نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ٦٦، شماره ١، بهار ١٣٩٢
٢٧

تاریخ دریافت: ١٣٩١/١١/٢٠
تاریخ پذیرش: ١٣٩٢/٥/٢٩

بررسی تأثیر پرتودهی با اشعهٔ گاما بر بار میکروبی فیلهٔ ماهی کفال طلایی (Liza aurata) طی دورهٔ نگهداری در یخچال (٤ C°+)

سیدولی حسینی *؛ گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران
علی طاهری؛ گروه شیلات دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار
امین اوجی‌فرد؛ گروه شیلات دانشگاه خلیج فارس

چکیده

ماهی کفال طلایی (Liza aurata) از جمله ماهیان با ارزش غذایی و اقتصادی دریای خزر است که در استانهای شمالی ایران به مقدار زیاد صید می‌شود، اما همانند سایر ماهیان در برابر عوامل فساد، به‌ویژه فساد باکتریایی، آسیب‌پذیر است. در این پژوهش کارایی تکنیک پرتودهی با اشعهٔ گاما، به‌منزلهٔ یکی از روشهای غیر حرارتی فرآوری آبزیان، در کاهش بار باکتریایی و افزایش مدت ماندگاری فیلهٔ ماهی کفال طلایی طی ٣٥ روز نگهداری در یخچال (٤ C°+) بررسی می‌شود. نمونه‌ها با دُزهای مختلف اشعهٔ گاما (دُزهای ٠ (شاهد)، ١، ٢، ٣، و ٥ کیلوگری) پرتودهی شدند و سپس، طی ٣٥ روز نگهداری در یخچال و در فواصل زمانی (تازه) ١، ٥، ١٠، ١٥، ٢٠، ٢٥، ٣٠، و ٣٥ روز مورد آزمایش‌های میکروبی (شامل اندازه‌گیری بار باکتریایی کل، سودوموناس‌ها، باکتری‌های تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک، باکتریهای تولیدکنندهٔ گاز H_2S، و انتروباکتریاسه) قرار گرفتند. نتایج آنالیز عوامل میکروبی گوناگون نشان داد که فیلهٔ ماهی کفال طلایی بدون مواجهه با اشعهٔ گاما (شاهد) به مدت ١٠ روز قابلیت مصرف دارد، اما زمانی که در معرض اشعهٔ گاما قرار گیرد، قابلیت ماندگاری آن برای مصرف‌کنندگان افزایش می‌یابد ($P<0,05$) که میزان آن به شدت دُز به‌کار رفته بستگی دارد. نتایج نشان داد که از بین دُزهای مورد استفاده دُز ٣ کیلوگری برای کاهش بار باکتریایی و افزایش مدت نگهداری فیلهٔ ماهی کفال طلایی در دمای یخچال بهترین نتیجه را به‌دنبال داشته است و بنابراین، استفاده از آن برای حصول به منظور فوق در فیلهٔ ماهی کفال طلایی در شرایط یخچال پیشنهاد می‌شود

واژگان کلیدی: ماهی کفال طلایی، اشعهٔ گاما، کیفیت میکروبی، مدت ماندگاری.

* نویسنده مسئول تلفن: ٠٢٦ ٣٢٢٢٣٠٤٤
E. mail: hosseinisv@ut.ac.ir

۱. مقدمه

ماهیان به علت دارابودن چربی‌های غیر اشباع (polyunsaturated fatty acid) زیاد اما کلسترول کم (۱)، پروتئین‌هایی با ارزش غذایی بالا، مقدار کم چربی‌های اشباع (saturated fatty acid) و کلسترول، و همچنین مقادیر درخور ملاحظهٔ ویتامین و مواد معدنی اهمیت بسیار زیادی در رژیم غذایی انسان دارند (۲). از همین‌رو، در دهه‌های اخیر به سبب رویکرد عمومی به مصرف غذاهای حاصل از منابع آبزی و در پی آشکارشدن اهمیت طبی و نقش آنها در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماریهای صعبالعلاج و همچنین، به علت افزایش جمعیت مصرف آبزیان در حال افزایش است؛ با وجود این، در صورت نگهداری نامناسب کیفیت و ارزش غذایی گوشت آنها به‌سرعت کاهش می‌یابد (۳، ٤، ٥).
طی دورهٔ نگهداری ماهیان تغییرات نامطلوبی در کیفیت پروتئین‌ها و اسیدهای چرب آنها بروز می‌کند. به منظور کنترل یا کاهش این تغییرات از روشهای مختلفی استفاده می‌شود که از رایج‌ترین آنها می‌توان به تکنیک سردکردن (chilling) (٦) و انجمادکردن (freezing) (۷) اشاره کرد، اما این روشها به‌تنهایی نمی‌توانند مانع از فساد میکروبی یا شیمیایی شوند (۸). بنابراین، به منظور حفظ کیفیت مطلوب و افزایش مدت ماندگاری (shelf-life) از تکنیک‌های کمکی استفاده می‌شود که کاربرد نگهدارنده‌های مصنوعی (مانند کاربرد بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن به‌عنوان آنتی‌اکسیدان) یکی از این روشهاست (۹، ۱۰)، اما مطالعات نشان داد که تأثیرات مضر استفاده از چنین ترکیباتی بیشتر از تأثیرات مفید آنهاست. از همین‌رو، در دههٔ اخیر توجه متخصصین به کاربرد تکنیک‌های کمکیِ ایمن مانند پرتودهی (۱۱، ۱۲) برای حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری ماهیان معطوف شده است.

پرتودهی در واقع یک روش فیزیکی فرآوری مواد غذایی است که به معنی در معرض اشعهٔ یونیزه قراردادن مادهٔ غذایی در محدودهٔ زمانی مشخص، به منظور افزایش مدت ماندگاری و بهبود ایمنی میکروبی محصول است (۱۳). پرتوهایی که برای حذف میکروارگانیسمها استفاده می‌شوند طول موج پایینی دارند، زیرا چنین پرتوهایی با طول موج کمتر اثر تخریبی بیشتری بر میکروارگانیسمها دارند. پرتودهی با اشعهٔ گاما یک روش عالی برای کاهش و یا ازبینبردن باکتریهای ایجادکنندهٔ فساد مواد غذایی و همچنین باکتریهای بیماریزای موجود در غذاست (١٤). در سال ۱۹۸۰ سازمان FAO و WHO و آژانس بین‌المللی انرژی اتمی اعلام کردند که پرتودهی هر مادهٔ غذایی حداکثر تا میزان ۱۰ کیلوگری مجاز و عاری از هر گونه خطر توکسیکولوژیک برای مصرف‌کننده خواهد بود (۱۵).

با توجه به تغییرات کیفی محصولات شیلاتی در اثر فعالیت میکروارگانیسم‌ها در نگهداری به روش سرد و همچنین مشکلات استفاده از نگهدارنده‌های مصنوعی، بررسی امکان استفاده از تکنیک‌های تکمیلی نظیر پرتودهی آنها با اشعهٔ گاما به دلیل تأثیر اشعه‌های یونیزه‌کننده در جمعیت میکروارگانیسمهای موجود در محصولات شیلاتی ضرورت می‌یابد. به این ترتیب، با توجه به ارزش غذایی و اقتصادی بالای کفال طلایی و همچنین میزان صید بالای آن (١٦)، گونهٔ مذکور مورد مطالعه قرار گرفت و تأثیرات کاربرد پرتودهی با دُزهای مختلف اشعهٔ گاما بر خصوصیات میکروبی آن طی دورهٔ نگهداری در شرایط سرد (C° ١±٤) ارزیابی شد.

۲. مواد و روشها

۱.۲. تهیه و آماده‌سازی ماهی

ماهیان کفال طلایی مورد نیاز از ایستگاه صیادی پرهٔ خرّم شهرستان محمودآباد به صورت زنده تهیه شدند. انتخاب ماهیان به صورت تصادفی و از بین ماهیان صیدشدهٔ هم‌اندازه و سالم (میانگین وزن ۲۲ ± ٥٦٠ گرم) صورت گرفت. ماهیان پس از شست‌وشو با آب شیرین درون جعبه‌های یونولیت حاوی یخ (نسبت ۳ به ۱ از یخ و ماهی) قرار گرفتند و آن‌گاه به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه ماهیان پس از تخلیهٔ شکمی، سرزنی، و فیلهکردن مجدداً شست‌وشو شدند و سپس با

دستگاه وکیوم (vacuum sealer, Bad BOSS N٤٨ Hamburg, Germany) به صورت خلأ بسته‌بندی و آن‌گاه برای پرتودهی به سازمان انرژی اتمی ایران منتقل شدند.

۲.۲. پرتودهی

به منظور بررسی اثر دُزهای مختلف بر بار میکروبی فیلهٔ ماهی کفال طلایی، نمونه‌ها به پنج گروه (دسته) تقسیم شدند و آن‌گاه همهٔ نمونه‌ها (به‌جز نمونهٔ شاهد) با دستگاه گاماسل ۲۲۰ (Point source AECL, IR-۷۹, MDS Nordion International Co. Ltd., Ottawa, Ontario, Canada) در دُزهای ۰ (شاهد)، ۱، ۲، ۳، و ۵ کیلوگری پرتودهی شدند (منبع پرتودهی کبالت ٦٠ و شدت دُز (dose rate) دستگاه در زمان انجام‌دادن آزمایش برابر ۰/۳۹۲ گری بر ثانیه بود). بعد از پرتودهی، نمونهها به آزمایشگاه منتقل و در یخچال (آزمایش، ایران) در دمای چهار درجهٔ سانتیگراد به مدت ۳۵ روز نگهداری شدند. در طی دورهٔ نگهداری، نمونه‌های مربوط به هر تیمار در فواصل زمانی (تازه) ۱، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، و ۳۵ روز به‌طور تصادفی انتخاب شدند و آزمایشات میکروبی (شامل اندازه‌گیری بار باکتریایی کل، سودوموناس‌ها، باکتریهای تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک، باکتریهای تولیدکنندهٔ گاز H_2S، و انتروباکتریاسه) بر روی آنها انجام شد.

۳.۲. آزمایش‌های میکروبی

۱.۳.۲. آمادهسازی نمونه و تهیهٔ محیط کشت

با توجه به روش استاندارد آمادهسازی نمونه برای آزمایش‌های میکروبی (۱۷)، با استفاده از پنس و چاقوی استریل، از هر فیله مقدار ۲۵ گرم نمونه برداشته شد و آن‌گاه ۲۲۵ میلیلیتر سرم فیزیولوژیک استریلشدهٔ سرد (دمای تقریبی ٤ درجهٔ سانتیگراد) به آن افزوده و کاملاً هموژن شد (به مدت ۲ دقیقه). سپس نمونهها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند تا عمل احیاء resuscitation در آنها انجام شود. بعد از آمادهسازی نمونهها و به منظور تهیهٔ رقتهای مختلف، از نمونههای مورد نظر با استفاده از سمپلر مقدار ۱ میلیلیتر برداشته شد و به لولهٔ آزمایش حاوی ۹ میلیلیتر سرم فیزیولوژیک استریلشدهٔ سرد منتقل و هموژن شد تا رقت ۰/۱ به‌دست آید (سایر رقت‌های مورد نیاز به همین طریق تهیه شد). در این آزمایش برای اندازه‌گیری بار باکتریایی کل، سودوموناسها، باکتریهای تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک، باکتری‌های تولیدکنندهٔ گاز H_2S، و انتروباکتریاسه به‌ترتیب از محیط کشت‌های plate count agar (حاوی کازئین، پپتون، دکستروز، مخمر آگار؛ (مِرک، شمارهٔ: ۱/۰٥٤٦۳)، آلمان) و pseudomonas agar base،deMan Rogosa Sharpe agar ، peptone violet red bile glucose agar و iron agar(اکسید، انگلیس) استفاده شد. برحسب دستورالعمل ارائه‌شده از سوی کارخانهٔ سازنده در خصوص تهیهٔ هر یک از محیط کشت‌ها، محیط کشت‌های مورد نظر آماده و تا زمان استفاده در حمام آبی با دمای متوسط ٤٥ درجهٔ سانتیگراد نگهداری شدند.

۲.۳.۲. روش انجام‌دادن آزمون میکروبی

برای سنجش میزان هر یک از گروه‌های باکتریایی مورد اشاره در فوق از روش کشت پور پلیت استفاده شد. برای اندازه‌گیری بار باکتریایی کل و سودوموناسها در نمونه‌ها، پلیتها به ترتیب در دمای ۳۰ و ۲۵ درجهٔ سانتیگراد به مدت ٤٨ ساعت در گرمخانه‌گذاری (انکوباتور) نگهداری و سپس، تعداد کلونی‌های موجود در پلیتهای مذکور شمارش شدند. در خصوص باکتری‌های تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک نیز پس از آماده‌سازی پلیتها، از دمای ۳۰ درجهٔ سانتیگراد به مدت ٤٨ – ۷۲ روز به منظور انکوباسیون آنها استفاده شد و آن‌گاه تعداد کلونی‌های تشکیل‌شده شمارش شد. برای بررسی باکتری‌های انتروباکتریاسه، پلیتها در دمای ۳۷ درجهٔ سانتیگراد به مدت ۲٤ ساعت قرار داده شدند و آن‌گاه کلونیهای بزرگ با هالههای بنفش شمارش شدند. برای اندازه‌گیری میزان باکتریهای تولیدکنندهٔ سولفید هیدروژن، نمونه در محیط کشت iron agar peptone کشت داده شد و سپس پلیتها در دمای ۲۰ درجهٔ سانتیگراد به مدت ۳ روز درون جار بی‌هوازی

که حاوی گاز پک A (مِرک، شمارهٔ: ۱/۱۳۸۲۹) بودند انکوبه شدند و آن‌گاه کلونیهای سیاه تولیدشده شمارش شدند (۱۸). نتایج بر حسب log CFU در هر گرم از فیله گزارش شد.

٤.۲. آنالیز آماری

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نخست نرمال‌بودن داده‌ها با آزمون کولوموگراف ـ اسمیرنوف (Kolomogorov–Smirnov) و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون (Leven) بررسی شد. پس از اینکه از نرمال‌بودن داده‌ها و یکسانی واریانس‌ها اطمینان حاصل شد، برای مقایسهٔ میانگین داده‌ها از تجزیهٔ واریانس یک‌طرفه (ANOVA)، استفاده شد. برای تعیین وجود یا وجودنداشتن اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در صورت همگنی واریانس‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. برای پردازش داده‌ها از نرم‌افزار Excel و برای آنالیز واریانس و مقایسهٔ میانگین‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۱۵ استفاده شد.

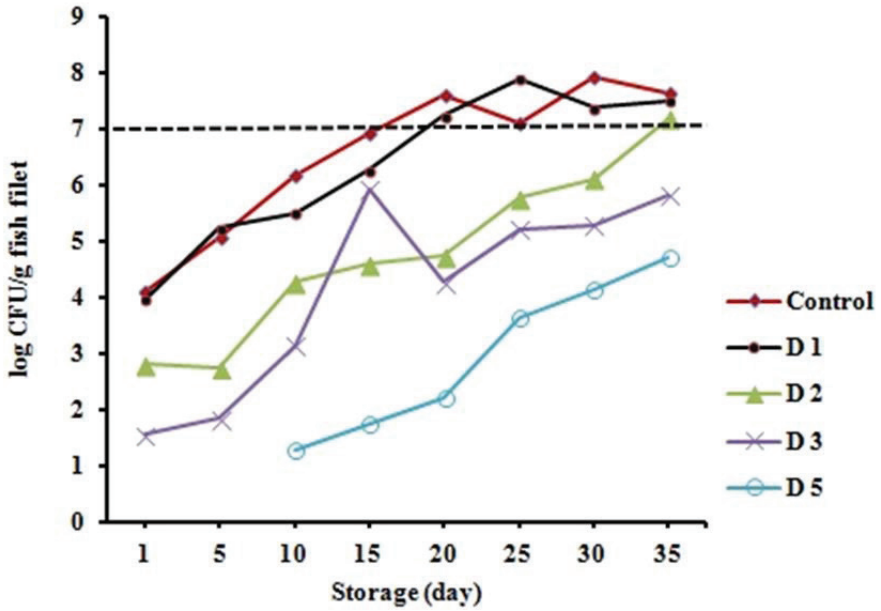
۳. نتایج و بحث

به‌طور کلی فساد در ماهیانی که هیچگونه عملیات حفاظتی خاصی بر آنها انجام نگرفته است، در اثر رشد و فعالیت گروه‌های خاصی از میکروارگانیسم‌ها موسوم به ارگانیزمهای اختصاصی عامل فساد (SSOs: specific spoilage organisms) ایجاد می‌شود. این گروه از میکروارگانیسم‌ها با تولید متابولیت‌هایی موجب طعم و بوی نامطلوب در ماهی می‌شوند و درنهایت نپذیرفتن آن از جانب مصرف‌کننده را موجب می‌شوند (۱۹، ۲۰)، اما گونه‌هایی که SSOها را در ماهیان تشکیل می‌دهند بسیار متفاوت‌اند. به نظر محققان ترکیب گونه‌هایی که SSOها را در ماهیان تشکیل می‌دهند به مواردی مانند: گونه، محل زیست، روش صید، نوع فرآوردهٔ تولیدی، و همچنین شرایط آب و هوایی و شیوهٔ نگهداری ماهی بستگی دارند (۲۰)؛ با وجود این، سودوموناس‌ها، باکتری‌های تولیدکنندهٔ گاز H_2S ، و تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک معمولاً بیش از سایر باکتری‌ها در ماهیان وجود دارند و باعث فساد در آنها می‌شوند. از طرف دیگر، وجود باکتری‌های گرم مثبت از جمله انتروباکتریاسه نیز در ماهیان به کرّار گزارش شده‌اند. تحقیقات نشان می‌دهد در ماهیانی که هیچگونه عملیات حفاظتی بر روی آنها انجام نشده است، اندازه‌گیری میزان SSOها در مقایسه با بار باکتریایی کل بهتر است، چراکه SSO ها همبستگی بالاتری با مدت ماندگاری ماهی دارند و شاخص بهتری در خصوص بیان قابلیت ماندگاری ماهی در طی دورهٔ نگهداری‌اند (۱۹).

۱.۳. بار باکتریایی کل

مقادیر بار باکتریایی کل در فیله‌های ماهی کفال طلایی نگهداری‌شده در شرایط یخچال در نمودار ۱ آمده است. مقدار بار باکتریایی کل در نمونه‌های شاهد در روز اول نگهداری (شروع آزمایش) برابر ۳/۱۷ log CFU در هر گرم از فیله بود که نشاندهندهٔ آن است که ماهی صیدشده و همچنین عملیات مربوط به آماده‌سازی فیله و دستکاریهای متعاقب آن در شرایط مناسب از نظر بهداشتی انجام گرفته است. با افزایش زمان نگهداری میزان بار باکتریایی کل نیز افزایش یافت ($P<۰,۰۵$) که سرعت افزایش آن در نیمهٔ اول دورهٔ نگهداری بیشتر بود. همچنین نتایج مقایسهٔ میانگین بار باکتریایی بین زمانهای مختلف، نشاندهندهٔ اختلاف معنیدار ($P<۰,۰۵$) در طی دورهٔ نگهداری بود. در نمونه‌های شاهد بین روزهای ۱۰ – ۱۵ نگهداری، میزان بار باکتریایی کل از حد مجاز برای مصارف انسانی یعنی ۷ log CFU در هر گرم از گوشت ماهی (۲۱) گذشته است که، با توجه به ملحوظداشتن تأمین حداکثر ایمنی بهداشتی برای مصرف‌کنندگان، روز دهم نگهداری به‌منزلهٔ روزهای ایمن قابل مصرف فیلهٔ ماهی کفال طلایی درنظر گرفته می‌شود. Bahmani و همکاران (۲۰۱۱) و Hosseini و همکاران (۲۰۰۳) مدت ماندگاری ماهی کفال طلایی (بدون تخلیهٔ شکمی) را در یخ ۱۰ روز تعیین کرده‌اند (۲۲، ۲۳). هر چند توقع بر این است که دستکاریها و لوازم مورد استفاده در تهیهٔ فیله‌کردن ماهی منجر به افزایش بار آلودگی و درنهایت کاهش مدت زمان قابل استفادهٔ آنها برای انسانها شود،

اما با توجه به روش بسته‌بندی در خلأ شرایط برای رشد بسیاری از میکروارگانیسم‌های هوازی نامطلوب می‌شود؛ بنابراین، کمتربودن بار میکروبی در نمونه‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر در مقایسه با نتایج محققان برشمرده احتمالاً می‌تواند به سبب کاهش جمعیت باکتری‌های هوازی مربوط باشد.

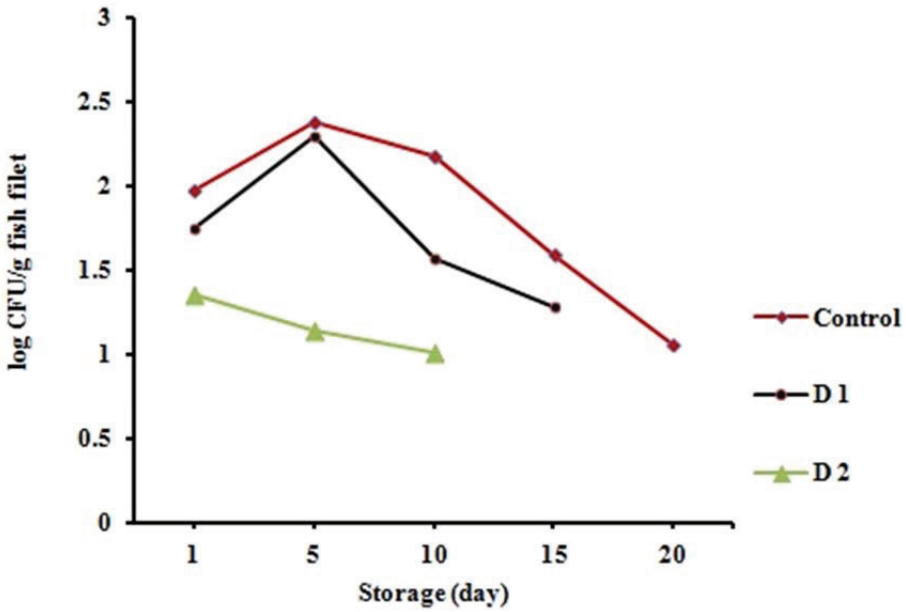


نمودار ۱. تغییرات بار باکتریایی کل در فیلهٔ ماهی کفال طلایی (Liza aurata) پرتودهی‌شده با دُزهای مختلف اشعهٔ گاما طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ٤ درجهٔ سانتیگراد (شاهد=Control؛ D۱، D۲، D۳، و D۵ به‌ترتیب دُزهای ۱، ۲، ۳، و ۵ کیلوگری هستند. مقادیر کمتر از یک در نمودار صرفنظر شده‌اند. روابط آماری و علامت انحراف معیار نشان داده نشده است. علامت خطچین حد مجاز بار باکتریایی کل (۲۱) را نشان می‌دهد).

آنالیزهای آماری نشان دادند که هر چند میزان و روند افزایش بار باکتریایی کل در نمونه‌هایی که در معرض دُز ۱ کیلوگری اشعه قرار گرفته‌اند با نمونه‌های شاهد فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بوده‌اند، اما فیله‌ها تا روز پانزدهم نگهداری قابل مصرف تشخیص داده شده‌اند؛ از طرف دیگر، بی‌تأثیریِ معنی‌دار دُز ۱ کیلوگری اشعهٔ گاما بر جمعیت باکتریایی نشاندهندهٔ کافی‌نبودن کارایی دُز مذکور در ازبین‌بردن مقدار درخور توجه میکروارگانیسمهای موجود در فیلهٔ ماهی کفال طلایی است، اما پرتودهی با دزهای بالاتر از ۱ کیلوگری باعث شد که بار باکتریایی کل در مقایسه با نمونه‌های شاهد کمتر شود (P<۰,۰۵). به‌طوری که، برای فیله‌هایی که در معرض دُز ۲ کیلوگری اشعه قرار گرفته‌اند، تنها در روزهای آخر نگهداری از حد مجاز برای مصارف انسانی گذشته‌اند، اما برای دُزهای ۳ و ۵ کیلوگری تا انتهای دورهٔ نگهداری، نمونه‌ها از منظر بار باکتریایی کل در حد مجاز بوده‌اند. در تحقیق حاضر همزمان با افزایش دُزهای مورد استفاده میزان بار باکتریایی نیز بیشتر کاهش یافت (P<۰,۰۵). نتایج مشابهی از پژوهش Moini و همکاران (۲۰۰۹) بر فیلهٔ ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Oncorhynchus mykiss)، El-Mongy و همکاران (۱۹۹٦) بر تیلاپیا (Tilapia nilotica) و Jeevanandam و همکاران (۲۰۰۱) در ماهی سیم باله نخی (Nemipterus japonicus) گزارش شد (۱۱، ۲٤، ۲۵).

۲.۳. سودوموناس

نمودار ۲ تغییرات باکتری‌های سودوموناس را در فیلهٔ کفال طلایی مواجه‌شده با دُزهای مختلف اشعهٔ گاما نشان می‌دهد. همان‌طوری که، نتایج نشان می‌دهد بالاترین جمعیت سودوموناس‌ها در نمونه‌های شاهد و در روز پنجم نگهداری (۲/۳۷٤ ±۰/۵۱ log CFU در هر گرم از فیله) مشاهده شد. با افزایش زمان نگهداری کاهش معنی‌داری در جمعیت سودوموناس‌ها مشاهده شد؛ به‌طوری که، بعد از روز بیستم اندازه‌گیری هیچگونه سودوموناسی مشاهده نشد. نظر به آنکه سودوموناس‌ها جزء باکتری‌های هوازی اجباری‌اند، بنابراین پایین‌بودن جمعیت آنها و کاهش آنها در طی دورهٔ نگهداری در نمونه‌های شاهد می‌تواند به فقدان اکسیژن در بسته‌ها مربوط باشد. از طرف دیگر، پرتودهی با اشعهٔ گاما تأثیر معنی‌داری در جمعیت باکتری‌های سودوموناس گذاشته است ($P<0,05$). به‌طوری که در دُزهای ۳ و ۵ کیلوگری هیچگونه سودوموناسی مشاهده نشد. نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های محققان دیگر از جمله Moini و همکاران (۲۰۰۹) و El–Mongy و همکاران (۱۹۹٦) همخوانی دارد (۱۱، ۱٤). هر چند که سودوموناس‌ها در بسیاری از ماهیان از جمله: آزادماهی اقیانوس آرام (Onchorhynchus nerka) و اطلس (Salmo salar)، باس دریایی (Dicentrarchus labrax) (۲٦)، و قزل‌آلای رنگین‌کمان (۲۷) به‌منزلهٔ SSOها شناخته شده‌اند، اما نتایج تحقیق حاضر نشان داد که آنها، در مقایسه با بار باکتریایی کل، نقش ضعیف‌تری در فساد فیلهٔ ماهی کفال طلایی پرتودهی‌شده و بسته‌بندی‌شده در خلأ دارند و درواقع می‌توان نتیجه‌گیری کرد که سودوموناس‌ها باکتری اختصاصی فاسدکنندهٔ ماهیان کفال پرتودهی‌شده و بسته‌بندی‌شده در خلأ نبوده‌اند و برای بررسی کیفیت بهداشتی چنین ماهیانی شاخص مناسبی نیستند. به‌علاوه تحقیقات نشان داد که سودوموناس‌ها از جمله باکتری‌های گرم منفیِ فاسدکنندهٔ محصولات شیلاتی‌اند که در مقابل پرتوهای یونیزه‌کننده مانند اشعهٔ گاما حساس‌اند (۲۸).

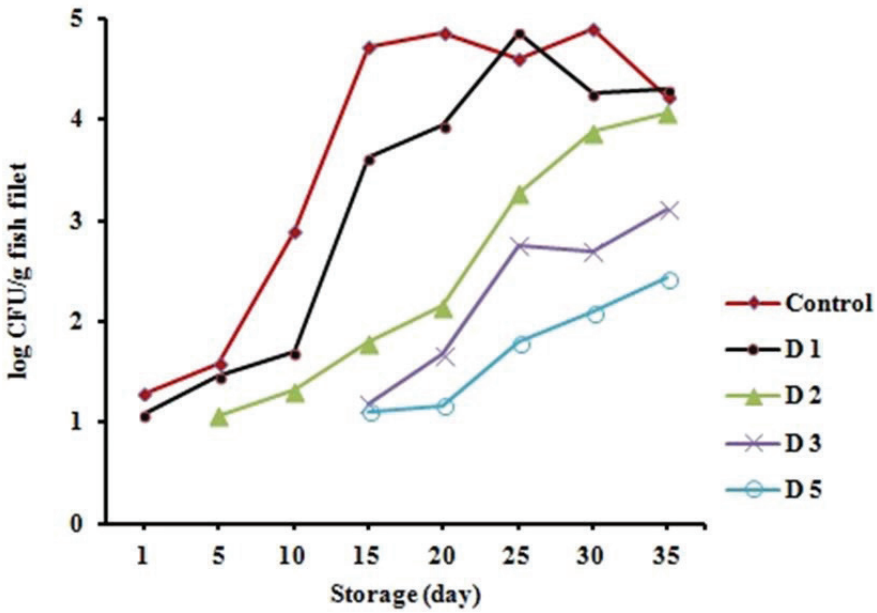


نمودار ۲. تغییرات جمعیت سودوموناس در فیلهٔ ماهی کفال طلایی (Liza aurata) پرتودهی‌شده با دُزهای مختلف اشعهٔ گاما طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ٤ درجهٔ سانتیگراد (شاهد=Control؛ D۱، D۲، D۳، و D۵ به‌ترتیب دُزهای ۱، ۲، ۳، و ۵ کیلوگری هستند. مقادیر کمتر از یک در نمودار صرفنظر شده‌اند. روابط آماری و علامت انحراف معیار نشان داده نشده است).

نظر به آنکه سودموناس یکی از مهم‌ترین باکتری‌های سرمادوست است که در طی نگهداری محصولات شیلاتی در شرایط سرد موجب فساد محصولات شیلاتی می‌شود (۲۹)، بنابراین حذف آن از طریق پرتوهای گاما می‌تواند برای حفظ محصولات شیلاتی مفید باشد.

۳.۳. باکتریهای تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک

هر چند روند تغییرات باکتریهای تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک در گروه شاهد از روز آغازین آزمایش (log CFU/g ۱/۰۸±۰/۱۷) تا روز ۳۵ نگهداری (log CFU/g ٤/۱۳±۱/۰۷) روند افزایشی (همزمان با افزایش مدت ماندگاری) را نشان داده است (نمودار ۳؛ P<۰,۰۵)، اما جمعیت باکتریایی اندازه‌گیری‌شده نسبتاً پایین بوده است. Shakhawat و همکاران (۲۰۰٦) حد غیر مجاز باکتریهای تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک را در محصولات شیلاتی log CFU/g ۱۰۵-۱۰٤ اعلام کرده‌اند (۳۰). بر این اساس، نمونههای شاهد در روز ۲۵ نگهداری به حد غیر مجاز رسیدند. نتایج مشابهی در پژوهش‌های محققان دیگر (۳۱، ۳۲، ۳۳) نیز مشاهده شده است. پیش‌تر اثبات شده است که نگهداری ماهیان در شرایط سرد مانند دمای یخچال تأثیر درخور ملاحظه‌ای در سرعت رشد این گروه از باکتری‌ها دارد، اما آنالیزهای آماری نشان داد که نگهداری در شرایط سرما (تیمار شاهد) به‌تنهایی برای متوقف‌کردن رشد باکتری‌های تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک کافی نیست، چراکه جمعیت باکتری‌های تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای پرتودهی‌شده بالاتر بوده است (P<۰,۰۵) و پرتودهی تأثیر معنی‌داری در جمعیت باکتری‌های مذکور داشته است. با افزایش میزان دُز اشعهٔ گاما، جمعیت باکتری‌های تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک کاهش بیشتری یافته است. کمترین مقدار باکتریهای تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک نیز در دُز ۵ کیلوگری مشاهده شد. نتایج مشابهی در پژوهش سایر محققان از جمله: Savvaidis و همکاران (۲۰۰۲) و Moini و

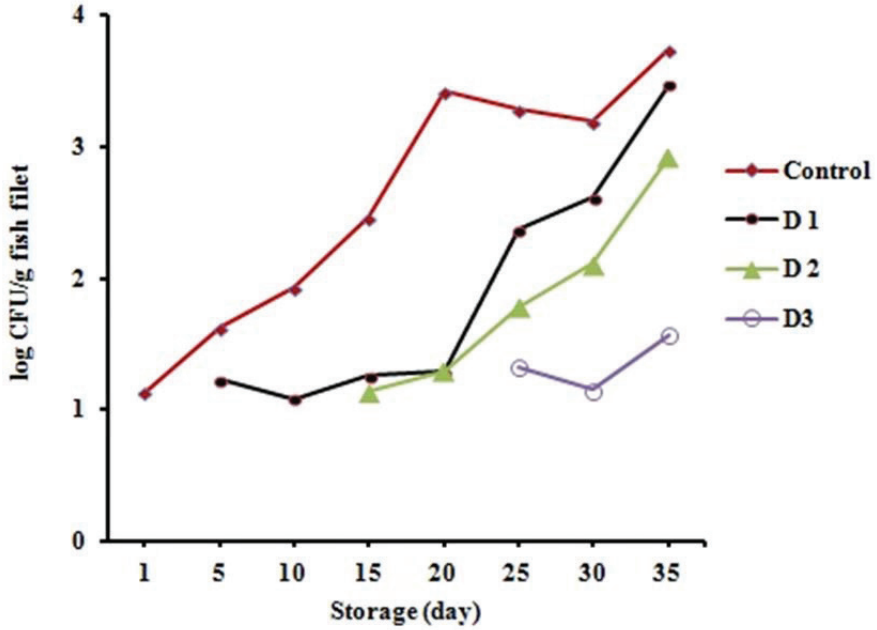


نمودار ۳. تغییرات جمعیت باکتری‌های تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک در فیلهٔ ماهی کفال طلایی (Liza aurata) پرتودهی‌شده با دُزهای مختلف اشعهٔ گاما طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ٤ درجهٔ سانتیگراد (شاهد=Control؛ D۱، D۲، D۳، و D۵ به‌ترتیب دُزهای ۱، ۲، ۳، و ۵ کیلوگری هستند. مقادیر کمتر از یک در نمودار صرفنظر شدهاند. روابط آماری و علامت انحراف معیار نشان داده نشده است).

همکاران (۲۰۰۸) به‌دست آمده است (۱۱، ۳٤). از طرف دیگر، یافته‌های Rasmussen و همکاران (۲۰۰۲) حاکی از آن است که باکتری‌های تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک جزء باکتری‌های مهم در ایجاد فساد در ماهیان بسته‌بندی‌شده در خلأ هستند (۳۱). به‌نظر می‌رسد به‌کارگیری روشهای تکمیلی مانند پرتودهی و نگهداری در شرایط سرما برای افزایش ماندگاری محصولات شیلاتی شیوه‌ای سودمند باشد.

٤.۳. انتروباکتریاسه

نتایج مربوط به اندازه‌گیری باکتریهای انتروباکتریاسه در نمودار ٤ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که جمعیت باکتری‌های مذکور هم در نمونه‌های شاهد و هم در نمونه‌های پرتودیده به‌طور کل پایین بوده است، اما جمعیت آن‌ها در نمونه‌های شاهد بیشتر از نمونه‌های پرتودیده بود ($P<0,05$). نتایج مقایسهٔ میانگین‌های باکتریاسه در نمونه‌های شاهد و طی روزهای مختلف نگهداری نشان می‌دهد که زمان نگهداری در جمعیت باکتری‌های مذکور تأثیر معنی‌داری داشته است؛ به‌طوری که، بالاترین مقدار آن در روز ۳۵ نگهداری (log CFU/g ۳/۷٤±۰/٦۳) مشاهده شد. اگرچه باکتریاسه میتوانند در دمای پایین رشد کنند، اما در طی دورهٔ نگهداری فراوانی آنها در مقایسه با سایر باکتری‌های سرمادوست چندان افزایش نمی‌یابد. چنین حالتی احتمالاً می‌تواند به رشد کندتر آن‌ها در مقایسه با سایر باکتریهای گرم منفی سایکروتروفیکِ عامل فساد و فقدان اکسیژن مربوط باشد. نتایج مشابهی از سوی سایر محققان از جمله: Papadopoulos و همکاران (۲۰۰۳)، Chytiri و همکاران (۲۰۰٤)، و Sallam و همکاران (۲۰۰۷) به‌دست آمده است (۲٦، ۲۷، ۳۳). از طرف دیگر، نتایج آنالیز آماری نشان داد که پرتودهی تأثیر شگرفی در جمعیت باکتریاسه‌ها دارد؛ به‌طوری که، در دُز ۵ کیلوگری هیچگونه انتروباکتریاسه‌ای مشاهده نشده است. تأثیر پرتودهی در جمعیت باکتری‌های مذکور در مطالعهٔ سایر محققان از جمله Savvaidis : و همکاران (۲۰۰۲) و Moini و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شده است (۱۱، ۳٤).

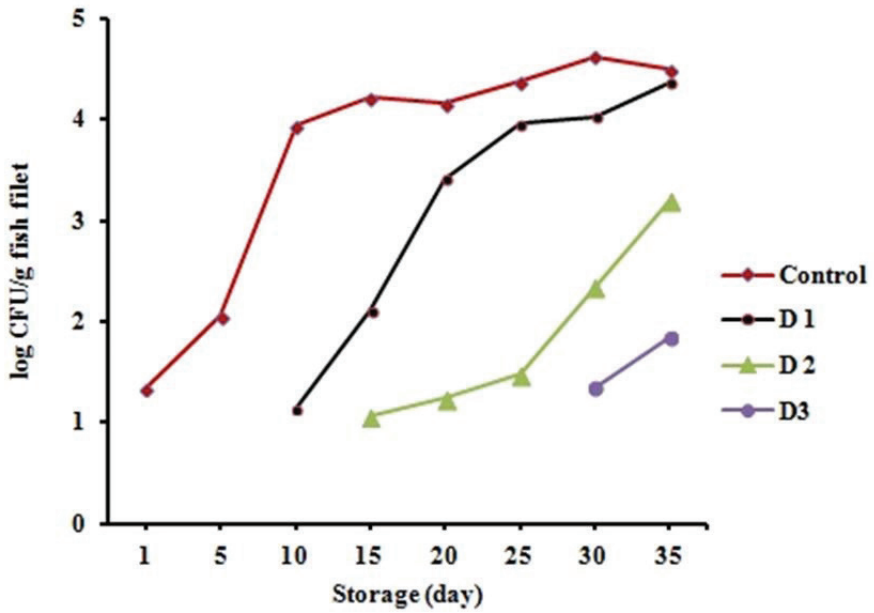


نمودار ٤. تغییرات جمعیت باکتریاسه‌ها در فیلهٔ ماهی کفال طلایی (Liza aurata) پرتودهیشده با دُزهای مختلف اشعهٔ گاما طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ٤ درجهٔ سانتیگراد (شاهد=Control؛ D۱، D۲، D۳، و D۵ به‌ترتیب دُزهای ۱، ۲، ۳، و ۵ کیلوگری هستند. مقادیر کمتر از یک در نمودار صرفنظر شده‌اند. روابط آماری و علامت انحراف معیار نشان داده نشده است).

اصولاً بررسی وجود باکتریاسه در مواد غذایی از جمله محصولات شیلاتی بسیار ضرورت دارد، چراکه این خانواده بسیاری از باکتری‌های بیماریزا نظیر سالمونلا را دربر می‌گیرد که در صورت مصرف مواد غذایی حاوی آن ممکن است سلامتی فرد مصرف‌کننده به‌طور جدی در معرض خطر قرار گیرد. محققان حضور باکتری‌های مذکور را در آبزیان به دلایلی نظیر صید از مناطق آلوده و تأخیر در یخگذاری آبزیان صیدشده در کنار دستکاریهای پس از صید (آلودگی ثانویه) مربوط دانسته‌اند (۱۹، ۲۸، ۳۵).

۵.۳. باکتری‌های تولیدکنندهٔ گاز H2S

نتایج اندازه‌گیری جمعیت باکتری‌های تولیدکنندهٔ گاز H_2S در نمودار ۵ آمده است. به هنگام شروع آزمایش تعداد کلونی‌های سیاه، که به‌منزلهٔ باکتری‌های تولیدکنندهٔ گاز H_2S درنظر گرفته می‌شوند، در تیمار شاهد و همچنین در تیمارهای پرتودیده نسبت به جمعیت سودوموناس‌ها کمتر بود، اما با گذشت زمانِ نگهداری روند فوق برعکس شد. به نظر محققان هر چندَ ترکیب جمعیتی باکتری‌های ماهی در اکوسیستم نتیجه‌ای از شرایط محیط و رقابت



نمودار ۵. تغییرات جمعیت باکتری‌های تولیدکنندهٔ گاز H2S در فیلهٔ ماهی کفال طلایی (Liza aurata) پرتودهی‌شده با دُزهای مختلف اشعهٔ گاما طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ٤ درجهٔ سانتیگراد (شاهد=Control؛ D۱، D۲، D۳، و D۵ به‌ترتیب دُزهای ۱، ۲، ۳، و ۵ کیلوگری هستند. مقادیر کمتر از یک در نمودار صرفنظر شده‌اند. روابط آماری و علامت انحراف معیار نشان داده نشده است).

بین گونه‌های باکتری‌های موجود در محل است، اما در محصولات بسته‌بندی‌شدهٔ شیلاتی ترکیب باکتریایی بیشتر به رقابت بین گونه‌ای و حضور یا فقدان اکسیژن در بسته مربوط است (۳۳). از آنجا که باکتری‌های تولیدکنندهٔ سولفید هیدروژن (از جمله Shewanella putrefaciens) و سودوموناس‌ها دو میکروارگانیسم سرماگرای رقابتی‌اند (۳۵)، فاز تأخیری اولیهٔ باکتری‌های تولیدکنندهٔ سولفید هیدروژن ممکن است در نتیجهٔ اثر بازدارندگی باکتریهای سودوموناس باشد این مسئله به تحقیق از سوی Gram و Melchiorsen گزارش شده است (۳۷). سودوموناس‌ها به سبب توانایی تولید ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین (siderophores)

می‌توانند مانع رشد باکتریهای تولیدکنندهٔ سولفید هیدروژن شوند. در تیمار شاهد جمعیت باکتری‌های تولیدکنندهٔ گاز H_2S در شروع آزمایش ۱/۳۵±۰/۱٤ log CFU/g بود، اما با گذشت زمان افزایش معنی‌داری در جمعیت آنها مشاهده شد؛ به‌طوری که، در انتهای دورهٔ نگهداری جمعیت آن‌ها به ٤/٥۱±۰/۹۲ log CFU/g رسید. روند افزایش جمعیت باکتری‌های تولیدکنندهٔ گاز H_2S طی دورهٔ نگهداری در شرایط سرد در سایر ماهیان از جمله باس دریایی و آزادماهی اقیانوس آرام نیز نشان داده شد (۳۲، ۳۸). نتایج تجزیه و تحلیل مقایسهٔ میانگین‌ها در نمونه‌های پرتودیده نشان داد که شدت دُز در جمعیت باکتری‌های تولیدکنندهٔ گاز H_2S تأثیر معنی‌داری داشته است؛ به‌طوری که، در دُز ۳ کیلوگری به کمترین میزان (۱/۸۳±۰/٦۸ log CFU/g) در انتهای دورهٔ نگهداری) رسید و در دُز ۵ کیلوگری از باکتری مذکور مشاهده نشد. پیشتر Chytiri و همکارن (۲۰۰٤) اثبات کردند (۲۷) که باکتری‌های تولیدکنندهٔ گاز H_2S به پرتوهای یونیزه‌کننده مانند پرتوی گاما حساس‌اند. بنابراین کاهش شدید جمعیت آنها در دُزهای بالای پرتودهی (۳ و ۵ کیلوگری) مؤید همین مطلب است. نتایج مشابهی از پژوهش Moini و همکاران (۲۰۰۸) بر فیلهٔ قزل‌آلای رنگین‌کمان، Abu-Tarboush و همکاران (۱۹۹٦) بر ماهی تیلاپیا (Tilapia nilotica× Tilapia aurea)، و Chouliara و همکاران (۲۰۰٤) بر ماهی سیم دریایی (Sparus aurata) طی دورهٔ نگهداری در شرایط سرد به‌دست آمد (۱۱، ۳٤، ۳۹).

٤. نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج آنالیز میکروبی فیلهٔ ماهی کفال طلایی طی دورهٔ نگهداری در شرایط سرد (دمای ٤ درجهٔ سانتیگراد)، می‌توان بیان داشت که فیلهٔ ماهی مذکور در صورتی که در خلأ بسته‌بندی شود و هیچگونه روشهای نگهداریِ دیگری همراه با آن انجام نشود، به مدت ۱۰ روز قابلیت مصرف دارد، اما زمانی که از اشعهٔ گاما همراه با آن استفاده شود، قابلیت ماندگاری و مصرف بی‌خطر آن برای مصرف‌کنندگان افزایش می‌یابد که میزان آن به شدت دُز به‌کار رفته بستگی دارد. بر اساس نتایج پژوهش حاضر، به‌کارگیری دُز ۱ کیلوگری اشعهٔ گاما به افزایش قابلیت مصرف نمونه‌ها تا ۱۵ روز، ۲ کیلوگری تا ۳۰ روز، ۳ و ۵ کیلوگری تا انتهای دورهٔ مورد بررسی (۳۵ روز) منجر می‌شود. بین دزهای ۳ و ۵ کیلوگری اختلاف معنی‌دار چندانی وجود نداشت. نظر به آنکه به‌کارگیری دُزهای بالا (مانند ۵ کیلوگری) می‌تواند اکسیداسیون چربی را در ماهی سبب شود، بنابراین با توجه به این موضوع و همچنین رعایت شرایط اقتصادی دُز ۳ کیلوگری برای نگهداری فیلهٔ ماهی کفال طلایی پیشنهاد می‌شود.

References

[1] Abu-Tarboush, H.M., Al-Khatami, H.A., Atia, M., Abou-Arab, A. A., Bajaber, A.S., El-Mojaddidi, M.A. (1996) Irradiation and post irradiation storage of tilapia (Tilapia nilotica × T. aurea) and Spanish mackerel (Scomeromorus commerson): sensory and microbial assessment. J. Food Protect. 59: 1041–1048.

[2] American public health association, APHA. (2001) In C. Frances Pouch Downes, & Keith Ito (Eds.), Compendium of methods for the microbiological examination of foods (4th ed.). Washington, DC: American Public Health Association.

[3] Bahmani, Z., Rezai, M., Hosseini, S.V., Regenstein, J.M., Böhme, K., Alishahi, A., Yadollahi, F. (2011) Chilled storage of golden gray mullet (Liza aurata). LWT - Food Sci. Technol. 44: 1894-1900.

[4] Balachandran, K.K. (2001) Onboard handling and preservation in postharvest technology of fish and fish product. India.

[5] Brewer, M.S. (2009) Irradiation effects on meat flavor: a review, Meat Sci. 81(1): 1-14.

[6] Chouliara, I., Savvaidis, I.N., Panagiotakis, N., Kontominas, M.G. (2004) Preservation of salted, vacuum-packaged, refrigerated sea bream (Sparus aurata) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. Food Microbiol. 21:351–359.

[7] Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G. (2004) Microbiological, chemical, and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. Food Microbiol. 21: 157–165.

[8] Dragoev, S.G., Kiosev, D.D., Danchev, S.A., Ioncheva, N.I., Genov, N.S. (1998) Study on the oxidative processes in frozen fish. Bulg. J. Agric Sci. 4: 55-65.

[9] EL-Mongy, T.M., EL-Fouly, M.Z., Hammad, A.A.I., Matar, Z.A.I. (1996) Irradiation for shelf-life extension and improvement of the hygienic quality of fresh, semidried and dried Tilapia nilotica fish. Egypt J. Food Sci. 24, 119–134.

[10] Erkan, N., Ozden, O. (2007) Quality assessment of whole and gutted sardines (Sardina pilchardus) stored in ice. International J. Food Sci. Technol. DOI:10.1111/j.1365-2621.2007.01579.x.

[11] Evans, J. A., 2008. Frozen food science and technology. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK.

[12] Gram, L., Dalgaard, P. (2002) Fish spoilage bacteria – problems and solutions. Curr. Opin. Biotechnol. 13: 262–266.

[13] Gram, L., Huss, H.H. (1996) Microbiological spoilage of fish and fish products. Int. J. Food Microbiol. 33: 121–137.

[14] Gram, L., Melchiorsen, J. (1996) Interaction between fish spoilage bacteria Pseudomonas spp. and S. putrefaciens in fish extracts and on fish tissue. J. Appl. Bacteriol. 80: 589–595.

[15] Gram, L., Trolle, G., Huss, H.H. (1987) Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0°C) and high (20°C) temperatures. Int. J. Food Microbiol. 4: 65–72.

[16] Hosseini, S.V., Rezaei, M., Sahari, M.A., Hosseini, H. (2003) Effect of ice storage on lipid

quality and sensory characteristics of Golden gray mullet (Liza aurata). Scient. Res. J. Iran Mar. Sci. 3(1): 31-38.

[17] Hozbor, M. C., Saiz, A. I., Yeannes, M. I., Fritz, R. (2006) Microbiological changes and its correlation with quality indices during aerobic iced storage of sea salmon (Pseudopercis semifasciata). LWT-Food Sci. Technol. 39: 99–104.

[18] International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF) (1986) sampling plans for fish and shellfish. In: ICMSF, Microorganisms in foods. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications, Vol.2.2nd Edition. University of Toronto Press, Toronto, Canada, 181-196 pp.

[19] Jeevanandam, K., Kakatkar, A., Doke, S.N., Bongirwar, D.R. and Venugopal, V. (2001) Influence of salting and gamma irradiation on the shelf-life extension of threadfin bream in ice. J. Food Res. Int. 34: 739-746.

[20] Jeon, Y.J., Kamil J.Y.V.A., Shahidi, F. (2002) Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. J. Agric. Food Chem. 50: 5167-5178.

[21] Koutsoumanis, K., Lambropoulou, K., Nychas, G.J.E. (1999(Biogenic amines and sensory changes associated with the microbial Flora of Mediterranean gilt-head sea bream (Sparus aurata) stored aerobically at 0, 8 and 15°C. J. Food Protect. 62: 398–402.

[22] Kyrana, V.R., Lougovois, V.P. (2002) Sensory, chemical and microbiological assessment of farm-raised European sea bass (Dicentrarchus labrax) stored in melting ice. Int. J. Food Sci. Technol. 37: 319–328.

[23] Lewis, N.F., Alur, M.D., Kumta, U.S. (1971) Radiation sensivity of fish micro flora. Ind. Jour .Exp. Biol. Vol. 9, PP. 45-47.

[24] Mendes, R., Silva, H.A., Nunes, M.L., Empis, J.M.A. (2005) Effect of low-dose irradiation and refrigeration on the microflora, sensory characteristics and biogenic amines of Atlantic horse mackerel (trachurus trachurus). Europ. Food Res. Technol. 221: 329–335.

[25] Moini, S., Tahergorabi, R., Hosseini, S.V., Rabbani, M., Tahergorabi, Z., Feas, X., Aflaki, F. (2009) Effect of gamma radiation on the quality and shelf-life of refrigerated rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fillets. J. Food Protect. 72(7): 1419-1426.

[26] Özogul, Y., Özogul, F., Gökbulut, C. (2006) Quality assessment of wild European eel (Anguilla anguilla) stored in ice. Food Chem. 95: 458–465.

[27] Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sanchez, M.E., Robles-Burgueno, M.R. (2000) Postmortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0 °C. J. Food Sci. 65: 40–47.

[28] Papadopoulos, V., Chouliara, I., Badeka, A., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G. (2003) Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bass (Dicentrarchus labrax) stored in ice. Food Microbiol. 20: 411–420.

[29] Rasmussen, S. K. J., Ross, T., Olley, J., McMeekin, T. (2002) A process risk model for the shelf life of Atlantic salmon fillets. Int. J. Food Microbiol. 73: 47–60.

[30] Razavi-Shirazi, H. (2001) Seafood processing and technology. Naghsh-e Mehr Publishing Co., 292 pp.

[31] Sallam, K.I. (2007) Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control, 18: 566–575.

[32] Sant› Ana, L.S., Mancini-Filho, J. (2000) Influence of the addition of the antioxidants in vivo on the fatty acid composition of fish fillets. Food Chem. 68: 175-178.
[33] Sathivel S., Liu Q., Huang J., Prinyawiwatkul, W. (2007) The Influence of chitosan glazing on the quality of skinless Pink salmon (Oncorhynchus gorbuscha) fillets during frozen storage. J. Food Eng. 83: 366–373.
[34] Savvaidis, I.N., Skandamis, P., Riganakos, K., Panagiotakis, N., Kontominas, M.G. (2002) Control of natural microbial flora and Listeria monocytogenes in vacuum-packaged trout at 4 and 10ºC using irradiation. J. Food Protect. 65: 515-522.
[35] Shakhawat, H.M., Akter-Uzzaman, M., Afzal-Hossain, M., Shamsul-Islam, M. (2006) Effect of gamma irradiation and vacuum packaging on the shelf life extension of beef kebab during refrigerated storage. J. Bangladesh Microbial. 23, 156-158.
[36] Simopoulos A. (1997) Nutritional aspects of fish. In: Luten J., Borresen T. and Oehlenschlager J. (eds.), Seafood from Producer to Consumer, Integrated Approach to Quality. Amsterdam, Elsevier, 589-607.
[37] Statistical yearbook of Iran fisheries organization. (2011).
[38] Turgis, M., Borsa, J., Millette, M., Salmieri, S., Lacroix, M. (2008) Effect of selected plant essential oils or their constituents and modified atmosphere packaging on the radio sensitivity of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella Typhi in ground beef. J. Food Protect. 71: 516–521.
[39] Venugopal, V., Doke, S.N., Thomas, P. (1999) Radiation processing to improve the quality of fishery products. Crit. Rev. Food Sci. Nutri. 39: 391–440.