Archive of SID

تأثیر آغازگر *باسیلوس پلی میکسا* بر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی سس تخمیری مهیاوه

شقایق مقدم [۱]، **مرجانه صداقتی*[۱]**، نرگس مورکی [۲]

[۱] گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران
[۲] گروه علوم شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۱۵

چکیده

مهیاوه یک سس ماهی سنتی ایرانی است که از ماهی، نمک، ادویه و آب به وسیله فرآیند تخمیر تهیه می شود. اگر چه سس‌های ماهی ارزش تغذیه ای بالایی دارند، اما حاوی آمین‌های بیوژن به عنوان ترکیبات ضد تغذیه ای هستند. این تحقیق با هدف بررسی تأثیر باکتری *باسیلوس پلی میکسا* با غلظت 10^8 cfu/ml بر ویژگی‌های شیمیایی (pH، درصد نمک، TVB-N، هیستامین و تیرامین) و میکروبی (جمعیت باکتری‌های انتروباکتریاسه، باسیلوس ها، هالوفیل ها، لاکتیک اسید باکتری‌ها و قارچ ها) سس مهیاوه در قالب ۴ گروه آزمایشی شامل گروه شاهد و تیمار (حاوی باکتری) در روز ۳۰ و۴۵ انجام شد. نتایج آنالیز میکروبی نشان داد که جمعیت باسیلوس ها، هالوفیل‌ها و قارچ‌ها در طول تخمیر دستخوش تغییرات کاهشی معنی دار ($p<۰/۰۵$) می شود. جمعیت کلنی باکتری‌های اسید لاکتیک و انتروباکتریاسه در طی تخمیر دارای افزایش معنادار ($p<۰/۰۵$) می باشد. آنالیز شیمیایی نمونه‌های تیمار شده و شاهد نیز حاکی از این بود که مقدار pH، نمک، هیستامین و تیرامین طی ۴۵ روز تخمیر روند نزولی، اما میزان TVB-N و پروتئین طی ۴۵ روز روند صعودی ($p<۰/۰۵$) داشته است. همچنین *باسیلوس پلی میکسا* با تأثیر خود بر روند تخمیر سبب کاهش میزان هیستامین و تیرامین در محصول شد. نتایج حاصل نشان می دهد افزودن آغازگر *باسیلوس پلی میکسا* راهکاری موثر در کاهش آمین‌های بیوژن در سس‌های تخمیری ماهی است.

واژگان کلیدی: آمین بیوژن، *باسیلوس پلی میکسا*، تخمیر، سس، مهیاوه

*marjanehsedaghati@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

مهیاوه یک سس ماهی تخمیر شده سنتی است که به صورت گسترده در بخش‌های جنوبی ایران خصوصاً در لارستان و هرمزگان استفاده می‌شود. این محصول اکثراً بسته به سنت خانوادگی، دسترسی به مواد خام، ترجیح مصرف‌کننده و شرایط آب و هوایی منطقه تولید می‌شود. علی‌رغم محبوبیت سس ماهی در جنوب کشور، این فراورده به صورت سنتی تهیه و به بازار عرضه می‌شود و هیچ‌گونه استاندارد برای آن وجود ندارد (۲ و ۱).

سس ماهی به عنوان منبع غنی از پروتئین که حاوی کلیه اسیدهای آمینه ضروری به ویژه لیزین است مورد توجه می باشد. خیلی از ویتامین‌ها و مواد معدنی در سس ماهی یافت می شوند. سس ماهی منبع غنی از ویتامین ب ۱۲ و مواد معدنی نظیر سدیم، کلسیم، منیزیم، آهن، منگنز و فسفر است. سس ماهی یک فراورده پروتئینی است که با آنزیم‌های میکروبی هیدرولیز شده است و مهم ترین تغییری که در طی تخمیر در این فراورده اتفاق می افتد، تبدیل پروتئین‌ها به پپتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه است. ترکیب شیمیایی سس ماهی (میزان پروتئین، میزان بازهای آزاد فرار و محتوی نمک) در انواع مختلف سس ماهی مورد توجه است (۳).

آمین‌های بیوژن[1] به عنوان یکی از فاکتورهای ضد تغذیه ای در سس ماهی قلمداد می‌شوند، به ویژه آنکه مقادیر بالای پروتئین و وجود باکتری‌ها با خاصیت دآمیناسیون و ترانس آمیناسیون در ماهی فرآیند تولید آمین‌های بیوژن از اسیدهای آمینه را تشدید می کند (۴). مهم‌ترین آمین‌های بیوژنیک که به‌طور معمول در بدن ماهی شکل می‌گیرند، عبارتند از: تیرامین، کاداورین، پوترسین، هیستامین، اسپرمین، اسپرمیدین (۶ و۵). اغلب محصولات شیلاتی حاوی پروتئین بالا و اکثر محصولات تخمیری دریایی نظیر مهیاوه حاوی میزان زیادی آمین بیوژنیک به ویژه هیستامین هستند (۲، ۷ و ۸). هیستامین به عنوان یک آمین بیوژن مسمومیت زا در اثر وجود هیستیدین دکربوکسیلاز باکتریایی و شرایط محیطی مانند درجه حرارت بالا در ماهی و فراورده‌های دریایی تولید می شود. تیرامین‌ها دسته ای از آمین‌های بیوژن هستند که در اثر دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه فنیل آلانین و تیروزین ساخته می شوند و مصرف آن‌ها با سردرد و فشار خون بالا همراه هست (۱۱ و۹). امروزه روش‌هایی برای کنترل یا حذف آمین‌های بیوژنیک در غذاها مطرح شده‌اند که از بین آن‌ها می‌توان به روش‌های پرتو دهی، فرآیند با فشار بالا، بسته‌بندی با اتمسفر کنترل شده و استفاده از نگهدارنده‌ها اشاره کرد (۱۲ و۶).

زارعی[2] و همکارانش با انجام آزمایش‌هایی روی ویژگی‌های میکروبی و شیمیایی مهیاوه گزارش دادند که هیستامین، اصلی‌ترین آمین بیوژنیک در این سس ماهی ایرانی، شناخته شد. محتوای بالای هیستامین، می‌تواند مربوط به میزان بالای تعداد باکتری بخصوص انتروباکتریاسه و لاکتیک اسید باکتریا در این محصول باشد (۲).

رنجبر[3] و همکاران نیز با مطالعه خواص میکروبی و شیمیایی سس مهیاوه در زرین‌دشت ایران گزارش کردند با توجه به بالا بودن فلور استافیلوکوک‌های کوآگولاز مثبت و قارچ‌ها در مهیاوه کنترل شرایط بهداشتی در طول تولید ضروری به نظر می رسد (۱۳). مؤیدی و موسوی نسب[4] با بررسی تغییرات ترکیبات نیتروژنی، میکروبی و الگوی الکتروفورز در حین فرآیند تخمیر مهیاوه، گزارش کردند با افزایش زمان تخمیر میزان ترکیبات نیتروژنی کل، نیتروژن فرمالدهیدی، نیتروژن اسیدآمینه‌ای و نیتروژن فرار در تمامی مراحل تخمیر افزایش یافت و رابطه مثبت بین میزان کل باکتری‌ها و غلظت تری متیل آمین در سس ماهی ثابت شد (۱۴). همچنین طاهری[5] و همکاران با بررسی جمعیت باکتری‌های سس ماهی ایرانی (مهیاوه) گزارش دادند

[1] Biogenic amines
[2] Zarei
[3] Ranjbar
[4] Moayedi and Moosavi -Nasab
[5] Taheri

www.SID.ir

Archive of SID

باسیلوس سرئوس تنها باکتری بیماری‌زای مشاهده شده در مهیاوه است (۱).

اخیراً استفاده از باکتری‌های حاوی آنزیم‌های تجزیه کننده آمین‌های بیوژن به یک روش جدید برای کاهش این ترکیبات در مواد غذایی، به ویژه در محصولات تخمیر شده تبدیل شده است. تاپینکا[1] و همکاران کاهش میزان هیستامین در حضور آغازگرهای هالوفیل، ماه و هانگ[2] کاهش آمین‌های بیوژن را در حضور آغازگر *استافیلوکوکوس زایلوسوس*[3] گزارش کردند (۱۶ و۱۵). باکتری *باسیلوس پلی میکسا*[4] یک باکتری گرم مثبت غیر بیماری‌زا است و توانایی تثبیت نیتروژن و تخریب آمین‌های بیوژن را دارد، بنابراین می تواند به عنوان آغازگر در تولید سس مهیاوه استفاده شود (۱۹ و۱۷).

با توجه به تأثیر فلور میکروبی سس مهیاوه در تولید آمین‌های بیوژن بررسی خصوصیات میکروبی مهیاوه ضروری به نظر می رسد. در تولید غذاهای تخمیری، ماتریکس اولیه غذا شرایط زیستی را فراهم می کند که برای رشد جوامع میکروبی مفید است. به نظر می رسد در سس تخمیری مهیاوه با وجود مقادیر بالای نمک، باکتری‌های *لاکتیکی*، *هالوفیل* ها، *باسیلوس*ها و باکتری‌های *انتروباکتریاسه* فلور میکروبی غالب مهیاوه را تشکیل دهند. یکی از فاکتورهای کلیدی که استفاده از مهیاوه را محدود می کند، فسادهای میکروبی است و حضور قارچ‌ها در این فراورده می تواند نقش مهمی در کاهش دوره ماندگاری این محصول داشته باشد (۲). مصرف بالای مهیاوه در بخش‌های جنوبی ایران و تحقیقات محدود بر روی این سس سبب شد، هدف از این پژوهش را بررسی خصوصیات شیمیایی و میکروبی سس مهیاوه شاهد قرار دهیم. در ادامه در نمونه‌های تیمار با تلقیح باکتری *باسیلوس پلی میکسا* (به عنوان آغازگر تخمیر مهیاوه) خصوصیات شیمیایی، کاهش آمین‌های بیوژن و خصوصیات میکروبی را در حضور این باکتری بررسی خواهیم کرد.

مواد و روش‌ها

روش تهیه سس مهیاوه

تهیه مهیاوه طبق شکل ۱ انجام گرفت. برای تهیه نمونه مهیاوه شاهد، ۵۰۰g ماهی ساردین خشک را شسته و آسیاب می کنیم. سپس ماهی‌های آسیاب شده را ۱۵min در ۲۰۰ °C حرارت می دهیم. در ادامه پس از قرار دادن ماهی‌ها در ظرف سفالی، ۱/۵L آب و ۵۰۰g نمک به محتویات اضافه می کنیم. ظرف را به مدت ۳۰ روز در دمای محیط قرار می دهیم تا تخمیر انجام شود. سپس محتویات ظرف را فیلتر کرده و ادویه‌ها (۱۰۰g گشنیز، ۱۰۰g خندل، ۱۵۰g جو، ۱۰۰g رازیانه و ۱۰۰g زیره) را اضافه می کنیم. در ادامه ظرف به مدت ۱۵ روز در دمای محیط برای تکمیل فرایند تخمیر قرار می دهیم. به نمونه‌های تیمار از ابتدا آغازگر باسیلوس *پلی میکس* (10^8 cfu/g) می افزاییم. گروه‌های آزمایشی در این تحقیق شامل، C۱ (گروه شاهد نمونه سس فاقد استارتر روز ۳۰)، T۱ (گروه تیمار نمونه سس حاوی 10^8 cfu/g آغازگر *باسیلوس پلی میکسا* روز ۳۰)، C۲ (گروه شاهد نمونه سس فاقد استارتر روز ۴۵) و T۲ (گروه تیمار نمونه سس حاوی 10^8 cfu/g آغازگر *باسیلوس پلی میکسا* روز ۴۵) بودند.

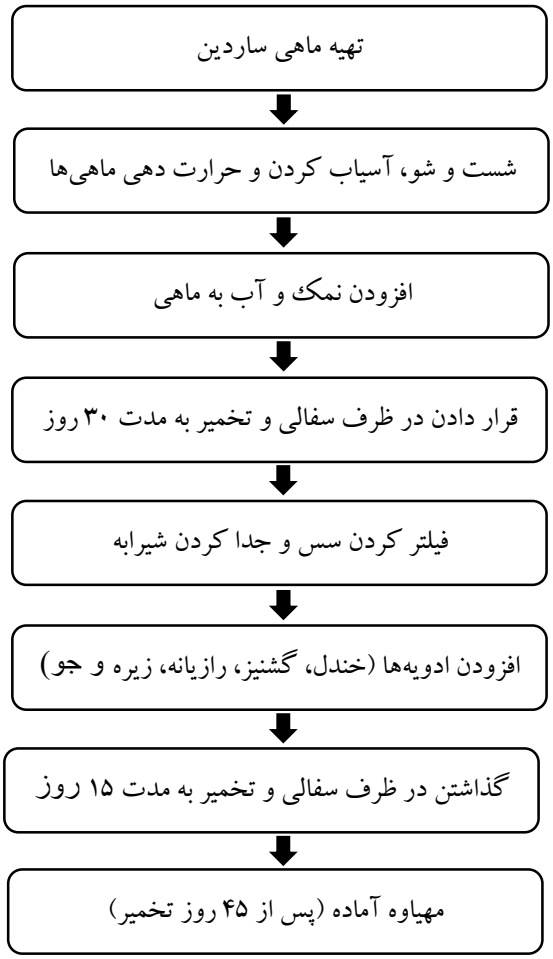
آزمون‌های شیمیایی

اندازه‌گیری pH به وسیله دستگاه pH سنج (شرکت ZAG CHEMIE، کشور ایران) انجام شد (۲). اسیدیته با استفاده از روش تیتراسیون تعیین شد (۲۰). محتوای نمک و پروتئین نمونه‌ها بر اساس استاندارد AOAC اندازه‌گیری شد (۲۱ و ۲۲). میزان کل نیتروژن پایه فرار (TVB-N) از طریق تقطیر مستقیم درون ارلن مایر حاوی بوریک اسید مطابق استاندارد AOAC و با استفاده از تقطیر کننده کلدال[5]

[1] Tapingkae
[2] Mah and Hwang
[3] *Staphylococcus xylosus*
[4] *Bacillus polymyxa*
[5] kjeldahl

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. مراحل تهیه سس ماهی مهیاوه

انجام شد (۲۳). برای اندازه‌گیری آمین‌های بیوژنیک (هیستامین، تیرامین) از روش زارعی و همکاران و برای آنالیز از دستگاه HPLC (Shimadzu 10A-VP، کشور ژاپن) استفاده شد. یک واحد HPLC مجهز به دتکتور UV (تنظیم شده در ۲۵۴nm) و نرم‌افزار سری VP بود. از AC18RS با ستون ۴/۵mm با نسبت حجمی ۳۰:۷۰ برای متانول: آب استفاده شد، درحالیکه جریان در فاز متحرک برابر با یک میلی‌متر بر دقیقه بود (۲).

آزمون‌های میکروبی

باکتری‌های باسیلوس، اسید *لاکتیک*، *انتروباکتریاسه*، *هالوفیل* و کپک و مخمر به ترتیب با استفاده از محیط کشت‌های TSA[1]، MRS[2]، VRBA[3]، TSA به همراه ۱۰ درصد نمک، PDA[4] کشت داده شد (محیط‌های کشت مرک ساخت کشور آلمان). تمامی کشت‌ها در دمای ۳۷C° مدت ۴۸h انکوبه (شرکت سازنده شیماز، ایران) شدند به جز نمونه‌های کپک و مخمر که در دمای ۳۰C° به مدت ۵ روز گرمخانه گذاری شد (۱ و ۲). روی کلنی‌های خالص بدست آمده تست‌های تشخیصی افتراقی انجام شد. کلنی‌های خالص به دست‌آمده در هر پلیت مورد آزمون‌های رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، اکسیداز، تست بیوشیمیایی و ریخت‌شناسی در زیر میکروسکوپ قرار گرفتند (۲۴).

آنالیز آماری

برای بررسی اثر احتمالی آغازگرهای میکروبی، پس از سه بار تکرار آزمون وضعیت پراکنش داده‌ها با استفاده از روش کولموگروف-اسمیرنوف[5] برای مقایسه میانگین‌ها از مسیر تحلیلی One-way ANOVA در سطح معنی داری $p< ۰/۰۵$ استفاده شد و مقایسه تغییرات بین گروه‌ها و زمان مورد توجه قرار گرفت بدین منظور از LSD برای تعیین حداقل سطوح معنی داری استفاده شد.

نتایج

نتایج آزمون‌های شیمیایی

با توجه به جدول ۱ می‌توان دریافت کرد که بیشترین و کمترین میزان pH به ترتیب مربوط به نمونه شاهد روز ۳۰ (۵/۱۷) و نمونه تیمار روز ۴۵ (۵/۰۶) می‌باشد. نتایج حاصل نشان می دهد تغییرات pH نمونه‌های شاهد در طول زمان تخمیر نزولی و از نظر آماری معنی دار است ($p<۰/۰۵$). مقایسه میان دو گروه شاهد و تیمار مورد آنالیز در روز ۳۰ بیانگر این بود که میزان pH نمونه‌های تیمار در مقایسه با شاهد کاهش معنی داری داشته است. اما تغییرات pH در گروه تیمار روز ۴۵ نسبت به شاهد گر چه کاهش یافته اما کاهش معنی دار نبوده است ($p>۰/۰۵$). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تغییرات pH میان کل گروه‌های آزمایشی با

[1] Trypticase soy agar
[2] de Man, Rogosa, and Sharpe
[3] Violet red bile agar
[4] potato dextrose agar
[5] Kolmogorov smirnov test

www.SID.ir

Archive of SID

گذشت زمان آنالیز، سیر نزولی معنی‌داری (p<۰/۰۵) داشته است در نتیجه اثر زمان بر تغییرات pH در سطح (p<۰/۰۵) معنی‌دار می‌باشد.

بررسی تغییرات اسیدیته

طی تحقیقات موجود یکی از پارامترهای مهم در پیشرفت واکنش‌های تخمیری از جمله سس ماهی افزایش اسیدیته می‌باشد (۲۵). با توجه به جدول ۱ مشخص شد، میزان اسیدیته نمونه‌های سس مهیاوه در محدوده ۲/۵۲-۲/۳۴ می باشد. در میان گروه‌های مورد پژوهش بالاترین و پایین‌ترین میزان اسیدیته مربوط به گروه تیمار روز ۴۵ و شاهد روز ۳۰ می‌باشد. میزان اسیدیته در روز ۳۰ و ۴۵ به طور مشابه در نمونه شاهد کمتر از نمونه تیمار بوده است با این تفاوت که در روز ۳۰ دارای اختلاف معنی‌داری نمی‌باشد (p>۰/۰۵). نتایج جدول ۱ بیانگر این نکته بود که مقدار تولید اسیدیته در گروه‌های شاهد کم بوده و با پیشرفت زمان در سطح معنی‌داری (p<۰/۰۵) افزایش یافته است. علاوه بر این تغییرات اسیدیته با سپری شدن زمان در گروه تیمار مورد بررسی در روز ۴۵، افزایش معنی‌داری (p<۰/۰۵) داشته است. با نگاهی اجمالی به جدول مربوطه سیر صعودی در گروه‌ها در طول زمان مورد آنالیز مشاهده می شود.

بررسی درصد نمک

سس‌های ماهی به طور معمول میزان نمک بالایی دارند و قابل استفاده به میزان زیاد نیستند. کمینه و بیشینه غلظت نمک در همه نمونه‌های آزمایش شده به ترتیب ۱۹ درصد و ۱۹/۶۶ درصد بود (جدول ۱). نتایج جدول ۱ نشان می دهد که گروه شاهد و تیمار روز ۳۰ کمترین میزان نمک را دارند و بالاترین درصد نمک در نمونه‌ی مهیاوه تیمار و شاهد روز ۴۵ نسبت به نمونه‌های دیگر آزمایش مشاهده شده بود. میان گروه‌های مورد بررسی در روز ۳۰ و ۴۵ تفاوت معنی داری در میزان نمک مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

بررسی درصد پروتئین

با نگاهی کلی در جدول ۱، محتوی پروتئین نمونه‌های سس مهیاوه در محدوده g/۱۰۰ml ۱۳/۶۶– ۱۲/۳۳ بوده است و سیر صعودی میزان پروتئین سس مهیاوه در سطح معنی‌داری (p<۰/۰۵) مشاهده می‌شود. به طوریکه بیشترین میزان پروتئین در مهیاوه تولیدی حاوی آغازگر باکتریایی در روز ۴۵ و کمترین آن در مهیاوه تولیدی عاری از آغازگر باکتریایی در روز ۳۰ در سطح معنی‌داری (p<۰/۰۵) مشاهده گردیده است. بر اثر گذشت زمان، میزان پروتئین گروه‌های شاهد افزایش چشمگیری داشته است و این افزایش معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵). همچنین این یافته‌ها میان گروه‌های تیمار در دو روز مورد بررسی مشابهت دارد بدین صورت که میزان پروتئین گروه‌های تیمار در طول زمان افزایش معنی داری داشته است (p<۰/۰۵). نتایج حاصل نشان می دهد، میزان پروتئین به طور مشابه در دو زمان مورد بررسی در نمونه‌های تیمار بیشتر از نمونه‌های شاهد بوده است.

بررسی میزان TVB-N

اندازه‌گیری میزان TVB-N نشان‌دهنده‌ی گسترش تجزیه پروتئین‌ها در اثر فعالیت‌های آنزیمی و باکتریایی است که منجر به تولید آمین‌ها و کاهش ارزش غذایی می‌شود (۲۶). براساس جدول ۱، میزان TVB-N در نمونه‌ی مهیاوه عاری از آغازگر باکتریایی روز ۴۵ در بالاترین و نمونه‌ی مهیاوه حاوی آغازگر باکتریایی روز ۳۰ در پایین‌ترین سطح معنی‌داری (p<۰/۰۵) در مقایسه با سایر داده‌ها می‌باشد. در طول دوره تخمیر ۳۰ و ۴۵ روزه میزان ترکیبات نیتروژنی فرار (TVB-N) هم در نمونه شاهد و هم در نمونه تیمار شده افزایش معنی دار یافته است (p<۰/۰۵)، به گونه‌ای که میزان TVB-N میان نمونه‌های شاهد و تیمار در روز ۴۵ نسبت به روز ۳۰ بیشتر مشاهده گزارش شده است. اما میزان TVB-N هم در روز ۳۰ و هم در روز ۴۵ در نمونه‌های تیمار کمتر از نمونه‌های شاهد مشاهده شده بود.

بررسی میزان هیستامین

آمین‌های بیوژنیک با دکربوکسیله شدن میکروبی آمینواسیدها تولید می‌شوند که به صورت فراوان در غذاهای تخمیر شده یافت می‌شوند. آمین‌های بیوژن به عنوان یکی از فاکتورهای ضد تغذیه ای در سس ماهی قلمداد می‌شوند و

www.SID.ir

Archive of SID

مقادیر بالای پروتئین در ماهی فرآیند تولید آن‌ها را تشدید می‌کند (۲۷ و۴).

براساس جدول ۱ تغییرات در کل گروه‌های مورد آزمایش در سس مهیاوه در طول زمان بررسی در گروه تیمار روز ۴۵ و گروه شاهد روز ۳۰ به ترتیب در پایین ترین و بالاترین میزان می‌باشد. به طور کلی میزان هیستامین میان گروه-های شاهد مورد بررسی در طول زمان سیر نزولی معنی دار داشته است ($p<۰/۰۵$). به طور مشابه میزان هیستامین میان گروه‌های تیمار مورد بررسی نیز در طول زمان سیر نزولی معنی دار داشته است ($p<۰/۰۵$). در روز ۳۰ میزان هیستامین گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد همان روز کمتر می باشد که این رابطه میان گروه‌های تیمار و شاهد روز ۴۵ نیز صادق بود. به طور کلی با گذشت زمان تخمیر، مقدار هیستامین گروه تیمار در روز ۴۵ کمترین میزان را در مقایسه با تمام گروه‌های مورد آزمایش نشان داده بود. نتایج حاصل نشان می دهد که کشت آغازگر *باسیلوس پلی میکسا* به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) سبب کاهش میزان هیستامین در نمونه سس در طول دوره نگهداری شده است و این روند نزولی با گذر زمان نیز به طور پیوسته ادامه داشته است.

بررسی میزان تیرامین

تیرامین در غذاها، اغلب توسط دکربوکسیلاسیون تیروزین در طول تخمیر یا فروپاشی تولید می‌شود. تیرامین‌ها ممکن است از اسیدهای آمینه فنیل آلانین و تیروزین ساخته شده باشند (۱۱ و۹).

طبق جدول ۱ تغییرات در کل گروه‌های مورد آزمایش در سس مهیاوه در طول زمان بررسی در گروه تیمار روز ۴۵ و گروه شاهد روز ۳۰ به ترتیب در پایین ترین و بالاترین مقدار می‌باشد. مشاهده گردید که محتوای تیرامین در گروه تیمار روز ۳۰ نسبت به گروه شاهد آن کمتر می‌باشد که به طور مشابه محتوای این متغیر میان گروه تیمار روز ۴۵ در مقایسه با گروه شاهد آن در سطح معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) کمتر بیان شده است. محتوای تیرامین گروه شاهد با پیشرفت زمان سیر نزولی معنی دار داشته است ($p<۰/۰۵$) همچنین کاهش تیرامین در طول زمان در گروه تیمار نیز مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). به صورت کلی می توان دریافت که در سس مهیاوه محتوای تیرامین در نمونه‌های شاهد و تیمار در طول زمان کاهش یافته است. با نگاهی اجمالی آشکار شد که با گذشت زمان، افزودن آغازگر باکتریایی *باسیلوس پلی میکسا* موجب شده تا محتوای تیرامین به طور معنی‌داری کاهش یابد.

جدول ۱. ویژگی‌های شیمیایی سس مهیاوه

خصوصیات شیمیایی	۳۰ (روز)		۴۵ (روز)	
	شاهد	تیمار	شاهد	تیمار
pH	۵/۱۷ [a]	۵/۱۳ [b]	۵/۱ [c]	۵/۰۶ [c]
اسیدیته (ppm)	۲/۳۴ [c]	۲/۴۱ [c]	۲/۴۹ [b]	۲/۵۲ [a]
نمک(درصد)	۱۹ [a]	۱۹ [a]	۱۹/۶۶ [a]	۱۹/۱۶ [a]
پروتئین (g/100ml)	۱۲/۳۳ [d]	۱۲/۵۹ [c]	۱۳/۰۳ [b]	۱۳/۶۶ [a]
TVB-N (mg/100g)	۳۰۲۰ [b]	۲۴۹۳/۳۳ [d]	۳۴۰۵ [a]	۲۹۱۳/۳۳ [c]
هیستامین (mg/kg)	۵۰/۶۶±۰/۹۵۳ [a]	۴۱/۶۶±۰/۹۰۷ [b]	۴۱/۲۳۳±۰/۵۰۳ [c]	۳۴/۶۶±۰/۸۹۴ [d]
تیرامین (mg/kg)	۲۰/۲±۰/۸۵۵ [a]	۱۶/۶۵±۰/۷۷۶ [b]	۱۴/۷۵±۰/۵۲۶ [c]	۱۲/۰۲۳±۰/۳۹ [d]

*هر عدد میانگین سه تکرار (±SD) است.

*حروف کوچک نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی در سطح $p<۰/۰۵$ هستند.

www.SID.ir

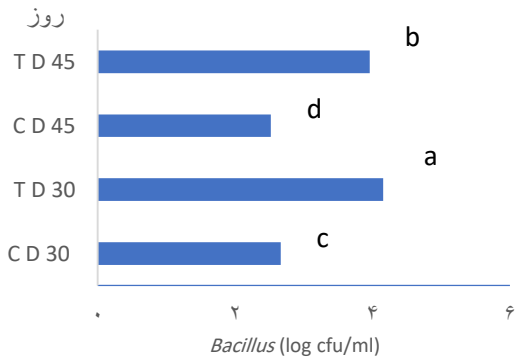
Archive of SID

نتایج آزمون‌های میکروبی

بررسی تغییرات جمعیت *باسیلوس ها*

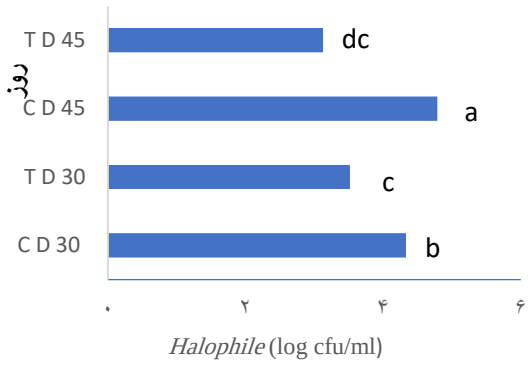
از آنجا که باسیلوس‌ها باکتری‌های نمک دوستی نیستند و به دلیل عدم تحمل نمک در طول دوره ۴۵ روزه تخمیر جمعیت آن‌ها به تدریج کاهش یافته است. در تحقیق اخیر میزان جمعیت *باسیلوس*‌ها در بازه‌ی ۲/۵۱ log cfu/ml تا ۴/۱۵ بود (شکل ۱). نتایج حاصل نشان می دهد در گروه‌های شاهد در طول زمان آزمایش جمعیت *باسیلوس*‌ها سیر نزولی معنی‌داری داشته است. به طوریکه جمعیت آن‌ها در گروه شاهد روز ۴۵ کمتر از روز ۳۰ می‌باشد و این کاهش معنی داری می‌باشد ($p<۰/۰۵$). با بررسی شکل ۱ مشخص شد که جمعیت *باسیلوس*‌ها در گروه تیمار روز ۴۵ کمتر از روز ۳۰ می‌باشد و این کاهش معنی‌دار می باشد ($p<۰/۰۵$). میان گروه‌های مورد بررسی در روز ۳۰، جمعیت *باسیلوس*‌ها در گروه تیمار بیشتر از گروه شاهد می‌باشد و همچنین جمعیت این باکتری در گروه تیمار روز ۴۵ میان گروه‌های مورد آزمایش بیشتر از گروه شاهد در سطح معنی دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

نتایج تحقیق نشان می دهد جمعیت باسیلوس‌ها در نمونه‌های تیمار شده بیشتر از شاهد است و حضور آغازگر باسیلوس پلی میکسا مانع کاهش جمعیت باسیلوس‌ها در مقایسه با نمونه شاهد شده است.



شکل ۱. تغییرات جمعیت *Bacillus* در گروه‌های مورد بررسی در طی ۴۵ روز آزمایش

*حروف کوچک نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی در سطح $p<۰/۰۵$ هستند.



شکل ۲. تغییرات جمعیت Halophile در گروه‌های مورد بررسی در طی ۴۵ روز آزمایش

*حروف کوچک نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی در سطح $p<۰/۰۵$ هستند.

بررسی تغییرات جمعیت هالوفیل‌ها

مطابق شکل ۲ جمعیت باکتری‌های *هالوفیل* سس مهیاوه در بازه‌ی ۳/۲۵ log cfu/ml تا ۴/۷۹ بود. با مشاهده شکل ۲ می‌توان دریافت که درگروه‌های مورد آزمایش، جمعیت باکتری‌های نمک دوست در گروه تیمار روز ۴۵ کمترین و در گروه شاهد روز ۴۵ بیشترین میزان می‌باشد. با بررسی روز ۳۰ مشاهده شد که جمعیت باکتری‌های *هالوفیل* تیمار روز ۳۰ کمتر از گروه شاهد می باشد و این تفاوت از نظر آماری معنی دار می باشد ($p<۰/۰۵$). این رابطه میان گروه تیمار و شاهد روز ۴۵ هم برقرار می‌باشد. قابل ذکر است که جمعیت باکتری‌های *هالوفیل* در گروه شاهد در طول زمان افزایش معنی دار و در گروه تیمار در طول زمان کاهش معنی دار دارند ($p<۰/۰۵$). بنابر نتایج حاصل می‌توان بیان نمود که افزودن آغازگر باکتریایی *باسیلوس پلی میکسا* با گذشت زمان موجب کاهش معنی دار میزان جمعیت باکتری‌های نمک دوست شده است.

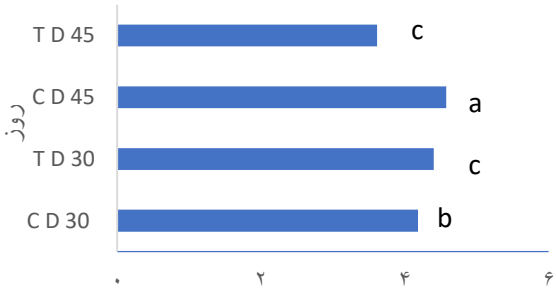
بررسی تغییرات جمعیت باکتری‌های *انتروباکتریاسه*

انتروباکتریاسه باکتری‌هایی هستند که در دستگاه گوارش انسان و حیوان وجود دارند، در محیط هم به وفور یافت می شوند و ساپروفیت هم محسوب میشوند. در تحقیق اخیر میزان جمعیت *انتروباکتریاسه*‌ها در بازه‌ی

www.SID.ir

Archive of SID

۳/۵۶ log cfu/ml تا ۴/۵۷ بود. با توجه به شکل۳ می‌توان عنوان کرد که جمعیت باکتری‌های *انتروباکتریاسه* گروه تیمار در روز ۳۰، نسبت به گروه شاهد کاهش معنی دار داشته است (p<۰/۰۵). این ارتباط میان گروه‌های مورد بررسی در روز ۴۵ نیز مشاهده می شود. با پیشرفت زمان تخمیر سس مهیاوه جمعیت باکتری‌های *انتروباکتریاسه* میان گروه‌های شاهد که عاری از آغازگر باکتریایی هستند سیر صعودی معنی‌داری نشان داده است (p<۰/۰۵). اما جمعیت باکتری‌های انتروباکتریاسه میان گروه‌های تیمار که حاوی آغازگر باکتریایی هستند سیر صعودی غیر معنی‌داری نشان داده است (p>۰/۰۵). به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که افزودن کشت آغازگر موجب کاهش معنی‌دار میزان جمعیت انتروباکتریاسه شده است (p<۰/۰۵).

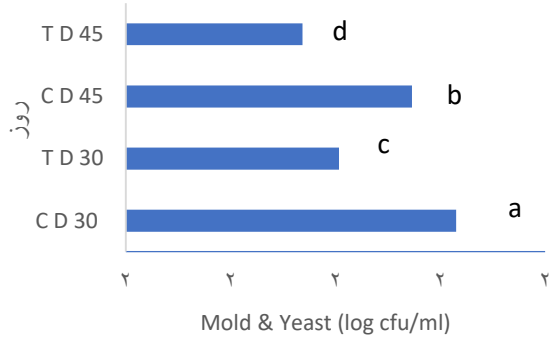


شکل ۳. تغییرات جمعیت Enterobacteriaceae در گروه‌های مورد بررسی در طی ۴۵ روز آزمایش

*حروف کوچک نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی در سطح p<۰/۰۵ هستند.

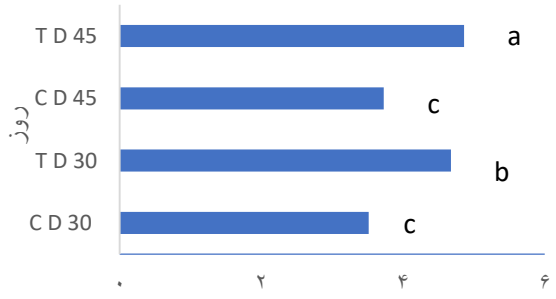
بررسی تغییرات جمعیت کپک‌ها و مخمر ها

قارچ‌ها میکروارگانیسم‌هایی هستند که سبب تخریب مواد غذایی مختلف شده و امروزه به دلیل تولید مایکوتوکسین‌ها و تأثیر آن‌ها بر سلامتی انسان کنترل آن‌ها در مواد غذایی مختلف حائز اهمیت است. در تحقیق اخیر میزان جمعیت کپک و مخمر در بازه‌ی ۱/۹۳۷ log cfu/ml تا ۲/۲۳ بود (شکل ۴). در طول زمان بیشترین و کمترین میزان کپک و مخمر مربوط به گروه شاهد روز ۳۰ و تیمار روز ۴۵ می‌باشد. نتایج حاصل نشان می دهد با گذشت زمان جمعیت قارچ‌ها در گروه‌های شاهد کاهش معنی‌داری داشته است (p<۰/۰۵). قابل ذکر است که این روند کاهشی میان گروه-های تیمار نیز در طول زمان مشاهده می شود. میزان جمعیت کپک و مخمر در گروه تیمار روز ۳۰، کمتر از شاهد بود و این ارتباط میان گروه‌های مورد آزمایش در روز ۴۵ نیز مشاهده شد و تفاوت مشاهده شده از نظر آماری معنی دار است (p<۰/۰۵). به صورت کلی می‌توان بیان نمود که افزودن آغازگر باکتریایی سبب کاهش جمعیت کپک و مخمرها و محدود شدن رشد آن‌ها در حضور *باسیلوس پلی میکسا* می شود.



شکل ۴ . تغییرات جمعیت Mold & Yeast در گروه‌های مورد بررسی در طی ۴۵ روز آزمایش

*حروف کوچک نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی در سطح p<۰/۰۵ هستند.



شکل ۵. تغییرات جمعیت باکتری‌های Lactic acid در گروه‌های مورد بررسی در طی ۴۵ روز آزمایش

*حروف کوچک نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی در سطح p<۰/۰۵ هستند.

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی تغییرات جمعیت *لاکتیک اسید* باکتری‌ها

لاکتیک اسید باکتری‌ها نقش اساسی در ویژگی‌های حسی سس تخمیری مهیاوه دارد. نقش اولیه باکتری‌های لاکتیکی تخمیر کربوهیدرات‌های در دسترس و به موجب آن، کاهش pH است. ترکیب pH پایین، اسیدهای آلی (بطور خاص، اسید لاکتیک) و نمک، فاکتور اصلی حفاظت و ماندگاری در محصولات تخمیری ماهی است. در مطالعه حاضر، میزان جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک در بازه‌ی ۳/۵۱ log cfu/ml تا ۴/۸۶ بود (شکل ۵). بیشترین و کمترین میزان جمعیت این باکتری‌ها متعلق به تیمار روز ۴۵ می‌باشد. جمعیت باکتری‌های لاکتیکی در گروه تیمار در طول زمان سپری شده تخمیر سیر صعودی معنی دار دارد ($p<۰/۰۵$). قابل توجه است که گروه شاهد سیر صعودی غیر معنی دار نشان داد. همچنین هنگام مقایسه‌ی گروه‌های مورد آزمایش در روز ۳۰، گروه تیمار جمعیت باکتری‌های لاکتیکی بالاتری از گروه شاهد داشت که این ارتباط میان گروه‌های مورد بررسی در روز ۴۵ نیز برقرار بود ($p<۰/۰۵$). نتایج حاصل نشان می دهد که میزان جمعیت باکتری‌های لاکتیکی با گذر زمان بر اثر افزودن آغازگر باکتریایی افزایش معنی‌داری داشته است ($p<۰/۰۵$).

بحث

مطالعه حاضر به بررسی تأثیر آغازگر *باسیلوس* پلی *میکسا* بر خصوصیات شیمیایی و میکروبی سس ماهی مهیاوه ایرانی پرداخته است. در این مطالعه خصوصیات شیمیایی و میکروبی مهیاوه در طول تخمیر و در دو روز ۳۰ و ۴۵ بررسی شد. در ارزیابی خصوصیات شیمیایی مهیاوه، کاهش میزان pH در طول تخمیر می‌تواند به دلیل شدت تخمیر و تولید اسیدهای آلی به وسیله‌ی میکروارگانیسم‌ها در طول تخمیر می‌باشد که در نتیجه کاهش pH در سس ماهی را به دنبال دارد. زمان[1] و همکاران نیز در بررسی ظهور آمین‌های بیوژن و میزان تجزیه آمین‌ها به وسیله باکتری‌ها در سس ماهی به این نتیجه دست پیدا کردند که pH نمونه‌های سس ماهی بین ۴/۸ تا ۵/۷ است، که با نتایج تحقیق اخیر مطابقت داشت (۲۷). همچنین pH سس تخمیری تایلندی نامپلا[2] و سس تخمیری کره ای مایو چی جیو[3] به ترتیب ۵/۴۲ و ۶/۴ گزارش شده است که بالاتر از نتایج تحقیق اخیر است (۱۶). در راستای توضیح فوق کیلینیک[4] و همکاران نشان دادند که نمونه‌های سس ماهی حاوی ادویه، دارای pH کمتری هستند که این اتفاق به دلیل تأثیر ادویه در کاهش تولید آمین‌های بیوژن و اثرات ضدمیکروبی ادویه، کنترل میکروارگانیسم‌های مولد فساد و درنتیجه تقویت رشد باکتری‌های لاکتیکی و پیشرفت تخمیر می‌باشد (۲۶).

در ارزیابی افزایش اسیدیته در طول تخمیر مشخص شد، در فرمولاسیون سس ماهی ترکیبات کربوهیدراتی نظیر جو وجود دارد، که ماده مغذی برای میکروارگانیسم‌ها است. دلیل افزایش اسیدیته سس ماهی احتمالا می‌تواند افزایش فعالیت میکروبی به علت وجود کربوهیدرات ها، ماده مغذی میکروارگانیسم‌ها در فرمولاسیون مهیاوه باشد.

لوپتچارات[5] و همکاران در بررسی ترکیب شیمیایی سس‌های ماهی تولید شده در کشورهای آسیای شرقی و جنوب شرقی گزارش کردند که اسید لاکتیک در سس تولیدی اکثر کشورها به جز میانمار و چین به مقدار محسوسی وجود داشت (۳). در سس میانماری و چینی، مقدار اسیدلاکتیک کم بوده، ولی به جای آن اسید استیک به مقدار زیادی وجود داشته است. با توجه به تحقیق فوق به نظر می‌رسد افزایش اسیدیته در سس مهیاوه علاوه بر افزایش میزان اسید لاکتیک می‌تواند به دلیل افزایش سایر اسیدها نظیر اسید استیک باشد.

نمک در سس ماهی به عنوان طعم دهنده و نگهدارنده استفاده می شود. کیفیت نگهداری سس ماهی علاوه بر میزان تخمیر اسیدی به مقدار نمک و کربوهیدارت استفاده شده

[1] Zaman
[2] Nampla
[3] Myeolchi-jeot
[4] Kilinc
[5] Lopetcharat

www.SID.ir

Archive of SID

بستگی خواهد داشت. در طول تخمیر وجود نمک سبب کم شدن فعالیت آبی به aw<۰,۹۱ می شود. کاهش pH و افزایش اسیدیته نیز در طول تخمیر با مصرف کربوهیدرات‌ها صورت می پذیرد. کاهش فعالیت آبی و pH به همراه افزایش اسیدیته سبب توقف رشد میکروارگانیسم‌های بیماریزا به خصوص باکتری‌ها می شود (۳۰).

در تحقیق اخیر مشخص شد سس ماهی مهیاوه محتوی نمک بالایی دارد. اما مهیاوه در مقایسه با نامپلا، سس ماهی تخمیری تایلندی (۱۸/۵ درصد و۲۹/۸۷ درصد نمک) و یولو[1] ، سس ماهی سنتی چینی (۲۰/۵ درصد و۲۹/۸ درصد نمک) محتوی نمک پایین تری دارد (۱۶). میزان بالای نمک در این سس ها، احتمالا اثر مشخص بر روی رشد باکتریایی و نسبت تخمیر دارد و در نتیجه موجب تأثیر بر ویژگی حسی و سلامت محصول می‌شود.

ماه و همکاران درصد نمک سس ماهی تخمیری سنتی کره‌ای، میولچی جت[2]را بین ۱۵ درصد تا ۲۵ درصد گزارش کردند و درصد نمک نمونه‌های مهیاوه شاهد و تیمار شده نیز در این محدوده قرار داشت (۳۱). زمان و همکاران در بررسی استفاده از آغازگر *Novel* برای جلوگیری از تجمع آمین‌های بیوژنیک در طی تخمیر سس ماهی هیچ اختلاف معناداری در میزان نمک تمام نمونه‌های سس ماهی در حین فرآیند تخمیر مشاهده نکردند، که مشابه نتایج تحقیق فوق بود (۳۲).

با توجه به افزایش محتوی پروتئین نمونه‌های سس شاهد و تیمار در طول تخمیر، به نظر می رسد استارتر *باسیلوس پلی میکسا* توانایی تولید پروتئین از ترکیبات موجود در محیط کشت را دارد. زیرا محتوی TVB-N نیز کاهش یافته است اما به نظر می رسد بخشی از ترکیبات نیتروژنه برای سنتز پروتئین مصرف شده است. کلینیک و کاکلی[3] در پژوهش روی سس ماهی تهیه شده از ساردین، گزارش کردند میزان پروتئین سس ماهی در طول دوره تخمیر بین g/۱۰۰ml ۵/۹۲-۱۳/۱۱ می باشد، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (۳۳). مرادی زاده فرد[4]و همکاران طی بررسی بر روی تأثیر عصاره سیر بر خواص فیزیکی و شیمیایی سس مهیاوه، میزان پروتئین ماهی خشک به همراه عصاره سیر را g/۱۰۰ml ۰/۶۴ ± ۲۳/۲۲ و میزان پروتئین ماهی خشک بدون عصاره سیر را g/۱۰۰ml ۰/۹۷ ± ۲۲/۸۷ گزارش کردند (۳۴). مقدار پروتئین گزارش شده توسط آن‌ها بیشتر از نتایج حاصل از آزمایش‌های صورت گرفته در تحقیق اخیر است که g/۱۰۰ml ۱۳/۱۲ عنوان شده است.

در تحقیق اخیر اگر چه محتوی TVB-N کلیه نمونه‌ها در طول زمان افزایش یافته اما محتوی TVB-N در نمونه‌های تیمار شده نسبت به نمونه‌های شاهد کاهش یافته است. کاهش میزان ترکیبات نیتروژنی فرار (TVB-N) در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد نشاندهنده کاهش فعالیت پروتئولیتیکی فلور میکروبی سس مهیاوه در حضور *باسیلوس پلی میکسا* است. نتایج زو[5]و همکاران در بررسی میزان ترکیبات نیتروژنی فرار در نمونه‌های سس ماهی تهیه شده از ضایعات ماهی مرکب اسکوئید[6]نشان دهنده این بود که در تمام مراحل تخمیر میزان TVB-N در حال افزایش است و در پایان تخمیر یعنی روز ۳۰ به حداکثر میزان خود mg/kg ۳۰۰۰ رسیده است (۳۵). روند افزایشی مشاهده شده در میزان TVB-N در طول تخمیر با تحقیق فوق مشابهت داشت. با بررسی ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی مهیاوه، یک سس ماهی ایرانی زارعی و همکاران میزان TVB-N را به عنوان یک شاخص تخمیر در غذاهای غنی از پروتئین در نظر گرفتند، که میانگین کلی آن در نواحی مختلف mg/kg ۳۰۹۸ گزارش شد و بالاتر از میانگین کلی مشاهده شده در تحقیق اخیر بود (۲).

با توجه به کاهش محتوی هیستامین و تیرامین نمونه‌های سس تیمار در مقایسه با شاهد در طول تخمیر، به نظر می رسد، آغازگر، به عنوان یک میکروارگانیسم رقابت کننده‌ای که فعالیت دکربوکسیلازی اسیدآمینه کمتری دارد عمل می کند

[1] Yu Lu
[2] Myeolchi-jeot
[3] Kilinic & Cakli
[4] Moradizadeh fard
[5] Xu
[6] Squid

www.SID.ir

Archive of SID

و یا توانایی تخریب آمین‌های بیوژن تولید شده را دارد. از منظر سم‌شناسی، مصرف میزان زیاد آمین‌های بیوژنیک برای افراد حساس، خطر برای سلامتی را در پی دارد. بنابراین، بررسی میزان آمین‌های بیوژنیک در محصولات خوراکی و نوشیدنی‌ها از لحاظ سلامت غذایی مهم است. در بین آمین-های بیوژنیک، به نظر می‌رسد که هیستامین، آمین اصلی در سس ماهی ایرانی باشد. سازمان غذا و دارو (FDA)، هیستامین را بعنوان یک خطر بزرگ شیمیایی در محصولات دریایی معرفی کرده است و FDA میزان مجاز هیستامین را ۵۰ mg/kg پیشنهاد کرده است (۲).

فوکامی[1] و همکاران گزارش کردند *استافیلوکوکوس کاندیمنتی*[2] و *استافیلوکوکوس کارنوسوس*[3] سبب کاهش محتوای هیستامین به مقدار ۲۷/۴ درصد می شوند (۳۶). در تحقیق اخیر میانگین مقدار هیستامین ۴۴/۰±۶۷/۵۱mg/kg گزارش شد. این مقدار خیلی بیشتر از نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش‌ها فوکامی و همکاران بود. لی[4] و همکاران گزارش کردند که کشت آغازگر *باسیلوس* پلی *میکسا* می‌تواند تجمع هیستامین را در سس ماهی تولید شده در تایوان کاهش دهد (۳۷). علاوه بر این، استفاده از آغازگر باعث کاهش محتوای کلی آمین بیوژن (هیستامین، تیرامین، کاداورین، پوترسین) در نمونه‌های سس ماهی تخمیری می‌شود. پس از ۱۲۰ روز تخمیر، محتوای آمین‌های بیوژن در مقایسه با نمونه‌های شاهد، حدود ۳۴٪ کمتر بود. کاهش میزان هیستامین سس ماهی تایوانی در حضور آغازگر با کاهش هیستامین در سس ماهی مهیاوه در حضور آغازگر مشابهت داشت.

زارعی و همکاران با بررسی ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی مهیاوه، یک سس ماهی ایرانی میزان آمین‌های بیوژنیک در ۵ منطقه از استآن‌ها ی جنوبی ایران را اندازه‌گیری کردند(۲). تیرامین دارای میانگین کلی ppm ۱۱/۳±۵/۰۶ بود. میانگین کلی تیرامین (ppm ۱۴/۰±۳۳/۵۸)، در تحقیق فوق بیشتر از نتایج زارعی و همکاران بود. ماه و هانگ گزارش کردند *زایلوسوس*[5] به عنوان یک آغازگر ماهی شور تخمیرشده استفاده می‌شود، این آغازگر توانایی تخریب تیرامین تا ۴ درصد را داشته است (۱۶). تأثیر آغازگر *زایلوسوس* بر تیرامین مشابه تأثیر آغازگر *باسیلوس پلی میکسا* در تحقیق اخیر بود. در ارزیابی خصوصیات میکروبی، جمعیت *باسیلوس*‌ها در سس تخمیری مهیاوه قابل توجه بود و در طول تخمیر روند نزولی داشت. در بررسی تنوع میکروبی در نگاری[6] هنتاک[7] و تونتاپ[8]، محصولات ماهی تخمیری از شمال شرق هند توسط تاپا[9] و همکاران، جمعیت باسیلوس‌ها در نگاری مشابهت بالایی با این تحقیق داشت و مقدار آن ۲/۶۹ log cfu/g تا ۱/۸ بود (۳۸). طاهری و همکاران در بررسی جمعیت باکتری‌های سس ماهی ایرانی (مهیاوه) مشاهده کردند میزان باسیلوس‌ها در طول زمان تخمیر به طور چشمگیری روندی نزولی پیدا کرده بود و روند نزولی مشاهده شده با این تحقیق مطابقت داشت (۱).

در بررسی خصوصیات میکروبی، جمعیت *باکتری‌های هالوفیل* در سس تخمیری مهیاوه قابل توجه بود و در نمونه تیمار در طول تخمیر روند نزولی داشت. سس مهیاوه دارای غلظت بالای نمک بوده و سطح بالای نمک تأثیر زیادی بر رشد میکروبی و میزان تخمیر مهیاوه داشته و در نتیجه موجب بهبود کیفیت و ایمنی محصول می شود. بسیاری از باکتری‌های غیر نمک دوست در مراحل اولیه تخمیر حضور دارند، ولی از آنجا که در این سس، با غلظت بالای نمک مواجه هستیم، این باکتری‌ها قدرت رشد خود را از دست داده و در مراحل بعدی تخمیر جای خود را به باکتری‌های نمک دوست و مقاوم به نمک می دهند (۱).

در مطالعه مشابهی که زارعی و همکاران بر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی مهیاوه، سس ماهی ایرانی انجام دادند، مشخص شد میانگین مقدار کلنی‌های باکتری

[1] Fukami
[2] *Staphylococcus condiment*
[3] *Staphylococcus carnosus*
[4] Lee
[5] xylosus
[6] Ngari
[7] Hentak
[8] Tungtap
[9] Thapa

www.SID.ir

Archive of SID

هالوفیل logcfu/ml ۳/۲±۶۶/۲۴ است و با میانگین جمعیت هالوفیل‌ها در تحقیق اخیر مشابهت داشت (۲). در نتایجی که رنجبر و همکاران بر روی خواص شیمیایی و میکروبی سس مهیاوه سس ماهی سنتی ایرانی در زرین دشت ایران منتشر کردند بیان شد ازجمله باکتری‌های *هالوفیل* می‌توان به *استافیلوکوکوس‌ها* اشاره کرد که مقدار آن را log cfu/ml ۱/۰۸ ± ۳/۵۲ گزارش کردند و با میانگین جمعیت باکتری‌های هالوفیل گزارش شده در تحقیق فوق مطابقت داشت (۱۳) . براساس پژوهش فوکویی[1] و همکاران میانگین تعداد باکتری‌های *هالوفیل* در هنگام تخمیر در طول ۶ هفته کاهش یافته بود و با ادامه فرایند نیز این روند نزولی ادامه داشته است که با روند کاهشی جمعیت هالوفیل‌ها در نمونه تیمار در مطالعه‌ی حاضر مطابقت داشت (۳۹).

در بررسی باکتری‌های *انتروباکتریاسه*، باکتری‌های بومی دستگاه گوارش روند نزولی در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد مشاهده شد. به نظر می رسد حضور آغازگر *باسیلوس پلی میکسا* اثر مثبت بر کاهش جمعیت *انتروباکتریاسه* داشته است. طی بررسی که سانتو[2] و همکاران بر روی اثر سطوح مختلف از کلرید سدیم و گلوکز در تخمیر ماهی ساردین توسط *لاکتوباسیلوس ساکئی*[3] طی ۲۱ روز داشتند جمعیت باکتری‌های *انتروباکتریاسه* نمونه اندازه‌گیری شده را کمتر از log cfu/g ۳ اعلام کردند، که کمتر از حد کمینه تحقیق اخیر بود (۴۰).

طبق پژوهش زارعی و همکاران بر روی ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی مهیاوه، جمعیت کلنی‌های *انتروباکتریاسه* را log cfu/g ۳/۲±۴۱/۰۳ بیان کردند که با حد کمینه تحقیق اخیر مطابقت داشت (۲).

بررسی جمعیت قارچ‌ها در سس مهیاوه مشخص کرد، با گذشت زمان جمعیت قارچ‌ها در گروه تیمار نسبت به شاهد کاهش داشته و افزودن آغازگر باکتریایی سبب کاهش جمعیت کپک و مخمرها و محدود شدن رشد آن‌ها در حضور *باسیلوس پلی میکسا* می شود. طاهری و همکاران اعلام کردند جمعیت کلنی‌های کپک و مخمر در طول ۴۵ روز تخمیر در دمای محیط افزایش می‌یابد و گونه غالب آن *ساکارومایسس* بود. در صورتی‌که در مقایسه با نتایج حاصل از آزمایش‌ها حاضر جمعیت کلنی‌های کپک و مخمر در طی تخمیر به‌صورت کاهشی بوده است (۱). مطابقت نتایج اخیر با پژوهش رنجبر و همکاران که آزمایشاتی بر روی خواص شیمیایی و میکروبی سس مهیاوه در زرین دشت ایران منتشر کردند، میزان جمعیت کلنی‌ها را log cfu/ml ۰/۷۱ ± ۲/۲۷ گزارش کردند، که با تحقیق اخیر مشابهت داشت (۱۳).

بررسی نتایج بخش میکروبی مشخص کرد، جمعیت لاکتیک اسید باکتری‌ها در نمونه‌های سس مهیاوه شاهد و تیمار شده در طی زمان صعودی می‌باشد. طی مطالعه میکروبی در سس ماهی زمان و همکاران به حضور باکتری‌های لاکتیکی در سس ماهی اشاره کردند، که مشابه نتایج حاضر بود (۲۵). مطالعات سانی[4] و همکاران در بررسی محصولات تخمیری مومونی[5] و باکاسانگ[6]، نشان داد که جمعیت باکتری لاکتیکی log cfu/g ۴/۸ تا ۶/۱۵ است، که با حد کمینه تحقیق اخیر مطابقت داشت (۴۱).

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، این تحقیق از اولین گزارشات در زمینه خصوصیات شیمیایی و میکروبی سس مهیاوه، سس سنتی ایرانی است. مهیاوه در جنوب ایران به عنوان چاشنی و نه غذای اصلی مصرف شده و مصرف آن غیر منظم می باشد. اگرچه مهیاوه حاوی پروتئین بالا و اسید آمینه‌های ضروری و غیر ضروری، ویتامین‌ها و املاح می‌باشد، وجود ترکیبات ضد تغذیه ای نظیر آمین‌های بیوژن در این سس مهیاوه مصرف این ماده غذایی را با محدودیت مواجه می سازد. محتوی بالای آمین‌های بیوژن در سس مهیاوه، می تواند مربوط به میزان بالای فعالیت‌های دکربوسیلاز باکتری‌های هالوفیل،

[1] Fukui
[2] Santo
[3] *Lactobacillus sakei*
[4] Sanni
[5] Momoni
[6] Bakasang

www.SID.ir

Archive of SID

انتروباکتریاسه، باسیلوس‌ها و برخی از گونه‌های باکتری لاکتیکی در این محصول باشد. این ترکیبات پایدار در برابر حرارت می‌باشند و قرار گرفتن در معرض پخت و پز و گرمای طولانی مدت سبب کاهش سمیت آن‌ها نمی‌شود. به نظر می رسد افزودن استارترهایی نظیر *باسیلوس پلی میکسا* که توانایی دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه را ندارند و فلور میکروبی غالب مهیاوه را تشکیل دهند، می تواند سبب کاهش تولید آمین‌های بیوژن در این محصولات شوند. تحقیق اخیر مشخص کرد علاوه بر کاهش آمین‌های بیوژن، افزودن این استارتر لاکتیکی تأثیر منفی بر خصوصیات شیمیایی مهیاوه نداشته بلکه محتوی پروتئین این سس افزایش و میزان بازهای نیتروژنه فرار کاهش یافته است. افزودن این استارتر لاکتیکی سبب کاهش بار میکروبی قارچی و باکتری‌های انتروباکتریاسه، هالوفیل‌ها و باسیلوس‌ها گردید، در حالیکه زنده مانی باکتری‌های سلامتی بخش لاکتیکی افزایش یافت. از آنجا که سس مهیاوه بعنوان یک فرآورده‌ی سنتی مصرف بالایی در جنوب کشور دارد و بعلاوه جنبه‌های تجاری آن در کشورهای آسیایی، این مطالعه و مطالعات آینده می‌توانند نقش کارایی را در بهبود جنبه‌های شیمیایی و میکروبی و کیفی این فرآورده داشته باشد.

منابع

۱. طاهری ع، جلالی نژاد س، حسینی س، احمدی آ، ناصری ف. بررسی جمعیت باکتری‌های سس ماهی ایرانی (مهیاوه). مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی. ۱۳۹۳: ۱۹(۵): ۲۷۳ – ۲۸۰.

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

3. Lopetcharat K, Chio YJ, Park DJW, Daeschel MA. Fish sauce products and manufacturing. Food reviews international. 2001; 17: 65-88.

4. Suzzi G, Gardini F. Biogenic amines in dry fermented sausages. Journal of food microbiology. 2003; 88(1): 41-54.

5. FAO. The production of fish meal and oil. FAO fisheries technical paper. 1986; 142: 63.

6. Suzuki T. Fish and krill protein Processing technology: Applied Science Publishers. London, UK; 1981.

7. Mah JH, Han HK, Oh YJ, Kim MG, Hwang HJ. Biogenic amines in Jeotkals, Korean salted and fermented fish products. Food chemistry. 2002; 79(2): 239-243.

8. Brillantes S, Paknoi S, Totakien A. Histamine Formation in Fish Sauce Production. Journal of food science. 2002; 67 (6): 2090-2094.

9. Craig CL, Marshall AL, Sjöström M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE, Pratt M, Ekelund U, Yngve A, Sallis JF, Oja P. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. US National Library of Medicine National Institutes of Health. 2003; 35(8): 1381-95.

10. Dadakova E, kaizek M, Pelikanova T. Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). Journal of food chemistry. 2009; 116(1): 365-370.

11. Sheppard SK, Dallas JF, Wilson DJ, Strachan NJ, McCarthy ND, Jolley KA, Colles FM, Rotariu O, Ogden ID, Forbes KJ, Maiden MC. Evolution of an agriculture-associated disease causing campylobacter coli clade evidence from national surveillance data in scotland. Plos One. 2010; 5(12): e15708.

12. Naila A, Flint S, Fletcher G, Bremer P, Meerdink G. Control of biogenic amines in food and existing and emerging approaches. Journal of food science. 2010; 75: 139-150.

13. Ranjbar M, Mazloomi SM, Armin M, Hemmati F. Microbial and Chemical Properties of Mahyaveh: A Traditional Iranian Fish Sauce in Zarrin Dasht City, Iran. International Journal of nutrition sciences. 2017; 2(4):229-233.

۱۴. مؤیدی س ف، موسوی نسب م. بررسی تغییرات ترکیبات نیتروژنی، میکروبی و الگوی الکتروفورز در حین فرآیند تخمیر مهیاوه، سس ماهی سنتی ایرانی. مجله علمی شیلات ایران. ۱۳۹۲: ۲۲(۳): ۱۴۷-۱۶۳.

15. Tapingkae W, Tanasupawat S, Parkin KL, Benjakul S, Visessanguan W. Degradation of histamine by extremely halophilic archaea isolated from high salt fermented fishery products. Enzyme microbial technology. 2010; 46 (2):92-99.

16. Mah JH, Hwang HJ. Effects of food additives on biogenic amine formation in Myeolchi-jeot, a salted and fermented anchovy (Engraulis aponicas). Food chemistry. 2009; 114: 168-173.

17. Lee YC, Lin CS, Liu FL, Huang TC, Tsai YH. Degradation of histamine by Bacillus polymyxa isolated

www.SID.ir

Archive of SID

29. Leisner JJ, Millan JC, Huss HH, Larsen LM. Production of histamine and tyramine by lactic acid bacteria isolated from vacuum-packed sugar-salted fish. *Journal of applied bacteriology.* 1994; 76(5): 417-423.

۳. یزدان پناه ص، مهستی پ. بررسی ارزش تغذیه ای سس ماهی ساردین. مجله علمی پژوهشی علوم و فناوری مواد غذایی. ۱۳۹۰: ۳(۴): ۶۷-۷۴.

31. Mah JH, Kim YJ, No HK, Hwang HJ. Determination of Biogenic Amines in Kimchi, Korean Traditional Fermented Vegetable Products. Journal of food science and biotechnology. 2004; 13(6): 826 – 829.

32. Zaman MZ, Bakar FA, Jinap S, Bakarb J. Novel starter cultures to inhibit biogenic amines accumulation during fish sauce fermentation. Journal of food microbiology. 2011; 145 (6): 84-91.

33. kilinc B, Cakli S. Determination of the shelf life of sardine (Sardina pilchardus) marinades in tomato sauce stored at 4 °C. Journal of food control. 2005; 16(7): 639-644.

۳۴. مرادی زاده فرد ح، جلالیان م، شعبانپور ب. تأثیر عصاره ی سیر بر خواص شیمیایی، میکروبی و حسی مهوه تولیدی از تازه و خشک (*Stolephorus indicus*) ماهی آنچوی . فصلنامه صنایع غذایی. ۱۳۹۰: ۸(۳۰): ۱۱-۲۰.

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

36. Fukami K, Funatsu Y, Kawasaki K, Watabe S. Improvement of fish-sauce odor by treatment with bacteria isolated from the fish-sauce mash (moromi) made from frigate mackerel. Journal of food science. 2004; 69: 45-49.

37. Lee YC, Kung HF, Huang CY, Huang TC, Tsai YH. Reduction of Histamine and biogenic amines during sclted fish fermentation by *Bacillus Polymyxa* as starter culture. Journal of food and deug analysis. 2016; 24: 157-163.

38. Thapa N, Pal J, Tamang JP. Microbial diversity in ngari, hentak and tungtap, fermented fish products of north-east india. Journal of microbiology and biotechnology. 2004; 20:599.

39. Fukui Y, Yoshida M, Shozen K, Funatsu Y, Takano T, Oikawa H, Yano Y, Satomi M. 2012. Bacterial communities in fish sauce mash using culture-dependent and independent methods. The Journal of general and applied microbiology. 2012; 58(4): 273-281.

40. Santo EPLM, Lisboa C, Alves FG, Martins D, Beirão LH, Sant'Anna ES, Franco BDGM. Effect of different levels of sodium chloride and glucose on fermentation of sardines (Sardinella brasiliensis) by *Lactobacillus sakei* from salted fish products. Journal of food and drug analysis. 2015; 23(4):836-844.

18. Qing Ji, Yugang Gao, Yan Zhao, Lianxue Zhongmei He, Pu Zang, Hongyan Zhu, He Yang, Xue Li, Lianxue Zhang. 2015. Determination of ginsenosides by *Bacillus polymyxa* conversion and on pharmacological activities of the conversion products. Journal of process biochemistry. 2015; 50(6) 1016-2022.

19. Ji Q, Gao Y, Zhao Y, He Z, Zang P, Zhu H, Yang H, Li X, Zhang L. Determination of ginsenosides by Bacillus evaluation polymyxa conversion and on pharmacological activities of the conversion products. Journal of process biochemistry. 2015; 50(6):1016-2022.

20. Nakano M, Sagane Y, Koizumi R, Nakazawa Y, Yamazaki M, Watanabe T, Takano K, Sato H. Data on the chemical properties of commercial fish sauce products. Journal of science direct. 2017; 15: 658-664.

21. AOAC. Association of Official Analytical Chemist . 1990. 15th ed., 931–935.

22. AOAC. Association of Official Analytical Chemist. 2005. 18th ed., Gathersburg, MD U.S.A.

23. AOAC. Association of Official Analytical Chemist. 2000. 1Vth ed., Methods 925.10, 65.17, 974.24, 992.16.

24. Taylor GR, Lagosky PA, Storms RK, Haynes RH. Molecular characterization of the cell cycle-regulated thymidylate synthase gene of Saccharomyces cerevisiae. Journal of biological chemistry. 1987; 262(11):5298-5307.

۲۵. شکیب ع، موسوی نسب م، تهیه سس ماهی ساردین رنگین کمان (*Acuta dussumieria*) خشک شده و بررسی خواص شیمیایی و حسی آن. مجله علمی شیلات ایران. ۱۳۹۲ :۲۲(۱): ۴۹-۶۰.

26. Kerr M, Lawicki P, Aguirre S, Rayner C. Effect of Storage Conditions on histamine formation in fresh and canned tuna. Public Health Division Victorian Government Department of Human Services. Australia. 2002; 1-20.

27. Zaman MZ, Bakar FA, Selmaat J, Bakarb J. Occurrence of Biogenic Amines and Amines Degrading Bacteria in Fish Sauce. Journal of food scince. 2010; 28 (5): 440-449.

۲۸. Kilinc B, Cakli S, Tolasa S, Dincer T. Chemical, microbiological and sensory changes associated with fish sauce processing. European food research and technology. 2006; 222:604-613.

www.SID.ir

Archive of SID

2a. Journal of brazilian archives of biology and technology. 2005;48: 45-52.

41. Sanni AI, Asiedu M, Ayernorb GS. Microflora and chemical composition of *momoni*, a ghanaian fermented fish condiment. Journal of food composition and analysis. 2002;15(5): 577-583.

www.SID.ir

Archive of SID

Influence *of Bacillus polymyxa* starter on chemical and microbial properties of Mahyaveh fermented sauce

Shaghayegh Moghadam[1], **Marjaneh Sedaghati**[1*], Nargess Mooraki[2]

[1] Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran
[2] Department of Fisheries, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

Abstract

Mahyave is a traditional Iranian fish sauce made from fish, salt, spices and water by the fermentation process. Although fish sauces have a high nutritional value, they contain biogenic amines as anti-nutritional compounds. This study aimed to investigate the effect of *Bacillus polymyxa* at a concentration of 10^8 cfu/ml on the chemical (pH, acidity, salt percentage, TVB-N, histamine and tyramine) and microbial (population of *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, *Halophiles*, *Lactic acid bacteria* and fungi in mahyaveh sauce. This study was administered in 4 experimental groups including control and treatment groups (containing bacteria) on 30 and 45 days. The results of microbial analysis showed that the population of *Bacillus*, *Halophiles* and fungi was significantly ($p < 0.05$) decreased during fermentation. The colony population of *Lactic acid bacteria* and *Enterobacteriaceae* significantly increased during fermentation ($p < 0.05$). Chemical analysis of the treated and control samples also showed that pH, salt percentage, histamine and tyramine content decreased in 45 days of fermentation, but acidity, TVB-N and protein concentration increased during 45 days of fermentation ($p < 0.05$). Also *Bacillus polymyxa* reduced the amount of histamine and tyramine content in the product by effect on the fermentation process. The results show that addition of *Bacillus polymyxa* starter is an effective strategy for reducing biogenic amines in fermented fish sauces.

Keywords: *Bacillus polymyxa, biogenic amine, fermentation, mahyaveh, sauce*

[*] marjanehsedaghati@yahoo.com

www.SID.ir