تاثیر تلقیح *Lactobacillus casei*، به عنوان یک نگهدارنده زیستی بر کیفیت میکروبی و شیمیایی فرآورده دودی ماهی سفید

مهدی قنبری[۱]، مسعود رضائی[۲*]، مهدی سلطانی[۳]، غلامرضا شاه حسینی[۴]

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات دانشگاه تربیت مدرس و عضو هیات علمی گروه شیلات دانشگاه زابل.
۲. دانشیار دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، مازندران، نور.
۳. استاد گروه بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران.
۴. عضو هیئت علمی پژوهشکده کشاورزی، پزشکی و صنعتی، مرکز تحقیقات علوم هسته ای، سازمان انرژی اتمی ایران.

(تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۳ تاریخ پذیرش: ۸۹/۶/۲۳)

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی نحوه استفاده از نگهدارنده های زیستی در فراورده ماهی سفید دودی بود. از اینرو از باکتری *Lactobacillus casei* (که قبلا در بازدارندگی از رشد *Listeria monocytogenes* نتایج مثبتی را نشان داده بود) برای بررسی اثرات آن بر خصوصیات میکروبی و شیمیایی ماهی سفید دودی در طی نگهداری در درجه حرارت های ۴ و ۲۰ درجه سانتیگراد استفاده شد. بدین منظور پس از تهیه ماهیان دودی، قطعات گوشت با 10^4 cfu/g از سویه *Lactobacillus casei* تلقیح و به مدت ۴۰ روز در درجه حرارت های ۴ و ۲۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد (۱۰ روز ۴ درجه سانتیگراد، ۳۰ روز ۲۰ درجه سانتیگراد). آزمون های میکروبی (TVC، LAB، EBC، *L. monocytogenes*) و شیمیایی (TVN و pH) با فاصله زمانی ۱۰ روز بر روی نمونه های تلقیح شده و نمونه های کنترل انجام شد. نتایج نشان داد که سویه *Lactobacillus casei* AP 8 کاندیدای مناسبی برای مطالعه در زمینه استفاده از نگه دارنده های زیستی در ماهی سفید دودی می باشد. این سویه قادر به رشد در فرآورده به شکل وسیعی می باشد و تلقیح آن تغییر معناداری در خصوصیات شیمیایی و میکروبی فرآورده ماهی سفید دودی در طول دوره نگهداری ایجاد نکرد.

کلید واژه گان: ماهی سفید دودی، نگهدارنده های زیستی، باکتری های اسید لاکتیک، *Lactobacillus casei*، *Listeria monocytogenes*

۱- مقدمه

دودی کردن یکی از قدیمی ترین روش های نگهداری مواد غذایی به شمار می رود [۱، ۲] که در حال حاضر برای محصولاتی با سرعت فساد بالا نظیر انواع ماهی حاوی بطور متوسط ۸٪ نمک در استان های شمالی کشور مورد استفاده قرار می گیرد. از مهمترین خطرات همراه با این فرآورده حضور پاتوژن *Listeria monocytogenes* می باشد. *Listeria monocytogenes* پاتوژنی گرم مثبت و قابل انتقال از راه غذا است. این ارگانیسم سرما دوست و نمک دوست است و می تواند تحت شرایط بهینه از قبیل رشد در درجه حرارت ۴۰-۴ درجه سانتیگراد و میزان شوری ۱۵-۵٪ به بقا خود ادامه دهد، در نتیجه

*مسئول مکاتبات: rezai_ma@modares.ac.ir

می تواند در بسیاری از محصولات غذایی تا مدت های مدید زنده بماند [۳]. محصولاتی که تیمار حرارتی زیادی توسط مصرف کننده در زمان پخت دریافت نمی کنند از قبیل پنیر، گوشت ها و ماهیان آماده مصرف(ready-to-eat) می توانند حاوی سطوح بالایی از *Listeria monocytogenes* باشند. بسیاری از این نوع غذاها، ریسک بیماری لیستریوسیس را با خود به همراه دارند [۳]. ماهی دودی یک محصول آماده مصرف به شمار می آید و تحقیقات انجام شده بر روی ماهیان دودی در کشور حاکی از وجود *Listeria monocytogenes* در سطوح مختلف در این محصولات می باشد [۴، ۵]. مطالعات انجام شده نشان داده اند که مراحل اصلی تهیه ماهی دودی (شامل نمک سود کردن و دوددهی) فاقد کارایی لازم برای حذف این پاتوژن از محصول نهایی بوده و امکان رشد این پاتوژن در طول دوره نگهداری در دمای یخچال همچنان وجود دارد [۱، ۶]. در سالهای اخیر استفاده از نگهدارنده های زیستی به عنوان یکی از روشهای مورد استفاده برای حذف خطر لیستریوزیس در ماهی دودی مورد توجه قرار گرفته است. به نظر می رسد استفاده از نگهدارنده های زیستی یک روش مناسب برای غلبه کردن بر خطرات حاصل از پاتوژنهایی نظیر لیستریا در این محصول می باشد، که شامل تلقیح باکتریهای غیر مضر در محصولات غذایی، برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم های بیماریزا (بدون تغییر در کیفیت محصول) می شود [۱۱].

مطالعه پیشین صورت گرفته ظرفیت بازدارندگی دو سویه از باکتری های اسید لاکتیک جدا شده از فلور روده ماهیان (*Lactobacillus plantarum* جدایهAP12 و *Lactobacillus casei* جدایه AP8) بر علیه *Listeria monocytogenes* در محیط آزمایشگاه و قطعات استریل گوشت ماهی سفید دودی که به طور مصنوعی آلوده شده بودند را نشان داده است [۳]. هر دو سویه باکتریایی نتایج قابل اعتمادی را در بروز فعالیت بازدارندگی از خود نشان دادند. به طوری که *Lactobacillus casei* تعداد *Listeria monocytogenes* را در انتهای ۴۰ روز نگهداری در دماهای ۴ و ۲۰ درجه سانتیگراد به میزان ۵۰ باکتری در گرم از گوشت کاهش داد [۳] .

به منظور افزایش استفاده از نگهدارنده های زیستی به گونه ای که برای تولید ماهی دودی در کشور قابل استفاده باشد، ارزیابی اثرات استفاده از کشت های باکتریایی نظیر *Lactobacillus casei* به عنوان یک سویه نگهدارنده زیستی بر خصوصیات کیفی فرآورده حائز اهمیت می باشد. مطالعات انجام گرفته در زمینه بررسی عوامل موثر بر فساد ماهیان دودی در طول دوره نگهداری به روشنی این واقعیت را آشکار کرده است که ظهور اولین علائم فساد در ماهیان دودی که ایجاد بوی بد و طعم بد می باشد، در نتیجه فعالیت فلور میکروبی فرآورده می باشد [۸]. این امر لزوم بررسی پتانسیل کنترل فساد توسط سویه های باکتریایی را که به عنوان کاندیداهای نگهدارنده زیستی انتخاب می شوند رانشان می دهد. در مطالعه قبلی تغییرات معناداری در پارامتر های TVBN و pH به عنوان شاخص های فساد در نمونه های تلقیح شده با سویه های باکتریایی نسبت به نمونه های شاهد رخ نداد و در بین سویه های باکتریایی مورد بررسی ، سویه *Lactobacillus casei* کمترین میزان تغییرات را در خصوصیات مورد بررسی ایجاد کرد [۳] .

با توجه به این موضوع که سویه *Lactobacillus casei* بیشترین میزان فعالیت بازدارندگی را بر *Listeria monocytogenes* در قطعات استریل گوشت ماهی سفید دودی (بدون تغییر در خصوصیات کیفی محصول) را از خود نشان داد، هدف از این مطالعه استفاده از این سویه به عنوان نگهدارنده زیستی و بررسی اثرات آن بر خصوصیات میکروبی و شیمیایی ماهیان سفید دودی در طول دوره نگهداری بود.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- تهیه ماهیان سفید دودی

ماهی سفید تازه از بازار ماهی فروشان شهرستان محمود آباد (از یک جامعه صید شده با تور پره در سواحل جنوبی خزر) تهیه گردید. پس از شستشو تخلیه شکمی انجام گرفته و ضمن قرار گرفتن در لایه های یخ، جهت انجام عملیات دودی کردن به دودخانه منتقل شدند. عملیات دودی کردن طبق روش رایج در استانهای شمالی کشور مورد انجام گرفت (دوددهی سرد). در این رابطه ابتدا ماهی ها ماهیان به مدت ۳ روز در حوضچه های حاوی نمک اشباع قرار گرفتند. پس از این مدت، نمونه ها به مدت ۴-۵ روز دوددهی شدند. پس از اتمام عملیات دوددهی نمونه ها بلافاصله به آزمایشگاه تخصصی آبزیان دانشکده دامپزشکی در دانشگاه تهران منتقل و تحت شرایط استریل فیله شدند. کلیه قطعات گوشت تا زمان تلقیح در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد قرار داده شدند.

۲-۲- آماده سازی سویه های باکتریایی و تلقیح به قطعات گوشت

سویه *Lactobacillus casei* که توسط قنبری و همکاران[۹] از محتویات روده تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) جدا شده بود، جهت این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. آماده سازی میزان مورد نیاز برای تلقیح این سویه، با دو بار کشت متوالی به مدت ۲۴ ساعت در محیط کشت MRS (Merck, Germany) در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد انجام گرفت. سپس باکتری ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند و در ادامه سلولهای به دست آمده بوسیله سرم فیزیولوژی استریل(نمک، ۰/۸۵٪) شسته شدند. از سوسپانسیون سلولی به دست آمده بلافاصله برای تلقیح نمونه ها مورد استفاده قرار گرفت. میزان تلقیح سویه *Lactobacillus casei* برابر با 10^4 باکتری در هر گرم گوشت بود. مقادیر مورد نیاز برای هر یک از نمونه ها با استفاده از یک آب پاش تحت شرایط استریل و در زیر هود اسپری شدند. نمونه های شاهد نیز با محلول ۲درصد از سرم فیزیولوژی تلقیح شدند. پس از جذب کامل سوسپانسیون، قطعات گوشت به صورت خلا(vacuum packed) بسته بندی و به مدت ۴۰ روز در دماهای ۴ و ۲۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند (۱۰ روز در دمای ۴ درجه و ۳۰ روز در دمای ۲۰ درجه). آزمون های میکروبی و شیمیایی هر ۱۰ روز و در سه تکرار بر روی قطعات گوشت انجام می گرفت.

۲-۲-۱- آزمون های میکروبی

این آزمون ها در این تحقیق شامل تعداد کل باکتری ها (TVC)، تعداد کلی انتروباکتریاسه ها، تعداد کلی باکتری های اسید لاکتیک (LAB) و بررسی میزان *Listeria monocytogenes* بود که بر طبق روش FDA [۱۰] انجام گرفت. بر طبق این روش رقت های متوالی از نمونه های مورد مطالعه تهیه شده و بر روی محیط کشت های اختصاصی به صورت سطحی و پور پلیت کشت داده شدند.

۲-۳- آنالیزهای شیمیایی

بلافاصله بعد از تهیه ماهیان سفید دودی تعدادی از آنها به صورت تصادفی انتخاب و مقادیر چربی، ماده خشک، میزان نمک موجود در ماهیان سفید دودی با استفاده از روش های استاندارد مورد سنجش قرار گرفت[۱۱] . همچنین در هر روز از نمونه برداری شاخص های pH و ازت فرار کل (TVN) در نمونه های گوشت اندازه گیری می شد [۶].

الف) اندازه گیری میزان pH

۵ گرم گوشت چرخ شده به ۴۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه و سپس با استفاده از همزن هموژن گردید. پس از آن pH گوشت با استفاده از دستگاه pH متر(Mettler Delta 320, France) مورد اندازه گیری قرار گرفت.

ب) اندازه گیری ازت فرار تام

۱۰ گرم از نمونه ماهی، ۲ گرم اکسید منیزیوم و ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر به بالن تقطیر ماکروکلدال و در یک ارلن مایر که با عنوان ظرف گیرنده زیر قسمت سرد کننده دستگاه تقطیر قرار گرفت، cc ۲ از محلول اسید بوریک ۲٪ و چند قطره از معرف متیل رد اضافه شد پس از انجام تقطیر و اضافه شدن محلول تقطیر به درون ارلن، این محلول به وسیله اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتراسیون کرده و از روی میزان مصرف اسید سولفوریک مقدار ازت فرار بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ گرم ماهی محاسبه شد.

۲-۴- سنجش فعالیت باکتریوسین

در هر زمان از نمونه برداری، میزان ۱ میلی لیتر از رقت ۵:۱ گوشت هموژن شده در سرم فیزیولوژی به مدت ۱۵ دقیقه در ۸۰ درجه سانتیگراد برای غیر فعال شدن پروتئازها حرارت داده شد و در ادامه برای سنجش فعالیت آنتاگونیستی بر علیه سویه *Listeria monocytogenes* با شماره ATCC 11915، با روش استاندارد دیسک استفاده شد [۱۲].

۲-۵-آنالیز های آماری

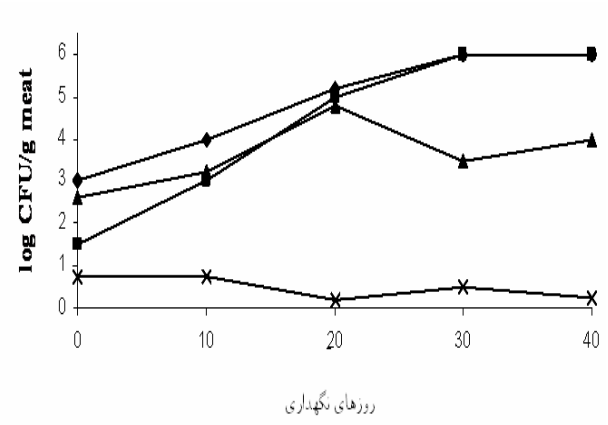
برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار SPSS (v.11.5) و برای رسم نمودار ها از نرم افزار Excel (2003) استفاده شد. برای شاخص های شیمیایی و میکروبی، از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA به همراه تست حداقل تفاوت معنی دار آماری (LSD) در سطح $p<0/05$ استفاده شد.

۳- نتایج

آنالیز های شیمیایی نشان داد که میزان نمک، میزان ماده خشک و چربی موجود در نمونه های ماهی سفید دودی مورد مطالعه به ترتیب۱۳، ۴۰ و ۲ درصد بود.

بررسی های میکروبی نشان دهنده این امر بود که در ابتدای آزمایش تعداد کل باکتریها(TVC) در حد نسبتاً بالایی (10^3 CFU/g) قرار داشت. میزان TVC در انتهای مدت زمان نگهداری به میزان

$۱۰^{۷}$CFU/g رسید. همچنین باکتری های اسید لاکتیک و به خصوص لاکتوباسیل ها به سرعت در نمونه های گوشت رشد و در پایان دوره نگهداری غالب ترین سویه های باکتریایی غالب را در محیط گوشت تشکیل می دادند. انتروباکتریاسه ها نیز در نمونه های شاهد دامنه متفاوتی از CFU/g $۱۰^{۲}$ تا $۱۰^{۴}$ از خود نشان دادند. همچنین در نمونه های مورد مطالعه *Listeria monocytogenes* نیز در حد پایینی نیز حضور داشت (CFU/g ۸)(شکل۱).

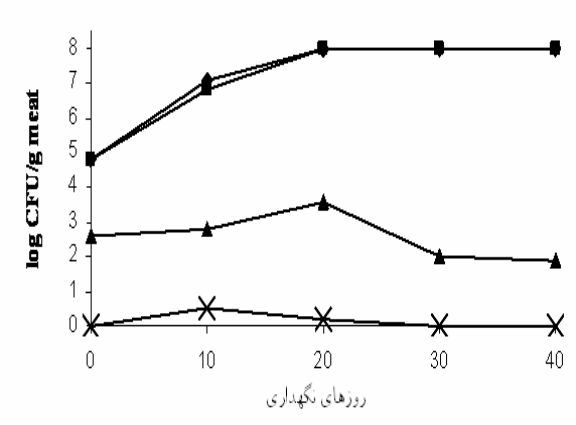


Legends

شکل ۱ رشد فلور باکتریایی گوشت غیر استریل ماهی سفید دودی در درجات حرارت ۴ و ۲۰ درجه سانتیگراد.

(×) *Listeria monocytogenes*, (▲)Entrobacteriaceae, (■)Lactic acid bacteria, (♦) Total viable count

در نمونه های گوشت تلقیح شده با *Lactobacillus casei*، فلور غالب در ۱۰ روز دوم نگهداری مربوط به باکتری های اسید لاکتیک بود که این امر ناشی از تلقیح سویه باکتریایی به نمونه های گوشت بود. اما پس از آن تشخیص میان سویه های تلقیح شده و سویه های موجود در فلور طبیعی به علت مشابه شدن سطوح رشد باکتری های اسید لاکتیک امری بسیار مشکل بود. کاهش معناداری در میزان کل باکتریهای قابل حیات(TVC) در نمونه های تلقیح شده با *Lactobacillus casei* در طول ۴۰ روز نگهداری نمونه های گوشت ماهی سفید دودی مشاهده نشد. در بین فلور باکتریایی رشد سویه های Entrobacteriaceae در نمونه های تلقیح شده با *Lactobacillus casei* کاهش کمی را از خود نشان داد (شکل۲).



شکل ۲ رشد فلور باکتریایی گوشت غیر استریل ماهی سفید دودی تلقیح شده در درجات حرارت ۴ و ۲۰ درجه سانتیگراد. (×) Listeria monocytogenes, (▲)Entrobacteriaceae, (■)Lactic acid bacteria, (♦) Total viable count.

در نمونه های کنترل میزان Entrobacteriaceae در انتهای دوره نگهداری به میزان CFU/g $۴×۱۰^{۴}$ رسید اما در نمونه های تلقیح شده میزان آن در انتهای دوره نگهداری به مقدار CFU/g $۳×۱۰^{۲}$ رسید. لیستریا در طول دوره نگهداری به میزان کمتر از log CFU/g ۱ کاهش پیدا کرد اما به علت سطح آلودگی اولیه پایین، این کاهش از لحاظ آماری معنادار نبود ($p>0.05$) (شکل ۲).

آزمون های فیزیکوشیمیایی در طی دوره نگهداری نمونه های گوشت نشان داد که میزان pH در نمونه های کنترل و نمونه های تلقیح شده با *Lactobacillus casei* در حد نسبتاً ثابتی در طول دوره نگهداری قرار داشت و در دامنه بین ۶/۰۲ – ۵/۹۲ بود و تفاوت معنا داری در بین تیمارها وجود نداشت($p>0.05$). نتایج حاصل از اندازه گیری میزان بازهای فرار (TVN) در نمونه های کنترل و نمونه های تلقیح شده در جدول ۱ آورده شده است. میزان نهایی بازهای فرار(TVN) در نمونه های کنترل میزان TVBN بعد از عملیات فرآوری و در ابتدای زمان نگهداری در میزان mg-N/100g ۱۶/۱ قرار داشت و در پایان دوره نگهداری به میزان mg N/100g ۲±۲۱ گوشت رسید . در حضور *Lactobacillus casei* تولید TVBN در طول دوره نگهداری در حد اندکی بود اما به طور معناداری در انتهای دوره به مقدار mg-N/100g ۲۵/۱ افزایش یافت.

جدول ۱ تولید TVBN (mg-N/100g meat) در نمونه های ماهی سفید دودی شاهد و نمونه های تلقیح شده با *Lactobaciilus casei* در طول دوره تگهداری در درجه حرارت های ۴ و ۲۰ درجه سانتیگراد.

ماهیان سفید دودی	زمانهای نگهداری (روز)				
	۰	۱۰	۲۰	۳۰	۴۰
نمونه های شاهد	(۱۶/۱±۰/۹)	(۱۷/۱±۱/۹)	(۱۹/۲±۱/۳)	(۱۸/۸±۱/۲)	(۲۱±۲)
نمونه های تلقیح شده	(۱۶±۱/۱)	(۱۷±۱)	(۱۹/۴±۲/۶)	(۲۶/۴±۱۵)	(۲۵±۱)

۴- بحث

ماهی سفید دودی به عنوان یکی از مهم ترین فرآورده های سنتی تولیدی در کشور نقش مهمی را در جیره غذایی مردم ساکن در استان های شمالی کشور دارد. با توجه به گزارش هایی دال بر بروز آلودگی در ماهیان دودی در کشور با میکروبهایی نظیر *Listeria monocytogenes* [۴، ۵]، استفاده از ترکیبات نگهدارنده نظیر باکتریوسین در این محصول از اهمیت خاصی برخوردار می باشد. بر طبق بررسی های اپیدمیولوژیکی و همچنین مطالعات انجام شده بر روی لیستریا منوسایتوژنس، سطح آلودگی به این باکتری در حدکمتر از ۱۰۰ cfu/g این باکتری به عنوان سطح بی خطر معرفی شده است [۴]. سطح آلودگی به لیستریا منوسایتوژنس در نمونه های مورد مطالعه در این تحقیق کمتر از حد مجاز حضور این پاتوژن در فرآورده های دودی ماهیان بود، اما تحقیقات محققین نشان داده است که این پاتوژن توانایی رشد خوبی را در گوشت ماهی دودی در طی دوره نگهداری در درجات حرارت بالا و یا پایین دارد[۱، ۱۲، ۱۳]؛ بنابراین حتی حضور سطوح پایین این ارگانیسم در اینگونه مواد غذایی یکی از مهمترین خطرات همراه با این فرآورده می باشد. آخوند زاده و همکاران [۴] در مطالعه ای که بر روی ماهیان دودی فیتوفاگ و آلوزا انجام دادند، حضور *Listeria monocytogenes* را در این فرآورده ها در سطوح مختلف گزارش دادند. با توجه به مشابه بودن پروسه آماده سازی ماهیان جهت عملیات دودی کردن و همچنین مشابهت در مراحل فرآوری، حضور این پاتوژن به عنوان آلودگی ثانویه در این فرآورده دور از انتظار نبود. با توجه به این موضوع که دامنه زیستی اصلی *Listeria monocytogenes* خاک، مواد گیاهی و سبزیجات می باشد [۶] ، منشا اولیه آلودگی به *Listeria monocytogenes* را در ماهیان موجود در بدنه های آبی نظیر دریای خزر را می توان ورود پساب حاصل از زمین های کشاورزی به این دریاچه ها دانست که اثبات این امر نیاز به مطالعات گسترده تری در این زمینه دارد.

اکولوژی میکروبی ماهی دودی پیچیده و بسته به نوع محیط دودخانه متفاوت می باشد [۱۳] . بر طبق چندین مطالعه انجام گرفته [۱۴، ۱۵] میزان تعداد کل باکتری های زنده (TVC) در ماهی دودی بلافاصله بعد از تولید بسته به نوع محیط دودی کردن و دستکاری ها در طول عملیات تولید میزان متفاوتی می باشد. در این مطالعه، باکتری های اسید لاکتیک که در ابتدای دوره نگهداری در حد پایینی بودند در طول دوره نگهداری به سرعت رشد کردند و به باکتری های غالب در گوشت ماهی سفید دودی تبدیل شدند که با نتایج سایر محققین در این خصوص مطابقت دارد [۸، ۱۳، ۱۶] . این وضعیت به خصوص سازگار در انتهای دوره نگهداری احتمالا به علت این است که بسیاری از سویه های لاکتوباسیل به محیط هایی نظیر ماهی دودی می باشند و به راحتی در غلظت های نسبتا بالای نمک(۱۰-۸ ٪) قادر به رشد و تکثیر می باشند[۶]. در همین راستا سویه میزان افزایش رشد سویه *Lactobacillus casei* در محیط گوشت ماهی سفید دودی نسبت به مطالعه انجام شده پیشین(۳) وضعیت آشکارتری را از خود نشان داد که این امر احتمالا به دلیل میزان نمک کمتر(۸-۷ درصد) در این نمونه ها نسبت به نمونه های استریل گوشت بود. همچنین این امکان نیز وجود دارد که رشد باکتری ها بر روی ورقه های گوشت ماهی سفید دودی به علت سطح بیشتر و مواد غذایی فراوانتر نسبت به قطعات استریل گوشت از سرعت بیشتری برخوردار باشد.

در حضور *Lactobacillus casei* رشد فلور میکروبی قابل شمارش در گوشت به میزان کمی محدود شد اما به علت تنوع آلودگی در میان ماهیان مورد آزمایش این بازدارندگی رشد در سطح ۹۵٪ معنی دار نبود. کاهش رشد Entrobacteriaceace می تواند به علت رقابت غذایی لاکتوباسیل تلقیح شده با این گروه از باکتری ها در محیط گوشت باشد اما تحقیقات بیشتر بر روی مکانیسم این بازدارندگی انجام نشد.

اثر بازدارندگی *Lactobacillus casei* بر علیه *Listeria monocytogenes* در نمونه های تلقیح شده را به طور بسیار

مشخص و واضحی می توان به تولید باکتریوسین توسط این سویه دانست. اگر چه در طول نگهداری گوشت ها هیچ فعالیت باکتریوسینی در نمونه های تلقیح شده دیده نشد اما نتایج نشان داده بود که فعالیت بازدارندگی *Listeria monocytogenes* توسط *Lactobacillus casei* بسیار موثر و قابل توجه است [۳]. Ganzle و همکاران [۱۷] اینگونه فرض کردند که یکی از دلایل این امر(عدم مشاهده باکتریوسین در نمونه های گوشت) می تواند در نتیجه واکنش بین سویه تلقیح شده، محیط گوشت و همچنین نوع بسته بندی محصول باشد که اندازه گیری میزان باکتریوسین را در محصول با مشکل مواجه می کند هر چند که فعالیت بازدارندگی مشاهده می شود.

از خصوصیات منفی که در گوشت های تلقیح شده با *Lactobacillus casei* مشاهده شد افزایش جزئی TVBN (در حدود ۵ mg-N/100g) در طول دوره نگهداری بود که در مطالعه سایر محققین نیز این مورد مشاهده شده بود [۱۵]. تولید TVBN در نمونه های استریل گوشت تلقیح شده با *Lactobacillus casei* مشاهده نشده بود، حال آنکه تولید TVN در نمونه های غیر استریل گوشت می تواند به علت واکنش بین لاکتوباسیل های استارتر و فلور طبیعی محصول باشد که این امر رامی توان با بهینه کردن میزان تلقیح این سویه به گوشت (در سطحی که از نظر اثر بازدارندگی فعال بماند) و همچنین قرار دادن محصول در درجه حرارت های پائین تر برطرف نمود. هر چند که حتی در انتهای مدت زمان نگهداری فرآورده میزان TVBN در نمونه های تلقیح شده با *Lactobacillus casei* در زیر حد استاندارد ۳۰ mg-N/100g بود [۱۵].

۵- نتیجه گیری کلی

بر طبق تحقیقات محققین استفاده از کشتهای میکروبی به عنوان نگهدارنده های زیستی در محصولات شیلاتی نظیر فرآورده دودی ماهیان معمول نیست که از مهمترین دلایل این امر رشد کم سویه های باکتریایی در دمای یخچال و همچنین تولید بوی بد می باشد[۱, ۷]. برخلاف برخی دیگر از سویه های باکتریایی، در این مطالعه سویه *Lactobacillus casei* تلقیح شده به گوشت ماهی سفید دودی علاوه بر رشد مناسب در طول دوره نگهداری در دمای یخچال، فعالیت بازدارندگی خود را بر فلور میکروبی و پاتوژن *Listeria monocytogenes* بدون تغییرات منفی معنی داری($p>0.05$) در خصوصیات کیفی محصول از خود نشان داد. بروز خصوصیات مثبت مورد اشاره در استفاده از سویه باکتریایی *Lactobacillus casei* به عنوان یک نگهدارنده زیستی در فرآورده دودی ماهی سفید، امکان استفاده از این سویه را به عنوان یک کاندیدای نگهدارنده زیستی مناسب در این فرآورده نشان می دهد که می تواند در جهت افزایش مدت زمان ماندگاری این فرآورده و همچنین حذف خطر بروز لیستریوزیس و مسمومیت های غذایی میکروبی مورد استفاده قرار گیرد. پتانسیل استفاده از این سویه باکتریایی به عنوان یک سویه نگهدارنده زیستی در سایر فرآورده های شیلاتی مورد استفاده در کشور می تواند در مطالعات آینده مد نظر قرار گیرد.

۶- سپاسگزاری

بدین وسیله از جناب آقای مهندس باقری، مهندس محمد قنبری و مهندس منصوره جامی که نهایت همکاری را در انجام این تحقیق مبذول داشتند، تشکر و قدردانی می گردد.

۷- منابع

[1] Brillet, A., Pilet, M. F., Prevost, H., Cardinal, M., Leroi, F. 2005. Effect on inculation of *Carnobacterium divergens* V41, a biopreservation strain against *Listeria mocytogenes* risk, on the microbiological, chemical and sensory quality of cold-smoked salmon. Inter. J. Food microbiol, 104: 309-324

[2] Cardinal, M., Gunnlaugsdottir, H., Bjoernevik, M., Ouisse, A.,Vallet, J.L., Leroi, F., 2004. Sensory characteristics of cold smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) from European market and relationships with chemical, physical and microbiological measurements. Food Res. Inter. 37, 181–193.

[3] Ghanbari, M., Rezaei, M., Soltani, M., Shahosseini, GH. 2008. Inhibition of *Listeria monocytogenes* growth by lactic acid bacteria in strile cold smoked roach (Rurtillus frisii kutum).Iranian j. Food Sci & Tech 5(3):27-36.

[4] Akhondzadeh.Basti, A., Misaghi, A., Z.Salehi, T., Kamkar, A. 2006. Bacterial pathogen in fresh , smoked and salted Iranian fish. Food Control 17: 183-188

[5] Amirkhanlou, O., 2005. Effect of Smoking time on Listeria monocytogenes in gutted and ungutted smoked silver carp. M.Sc thesis, Islamic Azad Univesity, Lahijan Branche.

[6] Gandhi, M &. Chikindas, M.L.2006. *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive. Inter. J. of Food Microbiol. 113:1-15

[7] Duffes, F ., Leroi, F ., Boyaval, P . and Dousset, X. 1999. Inhibition of *listreia monocytogenes* by *canobacterium spp*. Strains in a simulated cold smoked fish system stored at 4 degree C. Inter. J. Food Microbiol. 47: 33-42.

[8] Jorgensen, L.V., Dalgaard, P., Huss, H.H., 2000. Multiple compound quality index for cold-smoked salmon (Salmo salar) developed by multivariate regression of biogenic amines and pH. J. Agric. and Food Chem 48, 2448–2453.

[9] Ghanbari, M., Rezaei, M., Jami, M., Nazari, RM. 2009. Isolation and characterization of Lactobacillus species from intestinal contents of beluga (*Huso huso*) and Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Irani. J. Vet.y Res, 10: 271-280.

[10] FDA, 1992. Quantitative assessment of relative risk to public health from foodborne Listeria monocytogenes among selected categories of ready-to-eat foods. Center for Food Safety and Applied Nutrition,USA

[11] AOAC, 1995 AOAC, Official methods of analysis No. 18031 (16th ed.), Association of Official Analytical Chemists, Washington DC (1995).

[12] Ghanbari, M., Rezaei, M., Soltani, M., Shahosseini, GH. 2009. Production of bacteriocin by a novel Bacillus sp. strain RF 140, an intestinal bacterium of Caspian Frisian Roach (*Rutilus frisii kutum*). Irani. J. Vet.y Res, 10(3): 267-272-280.

[13] Leroi, F., Joffraud, J.J., Chevalier, F., Cardinal, M., 1998. Study of the microbial ecology of cold-smoked salmon during storage at 8 degrees C. Inter. J. Food Microbiol. 39, 111–121.

[14] Huss, H.H., Truelstrup Hansen, L., 1998. Comparison of the microflora isolated from spoiled cold-smoked salmon from three smokehouses. FOOD RES INT 31, 703– 711.

[15] Leroi, F., Joffraud, J.J., Chevalier, F., Cardinal, M., 2001. Research of quality indices for cold-smoked salmon using a stepwise multiple regression of microbiological counts and physicochemical parameters. J. Appl. Microbiol. 90, 578– 587.

[16] Lyhs, U., Bjorkroth, J., Hyytia, E., Korkeala, H., 1998. The spoilage flora of vacuum-packaged, sodium nitrite or potassium nitrate treated, cold-smoked rainbow trout stored at 4 degrees C or 8 degrees C. Inter. J. Food Microbiol. 45, 135– 142.

[17] Gänzle, M.G., Weber, S. and Hammes, W.P. 1999 Effect of ecological factors on the inhibitory spectrum and activity of bacteriocins. Inter. J. Food Microbiol. 46, 207-217.

The effect of inoculation of *Lactobacillus casei* as a biopreservative strain on the microbiological and chemical quality of smoked roach

Ghanbari, M. [1], Rezaei, M. [2]*, Soltani, M. [3] , Shahhosseini, Gh. [4]

1- M.Sc. gratuated, Dept. of Fisheries , Tarbiat Modares University and Lecturer in Fishery, Zabol University
2- Associated prof., Faculty of NaturalResources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
3- Professor, Dept. of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
4- Agricultural, Medical & Industrial School- Nuclear Science Technology Research Institute (NSTRI). Atomic Energy Organization of Iran
(Received:88/10/3 Accepted: 89/6/23)

The aim of this study was to develop a biopreservation strategy for cold-smoked Caspian roach by the use of *Lactobacillus casei* previously selected for their capability to inhibit the growth of *Listeria monocytogenes* in this product. An application on commercial smoked Caspian roach was tested by spraying *L. casei* (10^4 CFU g^{-1}) on slices smoked Caspian roach. Microbial and chemical characteristics were each ten days compared to a control during forty days of storage. No significant differences were showed in microbiological and chemical characteristics of inoculated slices with *L. casei.* The strain *L. casei* inoculated in SCR in a biopreservation goal exhibits some interesting properties: it is able to grow at high level without giving major quality changes in the product. In conclusion, biopreservation of SCR using lactic acid bacteria such as *L. casei* is a promising way to inhibit the growth of pathogenic bacteria such as *L. monocytogenes* with low effect on the quality of the product.

Keywords: Smoked Caspian roach, Biopreservation, Lactic Acid Bacteria, *Lactobacillus casei*, *Listeria monocytogenes*

* Corresponding Authur E-Mail Address: rezai_ma@modares.ac.ir