

تغییرات باکتریولوژیک و شیمیایی TVB-N ماهی سفید در دماهای ۱۸- و ۴ درجه سانتی‌گراد استان مازندران

هدایت حسینی^۱، شیلا صفائی‌ان^۲، هما صادقی^۳

دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

چکیده

در این مطالعه بررسی تغییرات باکتریولوژی و پروتئینی ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum* (Kamensky)) در طی زمان نگهداری در دو دمای (۱۸-) و (۴+) درجه سانتی‌گراد صورت پذیرفت. ۱۳ عدد ماهی سفید از ساحل منطقه نوشهر در اردیبهشت ۱۳۸۷ بلافاصله پس از صید نمونه‌برداری گردید. در گروه اول ۷ عدد ماهی در دمای ۴ سانتی‌گراد و در گروه دوم ۶ عدد ماهی در دمای ۱۸- سانتی‌گراد قرار گرفتند. نمونه‌های گروه اول در روزهای صفر، سوم، ششم، نهم، دوازدهم، پانزدهم و هجدهم و نمونه‌های گروه دوم در روزهای صفر، سوم، چهل، پنجم، نودم، صد و سی پنجم و صد و هشتادم از نظر تغییرات باکتریولوژیکال و بازهای فرار مورد آزمون قرار گرفتند. براساس نتایج به دست آمده ماهیان نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در روز دوازدهم شاخص میزان فساد شیمیایی (TVB-N) به ۳۲/۱ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم به حداکثر مجاز مصرف رسید و در روز پانزدهم نیز شاخص فساد میکروبی، یعنی تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی به 1.07×10^7 cfu/g حداکثر تعداد مجاز مصرف رسید. در گروه ماهیانی که در دمای ۱۸- سانتی‌گراد نگهداری شدند. در روز صد و هشتادم میزان شاخص فساد شیمیایی (TVB-N) به ۳۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم رسید و شاخص‌های میکروبی (باکتریایی‌های مزوفیل هوازی، سرمادوست، کلیفرمی و استافیلوکوکوس اورئوس) در حد فساد قابل قبول مصرف باقی ماند. برای هر مورد آنچه به نظر می‌رسد. کاهش دما بر روی کاهش سرعت فساد اثر مستقیم دارد و همچنین در شرایط سرما و انجماد میزان شاخص شیمیایی در مقایسه وضعیت بهتری نسبت به میزان شاخص‌های میکروبی نشان داد.

واژگان کلیدی

دما، انجماد، باکتریولوژی و ماهی سفید

مقدمه

ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum* (Kamensky)) از زمره ماهیان استخوانی نیمه مهاجر رود کوچ بوده که به زندگی در آب نیمه شور دریای خزر و تالاب‌های اطراف آن سازگار شده است. در حوضه دریای خزر (سواحل ایرانی دریای خزر) پنجاه درصد ماهیان را به خود اختصاص داده است.

سنجش شاخص‌های باکتریایی و شیمیایی بر روی گونه‌های آبی پس از صید بسیار حائز اهمیت می‌باشد. تا زمانی که این شاخص‌ها در بازه‌ی استاندارد قرار می‌گیرند قابل مصرف می‌باشند و با گذشتن از آن از مصرف خارج می‌گردند. این تغییرات و زمان مصرف در گونه‌های مختلف، متفاوت می‌باشد. در این راستا عواملی مانند دما مهم و تأثیرگذار است. به طوری که افزایش آن باعث تسریع رشد باکتری‌ها و فساد توسط عوامل شیمیایی می‌شود.

در نیاگارا در دمای ۱۸°C - تغییرات فاکتورهای میکروبی، شیمیایی و حسی بر روی ماهی گونه (*Sarotherodon geliaenus*) بررسی شد و مشخص گردید که رشد باکتری‌های مزوفیل هوازی و کلیفرم‌ها کاهش و رشد باکتری‌های سرمادوست افزایش یافت و به علاوه سرعت رشد فاکتورهای شیمیایی و حسی افزایش خود را داشتند (Arannilewa et al., 2005). در ایسلند تخمین تغییرات میکروبی و شیمیایی ماهی از گونه (*Pollachius vireos*) بررسی شد و شمارش کلی باکتری‌ها، باکتری‌های تولیدکننده H₂S، شمارش کلی کلی‌فرم‌ها و فاکتورهای شیمیایی که شامل پروتئین، چربی، TVB-N و رطوبت بود و ذخیره‌سازی در دمای ۱۸°C - انجام شد و مشخص شد که تا مدت ۵۰ روز قابلیت مصرف دارد (Gashti, 2002). در فرانسه بر روی ماهی تیلاپیا و سنجش فاکتورهای میکروبی و شیمیایی در دمای ۴°C + درجه سانتی‌گراد بررسی شد، نتایج نشان داد که باکتری‌های کلیفرم در روز ششم تا میزان ۶/۶×۱۰^۳ Cfu/g افزایش یافت، که میزان آن خارج در حد خارج از مصرف خوراکی بود (Likhitrattanapaiboon et al., 2007).

با توجه به نگهداری بخشی از ماهیان ؟؟؟؟؟ در بازار ایران در دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) و در دمای فریزر (۱۸- درجه سانتی‌گراد) (بدون خارج کردن امعاء و احشاء) تا زمانی ؟؟؟؟؟ به بازار ؟؟؟؟؟ تصمیم گرفته شد نسبت به تعیین که شاخص‌های باکتریایی (شامل باکتری‌های مزوفیل هوازی با حد مجاز ۱۰^۶ cfu/g کلی‌فرم‌ها با حد مجاز ۴۰۰ cfu/g، اشرشیاکلی (معرف آلودگی مدفوعی)، استافیلوکوکوس اورئوس (کواگولاز مثبت) حد مجاز ۲۰۰ cfu/g و باکتری‌های سرما دوست‌ها با حد مجاز ۱۰^۷ cfu/g، ۲۳۹۴ استاندارد ملی ایران، ۱۳۷۷) و نیز شاخص شیمیایی {TVB -N} مجموعه ازت فرار {Total Volatile Bore-Nitrogen} (بر اساس فعالیت آنزیمی، پروتئین‌ها تجزیه شده و آمونیاک و اسیدهای فرار تولید می‌شوند. که این شاخص برای ماهیان دریایی ۱۰۰ gr / ۳۰ mg/ و برای ماهیان پرورشی ۱۰۰ gr / ۲۵ mg/ می‌باشد (Beam, 2005) در این پژوهش در دو دمای نگهداری شامل دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) و در دمای فریزر (۱۸۰+ درجه سانتی‌گراد) بر روی ماهی سفید بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

تهیه ۱۳ عدد ماهی سفید تازه صید شده در منطقه نوشهر در تاریخ ۸۷/۲/۱۸ و حمل آنها به آزمایشگاه به صورت کاملاً استریل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در فلاسک یخ در کمتر از ۶ ساعت. پس از حمل نمونه‌ها، ماهی‌ها در دو گروه و در دو دما به شرح زیر نگهداری شدند گروه اول: شامل ۷ عدد ماهی بود که در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در روزهای صفر، ششم، نهم، دوازدهم، پانزدهم و هیجدهم مورد آزمایش‌های میکروبی و شیمیایی (TVB-N) قرار گرفتند و گروه دیگری شامل ۶ عدد ماهی که در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد (در دمای انجماد) قرار داده شد، و در روزهای صفر، سوم، چهل و پنجم، نودم و صد و سی و پنجم و صد و هشتادم مورد آزمایش‌های میکروبی و شیمیایی (TVB-N) قرار گرفتند.

آزمایشات میکروبیولوژی

تهیه رقت‌های متوالی

یک گرم از فیله هموزن ماهی سفید تحت شرایط کاملاً استریل، با ترازوی دیجیتالی تراز و کالیبر شده وزن شد و درون لوله پپتون واتر ریخته و تکان داده شد. غلظت میکروبی محتویات این لوله برابر ۱۰^{-۱} بود (۳۵۶ استاندارد ملی ایران، ۱۳۷۲) با وارد کردن ۱ سی‌سی از آن به لوله بعدی رقت ۱۰^{-۲} تهیه شد و این کار را تا لوله ششم ادامه داده تا رقت ۱۰^{-۶} تهیه گردید.

* شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی (Total count): رقت‌های متوالی را با استفاده از محیط کشت نوترینت آگار به روش Pour plate (کریم، ۱۳۸۲) کشت شده و در دمای ۳۲-۳۷ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد.
* شمارش باکتری‌های سرمادوست (Psychrophil) رقت‌های متوالی با استفاده از محیط کشت کینیگ آگار^۱ به روش Pour plate کشت داده و در دمای ۰-۳ درجه به مدت ۱۰ روز قرار داده شد.

* شمارش کلی فرم‌ها (coliforms) رقت‌های متوالی با استفاده از محیط کشت مکانیکی آگار به روش Pour plate دو لایه (کریم، ۱۳۸۲) کشت داده و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در گرمخانه به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد. پس از طی دوره انکوباسیون دو نوع کلنی حاصل شد. ۱- کلنی‌های همشکل به قطر ۰/۵۰ میلی‌متر با هاله رسوب و دیگری کلنی‌های قرمز کوچک که مشکوک به کلی فرم که بر روی آنها تست تکمیلی IMVIC انجام شد (ملک‌زاده و شهامت ۱۳۸۰). شمارش کلنی‌ها از این فرمول محاسبه می‌شود.

$$N = \frac{n_1 + n_2 + n_3 + n_4 + n_6}{d_1 v_1 n_1 + d_2 v_2 n_2}$$

تعداد کلنی‌ها = n

میزان رقت = v تکرار در یک رقت = d

* جستجوی استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت در آغاز محیط غنی‌کننده (نوترینت براث + نمک (NaCL) تهیه شد و سپس یک گرم فیله هموزن اضافه گردید، و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داشته شد، جهت تست تاییدی آن از محیط کشت Monitol salt agar (۲۷۴۷ استاندارد ملی ایران، ۱۳۶۴) استفاده شد. از کلنی‌های مشکوک لام تهیه کرده و در نهایت از تست اکسیداز و کاتالاز استفاده گردید.

* به عنوان شاهد منفی برای کنترل استریل بودن شرایط کشت، از پلیت‌های حاوی محیط کشت بدون تلقیح در شرایط کاملاً مشابه با پلیت‌های مورد آزمون استفاده گردید و به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد و همزمان با قرائت پلیت‌های تلقیح شده کنترل منفی به منظور اطمینان از صحت انجام آزمایش مورد بررسی قرار گرفت.

آزمایشات شیمیایی

طبق روش‌های کنترل آزمایش‌های کنترل دارو و غذا انجام شد (Beam, 2005)

آنالیز آماری

تمام نتایج آزمون‌ها اعم از بررسی شیمیایی و میکروبی با استفاده از نرم‌افزار Spss بررسی شد و پارامترهای میانگین و ضریب همبستگی محاسبه شد.

نتایج

در مجموع برای ۷ عدد نمونه ماهی سفید که در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸ روز نگهداری و در روزهای صفر، سوم، ششم، نهم، دوازدهم، پانزدهم و هیجدهم بررسی شده بودند نتایج زیر به دست آمد.

تعداد استافیلوکوکوس اورئوس در تمام نمونه‌ها منفی بودند. شاخص فساد شیمیایی (TVB-N) طبق شکل (۱) رشد خود را نشان داد.

جدول ۱- تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در ماهی سفید در مدت ۱۸ روز نگهداری

روز بررسی	حداکثر Cfu/g	حداقل Cfu/g	انحراف معیار
صفر	$1/2 \times 10^2$	3×10^1	5×10^1
سوم	$8/5 \times 10^2$	2×10^2	$4/5 \times 10^2$
ششم	$5/2 \times 10^3$	$9/2 \times 10^2$	$2/6 \times 10^3$
نهم	2×10^4	8×10^3	1×10^4
دوازدهم	$1/8 \times 10^5$	$8/7 \times 10^4$	1×10^5

پانزدهم	$2/8 \times 10^7$	1×10^7	$1/7 \times 10^7$
هیجدهم	9×10^7	$2/4 \times 10^7$	$5/7 \times 10^7$

طبق جدول (۱) حداکثر، حداقل و میانگین باکتری‌های مزوفیل هوازی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸ روز در روز صفر به ترتیب $1/2 \times 10^2$ Cfu/g، 3×10^1 Cfu/g و 5×10^1 Cfu/g می‌باشد و در روز هیجدهم این تعداد به ترتیب 9×10^7 Cfu/g، $2/4 \times 10^7$ Cfu/g و $5/7 \times 10^7$ Cfu/g بود.

جدول ۲- تعداد باکتری‌های سرمادوست در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در ماهی سفید در مدت ۱۸ روز نگهداری

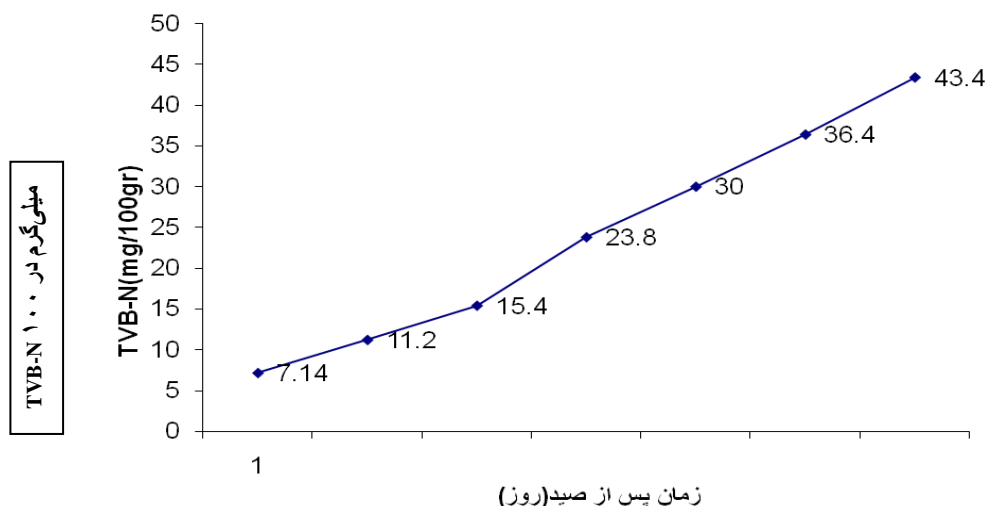
روز بررسی	حداکثر Cfu/g	حداقل Cfu/g	میانگین Cfu/g	انحراف معیار
صفر	۲۰	<10cfu/g	۶	۱
سوم	$1/1 \times 10^3$	$7/6 \times 10^2$	$8/3 \times 10^2$	$1/1 \times 10^2$
ششم	$4/3 \times 10^3$	$1/2 \times 10^2$	$2/5 \times 10^3$	$1/1 \times 10^3$
نهم	7×10^5	$2/2 \times 10^5$	$5/3 \times 10^5$	$1/1 \times 10^5$
دوازدهم	$3/2 \times 10^7$	1×10^7	$2/1 \times 10^7$	$1/1 \times 10^6$
پانزدهم	$2/4 \times 10^8$	$8/2 \times 10^7$	$1/3 \times 10^8$	$1/1 \times 10^7$
هیجدهم	$4/5 \times 10^8$	1×10^8	$2/5 \times 10^8$	$1/1 \times 10^8$

طبق جدول (۲) حداکثر، حداقل و میانگین باکتری‌های سرمادوست در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸ روز در روز صفر به ترتیب 20 Cfu/g، 10 Cfu/g < 6 Cfu/g می‌باشد و در روز هیجدهم این تعداد به ترتیب $4/5 \times 10^8$ Cfu/g، 1×10^8 Cfu/g و $2/5 \times 10^8$ Cfu/g بود.

جدول ۳- تعداد کلی‌فرم‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در ماهی سفید در مدت ۱۸ روز

روز بررسی	حداکثر (max) Cfu/g	حداقل (min) Cfu/g	میانگین Mean Cfu/g
صفر	۱۰	<10cfu/g	۱/۳
سوم	3×10^1	<10cfu/g	۱۱/۶
ششم	4×10^2	۴۰	$1/1 \times 10^2$
نهم	3×10^2	5×10^1	$1/4 \times 10^2$
دوازدهم	1×10^3	2×10^2	$2/8 \times 10^2$
پانزدهم	2×10^3	3×10^2	1×10^3
هیجدهم	4×10^3	4×10^2	$1/4 \times 10^3$

طبق جدول (۳) حداکثر، حداقل و میانگین باکتری‌های سرمادوست در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸ روز در روز صفر به ترتیب 10 Cfu/g، 10 Cfu/g < $1/3$ Cfu/g می‌باشد و در روز هیجدهم این تعداد به ترتیب 4×10^3 Cfu/g، 4×10^2 Cfu/g و $1/4 \times 10^3$ Cfu/g بود.



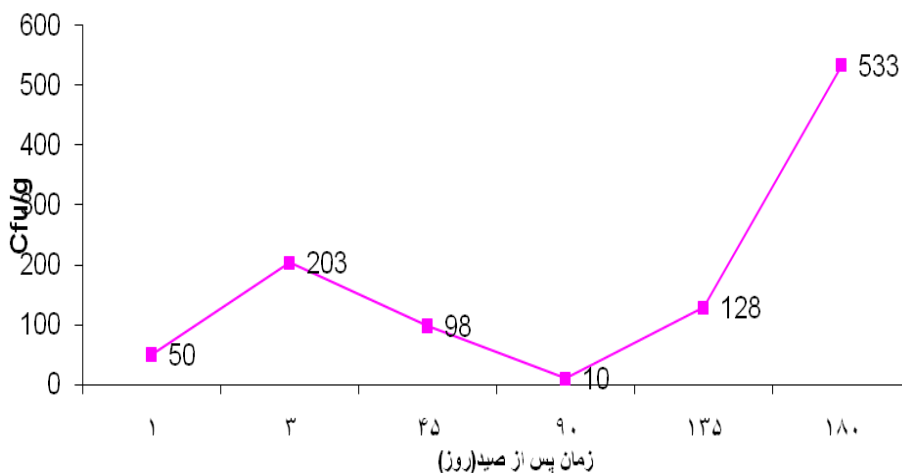
شکل ۱- تغییرات TVB-N در ماهی سفید نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸ روز می‌باشد

با توجه به شکل (۱) TVB-N شاخص فساد شیمیایی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸ روز، در روز اول ۷-۱۴ میلی‌گرم درصد گرم و با سیر صعودی خود به ۴۳/۴ میلی‌گرم درصد گرم رسیده است. ضریب همبستگی میان آزمون‌ها میکروبی و شیمیایی در ماهیان گروه اول که در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، نشان می‌دهد که ضریب همبستگی بین شاخص‌های میکروبی به قرار زیر می‌باشد.

جدول ۴- ضریب همبستگی بین باکتری‌های مزوفیل هوازی و سرمادوست در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸ روز

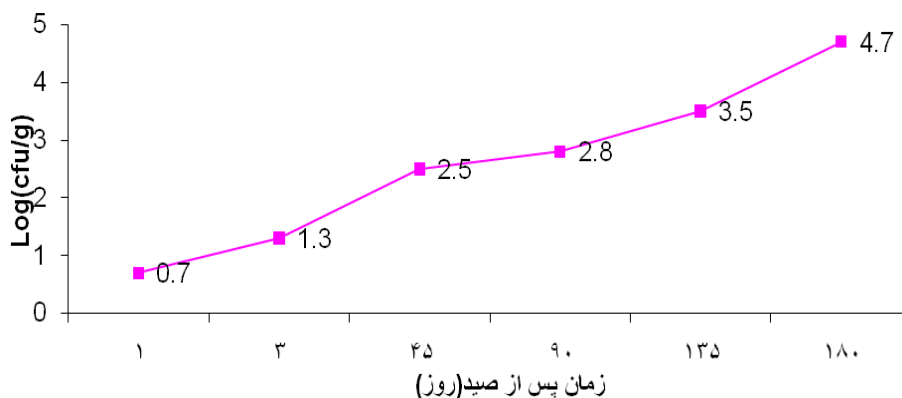
روزها	صفر	سوم	ششم	نهم	دوازدهم	پانزدهم	هیجدهم
ضریب همبستگی	-۰/۱۵	۰/۹۴	۰/۴۵	۰/۵۲	۰/۶۲	۰/۸۰	۰/۹۱

ضریب همبستگی بین شاخص‌های شیمیایی و میکروبی: ضریب همبستگی بین باکتری‌های سرمادوست و TVB-N (۰/۸۲) و ضریب همبستگی بین باکتری‌های مزوفیل هوازی و TVB-N (۰/۷۶) می‌باشد. از مجموع ۶ ماهی که در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد و در روزهای صفر، سوم، چهارم و پنجم، نودم، صد و سی و پنجم و صد و هشتادم جهت تعیین زمان ماندگاری آزمایش‌های شیمیایی و میکروبی انجام گردید.



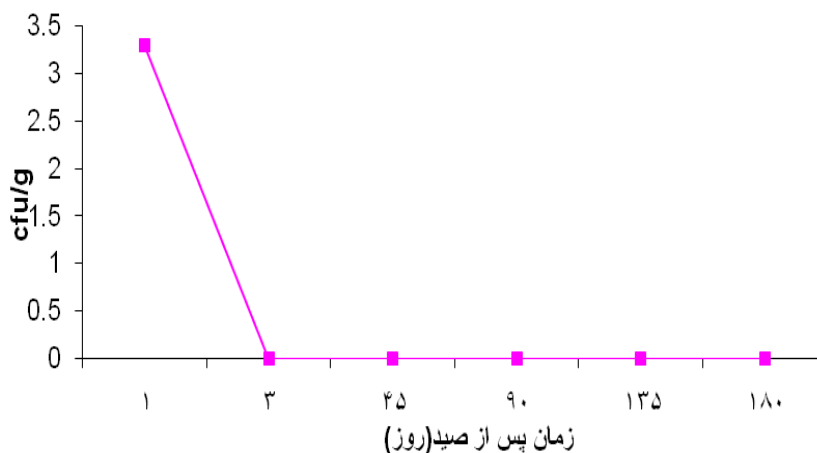
شکل ۲- تغییرات شمارش کلی میکروبی در ماهیانی که در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸۰ روز نگهداری شده‌اند.

طبق نمودار (۲) تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸۰ روز نشان می‌دهد که در روز اول با ۵۰ Cfu/g با سیر صعودی خود در روز سوم به ۲۰۳ Cfu/g و با سیر نزولی در روز چهل و پنجم به ۹۸ Cfu/g، در روز نودم به ۱۰ Cfu/g کاهش یافت ولی دوباره دارای سیر صعودی شده همچنین در روز صد و سی پنجم، ۱۲۵ Cfu/g و در نهایت در روز صد و هشتادم ۵۳۳ Cfu/g رسیده است.



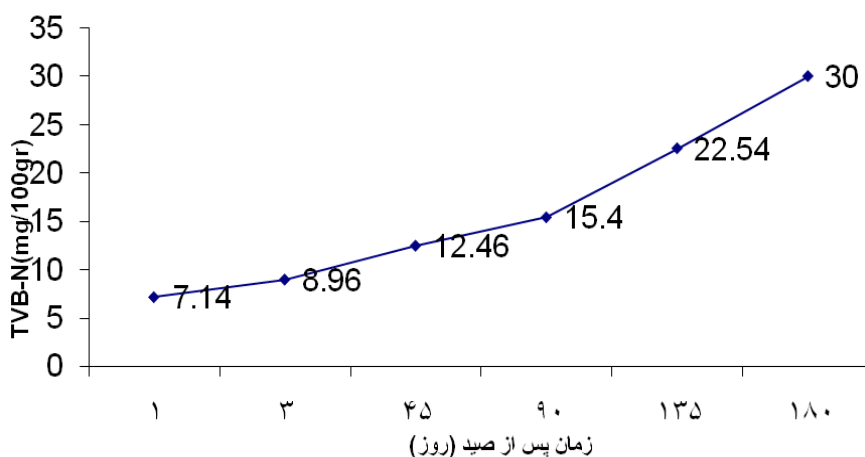
شکل ۳- تغییرات باکتری‌های سرمادوست در ماهیانی که در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸۰ روز نگهداری شده‌اند.

با توجه به شکل (۳) تعداد باکتری‌های سرمادوست در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸۰ روز از اول تا روز صد و هشتادم به صورت لگاریتمی افزایش می‌یابد.



شکل ۴- تغییرات باکتری‌های کلی‌فرم در ماهیانی که در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸۰ روز نگهداری شده‌اند.

با توجه به شکل (۴) تعداد باکتری‌های کلی‌فرمی در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸۰ روز فقط خودشان را در روز اول نشان دادند در بقیه روزها باکتری‌های کلی‌فرمی تظاهر نمی‌یابند.



شکل ۵- تغییرات TVB-N که در ماهیانی که در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸۰ روز می‌باشد

با توجه به شکل (۵) TVB-N شاخص فساد شیمیایی در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸۰ روز در روز اول ۷/۱۴ میلی‌گرم در صد گرم و تا روز صد و هشتادم به ۳۰ میلی‌گرم در صد گرم می‌رسد. نتایج آماری از طریق ضریب همبستگی میان آزمون‌های میکروبی و شیمیایی در ماهیان گروه اول که در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند نشان داد که ضریب همبستگی بین شاخص‌های میکروبی به قرار زیر می‌باشد. جدول (۵)

جدول ۵- ضریب همبستگی بین باکتری‌های مزوفیل هوازی و سرمادوست در دمای ۱۸C- در مدت ۱۸۰ روز

روز	صفر	سوم	چهل و پنجم	نودم	صد و سی و پنجم	صد و هشتادم
ضریب همبستگی	-۰/۱۵	-۰/۰۲	۰/۱۷	-۰/۴۷	۰/۶۱	۰/۶۴

ضریب همبستگی بین شاخص‌های شیمیایی و میکروبی: ضریب همبستگی بین باکتری‌های سرمادوست و $TVB-N$ ۰/۸۱ و ضریب همبستگی بین باکتری‌های مزوفیل هوازی و $TVB-N$ ۰/۷۲ می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه برای مجموع ۷ عدد ماهی سفید که در دمای ۴+ درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۸ روز و در روزهای صفر، سوم، ششم، نهم، دوازدهم، پانزدهم و هیجدهم زمان ماندگاری آزمایشات شیمیایی و میکروبی انجام گردید. * تعداد کلی باکتری‌های مزوفیل هوازی در روز پانزدهم به تعداد $1/7 \times 10^7$ cfu/g رسید. * تعداد باکتری‌های سرمادوست در روز پانزدهم به $1/3 \times 10^8$ cfu/g رسید. تعداد کلیفرم‌ها به میزان 1×10^3 cfu/g رسید در هیچیک از مراحل انجام این مطالعه وجود استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده نشد. لذا براساس نتایج به دست آمده فساد میکروبیولوژی در روز پانزدهم رخ داده است بعلاوه گذشت پیشرفت فساد میکروبی و شیمیایی و همچنین با همبستگی بین فساد میکروبی و شیمیایی افزایش یافت. باکتری‌های سرما دوست در دمای ۴+ درجه سانتی‌گراد به خوبی رشد کردند.

با توجه به شکل (۲)، در رابطه با فساد شیمیایی تا قبل از روز نهم شاخص فساد شیمیایی (TVB-N) کمتر از $20 \text{ mg}/100$ بود و در روز ششم برابر $15/4 \text{ mg}/100$ بود که لذا ماهی تازه تلقی شد. در روز دوازدهم شاخص فساد شیمیایی (TVB-N) $32/1 \text{ mg}/100$ تعیین شد که نشان می‌دهد (فساد در روز دوازدهم از حد مجاز فراورده‌های دریایی عبور کرد و عنوان فساد شیمیایی دریایی شناسایی شد. ولی تعداد باکتری‌های سرمادوست در روز دوازدهم به $2/1 \times 10^7$ cfu/g رسیدند.

در مطالعه‌ی مشابه‌ای تغییرات شاخص‌هایی شیمیایی و میکروبی ماهی گونه *Engralis encrasicolus* که در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و به مدت ۱۸ روز بررسی شد و مشخص گردید که در روز ششم به دلیل افزایش بیش از حد مجاز تعداد باکتری‌های سرمادوست، ماهی‌های مورد بررسی غیر قابل مصرف شناخته شد (Turhan et al., 2001).

درجه فساد بستگی به زمان ذخیره و میزان دمای نگهداری ماهی بستگی دارد. در اسپانیا نیز بر روی ماهی *Argyrosomus regius* که در مدت ۱۸ روز در دمای ۴+ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، شاخص فساد شیمیایی (TVB-N) و شاخص‌های میکروبی شامل تعداد: باکتری‌های سرما دوست، باکتری‌های مزوفیل هوازی، باکتری‌های انتروباکتریاسه و شمارش کلیفرم‌ها با گذشت زمان در این دما افزایش یافته و در روز نهم باکتری‌های مزوفیل هوازی به 10^7 رسید و فساد مشخص شد (Hernandez et al., 2008).

تغییرات فیزیکی و شیمیایی و میکروبی در دو گونه ماهی بررسی شده توسط Hernandez, Turhan که با ماهی مورد بررسی در این مطالعه تفاوت داشت، نتایج مختلفی (برای مثال: بنا به ترکیبات از جمله وجود درصد چربی) نشان داد.

در این مطالعه شاخص فساد شیمیایی (TVB-N) در گونه *Rutilus frisii kutum (kamensky)* که به مدت ۱۸ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سریع‌تر از شاخص‌های میکروبی فساد را نشان داد پس می‌توان گفت در این گونه: نتایج شاخص شیمیایی (TVB-N) از کارایی بهتری در کنترل کیفیت و در تعیین قابلیت مصرف فراورده‌های که در دمای ۴+ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود، برخوردار می‌شود.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر رشد باکتری‌های سرمادوست و مزوفیل هوازی در مدت ۱۸ روز بیشترین ضریب همبستگی را داشتند، این نتیجه را می‌توان این گونه توجیه کرد: با توجه به گذشت زمان در حین رشد باکتری‌های سرما دوست، با سرعت کمتر باکتری‌های مزوفیل هوازی نیز رشد می‌کنند. لذا این همبستگی در روزهای سوم و هیجدهم به (۰/۹۱) و (۰/۹۴) رسید. در دمای ۴+ درجه سانتی‌گراد با گذشت زمان شدت ضریب همبستگی بین باکتری‌های سرمادوست و شاخص شیمیایی (TVB-N) بیشتر شد. این نسبت (۰/۸۲) بود که بیشتر از ضریب همبستگی بین باکتری‌های مزوفیل هوازی و شاخص شیمیایی (TVB-N) که به میزان (۰/۷۶) می‌باشد. این افزایش ضریب همبستگی به دلیل رشد خوب باکتری‌های سرمادوست نسبت به باکتری‌های مزوفیل هوازی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. عدم وجود باکتری‌های استافیلوکوکوس آرنوس نشان از رعایت بهداشت در حمل و نقل و محیط آزمایشگاه می‌باشد. زیرا وجود استافیلوکوکوس آرنوس در غذا معمولاً مبین آلودگی به وسیله پوست، دهان یا بینی افرادی است که با غذا سر و کار دارند (کریم، ۱۳۸۲).

علاوه بر تحقیق حاضر برای ۶ ماهی که در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شده بودند، و در روزهای صفر، سوم، چهل و پنجم، نودم، صد و سی و پنجم و صد و هشتادم زمان ماندگاری با انجام آزمایشات شیمیایی و میکروبی بررسی شد. در روز صد و هشتادم تعداد باکتری‌های سرمادوست $6/2 \times 10^4$ cfu/g تعیین شد و تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی به میزان $5/1 \times 10^1$ cfu/g تعیین شد و از روز اول به سوم از $5/1 \times 10^1$ cfu/g به 2×10^2 cfu/g رسید و از روز سوم به چهل و پنجم به میزان $9/8 \times 10^1$ cfu/g کاهش مانند روز صید داشت که به دلیل آن است که باکتری‌های مزوفیل هوازی در این دما رشد نمی‌کنند. تا روز نودم تعداد آنها به 10^1 cfu/g به کمترین حد خود رسید. در روز صد و سی و پنجم به $1/2 \times 10^2$ cfu/g رسید. با گذشت زمان تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی شروع به افزایش یافت و که این افزایش علامت شروع فساد بود و تا روز صد و هشتادم به $5/1 \times 10^2$ cfu/g رسید، و فساد میکروبی ادامه داشت. باکتری‌های سرمادوست به میزان $6/2 \times 10^4$ cfu/g و تعداد کلیفرم‌ها $10 < \text{cfu/g}$ تعیین شد. کلیفرم‌ها فقط در روز اول را به میزان ۳/۳ نشان دادند و از روز سوم تا روز ۱۸۰ ام صفر رسید. با کاهش دما رشد کلی‌فرم‌ها متوقف شد زیرا کلی‌فرم‌ها در این دما رشد نمی‌کنند در طول بررسی هیچ گونه استافیلوکوکوس آرنوس جدا نشد. او شاخص فساد شیمیایی (TVB-N) به $30 \text{ mg}/100 \text{ gr}$ رسید و از حد مجاز فراورده‌های دریایی عبور کرد که نشانه فساد شیمیایی بود (Beam, 2005).

با توجه به نتایج کلی حاصل از مطالعات سایر محققان که در ادامه به برخی از آنها اشاره شده مانند میزان باکتری‌های مزوفیل هوازی در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد کاهش می‌یابد (Duun et al., 2008) و یا از شاخص‌های میکروبی در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد فقط باکتری‌های سرمادوست افزایش می‌یابد (Mbarkia et al., 2008)، میزان فساد در گونه *pollachius vireos* در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد با گذشت زمان و افزایش دما تناسب داشت (Tsironi et al., 2009). مشخص شد که شاخص شیمیایی (TVB-N) نتایج بهتری در کنترل کیفیت و در قابلیت مصرف فرآورده‌های که در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند، بیان می‌کند.

گذشت زمان باعث شروع فساد میکروبی و شیمیایی و همچنین با افزایش همبستگی بین فساد میکروبی و شیمیایی افزایش می‌گردد. در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد با گذشت زمان شدت ضریب همبستگی بین باکتری‌های سرمادوست و شاخص شیمیایی (TVB-N) بیشتر می‌شود این نسبت (۰/۸۱) می‌باشد که بیشتر از ضریب همبستگی بین باکتری‌های مزوفیل هوازی و شاخص شیمیایی (TVB-N) به میزان (۰/۷۲) است. این افزایش ضریب همبستگی به دلیل رشد خوب باکتری‌های سرمادوست نسبت به باکتری‌های مزوفیل هوازی در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد می‌باشد. لازم به ذکر است که با رعایت صحیح بهداشت در حمل و نقل و نگهداری ماهی‌ها در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد می‌توان ماهی را از فساد باکتریایی و شیمیایی مصون بماند.

منابع

- آماده کردن نمونه‌های مواد غذایی و شمارش میکرواورگانسیم‌های مختلف، استاندارد ملی ایران، ۳۵۶، ۱۳۷۲، انتشارات موسسه استاندارد تحقیقات صنعتی ایران.
- آیین کار در آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی. استاندارد ملی ایران ۲۷۴۷، ۱۳۶۴، انتشارات موسسه استاندارد تحقیقات صنعتی ایران.
- کریم، گیتی. ۱۳۸۲. آزمون‌های میکروبی موار غذایی، دانشگاه تهران. تهران، ایران
- ماهی و میگو- ویژگی‌های میکروبی، استاندارد ملی ایران ۱-۲۳۹۴، ۱۳۷۷، ۱۳۷۱، انتشارات موسسه استاندارد تحقیقات صنعتی ایران
- Arannilewa, S.T.; Salawu, S.O.; Sorungbe, A.A. & Ola-Salawa, B.B. 2005. Effect of frozen) Period on chemical, microbiological and sensory quality of frozen tilapia fish (*Sarotherodon geliaenus*). African journal of Biotechnology, 4(8): 852-855.
- Beam. H. 2005. Journal of AOAC international.
- Hernandez, M.; Lopez, M.; Alvarez, A.; Ferradini, E.; Garcia B. & Garrido, M. 2008. P sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. Fisheries training programme, 12: 33-43.
- Gashti, G. 2002. Estimation of microbiological and chemical variations in miced fish of processing atlantic Pollock (*pollachius vireos*) fishers Training programme. Fisheries training programme, 2: 231-246.
- Likhitrattanapaiboon, M.; Wiliaphan, P. & Lawhavinit. O. 2007. Contamination of bacteria in chilled fresh Tatim fish (*Oreochromis sp*). Kasetstj. 41: 81-113.
- Romero, M.; Kerry, J. & Kelly, A. 2008. Changes in microbiological and physicochemical quality of high-pressure-treated oysters (*Crossostrea gigas*) during chilled storage. Fisheries training programme, 19: 1139-1147.
- Tsironi, T.; Dermesonlougrou, E.; Giannakourou, M. & Taoukis, P. 2009. Shelf life modeling of frozen fish at variable temperature conditions. Fisheries training programme, 42: 664-671.
- Turhan. S; Evren, M. & Yazici. F. 2001. Shelf-life of reafrigrated raw Anchovy (*Engralis encrasicholus*) patties. fisheris & aquaculture sciences. 18: 391-398.