بررسی تغییرات pH و رابطه آن با بار باکتریایی در ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) نگهداری شده در یخ

سراج بیتا*[1]، حسین نجف زاده ورزی[2]، پریتا کوچنین[3]، علی فضل آراء[4]، تکاور محمدیان[5] و احمدرضا حسینی[6]

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۲/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۴/۱۵

چکیده

در این مطالعه تغییرات pH و رابطه آن با باکتری‌های سرمادوست و مزوفیل در ماهی هامور معمولی نگهداری شده در یخ در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ به مدت ۱۸ روز مورد بررسی قرار گرفت. هدف از این مطالعه ارزیابی کیفی و تازگی، بررسی نحوه پیشرفت فساد و بافت ماهی هامور معمولی و بار باکتری‌های سرمادوست و مزوفیل می‌باشد. مقادیر pH در طی روزهای مختلف نگهداری روند افزایشی نشان داد. طبق آزمون آماری واریانس یک طرفه بین میانگین pH در اولین روز نگهداری با تمام روزها اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$). باکتری‌های سرمادوست تغییرات یکنواخت‌تری نسبت به باکتری‌های مزوفیل نشان دادند و با گذشت زمان باکتری‌های غالب در یخ را تشکیل دادند. در اولین و آخرین روز نگهداری اختلاف معنی‌داری در تعداد آنها مشاهده گردید ($p< ۰/۰۵$). ارتباط معنی‌داری بین pH با روز نگهداری و باکتری‌های مزوفیل مشاهده گردید ($R^2=۰/۹۶$). بنابراین افزایش pH در عضله ماهی هامور معمولی در طی زمان‌های مختلف نگهداری در یخ می‌تواند شرایط مناسبی برای رشد و تکثیر این باکتری‌ها فراهم نماید بطوری که در روز هجدهم نگهداری میزان بار باکتریایی به خصوص باکتری‌های سرمادوست به بالاتر از حد مجاز رسید($۷/۷۲\pm۰/۰۹$ log cfu/g) که نشان دهنده کاهش کیفیت این ماهی و فساد آن می‌باشد.

کلمات کلیدی: ارزیابی کیفی، pH، بار باکتریایی، هامور معمولی *Epinephelus coioides*

۱- عضو هیات علمی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار

۲،۴- عضو هیات علمی دانشگاه شهید چمران اهواز

۳- عضو هیات علمی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

۵- دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت آبزیان دانشگاه شهید چمران اهواز

۶- دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

*- نویسنده مسئول مقاله: bita_f79@yahoo.com bita@cmu.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

معمولا پس از صید ماهی و خارج کردن آن از آب، مجموعه تغییراتی در بدن ماهی شامل جمود نعشی، خودهضمی[1]، اکسیداسیون چربی‌ها و تغییرات باکتریایی و بیوشیمایی آغاز می‌شود که در اثر این تغییرات کاهش قابل توجهی در اختصاصات کیفی محصول ایجاد می‌گردد که این تغییرات در نهایت منجر به فساد و محدودیت در مصرف ماهی می‌شوند. اولین تغییر قابل توجه در ساختار گوشت ماهی بعد از صید، جمود نعشی می‌باشد که در واقع انقباض و سفتی عضلات ماهی، اندکی پس از صید است. فعالیت آنزیمی موجود در عضلات ماهیان و سایر اندام‌های بدن که به سرعت پس از صید آغاز می‌گردند، در صورت عدم کنترل منجر به مجموعه تغییراتی می‌گردند که در اصطلاح به خودهضمی موسوم است این تغییرات در نهایت ممکن است بر خصوصیات ارگانولپتیک[2] ماهی تأثیرات قابل توجهی داشته باشند. تغییرات حاصل از اکسیداسیون می‌تواند منجر به تغییر در طعم طبیعی آبزی و همچنین تغییراتی در سیستم پروتئینی عضلات شود که تغییرات پروتئینی سبب کاهش کیفیت بافت عضلانی و افزایش مقدار مایعات خروجی و رشد بیشتر باکتری‌ها و در نهایت تغییر در pH عضله می‌گردد. همزمان با تغییرات آنزیمی، به تدریج باکتری‌هایی که به طور طبیعی روی پوست و در روده ماهی وجود دارند، نیز فعال شده و شروع به تکثیر می‌نمایند. بنابراین تکثیر و فعالیت این باکتری‌ها و آنزیم‌های باکتریایی سرآغاز دیگر تغییراتی است که نتیجه آن بروز علائم فساد باکتریایی در ماهی خواهد بود (Huss, 1995). فساد باکتریایی بطور معمول تا پایان مرحله جمود پس از مرگ آغاز می‌گردد (وقتی شیرابه از الیاف عضلانی آزاد شود). به همین جهت هر گونه تأخیر در آغاز جمود، مدت زمان نگهداری ماهی را افزایش خواهد داد. معمولاً آغاز جمود در اثر فعالیت شدید ماهی در تور، کمبود اکسیژن و دمای بالا سرعت بیشتری می‌گیرد. در حالی که pH پایین و سرد کردن کامل ماهی، شروع آن را به تأخیر می‌اندازد (DiChristina & DeLong, 1993). پس از صید ماهی، شرایط نگهداری بر روی عرشه تأثیر زیادی بر روی کیفیت آن و بنابراین ارزش تجاری‌شان اعمال می‌نماید، به همین جهت کنترل این تغییرات به خصوص تغییرات در میزان pH در عضله ماهی که بدلیل رشد و تکثیر باکتری‌ها بوجود می‌آید در جهت حفظ و بهبود کیفیت محصول از جمله نکاتی است که همواره باید مورد توجه تولید کنندگان قرار داشته باشد. در مقایسه با سایر مواد غذایی که از نظر پروتئینی غنی هستند غذاهای دریایی قابلیت فساد بیشتری دارند، زیرا این مواد دارای مقادیر زیادی ازت غیر پروتئینی هستند که به راحتی در اختیار باکتری‌ها قرار می‌گیرد و ایجاد فساد می‌کنند. از دلایل دیگر فسادپذیری ماهیان، می توان به اثر pH بر روی میکروارگانیسم‌های عامل فساد اشاره کرد که به علت کمبود کربوهیدرات‌ها در ماهیان پس از مرگ، اسیدلاکتیک موجود در لاشه که در اثر فرایند گلیکولیز بی‌هوازی تولید می‌شود، به میزانی نیست که در هنگام جمود نعشی pH را کاملا کاهش دهد و pH معمولا به حدود ۶/۵-۶/۳ تنزل می‌یابد که در واقع مناسب‌ترین pH برای رشد میکروارگانیسم‌ها است و در نتیجه رشد باکتری‌ها سبب ایجاد فساد در ماهی خواهد شد (Fazlara & Qaemmaqami, 2005).

ماهی هامور معمولی به راسته سوف ماهیان و خانواده هامورماهیان تعلق دارد و یکی از مهم‌ترین ماهیان تجاری در حوضه خلیج فارس می‌باشد. این ماهی با در نظر گرفتن ارزش اقتصادی آن، به عنوان یک ماهی رایج و گران‌قیمت در بازارهای خلیج فارس، هند، سنگاپور، هنگ کنگ و تایوان می‌باشد (Heemstra & Randall, 1993). به دلیل اینکه تغییرات pH در مراحل مختلف پس از صید و نگهداری تحت تاثیر عوامل مختلفی قرار دارد بنابراین استفاده از آن به تنهایی نمی‌تواند شاخص خوبی در ارزیابی کیفی ماهی بوده و درجه تازگی را در آن نشان دهد (AOAC, 1995).

1- Autolysis
2- Organoleptic

Archive of SID

www.SID.ir

در نتیجه در این مطالعه به دلیل ارتباط تغییرات pH با بار باکتریایی، تغییرات باکتری‌های سرمادوست و مزوفیل نیز مورد مطالعه قرار گرفت. مطالعات متعددی در زمینه تغییرات pH و بار باکتریایی توسط Arnold & Brown (1978) بر روی ماهی ماکرل و Rock fish، همچنین Eidani (1996) بر روی کیفیت ماهی ساردین (*Sardinella longiceps*)، Rodriguez *et al*. (2004) بر روی ماهی هیک اروپایی (*Merluccius merluccius*)، Hozbor *et al*. (2006) بر روی ماهی آزاد دریایی (*Psedopercis semifasciata*) انجام شده است.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این تحقیق ۳۰ نمونه ماهی هامور معمولی تازه صیدشده از صیدگاه سجافی بندر هندیجان جمع‌آوری گردیده و سپس ماهیان تهیه شده پس از شستشو در داخل جعبه‌های یونولیت حاوی یخ (به صورت لایه‌های متناوبی از یخ و ماهی) قرار داده شدند و سریعا به آزمایشگاه فارماکولوژی و بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انتقال داده شدند. نمونه‌ها بصورت تصادفی از جمعیت ماهیان صید شده جمع‌آوری گردید. با همین روند تغییرات بار باکتریایی نمونه‌ها در فواصل زمانی صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری pH، ابتدا ۵۰ میلی لیتر آب مقطر را در یک بشر ۱۰۰ میلی لیتری ریخته و روی شعله قرار داده شد تا کاملا به جوش بیاید، بعد آنرا در محیط آزمایشگاه قرار داده تا به دمای محیط برسد. سپس ۱۰ گرم عضله ماهی را جدا نموده و در داخل هاون کوبیده و ۵۰ میلی لیتر آب مقطر جوشانده و خنک شده به آن اضافه نموده و به خوبی بهم زده شدند و با دستگاه pH متر، تغییرات pH در عضله در زمان‌های مورد نظر اندازه‌گیری شد. کشت باکتری‌ها نیز بر اساس روش APHA[3] با استفاده از کشت سطحی بر روی محیط کشت آگار مغذی[4] انجام شد. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون، پرگنه‌های[5] تشکیل شده در هر پلیت بطور جداگانه بر اساس روش موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی (ISIRI, 2001) شماره ۲۳۲۵ مربوط به شمارش میکروارگانیسم‌ها شمارش شده و داده‌های بدست آمده، بصورت لگاریتم تعداد کلنی‌های شمارش شده به ازاء هر گرم (Log cfu/g ± SD) ارائه شدند. تجزیه وتحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS انجام پذیرفت که از آزمون همبستگی رگرسیون خطی و پیرسون و تجزیه واریانس یکطرفه برای تحیل داده استفاده شد. رابطه همبستگی به بررسی ارتباط دو یا چند متغیر می‌پردازد و ضریب آن را محاسبه می‌کند که همبستگی بین متغیرها ممکن است مثبت یا منفی باشد، اگر تغییرات یک متغیر با تغییرات متغیر دیگر همراه باشد و افزایش یکی با افزایش دیگری یا بالعکس کاهش یکی با کاهش دیگری همراه بشود می‌گوییم که همبستگی بین آنها مثبت است که پس از محاسبه ضریب همبستگی از طریق رگرسیون خطی و آزمون پیرسون معنادار بودن یا نبودن ارتباط متغیرها مورد بررسی قرار می‌گیرد. روش تجزیه واریانس یکطرفه جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد بین مقادیر حاصل از هر شاخص در زمان‌های صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ روز به کار رفت. همچنین جهت تعیین دقیق وجود یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف زمانی مورد آزمایش از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار[6] استفاده شد. برای تعیین ارتباط بین pH و بار باکتریایی و همچنین زمان نگهداری از آزمون رگرسیون خطی استفاده شد و معادله رگرسیونی آنها بدست آمد. همچنین از آزمون پیرسون برای تعیین ارتباط معنی‌دار بین شاخص‌های کیفیت مذکور و روزهای نگهداری استفاده شد.

3- American Public Health Association
4- Nutrient agar
5- Colony
6- Least Significant Difference

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج

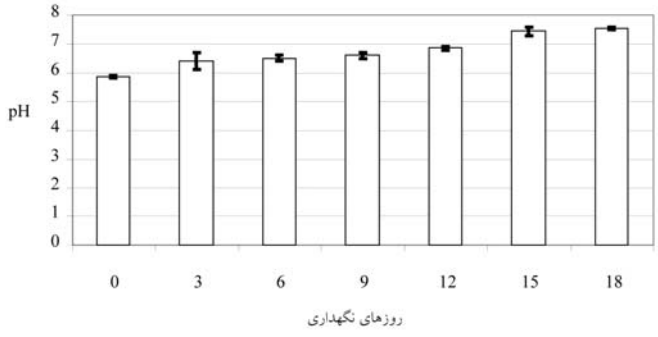
مقادیر pH به همراه نتایج میکروبیولوژیکی (بار باکتری‌های سرمادوست و مزوفیل) در نمونه‌های ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) نگهداری شده در یخ (مربوط به روزهای صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، و۱۸) درجدول ۱ و نیز روند تغییرات هر کدام و مقایسه میزان تغییرات pH و بار میکروبی کنترل کیفیت با یکدیگر در اشکال ۱ و ۲ آورده شده‌اند.

جدول ۱- میانگین مقادیر بار باکتریایی و pH در ماهی هامور معمولی(*Epinephelus coioides*) در روزهای مختلف نگهداری در یخ
به همراه نتایج آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد، Mean ± SE, n=۳

شاخص‌های کیفیت / روز نگهداری	سرما دوست *	مزوفیل *	PH*
صفر	۱/۳۷±۰/۱۹ a	۲/۰۰ ±۰/۰۰ a	۵/۸۵ ±۰/۰۵ a
۳	۳/۱۵ ± ۰/۱۵ b	۲/۰۰ ±۰/۰۰ a	٦/٤۰ ±۰/۰۳ b
٦	٤/۰۸ ±۰/۰۳ c	۲/٦۹ ±۰/۲۱ b	٦/٥۰ ±۰/۱۰ b
۹	٥/٥۱ ±۰/۰۰ d	۳/٤٥ ±۰/۰۷ c	٦/٦۰ ±۰/۱۰ b
۱۲	٦/۲۹ ±۰/۲۰ ab	٤/۲۱ ±۰/۱۲ d	٦/٨٥ ±۰/۰٥ b
۱٥	٦/۹۱ ±۰/۰٦ ac	۳/٨٥ ±۰/۰۲ d	۷/٤٥ ±۰/۱٥ c
۱۸	۷/۷۲ ±۰/۰۹ bc	٤/٦۱ ±۰/۱۳ ab	*۷/٥٥ ±۰/۰٥* c

* (حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار هستند).

مقادیر pH در طی دوره نگهداری در روزهای مختلف روند افزایشی را نشان داد (شکل ۱). کمترین میزان pH در نمونه‌ها در روز اول نگهداری (روز صفر) با میانگین ۵/۸۵±۰/۰۵ و بیشترین آن در روز هجدهم با میانگین ۰/۰۵± ۷/۵۵ بدست آمد. آزمون آماری حاصل از تجزیه واریانس یک طرفه نمونه‌ها نشان داد که بین میانگین pH در اولین روز نگهداری (صفر) با تمام روزها اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰۵$). ولی بین روزهای ۱۵ و ۱۸ نگهداری هیچ نوع اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید، همچنین بین مقادیر pH در روزهای ۳، ۶، ۹ و ۱۲ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

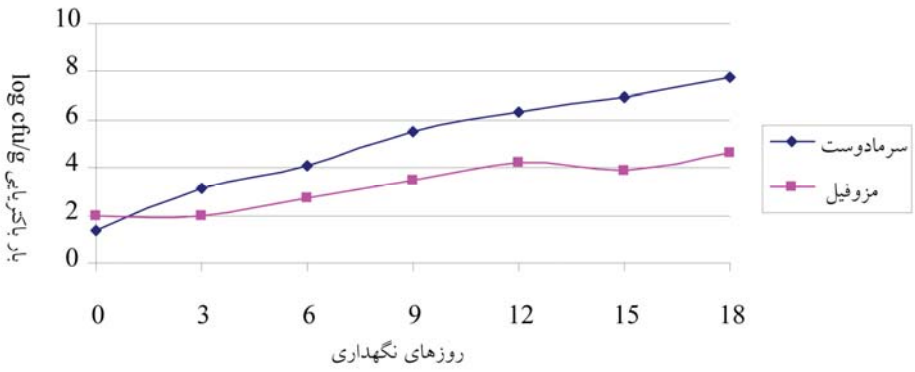


شکل ۱- تغییرات pH در ماهی هامور معمولی نگهداری شده در یخ

Archive

www.SID.ir

در این مطالعه تغییرات بار باکتریایی در زمان‌های مختلف نگهداری روند افزایشی را نشان داد، به طوری که بر اساس آزمون آماری واریانس یک طرفه بین میانگین بار باکتریایی در نمونه‌ها در روز اول نگهداری (روز صفر) با روز آخر نگهداری (روز هجدهم) اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$)، که این اختلاف در مورد باکتری‌های سرمادوست در تمامی روزهای نگهداری معنی‌دار بود ($p <۰/۰۵$). میزان بار باکتریایی باکتری‌های سرمادوست در روزهای اول نگهداری بسیار پایین بود (۱/۳۷±۰/۱۹ log cfu/g)، ولی با گذشت زمان افزایش پیدا کرده و در روز هجدهم به بیشترین مقدار رسید (۷/۷۲±۰/۰۹ log cfu/g) (جدول۱). در روزهای اول نگهداری بار باکتریایی باکتری‌های مزوفیل نسبت به باکتری‌های سرمادوست بیشتر بود ولی با گذشت زمان نگهداری، باکتری‌های سرمادوست تغییرات بیشتر و روند افزایشی بیشتری را در مقایسه با باکتری‌های مزوفیل نشان دادند. بطوری که باکتری‌های مزوفیل در روز پانزدهم یک روند کاهشی را نشان داده و از ۴/۲۱ log cfu/g در روز دوازدهم به ۳/۸۵ log cfu/g در روز پانزدهم رسیدند ولی در روز هجدهم مجددا افزایش یافته و به حداکثر مقدار (۴/۶۱ ±۰/۱۳ log cfu/g) خود مشاهده شدند (شکل ۲).



شکل ۲- تغییرات بار باکتریایی در ماهی هامور معمولی نگهداری شده در یخ

بر طبق آزمون آماری واریانس یک طرفه، بین میانگین بار باکتریایی باکتری‌های مزوفیل در اولین روز نگهداری با بقیه روزها بجز روز سوم اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p< ۰/۰۵$)، اما در روزهای دوازدهم و پانزدهم به دلیل کاهش باکتری‌های مزوفیل نسبت به روز قبل اختلاف معنی‌دار بین این روزها وجود نداشت. بر طبق آزمون رگرسیون خطی، pH ارتباط معنی‌داری را با روز نگهداری و باکتری‌های مزوفیل نشان داد (R^2=۰/۹۶) و معادله رگرسیونی آن بصورت pH= ۶/۷ +۰/۱۵days −۰/۴۱meso بدست آمد. بر طبق نتایج آزمون همبستگی پیرسون، بین pH با روز نگهداری (r=۰/۹۴ ،$p<۰/۰۵$)، باکتری‌های سرمادوست (r=۰/۹۳ ،$p<۰/۰۵$)، و باکتری‌های مزوفیل (r=۰/۸۳ ،$p<۰/۰۵$) ارتباط معنی‌داری نشان داده شد.

بحث و نتیجه‌گیری

یکی از فاکتورهای درونی مهم مربوط به گوشت ماهی، pH خیلی بالای پس از مرگ است (۶<). بیشتر ماهیان دارای میزان خیلی کمی کربوهیدرات (٪۰/۵>) در بافت عضله شان می‌باشند و بنابراین پس از مرگ آنها میزان اندکی اسید لاکتیک تولید می‌شود (Gram & Huss, 1996). نقش اصلی میکروارگانیسم‌ها در فساد ماهی و روند کاهش کیفیت به خوبی شناخته شده است. باکتری‌ها ترکیبات بدن ماهی، به خصوص ترکیبات نیتروژنه غیر پروتئینی را تجزیه

Archive of SID

www.SID.ir

می‌کنند و موجب توسعه طعم و بوی بد بویژه در ارتباط با فساد ماهی و تغییر در pH عضله ماهی می‌شوند (Ababouch *et al*., 1991). از آنجا که قابلیت رشد باکتریایی و اسیدی شدن بافت تحت تاثیر فاکتور pH است، برای حفاظت بسیاری از غذاها از جمله فرآورده‌های ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. pH در اولین روز نگهداری بافت ماهی اسیدی بود ولی به مرور زمان در طی دوره نگهداری یک روند افزایشی در میزان آن مشاهده شد به طوری که در روز پانزدهم و هجدهم به صورت قلیایی و به بالاترین میزان خود رسیده و مقادیر آن در تمام روزهای نگهداری اختلاف معنی‌داری از خود نشان دادند ($p< ۰/۰۵$). بیشترین تغییرات در میزان pH بین روزهای صفر و ۳ که از ۰/۰۵± ۵/۸۵ به ۰/۰۳± ۶/۴۰ و نیز روزهای ۱۲ و ۱۵ که از ۰/۰۵± ۶/۸۵ به ۰/۱۵± ۷/۴۵ افزایش یافت، ولی بین بقیه روزهای نگهداری این تغییرات نسبت به روزهای ذکر شده چشمگیر نبود. پس از مرگ ماهی، به دلیل توقف جریان خون، اکسیژن در اختیار بافت‌ها قرار نمی‌گیرد، لذا فعالیت عضلات پس از مرگ به صورت بی‌هوازی ادامه می‌یابد که نتیجه آن تجزیه گلیکوژن و ایجاد اسید لاکتیک است. عدم خروج اسید لاکتیک از عضله و تجمع یون H^+ در بافت‌های عضلانی منجر به کاهش pH می‌گردد اما به تدریج و به‌دنبال کامل شدن مرحله جمود پس از مرگ، مقادیر pH در نتیجه شروع فساد و تشکیل آمین‌های فرار و سایر مواد بازی تغییر نموده و مجدداً افزایش می‌یابد (Razavi Shirazi, 1994).

مقادیر pH در طی دوره نگهداری با گذشت زمان روند افزایشی داشت به طوری که با گذشت زمان و رشد باکتری‌ها، میزان pH از ۵/۸۵ در روز صفر که بار باکتریایی سرمادوست و مزوفیل به‌ترتیب ۱/۳۷ log cfu/g، ۲/۰۰ log cfu/gبود به ۷/۷۵ در آخرین روز نگهداری که بار باکتریایی در این روز به بیشترین مقدار رسیده بود افزایش یافت. در روزهای اول و سوم نگهداری هیچ نوع تغییراتی در تعداد بار کل باکتری‌های مزوفیل مشاهده نشد، اما مقادیر pH نمونه‌ها در این روزها دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p< ۰/۰۵$). و میزان آن تا پایان دوره آزمایش روند افزایشی داشت. در اثر فعالیت میکروب‌ها و آنزیم‌های طبیعی گوشت و یا آنزیم‌های مترشحه از باکتری‌ها تغییرات مختلفی در گوشت و ترکیبات آن به وجود می‌آید، اثر آنزیم‌های پروتئولیتیک سبب تجزیه و شکسته شدن ساختمان پروتئین گوشت ماهی می‌شود که نتیجه این فعل و انفعالات تولید و آزادشدن مقادیری مواد فرار و آمونیاک آزاد در گوشت و افزایش pH می‌باشد (Parvaneh, 1992). pH پایین، به‌عنوان شاخص استرس در زمان مرگ در بسیاری از حیوانات استفاده می‌شود. pH پایین اولیه معمولا به دلیل وارد شدن استرس به نمونه‌ها قبل از مرگ آنها می‌باشد که سبب کاهش ذخایر انرژی خصوصا گلیکوژن و تولید لاکتات می‌شود (Azam *et al*., 1989; Marx *et al*., 1997; Van de Vis *et al*., 2001).

در مطالعه حاضر pH پایین در ابتدای دوره نگهداری، احتمالا نشان دهنده این است که ماهی در هنگام صید و مرگ، در معرض استرس قرار داشته است. مقادیر مشابهی از pH در مطالعات برخی محققین، که روش‌های کشتن را بر روی کیفیت مارماهی خام و دودی‌شده (Morzel & Van de Vis, 2003) و نیز بر روی کیفیت و سلامت مارماهی (Van de Vis *et al*., 2001) بررسی نمودند، بدست آمده است. از طرفی میزان نسبتاً کم pH در مارماهی، نشان دهنده وضعیت خوب آنها می‌باشد، پس می‌توان چنین استنباط نمود که pH پایین نمونه‌ها در اولین روز نگهداری در واقع نشان‌دهنده فعالیت‌های آنزیماتیکی و باکتریایی کم، و کیفیت خوب ماهی و نیز مقادیر بسیار پایین ترکیبات بازی فرار، که تمام این موارد با شروع فساد افزایش می‌یابند می‌باشد. به طوری‌که در مطالعه ما، زمانی که pH در پایین‌ترین میزان خود (روز صفر، ۵/۸۵) قرار داشت بار باکتری‌های سرمادوست (۱/۳۷ logcfu/g)، مزوفیل (۲ log cfu/g) بسیار پایین بود که بر طبق یافته‌های Morzel & Van de Vis (2003) و Van de Vis *et al*., (2001)، می‌توان استنباط کرد که این امر نشان‌دهنده تازگی و کیفیت خوب ماهی هامور معمولی استفاده‌شده در این تحقیق و یا وارد شدن استرس به آنها در هنگام صید و مرگ‌شان می‌باشد. اما با توجه به

Archive of SID

www.SID.ir

پایین بودن میزان شاخص‌های شیمیایی و میکروبیولوژیکی کنترل کیفیت در اوایل دوره نگهداری و از طرفی قرار دادن ماهیان بلافاصله پس از صید در یخ، بیشتر تأیید کننده تازگی نمونه‌های مورد استفاده در این تحقیق تا وارد نمودن استرس به آنها می‌باشند. همچنین Olafsdottir *et al.* (2006) اظهار داشتند که تغییرات اندکی در میزان pH فیله‌های ماهی هادداک (*Melanogrammus aeglefinus*) در طی دوره نگهداری مشاهده شد و در پایان دوره نگهداری میزان pH در نمونه‌های مختلف در محدوده ۶/۷۱-۶/۷۳ قرار داشت که بر خلاف مطالعه ما، در این نمونه‌ها pH هیچ وقت به حد خنثی یا بالاتر از آن نرسید. آنها اظهار داشتند که افزایش در میزان pH با گذشت زمان نگهداری مطابق با اوج تولید TVB-N[7] بود.

Turhan *et al.* (2001) زمان ماندگاری پاتی آنچوی[8] خام نگهداری شده در یخچال را بررسی نمودند، میزان pH در آنها نیز در طی نگهداری دچار تغییراتی می‌شود ولی دامنه تغییرات آن نسبتاً محدود و در حدود ۶/۳۳ تا ۶/۵۶ بود که در واقع کمتر از حد بحرانی آن (۷-۶/۸) بوده است. در صورتی‌که در مطالعه ما مقادیر آن در تمام روزهای نگهداری اختلاف معنی‌داری از خود نشان دادند ($p<0/05$). بنابراین افزایش در میزان pH به این دلیل بوده که میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌ها، سبب آزاد سازی اکسیژن و هیدروژن گشته که غلظت هیدروکسیلاسیون را افزایش داده و در نتیجه سبب افزایش در میزان pH می‌شوند (Inal, 1992).

بیشترین تغییرات در میزان pH، در اوایل دوره نگهداری (روز صفر و ۳)، زمانی که باکتری‌های سرمادوست تعدادشان از ۱/۳۷ log cfu/g به ۳/۱۵ log cfu/g افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری بین این روزها از نظر بار باکتریایی سرمادوست وجود داشت ($p<0/05$) و نیز در اواخر دوره نگهداری (روز ۱۵ و ۱۸) مشاهده شد. Hebard *et al.* (1982) اظهار داشتند که افزایش pH در ماهیان در طی نگهداری ناشی از تجمع ترکیبات آلکالین مثل ترکیبات آمونیاکی و TMA بدست آمده از فعالیت میکروبی می‌باشد، همچنین Rodriguez *et al.* (2004)، نیز افزایش در میزان pH در ماهی هیک اروپایی به خصوص در نمونه‌های نگهداری شده در یخ ورقه‌ای را ناشی از همین عامل توصیف کرده‌اند. در مطالعه ما نیز ارتباط خوب بین pH و بار باکتریایی به خصوص باکتری‌های سرمادوست ($p<0/05$، $r=0/93$) و نیز با توجه به اینکه بیشترین مقادیر pH زمانی بدست آمد که باکتری‌ها در بیشترین مقدار خود قرار داشتند، تأییدکننده این عوامل می‌باشند.

مناسب‌ترین pH برای رشد باکتری‌ها ۷ می‌باشد، بنابراین افزایش pH می‌تواند زمینه را برای رشد باکتری‌ها و فساد فراهم نماید. در این تحقیق مقادیر pH، مشابه بار باکتریایی سرمادوست در اولین روز نگهداری با تمام روزها اختلاف معنی‌داری داشت ($p<0/05$). در طی نگهداری هر چند که تجزیه ترکیبات نیتروژنی منجر به افزایش pH در گوشت ماهی می‌شود که ممکن است تا اندازه‌ای به تولید ترکیبات آلکالین نسبت داده شود اما این نوع افزایش در میزان pH نشان دهنده رشد باکتریایی، کاهش کیفیت و امکان فساد در ماهی می‌باشد. با توجه به اینکه باکتری‌ها از طریق تولید ترکیبات آمونیاکی و مواد ازته غیر پروتئینی سبب افزایش در مقادیر pH عضله ماهی می‌شوند که این افزایش pH می‌تواند شرایط مناسبی برای رشد بهتر و بیشتر باکتری‌ها در عضله ماهیان فراهم نماید، در مطالعه حاضر نیز روند تغییرات pH و بار باکتریایی بصورت افزایشی بوده و با افزایش pH بار باکتریایی نیز روند افزایشی در پیش گرفته که نشان دهنده ارتباط تنگاتنگ بار باکتریایی و pH در ماهی هامور معمولی می‌باشد. این ارتباط احتمالا به خاطر متابولیسم میکروارگانیسم‌های تولیدکننده ترکیبات آلکالین مثل آمین‌ها که در اثر دی‌آمیناسیون اسیدهای آمینه تشکیل می‌شوند و نیز تولید ترکیبات آمونیاکی توسط این باکتری‌ها می‌باشد (Huss, 1988; Jackson *et al.*, 1997). همچنین معادله رگرسیون خطی که در بخش نتایج (meso۰/۴۱−

7 -Total Volatile Basic Nitrogen
8 -Anchovy patties

Archive of SID

www.SID.ir

(pH= ۶/۷ +۰/۱۵days) محاسبه شد، نشان می‌دهد که تغییرات pH بیشتر تحت تاثیر روز نگهداری و باکتری‌های مزوفیل می‌باشد، به طوری‌که در طی دوره نگهداری با گذشت زمان و افزایش بار باکتریایی میزان آن افزایش یافته و در آخرین روز نگهداری مقدار pH به ۷/۵۵ رسید. در ماهی هیک، pH بیشتر از۷ ممکن است مصرف آن را محدود کند (Ruiz-capillas & Moral, 2001)، که این امر نشان دهنده فاسد بودن ماهی هامور در روز هجدهم نگهداری و محدودیت در مصرف آن می‌باشد. در مطالعه Qingzhu (2003). که در آن شاخص‌های کیفیت میگوی شمالی (*Pandalus borealis*) مورد بررسی قرار گرفت، مقادیر pH ارتباط خوبی با ارزیابی حسی و نتایج میکروبی نشان داد.

همچنین Rodriguez *et al*. (2004) اظهار داشتند که تغییرات pH در ماهی هیک نگهداری شده در یخ آبکی نسبت به یخ ورقه‌ای به دلیل بار باکتریایی کم، کمتر می‌باشد. به طوری که در نمونه‌های نگهداری‌شده در یخ آبکی به دلیل بار کل باکتری‌های هوازی و پروتئولتیک کم، افزایش کمتری در میزان pH و نیز TMA[9] و TVB-N در نمونه‌ها ثبت شده بود و تا پایان دوره نگهداری میزان pH به ۷ نرسید، اما در یخ ورقه‌ای که امکان رشد باکتری‌ها در آن نسبت به یخ آبکی بیشتر است، میزان pH در روز نوزدهم به ۷/۷۱ افزایش یافت. بنابراین بر طبق نتایج ما و سایر محققین، افزایش pH در ماهیان در طی نگهداری می‌تواند ناشی از رشد باکتری‌ها باشد که این عامل سبب می‌شود تا شرایط مناسب‌تری برای رشد باکتری‌ها فراهم شود. همچنین Hasegawa (1987) اظهار داشت که گوشت ماهی از نظر pH تقریبا خنثی است و کاهش pH پس از مرگ ماهی به تجزیه گلیکوژن به اسیدلاکتیک مربوط است که سبب اسیدی شدن pH عضله بلافاصله پس از مرگ می‌شود، ولی به تدریج و با رشد مجدد باکتری‌ها بر روی ماهی، pH مجدداً افزایش می‌یابد. در تحقیق صورت گرفته توسط Hozbor *et al*. (2006) بر روی ماهی آزاد دریایی (*Psedopercis semifasciata*) نگهداری شده در یخ در دهمین روز نگهداری میزان pH، ۷/۲ بود و میزان pH در تمام مدت دوره نگهداری در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد در محدوده ۶/۵ – ۷/۸ قرار داشت.

در تحقیق صورت گرفته توسط Eidani (1996) بر روی کیفیت ماهی ساردین (*Sardinella longiceps*) نگهداری شده در یخ خردشده و آب دریای سردشده، در طی جابجایی در زمان‌های مختلف، مقادیر pH در تیمارهای مورد بررسی دارای اختلاف معنی‌داری با هم بودند. در مطالعه Rodriguez *et al*. (2004) بر روی ماهی هیک اروپایی (*Merluccius merluccius*) نگهداری شده در یخ میزان pH روند افزایشی نشان داد به طوری‌که در نمونه‌های نگهداری‌شده در یخ ورقه‌ای از ۶/۶۷ در روز اول نگهداری به ۶/۹۸ و ۷/۷۱ به ترتیب بعد از روز ۵ و ۱۹ رسید. افزایش در میزان pH، تجمع ترکیبات آلکالین مثل ترکیبات آمونیاکی و TMA ناشی از فعالیت میکروبی را نشان می‌دهد (Hebard *et al*., 1982). همچنین در مطالعات سایر محققین; Abbas *et al*. (2006) بر روی ماهی *Pangasius sutchi*، Leitao & Rois, (2000) بر روی میگوی آب شیرین (*M. rosenbergii*)، Bamba *et al*. (2000) بر روی ماهی کاد (*Gadus morhua*)، مقادیر pH در طی نگهداری در یخ روند افزایشی نشان داد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارند.

در تحقیق انجام شده توسط Chytiri *et al*. (2004) بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) و نیز Bamba *et al*. (2000) بر روی ماهی هادداک (*Melanigrammus aeglefinus*) تغییرات pH در طی نگهداری در زمان‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p>0/05$)، که با نتایج ما همخوانی ندارند.

9- Trimethylamine

منابع

- Ababouch, L., Afilal, MN., Benabdeljelil, H. & Busta, F.F. (1991). Quantitative changes in

Archive of SID

www.SID.ir

bacteria, amino acids and biogenic amines in sardine (*Sardina pilchards*) stored at ambient temperature and ice. *International Journal of Food Science and Technology* **26** (3): 297-306.
- Abbas, K.A., Sapuan, S.M. & Mokhtar, A.S. (2006). Shelf life assessment of Malaysian *Pangasius sutchi* during cold storage. *Sadhana* **31** (5): 635-643.
- AOAC. (1995). Association of Official Analytical Chemists, 15th ed., Washington DC, Chapter 35, p.7-9.
- Arnold, S.H. & Brown, W.D. (1978). Histamine toxicity from fish products. *Advances in Food Research* **34**: 113–154.
- Azam, K., Mackie, I.M. & Smith, J. (1989). The effect of slaughter method on the quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) during storage on ice. *International Journal of Food Science and Technology* **24**: 69-79.
- Bamba, A.M., Banja. (2002). Shelf life trial on cod (*Gadus morhua L.*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus L.*) stored on ice around 0 °C. *Department of State for Presidential Affairs, Fisheries and Natural Resources Gambia. Fisheries training Programme, Iceland.*
- Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaidis, I.N. & Kontominas, M.G. (2004). Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Food Microbiology* **21**: 157-165.
- DiChristina, T.J. & DeLong, E. F. (1993). Design and application of rRNA-targeted oligonucleotide probes for the dissimilatory iron- and manganese-reducing bacterium *Shewanella putrefaciens*. *Applied and Environmental Microbiology* **59**: 4152-4160.
- Eidani, N. (1996). The study of carrying and transportation method to improved Sardine fish processing. *5th National Conference of Iran Fisheries*. pp 133-151.
- Fazlara, A. & Qaemmaqami, S.S. (2005). *Microbial control and Hygienic inspection of livestock food*. Research and Agricultural Training Center of Iran. 120 pp.
- Gram, L. & Huss, H.H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology* **33**: 121-137.
- Hasegawa, H. (1987). *Laboratory manual on analytical methods and procedures for fish and fish products*. Singapore: Marine Fisheries Research Department, Southeast Asian Fisheries Development Center. 85-98.
- Hebard, C.E., Flick, G.J. & Martin, R.E. (1982). Occurrence and significance of trimethylamine oxide and its derivatives in fish and shellfish. In *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products* (Martin, R.E., Flick, G.J., Hebard, C.E. & Ward, D.R., eds.), chapter 12, pp. 149-304. Avi Publishing Co., Westport, Co.
- Heemstra, P.C. & Randall, J.E. (1993). Groupers of the world (Family Serranidae, Subfamily Epinephelinae). *FAO Species Catalogue. FAO Fisheries Synopsis*. **16** (125). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 382pp.
- Hozbor, M.C., Saiz, A.I., Yeannes, M.I. & Fritz, R. (2006). Microbiological changes and its correlation with quality indices during aerobic iced storage of sea salmon (*Pseudopercis semifasciata*). *LWT-Food Science and Technology* **39**: 99-104.
- Huss, H. H. (1995). Quality and quality changes in fresh fish. *FAO Fisheries Technical Paper*. No. 348, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Huss, H.H. (1988). Fresh Fish Quality and Changes. *FAO Fisheries series* No **29**: pp: 20-24, 43-52 and 61-67.
- Inal, T. (1992). *Food sanitation*, (in turkish). Final Ofset A.Ş., Istanbul.
- Jackson, T.C., Acuff, G.R. & Dickson, J.S. (1997). Meat, Poultry, and Seafood. In *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (Doyle, M.P., Beuchat, L.R., & Montville, T.J., eds.), pp. 83-100. ASM Press, Washington D. C.
- ISIRI. (2001). *Principle of microbiological laboratory methods. Institute of Standard and Industrial Research of Iran*, No 2325.
- Leitao, M.F.F. & Rios, D.P.A. (2000). Microbiological and chemical changes in freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) stored under refrigeration. *Brazilian Journal of Microbiology* **31**: 178-183.
- Marx, H., Brunner, B., Weinzierl, W., Hoffmann, R. & Stolle, A. (1997). Methoden zur Betaeubung von Suesswasserfischen: Einfluss auf die Fleischqualitaet und Tierschutzaspekte. [Methods of stunning freshwater fish: impact on meat quality and aspects of animal welfare.] *Zeitschrift fuer*

Archive of SID

www.SID.ir

Lebensmittel Untersuchung und Forschung **204** (4): 282-286. (In German with English summary).
- Morzel, M. & Van de Vis, H. (2003). Effect of the slaughter method on the quality of raw and smoked eels (*Anguilla anguilla* L.). *Aquaculture Research* **34**: 1-11.
- Olafsdottir, G., Lauzon, H.L., Martinsdottir, E. & Kristbergsson, K. (2006). Influence of storage temperature on microbial spoilage characteristics of haddock fillets (*Melanogrammus aeglefinus*) evaluated by multivariate quality prediction. *International Journal of Food Microbiology* **111**: 112-125.
- Parvaneh, V.(1992). Quality control and chemical examination of food. Published by Tehran university. Pp 314.
- Qingzhu, Z. (2003). Quality indicators of northern shrimp (*Pandalus borealis*) stored under different cooling condition. *Iceland Fisheries Laboratories, Iceland*.
- Razavi Shirazi, H. (1994). Seafood products technology, handling and processing. No 1, Published by Shilateh co. pp. 52-74, 353-380.
- Rodriguez, O., Losada, V., Aubourg, S.P., & Barros-Velazquez, J. (2004). Enhanced shelf-life of chilled European hake (*Merluccius merluccius*) stored in slurry ice as determined by sensory analysis and assessment of microbiological activity. *Food Research International* **37**: 749-757.
- Ruiz-Capillas, C. & Moral, A. (2001). Production of biogenic amines and their potential use as quality indices for Hake stored in ice. *Journal of Food Science* **66 (**7): 1030-1032.
- Turhan, S., Evren, M. & Yaziki, F. (2001). Shelf-life of refrigerated raw anchovy (*Engraulus encrasicholus*) patties. *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences* **18** (3-4): 391-398.
- Van de Vis, H., Oehlenschlager, J., Kuhlmann, H., Munkner, W., Robb, D.H.F. & Schelvis-Smit, A.A.M. (2001). Effect of the commercial and experimental slaughter of eels (*Anguilla anguilla* L.) on Quality and Welfare. In *Farmed Fish Quality* (Kestin, S.C. & Warriss, P.D., eds.), pp. 234-248. Fishing News Books, Oxford.

Archive of SID

www.SID.ir

Changes in pH as Quality Indices in Orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* during ice storage and Relation between Bacterial Count

S. Bita[1], H. Najafzadeh Varzi[2], P. Kochanian[3], A. Fazlara[2], T. Mohammadian[2], A. Hosseini[2]

Abstract

In this study changes in pH and its relation to psychrophilic and mesophilic bacteria in orange-spotted grouper at 0, 3, 6, 9, 12, 15 and 18 days during a 18-day ice storage were investigated. The objective of this study is to measure and freshness assessment of orange spotted grouper by using pH changes as well as the growth of mesophilic and psychrophilic bacteria and limitation in its consumption due to deterioration during ice storage. The amount of pH was increased during different days of storage. According to one-way anova test the average of pH on initial days with all days showed significant difference ($p<0.05$). Psychrophilic bacteria had more gradual change unlike mesophilic bacteria and became prevalent with duration of ice storage. Mesophilic bacteria had increasing and decreasing fluctuation during storage period so that it was a decreasing of their number at 15th day, but since 18th day, they started to increase. Microbiologcal indices at first and last day of storage showed significant difference ($p<0.05$). According to the linear regression, pH showed good relation between mesophilic bacteria and storage days ($R= 0.96$). An increase in pH at different times of ice storage in orange spotted grouper can create favorable condition for the growth and propagation of these bacteria. Our research revealed that after 18 days of ice storage, the bacterial count specially psychrophilic bacteria was measured more than the optimum level (7.72 ± 0.09 log cfu.g). This is an indicator of quality loss and gradual decomposition of orange spotted grouper which makes it undesirable for human consumption.

Key words: Quality assessment, pH, total bacterial count, Orange-spotted grouper *Epinephelus coioides*

Archive of SID

1- Fisheries Department of Chabahar Maritime and marine Sceince University
2- Faculty of Veterinary, Shahid Chamran University, Ahwaz
3- Fisheries Department of Kkoramshahr marine Sceince University

www.SID.ir