بررسی تغییرات ترکیبات نیتروژنی، میکروبی و الگوی الکتروفورز در حین فرآیند تخمیر مهیاوه، سس ماهی سنتی ایرانی

سیده فاطمه مویدی[۱]، مرضیه موسوی‌نسب[۲]*

mousavi@shirazu.ac.ir

۱و۲-دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۲

چکیده

مهیاوه، نام سس ماهی سنتی ایرانی است، محصولی با عطر و طعم مشخص که از تخمیر ماهیان ریز و کم‌مصرف آنچوی و ساردین در حضور غلظت بالای نمک حاصل می‌شود و عمدتا به عنوان طعم دهنده و چاشنی غذایی در استان‌های جنوبی ایران از جمله هرمزگان و فارس مورد استفاده قرار می‌گیرد. در تحقیق حاضر فرآیند تهیه مهیاوه در آزمایشگاه شبیه‌سازی شد. سس ماهی با گرم‌خانه گذاری مخلوط ماهی آنچوی و آب نمک اشباع در ظروف سفالی به نسبت ۲:۵:۵ به مدت ۵۴ روز در انکوباتور با دمای C ۳۷° تهیه شد، سپس تغییرات شمارش کلی باکتری‌ها و تغییرات ترکیبات نیتروژنی در طی شش مرحله تخمیر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد با افزایش زمان تخمیر میزان ترکیبات نیتروژنی کل، فرمالدهیدی، اسیدآمینه‌ای و نیتروژنی فرار در تمامی مراحل افزایش یافت. وجود ضریب همبستگی پیرسون بالا (r= 0.8) بین تغییرات شمارش کلی باکتری‌ها و تری‌متیل‌آمین تایید کننده وجود رابطه بین تغییرات میزان باکتری‌ها بر روی غلظت تری‌متیل‌آمین در حین فرآیند تخمیر سس ماهی است. نتایج حاصل از الگوی SDS-PAGE نشان داد با افزایش زمان تخمیر از تعداد و شدت باندهای پروتئینی کاسته شده است.

لغات کلیدی: مهیاوه، سس ماهی آنچوی، ترکیبات نیتروژنی، شمارش کلی باکتری‌های هوازی، الگوی SDS-PAGE

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]

مقدمه

بدن ماهی به علت ارزش تغذیه‌ای بالا و همچنین وجود میکروارگانیزم های مختلف در محیط زندگی ماهی در شرایط پس از صید محیط بسیار مناسبی برای رشد و تکثیر میکروارگانیزم ها می‌باشد. همچنین بدن ماهی دارای آنزیم‌های تخریب کننده قوی است که پس از صید ماهی و در صورت فراهم بودن شرایط دست به فعالیت‌های تخریبی زده و کیفیت گوشت ماهی را کاهش داده و در نهایت منجر به غیر قابل استفاده شدن آن می‌شود (Jay *et al.*, 2005).

فرآیند تخمیر یکی از قدیمی‌ترین روش‌های نگهداری غذاست که علاوه بر طولانی کردن مدت نگه داری، سبب افزایش عطر و طعم و ارزش تغذیه‌ای محصول نیز می‌شود. پروتئولیز یکی از مهم‌ترین واکنش‌های بیوشیمیایی است که در حین فرآیند تخمیر رخ می‌دهد (Yuen *et al.*, 2009) .

در آسیا و مخصوصاً در مناطقی با مناطق وسیع ساحلی و دمای بالای محیطی مانند کشورهای جنوب شرقی آسیا از جمله تایلند، کامبوج، مالزی، فیلیپین و اندونزی تولید محصولات تخمیری شیلاتی به عنوان یک روش با ارزش و ارزان قیمت جهت نگه داری ماهی به مدت طولانی به کار می‌رود. سس ماهی یک محصول مایع شبه تخمیری است که با تجزیه پروتئین‌های ماهی در حضور غلظت بالای نمک حاصل می‌شود و ظاهراً برای اولین بار توسط Badham در سال ۱۸۵۴ مشاهده و کشف گردیده است (Beddows, 1985).

سس ماهی در استان‌های جنوبی ایران از جمله شهرستان‌های فارس و هرمزگان توسط بومیان به صورت سنتی تولید می‌شود و به نام‌های مختلفی از جمله مهیاوه، مهوه و یا سوراغ خوانده می‌شود. مهیاوه به طور معمول از ماهی ساردین یا به زبان محلی حشینه یا اشنه (*Sardinella* sp.) و ماهی آنچوی یا موتو هندی (*Stelophorus* sp.)، نمک، خردل (*Brassica juncea*) و آب و یا سایر ادویه‌ها تشکیل می‌شود (Zarei *et al.*, 2012).

در روش سنتی تهیه مهیاوه، ابتدا سر ماهی‌ها جدا شده سپس ماهی‌ها همراه با امعا و احشا تحت عمل شستشو قرار گرفته و در ظروف سفالی یا ظروف شیشه‌ای دهان گشاد به همراه نمک و آب گرم ریخته می‌شوند و ظروف حاوی مخلوط ماهی و آب و نمک (۱۵٪-۳۰٪) به مدت ۲۵ الی ۳۰ روز در دمای محیط و ترجیحاً در معرض تابش نور آفتاب قرار داده می‌شوند. سپس مخلوط نمک و ماهی را فشرده و له کرده و از صافی‌هایی از جنس استیل ضد زنگ و روزنه‌های درشت عبور می‌دهند و نهایتاً مایع قهوه‌ای ایجاد شده را با خردل و سایر ادویه‌ها مخلوط کرده و یا اصطلاحاً می‌پرورانند. ادویه‌های مختلف که در تهیه سس ماهی به کار می‌روند عبارتند از: آویشن (*Thymus capitatus*)، زیره سبز (*Cuminum cyminum*)، گشنیز (*Coriandrum sativum*) ، سیاه دانه (Black seed)، جو (Nutmeg)، رازیانه (*Foenicolum vulgare*) ، فلفل سیاه (*Piper nigrum*)، و کنجد (Sesame)که بر طبق ذائقه مصرف کنندگان به محصول افزوده می‌شود. بعد از این مرحله ظروف حاوی مخلوط نهایی تا رسیدن به عطر و طعم و مزه مطلوب به مدت۱۰ الی ۱۵ روز در دمای معمولی نگه داری می‌شوند (Al-Jedah *et al.*, 2000; Zarei *et al*., 2012). علاوه بر روش ذکر شده روش‌های مختلف دیگری نیز در تهیه مهیاوه ایرانی وجود دارد که عمدتاً از ماهی‌های گفته شده جهت تولید این نوع سس ماهی استفاده می‌کنند، ولی ممکن است به جای ماهی خشک کامل از ماهی پودر شده یا ماهی تازه استفاده شود و یا مدت فرآیند تخمیر و میزان نمک استفاده شده متفاوت باشد.

علیرغم پرطرفدار بودن این محصول در مناطق جنوبی و ساحلی ایران این محصول هیچ کارگاه یا کارخانه صنعتی جهت تولید این محصول وجود نداشته و عمدتا توسط بومیان تهیه شده و اطلاعات محدودی در رابطه با خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی نهایی مهیاوه و یا تغییرات این ترکیبات در طی زمان تخمیر وجود دارد .

تا به امروز تحقیقات اندکی درباره فرآیند تهیه سس ماهی و تعیین خصوصیات شیمیایی و میکروبی آن در ایران انجام شده است. از جمله معینی و کوچکیان در سال ۱۳۸۲ سس ماهی کیلکا را تهیه و به بررسی تغییرات میکروبی و شیمیایی آن در طی زمان تخمیر پرداختند. شکیب در سال ۱۳۸۷ به بررسی تغییرات شیمیایی در حین فرآیند تهیه سس ماهی ساردین پرداخت و در سال ۱۳۹۰، مرادی زاده فرد و همکاران اثر افزودن عصاره الکلی سیر را در کاهش شمارش میکروبی در سس ماهی آنچوی سنتی ایرانی مورد بررسی قرار دادند. ولی این محققان روند تغییرات شیمیایی و میکروبی در حین فرآیند تخمیر سس

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]

ماهی آنچوی را بررسی نکردند. بنابراین در این تحقیق سعی شد تا فرآیند تولید مهیاوه در آزمایشگاه شبیه‌سازی شده و به بررسی تغییرات فیزیکوشیمیایی و میکروبی در طی زمان تخمیر پرداخته شود.

مواد و روش‌کار

سولفات مس، سلنیم، اسید بوریک، متیل‌رد، اسید سولفوریک، اسید کلریدریک، فرمالدهید، اکسید منیزیم، هیدروکسید سدیم، هیدروکسید پتاسیم، محلول تجاری تری‌متیل‌آمین، تولوئن، سولفات سدیم، پیکریک‌اسید، فنول‌فتالئین، قرص کاتالیزور کلدال، مواد مصرفی الکتروفورز، کاغذ صافی شماره ۴۰ و محیط کشت میکروبی plate count agar.

پنج کیلوگرم ماهی آنچوی (*Stolephorus heterolobus*) با نام محلی موتو با ابعاد تقریبی ۶ سانتی‌متر به صورت تازه از اسکله سیمین واقع در بندر قشم تهیه شد. سپس ماهی‌ها پس از صید در جعبه‌های مخصوص به همراه پودر یخ قرار داده شدند و پس از شش ساعت به آزمایشگاه بخش علوم و صنایع غذایی شیراز منتقل شدند. نمک لازم جهت تهیه سس ماهی از کارخانه سپیددانه با درجه خلوص ۹۹/۵ ٪ تهیه شد.

فرآیند تهیه سس ماهی مهیاوه در شکل ۱ نشان داده شده است. ابتدا ماهی‌ها تحت عملیات شست‌شو و آب‌گیری قرار گرفتند و سپس ۲۰۰ گرم ماهی کامل (همراه با امعا و احشا)، ۲۰۰ میلی‌لیتر آب و ۸۰ گرم نمک با نسبت ۲:۵:۵ در دستگاه مخلوط‌کن با یکدیگر مخلوط شدند و به ظروف سفالی دهان‌گشاد با ۷۰۰ میلی‌لیتر منتقل شدند و درب این ظروف با فیلم‌های پلاستیکی سه لایه بسته شد. این ظروف به مدت ۵۴ روز در گرم‌خانه با دمای $37^{\circ}C$ نگه‌داری شدند. عملیات عصاره‌گیری و صاف کردن سس ماهی در بازه زمانی مشخص به صورت هر نه روز یک‌بار توسط کاغذ صافی شماره ۴۰ و قیف بوخنر مجهز به پمپ خلا انجام شد و آزمایش‌های فیزیکوشمیایی و میکروبی بر روی عصاره‌های حاصل انجام شد.

نیتروژن کل توسط دستگاه میکروکلدال و طی سه مرحله هضم، تقطیر و تیتراسیون اندازه‌گیری شد(Chindapan *et al*., 2010).

محتوی نیتروژن فرمالینی نمونه‌های سس ماهی به عنوان شاخص هیدرولیز پروتئین‌ها طبق استاندارد بین‌المللی سس ماهی کشور تایلند اندازه‌گیری شد. بدین منظور الکترود pH متر درون بشر حاوی ۱۰ میلی‌لیتر سس ماهی ۱۰ بار رقیق شده قرار داده شد. در مرحله بعد تیتراسیون نمونه با محلول ۰/۱ مولار هیدروکسید سدیم تا رسیدن به pH برابر ۷ انجام گرفت. سپس ۱۰ میلی‌لیتر محلول فرمالدهید ۳۸ درصد به نمونه اضافه شد و تیتراسیون تا رسیدن به pH برابر ۹ ادامه یافت. در انتها ازت فرمالینی بر حسب گرم بر لیتر یا میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از طریق فرمول زیر محاسبه گردید (Dissaraphong *et al*., 2006).

(ml سود مصرفی در pH برابر ۷- ml سود مصرفی در pH برابر ۹) × ۱۴×۰/۱ = ازت فرمالینی

ترکیبات نیتروژنی فرار به روش تقطیر مستقیم در بوریک اسید و توسط دستگاه کلدال اندازه گیری شد. به این ترتیب که ۱۰ گرم نمونه سس ماهی به همراه ۳ گرم اکسید منیزیم و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در فلاسک تقطیر دستگاه کلدال ریخته شد. بخارات ترکیبات ازته فرار با نرخ سرعت ml/min ۱۰ و در مدت زمان تقطیر ۱۰ دقیقه در ارلن حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید بوریک ۴ درصد به همراه چند قطره معرف متیل‌رد جمع آوری شد. در نهایت محتویات ارلن با اسیدکلریدریک ۰/۱ نرمال تا ظاهر شدن مجدد رنگ صورتی معرف متیل‌رد تیتر گردید و میزان ترکیبات ازته فرار موجود در نمونه‌ها با توجه به فرمول زیر و بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه محاسبه گردید (Antonacopoulos *et al*., 1968).

۱۰×۱۴×نرمالیته اسید × حجم اسید مصرفی= ترکیبات ازته فرار (mg-TVB-N/100g sample)

جهت اندازه‌گیری میزان آمینونیتروژن نمونه‌ها از روش استاندارد بین‌المللی کشور تایلند در سال ۱۹۸۳ استفاده گردید. آمینونیتروژن بر حسب نیتروژن فرمالینی و نتیتروژن آمونیاکی (ترکیبات نیتروژنی فرار) به روش زیر محاسبه گردید (Dissaraphong *et al*., 2006).

(ترکیبات نیتروژنی فرار - نیتروژن فرمالینی) =آمینونیتروژن (گرم بر لیتر یا میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]

تری متیل آمین بر اساس AOAC (۲۰۰۰) طبق روش دیر (Dyer) یا همان رنگ آمیزی با اسید پیکریک (Picrate method) اندازه‌گیری شد. پس از تهیه عصاره ماهی در محلول آبی ۷/۵٪ (وزنی/وزنی) تری‌کلرواستیک اسید، ۱ میلی‌لیتر عصاره را به لوله شیشه‌ای منتقل و با آب مقطر به حجم ۴ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر فرمالدهید ۲۰٪، ۳ میلی‌لیتر هیدروکسید پتاسیم ۲۵٪ (وزنی/وزنی) و ۱۰ میلی‌لیتر تولوئن به لوله افزوده شد و با دست ۶۰-۴۰ بار محتویات داخل لوله به صورت مداوم مخلوط شد سپس ۹-۷ میلی‌لیتر از فاز رویی (تولوئن به همراه تری‌متیل‌آمین) را به درون لوله خشک حاوی ۰/۱ گرم سولفات سدیم خشک ریخته تا آب موجود در تولوئن خشک گردد. در نهایت ۵ میلی‌لیتر از تولوئن خشک شده را به در.ن لوله خشک درب‌دار دیگری ریخته و به آن ۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۲٪ اسید پیکریک در تولوئن افزوده شد و پس از مخلوط شدن محلول در طول موج ۴۱۰ نانومتر خوانده شد. جهت صفر کردن دستگاه اسپکتروفومتر از تولوئن استفاده گردید. میزان تری‌متبل آمین نمونه‌ها با استفاده از نمودار استاندارد تری‌متیل‌آمین و معادله به دست آمده از آن و فرمول زیر بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه گزارش شد.

تری‌متیل‌آمین (mg TMA/ 100g sampl) = (mg/ml sample) تری‌متیل‌آمین × ۸× ۵۰

جهت شمارش کلی باکتری‌ها در نمونه‌ها طبق روش AOAC (۲۰۰۰) و از روش pour plate و کشت دوتایی استفاده شد. ابتدا رقت‌های لازم از نمونه‌ها در محلول نمکی ۰/۹ درصد نمک در آب مقطر ساخته شد سپس ۱ میلی‌لیتر از هر رقت به داخل پلیت خالی استریل ریخته و حدود ۹ میلی‌لیتر محیط کشت مایع استریل با دمای C ° ۴۵- ۴۰ روی آن‌ها ریخته شد. سپس پلیت‌ها جهت توزیع یکنواخت به آرامی و به شکل علامت هشت لاتین روی سطح صاف حرکت داده شدند. پس از بستن محیط‌های کشت درب پلیت‌ها بسته و پس از بستن محیط‌ها در انکوباتور با دمای C ° ۳۷ به مدت ۴۸-۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند پس از دو روز شمارش کلنی‌ها بوسیله کلنی کانتر انجام شد. جهت گزارش تعداد باکتری‌ها در هر سی‌سی نمونه از فرمول زیر استفاده گردید:

تعداد کلنی در هر =تعدادکلنی شمارش شده × رقت عکس فاکتور میلی‌لیتر نمونه (cfu/ml)

جهت شمارش این باکتری‌ها نیز طبق روش AOAC (۲۰۰۰) عمل شد. جهت کشت باکتری‌ها پس از رقت‌سازی و تعیین رقت‌های مدنظر جهت کشت دادن، از روش pour plate، کشت دوتایی و محیط کشت MRS استفاده گردید. پس از کشت، پلیت‌ها در دمای اختصاصی باکتری‌های لاکتیکی یعنی دمای C ° ۳۰ به مدت ۷۲-۴۸ ساعت در محیط بی‌هوازی گرم‌خانه گذاری شدند. از کلنی کانتر جهت شمارش کلنی‌ها استفاده گردید. جهت گزارش تعداد باکتری‌ها در هر سی‌سی نمونه از فرمول زیر استفاده گردید:

تعداد کلنی در هر =تعدادکلنی شمارش شده × رقت عکس فاکتور میلی‌لیتر نمونه (cfu/ml)

جهت تشخیص وجود رابطه و میزان آن بین تغییرات تری‌متیل‌آمین و شمارش کلی باکتری‌ها از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد و به منظور تشخیص قدرت پیش‌بینی کنندگی شمارش باکتری‌ها بر تغییرات تری‌متیل‌آمین از خط رگرسیونی استفاده شد.

تهیه محلول‌ها، ژل‌ها، نمونه‌گذاری و انجام الکتروفورز

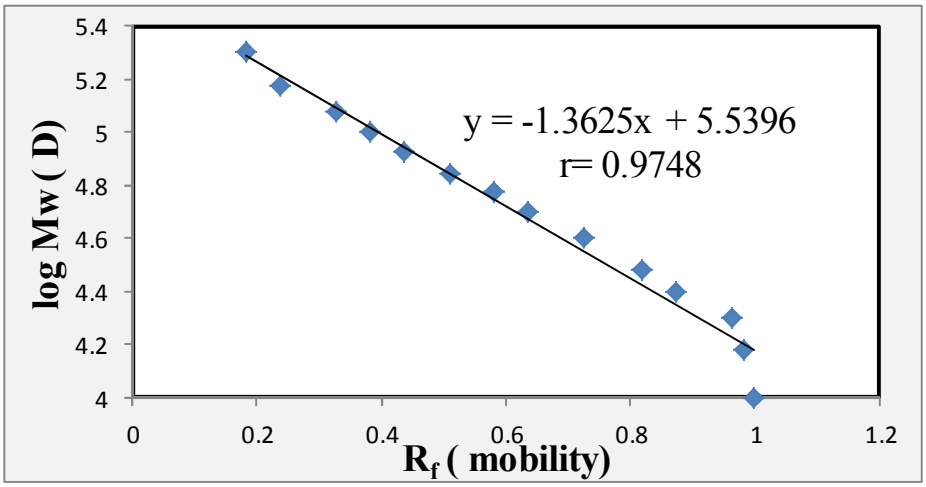
SDS-PAGE طبق روش Laemmli (۱۹۷۰) انجام شد.

ابتدا با استفاده از وزن مولکولی پروتئین‌های نمونه استاندارد (مارکر) R_f مربوط به هر پروتئین را حساب کرده و با توجه به آن رابطه بین R_f و وزن مولکولی را بدست آوردیم. سپس R_f نمونه مجهول را در رابطه بدست آمده گذاشته و وزن مولکولی نمونه مجهول محاسبه گردید.

R_f = (فاصله ژل از بالا تا جایی که رنگ پایین آمده)/(فاصله ای که پروتئین از بالای ژل حرکت کرده)

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]



نمودار ۱- نمودار R_f در مقابل لگاریتم وزن مولکولی پروتئین‌های نمونه استاندارد، جهت تعیین وزن مولکولی پروتئین‌ها در روش SDS-PAGE

برای انجام آزمون حسی، نمونه‌ها در ظروف یک بار مصرف قرار داده شدند. نمونه‌ها کد گذاری شدند و سپس به اتاقک ارزیابی منتقل شدند. از یک لیوان آب برای تمایز طعم دو نمونه بین هر بار آزمون چشایی استفاده شد. ارزیابی حسی نمونه‌ها توسط گروهی ۱۰ نفره از دانشجویان دانشگاه آزاد لار که قبلا سس ماهی مصرف کرده بودند، صورت گرفت. این افراد ۶ نمونه موجود را مصرف کرده و سپس در مورد طعم، بو ، رنگ و مطلوبیت کلی آن قضاوت نموده و بر اساس جدول زیر نمره‌هایی را به نمونه ها اختصاص دادند (Watts *et al*., 1989).

درجه کیفیت	عالی	خیلی	خوب	متوسط	بد
نمره مربوطه	۵	۴	۳	۲	۱

جدول ۱- نحوه نمره دهی محصولات نهائی در آزمون ارزیابی حسی و پذیرش کلی مصرف کننده

به منظور مقایسه میانگین‌ها و تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین آن‌ها از آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تکمیلی دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. جهت انجام کلیه آنالیز آماری از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ استفاده گردید.

نتایج:

نتایج حاصل از این مطالعه در زیر به صورت جداول جداگانه گزارش شده‌اند.

تغییرات نیتروژن کل عصاره‌ها در طی زمان تخمیر در جدول ۱نشان داده شده است. با توجه به نتایج جدول ۱ می‌توان دریافت میزان نیتروژن کل که بر حسب گرم بر لیتر گزارش شده‌اند در طی زمان‌های مختلف تخمیر افزایش یافته و نتایج با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]

جدول۲- تغییرات نیتروژن کل نمونه‌های سس ماهی بر حسب گرم بر لیتر در طی زمان تخمیر

زمان تخمیر (روز) (_)	۹	۱۸	۲۷	۳۶	۴۵	۵۴
تغییرات	±۱۲/۱۳	±۱۳/۳۴	±۱۵/۳۵	±۱۷/۲۶	±۲۰/۹۳	±۲۵/۰۱
نیتروژن کل	^{e}۰/۵۳	^{e} ۰/۶۳	^{d}۰/۶۳	^{c}۱/۰۶	^{b}۱/۶۰	^{a}۱/۴۰

*هر عدد میانگین سه تکرار (±SD) است.

**حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین میانگین ها می باشد ($P \leq ۰/۰۵$) .

تغییرات نیتروژن فرمالینی نمونه‌های مهیاوه در طی مراحل تخمیر در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. نتایج جدول ۳ نشان می‌دهد با افزایش زمان تخمیر نیتروژن فرمالینی نمونه‌ها که بر حسب گرم بر لیتر گزارش شده‌اند تقریبا در تمامی مراحل افزایش یافته و نتایج با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند.

جدول۳- تغییرات نیتروژن فرمالینی نمونه‌های سس ماهی بر حسب گرم بر لیتر در طی زمان تخمیر

زمان تخمیر (روز)	۹	۱۸	۲۷	۳۶	۴۵	۵۴
تغییرات نیتروژن فرمالینی	±۴/۸۶	±۷/۶۹	±۹/۲۷	±۹/۵۷	±۱۰/۶۱	±۱۲/۴۴
	e۰/۰۱۴	d۰/۰۱۴	c۰/۰۳۹	c۰/۲۷۱	b۰/۰۲۸	a۰/۰۵۸

*هر عدد میانگین سه تکرار (±SD) است.

**حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین میانگین ها می باشد ($P \leq ۰/۰۵$).

تغییرات ترکیبات نیتروژنی فرار بر حسب میلی‌گرم در صد گرم نمونه در طی فرآیند تخمیر در جدول شماره ۴ نشان داده شده است. نتایج جدول ۴ بیانگر افزایش معنی‌دار این ترکیبات نیتروژنی فرار در طی زمان تخمیر است.

جدول۴- تغییرات ترکیبات نیتروژنی فرار بر حسب میلی‌گرم در صد گرم نمونه نمونه‌های سس ماهی در حین مراحل مختلف تخمیر

زمان تخمیر (روز)	۹	۱۸	۲۷	۳۶	۴۵	۵۴
تغییرات ترکیبات	±۹۱/۴۶	±۱۰۴/۱۶	±۱۶۲/۵۰	±۲۰۴/۲۶	±۲۲۱/۲۰	±۲۲۶/۱۰
نیتروژنی فرار[۱]	^{f}۱/۴۵	^{e}۰/۷۰	^{d}۰/۵۶	^{c}۰/۵۰	^{b}۰/۷۰	^{a}۰/۷۰

*هر عدد میانگین سه تکرار (±SD) است.

**حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین میانگین ها می باشد ($P \leq ۰/۰۵$).

[۱] Total volatile basic nitrogen (TVB)

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]

تغییرات نیتروژن آمینواسیدی بر حسب گرم بر لیتر در جدول شماره ۵ نشان داده شده است با توجه به این جدول می‌توان دریافت تقریبا در تمامی مراحل نتایج با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند و با افزایش زمان تخمیر میزان نیتروژن آمینواسیدی افزایش یافته است.

جدول ۵- تغییرات نیتروژن آمینواسیدی نمونه‌های سس ماهی بر حسب گرم بر لیتر در حین مراحل مختلف تخمیر

زمان تخمیر (روز)	۹	۱۸	۲۷	۳۶	۴۵	۵۴
تغییرات نیتروژن آمینواسیدی	±۳/۹۴ ^{e}۰/۰۲۴	±۶/۶۴ ^{d}۰/۰۱۷	±۷/۶۴ ^{c}۰/۳۴۲	±۷/۵۲ ^{c}۰/۲۹۵	±۸/۴ ^{b}۰/۰۲۵	±۱۰/۱۸ ^{a}۰/۰۵

*هر عدد میانگین سه تکرار (±SD) است.

**حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین میانگین ها می باشد ($P \leq ۰/۰۵$).

تغییرات تری‌متیل‌آمین بر حسب میلی‌گرم در صد گرم نمونه در جدول شماره ۶ نشان داده شده است. نتایج جدول ۶ نشان می‌دهد در مراحل آغازین تخمیر میزان تری‌متیل‌آمین نمونه‌ها افزایش و پس از روز بیست‌وهفتم دچار کاهش شده است و تایج تقریبا در تمامی مراحل تخمیر با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند.

جدول ۶- تغییرات تری‌متیل‌آمین نمونه‌های سس ماهی بر حسب میلی‌گرم در صد گرم نمونه در حین مراحل مختلف تخمیر

زمان تخمیر (روز)	۹	۱۸	۲۷	۳۶	۴۵	۵۴
تغییرات تری‌متیل‌آمین	±۸/۴۰ ^{d}۰/۱۴	±۱۴/۷۹ ^{a}۰/۴۰	±۱۵/۳۲ ^{a}۰/۱۹	±۱۲/۱۸ ^{b}۰/۲۸	±۹/۴۴ ^{c}۰/۶۳	±۳/۸۱ ^{e} ۰/۵۷

*هر عدد میانگین سه تکرار (±SD) است.

**حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین میانگین ها می باشد ($P \leq ۰/۰۵$).

تغییرات شمارش کلی باکتری‌ها بر حسب log CFU/ml در جدول شماره ۷ نشان داده شده است. نتایج این جدول نشان می‌دهد پس از افزایش شمار باکتری‌ها در مراحل ابتدایی تخمیر به تدریج از شمار آن‌ها کاسته شده است به‌طوری‌که تقریبا اختلاف معنی‌داری تا روز سی‌وششم مشاهده نشده و تنها در دو مرحله پایانی شمارکلی باکتری‌ها با کاهش نسبتا زیاد و معنی‌داری همراه بوده است.

جدول۷-تغییرات میکروبی نمونه‌های سس ماهی بر حسب log cfu/g در طی مراحل مختلف تخمیر

زمان تخمیر (روز)	۹	۱۸	۲۷	۳۶	۴۵	۵۴
تغییرات شمارش کلی باکتری‌ها (log cfu/ml)	±۶/۵۲ ^{a}۰/۴۷	±۶/۷۱ ^{a}۰/۳۳	±۶/۴۶ ^{a}۰/۲۱	±۵/۷۱ ^{ab}۰/۶۲	±۴/۸۲ ^{b}۰/۴۰	±۲/۰۵ ^{c}۱/۱۷

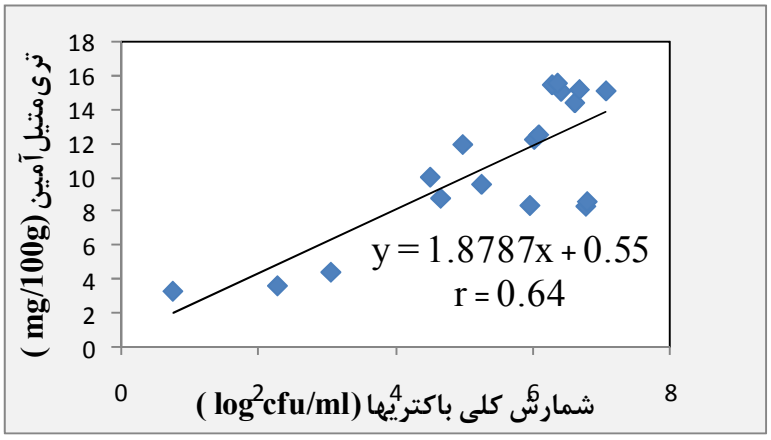
*هر عدد میانگین سه تکرار (±SD) است.

**حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین میانگین ها می باشد ($P \leq ۰/۰۵$).

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

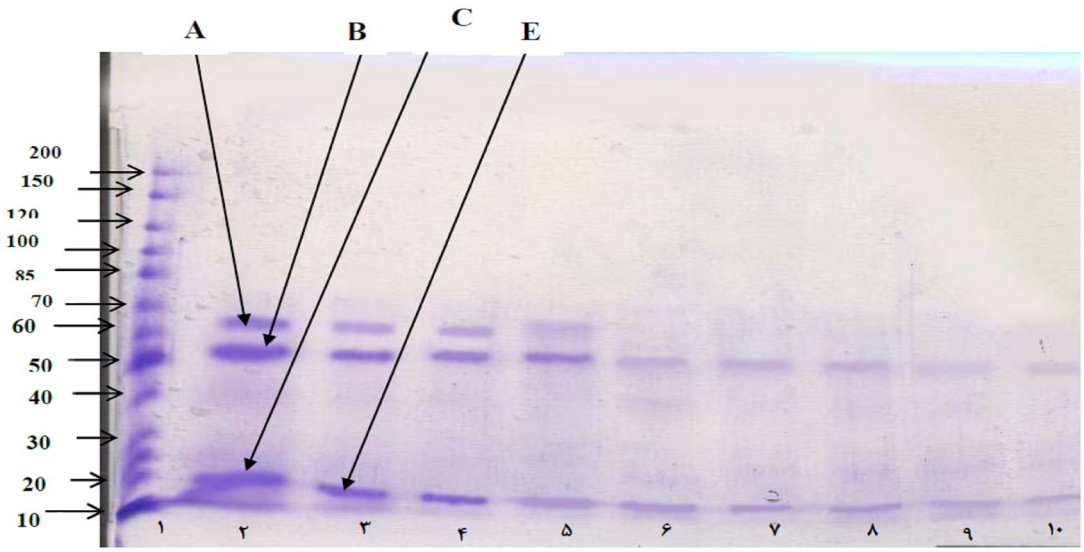
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]

ضریب همبستگی پیرسون بین تغییرات شمارش کلی باکتری‌ها و تری‌متیل‌آمین ۰/۸ بود (r=0.80, N=18, *P*=0.000) و نمودار ۱ نیز نشان دهنده قدرت پیش‌بینی کنندگی تغییرات تری‌متیل‌آمین توسط تغییرات تعداد کلی باکتری‌هاست.



نمودار۲-رابطه خطی بین تغییرات تری‌متیل‌آمین و شمارش کلی باکتری‌ها

در شکل ۱ تغییرات الگوی باندهای پپتیدی نمونه‌های سس ماهی در مراحل مختلف تخمیر (روز ۹، ۱۸، ۲۷، ۳۶، ۴۵ و ۵۴) بر روی الکتروفورز SDS-PAGE در مقایسه با مارکر استاندارد پروتئین نشان داده شده است. در جدول ۸ وزن مولکولی باندهای شناسایی شده با استفاده از رسم نمودار مارکر استاندارد به صورت تقریبی محاسبه شده‌اند.



شکل ۱– الگوی SDS- PAGE نمونه‌های سس ماهی در مراحل مختلف تخمیر

ستون۱: استاندارد (مارکر)؛ ستون ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ به ترتیب از چپ به راست: سس تخمیری ماهی (مرحله اول تا ششم تخمیر)؛ ستون ۸، ۹، ۱۰ به ترتیب از چپ به راست: تکرار نمونه سس ماهی مرحله ششم تخمیر

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]

جدول ۸- وزن مولکولی تقریبی پروتئین‌ها و شناسایی احتمالی باندهای موجود در الگوی SDS- PAGE نمونه‌های سس ماهی در مراحل مختلف تخمیر

شناسایی احتمالی	وزن مولکولی محاسبه شده (KDa)	باند
پروتئیناز	۶۰	A
اکتین	۴۴/۴	B
زنجیره سبک میوزین[۲]	۱۹/۹	C
زنجیره سبک میوزین	۱۶/۸	E

نتایج ارزیابی حسی نمونه‌ها (رنگ، طعم، بو و ارزیابی کلی) در طی مراحل تخمیر در جدول شماره ۹ نشان داده شده است.

جدول ۹-تغییرات ارزیابی حسی نمونه‌های سس ماهی در طی مراحل مختلف تخمیر

زمان تخمیر (روز) (_)	۹	۱۸	۲۷	۳۶	۴۵	۵۴
رنگ	±۲/۰۸ ^{f}۰/۱۸	±۲/۴۰ ^{e} ۰/۴۶	±۲/۷۰ ^{d}۰/۵۸	±۳/۹۶ ^{a}۰/۴۲۰	±۳/۴۰ ^{b}۰/۱۳۳	±۳/۱۰ ^{c}۰/۴۰
طعم	±۲/۳ ^{e}۰/۶۵	±۲/۲۶ ^{e} ۰/۷۱	±۲/۵۰ ^{d}۰/۶۳	±۲/۸۰ ^{c}۰/۹۲	±۳/۴۱ ^{b}۰/۵۲	±۳/۶۵ ^{a}۰/۸۳
بو	±۱/۳۰ ^{d}۰/۸۰	±۱/۲۳ ^{d} ۰/۳۳	±۱/۲۴ ^{d}۰/۶۲	±۱/۶۴ ^{c}۰/۵۳	±۲/۲۵ ^{b}۰/۴۸	±۲/۵۳ ^{a}۰/۷۹
ارزیابی کلی	±۱/۸۹ ^{d}۰/۵۴	±۱/۹۷ ^{d} ۰/۵۰	±۲/۱۴ ^{c}۰/۶۱	±۲/۸۰ ^{b}۰/۶۲	±۳/۰۲ ^{a}۰/۳۸	±۳/۰۸ ^{a}۰/۶۸

*هر عدد میانگین سه تکرار (±SD) است.

**حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین میانگین ها می باشد ($P\leq$ ۰/۰۵)

[۲] Troponin

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]

بحث:

نیتروژن کل در سس ماهی درواقع ترکیبات نیتروژنی پروتئینی و غیرپروتئینی است، اسیدهای آمینه آزاد، نوکلئوتیدها، پپتیدها، ترکیبات آمونیاکی، اوره و تری‌متیل‌آمین اکسید از جمله این ترکیبات هستند. این ترکیبات نقش عمده‌ای در ایجاد عطر و طعم خاص محصولات شیلاتی دارند (Finne, 1992; Shahidi, 1994).

نتایج نشان داد که میزان نیتروژن کل نمونه‌های سس ماهی در مراحل مختلف تخمیر با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند و با افزایش زمان تخمیر میزان نیتروژن کل رو به افزایش است. دلیل این افزایش نیتروژن مربوط به تغییرات ایجاد شده در حین فرآیند تخمیر است زیرا در حین فرآیند تخمیر آنزیم‌های داخلی بدن ماهی و آنزیم‌های پروتئولیزکننده فلور میکروبی ماهی، نمک اضافه شده و حتی ظروف سفالی نقش ویژه‌ای در شکستن پروتئین‌های بافت ماهی و تبدیل آن‌ها به ترکیبات آزاد نیتروژنی دارند.

در سال ۲۰۰۱، Gildberg و همکاران علت تجزیه پروتئین‌های ماهی در حین فرآیند سس ماهی را حضور آنزیم‌های پروتئولیتیکی موجود در بافت‌های ماهی خصوصاً دستگاه گوارش ماهی و همچنین پروتئینازهای تولید شده توسط باکتری‌ها نمک دوست عنوان کردند عمدتا آنزیم‌های دخالت کننده در ایجاد سس ماهی پروتئازهای اسیدی شبیه به ترپیسین و پروتئازهای داخلی و خارجی طبیعی موجود در بافت خود ماهی هستند.

در سال ۱۳۸۷، شکیب میزان ترکیبات نیتروژنی نمونه‌های سس ماهی ساردین را در حین فرآیند تخمیر سه ماهه مورد بررسی قرار داد، تحقیقات این محقق نشان داد با افزایش زمان تخمیر میزان ترکیبات نیتروژنی کل به طور معنی‌دار افزایش یافته است و در انتهای روز نودم میزان این ترکیبات به ۲۲۴ میلی‌گرم در صد گرم نمونه سس ماهی رسیده است.

طبق استاندارد سس ماهی در تایلند، سس ماهی با محتوی نیتروژن کل بالاتر از ۲۰ گرم بر لیتر به عنوان سس ماهی درجه ۱، حاوی ۲۰-۱۵ گرم بر لیتر نیتروژن کل به عنوان سس ماهی درجه ۲ و سس ماهی حاوی نیتروژن کل کم‌تر از ۱۵ گرم بر لیتر به عنوان سس ماهی درجه ۳ محسوب می‌شود بنابراین با توجه به نتایج جدول ۱ مهیاوه در دسته سس ماهی درجه ۱ قرار می‌گیرد (Dissaraphong *et al*., 2006).

نتایج جدول ۳-۲ نشان داد میزان نیتروژن فرمالینی تقریبا در مراحل مختلف با یکدیگراختلاف معنی‌دار دارند و در طی مراحل تخمیر میزانش در حال افزایش است و این بدان معناست که هیدرولیز پروتئین‌ها توسط آنزیم‌های داخلی و میکروبی تا حد بسیار زیادی صورت گرفته است (Tungkawachara *et al*., 2003). تنها در فاصله زمانی مرحله سوم و چهارم تخمیر اختلاف چشمگیر ی در میزان نیتروژن فرمالدهیدی مشاهده نشده که آن می‌تواند به علت کاهش جزئی هیدرولیز پروتئین‌ها باشد دلیل این امر احتمالا مربوط به کاهش شمار باکتری‌ها و میزان آنزیم‌های پروتئولیز باکتریایی مثل تریپسین به علت اثر بازدارندگی نمک و شرایط بی‌هوازی تخمیر است.

از ازت فرمالدهیدی (نیتروژن فرمالینی) به عنوان شاخص رایج درجه هیدرولیز پروتئین استفاده می‌شود (Chaveesuk *et al*., 1993) فرمالدهید با اسیدهای آمینه واکنش داده و سبب آزاد شدن یک یون هیدروژن (H^+) از گروه آمینی شده که این یون های هیدروژن آزاد شده با محلول هیدروکسید سدیم تیتر می‌شوند. بنابراین میزان نیتروژن فرمالدهیدی برای اندازه‌گیری محتوی کل اسیدهای آمینه آزاد مفید است (Klomklao *et al*., 2006).

در غذاهای تخمیری میزان ازت فرمالدهیدی عمدتا اهمیت زیادی به عنوان شاخص رسیدن، فساد و ایجاد طعم و مزه مطلوب محصولات تخمیری دارد در واقع ازت فرمالدهیدی یک شاخص مهم برای طبقه‌بندی کیفی سس ماهی در چین است. طبق استاندارد سس ماهی تایلند، میزان نیتروژن اسید آمینه‌ای بایستی حداقل ۴۰٪ میزان ازت کل باشد. (Byun *et al*., 2000). طبق نتایج تحقیق حاضر نیتروژن فرمالینی محصول نهایی تقزیبا معادل ۵۰٪ میزان ازت کل است از این رو می‌توان گفت محصول از نظر این شاخص از کیفیت مطلوبی برخوردار است.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]

با مشاهده نتایج جدول ۳-۳ می‌توان نتیجه گرفت میزان ترکیبات نیتروژنی فرار نمونه‌های سس ماهی در مراحل مختلف تخمیر تا روز چهل‌و پنجم به صورت چشمگیری افزایش یافته است و اعداد گزارش شده در هر مرحله با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند.

نیتروژن آمونیاکی یکی از مهم‌ترین پارامترهای ارزیابی کیفیت ماهی است. ترکیبات نیتروژنی فرار شامل ترکیباتی مثل تری‌متیل‌آمین، دی‌متیل‌آمین، آمونیاک و سایر ترکیبات نیتروژنی فرار است. نیتروژن آمونیاکی یا همان ترکیبات ازته فرار که جزئی از ترکیبات نیتروژنی غیرپروتئینی سس ماهی است حاصل شکسته‌شدن پروتئین‌های محلول و پپتیدها به اسیدهای آمینه آزاد و ازت فرار هستند. افزایش میزان ازت آمونیاکی می‌تواند به سبب وجود آنزیم‌های ماهی که در حین عملیات تخمیر فعال هستند، باشد (Beddows, Ardeshir & Daud, 2006; Chaveesuk *et al*., 1993).

میزان TVB ماهی آنچوی منتقل شده به آزمایشگاه (یک روز پس از صید و نگه‌داری شده در یخ) ۲۲ mg/100g اندازه‌گیری شد که این مقدار کم‌تر از حداکثر میزان مجاز TVB (حداکثر ۳۰ mg/100g) ماهی‌های تازه بود و در پایان فرآیند تخمیر میزان TVB سس‌ماهی به ۲۲۶ mg/100g رسید که قدری بیش‌تر از حد مجاز این ترکیبات در ماهی‌های نمک‌سود شده (حداکثر مجاز ۲۰۰ mg/100g) بود (Connell, 1975). در مرحله اول و دوم تخمیر عمده‌ترین دلایل افزایش ترکیبات ازته فرار آزاد شدن آنزیم‌های دستگاه گوارش ماهی آنچوی از جمله تریپسین و کیموترپسین پس از صید ماهی و در حین حمل و نقل آن است. البته نقش آنزیم‌های فلور میکروبی طبیعی پوست ماهی و میکروارگانیزم‌های عامل فساد حاصل از دستکاری‌ها و انجمادزدایی ماهی در افزایش ترکیبات نیتروژنی فرار را نمی‌توان نادیده گرفت. از طرفی افزایش ناگهانی و چشمگیر ازت آمونیاکی در مراحل ۳ و ۴ می‌تواند بیشتر به سبب تخریب بافت ماهی و آزاد شدن آنزیم‌های پروتئولیزکننده اندام های داخلی بدن ماهی از جمله سر و دستگاه گوارش ماهی آنچوی که به سرعت در حال تجزیه عضلات اندام‌های داخلی و آزاد کردن ترکیبات آزاد نیتروژنی بویژه آمونیاک هستند، باشد. البته نقش میکروارگانیزم‌های فسادزا در تخریب پروتئین ها در مراحل ۳ و ۴ نسبت به مراحل آغازی کم‌تر است زیرا وجود نمک و ایجاد فشار اسمزی حاصل از آن سبب مرگ یا کاهش فعالیت بسیاری از میکروارگانیزم‌های فسادزا می‌شود و تنها گروههای نمک‌دوست و مقاوم به نمک قادر به فعالیت هستند. در مراحل پایانی که تقریبا تمام بافت ماهی‌ها تخریب شده و فعالیت میکروارگانیزم‌ها به علت وجود غلظت نمک حدود ۲۰٪ محدود شده و از غلظت آنزیم‌های داخلی کاسته شده افزایش ترکیبات نیتروزنی فرار آنچنان چشمگیر نیست و به خصوص در مرحله پایانی که به یک روند ثابت رسیده است و این می‌تواند به علت شرکت این ترکیبات ازته فرار از جمله آمونیاک در واکنش‌هایی از جمله قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی و ایجاد کمپلکس با سایر ترکیبات ایجاد شده در سس ماهی باشد

طبق تحقیقات Xu و همکاران در سال ۲۰۰۷، میزان ترکیبات نیتروژنی فرار در نمونه‌های سس ماهی تهیه شده از ضایعات ماهی اسکوئید در همه مراحل تخمیر افزایش یافت و در پایان روز سی‌ام میزان این ترکیبات نیتروژنی فرار نمونه‌ها به ۳۰۰ mg/100g رسید که این میزان بالاتر از حد مجاز این ترکیبات در نمونه‌های نمک‌سود شده دریایی (حداکثر ۲۰۰ mg/100g) بود.

میزان آمینونیتروژن نمایانگر میزان گروه‌های اول آمینواسیدی در سس ماهی است. افزایش غلظت نیتروژن آمینواسیدی وابسته به میزان تجزیه و شکستن پلی‌پپتیدها است (Tungkawachara *et al*., 2003). طبق استاندارد سس ماهی تایلند، میزان نیتروژن اسید آمینه‌ای بایستی حداقل ۴۰٪ میزان ازت کل باشد. طبق نتایج ارائه شده در جدول ۳-۴، میزان ازت آمینواسیدی در مراحل مختلف در حال افزایش است و میزانشان تقریبا ۴۰٪ میزان ازت کل در هر مرحله است و این نشان می‌دهد ترکیبات نیتروژنی به قطعات کوچک‌تر بویژه به اسیدهای آمینه شکسته شده‌اند، تنها در مرحله روز سی‌وششم یک کاهش جزئی مشاهده شده که آن مربوط به افزایش بیش از حد ترکیبات نیتروژنی فرار در مقابل نیتروژن فرمالینی باشد.

تری‌متیل‌آمین یک آمین تند فرار است و عمدتا عامل ایجاد بوی خاص محصولات دریایی است. میزان تری‌متیل‌آمین ماهی

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]

آنچوی تازه نگه‌داری شده در یخ mg/100g ۲ است که زیر بیش‌ترین مقدار مجاز تری‌متیل‌آمین در محصولات دریایی بود (عمدتا میزان تری‌متیل‌آمین در ماهی تازه کم‌تر از mg/100g ۸ است). پس از اینکه ماهی آنچوی همراه با آب نمک وارد کوزه‌های سفالی شد و تحت فرآیند تخمیر قرار گرفت میزان تری‌متیل‌آمین نمونه‌ها تا روز ۲۷ افزایش یافت و این افزایش تری‌متیل‌آمین می‌تواند یکی از مهم‌ترین دلایل ایجاد بوی نامطلوب و تند و تیز سس ماهی باشد. همانطور که گفته شد دلیل ایجاد تری‌متیل‌آمین احیای ترکیب غیر فرار و بی‌بو تری‌متیل‌آمین اکسید به ترکیب فرار تری‌متیل‌آمین و دی‌متیل‌آمین[۳] است که بوی شدید شبیه به آمونیاک دارد و باکتری‌های فسادزا نقش اساسی را در این تبدیل ایفا می‌کنند (Pearson & Cox, 1976). در فرآیند تخمیر سس ماهی در مراحل اولیه میزان بالای باکتری موجود در نمونه سبب افزایش این ترکیب فرار شده و پس از آن نمک موجود در نمونه‌ها با ایجاد فشار اسمزی نقش بازدارندگی خود را بر میزان باکتری‌ها که اکثرا قادر به رشد و ادامه فعالیت در این میزان بالای نمک نیستند ایفا کرده و احتمالا سبب کاهش میزان باکتری‌ها از روز ۲۷ به بعد شده که تاثیر این کاهش تقریبا به‌طور مستقیم در میزان تری‌متیل‌آمین نمونه‌ها دیده می‌شود زیرا از روز بیست و هفتم به بعد میزان تری‌متیل‌آمین نمونه‌ها کاهش یافته و در مرحله نهایی تخمیر (روز پنجاه و چهارم) به کم‌ترین مقدار خود (mg/100g ۳/۸۱) در طی مراحل تخمیر رسیده است که این میزان تفاوت آشکاری با حد مجاز تری‌متیل‌آمین در محصولات دریایی (mg/100g ۸-۶) داشت و نشان‌دهنده کیفیت مطلوب سس ماهی از نظر این شاخص بود، همچنین مشابه این تغییرات در شمارش کلی باکتری‌ها مشاهده شد.

نتایج تحقیقات حاضر مشابه با نتایج Kilinc و همکارانش در سال ۲۰۰۶ بود. آن‌ها گزارش کردند تری‌متیل‌آمین نمونه‌های سس ماهی تولید شده از ماهی ساردین تا روز بیست و هفتم افزایش و پس از آن به علت کاهش شمار باکتری‌ها در تمامی مراحل بعدی تخمیر کاهش یافتند.

نتایج جدول ۳-۶ نشان می‌دهد با افزایش زمان تخمیر تقریبا در تمام مراحل شمارش کلی باکتری‌ها در حال کاهش است بطوریکه از میانگین (±SD) 'غلظت اولیه log cfu/ml ۶/۵۲±۰/۴۷ به log cfu/ml ۲/۰۵±۱/۱۷ کاهش یافته است. شمارش میانگین (±SD)کلی باکتریای‌های مزوفیل در ماهی نگه‌داری شده در یخ و منتقل شده به آزمایشگاه جهت تهیه سس ماهی ۰/۷± ۶/۰۸ بود و این میزان پس از قراردادن ماهی‌ها در محلول آب نمک و انجام عملیات تخمیر در دمای C° ۳۷ که مناسب جهت رشد باکتری‌ها است در روزهای ابتدایی افزایش یافت، بویژه در مراحل اول و دوم با وجود قرار گرفتن نمونه‌ها در نمک هم‌چنان شمار کلی باکتری‌ها افزایش یافته است. از مرحله سوم به بعد کاهش تدریجی در تعداد کلی باکتری‌های مزوفیل مشاهده شد. دلیل احتمالی بالا بودن شمارش کلی باکتری‌ها در مراحل اولیه تخمیر به سبب شمارش بالای میکروارگانیزم‌های طبیعی و فسادزای موجود در ماهی است و چون در مراحل اولیه نمک هنوز به خوبی در بافت و عضلات ماهی نفوذ نکرده و اثر ممانعت‌کنندگی بر رشد میکروارگانیزم‌ها نداشته شمار کلی باکتری‌ها بالاست، از طرف دیگر بسیاری از محققان افزایش شمار باکتری‌ها در روزهای ابتدایی تخمیر به علت افزایش رشد و تکثیر باکتری‌های تحمل کننده نمک دانسته‌اند (Paludan-Müller et al., 2002). اما از مرحله سوم به بعد به علت ایجاد فشار اسمزی ناشی از آب‌نمک اشباع، کمبود مواد مغذی و انباشته شدن متابولیت‌ها میکروارگانیزم‌ها قادر به رشد در این فشار اسمزی نبوده و به کاهش تدریجی ادامه می‌دهند و پس از مرحله پنجم کاهش فعالیت آبی[۴] و افزایش اثر فشار اسمزی به حدی رسیده که باکتری‌ها توان تحمل این تغییرات را نداشته و میزانشان بطور چشمگیری کاهش یافته است. بطورکلی می‌توان گفت نمک به عنوان تنها عامل نگه‌دارنده سبب کاهش رشد میکروارگانیزم‌های فسادزا، بیماری‌زا، پروتئولیتیکی و حتی باکتری‌های تحمل کننده نمک گردیده است.

در سال ۲۰۰۲، Lopetchart و همکاران دلیل احتمالی کاهش شدید میزان باکتری‌های هوازی و پروتئولیتیکی موجود

[۳] DMA

[۴] Water activity (a_w)

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]

در سس ماهی را غلظت بالای نمک و فشار اسمزی ناشی از آن دانستند.

در سال ۲۰۰۳، Oetterer و همکاران با مطالعه میزان باکتری‌های مزوفیلیک ماهی آنچوی طی فرآیند تخمیر بیان کردند بعد از گذشت ۳۰ روز از فرآیند تخمیر، میزان باکتری‌ها نسبت به روز ابتدایی کاهش پیدا کرد. ایشان دلیل این کاهش شمار باکتریایی را افزایش اسیدیته، کاهش میزان pH، کم شدن مواد غذایی در دسترس و افزایش رقابت بین باکتری‌ها بویژه با باکتری‌های نمک‌دوست بیان کردند.

وجود ضریب همبستگی پیرسون نسبتا بالای ۰/۸ نشان دهنده وجود ارتباط و همبستگی بین تغییرات تری‌متیل‌آمین و شمارش باکتری‌هاست. وجود ضریب همبستگی نسبتا بالا بین این دو متغیر تایید کننده نقش مهم باکتری‌ها در احیای ترکیب تری‌متیل‌آمین اکسید به ترکیب فرار و دارای بوی تند و شدید تری‌متیل‌آمین است. .نتایج ما تقریبا مشابه با تحقیق بسیاری از محققان از جمله Kilinc در سال ۲۰۰۶ بود که وجود ارتباط احتمالی بین تغییرات تری‌متیل‌آمین و شمار باکتری‌ها را تایید کرده‌اند. علیرغم وجود همبستگی نسبتا بالا معادله خطی بدست آمده $y=1.88x+0.55$ به سبب داشتن ضریب خطی نسبتا پایین ۰/۶۴ نمی‌تواند آن‌چنان موثر در پیش‌بینی تغییرات تری‌متیل‌آمین باشد.

همانطور که نتایج الکتروفورز نشان می‌دهد در روز نهم (مرحله اول) تخمیر چهار باند پروتئینی با وزن‌های مولکولی ۱۶/۸، ۱۹/۹، ۴۴/۴ و ۶۰ کیلودالتون در نمونه سس ماهی مشاهده شد که عمدتا مربوط به پروتئین میوفیبریلار اکتین و میوزین با زنجیره سبک بودند. پس از مرحله اول با افزایش زمان تخمیر از شدت باند A کاسته شد و به تدریج از مرحله چهارم به بعد ناپدید شدند، هم‌چنین از شدت باندهای B که احتمالا مربوط به پروتئین اکتین بود کاسته شد و این به معنای کم شدن غلظت این پپتیدها بود.

به‌طور کلی کاهش تعداد باندها در طی مراحل تخمیر را می‌توان به سبب دناتوره شدن پروتئین‌ها و تبدیل آن‌ها به پپتیدهایی با وزن مولکولی کم‌تر، ترکیبات نیتروژنی محلول، آمینواسیدها، نوکلئوتیدها و سایر ترکیبات آزاد نیتروژنی مثل اوره، آمونیاک در اثر فعالیت آنزیم‌های داخلی بدن ماهی و آنزیم های فلور میکروبی موجود در سس ماهی دانست. بنابراین نتایج الکتروفورز به نوعی تایید کننده سایر تغییرات موجود در سس ماهی از جمله افزایش ترکیبات نیتروژنی مثل نیتروژن آمینواسیدی و افزایش غلظت اسیدهای آمینه در حین فرآیند تخمیر بود.

نتایج الگوی الکتروفورز تحقیق Yin و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی ماهی ماکرل چرخ شده تخمیری توسط لاکتیک اسید باکتری‌ها نشان داد علاوه بر آنزیم‌های پروتئولیز کننده میکروبی، آنزیم‌های پروتئاز داخلی بدن ماهی کاتپسین ترشح شده از لیزوزم سبب کاهش باندهای پروتئینی و افزایش تولید ترکیبات نیتروژنی محلول و اسیدهای آمینه شده است، بطوری‌که پس از ۷۲ ساعت از زمان تخمیر تقریبا هیچ باند پروتئینی در الگوی الکتروفورز ماهی ماکرل مشاهده نشد.

از نظر مصرف کنندگان، فرآیند تخمیر سبب افزایش معنی‌دار در امتیازات مربوط به طعم سس ماهی شده است.علت افزایش طعم سس ماهی در طی فرآیند تخمیر را می‌توان مرتبط با افزایش ترکیبات طعم‌دار حاصل از فرآیند تخمیر دانست. مهم‌ترین مشکلی که در کلیه نمونه‌ها وجود داشته این بوده است که در این نمونه ها عطر و رایحه مخصوص سس ماهی دارای کم‌ترین امتیازات در بین امتیازات ارزیابی حسی نمونه‌ها بوده است. شاید دلیل آن این است که نمونه های سنتی پس از تولید با ادویه‌های مختلف از جمله خردل، آویشن، جوز، زردچوبه و... مخلوط می شوند. افزودن ادویه‌ها به سس ها در انتهای عملیات تخمیر می‌تواند سبب ایجاد رایحه مخصوص و کاهش بوی نامطلوب سس ماهی شود. ولی هدف از این تحقیق بررسی تغییرات شیمیایی سس ماهی در طی زمان تخمیر و بررسی ارزیابی حسی این نمونه‌ها بدون افزودن ادویه بود. در بررسی فاکتور بو در مراحل ابتدایی تخمیر نمونه‌ها امتیازات بسیار کم‌تری نسبت به مراحل انتهایی بدست آوردند علت بهبود بوی محصول بعد از روز بیست و هفتم را می‌توان مرتبط با کاهش میزان تری‌متیل‌آمین نمونه‌ها دانست. مصرف کنندگان نشان دادند افزایش زمان تخمیر سبب بهبود رنگ محصول تا روز سی و ششم شده است ولی پس از این مرحله به علت پررنگ‌تر شدن

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]

رنگ محصول امتیازات مربوط به این فاکتور با کاهش مواجه شده است بنابراین نتایج حاصله مشخص کرد که روشن بودن و کم‌رنگ بودن محصول نهائی پارامتری مطلوب محسوب می شود و مشتریان ترجیح می دهند رنگ سس روشن باشد.. علت تیره شدن رنگ محصول در حین فرآیند تخمیر می‌تواند به علت افزایش اکسیداسیون چربی‌های ماهی آنچوی و در نتیجه تولید ترکیبات حاصل از اکسیداسیون و تجزیه چربی‌ها و میل ترکیبی آن‌ها برای ترکیب شدن با پپتیدها و اسیدهای آمینه آزاد در چارچوب واکنش قهوه‌ای غیرآنزیمی باشد. بنابراین سس ماهی‌های مرحله پنجم و ششم بهترین کیفیت و سس ماهی‌های مرحله اول و دوم کم‌ترین کیفیت را از نظر ارزیابی حسی کلی دارا بودند.

این مطالعه به منظور بررسی فرآیند تخمیر، تغیرات ایجاد شده در سس ماهی آنچوی ایرانی (مهیاوه) و هم‌چنین ارزیابی کیفیت محصول نهایی انجام گرفت. با آنالیز و بررسی نتایج به دست آمده مشخص شد کلیه ترکیبات نیتروژنی در طول زمان تخمیر افزایش یافته‌اند. میزان نیتروژن کل موجود در سس ماهی مهمترین پارامتر فیزیکوشیمیائی تعیین کننده کیفیت و قیمت محصول نهائی است. از این رو سس ماهی تحقیق حاضر با دارا بودن بیش از ۲۵ گرم بر لیتر نیتروژن کل جز سس‌های ماهی درجه یک محسوب می‌شود. فرآیند تخمیر در نهایت باعث کاهش بارمیکروبی و میزان تری‌متیل‌آمین نمونه‌ها گردید به‌طوری‌که میزان تری‌متیل‌آمین نمونه‌ها به حد مطلوب این ترکیبات در محصولات دریایی رسید . فرآیند تخمیر سس ماهی سبب تجزیه شدن کلیه باندهای پروتئینی و شکسته آن‌ها به پپتیدهای کوچک‌تر، اسیدهای آمینه و افزایش ارزش تغذیه‌ای محصول گردید. در نهایت فرآیند تخمیر ماهی آنچوی همراه با نمک سبب بهبود فاکتورهای ارزیابی حسی این محصول از نظر مصرف‌کنندگان گردید.

منابع:

شکیب، ع. و موسوی‌نسب، م.،۱۳۹۲. تولید سس ماهی ایرانی (عصاره تخمیری سورو) با استفاده از ماهی حشینه (*Dussumieria acuta*) خشک و بررسی خواص شیمیائی آن. مجله علمی شیلات ایران، سال بیست و دوم، شماره ۱، صفحات ۴۹ تا۶۰.

معینی، س. و کوچکیان صبور، ا.،۱۳۸۲. تولید سس از کیلکای دریای خزر به روش سنتی و صنعتی با استفاده از آنزیم‌ها و باکتری‌های پروتئولیتیک. مجله علمی شیلات ایران، سال دوازدهم، شماره ۲، صفحات ۷۹ تا ۹۴.

مرادی‌زاده فرد، ح.؛ جلالیان، م.و شعبانپور، ب.،۱۳۹۰. تاثیر عصاره سیر بر خواص شیمیایی، میکروبی و حسی مهوه تولیدی از ماهی آنچوی *(Stolephorus indicus)* تازه و خشک. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، دوره هشتم، شماره۳۰، صفحات ۱۱ تا ۱۹.

Al-Jedah J.H., Ali M.Z., Robinson R.K., 2000. The inhibitory action of spices against pathogens that might be capable of growth in a fish sauce (mehiawah) from the Middle East. International Journal of Food Microbiology, 57(1): 129-133.

Antonacopoulos N., Kiermeier F., Schormuller J., 1968. Handbuch der Lebensmittelchemie (Handbook of food chemistry). Berlin: Springer-Verlage.

AOAC. 2000. Official methods of analysis, 17th edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.

Beddows C.G., 1985. Fermented fish and fish products. *In:* Wood BG (ed) Microbiology of fermented foods. pp. 1-39.

Beddows C.G., Ardeshir A.G., Daud W. J. B., 2006. Development and origin of the volatile fatty acids in budu. Journal of the Science of Food and Agriculture, 31(1): 86-92.

Byun M.W., Lee K.H., Kim D.H., Kim J.H., Yook H.S., Ahn H.J., 2000. Effects of gamma

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]

Jiang J.J., Zeng Q.X., Zhu Z.W., Zhang L.Y., 2007. Chemical and sensory changes associated Yu-lu fermentation process: A traditional Chinese fish sauce. Food Chemistry, 104(4): 1629-1634.

Kilinc B., Cakli S., Tolasa S., Dincer T., 2006. Chemical, microbiological and sensory changes associated with fish sauce processing. European Food Research and Technology, 222(5-6): 604-613.

Klomklao S., Benjakul S., Visessanguan W., Kishimura H., Simpson B.K., 2006. Effects of the addition of spleen of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) on the liquefaction and characteristics of fish sauce made from sardine (*Sardinella gibbosa*). Food Chemistry, 98(3): 440-452.

Laemmli U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. Nature, 227: 680- 685.

Lopetcharat K., Park J.W., 2002. Characteristics of fish sauce made from Pacific Whiting and surimi by-products during fermentation stage. Journal of Food Science, 67(2): 511-516.

Oetterer M., Perujo S.D., Gallo C.R., de Arruda L.F., Borghesi R., da Cruz A.M.P., 2003. Monitoring the sardine (*Sardinella brasiliensis*) fermentation process to obtain anchovies. Scientia Agricola, 60(3): 511-517.

Pearson D., Cox H.E., 1976. The chemical analysis of foods. Churchill Livingstone.

Shahidi F., 1994. Proteins from seafood processing discards. *In*: Sikorski ZE, Pan BS, Shahidi F radiation on sensory qualities, microbiological and chemical properties of salted and fermented squid. Journal of Food Protection, 63(7): 934-939.

Chaveesuk R., Smith J., Simmpson B. K., 1993. Production of fish sauce and acceleration of sauce fermentation using proteolytic enzymes. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2(34): 59-77.

Chindapan N., Devahastin S., Chiewchan N., 2010. Effect of electrodialysis pretreatment on physicochemical properties and morphology of spray-dried-fish sauce powder. Journal of Food Engineering, 99: 31–39.

Dissaraphong S., Benjakul S., Visessanguan W., Kishimura H., 2006. The influence of storage conditions of tuna viscera before fermentation on the chemical, physical and microbiological changes in fish sauce during fermentation. Bioresource Technology, 97 (16): 2032-2040.

Finne G., 1992. Non- protein nitrogen compounds in fish and selfish. *In*: Flick JG, Martin RE (eds) Advanced in seafood biochemistry, composition and quality, pp. 393-401: Lancaster, Technomic publishing, pp. 393-401.

Gildberg A., 2001. Utilisation of male Arctic capelin and Atlantic cod intestines for fish sauce production -evaluation of fermentation conditions. Bioresource Technology, 76(2): 119-123.

Jay J.M., Loessner M.J., Golden D.A., 2005. Modern food microbiology. Springer, pp. 178-179.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]

(eds) Seafood protein. NewYork, Chapman and Hall, pp. 171-193.

Shahidi F., Botta J.R., 1994. Seafoods: chemistry, processing technology and quality. Blackie Academic and Professional, pp. 4-73.

Smith J., Jones M. Jr, Houghton L., 1999. Future of health insurance. The New England Journal of Medicine, 965: 325–329.

Tungkawachara S., Park J.W., Choi Y.J. 2003. Biochemical properties and consumer acceptance of pacific whiting fish sauce. Journal of Food Science, 68(3): 855-860.

Paludan-Müller C., Madsen M., Sophanodora P., Gram L., Møller P.L., 2002. Fermentation and microflora of plaa-som, a Thai fermented fish product prepared with different salt concentrations. International Journal of Food Microbiology, 73(1): 61-70.

Xu W., Yu G., Xue C., Xue Y., Ren Y., 2008. Biochemical changes associated with fast fermentation of squid processing by-products for low salt fish sauce. Food Chemistry, 107: 1597-1604.

Yin L. J., Pan C. L., Jiang S. T., 2006. Effect of lactic acid bacterial fermentation on the characteristics of minced mackerel. Journal of Food Science, 67(2): 786-792.

Yuen S.K., Yee C.F., Anton A., 2009. Microbial characterization of Budu, an indigenous Malaysian fish sauce. Borneo Science, 24: 24-35.

Weng T. M., Chen M. T., 2010. Changes of protein in Natto (a fermented soybean food) affected by fermenting time. Food science and technology research, 16(6): 537-542.

Zarei M., Najafzadeh H., Eskandari M.H., Pashmforoush M., Enayati A., Gharibi D., Fazlara A., 2012. Chemical and microbial properties of mahyaveh, a traditional Iranian fish sauce. Food Control, 23(2): 511-514.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]

Evaluation of nitrogenous compounds, microbial changes and electrophoresis pattern during fermentation of Mahyaveh, the Iranian traditional fish sauce

Sayedeh Fatemeh Moayedi.[1] and Marzieh Moosavi-Nasab.[2]*

1, 2-college of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

mousavi@shirazu.ac.ir

Received: August 2013 Accepted: November 2013

Keyword: Mahyaveh, Fish sauce, Nitrogenous compounds, Total aerobic bacterial count, SDS-PAGE

Abstract

Mahyaveh, the Iranian traditional fish sauce is a product with distinct flavor that is produced by fermentation of small and underutilized fish species in the presence of high salt concentration. Fish sauce is mainly used as food flavoring and seasoning in the southern provinces of Iran such as Hormozgan and Fars. In this research, the process of Mahyaveh preparation from the Persian Gulf anchovies was performed in the lab. Fish sauce was prepared by incubating mixtures of anchovies and saturate brine in the pottery containers at 37 □ C during 54 days of fermentation. The total changes in bacterial count and nitrogenous compounds were investigated in all of six stages of fermentation. The results showed that the total nitrogenous compounds including formaldehyde nitrogen, amino acid and volatile nitrogen increased sharply during the periods of fermentation but trimethylamine contents dramatically reduced in the final stage after increasing moderately in the early stages of fermentation. High Pearson correlation (r=0.8) between total bacterial count and trimethylamine confirmed the existence of relationship between these variables in the process of fish sauce fermentation. The results of SDS-PAGE pattern showed that the number and intensity of protein bands were reduced during fermentation time.

**Corresponding author*

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.3.13.6]