تأثیر متد پاستوریزاسیون روی مدت زمان ماندگاری فیله فیل ماهی (*H. huso*) پرورشی بسته بندی شده به روش Sous Vide

مینا سیف زاده* و علی اصغر خانی پور

انزلی، مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۱۹

چکیده

این پروژه با هدف بررسی مدت زمان ماندگاری فیل ماهی پرورشی بسته بندی شده به روش Sous vide در یخچال صورت گرفت و همچنین بررسی تأثیر متد پاستوریزاسیون روی مدت زمان ماندگاری فیل ماهی پرورشی بسته بندی شده، بررسی تغییرات میکروبی نمونه های آزمایشی طی مدت زمان نگهداری در دمای یخچال، حفظ امنیت میکروبی فرآورده طی مدت زمان نگهداری، بررسی باکتریهای عامل مسمومیت غذایی و فساد حسی در نمونه ها و افزایش کیفیت میکروبی فرآورده در قیاس با نمونه شاهد نیز انجام پذیرفت. فیله های ماهی با دو متد HTST (High temperature short time) و LTLT (low temperature long time) پاستوریزه شدند. فیله های پاستوریزه شده به مدت ۱۲ هفته در دمای ۲ درجه سلسیوس نگهداری شدند. باکتریهای *Coliform*،*Escherichia coli*، *Serratia* و Molds and Yeasts تا پایان مدت زمان نگهداری در نمونه های آزمایشی منفی بودند. تعداد total bacterial counts ، *Staphylococcus* bacteria و *Pseudomonas* bacteria در نمونه های پاستوریزه شده به روش HTST (۵/۸۳، ۲/۳۵، ۴/۵۴ log cfu/g) در مقایسه با روش LTLT (۵/۰۳، ۲/۰۲، ۳/۵۵ log cfu/g) افزایش نشان دادند. اما جذب نمک و pH در این نمونه ها (۷، ۶/۱۹ درصد) در مقایسه با نمونه های پاستوریزه شده به روش LTLT (۸/۵ ، ۶/۲۷ درصد) کاهش نشان دادند. نمونه های پاستوریزه شده به روش HTST به مدت ۱۰ هفته و نمونه های پاستوریزه شده به روش LTLT به مدت ۱۲ هفته در یخچال از کیفیت مطلوبی برخوردار بودند. در آنالیز باکتریایی و شیمیایی بین نمونه های آزمایشی پاستوریزه شده به روش LTLT با روش HTST تفاوت معنی دار مشاهده نشد($p>$ ۰/۰۵).

واژه های کلیدی: آنالیز حسی، بسته بندی ماهی، آنالیز باکتریایی، بسته بندی Sous Vide، فیل ماهی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۸۱۲۳۵۲۰۳۲ ، پست الکترونیکی: m_seifzadeh_ld@yahoo.com

مقدمه

فرآورده های شیلاتی به عنوان یکی از با ارزش ترین محصولات غذایی شناخته شده اند. آبزیان در گروهها و انواع مختلف، با روش های متنوعی در سراسر جهان تهیه، عمل آوری و مصرف می گردند، به صورتی که امروزه به عنوان یکی از مهم ترین منابع تأمین پروتئین مورد نیاز بسیاری از جوامع محسوب می شوند. اما، غذاهای دریایی از مهم ترین غذاهایی هستند که می توانند سبب مسمومیت غذایی شوند. این غذاها به راحتی در طی مراحل مختلف عمل آوری از طریق آب، ابزارآلات مورد استفاده برای عمل آوری، حمل و نقل و غیره می توانند به باکتریهای مختلفی آلوده شوند(۶).

باکتری استافیلوکوک گرم مثبت بدون اسپور و بی هوازی اختیاری بوده جزء فلور طبیعی بدن انسان محسوب شده در طبیعت انتشار گسترده ای داشته و در خاک نیز یافت می شود. این باکتری یکی از عاملین مسبب مسمومیت غذایی محسوب شده و در درجه سوم اهمیت بعد از سالمونلا و کلوستریدیوم پرفرین ژنژ قرار دارد. باکتری کلی

فرم گرم منفی بدون اسپور و بی هوازی اختیاری بوده این باکتری نشانگر کیفیت بهداشتی غذا و آب بوده در خاک آب و مدفوع حیوانات خونگرم یافت می شوند. این باکتری بیماری زا نبوده اما حضور آنها نشان دهنده سایر میکرواورگانیسم های پاتوژن مدفوعی است. باکتری سودوموناس گرم منفی هوازی اجباری بوده و قادر به رشد در شرایط بی هوازی نیز می باشد. این باکتری در خاک و آب قادر به زیست بوده و به عنوان پاتوژن فرصت طلب انسانی و عامل مسمومیت غذایی نیز محسوب شده است. علاوه بر این باکتریهای سودوموناس و سراشیا با تولید ماده لزج سطحی قادر به فساد حسی هستند (۳).

پروسه پخت Sous Vide (به معنی تحت خلاء) در اوایل سال ۱۹۷۰ توسط دانشگاه علوم غذایی به عنوان یک متد برای بهبود پخت غذا در فرانسه استفاده شد. فرآورده های بسته بندی شده به وسیله این روش تحت عنوان غذاهای یخچالی نسل جدید نامیده شده اند(۲۲). این روش یک متد ملایم برای پخت غذا است که سبب حفظ ساختمان سلولی، رطوبت طبیعی، آب، طعم و مزه، آروما و مواد مغذی فرآورده مانند پروتئین، افزایش طعم طبیعی و حل شدن فیبرها می شود(۲۹). در این روش ماهی داخل کیسه های پلاستیکی از جنس لامینت بسته بندی می گردد. پلاستیک لامینت دارای پوشش پلی اتیلن بوده، ۵ لایه، مقاوم به حرارت، نفوذ ناپذیر به آب و اکسیژن و ضخامت ۹۰ میکرون برای بسته بندی فرآورده های شیلاتی استفاده می شود (۱ و ۲). این تکنولوژی در طول دهه گذشته در صنعت غذایی گسترش یافت و به وسیله حذف اکسیژن از اتمسفر داخل بسته بندی عمل می کند. تکنیک Sous Vide یک روش اختصاصی از پروسه Reduced Oxygen) (ROP Packaging برای ترکیبات پخته شده یا خام می باشد، که در شرایط یخچال یا انجماد نگهداری می گردند. ROP سبب افزایش مدت زمان ماندگاری در یخچال و به دست آمدن کیفیت بهتر فرآورده شده، یک محیط بی هوازی ایجاد کرده که از رشد ارگانیسم های هوازی عامل فساد، کپک و مخمرها، تغییرات رنگ، و اکسیداتیو که مسئول بوی بد، تغییرات طعم و مزه و اسلایم (فساد حسی توسط میکروتورگانیسم ها) در فرآورده بسته بندی شده در شرایط هوازی می باشند، جلوگیری می کند(۱۳ و ۲۵). بنابراین، این روش را می توان برای نگهداری فرآورده های شیلاتی در حدود شش هفته یا بیشتر (۱۸ ماه) به وسیله نگهداری در درجه حرارت ۲ یا ۱۸- درجه سلسیوس به کار برد. علاوه بر این، تکنیک Sous Vide به عنوان یک مرحله پاستوریزاسیون که پروسه حرارتی متد تجاری برای تضمین امنیت فرآورده می باشد و سبب کاهش استفاده از نگهدارنده های شیمیایی در صنعت غذایی می گردد، محسوب شده است (۲۱ و ۲۶).

روش بسته بندی Sous Vide تا کنون برای فرآورده هایی مانند foi grass ، فیله خام ماهی، تخمها، فرآورده های پنیر، پودینگ، سبزیجات، سوسیس، گوشت، گوشت چرخ کرده، خاویار، صدفداران، حلزونها، آبگوشت، جوجه و ماهی دودی استفاده شده است. کاربرد این متد روی ماهی های مختلفی مانند ماهی آزاد، کاد، تون سفید گوشت، آبی ماهی کوچک، ماهیان نوزاد پرور دریایی، هالیبوت، ماهی پرتقالی رنگ با کیفیت پایین و ماهی بینی گرد و باله نرم اعماق دریا مورد استفاده قرار گرفته است (۱۲). در این زمینه تحقیقاتی توسط Wang و همکاران در سال ۲۰۰۴، Gormley و Fagon در سال ۲۰۰۴، Mcmahou و همکاران در سال ۱۹۹۹، Eija در سال ۲۰۰۰ ، Bolton در سال ۲۰۰۰ و Ghazala Halt در سال ۱۹۹۴انجام شده است، اما در ایران در خصوص تهیه فرآورده Sous Vide از فیل ماهی پرورشی تحقیق نشده است(۸، ۱۱، ۱۲، ۱۷، ۲۴ و ۳۳).

این پروژه با فرض رشد یا عدم رشد باکتریهای عامل مسمومیت غذایی و مولد فساد سطحی در فیله فیل ماهی پرورشی بسته بندی شده به روش Sous vide و تهیه فرآورده با مدت زمان ماندگاری بالا در یخچال از این ماهی انجام شد.

این پروژه با هدف بررسی مدت زمان ماندگاری فیل ماهی پرورشی بسته بندی شده به روش Sous vide در یخچال، بررسی تأثیر متد پاستوریزاسیون روی مدت زمان ماندگاری فیل ماهی پرورشی بسته بندی شده، بررسی تغییرات میکروبی نمونه های آزمایشی طی مدت زمان نگهداری در دمای یخچال، حفظ امنیت میکروبی فرآورده طی مدت زمان نگهداری، بررسی باکتریهای عامل مسمومیت غذایی و فساد حسی در نمونه ها و افزایش کیفیت میکروبی فرآورده در قیاس با نمونه شاهد انجام شد.

مواد و روشها

عمل آوری فیله ماهی به روش Sous vide: فیله ها در دو تیمار و از هر تیمار به تعداد سه تکرار عمل آوری گردیدند. برای عمل آوری ماهی ابتدا شستشو داده شد. سپس امعاء و احشاء به روش مکانیکی و با استفاده از دستکش خالی شده و پوست گیری شد. سپس فیله ها به مدت ۱۲ ساعت در آب نمک اشباع (۲۴ درصد) قرار داده شدند. این فیله ها در مقادیر وزنی ۲۰۰ گرم داخل پلاستیکهای لامینت گذاشته شده و با استفاده از دستگاه دوخت وکیوم بسته بندی گردیدند. این بسته ها با دو روش LTLT (دمای ۶۸ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه) و HTST (۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه) پاستوریزه شدند. بسته های پاستوریزه شده سریعاً سرد شده و در یخچال نگهداری گردیدند عمل آوری نمونه ها در شرایط یکسان از نظر زمان، فضا، مکان، آب، ابزار آلات و نیروی انسانی (یک نفر) و تعداد یک قطعه ماهی برای هر تیمار انجام شد. کنترل کیفیت این نمونه ها به مدت دوازده هفته با استفاده از آزمایشات میکروبی، شیمیایی و حسی انجام شد.

برای انجام آزمایشهای میکروبی در دوازده مرحله از فرآورده نمونه برداری شد. مرحله اول بعد از دریافت ماهی و قبل از انجام هر گونه پروسه ای روی آن، مراحل بعدی از روز اول بعد از عمل آوری هر هفته یک بار در زمان ثابت به مدت ۱۲ هفته (روزهای۱، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲، ۴۹، ۵۶ ، ۶۳ ، ۷۰، ۷۷ و ۸۴) نمونه برداری انجام شد. نمونه برداری در زیر هود استریل توسط دستکش استریل و با رعایت شرایط استریل انجام شد. در هر مرحله پنج نمونه جهت انجام این آزمایشات ارزیابی شد. برای بررسی کیفیت فرآورده Sous vide و شاهد Total bacterial counts (۴ و ۲۳) و باکتریهای *Staphylococcus* (۱۷،۷)، *Serratia* (۱۷)، *aerojinosa Pseudomonas* (۱۷) *Coliform, Escherichia coli* (۱۴) *clostridium botulinum* (۳۰)، *Clostridium perfringens* (۲۶) و کپک و مخمر(۳۲)(از هر تیمار ۶۵ تکرار) مورد بررسی قرار گرفتند. شمارش کلی باکتریها، باکتریهای *Coliform* ، *Serratia* ، *Clostridium perfringens* و *lostridium botulinum* به روش کشت پورپلیت و باکتریهای *Staphylococcus* و*Pseudomonas* به روش کشت سطحی مورد بررسی قرار گرفتند.

برای بررسی کیفیت این فرآورده در طول مدت زمان نگهداری pH به روش الکترومتریک (۵)، جذب نمک به روش تیتراسیون (۱۰) و فعالیت آنزیم لیپاز با اسپکتوفتومتر(۲۷) (از هر تیمار ۵ تکرار) اندازه گیری شد.

با توجه به توزیع داده ها و جهت مقایسه آنها با یکدیگر از روش آنالیز آماری T test در سطح معنی داری استفاده

گردید. و تجزیه، تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم افزار spss انجام گرفت.

نمونه شاهد: ماهی بعد از دریافت ابتدا شستشو شده و سپس پوست گیری شد. بعد از این مرحله امعاء و احشاء ماهی خارج شده و فیله شد. تعدادی از فیله ها در پلاستیک سلوفان و با استفاده از شیوه رایج در شیلات (هوازی) بسته بندی شدند. فیله ها در دمای ۲ درجه سلسیوس قرار داده شدند. این فیله ها هر روز یک بار تا زمان پذیرش توسط مصرف کننده و تطابق با استاندارد ملی ایران از نظر میکروبی شامل Total bacterial countsو باکتریهای *Staphylococcus* ، *Coliform, Pseudomonas* *Escherichia coli* ، *Serratia*، کپک و مخمر وآزمایشات شیمیایی شامل pH مورد بررسی قرار گرفتند(۴، ۵، ۷، ۱۷، ۱۴، ۲۳، ۳۲)

محلول آب نمک اشباع: برای تهیه آب نمک اشباع به تدریج مقدار ۲۴ گرم نمک در یک لیتر آب مقطر حل شد (۹).

بحث و نتیجه گیری

بر اساس جدول ۱ فعالیت آنزیم لیپاز بافت در نمونه های عمل آوری شده به روش sous vide منفی بود. دمای نگهداری و جذب نمک نمونه ها برای فعالیت این آنزیم مناسب بوده اما، تأثیر پروسه حرارتی استفاده شده برای پاستوریزاسیون سبب غیر فعال سازی آنزیم شد(۱۶).

مقدار جذب نمک در نمونه پاستوریزه شده به وسیله روش LTLT در مقایسه با نمونه ها ی پاستوریزه شده به وسیله روش HTST بیشتر است. در طی این فرآیند ورود نمک به داخل بافت ماهی سبب خروج آب به روش اسمز از بافت شد. تجمع و افزایش مقدار نمک در بافت سبب کاهش فعالیت آبی می گردد(۲۰). علاوه بر دمای پایین کاهش فعالیت آبی نیز سبب کاهش رشد میکرواورگانیسم ها می شود. کاهش مقدار نمک در نمونه های پاستوریزه شده به وسیله روش HTST به دلیل استفاده از یک پروسه پخت اضافی در آب بدون نمک و کاهش مقدار نمک در فیله می باشد. با توجه به نیاز کمتر آب برای رشد در باکتریهای گرم منفی در قیاس با باکتریهای گرم مثبت و امکان رشد قارچها در فعالیت آبی پایین این فاکتور تأثیر بیشتری برای جلوگیری از رشد باکتریهای گرم مثبت داشته اما همان طوری که نتایج آزمایشات نشان می دهد در شمارش باکتریهای *Pseudomonas* در قیاس با باکتریهای*Staphylococcus* کاهش بیشتری مشاهده شده است که تحت تأثیر پروسه پاستوریزاسیون و مقاومت بیشتر باکتریهای گرم مثبت در مقایسه با باکتریهای گرم منفی و کوکسیها در قیاس با باکتریهای میله ای غیر اسپورزا به این پروسه است(۱۸). با توجه به جذب نمک مناسب برای باکتریهای *Staphylococcus* (۲۰ درصد)، *Coliform*، *clostridium botulinum*، *Clostridium perfringens* ، *Pseudomonas* و *Serratia* (۸ درصد) این فاکتور در نمونه های پاستوریزه شده برای رشد باکتری و قارچهای مورد بررسی مناسب است (۱۹).

مقدار pH در نمونه های عمل آوری شده به وسیله روش Sous vide در مقایسه با نمونه شاهد اندکی کاهش نشان داده است. مقدار pH در نمونه های پاستوریزه شده به وسیله HTST از نمونه های عمل آوری شده به وسیله LTLT کمتر می باشد. کاهش pH در نمونه های آزمایشی در قیاس با شاهد به دلیل تأثیر نمک بر هیدرولیز پروتئین و تولید یونهای هیدروژن می باشد(۲۸). کاهش pH در نمونه های پاستوریزه شده به وسیله HTST در مقایسه با نمونه های پاستوریزه شده به وسیله روش LTLT را می توان تحت تأثیر جذب نمک کمتر این نمونه دانست. با توجه به اینکه بهترین pH برای میکروبهای عامل فساد pH بین

۶/۵-۷/۵ است می توان این مقدار pH را برای رشد باکتریها و قارچهای مورد بررسی مناسب دانست(۳).

جدول ۱- میانگین جذب نمک و pH در نمونه های عمل آوری شده به روش Sous vide و شاهد

فاکتورهای شیمیایی / نمونه	pH	جذب نمک (درصد)	آنزیم لیپاز
نمونه های پاستوریزه شده به روش HTST	۶/۱۹±۱/۳	۷±۱/۹	-
نمونه های پاستوریزه شده به روش LTLT	۶/۲۷±۱/۷	۸/۵±۲/۱	-
نمونه شاهد	۶/۳۹±۱/۱	-	+

جدول ۲ – شمارش کلی باکتری ها، باکتری های استافیلوکوک و سودوموناس در نمونه های پاستوریزه شده به روش HTST و LTLT (logcfu/g)

باکتری	Total bacterial counts		*Staphylococcus*		*Pseudomonas*	
نمونه	پاستوریزه شده به روش HTST	پاستوریزه شده به روش LTLT	پاستوریزه شده به روش HTST	پاستوریزه شده به روش LTLT	پاستوریزه شده به روش HTST	پاستوریزه شده به روش LTLT
۱	۴/۷۸±۰/۳۴A	۲/۹۸±۰/۷۸A	۱/۶۹±۰/۲۷A	۱/۱۱±۰/۲۵ A	۲/۶۸±۰/۱۱A	۱/۲۵±۰/۱۸ A
۷	۴/۹۹±۰/۲۴	۳/۳۲±۰/۴۵	۱/۷۸±۰/۶۴	۱/۱۹±۰/۳۸	۲/۸۴±۰/۵۶	۱/۴۸±۰/۳۱
۱۴	۵/۳۲±۰/۲۱	۳/۷۴±۰/۲۳	۱/۹۲±۰/۵۹	۱/۲۹±۰/۴۲	۳/۱۷±۰/۶۱	۱/۷۳±۰/۲۷
۲۱	۵/ ۵۶±۰/۱۹	۴/۱۶±۰/۳۴	۲/۱۴±۰/۶۷	۱/۴۲±۰/۱۹	۳/۴۹±۰/۶۷	۲/۲۷±۰/۲۸
۲۸	۵/ ۷۴±۰/۴۳	۴/۵۳±۰/۱۷	۲/۲۹±۰/۴۷	۱/۶۱±۰/۲۸	۳/۹۸±۰/۸۵	۲/۶۸±۰/۴۳
۳۵	۵/۹۹±۰/۷۱	۴/۸۲±۰/۴۱	۲/۳۸±۰/۴۳	۱/۸۱±۰/۳۷	۴/۲۵±۰/۱۸	۳/۱۱±۰/۵۶
۴۲	۶/۱۷±۰/۶۸	۵/۱۷±۰/۲۲	۲/۵۱±۰/۱۹	۲/۱۱±۰/۴۹	۴/۸۹±۰/۳۸	۳/۷۳±۰/۲۲
۴۹	۶/۴۲±۰/۷۳	۵/۳۹±۰/۴۴	۲/۶۳±۰/۱۲	۲/۲۸±۰/۵۱	۵/۳۹±۰/۳۴	۴/۱۴±۰/۳۷
۵۶	۶/۶۱±۰/۱۴	۵/۷۴±۰/۶۵	۲/۷۱±۰/۸۱	۲/۴۵±۰/۱۷	۵/۹۶±۰/۳۱	۴/۷۲±۰/۳۴
۶۳	۶/۷۵±۰/۲۲	۶/۱۱±۰/۱۴	۲/۸۵±۰/۷۳	۲/۵۹±۰/۴۸	۶/۴۵±۰/۶۶	۵/۲۳±۰/۳۳
۷۰	۶/۹۸±۰/۱۳	۶/۴۵±۰/۲۱	۲/۹۸±۰/۱۲	۲/۶۸±۰/۲۶	۶/۹۳±۰/۶۸	۵/۹۵±۰/۳۵
۷۷		۶/۶۷±۰/۱۹		۲/۸۲±۰/۴۷		۶/۳۵±۰/۳۳
۸۴		۶/۹۰±۰/۳۲		۲/۹۹±۰/۱۶		۶/۸۷±۰/۴۲

حروف مشابه نشانه عدم وجود تفاوت معنی دار در هر ردیف می باشد (P>۰/۰۵) .

حروف غیر مشابه نشانه وجود تفاوت معنی دار در هر ردیف می باشد(P<۰/۰۵) .

جدول ۳ – شمارش باکتری ها در نمونه شاهد (logcfu/g)

باکتری / زمان بر حسب روز	Total bacterial counts	*Staphylococcus*	*Pseudomonas*
اول	۵/۹۶±۰/۱۴	۱/۹۳±۰/۳۱	۴/۲۴±۰/۳۵
دوم	۶/۱۸±۰/۲۴	۲/۱۳±۰/۳۶	۴/۷۱±۰/۲۱
سوم	۶/۴۳±۰/۳۱	۲/۴۳±۰/۳۳	۵/۲۸±۰/۱۷
چهارم	۶/۶۸±۰/۱۷	۲/۷۱±۰/۳۹	۵/۹۳±۰/۴۱
پنجم	۶/۹۴±۰/۲۲	۲/۹۶±۰/۷۸	۶/۷۵±۰/۷۶

بر اساس جدول ۲ در این پروژه برای بررسی کیفیت میکروبی فرآورده Sous vide شمارش کلی باکتریها و *Staphylococcus* bacteria ، *Clostridium perfringens* ،*Pseudomonas bacteria*، *clostridium botulinum*، *Serratia* bacteria ، *Coliform, Escherichia coli* و قارچهای ژئوتریکوم، بوتریتیس و پنی سیلیوم در نظر گرفته شد(۱۵).

شمارش کپک و مخمر و باکتریهای Total bacterial counts، *Staphylococcus* bacteria, ، *Clostridium perfringens*، *Pseudomonas bacteria*, *clostridium botulinum*، *Serratia* bacteria *Coliform, Escherichia coli* در گوشت ماهی قبل از عمل آوری، نمونه شاهد و نمونه های عمل آوری شده به روش Sous vide قبل و بعد از بسته بندی کمتر از ۱۰ عدد در هر گرم بوده است.

نمک و ابزار آلات استفاده شده برای عمل آوری و پلاستیک استفاده شده برای بسته بندی استریل بود.

از آب کلرینه شده برای عمل آوری استفاده شد.

باکتری *Pseudomonas* در نمونه *های آزمایشی و شاهد* متعلق به گونه *pseudomalei می باشد.*

باکتری Staphylococcus در نمونه های آزمایشی و شاهد متعلق به گونه های capitis و xylosus است.

شمارش کلی باکتریها از هفته اول نگهداری تا پایان زمان نگهداری سیر افزایشی نشان داده است. میانگین شمارش کلی باکتریها از هفته اول تا دوازدهم در نمونه های پاستوریزه شده به روش HTST ، LTLT و شاهد ۵/۸۳، ۵/۰۳ و log cfu/g۶/۴۳ می باشد.

شمارش باکتریهای *Staphylococcus* از هفته اول نگهداری تا پایان زمان نگهداری سیر افزایشی نشان داده است. میانگین شمارش باکتریهای *Staphylococcus* از هفته اول تا دوازدهم در نمونه های پاستوریزه شده به روش HTST، LTLT و شاهد ۲/۳۵ ، ۲ /۰۲ و log cfu/g۲/۴۳ می باشد.

شمارش باکتریهای *Pseudomonas* از هفته اول نگهداری تا پایان زمان نگهداری سیر افزایشی نشان داده است. میانگین شمارش باکتریهای *Pseudomonas* از هفته اول تا دوازدهم در نمونه های پاستوریزه شده به روش HTST، LTLT و شاهد ۴/۵۴ ، ۳/۵۵ و log cfu/g۵/۳۸ می باشد.

داده های به دست آمده در آنالیز Ttest با درجه اطمینان ۹۵ درصد نشان داد که در نتایج آزمایشات باکتریایی شامل شمارش کلی باکتریها، باکتریهای *Staphylococcus* و *Pseudomonas* در نمونه های پاستوریزه شده به روش LTLT و HTST اختلاف معنی داری مشاهده نگردید $p> ۰/۰۵$.

نمونه های پاستوریزه شده به روش HTST به مدت ۱۰ هفته و نمونه های پاستوریزه شده به روش LTLT تا پایان مدت زمان ماندگاری در یخچال از کیفیت مطلوبی برخوردار بودند.

با توجه به استریل بودن و فاقد آلودگی گوشت ماهی در حالت عادی می توان ورود باکتریهای ساپروفیت مختلف مانند *Staphylococcus* ، *Pseudomonas* ، *Serratia* و *Coliform* را به فرآورده تحت تأثیر مراحل عمل آوری مکانیکی، آب و ابزار آلات مورد استفاده برای عمل آوری دانست (۶).

شمارش کلی باکتریها، باکتریهای *Staphylococcus* و *Pseudomonas* در نمونه های پاستوریزه شده به روش HTST در مقایسه با نمونه های پاستوریزه شده به روش LTLT بیشتر است. افزایش باکتریها در نمونه های پاستوریزه شده به روش HTST تحت تأثیر افزایش تصاعدی غیر فعال سازی حرارتی باکتریها با زمان متناسب با دما و زمان استفاده شده برای پاستوریزاسیون جهت از

بین رفتن میکروارگانیسم ها می باشد. این گونه های باکتری استافیلوکوک قادر به تولید انتروتوکسین نبوده و بیماری زا محسوب نمی شوند(۲۴).

با توجه به تأثیر پاستوریزاسیون در زمان کوتاه و دمای زیاد و نیز دمای کم و زمان طولانی در کاهش یا تخریب این میکروارگانیسم ها، اما گاهی اوقات دما و زمان پاستوریزاسیون برای از بین بردن بعضی از باکتریها مانند باکتری استافیلوکوک کافی نمی باشد، که به دلیل کاهش رشد و فعالیت میکروارگانیسم ها در دمای پایین، این باکتریها در مدت زمان کوتاه نمی توانند سبب فساد محصول شوند، اما سرانجام با افزایش مدت زمان نگهداری سلولهای آسیب دیده میکروارگانیسم ها می توانند رشد کرده و سبب فساد محصول شوند (۱۸) .

با توجه به افزایش نسبت غیر فعال سازی حرارتی باکتریها به طور تصاعدی با زمان و نقش پاستوریزاسیون بر مدت زمان ماندگاری فرآورده می توان استنباط کرد که پاستوریزاسیون به وسیله روش دمای کم زمان طولانی در مقایسه با متد دمای زیاد زمان کم برای عمل آوری محصولات از راندمان بیشتری برخوردار می باشد. بنابراین می توان تفاوت در مدت زمان ماندگاری نمونه های پاستوریزه شده به وسیله روش LTLT در مقایسه با روش HTST را استنباط کرد. بطوری که نمونه های پاستوریزه شده به روش HTST به مدت ۱۰ هفته و نمونه های پاستوریزه شده به روش LTLT به مدت ۱۲ هفته در دمای ۲ درجه سانتی گراد مطلوب مانده است. نمونه های شاهد در مقایسه با نمونه های آزمایشی حداکثر به مدت ۵ روز در این دما از کیفیت مطلوبی برخوردار بودند (۳)

باکتری *Pseudomonas* ایزوله شده از نمونه متعلق به گونه *pseudomalei* می باشد. بروز این آلودگی ها در نمونه های پاستوریزه شده به دلیل آلودگی ثانویه می باشد. با توجه به عدم حذف کامل اکسیژن از بسته بندیهای وکیوم و باقی ماندن مقدار اندکی اکسیژن در بافت ماهی می توان رشد این باکتری در فرآورده های بسته بندی شده به روش Sous vide را توجیه کرد. این گونه بیماری زا نبوده اما به دلیل تولید اسلایم در روی سطح فرآورده می تواند ایجاد فساد حسی نماید(۱۹).

بر اساس جدول ۳ بعد از پنج روز در نمونه شاهد در مقایسه با نمونه های عمل آوری شده به روش Sous vide رشد کپک و مخمر مشاهده شد. در این نمونه های شاهد تحت تأثیر نوع بسته بندی، وجود اکسیژن، عدم استفاده از پروسه پاستوریزاسیون و مناسب بودن دما کپک و مخمر قادر به رشد بودند. اما در نمونه های آزمایشی به دلیل عدم وجود هوا و پروسه پاستوریزاسیون کیک و مخمر قادر به رشد نبودند. در این نمونه ها در مقایسه با نمونه های عمل آوری شده به روش Sous vide بعد از پنج روز تغییر رنگ مشاهده شد که ناشی از اکسیداسیون محصول تحت تأثیر آنزیم لیپاز بافت و آنزیم لیپاز مترشحه از فعالیت باکتریهای *Staphylococcus* و *Pseudomonas* می باشد. اما در فیله فرآوری شده به روش Sous vide به دلیل جلوگیری از فعالیت آنزیم لیپاز بافت در اثر پاستوریزاسیون اکسیداسیون و تغییر رنگ محصول در نتیجه فعالیت آنزیم لیپاز تولید شده در اثر فعالیت باکتریهای *Pseudomonas* و *Staphylococcus* می باشد که سرانجام سبب تغییر رنگ و کاهش کیفیت حسی نمونه ها بعد از مدت زمان ۷۰ و ۸۴ روز در فیله های پاستوریزه شده به روش HTST و LTLT شد(۶، ۱۸، ۲۵) .

نتایج به دست آمده از این تحقیق از لحاظ کیفی و کمی با تحقیقات انجام شده توسط Wang, Gormley Fagon, Eija و Mcmahou مشابه است (۱۱، ۱۲، ۲۴ و ۳۳).

بنابراین با توجه به تأثیر فاکتور های پخت ملایم، سردسازی سریع، بسته بندی وکیوم، غیر فعال سازی آنزیم لیپاز، کیسه های انعطاف پذیر غیر قابل نفوذ به هوا، پاستوریزاسیون و فعالیت آبی بر حفظ امنیت میکروبی محصولات Sous Vide می توان افزایش مدت زمان

ماندگاری این فرآورده ها را در یخچال توجیه نمود (۳۱ و ۳۳).

منابع

۱ – صداقت، ن.، ۱۳۷۵ . تکنولوژی بسته بندی مواد غذایی. انتشارات بارثاو ا.

۲. – میر نظامی ضیابری، ح.، ۱۳۷۸. اصول بسته بندی مواد غذایی. نشر علوم کشاورزی.

3 - Adams, M. R and Moss, M. O., 2002. Food microbiology, R.S.C.

4 - Andrews, W. H and Hammack, T. S., 2003. Food sampling and preparation of sample homogenate, FDA.

5 - A.O.A.C. 1997. Official Methods of Analysis, 981.12. AOAC international, USA.

6 - Banwart, G. J., 2004. Basic food microbiology, CBS.

7 - Bennett, R. W and Lancette, F., 2001. *Staphylococcus aureus*, FDA.

8 - Bolton, D, J; Mcmahou, C. M and Doherty, A; M., 2000. Thermal inactivation of *Listeria monicytogenes* and *Yersinia enterocolitica* in minced beef under laboratory conditions and in sous vide prepared minced and solid beef cooked in a commercial retort, Journal of applied microbiology. 34: 626 – 632.

9 - Codex Alimentarius volume B., 1983. Recommended international code of practice for salted fish first edition CAC/RCP 26 – 1979. FAO. Rome.

10 - Codex Alimentarius., Sodium chloride boiled dried salted fish 937.09. FAO. Rome.

11 - Eija, H. T; Eija, S and Mirja, M., 2000. Safety evalution of sous vide processed products with respect to non proteolytic *clostridium botulinum* by use of challenge studies and predictive microbiological models, applied and environmental microbiology. 66: 223- 229.

12 - Fagon, J. D and Gormely, T. R., 2004. Sous Vide technology for underutilized fish species. 34 th wefta meeting.

13 - Farber, J. M and Dodds, K. L., 2006. Principles of modified atmosphere and Sous vide product packaging, culinary and hospitality publication cervices.

14 - Feng, P; Weagant, S. D and Grant, M, A., 2002. Enumeration of *Escheria coli* and the *Coliform* bacteria, FDA.

15 - Food and drug administration., 1996. Food processing, FDA.

16 – Gore, G.M., 2000. Spectrophotometry and spectrophotometry a practical approach. Academic press.

17 - Holt, J, G ; Krieg, R, N and Sneath, P, H, A ; Staley, J, T and Williams, S, T., 1994. Bergeys manual of determinative bacteriology ninth edition, Williams & wilkins.

18 - James monero, J., 2005. Modern food microbiology 7th ed. Springer.

19 - Jay, J. M., 2003. Modern food microbiology, CBS publication,

20 - Loesecke, H.W., 2001. Drying and dehydration of foods, Agrobios,

21- Manay, A. S and Shadaksharaswamy, M., 2001. Foods. New Age International Publishers.

22 - Martin, A. M ., 1994. Fisheries processing, Chapman and Hall.

23 - Maturin, L. J and Peeler, J. T., 2001. Aerobic plate counts, FDA.

24 - Mcmahon, C. M. M; Doherty, A. M and Sheridan, J. J., 1999. synergitic effect of heat and sodium lactate on the thermal resistance of *Yercinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* in minced beef, Applied microbiology, 18: 340 –344.

25 - Novak, S. J; Sapers, G. M; Juneja, V. K., 2003. Microbial safety of minimally processed foods, CRC press.

26 - Rhodehamel, E. J and Harmon, S. M., 2001. *Clostridium perfringens*, FDA.

27 - Seligrnan, A. M. and Nachlas, M. M. (1963). Lipase. In : "Methods of Enzymatic Analysis" (ed. by H. U. Bergmeyer). pp.776-778. Academic Press.

28 - Shahidi, F and Botta, J. R., 1994. Seafoods, chemistry, processing technology and quality, Chapman & Hall.

29 - Smith, J., 2000. Technology of reduced additive foods, Blackwell science. p. 258.

30 - Solomon, H. M and Lilly, T., 2001. *Clostridium botulinum*, FDA.

31 - Stringer, M and Dennis, C., 2000. Chilled foods, CRC press.

32 - Tournas, V, Stack, M, E, Mislivec, P, B, Koch,H, A and Rbandler, R., 2001. Yeasts, Molds and Mycotoxin, FDA.

33 - Wang, S. H; Chang, M. H and Chen, T, C., 2004. Shelf life and microbiological prolifier of chicken wing products following sous vide treatment, International journal of poultry science. 23: 326 – 332.

Effect of pasteurization method on shelf life of farmed Huso Huso fish fillets packaged by Sous Vide method in refrigerator

Seifzadeh M.[1] and Khanipour A.A.[2]

Iranian Fisheries National Fish Processing Center, Anzali, I.R. of Iran

Abstract

This project was carried out to provide a new method of packaging for *H. huso* fillets , ready to eat and new products from this fish fillets, physicochemical properties monitoring of fish fillets packaged by Sous Vide method and preparation of product with high shelf life in refrigerator. Fish fillets were prepared by brine. Pasteurization was performed by HTST (High temperature short time) and LTLT (low temperature long time) methods. The pasteurized products were kept at 2 ^{o} C. Examination were carried out for a period of twelve weeks. The *Coliform*, *Escherichia coli* and *Serratia* bacteria and Molds and yeasts contamination were negative until the end of storage period in samples processed by Sous Vide method. Total bacterial counts, *Staphylococcus* and *Pseudomonas* bacteria count were higher in samples pasteurized by HTST (5.83, 2.35 and 4.54 log cfu/g respectively) compared with samples pasteurized by LTLT method (5.03, 3.03 and 3.55 log cfu/g respectively). But salt absorption and pH values were lower in this samples (7%, 6.19) compared with samples pasteurized by LTLT method (8.5%, 6.27). Finally, according to results of bacterial experiments the pasteurized samples by HTST and LTLT method kept their high quality for a period of eight weeks and twelve weeks, respectively. However, statistically significant difference was not observed in their bacterial counts and chemical factors in among experimental($p > 0.05$).

Key words: Bacterial analysis, Fish packaging Sensory analysis. Sous Vide packaging