پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال نوزدهم، شماره ۵، پی در پی ۱۰۱، صفحات ۲۷۳ تا ۲۸۰
آذر و دی ۱۳۹۳

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۲/۲۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۷/۲۰

بررسی جمعیت باکتری‌های سس ماهی ایرانی (مهیاوه)

دکتر علی طاهری[*1]، سمیرا جلالی‌نژاد[2]، دکتر سید ولی حسینی[3]، آذین احمدی[4]، فاطمه ناصری[5]*

۱. استادیار گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
۲. دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۳. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
۴. دانشجوی شیلات، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
۵. کارشناس ارشد آزمایشگاه، اداره دامپزشکی چابهار، چابهار، ایران

چکیده

سابقه و هدف: مهیاوه یک محصول سنتی ایران است که به واسطه‌ی فرآیند تخمیر تهیه می‌شود. با توجه به احتمال رشد میکروارگانیسم‌ها در حین تخمیر، اطمینان از ایمنی این چاشنی غذایی ایرانی، بسیار حایز اهمیت است.

مواد و روش‌ها: مهیاوه از ماهی هشینه تهیه شد و تعداد باکتری کل، باکتری‌های هالوفیل، قارچ و مخمر هالوفیلیک و باسیلوس‌ها و لاکتوباسیل‌ها بررسی شدند. کلنی‌های خالص، مورد آزمون‌های رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، اکسیداز، تخمیر کربوهیدرات، فسفات، کوآگولاز، کاهش نیترات، تخمیر قند، تولید اسید، گاز دی‌اکسیدکربن، تجزیه‌ی سیترات و مورفولوژی قرار گرفتند.

یافته‌ها: تعداد باکتری‌های کل در هفته‌ی اول تولید $۸/۷\times۱۰^{۲}$ واحد تشکیل کلنی در گرم بود که پس از ۲ ماه به $۷/۲\times۱۰^{۲}$ واحد رسید. جمعیت باکتری باسیلوس سابتیلیس و باسیلوس لیچنی فورمیس، اختلاف معنی‌داری با سایر باسیلوس‌ها داشت ($P<۰/۰۵$). لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس آلیمنتاریا، ۵۹/۹٪ کل جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک را تشکیل می‌دادند. جمعیت باکتری‌های میکروکوکوس و استافیلوکوکوس، ۷۰٪ جمعیت را تشکیل می‌داد. میکروکوکوس لوتئوس، اختلاف معنی‌داری با سایر گونه‌های میکروکوکوس داشت ($P<۰/۰۵$). گونه‌ی استافیلوکوکوس لنتوس، بالاترین جمعیت این جنس را داشت که اختلاف معنی‌داری با سایر جنس‌ها داشت ($P<۰/۰۵$). در جمعیت مخمر، جنس‌های کاندیدا، ساکارومایکوپسیس، پیچیا و موکور، شناسایی شدند. ساکارومایکوپسیس و کاندیدا، بالاترین جمعیت را داشتند.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه، غیر از باسیلوس سرئوس، عامل پاتوژن و باکتری بیماری‌زایی که نگرانی ایجاد کند، مشاهده نشد. بنابراین شاید بتوان گفت مهیاوه از نظر میکروبی ایمن بوده و مشکلی برای استفاده ندارد. ولی، از آنجا که برخی باکتری‌های یافت شده در سس ماهی ایرانی، توانایی دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه و تولید آمین‌های بیوژن را دارند، پیشنهاد می‌گردد مطالعات جامع‌تری روی این محصول انجام شود تا میزان ایمنی آن با اطمینان بیشتری بیان گردد.

واژگان کلیدی: مهیاوه، باکتری‌های نمک دوست، استافیلوکوکوس، میکروکوکوس، باسیلوس

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:
Taheri A, Jalalinezhad S, Hosseini SV, Ahmadi A, Nasery F. Analysis of bacterial community in Mahyaveh, an Iranian traditional fish sauce. Pejouhandeh 2014;19(5):273-280.

مقدمه

امروزه ماهی به عنوان منبع خوب پروتئین از لحاظ کیفیت، عرضه و هزینه می‌باشد. ماهی تازه، تمایل به فساد سریع دارد و به همین دلیل، روش‌های مختلفی برای افزایش زمان ماندگاری آن به کار گرفته می‌شود. در مناطق گرمسیری، به دلیل محدودیت یخ و فقدان یخچال در بسیاری از مناطق، دسترسی به ماهی تازه یک مشکل اساسی است (۱). همچنین، مصرف‌کنندگان در کشورهای در حال توسعه، به ماهی فرآوری شده، علاقه‌ی بیشتری دارند. به همین دلیل، ماهی تخمیری هم به عنوان یک عامل طعم دهنده و هم به عنوان منبع پروتئین، مصرف می‌شود. غذای تخمیری، محصولی قابل خوردن است که توسط عملکرد میکروارگانیسم‌ها به شکل طبیعی یا با افزودن کشت خالص یا ترکیبی

*نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر علی طاهری؛ گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، صندوق پستی ۵۶۴۹۹-۹۹۷۱۷؛
پست الکترونیک: Taheri@cmu.ac.ir

میکروارگانیسم‌ها، تولید می‌شود (۲).

سس ماهی، محصول تخمیری مشهوری است که در جنوب شرق آسیا مصرف می‌شود. نوشته‌های قدیمی نشان می‌دهد که سس ماهی، یک محصول غذایی رایج با بیش از ۲۰۰۰ سال قدمت در اروپای جنوبی بوده است (۳). برای تولید آن، معمولاً ماهی کامل نمک‌زده همراه با محتویات شکمی استفاده می‌شود و آبکافت پروتئین‌ها نقش اصلی را در تولید خواص حسی مطلوب، ایفا می‌کند. به عنوان مثال از این محصولات، می‌توان به نوک-مام در ویتنام، مام-پلا در تایلند، پاتیس در فیلیپین، یولو در چین، باکاسانگ در اندونزی، لانوئین در توگو و غنا، مومونی در غنا و فسیخ در مصر اشاره کرد (۴). تولید سالانه‌ی برخی از انواع آن در جنوب شرقی آسیا، حدود ۲۵۰ هزار تن است (۳).

در تولید غذاهای تخمیری، ماتریکس اولیه‌ی غذا، شرایط زیستی و غیر زیستی را فراهم می‌کند که برای رشد جوامع میکروبی ویژه، مفید است (۵). یکی از فاکتورهای کلیدی که استفاده از ماهی را محدود می‌کند، فسادهای میکروبی و اتولیتیک در طول فرآوری و نگهداری است (۶). به همین جهت، بررسی جمعیت باکتریایی محصول تخمیری و پی‌بردن به احتمال حضور باکتری‌های تولیدکننده‌ی مسمویت‌های غذایی از جنبه‌ی تضمین کیفیت و سلامت ماده‌ی غذایی، بسیار حایز اهمیت است.

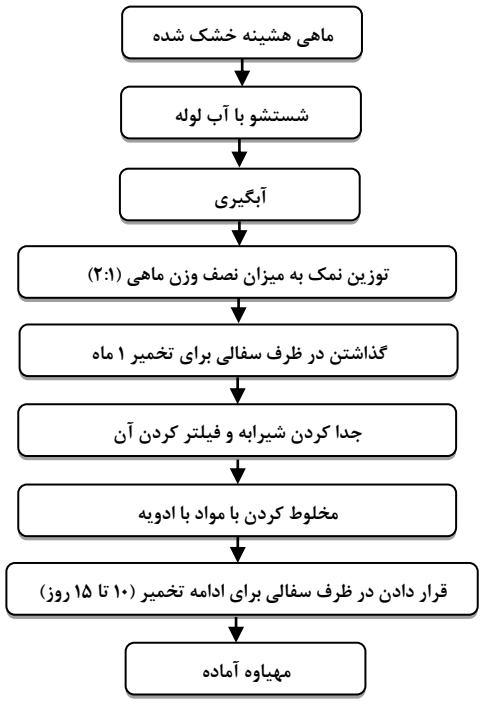
در ایران نیز نوعی سس ماهی محلی تولید می‌شود که "مهیاوه"، "ماوه" یا "مهوه" نامیده می‌شود. مهیاوه از اقسام خوردنی‌های منطقه‌ی جنوب ایران و هرمزگان می‌باشد. مهیاوه عموماً از ماهی ساردین یا آنچووی، نمک، خردل و آب تهیه می‌شود. بنا به اظهارات مردم منطقه‌ی جنوب، خوردن مهوه که دارای خردل هم هست، از ابتلا به بیماری پوستی پیسی جلوگیری می‌کند. چنین محصولی در دنیا شناخته شده نیست و جا دارد تا با بررسی‌های علمی و اقدامات صنعتی، چنین محصولاتی به دنیا معرفی گردند (۳).

به دلیل غلظت بالای نمک در محصولات تخمیری ماهی، رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا کنترل شده و سس ماهی، طعم و بوی قابل قبولی پیدا می‌کند (۷). با این حال، میکروارگانیسم‌های نمک دوست می‌توانند در سس ماهی نیز رشد نمایند. در این خصوص، مطالعات زیادی روی محصولات دریایی تخمیری و شناسایی فلور باکتری‌های آن انجام گرفته است. اما تحقیق روی مهیاوه، فقط به یک مطالعه توسط زارعی و همکاران (۲۰۱۲) محدود می‌گردد که قسمتی از آن کار، بررسی اندک روی جمعیت باکتریایی مهیاوه بوده است (۴).

کنترل کیفیت سس ماهی که به روش‌های سنتی تولید می‌شود، دشوار است ولی به هر حال، باید ایمنی مصرف چنین محصولاتی مورد بررسی و تأیید قرار گیرد (۳). لذا در این تحقیق، به بررسی فلور باکتریایی سس ماهی ایرانی یا مهیاوه پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه‌ی توصیفی، در اواخر شهریور ماه سال ۱۳۹۱، پس از خریداری ۲ کیلوگرم ماهی هشینه‌ی خشک شده (Sardinella sp.)، مهیاوه طبق نمودار یک، در ۳ تکرار، تولید و آزمایشات میکروبی در دو نوبت روی آن انجام شد. برای این منظور، ۱۰ گرم ماده‌ی اولیه در استوماکر استریل وارد شد و ۲ دقیقه در ۹۰ میلی‌لیتر آب پپتونه ۰/۱ درصد استریل قرار گرفت که حاوی ۰/۸ درصد کلرید سدیم با pH=۷/۲ بود. یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون، به صورت سریالی رقیق شد و برای شناسایی میکروارگانیسم‌ها، مورد استفاده قرار گرفت. باکتری‌های مزوفیل هوازی، میکروکوکوسه، باسیلوس و انتروباکتریاسه، به ترتیب با پلیت کانت آگار (Plate count agar- PCA)، مانیتول سالت آگار (Mannitol salt agar- MSA)، دکستروز تریپتون آگار (Dextrose tryptone agar) و ویولت رد بیل‌گلوکز آگار



نمودار ۱. مراحل تولید سس ماهی ایرانی (مهیاوه).

(Violet red bile glucose agar)، کشت داده شد. برای کشت مخمر، از مالت اکسترکت آگار (Malt Extract Agar) استفاده شد که حاوی ۲ میلی‌لیتر اسید لاکتیک استریل ۱۰٪ در ۱۰۰ میلی‌لیتر بود و ۵ روز در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد. پلیت‌های PCA و MSA در دمای ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۷۲ و ۴۸ ساعت قرار داده شدند. پلیت‌های انتروباکتریاسه و باسیلوس، به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۴۸ ساعت در ۳۵ درجه‌ی سانتیتگراد انکوبه شدند. قارچ در پوتاتو دکستروز آگار (Potato dextrose agar) به مدت ۴ روز در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد کشت داده و انکوبه شد. محیط‌های کشت بالا، به همراه ۲ و ۸/۵ گرم نمک نیز تهیه شدند و مورد بررسی قرار گرفتند (۸). در ادامه، کلنی‌های برجسته از پلیت‌ها جدا شدند و تا دستیابی به کلنی خالص، روی نوترینت آگار به صورت متناوب، کشت شدند. روی کلنی‌های خالص، تست‌های تشخیصی افتراقی انجام شد. کلنی‌های خالص به‌دست آمده در هر پلیت، مورد آزمون‌های رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز، اکسیداز، تست‌های بیوشیمیایی و مورفولوژی در زیر میکروسکوپ، قرار گرفتند.

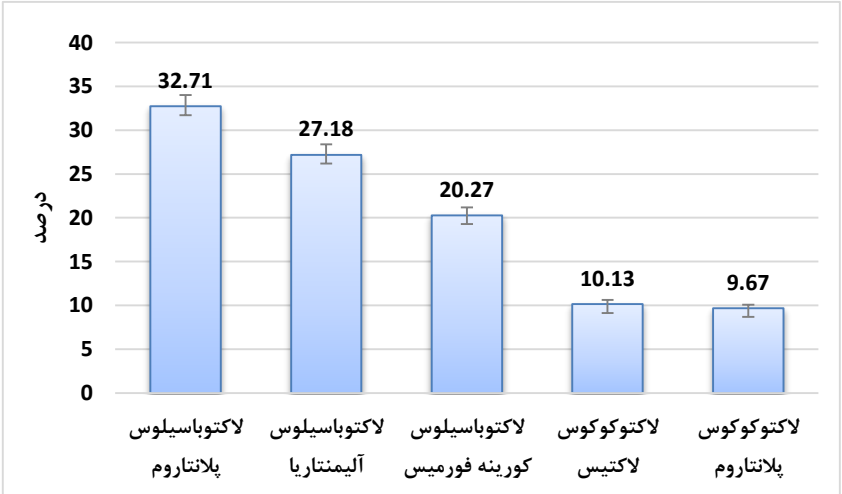
باسیلوس‌ها، از تست اولیه توسط مقایسه‌ی کلنی و شکل سلولی، تولید کاتالاز و واکنش گرم، شناسایی شدند. سایر ایزوله‌ها، بر حسب کلیدهای شناسایی در حد جنس، شناسایی شدند (۱۱-۹). تست تولید اکسیداز، رشد هوازی و بی‌هوازی، تولید اسید از گلوکز و واکنش اکسیداسیون/ تخمیر نیز انجام شد. باسیلوس‌ها در حد گونه شناسایی شدند (۱۲). از تست تخمیر کربوهیدرات نیز استفاده شد. میکروکوکوس‌ها در حد گونه شناسایی شدند (۱۴،۱۳). تست فسفات و کوآگولاز، کاهش نیترات، تخمیر قند و تولید اسید نیز بررسی شدند.

تست تولید گاز دی‌اکسیدکربن از قند گلوکز و تجزیه‌ی سیترات نیز به عنوان آزمون تأییدی، انجام شدند. جهت بررسی اختلافات معنی‌دار، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و به منظور مقایسه‌ی میانگین‌ها، از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد. برای انجام آزمون‌های آماری، از نرم افزار Graphpad-Prism 7 استفاده شد.

یافته‌ها

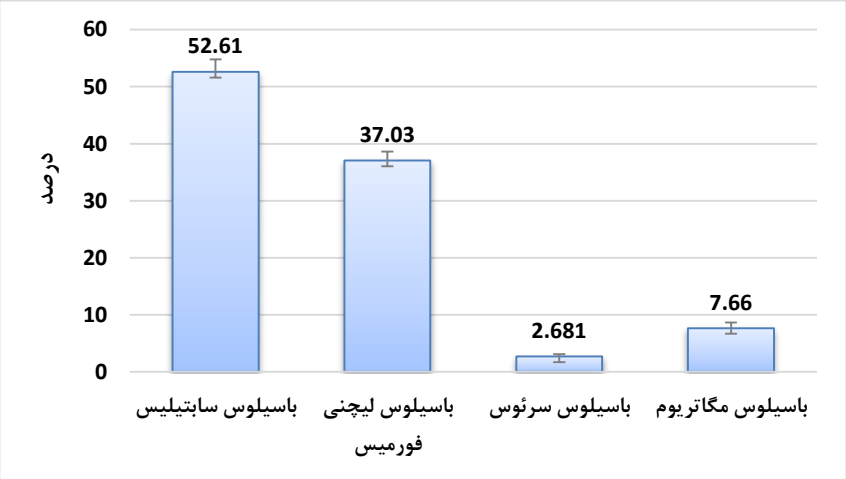
تعداد باکتری‌های هوازی کل در هفته‌ی اول تولید مهیاوه، به میزان $۸/۷\times۱۰^{۲}$ واحد تشکیل کلنی در گرم بود که پس از ۲ ماه، به $۷/۲\times۱۰^{۲}$ واحد تشکیل کلنی در گرم رسید. در انتهای تولید و مرحله‌ی رسیدن سس مهیاوه، میکروکوکوس و استافیلوکوکوس، با ۷۰٪ ترکیب جمعیتی کل باکتری‌های غالب بودند.

در این مطالعه، باکتری‌های میکروکوکوس لوتئوس، میکروکوکوس فلاووس، استافیلوکوکوس لنتوس، استافیلوکوکوس زایلوسوس، باسیلوس سابتیلیس، باسیلوس سرئوس، باسیلوس مگاتریوم، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس آلیمنتاریا، لاکتوباسیلوس کورینه فورمیس، لاکتوکوکوس لاکتیس، لاکتوکوکوس پلانتاروم و قارچ و مخمر جنس‌های کاندیدا، ساکارومایکوپسیس، پیچیا و موکور، شناسایی شدند. جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک عبارت بودند از لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس آلیمنتاریا، لاکتوباسیلوس کورینه‌فورمیس، لاکتوکوکوس لاکتیس و لاکتوکوکوس پلانتاروم. لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس آلیمنتاریا، ۵۹/۹٪ از کل جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک را تشکیل می‌دادند (نمودار ۲).

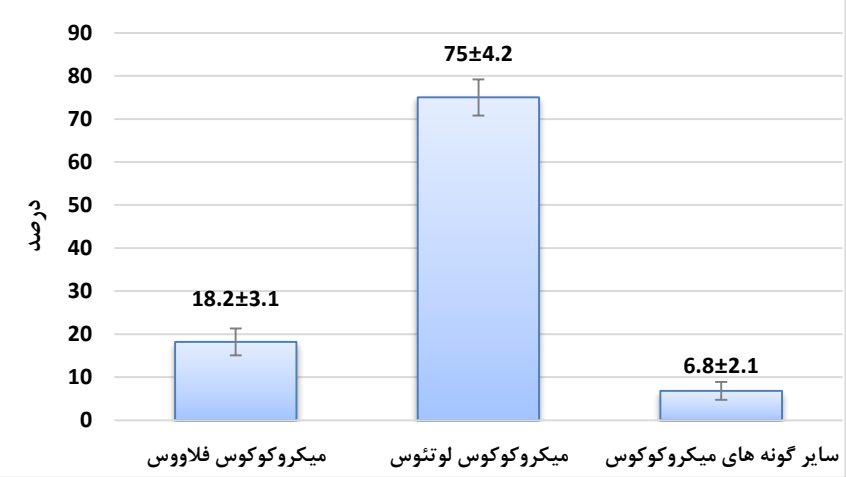


نمودار ۲. ترکیب جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک در سس ماهی ایرانی (مهیاوه).

جمعیت باکتری‌های باسیلوس سابتیلیس و باسیلوس لیچنی‌فورمیس، اختلاف معنی‌داری با سایر باسیلوس‌ها داشتند و ۸۹/۴٪ جمعیت باسیلوس‌ها را به خود اختصاص دادند (P<۰/۰۵، نمودار ۳). از سایر گونهای های شناسایی شده، باید به باسیلوس سرئوس و باسیلوس مگاتریوم اشاره کرد. جمعیت باکتری‌های میکروکوکوس و استافیلوکوکوس، بالاترین میزان ترکیب جمعیتی کل باکتری‌ها معادل ۷۰٪ را به خود اختصاص دادند. در این مطالعه، باکتری‌های میکروکوکوس لوتئوس، میکروکوکوس فلاووس، استافیلوکوکوس لنتوس و استافیلوکوکوس زایلوسوس شناسایی شدند. میکروکوکوس لوتئوس، اختلاف معنی‌داری با میکروکوکوس فلاووس داشت (P<۰/۰۵)، ولی بین میکروکوکوس فلاووس و سایر گونه‌های میکروکوکوس، اختلافی مشاهده نشد (P<۰/۰۵، نمودار ۴).



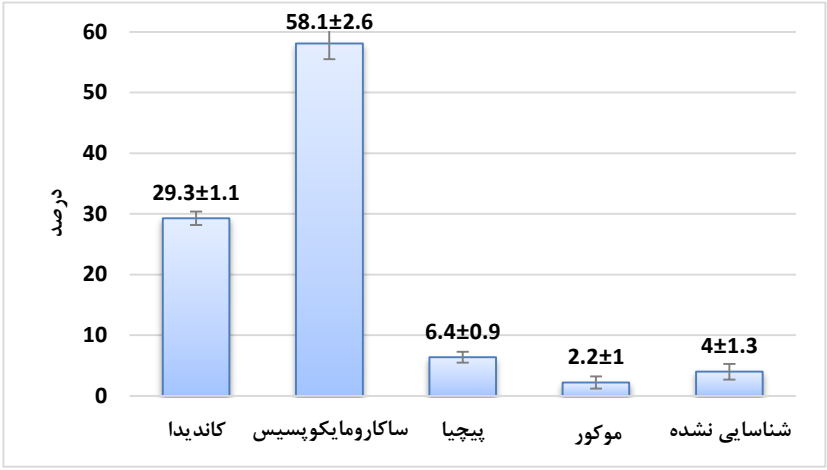
نمودار ۳. ترکیب جمعیت باکتری‌های باسیلوس در سس ماهی ایرانی (مهیاوه).



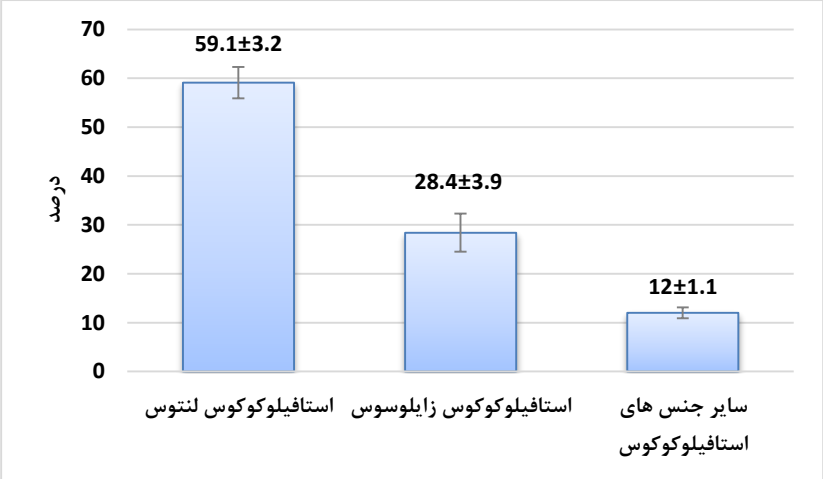
نمودار ۴. ترکیب جمعیتی جنس میکروکوکوس در سس ماهی ایرانی (مهیاوه).

در جمعیت باکتری‌های استافیلوکوکوس، گونه‌ی استافیلوکوکوس لنتوس، بالاترین جمعیت این جنس را به خود اختصاص داد که اختلاف معنی‌داری با سایر جنس‌ها داشت (P<۰/۰۵). پس از استافیلوکوکوس لنتوس، دومین ترکیب جمعیتی در این جنس، به استافیلوکوکوس زایلوس تعلق داشت که با سایر گونه‌ها، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری از خود نشان داد (P<۰/۰۵، نمودار ۵).

در بین جمعیت مخمرها، جنس‌های کاندیدا، ساکارومایکوپسیس، پیچیا و موکور شناسایی گردید. از بین این مخمرها، دو جنس ساکارومایکوپسیس و کاندیدا، بالاترین جمعیت را به خود اختصاص دادند. همچنین، دو جنس پیچیا و موکور نیز در مجموع، ۸/۶٪ جمعیت مخمرها را تشکیل دادند. لازم به ذکر است که حدود ۴٪ از جمعیت مخمرها، شناسایی نشد (نمودار ۶).



نمودار ۵. ترکیب جمعیتی جنس استافیلوکوکوس در سس ماهی ایرانی (مهیاوه).



نمودار ۶. ترکیب جمعیتی مخمرهای شناسایی شده در سس ماهی ایرانی (مهیاوه).

بحث

مطالعه‌ی حاضر، به بررسی جمعیت باکتری‌های سس ماهی ایرانی (مهیاوه) پرداخته است. در این مطالعه، باکتری‌های اسید لاکتیک، میکروکوکوس و استافیلوکوکوس، به همراه ۴ جنس از مخمرها، شناسایی شدند. عمده‌ی جمعیت باکتری‌ها در زمان رسیدن محصول، باکتری‌های میکروکوکوس و استافیلوکوکوس با ۷۰٪ ترکیب جمعیتی بود.

افزایش هوازی مزوفیل در روزهای ابتدایی آزمایش ممکن است به دلیل آغاز فساد اتولیتیک و باکتریایی و یا به دلیل حضور باکتری‌های موجود در نمک باشد. مهیاوه دارای غلظت بالای نمک بوده و سطح بالای نمک ممکن است، تأثیر زیادی بر رشد میکروبی و میزان تخمیر مهیاوه داشته و در نتیجه موجب کیفیت و ایمنی محصول شود (۴). بسیاری از باکتری‌های غیر نمک دوست در مراحل اولیه‌ی تخمیر حضور دارند، ولی از آن جا که در این سس، با غلظت بالای نمک مواجه هستیم، این باکتری‌ها قدرت رشد خود را از دست داده و در مراحل بعدی تخمیر، جای خود را به باکتری‌های نمک‌دوست و مقاوم به نمک می‌دهند (۱۵).

Hamm و Clague، تحقیقاتی روی فلور میکروبی سس ماهی در مراحل مختلف تخمیر ماهی در فیلیپین انجام دادند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در هر گرم از ماهی تازه، تعداد $۶/۵\times۱۰^{۶}$ باکتری وجود دارد. این در حالی بود که بلافاصله بعد از اضافه نمودن ۱۸ تا ۲۰ درصد نمک، تعداد باکتری‌ها به ۲/۹ رسید که در ادامه و پس از سه هفته، تعداد باکتری‌ها ثابت ماند و به ۳/۲ در گرم رسید. در مطالعه‌ی Hamm و Clague مشخص گردید که باکتری‌های فاسدکننده در ماهی، به دلیل درصد بالای نمک در محیط سس، از بین رفته و فقط باکتری‌های نمک دوست در محیط

باقی مانده‌اند (۱۶).

تعداد و تراکم کم باکتری‌های جدا شده در مطالعه‌ی حاضر ممکن است به علت غلظت بالای نمک در این محصول و تأثیر نمک روی رشد باکتری‌ها باشد. در مطالعه‌ی Orejana و Liston نیز تعداد کل باکتری‌های زنده در طول تخمیر سس ماهی، کاهش یافته بود (۱۷).

جهت بررسی فلور باکتری‌های نمک دوست سس ماهی ایرانی، به تمام محیط‌های کشت، ۱۰ گرم نمک اضافه شد. در این مطالعه، لاکتوباسیلوس‌ها جمعیت مشخص و قابل توجهی را تشکیل می‌دادند. هیچ باکتری از خانواده‌ی انتروباکتریاسه مشاهده نشد. Sim و همکاران نیز در بررسی های خود مشاهده کردند که پس از گذشت حدود ۴ ماه از تخمیر، رشد باکتری لاکتوباسیلوس و انتروباکتریاسه، به طور مداوم کاهش یافته است (۱۸).

در مطالعه‌ی حاضر، استافیلوکوکوس و میکروکوکوس، میکروارگانیسم‌های غالب بودند. شمارش تعداد استافیلوکوکوس‌ها در همه‌ی بررسی‌ها بیشتر بود که با مطالعات Sim و همکارانش در مالزی (۱۸)، مطابقت داشت. از آنجا که در مطالعه حاضر، باسیلوس‌ها به طور چشم‌گیری کاهش یافته بود، می‌توان آنها را غیر نمک دوست به حساب آورد که به دلیل عدم تحمل نمک در طول دوره‌ی تخمیر، تعداد آنها به تدریج کاهش یافته بود. میکروکوکوس، استافیلوکوکوس و باسیلوس‌ها عموماً در ماهیان مناطق گرم یافت نمی‌شوند (۱۹). این ارگانیسم‌ها می‌توانند از نمک وارد شده باشند. یافته‌های Yankah (۲۰) و Nerquaye-Tetteh و همکاران (۲۱) نیز غلبه‌ی باکتری‌های گرم مثبت در محصول تخمیری ماهی را تأیید نمود. Achinewhu و همکارانش نیز باسیلوس لیچنیفورمیس و استافیلوکوکوس اپیدرمیس را به عنوان باکتری‌های غالب در محصول تخمیری ماهی ساردین گزارش کردند (۲۲).

در بسیاری از محصولات سس ماهی در سراسر دنیا، لاکتوباسیلوس‌ها میکروارگانیسم‌های غالب به شمار می‌آیند. نقش اصلی آنها، تخمیر کربوهیدرات و کاهش pH می‌باشد. ترکیبات دارای pH پایین، اسیدهای آلی (عمدتاً لاکتیک اسید) و نمک، به عنوان عوامل اصلی حفظ محصولات تخمیری ماهی می‌باشند (۴). در مطالعه‌ی حاضر، تعداد باسیلوس‌ها، کم مشاهده شد که شاید به دلیل پیشرفت تخمیر و جایگزین شدن آن توسط میکروارگانیسم‌های دیگر باشد. همچنین، در بررسی دو ماه بعد، لاکتوباسیلوس‌ها به شدت کاهش یافتند. این مسأله شاید به این دلیل باشد که محتوای نمک در سس ماهی ایرانی بالا بوده و نمک بالای ۷٪ باعث مهار باکتری‌های اسید لاکتیک می‌شود (۱۹).

نتایج مطالعه‌ی حاضر، بر خلاف گزارش Matsui و همکارانش بود. در مطالعه‌ی ایشان که روی محصول تخمیری ترکیبی (نارزوشی)، که از گوشت تخمیر شده‌ی ماهی و برنج پخته حاصل می‌شود، مشخص گردید که ۸۵٪ از جمعیت باکتری‌ها، متشکل از باکتری‌های اسید لاکتیک بوده به نحوی که گونه‌ی لاکتوباسیلوس کورواتوس، غالب بوده است. پس از آن لاکتوباسیلوس پیسیکم و لوکونوستوک، غالب بوده‌اند (۲۳). Anihouvi و همکاران نیز روی محصول تخمیری ماهی به نام "کاساوا" کار کردند و ۲۲۴ ایزوله‌ی مختلف از آن جدا کردند. در مطالعه‌ی ایشان، باسیلوس و استافیلوکوکوس غالب بوده و تا پایان مرحله‌ی تخمیر نیز حضور داشتند (۸). حجم بالای استافیلوکوکوس در مطالعه‌ی Anihouvi (۸) با مطالعه‌ی حاضر، هم‌خوانی دارد.

Thapa و همکاران نیز روی دو محصول سنتی تخمیری ماهی به نام‌های نگاری و هنتار، کار کردند. باکتری‌های اسید لاکتیک ۴ تا ۷/۲، باکتری‌های استوانه‌ای تولید کننده‌ی اندوسپور ۳/۳ تا ۴/۶، مخمر ۱ تا ۳/۵ و محتوای مزوفیل هوازی، ۴/۳ تا ۷/۳ واحد تشکیل کلنی در گرم تعیین گردید. باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس و انتروباکتریاسه، بیشترین بودند. حضور باسیلوس سرئوس، استاف اورئوس و انتروباکتریاسه در سس ماهی، به دلیل آلودگی در خلال فرآوری بوده است (۲۴).

در مطالعه‌ی حاضر، باکتری باسیلوس سابتیلیس غالب بود. باسیلوس سابتیلیس، به عنوان مسؤول تخمیر قلیایی برخی غذاهای آفریقایی، گزارش شده است (۲۵). باسیلوس سرئوس و باسیلوس مگاتریوم می‌توانند در گستره‌ی وسیعی از غذاها، به عنوان ترکیب طبیعی باکتریایی، حضور داشته باشند (۱۰). اگر چه حضور باسیلوس سرئوس در بسیاری از محصولات تخمیری آفریقایی و آسیایی گزارش شده است، اما با توجه به اینکه باسیلوس سرئوس یک باکتری اسپورزا بوده و در گستره‌ی وسیعی از غذاهای مختلف یافت می‌شود و می‌تواند باعث بیماری گردد، باید نسبت به ایمنی این محصول حساسیت بیشتری داشت. اهمیت این مسأله زمانی بیشتر می‌شود که نوع مصرف فرآورده را بررسی می‌کنیم. زیرا مهیاوه در زمان مصرف، در دمای اتاق قرار دارد و در صورتی که باسیلوس سرئوس تولید اسپور کرده باشد می‌تواند باعث نگرانی شود. برای جلوگیری از اسهال و استفراغ ناشی از باسیلوس سرئوس، باید محصول غذایی در دمای زیر ۷

درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شود و یا هنگام مصرف، بالای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد حرارت ببینند (۲۶).

زارعی و همکاران در مطالعات خود روی مهیاوه، یکی از فاکتورهای خطرزا برای استفاده از مهیاوه را بالا بودن مقدار هیستامین در این فرآورده بیان کردند. سطح بالای هیستامین در غذا، خطر مسمومیت را برای مصرف کننده به دنبال خواهد داشت. در مطالعه‌ی آنها، خصوصیات میکروبی نمونه‌ی مهیاوه ی ایرانی، اختلاف معنی‌داری با نمونه‌های مناطق مختلف نداشت. سطح باکتری‌های مزوفیل هوازی، ۰/۹۸±۴/۹۴ و باکتری‌های اسید لاکتیک ۴/۱۳ به عنوان باکتری‌های غالب، تعیین گردید (۴). انتروباکتریاسه نیز در تحقیق دیده شد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر همخوانی ندارد.

در تحقیق حاضر، ۴ جنس مخمر و قارچ شناسایی گردید که ساکارومایکوپسیس، گونه‌ی غالب بود. مخمر، نقش حیاتی در تولید بسیاری غذاهای تخمیری بازی می‌کند (۲۷). اگر چه باکتری، نقش غالب در تخمیر محصولات گوشتی دارد اما حضور مخمرها معنی‌دار نیست (۲۸). طی دو مرحله‌ای که در طول فرآیند تخمیر مشاهده می‌شود، رشد مخمر قابل تأمل است. در مراحل اولیه‌ی تخمیر، مخمرها رشد محدودی در کنار باکتری دارند ولی در خلال نگهداری و رسیدن محصول، جمعیت آنها افزایش یافته و فعال می‌شوند. در تحقیق Jang و همکاران، تعداد کل باکتری‌های زنده، بیشتر از مخمرها بود. در مطالعه‌ی ایشان، ۷ جنس و ۳۱ گونه‌ی میکروارگانیسم شناسایی شد. آسپرژیلوس، ریزوپوس، موکور، کاندیدا، پیچیا و دباریومایسس، از جمله مخمرهایی بودند که شناسایی شدند (۲۹). کاندیدا و ساکارومایکوپسیس، از سس تایی یا نام-پلا در تایلند نیز گزارش شده است (۳۰).

یکی از محدودیت‌های این تحقیق، روش تهیه‌ی سس ماهی ایرانی و مهیاوه و متفاوت بودن این نوع چاشنی در نقاط مختلف جنوب ایران است که می‌تواند روی ترکیب جمعیت میکروبی محصول نهایی، تأثیر داشته باشد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، به جز باسیلوس سرئوس، پاتوژن و باکتری بیماریزای دیگری که نگرانی ایجاد کند، مشاهده نشد. بنابراین شاید بتوان گفت مهیاوه از نظر میکروبی ایمن بوده و مشکلی برای استفاده ندارد. البته با توجه به اینکه برخی باکتری‌های یافت شده در سس ماهی ایرانی، توانایی دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه و تولید آمین‌های بیوژن را دارند، پیشنهاد می‌شود مطالعات جامع‌تری روی این محصول انجام شود تا میزان ایمنی آن با اطمینان بیشتری بیان گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله، از پرسنل زحمت‌کش اداره‌ی دامپزشکی شهرستان چابهار و بیمارستان لارستان، به دلیل همکاری در انجام این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

REFERENCES

1. Nautilius C. Marketing of fishery products. FAO Globefish Publication. 17 Nov. 2000; available from http://www.globefish.org/publications/specialseries/vols/ vol.01.htm. 1997.

2. Holzapfel WH. Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. Int J Food Microbiol 2002; 75:197-212.

3. Taheri A. Seafood proteins, by the emphasis on biochemistry and biotechnology. Farhange Noor Publication; 2013. p. 402. (Text in Persian)

4. Zarei M, Najafzadeh H, Eskandari MH, Pashmforoush M, Enayati A, Gharibi D, *et al*. Chemical and microbial properties of Mahyaveh, a traditional Iranian fish sauce. Food Control 2012; 23:511-4.

5. Giraffa G. Studying dynamics of microbial populations during food fermentation. FEMS Microbiol Rev 2004; 28: 251-60.

6. Gram L, Huss HH. Fresh and processed fish and shellfish. In: Lund BM, Baird-Parker TC, Gould GW, editors. The microbiological safety and quality of foods. Gaitherburg, Maryland, USA: Aspen Publishers Inc.; 2000. p. 472-506.

7. Jiang JJ, Zeng QX, Zhu ZW, Zhang LY. Chemical and sensory changes associated Yu-lu fermentation process, A traditional Chinese fish sauce. Food Chem 2011; 114: 1929-34.

8. Anihouvi VB, Sakyi-Dawson E, Ayernor GS, Hounhouigan JD. Microbiological changes in naturally fermented cassava fish (Pseudotolithus sp.) for lanhouin production. Int J Food Microbiol 2007; 116: 287-91.

9. Cowan ST, Steel's KJ. Manual for the identification of medical bacteria. 2nd ed. London: Cambridge University Press; 1974. p. 45-122.

10. Collins CH, Lyne PM. Microbiological methods. 5th ed. London: Butterworths; 1984. p. 450.

11. Benson HJ. Microbiological applications. A laboratory manual in general microbiology. 5th ed. United States: WCB WMC. Brown Publishers; 1990. p. 40, 134.

12. Claus D, Berkeley RCW. The genus bacillus. In: Sneath PHA, editor. Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2. Baltimore: Williams and Wilkins; 1986. p. 1105-39.

13. Kloos WE, Schleifer KH. The genus staphylococcus. In: Sneath PHA, editor. Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 2. Baltimore: Williams and Wilkins; 1986. p. 1013-35.

14. Kocur M. The genus micrococcus. In: Sneath PHA, editor. Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 2. Baltimore: Williams and Wilkins; 1986. p. 1004-8.

15. Hull GM. Fish processing technology. London: Blackie Academic and Professional; 1992. p. 193-218.

16. Hamm WS, Clague JA. Temperature and salt purity effects on the manufacture of fish paste and sauce. Researeh Report No. 24. Fish and Wildlife Service, U.S. Dept. of Interior; 1951.

17. Orejana FM, Liston L. Protein and lipid hydrolysis in Philippine fish sauce (Patis) prepared from irradiated and non-irradiated anchovies. Phil J Food Sci Technol 1999; 3: 19-31.

18. Sim KY, Chye FY, Anton A. Microbiological characteristics of Budu, an indigenous fermented fish sauce of Malaysia. Borneo Sci 2009; 24: 25-35.

19. Horner WFA. Preservation of fish by curing (drying, salting and smoking). In: Hall GM, editor. Fish Processing Technology. 2nd ed. London: Blackie Academic and Professional (Chapman & Hall); 1997. p. 32-72.

20. Yankah VV. Studies on momone: a Ghanaian fermented fish product. BSc Project Report. Department of Nutrition and Food Science, University of Ghana-Legon; 1988.

21. Nerquaye-Tetteh GA, Eyeson KK, Tete-Marmon J. Studies on momone, a Ghanaian fermented fish product. Ghana J Agric Sci 1978; 11: 21-6.

22. Achinewhu SC, Amadi EN, Barimalaa JS, Eke J. Microbiology of naturally fermented fish (Sardinella sp.). J Aquat Food Prod Technol 2004; 13: 47-53.

23. Matsui H, Tsuchiya R, Isobe Y, Narita M. Analysis of bacterial community structure in Saba-Narezushi (Narezushi of Mackerel) by 16S rRNA gene clone library. J Food Sci Technol 2013; 50(4): 791-6.

24. Thapa N, Pal J, Tamang JP. Microbial diversity in Ngari, Hentak and Tungtap, fermented fish products of North-East India. World J Microbiol Biotechnol 2004; 20: 599-607.

25. Azokpota P, Hounhouigan DJ, Nago MC. Microbiological and chemical changes during the fermentation of African locust bean (*Parkia biglobosa*) to produce Affitin, Iru and Sonru, three traditional condiments produced in Benin. Int J Food Microbiol 2006; 107: 304-9.

26. El-Arabi TF, Griffiths MW. *Bacillus cereus.* In: Morris GJ, Potter M, editors. Foodborne infections and intoxications. New York: Academic Press; 2013. p. 401-7.

27. Aidoo KE, Nout MJR, Sarkar PK. Occurrence and function of yeasts in Asian indigenous fermented foods. FEMS Yeast Res 2006; 6: 30-9.

28. Romano P, Capace A, Jespersen L. Yeasts in Food and Beverages. In: Querol A, Fleet GH, editors. The yeast handbook. Heidelberg: Springer-Verlag Berlin; 2006. p. 13-53.

29. Jang SJ, Kim YJ, Park JM, Park YS. Analysis of microflora in Gochujang, Korean traditional fermented food. Food Sci Biotechnol 2011; 20(5): 1435-40.

30. Watanaputi SP, Chanyavongse R, Tubplean S, Tanasuphavatana S, Srimahasongkhraam S. Microbiological analysis of Thai fermented foods. J Graduate School Chulalongkorn Univ 1983; 4: 11-24.