بررسی اثر اشعه گاما بر افزایش زمان ماندگاری گوشت ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) در شرایط یخچالی

غلامرضا شاه حسینی[1]، زهره مشاک[2*]

۱.پژوهشکده کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم وفنون هسته ای، سازمان انرژی اتمی ایران، کرج، ایران.

۲.گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

***نویسنده مسئول:** *Mashak@kiau.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/٤/۲۳ تاریخ پذیرش : ۱۳۹۵/۱۱/۲۲

چکیده

راههای مختلفی برای افزایش مدت زمان نگهداری مواد غذایی به کار می رود، که در بین آنها پرتودهی می‌تواند به عنوان روشی موثر در به تأخیر انداختن فساد در مواد غذایی به ویژه با منشأ آبزیان مطرح باشد. در این مطالعه ۵۰ قطعه ماهی کپور علفخوار (Grass carp) (*Ctenopharyngodon idella*) ۱/۵-۱ کیلوگرمی جهت پرتودهی گاما با منبع کبالت ۶۰ با دزهای صفر، ۱/۵، ۲/۵ و ۳/۵ کیلوگری استفاده شد و سپس تغییرات بار میکروبی و کل ازت فرار طی روزهای ۱، ۷ و ۱۴ تحت شرایط نگه‌داری در یخچال بررسی گردید. نتایج تحقیق فوق نشانگر کاهش قابل توجه میزان T.V.N و باکتری‌های مزوفیل هوازی در نمونه‌های پرتودیده در مقایسه با نمونه‌های پرتو ندیده بود. در این مطالعه با توجه به اینکه دز ۳/۵ کیلوگری در مقایسه با سایر دزها موجب کاهش معنی‌دار مقادیر T.V.N و باکتری های مزوفیل هوازی در مقایسه با استاندارد، در شرایط یخچالی تا روز هفتم گردید، لذا استفاده از آن به عنوان بهترین دز جهت جلوگیری از فساد ماهی کپور علفخوار در مدت زمان هفت روز توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: اشعه گاما، ماهی کپور علفخوار، میزان T.V.N، شمارش کلی باکتریایی، درجه حرارت یخچالی.

مقدمه

در جهان سالانه ۱۴۶ میلیون تن ماهی تولید می‌شود که سهم ایران از این تولید ۵۲۰ هزار تن بوده است (Fisheries, 2011). گوشت ماهی به دلیل ترکیبات با ارزش غذایی از جمله اسیدهای چرب امگا ۳ در پیشگیری از بیماریهای مختلفی همچون بیماریهای قلبی و عروقی موثر است. لذا،در تمامی کشورها برای تامین سلامتی افراد جامعه، به نوعی سعی بر ترویج و توسعه مصرف آبزیان در بین شهروندان خود دارند (Fisheries, 2011).آبزیان به علت وجود پروتئین بالا، از جمله غذاهای فسادپذیر بوده و در اثر فعالیت‌های میکروبی، در رنگ و مزه آن تغییراتی رخ می‌دهد (Brewer, 2004). میزان این تغییرات بستگی به تعداد، نوع باکتری‌ها و شرایط نگه‌داری آن‌ها دارد. علاوه بر این در نتیجه رشد باکتری‌ها در اغذیه دریایی فرم‌های غیر پروتئینی نیتروژنه[1] نظیر تری‌متیل‌آمین‌اکسیدها[2] و اوره[3] ایجاد می‌شود. فلور میکروبی موجود در ماهیان پرورشی را نمی‌توان بیش از ۲-۱ روز توسط دمای یخچال کنترل نمود (Grecz et al., 1965 ; Wong et al., 1989 ; Hanis et al., 1992) لذا باید تغییراتی در روش‌های نگهداری انواع ماهی تازه ایجاد شود تا زمان نگهداری این فرآورده ها افزایش یابد. روش‌های مختلفی از جمله نمک سود کردن، دودی کردن، بسته بندی و کنسرو کردن برای جلوگیری از فساد محصولات آبزی صورت می گیرد. نمک سود نمودن و دود دهی سبب کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها و تغییر در میکروفلور مولد فساد می‌گردد، اما در صورتی که

1.Nan protein Nitrogen 4- Urea

اینگونه ماهیان در شرایط هوازی و در درجه حرارت یخچال نگه‌داری شوند، می‌توانند رشد میکروفلور مولد فساد از جمله گونه‌های مختلف سودوموناس و مخمر را تسهیل نمایند (مرتضوی و همکاران، ۱۳۷۶) همچنین در بسته‌بندی وکیوم یا حاوی CO2، افزایش باکتری‌های مولد اسید لاکتیک مشاهده می شود (*CFU/g* $10^{2}-10^{7}$). البته رشد باکتری‌های گرم منفی، نظیرخانواده آنتروباکتریاسه یا انواع ویبریورا را بر روی ماهی، نباید نادیده گرفت. (Lamuka et al., 1992). تابش‌های گاما، تشعشعات الکترومغناطیس هستند که از هسته‌های برانگیخته شده عناصری نظیر Cs_{137}, Co_{60} ساطع می‌شوند و از اهمیت ویژه‌ای در نگه‌داری مواد غذایی برخوردارند؛ استفاده از این روش می تواند از جمله روشهای موفق در نگهداری محصولات غذایی به ویژه با منشأ دریایی باشد (Clifford and Brewer, 2004 ; Anellis, 1975). فرآیند پرتودهی باعث افزایش زمان ماندگاری فرآورده‌های دریایی، سبزیها و میوه‌ها می‌شود، مدت زمان ماندگاری میگو، خرچنگ، ماهی هداک، صدف‌های اسکالوپ و کلم را می‌توان به کمک رادوریزاسیون با دز ۴KGy- ۱ ، دو تا شش برابر افزایش داد (مرتضوی و همکاران، ۱۳۷۶؛Novak et al., 1968). باکتری‌های میله‌ای غیر اسپورزای گرم منفی حساس‌ترین باکتری‌ها نسبت به اشعه می‌باشند و میکروارگانیسم‌های اصلی عامل فساد در فرآورده‌های دریایی محسوب می شوند (Ehioba et al., 1988). میکروارگانیسم‌های گرم منفی میله‌ای کوتاه (باسیل‌های کوکسی شکل) متعلق به جنس‌های موراکسلا و آسینتوباکتر در مقایسه با سایر باکتری‌های گرم منفی، مقاومت بیشتری نسبت به اشعه نشان می‌دهند (Viena, 1993). استفاده از دز 2.5 KGy اشعه در گوشت گاو خرده شده سبب نابودی باکتریهای سود وموناس، انتروباکتریاسه و بروکوتریکس ترموسفاکتا شده و تعداد ارگانیسم‌های هوازی[2] (APC) را از ۶/۱۸ به ۱/۷۸ log/g (Brewer, 2004; Gracey et al., 1999). و تعداد باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک را به میزان ۳/۴ log/g کاهش داده است (Spoto et al., 2000). Zhang و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که استفاده از پرتو گاما با دز ۶۰ کیلو گری و نگه داری در سردخانه ، ماندگاری را افزایش می دهد(Zhang et al., 2014). Oraei و همکاران در سال ۲۰۱۱ با بررسی میکروبیولوژیکی بر روی ماهی رنگین کمان که تخت تاثیر پرتو گاما با دز های ۱، ۳ و ۵ کیلوگری قرار گرفته بود به این نتیجه رسیدند که پس از اتمام پروسه ۵ ماهه نگهداری این ماهی ها در سردخانه، حد مجاز میکروبی آنها کاملا مورد پذیرش بوده است (Oraei et al., 2011). آنها نشان دادند که کمترین بار آلودگی نمونه های ماهی پس از اتمام پروسه ۵ ماهه سردخانه گذاری، با استفاده از پرتو گاما ۳ کیلوگری بدست آمد (۲ Log *CFU/g*). در بررسی فراگیری که در سال ۲۰۱۴ توسط Skowron و همکاران بر روی تاثیرات پرتو UV-C روی آلودگی های میکروبی ماهی های آزاد و کاد انجام پذیرفت (Skowron et al., 2014). نتایج بررسیها نشان داد که افزایش دز پرتو UV-C از ۱۰ به ۱۰۰ ، در مورد گونه های سالمونلا، گونه های انتروکوکوس و اشریشیا کلی و از ۱۰۰ به ۵۰۰۰ در مورد کلستریدیوم اسپوروژنز، هم در ماهی کاد و هم در ماهی آزاد می تواند سبب کاهش تعداد و در برخی مواقع به صفر رساندن بار آلودگی میکروبی شود. نام بردگان استفاده از این پرتو را به منظور کاهش بار میکروبی ماهیان مقرون به صرفه معرفی کردند. تاثیرات بسیار خوب پرتو UV-B بر روی افزایش کیفیت، بهبود خواص فیزیکی و افزایش قدرت تشکیل دهندگی ژل و فیلم خوراکی در ماهی های آب گرم و آب سرد نیز به اثبات رسیده است(Otoni et al., 2012). مکانیسم مرگ سلول باکتری توسط پرتو UV به علت تولید موتاسیونهای کشنده‌ای است که در نتیجه اثر پرتو بر روی اسیدهای نوکلئیک سلول ایجاد می‌گردند. قابلیت نفوذ کم پرتو

2. Aerobic Plate Count

ماورای بنفش سبب می‌شود تا استفاده از آن به کاربردهای سطحی محدود گردد. همچنین ممکن است استفاده از آن سبب تسریع تغییرات اکسیداتیو شود که منجر به اسیدی شدن، تغییر رنگ و واکنشهای دیگر می گردد. بنابراین استفاده از پرتوهای یونیزان به علت نفوذ بیشتر و عدم ایجاد این مشکلات ارجحیت دارد. ماهی کپور علفخوار (grass carp) یا آمور *Ctenopharyngodon idella* یکی از گونه های خانواده کپور ماهیان Cyprinidae می باشد که از گونه های غیر بومی و وارداتی به کشور جهت توسعه فعالیتهای شیلاتی و آبزی پروری بوده و بدلیل مرغوبیت گوشت، رشد سریع، تغذیه با علوفه دستی و قرار گیری در سطوح پایین زنجیره غذایی و امکان تکثیر مصنوعی از جمله ماهیان پرورشی صدرنشین محسوب می شود. هزینه مناسب این ماهیان در جذب مصرف کنندگان بی‌تاثیر نمی‌باشد (Das ; Xiong et al., 2009and Tripathi, 1991). لذا در این بررسی به ارزیابی اثر دزهای مختلف پرتودهی (صفر، ۱/۵، ۲/۵ و ۳/۵)کیلوگری به منظور افزایش زمان ماندگاری این ماهیان (تا ۱۴ روز) تحت شرایط یخچالی (۴°C) پرداخته شده است.

مواد و روش کار

تهیه ماهی و آماده سازی نمونه ها

۵۰ عدد ماهی آمور (Grass carp) (*Ctenopharyngodon idella*)) به وزن تقریبی ۱ تا ۱/۵ کیلوگرم به صورت تصادفی از استخرهای گرمابی پرورش ماهیان مزبور در استان تهران صید شد. پس از صید، نمونه‌ها درون ظروف شیشه‌ای مناسب با درب فلزی استریل جمع‌آوری شد و در کنار یخ بلافاصله به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج منتقل شد. به کمک قیچی و چاقوی استریل ۱۲ قطعه ۵۰ گرمی از ماهیان مذکور برش داده شده و سپس در ۴ بسته زیپ کیپ استریل هر یک حاوی ۳ قطعه تقسیم گردیدند. بسته‌ها پس از فویل پیچی به مرکز پرتودهی پژوهشکده کشاورزی هسته ای کرج منتقل شد.

پرتودهی و نگه‌داری نمونه‌ها

دستگاه پرتودهی از نوع گاماسل۳ (PX- 30) ساخت کشور روسیه با حجم ورود با ارتفاع حداکثر ۲۰ سانتیمتر، قطر ۱۲ سانتی‌متر و از نظر ظرفیت دارای میزان دز۴ برابر ۰/۵۵ گری در ثانیه بود (اکتیویته ۳۵۰۰ کوری). در هنگام پرتودهی نمونه‌ها به استثنای گروه شاهد با کبالت ۶۰ در مقادیر ۱/۵ و ۲/۵ و ۳/۵ کیلوگری پرتودهی شدند. پس از پرتودهی نمونه‌ها در کنار یخ قرار گرفته و به آزمایشگاه گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج منتقل شدند. پس از ارجاع نمونه‌ها به آزمایشگاه، ماهی‌ها به صورت ۳ گروه پرتودیده با دزهای ۱/۵ و ۲/۵ و ۳/۵ کیلوگری و یک گروه پرتو ندیده به عنوان شاهد تقسیم شده و تحت شرایط یخچالی، به ترتیب در روزهای ۱، ۷ و ۱۴ روز پس از پرتو تابی جهت سایر مراحل آزمایش (با سه تکرار) مورد استفاده قرار گرفتند.

شمارش کلی باکتریایی

ابتدا در زیر هود بیولوژیک ۲۵ گرم نمونه مخلوط گوشت ماهی از چند ناحیه در زیپ کیپ استریل در استومکر به همراه ۲۲۵ میلی‌لیتر رقیق کننده استریل (آب پپتونه) همگن گردید. از این نمونه‌های همگن رقت‌های سریالی متوالی ۱۰ برابر تهیه شد. از محلول آب پپتونه ۰/۱ درصد استریل به عنوان محلول رقیق کننده استفاده گردید و در لوله‌های آزمایش به حجم ۹ میلی‌لیتر تقسیم شد. برای هر نمونه ماهی ، ۷ لوله رقت (10^{-1} تا 10^{-8}) مورد استفاده قرار گرفت. جهت شمارش باکتریایی از روش کشت سطحی در نوترینت آگار استفاده شد (Welch and Maxcy, 1975). به این ترتیب که جهت انجام کشت میکروبی از محتویات هریک از لوله‌های تهیه رقت، مقدار

۳. Gammacell
۴. dose rate

۰/۱ میلی‌لیتر برداشته و در هر یک از پلیتها ریخته و با پیپت پاستور سرکج استریل کشت به روش سطحی انجام شد. جهت افزایش دقت این عمل به صورت دو بار تکرار انجام شد. پلیتها به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. سپس پلیت‌های استاندارد (حاوی ۳۰۰-۳۰ پرگنه) انتخاب و شمارش شد(Olsen and Bakken, 1987). میانگین پرگنه‌های شمارش شده در دو پلیت برای رقت مربوطه در نظر گرفته شد و حاصل ضرب تعداد باکتری در عکس رقت لوله برداشت شده× عکس حجم برداشت شده به عنوان تعداد باکتری مزوفیل هوازی در هر میلی‌لیتر از نمونه گزارش گردید.

اندازه‌گیری ازت فرار (T.V.N)

این روش توسط دستگاه کلدال سوئدی KEJELTEC از شرکت Fosstecator مدل ۲۳۰۰ انجام گرفت. ۱۰ گرم گوشت ماهی را به همراه ۵۰ میلی لیتر آب مقطر استریل در یک هاون چینی خرد و مخلوط کرده و سپس به همراه ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر ۲ گرم اکسید منیزیم و ۲ قطره ضدکف اکتانول و چند عدد سنگ جوش به بالن تقطیر منتقل گردید. ظرف گیرنده حاوی ۲۵ میلی لیتر اسید بوریک ۲ درصد و چند قطره معرف توشیرول بود. این معرف مخلوط متیل رد و برومو کروزول گرین بوده، که در محیط اسیدی قرمز و در محیط قلیایی آبی می شود. با حرارت دادن بالن نقطیر و جوش آمدن محتویات آن به مدت ۱۰ دقیقه، عمل تقطیر به مدت ۲۵ دقیقه ادامه یافت. همزمان با روشن کردن شعله در زیر بالن کلدال، آب مبّرد بازشد. عمل تقطیر تا زمانی که حجم بشر به ۲۰۰ میلی‌لیتر رسید، ادامه یافت. سپس حرارت و آب هم‌زمان قطع شده، در نهایت محلول تقطیر شده با اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال تیتر گردید تا رنگ قرمز پایدار حاصل گردد. با توجه به اینکه هر سانتی‌متر مکعب اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال معادل ۱/۴ میلی گرم ازت می باشد طبق رابطه زیر مقدار T.V.N بر حسب میلی گرم درصد محاسبه گردید(Castro et al., 2006). برای ۴۰ آزمون یک نمونه شاهد که حاوی ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر، ۲ گرم اکسید منیزیم بود استفاده گردید.

T.V.N = مقدار نرمال ۰/۱ اسید مصرفی/مقدار نمونه وزن ×۱۰۰

تجزیه و تحلیل آماری

آزمون آماری برای میزان شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل و شاخص‌های T.V.N در تیمارهای مختلف (۰، ۱/۵، ۲/۵، ۳/۵ کیلوگری) و در زمان‌های نگهداری (۱، ۷و ۱۴ روز) با احتمال ($p<۰/۰۵$) و ($p<۰/۰۱$) به کمک نرم‌افزار Excel 2007 و نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ ارزیابی شد.

نتایج

شمارش کلی باکتری‌ها

بر اساس نتایج به دست آمده، پرتودهی نمونه‌های ماهی به طور معنی‌داری موجب کاهش میزان بار میکروبی گردید. به عبارت دیگر کاهش میزان بار میکروبی در طی مدت زمان نگه‌داری (روزهای ۱، ۷ و ۱۴) در گروه‌های پرتودیده (دوز ۱/۵، ۲/۵ و ۳/۵ کیلوگری) با گروه پرتوندیده (صفر کیلوگری) تفاوت معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). (جدول ۱). در روز اول نگه‌داری با افزایش دوز پرتودهی نمونه‌های ماهی لگاریتم رشد باکتری‌ها کاهش یافته است (صفر> ۱/۵ > ۲/۵ > ۳/۵). ضمناً بین نمونه‌های پرتودهی شده با دوز KGy ۳/۵ و نمونه‌های پرتوندیده اختلاف میزان باکتری‌ها Log_{10} *CFU/g* ۴/۲۵ می‌باشد ($p<۰/۰۵$). (جدول ۱). در روز هفتم و چهاردهم نگهداری نیز اختلاف میزان باکتری‌ها بین نمونه‌های پرتودیده و پرتوندیده قابل توجه بود. در روز هفتم، بین میانگین لگاریتم میزان باکتری‌ها در نمونه‌های پرتوندیده و پرتودیده با دوز به ترتیب ۲/۵ و ۳/۵ کیلوگری Log_{10} *CFU/g* ۲/۳۸ و۲/۴۶ اختلاف مشاهده شد که از نظر آماری معنی دار نبود. در روز چهاردهم، بین میانگین لگاریتم میزان باکتری‌ها در نمونه‌های پرتوندیده و پرتودیده با دوز به ترتیب ۲/۵ و

۳/۵ کیلوگری Log_{10} *CFU/g* ۳/۰۴ و۳/۲۸اختلاف مشاهده شد که از نظر آماری معنی دار بود. (جدول ۱).

جدول ۱- میانگین تغییرات لگاریتمی شمارش کلي باکتري‌ها بر حسب مقادیر مختلف اشعه (صفر، ۱/۵، ۲/۵ و ۳/۵)KGy در مدت زمان نگه‌داري (روزهای ۱، ۷ و ۱٤) تحت شرایط یخچالی

زمان نگه‌داری (روز)	دز پرتو گاما (کیلوگری)			
	۰	۱/۵	۲/۵	۳/۵
۱	۶/۳۷±۰/۶۳^{d*}	۵/۴۲±۰/۹۵^{c}	۳/۲۰±۰/۶۵^{b}	۲/۱۲±۰/۹۴^{a}
۷	۸/۴۲±۰/۶۱^{c}	۶/۹۵±۰/۵۰^{b}	۶ /۰۴±۰/۶۱^{a}	۵/۹۶±۰/۶۶^{a}
۱۴	۱۰/۱۹±۰/۶۸^{c}	۷/۴۴±۰/۴۵^{b}	۷/۱۵±۰/۴۹^{b}	۶/۹۱±۰/۶۸^{a}

*حروف غیر مشابه دراعداد ردیف نشان دهنده اختلاف آماری می باشد.

ارزیابي T.V.N

کاربرد پرتودهی توانست در مقایسه با گروه کنترل کاهش معناداری در میزان T.V.N ایجاد نماید (p<۰/۰۵). هر چند بین میزان TVN نمونه‌های پرتودیده و پرتوندیده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵). در ضمن بین میزان TVN نمونه‌های پرتودهی شده با دزهای ۱/۵، ۲/۵ و ۳/۵ اختلاف آماری وجود دارد. در روز اول میانگین میزان TVN در نمونه‌های پرتوندیده ۱۲/۴ mg/100g و در نمونه‌های پرتو دیده با دز ۲/۵ و ۳/۵ KGy ، ۶/۳ و۲/ ۵ mg/100g بود (جدول ۲). در روز هفتم میانگین میزان TVN در نمونه‌های پرتو ندیده ۷۴/۲ mg/100g و در نمونه‌های پرتودیده با دوز ۳/۵ KGy برابر با mg/100g ۱۹/۳ می‌باشد. لذا اختلاف بین مقادیر TVN در نمونه‌های پرتوندیده در مقایسه با پرتودیده از نظر آماری قابل توجه می‌باشد (p<۰/۰۵) . در ضمن بین میزان TVN در نمونه‌های پرتودهی شده با دزهای ۱/۵، ۲/۵ و ۳/۵ اختلاف آماری وجود دارد(جدول ۲).در روز چهاردهم مشابه روز هفتم تفاوت معنی‌داری بین میزان TVNدر دو گروه پرتودیده و پرتوندیده مشاهده شد. تغییرات ملوس TVN علاوه بر روزهای ۱ و۷ در نمونه های پرتوندیده، در روز ۱۴ در همه گروه ها بیش ازmg/100g ۳۰ بود، که این میزان افزایش از گروه شاهد خیلی کمتر بود (جدول ۲).

جدول۲- میانگین تغییرات T.V.N (mg/100g) بر حسب مقادیر مختلف اشعه (صفر، ۱/۵، ۲/۵ و ۳/۵KGy) در مدت زمان نگه‌داري (روزهای ۱، ۷ و ۱٤) تحت شرایط یخچالی

زمان نگه‌داری (روز)	دز پرتو گاما (کیلوگری)			
	۰	۱/۵	۲/۵	۳/۵
۱	۱۲/۶۲±۴/۳۱^{d*}	۸/۴۲±۴/۳۶^{c}	۶/۱۳±۳/۳۴^{b}	۵/۶۵±۲/۸۱^{a}
۷	۷۴/۳۸±۲/۰۰^{d}	۲۸/۸۱±۸/۵۱^{c}	۲۰/۳۲±۴/۴۸ ^{b}	۱۹/۲۸±۳/۰۰^{a}
۱۴	۱۸۷/۰۵±۳/۹ ^{d}	۴۵/۱۵±۲/۶۴^{c}	۳۴/۱۴±۹/۶۴^{b}	۳۰/۷۴±۶/۹۰^{a}

*حروف غیر مشابه دراعداد ردیف نشان دهنده اختلاف آماری میباشد.

بحث

فساد آبزیان به خصوص ماهیان پرورشی و کاهش زمان ماندگاری آنها همواره به عنوان یکی از دغدغه‌های محققین و مسئولین ذی‌ربط به شمار می‌رفته است. هدف اصلی افزایش ماندگاری مواد غذایی، کاهش میکروارگانیسم‌های مولد فساد و همچنین پاتوژنهای مسبب بیماری های غذازاد می‌باشد. (Brewer, 2004 ; Thayer and Boyd, 1993). پرتودهی یکی از روش‌های کاهش این آلودگی‌ها و افزایش مدت زمان ماندگاری مواد غذایی می‌باشد (Spoto et al., 2000). تلفیق پرتودهی با حرارت یخچال بیشتر از تاثیر پرتودهی به تنهایی بر روی سلامت غذاست. پرتودهی در مقایسه با کاربرد تیمار شیمیایی، ایجاد اثرات باقیمانده در غذا نمی نماید (WHO, 1999). نشان داده شده است که دز ۱ تا ۱۰ کیلوگری پرتودهی به عنوان یک فرآیند پاستوریزاسیون سرد سبب افزایش ماندگاری، غیر فعال نمودن باکتری های پاتوژن و همچنین بهبود خواص ارگانولپتیک آبزیان می‌گردد. در مطالعاتی که روی پرتودهی انواع اغذیه تازه نظیر میوه و سبزی جات، آبزیان و ماهی و گوشت و طیور صورت گرفته، به دلیل توقف فعالیت آنزیمی موجود در آن‌ها، پرتودهی توانسته منجر به افزایش ماندگاری اغذیه مذکورگردد (Lamuka et al., 1992Diehl, 2002 ; ; Farkas, J(; Woods, 1994Thayer et al., 1997 (1998) در مطالعهٔ خود گوشت قرمز، گوشت مرغ و فراورده‌های تخم مرغ و فراورده‌های دریایی را کاندیداهای اصلی بحث پرتودهی برشمرده و دوز ۲ تا ۷ کیلوگری را جهت کاهش مؤثر پاتوژن‌های مختلف ذکر نموده است (Farkas, 1998).باکتری‌های پاتوژن موجود در ماهی منجمد و فرآورده های آن، نظیر سایر غذاها نسبت به پرتودهی از مقاومت بیشتری برخوردار می باشند. اکثر مطالعات انجام شده بوسیله‌ی کمیته‌ی علمی غذا دلالت بر کاهش پاتوژن های بدون اسپور به میزان ۲ تا ۵ log در ماهی و انواع فراورده‌های ماهی با کاربرد پرتودهی تا دز ۳ کیلوگری می‌باشد. در مطالعه کنونی نیز کاربرد دز ۲/۵تا ۳/۵ توانسته ۲ تا ۴ log بار میکروبی را کاهش دهد.پرتودهی یا پاستوریزاسیون سرد به طور قابل ملاحظه‌ای سبب کاهش مقدار مواد خطرناک و تغییرات کم در خواص حسی و تغذیه‌ای غذا شود (Woods, 1994). عواملی نظیر نوع، تعداد باکتری‌ها و فاکتورهای داخلی و خارجی غذا تاثیر زیادی بر تعیین دز پرتودهی دارد. پرتودهی به عنوان یک روش ایمن و روش فرآوری موثر می‌تواند خطر مسمومیت و عفونت‌های غذازاد را کاهش دهد بدون آن که بر سلامتی افراد تاثیرگذار باشد و کمترین تاثیر را بر روی کیفیت تغذیه‌ای داشته باشد(Thayer et al., 1997Thayer et al., 1995 ; ; Woods, 1994). هدف اولیه از پرتودهی گوشت کاهش تعداد میکروارگانیسم‌های پاتوژن بوده که به میزان دز و سطح آلودگی بستگی دارد. Viena (۱۹۹۳) گزارش نمود که دز بین ۵-۳ کیلوگری سبب غیر فعالسازی باکتری‌های غیر اسپوردار در گوشت قرمز و طیور و ماهی می گردد (Viena, 1993). در مطالعه حاضر نیز تعداد کلی باکتری‌های مزوفیل در طی روزهای ۱، ۷ و ۱۴ نگه‌داری در یخچال افزایش معنی‌داری یافت. پرتودهی توسط هریک از دزهای ۲/۵ و ۳/۵ کیلوگری توانست از نظر آماری به طور قابل توجهی تعداد آن‌ها را کاهش دهد . .مطالعات مشاک و همکاران ۱۳۸۸، که بر روی نگهدار ی گوشت شتر مرغ در شرایط یخچالی طی سی روز نگهداری صورت پذیرفت، نشانگر تاثیر پرتو ۲ کیلو گری در کنترل پاتوژن‌های غذا زاد نظیر سالمونلا، استافیلوکوکوس اورئوس، کلی فرم و اشریشیا کولای بوده و دوز ۴ کیلو گری جهت کاهش رشد باکتری‌های مزوفیل هوازی، در شرایط نگهداری گوشت شترمرغ در یخچال طی ۳۰ روز توصیه شده است (مشاک و همکاران، ۱۳۸۸). همچنین نشان داده شد که تعداد کلی باکتری‌های هوازی با افزایش مقدار اشعه کاهش یافته است. Williams (۲۰۰۳) دریافت که مقادیر باکتری‌های موجود در گوشت‌های چرخ

کرده و نپخته گاو و مرغ پوست کنده پرتودهی شده به مراتب بسیار کمتر از مشابه پرتودهی نشده می‌باشد(Williams, 2003). طی تحقیقات متعدد نشان داده شده که پرتودهی با دز ۱، ۲و۳ کیلوگری به ترتیب سبب کاهش ۲، ۳ و۴ Log باکتری مزوفیل هوازی در گوشت گاو شده است. کمیته علمی غذا، پرتودهی ماهی و آبزیان را تا دز ۳ کیلو گری توصیه نموده است (Brewer, ; ; Elias and Cohen, 1983; Diehl, 20022004 Hanis et al., 1989). پرتودهی این مواد غذایی سبب افزایش ماندگاری، کاهش پاتوژن ها و غیر فعال شدن انگل‌ها و جلوگیری از فساد در انواع ماهیان خشک و دودی و در نتیجه هجوم حشرات می گردد (Radomyski et al., 1994). در مطالعه ای که بر روی ماهی کفال طلایی *Liza aurata* که از جمله ماهیان با ارزش غذایی و اقتصادی دریای خزر است و در استانهای شمالی ایران به مقدار زیاد صید می شودو همچنین همانند سایر ماهیان در برابر عوامل فساد، به ویژه فساد باکتریایی، آسیب پذیر است ، صورت پذیرفت ، کارایی تکنیک پرتودهی با اشعهٔ گاما، به منزلهٔ یکی از روشهای غیر حرارتی فرآوری آبزیان، در کاهش بار باکتریایی و افزایش مدت ماندگاری فیلهٔ ماهی کفال طلایی طی ۳۵ روز نگهداری در یخچال 4° Cبررسی شد. نمونه ها با دُزهای مختلف اشعهٔ گاما با دُزهای ۰ ، ۱، ۲، ۳، و ۵ کیلوگریپرتودهی شدند و سپس، طی ۳۵ روز نگهداری در یخچال و روز مورد آزمایش های میکروبی (شامل اندازه گیری بار باکتریایی کل، سودوموناس ها، باکتری های تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک، باکتریهای تولیدکنندهٔ گاز H2S ، و انتروباکتریاسه) قرار گرفتند. نتایج آنالیز عوامل میکروبی گوناگون نشان داد که فیلهٔ ماهی کفال طلایی بدون مواجهه با اشعهٔ گاما به مدت ۱۰ روز قابلیت مصرف دارد، اما زمانی که در معرض اشعهٔ گاما قرار گیرد، قابلیت ماندگاری آن برای مصرف کنندگان افزایش می یابد که میزان آن به شدت دُز به کار رفته بستگی دارد. نتایج نشان داد که از بین دُزهای مورد استفاده دُز ۳ کیلوگری برای کاهش بار باکتریایی و افزایش مدت نگهداری فیلهٔ ماهی کفال طلایی در دمای یخچال بهترین نتیجه را به دنبال داشته است و بنابراین، استفاده از آن برای حصول به منظور فوق در فیلهٔ ماهی کفال طلایی در شرایط یخچال پیشنهاد شد (حسینی و همکاران، ۱۳۹۲) که این با نتایج حاصله در این بررسی مشابه می باشد. نتایج بررسیها نشان میدهد که افزایش دز پرتو UV-C از ۱۰ به ۱۰۰ در مورد گونه های سالمونلا، گونه های انتروکوکوس و اشریشیا کلی و از ۱۰۰ به ۵۰۰۰ در مورد کلستریدیوم اسپوروژنز، هم ماهی کاد و هم در ماهی آزاد می تواند سبب کاهش تعداد و در برخی مواقع به صفر رساندن بار آلودگی میکروبی شود. نام بردگان استفاده از این پرتو را به منظور کاهش بار میکروبی ماهیان مقرون به صرفه معرفی کردند. تاثیرات بسیار خوب پرتو UV-B بر روی افزایش کیفیت، بهبود خواص فیزیکی و افزایش قدرت تشکیل دهندگی ژل و فیلم خوراکی در ماهی های آب گرم و آب سرد نیز به اثبات رسیده است(Otoni et al., 2012). همچنین جهت دستیابی به رهیافت HACCP در گوشت قرمز، طیور و آبزیان نشان داده شده که پرتودهی به میزان ۱ تا ۳ کیلوگری سبب کاهش قابل توجه بسیاری از پاتوژن‌های غذازاد نظیر سالمونلا، توکسوپلاسما، کریپتوسپوریدیوم، لیستریا و اشریشیا کلی گردیده است (; Molins et al., 2001Irwin, 1996)، سازمان بهداشت جهانی .(WHO) (۱۹۹۷) دز پرتو تا KGy ۱۰ را برای کاهش باکتری‌هایی نظیر سالمونلا، یرسینیا، انتروکولیتیکا و اشریشیا کلی مناسب عنوان کرده است (WHO, 1997). بر طبق مطالعهٔ جوانمرد و همکاران (۱۳۸۴) دوز ۵ کیلوگری به همراه انجماد در ۱۸- توانست پاتوژن‌های موجود در گوشت مرغ را مهار نموده و مدت ماندگاری را در طی ۹ ماه در حالت انجماد بدون تغییرات شیمیایی و ارگانولپتیکی حفظ نماید. همچنین میزان TVN با افزایش دوز پرتودهی دچار کاهش شده بود و

تعداد کل باکتری‌ها (Total count) در گروه کنترل در مقایسه با گروه تیمار، کاهش قابل توجهی را در طی ۹ ماه انجماد نشان داد (جوانمرد، ۱۳۸۴.، Javanmard et al., 2006). در مطالعه Badr (2004) از دزهای ۰و۱/۵و۳ کیلوگری برای پرتودهی بر روی گوشت خرگوش نگهداری شده در دمای یخچال در طی ۱۲ تا ۲۱ روز استفاده شده و نتیجه گرفته شد که دز ۱/۵ و ۳ کیلوگری در مقایسه با دز (کنترل) سبب کاهش باکتری های مزوفیل در گوشت خرگوش در طی نگهداری در یخچال طی ۱۲ تا ۲۱ روز شده است (Badr, 2004). در مطالعه حاضر ضمن این که پرتودهی تاثیر معنی‌داری درکاهش تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی داشته است و این اختلاف آماری در بین گروه کنترل با گروه‌های پرتودیده ۲/۵ و ۳/۵ کیلوگری مشهود بود، لذا به نظر می‌رسد دز ۳/۵ کیلوگری در کاهش تعداد باکتری‌ها به طور معنی‌داری موثرتر باشد. در مطالعه حاضر با توجه به حد استاندارد تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی در ماهی Log_{10} *CFU/g* ۷ جهت مصرف، کاربرد پرتودهی با دوز۳/۵ کیلوگری توصیه می‌گردد (کنترل و نظارت بهداشتی فرآورده‌های خام دامی، ۱۳۸۸). افزایش آمونیاک، تری متیل آمین و همچنین مقدار کمی از دی متیل آمین در ماهی‌های فاسد جزء اصلی TVN به شمار می روند (Castro et al., 2006). TVN به عنوان شاخص های کیفی جهت تضمین سلامت فراورده ماهی بکار برده می شود، و میکروارگانیسم های مختلف این شاخص ها را به میزان های مختلفی تولید می‌کنند، به طوری که Gram (۱۹۸۹) و Surette و همکاران (۱۹۹۰) گزارش نمودند که باکتری‌هایی نظیر پروتئوس، شوانلا، پوتریفاشین و دیگر انتروباکتریاسه‌ها می توانند اینوزین را به هیپوزانتین(HX) تبدیل کنند (Roberts et al., 1965Castro et al., 2006;). لذا افزایش HX، استیک اسید، تری متیل آمین(TMA) و TVN با فعالیت و رشد میکروارگانیسم ها در ارتباط می باشد. تحقیقات مختلف نشان دهنده آن است که افزایش درجه حرارت نگهداری سبب افزایش TVN گردیده است و بطوریکه در مطالعه Dondero و همکاران (۲۰۰۴) میزان TVN طی روز هفتم نگهداری و تحت درجه حرارت های ۰، ۲، ۴، ۶، ۸ درجه سانتیگراد به ترتیب ۲۹/۹، ۳۰، ۲۹/۸، ۲۹/۳، ۳۱/۸ برآورد گردیده است (Dondero et al., 2004). سلامتی و میزان تاثیر پرتودهی به عنوان یک فرآیند در چرخه تولید مواد غذایی به طور واضح و روشن مشخص گردیده و روز به روز بر میزان علاقه‌مندی نسبت به به کارگیری این فن آوری در صنایع غذایی در جهان افزوده می‌شود. در واقع پرتودهی به عنوان یک لایه اضافی در تضمین سلامتی بسیاری از فرآورده‌های غذایی از جمله گوشت طیور، گوشت قرمز و مخصوصاً اغذیه دریایی که در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا حساس می‌باشند، عمل می‌نماید. در بررسی کنونی میزان T.V.N در گروه کنترل نمونه‌های گوشت ماهی نگه‌داری شده در یخچال در طی روزهای (۱، ۷، ۱۴) افزایش یافت بطوریکه اختلاف آماری بین روزهای ۷و ۱۴ بطور جداگانه با روز ۱ معنی‌دار بود. پرتودهی با تمامی دوزهای ۱/۵، ۲/۵ و ۳/۵ KGy در مقایسه با گروه کنترل سبب کاهش آماری معنی‌دار در T.V.N گردیده است. در نمونه‌های پرتودهی شده با دوزهای صفر، ۱/۵ ، ۲/۵ و ۳/۵ KGy در روز ۱۴ تحت شرایط یخچالی میزان TVN بیش از حد استاندارد (۳۰ mg/100g) بود. بنابراین با توجه به اطلاعات به دست آمده از تحقیق فوق و حد مجاز استاندارد میکروبی و مواد ازته فرار در گوشت ماهی (سازمان دامپزشکی کشور، ۱۳۸۸)، می‌توان چنین نتیجه گرفت که با استفاده از پرتودهی با دوز ۳/۵ KGy، گوشت ماهی کپور را در شرایط یخچالی تا هفت روز (از نظر دز و زمان نگهداری در شرایط یخچالی) بدون تغییر در استاندارد های لازم نگهداری کرد که استفاده از این دوز (۳/۵ کیلوگری) و زمان (هفت روز) برای سطح تجاری نیز توصیه می‌گردد. لذا می‌توان با پرتو دهی با دز ۳/۵ کیلوگری تحت شرایط یخچالی و به مدت هفت روز، به

همراه کاربرد GHP[۵] (تمارین بهداشتی خوب) و GMP[۶] (تمارین خوب تولیدی) و از طریق حفظ زنجیره سرما در همه مراحل از صید تا مصرف، پاکسازی و ضدعفونی کردن تجهیزات و وسایل و ساختمان و بهداشت پرسنل و ... به عرضه محصول سالم و ایمن ماهی کپور علفخوار تازه پرتودهی داده شده نه تنها در بازار داخلی بلکه در بازارهای جهانی اقدام نمود.

منابع

۱. حسینی، سید ولی.، طاهری. علی و اوجی فرد، امین (۱۳۹۲). بررسی تأثیر پرتودهی با پرتو گاما بر بار میکروبی فیلهٔ ماهی کفال طلایی (*Liza aurata*) طی دورهٔ نگهداری در یخچال، مجله شیلات شماره ۶۶، صفحه ۲۷-۳۹.

۲. جوانمرد، مجید. (۱۳۸۴). بررسی اثرات پرتوهای گاما و انجماد بر روی کیفیت میکروبی، شیمیایی، ارگانولپتیک و افزایش مدت زمان ماندگاری گوشت شترمرغ، پایان نامه دکترای تخصصی، صفحه، ۴۹.

۳. سازمان دامپزشکی کشور، دفتر نظارت بر بهداشت عمومی. (۱۳۸۸). دستورالعمل اجرایی کنترل و نظارت بهداشتی فراورده های خام دامی. صفحه ۷۴-۵۹.

۴. مرتضوی، علی.، معتمدزادگان، علی.، اعلمی، مهران.، نایب زاده، کوشان. (۱۳۷۶). میکروبیولوژی غذایی مدرن، چاپ اول، جلد ۲، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، صفحه ۹۰-۸۷.

۵. مشاک، زهره.، رادمهر، بهراد.، شاه حسینی، غلامرضا.، سجادی، سینا. (۱۳۸۸). بررسی تأثیر پرتو دهی برروی بار میکروبی گوشت شترمرغ در طی نگهداری در یخچال، مجله علوم پزشکی ایران. سال ششم، شماره ۳، صفحه ۷۸۳-۷۸۸.

۵ . Good health practice
۶ . Good manufacture practice

The effect of gamma rays on shelf life of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fillet in the refrigerator condition

Shahhoseini Gh[1], Mashak Z[1] *

1. Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran.

2. Department of Food Hygiene, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

***Corresponding Author:** *Mashak@kiau.ac.ir*

Received: 13 Aug 2016 Accepted : 9 Feb 2017

Abstract

Various ways to increase the duration used for food storage, among whom radiation can be used as an effective way to retard spoilage in food in particular is concerned with the origin of the fish. In this study 50 grass carp (Grass carp) (*Ctenopharyngodon idella*) (mean weight 1-1.5 kg) for gamma irradiation with cobalt-60 source by doses of zero, 1.5, 2.5 and 3.5 kGy chosen and then change microbial load and total volatile nitrogen in the days 1, 7 and 14 were evaluated under the conditions of storage in refrigerator. These research results demonstrate the significant decline in aerobic mesophilic bacteria and T.V.N in the irradiated samples in comparison with non-irradiated samples. In this study, given that the dose of 3.5 kGy dose caused a significant decrease in comparison with other (standard range) T.V.N values and aerobic mesophilic bacteria was in the refrigerator until the seventh day. Therefore, in Grass carp using it (3.5kGy) as the best dose to prevent corruption is recommended in seventh days.

Keywords: Gamma Rays, Grass Carp, Refrigerator Condition, TVN, Total Bacterial Count.