Alhoewel suiwel - en vleisprodukte bekend is vir bakteriese bederf, word dit algemeen aanvaar dat giste 'n klein maar konstante deel van die mikroflora uitmaak (Fung en Liang, 1990; Jay, 1992; Viljoen et al., 1993; Welthagen en Viljoen, 1998 en 1999). Die rol van giste en swamme in hoenderprodukte is hoofsaaklik 'n bederfveroorsoekende rol (Fung en Liang, 1990). Die beperkte voedselgeassosieerde patogeniese giste soos *Candida albicans* en *Cryptococcus neoformans*, is nie voedseloordraagbaar nie (Fleet, 1992). Wanneer geprosesseerde hoenders by vriesingstemperatuur gehou word vir lang periodes, daal die wateraktiwiteit in die hoenderkarkasse. Hierdie verlaagde wateraktiwiteit in die karkas kan lei tot bederf van die produk veroorsaak deur giste sowel as swamme omdat die organismes 'n laer wateraktiwiteit kan weerstaan en algemeen as opportunistiese kontaminante voorkom op die produk (Fung, 1987).

Die mikroflora teenwoordig op voedselprodukte onder sekere omgewingstoestande (A_w , pH, temperatuur en atmosfeer) sowel as die ekologiese toestande, is redelik konstant. Verskeie navorsers het alreeds beklemtoon dat sulke bederwingsassosiasies algemeen voorkom (Beuchat, 1996; Deak, 1993; Frisvad en Sanson, 1991). 'n Direkte korrelasie bestaan ook tussen die spesifieke giste wat op 'n voedselproduk kan voorkom, die getalle van die spesifieke giste sowel as die bederwingsassosiasie wat in sekere produkte onder inherente ekologiese toestande voorkom. Volgens die konsep is 'n vereenvoudigde identifikasie skema vir giste geassosieer met spesifieke tipes voedsels voorgestel (Deak, 1993). Ten spyte van hierdie assosiasies van verskillende giste met spesifieke plante of dierlike produkte, kan sommige giste egter gevind word in wyduiteenlopende voedselprosesserings omgewings (Spencer en Spencer, 1997). Normaalweg toon giste definitiewe voorkeure vir sekere omgewingstoestande in voedsel en daarom kan verskille voorkom tussen gisgemeenskappe in verskillende tipes van voedsel. 'n Voorbeeld is die voorkoms van *Zygosaccharomyces bailii* wat beperkend is tot produkte met 'n hoë suikerinhoud teenoor *Zygosaccharomyces rouxii* wat ook voorkom in hoë

soutbevattende voedselprodukte (Kurtzman, 1990). Teen die tyd wanneer 'n sekere voedsel as bederf beskou word, is daar normaalweg 'n hoë populasie van slegs 'n paar of miskien slegs enkele gis spesies teenwoordig (Deak, 1996). Ten spyte van hierdie assosiasie tussen spesifieke voedselprodukte en gis spesies moet 'n mens nie mislei word om te glo dat hierdie proses van bederf 'n statiese proses is nie. Die bederf van voedsel deur mikroorganismes is eerder 'n kontinue proses wat die opeenvolgende groei en afsterwe van verskeie spesies of nie spesifieke mikroflora wat onder meer insluit bakterieë, giste sowel as ander fungi en selfs virusse (Frisvad, 1991). 'n Akurate begrip van die ekologie en biochemie van voedselbederf sal dus nie verkry word slegs deur die beskrywing van die dominante spesies gedurende die tyd van bederf nie (Fleet, 1989).

Die veranderings in die sensoriese eienskappe van voedsel raak nie bekend aan die verbruiker totdat giste 'n populasiegetal van 10^5 tot 10^6 kve/g bereik nie. Hierdie veranderings is hoogs opsigtelik wanneer gisgetalle van tussen 10^7 tot 10^8 selle per gram bereik word. Bederf kan nog steeds ongesiens verbygaan tensy opsigtelike effekte soos swelling van verpakkings of hoogs waarneembare veranderings te voorskyn kom in hierdie produkte. Die verskynning van giskolonies kan ook gesien word as 'n bederwingskarakteristiek (Fleet, 1992). Die belangrikste metaboliese eindprodukte wat gevorm word as gevolg van gisgroei is waarskynlik koolstofdiksied, alkohole, organiese sure en esters (Fleet, 1989).

1.3.2 FAKTORE WAT DIE OORLEWING EN GROEI VAN GISTE IN VOEDSEL BEÏNVLOED.

In teenstelling met verskeie natuurlike ekosisteme naamlik grond, water en plante, is voedsel 'n natuurlike habitat wat die groei en oorlewing van 'n groot verskeidenheid mikroorganismes ondersteun (Beuchat, 1985; Spencer en Spencer, 1998). Wanneer die regte fisies-chemiese toestande voorkom, sal slegs hoogs kieskeurige mikroorganismes nie in staat wees om in

voedselprodukte te groei nie. Dit is ook hoekom faktore anders as die voorsiening van voedingstowwe aan mikroorganismes, kan selekteer vir 'n spesifieke mikrobiologiese populasie soos gevind in voedselprodukte (Pitt en Hocking, 1997).

Die parameters wat mikroorganismes se groei beïnvloed in voedselprodukte sluit in die intrinsieke, ekstrinsieke en implisiete faktore (Deak, 1991). Die intrinsieke parameters vorm 'n inherente deel van die selweefsel self en behels die pH, voginhoud, oksidasie-reduksie potensiaal (E_h), voedingsrykheid, antimikrobiese bestanddele teenwoordig of die biologiese strukture van 'n tipe voedsel (Boddy en Wimpenny, 1992; Deak, 1991; Fleet, 1992; Jay, 1992; Silliker et al., 1980).

Die ekstrinsieke parameters sluit in alle eienskappe van die storingsomgewing wat die voedsel sowel as die mikroorganisme affekteer. Die belangrikste van hierdie faktore wat die giste kan affekteer is die temperatuur van berging en die suurstofvlakke, of meer algemeen die omringende atmosfeer (Deak, 1991). Die implisiete faktore sluit in die groeikarakteristieke van die betrokke spesies sowel as die interaksies tussen mikrobies soos bv. sinergisme of antagonisme (Mossel, 1971). Dit is egter belangrik om te onthou dat daar 'n sinergistiese uitwerking tussen baie van hierdie parameters is wat mekaar kan beïnvloed. Studies het onder meer getoon dat fungi die grootste toleransie toon teenoor 'n verlaagde wateraktiwiteit wanneer alle ander ekologiese toestande wat benodig word naby aan die optimum vereistes is (Corry, 1987). Soortgelyk kan giste en swamme groei by hoër temperature in media met verlaagde wateraktiwiteite (Corry, 1987).

1.3.2.1 Intrinsieke parameters

i) pH

As mikroorganismes geplaas word in omgewingstoestande waarvan die pH vlakke bo of onder neutraal is, hang hulle proliferasie af van die vermoë om die

omgewing se pH vlakke te bring tot 'n meer optimum reeks of vlak (Jay, 1992). Wanneer gisselle geplaas word in 'n suuromgewing, moet die selle of H^+ -ione uitgeplaas word uit die selle teen die tempo wat hulle binnekom of H^+ -ione verhoed om die selle binne te dring (Brock en Madigan, 1991). Dit is krities vir gisselle om 'n protongradient te handhaaf oor die plasmamembraan om sodoende 'n konstante intrasellulêre pH van 6.5 te behou (Borst-Pauwels, 1981).

Bakterieë floreer naby 'n neutrale pH en fungi kan gevolglik nie kompetend groei in dieselfde medium tensy ander faktore soos lae temperature, lae wateraktiwiteit of preserveermiddels wat die omgewing ongunstig maak vir bakterieë intree nie (Pitt en Hocking, 1997). As gevolg van giste wat in staat is om aan te pas by pH vlakke wat varieer tussen 1.5 tot 8.5 word hulle tot 'n mindere mate geaffekteer deur pH vlakke as bakterieë (Deak, 1991). Slegs swamme het 'n groter kompetende voordeel as giste omdat hulle kan groei oor 'n selfs wyer pH reeks vanaf 0.5 tot 11 (Jay, 1992). Om die rede word minder intense hitte behandelings toegepas tydens die prosessering van ingelegde voedsels aangesien hierdie produkte oor die algemeen oor laer pH vlakke beskik en dus verhoed dat suur intolerante organismes die produk kontamineer (Brock en Madigan, 1991). Die pH van die omgewing beïnvloed aansienlik die fisiologiese gedrag van gisselle, soos byvoorbeeld die hitte toleransie en weerstand teen chemiese bestanddele wat verlaag by laer pH vlakke (Deak, 1991). Hoë pH waardes voorkom ook die groei van sekere organismes, soos die voorkoming van bakteriese indringing in eiers as gevolg van die hoë pH in die eierwit (Haines, 1939). Hierdie hoë pH is die gevolg van CO_2 wat deur die dop ontsnap (Board, 1970).

Bederf veroorsakende giste beskik oor die ongewone eienskappe om fisiologies aktief te bly in relatiewe ekstreme omgewings, in besonder die teenwoordigheid van swak sure wat as preserveermiddels gebruik word (Deak, 1991). Die aanpassing van giste in die prosesseringomgewing wat noodlottige konsentrasies van sure vir meeste mikroorganismes bevat het tot gevolg dat

hierdie giste nog meer weerstandbiedend word en kan oorleef in sulke omgewings (Pampulha en Loureiro-Diaz, 1989). Die aanpassing van hierdie gis selle kan toegeskryf word aan die aktivering van 'n plasmamembraan ATPase wat H^+ -ione uit die selle uitpomp (Deak, 1991). Hierdie meganisme onderlê die weerstand wat voorkom en bied 'n stewige basis vir die voorkoming van bederf in suurvoedsels (Neves et al., 1994).

Die gebruik van verskeie sure as antimikrobiële agente vir die verlenging van rakleef tyd word in besonderhede bespreek deur Islam et al., (1978). Die pH is nie noodwendig 'n goeie indikator of dit effektief vir die beperking van gis groei gebruik kan word nie. As identiese konsentrasies melksuur en asynsuur gebruik word, is die pH van melksuur laer as die van asynsuur alhoewel die asynsuur meer effektief is teen die inhibering van giste se groei (Erickson en Fabian, 1942).

ii) *Voginhoud*

Omdat water teenwoordig is in byna alle biochemiese reaksies en mikroorganismes 'n akwatiese omgewing vereis is dit essensieël om teenwoordig te wees vir die welstand van alle mikroorganismes (Boddy en Wimpenny, 1992). Die term wateraktiwiteit kwantifiseer die verwantskap tussen die voginhoud van 'n voedselprodukt sowel as die moontlikheid van 'n organisme om daarin effektief te groei. Dit word uitgedruk as die verhouding van die water se dampdruk van die lug bokant 'n suspensie of substansie gedeel deur die waterdrukking van suiwer water by dieselfde temperatuur (Brock en Madigan, 1991). Dit is belangrik om in gedagte te hou dat ander omgewingsparameters soos pH, temperatuur en E_h ook 'n invloed het op die wateraktiwiteit (Jay, 1992).

Die selektering van die assosiasie tussen mikrobies op of in voedsel word baie beïnvloed deur die wateraktiwiteit van die voedselprodukt. Meeste van die gram-negatiewe bakterieë speel nie meer 'n rol by 'n A_w naby 0.97 nie (Christian,

1980). Osmotolerante cocci of lactobaccilli sal progressief hulle plek inneem in hierdie reeks van wateraktiwiteit. In 'n wateraktiwiteitsreeks van 0.85 tot 0.60 sal xerofieliese fungi en osmofieliese giste domineer en die bederf van voedsel produkte veroorsaak (Pitt en Hocking, 1997).

Droging is seker die mees algemeenste metode wat gebruik word vir die preserving van voedsel en word gebruik vanaf die vroegste tye in die geskiedenis (Leistner, 1992). Dit was eers na die ontdekking van mikroorganismes dat wetenskaplikes begin het om te verstaan wat die rasionale agter die sukses van sekere fisiese of chemiese behandelings van voedsels is. Al verwyder droging die water uit voedsel, en al voorkom dit die groei van mikroorganismes, steriliseer dit nie die voedsel nie (Mossel, 1982). Dit is slegs die ensiematiese aktiwiteite van die mikroorganismes wat ophou. Indien die voedsel gerehidreer sou word, sal die groei van die mikroorganismes voortgaan en bederf veroorsaak (Fung, 1987). Kennis in verband met die gissel/water verhoudings kan 'n mens in staat stel om voorspellings te maak van rakleef tyd en van die potensiele bederfbaarheid van seker voedselprodukte (Pitt en Hocking, 1997).

iii) Oksidasie- reduksie potensiaal

Tydens ensiematiese reaksies word een chemiese samestelling geoksideer en 'n ander gereduseer. Die mate waarin organismes in staat is om so 'n oksidasie-reduksie reaksie uit te kan voer hang af van die oksidasie-reduksie toestand van die onmiddellike omgewing (Montville, 1997). Die redokspotensiaal word gemeet as die verhouding tussen die geoksideerde/gereduseerde komponente in 'n oplossing. Sekere organismes kan net aktief wees in gereduseerde omgewings waarteenoor ander net in geoksideerde omgewings aktief kan wees (Bartha, 1993).

Redokspotensiaal is 'n belangrike selekteringsfaktor in alle omgewings, insluitende voedselomgewings. Dit beïnvloed die tipe organismes wat gevind word sowel as hulle metabolisme (Brown en Emberger, 1980).

Die klassifikasie van organismes as anaerobies, aerobies of fakultatief is gebaseer op die kritiese redokspotensiaal (E_h) wat benodig word vir normale metabolisme en groei. As gevolg van die verwantskap met die suurstofpotensiaal wat voorkom in die omgewing kan dit ook gesien word as 'n ekstrinsieke parameter wat groei beïnvloed (Mossel, 1971). Meeste giste en swamme wat voorkom in voedselprodukte is aerobies terwyl slegs 'n geringe aantal fakultatief anaerobies kan groei (Pitt en Hocking, 1997). Met betrekking tot die E_h van voedsels en veral plantsappe, is dit nie verbasend om bederf veroorsakende mikroorganismes te vind wat of aerobies of fakultatief aerobies kan groei nie (Jay, 1992).

Die belangrikheid van vakuumverpakking neem in die hedendaagse gebruik toe met die proses waartydens verskeie produkte verpak word in vakuum en waarvan die verpakkingsmateriaal ondeurlaatbaar is vir suurstof (McMeekin, 1982). Wanneer as sulks verpak word, word die redokspotensiaal op die oppervlak verlaag as gevolg van die respirasie van die weefsel. Genoegsame suurstof kan egter behoue bly op die oppervlakte wat die ontwikkeling van sommige aerobiese mikroorganismes inisieer (Tabatabai en Walker, 1970).

iv) Voedingswaarde

Algemeen kom dit voor asof fungi metabolisme meer aangepas is om substrate te benut met 'n hoë koolhidraatinhoud, terwyl bakterieë 'n groter rol speel in proteïen bevattende voedselprodukte (Pitt en Hocking, 1997).

Met betrekking tot energiebron, stikstofbron, water, vitamienes en verwante groeifaktore en minerale, beskik swamme oor die laagste aanvraag vir groei en

oorlewing, gevolg deur die giste, gram-negatiewe bakterieë, en die gram-positiewe bakterieë (Jay, 1992).

Bakteriese groei op die oppervlakte van vleis sal plaasvind as gevolg van die lae molekulêre gewigskomponente wat daarop voorkom soos byvoorbeeld glukose (Gill, 1986). Die bederwingsflora toon ook selektiewe voorkeure vir verbruik binne hierdie lae molekulêre gewig groep van stowwe (Mcmeekin, 1982). Indien glukose teenwoordig is as substraat vir benutting sal die ensieme benodig vir die metabolisering van ander substrate toenemend kataboliese repressie en inhibering ondergaan (Ornston, 1971). In die algemeen sal byna alle mikroorganismes eers eenvoudige substrate benut soos die vrye aminosure en nukleotiedes alvorens enige ander meer komplekse substrate soos die hoë molekulêre gewig proteiene en komplekse lipiedes benut sal word (Gill en Newton, 1980).

Baie mikroorganismes groei nie in optimale toestande nie, tensy hulle voorsien word van een of meer van die vitamienes van die vitamien B kompleks en in genoegsame hoeveelhede (Mossel, 1977). Die vereistes vir hierdie vitamien B kompleks kan verskil tussen nabyverwante spesies en selfs tussen verwante stamme. Daarom is dit moontlik om slegs te veralgemeen as gekyk word na watter vitamienes voorkom in 'n voedsel, en die invloed wat dit sal hê op die bederwingsassosiasie (Mossel, 1977). Dit lyk egter algemeen dat vrugte wat nie beskik oor die B - vitamienes nie, aangeval word deur fungi en giste wat hierdie vitamienes self kan sintetiseer (Kempton en Baubier, 1970). Die omgekeerde is egter van toepassing in voedsels wat van dierlike oorsprong is. Aangesien daar baie van die noodsaaklike vitamienes en groeifaktore hierin voorkom, kan die meeste tipe mikroorganismes in staat wees om hierop te oorlewe (Kempton en Baubier, 1970).

v) *Antimikrobiese stowwe*

Antimikrobiese stowwe kom natuurlik voor in voedsels en voedselbestanddele of hulle kan geproduseer word in reaksie op ongunstige fisiese of chemiese toestande en dra by tot die verlenging van rakleef tyd van beide geprosesseerde en ongeprosesseerde voedsels (Beuchat en Golden, 1989).

Beuchat en Golden (1989) beskryf die gebruik van verskeie antimikrobiologiese agente in die kontrolering van na-oes siektes. Die gebruik van antimikrobiologiese agente om siektes te voorkom moet nie in isolasie gebruik word nie aangesien die bederfveroor sakende mikroorganismes se groei net so belangrik is om te bestry. Dit help dus nie om siektes te voorkom met die uitsluiting van bederf nie. Natuurlike antimikrobiologiese agente wat voorkom word geklassifiseer as: ensieme of proteiene, organiese sure, mediumketting vetsure, plantolies, pigmente of verwante komponente of ander chemiese stowwe. Die meer bekende chemiese stowwe is: humulones en lupulones, hidroksieunaniëksuur afgeleides, oleuropein, kaffeïene, theophylline en theobromien of phytolaksien (Beuchat en Golden, 1989).

Die gebruik van verskillende antibiotika bevattende middels om rakleef tyd van produkte te verleng word deeglik aangehaal in die literatuur (Anderson et al., 1957; Ayres et al., 1956; Shrimpton et al., 1958; Stadelman en Walker en Ayres, 1959; Ziegler, 1957;), maar toestemming vir die gebruik daarvan om die rakleef tyd van hoendervleis te verleng, is in Amerika geweier sedert 1967 (Anderson, 1957; Potter, 1973; Walker, 1956; Ziegler, 1955).

vi) *Biologiese strukture*

Sekere strukture wat voorkom in voedsel soos die doppe van eiers, plantkutikulas en diervelle vorm fisiese strukture waardeur indringing van mikroorganismes verhoed word (Jay, 1992). Die buitenste dop van die eier en

die membrane daaronder verhoed die indringing van mikroorganismes indien dit onder die regte omgewingstoestand gehou word. Normaalweg vorm daar 'n bedekkingslaag of vel op vis en vleis omdat die oppervlak vinnig uitdroog en 'n versperring van baie lae wateraktiwiteit word sodoende gevorm wat groei van mikroorganismes bemoeilik (Brown, 1982).

Gedurende die prosessering van hoendervleis raak bakterieë geheg aan die vel van die hoender, wat ook dien as 'n fisiese versperring (Jackson et al., 1997; Patterson, 1975;). Die wyse van die aanhegting van die bakterieë aan die vel en die tempo waarteen hierdie hegting plaasvind, hang af van verskeie faktore waaronder die betrokke organisme aan die vel heg. Die belangrikste hiervan is die pH, temperatuur wat beïnvloed word deur kontaktyd. Die mikrobiologiese populasie op die vel van hoenderkarkasse kan tienvoudig verminder word deur die film wat na dreinerings gevorm is teenaan die vel te vervang met ongekontamineerde water (Nottermans en Kampelmacher, 1975).

1.3.2.2. EKSTRINSIEKE PARAMETERS

i) Temperatuur

Gebasseer op 'n mikroorganisme se minimum, optimum en maksimum temperatuur behoefte, word hulle geklassifiseer as mesofiele, psigrofiele of termofiele mikroorganismes (Olsen en Nottingham, 1980). Die biochemie van die organismes kan ook tot 'n groot mate beïnvloed word deur verskillende temperature waaronder storting plaasvind (Mossel, 1982). Die metaboliese aktiwiteite word ook beïnvloed deur die verandering in temperature. Die aktiwiteit van lipoliese kan byvoorbeeld baie verskil tussen lae temperature vergeleke met die by hoë temperature (Aford en Smith, 1970). Peppler (1970) en Miller (1979) het beklemtoon dat beide die tipe gis betrokke by veranderings van 'n produk, sowel as die omgewingsfaktore wat die biochemiese aktiwiteite van die betrokke giste bepaal, van belang is tydens bederf.

Van die baie selekteringsfaktore wat die koloniserings van mikroorganismes op vleis beïnvloed is temperatuur die belangrikste (Jackson et al., 1997). Soos die temperatuur daal tot onder die optimum groeitoestande van mikroorganismes sal die genereringstyd sowel as die verdubbelings tyd verleng word en groeitempo vertraag word (Nottingham, 1982). Vriesing en ontdooiing affekteer nie net die groei van die mikroorganismes nie maar ook die tekstuur van die betrokke voedselprodukt (Mossel, 1982). Dit affekteer dus indirek die mikrobiologiese groei.

Kristalformasie tydens vriesing van voedsel gee ook aanleiding tot addisionele effekte soos veranderinge in die oksidasie-reduksie potensiaal, oppervlak en intermolekulêre spanning, vriespunt, dampdruk, osmotiese druk, viskositeit, ioniese sterktes wat verskil, titreerbare suurheid en pH vlakke (Potter en Hotchkiss, 1995).

Omdat vriesing so 'n belangrike deel vorm van die berging van hoendervleis in ontwikkelde lande, is dit ook belangrik om te let op die invloed daarvan op die mikrobiële flora.

Die effek van vriesing op mikroorganismes is opgesom deur Ingram (1951) as volg;

1. Daar is 'n skielike afsterwe van mikroorganismes sodra vriesing voorkom wat verskil tussen spesies.
2. Die tempo van vriesing het geen effek op die persentasie van die selle wat die vriesing oorleef nie.
3. Die oorlewende selle sal met die verloop van tyd verder afsterf solank as wat die berging onder vriesingstoestande verkeer.

4. Hierdie afname in mikrobiese getalle geskied die vinnigste net onder die vriespunt (-2°C), terwyl stadiger afsterwing plaasvind by nog laer temperature, en dit is gewoonlik baie stadig onder -20°C . Mossel (1982) dui daarop dat beide die psigrotrofiese en psigrofieliese mikroorganismes meer geinhibeer word deur 'n 1°C afname in temperatuur in die omgewing van $+2$ tot -1°C as by effense hoër temperature.

Die belang van vriesing op mikrobiese selle word aangedui deur die volgende (Jay, 1992):

- Die water wat vries is die sogenaamde vrye water. Wanneer dit vries, word yskristalle gevorm. Hierdie yskristalle word ekstraselluler gevorm met stadige vriesing en intraselluler tydens vinnige vriesing. Stadige vriesing is skadeliker vir mikroorganismes omdat die ekstrasellulêre kristalle die selmembrane beskadig sowel as dat dit die uittrekking van opgeloste stowwe uit die sel veroorsaak (Fung, 1987). Die gebonde water bly ongevries. In effek ontnem die vriesingsproses die mikrobiese selle van bruikbare vloeistofwater en veroorsaak sodoende dehidrasie en lae wateraktiwiteits toestande.
- Vriesing het tot gevolg dat daar 'n verhoging in die viskositeit van die sellulêre materiaal is. Dit is 'n direkte gevolg van die water wat gekonsentreer word in die vorm van yskristalle.
- Vriesing veroorsaak 'n verlies in die sitoplasmiese gasse soos koolstofdiksied en suurstof. In aerobiese selle veroorsaak hierdie verlies in suurstof 'n onderdrukkende effek op die respiratoriese reaksies en die meer gedifundeerde staat van suurstof verleen meer oksidatiewe reaksies binne in die sel.
- Vriesing veroorsaak veranderinge in die pH van sellulêre materiaal. 'n Verandering van tussen 0.3 tot 2 pH eenhede is gerapporteer deur verskeie navorsers in die geval van vriesing of ontdooiing (Fung, 1987).
- Sellulêre eloktrolietkonsentrasie verander tydens die proses van vriesing wat ook die konsentrasie van water in die vorm van yskristalle affekteer.

- Vriesing veroorsaak 'n verandering in die koloidiale toestand van die sellulêre protoplasma. Komponente soos proteiene bestaan in 'n dinamiese koloidiale toestand in lewende selle en 'n sekere hoeveelheid water is noodsaaklik vir die welstand daarvan.
- Vriesing veroorsaak die denaturering van sommige sellulêre proteiene. Dit is bekend dat tydens vriesing sekere -SH groepe verdwyn en dat komponente soos lipoproteiene wegbreek van ander groepe.
- Vriesing induseer temperatuurskokke in sekere mikroorganismes. Die effek is groter vir termofiele en mesofiele mikroorganismes as vir psigrofiele. Hoe vinniger die afname in temperatuur afname bokant die vriespunt, hoe meer selle gaan dood.

Bogenoemde invloed van vriesing op die selle van mikroorganismes word bevestig deur Mazur (1960) en Mazur en Schmidt (1968) met spesifieke verwysing na fisiese en tydelike faktore betrokke by giste.

Soos met die vriesingsproses van mikroorganismes is die ontdooiingsproses ook van groot belang. Talle literatuur dui daarop dat voedselprodukte, indien ontdooi is vanaf die gevriesde vorm, vinniger bederf as vars produkte (Fennema et al., 1973). Kondensasie op die oppervlakte kom normaalweg voor en die wateroplosbare stowwe soos die B-vitamiene, minerale, en aminosure raak beskikbaar as moontlike voedingstowwe. Op hierdie wyse raak die voedingstowwe meer bekombaar vir mikroorganismes (Jay, 1992). Die vriesing en ontdooiing van dierlike weefsel beïnvloed ook die vrystelling van lisomale ensieme bestaande uit kathepsien, nukleases, fosfatases, glikosidases en andere. Hierdie ensieme kan reageer met makromolekules en daardeur word eenvoudiger komponente beskikbaar gestel wat makliker benut kan word deur die bederf veroorsakende mikroorganismes (Robinson, 1985).

Wanneer hitteweerstand data vir die gebruik van preserving geïnterpreteer word moet in gedagte gehou word dat die toestande van verhitting drasties die

hitte weerstand beïnvloed (Mossel, 1982). Beuchat en Toledo (1977) dui daarop dat hoë vlakke suiker in die algemeen 'n beskermende effek toon teen hittebehandelings. Beuchat (1996) het ook gevind dat lae pH waardes en preserveermiddels wat voorkom, die vernietiging van mikroorganismes verhoog indien hitte aagewend word.

ii) *Gasomgewing*

'n Noue verband bestaan tussen die beskikbaarheid van sekere gasse en die verlenging van rakleefyd. Die bekendste van hierdie is koolstofdioksied, etileen oksied, propileen oksied, swaweldioksied en osoon (Bryan, 1980).

1.3.2.3. IMPLISIETE FAKTORE

Alhoewel hierdie faktore nie altyd genoem word nie, is daar verskeie belangrike implisiete faktore wat die groei van mikroorganismes beïnvloed. Hierdie faktore bestaan uit die inhirente eienskappe van die bederfveroorakende mikroorganismes self sowel as die interaksies tussen verskillende spesies (Boddy en Wimpenny, 1992). Daar kan byvoorbeeld 'n ophoping van metaboliese produkte wees wat die groei van sekere spesies beperk. Indien hierdie beperkende metaboliese produk deur ander spesies gebruik kan word, kan 'n suksesvolle assosiasie voorkom tussen die spesies (Mossel, 1982).

i) *Groei karakteristieke*

Geneties groei 'n mikroorganisme op 'n spesifieke manier teen 'n spesifieke tempo. Die organisme in 'n sekere omgewing het daarom dus 'n spesifieke verdubbelingstyd, generasietyd en totale selopbrengs. Verskille kan ook waargeneem word tussen verskillende stamme van dieselfde spesies of 'n verandering van hierdie karaktereenskappe kan plaasvind in die skaars geval van 'n mutasie wat plaasvind (Sinell, 1980).

ii) *Mutualistiese interaksies in gemengde populasies*

Interaksies tussen verskeie mikroorganismes in voedsel help om te verklaar waarom sekere spesies se voorkoms in 'n gemengde populasie domineer. In die breë kom slegs voordelige of nadelige reaksies voor tussen mikroorganismes (Sinell, 1980). Die interaksies tussen mikroorganismes kan verduidelik word aan die hand van gunstige omgewingstoestande van individuele mikroorganismes wat oorvleuel. Die interaksies word geklassifiseer op die basis van positiewe of negatiewe effekte op die verskeie mikropopulasies se groottes. Die interaksies mag soms nie die totale populasie grootte beïnvloed nie, maar 'n effek kan wel waargeneem word ten opsigte van die aktiwiteite van die mikroorganismes. Die resultate van sulke interaksies kan ook verskil tussen verskillende abiotiese reekse. Daar moet ook op gelet word dat interaksies kan voorkom tussen verskeie spesies of individue, en baie keer op 'n gelyke tydstip (Boddy en Wimpenny, 1992).

iii) *Simbiose*

Daar is ten minste ses meganismes waarvolgens mikroorganismes se optimum groeitoestande kan verander en die gevolglike groei van ander spesies bevoordeel. Die optimum groei toestande word bepaal deur die beskikbaarheid van voedingstowwe, veranderinge in pH, redokspotensiaal, wateraktiwiteit, eliminerings van antimikrobiologiese substansies en die afbreek van biologiese strukture (Mossel, 1971).

Die sintese van B-vitamiene deur giste stimuleer die groei van ander mikroorganismes wat nie in staat is om dit te sintetiseer nie en afhanklik is van 'n

eksterne bron van verskaffing (Devoyod en Desmazeaud, 1971). In Koji-tipe fermentasie byvoorbeeld word polisakkariedes soos sellulose en stysel gehidroliseer deur swamme en verskaf hulle monosakkariedes en dissakkariedes vir die groei van giste (Sinell, 1980).

Verskeie giste kan organiese sure assimileer wat natuurlik voorkom in vrugte en suiwelprodukte soos kaas. Die benutting van die sure veroorsaak dat die pH van die produk verhoog en meebring dat bakterieë wat normaalweg geinhibeer word sal vermeerder (Lubert en Frazier, 1955).

iv) *Antagonisme*

Antagonisme verteenwoordig 'n negatiewe verwantskap tussen populasies waarin albei populasies intens beïnvloed word. Gebaseer op hierdie tipe interaksie sal die populasies laer maksimale digthede bereik of laer groeitempos as wat die geval sou wees in die afwesigheid van kompetisie (Atlas en Bartha, 1993). Die meganismes van sulke interaksies is dieselfde as die van sinergisme. As gevolg van kompeterende teenwoordigheid van verskeie mikroorganismes in dieselfde voedselbronne, kan een groep organismes die kritiese voedingstowwe in 'n substraat uitput tot die nadeel van 'n ander. Indirekte veranderings as gevolg van veranderings in die pH van 'n substraat, antimikrobiese substansies wat geproduseer word of veranderings in die redokspotensiaal van 'n substraat, kan ook aanleiding gee tot die stimulasie van sekere mikroorganismes om te domineer. Die antagonistiese verwantskappe tussen mikroorganismes in voedsels word beskryf deur Mossel (1971).

Brochothrix thermosphacta kan aerobies groei op vleis selfs al is die pH so laag as 5.4 (Campbell et al., 1979). Dit slaag egter nie daarin om te groei op vleis onder anaerobiese toestande by 'n pH van onder 5.8 nie, alhoewel die spesies aerobies en anaerobies kan groei in APT sop indien die pH verlaag word tot 5.5 met die byvoeging van HCL. Dit dui daarop dat 'n ander inhibitor teenwoordig is in

die vleis tydens anaerobiese groei. Die tendens kan verklaar word deur die teenwoordigheid van melksuur in die ongedissosieerde vorm geproduseer deur melksuur bakterieë. Die Lactobacillaceae is egter in staat om te groei in hierdie hoë konsentrasies melksuur in die ongedissosieerde toestand (Grau, 1980).

Melksuur aanvangskulture, *Pediococcus cerevisiae* en *Lactobacillus* is geïnnokuleer in meganies ontbeende hoender en suksesvol gebruik as onderdrukkers van drie *Pseudomonas* spesies, *Salmonella typhimurium* en *Staphylococcus aureus* (Raccach en Baker, 1978). Die pH vlakke van die produk het verander met minder as 0.2 tot 0.3 eenhede wat te klein is om die waargenome repressie te verklaar. Die toegevoegde melksuurbakterieë getalle het ook nie toegeneem nie. Die potensiële rol wat hierdie melksuurbakterieë kan speel is dat hulle belangrike bederfvoorkomende sowel as publieke veiligheidsfaktore kan meebring as gevolg van antagonisme teenoor ongewenste mikroorganismes (Raccach en Baker, 1978).

Whitehill (1957) het bevind dat bakteriese kulture substansies produseer wat die groei van giste beperk. Walker en Ayres (1959) het ook daarop gedui dat sekere giste se groei benadeel word deur die teenwoordigheid van *Pseudomonas fluorescens* wat vanaf hoendervleis af geïsoleer is.

1.3.3 DIE BEDERF VAN HOENDER VLEIS

1.3.3.1 Vleis samestelling en nadoodse verandering

Volgens Gill (1982) bestaan die samestelling van hoendervleis uit drie groepe as dit in ag geneem word dat dit dien as potensiële voedingsbron vir die groei van mikroorganismes. Eerstens proteïene en vette wat afgebreek moet word alvorens dit benut kan word, lae molekulêre gewig stikstofbevattende substansies en die groep stowwe wat afkomstig is vanaf die spierglikogeen.

Die eetbare dele van jong slaghoenders bestaan uit 71% water, 20.5% proteien en 2.7% vet. Hoe jonger die hoender is, hoe hoër is die waterinhoud. Die vetverspreiding is ook nie soos rooivleis egalig deur die weefsel nie maar hoofsaaklik beperk tot rondom die maagholte en onder die vel. Die wateraktiwiteit van die hoenderkarkas is 0.98 tot 0.99, afhangend van die tydperk wat dit blootgestel is aan droë lug terwyl die redokspotensiaal dieselfde is as die van rooivleis (Bryan, 1980).

Groot verskille tussen die lae molekulêre gewig bestanddele word gevind tussen voor- en na rigor mortis vleis (Gill, 1982). Verskillende snitte vleis kan verdere verskille in hierdie lae molekulêre gewigkomponente te weeg bring. Die pH van die hoender borsspier en die van die boude varieër tussen 5.7-5.9 en 6.4-6.7 onderskeidelik (Barnes en Impey, 1968) as gevolg van varierende melksuurkonsentrasies van die spesifieke snitte. Die melksuurkonsentrasie in die hoender boude is ongeveer 5mg melksuur/g terwyl 10.8mg melksuur/g voorkom in die borsweefsel (Gill, 1982).

Die meganismes vir die bederf van rooivleis en hoender is soortgelyk as gevolg van die voedingstowwe teenwoordig wat ook min of meer dieselfde is (Mead, 1982). Die samestelling van rou, maar vars hoender kan egter varieer in klein hoeveelhede tussen verskillende hoenderspesies, anatomiese verskille, geslag en ouderdom (Bryan, 1980). Vergelykings kan veral gemaak word tussen die bederf van donker ferm droë rooivleis en die wit vleis van hoender. Aangesien die pH van beide hierdie groepe vleis hoë uiteindelijke pH vlakke het. Donker, ferm droë vleis is die gevolg in rooivleis weens onvoldoende hoeveelheid glikogeen teenwoordig ten tyde van slagting. Hierdie glikogeentekort kan wees as gevolg van te veel oefening voor slagting of as gevolg van spanning wat glikogeen uitputting tot gevolg het (Newton en Gill, 1980).

Daar is 'n aantal veranderings wat plaasvind sodra 'n hoender geslag is. Hierdie veranderinge sluit onder meer die volgende in:

Omdat die bloedsirkulasie ophou gaan die vermoë om ATP te hersintetiseer verlore. 'n Tekort aan ATP het tot gevolg dat aktinomisien gevorm word. Aktinomisien is wanneer die binding van aktien en myosien plaasvind. Die spiere raak gevolglik rigied (Lawrie, 1995). Omdat daar 'n verlaging in suurstofvoorsiening is, gee dit aanleiding tot 'n reduksie in die oksidasie-reduksie potensiaal (Tabatabai en Walker, 1970). Verharding vind plaas as gevolg van die staking van vitamien en antioksidant voorsiening. Daar is verder 'n daling in die temperatuur van die hoenderkarkas en vet raak solied omdat die senuweë en hormoonvoorsiening nie meer plaasvind nie. Geen verdere respirasie veroorsaak 'n staking van die sintese van ATP (Jay, 1992). Glikolise tree in werking wat lei tot die omskakeling van glikogeen na melksuur. Deur hierdie reaksie wat plaasvind word die pH verlaag van ongeveer 7.4 na 5.6. Die verlaging het ook die inisiering van proteienafbraak tot gevolg. Kathepsien word sodoende gevorm en beëindig die proses van rigor mortis (Potter en Hotchkiss, 1995). Omdat die retikulo-endotele sisteem staak om mikroorganismes en liggaamsvreemde stowwe te vernietig, kan mikroorganismes onverstoord begin groei. Denaturasie kom verder voor as gevolg van die metaboliete wat begin om op te hoop (Jay, 1992).

1.3.3.2 Die bederf van vleis

Die meganismes van vleisbederf word verkry volgens die gebruik van verskeie tegnieke waarmee gepoog word om vas te stel of bederf voorkom al dan nie dui op die metodes wat gebruik word om bederf te monitor in hoender, rooivleis sowel as seekosse (Jay, 1992). Probleme wat ondervind word tydens die monitor vir afreuke as gevolg van metaboliese produkte soos die amiene, ammonium, waterstofsulfied en indool is dat nie alle bederfveroorakende mikroorganismes oor dieselfde vermoë beskik om sulke stowwe te produseer nie (Ingram en Dainty, 1971). Baie van die bepalinge van chemiese eindprodukte wat geproduseer word deur bederfveroorakende mikroorganismes vanaf die

substraat (nukleotiedes en aminosure) of produkte van afbraak (ammonia en sulfiede) dien ook as toetse of bederf plaasvind of nie. Die voorgestelde metodes het egter geen voorspellingswaardes nie en kan bepaalbare hoeveelhede eers voorkom nadat bakteriese getalle hoër as 10^8 - 10^9 kve/g bereik is, wanneer organoleptiese bederf alreeds gevestig is (Mcmeekin, 1980). Die probleem om meetbare hoeveelhede te bepaal van die voorgangers van die reukbare ystersubstansies voordat hoë bakteriese getalle bereik word behels dat onder aerobiese toestande daar 'n vertraging voorkom in die afbraak van aminosure aangesien die glukose teenwoordig eerste benut word. Na totale benutting van die glukose, word bakteriese getalle van $10^8/cm^2$ reeds aangetref (Nychas et al., 1988). Die bepaling van koolhidraatinhoud kan dus 'n beter indikator wees om die graad van bederf te bepaal (Nychas et al., 1988).

Weens die beperking van vrylik beskikbare voedingstowwe, kan mikroorganismes die bindweefsel soos kollagenase en hyalluronidase aanval en die ensiematiese aktiwiteit die weefsel laat vervloei. Die metabolisering van vrye amminosure kan tot gevolg hê dat gasse gegenereer word soos byvoorbeeld waterstof, koolstofdiksied, ammonia, waterstofsulfied, metielamien of merkaptaan (Mcmeekin, 1982). Die omskakeling van glikogeen na asynsuur en bottersuur kan ook voorkom. Histamien kan gegenereer word en deur 'n spesifieke histidinase kan die deurlaatbaarheid van die selmembrane geaffekteer word. Mioglobien kan of geoksideer word of omgeskakel word na sulfhemoglobien of choleglobien (Barnes en Shrimpton, 1957). Dit kan ook heeltemal afgebreek word na die geel of kleurlose galpigmente. In die geval van gepigmenteerde mikroorganismes, kan verkleuring plaasvind terwyl aggregate in die vorm van slym op die oppervlakte van bederfde vleis kan voorkom (Lawrie, 1995).

Vergroening van die hoenderkarkas is 'n vroeë teken van bederf indien die karkasse ongeslag gestoor word. Dit is veral die geval indien die hoender direk na die verbruiker gaan, en die normale proses van slagting en vriesing nie

plaasvind nie. Vergroening ontstaan as gevolg van die reaksie van waterstofsulfied wat gevorm word tydens die vermeerdering van die mikroorganismes in die ingewande. Die waterstofsulfied diffundeer deur die ingewande na die spierweefsel en wanneer lug teenwoordig is reageer dit met die pigmente van die bloed en word sulfaathemoglobien gevorm (Shrimpton et al., 1958).

Normaalweg sal mikrobiese metabolisme alle stikstof en koolstofbronne omskakel na biomassa en deur middel van die energiemetabolisme na eindprodukte. Die vorming van metaboliete is gewoonlik groei geassosieerd maar dit kan ook onafhanklik geproduseer word. (Brown, 1982; Large, 1986). Die bederf van hoender, vis en rooivleis is hoofsaaklik die gevolg van mikrobiologiese byprodukte wat geproduseer word en nie as gevolg van outolitiese produkte van die weefsel self nie (Brown, 1982). In 'n studie gedoen deur Freeman et al., (1976), is die spesifieke vlugtige stowwe tydens bederf geïdentifiseer en verbind met die betrokke mikroorganismes verantwoordelik vir die produksie.

Navorsing op die bederf van vleisprodukte word primêr gerig op die aerobiese bederf van verkoelde vleis omdat dit die toestand is waaronder vleis gehou word in ontwikkelde lande (Jackson et al., 1997). Daar is natuurlik baie belangstelling om te weet wat die tempo van bederf is, die mate van hierdie bederf op 'n sekere stadium, die veranderinge wat voorkom in vleis, en wat beskou word as bederf. Om te verstaan hoe bederfveroor sakende mikroorganismes ontwikkel onder gevriesde temperature is dit nodig om die volgende vrae te beantwoord: Watter mikroorganismes is in staat om voor te kom, die omgewingstoestande waarin die mikroorganismes groei, die uitwerking op mikrobiële groei met veranderinge in die omgewingstoestande en watter interaksies tussen die spesies kan voorkom (Gill en Newton, 1977).

Roivleis, hoender en seekosse word beskou as bederf as faktore soos kleurafwykings voorkom, veranderings in tekstuur ontwikkel, afsmake ontwikkel en afreuke of slym ontwikkel. Hierdie organoleptiese veranderings is die gevolg van die vorming van metaboliete wat die resultaat is van mikrobiële groei (Gill, 1983). Dit moet in gedagte gehou word dat in die proses die definisie van bederf hoogs kunsmatig en mensgemaak is. 'n Definisie is daarom moeilik om saam te stel en te verifieer (Mcmeekin, 1982).

Wanneer spierweefsel afsterf ontstaan 'n vrystelling van water deur die proteïene en die verhoogde konsentrasie van molekules voorsien voedingsryke medium vir die groei van mikroorganismes. Die klein molekules is afkomstig vanaf die afbreking van proteïene, vette en koolhidrate (Jackson et al., 1997) en dien as groeimedium vir talle mikroorganismes (Barnes en Impey, 1968; Johannsen et al., 1984). Die spesifieke assosiasie van die bederf veroorsakende mikroorganismes hang af van die ekstrinsieke, intrinsieke en implisiete faktore wat daarop volg. Alle dierlike vleis beskik oor 'n oormaat van alle voedingstowwe vir die groei van bakterieë, giste en swamme (Al-Mohizea, 1994; Brown, 1982; Deak, 1996).

In die algemeen word mikrobiële groei beperk tot die buitenste oppervlakte van die hoender omdat die karkas 'n soliede struktuur is (Baily et al., 1987). Die prosessering van hierdie produkte sal tot gevolg hê dat mikroorganismes herverdeel word en dat die mikroflora in nabye kontak gebring word met die voedingstowwe. Soos die getalle van die mikroorganismes toeneem, sal kolonies vorm en 'n laag mikroorganismes kan bo-op die substraat vorm. Groei sal uiteindelik beperk word deur die beperkte diffusie van die substraat. Onder aerobiese toestande kan diffusie van suurstof die beperkende faktor word as gevolg van die lae oplosbaarheid daarvan. Onder anaerobiese toestande kan diffusie van metaboliete na die mikroorganismes toe 'n beperkende faktor word en die metaboliese wegvoer vanaf die metaboliserende selle kan ook die groei beperk indien dit nie vinnig genoeg plaasvind nie (Brown, 1982).

Die kompeterende groei en ontwikkeling van mikroorganismes in gemaalde vleis en geprosesseerde hoender as 'n mikro-omgewing is verder ondersoek deur Maxcy et al., (1972). Die uiteenlopende mikroflora van vars gemaalde hoender word toegeskryf aan die gemengde oorsprong van die aanvanklike mikrobiologiese kontaminasie. Dit is veral die voorkoms van *Bacillus*, 'n tipiese spoorvormer, wat rede gee tot groot kommer aangesien dit later kan lei tot potensiële bederf probleme. Maxcy et al. (1972) dui ook daarop dat gemaalde hoender wat gevries word na ontdooiing weereens vir net so lank as hoender vanaf vars gestoor kan word in die gevriesde toestand.

Die katalogisering van die groot getalle bakterieë, giste en swamme wat voorkom op vars geslagte vleis bleik van min waarde te wees. Die belangrikheid van hierdie fisiologies diverse kontaminering behels slegs die mikroorganismes wat gesellekteer word onder verskillende bergings en storingmetodes. Die oorsprong van sekere kontaminerende mikroorganismes kan egter ook van groot waarde wees (Nychas et al., 1988).

Die tipe bederfveroorsoekende mikroorganisme sal weer die spesifieke afreuke en kleurveranderinge op die karkas tot gevolg hê. Dus kan die teenwoordigheid van sekere mikroorganismes wat minder verrotende reuke tot gevolg het voorkom in hoë getalle sonder om die aanvaarbaarheid van die produk te affekteer. 'n Skatting van bederf kan dus ook nie net verkry word deur totale getalle te verkry nie; dit sal ook afhang van die tipe mikroorganismes wat voorkom (Barnes, 1976).

Dit kan egter voorspel word dat bederf sal intree as gevolg van die metaboliese aktiwiteite van meer as 10^6 kve/g bakterieë en kleiner hoeveelhede giste en swamme. 'n Verband moet ook eers vasgestel word tussen oorsaak en effek voordat enige gevolgtrekkings gemaak kan word aangaande die identiteit van die bederf veroorsakende organismes (Brown, 1982).

Die mikrobiologiese assosiasie wat ontwikkel op vleis kan as volg beskryf word:

By temperature wat wissel tussen 2 en 7°C is die dominante mikroorganismes die Gram-negatiewe psigrotrofe, verteenwoordigend van spesies van *Pseudomonas*, *Acinetobacter* en *Moraxella* die mees algemene mikroorganismes om voor te kom op vleis (Gill en Newton, 1981). Die gram-negatiewe bakterieë is bekend daarvoor om dominant te wees onder normale atmosferiese toestande en wanneer die temperature laag is (Jay, 1972). Verteenwoordigend van die genus *Pseudomonas* is die volgende spesies die mees algemeenstes wat voorkom: *P. fluorescens*, *P. putida* en *P. fragi*. Die verwante *Acinetobacter* spesies kom ook gereeld voor. Hierdie spesies varieer ook aansienlik ten opsigte van proteolitiese en lipolitiese aktiwiteit wanneer hulle groei op hoender en 'n verskeidenheid van afreuke word geproduseer (Barnes, 1976).

Byna alle kombinasies van suurstof, stikstof en koolstofdiksied kan gebruik word om die verpakkingsatmosfeer te modifiseer om sodoende rakleef tyd van vleis en vleisprodukte te verleng. In die geval van aerobiese bederf, kan bakterieë soos die *Pseudomonas*, *Acinetobacter* en *Moraxella* spesies tot 'n groot mate geinhibeer word. Derhalwe kan die melksuurbakterieë die dominante komponente van die bederf veroorsakende mikrobiota vorm. Hierdie mikroorganismes het 'n baie stadiger groeitempo en veroorsaak minder aanstootlike sensoriese veranderinge (Farkas, 1997). In die geval van gekontroleerde atmosfeer, het die gepaardgaande reduksie van die suurstofkonsentrasie 'n aansienlike bydrae tot die inhiberende effek van koolstofdiksied. Psigrotrofiese bakterieë verteenwoordigend van die aerobiese groep, is veral sensitief. Die melksuurbakterieë is nie sensitief vir sodanige veranderinge nie (Froning et al., 1970). Wanneer CO₂ bygevoeg word in groot hoeveelheid om die atmosfeer te verander bestaan die bederwingsflora hoofsaaklik uit *Brochothrix thermosphacta* sowel as melksuurbakterieë (Egan, 1983; Freeman et al., 1976). Dieselfde bederfveroorsakende organismes kom

voor indien stysel en sulfiet toegevoeg word tot die vleis maar giste kan ook te voorskyn kom as bederfveroorakende mikroorganismes. Dit is dan ook die geval in Britse-styl wors wat bewyse getoon het van gisbederf (Dillon en Board, 1990).

Wanneer vleis egter vakuumverpak word, vorm giste wat hoofsaaklik floreer tydens aerobiese verbruik van suikers nie meer 'n probleem as bederfveroorakende organisms nie, maar bakterieë soos *Enterobacter* en *Shewanella putrefaciens* kan 'n probleem raak (Nychas et al., 1988). In 'n studie uitgevoer deur Viljoen et al. (1993) is aangetoon dat onvoldoende vakuumverpakking tydens die verpakkingsproses dien as 'n hoofbron van giskontaminasie. Die mees algemeenste giste wat gevind is, sluit in *Yarrowia lipolytica*, *Candida zeylanoides* en *Debaryomyces hansenii*.

Mossel (1971) het aangetoon dat Gram-negatiewe bakterieë gewoonlik domineer in "dooie" omgewings soos vis, melk, vleis, hoender en voedselverwerkingstoerusting. Wanneer wateraktiwiteit op die oppervlakte van vleis aansienlik verlaag word, word bakteriese groei egter aansienlik gehinibeer. Giste en ander fungi is egter minder vatbaar vir die verlaagde wateraktiwiteit en sal aanhou om te prolifereer om sodoende as sekondêre populasie 'n rol te speel. Giste se groeitempo's by normale wateraktiwiteite, is egter te stadig om suksesvol te kompeteer teen bakterieë in dieselfde medium (Gill en Newton, 1977). Getshovhi (1970) het verder gedui op 'n toename in die *Moraxella* proporsie van die bederfveroorakende mikroflora wanneer sout gebruik is om die wateraktiwiteit van gevriesde hoender te verlaag.

Vars vleis ontwikkel gewoonlik 'n slymlaag op die oppervlakte gedurende berging terwyl gerookte en gesoute vleisprodukte bederf toon as gevolg van versuring deur bakterieë of giste (Mossel, 1971).

'n Studie van die rakleef tyd van hoender ingewande deur Charoenpong en Chen (1978) het aangetoon dat afreuke begin waarneembaar word indien mikrobiologiese getalle van log 7.49/g bereik word. Die gerapporteerde afreuk verskyning op hoenderkarkasse kom voor by getalle van 6.5 tot 8.0/cm² terwyl slymvorming voorkom indien getalle tussen 7.5 tot 9.0/cm² bereik word (Brown, 1982).

Bakteriese getalle op die karkasse van verwerkte hoender is direk verwant aan die graad van higiëniese kontrole wat gehandhaaf word in die prosesseringsaanleg as geheel. Dit kom voor asof higiëne tydens prosessering maklik verbeter kan word en dit sal lei tot 'n produk met baie laer bakteriese inhoud (Nottermans et al., 1975). Nottermans et al. (1975) het die effek van spreiers om fekale kontaminasie te verwyder bestudeer en tot die gevolgtrekking gekom dat die posisie waar die sproeiërs geplaas word tydens prosessering 'n groot invloed het op die finale produk se bakteriese inhoud. Die plekke van belang vir die opstel van sproeiërs sluit in na die karkas oopgemaak word, na verwydering van die binnegoed, en na die verwydering van die ander organe. Dit is ook bevestig dat nadat die karkas in kontak gebring is met bakterieë, die verwydering daarvan baie moeilik is.

1.3.4 DIE VOORKOMS VAN GISTE IN VLEIS EN HOENDER

In vergelyking met bakteriologiese studies van vleis, is die wat handel oor die voorkoms van giste beperk. Dillon en Board (1991) dui daarop dat veral drie areas die studie van giste teenwoordig in vleisprodukte bemoeilik het:

- i) Verskillende inkubasie temperature is gebruik om giste te isoleer uit ekologiese monsters. Dit het 'n groot invloed gehad op die tipe giste wat geïsoleer is sowel as die hoeveelhede van hierdie giste.

- ii) Die gebruik van verskillende isoleringsmedia. Wanneer aangesuurde mout ekstrak agar gebruik is, is slegs suur-tolerante giste geïsoleer en daarom was sulke gisstudies se gistellings van geen waarde. Antibiotika as toevoeging tot die isolasie medium het bewys gelewer as baie effektiewer om bakterieë te inhibeer en hoër getalle giste kon ontwikkel.
- iii) Aanhoudende veranderinge in gistaksonomie het ook 'n aansienlike probleem ingehou. Deak en Beuchat (1996) het verwys na die voordele om omgewingsfaktore in samewerking met konvensionele identifikasie toetse te gebruik. Hiervoor is baie data nodig om te bepaal wat die waarskynlikheid is dat 'n spesifieke gis sal voorkom in 'n betrokke produk.

Ten spyte daarvan dat giste baie min indien ooit numeries dominant raak as die bederfveroorsoekende mikroflora van vleis en hoender, het hulle onlangs baie aandag begin geniet. Die belang van giste kan ook wees dat die fungi heelwat groter is as bakterieë en derhalwe chemiese veranderinge kan meebring buite verband met hulle getalle (Nychas et al., 1988).

Mcmeekin (1982) dui daarop dat giste die dominante bederfveroorsoekende mikroorganismes raak in vleis wat in 'n gevriesde toestand verkeer. Gisgetalle is bereik van hoër as 10^7 organismes/cm² op kalkoenkarkasse se vel wat gestoor is by -2°C vir 'n tydperk van 42 dae. Dominante giskontaminasie het voorgekom by lae temperature, ten spyte daarvan dat hulle slegs 'n klein komponent uitgemaak het van die bederwingsassosiasie bokant vriespunt (Barnes et al., 1978).

Gis verwante studies wat gedoen is op die isolering van die organismes vanaf gevriesde voedsel, vleis en vis het aangedui dat meeste van die gis spesies wat gekarakteriseer is van die basidiomycete tipe verwant was (Guerzoni et al., 1993). Normaalweg beskik basidiomycete tipes oor 'n temperatuur minimum toleransie van heelwat minder as die askomycete tipes. Die verhoogde weerstand om in koue omgewings te oorleef word toegeskryf aan onder andere pigmentasie, intrasellulêre lipied akkumulering, lae intermediere A_w toleransie en

komplekse voortplantings lewensiklusse wat ook beskerming verleen teen membraan beskadiging (Guerzoni et al., 1993).

Shank en Landquist (1963) het verskillende verpakkingsmateriale gebruik om vleis en hoender in te verpak onder vakuüm en normale lugdruk toestande. Hulle het gevind dat laasgenoemde aansienlik vinniger bederf en dat meeste van die bederf die gevolg is van melksuurproduksie. In normale lugdruk atmosfeer is groot getalle giste sowel as swamme gevind.

Die gisflora teenwoordig op gemaalde beesvleis voor en na bestraling is ondersoek deur Johannsen et al. (1984). Hulle het gemerk dat daar 'n afname in die gisgetalle was indien bestralingsdosis van 2.5 kGy gebruik was. Hulle het ook 'n definitiewe vermeerdering van psigrotrofiëse giste gemerk in bestraalde vleis na berging van 14 dae by 'n temperatuur van 4 °C. Die geïsoleerde gisflora was verteenwoordigend van die genera *Candida spp.* (88 isolate), *Cryptococcus spp.* (38 isolate), *Trichosporon spp.* (3 isolate) en *Rhodotorula spp.* (2 isolate).

Gamma bestraling in die omgewing van 1.5-3.0 kGy op Britse-styl wors, het 'n aansienlike verlaging in populasies van *Torulasporsia delbrueckii* en *Debaryomyces hansenii* tot gevolg gehad. *Candida zeylanoides* het 'n baie hoër weerstand gehad en *Trichosporon cutaneum* 'n buitengewone bestandheid teen bestraling.

Wanneer antibiotika toegedien word speel giste en ander fungi die primêre rol as bederfveroorsoekende agente wanneer die bakteriese groei geïnhibeer word. Die genera *Candida* en *Rhodotorula* is die belangrikste giste wat algemeen voorkom op hoendervleis (Jay, 1992)

Swamme en giste is ook intensief betrokke by vleisbederf wanneer produkte 'n wateraktiwiteit het van 0.85 tot 0.93. Hierdie verlaging in wateraktiwiteit kan deur verskillende prosesse van prosessering meegebring word soos onder andere

dehidrasie, byvoeging van suikers of soute of as gevolg van vriesing (Jackson et al., 1997).

Barnes (1976) het bewys dat meer mikroorganismes kan groei by 4°C as onder vriespunt, maar dat sekere giste op karkasse selfs kan groei by -7°C . Hoe nader die temperatuur van 'n organisme is aan die beperkende temperatuur vir groei, hoe stadiger is die verdubbelingstyd en hoe langer sloer die fase voordat groei begin om plaas te vind. Die groeitempo's van *Pseudomonas spp.* dui daarop hoekom karkasse wat gehou word onder 0°C aansienlik langer sal hou voor bederf sal intree as by effense hoër temperature. Barnes (1976) dui ook daarop dat die verlenging van die rakleefyd baie afhang van die beheer van die *Pseudomonas spp.*, en indien hulle beheer word, die stadiger elemente van bederf sal oorneem.

In geval van die gebruik van chloortetrasikliene as toevoeging tot hoender, was giste en *Acinetobacter spp.* die hoofbron van bederfveroorsoekende mikroorganismes solank die temperatuur gehou word in die omgewing van 1°C (Silvestrini et al., 1957). Wanneer gemaalde vleis met waterstofchloried of melksuur aangesuur word het dit ook 'n selektiewe uitwerking op die mikroflora (Montney et al., 1960). Wanneer vlakke laer as 'n pH van 5.4 daal, verminder die getalle van *Staphylococcus*, *Micrococcus*, en *Lactobaccillus*. *Pseudomonas* en giste sal oorleef, maar die invloed op *Pseudomonas* veroorsaak 'n verlengde sloer fase. By 'n pH van hoër as 5.4, sal *Pseudomonas* spesies weer dominerend in die mikroflora teenwoordig wees (Gill en Newton, 1977).

Walker et al. (1956) het gevind dat gisgetalle in kommersiële ontbeende hoender voorgekom het van ongeveer 1000 organismes per cm^2 . Na berging van twee weke by vriespunt, het die getalle toegeneem tot 100,000 organismes per cm^2 . Geen van hierdie giste kon sporuleer nie, en geen kon suur vorm vanaf eenvoudige koolhidraat bevattende media nie. Die giste wat rooi gepigmenteerd was, was geïdentifiseer as *Rhodotorula* en die nie gepigmenteerdes as

Cryptococcus. Gallo et al. (1988) het gevind dat giste voorkom in getalle van 10^2 cfu/cm² op vars karkasse. Die populasie het toegeneem tot 10^4 cfu/cm² teen die agtste dag van berging en geen verdere vermeerdering in getalle op latere stadia nie. Die bergingstoestand was 4°C onder aerobiese toestande.

Deak en Beuchat (1996) het alle literatuur bekombaar saamgevoeg en die mees algemene giste wat voorkom op vleis vasgestel. Die genera en spesies wat hulle volgens literatuur bevind het die mees algemeenste voorkom sluit in: *Candida catenulata*, *C. intermedia*, *C. paropsilosis*, *C. rugosa*, *Rhodotorula glutinis*, *Ro. minuta*, *Saccharomyces exiguus*, *Trichosporon moniliforme* en *T. pullulans*. Voordat braaihok kuikens geprosesseer word dra hulle 10^6 mikroorganismes per 16 cm² vel. Die oorgrote verteenwoordigend van die spesies van die genera *Micrococcus*, maar Thomas en McMeekin (1980) het ook gevind dat groot hoeveelhede giste sowel as staafvormige bakterieë voorkom. Die bevinding is gebaseer op elektronmikroskopie bestudering van die braaihok kuiken karkas. Die Gram-positiewe cocci verteenwoordig die oorgrote meerderheid van die totale populasie. Dit is egter belangrik om daarop te dui dat hierdie hoë voorkoms van cocci slegs van korte duur kan wees.

Die giste wat geïsoleer is deur Diriyé et al. (1993) vanaf die oppervlakte van vis en hoender was verteenwoordigend van die spesies *Y. lipolytica*, *T. cutaneum*, *Candida zeylanoides* en *Rhodotorula mucilaginosa*. Hierdie giste het groot ooreenkomste tussen die verskillende karkasse getoon wat kontaminasie by die prosesseringsaanleg aandui.

Gisgetalle het hoë waardes bereik in gemaalde vleis, hamburgers en ander tipes vars wors en hoender (Deak, 1990). Tellings van 10^4 - 10^6 kve/g is waargeneem. Van hierdie giste was die meeste verwante psigrotrofe wat onder meer insluit *C. zeylanoides*, *D. hansenii*, *Y. lipolytica*, *Candida rugosa*, *C. humicola*, *C. laurentii* en *Ro. glutinis*. Afwesig van gevriesde monsters was *Hormoascus platypodis* en *Lipomyces starkeyi*.

Inisiële gis en swamgetalle van hoender ingewande was besonder laag en het gewissel van 0 tot 2.5 kve/g. Die getalle het heelwat toegeneem soos wat die bergingstyd by 2 en 4°C verleng het. Na 14 tot 16 dae van berging is 'n konstante afname van die swam en gisgetalle waargeneem. Ongeveer 90% van die fungi het bestaan uit gis en gisagtige kolonies (Charoenpong en Chen, 1978).

Veranderinge in die gis en swamgetalle gedurende die gevriesde berging van hoenderpasteitjies het getoon dat die gispopulasie persentasiegewys baie toegeneem het tot die tiende dag van berging. Die totale tellings het gevarieer van 9×10^3 tot 7×10^6 kve/g na tien dae. Die gisgetalle het gevarieer vanaf 1.5×10^3 tot 4×10^3 kve/g vir dieselfde tydperk van berging. Geen waarneembare reuk kon waargeneem word aan die einde van die bergingsperiode nie (Cunningham en Bowers, 1976). Die mikrobiologie van vars hoendervleis en die van hoendervleis gemeng met 10% soya het getoon dat inisiële tellings nooit 10^4 kve/g oorskry het nie en dat gis en swamgetalle betreklik hoog was. Die tellings het gewissel van 5.7×10^3 kve/g vir suiwer hoenderpasteite en 2.4×10^3 kve/g in die 10% soya vermenging (Cunningham en Bowers, 1976).

1.3.5 BRONNE VAN GISKONTAMINASIE VANAF DIE OMGEWING EN IN DIE SLAGPALE

Dit is algemeen bekend in die literatuur dat giste wydverspreid voorkom in/op plante, grond, water en diere. Tydens die verloop van die produksie van vars bederfbare produkte raak alle produkte gekontamineer met hierdie bron van giste wat byna oral teenwoordig is. Daar is egter slegs 'n klein fraksie van hierdie inisiële mikroflora wat sal deelneem aan die bederf proses onder sekere toestande waarby dit geberg word. Dit is hier waar die sogenaamde bederwingassosiasie sal plaasvind (Mossel, 1971).

Die voorkoms van giste op vleis is onvermydelik aangesien hulle regdeur die vleisprosesseringsaanleg versprei is. *Debaryomyces hansenii*, *Candida zeylanoides*, *Candida vini*, *Cryptococcus curvatus* en *Rhodotorula mucilaginosa* kom algemeen voor as lugkontaminante in die slagpale, die toerusting in die verkoelingsaanleg, en op vars wors en gemaalde vleismonsters. Ander giste wat voorkom en ook geïsoleer word in kleiner getalle maar op gereelde basis sluit in *Pichia membranaefaciens*, *Cryptococcus laurentii*, *Leucosporidium scotii*, en *Candida humicola*. Hoofsaaklik *Trichosporon cutaneum*, *R. glutinis*, *R. mucilaginosa* en *C. laurentii* is veral verantwoordelik vir die besmetting van slaggereedskap en lug (Dillon en Board, 1991). Soos aangedui deur Dillon en Board (1991), speel seisoenale variasies 'n beperkende rol op die grootte van die gispopulasies teenwoordig in die omgewing.

Kontaminasie van giste in die lug van 'n hoenderprosesseringsaanleg is ook bestudeer deur Patterson (1972). Die gisgetalle het gevarieer tussen 14 tot 500 kve/ 15L lug by die ontvangsarea. Die getalle was min of meer van dieselfde orde in die ontveringsarea, en tussen 3 tot 50 kve/ 60L lug in die ontbeningsareas. Die belangrikheid om gebiede soos die swaar gekontamineerde areas af te sluit van die res van die aanleg word duidelik weerspieël deur die getalle wat onderskeidelik verkry is in die inneem en ontvoer area en die ontbeningsarea. Die verpakkingsarea het gisgetalle van 3 tot 49 giste per 60L lug opgelewer en verkoelingsseenhede tussen 0 en 5 kve/ 150L lug. Hierdie getalle was verteenwoordigend van die gisgetalle in die lug tydens die vroeë somer in vier prosesseringsaanlegte in Ierland.

Baxter et al. (1976) het 'n studie uitgevoer vir die bepaling van die omvang van psigrotrofiëse bederf veroorsakende fungi in die verkoelingsgeriewe van 'n skaap slagpale. Die gisflora wat geïsoleer is, was baie dieselfde as wat vanuit die velde waar die skape en kalwers gewei het. Die belangrikste giste teenwoordig was *Torulopsis candida*, *Rhodotorula rubra*, *Candida guilliermondii*, en *Cryptococcus laurentii*. Hierdie giste was teenwoordig op die vloer, reëlings, wol en die hare.

Vanaf die slagarea en die ontbeningsarea is slegs *Candida guilliermondii* nie gevind nie, teenoor al die ander wat wel voorheen gevind is. Dieselfde giste is egter gevind vanaf die ongeslagte karkasse, geslagte karkasse, mure, vloerwater, bankoppervlaktes en die verpakkingsareas. Die situasie het dieselfde gebly in die bevringsgeriewe as in die slagarea sowel as die ontbeningsarea. Spesies in die lug was baie beperk en slegs een spesies elk was geïsoleer verteenwoordigend van die spesies *Torulopsis candida* en *Rhodotorula rubra* in 2000L lug.

In 1977 het Baxter et al. verder gegaan om vas te stel wat die omvang is van die psigrotrofiese kontaminasie wat voorkom uit die omgewing as reservoirs. Die monsters is geneem hoofsaaklik vanaf die voetpaaie en weidingsvelde van 'n skaaptelingseenheid. Daar is gevind dat getalle baie hoog was en die getalle vir die onderskeidelike spesies het gewissel van 1.15×10^5 kve/g grond vir *Cryptococcus luteolus*, 4.08×10^5 kve/g vir *Rhodotorula rubra* en 9.0×10^1 kve/g vir *C. laurentii* en geen *Torulopsis candida* vanaf hierdie betrokke weidingsvelde. Die getalle was laer vir geen gestokte velde vergeleke met die hoër gestokte weidingsvelde. Die dominante gis spesies vanaf hierdie skaapvelde was *Torulopsis candida* en vanaf die beesweidingsvelde *Cryptococcus luteolus*. Die gevolgtrekking wat gemaak is, is dat daar 'n hoë vlak van kontaminering voorgekom het as gevolg van die groot hoeveelhede diere wat deur die betrokke gebied beweeg het. Die flora is bewys om afkomstig te wees vanaf die grond vanaf ander gebiede en die giste word gedeponeer vanaf die wol, hare, vel, hoewe en mis in die areas. Die giste wat vanaf die wol geïsoleer is behoort tot die spesie *Ro. rubra*. Die voorstel is verder gemaak dat die diere gewas word alvorens die slagpale betree word om sodoende giskontaminasie te voorkom en dat die lugstrome wat in die slagpale voorkom, beperk moet word om sodoende verdere kontaminasie te verhoed. Die belangrikheid van vinnige en doeltreffende hantering van die karkasse is ook uitgelig as voorbehoeding van kontaminasie en om beperking van verspreiding te bewerkstellig (Baxter en Illston, 1977).

Spencer en Spencer (1997) gee 'n volledige oorsig van die ekologiese voorkoms van giste en hul assosiasie met onder meer plante, insekte, mense en diere. Die getalle in water varieer in die natuurlike bronne afhangend van die mate waartoe dit besoedel is. Die getalle wissel van 20 kve/l, 300-400 kve/l tot 400 kve/l onderskeidelik vir skoon, min besoedelde en erg besoedelde water. Die getalle in die grond hang grootliks af van die aktiwiteit in die omgewing.

In vars skaafsels van die huise waarin hoenders grootgemaak word, is daar 'n toename in die totale tellings tydens die eerste agt weke van groei. Die toename kom voor in onder andere die lactobacilli, enterococci, kolivorme bakterieë sowel as die swamme en giste. In skaafsels van ouer as 'n jaar neem die getalle drasties af behalwe vir die enterococci. Hierdie afname in getalle kan toegeskryf word aan 'n verhoging in pH en die proses kan kunsmatig bewerkstellig word deur die toevoeging van kalk. Die natuurlike verhoging in pH vind plaas as gevolg van die afbreking van ureum. Fungi is veronderstel om nie begunstig te word deur hierdie alkaliese toestande nie. Die tellings van swamme en giste varieer van 70×10^3 tot $8,8 \times 10^7$ kve/g vir vars skaafsels (Schefferle, 1965).

Vroeëre studies na die voorkoms van giste in die skaafsels van hoenderhuise is uitgevoer deur Halbrook et al. (1950). Getalle van 1000 tot 200 000 kve/g vir vars skaafselmonsters is verkry en getalle het toegeneem tot 600,000 en 3,000,000 kve/g vir onvervangde skaafsels tot die agtste week. Wanneer die getalle vergelyk word van opgeboude skaafsels met die onvervangde skaafsels is bevind dat die onvervangde skaafsels 100 maal meer giste besit het. Die toevoeging van kalk het ook 'n tienvoudige vermindering in gisgetalle tot gevolg gehad.

1.3.6 KLINIESE GISTE GEASSOSIEER MET HOENDERVLEIS

In 'n studie uitgevoer op hoenders deur Lin et al. (1989) is 44 verteenwoordigende gisolate geïsoleer vanaf die boonste lugweë, naamlik die

trachea. Die betrokke hoenders was afkomstig van 40 kliniese gevalle in Taiwan wat voorgekom het gedurende die tydperk 1985-1987. Nege-en-dertig van die isolate is geïdentifiseer as *Candida albicans* en vyf as *Torulopsis pintolopesii*. *Torulopsis pintolopesii* is nog nooit voorheen gerapporteer om voor te kom in enige vorige ontsteking gevalle nie. Alhoewel die karaktereenskappe baie soortgelyk is aan die van *Candida krusei*, 'n tipiese hoender ontsteking patogeen, is dit onderskei deur 'n definitiewe pellikel vorming in Tinsdale-medium. In Taiwan word 'n lae vlak antifungale middels tot alle hoendervoere toegevoeg wanneer op groot skaal geproduseer word. Die siekte kom nogtans algemeen voor in die hoenderindustrie.

Die ontsteking in die keel staan ook bekend as mikose van die spysverteringskanaal, kandidiasis, suurkrop of moniliasis. Die siekte kan groot uibruk tot gevolg hê alhoewel dit vergeleke met ander hoendersiektes diagnosties nie deur laboratoriums as baie belangrik geag word nie. Diere sowel as mense kan geïnfekteer word. Dit word veroorsaak deur hoofsaaklik *Candida albicans* en is 'n chroniese toestand wat voorkom as gevolg van onhigiëniese, onsanitêre, en oorbevolkte toestande. Geïnfekteerde hoenders toon grofheid van die vere, lusteloosheid, geskokte voorkoms en onvoldoende groei. Besmetting kom meestal voor in die krop en bestaan uit verdikking van die mukosa met sirkulêre, wit, uitstaande ulker formasies waarvan die oppervlakte geneig is om af te dop (Hofstad, 1978). Jungler (1933) het bekend gemaak dat die kroppe van geïnfekteerde hoenders beskadiging van die gestratifiseerde epiteellaag sowel as die Malpigiëse laag het. Die uitbrake is ook gekenmerk deur die karakteristieke afwesigheid van inflammatoriese reaksies.

Kandidosis het hoofsaaklik voorgekom as 'n siekte onder hoenders maar onlangs is dit ook waargeneem in ander pasgebore diere. Obendorf (1980) het byvoorbeeld *Candida albicans* geïsoleer uit die boonste lugweë van vier sieklike oosterse grys kangaroos (*Macropus giganteus*), wat met die hand groot gemaak is. In 'n ander geval van dieselfde kangaroo spesies is *C. tropicalis* geïsoleer

vanaf weefselvog en blastokonidia misilia in die foci. Daar was ook bewyse van sistemiese infeksie (Connole, 1989).

Vanaf 'n Suid-Afrikaanse manlike musk parakiet is *C. albicans* ook geïsoleer vanaf granules in die skeletspier, lewer, hart, lewer en die longe (Tham et al., 1985). Kropmykosis in fisante kom ook voor nadat *Candida albicans* mondeliks ingeneem is. Die gebruik van wye-reeks antibiotikas, vitamien aanvullings met hoë hoeveelhede suiker as draer, inneem van nat voer en nie sanitêre toestande dra by tot die uitbreek van die siekte. Nystatien in die voedsel of water is uitgewys as die mees effektiewe behandeling van geïnfecteerde fisante (Barnes, 1987).

Mandel et al. (1957) het bekend gemaak dat verlengde behandelings met chloortetrasikliene (Aureomycin) lei tot 'n toename in die voorkoms van moniliasis wat veroorsaak word deur *Candida albicans*. Hulle het egter bewys dat dit onwaarskynlik is dat die stimulasie van die betrokke gisspesies deur die middel veroorsaak kan word.

Van vyftien antifungale middels wat getoets is, is gentian violet en GV-11 bevind om die mees effektiewe behandeling te wees teen die bestryding van die gisspesies *Candida albicans* en *Torulopsis pintolopesii* (Lin et al., 1989). Hyamien 1622 is ook 'n welbekende antifungale agent en dit beskik oor antifungale aktiwiteit vir dertig dae indien dit in minder as 100 dpm toegedien word tot voere (Lin et al., 1989).

Faktore wat in ag geneem moet word indien chemiese agente gebruik word om mikroorganismes te beheer is: konsentrasie (meestal effektiewer wanneer meer gekonsentreerd), kontaktyd, temperatuur, aktiewe bestanddele, aksie, koste, toedieningsmetode en beskikbaarheid (Liewen, 1991).

Omdat *Candida albicans* die mees algemene gis is wat geïsoleer word vanaf mense, is dit die gis wat die meeste aandag geniet met veral die fokus op die moontlike patogeniese meganisme wat voorkom. *Serotipe A* is die mees algemene isolaat vanaf gevalle waar orale stomatitis voorgekom het. *Serotipe A* en *B* is in gelyke hoeveelhede gevind in gesonde individue en *Serotipe B* die mees prominente isolaat vanaf immuungekompromeerde pasiente (Stenderup, 1990).

1.3.7 PRESERVERING EN RAKLEEFYDVERLENGING VAN HOENDERPRODUKTE

Dit word algemeen aanvaar dat die bederf van hoenderkarkasse plaasvind as gevolg van bakteriese groei op die oppervlakte van die karkas (Jackson et al., 1997). Enige behandeling of proses wat die bakteriese populasies laat toeneem of afneem sal dus 'n effek hê op die rakleefyd van die hoenderkarkas. Sanitasie in die prosesseringsaanleg is herken as noodsaaklik vir die vermindering van die bakteriese populasies wat noodsaaklik is om maksimale rakleefyd van vars opgesnyde hoender te verseker (Brown, 1982). Baie benaderings is al gevolg om rakleefyd te verleng en derhalwe word die metodes uitgesonder.

1.3.7.1 Behandelings met antibiotika

'n Algemene praktyk om die rakleefyd van hoenderkarkasse te verleng is die blootstelling aan verskillende chemikalieë. Dit word meestal bewerkstellig deur die toevoeging van die chemikalieë tot die verkoelings-immersie tenk gedurende prosessering. Voor 1967 is antibiotikas soos chloortetrasiklien en oksitetrasiklien kommersieel gebruik in die verkoelings-immersie tenks (Cunningham, 1987).

Die resultate van hoenderkarkasse behandel met chloortetrasiklien (Aureomycin) het tot gevolg dat die afreuke wat vorm met bederf anders is as die tipiese bederwingsreuke wat gevorm word. Die tydperk wat dit neem vir hierdie reuke is

ook aansienlik langer. Die tyd vir die ontwikkeling van afreuke met onderskeidelik 10, 20 en 40 dele per miljoen behandeling van hoender is 11.6, 17.6, en 18.9 dae respektiewelik. Die mikroflora teenwoordig het ook aansienlik verskil op die behandelde hoenders. Die behandelde hoenderkarkasse het 'n bederwingsassosiasie gevorm met mikroorganismes wat met die botselvormings karaktereienskappe van die *Saccharomyceaceae* ooreengestem het. Die bederf kon ook gouer waargeneem word as slym wat vorm eerder as reuke. Die temperatuur waaronder die studie uitgevoer is, was 22°C (Stadelman en Ziegler, 1955).

Ayres et al. (1956) het die effek van verskeie antifungale middels sowel as antibiotikas getoets deur die karkasse te dompel in die oplossings vir 'n periode van 2 ure. Die agente wat getoets is sluit in: askosien, mikostatien, rimosidien, aerosporin, neomisien, streptomisien, tetrasiklien, oksitetrasiklien en chloortetrasiklien. Die mees effektiewe middel is bewys as chloortetrasiklien te wees met 'n daaropvolgende bergingstemperatuur van 4°C. Oksitetrasiklien het ook baie waarde getoon as 'n effektiewe middel om rakleefyd te verleng maar die ander middels was van min waarde. Die aansienlike toename in gisgetalle op die hoenderkarkasse wat behandel is met chloortetrasiklien is ook waargeneem. Die voorstel van beide 'n antifungale middels saam met 'n antibiotikum is aanbeveel vir die verkryging van 'n maksimale rakleefyd.

Stimulering van die gispatogeen, *Candida albicans*, deur tetrasikliene is reeds so vroeg as 1959 gerapporteer en die gis genera wat geïsoleer is vanaf die hoenders verteenwoordigend van *Rhodotorula*, *Saccharomyces* en *Candida* (Walker en Ayres, 1959).

Pogings is al aangewend om die normale intestinale bederfveroorakende mikroflora te onderdruk en te verander deur die langtermyn toediening van antibiotikas of deur die toediening vir 'n kort periode net voor slagting. 'n Gevestigde praktyk in die hoenderindustrie is die langtermyn toediening van

antibiotika om die groei van die hoenders te stimuleer. Die vergroening van karkasse is ook op hierdie wyse beperk (Shrimpton et al., 1958).

Daar is 'n merkbare versnelling in die groei van jong diere wat in kontak kom met ou groeihuise indien antibiotika toegedien word deur die dieët. Die groei-onderdrukkende effek word gesien as 'n subkliniese infeksie wat verlig word deur die antibiotika in die dieët. Die toestand wat voorkom in die ingewande van die hoenders is die effek van bakterieë wat groei in die ingewande en substansies produseer wat die verdikking van die absorpsieweefsel veroorsaak. Die absorpsie van voedingstowwe vind dus al hoe moeiliker plaas met 'n gevolglike vertraging in die groei van die hoender. (Lev en Briggs, 1957).

1.3.7.2 Die toediening van sure as preserveermiddels

Organiese sure is deur baie werkers aangewys as effektiewe preserveermiddels vir hoenderkarkasse. Dit is voorgestel dat die groei van baie van die hoofsaaklike bederf veroorsakende bakterieë gedeeltelik of heeltemal geïnhibeer word wanneer pH waardes van 5.5 bereik word. Melksuur, sitroensuur en waterstofchloried is aangedui om baie effektief te wees teen *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus spp.* en coliforme mikroorganismes (Gill en Newton, 1981). Die gebruik van melksuurbakterieë as inokulumkulture het bewys dat die organismes 'n baie inhiberende effek het op baie van die algemeenste bederf veroorsakende bakterieë sowel as patogene soos *Salmonella typhimurium* en *Staphylococcus aureus* (Raccach en Baker, 1978).

Die gebruik van onder meer tien sure om die rakleef tyd van hoenderkarkasse te verleng is ondersoek deur Mounthey en O'Malley (1964). Die sure is toegevoeg tot die verkoelingswater van opgesnyde hoenderkarkasse in die nodige hoeveelhede om 'n pH van 2.5 te verkry en 'n pH van 3.1 vir sorbiensuur. Wanneer gemeet ten opsigte van die totale bakteriese tellings en die tydperk in dae voordat reuke gemerk word, is gevind dat die sure effektief was in die

volgorde: asynsuur, suksiensuur, sitroensuur, waterstofchloried, fosforsuur en melksuur. Dit is ook gemerk dat die effektiwiteit van die betrokke suur nie net afhang van die verlaging in pH nie maar ook die molekulêre struktuur van die suur wat gebruik word. `n Probleem met die gebruik van sure is die effek wat dit kan hê op die smaak van die hoender. By `n pH van 2.5 bestaan die geneigdheid van die hoender om te verwit en by hoër pH vlakke daal die preserveerende effek van asyn. Geen inhibering van bederfveroorakende mikroorganismes is gevind by `n pH van 4.0 nie.

Die onderdompeling van hoenderkarkasse in askorbiensuur vir drie minute het geen waarneembare effekte op die kleur of organoleptiese eienskappe van die hoender nie. Verder het die gebruik van `n 1% askorbiensuur onderdompelings middel `n verlengde rakleefyd van 12-14 dae tot 20-21 dae met betrekking tot slymvorming (Arafa en Chen, 1977).

Die gebruik van `n 3 of 5% suksiensuur oplossing by `n temperatuur van 60 °C het `n groot bydrae tot die mikrobiologiese kwaliteit deur die vermindering van die kontaminante op die karkas maar die voorkoms van die produk is benadeel (Cox et al., 1974).

1.3.7.3 Vakuumverpakking en gekontroleerde atmosfeer

Vakuumverpakking moedig die groei van melksuurbakterieë aan terwyl die aerobiese bederfveroorakende mikroflora geïnhibeer word. Die anaerobiese assosiasie van bederf het gewoonlik tot gevolg dat die rakleefyd maksimaal is. Die normale bederf wat onder hierdie toestande voorkom is die versuring van die produk alhoewel ander tipes bederf ook kan voorkom (Egan, 1983).

Daar kan egter sekere ongewenste reaksies plaasvind wanneer die koolstofdioksied sekere spesies inhibeer soos onder meer tydens die vergroening van karkasse. *Enterobacter* spesies wat die fakultatief anaerobes verteenwoordig sal vinnig groei onder vakuum toestande en sal dienooreenkomstig die ander bederfveroorsoekende mikroflora oorgroei onder gevriesde toestande (Arafa en Chen, 1975).

1.3.7.4 Die gebruik van saneringsmiddels

Ziegler en Stadelman (1955) het voorgestel dat chloor gebruik word in die prosesseringswater van hoender slagpales. Chloor word tans algemeen gebruik om patogene en ander bakterieë in die slagpale te bestry. Ziegler en Stadelman (1955) het ook gevind dat chloor in die verkoelingswater die rakleef tyd verleng, afreuke bestry en die voorkoms van slym verhoed. Die hoofrede vir die gebruik van chloor in die verkoelings-immersie tenks is om die mikroorganismes wat afgewas is te dood en sodoende die herkontaminasie te verhoed (Lillard, 1979). Een van die groot voordele hoekom chloor as antibakteriese agent gebruik word is die onselektiwiteit wat dit toon teenoor alle bakterieë (Cunningham, 1987).

Chloor is gevind om effektief te wees vir die vermindering van reuke op toerusting sowel as om die slymvorming te verminder maar dit het geen effek getoon op die verlenging van rakleef tyd indien dit gebruik word in die verkoelings-immersie tenk nie (Mead et al., 1975). Soos die vlakke van die chloor in die water verhoog word, is daar 'n afname in die bakterieë wat onaangename reuke veroorsaak (Tsai et al., 1991). Huidiglik word chloorvlakke van 50 dpm toegepas in die verkoelings-immersie tenks om die bakteriese lading te verminder. Die gebruik van chloor in die verkoelingsbad met onderdompelling het egter baie probleme weens die toepassing by lae temperature. Derhalwe word verlengde kontaktyd, en hoër konsentrasies voorgestel (Mead, 1982; Mead et al., 2000). Die verhoogde konsentrasies van chloor in die teenwoordigheid van organiese material lei egter tot die vorming van karsinogeniese trihalometane in

die water. Die aanpassing van die chloorvlakke is dus baie belangrik omdat dit 'n groot invloed het op die vrye chloor wat die aktiewe bestanddeel is. Sagte water benodig die aanpassing van die chloorinhoud om korosie van die toerusting te voorkom (Patterson, 1967).

Die bakteriedodende effektiwiteit van chloor word verminder by hoë pH waardes en HOCL reageer met ammonia en stikstofkomponente, insluitende aminosure. Daarom is die gebruik van chloordioksied wat vyfmaal die oplosbaarheid van chloor het en tweemaal die oksidatiewe kapasiteit ondersoek as alternatief vir chloor (Lillard, 1980).

1.4 VERWYSINGS

- Al – Mohizea, I.S., Mashadi, A.S., Fawwal, A. and Shalhat, A., (1994) Microbiological and shelf life assessment of chilled eviscerated whole chicken broilers in Saudi – Arabia. *British Poultry Science* 35, 519 – 526.
- Anderson, G.W., Snyder, E.S. and Slinger, S.J., (1957) Comparative effectiveness of feeding aureomycin and dipping in an aureomycin solution as a means of preserving poultry meat. *Poultry Science* 23, 175 – 179.
- Arafa, A.S. and Chen, T.C., (1975) Effect of vacuum packaging on microorganisms on cut – up chickens and chicken products. *Journal of Food Science* 40, 50 – 52.
- Arafa, A.S. and Chen, T.C., (1977) Ascorbic acid dipping as means of extending shelf – life and improving microbial quality of cut – up broiler parts. *Poultry Science* 57, 99 – 103.
- Atlas, R.M and Bartha, R., (1993) Effects of abiotic factors and environmental extremes on microorganisms. In: *Microbial ecology*. Third edition. Benjamin Cunnings Publishing company (Inc.). pp. 212 – 241.
- Ayres, J.C., Walker, H.W., Fanelli, M.J., King, A.F and Thomas, F., (1956) Use of antibiotics in prolonging the storage life of dressed chicken. *Food Technology* 10, 563 – 568.
- Bailey, J.S., Thomson, J.E. and Cox, C.A., (1987) Contamination of poultry during processing. In: Cunningham, F.E., Cox, N.A., *The microbiology of poultry meat products*. Academic Press (Inc). pp. 193 –206.
- Barnes, E.M. and Impey, C.S., (1968) Psychrophilic spoilage bacteria of spoilage bacteria. *Journal of Applied Bacteriology* 31, 97 – 107.
- Barnes, E.M. and Shrimpton, D.H., (1957) Causes of greening of uneviscerated poultry carcasses during storage. *Journal of Applied Bacteriology* 20, 273 – 285.

- Barnes, E.M., (1976) Microbiological problems of poultry at refrigerated temperatures – A review. *Journal of Science Food and Agriculture* 27, 777 – 782.
- Barnes, E.M and Impey, C.S., (1982) Psychrophilic spoilage bacteria of poultry. *Journal of Applied Bacteriology* 31, 97 – 107.
- Barnes, E.M and Impey, C.S., Geeson, J.D., Buhagiar, R.W.M., (1978) The effect of storage temperature on the shelf – life of eviscerated air chilled turkeys. *British Poultry Science* 19, 77 – 84.
- Barnes, H.J., (1987) Diseases of quail. Exotic pet medicine. *Veterinary clinics of North America. Small Animal Practice* 05, 1109 – 1144.
- Baxter, M and Illston, G.M., (1976) Psychrotrophic meat spoilage fungi within a freezing works. *New Zealand Veterinary Journal* 24, 177 – 180.
- Baxter, M. and Illston, G.M., (1977) Environmental reservoirs of psychrotrophic meat spoilage fungi. *New Zealand Veterinary Journal* 25, 165 – 167.
- Beuchat, L.R., (1985) Bridging the gap: Taxonomists and food mycologist. In: Samson, R.A. and Pitt, J.I., *Advances in Penicillium and Aspergillus systematics*. Plenum Publishers. New York. pp. 113 – 118.
- Beuchat, L.R and Golden, D.A, (1989) Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technology* 33, 134 – 142.
- Boddy, L. and Wimpenny, J.W.T., (1992) Ecological concepts in food microbiology. *Journal of Applied Bacteriology. Symposium Supplement*. Vol. 72. pp. 23 S – 38 S.
- Borst-Pauwels, G.W.F.H., (1981) Ion transport in yeast. *Biochim. Biophysica Acta.*, 650, 88 – 127.
- Brock, T.D.and Madigan, M.T., (1991) Growth and its control. In: Brock, T.D. and Madigan, M.T., *Biology of microorganisms*. Sixth ed. Prentice-Hall, inc. U.S.A.
- Brown, M.H. and Emberger, O., (1980) Oxidation – reduction potential. In; Silliker, J.H., Elliot, R.P., Baird – Parker, A.C., Bryan, F.L., Christain, J.H.B., Clark, D.S., Olsen, J.C. and Roberts (Eds), *Microbial ecology of*

- foods, Vol 02. Food commodities. Academic Press, New York. pp. 70 – 90.
- Brown, M.H., (1982) Meat microbiology. Applied Science Publishers (Ltd). London and New York. pp. 01 – 12.
- Bryan, F.L., (1980) Poultry and poultry meat products. In: Silliker, J.H., Elliot, R.P., Baird – Parker, A.C., Bryan, F.L., Christain, J.H.B., Clark, D.S., Olsen, J.C. and Roberts (Eds), Microbial ecology of foods, Vol 02. Food commodities. Academic Press, New York. pp. 410 – 469.
- Campbell, R.J., Egan, F.A., Grau, F.H. and Shay, B.J., (1979) The growth of *Microbacterium thermosphactum* on beef. Journal of Applied Bacteriology 46, 505 – 509.
- Charoenpong, C and Chen, T.C., (1978) Microbiological quality of refrigerated chicken gizzards from different sources as related to their shelf – lives. Poultry Science 58, 824 – 829.
- Christian, J.H.B., (1980) Reduced water activity. In: In: Silliker, J.H., Elliot, R.P., Baird – Parker, A.C., Bryan, F.L., Christain, J.H.B., Clark, D.S., Olsen, J.C. and Roberts (Eds), Microbial ecology of foods, Vol 02. Food commodities. Academic Press, New York. pp. 410 – 469.
- Clark, D.S. and Takacs, J., (1980) Gasses as preservatives. In: : Microbial ecology of foods. Vol 1. Factors affecting life and death of microorganisms. (ICMSF). Academic Press. pp. 170 – 189.
- Connole, M.D., (1989) Review of animal mycoses in Australia. Mycopathologia 111, 133 – 164.
- Corry et al. (1987) Methods for the mycological examination of food. Plenum Press. New York.
- Cox, N.A., Mercuri, A.J., Juven, B.J., Thomson, J.E. and Chew, V., (1974) Evaluation of succinic acid and heat to improve the microbiological quality of poultry meat. Journal of Food Science. Vol. 39. pp. 985 – 987.
- Cunningham, F.E., and Bowers, J.A., (1976) Composition, microbial content and stability of chicken patties held at refrigerated temperature. Poultry Science 56, 93 – 97.

- Dalton, H.K., Board, R.G., and Davenport, (1984) The yeast of British fresh sausage and minced beef. *Antonie von Leeuwenhoek* 50, 227 – 248.
- Deak, T., (1991) Foodborne Yeasts. *Advances in Applied Microbiology* 36, 179 – 278.
- Deak, T., (1993) Simplified techniques for identifying foodborne yeasts. *International Journal of Food Microbiology* 19, 15 – 26.
- Deak, T. and Beuchat, L.R., (1996) *Handbook of spoilage yeasts*. CRC Press, Boca Rayton. New York. London. Tokyo.
- Dillon, V.M and Board, R.G., (1991) Yeasts associated with red meats – A review. *Journal of Applied Bacteriology* 71, 93 – 108.
- Dillon, V.M. and Board, R.G., (1990) A study of sulfite- tolerant yeasts from comminuted lamb products. *Biotechnology and Applied Biochemistry* 12, 99 – 115.
- Egan, A.F., (1983) Lactic acid bacteria of meat and meat products. *Antonie von Leeuwenhoek* 49, 327 – 336.
- Farkas, J., (1997) Physical methods for food preservation. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. *Food microbiology: Fundamentals and frontiers*. ASM Press. Washington D.C. pp. 497 – 556.
- Fennema, O.R., Powrie, W.D. and Marth, E.H., (1973) *Low temperature preservation of foods and living matter*. New York. Marcel Dekker.
- Fleet, G.H., (1992) Spoilage yeast. *Critical Reviews in Biotechnology* 12, 01 – 44.
- Fleet, G.H., (1989) Food spoilage yeasts. In: Spencer, J.F.T., and, Spencer, D.M. (eds.), *Springer – Verlag Berlin Heidelberg*. Germany. pp. 124 – 167 .
- Freeman, L.R., Silverman, G.J, Angelini, P., Merrit, J.R and Esselen, W.B., (1976) Volatiles produced by microorganisms isolated from refrigerated chicken at spoilage. *Applied and Environmental Microbiology* 2, 222 – 231.
- Frisvad, J.C. and Samson, R.A., (1991) Filamentous fungi in foods and feeds: Ecology, Spoilage, and Mycotoxin Production. : Arora, D.K., Mukerji, K.G., Marth, E.M., *Handbook of applied mycology. Foods and feed*. Vol 3. Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, Hong Kong. pp. 31 – 69.

- Fung, D.Y.C., (1987) Types of microorganisms. In: Cunningham, F.E., Cox, N.A., The microbiology of poultry meat products. Academic Press (Inc). pp. 05 – 26.
- Gallo, L., Schmitt, R.E. and Schmitt-lorenz, W., (1988) Microbial spoilage of refrigerated fresh broilers. I. Bacterial flora and growth during storage. Lebensmittel und Wiss. Technology 21, 216 – 223.
- Gill, C.O., (1983) Meat spoilage and evaluation of the potential storage – life of fresh meat. Journal of Food Protection 46, 444 – 445.
- Gill, C.O. and Newton, K.G, (1980) Development of bacterial spoilage at adipose tissue surface of meat. Applied and Environmental Microbiology 39, 1076 – 1077.
- Gill, C.O. and Newton, K.G., (1977) The ecology of bacterial spoilage of fresh meat at chilled temperatures. Meat Science. Applied Science Publishers (Ltd). England . pp. 207 – 217.
- Gill, C.O. and Newton, K.G., (1981) Effect of lactic acid concentration on growth on meat of gram – negative psychrotrophs from a meatworks. Applied and Environmental Microbiology 43, 284 – 288.
- Gill, C.O., (1982) Meat spoilage and the evaluation of potential storage life of fresh meat. Journal of Food Protection 46, 444 – 452.
- Gill, C.O., (1982) Microbial interactions with meat. In: Brown, M.H., Meat microbiology. Applied Science Publishers Ltd. London. New York. pp. 225 – 264.
- Gill, C.O., (1986) The control of microbial spoilage in fresh meats. In: Pearson, A.M. and Dutson, T.R., Advances in meat research, Meat and poultry microbiology. England, pp. 49 – 81.
- Gill, C.O and Newton, K.G., (1977) The ecology of bacterial spoilage of fresh meat at chill temperatures. Meat Science 2, 202 – 217.
- Grau, F.H., (1980) Inhibition of the anaerobic growth of *Brochothrix thermosphacta* by Lactic acid. Applied and Environmental Microbiology 40, 433 – 436.

U.O.V.S. BIBLIOTEK

; 152 28241

- Guerzoni, G. (1993) Survey of the physiological properties of the most frequent yeast associated with commercial chilled foods. *International Journal of Food Microbiology* 17, 329 – 341.
- Halbrook, E.R., Winter, A.R. and Sutton, T.S., (1951) The microflora of poultry house litter and droppings. *Poultry Science* 30, 381 – 388.
- Hofstad, M.S., Calnek, B.W., Helmboldt, C.F., Reid, C.F and Yoder, H.W., (1978) *Diseases of poultry*. Iowa State University Press. pp. 375 – 378.
- Ingram, M. and Dainty, R.H., (1971) Changes caused by microbes in the spoilage of meats. *Journal of Applied Bacteriology* 34, 21 – 39.
- Ingram, M., (1951) The effect of cold on microorganisms in relation to food. *Proceedings of the Society of Applied Bacteriology* 14, 243.
- Islam, Mir N., Rodney, J.H., Gray and Judy, Geiser, (1978) Development of antimicrobial agents for the extension of poultry shelf – life. *Poultry Science* 57, 1266 – 1271.
- Jackson, T.C., Acuff, G.R. and Dickson, J.S., (1997) Microbial spoilage of foods. In: *Food microbiology. Fundamentals and frontiers*. ASM Press. Washington D.C. pp. 83 – 127.
- Jay, M. J., (1992) Intrinsic and extrinsic parameters of foods that affect microbial growth. In: *Modern food microbiology*, 4th edition. Published by Von Nostrand Reinhold. New York. pp. 38 – 62.
- James, M.J., (1972) Mechanism and detection of microbial spoilage in meats at low temperatures: a Status report. *Journal of Milk, Food and Technology* 35, 467 – 471.
- Janet, E.L.C., (1987) Relationships of water activity to fungal growth. In: *Food and beverage mycology*. Second edition. Published by Von Nostrand Reinhold. New York pp. 51 – 88.
- Johannsen, E., Niemand, J.G., Eagle, L. and Bredenhann, G., (1984) Yeast flora of radurised and non – radurised minced beef – A taxonomic study. *International Journal of Food Microbiology* 1, 217 – 227.

- Kraft, E.T., (1976) Microbial interactions in foods. In: Carr, J.G., Skinner, F.A., Microbiology in agriculture, fisheries and food. Academic Press. London. New York. San Francisco. pp. 141 – 149.
- Large, P.J., (1986) Degradation of organic nitrogen compounds by yeasts. *Yeast* 2, 1 – 34.
- Lawrie, R., (1995) The structural composition and preservation of meat. In: Campbell – Platt, G., Cook, P.E., Fermented meats. Blackie academic and Profesional. pp. 1 – 38.
- Leistner, L. (1992) Food preservation by combined methods. *Food Research International* 25, 151 – 158.
- Lev, M., and Briggs, C.A.E., (1957) The gut flora of the chick. Differences in ceecal flora between infected , uninfected and penicillin – fed chicks. *British Journal of Nutrition* 11, 364 – 372.
- Liewen, M.B., (1991) Antifungal food additives. In: Arora, D.K., Mukerji, K.G., Marth, E.M., Hanbook of applied mycology. Foods and feed. Vol 3. Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, Hong Kong. pp. 541 – 553.
- Lillard, H.S., (1980) Levels of chlorine and chlorine dioxide of equivalent actericidal effect in poultry processing water. *Journal of Food Science* 44, 1594 – 1597.
- Lin, M.Y., Huang, K.J. and Kleven, S.H., (1989) In vitro comparison of the activity of various antifungal drugs against new isolates causing thrush in poultry. *Avian Diseases* 33, 416 – 421.
- Mandel, M., Hood, F., Cohen, J.R., (1957) On the apparent stimulation of *Candida albicans* by chlortetracycline. *Antibiotics and Chemotherapy* 8, 187 – 191.
- Maxcy, R.B., Froning, G.W. and Hartung, T.E., (1972) Microbial quality of ground poultry meat. *Poultry Science* 52, 486 – 491.
- Mazur, P. and Schmidt, J.J., (1968) Interactions of cooling velocity, temperature, and warming velocity on survival of frozen and thawed yeast. *Cryobiology* 5, 1 – 17.

- Mazur, P., (1961) Physical and temporal factors involved in the death of yeast at subzero temperatures. *Biophysical Journal* 1, 247 – 264.
- Mcmeekin, T.A., (1982) Microbial spoilage of meats. In: Davies, R., *Developments in food microbiology – 1*. Applied Science Publishers. London and New Jersey. pp. 01 – 41.
- Mead, G.C., (1982) Microbiology of poultry and game birds. In: Brown, M.H., *Meat microbiology*. Applied Science Publishers. London. pp. 67 – 103.
- Montville, T.J., (1997) Principles which influence microbial growth, survival, and death in foods. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. *Food microbiology: Fundamentals and frontiers*. ASM Press. Washington D.C. pp. 13 – 30.
- Mossel, D.A.A., (1971) Physiological and metabolic attributes of microbial groups associated with foods. *Journal of Applied Bacteriology* 34, 95 – 118.
- Mossel, D.A.A., (1977) *Microbial deterioration of foods*, Third edition. CRC Press inc. Cleveland. Ohio. U.S.A. pp. 29 – 48.
- Mossel, D.A.A., (1982) *Microbiology of foods: The ecological essentials of assurance and assesment of safety and quality*. CRC Press Inc. Cleveland, Ohio, U.S.A. pp. 843 – 853.
- Mountney, G.J. and O'Malley, J., (1965). Acids as poultry meat preservatives. *Poultry Science* 44, 582 – 586.
- Mountney, G.L., Blackwood, U.B., Kinsley, R.N. and O'Malley, J.E., (1960) The effect of hepta-5-methylbenimidazole and hydrochloric acid on the growth of microflora found on poultry carcasses. *Research Notes* 23, 778 – 781.
- Neves, L., Pampulha, M.E. and Loureiro-diaz, M.C., (1994) Resistance of food spoilage yeasts to sorbic acid. *Letters in Applied Microbiology* 19, 8 – 11.
- Newton, K. G. and Gill, C.O., (1980) The microbiology of DFD fresh meats: A review. *Meat Science* 5, 223 – 232.
- Notermans, S. and Kampelmacher, E.H., (1975) Further studies on the attachment of bacteria to skin. *British Poultry Science* 16, 487 – 496.
- Nottingham, P.M., (1982) Microbiology of carcass meats. In: Brown, M.H., *Meat microbiology*. Applied science publishers. London. pp. 13 – 65.

- Nychas, G.J., Dillon, V.M. and Board, R.G., (1988) Glucose, the key substrate in the microbiological changes occurring in meat and certain meat products. *Biotechnology and Applied Biochemistry* 10, 203 – 231.
- Olson, J.C. and Nottingham, P.M., (1980) Temperature. In: Silliker, J.H., Elliot, R.P., Baird – Parker, A.C., Bryan, F.L., Christain, J.H.B., Clark, D.S., Olsen, J.C. and Roberts (Eds), *Microbial ecology of foods*, Vol 02. Food commodities. Academic Press, New York. pp. 01 – 37.
- Ornston, L.N., (1971). Regulation of catabolic pathways in *Psuedomonas*. *Bacteriological Reviews* 35, 87 – 116.
- Pampulha, M.E. and Loureiro-diaz, M.C., (1989) Combined effect of acetic acid, pH, and ethanol on intracellular pH of fermenting yeasts. *Applied Microbiology and Biochemistry* 31, 547 – 550.
- Patterson, J.T., (1973) Airborne microorganisms in poultry processing plants. *British Poultry Science* 14, 161 – 165.
- Patterson, J.T., (1975) The effects of various treatments on the microbial flora of whole poultry carcasses with particular reference to *Staphylococcus aureus* contamination. *British Poultry Science* 16, 307 – 313.
- Pitt, J.C. and Hocking, A.D., (1985) The ecology of fungal food spoilage. Academic Press. pp. 05 – 15.
- Pitt, J.I. and Hocking, A.D., (1997) *Fungi and food spoilage*. Second edition. Blackie academic and professional publishers. London. pp. 03 – 13.
- Potter, N.N. and Hotchkiss, J.H., (1995) *Food Science*. Fith edition. Chapman and Hall Department of Biochemistry.
- Raccach, M. and Baker, R.C., (1978) Lactic acid bacteria as an antispoilage and safety factor in cooked, mechanically deboned poultry meat. *Journal of Food Protection* 41, 703 – 705.
- Ranken, M.D., Clewlow, G., Shrimpton, D.H. and Stevens, B.J.H., (1965) Chlorination in poultry processing. *British Poultry Science* 6, 331 – 337.
- Robinson, R.K., (1985) *Microbiology of frozen foods*. New York. Elsevier.
- Sscefferle, H.E., (1965) The microbiology of built up poultry litter. *Journal of Applied Bacteriology* 28, 403 – 411.

- Shank, J.L. and Landquist, B.R., (1963) The effect of packaging conditions on the bacteriology, color, and flavor of table – ready meats. *Food Technology* 17, 1163 – 1169.
- Shrimpton, D.H., Barnes, E.M. and Miller, W.S., (1958) The control of spoilage of uneviscerated poultry carcasses by treatment with antibiotics before slaughter. *Journal of Science, Food and Agriculture* 9, 353 – 361.
- Silverstrini, D.A., Anderson, G.W. and Snyder, E.S., (1957) Chlortetracycline as related to the microbiology and preservation of poultry meat. *Poultry Science* 33, 179 – 185.
- Sinell, H.J., (1980) Interacting factors affecting mixed populations. In: *Microbial ecology of foods. Vol 1. Factors affecting life and death of microorganisms. (ICMSF)*. Academic Press. pp. 215 – 221.
- Spencer, J.F.T. and Spencer, D.M., (1997) Ecology: Where yeasts live. In: *Yeasts in natural and artificial habitats*. Springer – Verlag. Berlin. Heidelberg. New York. pp. 33 – 67.
- Stadelman, W.J. and Ziegler, F., (1955) The effect of aureomycin treatment on the shelf – life of poultry meat. *Food Technology* 9, 107 – 108.
- Stenderup, A, (1990) Oral mycology. *Acta. Odontology Scandinavia* 48, 3 – 10.
- Tabatabai, L.B. and Walker, H.W., (1970) Oxidation – Reduction potential and growth of *Clostridium perfringens* and *Pseudomonas fluorescens*. *Applied Microbiology* 20, 441 – 446.
- Tham, V.L., Davenport, P.K. and Schultz, D.J. (1985) Candidiasis in a musk lorikeet (*Glossopsitta concinna*). *Australian Veterinary Journal* 62, 103 – 104.
- Thomas, C.J. and Mcmeekin, T.A., (1980) Contamination of broiler carcass skin during commercial processing procedures: an electron microscopic study. *Applied and Environmental Microbiology* 40, 133 – 144.
- Tudor, A.E. and Board, R.G., (1993) Food spoilage yeasts. In: Rose, A. H. , Harrison, J.S., *The yeast*, Volume 5, 2nd edition. Academic Press Limited. London . pp. 435 – 516.

- Viljoen, B.C., Dykes, G.A., Callis, M. and Von Holy, (1993) Yeasts associated with vienna sausage packaging. *International Journal of Food Microbiology* 18, 53 – 63.
- Viljoen, B.C., Geornaras, I., Lambrecht, A. and Von Holy, A., (1998) Yeast populations associated with processed poultry. *Food Microbiology* 15, 113 – 117.
- Walker, H.W. and Ayres, J.C., (1956) Incidence and kinds of microorganisms associated with commercially dressed poultry. *Applied Microbiology* 1, 345 – 349.
- Walker, H.W. (1977) Spoilage of food by yeasts. *Food Technology* 31, 57 – 65.
- Walker, H.W., and Ayres, J.C., (1959) Characteristics of yeasts isolated from processed poultry and the influence of tetracyclines on their growth. *Applied Microbiology* 7, 251 – 255.
- Welthagen, J.J. and Viljoen, B.C., (1998) Yeast profile in Gouda cheese during processing and ripening. *International Journal of Food Microbiology* 41, 185 – 194.
- Welthagen, J.J. and Viljoen, B.C., (1999) The isolation and identification of yeasts obtained during the manufacture and ripening of Cheddar cheese. *Food Microbiology* 16, 63 – 73.
- Whitehill, A.R., (1957) Inhibition of yeasts by food spoilage organisms. *Bacteriological Procedures* 20, 17 – 23.
- Ziegler, F., Spencer, J.V. and Stadelman, W.J., (1954) A rapid method for determining spoilage of fresh poultry meat. *Poultry Science* 33, 1253 – 1255.

Aanvaar vir publikasie:

The yeast flora occurring in the trachea of broiler chickens. Food Biotechnology, 38: 77-80 (2000).

HOOFSTUK 2

DIE GISFLORA WAT VOORKOM IN DIE TRACHEA VAN BRAAIKUIKENS

2.1 UITTREKSEL

Die voorkoms van bakterieë as natuurlike bewoners van die intestinale flora van hoenders is goed gedokumenteerd. Die voorkoms en samestelling van die gisflora het egter nog baie min aandag geniet. 'n Studie is onderneem met die doelwit om die dominante giste wat geassosieer word met die trachea van braaikuikens te identifiseer. Isolering van hierdie giste is vanaf 'n A graad hoender prosesseringsaanleg gedoen. 'n Totaal van 38 verteenwoordigende gis isolate is geïsoleer en geïdentifiseer volgens konvensionele metodes. Spesies verwant aan die genera *Bullera*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Rhodotorula*, *Torulaspota*, *Trichosporon*, en *Zygosaccharomyces* is geïdentifiseer tydens verskillende stadiums van die kuiken groeiprogram.

2.2 INLEIDING

Die hoof ekologiese bepalende faktore wat mikrobiële groei stimuleer naamlik voedingstofbeskikbaarheid, wateraktiwiteit (A_w), en pH word verskaf naby optimum vlakke in vars vleis en verwante produkte geproduseer vanaf die vleis (Campbell-Platt en Cook, 1995). Onder normale omstandighede van vleisprosessering kan die vleis gekontamineer word met 'n wye diversiteit van mikroorganismes. Gebasseer hierop word spesifieke organismes geselekteer, afhange van die toestande van behandeling wat volg en die temperature van berging, wat kan lei tot die bederf van vleis of vleisprodukte (Ingram en Dainty, 1971).

Giste word nie as die belangrikste bederfveroorsoekende mikroorganismes van vleis beskou nie, omdat hulle voorkoms varieer, relatief tot bakteriese tellings (Deak en Beuchat, 1996; Jay en Margitic, 1981). Indien die bakteriese tellings geïnhibeer word deur omgewingstoestande soos 'n verlaging in temperatuur, pH, ens., kan giste en swamme egter sodanig ontwikkel as sekondêre populasies ten einde die dominante bederfveroorsoekende organismes te word (Mcmeekin, 1982). Die proporsionele persentasie van die gispopulasie op kalkoen geberg by -2°C het dramaties toegeneem en die psigrofiële giste het getalle bereik wat $10^7/\text{cm}^2$ oorskry het op die vel na berging vir 42 dae by hierdie temperatuur (Barnes et al., 1978). Tydens die verlaging van die wateraktiwiteit (A_w) deur middel van dehidrasie of die toevoeging van oplosmiddels vir sekere geprosesseerde vleise, word die bederfveroorsoekende organismes se groei beperk wat gevolglik aanleiding gee tot 'n veranderde ontwikkelende groep van bederfveroorsoekende mikroflora. Die normale gram negatiewe bederfveroorsoekende bakterieë word beperk deur A_w waardes onder 0.98 en daarom kan giste en swamme met hoër toleransie ten opsigte van wateraktiwiteit tot die primêre bederfveroorsoekende mikroorganismes ontwikkel in vleis met A_w waardes tussen 0.93 en 0.85 (Jackson et al., 1997).

Wells en Stadelman (1958) het die ontwikkeling van gispopulasies op antibiotika behandelde hoenderkarkasse bestudeer en gevind dat 'n groter persentasie van die behandelde vleis beskik oor 'n dominante gisflora as die onbehandelde karkasse. Die bederfveroorsoekende mikroflora op sulfiet geïnkuleerde vleis het ook hoofsaaklik bestaan uit sulfiet tolerante giste nadat 'n afname in die kompeterende bakterieë by die omstandighede gevind was (Wells en Stadelman, 1958).

Gebaseer op die potensiaal van giste om te ontwikkel tot patogene of bederf veroorsakende organismes moet hulle oorsprong eers deeglik vasgestel word alvorens enige evaluering gemaak kan word aangaande die bydrae wat gelewer word tot die bederf van hoendervleis. Gevolglik is die gispopulasies in die trachea van hoenders tydens verskeie periodes van die braaikuiken se lewensiklus bepaal. Die teenwoordigheid van die betrokke giste wat voorkom, sal ook verder gebruik word om 'n databasis daar te stel vir die giste teenwoordig gedurende elke fase van die opgroeiende braaikuikens, sowel as om die bydrae van hierdie giste tot bederf te evalueer.

2.3 METODIEK

2.3.1 Monsterneming prosedures.

Op dag 0, is hoenders verkry vanaf 'n broeiery direk na uitbroei en die kuikens geplaas by 'n kommersiële digtheid van ongeveer 21 kuikens/m² in die groeihokke. Die kuikens vir monsterneming is gedood deur servikale dislokasie. Daarna is die kuikens onder gedompel in 70% alkohol en asepties oopgesny met behulp van steriele skêre en skalpels. Die tracheas van individuele kuikens is asepties verwyder en oorgedra na steriele Whirlpack Stomacher (Nunc) sakkies.

Die tracheas van 15 kuikens, willekeurig geneem van uit vier verskillende broeihokke is saamgeplaas in een sakkie, ten minste herhaal in duplikaat, en

vervoer op ys in 'n verkoelingshouer na die laboratorium binne die bestek van 3 ure. Mikrobiologiese analises van die tracheas was weekliks herhaal oor 'n periode van ses weke (Junie tot Julie) tot en met die slagting van die hoenders.

2.3.2 Prosessering en mikrobiologiese analise van monsters

Om te kompenseer vir variasies in gispopulasies tussen hoenders, is die saamgeplaaste tracheas van 15 hoenders uit verskillende groeihokke geanaliseer in duplikaat tydens elke monsterneming. Die trachea monsters is geweeg en 9ml steriele bacto peptonwater (Oxoid, Basingstoke) bygevoeg vir elke gram trachea. Die monsters is gehomogeniseer vir 'n periode van 2 min in 'n Colworth 400 Stomacher (London, UK). Verdunnings van die trachea monsters is uitgevoer soos benodig in 9 ml steriele peptonwater en volgens die spreiplaat metode uitgeplaat op steriele Gis Ekstrak Glukose Chloramphenicol agar (Oxoid) en Totale Plaat Telling agar (Oxoid).

Die plate vir die kwantifisering van giste is geinkubeer by 25°C vir 5 dae onder aerobiese toestande. Alle visueel onderskeidende giste is na 5 dae op die hoogste verdunningsplaat tussen 30 en 300 kve/g gekwantifiseer, gesuiwer en gestoor op Gis-ekstrak Malt-ekstrak (YM) agar by 4°C. Die data is omgeskakel en uitgedruk as die aantal giste per g trachea. Die totale aantal lewende bakteriese isolate op die Totale Plaat Telling agar is bepaal na inkubasie by 25°C vir 'n periode van 48 uur.

2.3.3 Karakterisering van gisisolate

Die verteenwoordigende gisisolate is geidentifiseer deur gebruik te maak van die metodes soos beskryf deur Van der Walt en Yarrow (1984) en die gerekenaariseerde stelsel van Barnett et al. (1990). Elke isolaat is geinokuleer in 6 suikerfermenteerbare medias, 32 koolstof assimilerings medias en vitamienvrye meduim (Van der Walt and Yarrow, 1984). Addisionele toetse het ingesluit groei by 37°C, 50% D-glukose meduim, ureum hidrolise, afbraak van

arbutien, 0,01% en 0,1% sikloheksamied en kleuring van 4-weke-oue kulture met Diazonium Blou B sout reagens. Assimilering van die stikstowwe is gedoen met behulp van die auksanogram metodes (Lodder en Kreger-van Rij, 1952).

Askosporvorming is gedoen op McClary asetaat agar, aartappel glukose agar, Gorodkowa agar, meliameel agar en mout ekstrak agar (Van der Walt en Yarrow, 1984). Die geïnkuleerde giste is geïnkubeer by 18°C vir 4 weke en is elke vierde dag morfologies ondersoek. Selmorfologie en wyse van voortplanting is ondersoek op mout ekstrak agar (Difco) sowel as Dalmau plate (Van der Walt en Yarrow, 1984). Die ontwikkeling van pseudomisselium en ware misselium is ondersoek op meliameel agar volgens die Dalmau plaat tegniek (Van der Walt en Yarrow, 1984).

2.4 RESULTATE EN BESPREKING

In vorige studies (Geornaras et al., 1994; Viljoen et al., 1998) is bakteriese populasies sowel as gispopulasies geassosieer met vars en gevriesde bederfde hoender beskryf. Die verskillende mikrobiologiese populasies is gekwantifiseer en geïdentifiseer. Hoë getalle giste is waargeneem op bederfde sowel as vars hoenderkarkasse met log getalle van 5.14 en 3.13 kve/g onderskeidelik (Geornaras et al., 1994). Met die oog op uitbreiding van die taksonomiese ondersoek, is die giste wat natuurlik voorkom in die tracheas en ingewande van braaikuikens gekwantifiseer en geïdentifiseer. Hierdie giste kan verantwoordelik wees vir kontaminasie van die vleis en kan ook bydrae tot orale infeksie by hoenders wat aanleiding kan gee tot verswakte groei van kuikens sowel as ander siektes.

Gram negatiewe bakterieë domineer in monsters verkry vanaf hoenderkarkasse (Geornaras et al., 1994; Jay en Margitic, 1981; Viljoen et al., 1998) en die gisgetalle het hoogs varieerend voorgekom relatief tot die bakteriese getalle. Ooreenstemmende resultate is ook verkry tydens die studie van mikrobiologiese

populasies geassosieer met die tracheas van hoenders (Tabel 1). Maksimum bakteriese tellings (8.25×10^9 kve/g) is waargeneem tydens die derde week na uitbroeiing van die kuikens terwyl die gispopulasie 'n maksimum getal van 2.98×10^5 kve/g bereik het by 5 week oue kuikens. Ten spyte van die oorgrote teenwoordigheid van bakteriese ladings, toon die toename van die giste dat hulle ook bydrae tot die algehele mikrobiologiese ekologie en daarom ook tot die bederf. Die belangrikste verskil tussen die bakteriese ladings en die gis ladings mag wees as gevolg van die kompeterende interaksies met die ingewandsflora en daarom verteenwoordig dit slegs die stabiele gis mikroflora in die trachea van die volwasse hoender.

Die identiteite en proporsionele persentasies van die voorkoms van die gisolate word aangetoon in Tabel 1. Geen giste is waargeneem in kuikens direk na uitbroeiing sowel as binne die eerste week nie. Die giste bereik eers waarneembare getalle na twee weke met *Debaryomyces hansenii* wat dan ook die enigste gisspesies teenwoordig was. In die derde week na uitbroeiing bly die gisgetalle stabiel (7.07×10^3 kve/g), alhoewel daar heelwat meer diversiteit onder die gisspesies wat geïsoleer is waargeneem kon word. *D. hansenii* bly dominerend tydens hierdie groeistadium (87.6%), maar lae getalle van onder meer *Debaryomyces vanrijae*, *Rhodotorula mucilaginosa* en *Torulaspota delbrueckii* is ook waargeneem. Vyf verskillende gisspesies is geïsoleer vanaf vier weke oue kuikens en die dominante spesies verteenwoordigend van *Candida blankii* wat 96.6 % van die totale gispopulasie verteenwoordig. Maksimale gisgetalle is waargeneem tydens die vyfde week na uitbroeiing en getalle van meer as 10^5 kve/g is waargeneem. *D. hansenii* (63.08%) en *Torulaspota delbrueckii* (30.18%) was die dominante spesies teenwoordig. *D. hansenii* was gereeld geïsoleer in studies geassosieer met vars sowel as bederfde produkte (Viljoen et al., 1998), waar in teenstelling geen *T. delbrueckii* spesies waargeneem is nie. Gedurende die sesde week na die uitbroei van die braaikuikens, dit is die tydperk net voordat die braaikuikens geslag word, het gisgetalle afgeneem tot 5.85×10^3 kve/g. Die dominante spesies tydens hierdie

periode is verteenwoordig deur isolate van *D. hansenii* (36.75%) en *Trichosporon beigellii* (49.57%). Die hoë verteenwoordiging van *Candida*, *Debaryomyces* en *Trichosporon* spesies in die tracheas van die hoenders korreleer met vroeëre hoë getalle wat verkry is vanaf die karkasse in studies reeds gedoen (Viljoen et al., 1998). Hierdie giste kan daarom ook bydra tot bederf, omdat hulle aangepas is tot die onmiddellike omgewing en omdat hulle algemeen voorkom op bederfde vleis (Viljoen et al., 1993).

Mikrobiologiese bederf wat op hoenderkarkasse voorkom is hoofsaaklik beperk tot die oppervlakte van die vleis. Die binneste gedeelte van die vleis word algemeen aanvaar as steriel en bevat relatief min organismes indien enige. Die bederfveroorsoekende mikroflora op hoenderkarkasse is daarom meestal te vinde op die oppervlakte waar dit gedeponeer is vanaf die water, tydens prosessering en hantering in die fabriek (Jay, 1992). Kontaminerende mikroflora, insluitende giste, is ook al geïsoleer vanuit die lug, grond en die broeihokke sowel as vanaf die pote en mis van hoenders (Bryan, 1980). Giste word verder ook algemeen geïsoleer vanaf die vere, voer en liggame van die hoenders tydens slagting (Barnes et al., 1979). Al hierdie bronne van kontaminasie dra dan by tot die bederf van die karkasse.

Tabel 1. Totale bakteriese en gisgetalle geassosieer met die tracheas van braaikuikens oor 'n tydperk van ses weke, die gisspesies teenwoordig en die proporsionele persentasies.

Ouderdom van kuikens (weke)	Gisspesies geïsoleer	Proporsionele % van totale gispopulasie	Totale gistelling (kve/g)	Totale bakteriese telling (kve/g)
1	Geen	-	-	-
2	Debaryomyces hansenii	100	8.75×10^3	5.24×10^8
3	Debaryomyces hansenii	87.63		
	Debaryomyces vanriijae	3.18		
	Rhodotorula mucilaginosa	4.95		
	Torulaspora delbrueckii	4.24	1.6×10^5	1.23×10^9
4	Cryptococcus laurentii	0.15		
	Candida blankii	96.62		
	Debaryomyces hansenii	2.57		
	Debaryomyces vanriijae	0.56		
	Zygosaccharomyces rouxii	0.75	1.6×10^5	1.23×10^9
5	Cryptococcus laurentii	4.69		
	Debaryomyces vanriijae	2.04		
	Debaryomyces hansenii	63.08		
	Torulaspra delbrueckii	30.18	2.98×10^5	9.77×10^7
6	Bullera variabilis	0.85		
	Debaryomyces hansenii	36.75		
	Debaryomyces vanriijae	6.41		
	Torulaspora delbrueckii	6.41		
	Trichosporon beigelii	49.57	5.85×10^3	1.47×10^8

2.5 VERWYSINGS

- Barnes E.M., Impey C.S., Geeson J.D. and Buhagiar R.W.M., (1978) The effect of storage temperature on the shelf - life of eviscerated air - chilled turkeys. *British Poultry Science* 19, 77-84.
- Barnes E.M., Mead G.C., Impey C.S. and Adams B.W. (1979) Spoilage organisms of refrigerated poultry meat. In: *Cold Tolerant Microbes in Spoilage and the Environment*, Russel A.D., Fuller R. (Eds.), London, Academic Press. 101-116.
- Barnett J.A., Payne R.W. and Yarrow D., (1990) *Yeasts: Characteristics and identification*, second edition. Cambridge University Press, Cambridge
- Bryan F.L., (1980) Poultry and poultry meat products. In *Microbial Ecology of foods*. Vol. 2: Food commodities, Silliker J. H. (ed.), Academic press, London. 410-458.
- Dalton H.K., Board R.G., Davenport R.R. (1984) The yeast of British fresh sausage and minced beef. *Antonie von Leeuwenhoek* 50, 227-248.
- Deak T., Beuchat L.R., (1996), *Handbook of spoilage yeasts*. CRC Press, Boca Rayton, New York
- Geornaras I., Dykes G.A. and Von Holy A., (1994) Microbial populations associated with refrigerated poultry. *South African Journal of Science* 90, 570-582.
- Ingram M, Dainty R.H., (1971) Changes caused by microbes in spoilage of meats. *Journal of Applied Bacteriology* 34, 21-39.
- Jackson T.C., Acuff G.R. and Dickson J.S., (1997) Meat, poultry and seafood. In: *Food Microbiology; Fundamentals and frontiers*, P.D. Doyle, L.R. Beuchat, T.J. Montville (Eds.), ASM Press, Washington DC. 83-101.
- Jay J.M. and Margitic S., (1981) Incidence of yeast in fresh ground beef and their ratios to bacteria. *Journal of Food Science* 46, 648-649.
- Jay M.J., (1992) *Modern Food Microbiology*, 4th ed, Van Nostrand Reinhold Company, New York,

- Lawrie R. (1995), The structure, composition and preservation of meat. In: Fermented meats, G. Campbell-Platt, P.E. Cook (Eds.), Blackie Academic and professional. 1-33.
- Lodder J. and Kreger-van Rij N.J.W., (1952) The yeasts, A Taxonomic Study, North-Holland Publishing Co.
- Mcmeekin T.A., (1982) Microbial spoilage of meats, In: Developments in food microbiology, Davies R. (Ed.), Applied science publishers, London and New Jersey. pp. 1-41
- Van der Walt J.P. and Yarrow D., (1984) Methods for the isolation, maintenance and identification of yeasts. In: The yeast, a taxonomic study, 3rd edn., N.J.W. Kreger-van Rij (Ed.), Elsevier, Amsterdam. 45-104.
- Viljoen B.C., Dykes G.A., Callis M. and Von Holy A. (1993) Yeasts associated with Vienna sausage packaging. International Journal of Food Microbiology 18, 53-62
- Viljoen B.C., Geornaras I., Lamprecht A., Von Holy A., (1998) Yeast populations associated with processed poultry. Food Microbiology 15, 113.
- Wells F.E. and Stadelman W.J., (1958) Microbial populations associated with meat products. Applied Microbiology 6, 420- 422.

HOOFSTUK 3

DIE VOORKOMS VAN GISTE IN 'N HOENDER SLAGPALE

3.1 UITTREKSEL

Bakteriese kontaminasie voor prosessering en na prosessering is goed gedokumenteerd. Beperkte studies op die voorkoms en tipes van giste geassosieer met hoenderkarkasse in die slagpale is egter gedoen. Derhalwe is die studie onderneem om die dominerende tipes en getalle giste in 'n hoenderslagpale te bepaal. Alle moontlike bronne van kontaminasie is ook bestudeer vir die voorkoms van giste wat moontlik kan aanleiding gee tot die kontaminering van die karkasse.

'n Totaal van 300 gisolate is geïsoleer en geïdentifiseer, verkry vanaf die karkasse tydens prosessering en die onmiddellike omgewing wat die toerusting, water en lug insluit. Volgens die data is dit duidelik dat *Candida* en *Cryptococcus* spesies hoofsaaklik domineer voor verkoeling van die karkasse tydens ontvering en ontweiding. Nadat die karkasse verkoel is, en tydens bevriesing, word die gispopulasie oorheers deur die voorkoms van *Debaryomyces hansenii*. Die bronne van kontaminasie lewer dieselfde tipes van giste as op die karkasse.

3.2 INLEIDING

Die instelling van 'n kwaliteitskontrole program om deurlopend die mikroorganismes teenwoordig gedurende hoenderprosessering te kontroleer is essensieël om die kwaliteit van die eindproduk te verseker. Die kontrole is belangrik met betrekking tot die voorkoms van bederfveroorsoekende mikroorganismes sowel as patogene (Fleet, 1992). Die voorkoms van giste tydens die slagtingsproses is egter van minder belang vir die pluimveebedryf aangesien die relatiewe getalle van giste kleiner is in vergelyking met die getalle van bakterieë (Deak en Beuchat, 1996). Die gisgetalle kan egter tot beduidende getalle verhoog indien die psigrotrofiëse bakteriegetalle geïnhibeer word, en die giste dus as sekondêre organismes kan domineer (Mead, 1989).

Daar is egter talle faktore wat die groei en biochemiese aktiwiteite van giste in voedsel kan bepaal. Die belangrikste faktore sluit in die chemiese samestelling van die voedsel, die toestande tydens die prosessering en berging, en die inherente eienskappe van die gisspesies teenwoordig (Fleet, 1992). Die hoenders verleen ideale groeitoestande om die groei van mikroorganismes te stimuleer. Die eetbare gedeelte van die hoenderkarkas bestaan uit 71% water (jonger hoenders het 'n hoër inhoud as die ouer hoenders), 20.5% proteien, 2.7% vet (vetverspreiding is hoofsaaklik net onder die vel, sowel as rondom die abdomen), wateraktiwiteit van 0.98 tot 0.99, pH van tussen 5.7 en 5.9 in die borsspier, en tussen 6.4 en 6.7 in die dyspier, en 'n redokspotensiaal dieselfde as die van rooivleis. Die vel dien as 'n fisiese skeiding vir mikroorganismes wat verhoed dat die onderliggende spierweefsel gekontamineer raak (Bryan, 1980). Lewendige hoenders gaan egter die prosesseringsaanleg binne en neem saam met hulle 'n groot aantal mikroorganismes verspreid op die vere, voete, vel sowel as in die lugweë (Mead, 1989). Gedurende verskillende stadiums van prosessering naamlik weeking, ontvering, ontwyding, was, verkoeling en verpakking word baie van hierdie organismes verwyder, maar 'n groot aantal van die mikroorganismes koloniseer op die hoenderkarkasse en gee aanleiding tot bederf. Die karkasse kan ook verder gekontamineer raak van ander bronne soos die omgewing, toerusting oppervlaktes of die fisiese hantering (Bailey et al., 1987).

Patogeniese giste:

Die hoof patogeniese giste vir die mens is *Candida albicans* en *Cryptococcus neoformans*. *Candida albicans* is 'n asseksuele, diploide, plemorfiese fungus met 'n askomisetiese tipe selwand en *Cryptococcus neoformans* 'n basidiomisetiese tipe gis wat uit twee haploïde variëteite bestaan. Laasgenoemde is wel gedokumenteer vir die ontwikkeling van kryptokokkus en is die primêre agent van die sindroom vir verkrygte immuunitiets gebreks sindroom (Ahearn, 1993).

’n Aantal gisspesies veroorsaak infeksie van die vel en die mukus membraan, hare, vingernaels en simillêre dele van die liggaam. Gisinfeksies in die verlede is selde as fataal gesien. Dit is egter nie meer die geval nie.

Nie slegs mense loop die gevaar om infeksie te verkry nie, maar ander soogdiere (honde, katte, perde en baie ander), voëls, ongewerweldes en selfs planktoniese krustasiens kan gisinfeksie verkry. Die algemene gispatogene van warm bloedige diere is *Candida* spesies, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Pityrosporum*, *Trichosporon*, *Geotrichum* en ander gisagtige fungi (Spencer en Spencer, 1997).

Infeksie van *Candida albicans* en *Cryptococcus neoformans* is nie oordraagbaar deur voedsel nie (Fleet, 1992; Hurley et al., 1987). Daar is egter gevalle van gastroentritis van voedsel waar giste vermoed word om die veroorsaakende agent te wees. Daar word ook al hoe meer bewyse gevind dat daar ’n toename in die ontwikkeling van allergiese reaksies in individue is, sowel as ander negatiewe reaksies teen giste wat ook meer voorkom (Todd, 1983).

Voedsel bederfveroorsoekende giste:

Bakterieë word algemeen aanvaar as die belangrikste mikroorganismes verantwoordelik vir die bederf van hoender en hoenderprodukte. Tydens verskeie prosessering prosesse en toestande kan hierdie assosiasie egter verander tot so ’n mate dat die giste verhoog in getalle en ’n rol begin speel (Fleet, 1992). Giste vorm ’n natuurlike deel van die normale mikroflora wat voorkom op hoender en hoenderprodukte (Barnes, 1978; Beuchat, 1996; Gallo et al., 1988; Jay, 1992; Viljoen et al., 1998). Aangesien giste wydverspreid voorkom in/op plante, water, lug en grond is die gevolglike besmetting van diere nie voorkombaar nie (Spencer en Spencer, 1997). Huidiglik word meer algemeen aanvaar dat die reeks produkte waarop giste voorkom en groei heelwat groter is as wat vroeër bereken is.

Baie is psigrotrofiëse giste en daarom potensieële bederfveroorakende organismer indien vleis by verkoelde temperaturre gehou word (Baxter en Illston, 1976). Onder sekere toestande is dit selfs opgemerk dat giste effektiëf kompeteer met die bakterieë soos die geval is by lae pH vlakke, en in proteienagtige voedselsisteme (Davenport, 1980; Lowry en Gill, 1984; Miller, 1979; Schmidt-Lorenz, 1982). Verskeie literaturre dui op die kontaminering van giste in skaapslagplase (Dillon en Board, 1989) en vark prosesseringsaanlegte (Dalton, 1984). Die voorkoms en tipe van giste, sowel as die mate van giskontaminasie in 'n hoenderslagpale, is tot op hede nog nie vasgestel nie. Hierdie studie is onderneem om die verspreiding en voorkoms van sodanige sekondêre bederfveroorakende giste vas te stel sowel as die moontlike voorkoms van gispatogene.

3.3 METODIEK

3.3.1 Prosessering prosedures

Prosesseringsaanleg: Studies is gedoen in 'n Suid Afrikaanse graad AP hoenderslagpale. Die gradering berus op die hoeveelheid hoenders wat per dag verwerk word en die graad AP dui aan dat meer as 10 000 hoenders/dag geslag word (Government Gazette, 1989). Gedurende die studie was die gemiddelde gewig van individuele hoenderkarkasse 1.2 kg. Die wekingsproses is uitgevoer by 'n temperaturre van tussen 50 en 54°C vir 2 minute en 15 sekondes voordat ontvering deur 'n reeks van drie masjiene met roterende rubbervingers uitgevoer is. Na ge-outomatieseerde ontwyding, is die karkasse gesprei met gechlorineerde water (30-50 dpm) en daarna verkoel deur die immersie verkoelingstenk tot onder 10°C met dieselfde hoeveelheid chloor in oplossing. Hierna is die karkasse met die hand geskommel en aan hulle voete opgehang om droog te drup. Die karkasse word dan met behulp van rolsae met die hand opgesny in braaistukke waarna dit deur 'n vinnige bevriesingsproses geplaas

word wat tot gevolg het dat die karkasstukke 'n temperatuur van -20°C bereik. Die heel hoenderkarkasse word ook verkoel tot dieselfde temperatuur. Die berging van bevrore hoenderkarkasse vind plaas by 'n temperatuur van -20°C , waarna dit versprei word.

3.3.2 Mikrobiologiese analise

Die mikrobiologiese ondersoek is gedoen tydens ses verskillende besoeke aan die prosesseringsaanleg oor 'n tydperk van vier maande (Februarie tot Mei). Monsters is in duplikaat geneem tydens elke prosesseringskof naamlik die vroeë oggend, laat oggend en die middag skof.

Hoenderkarkasse vir monsterneming

Tien hoenders is geneem tydens prosessering wat opeenvolgend ses verskillende stappe insluit. Die spesifieke posisies van monsterneming is vasgestel volgens die HACCP (Hazard Analysis of Critical Control Points) prosedure vir die slagpale (Tompkin, 1990). Die spesifieke plekke van monsterneming het die volgende ingesluit: i) Na ontvering en gedeeltelike ontwyding waar kruiskontaminasie voorkom (Patterson, 1973), ii) Na ontwyding. Kontaminasie van hoofsaaklik fekale en verteerde kos na die omringende weefsel vind plaas indien die ingewande skeur (Thayer en Walsh, 1993), iii) Voor verkoelingsimmersie. Verantwoordelik vir 'n afname van mikroorganismes op die karkas self, maar die water kan erg gekontamineer raak (Baily et al., 1987), iv) Na verkoelingsimmersie. Hantering sowel as karkasse wat in aanraking kom met mekaar word erg gekruiskontamineer met 'n gevolglike verandering in die mikroflora (May, 1960), v) Na vriesing-karkasse en vi) Na vriesing-braaistukke.

Die hoenders is geneem vanaf die betrokke posisies met behulp van steriele handskoene met so min moontlike kontak met enige voorwerpe om kruiskontaminasie te beperk. Die karkasse is geplaas in steriele plastiese 220mm

x 180mm sakkies, behalwe vir die reeds verpakte karkasse en braaistukke. Alle monsters is verpak in diep ys en so spoedig moontlik (binne 2 ure) geneem na die laboratorium vir analise.

Deppermonsters in die abattoir

Deppermonsters in abattoir (16 cm²) is geneem vanaf vyftien geselekteerde plekke binne die slagpale, wat verskillende werksoppervlaktes insluit, met 'n Rodac plate (16 cm²) en katoenabsorberende deppers om die mate van kontaminasie op die oppervlaktes te monitor. 'n Steriele katoen depper is geneem deur eers in een rigting te vee en daarna negentig grade in 'n ander rigting vir die totale area. Die katoenkop is gebreek in 'n McCartney bottel met 9ml steriele 0.1% Bacto-peptone (Difco) oplossing en gestoor op ys. Die spesifieke areas waarvan deppers geneem is, is as volg:

- 1) Naby die plukkermasjien
- 2) Vervoerband na verwydering van die pote
- 3) Sykante van die skoktank
- 4) Bloed afloop
- 5) Ontwydingsvloer
- 6) Keel plukker
- 7) Inneem platvorm
- 8) Ontwydingsgeut
- 9) Vervoerband by die plukkingsarea
- 10)Verpakkingvloer
- 11)Wekingstank
- 12)Verkoelingsimmersietank
- 13)Verpakkingvloer na vinnige bevrising
- 14)Vervoerband by inneemarea
- 15)Messe

Watermonsters

Watermonsters van water wat gebruik word deur die hele slagpale is ook geneem vir mikrobiologiese analise. Die monsters (25ml) is geneem in steriele McCartney bottels en gestoor op ys.

Die bronne waarvan watermonsters geneem is, is as volg:

- a) Die begin van verkoelingsimmersie
- b) Die wekingswater
- c) Ontveringswater
- d) Water gebruik vir die onderdempelling van messe
- e) Einde van verkoelingsimmersie

Lugmonsters

Die monitering van mikroorganismes in die lug is gedoen by vyf verskillende geselekteerde punte met die grootste drukverkeer deur die uitplaas van standaard Petribakkies (90mm deursnee) gevul met Chloramphenicol agar (Oxoid, Basingstoke) en Plaattellingsagar (Oxoid). Die media is blootgestel aan die omgewing vir 'n tydperk van tien minute. Die oppervlakte van die area op die onderskeie plate is 63.64 cm².

Die lugmonsters is geneem op die volgende plekke:

- I) Ontvangsarea
- II) Ontwydingsarea
- III) Ontveringsarea
- IV) Verkoelingsimmersie tank
- V) Verpakkingsarea

Mikrobiologiese laboratorium analise

Omdat sekere gedeeltes op 'n hoenderkarkas meer gekontamineer is deur mikroorganismes as ander, is dit noodsaaklik dat 'n area ondersoek word wat 'n weerspieëling gee van die voorkoms van mikroorganismes op die hele karkas. Die nekvel is geïdentifiseer as die gebied wat ondersoek moet word vir roetine higiëniese ondersoeke (Patterson, 1971).

Ongeveer tien gram nekvel is geneem vanaf elk van die tien hoenderkarkasse geneem by 'n spesifieke posisie op die produksielyn met behulp van 'n steriele skêr en handskoene. Poelmonsters is gedoen deur die totale nekvelle vanaf elke posisie saam te plaas in een steriele Whirl Pak (Nunc, Darmstadt) sakkie om te kompenseer vir wisseling tussen die mikroflora van verskillende karkasse. Die nekvelle is geweeg en verdun met 0.1% Bacto pepton tot die verhouding van 1g tot 9ml pepton water. Hierna is dit gehomogeniseer vir twee minute met behulp van 'n Colworth 400 Stomacher (UK) by kamertemperatuur. Van hierdie nekvelsuspensie is die toepaslike verdunningsreeks saamgestel in duplikaat in 0.1% pepton (Difco). Spreiplaat inokulum is gebruik om die verskillende plate gevul met selektiewe media te inokuleer (0.1 ml) (Hocking et al., 1992). Sprei plate lewer betroubaarder data as skinkplate (King et al., 1986).

Selektiewe media gebruik vir mikrobiologiese analises

Chloramphenicol agar (CA) (Merck) is gebruik as 'n selektiewe medium vir die kwantifisering van giste op al die monsters. Vir voedsels wat 'n hoë bakteriese telling bevat soos in vleis is dit soms noodsaaklik dat 'n mengsel van antibiotikas vir isolering ingeluit word (Fleet, 1992).

Totale bakteriese telling agar (PCA) (Merck) is gebruik as 'n medium aanbeveel vir totale plaattellings van mikroorganismes in water, voedsel, sowel as vleisprodukte (Deak en Beuchat, 1996).

Vir die inkubasie van die media is die CA plate regop geinkubeer vir 5 tot 7 dae by 25 °C (Banks en Board, 1987; Pitt et al., 1992) terwyl die PCA plate vir 3 dae by 25°C geinkubeer is.

Kwantifisering van mikroorganismes

Na inkubasie is die visueel onderskeibare gisspesies getel by die hoogste verdunning tussen 30 en 300 kve/g. Alle visueel onderskeibare giste is geïsoleer en gesuiwer deur die kolonies tweemaal uit te streep op YM-medium (Gis-ekstrak, malt-ekstrak) en bevestig met behulp van mikroskopiese studies. In die geval van oorgroeiing deur swamme is die isolasie media geinkubeer onder anaerobiese toestande vir drie dae, gevolg deur twee dae van aerobiese inkubasie (Fleet, 1991). Na suiwing is die giste oorgeplaas op YM skuinstes en gestoor by 4°C tot verdere gebruik. Dieselfde metodes vir gisïolasie is gevolg vir die isolering van die giste vanaf die deppers, water en lug. Bakterieladings op die Totale Plaat Tellings agar is soortgelyk gekwanifiseer, maar geen isolate is geïsoleer nie.

Langketting vetsuur analise

Die sellulêre langkettingvetsure van al die verteenwoordigende gisïolate is bepaal deur saponifikasie en geanaliseer as metiel esters deur middel van gaskromatografie. Die spesies is gekarakteriseer deur die samestelling van palmitien (16:0), palmitolein (16:1), stearien (18:0), olein (18:1), linolein (18:2), en linolenin suur (18:3) as die belangrikste vetsure.

Kweking van giskulture: Die gisspesies is gegroei op YM medium vir 48 uur by 25°C en die gisselle geoes gebruik as innokulum in die volgende medium: 80g liter⁻¹ D-glukose (monohidraat); 6.7g liter⁻¹ Gis stikstof basis (Difco) sonder amminosure of ammoniumsulfaat. Die verdere opgroei van die gisselle in die medium is uitgevoer by 25°C op 'n roterende skudmasjien (100 rev min⁻¹) vir 48 uur (Kock et al., 1985). Die oes van die gisselle het plaasgevind gedurende die stasionêre fase (Vijoen et al., 1986) deur sentrifugasie by 11,000g en driemaal gewas met koue salien (0.85% NaCl) oplosmiddel. Die geoste gisselle is gestoor by -20°C en -80°C vir 'n periode van 24 uur voor vriesdroging.

Vrye langkettingvetsuur voorbereiding: Die gisselle is gevriesdroog in 'n Specht Scientific vriesdroër (USA) vir 48 uur by 'n temperatuur van -20°C. Van hierdie gevriesdroogde selle is 0.12g afgeweg en geplaas in verseëlbare proefbuise met Teflon omlynde opdraai proppe. Saponifikasie is gedoen volgens die metodes voorgestel deur Moss et al., (1982) deur 5ml van 'n 15% KOH in 50% metanol/water te gebruik. Lauriensuur (6g Lauriensuur/94g metanol), is gebruik as interne standaard. Die proefbuis is geplaas in 'n waterbad (100°C) vir 1uur. Die gesaponifiseerde materiaal is afgekoel tot kamertemperatuur en 1.5ml HCL (gekonsentreerd) en 3ml Borontrifluoried in 14% metanol is bygevoeg en gespoel met stikstofgas. Die geslote proefbuis is weer in 'n waterbad geplaas (100°C) vir 15 minute en afgekoel tot kamertemperatuur. Die vrye langkettingvetsure is onttrek deur die proefbuis met gisselle te skud met drie opeenvolgende 10ml hoeveelhede van 'n 1:4 chloroform en heksaan mengsel. Die chloroform/heksaan ekstraksie is ingedamp deur die vloei van stikstofgas en heropgelos in 0.3 ml n-heksaan. Die konsentraat is oorgeplaas in GC-botteltjies en direk ingespuut in die gas-kromatograaf.

Analitiese gaskromatografie: Analitiese gaskromatografie is uitgevoer op 'n Hewlett Packard Model 5830A gaskromatograaf met 'n tweevlam ionisasie detektor. Die volgende operasie toestande is gebruik: kapilêre glaskolom (4mm x 1.5m) gepak met 5% di-eteleenglikol suksinaat op chromosorb W (80-100 mesh:

Anatech), vloeispoed van 40ml/min by 'n kolomtemperatuur van 160°C. Die konsentrasies van die verskillende langkettingvetsure is bereken vir elke gisisolaat. Die identifisering van die verskillende langkettingvetsure is verkry deur die vergelyking met retensietye van standaardoplossings.

Numeriese analise: Alle langkettingvetsuur data is ingevoer in 'n rekenaarprogram (MATLAB 4.2C.). Die data het behels die bekende langkettingvetsuur data soos verkry uit die databasis opgestel volgens talle langkettingvetsuur analyses van meer as 800 gisspecies (Viljoen et al., 1986). Die geselekteerde berekende veranderlikes was (C16:0), (C16:1), (C18:0), (C18:1), (C18:2) en (C18:3). Om die onbekende gisspecies te identifiseer is die hele databasis van die bekende organismes vergelyk met die onbekendes. Die onbekende gisspecies is gekarakteriseer op grond van elk se unieke langkettingvetsuur profiel. Berekenings is uitgevoer met MATLAB 4.2C.1 vir Windows.

3.4 RESULTATE EN BESPREKING

Die sellulêre langketting vetsure van onderskeidelik 154 gisisolate geïsoleer vanaf die produksielyn tydens prosessering, 108 isolate vanaf die deppermonsters geneem vanaf oppervlaktes in die slagpale, 18 isolate vanuit die water en 20 isolate uit die lug is vergelyk met die langketting vetsuur profile, karakteristiek vir giste, reeds beskryf in die literatuur (Oosthuizen et al., 1987; Viljoen et al., 1985; Viljoen et al., 1987; Viljoen et al., 1988a,b). Alle giste wat nie volgens die metode kon gekarakteriseer word nie, is met behulp van addisionele konvensionele identifikasie metodes geïdentifiseer (Kock et al., 1985). Die giste soos aangetref op die hoenderkarkasse vanaf die onderskeidelike posisies vanaf die produksielyn tydens prosessering word aangetoon in Tabel 1a,b en c.

Duidelike ooreenkomste kom voor tussen die gisspecies wat in die studie geïsoleer is en die gisspecies wat gevind is in vorige studies op vleis en

vleisprodukte (Dillon en Board, 1990; Fung en Liang, 1990). Alhoewel daar baie artikels geskryf is oor die effek van prosessering op die bakteriese mikroflora op die karkasse, is die met betrekking tot die effek op gispopulasies min (Bryan, 1980).

Die karkasse van die vroeë oggendskof het die minste giskontaminasie getoon met tellings deurgans laer as 3 log eenhede (Fig. 2). Dieselfde tendens van laer tellings is ook gevind ten opsigte van die totale bakteriese populasies, alhoewel hoër tellings so hoog as 6 log eenhede gevind is. Die giskontaminante wat tydens die oggendskof gedomineer het was verteenwoordigend van die genera *Candida* en *Debaryomyces* (Tabel 1a). 'n Hoër voorkoms is aangetref van *Debaryomyces hansenii* wat veral voorgekom het na onderdompeling van die karkasse in die immersie-wentel verkoeler en op die gevriesde hoenderkarkasse. Die hoër voorkoms van die spesies dui daarop dat giskontaminasie veral in die immersie-verkoeler akkumuleer en deur middel van kruiskontaminasie versprei word na ander karkasse. Die gebruik van 25 dpm chloor in die verkoelersisteem om die mikrobiologiese populasies teenwoordig te dood, blyk ook onvoldoende te wees vir die inhibering van die spesies. *Debaryomyces* spesies is algemeen gevind in die slagpale tydens prosessering op die toerusting, in die lug en water (Tabel 2). 'n Hoër voorkoms van *Cryptococcus laurentii* is ook gevind in die oggendskof op die karkasse geneem na ontvering en ontweiding. Die spesies word algemeen geassosieer met die reste van pluimvee, en derhalwe domineer hulle tydens die begin periode van prosessering (Davenport, 1980). Die spesies is ook algemeen gevind op monsters geneem van die toerusting, lug en water (Tabel 2). Die voorkoms van die *Rhodotorula* spesies tydens die ontvering kan ook verwag word, aangesien die spesies tipiese luggedraagde spesies is en kan vrylik rondbeweeg tydens die verhoogde klap van vlerke en vere tydens ontvering (Deak en Beuchat, 1996).

Verhoogde kontaminasie vlakke van beide die aantal gis (Fig. 2) en bakteriese (Fig. 3) populasies is gevind tydens die laatoggendskof. Die verhoging in die

aantal mikrobiiese populasies kan toegeskryf word aan die akkumulاسie van mikrobiiese populasies tydens prosesering (Mead, 1989). Totale gistellings het met meer as 2 log eenhede en bakteriiese tellings met meer as 3 log eenhede gestyg. *Debaryomyces* spesies het weereens gedomineer op die karkasse, veral op die karkasse na verkoeling en bevriering (Tabel 1b). Hoë getalle *Cryptococcus* spesies is gevind soos tydens die oggendskof op die monsters geneem na ontvering. *Candida fennica*, 'n tipiese gis spesies geassosieer met pluimvee kontaminاسie (Deak en Beuchat, 1996) is geisoleer na ontweiding waar 'n hoë voorkoms aangetref is, voor verkoeling en op die gevriesde hoenderstukke. Die spesies is egter nie gevind op die omgewingsmonsters wat die toerusting, water en lug insluit nie. Dit wil dus daarop dui dat die gisspesies afkomstig is vanaf die lewende hoender. Ten spyte van verhoogde gistellings in die laat-oggendskof, is geen verhoging in die lugmonsters waargeneem nie (resultate nie aangedui). Die tipiese luggedraagde spesies, *Rhodotorula*, is nie geisoleer tydens die skof nie.

Daar was 'n afname in die getalle van mikrobiologiese kontaminante na die laat oggendskof tydens die middagskof. Die tendens is opgemerk by beide gis en bakteriiese populasies. Die giste se tellings het gemiddeld gedaal met 1 tot 2 log eenhede en selfs soveel as 4 log eenhede by die gevriesde hoenderstukke. Die bakteriiese tellings het gedaal met 1 tot 4 log eenhede, terwyl die populasies op die bevrore stukke hoender gestyg het met meer as 3 log eenhede. Die algemene verhoging in mikrobiologiese getalle kan wees as gevolg van doeltreffende sanitاسie tussen die twee skofte.

Debaryomyces spesies het gedomineer op die karkasse na verkoeling en bevriering terwyl *Cryptococcus* spesies gedomineer het voor verkoeling. *Candida fennica* het gedomineer op karkasse na ontweiding en hoë getalle het ook voorgekom op die bevrore stukke hoender. *Trichosporon cutaneum* (*T. beigelii*), algemeen geassosieer met pluimvee kontaminاسie (Deak en Beuchat, 1996), het in die middagskof teen hoë getalle voorgekom na ontvering. Terwyl

slegs enkele spesies in die laat-oggendskof voorgekom het op die heel bevrore hoenderkarkasse. Die spesies is ook gereeld geïsoleer vanaf die water en toerusting (Tabel. 2). Interessant gevind is die hoë voorkoms van *Pichia anomala* na ontweiding. Die spesies het wel voorgekom tydens die oggend en laat-oggendskof, maar teen 'n lae voorkoms, asook in die watermonsters.

Tydens al die monsternemings, is 'n verhoogde tendens in die totale gistellings gevind na verkoeling wat aanhou tot met die bevriësing van die karkasse. In teenstelling is 'n verlaging in die getalle van bakteriese populasies opgemerk na verkoeling en tydens bevriësing. Dit dui daarop dat die onderdompeling van karkasse in die immersie-verkoeler en die behandeling met chloor nie 'n genoegsame inhiberende uitwerking op die giste het nie. Die giste kan dus na verkoeling as sekondêre kontaminerende organismes ontwikkel weens die inhiberende effek van verkoeling, en die chloor in die verkoelingsbad op die bakterieë. Die hoë getalle giste tydens die bevriësing van hoenders dui daarop dat giste 'n belangrike deel uitmaak van die totale mikroflora op hoenderkarkasse en die getalle kan moontlik aanleiding gee tot bederf.

Die voorkoms van *Debaryomyces hansenii* domineer op al die hoenderkarkasse na verkoeling, terwyl *Cryptococcus* en *Candida* spesies hoofsaaklik domineer in die periode voor verkoeling wat ontvering en ontweiding insluit. Dieselfde tipes van giste, met die uitsondering van 'n paar verskillende spesies, kom voor tydens die verskillende tye van monsterneming. Op dieselfde wyse kom die giste wat hoofsaaklik geïsoleer is tydens monsterneming van die omgewing wat die toerusting, water en lug insluit, ook voor op die hoenderkarkasse. Dit wil dus daarop dui dat die oorgrote meerderheid van giskontaminasie ontwikkel vanaf die onmiddellike omgewing in die slagpale. Intensiewe beplanning vir die voorkoming van giskontaminasie in die slagpale sal dus indringend ondersoek moet word.

Tabel 1a. Giste (%) geassosieer met die hoenderkarkasse geneem vanaf die produksielyn in die vroeë oggend skof.

ISOLATE (%)	NA ONTVERING	NA ONTWEIDING	VOOR VERKOELING	NA VERKOELING	BEVRIESING HEEL HOENDERS	BEVRIESING STUKKE
<i>Candida</i> (28.4)						
<i>C. boidinii</i>			96.7			
<i>C. glabrosa</i>				36.1		
<i>C. rugosa</i>				12.0		
<i>C. zeylanoides</i>						7.8
<i>Cryptococcus</i> (14.8)						
<i>C. laurentii</i>	40.0	52.6		3.6	3.7	15.3
<i>Debaryomyces</i> (40.4)						
<i>D. hansenii</i>			3.3	48.2	92.6	76.9
<i>Filobasidiella</i> (0.1)						
<i>F. neoformans</i>					1.8	
<i>Pichia</i> (0.1)						
<i>P. anomala</i>					1.7	
<i>Rhodotorula</i> (15.6)						
<i>R. mucilaginosa</i>		47.4				
<i>R. graminis</i>	60.0					

Tabel 1b. Giste (%) geassocieer met die hoenderkarkasse geneem vanaf die produksielyn in die laat-oggend skof.

ISOLATE (%)	NA ONTVERING	NA ONTWEIDING	VOOR VERKOELING	NA VERKOELING	BEVRIESING HEEL HOENDERS	BEVRIESING STUKKE
<i>Candida</i> (21.3)						
<i>C. boidinii</i>			5.2			
<i>C. fennica</i>		62.1	26.3		19.8	
<i>C. zeylanoides</i>		2.5		20.8		3.5
<i>Cryptococcus</i> (3.9)						
<i>C. laurentii</i>	63.8	22.3	47.4			
<i>Debaryomyces</i> (72.6)						
<i>D. hansenii</i>			21.1	79.0	71.4	96.5
<i>D. castellii</i>	36.2			0.2	0.1	
<i>Pichia</i> (1.9)						
<i>P. anomala</i>					5.1	
<i>P. etchellsii</i>		12.4				
<i>Rhodotorula</i> (0.1)						
<i>R. mucilaginosa</i>		0.2			1.2	
<i>Trichosporon</i> (0.2)						
<i>T. cutaneum</i>					2.0	

Tabel 1c. Giste (%) geassocieer met die hoenderkarkasse geneem vanaf die produksielyn in die namiddag skof.

ISOLATE (%)	NA ONTVERING	NA ONTWEIDING	VOOR VERKOELING	NA VERKOELING	BEVRIESING HEEL HOENDERS	BEVRIESING STUKKE
<i>Candida</i> (15.7)						
<i>C. boidinii</i>				11.1		
<i>C. fennica</i>		45.8	16.7			33.3
<i>C. glabrosa</i>					4.7	
<i>C. tropicalis</i>					4.7	
<i>C. zeylanoides</i>				11.1		
<i>Cryptococcus</i> (5.0)						
<i>C. curvatus</i>						
<i>C. laurentii</i>		12.5	50.0		4.7	16.7
<i>Debaryomyces</i> (72.1)						
<i>D. hansenii</i>				77.8	84.9	50.0
<i>Pichia</i> (3.4)						
<i>P. anomala</i>		41.7				
<i>P. capsulata</i>					0.1	
<i>Rhodotorula</i> (0.1)						
<i>R. mucilaginosa</i>	10.1					
<i>Trichosporon</i> (3.4)						
<i>T. cutaneum</i>	89.9		33.3			

Tabel 2. Die voorkoms van giste op die toerusting, lug en die water in die hoenderslagpale.

ISOLATE	TOERUSTING	LUG	WATER
Candida			
<i>C. boidinii</i>	+		
<i>C. glabrosa</i>	+		
<i>C. norvegica</i>			+
<i>C. rugosa</i>	+		
<i>C. zeylanoides</i>	+		+
Clavispora			
<i>C. lusitaniae</i>			+
Cryptococcus			
<i>C. curvatus</i>	+		
<i>C. flavus</i>		+	
<i>C. laurentii</i>	+	+	+
Debaryomyces			
<i>D. hansenii</i>	+	+	+
<i>D. polymorphus</i>	+		
Pichia			
<i>P. anomala</i>			+
<i>P. capsulata</i>	+		
<i>P. norvegensis</i>	+		
<i>P. onychis</i>	+		
<i>P. toletana</i>	+		
Trichosporon			
<i>T. beigelii</i>	+		+
<i>T. cutaneum</i>	+		
Rhodotorula			
<i>R. mucilaginosa</i>		+	

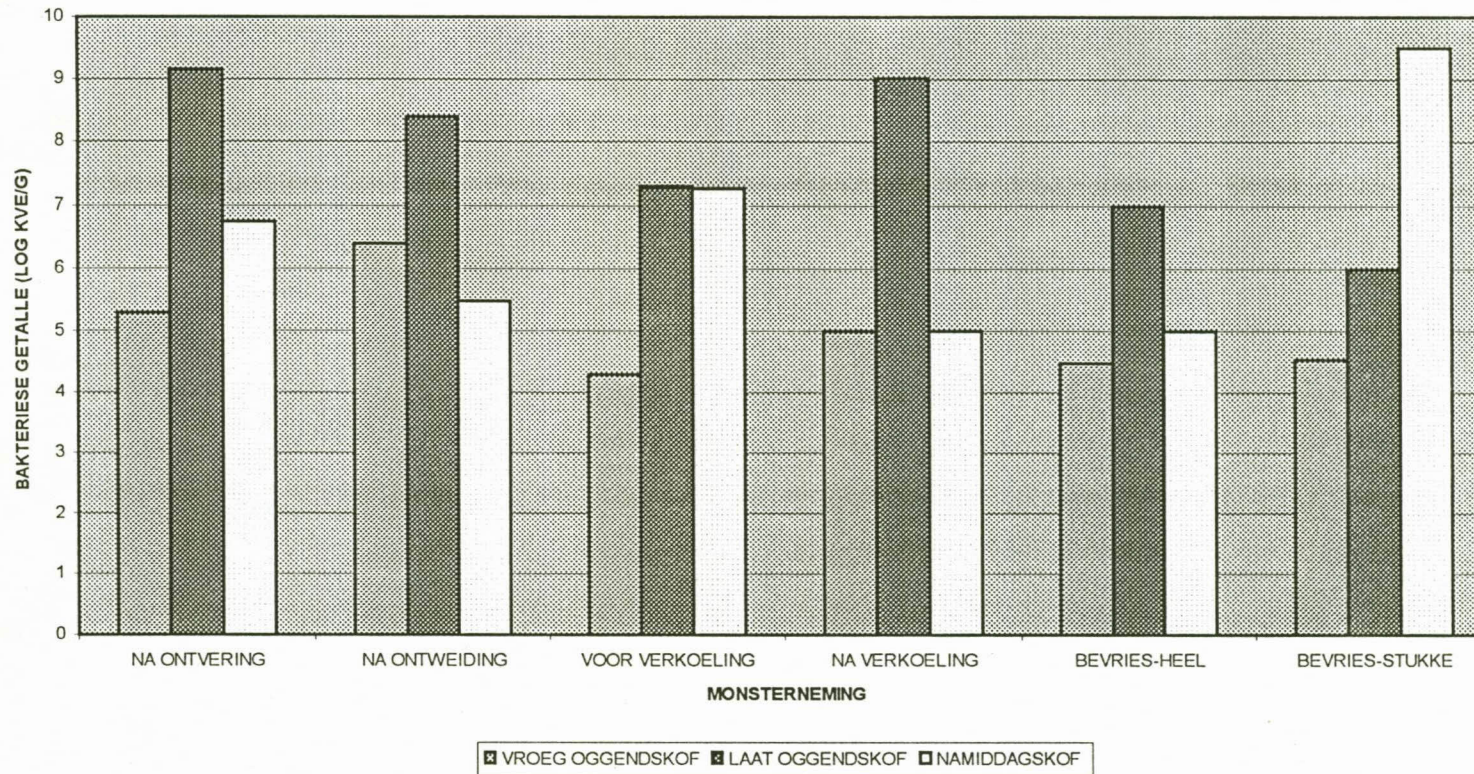


Fig. 1 Die totale bakteriese getalle verkry in die hoenderslagpale, geneem op verskeie plekke tydens prosessering.

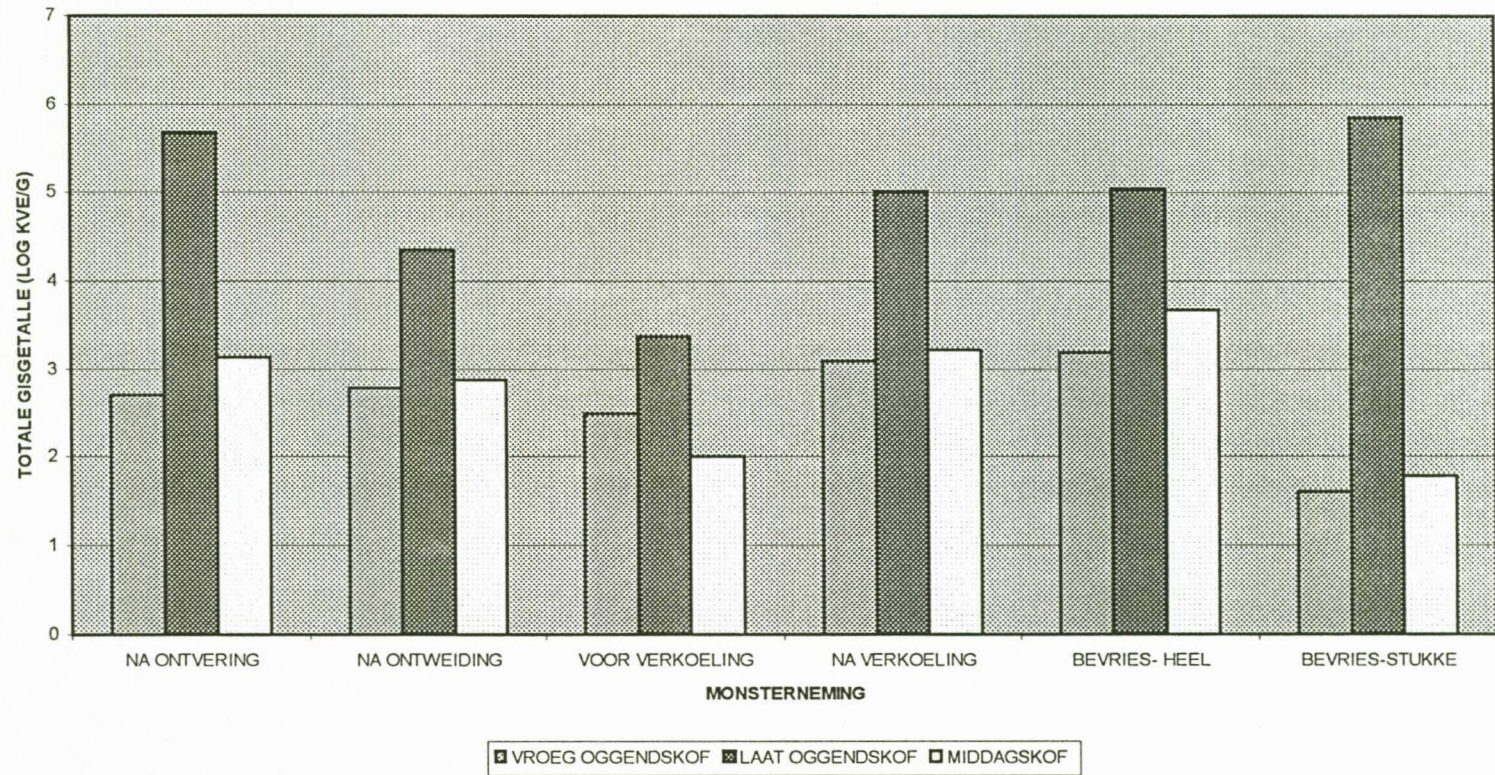


Fig. 2 Die totale gisgetalle verkry in die hoenderslagpale, geneem op verskeie plekke tydens prosessering.

3.5 VERWYSINGS

- Ahearn, D.G., (1998) Yeasts pathogenic for humans. In: Kurtzman, C.P. and Fell, J.W. The yeasts a taxonomic study. Fourth Edition. Elsevier Science B.V. The Netherlands. p 9 – 12.
- Bailey, J.S., Thomson, J.E. and Cox, N.A., (1987) Contamination of poultry during processing. In: Cunningham, F.E., Cox, N.A., Food science and technology – a series of monographs. The microbiology of poultry meat products. Academic Press, Inc. Orlando. p 193 – 205.
- Banks, J.G. and Board, R.G., (1987) Some factors influencing the recovery of yeasts and moulds from chilled foods. *International Journal of Food Microbiology* 4, 197 – 206.
- Barnes, E.M., Impey, C.S., Geeson, J.D. and Buhagiar, R.W.M., (1978) The effect of storage temperature on the shelf – life of eviscerated air chilled turkeys. *British Poultry Science* 19, 77 – 84.
- Baxter, M. and Illston, G.M., (1976) Psychrotrophic meat spoilage fungi within a freezing works. *New Zealand Veterinary Journal* 24, 177 – 180.
- Bryan, F.L., (1980) Poultry and poultry meat products. In: Silliker, J.H., Elliot, R.P., Baird – Parker, A.C., Bryan, F.L., Christain, J.H.B., Clark, D.S., Olsen, J.C. and Roberts (Eds), *Microbial ecology of foods, Vol 02. Food commodities*. Academic Press, New York. p 410 – 469.
- Dalton, H.K., (1984) The yeasts and their chemical changes in British fresh sausage. Ph. D. thesis, University of Bath, UK.
- Davenport, R.R., (1980) Cold – tolerant yeasts and yeast – like organisms. In: Skinner, F.A., Passmore, S.M. and Davenport, R.R. *Biology and activities of yeasts*. Academic Press. London. p 215 – 230.
- Deak, T. and Beuchat, L.R., (1996) *Handbook of spoilage yeasts*. CRC Press, Boca Rayton. New York. London. Tokoyo.
- Dillon, V.M. and Board, R.G., (1989) The significance of the yeast : bacteria ratio in contamination of lamb products. *Letters in Applied Microbiology* 8, 191 – 193.

- Dillon, V.M. and Board, R.G., (1991) A review – Yeasts associated with red meats. *Journal of Applied Bacteriology* 71, 94 – 108.
- Fleet, G.H., (1992) Spoilage yeast. *Critical Reviews in Biotechnology* 12, 01 – 44.
- Fung, Y.C.D. and Liang, C., (1990) Critical review of isolation, detection and identification of yeasts from meat products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 29, 341 – 379.
- Gallo, L., Schmitt, R.E. and Schmitt-Lorenz, W., (1988) Microbial spoilage of refrigerated fresh broilers. In: *Bacterial flora and growth during storage. Lebensmittel Wiss. – Technology* 21, 216 – 223.
- Hocking, A.D., Pitt, J.I., Samson, R.A. and King, A.D., (1992) Recommendations from the closing session of SMMEF II. In: *Developments in food science – Modern food mycology. Elsevier.* p 359 – 388.
- Hurley, R., de Louvois. and Mulhall, A., (1987) Yeasts as human and animal pathogens. In: Rose, A.H. and Harrison, J.S., *The yeasts, Volume 01. Second edition. Eds. Academic Press. London.* p 207 – 236.
- Jay, M. J., (1992) Intrinsic and extrinsic parameters of foods that affect microbial growth. In: *Modern food microbiology, 4th edition. Published by Von Nostrand Reinhold. New York.* P 38 – 62.
- King, A.P., Pitt, J.I., Beuchat, L.R. and Corry, J.E.L., (1986) *Methods for the mycological examination of food. Plenum Press. New York.*
- Kock, J.L.F., Lategan, P.M., Botes, P.M. and Viljoen, B.C., (1985) Developing a rapid statistical identification process for different yeast species. *Journal of Microbiological Methods* 4, 147 – 154.
- Lowry, P.D., and Gill, C.O., (1984) Development of yeast microflora on frozen lamb stored at -5°C . *Journal of Food Protection* 47, 309 – 312.
- Mead, G.C., (1989) Hygiene problems and control of process contamination. In: Mead, G.C., *Processing of Poultry* 33, 183 – 220.
- Miller, M.W., (1979) Yeast in food spoilage: an update. *Food Technology* 33, 76 – 80.

- Oosthuizen, A., Kock, J.L.F., Viljoen, B.C., Muller, H.B. and Lategan, P.M., (1987) The value of long chain fatty acid composition of some brewery yeasts. *Journal of Instant Brewing* 93, 174 – 176.
- Patterson, J.T., (1971) Microbiological sampling of poultry carcasses. *Journal of Applied Bacteriology* 35, 569 – 575.
- Patterson, J.T., (1973) Airborne microorganisms in poultry processing plants. *British Poultry Science* 14, 161 – 165.
- Patterson, J.T., (1973) Airborne microorganisms in poultry processing plants. *British Poultry Science* 14, 161 – 165.
- Schmidt – Lorenz, W., (1982) Indicator organisms in frozen foods in relation to spoilage. *Antonie von Leeuwenhoek* 48, 625 – 633.
- Spencer, J.F.T. and Spencer, D.M., (1997) Ecology: The bad guys: Pathogens of humans and other animals. In: Spencer, J.F.T. and Spencer, D.M., 1997. *Yeasts in natural and artificial habitats*. Springer – Verlag. Berlin. Hiedelberg. New York. p 59 – 67.
- Thayer, S.G. and Walsh, J.L., (1993) Processing and products. Evaluation of cross – contamination on automatic viscera removal equipment. *Poultry Science* 72, 741 – 746.
- Todd, E.C.D., (1983) Foodborne disease in Canada – a five year summary. *Journal of Food Protection* 46, 650 – 657.
- Tompkin, R.B., (1990) The use of hazard analysis and critical control points in the production of meat and poultry products. *Journal of Food Protection* 33, 795 – 803.
- Viljoen, B.C., and Kock, J.L.F., (1989) A taxonomic study of the yeast genus *Candida* Berkhout. *Systematic and Applied Microbiology* 12, 91 – 102.
- Viljoen, B.C., Geornaras, I., Lamprecht, A. and von Holy, A., 1998. Yeast populations associated with processed poultry. *Food Microbiology* 15, 113 – 117.
- Viljoen, B.C., Kock, J.L.F. and Lategan, P.M., (1986) Fatty acid composition as a guide to the classification of selected genera of yeasts belonging to the Endomycetales. *Journal of General Microbiology* 132, 2397 – 2400.

- Viljoen, B.C., Kock, J.L.F. and Britz, T.J., (1988) The significance of long chain fatty acid composition and other phenotypic characteristics in determining relationships among some *Pichia* and *Candida* species. *Journal of General Microbiology* 134, 1893 – 1899.
- Viljoen, B.C., Kock, J.L.F. and Britz, T.J., (1988) The significance of long chain fatty acid composition and other phenotypic characteristics in determining relationships among some *Candida*, *Kluyveromyces* and *Saccharomyces* species. *Systematic and Applied Microbiology* 10, 116 – 120.
- Viljoen, B.C., Kock, J.L.F., Muller, H.B. and Lategan, P.M., (1987) Long chain fatty acid compositions of some ascosporegenous yeasts and their respective ascosporegenous states. *Journal of General Microbiology* 133, 1019 – 1022.
- Viljoen, B.C., Kock, J.L.F. and Toupou, K., (1989) The significance of cellular long chain fatty acid composition and other criteria in the study of the relationship between sporogenous ascomycete *Candida* species. *Systematic and Applied Microbiology* 12, 80 – 90.

HOOFSTUK 4

**EVALUASIE VAN DIE GEBRUIK VAN ONTSMETTINGSMIDDELS
IN DIE IMMERSIE VERKOELINGSBAD OP MIKROBIESE VLAKKE
VAN HEEL HOENDER KARKASSE**

4.1 UITTREKSEL

Die eetbare pluimvee se afsetbare karkasse word gekontamineer deur verskeie mikroorganismes. Kontaminasie kom voor tydens ontweiding of kruis-kontaminasie kom voor gedurende die onderdompeling van karkasse in warm water, ontvering, was of verkoeling van die karkasse. *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus* en *Escherichia coli* is tipiese patogene wat met pluimvee verbind word. Alhoewel giste nie 'n groot rol speel tydens die bederf van hoenders nie, kan hoë getalle ontwikkel tydens inhibering van bakteriese populasies veral na verkoeling in chloor bevattende middels, en bydrae tot karkas bederf. Huidiglik word ontsmettingsmiddels gebruik gedurende immersiewentelverkoeling om die mikrobiiese ladings te minimiseer. Die gebruik van chloor is egter verbied in Europese lande deur streng uitvoer maatreëls. Met die gevolg dat nuwe metodes nodig is om die mikrobiiese ladings te minimiseer sonder om die kwaliteit of veiligheid van die finale produk te beïnvloed.

Gebaseer op die resultate verkry tydens hierdie studie, het Divasan en chloor dioksied bewys getoon van uitstekende ontsmettingsmiddels. Nietemin is die ontwikkeling van 'n afreuk op die karkasse behandel met Divasan 'n groot beperking. Ander metodes soos osoon, chloorineerder en NaCl, Sanaklor het almal veranderlike resultate geproduseer. 'n Merkbare verskil in die getal mikroorganismes is verkry deur die ingewande van hoender karkasse met die hand of outomaties te verwyder. Oor die algemeen is hoër tellings verkry op karkasse ontwei met die hand.

4.2 INLEIDING

Pluimvee en sy produkte vorm 'n hoofsaaklike deel van die dieëtwyse van 'n groot deel van die Suid-Afrikaanse populasie (Bok *et al.*, 1986). Die produksie van eetbare pluimvee word egter geknel deur die kontaminasie van die afsetbare karkasse deur verskeie bederfveroorsoekende mikroorganismes en patogene, waarvan die ergste *Salmonella* is. Die vleis lewer 'n gunstige substraat vir mikrobiëse groei, omdat die eetbare gedeelte van die karkas ongeveer 70% water, 'n water aktiwiteit van 0.98 tot 0.99, 'n proteïen-inhoud van ongeveer 20.5% en 'n vetinhoud van ongeveer 9.5% bevat (Bryan, 1980). Ander organismes wat ongunstige reaksies in die spysverteringstelsel van mense kan veroorsaak is *E. coli*, coliforme, en *Camphylobacter*. Die karkasse word gekontamineer tydens die ontweidingsproses en verdere kruiskontaminasie vind plaas tydens die onmiddellike plasing van die karkasse in koue water vir afkoeling, en om enige verdere afval produkte te verwyder. Geperforeerde ingewande van die pluimvee veroorsaak mikrobiologiese kontaminasie in die water wat, as dit nie ontsmet word nie, kontaminasie van al die karkasse veroorsaak. Die kruiskontaminasie vind ook plaas gedurende die prosesse soos onthouwing, ontvering, was en verkoeling van karkasse (Mead, 1989; Mead, 1994). Die ontvering van die karkasse blyk die meeste daartoe by te dra tot die hoogste vlakke van kontaminasie van die finale produk (Bryan, 1980; Kaufman *et al.*, 1972).

Die was van hoenderkarkasse tussen prosessering stappe speel 'n belangrike rol om die hoeveelheid los organiese materiaal en slymlae te verminder wat die mikrobiëse ladings van die vorige prosesseringstappe bevat (Grau, 1986; Thomson *et al.*, 1987). Die was van die hoenderkarkasse lewer egter 'n minimale reduksie in die totale mikrobiëse lading teenwoordig. Gedurende die finale prosesseringstappe, word die hoenderkarkasse verkoel deur die blaas van koue lug of deur waterimmersie-verkoeling om sodoende die mikrobiëse groei te verminder (Mead *et al.*, 2000; Veerkamp, 1981). Herhaalde immersie-verkoeling

bestaan uit die onderdompeling van karkasse in gedurig-vloeiende koue water in 'n groot oop tenk sodat die karkasse vinniger kan verkoel as ander mededingende metodes. Die sisteem word gekritiseer in die meeste Europese lande, omdat die karkasse water absorbeer en ook 'n bron van kruis-kontaminasie is (Bremner, 1977). Die gebruik van alternatiewe verkoelingsmetodes soos soliede koolstofdioksied en vloeibare stikstof is duur, terwyl lugverkoeling 'n kleurverandering in die oppervlak van die karkas meebring (Veerkamp, 1981).

Die toename in die verbruik van pluimvee het meegebring dat pluimveegeassosieerde siekte toestande, veral salmonellosis vermeerder het (Todd, 1980). In die slagtingsaanleg kom mikroorganismes wat bederf veroorsaak voor in groot hoeveelhede op die vel en vere van die hoenders, en ook in die stof wat voorkom as lewendige hoenders verwyder word uit die kratte en op die lyne gehang word. Kontaminasie deur ontlasting kom ook voor op die voete, borsies en rûe van baie hoenders wat bydra tot die hoë hoeveelhede mesofiliese bakterieë. Die hoeveelheid bakterieë word wel verminder deur die onderdompeling van karkasse in warm water, maar sommige bly egter agter op die karkas, terwyl ander die omgewing kontamineer (Bremner, 1977).

Belangrike patogene wat met pluimvee geassosieer word sluit in *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* en enteropatogeniese *Escherichia coli* (Bryan, 1980; Ingram en Simonsen, 1980). Salmonellose is 'n term wat gegee word aan 'n groot groep van akute of kroniese siek pluimvee wat deur een of meer lede van die bakteriese genus *Salmonella* veroorsaak word (Williams, 1978). Dit is die Salmonellae wat spesifieke dierlike patogene is en ander serotipe wat patogenies is vir mense wat voedselvergiftiging, ingewandskoors of septisisme veroorsaak. Huidige tegnologie in slagtingsaanlegte kan nie *Salmonella*-vrye eindprodukte waarborg, al kom hulle in lae hoeveelhede voor (Genigeorgis, 1987).

Staphylococcus kom algemeen op die vel en slymvliese van diere voor. *Staphylococcus* uitbrake kom voor omdat voedsel verkeerd hanteer word by voedseldienste, in die industrie, en fouting in die prosesserings-aanleg. *Staphylococcus* produseer enterotoksienes wat prosessering kan oorleef en gevolglik lei tot voedselvergiftiging. In pluimvee is *S. aureus* bekend vir die oorsaak van verskeie siektes van akute septisisme tot kroniese "ostermytitis" (Genigeogis, 1987; Skeeler, 1997). Die persoonlike higiëne van die werksmense is belangrik om hierdie uitbraak te voorkom. *Salmonella* en *Staphylococcus* is die mees algemene bakterieë wat oorgedra word van die mens na die vleis.

Die gebruik van sanitasie-middels in die verkoelingsisteme is geïmplementeer om die mikrobiële ladings te verminder voor die hoenders verpak word. Met gevolg dat die produk 'n langer raklewe het (Ayres et al., 1950). Dit is van belang vir die veiligheid van voedselprodukte dat die gebruik van verskeie sanitasie metodes ondersoek word om die mikrobiële kontaminasie op karkasse gedurende prosessering te verminder. (Hwang en Beucht, 1994). Chloor word grootliks ondersoek vir die vermindering van bakterieë wat bederf kan veroorsaak en patogene in die verkoelingsproses (Lillard, 1979). Tsai et al., (1991) dui aan dat vrye chloor verkies en grootliks gebruik word aangesien dit blyk as veilig, effektief en beskikbaar teen 'n lae koste. Sheldon en Brown (1986) berig dat Osoon as ontsmettingsmiddel gebruik kan word vir pluimvee om die patogene en mikroorganismes wat bederf veroorsaak te inhibeer en gevolglik die kwaliteit van die verkoelingswater verbeter wat weer vir herwinning gebruik kan word. Osoon word gebruik in die verwydering van kleur, reuk en troebelrigheid sowel as die afname van mikrobiële ladings in Europese afvalwater behandelings-aanlegte. Ander ontsmettingsmiddels is ook ondersoek vir die gebruik in 'n verkoelingsstelsel, maar word nie deur die industrie gebruik nie, omdat behandeling met hierdie chemikalieë faktore soos koste of ongunstige sensoriese veranderinge tot gevolg het (Mead, 1982).

Huidiglik word 50 dpm vrye Cl_2 gebruik om pluimvee te ontsmet. Ontsmetting by verkoelingswater temperature is baie moeiliker as by kamertemperatuur en benodig hoë kontaktyd en/of hoë konsentrasies. Maar, selfs by hierdie omstandighede, is daar sommige karkasse wat nie heeltemal ontsmet word nie, en 'n uitbraak van patogene kontaminasie kan voorkom. By hierdie hoë konsentrasies, in die teenwoordigheid van hoë organiese ladings Cl_2 , vorm groot hoeveelhede karsinogeniese tri-halometane in die water. Gevolglik is die doel van hierdie studie om 'n vergelyk te tref tussen ontsmettingsmiddels wat die mikrobiële ladings kan minimiseer op hoenderkarkasse in die immersie verkoelingsstelsel. Die rol van hand- en outomatiese ontweiding van die ingewande op die totale mikrobiële ladings is ook vergelyk.

4.3 METODIEK

4.3.1 Beskrywing van die prosesserings-aanleg

Die aanleg was 'n Graad A hoenderslagpale met 'n slagkapasiteit van ongeveer 7 200 hoenders per uur (\pm 64 800 hoenders per dag). Die hoenders is ondergedompel in warm water by 54-56°C en die vere verwyder deur drie agtereenvolgende ontveringsmasjiene. Die ontweiding van die ingewande is met die hand en outomaties gedoen. Die karkasse is daarna gesproei-was deur ongechlorineerde water wat dan gevolg is deur 'n vooraf-was in 'n wentel verkoelingsbad. Die karkasse is daarna onderdompel en verkoel in 'n terugvloei immersie verkoelingsbad stelsel vir 35 min. Die temperatuur van die water het gewissel tussen 2-4°C met 'n chloor-vlak van 30 dpm.

4.3.2 Ontsmettingsmiddels

Nege verskillende metodes is ondersoek deur verskeie ontsmettingsmiddels te gebruik asook 'n swembad chlorineerder met natriumchloried (40 gl^{-1}). Die ontsmettingsmiddels gebruik, by verskillende konsentrasies, was Sanaklor

(gestabiliseerde natrium hipochlorite oplossing, Syndachem), Divosan FG (breëspektrum ontsmettingsmiddel, Diversey Lever), Biox (chloor dioksied, Scotmas Africa) en Osoon. Die voorbereiding van al die ontsmettingsmiddels is gedoen volgens voorskrif deur die vervaardigers. Sanachlor is by die immersie water verkoeler gevoeg teen 25 dpm, 30 dpm en 35 dpm. Divosan FG is bygevoeg teen 1% en 0.1%, Biox teen 3 dpm en Osoon teen 3 g/m^3 en 6 g/m^3 . Wanneer die aangewenste konsentrasie van ontsmettingsmiddel in die immersie tenk bereik is, is die hoenders onderdompel. Die ontsmettingsmiddels is gedurig bygevoeg by die immersie-wentelverkoelerbad gedurende prosessering om die konsentrasie wat verlore gaan en verdun word deur die oorfloei en invloei van water, onderskeidelik, te stabiliseer. Vaststelling van die chloorinhoud (dpm) van die water in die immersie-wentelverkoeler is gedoen teen tussenposes van 10 min vir 'n periode van 35 min.

4.3.3 Immersie-wentelverkoeler

Tien hoenders is gewas deur onderdompeling in 'n verkoelingsbad met slegs water en geen byvoegings van ontsmettingsmiddels teen kamertemperatuur vir 10 min, soos gebruiklik by die slagpale. Na die onderdompeling, is die water toegelaat om af te loop van die karkasse deur die hoenders versigtig aan die vlerke vir 'n paar sekondes vas te hou, waarna die hoenders onderdompel is in die immersie-wentelverkoeler. Die immersie-wentelverkoeler model is ontwerp volgens dieselfde skaal soos gebruik in die slagpale om tien hoenders te hanteer, met 'n konstante invloei van 1 liter kraanwater per minuut en uitvloei gekonnekteer aan 'n verkoelingsbad met konstante temperatuur van 4°C , en 'n lugpyp met gaatjies wat beter chloorverspreiding verseker weens die lug aggitasie. Die verkoelingsstelsel is gebruik om die hoenders te verkoel vir 'n periode van 35 minute met 4 liter/hoender van verkoelde water. Die immersie-wentelverkoeler en die verkoelingsbad is skoongemaak voor gebruik deur dieselfde sanitasie prosedures te gebruik as in die slagpale.

4.3.4 Monsterneming

Tien hoenderkarkasse is lukraak geselekteer direk na slagting by die slagpale om te bepaal watter ontsmettingsmiddels die mees doeltreffendste uitwerking het op die mikrobiologiese afsterwing op die hoenderkarkasse. Die hoenders is geneem na ontweiding, vyf se ingewande is met die hand uitgehaal (groep 1) terwyl die oorblywende vyf karkasse outomaties (groep 2) ontwei is. Die karkasse is in 'n verkoelingshouer op ys geplaas en na die laboratorium geneem waar dit dadelik onderdompel is in 'n immersie-wentelverkoeler. Dieselfde toestand is gehandhaaf met die laboratorium-skaal immersie-wentelverkoeler as by die slagpale.

Monsters van die nekvel, water, en apparaat-oppervlakte is geneem voor en na onderdompeling van die karkasse in die immersie-wentelverkoeler. Nekvelmonsters (± 4 g per karkas) is asepties geneem deur gebruik te maak van steriele skêre en tange en geplaas in steriele Whirl sakkies (Nasco, VSA). Poelmonsters van vyf hoenderkarkasse is berei deur die nekvle van die karkasse wat met die hand ontwei is saam te plaas in 'n enkele steriele sakkie. Die oorblywende vyf hoenderkarkasse, outomaties ontwei, se nekvle is saam geplaas. Ongeveer 100 ml van die water in die immersie-wentelverkoeler voor onderdompeling van die karkasse, en na onderdompeling is in steriele glasbottels geplaas. Natrium thiosulfaat (0.1 ml van 'n 10% oplossing) is by alle watermonsters gevoeg om die oorblywende chloor te inaktiveer (Patterson, 1968).

Met behulp van deppers is monsters van die oppervlakte van die apparaat en omgewing geneem teen ± 25 cm² per depper vir 30 sekondes elk. Vyf replikaat deppers klam gemaak in Bacto Pepton Water (Difco, Laboratories, Detroit, MI) is gebruik.

4.3.5 Monsterprosessering en mikrobiologiese analise

Altesaam 20 g saamgepaasde nekvel-monsters van die hoenderkarkasse is voorberei (± 4 g per karkas) en gehomogeniseer vir 2 min in 180 ml Bacto Pepton Water (Difco) met gebruik van 'n Colworth 400 Stomacher (London, UK). Oppervlakmonsters van die apparaat is voorberei vir mikrobiologiese analises deur elke stel van 5 deppers per oppervlak in 'n steriele McCartney bottel te plaas bevattende 10 ml Bacto Pepton Water en dit goed te skud vir 30 sekondes.

Tienvoudige verdunnings in Bacto Pepton Water is uitgeplaat in duplikaat deur die spreiplaat tegniek op vyf verskillende selektiewe media. Die selektiewe media sluit in: Totale Plaat Telling agar (PCA, Oxoid, Basingstoke, UK) vir totale bakteriese tellings, en Roos Bengaal Chloramphenicol (RBC, Oxoid) vir giste en skimmels. Die selektiewe media vir die isolasie van patogene word later meer breedvoerig beskryf. Plate is geïnkubeer by 25°C vir 48 uur vir bakteriese tellings en vyf dae by dieselfde temperatuur vir giste en skimmels.

Plate wat tussen 30 en 300 kolonievormende eenhede (kve) bevat (of die hoogste getal as dit onder 30 is), is getel en die gemiddeld beraam van duplikaat plate. Tellings is verwerk na logaritmes. Om die afname in mikrobiese tellings te bepaal, is die onaktiewe faktor gemeet aan die "biobunder"/finale tellings. 'n Faktor van 10 beteken basies 'n afname in mikrobiese populasie van 90% of 1 log/eenheid.

Die aanwesigheid van *Escherichia coli*, *Listeria*, *Salmonella* en *Staphylococcus aureus* op nekvel-monsters en apparaat oppervlaktes is ook bepaal.

a) *Salmonella*

Altesaam 20 g nekvel-monsters is geneem van die karkasse en bygevoeg by 180 ml gebufferde Pepton Water (Oxoid, Basingstoke, UK), gehomogeniseer vir 2 min in 'n Colworth 400 Stomacher (London, UK) en voor-verryk by 37°C vir 24 uur. Na 'n 24 uur inkubasie, is 0.1 ml van die voor-verryking sop oorgedra na 10 ml Rappaport-Vassiliadis Soya Pepton sop (Oxoid) vir verryking en geïnkubeer by 42°C vir 24 uur. Na inkubasie is die verrykingsop uitgestreep op gemodifiseerde Brilliant Groen Agar: met *Salmonella* Sulphamandelate byvoeging (Oxoid) (42°C vir 24 h) (Geornaras et al., 1994) en xilose lysine desoxycholate agar (XLD) (37°C vir 24 h) (Bok et al., 1986). Om die teenwoordigheid van *Salmonella* op die oppervlaktes van die apparaat te bepaal, is 5 depper eksemplare per oppervlak, klam gemaak in gebufferde Pepton Water, verteenwoordig deur 25 cm² aangrensende oppervlaktes per depper (bygevoeg by 100 ml van gebufferde Pepton Water), hewig geskud vir 30 sek en geanaliseer vir *Salmonella* soos beskryf vir die nekvel-monsters hierbo.

b) *Listeria*

Monsterneming vir *Listeria* bestaan uit 20 g nekvel-monsters van die hoenderkarkasse (\pm 4 g per karkas). Die nekvel-monsters is dan onderdompel in 180 ml Universiteit van Vermont *Listeria* verrykingsop, aangevul met *Listeria* primêre selektiewe aanvulling (UVM 1) (Oxoid) (Bailey et al., 1989) en gehomogeniseer vir 2 min in 'n Colworth 400 Stomacher (London, UK). Monsters is geïnkubeer by 35°C vir 24 uur. Na inkubasie is 0.1 ml van die voor-verrykingsop oorgedra na 10 ml Fraser sop (Oxoid) (Bailey et al., 1989), aangevul met Fraser aanvulling (Oxoid) en geïnkubeer by 35°C vir 24 uur. Die verrykingsop is uitgestreep op *Listeria* selektiewe agar basis (Oxford formulاسie), verryk met *Listeria* selektiewe verryking (Oxford formulاسie) (Oxoid) en geïnkubeer by 30°C vir 'n verdere 48 uur (Dykes et al., 1994). Isolate wat 'n donkerbruin kleurverandering op die agar aangetoon het is geselekteer van die

plate wat veronderstelde *Listeria* groei wys en gesuiwer op Triptoon soja agar (Oxoid) met 0.3% gisekstrak (Merck). Om die teenwoordigheid van *Listeria* op die apparaat se oppervlakte te bepaal, is 5 depper eksemplare per oppervlak (klam gemaak in *Listeria* verrykingsop basis), van 25 cm² aangrensende oppervlak-areas per depper, bygevoeg by 100 ml van *Listeria* verrykingsop), hewig geskud vir 30 sekondes en geanaliseer vir *Listeria* soos vir die nekvel-monsters soos hierbo.

c) *Staphylococcus aureus*

Die teenwoordigheid van *Staphylococcus aureus* op nekvel-monsters en apparaat is bepaal deur gebruik te maak van die spreidplaat tegniek. Monsters (0.1ml in duplikaat), van die oorspronklike nekvel en apparaat homogenate om die mikrobiële tellings te bepaal, is geïnokuleer op Baird-Parker Agar (Oxoid) en Eier-Geel Tellurite Emulsie (Oxoid) (37°C vir 24 uur). Die identiteit van sommige skynbare *S. aureus* kolonies is lukraak van die plate geselekteer en bevestig deur die koagulase toets (Dodd et al., 1988).

d) *Escherichia coli* tipe 1

Koliforme kolonies met dieprooi ringe, geselekteer vanaf Violet Rooi Gal Agar (Oxoid) is bevestig as *E. coli* tipe 1 gebaseer op die IMViC toets (Harigan en McCance, 1966). Tipiese *E. coli* tipe 1 spesies is gekarakteriseer deur die Eijkman (+), indool (+) en metielrooi (+), Voges-Proskauer (-) en sitraat (-) toetse (Harigan en McCance, 1966).

4.4 RESULTATE EN BESPREKING

Resultate het getoon dat die totale aerobiese mikrobiële tellings vir verkoelde water en verkoelde karkasse betekenisvol laer is wanneer die verkoelde water behandel is met enige van die ontsmettingsmiddels (Tabelle 1-5). Die data het

ook aangedui dat monsters van die hoendernekvelle heelwat hoër is as dié van ooreenstemmende watermonsters (Tabelle 1-6). Al die vlakke van die onderskeie ontsmettingsmiddels het die fekale, totale bakteriese en gistings van die oorspronklike kraanwater suksesvol in die immersie-wentelverkoeler verlaag. Dieselfde tendens van verlaging in mikrobiese getalle is ook gevind in die meeste gevalle wanneer die hoenderkarkasse onderdompel is in die behandelde water in die immersie verkoelingsbad. Geen van die ontsmettingsmiddels was egter in staat tot die totale inhibering van die patogeniese spesies van *Salmonella* en *Staphylococcus* met die uitsondering van Bioxide wat die *Salmonella* spesies totaal geïnhibeer het. Hierdie organismes het positief getoets in al die ander gevalle voor en na behandeling met ontsmettingsmiddels. Bioxide het ook 'n betekenisvolle verlaging in die getalle van *Staphylococcus* sp. veroorsaak. Geen *Listeria* isolate is geïsoleer gedurende hierdie studie.

Die ontweiding van hoenderkarkasse met die hand het hoër voor-verkoeling tellings van die totale bakteriese tellings getoon in vergelyking met die outomatiese ontweiding met die verskil wat wissel tussen 0.19 tot 0.54 log kve/g. Die kolivorme wat aanvanklik voorgekom het op hoenders wat hand ontwei is, het ook aansienlike hoër tellings getoon (0.13 tot 0.74 log kve/g). Die isolasie van giste van voor-verkoeling in die immersie-wentelverkoeler het geen beduidende verskil in tellings tussen die ingewande met die hand of outomatiese verwydering daarvan getoon nie.

4.4.1 Disinfeksie

Verskeie evaluasies (weekliks) is gemaak om die effektiwiteit van chloor in die ontsmetting van mikrobiologiese populasies op hoenderkarkasse na onderdompeling in die immersie-wentelverkoeler in die pluimvee slagpale te bepaal. Monsters van dieselfde immersie-wentelverkoeler is weekliks geneem op verskillende dae oor 'n periode van ses maande. Hierdie data is gebruik as die

kontrole. Die hoeveelheid bakterieë in die verkoeler water gedoen onder laboratorium toestande was konsekwent hoër in vergelyking met monsters wat van die slagpale verkry is. Die hoeveelheid aerobiese bakterieë kan egter varieër afhangende van die temperatuur, hoeveelheid bakterieë op karkasse, karkasse tot water verhouding, prosesseringstyd, en ander prosesserings omstandighede (Thomson et al., 1974; Tsai et al., 1991).

Die bakteriese, patogene, kolivorme en gistellings verkry vanaf voor-verkoeling en na-verkoeling in die immersie-wentelverkoeler is vergelyk. Die tellings is ook vergelyk deur gebruik te maak van verskillende ontsmettingsmiddels en by verskillende konsentrasies. Verdere tellings is ook verkry en vergelyk van hoenders wat se ingewande onderskeidelik met die hand en outomaties verwyder is.

Chloor (Tabel 1). Teen die laagste konsentrasie van 25 dpm van die totale residuele chloor verkry deur die byvoeging van hipochloried, was daar steeds 'n merkbare afname in die hoeveelheid bakterieë, kolivorme en giste. Die grootste effektiwiteit van die laer konsentrasies van chloor is toegeskryf aan die verdunning van organiese materiaal wat afgewas is van karkasse (4 l/hoender) wat normaalweg 'n reaksie toon met die chloor en die aktiwiteit teen bakterieë verminder (Mead en Thomas, 1973). Die gebruik van 25 dpm chloor in die immersie-wentelverkoeler het 'n afname van 5.15 vir bakterieë, gebaseer op die inaktiveringsfaktor, en 7.14 vir giste op die hoender tot gevolg gehad. Die byvoeging van dieselfde verdunning tot die kraanwater, was egter nie in staat om die hoeveelheid mikroörganismes voldoende te verminder nie en tellings so hoog as 2.54 log eenhede is verkry vanaf die water binne die immersie-wentelverkoeler voor onderdompeling van die hoenders. Die byvoeging van 30 dpm chloor het bygedra tot 'n groot vermindering van bakterieë en kolivorme op die karkasse, waarteenoor die getal giste egter heelwat verminder gedurende die byvoeging van 35 dpm chloor. Oor die algemeen het die gebruik van chloor in die immersie-wentelverkoeler 'n duidelike afname van die hoeveelheid giste op die

karkasse getoon. Totale inhibisie van al die mikrobiëse ladings is ook verkry in die immersie-wentelverkoeler voor die indompeling van die hoenders met die gebruik van hoër konsentrasies chloor.

Die gebruik van chloor in hoenderprosesserings aanlegte in die Verenigde State word toegelaat tot so hoog as 50 dpm as ontsmettingsmiddels vir die was en gebruik in immersie-wentelverkoelers vir karkasse. Tamblyn et al. (1997) het aangetoon dat die gebruik van 20 tot 50 dpm chloor in die vorm van natrium hipochloried oor die algemeen veilig is. Dit is egter moeilik om die resultate wat dui op mikrobiëse afname op karkasse te vergelyk omdat verskille in die oorspronklike mikroflora en die prosesserings omstandighede bestaan.

Divosan F G (Tabel 2). Die effektiwiteit van *Divosan F G*, wat ontwerp is vir werksverrigting by 'n 1% verdunning, op die inhibering of doding van mikrobiologiese populasies in die immersie-wentelverkoeler is vasgestel. Resultate het aangetoon dat minimale afname in mikrobiëse getalle op hoenderkarkasse verkry word wanneer aangewend by konsentrasies van 0.1%, behalwe vir die afname van gistellings. Wanneer dieselfde konsentrasie bygevoeg is by die water in die immersie-wentelverkoeler, het dit ook 'n minimale effek op die getal mikroörganismes (Tabel 6). Indien die ontsmettingsmiddel egter aangewend word, soos deur die vervaardiger voorgeskryf, by verdunnings van 1%, was die ontsmettingsmiddel verantwoordelik vir hoër mikrobiologiese afnames van meer as 2 log eenhede. In al die gevalle was die byvoeging van 1% *Divosan* verantwoordelik vir hoër mikrobiologiese afnames, in vergelyking met die gebruik van 0.1% verdunnings.

Die onderdompeling van hoenderkarkasse in die immersie-wentelverkoeler met die byvoeging van *Divosan F G* 1% het uitstekende bewys getoon van die afname van die totale bakteriese ladings, kolivorme en giste as dit vergelyk word met die gebruik van ander ontsmettingsmiddels. Al was die teenwoordigheid van af-reuke nie eksperimenteel vasgestel nie, het die karkasse egter 'n sterk reuk

gehad na verkoeling, wat verdere ondersoek sal benodig om die chemikalieë te verminder by afspoeling van die karkasse na verkoeling. In die huidige vorm sal die gebruik van die produk egter nie aanbeveel word nie.

Osoon (Tabel 3). Ten spyte van die betekenisvolle afname in die getalle van mikroorganismes teenwoordig in die water in die immersie-wentelverkoeler na gebruik van osoon (Tabel 6), het die osoon 'n minimale effek op die mikrobiologiese ladings van die hoenderkarkasse. Die byvoeging van osoon het slegs gedeeltelike uitwerking op die afname van gisgetalle, wat baie hoër was in vergelyking met die hoeveelheid bakterieë en kolivorme.

Chloor en 40 g/l NaCl (Tabel 4). Die insluit van die swembad-chlorineerder tesame met die byvoeging van NaCl is gedoen om moontlike koste effektiwiteit. Die resultate verkry het bewys dat die sisteem suksesvol die getalle mikrobiële ladings op die karkasse van hoenders verminder het. Afnames van amper 2 log eenhede in die bakteriese tellings en meer as 2 log eenhede in gistellings is verkry. Die rede vir die hoë afname is dalk omdat die residuele chloor geredelik beskikbaar gestel was na die afbraak van die NaCl na Cl en Na-soute. Lae tellings is verder ook gevind in die water van die immersie-wentelverkoeler voor onderdompeling van die hoenderkarkasse. Lae mikrobiële tellings is ook gevind teen die einde van die prosessering in die water van die immersie-wentelverkoeler. Dit blyk gevolglik asof die chloor beskikbaar 'n betekenisvolle kompeterende reaksie het met betrekking tot die oplosbare organiese en anorganiese samestellings, wat normaalweg die beskikbaarheid van chloor verminder om te reageer teen mikroorganismes (Tsai et al., 1991).

Chloordioksied (Tabel 5). Chloor dioksied (ClO_2) word aanvaar deur die FDA (regulasie 21 CFR Part 173.69.) as 'n sekondêre direkte voedsel byvoeging wat beskou word as toelaatbaar (3 dpm) tot die byvoeging tot voedsel vir menslike gebruik. Dieselfde konsentrasie is ook goedgekeur vir die gebruik in proseswater wat in direkte kontak mag kom met die geslagte/ vars hoenderkarkasse. Die

voordele van die gebruik van chloor dioksied dui daarop dat weens die verskil in chemiese samestelling van normale chloor, geen chlorinering van organiese materiaal plaasvind nie. Weens die gebruik van laer konsentrasies, word korrosie verminder, en verder kan die produk oor 'n groter pH reeks aktief reageer. Volgens Thiessen et al., (1984) dui die effektiwiteit van die produk op 'n 4-7 maal verhoogde effek op die doding van patogene en normale bakteriese populasies.

Die data verkry in hierdie studie toon aan dat die gebruik van chloor dioksied oor die algemeen gelei het tot die beste doding van patogene, giste en bakteriese ladings. Lewende mikrobiologiese tellings van die giste, bakterieë en kolivorme het in al die gevalle met ten minste meer as een log eenheid gedaal. Verder was die gebruik van die produk die enigste verantwoordelik vir die totale doding van *Salmonella* spesies. Behalwe vir die betekenisvolle dodingseffek van mikrobiologiese populasies op die hoenderkarkasse, het die byvoeging van chloor dioksied tot die water in die immersie-wentelverkoeler voor byvoeging en na onderdompeling van hoenderkarkasse tot die totale doding van alle mikroorganismes gelei (Tabel 6).

Volgens die data verkry uit die studie dui dit daarop dat die byvoeging van 1% Divosan F G en chloor dioksied blyk die mees uitstaande middels was in die verantwoordelike afname van totale bakteriese tellings, kolivorme en giste op die hoenderkarkasse. Osoon en chloor dioksied het egter getoon om verantwoordelik te wees vir die beste verlagings in mikrobiiese ladings van die water in die immersie-wentelverkoeler voor en na onderdompeling van die hoenderkarkasse. Die teenwoordigheid van afreuke op die hoenderkarkasse na gebruik van Divosan F G is egter 'n probleem.

Toenemende chloor vlakke het min effek op die inhibisie van mikrobiiese ladings. Die lae ontsmettingsaksie van chloor in die verkoelerwater is veroorsaak deur die reaksie met oplosbare organiese en anorganiese materiaal, wat die beskikbaarheid van chloor verminder het om te reageer teen mikroorganismes.

Osoon is 'n sterk oksiderende agent wat reageer met die organiese en anorganiese materiaal in die verkoelerwater wat sal lei tot chemiese aanvraag, en het 'n afname van 4.0 – 4.5 dpm tot 2.1 dpm na 25 minute aangetoon (Sheldon en Brown, 1986). Beperkte navorsing is ook uitgevoer om die waterabsorbering, verandering in kleur en die rakleef tyd van die karkasse wat onderdompel was in osoon te bepaal. Osoon het 'n beter ontsmettingsaktiwiteit in water as op die karkasse van hoenders. Dit mag te wyte wees aan die feit dat bakterieë op pluimvee karkasse uitsluitlik voorkom op die oop spieroppervlakte en in die veer follikel op die vel (Barnes en Imprey, 1968). Die mikroorganismes in die follikel is weerstandbiedend teen ontsmettingsmiddels.

Tabel 1. Die effek van sanaklor op die mikrobiologiese populasies van hoenderkarkasse.

LOG MIKROBIESE GETALLE (KVE/g)									
	OUTOMATIESE ONTWEIDING						INAKTIVERING		
	Voor			Na			PCA	Kolivorme	Gist
	PCA	Kolivorme	Giste	PCA	Kolivorme	Giste			
Kontrole	-	-	-	5.58	4.29	4.20	-	-	-
25dpm	8.14	-	5.89	7.43	-	5.01	5.15	-	7.48
30dpm	6.91	6.61	5.05	5.98	5.46	4.46	8.53	14.14	3.94
35dpm	7.76	7.74	6.92	7.37	7.39	6.02	2.49	2.25	7.98
	HAND ONTWEIDING						INAKTIVERING		
	Voor			Na			PCA	Kolivorme	Gist
	PCA	Kolivorme	Giste	PCA	Kolivorme	Giste			
25dpm	8.38	-	5.93	7.82	-	5.10	3.62	-	6.77
30dpm	7.43	7.35	5.87	7.01	6.88	5.15	2.62	2.97	5.21
35dpm	8.05	8.23	6.87	7.73	7.73	6.33	2.06	3.17	3.43

Tabel 2 Die effek van Divosan F.G op die mikrobiologiese populasies van hoenderkarkasse.

LOG MIKROBIESE GETALLE (KVE/g)									
	OUTOMATIESE ONTWEIDING						INAKTIVERING		
	Voor			Na			PCA	Kolivorme	Gist
	PCA	Kolivorme	Giste	PCA	Kolivorme	Giste			
Kontrole	-	-	-	5.58	4.29	4.20	-	-	-
1%v/v	7.46	7.52	5.06	5.45	4.74	4.70	103.57	600.00	2.32
0.1v/v	8.02	8.07	6.50	7.58	7.29	5.41	2.74	6.11	15.9
	HAND ONTWEIDING						INAKTIVERING		
	Voor			Na			PCA	Kolivorme	Gist
	PCA	Kolivorme	Giste	PCA	Kolivorme	Giste			
1%v/v	7.65	7.65	5.15	6.45	6.48	3.95	16.07	15.00	15.7
0.1v/v	7.83	7.62	5.60	7.53	7.84	6.79	1.30	0.80	0.07

Tabel 3. Die effek van osoon op die mikrobiologiese populasies van hoenderkarkasse.

LOG MIKROBIESE GETALLE (KVE/g)									
Osoon	AUTOMATIESE ONTWEIDING						INAKTIVERING		
	Voor			Na			PCA	Kolivorme	Gist
	PCA	Kolivorme	Giste	PCA	Kolivorme	Giste			
Kontrole	-	-	-	5.58	4.29	4.20	-		
3g/m ³	6.08	5.38	4.19	6.46	5.03	3.95	0.41	2.26	1.71
6g/m ³	6.08	5.38	4.19	6.28	5.16	3.73	0.63	1.67	2.85
Osoon	HAND ONTWEIDING						INAKTIVERING		
	Voor			Na			PCA	Kolivorme	Gist
	PCA	Kolivorme	Giste	PCA	Kolivorme	Giste			
3g/m ³	6.30	5.30	4.81	6.06	5.28	3.14	1.72	1.05	46.7
6g/m ³	6.30	5.30	4.81	6.23	5.63	4.63	1.17	1.05	1.49

Tabel 4. Die effek van die gebruik van 'n swembad chlorineerder en NaCl op die mikrobiologiese populasies van hoenderkarkasse.

LOG MIKROBIESE GETALLE (KVE/g)									
NaCl	AUTOMATIESE ONTWEIDING						INAKTIVERING		
	Voor			Na			PCA	Kolivorme	Giste
	PCA	Kolivorme	Giste	PCA	Kolivorme	Giste			
Control				5.58	4.29	4.20			
40g/l	8.86	8.34	6.34	7.04	7.94	5.02	66.07	3.07	21.1
NaCl	HAND ONTWEIDING						INAKTIVERING		
	Voor			Na			PCA	Kolivorme	Giste
	PCA	Kolivorme	Giste	PCA	Kolivorme	Giste			
40g/l	9.39	8.78	7.02	7.89	7.90	5.50	31.28	7.59	24.59

Tabel 5. Die effek van chloor dioksied op die mikrobiologiese populasies van hoenderkarkasse.

LOG MIKROBIESE GETALLE (KVE/g)									
ClO ₂	AUTOMATIESE ONTWEIDING						INAKTIVERING		
	Voor			Na			PCA	Kolivorme	Gist
	PCA	Kolivorme	Giste	PCA	Kolivorme	Giste			
Kontrole	-	-	-	5.58	4.29	4.20	-	-	-
3dpm	6.64	6.09	5.62	4.95	4.34	4.17	48.89	56.36	28.0
ClO ₂	HAND ONTWEIDING						INAKTIVERING		
	Voor			Na			PCA	Kolivorme	Gist
	PCA	Kolivorme	Giste	PCA	Kolivorme	Giste			
3dpm	6.65	6.12	5.65	4.79	4.51	4.25	71.40	40.30	25.0

Tabel 6. Die mikrobiologiese populasies geassosieer met die water in die immersie-wentelverkoeler voor en na onderdompeling van die hoenderkarkasse.

LOG MIKROBIESE GETALLE (KVE/ml)						
Sanaklor	WATER ANALISES					
	Voor			Na		
	PCA	Kolivorme	Giste	PCA	Kolivorme	Giste
25ppm	2.54	0.30	0	5.68	4.72	0
30ppm	0	0	0	5.00	4.57	0
35ppm	0	0	0	5.89	4.48	0
Divosan						
1% (v/v)	0	0	0	7.06	0.67	0
0.1% (v/v)	3.67	3.57	0	5.07	4.48	0
Swembad chlorineerder en NaCl						
40g/l NaCl	0.10	0.05	0	0.20	0.24	0
Osoon						
3g/m ³	0	0	0	5.43	3.62	0
6g/m ³	0	0	0	0	0	0
Chloor dioksied						
3 dpm	0	0	0	0	0	0

4.5 VERWYSINGS

- Ayres, J. C. W. S., Ogilvy, W. S. and Stewart, J. (1950) Postmortem changes in the stored meats. In: Microorganisms associated with development of slime on eviscerated cut up poultry. Food Technology 4, 199-220.
- Bremner, A.S. (1977) Poultry meat hygiene and inspection, 1st. Edition. Bailliere Tindall, London.
- Bryan, F. L. (1980) Foodborne disease in the United States associated with meat and poultry. Journal of Food Protection 43, 140 – 150.
- Bryan, F.L. (1980) Poultry and poultry products. In: Microbial ecology of foods, Vol.2, Food Commodities (ICMSF) (Eds. Silliker, J.H., Elliot, R.P., Baird-Parker, A.C., Bryan, F.L., Christian, J.H.B., Clark, D.S., Olson, J.C. and Roberts, T.A.) pp. 410 - 458. New York, Academic Press.
- Bok, H.E., Holzapfel, W.H., Odendaal, E.S. and van der Linde, H.J. (1986) Incidence of foodborne pathogens on retail broilers. International Journal of Food Microbiology 3, 273 - 285.
- Dickinson. J. S. and Anderson M.E. (1992) Microbiological decontamination of food animal carcasses by washing and sanitizing systems. Journal of Food Protection 55, 133 – 140.
- Dodd, C.E.R., Mead, G.C. and Waites, W.M. (1988) Detection of the site of contamination of *Staphylococcus aureus* within the defeathering machinery of a poultry processing plant. Letters in Applied Microbiology 7, 63-66.
- Dykes, G.A., Geornara, I., Papathanasopoulos, M.A. and Von Holy, A. (1994) Plasmid profiles of *Listeria* species associated with poultry processing. Food Microbiology. 11, 519 - 523.
- Geornaras, I, Dykes, G.A. and Von Holy, A. (1994) Microbial populations associated with refrigerated poultry. Suid-Afrikaanse Tydskrif vir Wetenskap 90, 579-582.

- Genigeorgis, C. (1987) The risk of transmission of zoonotic human disease by meat and products. In: Elimination of pathogenic organisms from meat and poultry. (Ed. F. J. M Smulders), Elsevier Amsterdam. New York.
- Gill, C. O. (1986) The control of microbial spoilage in fresh meats. In: Advances in meat research, Meat and poultry microbiology. (Eds. Pearson, A. M. Dutson, T. R.), Macmillan Publishers, New York.
- Grau, F.H. (1986) Microbial ecology of meat and poultry. In: Advances in meat research. Meat and poultry microbiology. (Eds., Pearson, A. M. and Dutson, T. R.) pp. 1 – 47. Macmillan Publishers, New York.
- Harigan, W.F and McCance, M.E. (1966) Laboratory Methods in Microbiology, 3rd Edition, Academic Press, London.
- Hwang, C. and Beuchat, L. R. (1995) Efficacy of selected chemicals for killing pathogenic and spoilage microorganisms on chicken skin. *Journal of Food Protection* 58, 19 – 23.
- Ingram, M. and Simonsen, B. (1980) Meat and meat products. In: Microbial ecology of foods, Vol.2, Food Commodities (ICMSF) (Eds. Silliker, J.H., Elliot, R.P., Baird-Parker, A.C., Bryan, F.L., Christian, J.H.B., Clark, D.S., Olson, J.C. and Roberts, T.A.) pp. 333 - 409. Academic Press, New York.
- Kaufman, V.F., Klose, A.A., Bayne, H.G., Pool. M.F. and Lineweaver, H. (1972) Plant processing of sub-atmospheric steam scalded poultry. *Poultry Science* 51, 1188-1194.
- Lillard, H. S. (1979) Level of chlorine and chlorine dioxide of equivalent bactericidal effect in the poultry processing water. *Journal of Food Science* 44, 1594 – 1597.
- May, K.N. (1961) Skin contamination of broilers during commercial evisceration. *Poultry Science* 40, 531 - 536.
- Mead, G. C. (1994) Microbiological Hazards from Red Meat and Their Control. *British Food Journal* 96, (8), 33 - 36.
- Mead, G. C., Allen, V. M., Burton, E. and Corry, J. E. L. (2000) Microbial cross contamination during air chilling poultry. *British Poultry Science* 41, 158-162.

- Patterson, J.T. (1968) Bacterial flora of chicken carcasses treated with high concentrations of chlorine. *Journal of Applied Bacteriology* 21, 544 - 550.
- Sheldon, B. W. and Brown, A. L. (1986) Efficacy of ozone as a disinfectant for poultry carcasses and chill water. *Journal of Food Science* 51, 305 - 309.
- Skeeles, J.K. (1997) *Staphylococcosis*. In: *Diseases of Poultry*. 10th Edition. (Ed. Calnek, B.W.) pp. 247-253. Iowa State University Press, New York.
- Thiessen, G.P., Osborne, W.R. and Orr, H.L. (1984) The efficiency of chlorine dioxide in disinfecting poultry carcasses. *Poultry Science* 63, 647-653.
- Thomas, J. C., Thomas, A., McMeekin, A. and Patterson J. T. (1987) Prevention of microbial contamination in the poultry processing plant. In: *Elimination of pathogenic organisms from meat and poultry*. (Ed. F. J. M Smulders), Elsevier Amsterdam, New York.
- Thomson, J. E., Whitehead, W. K. and Mercuri, A. J. (1974) Chilling poultry meat- A literature review. *Poultry Science* 53, 1268-1281.
- Todd, E. C. D. (1980) Poultry-associated foodborne disease-its occurrence, cost source and prevention. *Journal of Food Protection* 43, 129 - 139.
- Tsai, L., Schade, J. E. and Molyneux, B. T. (1992) Chlorination of poultry chiller water: chlorine demand and disaffection efficiency. *Poultry Science* 71, 188 - 196.
- Veerkamp, C. H. (1981) Evaporative air chilling of sub scalds poultry an alternative for immersion chilling. *Poultry International* 20, 16 - 20.
- Williams, J.N. (1978) Avian salmonellosis. Introduction. In: *Diseases of poultry*. Seventh Edition (Eds Hofstard, M. S., Calnek, B. W., Helmboldt, C. F., Reid, W. M. and Yoder, Jr, H. W.) pp. 79 -80. Iowa State University Press, IOWA, USA.

HOOFSTUK 5

ALGEMENE BESPREKING EN GEVOLGTREKKING

In vorige studies is bakteriese populasies sowel as gispopulasies geassosieer met vars en gevriesde bederfbare hoender beskryf. Die verskillende mikrobiologiese populasies is gekwantifiseer en geïdentifiseer. Hoë getalle giste is waargeneem op bederfde sowel as vars hoenderkarkasse met log getalle van 5.14 en 3.13 kve/g onderskeidelik. Met die oog op uitbreiding van die taksonomiese ondersoek, is die giste wat natuurlik voorkom in die tracheas van braaikuike gekwantifiseer en geïdentifiseer. Hierdie giste kan verantwoordelik wees vir kontaminasie van die vleis en kan ook bydrae tot orale infeksie by hoenders wat aanleiding kan gee tot verswakte groei van kuike sowel as ander siektes.

Maksimum bakteriese tellings (8.25×10^9 kve/g) is waargeneem tydens die derde week na uitbroeiing van die kuike terwyl die gispopulasie 'n maksimum getal van 2.98×10^5 kve/g bereik het by 5 week oue kuike. Ten spyte van die oorgrote teenwoordigheid van bakteriese ladings, toon die toename van die giste dat hulle ook bydrae tot die algehele mikrobiologiese ekologie en daarom ook tot die bederf

Geen giste is waargeneem in kuike direk na uitbroeiing sowel as binne die eerste week nie. Die giste bereik eers waarneembare getalle na twee weke met *Debaryomyces hansenii* wat dan ook die enigste gisspesies teenwoordig was. In die derde week na uitbroeiing bly die gisgetalle stabiel alhoewel daar heelwat meer diversiteit onder die gisspesies wat geïsoleer is waargeneem kon word. *D. hansenii* bly dominerend tydens hierdie groeistadium (87.6%), maar lae getalle van onder meer *Debaryomyces vanrijae*, *Rhodotorula mucilaginosa* en *Torulaspora delbrueckii* is ook waargeneem. Vyf verskillende gisspesies is geïsoleer vanaf vier weke oue kuike en die dominante spesies verteenwoordigend van *Candida blankii* wat 96.6 % van die totale gispopulasie verteenwoordig. Maksimale gisgetalle is waargeneem tydens die vyfde week na uitbroeiing en getalle van meer as 10^5 kve/g is waargeneem. *D. hansenii* (63.08%) en *Torulaspora delbrueckii* (30.18%) was die dominante spesies

teenwoordig. In die laaste week net voor slagting, het isolate van *D. hansenii* (36.75%) en *Trichosporon beigelii* (49.57%) oorheers. Met die data beskikbaar was dit belangrik om te weet of die giste geisoleer tydens die opgroei van die hoenders ook teenwoordig is op die karkasse van hoenders na slagting. Derhalwe is die studie uitgebrei en die teenwoordigheid van giste ondersoek in 'n hoenderslagpale.

Tydens die prosessering van hoenderkarkasse in die slagpale, word verskeie stadia gevind waar verhoogde kruiskontaminasie plaasvind, soos tydens ontvering, ontweiding en in die immersie-wentelverkoelingsbad. Om die rede is al die moontlike kontaminerende prosesse ondersoek vir die teenwoordigheid van giste asook tydens bevriesing. Ander moontlike bronne van kontaminasie wat omgewingsfaktore soos die toerusting, water en lug is ook ondersoek.

Debaryomyces spesies het gedomineer op die karkasse na verkoeling en bevriesing terwyl *Cryptococcus* spesies gedomineer het voor verkoeling. *Candida fennica* het gedomineer op karkasse na ontweiding en hoë getalle het ook voorgekom op die bevrore stukke hoender. *Trichosporon cutaneum* (*T. beigelii*), algemeen geassosieer met pluimvee kontaminasie, het in die middagskof teen hoë getalle voorgekom na ontvering terwyl slegs enkele spesies in die laat-oggendskof voorgekom het op die heel bevrore hoenderkarkasse. Die spesies is ook gereeld geisoleer vanaf die water en toerusting. Interessant gevind is die hoë voorkoms van *Pichia anomala* na ontweiding. Die spesies het wel voorgekom tydens die oggend en laat-oggendskof, maar teen 'n lae voorkoms, asook in die watermonsters.

Tydens al die monsternemings, is 'n verhoogde tendens in die totale gistellings gevind na verkoeling wat aanhou tot met die bevriesing van die karkasse. In teenstelling is 'n verlaging in die getalle van bakteriese populasies opgemerk na verkoeling en tydens bevriesing. Dit dui daarop dat die onderdomping van karkasse in die immersie-verkoeler en die behandeling met chloor nie 'n

genoegsame inhiberende uitwerking op die oorlewing van giste het nie. Die giste kan dus na verkoeling as sekondêre kontaminerende organismes ontwikkel weens die inhiberende effek van verkoeling, en die chloor in die verkoelingsbad op die bakterieë. Die hoë getalle giste tydens die bevriesing van hoenders dui daarop dat giste 'n belangrike deel uitmaak van die totale mikroflora op hoenderkarkasse en die getalle kan moontlik aanleiding gee tot bederf.

Dieselfde tipes van giste, met die uitsondering van 'n paar verskillende spesies, kom voor tydens die verskillende tye (oggend, laat-oggend, middag) van monsterneming wat ook grootliks ooreenstem met die giste geïsoleer in die tracheas van die lewende hoenders. Op dieselfde wyse kom die giste wat hoofsaaklik geïsoleer is tydens monsterneming van die omgewing wat die toerusting, water en lug insluit, ook voor op die hoenderkarkasse. Dit wil dus daarop dui dat die oorgrote meerderheid van giskontaminasie ontwikkel vanaf die onmiddellike omgewing in die slagpale, maar spesies soos *Debaryomyces hansenii* kom ook voor in hoë getalle op die lewende hoender. Weens die ontwikkeling van gisgetalle tydens prosessering en veral na bevriesing, sal intensiewe beplanning vir die voorkoming van giskontaminasie in die slagpale ondersoek moet word.

Aangesien die immersie-wentelverkoeler verantwoordelik is vir die grootste inhibisie van mikrobiële getalle weens die lae temperatuur en die byvoeging van ontsmettingsmiddels soos chloor; is verskillende ontsmettingsmiddels se effektiwiteit op die oorlewing van giste, bakterieë en patogene ge-evalueer. Resultate het getoon dat die totale aerobiese mikrobiële tellings vir verkoelde water en verkoelde karkasse betekenisvol laer is wanneer die verkoelde water behandel is met enige van die ontsmettingsmiddels.

Geen van die ontsmettingsmiddels was egter in staat tot die totale inhibering van die patogeniese spesies van *Salmonella* en *Staphylococcus*, met die uitsondering van Bioxide wat die *Salmonella* spesies totaal geïnhibeer het.

Hierdie organismes het positief getoets in al die ander gevalle voor en na behandeling met ontsmettingsmiddels. Bioxide het ook 'n betekenisvolle verlaging in die getalle van giste en *Staphylococcus* sp. veroorsaak. Geen *Listeria* isolate is geïsoleer gedurende hierdie studie.

Die ontweiding van hoenderkarkasse met die hand het hoër voor-verkoeling tellings van die totale bakteriese tellings getoon in vergelyking met die outomatiese ontweiding met die verskil wat wissel tussen 0.19 tot 0.54 log kve/g. Die kolivorme wat aanvanklik voorgekom het op hoenders wat hand ontwei is, het ook aansienlike hoër tellings getoon (0.13 tot 0.74 log kve/g). Die isolasie van giste van voor-verkoeling in die immersie-wentelverkoeler het geen beduidende verskil in tellings tussen die ingewande met die hand of outomatiese verwydering daarvan getoon nie.

Die data verkry in hierdie studie het aangetoon dat die gebruik van chloor dioksied oor die algemeen gelei het tot die beste doding van patogene, giste en bakteriese ladings. Lewende mikrobiologiese tellings van die giste, bakterieë en kolivorme het in al die gevalle met ten minste meer as een log eenheid gedaal. Verder was die gebruik van die produk die enigste verantwoordelik vir die totale doding van *Salmonella* species. Behalwe vir die betekenisvolle dodingseffek van mikrobiologiese populasies op die hoenderkarkasse, het die byvoeging van chloor dioksied tot die water in die immersie-wentelverkoeler voor byvoeging en na onderdompeling van hoenderkarkasse tot die totale doding van alle mikroorganismes gelei.

HOOFSTUK 6

OPSOMMING

Die verhoging in die plasing van die aantal hoenders per oppervlakte verhouding in moderne pluimvee boerdery praktyke, skep 'n klimaat waar mikrobiëse groei (insluitend patogeniese mikroorganismes) gestimuleer word. Die stimulering van mikroorganismes word veral opgemerk in respiratories geassosieerde vrektes in groeihokke. Op grond van die verhoging in vrektes van jong kuikens is daar gekyk na die mikrobiëse populasies teenwoordig in die tracheas van groeihok kuikens met spesiale karakterisering van die gis populasies teenwoordig.

Die data het aangetoon dat die tracheas van jong braikuikens hoofsaaklik besmet word deur die teenwoordigheid van gis spesies. Ten spyte van lae populasies in die eerste weke na uitbroeiing, ontwikkel die gispopulasies vinnig tot essensieel 'n klimaks populasie tydens die vierde week in die groeihokke. Die karakterisering van die gispopulasies het daarop gedui dat die belangrikste spesies blyk as volg te wees: *Debaryomyces hansenii*, *Candida blankii*, *Torulaspota delbrueckii* en *Trichosporon beigeli*.

Omdat giste ook 'n belangrike bydrae maak tot die bederf van hoenderkarkasse, en deel uitmaak van die normale mikrobiologiese populasie teenwoordig op die eetbare hoenderkarkasse en hoenderstukke, is die voorkoms van hierdie flora verder deur die prosesseringsaanleg gevolg. Alhoewel giste proporsioneel in kleiner getalle voorkom as bakterieë, kan die giste as sekondêre populasie ontwikkel wanneer die bakteriese populasie geïnhibeer word soos gevind nadat die karkasse onderdompel is in chloorbevattende immersie-wentelverkoelings baddens tydens prosessering. *Cryptococcus* en *Candida* spesies domineer voor verkoeling van die karkasse tydens ontvering en ontweiding terwyl *Debaryomyces* spesies oorheers na verkoeling en tydens beviessing. Die data dui verder daarop dat die implementasie van chloor as ontsmettingsmiddel tydens verkoeling geen invloed gehad het op die voorkoms van die gisspesies nie. Die bronne van giskontaminasie in die onmiddellike omgewing van die slagpale het dieselfde tipes van giste opgelewer as gevind op die karkasse.

Weens die abnormale hoë getalle giste gevind op die karkasse, en die beperkte invloed van die ontsmettingsmiddels tydens verkoeling op die getalle van giste is verskillende bruikbare ontsmettingsmiddels in die immersie-wentelverkoelings bad ondersoek. Goeie inhiberende en dodings resultate is verkry met behulp van meeste van die produkte. Slegs chloor dioksied het egter 'n genoegsame dodingseffek gehad op *Salmonella* spesies en 'n betekenisvolle inhibering van gisgetalle.