ویژگی های میکروبی و بیوشیمیایی سوسیس تخمیری تهیه شده از گوشت ماهی کپور معمولی با تکنیک تلقیح باکتری *Pediococcus pentosaceus* در دماهای مختلف انکوباسیون

عاطفه علی نژاد[۱]؛ سید علی جعفرپور[۲]*؛ سکینه یگانه[۳]و رضا صفری[٤]

a.jafarpour@sanru.ac.ir

۲،۱و۳- گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری صندوق پستی: ۵۱۷

٤- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری صندوق‌پستی:۹٦۱

تاریخ دریافت: فرودین ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش:تیر ۱۳۹۲

چکیده

سوسیس‌های تخمیری گروهی از فرآورده‌های گوشتی محسوب می‌شوند که در جهان سهم قابل توجهی را بخود اختصاص داده‌اند. در این مطالعه برای اولین بار در ایران امکان تولید سوسیس تخمیری از گوشت ماهی کپور معمولی با بکارگیری باکتری *Pediococcus pentosaceus* و تلقیح آنها در درجه حرارت‌های ۱۵، ۲۵، ۳۵ درجه سانتیگراد مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تولید سوسیس تخمیری کپور معمولی از گوشت چرخ شده ماهی، نمک (۳ درصد)، گلوکز (۳ درصد) و log ۵ CFU/g گونه باکتریایی فوق‌الذکر استفاده شد. پارامترهای pH، رطوبت، پروتئین و TVB-N و بار باکتریایی از قبیل جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB)، میکروکوکوس‌ها،آنتروباکتریاسه، باکتری‌های سرمادوست (سودوموناس‌ها) و شمارش کلی باکتری‌های هوازی و بی هوازی به عنوان شاخص‌های تخمیر و کیفیت فرآورده‌ی مورد نظر اندازه‌گیری شدند. براساس نتایج به دست آمده، درجه حرارت های بالاتر سبب رشد سریع باکتری های اسید لاکتیک می شوند. این امر باعث کاهش در pH و پیامد آن محدود نمودن رشد *Micrococcacea*، *Pseudomonas* و *Entrobacteriacea* گردید. در نهایت جدای از پارامتر TVB-N، تولید سوسیس تخمیری در درجه حرارت ۳۵ درجه سانتیگراد بهترین خصوصیات کیفی را داشت.

کلمات کلیدی: سوسیس ماهی، ماهی کپور، باکتری‌های لاکتیک اسید، تخمیر

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2025-03-17]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.2.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110117]

مقدمه

نقش مهم باکتری‌های اسید لاکتیک در سوسیس تخمیری، رقابت با باکتری‌های نامطلوب است. باکتری‌های اسید لاکتیک سبب اسیدی شدن مواد خام و تولید اسیدهای ارگانیکی مانند اسید لاکتیک و اسید استیک و هم چنین یک واریته از مواد ضد میکروبی شده و در این صورت می‌توانند از رشد میکروارگانیسم‌های غذایی پرخطر جلوگیری کنند (Xu *et al*., 2010).

سرعت تخمیر و رشد باکتری‌ها تحت تاثیر پارامتر محیطی درجه حرارت می باشد و درک بهتر اثرات درجه حرارت روی پروسه تخمیر، به بهبود کیفیت تولید، خصوصیات بافتی فرآورده و ایمنی آن کمک خواهد کرد (Xu *et al*., 2010). تغییرات ایجاد شده در سوسیس تخمیری، اثر قابل توجهی بر خصوصیات کیفی و حسی- چشایی (طعم, بو, بافت و رنگ) محصولات تخمیری گوشت دارد که فاکتورهای مهمی در پذیرش مصرف کننده و مدت ماندگاری محصول هستند.

Arsalan و همکاران (۲۰۰۱) تولید سوسیس تخمیری با استفاده از گوشت ماهی کپور معمولی را در طول ۳۰ روز مورد بررسی قرار دادند. Yin و همکاران (۲۰۰۲) از چندین باکتری LAB شامل *L.plantarum* CCRC10069, *Lactococcus lactis subs*p. CCRC 12315 *Lactobacillus helveticus* CCRC 14092, به عنوان استارتر کالچر برای تخمیر گوشت ماهی ماکرل در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد استفاده کردند و دریافتند که این باکتری‌ها از توسعه TVB-N جلوگیری کرده و مانع رشد باکتریهای مضر شده و خصوصیات ارگانولپتیکی و قابلیت پذیرش فرآورده را افزایش می‌دهند.

در تحقیقاتی توسط Glatman و همکاران (۲۰۰۲) مخلوط باکتری‌های *P.pentosaceus* ، *L.plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides* در گوشت چرخ شده ماهی تن زرد باله تلقیح شدند و در دمای ۸ درجه سانتی گراد تخمیر صورت گرفت و سبب تولید فرآورده ی تخمیری ماهی با طعم و بوی مطلوب شد و تخمیر توسط باکتری اسید لاکتیک سبب کاهش pH شده و از تجمع TVB-N جلوگیری کرد.

در مطالعه‌ای توسط Bozkurt و Erkmen (۲۰۰۷) اثرات چندین افزاینده تجاری بر روی کیفیت سوسیس تخمیری بررسی شد.

مطالعه‌ای توسط Hu و همکاران (۲۰۰۸) که بر روی خصوصیات سوسیس تخمیری کپور نقره‌ای جهت افزایش استفاده از گوشت ماهی و بهبود خصوصیات کارکردی آن انجام شد.

کپور معمولی یک ماهی شاخص پرورشی در سیستم‌های کشت توام در ایران است. تولید کل کپور معمولی در ایران بیش از بیست هزار تن در سال ۲۰۱۰ بوده است (Iranian Fisheries Organization Statistical Year Book, 2010) استفاده از گوشت چرخ شده کپور جهت تولید سوریمی و محصولات بر پایه‌ی سوریمی، سوسیس و محصولات تخمیری است (Venugoplal & Shahidi, 1995).می‌تواند اذرش افزوده به آن بدهد.

در این مطالعه هدف، دادن ارزش افزوده به گوشت ماهی کپور معمولی از طریق تولید سوسیس تخمیری با بکارگیری پروبیوتیک‌هایی از قبیل باکتری‌های اسید لاکتیک در دماهای مختلف انکوباسیون بود.

مواد و روش کار

ماهی کپور معمولی پرورشی با وزن متوسط ۶۰۰ گرم به صورت کاملا تازه از مراکز عرضه ماهی شهرستان ساری خریداری شد و به آزمایشگاه انتقال یافت. ماهیان با آب سرد شستشو شده و سپس پوست کنی و سر زنی صورت گرفت و فیله‌سازی به صورت دستی انجام گرفت. فیله‌های تهیه شده توسط دستگاه چرخ گوشت با دیسک دارای قطر منافذ ۳ میلی متر چرخ شدند. باکتری *Pediococcus pentosaceus* (ATCC25745) به صورت پودر لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شده و مقداری از پودر در شرایط استریل به محیط کشت مایع اضافه شد تا طی ۱۸ ساعت انکوباسیون در ۳۰ درجه سانتیگراد به رشد لگاریتمی برسد. سپس با سرم فیزیولوژی شستشو داده و نمونه‌ها در دور ۱۰۰۰۰g در ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سه مرتبه با سرم فیزیولوژی مورد شستشو قرار گرفته و مجددا سانتریفیوژ گردید و با استفاده از روش کدورت سنجی میزان جذب نور در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شده و براین اساس تعداد اولیه باکتری مشخص شد. پس از تهیه سوسپانسیون و احتساب مقدار گوشت ماهی مورد استفاده مقدار لگاریتم log CFU/g ۵ به منظور تلقیح تعیین گشت (Hu *et al*., 2008).

[Downloaded from isfj.ir on 2025-03-17]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.2.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110117]

مطابق روش Hu و همکاران (۲۰۰۸) گوشت چرخ شده ماهی به طور یکنواخت با ۳ درصد NaCl و ۳ درصد گلوکز مخلوط شد و در نهایت با باکتری *Pediococcus pentosaceus* که به سطح نهایی ۵ log CFU/g رسیده بودند تلقیح شد. سپس به صورت دستی خوب مخلوط گردید و با استفاده از دستگاه چرخ گوشت در روکش طبیعی تهیه شده از روده گوسفند (قطر ۲۸ میلیمتر) انباشته شد. سپس سوسیس‌هایی به طول ۱۲ سانتیمتر جدا شده و انتهای آنها گره زنی شد.

نمونه‌برداری از گوشت انجام شد تا اندازه گیری pH و آزمایشات میکروبی اولیه روی آنها انجام گیرد. سوسیس‌های آماده شده در درجه حرارتهای ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار داده شدند تا ۴۸ ساعت زمان را سپری کنند و فرآیند تخمیر صورت گیرد. در طول تخمیر بعد از سپری کردن ۲۴ ساعت و در زمان انتهایی ۴۸ ساعت از سوسیس جهت آزمایشات میکروبیولوژی و pH نمونه‌برداری شد و در زمان صفر و ۴۸ ساعت تخمیر، مقادیر رطوبت، پروتئین، TVB-N اندازه گیری شدند.

مقدار ۵ گرم از سوسیس را در محلول رینگر (سرم فیزیولوژی) رقیق نموده و مقدار یک دهم میلی‌لیتر از محلول رقیق شده در رقت‌های مختلف به صورت سطحی روی محیطهای کشت اختصاصی کشت داده شد و به صورت ذیل تحت انکوباسیون قرار داده شدند:

- باکتری‌های هوازی در محیط کشت plate (PCA) count agar در درجه حرارت۳۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت.
- باکتری‌های اسید لاکتیک در de man (MRS) rogosa sharpe agar در ۳۰ دره سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت.
- باکتری‌های انتروباکتریاسه در محیط کشت Violet red bile dextrose agar (VRBDA) ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت.
- میکروکوکوس‌ها در mannitol salt agar (MSA)
- باکتری‌های سودوموناس در محیط کشت Cetrimid agar در ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت انکوباسیون شده و داده‌ها براساس لگاریتم طبیعی تعداد کلنی‌های شمارش شده log CFU/g (Colony forming unit) بیان گردید (Adams *et al*., 1987).

مقدار ۱۰ گرم از نمونه هموژن شده را در بالن ویژه تقطیر ریخته و مقدار ۲ گرم پودر اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر و چند قطره سیلیکون به آن اضافه نموده، منضمات تقطیر دستگاه را متصل نموده، در ظرف گیرنده زیر مبرد ۱۰ میلی لیتر اسید بوریک و چند قطره معرف متیل رد اضافه نموده و سرانجام محتوای بالن تقطیر را حرارت داده، زمان حرارت پس از شروع جوش ۲۰ دقیقه در نظر گرفته شد به طوریکه حجم تقطیر به ۱۵۰ میلی لیتر رسید، حاصل تقطیر با اسید ۰/۱ نرمال تا ظهور رنگ قرمز تیتر شد(A). با توجه به اینکه هر سانتی متر مکعب اسید ۰/۱ نرمال برابر با ۱/۴ میلی گرم ازت می‌باشد مقدار ازت آزاد از رابطه زیر بدست می‌آید:

(TVN)ازت آزاد درصد گرم میلی = (A) * 1/4 * 100

مطالعه‌ی حاضر در قالب آزمایش فاکتوریل و به صورت طرح بلوکهای کاملا تصادفی به اجرا درآمد و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS 12.0 انجام پذیرفت. آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد صورت گرفت. مقایسه معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین‌ها از طریق آزمون دانکن چند دامنه‌ایی انجام شد.

نتایج

نتایج سنجش pH سوسیس تخمیری تلقیح شده با باکتری *Pediococcus pentosaceus* در جدول ۱ مشخص شده است. جهت شمارش کلی باکتری‌های رشد کرده در محیط کشت، تعداد کلنی‌های موجود در پلیت را مورد شمارش قرار داده و عدد به دست آمده در عکس رقت ضرب شد. شمارش باکتری‌ها براساس log cfu/g نمونه‌ها بیان گردید.

اندازه‌گیری درصد پروتئین از روش کلدال (AOAC, 2000)، مقدار رطوبت توسط خشک کردن نمونه‌های سوسیس در داخل آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد صورت گرفت. پارامتر pH از طریق روش Wang و همکاران (۲۰۰۰) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (Wang et al., 2002).

طبق داده‌های جدول ۲ مقدار رطوبت در تیمارهای سوسیس‌های تخمیری تلقیح شده با باکتری *Pediococcus pentosaceus* در دماهای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتیگراد به طور

[Downloaded from isfj.ir on 2025-03-17]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.2.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110117]

معنی‌داری بعد از ۴۸ ساعت کاهش یافت (P<۰/۰۵). در سوسیس تخمیری تلقیح شده با باکتری *P. pediococcus* در دمای ۱۵ درجه سانتیگراد بعد از طی ۴۸ ساعت در میزان رطوبت کاهش معنی‌داری مشاهده نشد (P <۰/۰۵). میزان کاهش رطوبت در درجه حرارت از ۳۵ درجه سانتیگراد بیشتر بود.

براساس داده‌های جدول ۳ در سوسیس تخمیری تلقیح شده با باکتریهای *Pediococcus pentosaceus* در خصوص مقدار پروتئین، در دمای پایین اختلاف معنی‌داری بین زمانهای مختلف وجود نداشت (P >۰/۰۵).

جدول ۱ : تغییرات pH در سوسیس تخمیری ماهی کپور تلقیح شده با باکتری *Pediococcus pentosaceus* در دماهای مختلف انکوباسیون

زمان تخمیر (ساعت)	دمای انکوباسیون (درجه سانتیگراد)		
	۱۵	۲۵	۳۵
۰	٦/٨±۰/۰۳^{k}	٦/٧٢±۰/۰۲^{jk}	٦/٦٧±۰/۰٧^{ijk}
٢٤	٦/٥٦±۰/۰٧^{ghij}	٦/٥±۰/۰٤^{ghi}	٥/٤٩±۰/۰١^{d}
٤٨	٦/٦±۰/٢^{hij}	٥/٩±۰/۰٥^{e}	٤/٩٦±۰/۰٦^{b}

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد است

اعداد ارائه شده درجدول میانگین ± انحراف معیارحاصل از ۳ تکرار میباشد

جدول ۲: تغییرات رطوبت در سوسیس تخمیری کپور معمولی تلقیح شده با *Pediococcus pentosaceus* در در درجه حرارت های مختلف انکوباسیون

زمان تخمیر (ساعت)	درجه حرارت انکوباسیون (درجه سانتیگراد)		
	۱۵	۲۵	۳۵
۰	۷۸±۰^{a}	۷۸±۰^{a}	۷٦±۱/۷۳^{a}
٤٨	۷٦±۱/۱٥^{a}	۷٤±۱/٥٢^{b}	۷۰±۰^{b}

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد است

اعداد ارائه شده درجدول میانگین ± انحراف معیارحاصل از ۳ تکرار میباشد

جدول ۳: تغییرات پروتئین در سوسیس تخمیری کپور معمولی تلقیح شده با *Pediococcus pentosaceus* در در درجه حرارتهای مختلف انکوباسیون

زمان تخمیر (ساعت)	درجه حرارت انکوباسیون (درجه سانتی گراد)		
	۱۵	۲۵	۳۵
۰	۷٥±۰/۹٥^{bc}	۷۲±۲^{a}	۷۳±۰/۷٦^{ab}
٤٨	۷٥±۱/۳۸^{bc}	۷٥±۱/٦٦^{bc}	۷۷±۱/۹۲^{cd}

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد است.

اعداد ارائه شده درجدول میانگین ± انحراف معیارحاصل از ۳ تکرار می‌باشد.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-03-17]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.2.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110117]

تغییرات مقدار مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) محاسبه شده در تیمار های مختلف ماهی کپور معمولی در طی ۴۸ ساعت تخمیر در جدول ۴ آورده شده است.

TVB-N دامنه وسیعی از ترکیبات فرار بازی همانند متیل آمین، دی متیل آمین، تری متیل آمین و آمونیاک را در بر می گیرد. مقدار TVB-N در سوسیس تخمیری در طول تخمیر با بالا رفتن دما افزایش یافت و دارای الگویی مشابه تغییرات pH بود بعد از ۴۸ ساعت تخمیر مقدار TVB-N به جز درجه حرارت ۳۵ درجه سانتیگراد کمتر از ۳۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بود. این نتایج مطابق بود با یافته‌های Xu و همکاران (۲۰۱۰) و نشان داد اگر چه رشد باکتری‌های نامطلوب به طور موثری بوسیله LAB در درجه حرارت بالاتر خنثی می‌شود اما فعالیت متابولیکی برای تولید TVB-N هنوز ادامه دارد که این امر یک نکته‌ی منفی در فرآیند تولید سوسیس تخمیری محسوب می‌گردد. در تحقیقات آقای Xu و همکاران (۲۰۱۰) مقدار TVB-Nدر همه تیمارها کمتر از۳۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بود به جزء دمای ۳۷ درجه سانتی گراد که مقدار آن به۳۱/۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم رسید. در مطالعه ای دیگر توسط Yin و همکاران (۲۰۰۲) برروی گوشت ماکرل تلقیح شده با چندین استارتر در درجه حرارت ۳۷° درجه سانتیگراد مقدار ناچیزی افزایش در TVB-N مشاهده شد. حد مجاز TVB-N برای فرآورده‌های دریایی ۳۵-۳۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گزارش شده است (Connell, 1995).

تغییرات در فلور میکروبی سوسیس کپور معمولی تلقیح شده با باکتری‌های *Pediococcus pentosaceus* در طول تخمیر در نمودار ۱ نشان داده شده است. باکتری‌های اسید لاکتیک در طول تخمیر به عنوان گونه‌ی غالب باکتریایی بودند و مقدار باکتری‌های اسید لاکتیک افزایش معنی‌داری را نشان داد. مقدار اولیه باکتری‌های اسید لاکتیک در سوسیس تخمیری کپور معمولی حدود log CFU/g ۴- ۳/۵ بوده است. در طول تخمیر، رشد باکتری مذکور در درجه حرارت‌های بالاتر بیشتر شده و در مدت ۴۸ ساعت به حدود log CFU/g ۷ رسید. روند تخمیر در دمای ۱۵ درجه سانتیگراد با کندی صورت گرفت و برای رسیدن به لوگ ۷ زمان زیادی لازم بود. مقدار باکتری‌های اسید لاکتیک در دمای ۱۵ درجه سانتیگراد بعد از ۴۸ ساعت معادل log CFU/g ۶/۹۲ ، و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد log CFU/g ۶/۹۶ بوده است.

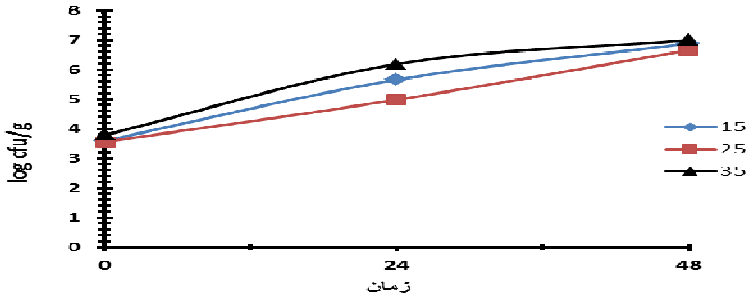
مقدار اولیه میکروکوکوس‌ها در تحقیق حاضر log CFU/g ۳-۲ بود (نمودار ۲)، در سوسیس تخمیری تلقیح شده با باکتری *Pediococcus pentocaceus* بعد از ۲۴ ساعت در درجه حرارت ۲۵ و ۳۵ درجه سانتیگراد افزایشی حدود log CFU/g ۶-۴ یافت، اما متعاقبا کاهشی را نشان دادند و بعد از ۴۸ ساعت به ترتیب به میزان log CFU/g ۳/۲۸ و ۴/۵ رسیدند. در سوسیس تخمیری تهیه شده در ۱۵ درجه سانتیگراد مقدار آن بعد از ۴۸ ساعت تخمیر به بالاتر از log CFU/g ۵ رسید.

جدول ٤: تغییرات TVB-N در سوسیس تخمیری کپور معمولی تلقیح شده با *Pediococcus pentosaceus* در در درجه حرارتهای مختلف انکوباسیون

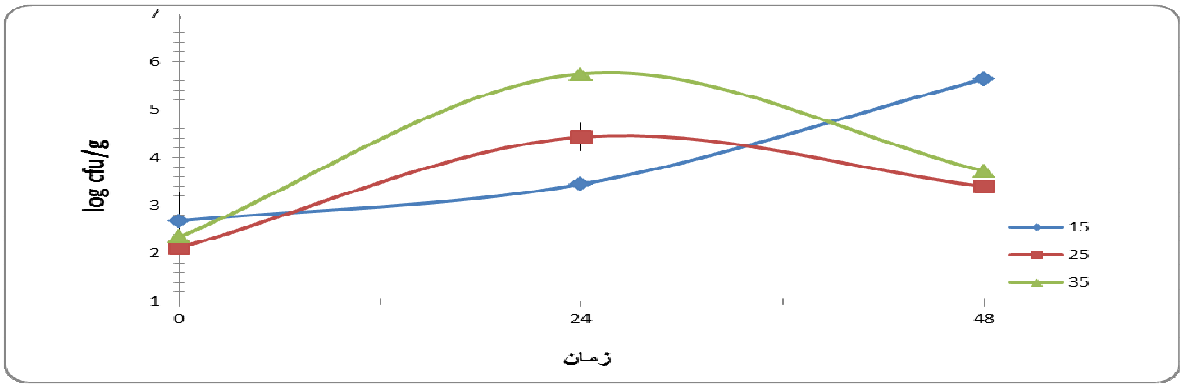
زمان تخمیر (ساعت)	درجه حرارت انکوباسیون (درجه سانتی گراد)		
	۱۵	۲۵	۳۵
۰	۱۱/۹±۰/۷^{a}	۱۲/۳±۱/٤٤^{a}	۱۲/۲±۱/۵۳^{a}
٤٨	۱٦±۳/۰٤^{ab}	۲۱/۲±۳/۲۸^{bc}	۳۸/۹±٦/٦^{a}

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد است.
اعداد ارائه شده درجدول میانگین ± انحراف معیارحاصل از ۳ تکرار می‌باشد

[Downloaded from isfj.ir on 2025-03-17]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.2.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110117]



نمودار۱: تغییرات باکتری اسید لاکتیک در سوسیس کپور معمولی تلقیح شده با *Pediococcus pentosaceus* در درجه حرارت‌های مختلف در طول تخمیر



نمودار ۲: تغییرات میکروکوکوس در سوسیس کپور معمولی تلقیح شده با *Pediococcus pentosaceus* در درجه حرارتهای مختلف در طول تخمیر

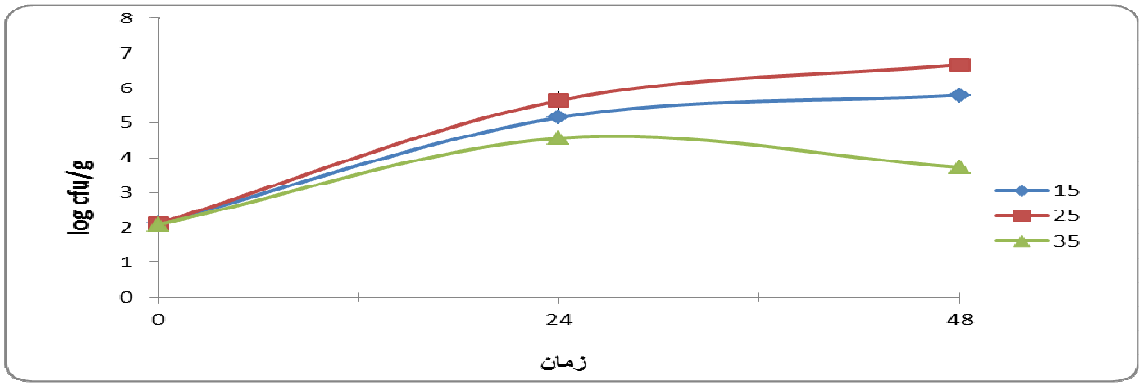
در مطالعه‌ی حاضر میزان اولیه انتروباکتریاسه حدود ۲ log CFU/g بوده است (نمودار ۳). مقدار انتروباکتریاسه سوسیس تخمیری تلقیح شده با *Pediococcus pentocaceus* در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد بعد از طی ۴۸ ساعت تخمیر به طور معنی‌داری کاهش یافت اما در دمای ۱۵ و ۲۵ درجه سانتیگراد کاهشی مشاهده نشد. براساس یافته‌های تحقیقی Xuو همکاران (۲۰۱۰) بر روی سوسیس تخمیری ماهی، مقدار اولیه انتروباکتریاسه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد حدود ۴/۵ logCFU/g بود و طی ۴۸ ساعت در دماهای ۳۰ و ۳۷ درجه سانتی گراد به طور معنی داری کاهش یافت و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به میزان کمتر از ۳ log CFU/g رسید اما در دماهای ۱۵ و ۲۳ درجه سانتیگراد افزایشی را نشان داد.

این باکتریها هوازی و گرم منفی هستند. قادرند در صفر درجه و بیشتر فعالیت نموده و پس از گذراندن مرحله سکون یا فاز تاخیری و در مطابقت با محیط به سرعت وارد فاز لگاریتمی شده و در شرایط بی هوازی تکثیر پیدا کنند (Mexis *et al.*, 2009). از ویژگی های مهم باکتریهای سرمادوست دارا بودن آنزیم پروتئولیتیک و لیپولیتیک قوی و سرعت تکثیر آنها در زمان کوتاه می باشد (Sallam, 2007).

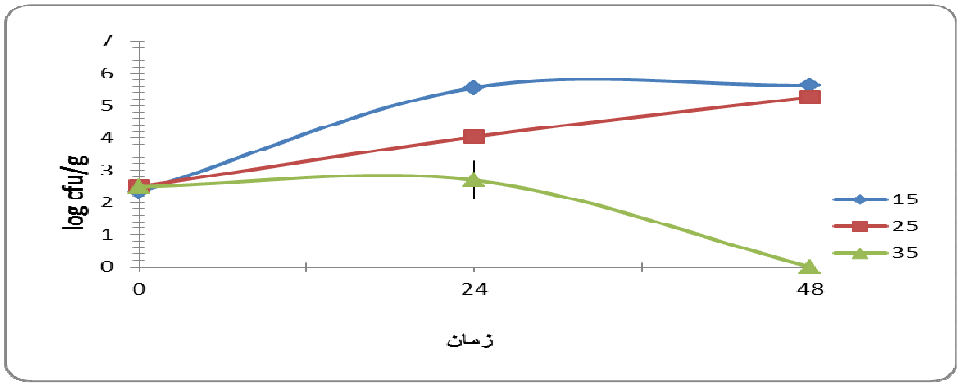
تغییرات در فلور میکروبی سوسیس کپور معمولی تلقیح شده با باکتری *Pediococcus pentosaceus* در طول تخمیر در نمودار ۴ نشان داده شده است. مقدار سودوموناس ابتدایی در سوسیس تخمیری تلقیح شده با استارتر حدود log CFU/g ۳-۲ بود. در دسته سوسیس تلقیح شده با باکتری *P. pentosaceus* در میزان سودوموناس در دمای ۱۵و ۲۵ درجه‌ی سانتی گراد کاهشی مشاهده نگردید.

تغییرات باکتری های هوازی در نمودار ۵ آورده شده است. مقدار باکتری‌های هوازی در تیمارهای سوسیس تخمیری تلقیح شده با باکتری*P. pentosaceus* در درجه حرارتهای ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتیگراد از مقدار اولیه حدود log CFU/g ۴ به مقدار log CFU/g ۶-۵ افزایش داشته است.

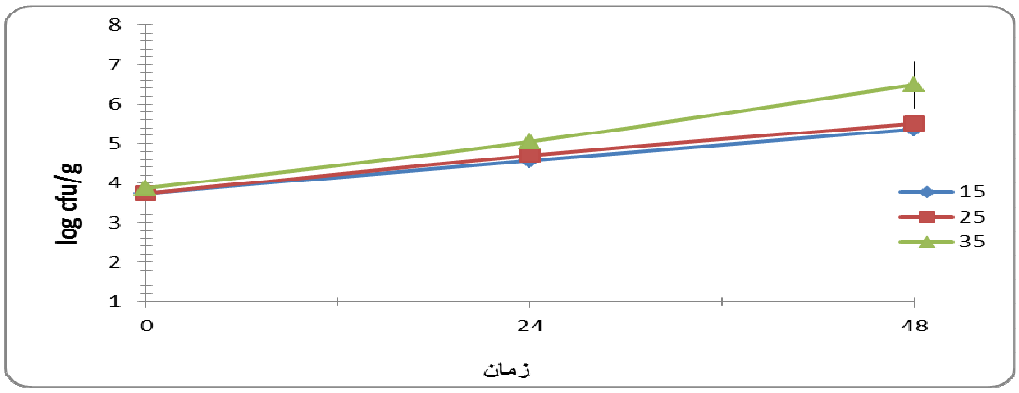
[Downloaded from isfj.ir on 2025-03-17]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.2.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110117]



نمودار ۳: تغییرات انتروباکتریاسه در سوسیس کپور معمولی تلقیح شده با *Pediococcus pentosaceus* در درجه حرارتهای مختلف در طول تخمیر



نمودار٤: تغییرات سودوموناس در سوسیس کپور معمولی تلقیح شده با *Pediococcus pentosaceus* در درجه حرارت های مختلف در طول تخمیر



نمودار ۵: تغییرات باکتری هوازی در سوسیس کپور معمولی تلقیح شده با *Pediococcus pentosaceus* در درجه حرارت های مختلف در طول تخمیر

[Downloaded from isfj.ir on 2025-03-17]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.2.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110117]

بحث

با پیشرفت تخمیر، کاهش در pH متناسب با افزایش دمای تخمیر از ۱۵ تا ۳۵ درجه سانتیگراد بود که این امر به خوبی بیانگر عملکرد درست باکتری‌های LAB در پیشبرد فرآیند تخمیر می‌باشند. Adams و همکاران (۱۹۸۷) گزارش دادند رشد سریع LAB طی ۴۸ ساعت تخمیر در درجه حرارت‌های بالا سبب کاهش pH در حدود ۴/۵ شد. نتایج سنجش pH سوسیس تخمیری در تحقیق حاضر بیانگر وجود اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای سوسیس تخمیری تولید شده در دماهای مختلف بود ($p<0/05$). در این بین pH سوسیس تهیه شده در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد ، به طور معنی داری کمتر از سایر تیمارها بود و با گذشت ۴۸ ساعت، pH گوشت ماهی به طور سریعی در طول تخمیر از مقدار اولیه ی ۶/۴ به ۴/۶ کاهش یافت ($p<0/05$). علت این امر انجام واکنش تخمیر و تولید اسید لاکتیک به وسیله سوش آغازگر می‌باشد.

در مطالعه Xu و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی اثرات درجه حرارت های ۱۵، ۲۳، ۳۰ و ۳۷ درجه سانتی گراد بر روی سوسیس تخمیری ماهی کپور نقره ای مقدار pH بعد از طی ۴۸ ساعت در دمای بالاتر، از مقدار ۶/۷ به ۴/۵ کاهش یافته است. در صورتی که در دمای $^{\circ}C$ ۱۵ بعد از ۴۸ ساعت مقدار pH در حدود ۶ باقی ماند. pH یک شاخص مهم و موثر در کیفیت گوشت می باشد. کاهش pH در پروتئولیز پروتئین های میوفیبریلار با وزن مولکولی بالا موثر است و سبب خصوصیات بافتی مطلوبی خواهد شد (Suvanich et al., 2000). Hu و همکاران (۲۰۰۸) تغییرات pH تیمارهای سوسیس تخمیری ماهی کپور نقره ایی تیمار شده با سه گروه استارتر کالچر را کاهشی گزارش نمودند. Hu و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی انجام شده بر روی سوسیس تخمیری ماهی کپور نقره ای تلقیح شده با سه گروه استارتر کالچر گزارش نمودند مقدار pH به سرعت از میزان اولیه ۶/۴۹ به ۴/۲ تا ۴/۴ کاهش یافت. گزارشات ذکر شده توسط محققین فوق مطابق با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد (Hu et al., 2008).

در تحقیقات Xu و همکاران (۲۰۱۰) مقدار رطوبت در طول تخمیر کاهش یافت و میزان کاهش در دماهای بالاتر، افزایش یافت و از میزان اولیه حدود ۷۵ درصد به مقدار حدود ۶۵ درصد رسید. Hu و همکاران (۲۰۰۸) گزارش دادند مقدار رطوبت در طول ۴۸ ساعت تخمیر کاهش یافت. Arsalan و همکاران (۲۰۰۱) گزارش دادند مقدار رطوبت در سوسیس تخمیری ماهی کپور معمولی کاهش یافت. بر اساس تحقیقات Zanardi و همکاران (۲۰۰۲) کاهش رطوبت در سوسیس تخمیری گزارش شد.

کاهش رطوبت احتمالاً سبب دهیدراته شدن سریع پروتئین‌های میوفیبریل ماهی شد. دلیل عمده‌ی این امر مربوط به کاهش سریع pH و رسیدن آن به نقطه ایزوالکتریک می‌باشد که بوسیله رشد سریع باکتری‌ها در دمای بالاتر ایجاد می‌شود. پرواضح است که در pH ایزوالکتریک، به دلیل مساوی بودن مجموع بارهای مثبت و منفی در زنجیره‌ی پروتئینی، قدرت اتصال به آب توسط ملکولهای پروتئین کاهش یافته و این امر باعث کاهش ظرفیت نگهداری آب در فرآورده ی تخمیری می‌گردد. به دلیل اینکه سوسیس‌های تخمیری وارد اتاق خشک کن نمی‌شوند لذا کاهش رطوبت در مرحله تخمیر صورت می‌گیرد.

اما با افزایش دما مقدار پروتئین افزایش یافت ($P<0/05$). افزایش درصد پروتئین بر مبنای میزان وزن خشک بوده و بر اساس نتایج تغییرات رطوبت، علت این امر کاهش رطوبت فرآورده در طول تخمیر است نه به دلیل فعالیت های تخمیری که منجر به افزایش درصد پروتئین می‌گردد که این نیز با فعالیت آنزیم های پروتئولیتیک در درجه حرارت بالا و شکسته شدن زنجیره های پلیمری پروتئینی یا پلی پپتیدها به پپتیدها به ویژه در pH پائین مرتبط است. مقدار پروتئین در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد از حدود ۷۳ به ۷۷ درصد افزایش نشان داد و دارای بیشترین میانگین درصد پروتئین در بین سایر تیمارها بود. در بررسی انجام شده توسط Arsalan و همکاران (۲۰۰۱) گزارش شد مقدار پروتئین افزایش یافت و از حدود ۲۱ درصد به مقدار ۲۹ درصد رسید. Zanardi و همکاران (۲۰۰۲) گزارش دادند در سوسیس تهیه شده با گوشت خوک مقدار پروتئین در طول تخمیر افزایش یافت.

روند تغییرات TVB-N در این پژوهش مطابق بود با یافته‌های Xu و همکاران (۲۰۱۰) بوده و نشان داد اگر چه رشد باکتری‌های نامطلوب به طور موثری بوسیله LAB در درجه حرارت بالاتر خنثی می‌شود اما فعالیت متابولیکی برای تولید TVB-N هنوز ادامه دارد که این امر یک نکته‌ی منفی در فرآیند تولید سوسیس تخمیری محسوب می‌گردد. در تحقیقات آقای Xu و همکاران (۲۰۱۰) مقدار TVB-N در همه تیمارها کمتر از ۳۰ میلیگرم در ۱۰۰ گرم بود به جزء دمای ۳۷ درجه سانتیگراد

[Downloaded from isfj.ir on 2025-03-17]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.2.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110117]

که مقدار آن به۳۱/۲ میلیگرم در۱۰۰ گرم رسید. در مطالعه‌ای دیگر توسط Yin و همکاران (۲۰۰۲) برروی گوشت ماکرل تلقیح شده با چندین استارتر در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد مقدار ناچیزی افزایش در TVB-N مشاهده شد. حد مجاز TVB-N برای فرآورده‌های دریایی ۳۵-۳۰ میلیگرم در۱۰۰ گرم گزارش شده است (Connell, 1995).

هر چند میزان کاهش pH در درجه حرارت‌های پایین کمتر بود اما اختلاف کمی در مقدار LAB بعد از ۴۸ ساعت تخمیر در دماهای مختلف مشاهده شد و این نتایج با یافته های Adams و همکاران (۱۹۸۷) و Xu و همکاران (۲۰۱۰) بر روی سوسیس تخمیری ماهی در درجه حرارت های مختلف منطبق است. براساس نتایج گزارش شده‌ی برخی از پژوهش‌ها رشد اکثر باکتری‌های مضر و حضور پاتوژن ها در سوسیس ماهی بطور موثری بوسیله کاهش سریع pH جلوگیری می‌شود (Adams *et al.*, 1987 ;Hu *et al*., 2007). ممانعت از رشد باکتری‌های پاتوژن احتمالا ناشی از تجمع تولیدات اسید لاکتیک بوده که سبب اسیدی شدن سیتوپلاسم می‌شود. هر چند این فرآیند با کاهش درجه حرارت از نرخ پایین‌تری برخوردار می‌باشد. Xu و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه بر روی سوسیس تخمیری ماهی کپور نقره‌ای گزارش دادند مقدار اولیه LAB در گوشت تلقیح شده با باکتری *Pediococcus pentosaceus* حدود log CFU/g ۷- ۶/۵ بوده است و بعد از ۴۸ ساعت در درجه حرارت های بالاتر به مقدار بیشتر از log CFU/g ۸ رسید. Bozkurt و Erkmen (۲۰۰۷) در تحقیقی بر روی سوسیس تخمیری نوع خشک افزایش در باکتری‌های اسید لاکتیک را گزارش دادند. در بررسی‌های انجام شده توسط Hu و همکاران (۲۰۰۸) مقدار LAB در سوسیس تخمیری ماهی از مقدار اولیه حدود log CFU/g ۶-۵ به میزان ۹/۳۰ log CFU/g افزایش یافت.

در بررسی‌های انجام شده توسط Xu و همکاران (۲۰۱۰) بر روی سوسیس تخمیری در دماهای ۱۵، ۲۳، ۳۰ و ۳۷ درجه سانتیگراد میکروکوکوس در ابتدا افزایشی میزان log CFU/g ۶-۵ و سپس کاهشی را در درجه حرارت بالاتر از ۲۳ نشان داد، در حالیکه در دمای ۱۵ درجه سانتیگراد مقدار آن بعد از ۴۸ ساعت بالاتر از log CFU/g ۶/۳ رسید. در مطالعات Hu و همکاران (۲۰۰۸) مقدار میکروکوکوس در همه تیمارهای تلقیح شده با استارتر در ۱۲ ساعت تخمیر به طور معنی‌داری افزایش یافت و به میزان log CFU/g ۸-۷ رسید، سپس بعد از طی ۴۸ ساعت کاهش یافت. در مطالعه Hu و همکاران (۲۰۰۷) مقدار اولیه میکروکوکوس نمونه‌های سوسیس تخمیری تهیه شده در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد در دامنه‌ای از log CFU/g ۷-۴ بود و بعد از ۲۴ ساعت به سطح log CFU/g ۸- ۷ رسید و سپس این مقدار به تدریج در همه تیمارهای تلقیح شده با مخلوط استارتر کاهش یافت. طبق نتیجه گزارشات محققین ذکر شده درجه حرارت عامل تحریک باکتری‌های اسید لاکتیک است و با کاهش pH، محیط را برای رشد باکتری‌های نامطلوب محدود می سازند که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (Hu *et al*., 2007).

Hu و همکاران (۲۰۰۷) در پژوهشی بر روی سوسیس ماهی تلقیح شده با استارتر گزارش نمودند از رشد انتروباکتریاسه بعد از ۴۸ ساعت تخمیر جلوگیری شد. Hu و همکاران (۲۰۰۸) گزارش دادند در سوسیس های تخمیری تلقیح شده با سه دسته استارتر کالچر در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد بعد از ۴۸ ساعت به طور معنی‌داری از رشد انتروباکتریاسه جلوگیری شد. نتایج مطالعه حاضر با گزارشات محققین فوق مطابقت دارد.

Hu و همکاران (۲۰۰۷) گزارش دادند در سوسیس ماهی تلقیح شده با استارتر کالچر به طور معنی‌داری از رشد سودوموناس جلوگیری شد. در مطالعات Hu و همکاران (۲۰۰۸) بر روی سوسیس تخمیری در۳۰ درجه سانتیگراد مقدار اولیه سودوموناس حدود log CFU/g ۳/۳۰ گزارش شد و در زمان ۲۴ ساعت تخمیر مقدار آن ۳/۴۵ و ۴۸ ساعت پس از تخمیر به مقدار ۱/۹۸ کاهش یافت. درجه حرارت تأثیر زیادی بر رشد میکروارگانیسم‌ها در طول تخمیر لاکتیکی دارد. در دماهای بالاتر رشد باکتری‌های اسید لاکتیک با سرعت بیشتری است و این امر سبب کاهش pH و جلوگیری از رشد باکتری‌های نامطلوبی - شود. نتایج گزارشات محققین فوق با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. در مطالعات Xu و همکاران (۲۰۱۰) مقدار سودوموناس سوسیس تخمیری ماهی کپور نقره ای در دمای ۱۵ درجه سانتیگراد بعد از طی ۴۸ ساعت افزایشی را نشان داد و در دمای ۲۳ رجه سانتیگراد به بالا از رشد این باکتری کاسته شد.

شمارش کلی باکتریها معیاری برای پی بردن به کیفیت بهداشتی یک محصول است که غیر قابل مصرف بودن محصول را بیان می کند. آلودگی میکروبی ابتدایی، وضعیت نگهداری و بسته‌بندی (بسته‌بندی در هوا، خلا یا اتمسفر اصلاح شده) و

[Downloaded from isfj.ir on 2025-03-17]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.2.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110117]

دمای نگهداری نقش مهمی را در تعیین عمر ماندگاری محصولات شیلاتی ایفا می‌کند. از آنجایی که بار میکروبی اولیه ماهیان آب شیرین بسته به وضعیت آب و دما تغییر می‌کند، محققین مقدار باکتری هوازی ابتدایی را ۶-۲ log CFU/g برای گونه‌های مختلف آب شیرین پیشنهاد دادند (Gelman *et al*., 2001 ;Savvaidis *et al*., 2002). محدوده حداکثر پیشنهادی Maximal Recommended Limit (MRL) برای باکتری هوازی در ماهی ۷ log CFU/g است (ICMSF, 1974).

روند افزایشی در شمارش باکتری‌های هوازی در سوسیس تخمیری ماهی کپور معمولی در این پژوهشی با نتایج سایر پژوهشگران مطابقت دارد. Bozkurt و Erkmen (۲۰۰۷) در تحقیقاتی بر روی سوسیس تخمیری گزارش دادند مقدار باکتری هوازی بعد از ۱۰ روز رسیدگی افزایش یافت. Hu و همکاران (۲۰۰۸) گزارش دادند در سوسیس تخمیری ماهی بعد از ۴۸ ساعت باکتری‌های هوازی از مقدار اولیه حدود ۴/۵ log CFU/g به میزان حدود ۹/۵ log CFU/g افزایش داشت. Xu و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند مقدار اولیه باکتری‌های هوازی از حدود ۶ log CFU/g به میزان ۹-۸ log CFU/g رسید.

منابع

Adams M. R., Cooke, R. D. and Twiddy, D.R., 1987. Fermentation parameters involved in the production of lactic acid preserved fish-glucose substrates. International Journal of Food Science and Technology, 22: 105-114.

AOAC, 2000. Official Methods of Analysis, Washington, DC. USA, Association of Analytical Chemists.

Arsalan, A., Dincoglu, A. and Gonulalan, Z., 2001, Fermented *Cyprinus Carpio* Sausage. Turksh Journal of Veteniary Animals *Science,* 25:667-673.

Bozkurt, H. and Erkman, O. , 2007. Effects of commercial additives on quality (Turkish dry-fermented sausage). Food Chemistry, 101: 1465-1473.

Connell, J.J., 1995. Quality deterioration and extrinsic quality defects in raw material. Control of Fish Quality, Surrey, England, Fishing News Books Ltd.

Gelman, A., Glatman, L., Drabkin, V. and Harpaz, S., 2001. Effects of storage temperature and preservative treatment on shelf life of the pond raised freshwater fish, silver perch (*Bidyanus bidyanus*). Journal of Food Protection, 64:1584-1591.

Glatman, L., Drabkin, V. and Gelman, A., 2000. Using lactic acid bacteria for developing novel fish products. Journal of the science of food and Agriculture, 80P.

Hu, Y., Xia, W. and Ge, C., 2008. Characterization of fermented sausages inoculated with mixed starter culture. LWT - Food Science and Technology, 41:730-738.

Hu, Y., Xia, W. and Liu, X., 2007. Change in biogenic amines in fermented silver carp sausage inoculated with mixed starter cultures. Journal of Food Chemistry, 104:188-195.

ICMSF, 1974. Micro-organisms in Foods, Sampling for Microbiological Analysis: Principles and specific applications, Toronto, Canada, Toronto Press.

Iranian Fisheries Organization Statistical Year Book , 2010. Fisheries Statistics of Iran.

Mexis, S.F., Chouliara, E. and Kontominas, M.G., 2009. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4 C Food Microbiology, 26:598-605.

Sallam, K.I., 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and

[Downloaded from isfj.ir on 2025-03-17]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.2.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110117]

sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control, 18:566-575.

Savvaidis I.N., Skandamis, P.N., RIganakos, K.A., Panagiotakis, N. and Kontominas, M.G., 2002. Control of natural microbial flora and Listeriamonocytogenes in vacuum packaged trout at 4 and 10°C using irradiation. Journal of Food Protection, 65:515-522.

Suvanich V., Jahncke, M.L. and Marshall, D.L., 2000. Changes selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill and frozen storage. Journal of Food Science, 65:24-29.

Venugoplal V. and Shahidi, F., 1995. Value-Added Products from Underutilized Fish Species. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 35:431-453.

Wang X., Hirata, T., Fukuda, Y., Kinoshita, M. and Sakaguchi, M., 2002. Acceptability comparison of kamaboko gels derived from silver carp surimi and from walleye pollack surimi between the Chinese and Japanese . Fisheries Science, 68:165-169.

Xu, Y., Xia, W., Yang, F., Kim, J. and Nie, X., 2010. Effect of fermentation temperature on the microbial and physicochemical properties of silver carp sausages inoculated with *Pediococcus pentosaceus*. Journal of Food Chemistry, 118:512-518.

Yin L.J., Pan, C.L. and Jiang, S.T., 2002. Effect of lactic acid bacterial fermentation on the characteristics of minced mackerel. Journal of food Science, 67:786-792.

Zanardi, E., Dorigoni, V., Badiani, A. and Chizzolini, R., 2002. Lipid and colour stability of Milano-type sausages: effect of packing conditions. Journal of Meat Science, 61:**7**-11.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-03-17]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.2.4.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110117]

Microbial and biochemical characteristics of fermented Fish sausage from common carp (*Cyprinus carpio*) mince by application of *Pediococcus pentasaceus* at different incubation temperatures

Jafarpour A.[(1)*]; Alinejad A.[(2)]; Yeganeh S. [(3)]and Safari R.[(4)]

a.jafarpour@sanru.ac.ir

1,2, 3- Department of Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, P.O.Box: 517 Sari, Iran

4- Institute of Caspian Sea Ecology Research Center, P.O.Box:961 Sari, Iran

Received: August 2012 Accepted: September 2013

Keywords: fish sausage, common carp, lactic acid bacteria, fermentation

Abstract

Fermented sausage is a favorite kind of meat-product that has allocated great proportions of meat consumption in the world. For the first time in Iran in this study the production of Fermented sausage from minced meat of common carp was assessed by means of lactic acid bacteria at different incubating temperatures as 15, 25, and 35˚C. To prepare the fish sausage, common carp mince was grounded and mixed with NaCl (3%), glucose (3%) and lactic acid bacteria at 5 log CFU/g and afterward were incubated for 48 h. During the incubation of fish sausage, microbiological tests, moisture and protein content, and TVB-N were measured. According to the results, the higher temperature of 35˚C stimulated the rapid growth of lactic acid bacteria, resulting in a rapid decline in pH, and consequently suppressed the growth of *pseudomonas*, *Micrococcaceae* and *Enterobacteriacea*.

*Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2025-03-17]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.2.4.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110117]