امنیت و مسائل مربوط به کنترل کیفیت در فرآوری آبزیان

ویراستار :

پروفسور آلن بریمنر

مترجمین:

دکتر سهراب معینی

مهندس سهراب معینی

مهندس علیرضا عالیشاهی

مهندس سمانا شعبانی

به نام خدا

امنیت و مسائل مربوط به کنترل کیفیت در فرآوری آبزیان

ویراستار :

پروفسور آلن بریمنر

مترجمین:

دکتر سهراب معینی

(عضو هیئت علمی دانشگاه تهران ،گروه علوم و مهندسی غذایی)

مهندس سهراب معینی

(کارشناس ارشد علوم مواد غذایی از دانشگاه سات‌بنک لندن)

مهندس علیرضا عالیشاهی

(کارشناس ارشد شیلات از دانشگاه تهران ، دانشکده منابع طبیعی)

مهندس سمانا شعبانی

(کارشناس ارشد شیلات از دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال)

نام کتاب : امنیت و مسائل مربوط به کنترل کیفیت در فرآوری آبزیان
مؤلفین : دکتر سهراب معینی – مهندس سهراب معینی – مهندس علیرضا عالیشاهی – مهندس سمانا شعبانی
ویراستار ادبی : گل‌اندام آل‌علی
شمارگان : ٦٠٠ نسخه
چاپ اول : سال ١٣٩٠
ناشر : موسسه تحقیقات شیلات ایران – مدیریت اطلاعات علمی
(بزرگراه تهران کرج،خروجی پیکان شهر ،خیابان سروناز ،خیابان سرو آزاد ،خیابان هشتم غربی - بلوار باغ ملی گیاهشناسی- موسسه تحقیقات شیلات ایران - تلفن ٤٤٥٨٠٩٥٤ – Web Add: www. ifro.ir)
شابک : ٥-٦٨-٥٨٥٦-٩٦٤-٩٧٨ (ISBN : 978- 964-5856-68-5)
نشر : شرکت چاپ و نشر فرهنگ‌پرور(٠٢١-٦٧٠٥٠٢٢)
قیمت : ١٠٠٠٠٠ ریال

فهرست مندرجات

پیشگفتار
فصل ۱– مقدمه ۱

بخش اول : تضمین محصولات ایمن

فصل ۲– نظام حصپ در صنعت شیلات ۴
۲-۱- مقدمه ۴
۲-۲- اصول حصپ ۷
۲-۳- خطرات ۱۰
۲-۴- توسعه و اجرای طرحهای نظام حصپ ۱۲
۲-۵- روشهای استاندارد اجرای بهداشتی ۱۴
۲-۶- هزاره جدید ۱۷
۲-۷- نتیجه ۱۷
۲-۸- منابع ۱۸
فصل ۳– کاربرد حصپ در صنعت شیلاتی (تای) Thai ۱۹
۳-۱- مقدمه ۱۹
۳-۲- توسعه سیستم‌های حصپ در تایلند ۲۰
۳-۳- شناخت روشهای حصپ ۲۲
۳-۴- مشکلات معمول در اجرای نظام حصپ ۲۴
۳-۵- پیش بینی برای آینده ۳۰
فصل ۴– حصپ در صنعت کنسروسازی ماهی ۳۳
۴-۱- مقدمه ۳۳
۴-۲- فرآیند کنسروسازی، ایمنی و فساد ۳۴
۴-۳- قوانین لازم ۳۸
۴-۴- خطرها در کنسروماهی ۳۹
۴-۵- فساد در کنسرو ماهی ۴۶

۶-۴- کاربرد GMP صنعت کنسرو ماهی ۵۱
۷-۴- کاربرد حصپ در صنعت کنسرو ماهی ۵۱
۸-۴- پیش‌بینی برای آینده ۶۰
۹-۴- منابع برای دسترسی به اطلاعات و اندرزهای جدید ۶۱
فصل ۵– بهینه نمودن کنترل عوامل بیماریزا در فرآورده‌های ماهی ۶۳
۱-۵- مقدمه ۶۳
۲-۵- خطرات میکروبی در فرآورده‌های ماهی ۶۵
۳-۵- استراتژی‌برای نگهداری به روش سنتی ۶۹
۴-۵- استراتژیهای جدید برای نگهداری ۷۰
۵-۵- نگهداری به روش بیولوژیک ۷۳
۶-۵- استفاده از باکتریهای اسید لاکتیک برای تخمیر مواد غذایی ۸۷
۷-۵- روش‌های فرآوری غذا بدون استفاده از حرارت ۸۸
۸-۵- نتیجه‌گیری و پیش‌بینی برای آینده ۸۹
۹-۵- منابع ۹۱
فصل ۶– شناسایی عوامل تولیدکننده آلرژی در ماهی ۱۰۰
۱-۶- مقدمه: چگونگی ایجاد آلرژی در ماهی ۱۰۰
۲-۶- مواد و روش‌ها برای تشخیص مواد آلرژی‌زا: (در تون ماهیان) ۱۰۴
۳-۶- تجزیه و اندازه‌گیری نتایج ۱۰۵
۴-۶- پیش‌بینی برای آینده ۱۰۹
۵-۶- منابع جدید برای دسترسی به اطلاعات آینده ۱۱۰
۶-۶- منابع ۱۱۱
فصل ۷– شناسایی فلزات سنگین در ماهی ۱۱۲
۱-۷- مقدمه ۱۱۲
۲-۷- جیوه ۱۱۵
۳-۷- سرب ۱۲۰
۴-۷- کادمیم ۱۲۳
۵-۷- مس ۱۲۵
۶-۷- روی ۱۲۷

۷-۷- قلع ۱۲۷
۸-۷- آلومینیوم ۱۲۸
۹-۷- پیش‌بینی برای آینده ۱۲۹
۱۰-۷- منابع بیشتر برای دسترسی به اطلاعات ۱۳۰
۱۱-۷- منابع ۱۳۲
فصل ۸– انگل‌های ماهی و قابلیت بیماریزایی آنها برای انسان : همه‌گیری، تشخیص و حذف ۱۳۷
۱-۸- مقدمه ۱۳۷
۲-۸- انگل‌های ماهیان دریائی ۱۳۸
۳-۸- انگل‌های ماهیان آب شیرین: نمادتودها ۱۴۲
۴-۸- انگل‌های ماهیان آب شیرین: سستودها ۱۴۵
۵-۸- انگل‌های ماهیان آب شیرین: ترماتودها ۱۴۹
۶-۸- پیشگیری و آلودگی زدایی: ماهیان دریائی ۱۵۶
۷-۸- پیشگیری و آلودگی زدایی: ماهیان آب شیرین ۱۶۳
۸-۸- گرایش‌های آینده ۱۶۹
۹-۸- منابع ۱۷۲
فصل ۹– تشخیص سریع توکسین‌ها در غذاهای دریایی ۱۷۶
۱-۹- مقدمه ۱۷۶
۲-۹- سنسورهای ایمنی زیستی ۱۷۸
۳-۹- شناسایی اسید دوموئیک ۱۸۰
۴-۹- شناسایی اسید اوکادائیک ۱۸۴
۵-۹- شناسایی ساکسی توکسین ۱۸۹
۶-۹- ارزیابی اولیه از دستگاه ساخته شده ۱۹۵
۷-۹- نتیجه‌گیری و پیش‌بینی برای آینده ۱۹۶
۸-۹- منابع ۱۹۷
۹-۹- تشکر و تقدیر ۲۰۰

بخش دوم: تجزیه و تحلیل کیفیت

فصل ۱۰– درک مفهوم کیفیت و تازگی در ماهی ۲۰۲

۱-۱۰- مقدمه ۲۰۲
۲-۱۰- کیفیت و تازگی بعنوان یک مفهوم ۲۰۴
۳-۱۰- دیدگاههای دیگر برای تعریف مفهوم کیفیت ۲۰۸
۴-۱۰- کیفیت بعنوان یک جاذبه ۲۱۱
۵-۱۰- تازه بودن ۲۱۲
۶-۱۰- سالم بودن ۲۱۳
۷-۱۰- پیش بینی آینده ۲۱۳
۸-۱۰- منابع ۲۱۴
فصل ۱۱– معنای زمان ماندگاری ۲۱۶
۱-۱۱- مقدمه، مفهوم زمان ماندگاری ۲۱۶
۲-۱۱- شروع زمان ماندگاری ۲۲۰
۳-۱۱- پایان زمان ماندگاری ۲۲۲
۴-۱۱- آیا چند زمان ماندگاری وجود دارد؟ ۲۲۴
۵-۱۱- آیا احتیاج به دانستن زمان ماندگاری داریم؟ ۲۳۲
۶-۱۱- پیش‌بینی برای آینده ۲۳۲
۷-۱۱- منابع برای دسترسی به اطلاعات و راهنمائی بیشتر ۲۳۵
۸-۱۱- منابع ۲۳۶
فصل ۱۲– مدل‌سازی و پیش بینی زمان ماندگاری در غذاهای دریایی ۲۳۹
۱-۱۲- مقدمه ۲۳۹
۲-۱۲- مدل‌سازی و ویژگیهای کیفی برای تعیین زمان ماندگاری در فرآورده‌های نگهداری شده در انبار ۲۴۱
۳-۱۲- مدل‌سازی برای میکروب‌ها براساس رشد آنها ۲۵۰
۴-۱۲- ارزشیابی مدل‌های زمان ماندگاری ۲۶۴
۵-۱۲- کاربرد نرم افزار ۲۶۷
۶-۱۲- پیش بینی برای آینده ۲۶۹
۷-۱۲- منابع ۲۷۱
فصل ۱۳– نقش آنزیم‌ها در تعیین رنگ، طعم و بافت غذاهای دریایی ۲۷۸
۱-۱۳- مقدمه: اهمیت آنزیم‌ها بعد از مرگ ماهی ۲۷۸

۱۳-۲- آنزیم‌ها در ساختار ماهیچه‌ای ماهی ۲۸۰
۱۳-۳- فیزیولوژی پس از مرگ ۲۸۱
۱۳-۴- تغییرات بیوشیمیائی در عضله ماهی بعد از جمود نعشی ۲۸۷
۱۳-۵- آنزیم‌ها و رنگ و ظاهر غذاهای دریائی ۲۹۲
۱۳-۶- آنزیم‌ها و طعم غذاهای دریائی ۲۹۸
۱۳-۷- آنزیم‌ها و بافت غذاهای دریائی ۳۰۲
۱۳-۸- استفاده از آنزیم‌ها در فرآوری و کنترل کیفیت غذاهای دریائی ۳۰۷
۱۳-۹- استفاده از آنزیم‌ها در فرآوری غذاهای دریائی ۳۰۷
۱۳-۱۰- منابع ۳۱۴
فصل ۱۴– چگونگی اگسیداسیون چربی در ماهی ۳۲۵
۱۴-۱- مقدمه ۳۲۵
۱۴-۲- نقش لیپولیز در پیشرفت تند شدگی ۳۲۸
۱۴-۳- واکنش‌های اکسیداسیون چربی ۳۳۴
۱۴-۴- روش‌های کنترل اکسیداسیون چربی و ایجاد تغییر طعم در ماهی ۳۴۲
۱۴-۵- کاربرد مستقیم آنتی اکسیدانها در ماهی ۳۴۲
۱۴-۶- تغییر در جیره ماهی پرورشی ۳۶۹
۱۴-۷- اثر انجماد بر چربی ۳۵۲
۱۴-۸- نتیجه گیری و پیشرفت‌های آینده ۳۵۴
۱۴-۹- نتیجه‌گیری و پیشرفتهای آینده ۳۵۶
۱۴-۱۰- منابع ۳۵۷
بخش سوم: بهبود کیفیت در زنجیره عرضه
فصل ۱۵– مدیریت در زنجیره کیفیت فرآوری ماهی ۳۶۸
۱۵-۱- مقدمه: زنجیره عرضه ماهی ۳۶۸
۱۵-۲- تعاریف ۳۷۲
۱۵-۳- سازمان دهی زنجیره کیفی ۳۷۵
۱۵-۴- روشی آزاد برای تعیین قیمت‌ها ۳۷۸
۱۵-۵- نظام‌های تضمین کیفیت ۳۷۹
۱۵-۶- نگهداری زنجیره سرد ۳۷۹

۱۵-۷- قابلیت ردیابی محصول ۳۷۹
۱۵-۸- بازرسی ۳۸۱
۱۵-۹- سازمان‌دهی نظام مدیریتی زنجیره‌ای ۳۸۳
۱۵-۱۰- فلسفه مدیریتی یک زنجیره معمولی ۳۸۳
۱۵-۱۱- ارتباط و همکاری ۳۸۶
۱۵-۱۲- ایجاد زنجیره‌های کیفیت ۳۸۸
۱۵-۱۳- پیش‌بینی برای آینده ۳۹۱
۱۵-۱۴- منابع ۳۹۴
فصل ۱۶– روشهای جدید غیرحرارتی برای فرآوری غذاهای دریایی ۳۹۶
۱۶-۱- مقدمه ۳۹۶
۱۶-۲- پتانسیل کاربرد فشار بالا ۳۹۶
۱۶-۳- تاثیر بر رشد میکروبی ۳۹۷
۱۶-۴- تاثیر بر کیفیت غذاهای دریائی ۳۹۹
۱۶-۵- کاربردهای دیگر فشار بالا و پیش‌بینی برای آینده ۴۰۹
۱۶-۶- پتانسیل کاربرد میدان الکتریکی با ضربان بالا(PEFs) ۴۱۰
۱۶-۷- تاثیر بر رشد میکروبی ۴۱۱
۱۶-۸- تاثیر بر کیفیت غذاهای دریایی ۴۱۳
۱۶-۹- پیش‌بینی برای آینده در PEF ۴۱۵
۱۶-۱۰- منابع ۴۱۷
فصل ۱۷– باکتریهای اسید لاکتیک در نگهداری ماهی ۴۲۴
۱۷-۱- مقدمه ۴۲۴
۱۷-۲- باکتریهای اسید لاکتیک (LAB) ۴۲۵
۱۷-۳- تاثیرات بازدارندگی ۴۲۶
۱۷-۴- اثر پروبیوتیک ۴۳۰
۱۷-۵- تخمیر غذاها توسط LAB ۴۳۰
۱۷-۶- تخمیر ماهی به وسیله LAB ۴۳۴
۱۷-۷- LAB در تولید سیلاژ ۴۴۲
۱۷-۸- تخمیر ماهیان با LAB ۴۴۴

۹-۱۷- پیش‌بینی برای آینده ۴۴۶
۱۰-۱۷- منابع برای اطلاعات بیشتر و راهنمایی ۴۴۶
۱۱-۱۷- منابع ۴۴۸
فصل ۱۸– خشک کردن ماهی ۴۵۱
۱-۱۸- مقدمه ۴۵۱
۲-۱۸- فرآیند خشک کردن ۴۵۲
۳-۱۸- فساد در ماهی دودی، نمک سود و خشک ۴۵۳
۴-۱۸- فعالیت آبی و اهمیت آن ۴۵۴
۵-۱۸- روش‌های خشک کردن ۴۵۶
۶-۱۸- فرآورده‌های خشک و نمک سود شده ماهی روی ۴۵۷
۷-۱۸- پیشرفت‌های اخیر ۴۵۹
۸-۱۸- تضمین کیفیت و کنترل آن ۴۶۰
۹-۱۸- منابع ۴۶۵
فصل ۱۹– مدیریت کیفیت ماهیان انبار شده ۴۶۹
۱-۱۹- مقدمه: شاخص‌های کیفی برای ماهی ۴۶۹
۲-۱۹- راهنمایی جهت ارزیابی حسی ماهی ۴۷۱
۳-۱۹- ارزیابی حسی ماهی ۴۷۳
۴-۱۹- بوجود آوردن یک شاخص ارزیابی ۴۷۹
۵-۱۹ – استفاده از شاخص‌های کیفیت در مدیریت نگهداری و طراحی تولید ۴۸۱
۶-۱۹- نگهداری ماهی در تحت شرایط مختلف انبارداری ۴۸۴
۷-۱۹- پیش بینی برای آینده ۴۸۶
۸-۱۹- منابع ۴۹۰
فصل ۲۰– حفظ کیفیت ماهی منجمد ۴۹۵
۱-۲۰- مقدمه ۴۹۵
۲-۲۰- زنجیره‌های عرضه فرآورده‌های منجمد ۴۹۶
۳-۲۰- انجماد بافت ماهی ۴۹۸
۴-۲۰- تغییر بافت و مزه در سردخانه ۵۰۰
۵-۲۰- تغییرات بافتی طی نگهداری فرآورده منجمد ۵۰۱

۲۰-۶- تغییرات طعم طی زمان نگهداری در سردخانه ۵۰۷
۲۰-۷- فاکتورهایی که پیش از انجماد روی پایداری فرآورده در انبار نقش دارند..... ۵۱۳
۲۰-۸- تاثیر سرعت انجماد ۵۱۹
۲۰-۹- خلاصه ۵۲۱
۲۰-۱۰- پیش‌بینی برای آینده ۵۲۲
۲۰-۱۱- منابع برای اطلاعات بیشتر ۵۲۳
۲۰-۱۲- منابع ۵۲۴
فصل ۲۱– اندازه‌گیری زمان ماندگاری ماهی منجمد ۵۳۱
۲۱-۱- مقدمه ۵۳۱
۲۱-۲- شروع فساد در ماهی منجمد شده ۵۳۱
۲۱-۳- شاخص‌های از دست رفتن کیفیت در ماهی منجمد ۵۳۸
۲۱-۴- شاخص‌های بیوشیمیایی ۵۳۹
۲۱-۵- شاخص‌های فیزیکی ۵۴۴
۲۱-۶- ارزیابی حسی..... ۵۴۶
۲۱-۷- نتایج ۵۴۸
۲۱-۸- منابع ۵۴۹
فصل ۲۲– افزایش ارزش افزوده با استفاده بهینه ۵۵۴
۲۲-۱- مقدمه: محدوده فرآورده‌های جانبی..... ۵۵۴
۲۲-۲- فرآورده‌های فیزیکی ۵۵۷
۲۲-۳- فرآورده‌های حاصل از دستکاری آنزیمی ۵۶۱
۲۲-۴- عملکرد و فرآورده‌های جانبی در داروسازی ۵۶۸
۲۲-۵- آنزیم‌های مفید ۵۷۳
۲۲-۶- پیش‌بینی برای آینده..... ۵۷۶
۲۲-۷- منابع برای دسترسی به اطلاعات و راهنمائی‌های بیشتر..... ۵۷۷
۲۲-۸- منابع ۵۷۹
فصل ۲۳– شناسایی گونه در غذاهای دریایی فرآوری شده ۵۸۶
۲۳-۱- مقدمه: اهمیت شناسایی گونه ۵۸۶
۲۳-۲- مشکل شناسایی گونه در فرآورده‌های دریائی ۵۸۸

۲۳-۳- استفاده از مولکول‌های زیستی به‌عنوان نشانگرهای گونه‌ای ۵۹۰
۲۳-۴- استفاده DNA برای شناسایی گونه‌ها ۵۹۵
۲۳-۵- روش‌های براساس واکنش زنجیره پلی مراز(PCR) ۵۹۶
۲۳-۶- روش هایی که نیاز به دانستن سلسله ساختار قبلی ندارد ۵۹۸
۲۳-۷- روش هایی که از اطلاعات سلسله ساختاری استفاده می‌کنند ۶۰۱
۲۳-۸- پیش بینی برای آینده: روش‌های سریع ۶۰۸
۲۳-۹- منابع برای دستیابی به اطلاعات و راهنمایی بیشتر ۶۱۱
۲۳-۱۰- منابع ۶۱۲
فصل ۲۴– روشهای طیف‌سنجی چند متغیری برای تعیین ویژگیهای کیفی ۶۱۹
۲۴-۱- مقدمه‌ای بر روش‌های اسپکتروسکوپی چند متغیری ۶۱۹
۲۴-۲- طیف سنجی بوسیله اشعه نزدیک به مادون قرمز ۶۲۰
۲۴-۳- طیف سنجی فلورسنس ۶۲۷
۲۴-۴- طیف سنجی انعکاس مغناطیسی هسته‌ای(NMR) ۶۳۲
۲۴-۵- پیش‌بینی برای آینده و منابع برای دستیابی به اطلاعات و راهنمائی بیشتر ۶۴۱
۲۴-۶- منابع ۶۴۳

پیشگفتار مترجمین

آزمایش انواع آبزیان و فرآورده‌های تولید شده از آنها دیرزمانی است که در کشورهای پیشرفته قبل از فروش برای تشخیص فساد میکروبی ، شیمیایی ، تقلب و بیماری با استفاده از روش‌های نوین آزمایشگاهی صورت می گیرد. هدف از این آزمایش‌ها ، حفظ سلامت مصرف‌کننده ، جلب مشتریان بیشتر و در نتیجه سود اقتصادی بیشتر می‌باشد. در طول صد سال گذشته ، سازمان‌های کنترل‌کننده سلامت و کیفیت فرآورده‌های شیلاتی ، علاقه زیاد و روزافزونی را برای دسترسی به دستورالعمل‌های ساده و روش‌های نوین آزمایشگاهی برای اطمینان از سلامت و کیفیت آبزیان صید شده و انواع فرآورده‌های تولیدی از زمان صید تا مصرف از خود نشان داده‌اند. آبزیان و فرآورده‌های شیلاتی ، علاقه زیاد و روزافزونی را برای دسترسی به دستورالعمل‌های ساده و روش‌های نوین آزمایشگاهی برای اطمینان از سلامت و کیفیت آبزیان صید شده و انواع فرآورده‌های تولیدی از زمان صید تا مصرف از خود نشان داده‌اند. آبزیان و فرآورده‌های تولید شده از آنها، یکی از مواد خوراکی فاسدشدنی می‌باشند. خریداران و مصرف‌کنندگان همیشه خواستار اطمینان یافتن از کیفیت و سلامت این مواد خوراکی می‌باشند. برخلاف بیشتر مواد خام ، آبزیان و فرآورده‌های تولید شده تنها یک کالا نمی‌باشند بلکه شامل تعداد گونه‌های زیادی در شکل‌ها و اندازه‌های مختلف می‌باشند. این گونه‌ها در محیط‌های آبی مختلف مثل اقیانوس‌ها ، دریاها، تالابها ، رودخانه‌ها و مزرعه‌های کشت و پرورش تولید و به صورت تازه و فرآوری شده به بازار مصرف عرضه می‌گردند. به دلیل این تنوع، مشتریان اغلب مطمئن نیستند که کدام گونه یا فرآورده‌های تولید شده از آنها برای مصرف مناسب هستند. بنابراین از چند جهت کیفیت آبزیان و فرآورده‌های تولیدی از آنها دارای اهمیت ویژه‌ای می‌باشند. در درجه اول ، افزایش تنوع و پیچیدگی فرآورده‌ها و بازار مصرف منجر به افزایش تعداد انواع فاکتورهای کیفی شوند که باید مورد آزمایش قرارگیرند و در درجه دوم ، سلیقه خریداران و مصرف‌کنندگان در حال تغییر است. از سوی دیگر، مشتریان روز بروز از خطرهای سهل‌انگاری از صید تا مصرف ، بیشتر آگاه شده و خواسته آنان از نظر تازگی، طبیعی بودن، عدم آلودگی به میکروب‌های بیماری‌زا ، آلاینده‌ها و انواع فساد در آبزیان صید شده یا فرآورده‌های تولیدی بیشتر می‌گردد و خواستار روشهای نوین کنترل دقیق‌تر این عوامل و دادن اطلاعات مربوط به کیفیت فرآورده از طریق برچسب‌زدن بر روی کالا می‌باشند. از سوی دیگر، در کشورهای شیلاتی یا صنایع شیلاتی پیشرفته؛ با توجه به بهره‌برداری بیش از اندازه از ذخایر آبزیان شناخته شده برای مردم، حرکتهایی به سوی صید

آبزیان جدید و غیرمعمول در گذشته صورت گرفته است. همچنین ازدیاد جمعیت ، تقاضا برای آبزیان پرورشی را افزایش داده که این امر سبب استفاده از روشهای جدید برای تغذیه آبزیان و سرعت بخشیدن به رشد آنها گردیده است. این توسعه‌ها مشکلات جدیدی را در زمینه کنترل کیفیت آبزیان و فرآورده‌های تولید از آنان بوجود آورده است. از سوی دیگر، کشورهای در حال توسعه ضمن بهره‌برداری از منابع آبزیان خود، به طور روزافزونی در حال ورود به بازار صادراتی فرآورده‌های دریایی می‌باشند. تمامی این عوامل باعث گردیده است که همکاریهای بین‌المللی موجب شکل‌گیری استانداردهایی برای تضمین کیفیت و سلامت فرآورده‌های دریایی و پذیرفتن این استانداردها توسط کشورهای مصرف‌کننده و صادرکننده آبزیان و فرآورده‌های حاصله شود. بواسطه تمامی این دلایل ، در این کتاب سعی گردیده است که اکثر موضوعات مربوط به سلامت و امنیت و مسائل مربوط به روشهای کنترل کیفیت و سلامت در فرآوری آبزیان مورد بحث قرار گیرند. این کتاب شامل ۲۴ فصل می‌باشد که ابتدا دستورالعمل‌های جدید برای اطمینان از سلامتی آبزیان صید شده و فرآورده‌های تولیدی از صید تا مصرف مانند HACCP ، CCP ، SSOPS و دستورالعمل‌های مرسوم سنتی مورد بحث قرا رگرفته‌اند. سپس روشهای نوین آزمایشگاهی مثل تشخیص سریع سم در آبزیان، نقش آنزیم‌ها در سنجش رنگ، مزه و بافت در آبزیان و فرآوردهای حاصل ، استفاده از اسید لاکتیک در نگهداری فرآورده‌های شیلاتی و ... برای خوانندگان به صورت ساده شرح داده شده است. امید است این مجموعه دستوالعمل‌ها و روشهای نوین آزمایشگاهی برای دانشجویان شیلات و دست‌اندرکاران شیلات کشور مفید و سودمند قرار گیرد.

در پایان سپاس و قدردانی خود از جناب آقای دکتر مطلبی ، ریاست محترم موسسه تحقیقات شیلات ایران، جناب آقای مهندس حسینی ، مدیریت محترم اطلاعات علمی، و سرکار خانم آل‌علی که ویراستاری ادبی این کتاب کتاب را فراهم آورده‌اند ، اعلام می‌دارم .

سهراب معینی

«فصل اول»

مقدمه

ماهی به‌عنوان یک بخش مهم در جیره غذایی انسان مطرح می‌باشد و صنایع زیادی وجود دارند که بخش اعظم مواد مورد نیاز آن‌ها را ماهی تشکیل می‌دهد. اشکال مختلف فرآورده‌های ماهی مثل ماهی کامل، کوچک یا بزرگ یا بخش‌هایی از آن مثل فیله و قطعات کوچک ماهی دامنهٔ گسترده‌ای از فرآورده‌های کنسرو شده به اشکال مختلف تا فرآورده‌های خشک شده و نمک‌سود شده، روغن و آرد ماهی، ماهی‌های منجمد شده به اشکال مختلف، غذاهای کامل مانند فرآورده‌های ژله‌ای شده را در بر می‌گیرد. لیست فرآورده‌هایی که از ماهی و به‌طور کلی از موجودات دریائی به دست می‌آیند بسیار وسیع می‌باشد و حتی در انواع فرآورده از یک گونه تنوع زیادی در نوع فرآوری آن وجود دارد و تعداد گونه‌هائی که برای تولید فرآورده‌های دریائی به‌عنوان ماده اولیه استفاده می‌شوند قریب به چندین هزار می‌باشد. هرکدام از این ترکیبات متنوع غذایی زمینهٔ وسیعی از امکانات، فرصت‌ها و مسائلی را ایجاد می‌کنند. در ۸۰ سال گذشته، متخصصین، دانشمندان، تکنولوژیست‌های فرآوری آبزیان تلاش زیادی به عمل آوردند از طریق مشاهدات و آزمایشات ویژگیهای آبزیان و فرآورده‌های آنها را تحت شرایط مختلف پیش بینی و کنترل کنند.

دو هدف اصلی برای این تلاش‌ها سلامتی و کیفیت مادهٔ غذائی بوده است (که به‌طور عمده تلاش شده که باندازه‌گیری این ویژگیها بیان شود.) در این کتاب، این اهداف نکات عمدهٔ سلامت و کیفیت مواد غذایی را دربرمی‌گیرد. این نکات نه تنها در تحقیقات مرتبط با صنعت امروزه مهم‌اند، بلکه در آینده هم مهم خواهند بود. هرکدام از نویسندگان، به‌عنوان کارشناس در زمینه تخصصی خود تلاش می‌کند تا دانسته‌ها و تحقیقات خود را بطور خلاصه ارائه نماید تا یک راهنمای کلی از علم در آن زمینه در دسترس باشد. علاوه بر این، نویسندگان راه حل‌هایی برای حل مشکلات مرتبط با این علوم ارائه داده‌اند و شکافهای موجود میان اصول علمی‌در این صنایع و تحقیقات انجام شده را مشخص کردند و خاطر نشان می‌سازند انجام تحقیقات افزایش یابد. در بسیاری از موارد، آنها چگونگی انجام ابتکارات جدید، راهکارها و تکنولوژیهایی را که در جهت حل مشکلات مؤثر می‌باشند را بیان

کرده‌اند و بنابراین تغییر در عملکرد تولید، فرآورده‌های پایدارتر، سالم‌تر، بهتر و با اطمینان بیشتر نسبت به فرآورده‌های قبلی را فراهم خواهد ساخت. همچنین، جهت بیان چگونگی تأثیرات یک بخش روی بخش دیگر حائز اهمیت می‌باشد برای مثال، بهبود در روشهای آزمایشگاهی، باعث شناخت بیشتر ترکیبها، ویژگیها، خصوصیات تغذیه‌ای و آلودگی را افزایش داده است و این اطلاعات با جنبه‌های کیفی و بهداشتی مرتبط می‌باشند. این کتاب در سه بخش عمده طراحی شده است. بخش اول شامل فرایند اطمینان سازی و تولید فرآورده های سالم و بی‌خطر می‌باشد. بخش دوم شامل تجزیه واندازه‌گیری ویژگی‌های کیفی و سرانجام بخش سوم شامل روش‌های بهبود کیفیت در زنجیرهٔ عرضه می‌باشد. در بخش اول در مورد مواردی بحث می‌شود که در نهایت فرآورده‌های ماهی را از نظر بهداشتی برای مصرف بشر بی‌خطر می‌سازد. سلامتی و بی‌خطر بودن مواد غذایی در این کتاب به معنای عاری بودن آنها از موجودات بیماری زا در سطوح عفونت زا مثل انگل می‌باشد و همین شامل آلاینده‌ها مانند فلزات سنگین، عوامل حساسیت زا و سموم می‌باشد این موارد از نظر تشخیص، تعیین میزان، سنجش و استنباط بحث می‌شود که شامل جنبه‌های فرآوری، مدیریت سلامت و ارزیابی خطر می‌باشد. کنترل و ارزیابی خطر براساس نظام HACCP می‌باشد تا چگونه در عمل شرایطی ایجاد کنیم که خطر را کاهش دهیم و در نهایت منجر به تولید فرآورده‌های بی‌خطر شویم. بخش دوم شامل پارامترهای کیفی سنجش فرآورده است که در مورد کیفیت و به اصطلاح تازگی و مدت ماندگاری محصول، فاکتورهای عمده مسبب تغییرات در ویژگیهای آن، در همهٔ اشکال چه به شکل خام، ذخیره شده و یا در طول زنجیرهٔ عرضه را بحث می کند. مدیریت کیفیت ماهی منجمد شده و فاکتورهای مؤثر در مدت ماندگاری آن، و تشخیص گونه‌های ماهی و فرآورده‌های ساخته شده از ماهی در ادامه مورد بحث قرار می‌گیرد. تکنولوژی‌های جدید فرآوری ماهی مانند استفاده از فشار بالا، معرفی خواهد شد و در پایان هر بخش موضوعات مختلف برای تحقیقات آینده ارائه می‌شود. این کتاب می‌تواند در آزمایشگاههای شخصی، تحقیقاتی, صنعتی و موسسات مربوطه مورد استفاده قرار بگیرد.

بخش اول

«تضمین محصولات ایمن»

«فصل دوم»

نظام حصپ[1] در صنعت شیلات

۱-۲- مقدمه

در چند دهه گذشته، نظام حصپ یا تجزیه واندازه‌گیری مخاطرات و نقاط کنترلی حساس، با توجه بـه ممانعـت و کنترل از خطرات تهدید کننده سلامتی غذا به‌عنوان نظامی‌مورد قبول در سطح بـین‌المللـی شـناخته شـده اسـت. تکامل نظام حصپ از معنی و مفهوم آن تا تبدیل به یک استانداردشدن بین‌المللی، با سرعت نسبتاً بالایی صورت گرفته است. شواهد تکامل و توسعه نظام حصپ بـه کنفـرانس حمایـت غـذا در سـال ۱۹۷۱ (۱۹۷۲ و APHA) مربوط می‌باشد که برای اولین بار کاربرد این نظام در صنعت توسط شرکت Pillsbury جهت تغذیه فضانوردان، در شروع برنامه‌های فضایی سازمان NASA[2] بوده است. اما، مفهوم پایه‌ای نظام حصپ، مطالعهٔ نقـاط خطـر در مواد غذایی[3] است (HAZOP) که توسط صنایع مهندسی و شیمیایی بـرای کنتـرل مخـاطرات در اوایـل سـال ۱۹۳۰ به کار گرفته شد. (Mayes and Kilsby,1989،). بعد از ورود نظام حصپ، صنایع تولید کننـده مـواد غذایی کنسرو شده در اسیدیته بالا (PH پایین) و سازمان غذا و مدیریت دارو در آمریکا [4](FDA) به سرعت روی کنترل‌های پیشگیرانه و علامتگذاری فرآورده‌های (مانند برچسب روی قوطی‌ها) براساس نظام حصپ را در پـیش گرفتند.

---

[1] - Hazard Analysis and Critical Conorol Point (HACCP)
[2] - National Academy of Science
[3] - Hazard Opportunity Studies
[4]- Food and Drug Administration

بخش‌های دیگر صنایع فرآوری به‌طور اختیاری نظام حصپ و یا عناصری از آن را در زمینه کنترل سلامت غذا در برنامه‌های خود وارد کردند. اما، تا سال ۱۹۸۵ نظام حصپ در یک جهت مشخص و معنی‌دار در سطح ملی حرکت نکرده بود. در آن سال، آکادمی‌ملی علوم (NAS,1985) نشان داد، در حالی که نظام حصپ به خوبی در مورد صنایع غذایی کنسرو شده دارای PH پایین، مورد استفاده قرار گرفته است، ولی به‌طور موفقیت‌آمیزی در صنایع و فرآورده‌های دیگر غذایی مورد استفاده قرار نگرفته است. این نکته نشان می‌دهد که تولید کنندگان دیگر اقلام غذایی باید از نظام حصب استفاده کنند. همچنین آنها خاطرنشان کرده‌اند که نظام حصپ باید یک برنامه مشخص صنعتی باشد و به‌عنوان نمایندهٔ تنظیم کنندهٔ صنایع مورد استفاده قرار بگیرد و در تصویب طرح و برنامه کارخانه‌های فرآوری، از نظر تعیین مکان و آموزش بازرسها نقش اساسی را به عهده داشته باشد. نظام حصپ از زمان ورودش به صنعت در حال تکامل بوده است، اصول کنترل مواد غذایی در آن بیان شده است و در طول تکامل اصل‌های دیگری به آن اضافه شده است. خطوط راهنما و کاربرد آن، برنامه‌های پیش نیاز و روش-های تصمیم‌گیری در آن تکامل یافته، در تعاریف آن بازنگری شده و یا مواردی به آن افزوده شده است. نظام حصپ که در ابتدا به‌عنوان یک برنامه اختیاری شروع شده بود, اکنون برای فرآورده‌های مختلف به‌عنوان یک نیاز اساسی مطرح می‌باشد و به وسیله هر دو سازمان FDA و کشاورزی آمریکا [1](USDA) تأیید و به کار گرفته می‌شود. نظام حصپ به‌عنوان یک برنامه اختیاری، توسط تولید کنندگان غذا استفاده شد و تکامل یافت زیرا آنها در تلاش برای استفاده از این نظام طراحی شده براساس اصول علمی‌در محیط‌های فرآوری مختلف و پیچیده بودند. اکنون که نظام حصپ می‌خواهد به یک نظام اجباری در صنایع غذایی تبدیل شود، هم از نظر ملی و هم از نظر بین‌المللی، احتمالاً قوانین سیاسی در شکل‌گیری تکامل آن بیشتر از علم مورد توجه خواهد بود. اگر چه اصول نظام حصپ از زمانی که FDA برای اولین بار آن را در صنعت فرآوری غذاهای دریایی به کار برده، تغییری نکرده است (۱۷ دسامبر ۱۹۹۷)، ولی تغییراتی در انتظارات FDA به وجود آمده است. وقتی که نظام حصپ برای اولین بار توسط FDA استفاده شد، انتظارات FDA بسیار ابتدایی بودند. وجود طرح حصپ بصورت مکتوب (در صورت لزوم) برای ثبت نقاط کنترل بحرانی و نکات بهداشتی هشت منطقه ضروری به‌عنوان نیاز اساسی می‌باشد (اگر چه نه به‌عنوان بخشی از نظام حصپ، کنترل کننده نکات بهداشتی به‌عنوان بخشی از تنظیم نظام حصپ می‌باشد). این نکته حائز اهمیت است که بعضی از تولیدات و فرآیندها با خطرات تهدید کننده

[1] - United State Department of Agriculture

سلامتی غذا که به آسانی قابل تشخیص می‌باشند، مرتبط نمی‌باشند. بنابراین، در چنین شرایط خاصی، برنامه حصپ ضروری نیست. اما، اگر کارخانه‌ای برنامه حصپ ندارد، به این دلیل که خطرات تهدید کننده سلامتی غذا نمی‌تواند مشخص شود، شخص مسئول که تجزیه واندازه‌گیری خطر کلی را هدایت کرده است. باید برای پاسخگویی آماده باشد. قوانین FDA به تجزیه واندازه‌گیری خطر نوشته شده، فعالیت‌های اصلاحی از پیش تعیین شده و تأیید یا رسیدگی که در طرح‌شان ثبت شود احتیاج ندارند. این ویژگیها، نتیجه فقدان حضور FDA در این نظام نمی‌باشد بلکه آنها از FDA که به‌عنوان اولین آژانس توسعه دهندهٔ نظام حصپ می‌باشد منشاء گرفته‌اند و سپس در مرکز مدیریت و بودجه[1] (OMB) بررسی شده است. در طول این بررسی، کارکنان OMB هفت اصل نظام حصپ را که تشکیل دهنده نظام سلامتی غذا می‌باشد به درستی متوجه نشدند. در نتیجه آنها ثبت تجزیه واندازه‌گیری خطرات و عملیات اصلاحی از پیش تعیین شده، را حذف کردند. علیرغم آن، اگر کارخانه‌ای برنامه تجزیه واندازه‌گیری خطر را بصورت مکتوب ندارد و یا سهمی‌برای تجزیه واندازه‌گیری این خطرات توسط یک بازرس در نظر نگرفته باشد و ادعا کند که تولیداتش دارای سلامت کافی غذایی می‌باشد، در چنین شرایطی مسولان کارخانه باید برای پاسخگویی به سوالات متعدد بازرسان آماده باشند. بدون توجه به اینکه آیا یک کارخانه احتیاج به داشتن برنامه نظام حصپ دارد یا نه، در همه عملیات فرآوری غذاهای دریایی ثبت نکات بهداشتی باید مورد توجه قرار گیرد. بعضی از گروههای مصرف کننده به‌طور زیادی برای انتظارات FDA در صنعت غذای دریایی بحران بوده است مخصوصاً در طول سالهای اولیه شکل‌گیری قوانین نظام حصپ، چنین انتقادات و موشکافانه‌ای غیرضروری و نامناسب است. در حالی که مفهوم نظام حصپ خیلی ساده است (یعنی تشخیص مخاطرات تهدید کننده سلامتی غذا، کنترل این مخاطرات و فراهم کردن سند و نظام تصدیق کننده مربوط به آن). توسعه و به کارگیری یک برنامه واقعی می‌تواند خیلی مشکل باشد، مخصوصاً برای صنایعی که عادت به سطح بالای ساختار تنظیم کننده نداشته‌اند. استراتژی FDA، صنعت را به رشد در محیط قانونمند نظام حصپ آشنا ساخت. همچنین، به بازرسان FDA فرصت داد تا قوانینشان را با این شرایط جدید منطبق کنند. بازرسان که همیشه مسئول اصلی سنجش تجهیزات فرآوری غذا بودند، هم اکنون توسط نظام حصپ، مسئولیتشان نه فقط در محیط فرآوری بلکه در سطوح بالاتر برای بررسی صحت فرآیندهای تولید غذا افزایش یافت. این نکته حائز اهمیت است که فرآورده‌های تولید شده در این زمان کم خطرتر از فرآورده بودند که در

[1] - Office of Management and Budget

گذشته ساخته می‌شدند. برنامهٔ حصپ برای بسیاری از کارخانه‌ها به‌طور مناسبی به کار گرفته شدند و مخاطرات تهدید کننده سلامتی غذا کاهش یافتند.

۲-۲- اصول حصپ

ماهیتاً، نظام حصپ یک سیستم دو بخشی است. بخش اول روی ماهیت فرآورده تولید شده و توسعه دیاگرام خط تولید آن تمرکز می‌کند و جزئیات هر بخش از عملیات را در آن فرآیند تشریح می‌کند. درک طبیعت فرآورده برای تعیین مخاطرات تهدید کنندهٔ سلامتی غذا ضروری است. زیرا شکل‌های استفاده مواد غذایی (استفاده به صورت خام، و پخته شده) روش توزیع و بازاریابی (مثل سرد شده، منجمد شده و غیره) و مصرف کننده نهایی (مثل کودکان، افراد مسن و افراد دیگر) حائز اهمیت می‌باشند. اهمیت مصرف کنندهٔ نهایی فرآورده اغلب به‌عنوان یک نکته قابل توجه می‌باشد. این بدان معنی نیست که غذا باید برای یک بخش جامعه نسبت به بخش دیگر بی-خطرتر باشد. بلکه بدین معنی است که بخشی از افراد جامعه درمعرض خطر بیشتری نسبت به افراد دیگر هستند، که دلیل آن چگونگی عملکرد سیستم ایمنی در بدن افراد مختلف می‌باشد. همانطوریکه می‌دانیم افراد مسن‌تر در معرض خطر بیشتری می‌باشند، چرا که سیستم ایمنی بدنشان در حال تحلیل رفتن است. با در نظر گرفتن این نکته، اگر تولید کنندهٔ مواد غذایی هدف تولیدش، مصرف فرآورده‌های توسط دو گروه مذکور باشد، برنامه نظام حصپ دارای محدودیت‌های بحرانی بیشتر و خطر بالاتر می‌باشد و کنترل مداوم یا طرح‌های تصدیق کننده سلامت غذایی بالاتری را می‌طلبد. دومین بخش نظام حصپ شامل به کارگیری هفت اصل می‌باشد. مطالب زیر خلاصه‌ای از اصول نظام حصپ را که به وسیله کمیته ملی، براساس معیارهای میکروبیولوژیکی برای غذاها شده است را مرور می‌کند. (NACMCF[1]، 1998).

۱-۲-۲- *اصل اول: تجزیه واندازه‌گیری خطر را سازماندهی کنید*

هدف از تجزیه واندازه‌گیری خطرات اینست که لیست مخاطراتی که مهم می‌باشند را فراهم کنید. این خطرات در صورتیکه به‌طور مؤثری کنترل نشوند احتمالاً موجب بیماری یا صدمه می‌شوند. در نتیجه، در مفهوم حصپ، همیشه کلمه خطر یا مخاطره (Hazard) به سلامتی محدود می‌شود. در نظام حصپ سلسله مراتبی در بین اصول آن به ترتیب اهمیت وجود ندارد. تمام این هفت اصل به یک‌اندازه؛ مهم هستند و باید سرانجام در یک طرح کلی مدنظر قرار گیرند. به نظر نویسنده، اگر این اصول طبقه بندی شوند: اصل تجزیه واندازه‌گیری خطر در

[1]. National Advisory Committee on Micorbiological Criteria for Foods

بین تمام مراحل دارای اهمیت بیشتری خواهد بود. زیرا همهٔ خطرات باید به درستی شناسایی و مشخص شوند (چه به‌طور احتمالی وجود داشته باشد و چه وجود نداشته باشد). همچنین طرح اطمینان سازی از وجود نقایص حائز اهمیت می‌باشد و بعضی از خطرات احتمالی بدون هیچ کنترل پیشگیرانه‌ای می‌توانند وجود داشته باشند.

۲-۲-۲- اصل دوم: نقاط کنترل بحرانی را تعیین کنید

کاهش خطرات تهدید کنندهٔ سلامتی غذا در سطح قابل قبول، ضروری است. مثال‌های $CCPs$[1] می‌تواند شامل فرایندهای حرارت‌دهی، سرد کردن، آزمایش ترکیبات، کنترل فرمولاسیون فرآورده و آزمایش فرآورده از نظر آلودگی با فلزات باشد.

۲-۲-۳- اصل سوم: مرزهای بحرانی را ایجاد کنید.

مرز بحرانی پارامتری است ایجاد شده در $CCPs$، که شرایط ضروری را برای تولید فرآورده بی خطر هدفمند می سازد. این بخش می‌تواند به صورت یک مقدار حداکثر یا حداقل مشخص شود که پارامترهای بیولوژیکی، شیمیایی یا فیزیکی موجود در CCP را برای جلوگیری، حذف و یا کاهش خطرات تهدید کنندهٔ سلامتی غذا تا یک سطح قابل قبول کنترل کند. عدم موفقیت در دستیابی به مرز بحرانی بدان معنی است که CCP تحت کنترل نیست و غذایی که در حال تولید شدن است باید به‌عنوان یک غذای خطرناک و تهدید کنندهٔ سلامتی مورد توجه باشد.

۲-۲-۴- اصل چهارم: روشهای کنترل کننده را ایجاد کنید

کنترل به‌عنوان یک توالی برنامه‌ریزی شده مشاهدات یااندازه‌گیریها برای ارزیابی این نکته می‌باشد که آیا CCP تحت کنترل است؟ و آیا بطور صحیح در تولید فرآورده‌ها برای استفاده در آینده در جهت تأیید فرآورده ثبت شده است یا نه؟ کنترل در CCP برای تعیین اینکه آیا حدهای بحرانی، که در CCP ایجاد می‌شوند، کنترل می‌شدند یا نه انجام می‌شود. کنترل به منظور سه هدف کلی به کار می‌رود: اول) برای مدیریت سلامتی غذا ضروری است چرا که دنبال کردن یک عمل را تسهیل می‌کند. به‌عنوان مثال اگر کنترل‌ها نشان دهند که گرایشی به سمت کاهش کنترل وجود دارد، براساس این روش کنترلی قبل از اینکه فرآیند از حد بحرانی خارج شود می‌توان آن را

[1] - Critical Control Point

جلوگیری کرد. دوم) کنترل برای تعیین زمانی که اشکالی در کنترل وجود دارد و انحراف از حد بحرانی در حال رخ دادن است (در CCP) (بیشتر و یا کمتر از حد بحرانی)، جهت اتخاذ روش اصلاحی مناسب، ضروری است. سوم) سند نوشته شده برای استفاده در تأیید صحت و سلامتی فرآورده را فراهم می‌سازد.

۵-۲-۲- اصل پنجم: عملیات اصلاحی را انجام دهید

هنگامی که انحراف از حدود بحرانی مشاهده شود، عملیات اصلاحی ضروری است. همچنانکه به وسیله NACMCF[1] در سال ۱۹۹۸ توصیه شده، عملیات اصلاحی شامل مجموعه‌ای از اعمال از پیش تعیین شده براساس طرح نظام حصپ می‌باشد، اما، قوانین FDA (در سال ۱۹۹۵) خواسته، که عملیات اصلاحی اتخاذ شده، لزوماً از پیش تعیین شده نباشند. عملیات اصلاحی شامل عناصر زیر می‌باشد:

الف) عامل عدم تطابق با طرح حصپ را تعیین و تصحیح کنید،

ب) وضعیت و حالات محصولی که دارای عدم تطابق با برنامه حصپ است را تعیین کنید،

ج) عملیات اصلاحی که اتخاذ شده را تعیین کنید.

۶-۲-۲- اصل ششم: روش‌های تأیید صحت سلامتی غذا را ایجاد کنید

تأیید یا تصدیق فعالیت‌هایی اطلاق می‌شود، به غیر از کنترل کردن، که اعتبار طرح حصپ را مشخص می‌سازد. از هفت اصل، این اصل به‌طور اجتناب ناپذیری دارای بیشترین چالش برای آموزش دهنده‌ها جهت آموزش دادن و برای دانشجویان جهت آموختن می‌باشد. شاید این بخش براین اساس که در توسعه نظام حصپ این اصل آخرین مرحله برای تکامل نظام حصپ و مقابله با چندین نکته آشکار مشکل زا هدفمند شده بود می‌باشد. فعالیت‌های موجود در این بخش (به غیر از کنترل کردن) که اعتبار یک طرح را مشخص می‌کند شامل:

۱. سنجش اینکه آیا امکانات و تجهیزات سیستم حصپ براساس طرح نوشته شده عمل می‌کنند؟
۲. تعیین (اعتبار اولیه) اینکه آیا طرح از نظر علمی‌و تکنیکی صحیح است و همهٔ مخاطرات تشخیص داده شده‌اند و اینکه آیا طرح حصپ به‌طور دقیق به کار رفته است تا این خطرات را به‌طور مؤثر کنترل کند. این مرحله مستلزم این نکته است که آیا CCP_s به‌طور صحیح تشخیص داده شده است و حدهای بحرانی به‌طور علمی‌برای مخاطراتی که می‌خواهند کنترل شوند معتبر هستند یا نه می‌باشد. ارزیابی تجهیزات هم جز این مرحله است.

[1] - National advisory Committee on Micobiological Criteria For Food

۳. اگر یک سیستم توضیح داده نشده وجود داشته باشد، اعتبارسازی مجدد نیز ضروری است مثلاً در مراحل مختلف فرآوری, تغییرات در خود فرآورده یا بسته بندی رخ دهد و یا یک خطر جدید مشخص شود.
۴. تصدیق کامل دوره‌ای باید انجام شود حتی اگر تغییرات اساسی در طرح ایجاد نشده باشد. FDA پیشنهاد می‌کند که تولیدکنندگان غذاهای دریایی طرح شان را به‌طور سالیانه مرور کنند.

۷-۲-۲- اصل هفتم: روش‌های مستندسازی و ثبت را ایجاد کنید.

به‌طور کلی سیستم ثبت به کار رفته برای نظام حصپ باید شامل:

۱. خلاصهٔ تجزیه واندازه‌گیری خطرات، شامل دلیل اساسی و منطقی برای تعیین کردن خطر و کنترل‌اندازه گیریها می‌باشد. (در FDA تجزیه واندازه‌گیری خطر ضروری نمی‌باشد).
۲. طرح حصپ که شامل:

الف) لیست کردن تیم و مسئولین اجرایی نظام حصپ (برای FDA ضروری نیست)

ب) توصیف غذا، توزیع آن، افرادی که از آن استفاده می‌کنند و مصرف کنندگان می‌باشد (برای FDA ضروری نیست)

ج) دیاگرام خط تولید تصدیق شده (برای FDA ضروری نیست)

د) جدول خلاصه طرح حصپ که شامل:

۱. تعیین مراحلی که CCP_s می‌باشند.
۲. خطرات مرتبط
۳. حدهای بحرانی
۴. کنترل (روش‌ها و تداوم)
۵. فعالیت اصلاحی
۶. روش‌های تصدیق (روش‌ها و تداوم)
۷. روش مستندسازی و ثبت

۳-۲- خطرات

در مفهوم نظام حصپ، خطر به‌عنوان یک عامل بیولوژیکی، شیمیایی یا فیزیکی تعریف می‌شود که احتمالاً موجب بیماری یا صدمه به موجود در صورت عدم وجود کنترل مناسب می‌شود. (NACMCF ،1998) همچنانکه در صفحات قبل اشاره شد، شناسایی صحیح همهٔ خطراتی که احتمالاً تهدید کنندهٔ سلامتی غذا

می‌باشد برای توسعه طرح نظام حصپ، ضروری است. وقتی که خطرات مرتبط با یک غذای دریایی بحث می‌شود نکتهٔ حائز اهمیت این است که صدور یک برنامه یا راه حل می‌تواند خیلی پیچیده باشد. زیرا کلمه غذای دریایی[1] از نظر ادبی نماینده هزاران نوع غذای در دسترس، از نظر تجارتی می‌باشد که هر کدام می‌تواند بطور بالقوه دارای خطرات منحصر به فرد باشد که تولید کننده باید مراقب آن باشد. خطرات تهدید کنندهٔ سلامتی مرتبط با غذاهای دریایی ممکن است متفاوت باشد که این مسئله به خاطر اختلافات ذاتی در فیزیولوژی، محیط، حمل و نقل بعد از صید و روش آماده سازی می‌باشد. سازمان FDA آمریکا ویرایش سوم کتاب ماهی و خطرات فرآورده‌های شیلاتی و راهنمای کنترل این خطرات را منتشر کرده است. هدف این کتاب راهنمائی و کمک به تولید کنندگان برای تشخیص خطرات و فرمولاسیون کردن راهکارهای کنترل آن می‌باشد. این راهنمایی در سه بخش تشریح می‌شود: الف) خطرات بالقوه مرتبط با گونه‌های مهره‌دار ب) خطرات بالقوه مرتبط با گونه‌های بی-مهره ج) خطرات مرتبط با فرآوری آنها.

۱-۳-۲- خطرات مرتبط با گونه‌ها

تقسیم بندی بین گونه‌های مهره‌دار (ماهی) و گونه‌های بی‌مهره (نرمتنان) به‌عنوان ابزاری برای ارتقاء توانایی استفاده کننده در جهت فهم و افزایش اطلاعات و همچنین به‌عنوان وسیله‌ای جهت تسهیل شناسایی خطرات می‌باشد. جدول ۱-۲ طبقه بندی خطرات بالقوه در گونه‌های بی‌مهره براساس طرح FDA میباشد (FDA ,2001). موارد مرتبط با خطرات بیولوژیک به انگل‌ها محدود می‌شود در حالیکه خطرات شیمیایی بالقوه شامل توکسین‌های طبیعی (مثل سیگوترا، مسمومیت ناشی از خوردن آبزیان صدف دار سمی‌و توکسین تولید شده مانند تترادوتوکسین[2]) هیستامین (توکسین موجود در تن ماهیان)، مواد شیمیایی (مانند حشره کش‌ها و آلاینده‌های محیطی) و داروها و قرص‌ها (مورد استفاده در گونه‌های پرورشی) می‌باشد.

جدول ۱-۲: خطرات بالقوه در گونه‌های مهره‌دار

نام‌های بازاری	نام‌های لاتین	خطرات۳				
		بیولوژیک	شیمیایی			
		انگل‌ها	داروها	مواد شیمیایی	هیستامین	توکسین‌های طبیعی

[1] - Sea Food
[2] - tetrodotoxin

۲- این خطر در صورتی تهدید کننده می‌باشد که فرآورده تخلیه شکمی‌نشده باشد.

جدول ۲-۲: خطرات بالقوه در گونه‌های بی‌مهره

نام‌های بازاری	نام‌های لاتین	خطرات				
		شیمیایی			بیولوژیکی	
		داروها	مواد شیمیایی	توکسین‌های طبیعی	انگل‌ها	بیماریزا

جدول ۲-۲ طبقه بندی خطرات بالقوه در گونه‌های بی‌مهره براساس طرح FDA (۲۰۰۱) را نشان می‌دهد. در گونه‌های بی‌مهره مانند نرمتنان که به صورت خام مصرف می‌شوند، وجود عوامل بیماریزای انسانی به‌عنوان یک خطر بیولوژیک شایع می‌باشد علاوه بر اینکه انگل‌ها هم ممکن در آنها به‌عنوان یک عامل تهدید کننده باشند. از آنجائیکه بی‌مهره‌گان در مسمومیت ناشی از هیستامین نقشی ندارند، خطر آنها از این جهت به‌عنوان یک عامل بیماریزا در جدول لیست نمی‌شود.

۲-۳-۲- *خطرات مرتبط با روش‌های فرآوری*

جدول ۳-۲ چهارچوب‌های لازم برای تعیین خطرات بالقوه در ارتباط با روش‌های فرآوری غذاهای دریائی را نشان می‌دهد.

همانطور که مشخص است در این لیست همهٔ خطرات مرتبط با روش‌های فرآوری براساس طرح FDA (۲۰۰۱) که به‌طور کامل، نیامده است. اما هدف این لیست صرفاً این است که ایده‌ای کلی به تولید کنندگان فرآورده‌های دریایی دربارهٔ خطرات شایع مرتبط با روش‌های فرآوری بدهد. همانطور که ملاحظه می‌شود پیچیدگی زیاد خطرات بالقوه در ارتباط با روش‌های فرآوری خیلی آشکار است.

۲-۴- توسعه و اجرای طرح‌های نظام حصپ

توسعه طرح حصپ بطور مناسب, به‌عنوان یک تجربه چالش برانگیز برای بسیاری از تولید کنندگان غذاهای دریایی می‌باشد. در کنار مسئولیت‌های زیاد در دانشکده، نویسنده، زمینهٔ مناسبی برای آموزش تولید کنندگان فرآورده‌های دریایی فراهم کرده، افراد تنظیم کنندهٔ نظام حصپ را آموزش داده است و در بسیاری از زمینه‌ها به طرح‌های در حال توسعه نظام حصپ کمک کرده است. طبیعتاً یک جلسه آموزشی نظام حصپ سه روزه آنقدر سودمند است که بیشتر حضار با اطلاعات و درک کافی از مفهوم حصپ برای نوشتن این طرح برای فرآورده‌های مخصوص‌شان و روش فرآوری آن‌ها جلسات را ترک می‌کردند. حقیقت این است که آموزش نظام حصپ غذاهای دریایی در غالب چند مدل که نماینده محصولات، روش فرآوری و خطرات اثبات شده می‌باشد دارای

فوائد کاربردی زیادی است. معمولاً تولید کنندگان می‌توانـد مـدلی را بیابنـد کـه بـه خـوبی بـا فـرآورده و روش فرآوری‌شان مرتبط می‌شود. (مثل غذای پخته شده آماده مصرف، ماهی دودی شده، نرمتنـان، و مـاهی تـازه کـه (برای مصرف) آماده پختن است). این مدل‌ها فاقد ارزش هستند چون این مدل‌ها اجازه می‌دهند تا تولیدکنندگان اصول نظام حصپ به صورت یک مثال ویژه در تضاد با بحث چکیده ببینند. علاوه بـر آن، قبـل از دیـدن مـدل، بسیاری از تولیدکنندگان ممکن است این تصور اشتباه را داشته باشند که برنامه نظام حصپ بـه‌عنـوان بخشـی از یک سند بزرگ می‌باشد. در نتیجه آنها برای طراحی یک برنامه، حتی پیچیده‌ترین برنامه که صـرفاً چنـد صـفحه است، بسیار مشعوف و در عین حال هیجان زده هستند. در حقیقت، من (نویسنده) به‌عنوان یـک آمـوزش دهنـدهٔ نظام حصپ، قبل از اینکه تدریس اصل ۱ را شروع کنم، ابتدا در مورد اصل هفتم و طرح دو صفحه‌ای کامل برای مدل میگوی پخته شده را توضیح می‌دهم. از آنجائیکه ما روش خودمان را از طریق اصل هفتم به انجام رساندیم این مدل را ساختیم. استفاده از این روش به ما در درک نتایج خارج از انتظار کمک می‌کند و کمـک مـی‌کنـد تـا ذهن افراد عصبی‌تر را در کلاس به آسانی کنترل کنیم. این روش همچنین به ما کمک می‌کند که دقیقـاً بـدانیم در حال تلاش برای توسعهٔ چه چیزی هستیم.

جدول ۳-۲- خطرهای بالقوه در رابطه با فرآورده ها

فرآورده‌های غذائی	خطرها		
	زیستی	شیمیائی	فیزیکی
نوع بسته‌بندی،روش توزیع و نگهداری	۱- رشد باکتری‌های بیماری زا به‌علت درجه حرارت نامناسب ۲- رشد کلستریدیوم بوتولینوم ۳- تولید سم – به‌علت عدم خشک نمودن کافی ۴- تولید سم بوسیله *S .aureus* لعاب مصرفی ۵- زنده ماندن باکتری‌های بیماری زا در زمان پخت ۶- زنده ماندن باکتری‌های بیماری زا در زمان پاستوریزه نمودن ۷- آلودگی ثانوی پس از پاستوریزه نمودن	مواد آلرژی زا به‌علت مواد افزودنی	آلودگی به ذرات فلزی و ذرات شیشه

ایجاد برنامه نظام حصپ قدم بزرگی است، اما بزرگترین قدم اجرای آن برنامه است. این برنامه صرفاً آنچه را کـه تولید کننده می‌خواهد انجام دهد تشریح می‌کند. ترفند تولیدکنندگان این اسـت کـه چیـزی را کـه طـرح نشـان

می‌دهد، ارائه می کنند. (یعنی بیشتر روی طرح تکیه دارند نه اجرا و اجرا چیز دیگری است). برای بیشتر تولیدکنندگان، حتی تولیدکنندگان کوچک، اجرای این برنامه مشارکت کارگران را نیز دربر می‌گیرد. این کارگران در بعضی موارد نقش کنترل کننده را نیز دارند، و بنابراین، آنها مسئول مستندسازی کنترل نتایج می‌باشند. تجربه اولیه در تنظیم نظام حصپ غذاهای دریایی نشان داد، این پدیده غیرمعمول نیست که کارگران کارخانه به‌اندازهٔ کافی در زمینه عملکرد نظام حصپ مربوط به تولیداتشان آموزش ندیده باشند و بنابراین اهمیت انجام کنترل در زمانهای مشخص شده براساس طرح را تشخیص نمی‌دهند. علاوه بر آن، بسیاری از کارگران از اهمیت مستندسازی کنترلهای خودشان در زمان انجام فعالیت آگاه نبودند. از هزاران تولیدکنندهٔ غذاهای دریایی در آمریکا، تنها چیزی که در راه اجرا نظام حصپ می‌تواند به‌عنوان یک مشکل باشد تنها مشکل برای یک فرد یا یک محل بود. اجرا نظام حصپ برای همهٔ تولیدکنندگان غذای دریایی مشکلی نبود. بسیاری از تولیدکنندگان به خوبی نشان دادند که مفهوم زیر بنای حصپ را و همچنین مصوبه‌های قانونی سازمان FDA اضافه گردیده را درک نموده‌اند. جنبه‌های سخت و آسان، یکی از فاکتورهای اولیه‌ای است که به چالش اجرای نظام حصپ مربوط و یکی از مزایای اولیه این نظام است. نظام حصپ احتیاج به ساختار دارد. تولیدکنندگان با چگونگی انجام آن در قالب یک برنامه سازماندهی شده آشنا نیستند و نمی‌دانند که برای اجرای آن احتیاج به چه فعالیت‌های ویژه‌ای دارند. بیشتر تولیدکنندگان تصدیق خواهند کرد که آنها ارزش ساختار ایجاد شده به وسیلهٔ حصپ را تشخیص می‌دهند. فقط در عادت به انجام تنظیمات ضروری برای به وجود آوردن کار ساختاری دچار مشکل هستند.

۵-۲- روش‌های اجرائی استاندارد بهداشتی[1]

نوعاً برنامه‌هایی مثل بهداشت، عملیات تولید خوب[2] (GMP)، آموزش کارفرما، تبیین طرح و غیره در مفهوم نظام حصپ به‌عنوان برنامه‌های لازم می‌باشند. در حالیکه این بخش واقعاً بخشی از نظام حصپ نیست ولی به منظور اجرای صحیح یک برنامه کنترل سلامتی غذا، برنامه‌های لازمه باید اجرا شوند. در آمریکا، تولیدکنندگان غذا، به مدت طولانی تحت نظارت GMP و قوانین آنها که به‌عنوان یک اصل ضروری بود و شامل موارین بهداشتی می‌شد، عمل می‌کردند.

اما، مشکلی که در GMPs وجود دارد در بعضی موارد فقط به صورت یک لفظ یا اصطلاح بیان می‌گردد و نیازی به کنترل‌های روزانه یا ثبت موارد مهم و بهداشتی ندارد. در نتیجه، برای تأکید روی توانایی آژانس در اعمال

---

[1] - SSOPs: Sanitation standard operating procedures
[2] - Good Manufacturing Prac tice

فشار بیشتر برای تطابق بهتر بین قوانین مشابه با نیازهای بهداشتی ضروری، نظام حصپ اجباری شده است (FDA، ۱۹۹۵) و همچنین FDA کنترل و مستند سازی هشت منطقه کلیدی بهداشتی را بصورت قوانین مربوطه اجباری ساخته است. به منظور توجیه نیازهای بهداشتی در قانون پیشنهاد شدهٔ حصپ (FDA، ۱۹۹۴)، FDA اطلاعات مربوط با کمبود بهداشت را از گزارش‌های بازرسی تأسیساتش[1] (EIR) از سال ۱۹۸۸ تا ۱۹۹۰ گزارش کرد. اطلاعات زیر از ۷۱۵ گزارش که دربرگیرندهٔ بازرسی از ۵۶۱ تجهیزات و امکانات است منتشر شد.

۱. ۲۳٪ از تجهیزات منطقه تمییز نبودند و یا اینکه به خوبی تعمیر نشده بودند.
۲. ۲۶٪ از تجهیزات فاقد کنترل مؤثر برای جلوگیری از ورود حشرات و موجودات مزاحم بودند.
۳. ۱۶٪ از تجهیزات به منظور انتقال یخ به صورت بهداشتی و نگهداشتن آن به صورت صحیح استاندارد نبودند.
۴. ۳۵٪ به‌اندازه کافی تمییز یا بهداشتی نبودند.
۵. ۲۱٪ تجهیزات فرآوریشان طوری ساخته شده بود که به راحتی تمییز نمی‌شدند.
۶. ۱۸٪ تجهیزت فرآوری از مواد و عناصر مناسب ساخته نشده بودند .
۷. ۱۵٪ از تجهیزات دارای مواد و عناصر تمییز کننده‌ای هستند که دارای غلظت و تراکم مناسب نبودند.
۸. ۱۸٪ از تجهیزات به‌علت فقدان عناصر تمییز کننده در منطقه و محل فرآوری با شکست مواجه شدند.
۹. ۳۳٪ مناطق فرآوری‌ای داشتند که به شکل بهداشتی و تمیز نگهداری نمی‌شدند .
۱۰. در۴۲٪ مناطق فرآوری ورودیها از ورود حشرات و آفتها جلوگیری نمی‌کند .
۱۱. ۱۶٪ دارای ضایعات و پساب‌هایی هستند که در ظروف مناسب جمع‌آوری نشده‌اند و یا اینکه به‌طور صحیح تیمار نشدند.
۱۲. ۲۳٪ فرآورده‌های تولید شده به روش صحیح حمل و نقل نشدند که در نتیجه باعث ایجاد آلودگی شدند.
۱۳. ۲۲٪ از کارفرماها احتیاط‌های لازم برای جلوگیری از آلودگی مواد غذایی را رعایت نکرده بودند.

خواندن و درک اطلاعات توصیف شده در بالا و بهینه‌سازی براساس فرضیات موجود در زمینه صنعت آسان است. در حالی که هیچ عذر و بهانه‌ای برای هر یک از کمبودهای مذکور وجود ندارد. اما هر روز انجام این موازین بدون هیچگونه خطا و لغزشی بسیار مشکل می‌باشد. در اجرای روش‌های بکار بردن استاندارد بهداشتی (SSOPs)

[1] - Establishment Inspection Reports

انتظار این نمی‌باشد که کمبودها و نقص‌ها بطور کامل حذف شود بلکه این نقص‌ها باید کاهش یابند و به حداقل میزان خود برسند و این حالت وقتی انجام خواهد شد که آنها در قالب زمانی اصلاح شوند.

با توجه به نقص‌های موجود در بالا، FDA تولیدکنندگان را مجبور کرد که شرایط و عملیات را در طول فرآوری با تداوم کافی برای اطمینان‌سازی، انطباق با شرایط و عملیات ویژه در GMP_S که برای کارخانه و برای غذای فرآوری شده مناسب هستند اجرا کنند و این موارد با ۸ منطقه کلیدی ذیل در ارتباطند:

۱. آب
۲. سطوح تماس غذا
۳. انتقال آلودگی که به‌طور عرضی
۴. شستن و رعایت بهداشت دست‌ها و تجهیزات توالت
۵. حفاظت از تقلب
۶. شناسایی تولیدکننده‌های توکسین
۷. سلامتی کارفرما
۸. فقدان آفت‌ها

افراد در مورد اینکه در غیاب برنامه حصپ، پیروی این نیازهای بهداشتی، مسیر طولانی‌ایی را به سمت کاهش خطر سلامتی غذا طی می‌کند بحث می‌کنند آنچه که مسلم است، این است که نظام حصپ و $SSOP_S$ ضروری هستند و تأثیرات استفاده از این دو باعث کاهش معنی‌داری در خطرات تهدید کنندهٔ سلامتی غذا می‌شود. در مراحل اولیه به کارگیری SSOP، بازرسان FDA یافتند که بسیاری از تولیدکنندگان منطبق با ضروریات قوانین عمل نمی‌کنند. بدون شک موارد زیادی بوجود آمد که علت آن عدم اطلاعات از قوانین بود. به عقیدهٔ نویسنده یکی از این عوامل عدم آموزش می‌باشد. اگرچه دوره‌های آموزشی حصپ برای غذاهای دریایی و موارد مشابه در قسمت مربوط به قوانین بهداشتی که جدیداً نوشته شده آمده است، کسانیکه در نگارش و ویراستاری آموزشهای حصپ شرکت داشتند بطور کامل اهمیت آموزشهای مربوط به مسائل بهداشتی را درک ننمودند. در نتیجه در مراحل اولیه آموزشها حصپ موارد بهداشتی بطور کامل مورد توجه قرار نگرفت، بطوریکه بتوانند سازندگان مواد غذایی را که قوانین FDA را مراعات می‌کردند، توجهشان را جلب و انتظارتشان را مترفع ساخت. اما باید به نویسندگان حصپ این اعتبار را داد که زمانیکه نیاز ایجاد قوانین مربوط به بهداشت مشخص گردید، آنها دستورالعملی جداگانه برای مدت یکروز برای کمک به تولیدکنندگان فرآورده‌های دریایی تهیه نمایند:

الف) درک اینکه چرا بهداشت برای موفقیت یک برنامه حصپ ضروری است

ب) درک نیازهای بهداشتی بخش‌های مختلف این قوانین .
ج) فراهم کردن نمونه‌هایی از چک لیستهای ممکن برای اطمینان‌سازی از کنترل نکات بهداشتی.

۶-۲- هزارهٔ جدید

همانطوریکه در مقدمهٔ این فصل گفته شد، انتظارات ابتدایی FDA از صنعت، با توجه به حصپ، نسبتاً اولیه بود. در چند سال اخیر، FDA بیان کرده که این انتظارات در حال رشد است. این نظام برای ثبات بیشتر در کنترل‌های پیشگیرانه برای خطراتی مثل Clostridium botulinum همانندListeria monocytogenas در فرآورده‌های و در فرآیندهایی که احتمال وقوع این خطرات وجود دارد، شروع شده است. انتظارات آژانس برای کنترل عوامل بیماری‌زا از منطقه صید در دریا برای کنترل Vibrio araheamolyticus و V.vulnficus افزایش یافته است. FDA در حال افزایش سخت‌گیری بیشتر در این موارد بود که تولیدکنندگان عدم توانایی شان را برای انطباق با این نیازهای قانونی بیان کردند. اگر Axiom (تغییر در پایداری و ثبات) درست و دقیق باشد، سپس نظام حصپ تغییر خواهد یافت. بنابراین، این سؤال پیش می‌آید که چگونه یا چه چیزی این تغییرات را هدایت خواهد کرد؟ اکنون که نظام حصپ سیستمی‌تنظیمی‌است، تغییرات زیاد از تجارت آژانس‌های تنظیم کننده ایجاد خواهد شد. از نظر تاریخی در ابتدا ، این آژانس‌ها برای استقبال از نوع‌آوریها و تغییرات چندان حرکتی نداشتند تا اینکه نظام حصپ بطور کامل تکامل یافت. تحت نظارت نظام حصپ، آژانس‌های تنظیمی‌مجبور نیستند که در واکنش به خطر تشخیص داده شده جدید یا تکنولوژی فرآوری آن، خود را تغییر دهند بلکه مسئولیت‌شان نسبت به صنعت تغییر می‌کند. همچنین می‌توانیم روی نقص‌ها و کمبودهای مشابه که می‌تواند آژانس را تسخیر کرده و در نهایت باعث تأثیر روی صنعت شود، بحث کنیم. ممکن است بعضی از شرکت‌ها، که تا قبل از ورود نظام حصپ خیلی خلاق نبودند، علاقه‌مند به کنار گذاشتن انزوا و انجام کارها به‌طور انفرادی باشند، اما بیشتر کارها برای استقبال از خلاقیت تا مادامی‌که قابلیت سود شرکت‌ها را افزایش دهد ادامه خواهد یافت. بعلاوه، آنها برای ارزیابی تأثیراتی که ابتکارات جدیدشان روی سیستم حصپ، می‌تواند بگذارد، این سیستم را به سرعت خواهند آموخت.

۷-۲- نتیجه

به‌طور کلی, در ابتدا نظام حصپ بیشتر به‌عنوان یک برنامه تنظیم شده اختیاری برای صنعت بوده و توسعه در این نظام نتیجهٔ نیازها و فرصت‌های شناخته شده به وسیله متخصصین صنایع بوده است. اکنون که نظام حصپ یک

ابزار تنظیمی‌می‌باشد، ممکن است صنایع چالش اولیه‌شان را صرفاً تطابق با نظام حصپ در نظر بگیرند و از اعتقاد به اینکه آنها نقش اساسی در تکامل نظام حصپ دارند صرفنظر کنند. اگر این اتفاق بیفتد، نظام حصپ دیگر به‌عنوان بخشی از صنعت نخواهد بود و در واقع تبدیل به یک فرآیند تنظیمیو کنترل کننده در صنعت شد. به عبارت دیگر، صنایع به‌طور اختیاری و با اشتیاق نظام حصپ را جزئی از فرآیند تولیدشان در نظر نمی‌گیرند بلکه آنرا به‌عنوان یک اجبار و تحمیلی برای صنایع‌شان در نظر می‌گیرند. اینکه چگونه این فرآیند دقیقاً در تداوم توسعه نظام حصپ تاثیر خواهد داشت هنوز نامعلوم است. بدون شک، در آینده تغییرات در نظام حصپ بیشتر به وسیله سیاست‌های تنظیمی‌کنترل می‌شود که می‌تواند به‌طور علمی‌یا غیرعملی پایه‌ریزی شده باشد. در هر صورت یک نکته آشکار است و آن اینکه در حالی که تاریخچه نظام حصپ نسبتاً مختصر بوده است. این نظام در حال جلب توجه و جذب صاحبان صنایع بوده است. بعلاوه، فرصت‌هایی که در نظام حصپ موجود است دارای تأثیرات اساسی روی سلامتی غذاهای دریائی می‌باشد.

2.8 References

APHA (1972) *Proc. National Conference on Food Protection.* American Public Health Association. Food and Drug Administration, Washington, DC.

FDA (1994) *Federal Register*, Vol. 59, No. 19, p. 4187. Proposal to Establish Procedures for the Safe Processing and Importing of Fish and Fishery Products: Proposed Rule. Food and Drug Administration, Washington DC.

FDA (1995) *Federal Register*, Vol. 60, No. 242, p. 65096. Procedure for the Safe and Sanitary Processing and Importing of Fish and Fishery Products: Final Rule. Food and Drug Administration, Washington DC.

FDA (2001). *Fish and Fisheries Products Hazards & Controls Guidance: Third Edition.* Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration Center of Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafoods, Washington, DC.

MAYES, T. and KILSBY, D.C. (1989) The use of HAZOP hazard analysis to identify critical control points for microbiological safety of food. *Food Quality and Preference* 1(2), 53.

NACMCF (1998) Hazard analysis and critical control point principles and applications guidelines. *J. Food Protection* 61(6), 762–75.

NAS (1985) *An evaluation of the Role of Microbiological Criteria for Foods and Food Ingredients.* National Academy of Sciences, National Academy Press, Washington, DC.

«فصل سوم»

کاربرد حصپ در صنعت شیلاتی تای[1](Thai)

۱-۳- مقدمه

سلامت غذاهای دریائی دستخوش دوره‌ای از تغییرات بی‌سابقه است که در سطح ملی با افزایش روزافزون نگرانی مصرف کننده در مورد خطرات تهدید کنندهٔ غذا و در سطح بین‌المللی با افزایش تقاضا دربارهٔ بهداشت غذا و سیستم‌های کنترلی سلامتی غذا در مرزهای ملی مرتبط است. اجرای نظام حصپ در صنعت شیلات در سطح جهان به‌علت درخواست روزافزون کشورهای واردکننده از کشورهای صادر کننده به صدور مواد غذایی با استانداردهای حصپ در حال افزایش است. از نظر بین‌المللی نظام حصپ بهترین ابزار کنترل سلامتی غذاست اگر چه محدودیت‌های خاصی در استفاده از آن در مرحله اولیه زنجیره تولید وجود دارد. اخیراً، ارزیابی خطر به‌عنوان تکنیکی جدید در ارزیابی خطرات میکروبیولوژیکی و دیگر مخاطرات ایجاد شده است. صنعت شیلات نیاز به طراحی سیستم‌های کنترل کیفیت و سلامتی براساس ارزیابی خطر دارد. از سال ۱۹۹۳ تایلند یک صادر کننده عمده فرآورده‌های شیلاتی است. صادرات فرآورده‌های از ۲/۳ بیلیون دلار آمریکا در سال ۱۹۹۰ تا ۵ بیلیون دلار آمریکا در سال ۱۹۹۷ رسید. بحران اقتصادی در اواسط ۱۹۹۷ ضربه سنگینی به آسیا وارد کرد و باعث شد که این رقم به ۴/۲ بیلیون دلار آمریکا در سال ۲۰۰۰ کاهش یابد. ژاپن به‌طور سنتی وارد کننده اصلی فرآورده‌های شیلاتی تای (Thai) بوده است. در سال ۱۹۹۸، آمریکا برای اولین بار بزرگترین وارد کننده فرآورده‌های شیلاتی تای بود که حدود ۳۱٪ فرآورده‌های تایی را وارد کرد. دیگر وارد کنندگان عمده فرآورده‌های شیلاتی تایی،

---

[1] - Thailand

اتحادیه اروپا [1](EU)، استرالیا، کانادا و کشورهای آسیایی هستند. چین به‌عنوان یک وارد کننده مهم و عمده این فرآورده‌های در چند سال اخیر ظاهر شده است و در آینده یک پتانسیل مناسب برای واردات این فرآورده‌های خواهد بود. انواع فرآورده‌های ماهی که در سال ۱۹۹۹ صادر شد شامل کنسرو ماهی تن و دیگر غذاهای دریائی کنسرو شده (۴۵٪)، میگوی منجمد (۱۲٪)، فرآورده‌های ماهی منجمد (۱۸٪)، سرپایان منجمد (۸٪)، نرمتنان منجمد (۴٪) و ماهی تازه (۱۷٪) می‌باشد.

۲-۳- توسعه سیستم‌های حصپ در تایلند

در سال‌های اخیر، جامعه جهانی در جستجوی یک راهکار کلی برای افزایش کیفیت سلامتی تمام تولیدات غذایی بوده است. این راهکار شامل استفاده از سیستم‌های تجزیه واندازه‌گیری خطر و نقاط کنترل بحرانی (HACCP) به‌عنوان ابزاری برای اطمینان از حمل و نقل، فرآوری و خرده فروشی (بطور تازه)، صحیح مواد غذایی است. هم اکنون از سیستم‌های حصپ در صنعت شیلات، در مقیاس جهانی استفاده می‌شود. برای اولین بار نظام خصپ توسط نظام کنترل غذا به نام Codex Alimentarius تصویب شد و همچنین با پذیرش‌اش توسط اتحادیه اروپا و آمریکا به‌عنوان نیازی برای واردات فرآورده‌های غذایی مانند ماهی که دارای خطر تهدید کنندگی بالایی هستند, نمود یافت. تقریباً بیش از ۴۰ کشور پذیرش قوانین نظام حصپ را برای کنترل تولید، فرآوری و توزیع ماهی اعلام کرده‌اند. اداره شیلات تایی [2](DOF)، نظام حصپ را که براساس برنامه‌های بازرسی ماهی در سال ۱۹۹۱ در واکنش به توسعه اولین سیستم‌های حصپ اختیاری در صنعت طراحی شده بود بکار گرفت. این برنامه شامل روش‌های بازرسی، آموزش‌های جدید برای بازرس‌ها و توسعه روش‌های بررسی براساس نظام حصپ جدید است. از سال ۱۹۹۶، نظام حصپ سیستم‌های کیفی را که برای تولیدکنندگان فرآورده‌های ماهی صادراتی اجباری بود، طراحی کرد. DOF تجار قانونی را مجبور به داشتن برنامه حصپ اجرا شده، مستند شده و مشخص شده به وسیله اداره خودش کرد. در واکنش به استفاده روزافزون از نظام حصپ، DOF حمایت خود را در صنعت افزایش داده است. مهمترین فعالیت برای اجرای موفقیت آمیز نظام حصپ از سال ۱۹۹۱ تا ۱۹۹۷، آموزش اصول و کاربرد نظام حصپ در صنعت فرآوری ماهی بود. اما، از سال ۱۹۹۸ بررسی سیستم‌های حصپ ایجاد شده و توسعه بخش‌های راهنما و دیگر اطلاعات حمایت کننده، توجه بیشتری شده است. اصول نظام حصپ و شناخت روشها به‌وسیله DOF، به دیگر مؤسسات غذایی و سازمانها بطور آکادمیک آموزش داده

[1] - European Union
[2] - Thai Department of Fisheries

شده است. برای تحصیل نیازهای صنعت در جهت راهنمایی برای آماده سازی یک طرح حصپ مستند و برنامه‌های لازمه، همانند اجرا و حفظ کردن برنامه، DOF نکات زیر را منتشر کرد:

۱. راهنمایی براساس شناخت روشهای اساسی نظام حصپ، که به‌طور مرتب و منظم نکات آن به روز می‌شود تا معیارهای بین‌المللی جدید را به دست آورد (منظور قوانین و مقرراتی است که دائماً در حال به روز شدن است) و نیازهای تنظیمی‌کشورهای واردکننده را برآورد سازد.
۲. راهنمایی براساس نیازهای تنظیمی‌مخصوص کشورهای واردکننده.
۳. ارائه کتاب راهنما دربارهٔ مستندسازی نظام حصپ.
۴. راهنمایی براساس فرآیندهای ارزیابی.
۵. راهنمایی دربارهٔ خطرات مخصوص و حدهای بحرانی.

طرح‌های حصپ برای کالا و فرآورده‌های عمده از طریق ایجاد کارگاههای آموزشی و گروههای فعال در صنعت، آژانس‌های دولتی مختلف، دانشگاهها و دفاتر خصوصی مشاوره‌کنندهٔ در امر حصپ پیشنهاد آموزش نظام حصپ را داده‌اند. DOF هم آموزش ویژهٔ این کار را برای صنعت فراهم کرد. DOF مطالعه برای نظارت روی مواد خام اولیه, آب که در فرآوری و دیگر تحقیقات برای تشخیص خطر یا مخاطرات تهدیدکنندهٔ سلامتی غذا استفاده می‌شد را هدایت کرد. چگونگی اجرایی نظام حصپ در صنایع توسط بازرسی تجهیزات، تمرکز روی تأثیر کنترل نقاط بحرانی، ثبت بررسی‌ها و روش‌های تأیید سلامتی غذا براساس سیستم حصپ از نزدیک کنترل شد. اجرا توسط صنعت در سه مرحله طبقه‌بندی می‌شود، که بستگی به میزان پیشرفت آن صنعت دارد.

۱. مرحله برنامه‌ریزی اولیه
۲. مرحله توسعه
۳. مرحله بعد از اجرا (که بدین ترتیب سیستم حصپ بطور کامل در صنعت اجرا می‌شود).

این نکته قبول شد که اجرای حصپ فرآیندی تدریجی همراه با پیشرفت صنعت که به تدریج از یک مرحلهٔ به مرحلهٔ دیگر در حال حرکت است، می‌باشد. صنایع غذایی دیگر مانند شیر، گوشت، طیور، میوه‌جات و سبزیجات اجرای برنامه‌های سیستم حصپ را شروع کرده‌اند. آموزش و بررسی‌های نظام حصپ برای این بخش‌ها به وسیله آژانس‌های دولتی و مؤسساتی مثل اداره توسعه حیوانات اهلی، مؤسسه استاندارد صنعتی تای و مؤسسه ملی غذا صورت می‌گیرد.

۳-۳- شناخت روشهای حصپ

اداره برنامه حصپ شیلاتی روی سلامتی فرآورده‌های تولید شده تمرکز می‌کند. دیگر نکات کیفی که عناصر را به همدیگر مرتبط می‌سازد، مخصوصاً بهداشت و عملیات ساخت مناسب غذا (GMP)، با یک برنامه ضروری به دست می‌آید. تولیدکنندگان باید GMP و کنترل بهداشتی را بطور اصولی داشته باشند که براساس یک برنامه مشخص و لازم‌الاجرا که پایهٔ نظام حصپ است. در اغلب مواقع بسیاری از آنچه که برای یک برنامه ضروری (PRP)[1] لازم می‌شود قبلاً در پاسخ به نیازهای متصدی صنایع و احتیاجات مشتریان خرده فروش این شرکت‌ها و صنایع انجام شده بود، اگر چه توسعه عناصر فردی می‌تواند بطور تدریجی در قالب یک برنامه ضروری باشد. مرور سیستماتیک به شناسایی شکاف‌ها و خلق نتیجه منطقی‌تر و سیستم مستند کمک می‌کند. براساس تجربه یک برنامه ضروری مؤثر، طراحی حصپ را خیلی آسان کرده و بسیاری از مخاطرات و خطرات بالقوه را برطرف کرده که می‌تواند باعث طراحی یک طرح سنگین، غیر متمرکز و بیش از حد پیچیده شود و در نتیجه طرح حصپ روی نقاط کنترل بحرانی و مخاطرات بسیار کمی‌تمرکز کند. برای احداث هر واحد فرآوری، یک طرح مناسب باید تولیدات و محیط فرآوری را شناسایی کند. وقتی یک خطر مشخص می‌شود، نقاط کنترل بحرانی می‌تواند با استفاده از یک بازرس مجرب، کارشناس و با استفاده از روش درخت تصمیم (یک نقشه برای مقابله با خطرات است که شبیه درخت است) تعیین شود. که در نتیجه خطرات در حداقل ممکن برای کنترل سلامتی فرآورده نگهداری می‌شود. با استفاده از این روش, نکات مبهم بین نقاط کنترل بحرانی (CCP)[2] و نقاط کنترل (CP)[3] برای کنترل کیفیت فرآورده و نیازهای تنظیمی‌بسیار کاهش می‌یابد. برای هر نقطه کنترل بحرانی، شرکت باید یک حد بحرانی را تعریف کند و برای آن یک سیستم کنترل کننده ایجاد نماید و در مواقع ضروری عمل اصلاحی مناسب را اتخاذ نماید. اداره شیلات باید برنامه‌های حصپ و برنامه‌های لازم را مستند سازد. سیستم نگهداری از اطلاعات ثبت شده باید برای ثبت کنترل فعالیت‌ها، مواردی که از عدم انطباق یافت شده، فعالیت های اصلاحی اخذ شده، تأیید فعالیت‌های کنترل و رسیدگی داخلی (شامل هرگونه اصلاح در برنامه) احداث شود. برای توسعه برنامه و مستندسازی راهنمایی شده و کتب راهنمای صنایع شیلاتی در دسترس هستند. مدارک اصلی برای حفاظت در ضمیمه موجود در پایان این فصل لیست می‌شوند. متصدیان کارخانه‌ها برای انجام وظایف کارکنان براساس سیستم حصپ مسئول آموزش آنها می‌باشند. در بسیاری از موارد، کارخانه‌ها دارای

---

[1] - Pre Requisite Program
[2] - Critical control Point
[3] - Control Point

آزمایشگاههایی هستند که قادر به انجام آزمایشات میکروبی و آلاینده‌ها می‌باشند. بعضی از آنها به خوبی به تکنیک‌های ابزاری مثل HPLC، مخصوصاً کارخانه‌هایی که در زمینه فرآوری میگو کار می‌کنند, مجهزاند. اگر آزمایشگاه در کارخانه نباشد متصدی کارخانه مسئول ایجاد برنامه کنترل کننده‌ای است که استفادهٔ از آزمایش سه مرحله‌ای را ممکن می‌سازد. بازرسی ماهی و تقسیم کنترل کیفیت DOF, برنامه‌های حصپ کارخانه‌های فرآوری را به سه روش ذیل ارزیابی می‌کنند:

۱. تأیید طرح و مناسب بودن برنامه نظام حصپ مستند شده در برابر نیازها و ضروریات فرآوری.
۲. هدایت بررسی‌های مستقل برنامه‌های ضروری و طرح‌های نظام حصپ، با بررسی‌های انجام شده در طولانی مدت که براساس تاریخچه و احداث تجهیزات طراحی می‌شود.
۳. جمع‌آوری نمونه‌هایی از تولیدات و مواد ورودی، چه به صورت ماده خام و چه به صورت فرآوری شده مثل آب یا یخ برای اطمینان از اینکه فرآیند سیستم حصپ مؤثر است و فرآورده‌های بی‌خطر هستند.

این موارد چگونگی اجرایی برنامه حصپ را در کارخانه را تعیین خواهد کرد و در ابتدا تداوم بازرسی‌های منظم و رسیدگی طرح و فرآورده‌های صادر شده را مشخص می‌کند. نقش DOF برای راهنمایی در مدت بازرسی به شرح زیر است:

۱. توضیح دقیق سلامت و استانداردها، راهنمایی جهت تنظیم با توجه به موارد مورد نیاز به‌عنوان مرجع برای بازرسی آنها.
۲. تأکید روی درک متصدی کارخانه از اصول حصپ
۳. تشویق و حمایت برای کاربرد همهٔ هفت اصل حصپ
۴. انجام صحیح ارزیابی‌ها بر طبق عملیات بازرسی
۵. ارائه توضیح روشنی از فرآیند ارزیابی
۶. توضیح هرگونه عدم انطباق (با استفاده از شاهد عینی)

اما نباید چگونگی اصلاح عدم انطباق توضیح داده شود. سیاست بازرسی حصپ و روش‌های بازرسی توسعه یافته‌اند. آموزش تأیید حصپ و بازرسی سیستم حصپ با برگزاری جلسات منظم و هماهنگ بین بازرسان منطقه‌ای برای اطمینان از ثبات و پایداری انجام می‌شود. همچنین بازرسان, آموزش ارزیاب ISO ۹۰۰۰ را برای افزایش مهارتهای کلی بازرسی می‌گذرانند.

۴-۳- مشکلات معمول در اجرای نظام حصپ

برخی مشکلات کلی در اجرای مؤثر نظام وجود دارد. میزان این مشکلات به آماده‌سازی برنامهٔ نظام حصپ مربوط است که شامل موارد زیر می‌شود:

۱. تمایز دادن مدل‌های حصپ
۲. تمایز دادن نیازهای تنظیمی
۳. هدف اجرای نظام حصپ
۴. نیازهای مرجع
۵. برنامه‌های لازمه ناکافی.
۶. همچنین مشکلاتی در زمینه طراحی و اجرای نظام حصپ وجود دارد که به قرار زیر است:
۷. اطلاعات در مورد مخاطرات و تجزیه واندازه‌گیری مناسب مخاطرات
۸. ایجاد نقاط و حدهای کنترل بحرانی
۹. مستندسازی

نهایتاً، متصدیان کارخانه‌ها با مشکلاتی در زمینه حفاظت و بهبود نظام حصپ با این موارد مواجه می‌شوند که شامل موارد زیر را شامل می‌شود.

- روش‌های بازرسی و رسیدگی
- ارزیابی صحیح اجرای نظام حصپ. بخش‌های زیر این مشکلات را بررسی می‌کنند.

۱-۴-۳- فرق‌های بین مدل‌های نظام حصپ

سیستم‌های حصپ اختلاف زیادی با یکدیگر دارند. برنامه‌های حصپ غذاهای دریائی اداره دارو و غذای آمریکا (FDA) و اتحادیه اروپا (EU) روی سلامتی غذا تمرکز می‌کنند. مدل‌های دیگر مثل مدل‌هایی که توسط خدمات شیلاتی ملی آمریکا و برنامه مدیریت کیفیت کانادا ارائه شده، نقاط کنترل متفاوت دارند. دولت استرالیا، حدود SQF۲۰۰۰ را توسعه داده است. SQF سیستمی‌است که نظام حصپ را با عناصر انتخاب شده ISO۹۰۰۰ ادغام می‌کند. کمیته بین‌المللی کنترل مواد غذایی (Codex Committee) به‌طور مداوم در حال بازنگری کدهای عمل برای ماهی و فرآورده‌های آن جهت استفادهٔ اصول حصپ و نکات کیفی ضروری مثلاً برای اجزای تشکیل دهندهٔ فرآورده و مارک زدن آن است. مدل آژانس بین‌المللی Codex استفادهٔ از نقاط عمل معیوب

(DAP_s) که به‌طور جزئی براساس نقاط کنترل بحرانی (CCP_s) در سیستم‌های حصپ طراحی شده را، پیشنهاد می‌کند.

محدودهٔ معمول مدل‌ها می‌تواند حتی برای کارشناسان خیلی گیج کننده باشد، و اجازه می‌دهد تولیدکنندگان خرد یا در مقیاس کم، مسئولیت بیشتری در اختیارات تنظیمی‌داشته باشند مثل DOF برای ارائه راهنمائی و آموزش مناسب. در کشورهای در حال توسعه، اغلب صنعت شیلات در اختیار تولیدکنندگان خرد است. منابع به‌عنوان یک نکته مهم هم از جهت موارد مالی و هم از جهت دسترسی به کارشناس برای اجرای نظام حصپ است. راهنمایی در سیستم‌های نظام حصپ برای در نظر گرفتن این محدودیت‌ها ضروری است و همچنین نیاز به حمایت بیشتر دولت دارد.

۲-۴-۳- تشخیص نیازهای مختلف در تنظیم استانداردها

مشکل اساسی که صاحبان کارخانه در هنگام صدور محصولاتشان به بازارهای مختلف مواجه هستند شامل تمایز نیازهای تنظیمیو رقابت مدل‌های نظام حصپ از دیگر نظام‌ها و مدیریت‌های ملی است. مشکل دیگر وجود جریان مداوم تغییرات و افزودن قوانین جدید به‌عنوان تکامل ملی می‌باشد. این مشکل چندگانه ارتقای استانداردها، مسئولیت‌های مخصوصی برای آژانس‌های دولتی مثل DOF ایجاد می‌کند. DOF در ارتباط نزدیکی با صنعت برای تعریف نیازهای حداقل و معمول برای یک سیستم حصپ عمل می‌کند تا نیازهای عمدهٔ بازارهای صادراتی توسط کارخانه‌ها فراهم شود. بعضی از شرکت‌ها یک طرح حصپ پایه را توسعه داده و اجرا کردند. سپس به تدریج برای دستیابی به نیازهای مقرر ملی که ضروری است آنرا توسعه داده‌اند. بررسی‌های منظم، اغلب در مشاوره با اداره شیلات تای، در جهت حفظ توسعه برای تمایز قلمرو اختیارات ملی ضروری است.

۳-۴-۳- هدف اجرای حصپ

به روزکردن سیستم‌های نظام حصپ فقط در مقیاس کوچکی از بخش‌های سازنده فرآورده‌های شیلاتی در صنعت فرآورده‌های دریائی در جهان اجرا شده است. در کشورهای در حال توسعه، سیستم‌های حصپ هنوز به‌طور عمده به بخش صادرات محدود می‌شود. جهت برای مؤثر بودن، اجرای نظام حصپ باید از مرحله جمع-آوری یا صید آبزیان شروع شود و در مدت فرآوری، توزیع و فروش (به صورت خرده فروشی) و همچنین آموزش

مصرف‌کنندگان برای حمل و نقل فرآورده‌های غذایی و نگهداری آن ادامه یابد. بعضی قوانین برای نشان دادن اجرای نظام حصپ در آبزی پروری وجود دارند، اما این قوانین محدود می‌شوند. کمبود اجرای نظام حصپ در بخش‌های دیگر زنجیرهٔ عرضه، توسعه حصپ را توسط تولیدکنندگان محلی به تعویق‌انداخته است.

۴-۴-۳- نیاز به منابع

متصدیان کارخانه‌ها اغلب منابع ضروری برای اجرای نظام حصپ را در مناطقی مانند سیستم‌های ضروری در حال رشد، احداث و حفاظت از مستندسازی و آموزش، کمتر از حد واقعی برآورد می‌کنند. مخصوصاً در کارخانه-هایی که سیستم‌های حصپ در حال اجراست عملاً میزان آموزش مورد نیاز کمتر از حد واقعی و ضروری برآورد شده است، شامل:

- آموزش بهداشت و سلامتی برای کارکنان خط تولید بویژه برای سیستم‌های مؤثر و ضروری.
- آموزش درست و کامل رهبر تیم حصپ. شرکت‌هایی که دارای سیستم‌های حصپ در حال اجرا و موفقیت-آمیزی هستند آنهایی‌اند که تمایل به فرستادن رهبران تیم‌شان را به واحدهای متنوع و مناسب درسی در زمینه نظام حصپ داشتند، تا جایی که بتوانند از وجود شخصی آشنا با همه مراحل اجرای حصپ مطمئن باشند.
- آموزش برای تیم‌های حصپ، که اغلب برنامه‌ای یک روزه دربارهٔ اصول حصپ و نقش تیم‌های حصپ است.
- آموزش بازرسی برای تجهیز کارکنان برای استفاده از بازرسان داخلی
- آموزش برای کنترل و تأیید مهارت‌ها برای کارکنان CCP.

۵-۴-۳- عدم انجام کامل برنامه‌های مورد نیاز

برآورد شده که بیش از ۷۰٪ فرآورده‌های ماهی که در سطح بین‌المللی تجارت می‌شود نقص‌های کیفی، آلودگی با عوامل بیماریزا یا عوامل خارجی دیگر (مثل عناصر سنگین)، ثبت نادرست وزن روی فرآورده و بر چسب زنی نادرست هستند. این نقص‌ها مشکلاتی در اجرای مناسب و مؤثر نظام حصپ ایجاد می‌کنند. مشخص شده که در بین تولیدکنندگان خرد(مقیاس کوچک) در کشورهای در حال توسعه در زنجیرهٔ عرضه، ضعف‌های عمده در عملیات ساخت فرآورده‌های و شرایط بهداشتی وجود دارد. نظام حصپ زمانی می‌تواند مؤثر باشد که براساس

عملیات تولید مناسب و خوب (GMP)، روش‌های عمل کنندهٔ استاندارد بهداشتی [1](SSOP) و روش‌های عمل کنندهٔ استاندارد آشکار [2](SOP_s) پایه‌ریزی شده باشد. در عمل برای بسیاری از مواردی در صنعت (منظور فاکتورهای نظام حصپ)، اولویت اول سلامت سیستم‌های لازمه است. زمانی که این اصول به‌طور مؤثر اجرا شد، تجربه تولیدکنندگان در تایلند نشان داد که طراحی و اجرای سیستم‌های حصپ برای کارخانه‌های بزرگ و کوچک خیلی آسانتر است. DOF آموزش، راهنمایی و مستندسازی را در برنامه‌های لازم و در حال توسعه مخصوصاً برای تولیدکنندگان خرد را فراهم کرد.

۶-۴-۳- اطلاعات در مورد خطرات و تجزیه واندازه‌گیری مؤثر خطرات

هرگونه ماهی، نرم تن یا سخت پوست ممکن است خطرات کاملاً متفاوت از یکدیگر داشته باشد. همچنین ممکن است در منطقه‌ای و یا کشوری با منطقه و یا کشور دیگر متفاوت باشد. توسعه آبزی‌پروری تا حدی این مشکلات را با ایجاد محیط کنترل شده برای تولیدمثل ماهی قبل از صید حل کرده است. اما، هرگونه آبزی-پروری دارای مخاطرات مختص به خودش می‌باشد. DOF, راهنمای مخاطرات فرآورده‌های شیلاتی را برای کمک به صنعت در تشخیص خطر برای فرآورده‌های اصلی که در تایلند تولید می‌شود را منتشر کرده است. این راهنما، خطرات مرتبط با هر گونه و فرآوری آنها به همراه‌اندازه‌گیریهای کنترلی توصیه شده را توضیح می‌دهد. تجزیه واندازه‌گیری خطر به‌عنوان یکی از عمده‌ترین چالش‌ها برای بسیاری از متصدیان کارخانه‌ها بوده است. در حالیکه، در نتیجهٔ کار آژانس‌هایی مثل DOF، بسیاری از مخاطرات که فرآورده‌های ماهی را تحت تأثیر قرار می‌دهند اکنون به خوبی مشخص شده‌اند. تعدادی از متصدیان کارخانه‌ها همچنان از تعداد وسیعی از مخاطرات و تأثیر بالقوهٔ آنها روی محصولات‌شان بی‌خبر هستند. این راهنمایی برای تجزیه واندازه‌گیری خطر واکنشی استفاده شده‌اند تا برای تجزیه واندازه‌گیری خطر فعال استفاده شوند و با مخاطرات فردی مقابله کنند. مخصوصاً در واکنش به نگرانی‌های مشتریان در مورد کیفیت فرآورده نهایی. در بسیاری از موارد متصدیان کارخانه‌ها دارای فقدان کارشناس میکروبیولوژی در کارخانه‌شان هستند. کارکنان اداره شیلات تای نقشی کلیدی در کمک به متصدیان کارخانه‌ها برای شروع فرآیند تجزیه واندازه‌گیری خطر دارند. آنها یک جدول مخاطرات ساده را ارائه دادند که مخاطرات را در مقوله‌های بیولوژیکی، شیمیایی یا فیزیکی تقسیم کرده و حتی تقسیم‌بندی‌های ریزتر و جزئی‌تر در حد گونه‌های ماهی را نیز انجام دادند. این چهارچوب نقطهٔ شروع را برای تیم حصپ در بین متصدیان

[1] - Sanitation Standard Operating Procedures
[2] - Standard Operating Procedures

کارخانه‌ها فراهم کرده است. همچنین کارکنان اداره شیلات تای اطلاعات منابع اصلی را برای مشورت با همدیگر جهت آموزش عناصر مهم بعضی از خطرات اصلی فراهم کردند و مشورت اولیه با متصدیان مشابه براساس تجربه انجام می‌شود.

۷-۴-۳- ایجاد CCPs و مرزهای بحرانی

متصدیان کارخانه‌ها پارامترهای سلامتی و کیفی را با هم اشتباه گرفتند که باعث سردرگمی‌آنها شد و به همین خاطر آنها نتوانستند هدف مطالعه حصپ را تعریف کنند. تعدادی از این متصدیان طرح‌های حصپ اولیه‌ای را به وجود آوردند که باعث سردرگمی‌در نقاط کنترل بحرانی (CCP_s) شد که نمی‌توانست به‌طور کافی کنترل شود و نهایتاً منجر به ایجاد مقادیر زیادی از ثبت‌ها شد. تجربه طرح‌های حصپ در بخش فرآوری ماهی نشان داد. زمانی که سیستم‌های لازمه به‌طور مؤثر در حال اجرا و نکات کیفی جدا شده بودند، بیشتر سیستم‌های حصپ نسبتاً ساده بودند که دارای CCP_s کمتری نسبت به بسیاری از طرح‌های اصلی حصپ بودند. متصدیان کارخانه‌هایی که در حال احداث CCP_s هستند گاهی اوقات در احداث حدهای بحرانی مشکلاتی دارند. توصیه‌های مختلف در زمینهٔ احداث این حدهای بحرانی در منابع علمی‌ذکر شده است. همچنین گاهی اوقات آنها نیازهایی متناقض دارند که ناشی از منابع مختلف تنظیمی‌است. اعتبار حدهای بحرانی, بخش دیگری از مشکلات است بخصوص برای تولیدکنندگان خرد که نمی‌توانستند آزمایشات چالش برانگیزشان را انجام دهند. اداره شیلات تای توانست حمایت دولت و یا آزمایشگاههای تحقیقاتی دانشگاهها را برای حل این چالش‌ها به کار گیرد. اما، شکاف‌هایی در راهنمایی مناسب برای روش‌های اعتبارسازی حدهای بحرانی هنوز باقی مانده است و این جایی است که اداره شیلات تای هم هنوز در حال توسعه دانش تکنیکی و مهارت‌های خود است.

۸-۴-۳- جمع آوری اطلاعات

ایجاد و جمع آوری اطلاعات برای مستندسازی نظام حصپ نکته مهمی‌است که متصدیان کارخانه‌ها در این مورد با مشکل مواجه شده‌اند. این امر معمولاً به دلیل فقدان اطلاعات درباره فرآورده‌های با کیفیت پائین است. بسیاری از مشکلات نتیجهٔ سردرگمی‌و طراحی نامناسب جمع آوری اطلاعات هستند. تجربه نشان داده که طراحی مناسب برای حفظ اطلاعات ساده با اهمیت است و روش‌های کنترل CCP باید با چندین پارامتر ضروری به قرار زیر مقابله کند:

۱. هدف CCP

۲. حد بحرانی جهت کنترل
۳. چگونگی کنترل آن
۴. شخص مسئول کنترل
۵. جایگاه ثبت نتایج
۶. اگر حد بحرانی از مقدار استاندارد خارج شد چه کار باید بکند.

۹-۴-۳- روش‌های ممیزی

از آنجائیکه بسیاری از شرکت‌ها اجرای نظام حصپ را در پایان دهه ۹۰ انجام دادند، بسیاری از آنها هنوز فرصتی برای جهت‌دهی اولین بازرسی و رسیدگی کامل داخلی را نداشته‌اند. در بعضی موارد اقدامات به کندی انجام می شد چون آنها با مفهوم نظام حصپ آشنا نبودند. بسیاری از این موارد در نهایت منجر به تعویق بازرسی شد چون آنها روی پارامترهای تولید روزانه تمرکز کردند و سیستم‌های حصپ در آنها به آرامی‌در حال اجراست. اداره شیلات تای همهٔ متصدیانی را که سیستم‌های نظام حصپ را اجرا می‌کردند تشویق به انجام بازرسی یا رسیدگی داخلی سالانه کرده است و چنانچه حمایت از آنها انجام می‌شد، بیشتر آنها برای انجام آن تلاش می‌کردند. تعداد کمی‌از آنها در رسیدگی داخلی پایدارند. بسیاری از متصدیان کارخانه‌ها فقدان منابع برای طراحی رسیدگی خارجی دارند و بنابراین باید به انتصاب تیم بازرسی داخلی تکیه کنند. چون بازرسی هنوز گسترش نیافته است، حمایت اداره شیلات تای برای بسیاری از شرکت‌ها ضروری است. این اداره می‌تواند رشته‌های معتبر را برای بازرسی داخلی پیشنهاد کند. با افزایش فشارها مبنی بر کنترل پارامترها به صورت روزانه، رسیدگی داخلی برای تعیین حد کشندگی یا خطر برای آموزش بازرسان، طراحی و هدایت بازرسی و فراهم کردن گزارش مکتوب ضروری است.

۱۰-۴-۳- بررسی موفقیت اجرای نظام حصپ

سیستم‌های حصپ برای اطمینان‌سازی از تولید غذای سالم مورد استفاده قرار می‌گیرند. برای یک سیستم طراحی شده براساس نظام حصپ، کیفیت و سلامتی فرآورده‌های می‌تواند به‌عنوان شاخص‌های اثر آن باشد. اما، ممکن است تصدیق آنها خیلی مشکل باشد. بیشتر آژانس‌های تنظیمی, تجزیه واندازه‌گیری پایه‌ریزی شده براساس اجرا را برای تعیین انطباق و تأثیر سیستم طراحی کرده‌اند. هرگاه شرکتی از روش‌های معتبر سیستم حصپ پیروی - کند، شرایط بهداشتی حاصله، تطابق با قوانین مرتبط و تاریخچه محصول، نشان می‌دهد که مشکلات بطور

رضایتبخشی کامل اصلاح شده‌اند و بنابراین فرض شد که سیستم حصپ این تولید کنندگان مؤثر است. اما، این مقیاس ممکن است تأثیر سیستم حصپ را بطور دقیق نشان ندهد. از روش‌های دیگر هم باید استفاده شود، بطور مثال برای کاهش عوامل بیماریزا تا سطوح هدف در فرآورده‌های مخصوص یا برای دستیابی به یک روش مناسب برای ارزیابی تأثیرات نظام حصپ بررسی شود. این پارامترها و قوانین تاکنون توسط آژانس‌های تنظیمی‌بررسی شده‌اند.

۵-۳- پیش بینی برای آینده

سیستم‌های حصپ، متصدیان کارخانه‌ها و کارکنان آنها را در سطوح مختلف وادار به تقبل مسئولیت می‌کند. موفقیت اجرای نظام حصپ در صنعت شیلاتی تای در گرو ارتباط نزدیک بین صنعت و دولت است و این رابطه نزدیک بین دولت و صنعت و تمایل دو طرفه نقش مهمی‌در اجرای نظام حصپ دارد.

چندین مورد برای اصلاح و بهبود در نظام حصپ است و احتیاج به کار و تحقیق بیشتر دارند که به شرح زیرند: سیستم‌های حصپ هنوز روی فرآوری فرآورده‌های متمرکز می‌شوند. آنها تاکنون در طول زنجیرهٔ عرضه گسترش نیافته‌اند، مخصوصاً در فرآورده‌های اولیه، منظور مواد خام است که یا از آبزی‌پروری و یا صید از دریا بدست آمده اند. بسیاری از مردم هنوز برای ترویج اصول نظام حصپ در مواردی مثل خرده فروشی و حمل و نقل فرآورده‌های ماهی بحث می‌کنند. اجرای نظام حصپ و عمل به آن در بین واحدهای تولیدی کوچکتر, هنوز بسیار ضعیف است. دولت باید تغییرات در قوانین و استانداردهای نظام حصپ را از نظر بین‌المللی با تغییرات خودش مطابقت دهد و همچنین احتیاج به راهنمایی‌های عملی اصلاح شده برای تجزیه واندازه‌گیری خطرات دارد. بازرسان نیاز به کسب تجربه و دانش بیشتر در مورد تکنیک‌های بازرسی مؤثر و تبدیل تئوریهای نظام حصپ به شکل عملی و مؤثر دارند. به‌عنوان مثال، بازرسان باید این توانایی را داشته باشند که بتوانند از انعطاف‌پذیری مدل‌های حصپ کلی استفاده کنند و آن را برای هر صنعت مخصوص به شکل مناسب و قابل قبول آن صنعت در آورند. در این زمینه تحقیقات بیشتر برای اعتبارسازی حدهای بحرانی ضروری است. هماهنگی حصپ و تصدیق تنظیمی‌آن در سطح بین‌المللی به اجرای هر چه بهتر نظام حصپ در یک کشور و همچنین در بین کشورها کمک زیادی خواهد کرد. سازمان بین‌المللی Codex Alimentarius و دیگر نهادهای بین‌المللی نیاز به تسریع این فرآیند و ایجاد تریبون‌برای بحث و حل اختلافاتی که از توسعه و اجرای نظام حصپ جلوگیری می-کند، دارند.

ضمیمه: ممیزی اطلاعات حصپ براساس برنامه کنترل کیفیت اطلاعات موجود

اطلاعات شرکت: نام، آدرس، تلفن و فاکس. تعداد افراد مسئول برای مدیریت طرح حصپ و تعهد مدیریت بالا.
مدیریت بالا باید موارد زیر را متعهد شود:
الف) توسعه برنامه نظام حصپ و اجرای آن
ب) ارزیابی مجدد و اصلاح برنامه حصپ
ج) برنامه سازمانی که شامل افراد شاغل در مدیریت طرح حصپ یا جزئیات مرتبط با تیم حصپ و مدیریت سیستم است.
د) مسئولیت‌پذیری سازمان در توصیف عمل کارکنان اصلی مشاغل در مدیریت برنامه حصپ.
هـ) یادآوری کردن (شناسایی و قابلیت تعقیب محصول)
و) آموزش کارفرما

ضمیمه – طرح – حصپ

برنامه اولیه مورد نیاز از سابقه

این برنامه روش‌های اجرایی استاندارد بهداشتی اتخاذ شده جهت کنترل مناطق بحرانی برای بهداشت کارخانه فرآوری را توصیف می‌کند و به شرح زیراند:

۱) ساخت و احداث تجهیزات و حفاظت از امکانات دست شویی و تسهیلات برای بهداشت دست و توالت
۲) کیفیت آب و یخ
۳) شرایط و پاکیزگی سطح تماس غذا
۴) کنترل آلودگی غذا، سطح تماس غذا و بسته‌بندی
۵) حفاظت دست شویی، بهداشتی کردن دست و تسهیلات توالت
۶) پیشگیری از انتقال آلودگی به صورت افقی، مواد بسته‌بندی غذا و دیگر سطوح غذا
۷) استفاده از انواع مواد شیمیایی برای برچسب زدن
۸) دور ساختن آفتها از کارخانه
۹) کنترل شرایط سلامتی کارکنان که می‌تواند منجر به آلودگی باکتریائی مواد غذایی بسته‌بندی شده و دیگر سطوح در تماس با آن شود.

طرح حصپ HACCP

طرح حصپ شامل

برنامه HACCP شامل موارد ذیل است:

۱. شرح فرآورده، جزئیات مرتبط با ویژگیهای ضروری فرآورده برای تجزیه واندازه‌گیری خطر را بیان می‌کند.
۲. جارت خط تولید تمام و مراحل مهم خط تولید فرآورده را نشان می‌دهد.

عناصر اصلی نظام حصپ شامل:

الف) تجزیه واندازه‌گیری خطر
ب) تعیین CCP
پ) حدهای بحرانی و اعتبار سازی آن
ت) کنترل کردن
ث) عملیات اصلاحی
ج) ثبت‌ها
د) تأیید عملیات
چ) روش‌های اجرایی استاندارد (SOP_s) بعنوان مرجع، طرح‌های حصپ است بعنوان کنترل برای هر مرحله بکار گرفته می‌شود). این روش‌ها بشرح زیر ممکن است بکار گرفته شوند:

۱. SOP_1 تشکیل هیستامین SOP_2 : رشد عوامل بیماری‌زا SOP_3: پاکیزگی ظروف (برای فرآورده‌های کنسرو شده و کنترل مواد لازم برای بسته‌بندی در فرآورده‌های بسته‌بندی شده در شرایط خلا و اتمسفر) SOP_4: ارزیابی تجهیزات کنترل کننده SOP_5: برچسب زدن باشد.

الف – SOP_1 – برای تشکیل هیستامین
ب – SOP_2 – برای رشد باکتری‌های بیماری زا
ج – SOP_3 – سالم بودن بسته بندی (برای قوطی کنسرو، کنترل اتمسفر یا خلاء در بسته مواد بسته‌بندی شده)
د – SOP_4 – کنترل و ارزیابی تجهیزات مورد استفاده
هـ – SOP_5 – کنترل برجسب زنی

بازرسی روش‌های بازرسی سیستم کیفیت

بررسی دوره‌ای کل سیستم که شامل موارد زیر است:

۱. بازرسی داخلی
۲. بازرسی توسط شخص ثالث
۳. بازرسی توسط کارشناسان مسئول دولتی

این بازرسی‌ها برای حفظ کیفیت و بهینه سازی خط تولید و فرآورده و تأیید بر درستی نحوه عملیات می‌باشند.

«فصل چهارم»

حصپ در صنعت کنسروسازی ماهی

۱-۴- مقدمه

حفاظت از غذا به وسیله گرما توسط Frenchman Nicolas Appert در ابتـدای قـرن نـوزدهم انجـام شـد. روش حفاظت غذا با استفاده از گرما فرایندی نسبتاً مناسب برای نگهداری مواد غذایی است که گاهی اوقـات بـه نام آپارتابیزشن[1] نیز خوانده می‌شود. به مدت چند دهه، این فرآیند به روش آزمون و خطا انجام می‌شد تا اینکه در پایان قرن نوزدهم با پیدایش علم میکروبیولوژی و اصول انتقال حرارت، پایه‌های علمی‌این روش مستحکم شـد. امروزه، مصرف‌کنندگان بیلیون‌ها قوطی کنسرو در جهان را مورد مصرف قرار می‌دهند که بیش از ۱۴ میلیون تـن یا ۱۲/۵٪ این صید جهانی برای مصرف انسان بـه صـورت کنسـرو اسـت. (FAO, 2000). همچنـین، فرآینـد کنسروسازی می‌تواند اتوماتیک باشد، مخصوصاً در کشورهای توسعه یافته و یا فرآیندی با تعـداد زیـادی کـارگر (کمتر اتوماتیک) باشد همانطوریکه در کشورهای در حال توسعه مثل تایلند، فیلیپین و برزیل وجود دارد کـه ایـن صنعت در این کشورها زمینه‌های اشتغال‌زایی فراوانی را فراهم می‌کند. این امر باعث شده تا صنعت کنسروسازی با چالش‌های کیفی و سلامتی مخصوص مواجه شود. برای حفاظت و افزایش کیفیـت، راهکارهـای پیشـگیرانه و خلاقی نیاز است. این موضوع زمانی حادتر شد که شیوع مسمومیت به خـاطر مصـرف مـاهی کنسـرو شـده رواج یافت. این مسأله اگر چه بسیار کم بود، اما می‌توانست خطرات جدی برای سلامتی مصرف کنندگان ایجاد کند و همچنین باعث زیان به شرکت‌های مسئول و یا کاهش اعتبـار سـلامتی آن صـنعت شـود. بـرای مثـال، شـیوع

---

[1] - Appertization

بوتولیسم در سال ۱۹۸۲ که موجب مرگ یک نفر در بلژیک شد. در ادامه مصرف آزاد ماهیان آلوده کنسرو شده منجر به انجام آزمایش برروی همهٔ فرآورده‌های سال‌های ۱۹۸۰ و ۱۹۸۱ در صنعت آزاد ماهیان کنسرو شده آلاسکا شد که شامل بیش از ۵۰ میلیون قوطی کنسرو در سراسر جهان بود (Thompson, 1982). این فصل چالش‌های کیفی و سلامتی امروز را که در صنعت کنسرو ماهی وجود دارد تشریح می‌کند همچنین روش‌ها و ابزارهای شناخت چالش‌ها، مخصوصاً در اجرای اصول نظام حصپ را معرفی می‌کند.

۲-۴- فرآیند کنسروسازی، ایمنی و فساد

از اصول حصپ توسط صنعت کنسروسازی حدود ۳۰ سال قبل از دیگر بخش‌های صنایع غذایی استقبال شد و همچنان به‌عنوان تنها و مؤثرترین روش اطمینان سازی کیفیت و سلامتی غذا شناخته شده است. قبل از توضیح دلیل سخن بالا، این نکته با ارزش است که باید بعضی ازاندیشه‌های غلط درباره نگهداری غذا با استفاده از گرما را رفع کنیم. میکروارگانیسم‌های زنده می‌توانند از غذاهای کنسرو شده پایدار و سالم حذف شوند. نمونه برداری و تجزیه واندازه‌گیری فرآورده در پایان فرآوری غیر قابل اعتماد نیست ولی اطمینان کمتری مبنی بر اینکه غذای کنسرو شده بی‌خطر است و یا فاسد نخواهد شد می‌دهد. بنابراین یک برنامه قابل اتکا برای اطمینان از کیفیت و سلامتی باید از نظر سیتماتیک شامل موارد ذیل باشد:

۱. مواد خام با کیفیت
۲. بهداشت و نظافت
۳. فرآوری حرارتی صحیح (شامل طراحی، کاربرد و کنترل)
۴. دربندی و درزبندی صحیح قوطی.

۱-۲-۴- ملاحظات ایمنی غذا

برای تولید کنسرو مواد غذایی نیاز به ظرفهایی که قابلیت دربندی در تحت فشار را داشته باشند وجود دارد. در چنین شرایطی ظرفها باید نسبت به مایع ها، گازها و میکروارگانیسم‌ها غیرقابل نفوذ باشند، و با استفاده از یک فرآیند حرراتی صحیح، میکروارگانیسم هایی را که در شرایط معمولی و بدون استفاده از سرد نمودن، قادر به تکثیر و رشد در غذا انبار شده و یا در زمان توزیع می‌باشند را غیرفعال (SMELT AND MOSSEL, 1982, LAROUSS, 1991) نمود.. هر غذای کنسرو شده‌ای که در برگیرنده این دو فاکتور باشند، "استریل تجارتی" بحساب می‌آیند. علاوه بر آن، اداره دارو و غذای آمریکا

(FDA)، بنا بر قانون ۲۱CFR، بند (e) ۱۳۰۳، و "استریل تجارتی" را چنین تعریف نموده، شرایطی که در تحت آن با کنترل a_w و استفاده از حرارتی که قادر به تولید غذای عاری از میکروارگانیسم هایی گردد، که در غیر اینصورت شرایط معمولی و بدون سردنمودن قادر به تکثیر و رشد در غذا، در زمان نگهداری و توزیع می‌باشند، استریل تجارتی با "استریل مطلق" فرق دارد. استریل مطلق، یعنی اینکه تمام میکروارگانیسم‌ها را نابود کنیم، در صورتی که در استریل تجارتی، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای را می‌توانیم از ماده غذائی جدا کنیم (ABABOUCH, 1999) اگر:

۱. باکترهای تولیدکنندهٔ اسپور که گرمادوست اجباری‌اند. اما درجه حرارت معمول نگهداری غذا زیر محدودهٔ لازم برای رشد باکتری‌های گرمادوست باشد$(< ۴۰^{\circ}C)$.

۲. میکروارگانیسم‌هایی که نسبت به حالت اسیدی نسبتاً مقاوم‌اند و PH غذا در زیر اسیدیته بالا باشد $(PH < ۴/۶)$.

۳. فرآیند کنسروسازی ترکیبی از گرما و کاهش فعالیت آبی (aw) در غذا است.

بنابراین، درجه حرارت انبار نگهداری غذا کنسرو شده، pH و فعالیت آبی (aw) نقش اساسی، همراه فرآیند حرارتی انتخاب شده جهت اطمینان از سلامتی و پایداری زمان ماندگاری فرآورده نهایی بازی می‌کنند. در حقیقت، سه فاکتور PH، درجه حرارت و aw به‌طور مستقیم تعیین کننده شدت فرآیند حرارتی مورد استفاده شده برای نگهداری غذا و استریل تجارتی را تحت تأثیر قرار می‌دهند و نهایتاً حرارت‌دهی تجارتی، فرآورده را پایدار می‌سازد. همچنین، این فرایند رشد بعدی باکتری‌های بیماریزا و عامل فساد را در صورتی‌که تعدادی از آنها در طول فرآیند حرارتی زنده باقی مانده باشد را، متوقف می‌کند. بنابراین می‌توانیم نقش این سه فاکتور را در کنار هم ببینیم بطوریکه اگر باکتری بیماریزایی یا عامل فساد در طی فرآیند حرارتی زنده بماند دو فاکتور دیگر می‌توانند به‌عنوان سینرژیسم عمل کرده و آن باکتری بیماریزا و یا عامل فساد را غیر فعال کنند. (ICMSF, 1981).

یکی از شاخص‌های غذاهای دریائی کنسرو شده دارای $PH > ۴/۶$ و $aw > ۰/۹۸$ می‌باشد. غذاهای با PH بالاتر از ۴/۶ به اصطلاح غذاهای کنسرو شده کم اسید (LACF)[1] نامیده می‌شوند که میکروارگانیسم اصلی و خطرناک در این غذاها (LACF) Clostridium botulinum است. بعضی از انواع C.botulinum تولید اسپورهایی می‌کنند که در بین میکروارگانیسم‌ها بیماریزا مقاومترین اسپورها در مقابل حرارت می‌باشند. در نتیجه،

[1] - Low Acid Canned Food

در صنعت کنسرو ماهی باید روی فرآیندهای حرارت‌دهی دقت کافی، جهت اطمینان از عدم احتمال بقای اسپورهای *C.botulinum* بعمل آید و بدین ترتیب خطری سلامتی مصرف کننده را تهدید ننماید. تجربه نشان داده است که فرآیند حرارت‌دهی که برای نگهداری غذای LACF مورد نیاز است حداقل باید قادر به کاهش مقاومترین اسپورهای *C.botulinum* در برابر حرارت تا سطح $۱۰^{-۱۲}$ برابر میزان اولیه آن باشد. این فرآیند در اصطلاح به‌عنوان پختن بوتولینم (botulinum cook) یا مفهوم ۱۲D مشهور می‌باشد. (Pflug, 1980 ;Stumbo, 1972) D زمان مرگ لگاریتمی‌یا زمان لازم برای غیر فعال کردن ۹۰٪ از جمعیت باکتریائی اتوکید توسط گرما در یک درجه حرارت ثابت می‌باشد. در گزارش Stombo آمده است، که به صلاح است بنحوی فرآیند حرارتی قوطی‌های کنسرو انجام شود که در هر قوطی فقط احتمال زنده ماندن یک اسپور از C.botolinon مقاوم به حرارت وجود نداشته باشد. بعبارت دیگر در چنین فرآیند حرارتی $۱۰^{-۱۲}$ فقط یک قوطی در میان ۱ تریلیون قوطی ممکن است استریل نشده باشد. این احتمال بقای اسپورهای *C.botulinum* در فرآورده‌های نگهداری شده از طریق حرارت، آنقدر کم است که نمونه‌برداری و آزمایش فرآورده‌های نهایی برای اطمینان سازی سلامتی فرآورده لازم نیست. در حقیقت، غیر ممکن است که در حجم زیادی از فرآورده‌های که احتمال استریل نشدن برای هر یک از ظروف کمتر یا مساوی $۱۰^{-۱۲}$, است، جدول ۱-۴ نشان می‌دهد که احتمال یافتن حداقل یک ظرف غیر استریل در یک نمونه تصادفی با تعداد N در رابطه است با N و با درصد ظروف غیر استریل در تعداد ظروف فرآوری شده. برای مثال، اگر این درصد ۰/۰۱٪ ($۱۰^{-۴}$) باشد، احتمال یافتن یک ظرف غیر استریل در نمونه حاوی ۱۰۰۰۰ ظرف فقط ۰/۶۳ است.

جدول ۱-٤: احتمال یافتن حداقل یک ظرف غیر استریل در یک نمونه به تعداد N

مأخذ (*Pflug* ، *1980*)

٪ قوطی‌های استریل نشده در نمونه	تعداد نمونه در نمونه برداری تصادفی						
	۱۰	۲۰	۵۰	۱۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰۰
۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱۰۰	۰/۰۰۰۲۰۰	۰/۰۰۰۵۰۰	۰/۰۰۱۰۰۰	۰/۰۰۴۹۸۸	۰/۰۰۰۹۸۸۵	۰/۰۹۵۱۶٤
۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۲۰۰	۰/۰۰۰٤۰۰	۰/۰۰۱۰۰۰	۰/۰۰۱۹۹۸	۰/۰۰۹۹۵۰	۰/۰۱۹۸۰۲	۰/۱۸۱۲۷۱
۰/۰۰۵	۰/۰۰۰۵۰۰	۰/۰۰۱۰۰	۰/۰۰۲٤۹۷	۰/۰۰٤۹۸۸	۰/۰۲٤٦۹۱	۰/۰٤۸۷۷۲	۰/۳۹۳٤۷۷
۰/۰۱	۰/۰۰۱۰۰۰	۰/۰۰۱۹۹۸	۰/۰۰٤۹۸۸	۰/۰۰۹۹۵۱	۰/۰٤۸۷۷۳	۰/۰۹۵۱٦۷	۰/٦۳۲۱۳۹
۰/۰۲	۰/۰۰۱۹۹۸	۰/۰۰۳۹۹۲	۰/۰۰۹۹۵۱	۰/۰۱۹۸۰۳	۰/۰۹۵۱۷۲	۰/۱۸۱۲۸٦	۰/۸٦٤٦۹۲
۰/۰۵	۰/۰۰٤۹۸۹	۰/۰۰۹۹۵۳	۰/۰۲٤٦۹٦	۰/۰٤۸۷۸۲	۰/۲۲۱۲٤۸	۰/۳۹۳۵٤۵	۰/۹۹۳۲۷۰
۰/۱	۰/۰۰۹۹۵۵	۰/۰۱۹۸۱۱	۰/۰٤۸۷۹٤	۰/۰۹۵۲۰۸	۰/۳۹۳٦۲۱	۰/٦۳۲۳۰۵	۰/۹۹۹۹۵۵
۰/۲	۰/۰۱۸۹۲۱	۰/۰۳۹۲٤۹	۰۹۵۲۵۳۰	۰/۱۸۱٤۳۳	۰/٦۳۲٤۸۹	۰/۸٦٤۹۳۵	۱/۰۰۰۰۰۰
۰/۵	۰/۰٤۸۸۹۰	۰/۰۹۵۳۹۰	۰/۲۲۱٦۸۷	۰/۳۹٤۲۳۰	۰/۹۱۸٤۲۸	۰/۹۹۳۳٤٦	۱/۰۰۰۰۰۰
۱	۰/۰۹۵٦۱۸	۰/۱۸۲۰۹۳	۰/۳۹٤۹۹٤	۰/٦۳۳۹٦۸	۰/۹۹۳٤۳۰	۰/۹۹۹۹۵۷	۱/۰۰۰۰۰۰
۲	۰/۱۸۲۹۲۷	۰/۳۳۳۳۹۲	۰/٦۳۵۸۳۰	۰/۸٦۷۳۸۰	۰/۹۹۹۹۵۹	۱/۰۰۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰۰۰
۵	۰/٤۰۱۲٦۳	۰/٦٤۱۵۱٤	۰/۹۲۳۰۵۵	۰/۹۹٤۰۷۹	۱/۰۰۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰۰۰
۱۰	۰/٦۵۱۳۲۲	۰/۸۷۸٤۲۳	۰/۹۹٤۸٤٦	۰/۹۹۹۹۷۳	۱/۰۰۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰۰۰

این احتمال، براساس توزیع پویسون[1] که خیلی کم (۹۵٪) و برای درصد از ظروف غیر استریل برابر با ۰/۰۰۱٪ ($۱۰^{-۵}$) است و تقریباً برابر صفر برای درصدی معادل ۰/۰۰۰۱٪ ($۱۰^{-۶}$) می‌باشد. با توجه به این اطلاعات، از نظر قانونی می‌توان از علت نمونه‌برداری و تجزیه واندازه‌گیری فرآورده نهایی که توسط اتحادیه اروپا درخواست می‌شود سؤال بعمل آورد (EEC, ۱۹۹۱). نمونه‌برداری از فرآورده نهایی که چندان قابل اعتماد نمی‌باشد بلکه در زمانی که نتایج کنترل نشان می‌دهد که نمونه‌ها از نظر تجاری استریل هستند خیلی نگران کننده می‌باشد زیرا یک اطمینان بی پایه‌ای را بوجود می‌آورد.

۲-۲-۴- در نظر گرفتن عوامل فساد

علاوه بر باکتری‌های بیماریزا، صنعت کنسرو ماهی باید حداکثر تعداد قابل قبول اسپور باکتری‌های عامل فساد را تعریف نماید در غیر این صورت بقاء تجارت کنسروسازی در خطر خواهد افتاد. در این مورد فرآیند ۵D برای اسپورهای غیر بیماری‌زا مزوفیلیک C.sporogenes Pa۳۶۷۹ که مقاومترین گونه مثبت به حرارت است کافی می‌باشد.

در عمل غذاهای دریائی کنسرو شده بیشتر از حداقل فرآیند موسوم به پخت بوتولیسم مورد نیاز فرآوری می‌شوند، چون بعضی از گونه‌های باکتری‌های مزوفیلیک قادر به تحمل حرارتی بیش از مقدار پخت بوتولیسم را دارند. تعداد قابل قبول اسپور باکتری‌های گرمادوست غیر بیماری زا $۱۰^{-۲}$ تا $۱۰^{-۳}$ در هر قوطی (۲D یا ۳D) است. این تعداد از آنجائیکه مربوط به اسپورهای باکتری‌های گرمادوست است قابل قبول می‌باشد، زیرا که این باکتری‌های گرمادوست بیماریزا نبوده و اگر غذائی کنسرو شده در درجه حرارتی زیر ۳۵ سانتیگراد ($<۳۵C^{\circ}$) نگهداری شوند، باکتری‌های باقیمانده قادر به تکثیر و رشد نمی‌باشند. در حال حاضر کارخانه داران در صنعت کنسروماهی از فرآیندهای حرارتی $Fo=۵$ تا $Fo=۲۰$ دقیقه با توجه به نوع کنسرو مورد نظر استفاده می‌کنند. مفهوم Fo استریل کردن برحسب زمان است و به این ترتیب تعریف می‌شود. مدت زمانی است که برحسب دقیقه به ظرف کنسرو حاوی غذا در $T=۱۲۱/۱$ درجه سانتیگراد حرارت داده می‌شود که با استفاده از ارزش z برابر $۱۰C^{\circ}$ محاسبه می‌شود. ارزش z عبارت از مقدار افزایش درجه حرارتی می‌باشد که برای کاهش D به ده برابر لازم می‌باشد. پائین آوردن F_{os} باعث تولید فرآورده‌ای سالمتر از نظر میکروبی، با زمان ماندگاری بیشتر و بدون لطمه زدن به طعم، قوام، رنگ و یا ارزش تغذیه‌ای فرآورده کنسرو شده می‌گردد.

[1] - Poisson Dis tribution

۳-۴- قوانین لازم

ملاحظات تئوریک ذکر شده در بالا، شبهات زیادی در مورد نمونه‌برداری و تجزیه واندازه‌گیری فرآورده نهـایی را نشان می‌دهد که در نتیجه این روش جهت اطمینان سازی از سلامتی کنسرو ماهی قابل اتکا نمی‌باشد. علاوه بر آن، شیوع زیاد بوتولیسم ناشی از غذاهای کنسروشده در سال ۱۹۶۰ منجر به اتخـاذ قـوانین و اسـناد مربـوط بـه کنترل غذا شد و صنعت کنسرو ماهی در اوایل دهۀ ۱۹۷۰ از راهکارهای کیفی و سلامتی غذا ارائه شـد از طـرف در سازمان بین‌المللی کنترل عمل (Code of practice) برای انجام عملیات مناسب تولید (GMP) در اصـول حصپ استقبال کرد. مسئولین کنترل غذا، قوانینی را تنظیم کرده‌اند کـه بایـد بـه اجـرا گذاشـته شـوند. (EEC, 1994, FDA, 1997) سازمانهای بین‌المللی، مثل کمیسیون کدس FAO/WHO (CAC)[1] از این قـوانین حمایت کرده و مراحل زیر را برای انجام آنها ضروری می‌دانند:

۱. تولید کنسرو باید در کارخانه هایی که دارای مجوز معتبر برای آماده سازی و فرآوری هستند تولید گردند.
۲. گرفتن مجوز تعمیر برای تولید کنسرو. حداقل نیازهایی برای گرفتن مجوز شـامل، طـرح مـورد قبـول بـرای احداث ساختمان، طراح خط تولیید، ماشین آلات مورد نیاز، امکانات بهداشـتی بـرای افـراد مشـغول بـه کـار، داشتن افراد با مهارت و تحصیلات لازم و بهداشتی بودن کارخانه می‌باشد.
۳. مسئولین کارخانه مسئول اجراء و بکار گرفتن برنامه‌های کنترل کیفیـت براسـاس قـوانین حصـپ کـه بـرای کارخانه‌های کنسرو تهیه شده‌اند می‌باشند.
۴. مسئولین اداره نظارت بر کنترل مواد غذائی و طبقه دارند که صحت کار کارخانه‌های تولید کنسرو را براسـاس قوانین کنترل کیفیت مواد غذائی که برپایه قوانین حصپ مـی‌باشـند را پـس از بازرسـی از کارخانـه تأییـد و عملیات بازرسی را براساس برنامه داده شده توسط HACCP مرتباً پیگیری نمایند.

در مورد کنترل و نظارت بر کارکارخانه‌های مواد غذائی، کامل ترین قوانین مربوط به FDA در آمریکا می‌باشـد. پایه گذار این قوانین انجمن کنسروسـازان آمریکـا هسـتند. FAD در سـال ۱۹۷۱ دسـتورالعملی بنـام Better Process Control (BPC) را معرفی و به اجراء گذاشت. این برنامـه براسـاس قـوانین GMP در بنـد ۲۱ از CFR قسمت ۱۰۸ تحت عنوان اجازه برای کنترل‌های فـوری Emergency Permit Control و بنـد ۱۱۳ تحت عنوان: غذاهای کم اسید فرآیند شده از طریق حرارت، که ظروف حـاوی آنهـا تحـت فشـار تجـار اسـتریل تجارتی می‌شوند آورده شد. این قانون در ژانویه ۱۹۷۳ به اجراء گذاشته شد. چند سال بعـد نگرانـی هـایی دربـاره

[1] - Codex Alimentarius Commission

خطر بوتولیسم در غذاهای حساس به حرارت با اسیدیته پائین $(pH > ۴/۷)$ که به آنها اسید خوراکی برای بالا بردن اسیدیته آنها اضافه می‌گردید، به توان از حرارت پائین تر، برای فرآیند حرارتی استفاده نمود، موجب گردید که مسئولین FDA یک بند دیگر به قوانین GMP بنام بند ۱۱۴ برای غذاهای اسیدی شده (Part 114 for Acidified Food)[1] که از ماه may ، ۱۹۷۹ قانونی شد به اجراء بگذارند.

قوانین طرح US BPC مسئولیت تولید کنسرو سالم را وظیفه تمام افرادی که در کارخانه کنسرو کار می‌کنند می‌داند. این برنامه می‌خواهد که افرادی که کارشان انجام فرآیند حرارتی و بسته بندی می‌باشد، باید زیر نظر فردی که یک دوره کامل در یک مدرسه آموزشی مورد تأیید مسئولین FDA را گذرانده، کار نمایند. مدرسه مربوط به BPC یک موسسه آموزشی است که با مشارکت دانشگاه، FDA و کارشناسان با تجربه صنعت به آموزش کارگران و کارشناسان مشغول بکار در صنعت غذا اقدام می‌نماید. اخیراً مسئولین FDA اقدام به تأسیس مدرسه BPC در کشورهای آفریقائی، آمریکای لاتین و جنوب شرق آسیا نموده است. به موازات اینفعالیت ها، کارخانه داران، تولید کنسرو، از طریق انجمن کنسروسازان در اروپا و آمریکا، تحقیقاتی را در زمینه فرآیندهای حرارتی و دستگاه‌های دربندی ظروف انجام می‌دهند و نتایج این پیشرفت‌های تکنولوژیکی و پارامترهای سلامتی که موجب اطمینان بیشتر در تولید کنسرو بهتر، سالم‌تر و مطمئن‌تر می‌گردد) به اطلاع دیگر کارخانه داران می‌رسانند.

۴-۴- خطرها در کنسروماهی

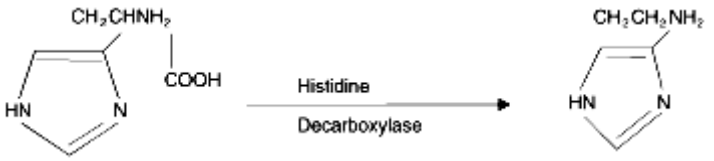
ماهی کنسرو شده یک فرآورده با یک ضریب اطمینان بالا و مورد علاقه مردم است. مهمترین خطرات بیولوژیک کنسرو ماهی که نیاز به پیشگیری با استفاده از طرح حصپ دارد شامل بوتولیسم، مسمومیت هیستامین و مسمومیت با توکسین باکتری Staphylococcus است. (Ababouch, 1995 و Huss, 1994). خطرات شیمیایی به دلیل آلودگی ماهی، با فلزات سنگین مثل جیوه، سرب یا قلع باعث نگرانی کمتر در میان کارخانه‌داران در صنعت کنسروماهی می‌باشد. آلودگی با جیوه، سرب و کادمیم در محیط‌های آبی انجام می‌شود و باید توسط قوانین کنترل غذایی و از طریق مسئولین کنترل کننده‌های ملی (محیط‌های آبی انجام شود. چندین نشریه جامع در مورد این خطرات، عوامل مسببشان و اکولوژی آنها در دسترس هستند (1996, FDA, 2001

[1] - Better Process Control

Jouve, و Huss, 1994). این اطلاعات مشخص به‌عنوان زمینه‌ای برای کاربرد نظام حصپ در صنعت کنسرو ماهی گزارش می‌شود.

۱-۴-۴- مسمومیت هیستامین

مسمومیت با هیستامین به‌عنوان یک مسمومیت شیمیایی است که از چند دقیقه تا چند ساعت پس از خوردن غذاهایی که حاوی مقدار بالایی از هیستامین می‌باشند اتفاق می‌افتد. (Toylor, 1986). هیستامین در غذا به‌علت دکربوکسیلاسیون هستیدین ایجاد می‌شود (شکل ۱-۴). این واکنش به وسیله آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز که در بعضی از گونه‌های باکتریائی یافت می‌شود کاتالیز می‌شود. این باکتریها شامل گونه‌های مختلف انتروباکتریاسه، Clostridium، Vibrio photobacterium, و Lactobacillus می‌باشند. اما همهٔ سویه‌های مشخص مثل گونه Morganella morgani هم، هیستیدین دکربوکسیلاز نیز می‌باشند، در حالیکه این آنزیم فقط در تعداد محدودی از سویه‌های دیگر گونه‌ها مثل *Klebsiell pneumoniae* و *Lactobacillus buchneri* وجود دارد. حضور بیشتر این باکتریها در مواد غذائی اغلب به خاطر حمل و نقل و عملیات غیربهداشتی مواد غذایی می‌باشد.



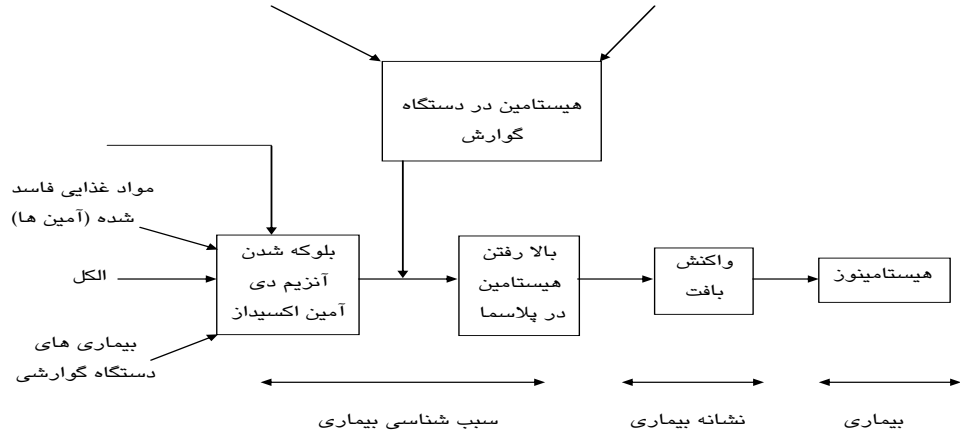
شکل ۱-۴ تشکیل هیستامین

ماهی به‌طور کلی، کنسرو ماهی بخصوص، در زمره مواد غذایی می‌باشد که امکان شیوع مسمومیت هیستامین در آن باشد است. این مسئله بیشتر به خاطر استفاده از گونه‌های ماهی نظیر تن ماهیان، ماکرل و ساردین[1] ساری، شیرماهی[2] و ماهی – ماهی[3] می‌باشد که حاوی مقادیر زیادی هیستیدین آزاد در بافت ماهیچه-

[1] - Saury
[2] - Seer Fish
[3] - Mahi-Mahi

ای‌شان هستند که به‌عنوان یک سوبسترا مناسب برای فعالیت آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز است. علاوه بر آن، تجزیه پروتئین، به وسیله اتولیز و یا باکتری، ممکن است نقش مهمی‌در آزاد کردن هیستیدین از پروتئین‌های بافتی ایفا کند. در حقیقت از نظر تاریخی، مسمومیت هیستامین به‌عنوان مسمومیت اسکومبرتوکسین در تن ماهیان (Scombrotoxin) خوانده شد زیرا علت اصلی شیوع و تداوم این بیماری با مصرف تن ماهیان فاسد شده مثل تن و ماکرل اتفاق می‌افتاد.

علیرغم شواهدی زیادی که نشان می‌دهد هیستامین عامل اصلی در ایجاد شیوع بسیاری از مسمومیت‌های غذایی بوده است، ولی عملاً در تحقیقاتی که بوسیله خوراندن هیستامین خالص به افراد داوطلب توسط پژوهشگران انجام شده تاکنون آنها موفق به ایجاد بیماری در داوطلبین نشده اند. درصورتیکه این بیماری در افرادی که کنسرو های فاسدماهی با داشتن دوزهای خیل پایین ازهیستامین دیده می شود. این نتایج، این احتمال را بوجود آورده است که علت این بیماری بوسیله ماهی به دلیل وجود تقویت کننده های هیستامین در ماهی فاسد است. این تقویت کننده‌ها اثر هیستامین با کاهش حد آستانه دوز هیستامین باعث ایجاد مسمومیت بوسیله هیستامین در انسان می‌گردند. موادی که به‌عنوان تقویت کننده‌ها اثر هیستامین که معرفی شده‌اند شامل تری متیل آمین، تری متیل آمین اکسید، اگماتین، پوترسین، کاداورین، آنسرین، اسپرمین و اسپرمیدین می‌باشند. دیگر تقویت کننده‌ها شامل بعضی مواد داروئی مثل دی آمین اکسیداز، مصرف زیاد الکل و بیماری مخصوص کبد (سیروز کبدی)، خونریزی قسمت بالایی روده و رشد بیش از حد باکتری در روده و بعضی از محدود کننده-های دی آمین اکسیداز می‌باشند. (شکل ۲-۴).



شکل ۲-۴- سیر بیماری هیستامینوز به‌علت وجود هیستامین در مواد غذایی

تقویت سمیت هیستامین احتمالاً به وسیله جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های متابولیزه کنندهٔ هیستامین، موجود در لوله گوارش به نام‌های دی آمین اکسیداز [۱](DAO) و N ـ متیل ترانسفرازهیستامین [۲](HMT) می‌باشد. HMT برای هیستامین خیلی انتخابی عمل می‌کند در حالیکه DAO دی آمین‌های دیگری را نظیر پوترسین را نیز اکسید می‌کند. در غیاب این تقویت کننده‌ها، این آنزیم‌ها هیستامین را متابولیزه می‌کنند و از جذب آن توسط جریان خون جلوگیری می‌کنند.

ممانعت از تجمع هیستامین در غذا، مخصوصاً در ماهی‌های مورد استفاده در کنسرو ماهی، بستگی به سرعت سرد کردن ماهی بعد از صید دارد، زیرا بیشتر باکتری‌های تولید کنندهٔ هیستامین مزوفیل هستند بنابراین ماهی باید در $5^{\circ}C >$ نگهداری و انبار شود.سرد کردن ماهی و استفاده از دستورات بهداشتی مناسب برای کنترل تولید هیستامین ضروری است. در مورد ماهیان کوچک پلاژیک مثل ساردین، ماکرل و آنچوی که میزان صید آنها بسیار زیاد است و به‌علت‌اندازهٔ کوچک ماهیان یخ‌گذاری آنها عملی نیست، این ماهی‌ها باید به سرعت با استفاده از آب سرد شدهٔ دریا سرد شود. این مسئله اغلب در بسیاری از کشورها عمل نمی‌شود. از مشکلی ایجاد نمی‌کند چون کنسروسازان قبل از اینکه ماهیان را وارد خط تولید کنند آزمایش هیستامین روی آن‌ها انجام می‌دهند.

[1] Diamine oxydaze
[2] Histamine-N-methyl transforaz

۲-۴-۴- بوتولیسم

بوتولیسم یک بیماری فلج کننده سیستم عصبی است که با مصرف غذاهایی که حاوی این توکسین‌ها هستند و به وسیله سویه‌های C. botulinum تولید می‌شود، بروز می‌کند. بوتولیسم ناشی از مصرف ماهی از سال ۱۸۱۸ در منابع روسی ثبت شده است و برای اولین بار در آمریکا در سال ۱۸۹۹ گزارش شد (Bryan, 1986).

ارتباط نزدیک بوتولیسم نوع E با فرآورده‌های ماهی از مدت‌ها قبل مشخص شده است. همهٔ موارد گزارش شده بوتولیسم نوع E تا سال ۱۹۸۰، به جز سه تا، به وسیله فرآورده‌های تولیدی از ماهی آب شیرین یا دریایی و یا پستانداران دریائی ایجاد شده است (Huss 1982,). اما، به هر صورت ماهی ممکن است حامل انواع توکسین‌های دیگر هم باشد. در حقیقت، چندین محقق گزارش کردند که بوتولیسم نوع E فقط ٪۷۰ ـ ۲۰ از شیوع بوتولیسم ایجاد شده به وسیلهٔ فرآورده‌های دریائی را شامل می‌شود در حالیکه نوع A ٪۴۴ ـ ۲۱ و نوع B ٪۸۰ ـ ۹ را شامل می‌شوند (Huss, 1981). ماهی کنسرو شده درصد بسیار کمی‌از شیوع بوتولیسم در فرآورده‌های شیلاتی را باعث می‌شود. از ۱۶۵ مورد شیوع تشخیص داده شده توسط(1981) Huss از آمریکا،کانادا، ژاپن، شوروی سابق و اسکاندیناوی فقط ۵ شیوع یا (٪۳) مربوط به ماهی کنسرو شده بود. دو دلیل عمدهٔ بقا و تولید توکسین توسط C.botulinum در غذاهای دریائی کنسروشده استفاده از درجه حرارت پائین و نحوهٔ فرآوری نامناسب در زمان تولید و آلودگی ثانوی پس از پایان فرآوری است. (Pflug , 1980)

استریلیزاسیون ناقص می‌تواند در نتیجه طراحی فرآیند نامناسب (استریلیزاسیون) حرارت‌دهی یا عدم انجام فرآیند طراحی شده به خاطر اشتباه افراد و یا نقص در تجهیزات باشد. برای جلوگیری استریلزاسیون ناقص همه پارامترهایی که در طراحی و ارائه فرآیند حرارت‌دهی مؤثر هستند باید به روشنی تعریف و کنترل شوند. در بعضی کشورها، شرکت‌های کنسروسازی غذاهای دریائی, باید احداث کارخانه را به ثبت مراجع قانونی برسانند و باید همچنین برنامه فرآیند طراحی شده‌شان را ثبت کنند. مراجع قانونی، چند فاکتور را مشخص کرده‌اند و که یک لیست از برنامه کنترل فرآیند مناسب برای کنسروسازی ارائه می‌دهد. این لیست مفیدی می‌باشد برای کنسروسازانی که مایل به تولید کنسرو جدید هستند یا، فرآیندهای موجود را می‌خواهند اصلاح و یا می‌خواهند روش‌های موجود را کنترل نمایند چگونگی اینکار را ارائه می‌دهند. هدفمند کردن فرآیندها نیاز به جمع‌آوری اطلاعات در مورد ابعاد قوطی، مقدار Fo هدف، درجه حرارت فرآیند، زمان فرآیند، درجه حرارت اولیه محصول، وزن فرآورده جهت پرکردن در قوطی، یکنواختی محصول، نسبت مایعات به جامدات واندازهٔ قطعه‌ها، روش بسته-بندی، نحوه گذاشتن قوطی ها در اتوکلاو, یا سبدهای اتوکلاو تعداد سبدها و اتوکلاو، عملیات اتوکلاو کردن (مثل خارج کردن مایع‌ها و یا خارج کردن هوا) و روش سرد کردن دارد (Warne , 1988).

آلودگی ثانوی پس از فرآیند نتیجه درزبندی نادرست، آب سرد آلوده برای سرد کردن و صدمه دیدن قوطی‌ها در هنگام حمل و نقل می‌باشد. بوتولیسم یک حادثه بسیار نادر است که می‌تواند به‌طور تصادفی به احتمال بسیار کم ($۳/۸ \times ۱۰^{-۱۲}$) اتفاق بیفتد که این احتمال با خطر ناشی از فرآیند حرارتی در غذاهای کم اسید قابل قبول و مقایسه می‌باشد. برای جلوگیری از آلودگی پس از فرآیند، بایداندازه‌گیریهای مناسب برای کنترل عملیات دربندی مضاعف، ضدعفونی آب سرد کننده و حمل و نقل صحیح قوطی‌های استریلیزه شده مورد بازرسی قرار گیرد.

۳-۴-۴- *خطرات دیگر*

خطرات دیگر که به ندرت در ارتباط با کنسرو ماهی ایجاد می‌شوند شامل بیماریهای مرتبط با غذا به خاطر آلودگی پس از فرآوری است که عمدتاً شامل مسمومیت با توکسین Staphylococcus[1] (SEP) است (Smelt and Mossel , 1982) یا خطر مسمومیت با فلزات سنگین مثل جیوه، سرب و قلع است. (Sainclivier , 1982).

در ابتداء دهه ۱۹۶۰، چند مورد شیوع SEP ناشی از ماهی کنسرو شده در فرانسه اتفاق افتاد و باعث شد تا تحقیق برای ارزیابی صحت فرآیندهای حرارتی استفاده شده در صنعت کنسرو ماهی شتاب بگیرد (Thuillot *et al* ., 1964,1968). پژوهشگران نتیجه گرفتند که باکتری S.aureus نمی‌تواند در فرآیندهای حرارت‌دهی تجاری بکار برده شده زنده بماند و نتایج تحقیقات نشان داد که وجود این میکروارگانیسم در ساردین کنسرو شده به خاطر آلودگی پس از فرآوری است. پژوهشکران دیگر پیشنهاد کرد که فرآیند حرارتی در خط تولید علت عمده برای زنده‌مان S.aureus در کنسرو ماهی آلوده می‌باشد و احتمالاً به خاطر محفوظ ماندن باکتری از تأثیرکشنده گرما به وسیلهٔ روغن به کار رفته در کنسرو ماهی بوده است (,1992 Ababouch).

آلودگی پس از فرآوری بوسیله باکتری‌های دیگر در غذاهای دریائی کنسرو شده را می‌توان با به کارگیری قوانین مشابه که برای جلوگیری از آلودگی پس از فرآوری با *C.botulinum* توصیه شده، جلوگیری نمود.

خطرات شیمیائی، به خصوص مواد شیمیائی سمی‌ممکن است در بافت‌های ماهی و دیگر گونه‌های آبزی شکارچی در نتیجهٔ تراکم این مواد شیمیائی در بدن این آبزیان که در سطوح غذایی بالاتر در زنجیرهٔ غذایی قرار

---

[1] - Staphylococcus Enteroloxin po

دادند یافت شوند. این پدیده در اصطلاح زیستی (Biomagnification) نامیده می‌شود. مواد شیمیائی در بافت ماهی در نتیجه تجمع زیستی (Bioaccumulation) می‌تواند یافت شوند، که عبارت است از ازدیاد مواد شیمیائی در بافت بدن که بتدریج در طول زندگی ماهی در بدن آن افزایش می‌یابد. بنابراین ماهیان مسن‌تر حاوی مقادیر بیشتری از مواد شیمیائی نسبت به ماهیان جوانتر در گونه‌های مشابه خواهند بود (Huss , 1994).

شیوع مسمومیت با متیل جیوه که در سال ۱۹۵۳ که در میناماتای ژاپن اتفاق افتاد منجر به مرگ ۴۴ نفر، ۱۱۱ مورد اختلال شدید بینائی، شنوایی و صدمه به مغز افراد شد. (Sainclivier , 1983). این شیوع باعث پژوهش‌های زیادی برای ارزیابی مقدار فلزات سنگین در اقیانوس‌ها گردید. این تحقیقات نشان دادند که مقدار طبیعی جیوه در اقیانوس‌ها ۰/۰۲ ـ ۰/۰۱ در بیلیون (ppb)، در آب دریا بطور معنی‌داری تغییر نکرده است (Huss , 1988). همچنین یک گروه کارشناس FAO/WHO میزان قابل تحمل جذب هفتگی ۰/۲ میلی گرم متیل جیوه را برای هر شخص پیشنهاد کرده‌اند. این مسئله باعث شد تا چند کشور مقدار قابل قبول ۰/۵ تا ۱ در میلیون (ppm) جیوه در ماهی را به اجراء بگذارند (EEC , 1991 و Sainclivier , 1983).

مواد شیمیائی دیگر که تهدید کنندهٔ سلامتی غذاهای دریائی کنسرو شده می‌باشند شامل سرب و قلع هستند (EEC , 1991). سرب در قوطی‌های دربندی شده بواسطهٔ لحیم جانبی وجود دارد. اگر چه خیلی بعید است، ولی امکان نفوذ سرب از درزبندی به محتویات درون قوطی در شرایط اسیدی وجود دارد و در نهایت باعث آلودگی غذا می‌شود. قلع از نظر خطرناکی به حدّ جیوه و سرب نمی‌رسد. قلع غذاهای کنسرو شده را در نتیجه خوردگی قوطی‌ها, قلع‌اندود شده آلوده می‌سازد. بنابراین، لعاب‌اندود کردن قوطی‌ها، برای حفاظت بهتر در مقابل خوردگی، ازآلوده شدن غذا به قطع جلوگیری می‌کند. از طرف دیگر، خطر آلودگی غذا به وسیله قلع در حال کاهش است زیرا که صنعت کنسروسازی امروزه هر چه بیشتر از آلیاژهای آلومینیم، استیل بدون قلع و از دیگر مواد بدون قلع برای تولید قوطی استفاده می‌کند. (Warne, 1988; Larouss, 1991).

۵-۴- فساد در کنسرو ماهی

فساد در کنسرو ماهی معمولاً به وسیله نشت، تورم قوطی و یا بو و ظاهر غیر عادی قوطی مشخص می‌شود. در بعضی موارد، وجود باکتری‌های تولید کننده توکسین‌های میکروبی (عامل مسمومیت غذایی) با علائم مشهود داخلی یا خارجی فساد همراه نمی‌باشد. چهار عامل می‌تواند منجر به فساد در غذاهای کنسرو شده شوند:

۱- فساد اولیه که قبل از اینکه فرآورده بوسیلهٔ فرآیند حرارت فرآوری شود رخ می‌دهد.

۲- عملیات فرآیند حرارتی غیر استاندارد

۳- فساد به‌علت فعالیت باکتری‌های گرمادوست

۴- فساد پس از فرآوری

۱-۵-۴- *فساد اولیه*

فساد اولیه، قبل از اینکه ماده اولیه یا مواد افزودنی بوسیلهٔ حرارت فرآوری شوند رخ می‌دهد. این فرآیند ممکن است به وسیله فعالیت باکتریایی یا آنزیمی‌انجام شود که باعث تجمع گاز، تغییر بو و حضور تعداد زیادی سلول‌های باکتری مرده در فرآورده نهایی می‌شود. اگر میکروارگانیسم‌های مسئول این پدیده ها بیماریزا باشند مثل Staphylococcus aureus، و باکتری‌های تولیدکنندهٔ هیستامین، تولید توکسین‌های مقاوم به گرما می‌کنند که به‌طور مؤثری به وسیلهٔ فرآیندهای حرارتی از بین نخواهند رفت و در نهایت موجب مسمومیت غذایی خواهند شد.

ماهی‌های آورده شده به کارخانه، معمولاً حاوی $۱۰^{۷}$ باکتری در گرم یا بالاتر می‌باشند، این پدیده (غیرمعمول نیست. میکروارگانیسم‌های موجود در ماهی، معمولاً میکروارگانیسم‌های می‌باشند که در محل زندگی ماهی، مثل گیاهان، خاک و آب رشد می‌کنند این منابع بیشتر بعلت وجود میکروارگانیسم‌های یافت شده در ماهی خام مورد استفاده برای تولید کنسرو می‌باشند. آلودگی بیشتر ماهی به باکتری می‌تواند از سطوح در تماس با ماهی در زمان صید و حمل و نقل، آب مورد استفاده برای شست و شو، کارگران فرآوری و مواد افزودنی مورد استفاده مثل شکر، نمک، شربت، نشاسته، چاشنی و غیره ناشی شود. نوع و تعداد این میکروارگانیسم‌ها می‌تواند به مقدار زیاد به وسیله عملیات مختلف فرآوری قبل از اینکه ماهی از طریق حرارت فرآوری شود تحت تأثیر قرار می‌گیرد. ماهیانی که در کنسروسازی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در ابتدا برای پاک کردن خون، مواد لزج و دیگر مواد خارجی شسته می‌شوند. شستن اغلب تا ۹۰٪ بار میکروبی سطحی را حذف می‌کند. در این مرحله فقط باید از

آب با کیفیت میکروبیولوژیکی قابل قبول استفاده شود. کلر زنی به آب تا مقدار ۴ppm ـ ۱ کلر باقیمانده برای این هدف بسیار مفید است (1991و Ababouch). عملیات آماده‌سازی مثل سرزنی و تخلیه شکمی، بافت ماهی را آلوده به میکروب‌ها می‌کند و اگر تاخیر و تعلل در این مرحله زیاد باشد رشد میکروبها را تسریع می‌کند و در نهایت منجر به فساد گوشت ماهی می‌شود بخصوص اگر درجه حرارت محیط بالا باشد زیرا در این شرایط رشد باکتریها تشدید خواهد شد.

پخت اولیه ماهی، میکروارگانیسم‌های حساس به گرما، مثل باکتری‌های رویشی، اسپورهای حساس به حرارت مثل اسپورهای *C.botulinum* گونه E، مخمرها و قارچها را غیر فعال خواهد ساخت. به هر صورت، ارگانیسم‌های مقاوم به حرارت مخصوصاً اسپورهای *C .botulinum* نوع A و B و اسپورهای باکتری‌های گرمادوست در فرآیند پخت اولیه زنده خواهد ماند. مراقبت زیاد و صحیح بهداشتی در زمان مراحل مختلف فرآوری باید، اعمال شود و از طولانی کردن و یا به تأخیرانداختن مراحل مختلف آماده سازی ماهی باید اجتناب کرد، در غیر این صورت آلودگی به وسیله میکروارگانیسم‌هایی مثل *S.aureus* ممکن است منجر به فساد و ایجاد و جمع‌شدن توکسین‌های مقاوم به حرارت شود که در طول فرآیند حرارتی غیر فعال نخواهند شد.

۲-۵-۴- فرآیند حرارتی غیر استاندارد[1]

فرآیند حرارتی ناقص (گاهی به نام استریلیزاسیون ناکافی هم خوانده می‌شود) بدین معنی است که فرآورده در زمان فرآیند حرارتی، حرارت استاندارد کافی برای استریل شدن تجارتی را دریافت نمی‌کند. این نقص اغلب به صورت زنده ماندن اسپورهای باکتری ها در نمونه گیری مشخص می‌شود، چرا که اسپورها این باکتری‌ها در برابر فرآیند حرارتی ناکافی از بین نمی روند. در حالی که باکتری‌های رویشی، مخمرها و قارچها از بین خواهند رفت. دلایل، نتایج و روش‌های پیشگیری از فرآیند حرارتی غیر استاندارد در بخش ۴-۴ توضیح داده شده است.

۳-۵-۴- فساد به‌علت باکتریهای گرمادوست

فساد ناشی از باکتری‌های گرمادوست وقتی اتفاق می‌افتد که شرایط درجه حرارت ـ زمان برای رشد باکتری‌های گرمادوست مناسب باشد. این ارگانیسم‌ها بیماریزا نیستند. آنها به‌طور طبیعی در خاک و رسوبات وجود دارند و اسپورهای آنها معمولاً به تعداد کم از فرآورده‌های غذایی استریل شده تجارتی جدا شده‌اند. تعداد این باکتریها در

[1]- Underprocessing

صورتی در فرآوردهایی که از موادی مثل نشاسته، شکر و یا چاشنی درآنها استفاده شود چون معمولاً این مواد حاوی مقادیر زیادی از اسپورهای این باکتریها می باشند. لذا در فرآورده تولیدی تعداد اسپور اینگونه باکتری ها افزایش نشان خواهد داد.

باکتری‌های گرمادوست می‌توانند در غذاهای کنسرو شده رشد کنند، که اگر قوطی‌های استریل شده در درجه حرارت محیطی سرد بشوند و یا اینکه قوطی های کنسرو شده برای سردشدن در درجه حرارت بالای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. در مورد اول، سردسازی قوطی خیلی کند انجام می‌شود و درجه حرارت قوطی‌ها در محدودهٔ ۷۵- ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت طولانی باقی می‌ماند و این تاخیر در سردشدن قوطی باعث می‌شود تا رشد باکتری‌های گرمادوست افزایش یابد. اما، امروزه این پدیده خیلی بندرت اتفاق می‌افتد. چون بیشتر اتوکلاوها به دستگاههای سرد کنندهٔ سریع برای سرد سازی قوطی‌ها مجهز می‌باشند.

پیشگیری از فساد توسط باکتری‌های گرمادوست می‌تواند با سرد سازی قوطی‌های اتوکلاو شده و رساندن درجه حرارت به زیر $(۴۰^{\circ}C)$ و نگهداری فرآورده نهایی در انبار با درجه حرارت کمتر از ۳۵ درجه سانتی‌گراد برای جلوگیری از رشد باکتری‌های زنده گرمادوست باقی‌مانده به دست آید. همچنین، شست وشوی کامل مواد خام برای حذف رسوبات و پیشگیری از آلودگی مجدد با خاک یا دیگر منابع باکتری‌های گرمادوست در طول عملیات آماده‌سازی خیلی مهم است. وقتی که از موادی مثل شکر، نشاسته و چاشنی‌ها استفاده می‌شوند، تولیدکنندگان باید خیلی دقت کنند که این مواد حاوی تعداد زیادی اسپورهای باکتری‌های گرمادوست نباشند.

۴-۵-۴- آلودگی پس از فرآوری

آلودگی پس از فرآوری به‌علت نشت باکتری‌های عامل فساد بعد از استریلیزاسیون حرارتی به دلیل عدم دربندی و درزبندی صحیح قوطی رخ می‌دهد. این نوع آلودگی از نظر اقتصادی مهم است، چون حدود ۸۰٪ ـ ۶۰ از فساد غذاهای کنسرو شده مربوط به آن است.

میکروارگانیسم مؤثر در ایجاد فساد به‌علت نشت می‌تواند هر نوع از میکروارگانیسم موجود روی تجهیزات جا به جا کنندهٔ قوطی‌ها، آب سردکننده و یا پوست کارگران جا به جا کننده قوطی باشد. اینها شامل باکتری‌های کروی، بیضی شکل کوتاه و بلند، مخمرها و قارچ‌ها، باکتری‌های هوازی تولید کننده اسپور و یا مخلوطی از این ارگانیسم‌ها باشد. آلودگی ثانوی پس از فرآوری می‌تواند موجب شیوع مسمومیت بوسیله سم بوتولیسم Staphylococcus شود. فساد به‌علت نشت قوطی اغلب به وجود درز در قوطی، دربندی ناقص ، حضور آلاینده‌های باکتریایی در آب سردکننده یا روی وسایل حمل و نقل قوطی و وجود رطوبت در روی قوطی و روش‌های حمل و نقل نامناسب بعد از

فرایند حرارتی مربوط می‌گردد. آب سردکننده قوطی‌ها می‌تواند منشاء اولیه و مهم‌ترین فاکتور برای ارگانیسم‌های تولید کننده فساد در قوطی به‌علت نشت باشند.

اگر چه خیلی به ندرت امروزه دیده می شود ولی نقص ورق برای ساخت قوطی‌ها، حمل و نقل نادرست قوطی-های خالی می‌تواند روی سالم بودن و مناسب بودن قوطی برای فرآیند حرارت‌دهی و پس از آن اثر بگذارد. نقص‌های که در زمان ساخت قوطی ممکن است ایجاد شود شامل درزهای جانبی معیوب، تا کردن بیش از حد و یا کمتر از حد لبهٔ حاشیه در قوطی می‌باشند که در دربندی مضاعف ایجاد مشکل می‌کند و هم چنین درزبندی معیوب ناشی از عملیات درزبندی نامناسب یکی دیگر از علل نشت قوطی می‌باشد. معمول‌ترین نوع خسارت ناشی از حمل و نقل نادرست قوطی‌های خالی، خم شدن لبه‌های قوطی و پاره شدن نوار نقاله می‌باشد. دلیل این پدیده این است که قوطی‌ها قالب‌گیری‌شان تمام می‌شود در حالی که نوار نقاله همچنان قالب‌گیری را ادامه می-دهد در اثر مقاومت قوطی، باعث کج شدن لبه‌های قوطی و یا پاره شدن نوار نقاله می‌شود. چگونگی پر کردن قوطی می‌تواند به‌طور مستقیم روی کیفیت دربندی مضاعف قوطی تأثیر بگذارد. پرکردن بیش از حد، مخصوصاً با فرآورده‌های سرد و انبساط آنها در طول فرایند حرارت‌دهی می‌تواند موجب ایجاد تورم قوطی و صدمه به درزها شود. همچنین اگر دستگاه پرکننده فرآورده را روی لبه قوطی بریزد، ممکن است که در دربندی قوطی ایجاد مشکل کند و باعث نشت شود مخصوصاً در فرآورده‌های فیبری مثل سبزیجات و گوشت و کنسرو ماهی که حاوی تکه‌های استخوان باشند مشکل نشت در قوطی ایجاد می‌شود.

نقایص دربندی مضاعف می‌تواند زودگذر و یا دائمی‌باشد. نشت قوطی موقتی زمانی برگشت‌پذیر است در این نوع نشتی ابتدا منفذی باز و بلافاصله بسته می‌شود و هیچگونه اثر قابل تشخیص در محل نشت مشاهده نمی‌شود. نشت دائمی‌نیز ممکن است در نتیجه دربندی مضاعف، درزبندی نادرست و استفاده از مواد غیرمقاوم در برابر نشت و لحیم کاری درزهای کناری یا سفتی بی‌اندازه درزهای کناری باشد.

عملیات حمل و نقل ظروف پرشده می‌تواند به شدت روی دربندی غیرقابل نفوذ هوا در ظروف تأثیر زیادی بگذارد. ضربه و صدمه به قوطی به خاطر افتادن قوطی در سبدهای اتوکلاو و یا به عبارت دیگر پرتاب کردن قوطی در داخل سبدهای اتوکلاو و یا غلتاندن آن و برخورد به سطوح سخت مثل برخورد قوطی‌ها به همدیگر و یا به نوار بالابر، می‌تواند منجر به نشت در ظروف شود. اثر ضربات مکرر روی درزها بصورت یکنواخت، ممکن است منجر به آلودگی مشابه زدن تک ضربه به قوطی و موجب ایجاد منفذ و آلودگی ثانوی شود گردد. تغییر درزها ممکن است ضربات مکانیکی و یا تغییرات ناگهانی فشار در زمانی که قوطی‌های اتوکلاو شده به‌طور ناگهانی بدون تخلیه هوا تحت تأثیر فشار اتمسفر برای سرد کردن قرار می‌گیرند، ناشی شود. در طول فرایند

حرارت‌دهی محتوی قوطی به‌طور قابل ملاحظه‌ای منبسط می‌شوند و ممکن است این انبساط موجب بدشکلی دائمی‌قوطی و صدمه دیدن درزها شود مگر اینکه فضای کافی خالی[1] طبق استاندارد در بالای قوطی کنسرو ماهی به همراه تخلیه هوا بصورت تدریجی در زمان سرد کردن قوطی‌های بخصوص قوطی‌های بزرگ فراهم شود.

برای کاهش خطر آلودگی پس از فرآوری، باید از درستی کنترل معاینه قوطی‌های خالی و سیستم‌های حمل و نقل، صحت دربندی قوطی، کلرزنی کافی به آب سردکننده و حداقل ضربه به قوطی در طول فرآوری و حمل و نقل مطمئن باشیم. همچنان که سالم بودن قوطی یک موضوع حیاتی است دربندی و درزهای قوطی و ماشین‌های دربندی باید به‌طور مستمر بازرسی شوند. به این ترتیب که حداقل هر ۳۰دقیقه معاینه ظاهری قوطی‌های دربندی شده و هر ۴ ساعت یکبار آزمایش واندازه‌گیری برای درزهای قوطی بصورت استاندارد باید انجام شود. آب سردکننده باید به مقدار ppm ۵-۲ کلرزنی شود به‌طوری که بعد از سرد کردن محتوی کلر باقیمانده آن از ppm ۱ کمتر نباشد. قوطی‌های مرطوب سرد شده باید در یک منطقه قرنطینه شده خشک شوند و نباید تا زمانی که خشک نشده‌اند حمل و نقل شوند. همچنین باید سعی شود که پس از فرآوری اصولی را در عملیات حمل و نقل رعایت کرد تا از بروز نشت به‌علت فرورفتگی و یا ضربه به قوطی جلوگیری شود.

۴-۵-۴- علل دیگر فساد

غذاهای کنسرو شده می‌توانند تحت تأثیر عوامل غیر میکروبی نیز فاسد شوند. مثلاً خوردگی داخلی قوطی باعث تجمع هیدروژن در قوطی شده که باعث از بین رفتن خلاء در قوطی و ایجاد تورم در آن می‌شود که از نظر بازار پسندی غیر قابل ارائه به بازار می‌شود. از نظر جدار خارجی، خوردگی باعث ایجاد منافذ سوزنی می‌شود که اجازه می‌دهد تا میکروارگانیسم‌ها به درون قوطی نفوذ کرده و باعث فساد شوند.

تولید سالادهای غذایی کنسرو شده حاوی ماهی و دیگر سبزیجات مثل ذرت، لوبیای سبز، غلات و نخود نیاز به فرآوری و حمل و نقل صحیح برای جلوگیری از تغییر رنگ نامناسب دارد. از طرفی، آلودگی غذا با فلزاتی نظیر مس یا آهن قبل از اینکه غذا در قوطی گذاشته شود و یا واکنش بین غذا و قوطی منجر به تغییر رنگ غذا می‌شوند. این قبیل واکنش‌ها باعث تشکیل رنگ آبی ـ خاکستری برای ذرت و سیاه شدن برای نخود، ذرت، میگو و دیگر اجزای گوشت ماهی می‌گردد. این پدیده اغلب در نتیجهٔ تجزیه شدن مواد پروتئینی حاوی سولفور

[1] - Head Space

در درجه حرارت بالا در طی فرآیند آنزیم‌های حرارتی و درنتیجه باعث ترکیب نور تولید شده با آهن می‌باشد که موجب تشکیل سولفید آهن سیاه رنگ می‌شود. استفاده از قوطی‌های لعاب‌دار برای تولید این فرآورده‌ها چنین مشکلی را برطرف می‌سازد.

۴-۶- کاربرد GMP صنعت کنسرو ماهی

به دلایلی که در بخشهای گذشته توضیح داده شد، بسیاری از کشورها قوانین GMP را تصویب کردند تا نیاز صنعت کنسرو ماهی را برای دستیابی به حداقل نیاز جهت سلامت فرآورده کنسرو تولید شده برآورده سازند. این نیازها شامل قوانین برای طراحی، احداث ساختمان کارخانه، ساخت ماشین آلات، تجهیزات بهداشتی کارکنان، داشتن مدارک لازم برای کار در کارخانه کنسرو، شرایط بهداشتی کارخانه را در بر می‌گیرند. این قوانین از نظر بین‌المللی، با قوانین بازنگری شده در سازمان بین‌المللی بهداشت غذا (Codex Alimtarius Code of Practice) و قوانین اصولی مواد غذائی General Principles of Food Hygiene ، سومین بازنگری و مصوب سال ۱۹۹۷ (CAC/RCP1-1969, REV.3) و (FAO, 1997) هماهنگ شده‌اند. اخیراً کمیته کدکس درباره ماهی و فرآورده‌های آن (CCFFP) Codex Committee On Fish and Fishery Products این قوانین را مصوب (بند ۳ از CCFFP) و به کارخانه‌های تولید فرآورده از ماهی ابلاغ نموده. این قوانین به روشنی دستورالعمل‌های مورد نیاز GMP و مدل‌های HACCP را تعریف نموده. این قوانین برای جلوگیری از ایجاد مشکل‌های مربوط به سلامت و کیفیت بد در فرآورده‌های شیلاتی می‌باشند. به خوانندگان این کتاب پیشنهاد می‌شود که نسخه‌های اولیه Code of Practice برای ماهی و فرآورده‌های آنرا مطالعه و پیگیری نمایید. پیشرفت‌های جدیدی را که در این زمینه در ماه می‌سال ۲۰۰۲ توسط کمیته CCFFP صورت خواهد پذیرفت.

۴-۷- کاربرد حصپ در صنعت کنسرو ماهی

مطلب آورده شده در اینجا برنامه ایست که توسط نویسنده برای اطمینان از سلامتی و کیفیت کنسرو ماهی ساردین و ماکرل در مراکش و کنسرو تن در سینگال بکار گرفته شد. شرکت هایی که این دستورات را بکار گرفتند در زمینه صادرات به تمام دنیا، بسیار موفق بوده‌اند. آنها قوانین GMP که توسط اتحادیه اروپا (EU) و FDA خواسته شده بود را اجراء نمودند و تمام کارکنانشان آموزش‌های مربوط به HACCP و آموزش‌های BPC-School Traning را در مراکش در سال‌های بین ۱۹۹۸ – ۱۹۹۴ را با موفقیت گذراندن.

قبل از اجرای حصپ، تجهیزات و امکانات کنسروسازی جهت دستیابی به نیازهای بهداشتی و احداث تجهیزات، بهداشت کارکنان، کیفیت آب و تمییز و بهداشتی کردن محیط کار به روز شدند. عملیات حمل و نقل مناسب، شامل حمل و نقل قوطی‌های خالی و پر بطور سالم، تعهدات اتوکلاو و ماشین‌های دربندی و ارزیابی روش‌های مورد نیاز برای امتحان نمودن صحت کار تجهیزات و آزمایش‌هایی که در ضمن تولید مورد استفاده قرار می‌گیرند و تمام این عوامل جزء برنامه‌های همین کیفیت و سلامتی فرآورده هستند، بعمل آمد.

ضمایم زیر به دستورالعمل حصپ برای چگونگی انجام روش‌های مناسب کنترل و ارزشیابی جهت اجرا، درست HACCP اضافه می‌شوند:

ضمیمهٔ۱: روش‌های اجرایی بهداشت استاندارد (SSOP) طرح احداث کارخانه، گردش کار پرسنل و فرآورده (احداث، بهداشت کارکنان، کنترل آلودگی، آب و حشرات تولید محصول) و کنترل SSOP (کنترل بهداشت کارکنان، کنترل بهداشت آب و مقدار کلر آب، پاکیزگی و شرایط بهداشتی محیط کارخانه).

ضمیمهٔ ۲: استانداردهای حمل و نقل، یخ‌گذاری و حمل و نقل ماهی تازه.

ضمیمهٔ ۳: استاندارد روش استریلیزاسیون ماهی

ضمیمهٔ ۴:اندازه‌گیری درجه حرارت ماهی (تازه و در زمان پخت)

ضمیمهٔ ۵: سنجش‌های حسی ماهی تازه

ضمیمهٔ ۶:اندازه گیری بازهای فرار کل (TVB)

ضمیمهٔ ۷:اندازه گیری هیستامین

ضمیمهٔ ۸: اطمینان از صحت دربندی ظروف

ضمیمهٔ ۹:اندازه گیری نفوذ حرارتی و توزیع درجه حرارت در اتوکلاو

در بخش‌های زیر جزئیات اجزاء HACCP آورده شده‌اند.

۱-۷-۴- تیم حصپ

به‌طور کلی، تیم حصپ در شرکت‌های مواد غذائی شامل مدیر کنترل کیفیت، مدیر تولید، مدیر بهداشت و یک مشاور فنی بیرونی برای دادن مشاورت‌های لازم می‌باشد. به خاطر تعداد زیاد (۶۰۰ نفر) کارگران بخصوص زنان کارگر زن، معمولاً مدیر بهداشت اغلب یک زن است.

وظایف هر عضو تیم حصپ به روشنی برای مدیر بهداشت در کارخانه تعریف شده است و تحت نظارت مدیر انجام کیفی کنترل می‌شود. مدیر کنترل کیفی، همهٔ دستورالعمل‌هایی که باید در طرح حصپ به اجراء گذاشته شود را مشخص می‌کند. اگر نیاز باشد، مدیر بهداشت به مدیرکل برای اجرای فعالیت‌های پر زحمت و هزینه زا

مراجعه خواهد کرد که در این زمان تصمیمات و راه حل‌های مناسب بدون هیچ تضادی با امور بهداشتی ارائه خواهد شد. اگر نیاز باشد، از مدیر فنی، برای گرفتن مشاورت فنی و علمی‌برای پیشبرد بهتر کارها نیز مراجعه خواهد شد. بسته به وظایف، هر عضو تیم حصپ آموزش‌های ضروری در زمینه‌های حصپ، بهداشت، روش‌های آنالیز آزمایشگاهی یا کنترل و بازرسی اتوکلاو و دستگاه داده خواهد شد.

۲-۷-۴- تعریف فرآورده‌ها و هدف استفاده از آنها

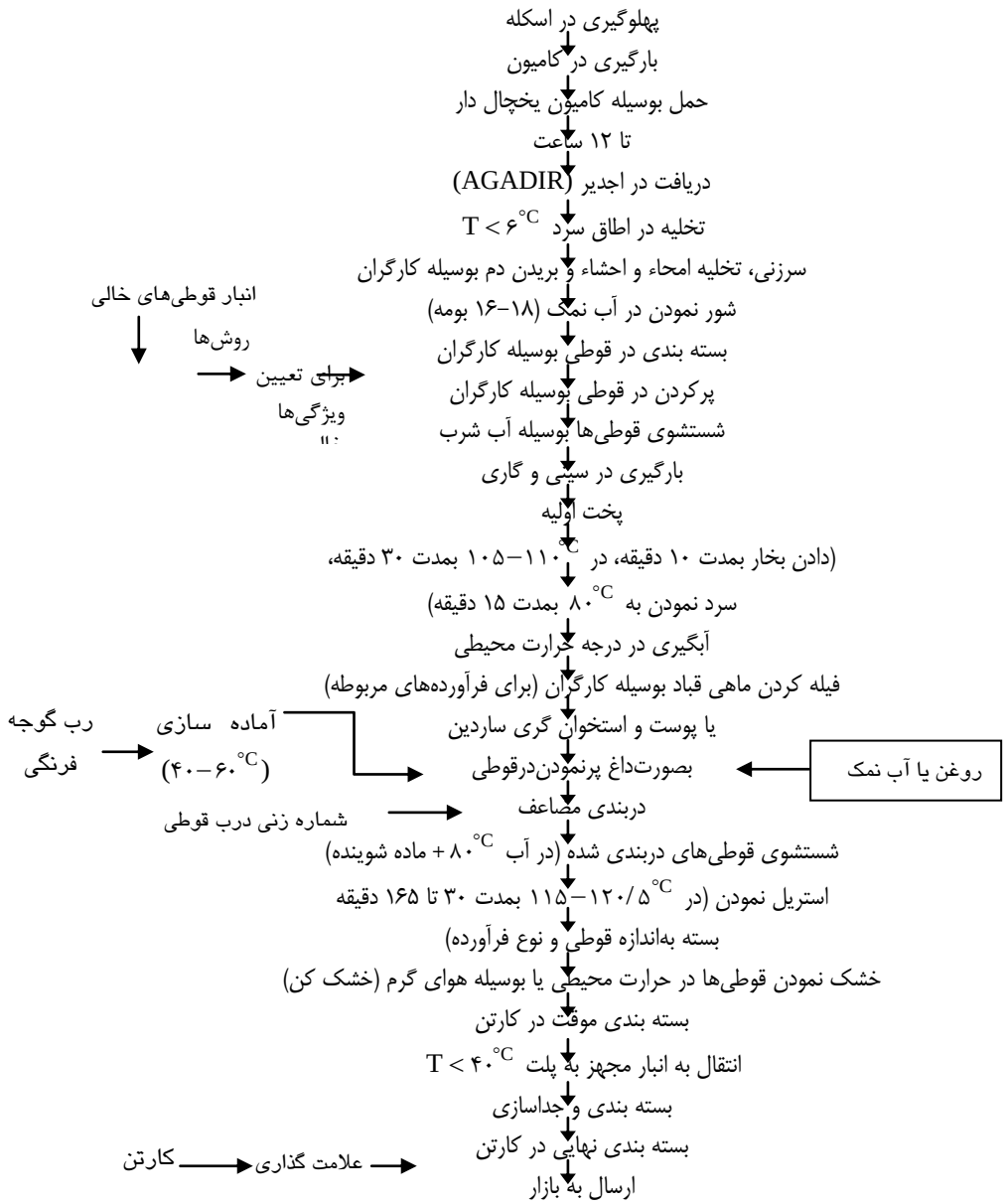
شرکت‌های منتخب مورد بررسی تا ۳۰ نوع فرآورده مختلف با استفاده از ماهی ساردین، ماکرل یا تن می‌سازند. در جدول ۲-۴ محتوا، بسته‌بندی و شرایط توزیع بعضی از فرآورده کنسرو ماهی را برای مصرف انسانی همراه با خصوصیت این فرآورده‌ها طبق دستورالعمل HACCP نشان می‌دهد. این فرآورده‌های کنسرو شده ماهی برای مصرف انسانی تولید شده‌اند. این فرآورده‌ها بدون پخت بیشتر به‌عنوان یک اشتهاآور یا با مخلوط کردن با غذاهای دیگر و یا سالادها مصرف می‌شوند. مقدار زیادی از این فرآورده به نقاط مختلف دنیا، بخصوص به اروپا و آمریکا صادر می‌شوند.

جدول ۲-۴- نمونه‌ای از مشخصات کنسروهای تولید شده از ماهی در مراکش

فرآورده کنسرو	ویژه‌گی‌های محتویات در قوطی	ویژه‌گی‌های مواد بسته بندی	زمان نگهداری
۱- ساردین در روغن نباتی	۷۵٪ ساردین بی سرودم ۲۴٪ روغن سویا ۱٪ نمک pH = ۶/۲-۶/۵ a_w = ۰/۹۸	۱- قوطی دو تکه $\frac{1}{6}$P۳۰ درب ساده یا آسان باز شو ۲- در قوطی آلیاژ آلومینیمی $\frac{1}{6}$P۳۰ درب آسان بازشو ۳- $\frac{1}{2}$H۴۰ ۴- $\frac{1}{6}$P۳۰DASR۲۶	۵ سال در درجه حرارت محیطی
۲- ساردین در آب au NATOREL	۷۵٪ ساردین بی سر و دم ۲۴٪ آب ۱٪ نمک PH = ۶/۲-۶/۵ a_w = ۰/۹۸	۱- قوطی معمولی یا آلیاژ آلومینیومی‌دو تکه با درب معمولی $\frac{1}{6}$P۳۰ ۲- قوطی آسان باز شو $\frac{1}{6}$P۳۰ES ۳- تمام قوطی‌ها در کارتن بسته بندی می‌شوند	۳ سال در درجه حرارت محیطی
۳- ساردین در روغن زیتون	۷۵٪ ساردین بی سر و دم ۲۴٪ روغن زیتون ۱٪ نمک PH = ۶/۲-۶/۵ a_w = ۰/۹۸	۱- قوطی معمولی یا آلیاژ آلومینیومی‌دو تکه با درب معمولی $\frac{1}{6}$P۳۰ ۲- قوطی $\frac{1}{6}$P۳۰ دو تکه با درب آسان بازشو. بعضی از قوطی بصورت تک به تک در جلد کاغذی بسته بندی می‌شوند	۵ سال در درجه حرارت محیطی
۴- ساردین بدون پوست و استخوان در روغن زیتون	۷۵٪ ساردین بدون پوست و استخوان ۲۴٪ روغن زیتون ۱٪ نمک PH = ۶/۲-۶/۵ a_w = ۰/۹۸	۱- قوطی معمولی یا آلیاژ آلومینیومی‌دو تکه با درب معمولی $\frac{1}{6}$P۳۰ ۲- قوطی دو تکه $\frac{1}{6}$P۳۰ با درب آسان بازشو. ۳- قوطی دو تکه $\frac{1}{6}$P۲۲ با درب آسان باز شو. تمامی‌قوطی‌ها بصورت تک به تک در جلد کاغذی بسته بندی می‌شوند	۵ سال در درجه حرارت محیطی
۵- ساردین بدون پوست و استخوان در آب au NATUREL	۷۵٪ ساردین بدون پوست و استخوان ۲۴٪ آب ۱٪ نمک PH = ۶/۲-۶/۵ a_w = ۰/۹۸	۱- قوطی معمولی یا آلیاژ آلومینیومی‌دو تکه $\frac{1}{6}$P۳۰ با درب ساده ۲- قوطی دو تکه $\frac{1}{6}$P۲۲ با درب آسان بازشو. تمام قوطی‌ها تک به تک در جلد کاغذی بسته بندی می‌شوند	۳ سال در درجه حرارت محیطی
۶- ساردین بدون پوست و استخوان در سس گوجه فرنگی	۷۵٪ ساردین بدون پوست و استخوان ۲۲٪ رب گوجه فرنگی + آب ۲٪ روغن سویا ۱٪ نمک PH =۵/۹-۶/۲ a_w = ۰/۹۸	۱- قوطی دو تکه $\frac{1}{6}$P۳۰ با درب ساده ۲- قوطی دو تکه $\frac{1}{6}$P۲۲ با درب آسان بازشو. تمام قوطی‌ها تک به تک در جلد کاغذی بسته بندی می‌شوند	۳ سال در درجه حرارت محیطی
۷- فیله قباد در روغن سویا	۷۵٪ فیله قباد ۲۴٪ روغن سویا ۱٪ نمک PH = ۶/۲-۶/۵ a_w = ۰/۹۸	۱- قوطی دو تکه $\frac{1}{6}$P۳۰ با درب ساده ۲- قوطی دو تکه $\frac{1}{6}$P۳۰ با درب آسان بازشو. تمام قوطی‌ها تک به تک در جلد کاغذی بسته بندی می‌شوند	۵ سال در درجه حرارت محیطی
۸ – فیله ماهی قباد در آب au Natural	۷۵٪ فیله قباد ۲۴٪ آب ۱٪ نمک PH = ۶/۲-۶/۵ a_w = ۰/۹۸	۱- قوطی دو تکه معمولی یا آلیاژ آلومینیومی $\frac{1}{6}$P۳۰ با درب آسان بازشو تمام قوطی‌ها تک به تک در جلد کاغذی بسته بندی می‌شوند	۳ سال در درجه حرارت محیطی
۹- فیله ماهی قباد در سس گوجه فرنگی	۷۵٪ فیله ماهی قباد ۲۲٪ رب گوجه فرنگی ۲٪ روغن سویا ۱٪ نمک PH =۵/۸-۶/۱ a_w = ۰/۹۸	۱- قوطی دو تکه معمولی یا آلیاژ آلومینیومی $\frac{1}{6}$P۳۰ با درب آسان بازشو تمام قوطی‌ها تک به تک در جلد کاغذی بسته بندی می‌شوند	۳ سال در درجه حرارت محیطی

۳-۷-۴- نمودار تولید کنسرو ماهی از اسکله تا کارخانه

علیرغم تنوع در فرآورده‌های کنسرو نمودار روند تولید مشابه هم هستند و می‌توانند مانند شکل ۴-۳ خلاصه شوند. طرح حصپ حاوی شماره‌ای است که نشان دهنده طرح احداث کارخانه و گردش کار کارکنان و تولیدات را نشان می‌دهد که مختص به هر کارخانه با ویژگی‌های آن است. جدول ۴-۳ نمونه‌هایی‌از اطلاعات فنی را که در فرآیند حرارت دهی در دستورالعمل GMP می‌باشد را نشان می‌دهد.



شکل ۳-٤-نمودار تولید کنسرو ساردین و ماهی قباد در *Agadir* مراکش

جدول ۳-۴- اطلاعات فنی مربوط به استریل نمودن کنسرو ماهی در مراکش

اطلاعات فنی مربوط به: اتو کلاوهای افقی	**هدف از فرآیند حرارتی**
نوع اُتوکلاو	اتوکلاو افقی با استفاده از آب جوش تحت فشار
حداقل Fo	مدت ۷ تا ۱۴ دقیقه معمولاً بیشتر از ۱۰ دقیقه
اندازه قوطی	$\frac{۱}{۴}$P۲۲(۱۱۵g)، $\frac{۱}{۶}$P۲۵(۱۲۵g)، $\frac{۱}{۶}$P۳۰(۱۲۵g)، (۳۷۵g) بیضی $\frac{۱}{۲}$P ، $\frac{۱}{۲}$H۴۰(۳۶۵g)، $\frac{۱}{۲}$HL(۴۲۵g)، $\frac{۱}{۲}$B(۴۲۵g)
درجه استریل نمودن	۱۲۲/۵ °C، نه بیشتر از ۱۲۳/۵ °C
زمان حرارت دهی	۵۵ – ۲۳ دقیقه در ۱۲۲/۵ °C
حداقل درجه شروع	۳۰ °C
روش پر کردن قوطی	بوسیله کارگران و پر نمودن بیش از حد با مایع
نسبت جامد به مایع	۷۵ درصد ماهی، ۲۵ درصد مایع (روغن، آب، سس گوجه فرنگی).
نحوه قراردان قوطی‌ها در سبد اتوکلاو	بصورت انبوه
تعداد سبدها در هر اتوکلو	۴ سبد
روش استریل نمودن	استفاده از آب جوش تحت فشار ۶ بار
روش سرد نمودن	آبجوش بوسیله تبادل حرارتی سرد شده و برای سرد کردن بکار می‌رود.
اطلاعات فنی مربوط به: اتوکلاوهای عمودی	**هدف از فرآیند حرارتی**
نوع اتوکلاو	اتوکلاو عمودی با استفاده از بخار
حداقل Fo	مدت ۷ تا ۱۴ دقیقه معمولاً بیشتر از ۱۰ دقیقه
اندازه قوطی	$\frac{۱}{۶}P۳۰\ DAS(۱۲۵\ g)$ ، $\frac{۱}{۲}HL(۴۲۵\ g)$
درجه استریل نمودن	۱۱۵ °C
زمان حرارت دهی	۸۵–۵۵ دقیقه در ۱۱۵ °C
حداقل درجه شروع	۳۰ °C
روش پر نمودن قوطی	بوسیله کارگران و پر نمود بیش از حد با مایع
نسبت جامد به مایع	۷۵ درصد ماهی، ۲۵ درصد مایع (روغن، آب، سس گوجه فرنگی).
نحوه قرارادن قوطی‌ها در سبد اتوکلاو	بصورت انبوه
تعداد سبدها در یک اتوکلاو	۱ سبد
روش استریل نمودن	بوسیله ورود بخار از طریق شیر فرعی بخار بمدت ۱۰ دقیقه و خارج کردن هوا در ۱۰۵ °C سپس با بازکردن شیر بخار اصلی و رساندن درجه به ۱۱۵ °C. این شروع زمان استریل نمودن است.
روش سرد نمودن	با استفاده از آب سرد کلرینه شده دارای ۵ppm-۲ کلر فعال.

در این صنایع اتوکلاوهای جدیدی استفاده شده‌که تحت فشار بالا عمل می‌کنند. این نوع اتوکلاو، به‌عنوان جدیدترین تکنولوژی در فرایند حرارت‌دهی است که در آن آب مصرف شده برای استریلیزاسیون دوباره مورد استفاده قرار می‌دهد. بعد از سرد شدن از طریق تبادل کننده گرما sterioflow، این آب برای سرد کردن قوطیها

استفاده می‌شود. استفاده از این روش باعث می‌شود تا مشکل آلودگی پس از فرآوری با آب حذف شده و باعث صرفه‌جویی در مصرف آب نیز می‌شود.

۴-۷-۴- تجزیه واندازه‌گیری نقاط بحرانی (خطرساز)

تمام خطراتی که سلامتی مواد غذایی را تهدید می‌کنند مطالعه و تجزیه واندازه‌گیری شده‌اند. برای دستیابی به این اطلاعات، تیم حصپ از داده‌های علمی‌منتشر شده در مجله‌های علمی، تجارب شخصی، گزارش‌های واصله از طرف مصرف کننده، تجربه کارشناسان فنی آژانس‌های کنترل و تنظیم کننده، کارشناسان فنی و ویژگیهای فنی مرتبط با کیفیت غذا استفاده می‌کنند. همهٔ اطلاعات در دسترس را برای ارزیابی پتانسیل برای هر خطر، علت آن، شدت احتمال وقوع، و روش‌های لازم برای جلوگیری از بروز آنها استفاده می‌کنند. عوامل بالقوه خطر، یا آلودگی بودند (ناشی از ماهی، کارکنان، آب، یخ، تجهیزات) و یا بقای میکروارگانیسم‌های خطرناک (پخت و استریلیزاسیون ناکافی)، تولید مواد شیمیایی سمی(مثل هیستامین، سم روده‌ای Staphylococcus، توکسین C.botulinum) بودند. برای هریک ازعوامل‌خطرمناسب‌ترین‌روش‌حفاظت‌وپیشگیری اتخاذ شده است.

جدول ٤-٤- تجزیه واندازه‌گیری خطرهای ناشی از کنسرو ماهی

خطرها	شدت	احتمال‌خطر	روش‌های جلوگیری
بوتولیسم به‌علت فرآیند حرارتی ناکافی یا به‌علت آلودگی ثانوی در زمان سرد نمودن	+++++	+	استریل نمودن کامل دادن آموزش مناسب به افراد مسئول استریل نمودن. کلرزدن کافی به آب مورد استفاه برای سرد نمودن.
مسمومیت هیستامینی به‌علت آلودگی ماهی به هیستامین یا جمع شدن هیستامین در زمان آماده سازی	++	++	دادن آموزش لازم به مسئول خرید جهت ارزیابی تازگی ماهی. اندازه گیری هیستامین در صورت مشکوک بودن در زمان دریافت.
مقدار بالای فلزات سنگین در کنسرو ماهی	+++	+	داشتن اطلاعات کافی از منطقه صید. مطمئن شدن از انجام صید در مناطق عاری از آلودگی.
آلودگی ثانوی کنسرو ماهی با میکروب‌های بیماری زا یا مواد سمی‌به‌علت دربندی نامناسب	+++	+	دادن آموزش کافی به متصدی دستگاه دربندی. نگهداری صحیح دستگاه دربندی.
مسمومیت استافیلوکوکی به‌علت حمل و نقل قوطی‌های مرطوب، داغ و تازه استریل شده	+++	+	خشک کردن قوطی‌های مرطوب بوسیله هوا. انبار نمودن قوطی‌های مرطوب در محل ممنوع شده از رفت و آمد.
کنسروهای فاسد شده به‌علت استفاده از ماهی فاسد (با TVN بالا) یا به‌علت فاسد شدن ماهی در زمان عمل آوری	+++*	+	استفاده از کامیون دارای سرد خانه برای حمل و نقل ماهی. استفاده از کارشناسان ارزیابی حسی. اندازه گیری TVN در صورت مشکوک شدن SSOP
فساد به‌علت فعالیت باکتری‌های گرمادوست به‌علت طول کشیدن زمان سرد نمودن یا انبار داری طولانی در حرارت بیشتر از ۴۰^{oC}	++*	+	به سرعت سرد نمودن و رسیدن به زیر ۴۰^{oC} در کمتر از یک ساعت انبار نمودن کنسروها در درجه حرارت کمتر از ۴۰^{oC}.

بسیار کم + ، کم ++ ، متوسط +++، زیاد ++++، بسیار زیاد +++++

* اشاره به شدت، خطر و زیان اقتصادی به‌علت کنسروهای فاسد شده می‌باشد.

تجزیه واندازه‌گیری کامل خطر در جدول ۴-۴ داده شده است. روش‌های پیشگیری به‌طور دقیق و در شکل و طبقه عملکرد افراد مسئول نیز شرح داده شده‌اند. توصیف می‌شوند. وجود فلزات سنگین مثل وجود جیوه در ماهی خام و کنسروشده به‌عنوان خطر در اینجا آورده نشده، زیرا طرح کنترل ملی کشور مراکش از سال ۱۹۸۹ میزان خیلی کمتر از PPM ۰/۵ جیوه را در ماهی کنسرو شده در Morocco گزارش کرده. اما، در این مورد به شرکت‌های کنسروسازی اخطار می‌گردد که برای داشتن فرآورده‌های سالم قبل از فرآوری احتیاج به آزمایش ماهی صید شده در مناطق مختلف سنتی برای تعیین مقدار جیوه می‌باشد و یا به هشدارهایی که به وسیلهٔ آژانس بازرسی Morocco که دارای برنامه‌های نظارتی ماهانه می‌باشند توجه نمایید. جدول ۴-۵ مراحل برنامه حصپ در صنعت کنسروسازی را نشان می‌دهد که شامل شناسایی نقاط کنترل بحرانی (CCP_s)، که همراه با روش‌های پیشگیری برای جلوگیری از خطرات به کار گرفته می‌شود، شناسایی حدهای بحرانی، روش‌های کنترلی و عملیات ارزیابی نشان دهند، نقصی در واحد کنترل نشان می‌دهد. به‌طور کلی هر قدم به‌طور دقیق در دستورالعمل حصپ توضیح داده شده. شناسایی CCP_s که باعث به کارگیری روش اصلاحی مناسب می‌شود در درخت توسعه داده شده توسط Codex Alimentarius مورد استفاده قرار می‌گیرد.

۵-۷-۴- نگهداری - ثبت

فرم‌هایی برای ثبت نتایج هر فعالیت کنترلی و هر عمل اصلاحی به کار رفته, استفاده می‌شوند که آیا آن عمل در انطباق با SSOP, GMP یا HACCP هست؟ برای ارتباط صحیح بین اعضای تیم حصپ، فرم‌های ثبت نتایج باید تا حد امکان ساده طراحی شوند تا به‌طور واضح مشخص شود که چه کسی مسئول اجرای عملیات پیشگیری، کنترل و اصلاح است و چه کسی باید این فعالیت‌ها را تأیید کند یا از نتایج آن مطلع باشد.

جدول ۵-٤- نمونه‌ای از طرح *HACCP* برای تولید کنسرو ماهی ساردین و قباد در مراکش

کنترل نقاط بحرانی در خطهای مهم		اقدام پیشگیری	حد بحرانی	چه باید بررسی شود	چگونه باید بررسی شود	فاصله بین بررسیها	چه کسی بررسی نماید	اقدام اصلاحی	ثبت نمودن	تایید
۱- ماهی دریافتی	ماهی فاسد یا مقدار بالای هیستامین	یخ گذاری مناسب و حمل پس از تخلیه بوسیله کامیون سردخانه دار	$T < ۶^{o}c$ $VB <$ ۲۵۰ ppm هیستامین کمتر ۲۵۰ppm	درجه حرارت ماهی TVB هیستامین	اندازه‌گیری درجه حرارت روش شیمیایی روش اسپکتروفلو ئوری متری	برای هر محوله اگر تازگی مشکوک است برای هر محوله	مسئول دریافت مدیر کنترل کیفیت مدیر کنترل کیفیت	درجه بندی ماهی براساس تازگی‌اندازه گیری TUB و رد نمودن آن اگر $TUB >$ ۲۵۰ ppm	درجه تازگی ماهی فرم (۴+۱) مقدار TVB و هیستامین	بازبینی سوابق روزانه بازبینی سوابق روزانه
- دربندی قوطی ها	آلودگی ثانویه	دادن آموزش به مسئول دستگاه دربندی نامگذاری مناسب دستگاه دربندی	قوطی بدون نشت	نواقص قابل رویت اانداز‌ه‌گیر ی‌های مربوط به دربندی مضاع	بررسی عینی مسئول کنترل دستگاه دربندی	هر ۳۰ دقیقه هر دو ساعت یکبار	مسئول دستگاه دربندی بازرس	بازرسی قوطی‌ها و جداسازی قوطی‌ها دارای نشتی	ثبت سالم بودن قوطی‌ها طبق فرم (۴+۲)	بازبینی سوابق بصورت روزانه
۳- اتوکلاو نمودن	وجود اسپورها بخصوص اسپور کلستریدوم بوتولینوم	تعمیرات مداوم اتوکلاو – دادن آموزش به مسئول اتوکلاو	Fo =۷-۱۴ دقیقه فاکتورهای استریل نمودن – جدول (۲-۴)	فوذ حرارتی و درجه حرارت و فشار	ثبت در منحنی بوسیله دستگاه ثبات	دوبار در هر سال و در صورت نیاز در هر سیکل اتوکلاو	مدیر کنترل و مسئول اتوکلاو	شناسائی علت نقص و تعمیر دستگاه اتوکلاو	ثبت خودکار طبق فرم (۴+۳)	بازرسی در هر بار اتوکلاو نمودن بازبینی سوابق بصورت روزانه
---سرد نمودن قوطی ها	آلودگی به باکتری‌های گرمادوست	کلرزدن به آب مورد استفاده سرد نمودن کمتر از ۱۲ ساعت	کلر آزاد کمتر از ۱ppm سرد نمودن کمتر از یک ساعت	مقدار کلر آزاد و زمان سرد نمودن	روش شیمیائی و زمان گرفتن	هر روز و برای هر بار اتوکلاو نمودن	مدیر کنترل کیفیت و مسئول اتوکلاو	شناسائی مورد و دوباره استریل نمودن. آزمایش برای باکتری گرمادوست	آب سرد و استریل نمودن طبق فرم (۴+۳)	بازدید پس از هر بار اتوکلاو نمودن بازدید پس از هربار اتوکلاو نمودن
۵- انبار قوطی‌های کنسرو	فساد بوسیله باکتری‌های گرمادوست	انبار نمودن در $T < ۴۰^{o}c$	$T < ۴۰^{o}c$	بت درجه حرارت	بوسیله گرما سنج مدرج	هر روز	مسئول انبار	نمونه برداری و انجام آزمایش برای باکتری‌های گرمادوست	درجه حرارت انبار طبق فرم (۴+۵)	هر روز در تابستان

۶-۷-۴- بازنگری و تصحیح دستورها

امروزه، طرح‌های حصپ به‌طور سالانه بازنگری و اصلاح می‌شوند. در طول سه تا چهار سال اول اجرای آنها، این طرح‌ها هر ۶ ماه یکبار بازبینی می‌شدند. فرآیند بازنگری شامل:

۱- سنجش تمام اطلاعات به دست آمده آزمایشگاه کنترل کیفیت مواد غذا. این آزمایشگاهها آزمایش‌های مربوط به‌اندازه‌گیری (TVB و هیستامین)، فرآیند حرارت‌دهی تجاری, مقدار جیوه را در تعدادی از فرآورده‌های نهایی قبل از فروش را انجام می‌دهند. همهٔ این اطلاعات تعیین سطح کیفیت فرآورده در طول سال تجزیه واندازه‌گیری آماری می‌شوند. هر مشکل کیفی که توسط این تجزیه واندازه‌گیری‌ها مشخص شد فوراً توسط مدیر کنترل کیفی جهت پیگیری می‌گردد که معلوم شود چرا سیستم حصپ به درستی برای جلوگیری از این مشکل عمل نکرده است.

۲- نتایج سنجش همه اطلاعات کنترلی در طول ارای نظام حصپ توسط شرکت جمع‌آوری می‌شود. موارد مشکوک با دقت مورد ارزیابی قرار می‌گیرند تا معلوم شود چرا آنها در طی اجرای نظام حصپ مشخص نشده‌اند و در نهایت بازنگری مناسبی برای بهینه سازی نظام حصپ اعمال خواهد شد.

۳- سنجش اطلاعات رسیده از طرف خریداران

۴- بازرسی سالیانه توسط مشاوران فنی برای اطمینان از ارزیابی‌های انجام شده توسط روش‌های اصلاحی، کنترلی و اقدام‌های اصلاحی به کار گرفته شده. این بازرسی سالانه شامل سنجش اطلاعات ثبت شده از طریق نظام حصپ شامل، نگهداری تجهیزات، هماهنگی ابزارها و روش‌های کنترلی و دستورالعمل است. گزارش بازرسی سالیانه به مدیریت کارخانه داده خواهد شد, پس از آن و در ادامه تیم حصپ جلسه‌ای را (بصورت گروهی یا فردی) برای بازنگری‌های جدید برای طرح‌های حصپ انجام خواهند داد. تا نسبت به اتخاذ روش‌های جدید، برای تجهیزات, استانداردها، توسعه تکنولوژی و نیازهای شرکت و خریداران تصمیم‌گیری نمایند. همچنین از فرصت برای برنامه‌ریزی پیشرفتهای جدید در مورد نیازهای آینده و خریداران فرآورده‌های کارخانه‌ها استفاده بعمل می‌آید.

۸-۴- پیش‌بینی برای آینده

صنعت کنسرو ماهی در حال تغییرهای تکنولوژیکی جهت جلب کردن تقاضاهای مصرف کنندگان برای فرآورده‌های جدید، متنوع و کمتر فرآوری شده و هم‌چنین فاکتورهای محیطی (ذخیره انرژی و تکنولوژیهای پاک) و ملاحظات جهانی شدن می‌باشد. علیرغم این, نظام حصپ, سال‌ها در مرکز توجه جهت تضمین کیفیت و

سلامتی غذا در صنعت کنسروسازی باقی خواهد ماند و دلیل آن قابلیت اتکای بودن نظام حصپ، جنبه‌های اقتصادی و توانایی آن در برگیرنده بودن پیشرفتهای جدید در زمینه تکنولوژی صنعت کنسروسازی می‌باشد.

۹-۴- منابع برای دسترسی به اطلاعات و اندرزهای جدید

امروزه، با توجه به پیشرفت تکنولوژی در زمینه اطلاع رسانی، بهترین دسترسی به منبع اطلاعاتی واندرزها توسط اینترنت می‌باشد. در ذیل چند سایت اینترنتی مربوط به کنترل کیفیت و تضمین سلامتی در کنسرو ماهی داده می‌شود.

htt://www.cfia-acla.agt.cam.
htt://www.fao.org.
htt://www.europa.ev.lmt/comun/food
htt://www.cfsam.fda.gov
htt://www.foodhaccp.com

ABABOUCH, L.H. 1995. *Assurance de la qualite´ dans l'industrie halieutique*. Actes Editions. IAV Hassan II. Rabat. Morocco. 214 page.

ABABOUCH, L.H. 1999. Heat treatment of foods. Spoilage problems associated with canning. Pages 1016–23. R. Robinson, C. Blatt and P. Patel (editors). *Encyclopedia in Food Microbiology*. Academic Press Limited. London.

BRYAN, F.L. 1986. Seafood-transmitted infections and intoxications in recent years. In *Seafood quality determination*. Kramer, D.E. and Liston, J. eds. Elsevier Science Publishers. Amsterdam.

DATTA, A.K. 1992. Thermal processing: food canning. In *Encyclopedia of Food Science and Technology* Hui, Y.H. (Editor in Chief). Volume 1, pp. 260–3 Volume 4, pp. 2561–5. Wiley Interscience Publication. New York. EEC, 1991. Council Directive 91/493/EEC of 22 July 1991 laying down the health conditions for the production and the placing on the market of fishery products. *Official Journal of the European Communities*. No. L 268: 15–32.

EEC, 1994. Commission Decision 94/356/EEC of 20 May 1994 laying down the modalities for the application of own checks for fish and fishery products.*Official Journal of the European Communities*. No. L 156: 50–7.

FAO, 1997. Recommended International Code of Practice-General Principles of Food Hygiene CAC/RCP 1 – 1969, Rev. 3. Rome.

FAO, 2000. *The State of Fisheries and Aquaculture* (SOFIA). FAO. Rome.

FDA, 1997. Title 21 of the Code of Federal Regulations, Parts 123 and 1240. Volume 60, No. 242. Pages 65095-202.

FDA, 2001. *Fish and fishery products hazards and control guidance*. Third edition. Center for Food Safety and Applied Nutrition. 326 pages. USFDA, Washington DC.

GAVIN, A. and WEDDIG, L.M. 1995. *Canned foods. Principles of thermal process control, acidification and container closure evaluation*. Sixth edition. The Food Processors Institute. Washington DC.

HUSS, H.H. 1981. *Clostridium botulinum* type E and botulism. Technological Laboratory. Ministry of Fisheries. Technical University. Lyngby. 2800. Denmark.

HUSS, H.H. 1988. *Fresh fish quality and quality changes*. FAO Fisheries Series No. 29. FAO. Rome.

HUSS, H.H. 1994. Assurance of seafood quality. FAO Fisheries Technical Papers No. 334. 169 pages. Rome.

ICMSF, 1981. *Microbial ecology of foods. Volume 1: Factors affecting the growth of micro-organisms*. Academic Press. New York.

JOUVE, J.L. 1996. *La qualite´ microbiologique des aliments. Maıˆtrise et crite`res*. 563 pages. Polytechnica. Paris.

LAROUSSE, J. 1991. Coordonateur. *La conserve appertise´e. Aspects scientifiques techniques et e´conomiques*. Techniques et Documentation, Lavoisier.

SAINCLIVIER, M. 1983. *L'industrie alimentaire halieutique. Volume 1: Le poisson matie`re premie`re*. Editions Sciences Agronomiques Rennes. France .

SMELT, J.P.P.M. and MOSSEL, D.A.A. 1982. Application of thermal processes in the food industry. In *Principles and practice of disinfection, preservation and sterilisation.* Russell, A.D., Hugo W.B. and Ayliffe, G.A.J. (eds). Blackwell Scientific Publishers. London.

STUMBO, C.R. 1973. *Thermobacteriology in food processing*. Academic Press, London.

TAYLOR, S.L. 1986. Histamine food poisoning: toxicology and clinical aspects. CRC *Critical Reviews in Toxicology*. 17: 91–117.

THOMPSON, R.C. 1982. The tin of salmon had but a tiny hole. *FDA Consumer* June 1982: 7–9.

THUILLOT, M.L.، BROSSARD, J.، THOMAS، G. and CHEFTEL، H. 1964. Contribution a` l'e´tude de la ste´rilisation des conserves de sardines *Clupea pilchardus* a` l'huile en boıˆtes de grand format. *Annales de l'Institut Pasteur (Lille)*. 15: 145–55.

THUILLOT, M.L., BROSSARD, J., THOMAS, G. and CHEFTEL, H. 1968. A propos de la thermore´sistance de S. aureus dans l'hule. *Annales de l'Institut Past (Lille)*. 19: 153–57.*eu*

WARNE, D. 1988. Manual on fish canning. FAO technical paper 285. Rome. HACCP in the fish canning industry 53.

«فصل پنجم»

بهینه نمودن کنترل عوامل بیماریزا در فرآورده‌های ماهی

۱-۵- مقدمه

بیماری ایجاد شده توسط غذا، نگرانی عمده مصرف کنندگان، تولیدکنندگان و مراجع مربوطه می‌باشد. علیرغم افزایش آگاهی، تعداد موارد شیوع این بیماریها در حال کاهش نمی‌باشد (Todd، 1997). در جهان، تعداد بیماری-های مرتبط با غذا کمتر از حد واقعی برآورد شده است چون گزارش بیماریها محدود می باشد (Todd, 1997; Gram and Huss, 2000). نظارت بربیماریهای ایجاد شده توسط غذا و شناسایی عوامل مسبب آن به مدت طولانی در کشورهای مثل انگلستان، آمریکا و هلند انجام شده است و آمارهای موجود در این زمینه از اطلاعات منتشر شده از این مناطق منشاء می‌گیرند. غذاهای زیادی در شیوع بیماریهای ایجاد شده نقش دارند (Olsen *et al* ،2000 ؛ Gillespie *et a*l ،2001). غذاهای دریائی در رتبه سوم لیست فرآورده قرار می‌گیرند که باعث ایجاد بیماری‌های ناشی از غذا در آمریکا در سال‌های ۱۹۸۳ تا ۱۹۹۲ شده‌اند (Lipp & Ross ،1997). ادغام آمارهای به دست آمده از انگلستان و آمریکا نشان داد که بین ۱۰ تا ۲۵ درصد شیوع‌بیماریهای ناشی از غذا می‌تواند در نتیجه مصرف غذاهای دریائی باشد. (Bryan ،1998 ؛ 1990، Liston؛ Wallace *et al*.,1999 و Gillespie *et al*., 2001 ؛ Olsen *et al*., 2000). اما، غذاهای دریائی فقط ۳/۶ و ۱۰٪ از موارد بیماری ایجاد شده توسط مصرف غذا در آمریکا از سال ۱۹۷۸ تا ۱۹۸۷ (Liston،1990) و نیویورک از سال ۱۹۸۰ تا ۱۹۹۴ (Wallace *et al* ،1999) را به ترتیب شامل شدند. بیماریهای ایجاد شده توسط مصرف غذاهای دریایی ممکن است توسط عوامل مختلفی نظیر توکسین‌های آبی، آمین‌ها بیوژنی، باکتریها، ویروس‌ها و انگل‌ها ایجاد شوند (Gram and Huss ،2000).

ماهیان صدف‌دار، مخصوصاً نرمتنان، از مهمترین غذاهای دریائی‌اند که باعث ایجاد بیمارهای ناشی از غذا می‌شوند (Liston، 1990). مصرف ماهیان صدف‌دار ۲۵ درصد از شیوع بیماری ناشی از غذاهای دریائی را در آمریکا از سال ۱۹۹۳ تا ۱۹۹۷ را موجب شده است. (جدول ۱-۵). شیوع بیماریهای مرتبط با ماهیان صدف‌دار تقریباً به وسیلهٔ ویروس‌های دستگاه گوارشی بوده است (1998، Giatzer ؛ 2000، Shieh *et al* ؛ 1977، Lipp & Ross)

جدول ۱-۵- شیوع بیماری‌ها بعلت مصرف ماهی و فرآورده‌های آن در آمریکا بین سالهای ۱۹۹۷-۱۹۹۳ (*OLSEN. et.al., 2000*)

عوامل بیماری زا	تعداد شیوع (٪ از مجموع) بعلت مصرف			
	سخت پوستان[1]		ماهی	
باکتری‌ها	۵	۱۱۶۰	۲	٪۱
بیوتوکسین ها	۳	٪۶	۵۵	٪۳۹
هیستامین	۲	٪۴	۶۶	٪۴۷
انگل‌ها	۰	٪۰	۰	٪۰
ویروس‌ها	۱۱	٪۲۳	۱	<٪۱
شناخته شده	۲۱	٪۴۵	۱۲۴	٪۸۹
ناشناخته	۲۶	٪۵۵	۱۶	٪۱۱
جمع کل	۴۷	٪۱۰۰	۱۴۰	٪۱۰۰

در آمریکا ۲۳٪ شیوع بیماریهای مرتبط با ماهیان صدف‌دار به وسیله ویروس‌ها ایجاد شدند (جدول ۱-۵). نرمتنان موجودات فیلتر کننده هستند که می‌توانند ویروسهای انسانی، عوامل بیماریزا و توکسین‌های زیستی را از جلبک-های دریائی را تا مقدار خیلی بالاتری نسبت به آب‌های اطراف‌شان ذخیره کنند. (Depaola *et al.*, 1994 و Meteaf *et al* 1979 ؛ Rippey، 1994) از آنجائی که نرمتنان اغلب به صورت خام و یا به صورت بخار داده مصرف می‌شوند (جدول ۲-۵) معمولاً به‌عنوان عامل اصلی بیماریهای ناشی از مصرف غذاهای دریائی می‌باشند.(Gram and Huss، 2000).

مسمومیت تن‌ماهیان، که به وسیله آمین‌های بیوژنی ایجاد می‌شوند (Scombrotoxin)، به‌عنوان مهمترین عامل بیماری ایجاد شده بوسیله مصرف غذاهای دریائی می‌باشد (Lipp and Rose، 1997) مسمومیت ناشی

[1] - نرمتنان و سخت پوستان

از تن ماهیان ۴۷٪ شیوع بیماریهای غذاهای دریائی را تشکیل می‌دهد که به‌عنوان عامل مسبب بیماری در آمریکا در طی سال‌های ۱۹۹۳ تا ۱۹۹۷ تشخیص داده شده‌اند. (جدول ۱-۵). عامل دیگر مسبب بیماریهای دریائی غذایی توکسین‌های محیط‌های آبی مخصوصاً مسمومیت سیگوترا (Siguatera)می‌باشد (Olsen *et al*., 2000). علاوه بر آن چندین باکتری مخصوصاً *Vibrio* spp به‌عنوان عامل مسبب بیماری‌های غذایی در غذاهای دریائی می‌باشند. (Feldhusen ، 2000 ؛ FDA ،1994)

۲-۵- خطرات میکروبی در فرآورده‌های ماهی

باکتریهای بیماریزا که بومی‌مناطق دریائی یا مرداب ها هستند (جدول۵-۲) به‌طور طبیعی در ماهی و سخت‌پوستان زنده وجود دارند. این باکتریها به میزان کمی‌در ماهی زنده یافت می‌شوند به‌جز Vibrio ، که مختص محیط دریا است، و خطر ایجاد بیماری بوسیله آن بسیار کم است مگر اینکه رشد این باکتریها در مدت نگهداری ماهیان در انبار افزایش یابد . ویبریوهای دریائی مثل V.*paraheamoly* ticus و V.*vulnificus* ممکن است به میزان زیادی در ماهیان صدف‌دار و ماهیانی که از آنها تغذیه می‌کنند در آب‌های گرمسیری و آب‌های معتدله در فصل تابستان وجود داشته باشند (Ruple & cook, 1992 ؛ Motes *et al*, 1998 ؛ Depaola *et al*, 1994 و Reilly & Kaferstein, 1997).

جدول ۲-۵- ارگانیسم‌های اصلی مرتبط با مسمومیت غذاهای دریایی

ارگانیسم‌های بیماری زا	تولید سم یا سلول زنده	محل زیست
۱- باکتری‌های موجود در آب کلستریدیوم بوتولینیوم گونه E	سم $۰/۱-۱\mu g$	در تمام محیط‌های آبی، خاک، رسوب امحاء و احشاء آبزیان، در سطح ماهی
گونه‌های ویبرو دریائی: V. CHOLERAE V.PARAHAEMOLYTICUS V.VULNIFICUS	$۱۰^{۸}\ cfu/g$ $۱۰^{۵}-۱۰^{۶}\ cfu/g$ ناشناخته	مرداب‌ها و آب‌های گرم ساحلی ($T>۱۵^{o}C$) امحاء و احشاء نرمتنان ماهی خوار و دستگاه گوارش صدف‌ها
باکتری‌های تولید کننده هیستامین	هیستامین $>۱۰۰\ mg/۱۰۰\ g$	خانواده اینتروباکتریساه در محیط‌های آبی
دیناوفلاژله‌ها و باکتری‌های مرتبط با الگ‌ها	نرمتنان تولید کننده سم فلج کننده (PSP)	محیط‌های آبی، سم جمع شده در دو کفه ای‌ها مثل صدف داران و سخت پوستان
۲- باکتری‌های موجود در محیط لیستریا مونوژنز	$۱۰^{۸}-\ cuf/g$ ناشناخته	پخش شده بطور وسیع در طبیعت، خاک، مرتع، مدفوع، ماشین و ابزار آلات در کارخانه‌های غذاهای دریایی.
کلستریدیوم بوتولینوم	تولید سم	موجود در خاک، مقدار زیاد
۳ – باکتری‌ها با منشاء انسانی و حیوانی گونه شیگلا گونه سالمونلا اشرشیا کلی استافیوکوک ارئوس	$۱۰^{۵}-۱۰^{۲}\ cfu/g$ $۱۰^{۶}-۱۰^{۲}\ cfu/g$ $۱۰^{۸}-۱۰\ cfu/g$ سم $۰/۱۹\ \mu g-۰/۱۴\ kg$	سواحل آلوده و آبهای آلوده به مدفوع که باعث آلودگی غذاهای دریائی می‌گردند. آب‌های آلوده و انسان‌های ناقل
۴ – ویروس‌ها هپاتیت A ویروس Norwalk	ویروس‌های زنده انسان	آب‌های آلوده به مدفوع حاوی ویروس جمع شده در سخت پوستان
۵- آلگ‌ها و یا فلاژله‌ها	سیاتوتوکسین، PSP, ASP, DSP, NSP	در دریاها، آب‌های گرم، موجود در سخت پوستان
۶- انگل‌ها	بعضی از انگل‌ها می‌توانند باعث آلودگی انسان شوند.	ماهی و سخت پوستان

عوامل بیماریزای بومی‌ممکن است باعث بیمارهای خطرناک و مرگ و میر انسانها شوند (بوتولیسم و ویبریوزیس) اما تعداد افرادی که گزارش شده‌اند (Feldhusen, 2000؛ Wallace *et al*,1999) که بیمار شدند خیلی کم است (Wallace *et al*, 1999). طی ۱۵ سال (۱۹۹۴- ۱۹۸۰) در نیویورک ۳۷ نفر به خاطر مصرف غذاهای دریائی آلوده با عوامل بیماریزا راهی بیمارستان شدند که ۱۳ نفر دچار بیماری ناشی از *Salmonella*، ۱۳ نفر ناشی از مسمومیت با توکسین تن ماهیان، ۴ نفر با *C.botulinum*، ۳ نفر با *Vibrio* و ۳ نفر توسط عوامل دیگر دچار بیماری شدند. اما، فقط ۳ نفر در اثر *C.botulinum* و ۱ نفر در اثر *V.vulnifcus* مردند. (Wallace *et al* ,1999).

باکترهای محیط عمومی‌مثل *C.botulinum* مزوفیل (نوع A و B) و *L.monocytogenes* به راحتی ماهی و ماهی‌های صدف‌دار را آلوده می‌سازند. گسترش L.*monocytogenes* در فرآورده‌های ماهی بالا است (Hudson; 1992 ،Hartemink & Georgsson,,1991)، مخصوصاً در ماهی دودی شده به روش سرد و دیگر فرآورده‌های ماهی که به‌طور کمی عمل‌آوری می‌شوند (Farbex, 1991 و 1997 ;Rorvik *et al*، Ben Embarek, 1994؛ Jorgensen & Hoss, 1998). L.*monocytogenes* عامل اصلی سه مورد شیوع بیماری بوسیله غذاهای دریائی Listeriosis بوده است (Miettinen *et al*.; 1999 و Brett *et al*., 1998 ؛ Ericsson *et al*., 1997) و همچنین به‌عنوان عامل اصلی در دو شیوع دیگر بیماری ناشی از غذاهای دریائی فرض شده است (Lennon *et al*; 1984 ؛ Riedo *et al*; 1990).

تعداد کمی‌از باکتریهای مدفوعی بیماریزا مثل *Salmonella* spp.، *Shigella* spp. و E.*coli* باعث آلودگی غذاهای دریائی به آنها و سبب بیماری می‌شوند (جدول۲-۵). علت آلودگی غذاهای دریائی، به این باکتری ها ناشی از آب آلوده به مدفوع و همچنین اشتباه در حمل و نقل فرآورده‌ها، مثل انتقال از یک محل به محل دیگر بعلت شرایط بهداشتی نامناسب و بوسیله کارگران آلوده به‌عنوان فاکتورهای اصلی در شیوع بیماری بوسیله این باکتریها بوده است (Wallace *et al*; 1999). اما، از طرف دیگر آلودگی با S.*aureus* ممکن است طی فرآوری اتفاق بیفتد، مخصوصاً اگر حمل و نقل بوسیله کارگران صورت گیرد. این مسئله می‌تواند یک خطر در فرآورده‌های پخته شده مثل میگو و سخت پوستان باشد. بخصوص زمانی که *Staphylococcus* می‌تواند رشد نماید زمانیکه باکتری‌های فاسد کننده غیرفعال شده‌اند (جدول ۲-۵). یکی از مهمترین عوامل بیماری‌زا ناشی از غذاهای دریائی از ماهی تازه و نیمه فرآوری شده مسمومیت هیستامینی است. (جدول ۱-۵) این نوع مسمومیت یک واکنش شیمیائی به خاطر مصرف آمین‌های بیوژنی است. این بیماری شبیه واکنش نیمه آلرژیکی می باشد و معمولاً به سرعت آثار آن از بین می‌رود. آمین‌ها، مثل هیستامین به وسیلهٔ باکتریهای دکربوکسیله کنندهٔ آمینو اسیدهایی مثل هیستیدین تولید می‌شوند . (Lehane & Olley; 2000). مثلاً تن ماهیان دارای مقدار بالایی از هیستیدین آزاد هستند بهمین علت بیشتر علت بیماری را به آنها نسبت می‌دهند. ولی ماهیان دیگری هم ممکن است دارای مقدار بالایی از هیستیدین آزاد باشند و قادر به تولید بیماری باشند مثل ساردین[1] ماهی-ماهی[2] و شک ماهی[3] و ماهی آبی[4] رشد باکتریهای تولیدکنندهٔ هیستامین در درجه حرارت‌های بالا بسیار سریع است و شیوع بیماری ناشی از آن به خاطر فقدان‌عملیات‌سردسازی سریع ماهی در زمان صید، در روی‌عرشه، دربازار، در کارخانه‌های فرآوری و یا در منازل صورت می‌گیرد. (Bryan ؛1988). همچنین،

[1] -sardines
[2] -Mahi-Mahi
[3] -Herring
[4] -Bluefish

شیوع‌بیماریهای‌ناشی‌ازغذاهای‌دریائی بیشتر درماههای‌تابستان‌اتفاق می‌افتد (Gillespie *et al.*,2001). بیشتر باکتریهای تولید کنندهٔ آمین‌های بیوژنی ، به خانواده *Enterobacteriaceae* یا جنس *Clostridium* & *Lactobacillus* تعلق دارند (Lehane & Olley,2000). مقدار نسبتاً بالای هیستامین در فرآورده ممکن است تولید شود بدون آنکه آنرا از نظر آزمایش حسی غیرقابل قبول نماید. از آنجائی که هیستامین در برابر فرآیندهای حرارتی مقاوم است، فرآوری یا پختن ماهی‌های فاسد شده تأثیری در مقدار هیستامین در آنها ندارد (Lehane & Olley; 2000). آمین‌های بیوژنی ممکن است به میزان کمی‌در طول فرآیند سردسازی توسط بعضی از باکتریهای سرمادوست مثل *Photobacterium Phosphoreum* یا بعضی از لاکتوباسیلوس‌ها تشکیل شود(Jorgensen *et al.*,2000).

ویروس‌ها معمول‌ترین عامل بیماری‌زا مرتبط با آبزیان صدف‌دار هستند و هپاتیت A یکی از خطرناک-ترین بیماریهای مرتبط با آبزیان صدف‌دار است (Rippey ,1994). در سال ۱۹۸۹ یک شیوع وسیع هپاتیت A در شانگ‌های اتفاقی افتاد که در حدود ۲۹۲۳۰۱ نفر بیمار گردیده و از میان آنها ۳۲ نفر آنها مردند (Halliday ,1991). ویروس‌ها از طریق خرچنگ‌های (Clam) خام آلوده به آب فاضلاب منتقل شدند. (فقط ۳/۵ درصد از افراد مبتلا به هپاتیت A که خرچنگ‌ها را به صورت پخته مصرف کرده بودند). بهرحال، بیشتر بیماریها به وسیلهٔ ویروس‌های روده‌ای و معده‌ای ایجاد می‌شوند (Jay, 1996 Wallace *et al.*,1999 Rippey,1994,) که عامل Norwalk و یا سفیه Norwalk به‌عنوان عامل اصلی این بیماری می‌باشند. اما، این عوامل بیماریزای ویروسی مانند بسیار کم شناسایی شده‌اند، زیرا که روش جداسازی، کشت و تشخیص آنها محدود است و یا اینکه اصلاً وجود ندارد. (Rippey, 1994; Wallace *et al, 1999*). مسیر، آلودگی دهان به مدفوع یک راه ثابت شده برای انتقال آنها می‌باشد ، همچنین آب‌های آلوده به‌عنوان منشاء اصلی انتقال آنهابه اثبات آنها رسیده.

دوکفه‌ایها در صورتیکه از دینوفلاژلت‌ها (جلبک) سمی تغذیه کنند ممکن است برای انسان سمی‌باشند. همهٔ نرمتنان فیلترکننده قادر به تجمع جلبک‌های تولیدکنندهٔ توکسین در بدنشان می‌باشند و مداخله بشر نمی‌تواند از تولید آن‌ها جلوگیری نماید. (1990 و Liston). اما، آگاهی عمومی، مهندسی سواحل و طبقه‌بندی آب‌ها ممکن است باعث حفاظت سلامتی عمومی‌از آسیب این توکسین‌های دریائی گردد. (Wallance *et al.*, 1999). توکسین‌های دریائی مثل سیگواترا (Ciguatera) ممکن است در ماهیان نواحی گرمسیری ساکن صخره‌ها دریائی تجمع یابند و درصورت فوت به وسیله انسان می‌توانند موجب بیماری بسیار خطرناکی شوند که منجر به مرگ گردد و این بستگی به نوع توکسین زیستی دارد.

چندین انگل در ماهی یافت شده که قادرند انسانها را آلوده سازند. راه انتقال انگل‌ها اغلب به خاطر مصرف ماهی آلوده خام یا به‌طور جزئی پخته شده به این انگل ها است و با پختن، منجمد، نمک سود کردن و یا قرار دادن در اسید می‌توان از این انتقال این انگل ها جلوگیری کرد. مهمترین خطرات میکروبی مرتبط با غذاهای دریائی مختلف توسط Huss (1995) توصیف و در جدول ۳-۵ خلاصه شده است.

۳-۵- استراتژی‌برای نگهداری به روش سنتی

تکنولوژیهای سنتی نگهداری از مواد غذایی از طریق جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها در غذا عمل می‌کردند تا از طریق غیر فعال کردن سلولهای آنها عمل کنند (Gould,1996). استفاده از حرارت تنها روش سنتی است که دارای اثر کشنده بر روی میکروارگانیسم‌ها می‌باشد، اگرچه تکنولوژی‌های جدیدی با اثر کشندگی بر روی میکروارگانیسم‌ها اخیراً توسط کارخانه‌های مواد غذائی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۴-۵). روش‌های سنتی برای نگهداری فرآورده‌های ماهی به مقدار زیاد وابسته به استفاده از سرد و منجمد عنوان و نگهداری در سردخانه، کم نودن فعالیت آبی با استفاده از نمک، حذف اکسیژن و هوا بوسیله از خلاء و یا بسته بندی در اتمسفر تغییر یافته، استفاده از حرارت، دودی نمودن و اضافه نمودن تعدادی از مواد نگهدارنده معدنی و یا آلی (نیتریت؛ سوربات، نیتروات) می‌باشد.

نگهداری فرآورده‌های ماهی در انبار سرد برای جلوگیری از رشد عامل بیماریزای غذایی و تولید توکسین ضروری است (جدول ۳-۵). بهرصورت، درجه حرارت بین $۴-۸^{\circ}C$ برای جلوگیری از رشد و یا تولید توکسین توسط باکتریهایی که سرما را تحمل می‌کنند مثل*C.botulinum, Listeria momocytogenes* کافی نیست و روش‌های نگهداری دیگری برای تضمین اطمینان از سلامتی غذای تولید شده ممکن است لازم باشد (Repeed, Huss ,1997). در فرآورده‌های ماهی که نیمه فرآوری شده مثل ماهی دودی شده به روش سرد، افزودن مقدار متوسط نمک طعام (کمتر از ۶ درصد در فاز آبی)، دودی کردن و سرد کردن تنها پارامترهای حفاظتی استفاده شده برای جلوگیری از رشد عوامل بیماریزا هستند. (جدول ۵-۳). اضافه نمودن سوربات، بنزوات و نیترایت ممکن است برای بعضی از فرآورده‌های ماهی که نیمه فرآوری شده مثل میگوی شور مورد استفاده قرار گیرد. اما، روش‌های نگهداری و فرآوری استفاده شده برای فرآورده‌های ماهی که نیمه فرآوری حفاظت شده اند، برای غیر فعال کردن و جلوگیری از رشد *L.moncytogenes* (نقطه کنترل بحرانی در این مورد در برنامه حصپ وجود ندارد) بعلت نمک دوست و مقاوم به سرما بودن این‌گونه کافی نمی‌باشد. از آنجائی که این فرآورده پخت بیشتر مصرف شود می‌شود یک عامل خطر برای سلامتی افراد حساس به این گونه می‌باشد.

بهینه نمودن کنترل عوامل بیماری زا در فرآورده‌های ماهی

جدول ۳-۵ درجه بندی خطرها د فرآورده‌های دریائی با منشأ اکولوژی متفاوت میکروبی

فرآورده	روش نگهداری	درجه خطر	خطرهای اصلی برای سلامتی	
			عامل	علت
۱- خام یا نیمه پخته از سخت پوستان	بدون، یا حرارت کم و سرد نمودن	زیاد	ویروس سم طبیعی ویبرو سالمونلاتیفی	فیلتر فیدر طبیعت درجه حرارت نامناسب نگهداری در شرایط بد
۲- ماهی تازه یا منجمد	سرد نمودن بسته بندی در اتمسفر تغییر یافته ، انجماد	کم	باکتری‌های تولید کننده هیستامین سم‌های دریائی انگل‌ها و کلستریدیوم بوتالتیوم باکتری‌های بیمار یزا	درجه نامناسب، خام قبلا از مصرف
۳- ماهی نیمه آماده	کمتر از ۶ درصد نمک درجه حرارت بالا $(4-8°C)$ سوربات، بنزوات، نیتریت و دود	زیاد	لیستریامنوژنز عوامل بیماری زا	مدیریت نامناسب، روش نامناسب نگهداری، انبار نمودن در درجه نامناسب مواد اولیه نامناسب، نمک کمتر از ۱۰ درصد
۴- ماهی نسبتاً نگهداری شده	بیشتر از ۶ درصد نمک $pH<5; T<10\ °C$ (سوربات، بنزوات و نیترات)	کم	کلستریدیوم بوتالینوم عوامل تولید کننده هیستامین	درجه pH از $pH°C$ ماده اولیه با کیفیت پائین
۵- ماهی نیمه آماده (Sous vide)	پخت کم، وکیوم، سرما کم	زیاد	کلستریدیوم بوتالینوم لیستریامنوژنز استافیلوکوک ارئوس‌ای‌کلی سالمونلا و ویبریو	آلودگی ثانوی درجه حرارت ناکافی آلودگی ثانویه
۶- ماهی پاستوریزه شده دودی گرم	شور یا نمک سود، حرارت بین ۷۷/۲ تا ۹۸/۸	زیاد	کلستریدیوم بوتالنیوم لیستریامنوژنز استافیلوکوک ارئوس ای کلی، سالمونلا	نمک کمتر از ۳ درصد آلودگی ثانوی نمک ۳٪ > و $5^{\circ}C$ عمل آوری در درجه حرارت پائین
۷- استریل نمودن	دادن حرارت	کم	باکتری‌های تولید کننده هیستامین، کلستریدیوم، بوتالینوم	۱- ماده اولیه نامرغوب آلودگی کانونی پس فرآوری درجه استریلیزاسیون پارس

توجه: مسمومیت توسط ماهیان Schombroid (هیستامین) نسبتاً زیاد است (جدول ۱-۵)، اما معمولاً خیلی مسمومیت سبکی است، بنابراین درجه خطر آن کم ارزشیابی شده.

۴-۵- استراتژیهای جدید برای نگهداری

روش‌های نگهداری نیمه فرآوری ملایم در صنعت غذایی امروزه بنا بر تقاضای مصرف کنندگان برای غذاهای با کیفیت بالا مهم‌تر شده‌اند این روش‌ها شامل غذاهایی که نیمه فرآوری و کمتر حرارت داده می‌شوند هستند (مثل sous vide که به نیمه پخته شده و در درجه حرارت پائین نگهداری می‌شوند). در نتیجه،

روش‌های سنتی، برای کنترل خطرهای تهدیدکنندهٔ سلامتی انسان با روش‌های نیمه ملایم‌تر، مثل استفاده کم از Nacl و افزودنیهای شیمیایی همراه با سردسازی جایگزین دارند می‌شوند. بسیاری از این نوع غذاهای آمادهٔ مصرف (ready-to-eat) و فرآورده‌های غذایی جدید باعث ایجاد خط تولید غذایی جدید و در ضمن خطرهای جدید برای سلامتی فرد مصرف کننده گردیده اند. در زمان نگهداری فرآورده های غذائی جدید بوسیله سرما، از رشد باکتریهای سرما دوست مثل *C.botulinum, L.monocytogenes* و *Yersinia enterolitica* و تعدادی از باکتری‌های بیماریزا جلوگیری نمی‌شود. در نتیجه باعث بروز بیماریهای مرتبط با روش تهیه اینگونه غذاها می‌شود که این امر منجر به زیر سؤال رفتن درجه اطمینان از سلامتی غذاهایی که به‌طور نیمه فرآوری تهیه شده‌اند گردیده است.از این رو تأکید برروی بهبود درجه اطمینان از سلامتی این نوع فرآورده‌های جدید بعمل آمده. در نتیجه نیاز به بهینه سازی این روش‌های نگهداری وجود دارد. تعداد زیادی از مواد طبیعی ضد باکتری (جدول ۴-۵) تولید شده بوسیله میکروارگانیسم‌ها (مثل کشنده‌های باکتریایی)، گیاهان (ترکیبات ضد میکروبی از گیاهان داروئی و چاشنی‌های گیاهی) و حیوانات (مثل لیزوزوم، پروتامین، لاکتوپراکسیداز، لاکتوفرین) استخراج و برای استفاده در مواد غذائی بعنوان نگهدارنده، آزمایش شده‌اند. از طرف دیگر چندین روش فرآوری غذا بدون نیاز به حرارت (مثل فشار هیدرواستاتیکی بالا و تکنیک‌های الکتریکی) برای برآورده کردن تقاضای مصرف‌کنندگان غذاها نیمه فرآوری برای بالا بردن ضریب سلامت غذا و با کیفیت بالا توسعه یافته است. فواید عمده این روش‌ها این است که آنها صدمه خیلی کمی‌به طعم و بافت فرآورده‌های غذایی وارد می‌کنند و دارای تأثیر ضد باکتریائی مشابه پاستوریزه کردن و استریلیزاسیون می‌باشند و منجر به استفاده کمتر از مواد افزودنی می‌شوند. (Gould,2000 ؛ Gould, 1996). همچنین علم به اینکه عمل سینرژیستی تکنولوژیهای بکار رفته برای تولید غذاهای نیمه فرآوری شده ممکن است باعث حفاظت غذا وقتی که به صورت ترکیبی استفاده شوند ممکن است کمک به توسعه روش‌های نگهداری جدید و استفاده کمتر از حرارت ومواد افزودنی گردند.

بهینه نمودن کنترل عوامل بیماری زا در فرآورده‌های ماهی

جدول ٤-٥ - پیدایش روش‌های جدید نگهداری با استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی و اثر تشدید کننده آنها بر روی روش‌های نگهداری جدید و قدیم

تکنولوژی	نمونه	فعالیت ضد میکروبی و دامنه عمل	اثر تشدید کننده	
			تکنولوژی	مرجع
۱- باکتریوسین	نیاسین	از بین بردن دیواره سیتوپلاسمی‌بیشتر باکتری‌های گرم مثبت اما بعضی از گرم منفی‌ها از طریق دربرگری مواد چیلیتگ. فشار هیدرواستاتیک و یا جراحات که ممکن است اثر نیاسین را تشدید نماید	CO_2 درجه حرارت پائین pH پارنن مواد در برگیرنده (EDTA)	Nillson *et al.*, 2000 Nillson *et al.*, 2000 Rogers And Montville,1994 Parente *et al.*, 1998 Stevens *et al.*, 1991 – 1992 Kalchayan *et al.*, 1992
			لیزوزیم + EDTA لیکوسین پدیوسین لیزوزیم لاکتات	Gill and Holley., 2000 Parent *et al.*, 1998 Hanlin *et al.*, 1993 Monticello, 1989 Nattress *et al.*, 2001 Chung & hancock., 2000 Nykanen *et al.*, 2000
۲- آنزیم ها	لیزوزیم	تجزیه نمودن دیواره سلولی	درجه حرارت پائین + EDTA	Johansen *et al.*, 1994 Samuelson *et al.*, 1985
		بیشتر باکتری‌های گرم مثبت	شوک اسمزی	Carminati *et al.*, 1985
	گلوکز اکسیداز	اکسید کردن گلوکز در مجاورت اکسیژن و تولید H_2O_2	انتقال یون آهن	Johnson, 1989
	لاکتو پراکسیداز	اکسیده کردن تیوسیانات بوسیله H_2O_2 و تولید هیپوسیانات باکتری‌ها بصورت عام	نیاسین H_2O_2	Wolfson And Summe, 1993 Boussouel *et al.*,1929
	آهن چیلیتگ لاکتو فررین	ترکیب با آهن باکتری‌ها بصورت عام	فشار بالا	Masschalck *et al.*, 2001
گیاهان داروئی و ادویه ها	سیر	a- تخمیر سیر به اسید لاکتیک b- آلاسین، اجوین، ایزوتیوسیانات و تعدادی از میکروارگانیسم ها		
فشار بسیار زیاد (UHP)		ضربه مرگبار به سلول	نیاسین	Ter Steeg *et al.*, 1999 Masschalck *et al.*, 2001
		سلول‌های رویشی	لیزوزیم نیاسین + لیزوزیم	Hauben *et al.*, 1996 Masschalck *et al.*, 2000

تکنولوژی	نمونه	فعالیت ضد میکروبی و دامنه عمل	اثر تشدید کننده	
			تکنولوژی	مرجع
			فشار کم + Co_2	Amanatidou *et al.*, 2000
			اسید	Wuytack & Michiels, 2001
میدان الکتریکی قوی با پالس زیاد	اثر مشابه پاستوریزه نمودن سلول‌های رویشی			
امواج صوتی با فرکانس فوق‌العاده	اثر مشابه پاستوریزه یا استریل نمودن مثلاً در $^{\circ}C$ ۱۰ زمانی که همراه با فشار نسبتاً بالا بکار برده شود.		حرارت + فشار نسبتاً بالا منوترمو سونیکاسیون	Sala *et al.*, 1995

۵-۵- نگهداری به روش بیولوژیک

استقبال و علاقه زیادی به استفاده از نگهداری بیولوژیک به‌عنوان یک روش نگهداری طبیعی برای ارتقا دادن کیفیت غذا و یا طولانی کردن زمان ماندگاری آن وجود دارد. نگهداری بیولوژیک عبارت است از استفاده از میکروارگانیسم و یا ترکیبات ضد باکتریائی گیاهی، جانوری یا میکروبی می‌باشد، بدون اینکه تغییری در کیفیت حسی فرآورده ایجاد کند. فعالیت ضد میکروبی باکتریهای اسید لاکتیک[1] (LAB) و تأثیر بسیار زیاد آنها در جلوگیری از بیماری، آنها را به‌عنوان کاندیدهای مناسب برای نگهداری بیولوژیکی مواد غذای معرفی کرده است که در جدول ۵-۵ نشان داده شده است. در این فصل نگهداری بیولوژیکی مواد غذائی با تمرکز بر روی کشت‌های ضد میکروبی یا متابولیت‌هایشان که به‌طور قابل توجهی دارای خاصیت باکتری‌کشی مثل باکتریولین‌ها هستند, مورد بررسی واقع می‌شوند.

[1] - LAB: Lactic acid bacteria

بهینه نمودن کنترل عوامل بیماری زا در فرآورده‌های ماهی

جدول ۵-۵- محل اثر مواد ضد میکروبی تولید شده بوسیله باکتری‌های اسید لاکتیک بر روی میکروب‌ها و اثر این مواد بر روی خواص حسی فرآورده

مواد ضد میکروبی	محل و چگونگی عمل	اثر بر روی	اثر بر روی خواص حسی
اسیدهای آلی	اختلال در دیواره سلولی، جلوگیری از فعالیت‌های متابولیکی، تاثیرگذاری بر pH داخل سلول جمع شدن آنیون‌های سمی	سلول باکتری‌ها و قارچ ها	اسیدی، نرم و جمع شدن، ترش، شور و طعم بد
H_2O_2	اکسیده شدن چربی، افزایش نفوذپذیری دیواره سلولی	سلول باکتری‌ها و قارچ ها	تغییر رنگ و ترشیدگی
H_2O_2 در سیستم لاکتو پراکسیداز	اکسیده نمودن اسید آمینه‌های ضروری و آنزیم اسید آمینه سولفوردار	سلول باکتری‌ها و قارچها	تغییر رنگ و ترشیدگی
باکتریوسین‌ها	اختلال در دیواره سلولی، PMF و شیب یونی	گونه‌های بیماری زا نزدیک بهم (مثل لیستریا منوژنز)	ندارد
زیبوترین یا ۳ هیدروکسی پروپیون آلوئید	جلوگیری از فعالیت آنزیم سولفیدریل در ساخت DNA	دامنه وسیع	ندارد
CO_2	ایجاد شرایط بی هوازی	باکتری‌های هوازی	طعم اسیدی ضعیف
دی استیل	تداخل در مصرف آرژنین	باکتری‌های گرم منفی و قارچها	طعم کره و پنیر

۱-۵-۵- استفاده از باکتریهای اسید لاکتیک در محیط کشت

در نگهداری بیولوژیکی، میکروارگانیسم‌ها برای فعالیت ضد باکتریایشان به کارگرفته می‌شوند در حالی که میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان کشت‌های بیولوژیک شروع کننده در فرآیند تخمیر مواد غذایی استفاده می‌شوند که هدف از اینکار ابتداً به منظور ایجاد تغییرات حسی مفید در فرآورده افزوده می‌شوند. بیشتر اقدامات برای استفاده نگهداری زیستی برای جلوگیری از فعالیت ارگانیسم‌های بیماریزای در مواد غذایی بکار گرفته شده‌اند اما بعضی از تحقیقات نگهداری بیولوژیک را به‌عنوان روشی برای جلوگیری از فساد غذائی نیز ارزیابی کرده‌اند. (Einarsson and lauzon, 1995).

بسیاری از مطالعات روی LAB به‌عنوان کاندید بالقوه برای تولید کشت‌های ضد میکروبی در نگهداری زیستی تمرکز کرده‌اند زیرا آنها:

۱. به‌طور کلی بی‌خطر هستند (GRAS) و هیچ خطر ی – سلامتی مصرف کننده را تهدید نمی‌کند.
۲. به‌طور کلی به‌عنوان ارگانیسم‌های با ـ درجه (Food-grade) غذائی مشهورند.
۳. در طول رشدشان تولید چند متابولیت ضد میکروبی می‌کنند.
۴. تصویرمناسبی بین مصرف کنندگان مواد غذائی به‌عنوان کشت پروبیوتیک‌ها دارند که می‌تواند فواید زیادی برای سلامتی انسانها فراهم سازد.
۵. چندین قرن است که در تخمیر مواد غذا استفاده شده‌اند و بنابراین فیزیولوژی و فعل و انفعال آن در مواد غذای زیاد مطالعه شده است.

LAB از رشد میکروارگانیسم‌های دیگر از طریق چند مکانیسم جلوگیری می‌کند (جدول ۵–۵). توانایی آنها برای تولید اسید لاکتیک و اسید استیک به‌عنوان مهمترین ویژگی بازدارندگی آنها از رشد میکروارگانیسم‌ها در غذاهای تخمیر شده می‌باشد. در غذاهای تخمیر نشده، تولید باکتری‌کشها (Bacteriocins) و یا رقابت برای عناصر غذایی جزء ویژگیهای مهم آنها می‌باشند. انتخاب کشت‌های ضد میکروبی LAB برای غذاها براساس توانایی آنها در تولید باکتریوسین در کشت برای تولید عوامل باکتری‌کش‌ها می‌باشد. باکتری‌کش‌ها پپتیدها یا پروتئین‌هائی می‌باشند با تأثیر استاتیک و یا هیدرولیزکننده برعلیه میکروارگانیسم‌های موجود در غذا کار می‌کنند. آنها روی کیفیت حسی مواد غذا تأثیرهای سوء نمی‌گذارند و معمولاً در بین بردن باکتری‌های عامل بیماری و فساد فعال هستند. به‌طور کلی فرض شده که باکتری‌کش‌ها هیچ تأثیر سوء روی سلامتی انسانها ندارند (Cleveland *et al.*, 2001), زیرا که ویژگیهای شبیه پپتد و یا پروتئین باکتری‌کش‌ها باعث می‌شود تا آنها به وسیله آنزیمهای معده و روده غیر فعال شوند و از هرگونه اثر میکروب‌کشی آنها در روده جلوگیری شود.

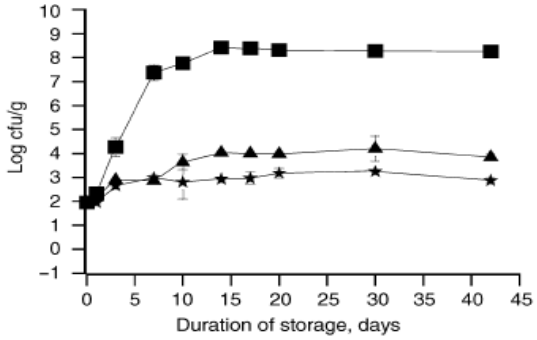
پژوهشگران زیادی نشان داده‌اند که LAB خاصیت باکتری‌کشی بسیار خوبی در سیستم‌های غذایی دارد. اما، مطالعات کمی‌در زمینه فرآورده‌های ماهی انجام شده است.(جدول ۶–۵). در فرآورده‌های ماهی، کشت‌های حفاظتی ضد میکروبی برای جلوگیری از رشد L.*monocytogenes* در فرآورده‌های ماهی که نیمه فرآوری گردیده‌اند، استفاده شده‌اند، از این رو نیاز زیاد برای ایجاد و روش‌های حفاظتی بهینه‌سازی شده برای این قبیل فرآورده‌ها وجود دارد (Nilson, 1999؛ Bem- Embarek,1994 ، Huss, *et al.*,1995). مطالعات زیادی برای ارزیابی استفاده از باکتری *Carnobacterium piscicola* به‌عنوان کشت‌های ضد میکروبی زیستی برای کنترل رشد L.*monocytogenes* در آزاد ماهی دودی شده به روش سرد انجام شده است

(Nilsson *et al.,1999* ؛ Duffes *et al,*. 1999). تاریخچه این گونه نشان می‌دهد که اغلب اینها به‌عنوان گونه غالب در ماهی آزاد دودی شده به روش سرد وجود دارند. (Lerd *et al.*, 1996 ؛ 1998 Paludan-Müller *et al.*,) و نشان داده شده است که دارای فعالیت باکتری‌کُشی (Antilisterial) دارد. (Nilsson *et al*., 1999 و Stoffels *et al.*, 1992 و Buchanhn & Klawitter, 1992 ؛ 1990 Ahan & Stiles). علاوه بر آن، مشخص شده است که C.piscicola در بعضی از موارد زمان ماندگاری فرآورده را طولانی‌تر کرده است (Leroi *et al.*, 1996). این ویژگیها باعث شد تا C.piscicola به‌عنوان یک کاندید مناسب برای حفاظت زیستی آزاد ماهیان دودی شده به روش سرد انتخاب شود. نیلسون و همکارانش (۱۹۹۹) با موفقیت نشان دادند که دو سویه از C.*piscicola* (سویه تولید کننده مواد باکتری‌کش و سویه‌ای که این قابلیت تولید مواد ضد میکروبی را ندارد) برای کنترل رشد L.*monocytogenes* در آزاد ماهیان دودی شده به روش سرد و بسته‌بندی شده در شرایط خلأ مناسب هستند. (شکل ۱-۵) داف و همکارانش (۱۹۹۹) فعالیت باکتری‌کشی C.*Pisclcola* را در آزاد ماهی دودی شده به روش سرد زمانی که به‌عنوان کشت‌های حفاظتی از آن استفاده کردند، مشاهده نمودند. اما، رشد L.*monocytogenes* به وسیله سویه‌هایی که قابلیت تولید مواد باکتری‌کش را نداشته متوقف نشد. هر دوی این مطالعات نشان داد که استفاده از مقدار بالای C.piscicola باعث سرعت فساد در آزاد ماهی دودی شده به روش سرد را نشد. (Duffes *et al.*, 1999 ؛ Nilsson *et al.*,1999). علاوه بر آن، تولید آمین‌های بیوژنیک به جز مقدار کمیTyramine مشاهده نگردید (Duffes *et al.*, 1999).

جدول ٦-٥ کنترل باکتری‌های مضر در فرآورده‌های ماهی با اضافه نمودن مواد ضد میکروبی[1] تولید شده بوسیله اسید لاکتیک باکتری‌ها به آنها.

فرآورده مشخص	مواد ضد میکروبی LAB	موجودات هدف	مرجع
میگو شور شده	Lb.Sak'e LKE5	لیستریامنوژنز	Jeppesen & Huss, 1993
میگو یخ پوش شده	Lb. Sake Sub Sp. Sake	ویبریوپاداهمولتیک	Moon *et al*., 1982
ماهی آزاد – دودی سرد	Lb. lactis sub Sp. Lactis	لیستریامنوژنز	Wessels & Huss, 1996
	C. piscicola A ،B	لیستریامنوژنز	Nilsson *et al.*, 1999 Duffes *et al*, 1999
	C. piscicola V1 and C. Divergens V41 C. piscicola	باکتری‌های فاسد کننده	Lerol *et al.*, 1996
گوشت ماهی چرخ و تخمیر شده	Ped. Pentosa Ceus & Lb. Plantarum	ویبریو پاراهمولتیک و کلستریدیوم پرفرینجنس	Aryanta *et al.*, 1991
فیله ماهی کاد	Lb. Plastapum	باکتری‌های سرمادوست	Rose *et al.*, 1988
گوشت تازه خرچنگ	Lb. delbrueckii Sub sp. Bulgaricus	باکتری‌های سرمادوست	Gilliland and Speck, 1975

[1] - Bacteriocinogenic LAB



شکل ۱-۵ : رشد *L.monocytogenes* در آزاد ماهی دودی شده به روش سرد که تحت شرایط خلأ بسته‌بندی شده است و در ۵°C نگهداری شد.

■ – لیستر یا منوژنز فقط

▲ - لیستریا منوژنز کشت شده همراه با کرنوباکتریوم پپسی کولا Aqb (تولید کننده باکتریوسین).

* - لیستریامنوژنز همراه با کرنوباکتریوم پپسی کولا A10 (بدون تولید باکتریوسین)

± - نشان دهنده استاندارد دیویشن – میانگین (Afrer Nilsson *et al*., 1999)

ممانعت از فعالیت‌های باکتریهای تولیدکنندهٔ هیستامین در پنیر به وسیلهٔ باکتریهای اسید لاکتیک تولیدکنندهٔ مواد باکتری‌کش گزارش شده است (Joosten & Nunez, 1996). طبق دانسته‌ها چنین تحقیقات مشابه در این زمینه روی فرآورده‌های ماهی صورت نگرفته است. اما، کاربرد کشت‌های حفاظتی تولیدکنندهٔ مواد باکتری‌کش هنوز به چند دلیل زیر سؤال است. کارآیی مواد باکتری‌کش توسط چند فاکتور ذاتی در غذا تحت تأثیر قرار می‌گیرد و اثر آن احتمالاً از بین می‌رود (جدول ۵-۷) (Ganzel *et al*., 1999 ; Ghoung et al., 1989 ; Stiles,1996 ; Jun *et al*.,1992 ; Daeschel 1993).

همچنین، تولید مواد باکتری‌کش ممکن است تحت شرایط فرآوری با غذا کاهش و یا از تولید آن جلوگیری شود (جدول۷-۵). (Hlmelbloom *et al*, 2001 و Nilsson *et al*., 2002 ; Hugas *et al*.,1996 ۶,Leroy & de Vuyst,1999).

علاوه بر این باکتری که باید از رشد آن بوسیله مواد باکتری کش طبیعی جلوگیری شود ممکن است نسبت به این مواد مقاوم باشد (جدول ۷-۵).

(Crandau & Montville, 1999; Harris *et al*, 1991, Ming & Daeschel, 1993; Mazzotta & Montville, 1997, Nilsson *et al*, 2000).

بنابراین، این موضوع می‌تواند جالب باشد که بیشتر روی ارگانیسم‌هایی که قادر به تولید مواد باکتری‌کش نیستند به‌عنوان کشت‌های حفاظتی زیستی تمرکز کنیم. همچنین باید تأکید شود که چند مطالعه روی ویژگیهای تولید مواد ضد میکروبی توسط LAB نشان داد که این باکتری قادر به تولید مواد باکتری‌کش نمی‌باشد را حمایت کرده است. از طرفی نیلسون و همکارانش (۱۹۹۹) گزارش کردند که رشد *L.monocytogenes* در آزاد ماهیان دودی شده به روش سرد به‌طور مؤثری به وسیله سویه‌ای از *C.piscicola* که قادر به تولید مواد باکتری‌کش نمی‌باشد جلوگیری بعمل آید. این جلوگیری ممکن است بعلت عدم وجود عناصر غذایی ضروری برای رشد باکتریها باشد.

(Buchanan & Bagi; 1997 , Deg nan *et al*, 1992, Nilsson *et al.*, 1999; Lyver *et al.*, 1998; Lerol *et al;* 1996)

دگنان و همکارانش (۱۹۹۲) پیشنهادکردند که تأثیر بازدارندگی کنندهٔ *Pediococcus acidilacitici* روی *L.monocytogenes* بعلت رقابت ضد همدیگر بین این دوگونه می‌باشد. با تحقیق روی فعل و انفعال بین مواد باکتریوسین تولیدی بوسیله *C.piscicola* و جلوگیری از رشد *L.monocytogenes* پیشنهاد شد که جلوگیری از فعالیت عامل بیماریزا به مقدار خیلی کم با تمام شدن عناصر غذایی ارتباط دارد (Buchnan & Bagi, 1997). پیشنهاد مشابه‌ای دیگر توسط نیلسون و همکارانش (۱۹۹۹) زمانی که روی فعل و انفعال بین سویهٔ دیگر *C.piscicola* و *L.monocytogenes* مطالعه می‌کردند نیز ارائه شد. در مطالعه Lyver و همکارانش (۱۹۹۸) که روی فرآورده تولیدی از سوریمی‌پخته شده بعمل آمد، گزارش دادند که تولید توکسین و رشد *C.botulinum* نوع E به خاطر رقابت گونه‌هایBacillus با کلستریدیوم بوتولیسم و EC جلوگیری بعمل آمده بررسی دیگر پژوهشگران بر روی فلور میکروبی طبیعی گوشت تازه، نشان داد که باکتری‌های گرم منفی غالب در محیط با تولید اسید از رشد *L.monocytogenes* موجود در محیط جلوگیری بعمل می‌آورند (Sahelis *et al.*, 2001).

جدول ۷-۵- خواص مفید مواد ضد میکروبی طبیعی بدست آمده از کشت باکتری ها و عوامل تشدید کننده اثر آنها

شاخص	اثر	عوامل تشدید کننده
رشد سریع در ماده غذائی	محدود کردن مواد مغذی و در نتیجه جلوگیری از رشد باکتری‌های مضر	قابلیت رشد باکتریوسین‌ها در مواد غذائی مختلف. بستگی به چند عامل ذاتی مواد غذائی مثل وجود مواد مغذی، مواد نگهدارنده و درجه انبار دارد
تولید مواد ضد میکروبی	جلوگیری از رشد باکتری‌های ناخواسته	درجه حرارت و نیتریت و نمک و PH تولید مواد ضد میکروبی، وجود باکتری‌های دیگر
تولید فعالیت پایدار ضد میکروبی	جلوگیری از تعمیرات در زمان نگهداری	PH تغییر در حلالیت، ترکیب شدن با اجزاء مواد غذائی (پروتئین و چربی) عدم غیرفعال شدن بوسیله اجزاء دیگر مواد غذائی و آنزیم‌های هیدرولیز کننده؛ عدم تغییر خاصیت ضد میکروبی روی باکتری‌های مورد نظر (ایجاد مقاومت). مقدار کم نفوذ در داخل مواد غذائی.
تولید فعالیت قابل اطمینان ضد میکروبی	جلوگیری از تغییرات در محیط	عوامل مهم برای تولید عبارتند از: مقدار نمک، درجه حرارت، PH ، تعداد باکتری‌های تولید کننده مواد ضد میکروبی، بعلت اینکه مقدار مود تولید شده بستگی به تعداد باکتری‌های تولید کننده مواد ضد میکروبی دارد.

کشت‌های حفاظتی زیستی باید به‌عنوان یک مانع (barrier) اضافی در یک سیستم‌های نگهداری غذاهای که بوسیله چند روش نگهداری می‌شوند مورد استفاده قرار گیرد (Stiles, 1996). ترکیبی از جثه روش نگهداری حفاظتی (در اصطلاح Hurdle technology; Leistner, 1995) درجه اطمینان مورد نیاز نگهداری از غذا را فراهم می‌سازد و هم زمان قدرت نگهداری طبیعی غذا کم می گردد که علت آن تأثیر چند روش و یا اثر سینرژیکی آنها برای جلوگیری از رشد و یا کاهش باکتریها می‌گردند.

۲-۵-۵- باکتری‌کش‌ها طبیعی[1]

باکتری‌کش‌ها عبارتند از پپتیدها یا پروتئین‌هایی که به وسیله باکتریها تولید و ترشح می‌شوند که فعالیت باکتری-کشی نسبت به گونه‌های نزدیک و مرتبط با آن دارند. (Tagg etal,1976). چندین ترکیب باکتری‌کش در چند دهۀ اخیر شناسایی شده‌اند و استفاده بالقوه از آنها در حفاظت زیستی غذاها مثل فرآورده‌های ماهی آزمایش شده

[1] - Bacteriocins

است (جدول ۸-۵). طبق بررسی‌های klaenhammer (1993) گزارش کرد که باکتری‌کش‌های LAB را می‌توانند در ۴ گروه عمده دسته‌بندی شوند که گروه ۱ و ۲ بیشتر تولید می‌شوند. گروه یک شامل Lantibiotics می‌باشد دارای حلقه‌های لانتیون (Lanthion) می‌باشند که شامل nisin و subtilin می‌باشند. گروه دوم شامل پپتیدهای کوچک و مقاوم به گرما هستند و فاقد حلقه‌های Non-Lantibiotic هستند و دارای ازت در فرمول YGNGV در انتهای فرمول مثل pediocin و carnocin. گروه سوم شامل پروتئین‌های حساس به گرما بزرگتر (بیشتر از ۳۰ کیلو دالتون) می‌باشد مثل helveticin و گروه چهارم مواد باکتری‌کش‌های پیچیده‌ای هستند که در فرمولشان مولکول که از چربی یا قند علاوه بر پروتئین دارند مثل pediocin SJ-1 . امروزه، nisin به‌عنوان تنها ماده باکتری‌کشی طبیعی است که به‌عنوان نگهدارندهٔ غذا در بیش‌تر از ۵۰ کشور پذیرفته شده است. اما، اتحادیه اروپا مصرف nisin را در بعضی از تولیدات لبنیاتی (پنیر، خامه، شیر و کره)، سبزی‌ها و غذاهای کنسرو شده محدود کرده است. nisin با تشکیل منفذ در غشاء سیتوپلاسمی‌سلولهای حساس عمل می‌کند (اندازه حفره ۱/۲ ـ ۰/۲ ناتومتر) و خروج ترکیب‌های آب دوست کوچک مثل ATP، ADP، کاتیون‌های تک ظرفیتی و آمینو اسیدها را از سلول را موجب می‌شود (Abee *et al*., 1994 Winkow ski et al.,1996). این باعث تحلیل پتانسیل غشاء و شیب یونی (ΔpH) ، در طول غشاء و در نتیجه, از بین رفتن متابولیسم انرژی منجر به مرگ سلول می‌شود (Moll et al.,1997و Bruno, 1992)

جدول ۸-۵- کنترل باکتری لیستریامنوژنز در فرآورده‌های مختلف ماهی با اضافه نمودن مواد ضد میکروبی تولید شده بوسیله لاکتیک اسید باکتری ها

فرآورده	مواد ضد میکروبی	مرجع
ماهی آزاد دودی شده سرد	نیاسین	Nilsson et al., 1997
	دیورسین	Duffes et al., 1999
	کارنوسین	Duffes et al., 1999
	کارنوسین	Nilsson et al., چاپ نشده
گوشت لابستر سرد بسته بندی شده	نیاسین	Budu-AMOAKO et al., 1999
خرچنگ آبی رنگ	نیاسین	Degnan et al., 1994
قزل آلای دودی شده سرد	نیاسین	Nykanen et al., 2000

به جز nisin بهترین مواد ترکیبات باکتری‌کش طبیعی استفاده شده برای نگهداری مواد غذائی به گروه دوم (IIa) تعلق دارند (باکتری‌کش‌های شبیه به pediocin) که دلیل آن هم فعالیت بیولوژیکی آنها می‌باشد که

به‌طور کلی بالاتر از دیگر مواد باکتری‌کش است و در برابر سویه‌های Listeria خیلی فعال هستند، دلیل آن ویژگیهای فیزیکوشیمیایی آنها (مثل مقاوم به گرما) می‌باشد (Ennahar etal.,2000). همچنین، این باکتری-کش‌ها توسط ارگانیسم‌هایی مثل *Carnobacteria, Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus* و *Enterococcus faecium* که متعلق به میکروفلور LAB طبیعی بوده و در بسیاری از غذاها توجود دارند تولید می‌شوند. باکتری‌کش‌های گروه دوم از طریق افزایش قابلیت نفوذ غشاء سلولهای هدف‌شان عمل می‌کنند. فعالیت ضد میکروبی اینها از طریق اتصال باکتری‌کش به یک دریافت کننده خاص در غشاء سلول‌های هدف تقویت می‌شود اگر چه فعالیت ضد میکروبی از طریق اتصالی غیر اختصاصی نیز صورت می‌گیرد (Chen *et al.*,1997).

به‌طور کلی باکتری‌کش‌های LAB فعالیت ضد میکروبی قوی‌ای در برابر چند باکتریهای غذایی مثل *C.botulinum*، *L.monocytogenes* و *S.aureus* ایجاد می‌کنند. دامنه بازدارندگی باکتری‌کش‌ها طبیعی به‌طور کلی به باکتریهای گرم مثبت محدود می‌شود. اما، پاره کردن غشاء خارجی باکتریهای گرم منفی (مثل *Salmonella* و *E.coli*) با استفاده از عوامل کمپلکس‌دهنده (مثل EDTA) و فشار هیدرواستاتیک بالا ممکن است موجب آسیب‌پذیری بیشتر آنها نسبت به فعالیت باکتری‌کش‌ها شود (Kal & Chaynad *et al.*,1992 ; Steven *et al.*,1992). تأثیر ضد باکتریائی مواد باکتری‌کش مثل Nisin، غذا به‌طور سینرژیکی همراه با روش‌های دیگر نگهداری مواد غذائی نیز می‌تواند عمل کند. برای مثال بسته‌بندی با CO2، درجه حرارت پائین، عوامل کمپلکس دهنده، باکتری‌کش‌های دگر مثل *pediocin*، *Leucocin* و *Lysozyme* همراه با Nisin فعالیت سینرژیکی دارند (جدول ۴-۵). نگهداری آزادماهیان دودی شده به روش سرد با همراه با استفاده از Nisin و بسته‌بندی با CO2 به‌عنوان یک روش مؤثر برای کنترل رشد *L.monocytgenes* می‌باشد (Nilsson *et al.*, 1997). پیشنهاد شده که فعالیت سینرژیکی CO2 و Nisin در غشاء سیتوپلاسمی‌رخ می‌دهد. (Nilsson *et al.*, 2000). دی‌اکسید کربن، غشاء سیتوپلاسمی L.moncytogenes را ناپایدار می‌سازد که این پدیده با خروج مقدار زیادی کربوکسیل فلورسنت (CF) ناشی از لیپوزوم‌ها و در حضور CO2 مشاهده شد، علاوه بر آن، CO2، ترشح CF توسط nisin را از *L.monocytogenes* افزایش می‌دهد (Nilsson *et al.*,2000). در مطالعه نیکانن (Nykanen *et al.*,2000) فعالیت باکتری‌کشی سینرژیکی بین nisin و lactate در قزل آلای رنگین کمان دودی شده به روش سرد به اثبات رسید. این پژوهشگران نتیجه گرفتند که با استفاده از ترکیب lactate و nisin می‌توان فرآورده‌های ماهی فرآوری شده به روش سرد را با تضمین سلامتی بیشتر با توجه به *L.monocytogenes* تولید نمود به نحوی که فرآورده نهایی دارای کیفیت بالاتر باشد. (Nykanen *et al.*,2000).

باکتری‌کش‌های تولید شده توسط *C.piscicola* (باکتری‌کش‌های گروه دوم) برای حذف و جلوگیری از رشد *L.monocytogenes* در آزاد ماهیان دودی شده به روش سرد استفاده شده‌اند (Duffes *et al.*,1999) . استخراج باکتری‌کش‌های تولید شده توسط *C.piscicola* در ۴ و ۸ درجه سانتیگراد انجام شد و در این درجه فعال بودند ولی رشد در ۸ یا ۴ درجه سانتیگراد کند یا متوقف شد (Duffes *et al.*,1999) . اما، بهرحال مشخص شد که باکتری‌کش تولید شده به وسیله C.piscicola Aq_b به تنهایی برای جلوگیری از رشد *L.monocytgenes* در آزاد ماهیان دودی شده به روش سرد به خاطر ایجاد مقاومت توسط سلولهای *L.monocytogenes* نمی‌تواند مورد استفاده شود. اما، وقتی که باکتری‌کش مذکور با سویه تولیدکننده باکتری‌کش‌ها به کار روند، ماده حفاظت کنندهٔ زیستی به‌طور موفقیت‌آمیزی از رشد سلول‌های مقاوم *L.monocytogenes* جلوگیری می‌کند.

باکتری‌کش‌ها زمانی که به‌عنوان نگهدارنده به تنهایی در غذاهای سردشده استفاده می‌شوند مؤثر نیستند. (Montville *et al.*,1995). اما، باکتری‌کش‌ها وقتی که همراه چند روش نگهداری چند مانعی برای نگهداری مواد غذائی به کار می‌روند می‌توانند بعلت اثرات سینرژیکی با دیگر روش‌ها که در جدول ۴-۵ نشان داده شده است زمان نگهداری مواد غذا را افزایش می‌دهند.

۳-۵-۵- آنزیم‌های باکتری‌کش با منشاء حیوانی

آنزیم‌های باکتری‌کش با منشاء حیوانی شامل لیزوزم[1]، لاکتوپراکسیداز[2]، لاکتوفرین[3] و پروتامین[4] می‌باشند. لیزوزم به‌عنوان یک آنزیم هیدرولیز کننده طبیعی است که در بسیاری از حیوانات و انسانها تولید می‌شود (در شیر و تخم‌مرغ وجود دارد). این آنزیم تجزیه پپتید و گلیکان[5] را کاتالیز می‌کند. پپتید و گلیکان به‌عنوان ترکیب عمده دیواره سلولی باکترهای گرم منفی و بخصوص گرم مثبت‌ها می‌باشند. این آنزیم از فعالیت بعضی از باکتریهای گرم مثبت جلوگیری می‌کند، اما از آنجائیکه غشاء بیرونی باکتریهای گرم منفی از دسترسی این آنزیم‌ها به غشاء درونی و پپتیدوگلیکان جلوگیری می‌کنند. این آنزیم زمانیکه به تنهایی برای از بین بردن باکتریهای گرم منفی به کار رود بی‌اثر می‌باشد (Gould,1996). بهرحال ضربه‌پذیری در ادامه حساسیت باکتریهای گرم منفی به لیزوزم، از طریق انهدام غشاء خارجی

---

1 - Lysozyme
2 - Lactoperoxidase
3 - Lactoferrin
4 - Protamide
5 - Peptidoglycan

این باکتریها می‌تواند سریع شود و اگر از شوینده‌ها, عوامل کمپلکس دهنده و فشار بالا همزمان استفاده لیـزوزم‌هـا بـه‌طـور تجاری برای جلوگیری از تورم دیر هنگام پنیر نیمـه سـخت کـه توسـط Clostridium tyroburicum در پنیـر رخ می‌دهد اسـتفاده شـده (Bester & Lombard., ۱1990 ; Cunningham *et al.*,1991). اثـر سـینرژیکی بـین لیزوزم و دیگر روش‌های ضد میکروبی مثل nisin، EDTA، فشار بالا، شوک اسمزی ترانسفرین و درجـه حـرارت پـائین در جدول ۴-۵ نشان‌داده شده است. در مطالعـه Gill و Holley (2000) گـزارش شـد کـه افـزودن ترکیبـی از لیـزوزم، nisin و EDTA به سوسیس و کالباس، گوشت همبرگر قبل از پخت، از رشد بعضی از عوامـل فسـاد (Brochothrix *Thermospacta, Lb.Curvatos* & *Leu.* Mesenteroides) و بعضـــی از بـــاکتری‌هـــای‌بیمـــاریزا (L.*monocytogenes* & E.coli) را محدود کرده است. فعالیت سینرژیکی بین لیزوزم و nisin در بعضی از مطالعـات گزارش شده است (Chung & Hamcock,2000 ; Natress *et al.*,2001). برای مثـال وقتـی کـه ایـن ترکیـب روی گوشت خوک تازه آزمایش شد (Nattress *et al.*,2001) ، فعالیت باکتریهای عامل فسـاد محـدود شـد. همچنـین دریافتند که هر چه لیزوزم بیشتر افزوده شود به ماده اولیه، تـأثیرات ضـد میکروبـی آن طـولانی‌تـر و مـؤثرتر خواهـد بـود (Nattress, ۲۰۰۱) لاکتوپراکسیداز و لاکتوفرین در طبیعت فراوان هستند (شیر، اشک، بزاق و بسیاری از ترشـحات بـدن پستانداران). این ترکیبات باکتری‌کش از نظر سمیت برای انسان جای نگرانی ندارند چون بـه‌طـور طبیعـی در غـذاها وجـود دارند (Yamauchi *et al.* ,2000). لاکتوپراکسیداز اکسیداسـیون تیوسـیانات را بـه وسـیله H_2O_2 را بـرای تشـکیل هیپوتیوسیانات[1] کاتالیز می‌کند که با پروتئین‌هـای غشـایی باکتریهـا واکـنش مـی‌دهـد (Reiter & Harnulv, ۱۹۸۴ ; Kamau *et al.*,1990). این سیستم سه ترکیبی به‌طور مؤثر در شیرهایی که در درجه حرارت نامناسـب نگهـداری شـده اند استفاده شده است، جائیکه لاکتوپراکسیداز و تیوسیانات به میزان کافی در پشم برای جلوگیری از فعالیت میکروب‌ها بایـد فقط هیدروژن پراکسید برای فعال شدن این مخلوط اشافه به شیر شود, وجود دارند. علاوه بر این، نگهـداری چنـد فـرآورده شـیر مثـل پنیـر مـانژ، ماسـت و Mozzareua از ایـن طریـق پیشـنهاد شـده اسـت (Ekstrand,1994). ترکیـب لاکتوپراکسیداز دارای فعالیت باکتری‌کشی یا غیر فعال کردن چند باکتری بیماریزای غـذایی مثـل *Staphylococcus* spp, *E.coli*، L.*monocytogenes* .*Salmonella* spp و *Bacillus cereus* می‌باشد.

لاکتـوفرین‌هـا قـادر بـه غیـر فعـال کـردن چنـدین گونـه بـاکتری بیمـاریزا مثـل .*Salmonella* spp L.*monocytogenes* و *E.coli*، قارچها، پروتوزواها و ویروس‌ها را دارند که این خاصـیت بـه خـاطر ظرفیـت جـذب کنندگی آهن آن اسـت کـه باعـث تمـام شـدن محـیط کشـت بـاکتری را از آهـن مـی‌شـود (Masschalck 2001 ;

[1] - Hypothiocyanate

Ellison,1994 ;Vander strate *et al.*,2001). علاوه بر آن, عقیده بر این است که لاکتوفرین‌ها با غشاء بیرونی باکتریهای گرم منفی ایجاد پیوند بنماید و در نهایت باعث عدم ثبات غشاء و آزادسازی لیپوپلی‌ساکاریدها می‌شوند (Ellison,1994). فعالیت سینرژیکی لاکتوفرین، تحت فشار بالا روی چند گونه باکتری بیماریزا مثل *E.coli* S.*aureus* و *Salmonella typhimurium* نشان داده شده است (Masschalck *et al.*,2001).

پروتامین یک کاتیون پپتیدی ضد میکروبی است که از سلول‌های اسپرم مهره‌داران مثل ماهی‌ها استخراج می‌شوند. پروتامین‌ها فعالیت ضد میکروبی زیادی در برابر باکتریهای گرم مثبت و منفی بیماریزا و باکتری‌های عامل فساد مواد غذائی از خود نشان داده‌اند (Johannsen *et al.*,1995 ; Truelstrup Hansen *et al.*,2001). پروتامین‌ها با محلول کردن غشاء سلولی باعث خروج محتویات درون سلولی می‌گردند (Johansen *et al.*,1997) . بهرصورت هنوز، گزارشاتی مبنی بر استفاده موفقیت‌آمیز از آن در ماهی و یا دیگر فرآورده‌های غذایی گزارش نشده است.

۴-۵-۵- آنزیم‌های باکتری‌کش با منشاء گیاهی (گیاهان معطره و ادویه)

علاوه بر بهبود طعم غذاها، بسیاری از چاشنی‌ها، گیاهان معطره و روغن‌های ضروری، تکثیر و انتشار میکروارگانیسم‌ها را به خاطر خاصیت ضد قارچ و ضد باکتریایی‌شان کاهش می‌دهند (Deans and Ritchie,1987). اما، غلظت مورد نیاز برای دستیابی به تأثیر ضد میکروبی آنها اغلب بیشتر از مقدار قابل قبول از نظر حسی می‌باشد و در نتیجه استفاده از آنها به‌طور کلی به چاشنی‌ها محدود می‌شود. در کشورهای غربی اضافه کردن چاشنی‌ها به فرآورده‌های ماهی بنام مارینا ماهی یا (Gravad) نامیده شده است (شکل+نمک) به ماهی افزوده می‌شود. مطالعات اخیر نشان داده است که فساد در ماهی بسته‌بندی شده با CO2، را بعلت فعالیت *photobacteriun phospherum* را می‌توان به وسیله اضافه کردن گیاه آویشن جلوگیری نمود (Mejiholm & Dalgaard,2002). فعالیت ضد باکتریائی ترکیبات آویشن به خاطر کارواکرول (carvacrol) می‌باشد که ترکیب عمده در روغن آویشن است (Ultee *etal.*,1999).

در آسیا و کشورهای جنوب شرقی آسیا، چاشنی‌هایی مثل فلفل، سیر، زنجبیل و فلفل قرمز معمولاً در آماده‌سازی فرآورده‌های نسبتاً تخمیر شدهٔ سنتی استفاده می‌کنند (Paludan-Müller *et al.*,1999) در تولید *Som-fak* (یک نوع فرآورده تخمیر شده در کشور Thai تایلند است که از فیله چرخ شده ماهی همراه با نمک (۵٪ ـ ۲) و برنج آب‌پز شده (۱۲٪ ـ ۲) است) سیر خرد شده با غلظت حداکثر ۴٪ به آن افزوده می‌شود (Paludan-Müller *et al.*,1999). سیر به‌عنوان یک عامل طعم دهنده افزوده می‌شود امّا می‌تواند به‌عنوان یک عامل ضد باکتریائی نیز عمل کند زیرا که سیر دارای فعالیت ضد باکتریائی در مقابل باکتریهای گرم منفی

است (Feldberg *et al.*,1988 ; Beochat,1994) و همچنین با تحریک رشد LAB توسط سیر تخمیر شده باعث جلوگیری از رشد باکتریهای مذکور می‌شود. (Nes & Skjelkvale,1982). سیر حاوی تقریباً ۳۰٪ الیگوساکاریدهای فروکتوز، عمدتاً به شکل اینولین Inulin است. (Vanloo *et al.*,1995) که توسط چند گونه ازLAB تخمیر می‌شود (Paludan-Müller *et al.*,1999). آلیسین (Allicin) و ترکیبات تجزیه شدهٔ آن (مثل ajoene) ترکیب ضد میکروبی عمده در سیر است که برای جلوگیری از رشد مقدار زیادی از باکتریهای بیماریزای غذایی مثل *C.botulinum*، *E.coli*، *Salmonella* spp و *staph. aureus* استفاده می‌شوند (Cowan,1999 ; Nacanawa *et al.*,1996). که دلیل آن احتمالاً به خاطر غیر فعال کردن آنزیم‌های حاوی سولفیدریل (Fledberg *et al.*,1998)، جلوگیری از سنتز RNA (Fledberg *et al.*,1998) یا جلوگیری از سنتز چربی‌ها می‌باشد (Hugh & Lawson., 1991).

اثر ضد میکروبی گل میخک، دارچین، زردچوبه و فلفل بر روی تولید هیستامین و هیستیدین و فعالیت دکربوکسیلازی باکتری *Morganella Morganii* (بهترین گونه تولید کننده هیستامین در ماهی) در ماهی قباد به مقدار ۳ ردصد مورد آزمایش قرار گرفته‌اند (Shokila *et al.*,1996). پودر گل میخک و دارچین یک تاثیر بازدارندگی بسیار مهم در تولید هیستامین و آمینوهای بیوژنیک (پوترسین و ترامین) از خودشان نشان دادند (Shakila *et al.*,1996).

میهی وا (Mehiawah) که نوع سس ماهی است که در خاورمیانه (بحرین) تولید می‌شود، اگرچه در حرارت محیطی برای چند ماه قابل نگهداری می‌باشد، اما می‌تواند برای سلامت مصرف کننده ایجاد خطر نماید (Gasaluck *et al.*,1996 ; Ijoung & Ohta,1996). بررسی روی اثر مواد افزودنی اضافه شده به این سس در زمان فآوری نشان داد که مقدار ۴/۲ – ۳/۵ درصد نمک همراه با دیگر طعم دهنده‌ها مثل (فلفل سیاه، گشنیز و دانه رازیانه) گند. و آبلیمو باعث از بین بردن باکتری‌های بیماری زا مثل *Salmonella Typhi* ، *E.Coli*، *Stap. Aureus* و V.*parahaemoly Ticus* بعد از ۲۱ روز انبارداری در ۲۵ درجه سانتیگراد (Al-Jedah *et al.*,2000) گردید. در نمونه شاهد، بدون اضافه کردن ادویه ها، گندم و آبلیمو، باکتری‌های بیماری زا بجز *Staph.Aureus* بعد از ۲۸ روز هنوز زنده بوده و تعداد *E.Coli* به تعداد تقریباً ۲×۱۰^{۷} cfu / ml (Al-Jedah *et al.*,2000) می‌رسید.

فسادمیکروبی زمان‌ماندگاری ماهی نمک‌سودشده را کاهش می‌دهد که این کاهش عمدتاً بعلت فعالیت باکتری‌های‌نمک‌دوست‌قرمزرنگ(Halophilic)(Prasad & Seenayya,2000 ; Prasad & Rao,1995) می‌باشد.

شستشوی با آب نمک ۲۰ درصدی و روغن گل میخک با غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۰۲ درصد، باعث حذف کامل Halomonas spp. و باکتریهای نمک‌دوست قرمز رنگ به ترتیب بعد از ۳۰ ثانیه و ۱ دقیقه به ترتیب گردید (Prasad & Seenayya,2000).

۶-۵- استفاده از باکتریهای اسید لاکتیک برای تخمیر مواد غذایی

لالتیک اسید باکتریا (LAB) به‌طور سنتی به‌عنوان کشت‌های اولیه در فرآورده‌های تخمیر شدهٔ مختلف مثل نوشابه، سبزیجات، گوشت و لبنیات استفاده شده است. تبدیل کربوهیدرات به اسیدهای آلی دلیل عمده استفاده از LAB در تخمیر غذا بوده است. کشت آغازی به دلیل ایجاد تغییرات حسی مناسب در غذا و به خاطر تأثیر ثانویه که با کاهش pH نگهداری و حفظ می‌کند مورد استفاده قرار می‌گیرد. متابولیت‌های ضد باکتریایی دیگر به غیر از اسیدهای آلی می‌توانند در طی تخمیر تولید شوند و این مسئله ممکن است موجب تقویت فعالیت ضد باکتریایی LAB و موجب بهبود در کیفیت و افزایش زمان ماندگاری فرآورده شود.

LAB به‌طور تجاری و در مقیاس وسیع در صنعت غذاهای دریائی استفاده نشده است بجز آزمایش‌هایی که روی تخمیر سیلاژ (Silage) برای غذای حیوانات انجام شده است. (Dapkevicius *et al*,2000 ; Hammoumi *et al.*,1998) فرآورده‌های تخمیر شده ماهی از بوسیله فرآیند میکروبی در کشورهای جنوب شرق آسیا معمول هستند (Adam *et al.*,1987) و فرآیند تخمیر بستگی به حضور میکروفلور طبیعی در محیط فرآوری و مواد خام دارد (Paludan-Müller *et al.*,1999) LAB با ویژگیهای ضد میکروبی در فرآورده‌های ماهی تخمیر شده وجود دارند و پیشنهاد شده که فعالیت ضد باکتریایی LAB ممکن است جهت تضمین از سلامتی فرآورده‌های ماهی تخمیر شده ضروری باشد (Stergaard *et al.*, 1998) در فرآورده‌های ماهی تخمیر شده در تایلند که دارای مقدار زیادی فک است رشد LAB متوقف می‌شود (Paludan-Müller). که این امر باعث رشد *Staphylococcus* spp می‌شود. (Tanasupawat *et al.*,1991 ; Paludan-Müller *et al.*,2002) علاوه بر آن، گسترش زیاد L.*monocytogenes* در حدود ۱۲ درصد در ماهی تخمیر شده در مالزی یافت شد (Hassan *et al.*,2001)

۷-۵- روش‌های فرآوری غذا بدون استفاده از حرارت

فشار هیدرواستانیکی بالا [1](HP)، زمینه الکتریکی بالای [2](PHEF) یا (Electroporation) و ماورا صوت (Ultrasonication) به‌عنوان روش‌های جدید فرآوری غذا هستند که از تغییر طعم، بافت، رنگ و ارزش تغذیه‌ای غذا علیرغم روش‌های پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون جلوگیری می‌کنند. فرآوری HP برای نگهداری از غذاهای متفاوتی استفاده شده است (Cheftel & Colioli,1997) که شامل فرآورده‌های مختلف از آزاد ماهیان می‌باشد (Ohshima *et al.*,1993). اگرچه مکانیسم غیر فعال‌سازی باکتری توسط HP کاملاً آشکار نیست ولی چند فرآورده نگهداری شده با این روش به بازارهای ژاپن وارد شده‌اند که شامل مربا سیب، کیوی و توت‌فرنگی، آب میوه و کیک برنج می‌باشند (Spilimbergo *et al.*,2002).

مطالعات آزمایشگاهی بوسیله استفاده از مدل نشان داده است استفاده توام HP و گازها باعث تقویت اثر ضد باکتریهای آنها شده است (Spilimbergo *et al.*,2002) فرآوری با روش HP در درجه حرارت‌های پائین با بسته‌بندی در اتمسفر اصلاح شده (٪۵۰ O2 و ٪۵۰ Co2) برای طولانی کردن زمان ماندگاری و سلامتی آزادماهیان تازه با کاهش باکتریهای عامل فساد (LAB, *Shewanella Putrefaciems*) و باکتری‌های بیماریزا (L.*monocytogenesl* و S.*typhimurium*) گردید (Amanatidou *et al.*,2000). علت موفقیت احتمالاً به خاطر تشکیل اکسیژن فعال در درون سلول و تغییر فرآیند انتقال گاز می‌باشد (Amanatidou *et al.*,2000).

غیر فعال‌سازی بیشتر اسپورهای Bacillus subtilis با استفاده از روش HP در محیط اسیدی ممکن است (Michiel & Wuytack,2001) تحت حمایت قرار دادن اسپورهای B.cereus با Nisin و یا با شوک الکتریکی (PEF) باعث غیر فعال شدن اسپورها و یا ازدیاد حساسیت آنها به حرارت نگرددی (Pol *et al.*,2001). بهرحال اسپورهای جوانه زده نسبت به [3]PEF حساسیت بیشتری نشان دادند (Pol *et al.*,2001).

گزارش شده که مقاومت *E.coli* با ایجاد جهش[4] در آن در مقابل استفاده از فشار بالا برای از بین بردن آن زیاد می‌گردد (Hauben *et al.*,1996). اما، کاربرد چند روش نگهداری با هم (.Hurdle Tech) نشان داده است که غیر فعال‌سازی سویه‌های *E.coli* مقاوم به فشار بالا با استفاده از فشار بالا در حضور nisin و لیزوزم بخوبی صورت می‌گیرد (Masschalck *et al.*, 2000). در تأئید این نتایج هوبن و همکارانش (۱۹۹۶) نشان

---

[1] -High hydrostatic
[2] - Pulsed high electric field
[3] - Pulsed-electric-field
[4] -Mutation

دادند که فشار بالا باعث پاره‌شدن غشاء خارجی E.coli و بالا رفتن قابلیت خروج پروتئین‌های محلول در آب مثل لیزوزم و Nisin می‌گردد.

استفاده از اشعه به‌طور زیادی در ۴۰ سال گذشته آزمایش شده است و تأثیرات ضد میکروبی آن به خوبی جمع‌آوری و مشخص شده است (Patterson & Loaharanu,2000). استفادهٔ از آن برای اهداف ویژه‌ای در بیش از ۳۵ کشور مورد قبول واقع شده است و به‌عنوان یک روش آلودگی‌زدایی برای ادویه‌ها خیلی از آن استفاده می‌شود. به‌طور کلی، استفاده از تابش اشعه برای بعضی از فرآورده‌ها ماهی در ۱۳ کشور با دوز پایین (۲ kGy–۱) برای آبزیان صدف دار تصویب شده است. تابش اشعه با دوز پائین روی آبزیان صدف‌دار می‌تواند یک روش مناسب برای از بین بردن *Vibrio* spp. باشد (Molins *et al.*, 2001). دوزهای پائین اشعه گاما که به‌عنوان Cold-pasteurization نامیده می‌شود در چند نوع غذا آزمایش شده است. همانند دیگر روش‌های غیر فعال-سازی، قدرت کشندگی تابش اشعه گاما به وسیلهٔ چند پارامتر از مواد غذائی کنترل می‌شود (ماده خشک، چربی و غیره) و همچنین بستگی به روش به کارگیری غیر فعال‌سازی دارد مثلاً برای غیر فعال‌سازی L.*monocytogenes* باید روش غیر فعال‌سازی براساس فرمولاسیون هر فرآورده فرآورده برنامه‌ریزی شود (Sommers & Thayer,2000).

۸-۵- نتیجه‌گیری و پیش‌بینی برای آینده

در طول دهه‌های اخیر، تحقیق در اصول نگهداری برمبنای بیولوژیکی (میکروبیولوژیکی) در مواد غذائی بسیار توسعه یافته است. بخصوص استفاده از LAB و یا مواد باکتری‌کش در مواد غذایی بسیار مورد توجه قرار گرفت. امروزه LAB به‌صورت تجاری در تخمیر مواد غذا استفاده می‌شود. بنابراین به نظر می‌رسد انتخاب و کاربرد LAB به‌عنوان کشت‌های حفاظتی زیستی منطقی است چرا که به‌عنوان یک مانع یک روش افزوده کمک به نگهداری مواد می‌کند برای غذا و به موجب آن خطر رشد عوامل بیماریزای نامطلوب و یا باکتریهای عامل فساد را کاهش می‌دهد. وقتی که از LAB به‌عنوان تولیدکنندهٔ ترکیبات باکتری‌کش استفاده می‌کنیم، ضروری است که رابطه بین تولید مواد باکتری‌کش طبیعی و فاکتورهای مؤثر در تولید و اثر آن را شناسایی کنیم چرا که چند فاکتور طبیعی مواد غذایی به‌طور طبیعی روی فعالیت باکتری‌کش تأثیر منفی می‌گذارند. نقش طبیعی و ذاتی مواد غذا برروی کارایی کشت‌های حفاظتی ممکن است فراموش یا نادیده گرفته شود که این امر می‌تواند به‌عنوان یک موضوع مهم برای تحقیقات آینده در نظر گرفته شود. در این جا دوباره خاطرنشان می‌کنیم که LAB تولیدکنندهٔ مواد باکتری‌کش و باکتری‌کش‌های طبیعی دیگر نباید به تنهایی برای نگهداری مواد غذائی استفاده

شوند و باید به‌عنوان بخشی از یک سیستم حفاظتی تشکیل شده از چند روش نگهداری باشند. چند مطالعه گزارش کردند که باکتری کش‌های دیگر غیر از باکتری کش‌های LAB قادر به تولید مواد موثر بر جلوگیری از عمل باکتری‌های بیماری زا و یا فاسد کننده مواد غذائی به خوبی باکتری کش‌های تولید از LAB می‌باشند. استفاده از این سویه‌ها مشکلاتی مثل مقاومت باکتریها در مقابل باکتری‌کش را مرتفع خواهد کرد ولی برای درک بهتر مکانیسم عمل مکانیسم و میزان اثر آن نیاز به تحقیقات بیشتر وجود دارد.

ترکیب استراتژیهای حفاظتی یک موضوع جالب است چرا که ممکن است نگهداری طبیعی غذاها و مشکلات موجود در زمینهٔ مقاومت باکتری‌ها به باکتری‌کش را کاهش دهد. اما، اطلاعات ما در زمینهٔ تأثیرات واکنشی متقابل در بین تکنولوژی‌های نگهداری ترکیبی کم است و بنابراین تحقیقات در این زمینه برای بهینه‌سازی تکنولوژیها لازم است.

همچنین پیشنهاد شده که از LAB می‌تواند برای تولید غذاهای جدید در صنعت ماهی استفاده شود (Morzel *et al.*,1997 ; Gelman *et al.*,2001 ; Glatman *et al.*,2000) این فرآورده‌ها باید به‌عنوان یک غذای سالم و با کیفیت بالا همراه با تمام مزایای موجود در ماهی تازه باشد (Gelamn,2001 و Glatman *et al.*,2000). به‌طور کلی، جای شک نیست که LAB باید به‌عنوان یک عامل نگهدارنده مخصوصاً در مقابل ارگانیسم‌های بیماریزای، در فرآورده‌های دریائی آماده برای خوردن (Ready-to-eat) استفاده شود.

۹-۵- منابع فصل پنجم

ABEE T. F., ROMBOUTS M., HUGENHOLTZ J., GUIHARD G. and LETELLIER L., Mode of action of nisin Z against *Listeria monocytogenes* Scott A grown at high and low temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* 1994; 60:1962–8.

ADAMS M. R., COOKE R. D. and TWEEDY D. R., Fermentation parameters involved in the production of lactic acid preserved fishglucose substrates. *Int. J. Food Sci.* Technol. 1987; 22:105–14*d*

AHN C. and STILES M. E., Plasmid-associated bacteriocin production by a strain of *Carnobacterium piscicola* from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 1990; 56:2503–10.

AL-JEDAH J. H., ALI M. Z. and ROBINSON R. K., The inhibitory action of spices against pathogens that might be capable of growth in a fish sause (mehiawah) from the Middle east. *Int. J. Food Microbiol.* 2000; 57:129-133.

AMANATIDOU A., SCHLU¨ TER O., LEMKAU K., GORRIS L. G. M., SMID E. J. and KNORR D., Effect of combined application of high pressure treatment and modified atmospHeres on the shelf life of fresh Atlantic salmon. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2000; 1:87–98.

ARYANTA R. W., FLEET G. H. and BUCKLE K. A., The occurrence and growth of microorganisms during the fermentation of fish sausage. *Int. J. Food Microbiol.* 1991; 13:143–56.

BEN EMBAREK P. K., Presence, detection and growth of *Listeria monocytogenes* in seafoods: a review. *Int. J. Food Microbiol.* 1994; 23:17–34.

BESTER B. H. and LOMBARD S. H., Influence of lysozyme on selected bacteria associated with Gouda cheese. *J. Food Prot.* 1990; 53:306–11.

BEUCHAT L. R., Antimicrobial properties of spices and their essential oils. In V. M. Dillon and R. G. Board (eds.), *Natural antimicrobial systems and food preservation*. CAB International, Wallingford, Oxon, 1994.

BOUSOUEL N., MATHIEU F., BENOIT V., LINDER M., REVOL-JUNELLES A. M. and MILLIE´RE J. B., Response surface methodology, an approach to predict the effects of a lactoperoxidase system, nisin, alone or in combination, on *Listeria monocytogenes* in skim milk. *J. Appl. Microbiol.* 1999; 86:642–52.

BRETT M. S. Y., SHORT P. and MCLAUCHLIN J., A small outbreak of listeriosis associated with smoked mussels. *Int. J. Food Microbiol.* 1998; 43:223–9.

BRUNO M. E. C., KAISER A. and MONTVILLE T. J., Depletion of proton motive force by nisin in *Listeria monocytogenes* cells. *Appl. Environ. Microbiol.*1992;58:2255–9.

BRYAN F. L., Risks associated with vehicles of food-borne pathogens and toxins. *J. Food Prot.* 1988; 51:498–508.

BUCHANAN R. L. and BAGI L. K., Microbial competition: Effect of culture conditions on the suppression of *Listeria monocytogenes* Scott A by *Carnobacterium pis*cicola. *J. Food Prot.* 1997; 60:254–61.

BUCHANAN R. L. and KLAWITTER L. A., Characterization of a lactic acid bacterium, *Carnobacterium piscicola* LK5, with activity against *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures. *J. Food Safety* 1992;12:199–217.

BUDU-AMOAKO E., ABLETT R. F., HARRIS J. and DELVES-BROUGHTON J., Combined effect of nisin and moderate heat on destruction of *Listeria monocytogene* in cold-pack lobster meat. *J. Food Prot.* 1999; 62:46–50.

CARMINATI D., NEVIANTI E. and MUCHETTI G., Activity of lysozyme on vegetative cells of *Clostridium tyrobutyricum*. *Latte* 1985; 10:194–8.
CHEFTEL J. C. and CULIOLI J., Effects of high pressure on meat: a review. *Meal Sci.* 1997; 46:211–36.
CHEN Y., SHAPIRA R., EISENSTEIN M. and MONTVILLE T. J., Functional characterization of pediocin PA-1 binding to liposomes in the absence of a protein receptor and its relationship to a predicted tertiary structure. *Appl. Environ. Microbiol.* 1997; 63:524–31.
CHUNG K. T., DICKSON J. S. and CROUSE J. D., Effect of nisin on growth of bacteria attached to meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 1989; 55:1329–33.
CHUNG W. and HANCOCK R. E., Action of lysozyme and nisin mixtures against lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 2000; 60: 25–32.
CLEVELAND J., MONTVILLE T. J., NES I. F. and CHIKINDAS M. L., Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int. J. Food Microbiol.* 2001;
COWAN M. M., Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999; 12:564–82.
CRANDALL A. D. and MONTVILLE T. J., Nisin resistance in *Listeria monocytogene* ATCC 700302 is a complex pHenotype. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998; 64:231–7.
CUNNINGHAM, F. E., PROCTOR V. A. and GOETSCH S. J., Eggwhite lysozyme as a food preservative: an overview. *World's Poult. Sci. J.* 1991; 47:141–63.
DAPKEVICIUS M. L. N., NOUT M. J. R., ROMBOUTS F. M., HOUBEN J. H. and WYMENGA W., Biogenic amine formation and degradation by potential fish silage starter microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.* 2000; 57:107–14.
DAESCHEL M. A., Application and interactions of bacteriocins from lactic acid bacteria in foods and beverages. In Hoover, D. G. and L. R. Steenson (eds), *Bacteriocins of lactic acid bacteria*. Academic Press Inc. San Diego ، pp. 63–91, 1993.
DEANS S. G. and RITCHIE G., Antibacterial properties of plant essential oils. *Int. J Food Microbiol.* 1987; 5:165–80.
DEGNAN A. J., KASPAR C. W., OTWELL W. S., TAMPLIN M. L. and LUCHANSKI J. B., Evaluation of lactic acid bacterium fermentation products and food-grade chemicals to control *Listeria monocytogenes* in blue crab (*Callinectes sapidus*) meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 1994; 60:3198–203.
DEGNAN A. J., YOUSEF A. E. and LUCHANSKY J. B., Use of *Pediococcus acidilactic* to control *Listeria monocytogenes* in temperature-abused vacuum packaged wieners. *J. Food Prot.* 1992; 55:98–103.
DEPAOLA A., CAPERS G. M. and ALEXANDER D., Densities of *Vibrio vulnificus* in the intestines of fish from the U.S. Gulf Coast. *Appl. Environ. Microbiol*1994; 60:984–8.
DUFFES F., CORRE C., LEROI F., DOUSSET X. and BOYAVAL P., Inhibition of *Listeri monocytogenes* by in situ produced and semipurified bacteriocins on *Carnobacterium* spp. on vacuum-packed, refrigerated cold-smoked salmon. *J. Food Prot.* 1999; 62:1394–1403.
EINARSSON H. and LAUZON H. L., Biopreservation of brined shrimp (*Pandalu borealis*) by bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 1995; 61:669–76.
EKSTRAND B., Lactoperoidase and lactoferrin. In V. M. Dillon and R. G. Board(eds.), *Natural antimicrobial systems and food preservation*. Biddles Ltd. Guildford, pp. 15–63, 1994.
ELLISON R. T., The effects of lactoferrin on Gram-negative bacteria. In T. W.

Hutchens, B. Lo¨nnerdal and S. Rumball (eds), Lactoferrin – Structure and
Function. Plenum Press, New York, pp. 71–87, 1994.
ENNAHAR S., SASHIHARA T., SONOMOTO K. and ISHIZAKI A., Class IIa bacteriocins: biosynthesis, structure and activity. *FEMS Microbiol. Rev.* 2000;
24:85– 106.
ERICSSON H., EKLOW A., DANIELSSON-THAM M. L., LONCAREVIC S., MENTZING L. O., PERSSON I., UNNERSTAD H. and THAM W., An outbreak of listeriosis 76 Safety and quality issues in fish processing suspected to have been caused by rainbow trout. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35:2904–7.
FARBER J. M., *Listeria monocytogenes* in fish products. *J. Food Prot.* 1991; 54:922–4, 934.
FELDBERG R. S., CHANG S. C., KOTIK A. N., NADLER M., NEUWIRTH Z., SUNDSTROM D. C. and THOMPSON N. H., In vitro mechanisms of inhibition of bacterial cell growth by allicin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1988, 32:1763–8.
FELDHUSEN F., The role of seafood in bacterial food-borne diseases. *Microbes and Infect.* 2000; 2:1651–60.
FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, Proposal to establish procedures for the safe processing and importing of fish and fishery products; proposed rules.
Federal Register 1994; 59:4142–214.
GA¨ NZLE M. G., WEBER S. and HAMMES W. P., Effect of ecological factors on the inhibitory spectrum and activity of bacteriocins. *Int. J. Food Microbiol.* 1999; 46:207–17.
GASALUCK P., YOKOYAMA K., KIMURA T. and SUGHARA I., Some chemical and microbiological properties of Thai fish sauce and paste. *J. Antibact. Antifung. Agents* 1996; 24:385–90.
GELMAN A., DRABKIN V. and GLATMAN L., Evaluation of lactic acid bacteria, isolated from lightly preserved fish products, as starter cultures for new
fish-based food products. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* 2001; 1:219–26.
GILL A. O. and HOLLEY R. A., Inhibition of bacterial growth on ham and bologna by lysozyme, nisin and EDTA. *Food Res. Int.* 2000; 33:83–90.
GILLESPIE I. A., ADAK G. K., O´ BRIAN S. J., BRETT M. M. and BOLTON F. J., General outbreaks of infectious intestinal disease associated with fish and shellfish, England and Wales, 1992–1999. *Comm. Disease Publ. Health*, 2001; 4:117–23.
GILLILAND S. E. and SPECK M. L., Inhibition of psychrotropHic bacteria by
lactobacilli and pediococci in non-fermented refrigerated foods. *J. Food Sci.* 1975; 40:903–5.
GLATMAN L., DRABKIN V. and GELMAN A., Using lactic acid bacteria for developing novel fish food products. *J. Sci. Food Agric.* 2000; 80:375–80.
GLATZER M. B., Shellfish-borne disease outbreaks in the US, 1992–1998. Internal technical report. U. S. Food and Drug Administration. South-east Regional Office, Atlanta, GA., 1998.
GOULD G. W., Industry perspectives on the use of natural antimicrobials and inhibitors for food applications. *J. Food Prot.* Supp. 1996; l:82–6.
GOULD G. W., Preservation: past, present and future. *British Med. Bulletin*, 2000; 56:84–96.
GRAM L. and HUSS H. H., Fresh and processed fish and shellfish. Irradiation. In Lund, B.M., T.C. Baird-Parker and G.W. Gould (eds), *The Microbiological Safety and Quality of Foods*. Aspen Publishers. pp. 472–506, 2000.
HALLIDAY M. L., An epidemic of hepatitis A attributed to the ingestion of raw
Improving the control of pathogens in fish products 77 clams in Shanghai, China. *J. Infect. Dis.* 1991; 164:852–9.
HAMMOUMI A., FAID M., EL YACJIOUI M. and AMAROUCH H., Characterization of fermented fish waste used in feeding trials with boilers. *Process Biochemistry.* 1998; 33:423–7.

HANLIN M. B., KALCHAYANAND N., RAY P. and RAY B., Bacteriocins of lactic acid bacteria in combination have greater antibacterial activity. *J. Food Prot.* 1993; 56:252–5.
HARRIS L. J., FLEMMING H. P. and KLAENHAMMER T. R., Sensitivity and resistance of *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, Scott A and UAL500 to nisin. *J Food Prot.* 1991; 54:836–40.
HARTEMINK R. and GEORGSSON F., Incidence of *Listeria* species in seafood and seafood salads. *Int. J. Food Microbiol.* 1991; 12:189–96.
HASSAN Z., PURWATI E., RADU S., RAHIM R. A. and RUSUL G., Prevalence of *Listeri* spp. and *Listeria monocytogenes* in meat and fermented fish in Malaysia. *The Southest Asian J. Trop. Med. Publ. Health.* 2001; 32:402–7.
HAUBEN K. J. A., WUYTACK E. Y., SOONTJENS C. C. F. and MICHIELS C. W., Highpressure transient sensitization of *Escherichia coli* to lysozyme and nisin by disruption of outer-membrane permeability. *J. Food Prot.* 1996; 59:350–5.
HIMELBLOOM B., NILSSON L. and GRAM L., Factors affecting production of an antilisterial bacteriocin by *Carnobacterium piscicola* A9b in laboratory media and model fish systems. *J. Appl. Microbiol.* 2001; 91:506–13.
HUDSON J. A., MOTT S. J., DELACY K. M. and EDRIDGE A. L., Incidence and coincidence of *Listeria* spp., motile aeromonads and *Yersinia enterocolitica* on ready-to-eat fleshfoods. *Int. J. Food Microbiol.* 1992; 16:99–108.
HUGAS M., NEUMAYER B., PAGES F., GARRIGA M. and HAMMES W. P., Antimicrobial activity of bacteriocin-producing cultures in meat products. *Fleischwirtschaft* 1996; 76:649–52.
HUGHES B. G. and LAWSON L. D., Antimicrobial effects of *Allium sativum* L. (garlic), *Allium ampeloprasum* L. (elepHant garlic) and *Allium cepa* L. (onion), garlic compounds and commercial garlic supplement products. *PHytother. Res.* 1991; 5:154–8.
HUSS H. H., Quality Assurance in the Fish Industry. FAO Fish Tech. Pap. No. 334., Food and Agricultural Organization, Rome, Italy, 1995.
HUSS H. H., Control of indigenous pathogenic bacteria in seafood. *Food Control*1997; 8:91–8.
HUSS H. H., BEN EMBAREK P. K. and FROM JEPPESEN V., Control of biological hazards in cold smoked salmon production. *Food Control* 1995; 6:335–40 IJONG F. G. and OHTA Y., PHysicochemical and microbiological changes associated with bakasang processing. *J. Sci. Food Agri.* 1996; 71:69–74.
JAY J. M., Viruses and other food-borne biohazards. In *Modern food microbiolog*(ed. Jay, J. M.), 5th edition. Chapman Hall, New York, pp. 612–626, 1996.
JEPPESEN V. F. and HUSS H. H., Antagonistic activity of two strains of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* in a 78 Safety and quality issues in fish processing model fish product at 5C. *Int. J. Food Microbiol.* 1993; 19:179–86.
JOHANSEN C., GILL T. and GRAM L., Antibacterial effect of protamine assayed by impedimetry. *J. Appl. Bacteriol.* 1995; 78:297–303
JOHANSEN C., VERHEUL A., GRAM L., GILL T. and ABEE T., Protamine-induced permeabilization of cell envelopes of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 1997; 63:1155–9
JOHNSON E. A., The potential application of antimicrobial proteins in food preservation. *J. Dairy Sci.* 1989; 72:123–4.
JOOSTEN H. M. L. J. and NUNEZ M., Prevention of histamine formation in cheese by bacteriocin-producing lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 1996; 62:1178–81.
JØRGENSEN L. V. and HUSS H. H., Short communication. Prevalence and growth of*Listeria monocytogenes* in naturally contaminated seafood. *Int. J. Foo Microbiol.* 1998; 42:127–31.

JØRGENSEN L. V., HUSS H. H. and DALGAARD P., The effect of biogenic amine production by single bacterial cultures and metabiosis on cold-smoked salmon. J. Appl. Microbiol. 2000; 89:920–34.
JUNG D. S., BODYFELT F. W. and DAESCHEL M. A., Influence of fat and emulsifiers on the efficacy of nisin in inhibiting *Listeria monocytogenes* in fluid milk. *J. Dairy Sci.* 1992; 75:387–93.
KALCHAYANAND N., HANLIN M. B. and RAY B., Sublethal injury makes Gramnegative and resistant Gram-positive bacteria sensitive to the bacteriocins, pediocin AcH and nisin. *Lett. Appl. Microbiol.* 1992; 15:239–43.
KAMAU D. N., DOORES S. and PRUITT K. M., Antibacterial activity of the lactoperoxidase system against *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in milk. *J. Food Prot.* 1990; 53:1010–14.
KLAENHAMMER T. R., Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol.* Rev. 1993; 12:39–86.
LEHANE L. and OLLEY J., Histamine fish poisoning revisited. *Int. J. Food Microbiol.* 2000; 58:1–37.
LEISTNER L., Principles and applications of hurdle technolog, ch. 1. In G. W. Gould (ed.), *New methods of food preservation*. Blackie Academic and Professional, Glasgow, 1995.
LENNON D., LEWIS B., MANTELL C., BECROFT D., DOVE B., FARMER K., TONKIN S. ،
YEATES N., STAMP R. and MICKLESON K., Epidemic perinatal listeriosis. *Pediatr. Infect. Dis.* 1984; 3:30–4
LEROI F., ARBEY N., JOFFRAUD J. J. and CHEVALIER F., Effect of inoculation with lactic acid bacteria on extending the shelf-life of vacuum-packed coldsmoked salmon. *Int. J. Food Sci. Tech.* 1996; 31:497–504
LEROY F. and DE VUYST L., The presence of salt and a curing agent reduces
bacteriocin production by *Lactobacillus sakei* CTC 494, a potential starter culture for sausage fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999; 65:5350–6.
LIPP E. K. and ROSE J. B., The role of seafood in foodborne diseases in the United States of America. *Revue Scientifique et Technique* (International Office Improving the control of pathogens in fish products 79.
MOTES M. L., DE PAULA A., COOK D. W., VEAZEY J. E., HUNSUCKER J. C., GARTHRIGHT W. E., BLODGETT R. J. and CHIRTEL S. J., Influence of water temperature and salinity on *Vibrio vulnificus* in Northern Gulf and Atlantic coast oysters
(*Crassostrea virginica*). *Appl. Environ. Microbiol.* 1998; 64:1459–65.
NAGANAWA R., IWATA N., ISHIKAWA K., FUKUDA H., FUJINO T. and SUZUKI A., Inhibition of microbial growth by ajoene, a sulfur-containing compound derived from garlic. *Appl. Environ. Microbiol.* 1996, 62:4238–42.
NATTRESS F. M., YOST C. K. and BAKER L. P., Evaluation of the ability of lysozyme and nisin to control meat spoilage bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 2001; 70:111–19.
NES I. F. and SKJELKVA° LE R., Effect of natural spices and oleoresins on *Lactobacillus plantarum* in the fermentation of dry sausage. *J. Food Sci.* 1982; 47:1618–25.
NILSSON L. Control of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon by biopreservation. PH. D. thesis, Danish Institute for Fisheries Research, Department of seafood Research, Lyngby, Denmark, 1999.
NILSSON L., CHEN Y., CHIKINDAS M. L., HUSS H. H., GRAM L. and MONTVILLE T. J., Carbon dioxide and nisin act synergistically on *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000; 66:769–74.
NILSSON L., GRA on cold-smoked salmon using a competitive lactic acid bacteria flora. *J* M L. and HUSS H. H., Growth control of *Listeria monocytogene Food Prot.* 1999; 62:336–42.

NILSSON L., HUSS H. H. and GRAM L., Inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon by nisin and carbon dioxide atmospHere. *Int. J. Foo Microbiol.* 1997; 38:217–27

NILSSON L., NIELSEN M. K., NG Y. and GRAM L., Role of acetate in production of an autoinducible class IIa bacteriocin in *Carnobacterium piscicola* A9b. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002; 68:2251–2260.

NYKA¨ NEN A., WECKMAN K. and LAPVETELA¨ INEN A., Synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* on rainbow trout by nisin and sodium lactate. *Int J. Food Microbiol.* 2000; 61:63–72.

OHSHIMA T., USHIO H. and KOIZUMI C., High pressure processing of fish and fish products. *Trends Food Sci. Technol.* 1993; 4:370–5.

OLSEN S. J., MACKINNON L. C., GOULDING J. S., BEAN N. H. and SLUTSKER L., Surveillance for food-borne-disease outbreaks United States, 1993-1997. *Morb. Mort. Weekly Rep.* 2000; 49:1–64

ØSTERGAARD A., EMBAREK P. K. B., WEDELL-NEERGAARD C., HUSS H. H. and GRAM L., Characterization of anti-listerial lactic acid bacteria isolated from Thai fermentated fish products. *Food Microbiol.* 1998; 15:223–33.

PALUDAN-MU¨ LLER C., DALGAARD P., HUSS H. H. and GRAM L., Evaluation of the role of *Carnobacterium piscicola* in spoilage of vacuum- and modified atmospHere-packed cold-smoked salmon stored at 5C. *Int. J. Food Microbiol.* 1998; 39:155–66.

PALUDAN-MU¨ LLER C., HUSS H. H. and GRAM L., Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Thai low-salt fermented fish product and the role Improving the control of pathogens in fish products 81 of garlic as substrate for fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* 1999; 46:219–29.

PALUDAN-MU¨ LLER C., MADSEN M., SOPHANADORA P., GRAM L., and MO¨ LLER P. L., Fermentation and microflora of *plaa-som*, a Thai fermented fish product prepared with different salt concentrations. *Int. J. Food Microbiol.* 2002; 73(1):61–70.

PARENTE E., GIGLIO M. A., RICCIARDI A. and CLEMENTI F., The combined effect of nisin, leucocin F10, pH, NaCl and EDTA on the survival of *Listeri monocytogenes* in broth. *Int. J. Food Microbiol.* 1998 40:65–75.

PATTERSON M. F. and LOAHARANU P., Irradiation. In Lund, B.M., T.C. Baird- Parker and G.W. Gould (eds), *The Microbiological Safety and Quality of Foods*. Aspen Publishers. pp. 65–88, 2000.

POL I. E., VAN ARENDONK W. G. C., MASYWIJK H. C., KROMMER J., SMID E. J. and MOEZELAAR R., Sensitivities of germinating spores and carvacrol-adapted vegetative cells and spores of *Bacillus cereus* to nisin and pulsed-electricfield treatment. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001; 67:1693–9.

PRASAD M. M. and RAO C. C. P. Storage studies on dry salt cured fish with special reference to red discolouration. *Fish Technology* 1995; 31: 162–6.

PRASAD M. M. and SEENAYYA G., Effect of spices on the growth of red halopHilic cocci isolated from salt cured fish and solar salt. *Food Research Int.* 2000; 33:793–98.

REILLY A. and KA¨ FERSTEIN F., Food safety hazards and the application of the principles of hazards analysis and critical control point (HACCP) system for their control in aquaculture production. *Aquac. Res.* 1997; 28:735–52.

REITER B. and HARNULV G., Lactoperoxidase natural antimicrobial system:
natural occurrence, biological functions and practical applications. *J. Food Prot.* 1984; 47:724–32.

RIEDO F. X., PINNER R. W., TASCA M., CARTTER M. L., GRAVES L. M., RREAVES M. W., PLIKAYTIS B. D. and BROOME C. V., A point source food-borne listeriosis outbreak: documentated incubation period and possible mild illness. Abstract 972 in Program Abstract, 30th Int. Conf. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Atlanta, GA, p. 248, 1990.

RIPPEY S. R., Infectious diseases associated with molluscan shellfish consumption. *Clin. Microbiol. Rev.* 1994; 7:419–25.
ROGERS A. M. and MONTVILLE T. J., Quantification of factors which influence nisin's inhibition of *Clostridium botulinum* 56A in a model food system. *Food Sci.* 1994; 59:663–8.
ROSE S. M., BARTLETT F. M. and BLIGH E. G., The effect of lactic acid starter cultures on fish spoilage bacteria. *Proceedings of the 13th Annual Conference of the Tropical and Subtropical Fisheries Technological Society of the Americas*, Florida sea Grant program, 9–11 Nov. 1987, Orlando, Florida, USA, pp. 596–603, 1988.
RUPLE A. D. and COOK D. W., *Vibrio vulnificus* and indicator bacteria in shellstock and commercially processed oysters from the Gulf coast. *J. Food Prot.* 1992; 55:667–71.
82 Safety and quality issues in fish processingRØRVIK L. M., KJERVE E., KNUDSEN B. R. and YNDESTAD M., Risk factors contamination of smoked salmon with *Listeria monocytogenes* during processing. *Int. J. Food Microbiol.* 1997; 37:215–19.
SALA F. J., BURGOS J., CONDON S., LOPEZ P. and RASO J., Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. In G. W. Gould (editor), *New methods of Food Preservation*, Blackie Academic and Professional, Glasgow, pp. 176–204, 1995.
SAMELIS J., SOFOS J. N., KENDALL P. A. and SMITH G. C., Influence of the natural microbial flora on the acid tolerance response of *Listeria monocytogene* in a model system of fresh meat decontamination fluids. *Appl. Environ Microbiol.* 2001; 67:2410–20.
SAMUELSON K. J., RUPNOW J. H. and FRONING G. W., The effect of lysozyme andethylenediaminetetraacetic acid on *Salmonella* on broiler parts. *Poult Sci.* 1985; 64:1488–90.
SHAKILA R. J., VASUNDHARA T. S. and RAO D. V., Inhibitory effect of spices on *i vitro* histamine production and histidine decarboxylase activity of *Morganella morganii* and on the biogenic amine formation in mackerel stored at 30 degrees C. *Zeitschrift fu¨ r Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 1996; 203:71–6.
SHIEH Y., MONROE S. S., FANKHAUSER R. L., LANGLOIS G. W., BURKHARDT W. III and BARIC R. S., Detection of norwalk-like virus in shellfish implicated in illness. *J. Infect. Dis.* suppl. 2000; 181:360–66.
SOMMERS C. H. and THAYER D. W., Survival of surface-inoculated *Listeria monocytogenes* on commerically available frankfurters following gamma irradiation. *J. Food Safety*. 2000; 20:127–37.
SPILIMBURGO S., ELVASORE N. and BERTUCCO A., Microbial inactivation by highpressure. *J. Supercri. Fluids.* 2002; 22:55–63.
STEVENS K. A., KLAPES N. A., SHELDON B. W. and KLAENHAMMER T. R., Antimicrobial action of nisin against *Salmonella typHimurium* lipopolysaccharide mutants. *Appl. Environ. Microbiol.* 1992; 58:1786–8.
STEVENS K. A., SHELDON B. W., KLAPES N. A. and KLAENHAMMER T. R., Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* species and other Gram-negative bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 1991; 57:3613–15.
STILES M. E., *Biopreservation by lactic acid bacteria*. Antonie van Leeuwenhoek. 1996; 70:331–45.
STOFFELS G., NES I. F. and GUÐMUNDSDO´ TTIR A´ ., Isolation and properties of a bacteriocin-producing *Carnobacterium piscicola* isolated from fish. *Appl. Bacteriol. 1992; 73:309–16.*
TAGG J. R., DAJANI A. S. and WANNAMAKER L. W., Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Bacteriol. Rev.* 1976; 40:722–56.
TANASUPAWAT S., HASHIMOTO Y., EZAKI T., KOZAKI M. and KOMAGATA K., Identification of *Staphylococcus carnosus* strains from fermented fish and soy sauce mash. *J. Gen. Microbiol.* 1991; 37:479–94.

TER STEEG P. F., HELLEMONS J. C. and KOK A. E., Synergistic actions of nisin, sublethal ultrahigh pressure, and reduced temperature on bacteria and Improving the control of pathogens in fish products 83 yeast. *Appl. Microbiol.* 1999; 65:4148–54.
TODD E. C. D., Epidemiology of food-borne diseases: a worldwide review. *Rapp trimest. statist. sanit. mond, 1997; 50:30–50.*
TRUELSTRUP HANSEN L., AUSTIN J. W. and GILL T. A., Antibacterial effect of protamine in combination with EDTA and refrigeration. *Int. J. Food Microbiol.* 2001; 66:149–61.
ULTEE A., KETS E. P. W. and SMID E. J., Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999; 65:4606–10.
VAN DER STRATE B. W. A., BELJAARS L., MOLEMA G., HARMSEN M. C. and MEIJER D. K. F., Antiviral activities of lactoferrin. *Antiviral Res.* 2001; 52:225–39.
VAN LOO J., COUSSEMENT P., DE LEENHEER L., HOEBREGS H. and SMITS G., On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. *Crit. Rev. Food Sci. Technol.* 1995; 35:525–52.
WALLACE B. J., GUZEWICH J. J., CAMBRIDGE M., ALTEKRUSE S. and MORSE D. L., Seafood-associated disease outbreaks in New York, 1980-1994. *Am.Prev. Med.* 1999; 17:48–54.
WESSELS S. and HUSS H. H., Suitability of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC11454 as a protective culture for lightly preserved fish products. *Food Microbiol.* 1996; 13:323–32.
WINKOWSKI K., LUDESCHER R. D. and MONTVILLE T. J., Psysiochemical characterization of the nisin-membrane interaction with liposomes derived from *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1996; 62:323–27.
WOLFSON L. M. and SUMNER S. S., Antibacterial activity of the lactoperoxidase system: a review. *J. Food Prot.*, 1993; 56:887–92.
WUYTACK E. Y. and MICHIELS C. W., A study on the effects of high pressure and heat on *Bacillus subtilis* spores at low pH. *Int. J. Food Microbiol.* 2001; 64:333–41.
YAMAUCHI K., TOIDA T., NISHIMURA S., NAGANO E., HUSUOKA O., TERAGUCHI S., HAYASAWA H., SHIMIMURA S. and TOMITA M., 13-week oral repeated administration toxicity study of bovine lactoferrin in rats. *Food Chem Toxicol.* 2000; 38:503–12.
ZAIKA L. L. and KISSINGER J. C., Fermentation enhancement by spices: identification of active component. *J. Food Sci.* 1984; 49:5–9. 84 Safety and quality issues in fish processing

« **فصل ششم** »

شناسایی عوامل تولیدکنندهٔ آلرژی در ماهی

۱-۶- مقدمه: چگونگی ایجاد آلرژی در ماهی

آلرژی غذایی واکنشی که بوسیله ایمینوگلوبین[1] E در سیستم ایمنی بدن نسبت به غذا و یا ترکیب‌های آلرژی‌زا موجود در مواد غذایی در بدن صورت می‌گیرد. افراد عادی معمولاً مقاومت‌شان را به پروتئین‌های غذایی خورده شده افزایش می‌دهند که معمولاً بدون ضرر هستند. در مردم عادی معمولاً بدنشان نسبت به هضم مواد پروتئینی بعلت بوجود آمدن تحمل مقاومتی نشان نمی‌دهند. اما در تعداد کمی‌از افراد همان پروتئین غذایی می‌تواند واکنش های آلرژیک را تحریک کند. ترکیبات حساسیت‌زای غذایی همان آنتی‌ژن‌ها هستند که پروتئین، و یا گلیکو پروتئین‌هایی هستند که قادر به تحریک سیستم ایمنی بدن، برای تولید ایمنوگلوبین‌های مخصوص که آنتی‌ژن هستند می‌باشد. افراد بیمار با آلرژی نسبت به ماهی قادر به تولید آنتی‌بادی‌های مخصوص ایمینوگلوبین E (IgE) برعلیه رشته‌هایی از اسیدآمینه مخصوص که در پروتئین‌های تولید آنتی‌ژنهای ماهی می‌کنند می‌باشد به خوبی روشن نیست که چرا بعضی افراد، این آنتی‌بادیها را برعلیه آنتی‌ژنهای ماهی تولید می‌کنند و در بعضی دیگر این کار صورت نمی‌گیرد. درصد آلرژی غذایی در یک جمعیت در حدود ۸٪ ـ ۲ برآورد شده است. آلرژی ماهی به‌عنوان یکی از معمول‌ترین آلرژی‌های غذایی می‌باشد، در کنار آن آلرژی‌های حاصل از تخم‌مرغ، شیر و بادام زمینی قرار دارند.

مقدار بالا IgE در سرم در یک فرد می‌تواند نشان دهنده آلرژی غذائی داروئی شخص باشد. آلرژی‌زاهای غذایی قادرند تا با آنتی‌بادیهای IgE در روی سطح سلول‌ها و یا بافتها با لوکوسیت‌های بازوفیل خون اتصال برقرار سازند. وقتی که دو مولکول IgE با هم از ایجاد اتصال می‌کنند، در نتیجه سلول قادر به ترشح موادی، مثل هیستامین می‌گردد که موجب واکنش‌های آلرژیکی که گاهی اوقات خیلی شدید هستند می‌شود. این واکنش

---

[1] - Immunoglobulin E (IgE)

گاهی اوقات تحت عنوان Hypersensitivity خوانده می‌شود که به‌طور تخصصی‌تر بـه آن عنـوان حساسـیت زیاد نوع ۱ (Type one Hypersensitivity) داده شده است. این واکـنش نبایـد بـا حساسـیت‌هـای پوسـتی اشتباه گرفته شود که این حساسیت گاهی بنام حساسیت حاصل از تماس نامیده شده است. در این حساسیت‌های واکنش به خاطر لنفوسیت T است و در عرض ۴۸ ـ ۲۴ ساعت بعد از تماس با آنتی‌ژن ظـاهر مـی‌شـود. در ایـن حساسیت، آنتی‌بادیهای ایمینوگلوبینی نقشی ندارند. حساسیت‌های تماسی که تماس بـا آنتـی‌ژن در مـاهی اتفـاق می‌افتد به‌عنوان یک خطر شغلی می‌باشد که معمـولاً در افـراد مشـغول بکـار در صـنعت فـرآوری مـاهی دیـده می‌شود(۱).

برآورد افراد بیماری که دچار حساسیت بعد از خوردن غذا می‌شوند اگر منبـع واکـنش مـواد غیرآلرژیـک‌زا باشـند مشکل است. اگر هیچ مکانیسم ایمنی شناسی عامل واکنش نباشد این‌گونه حساسیت‌ها بـه‌عنـوان عـدم تحمـل غذایی (Food intolerance) نامیده می‌شود. عدم تحمل غذایی اغلب با آلرژی غذایی اشتباه گرفته می‌شود که دلیل آن به خاطر واکنش‌های مشابه این دو نوع حساسیت بعد از خوردن غذا است. برای مثال، یک بیمار ممکـن است دارای علائم گوارشی بعد از خوردن شیر داشته باشد. این واکنش اغلب با عدم تحمل لاکتوز موجب می‌شود تا آلرژی ناشی از شیر حالت مشابه برای ماهیانی مثل تون و ماکرل نیز ممکن است صادق باشـدکه مسـمومیت، ناشی از تون ماهیان به علت عدم سرد سازی صحیح ماهی در زمان صید رخ می‌دهد. تشخیص صحیح بین عدم تحمل غذایی و حساسیت غذایی برای درمان بیمار خیلی مهم است.

علائم معمول حساسیت غذائی شامل شروع سریع مشـکلات تنفسـی، آبریـزش بینـی، عطسـه، خـارش دهـانی، استفراغ، ناآرامی‌و انقباض عضله شکم می‌باشند. در بعضی موارد خوردن آلرژنها می‌تواننـد منجـر بـه واکـنش‌هـا تهدیدکننده برای زندگی شخص به نام (Anaphylaxis) یا خفگی شود.علائم آن شـامل تـورم دهـان، عطسـه شدید، کوتاهی شدید تنفس و شوک است (۲). مهمترین آلرژنهای غذایی شامل پروتئین‌هـای آلرژیکـی‌زا آبزیـان مثل صدف‌دار، ماهی شیر، ماهی، تخم‌مرغ و بادام زمینی می‌باشند. در آمریکا ۸٪ از بچه‌ها و حـدود ۲٪ از بـالغین دچار آلرژی‌های غذایی می‌باشند. در سال‌های اخیر، گرایش به سمت جایگزینی گوشـت قرمـز بـا گوشـت سـفید خصوصاً ماهی و فرآورده‌های آن به‌عنوان منبع مهم تغذیه سالمتر بوده است. تغذیه با ماهی بیماری کرونر قلب را کاهش می‌دهد (۴و۳). اما، ماهی دارای آلرژنهای قوی دارد که ممکن است باعث حساسیت زیاد نوع یک در افراد بالغ و کودکان شود.

آلرژی ناشی از خوردن آبزیان به خصوص در مناطقی که مصرف ماهی بالا است فراوان اسـت. در نـروژ، گسترش آلرژی ناشی از ماهی یک نفر به ازای هـر ۱۰۰۰ نفـر جمعیـت اسـت (۵). یـک مطالعـه نشـان داد کـه

۳۰درصد از بچه‌ها که دارای حساسیت به مواد غذائی هستند زمانی کـه مـاهی مصـرف مـی‌کننـد واکـنش‌هـای آلرژیکی در آنان رخ می‌دهد (۶) عامل واکنش‌های آلرژیکی در گوشت وجود دارند، اما اخیـراً نگرانـی‌هـایی بـروز یافته مبنی بر اینکه آیا فرآورده‌های ماهی مثل ژل ماهی (که از پوست و استخوان ساخته می‌شود) حاوی عوامل آلرژیـک‌زا در شـکل کـلاژن‌هـا هسـتند؟ نگرانـی دیگـر مربـوط بـه پخـش ذرات مـاهی در هـوا اسـت (Aerosolization). این پدیده (Aerosolization) عبارت است از پراکندگی ذرات ریز جامد یا مایع در هـوا و یا گاز می‌باشد و ممکن است باعث حساسیت در انسان از طریق استنشاق این ذرات شود. این مسـئله اغلـب در صنایع غذاهای دریائی گزارش شده است جایی که باعث ایجاد حساسیت از طریق تماسی و تنگی نفس ناشـی از کار در کارخانه‌های فرآوری غذاهای دریـائی دیـده شـده اسـت (Jeebhays et al.,) (۷) گـزارش کردنـد کـه حساسیت‌های پوستی ناشی از کار در کارخانه‌های فرآوری غذاهای دریائی ٪۱۱ ـ ۳ و تنگی نفس ٪۳۶ ـ ۷ بـوده اسـت. در پژوهشـگران دیگـر Goetz & Whis (۸) گـزارش نمودنـد پروفیـل‌هـای SDS-PAGE در آب میگوهای در حال پخت و آب مقطر تهیه شده از میگوی در حال جوش دادند مشابه هم بوده و حـاوی آلرژنهـای مقاوم به حرارت تروپومیوزین (Tropo myosin) بودند. این حالت در نرم تن اسکالپ هم دیده شده اسـت. بـه خاطر افزایش تولید و مصرف غذاهای دریائی, آلرژنهای غـذاهای دریـائی در طـی آمـاده‌سـازی در هـوا پراکنـده می‌شوند که یک منبع بالقوه ایجاد حساسیت در دستگاه تنفس و حساسیت‌های پوستی می‌باشند.

چندین گونه ماهی، مثل کاد تاکنون شناخته شده‌اند که قادر به ایجاد آلرژی در انسان هستند. آلرژی ایجـاد شـده توسط ماهی کاد به وسیله پژوهشگران مختلفی مطالعه شده است. عامل آلـرژی عمـده در مـاهی کـاد gad c1 می‌باشد که به‌عنوان یک گلیکوپروتئین با وزن مولکولی ۱۲ کیلودالتون و قابلیـت ایجـاد اتصـال بـا Ca^{+2} را بـا Parvalbumin دارا می‌باشند. اگر چه پروتئین‌های دیگری در کاد و دیگر گونـه‌هـای مـاهی بـه‌عنـوان آلـرژن تعریف شده‌اند، به نظر می‌رسد ارتبـاط قـوی بـین واکـنش IgE بـا gad c1 و واکـنش کلینیکـی کـاد و دیگـر گونه‌های ماهی وجود دارد. شباهت‌های زیادی بین واکنش کلینیکی بین کاد و دیگر گونه‌های مـاهی هـم چـون حساسیت با IgE در بین بسیاری از گونه‌های مـاهی وجـود دارد. پـروتئین مـرتبط بـا ایـن واکـنش‌هـا پـروتئین parvalbumin از کپور بدست آمده و به‌طور کامل آزمایش شده است (۹). این پروتئین در رشته‌های سـلولی و ماهیچه وجود دارد و با انجام آزمایش جلوگیری از فعالیت آن می‌توان تا ٪۹۰ ـ ۸۰ از فعالیت متصل شدن آن به IgE در ماهی، عصاره ماهی کاد، تون و آزاد ماهی جلوگیری نمود. در مطالعه‌ای که (Martion et al., ۱۹۹۸) انجام دادند (۱۰) گزارش کردند, بچه‌هایی که آلرژنهای نسبت ماهی کاد را دارند. در آزمایش پوستی انجـام شـده دارای نتایج مثبت حساسیت پوست به آلرژنهای موجود گونه‌های دیگر می‌باشند. بچه‌ها از نظر کلینیکی بـه همـهٔ

گونه‌های ماهی حساسیت نشان ندادند که این امر نشان دهنده امکان تحمل بچه‌ها نسبت به دیگر گونه‌ها می‌باشد، پاسکوال و همکارانش (۱۹۹۲) نتیجه گرفتند چندین آنتی‌ژن معمول در بین گونه‌های مختلف وجود دارد (۱۱). مک کانت و همکارانش (۱۹۹۲) گزارش دادند که شناسائی حساسیت به گونه‌های مختلف ماهی با استفاده از آزمایش حساسیت پوست امکان‌پذیر است. درصد قابل ملاحظه‌ای از بیماران دارای آزمایش مثبت نسبت به همه گونه‌های ماهیان مطالعه شده بودند حتی اگر آن بیمار آن گونه را هرگز نخورده باشد. افراد بیمار دیگر می‌توانند واکنش مخصوص به گونه‌ای خاص را داشته باشند. این موضوع کاملاً روشن نیست که چرا بعضی از افراد ممکن است واکنش‌های شدید نسبت به یک گونه ماهی داشته باشند و سپس با خوردن گونه دیگر ماهی واکنش آلرژیکی را نشان ندهند، اگر چه در (وآزمایش حساسیت با IgE به وسیله آزمایش پوست در آزمایشگاه نسبت به آن ماهی حساسیت نشان می‌دهند. علیرغم وجود زیاد آلرژی بوسیله ماهی در انسان متأسفانه مطالعات کمی‌برای توصیف آلرژن‌هایی در ماهی و آثار کلینیکی آن تاکنون انجام شده است.

در مطالعه Yamada و همکارانش (۱۹۹۹) در دو گونه از ماهی تون *Thunnus alalunga* (Albacore Tuna) و *Thunnus albacares* (تون‌زردباله) به وسیله الکتروفورز؛ ژل پلی‌اکریلامید سولفات دودسیل سدیم (SDS-PAGE) انجام شد، معلوم شد در افراد حساس به تون، برای مشخص کردن ترکیبات متصل کننده به IgE هر دو نوع ماهی تون رنگ‌آمیزی شدند. (کلمه Atopic معمولاً به افرادی اطلاق می‌گردد که استعداد وراثتی برای آلرژی دارند)، اما مشخص شد در بعضی از این افراد ممکن است فقط یکنفر در خانواده‌شان علائم آلرژی نشان بدهند. این مطالعات رنگ‌آمیزی با روش western blot (blotting) (در کنار آنتی‌ژنها) برای تشخیص ویژگیهای اتصال کنندگی IgE محققین را قادر ساخت تا پروتئین‌هایی را که هر بیمار به آن حساس است و گونه مربوطه را تعیین کنند. فعالیت‌های بیولوژیکی در عصاره استخراج شده را با آزمایش آزادسازی هیستامین تعیین نمودند. از ماهیان خام تازه، ماهی تازه پخته شده و کنسرو شده استخراج عصاره انجام شد و پروفیل‌های پروتئین‌های آنها به وسیله SDS-PAGE و Immunoblot مشخص شدند. با این آزمایش‌ها و روش‌ها که در پائین توضیح داده می‌شود، ویژگی ترکیب‌های استخراج شده مواد آلرژیک‌زا منجر به تعیین پروتئین‌های آلرژیک‌زا مخصوص به هرگونه از تون ماهیان شد. و در نتیجه اختلافات مربوط به نشان دادن در واکنش‌های مختلف توسط فرد بیمار نسبت به عصاره‌های استخراج شد گونه‌ای از ماهی‌های تون مختلف توجیح پذیر گردید.

۲-۶- مواد و روش‌ها برای تشخیص مواد آلرژی‌زا: (۱مورد در تون ماهیان)

۱-۲-۶- استخراج عصاره از ماهی تون

سه نمونه از تون ماهیان تهیه گردید – نمونه اول از گونه Albacore Tuna بود که ابتدا چربی گیری شده ، سپس به وسیله انجماد تصعیدی منجمد گردیده بود. این نمونه از آزمایشگاه Biopol Laboratory,Inc در (Spokane,WA,USA) خیرداری شده بود.نمونه دوم از گونه Yellowfin tuna بود که از آزمایشگاه Crystal Laboratory واقع در (Luther,OK,USA) تهیه و طبق نمونه اول آماده سازی شده بوند.نمونه سوم از ماهی تن تازه در Mitsuwa در (Sunnyvale ,CA,USA) خریداری گردیده بود همچنین برای تولید کنسرو تن و استخراج عصاره آن از ماهی تن Star-Kit´s Chunk Light Tuna صید شده در Spring water استفاده بعمل آمد.

۲-۲-۶- نمونه‌های سرم بیمار

هشت نمونهٔ سرم مثبت ماهی تون از آزمایشگاه بین‌المللی Plasma (Evenett, WA, USA) خریداری شد و با استفاده از دو روش آزمایش تشخیص آلرژی *in-vitro*، آزمایش آلرژی CLA (Hitachi chemical Diagnostic,Inc. Montain View, CA, USA) و ایمنو CAP® (Pharmacia & upjohn Diagnostic, Kalamazoo, MI, USA)) انجام شد. آزمایش آزادسازی هیستامین به وسیله آزمایشگاه مرجع در (Copenhagen, Demark) انجام شد. یک نمونه سرم بیمار غیر آلرژیک بعنوان (شاهد) IgE منفی و نتیجه آزمایش آزادسازی هیستامین به‌عنوان نمونه کنترل استفاده شد.

۳-۲-۶-اندازه‌گیری هیستامین

شروع آزادسازی هیستامین در افراد مریض که دچار حساسیت زیاد نوع اول به هیستامین هستند به وسیله تحریک ماست سلها و سلول‌های خونی بازوفیل از طریق آنتی‌ژن‌ها انجام شد. این روش میزان هیستامین آزاد شده در سرم بیمار رااندازه می‌گیرد.

۴-۲-۶- *SDS-PAGE*

عصاره استخراج شده از ماهی تون با غلظت ۰/۵ میلی گرم در میلی‌لیتر در بافر نمونه NUPAGE® LDS با عامل اکسید کننده (Redoucing) NUPAGE® به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۰ درجه سانتیگراد حرارت

داده شـد و سـپس ۲۵ میکرولیتـر از آن جـدا شـد و روی ژل Bis-Tris٪۱۲-۴ کـه از بـافر NUPAGE MOPS SDS برای جداسازی پروتئین‌ها استفاده شد (۱۴). حرکت ژل با ولتاژ ثابت ۲۰۰ ولـت بـه مـدت ۵۰ دقیقه انجام شد. از (Invitrogen, CA, USA) استانداردها رنگ آمیزی شده بـا وزن مولکـولی مشـخص شده از قبل جهت تعیین وزن مولکولی پروتئین‌ها استفاده بعمل آمدند.

۶-۲-۵-اندازه‌گیری ایمنوبلوت (Immonoblot)

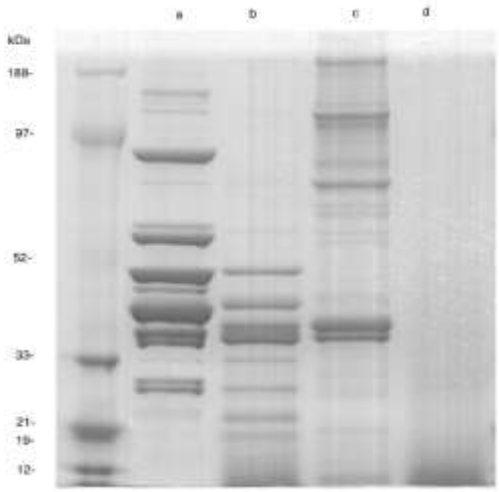
عصاره استخراجی به روش آورده شده در بـالا جداسـازی شـدند. پـروتئین‌هـا از طریـق الکتروفـورز روی غشـاء نیتروسلولاز ۰/۲ میکرومتری منتقل شدند (Biorad, CA, USA) که برای اینکار از ولتاژ با قدرت ۳۰ ولت به مدت ۱ ساعت استفاده شد. از بافر NUPAGE با متانول ٪۱۰ استفاده شد. غشاء با سرم بیمار بمدت یک شـب انکوباسیون شد و پراکسیداز (horse Radish) که به اسم IgE بز ضد انسـانی مشـخص شـده بـود. بـه ایـن مجموعه افزوده شد.سپس (DAB تقویت شده برای تعیین نوع اتصال به IgE (Pierce, IL, USA) استفاده شد. کمپلکس IgE ـ آنتی‌ژن با تشکیل رسوب قهوه‌ای رنگ روی غشاء شناسائی گردید.

۶-۲-۶- بررسی جلوگیری از IgE

از روش زیر برای غیر فعال کردن سرم بیمار بوسیله عصاره استخراجی از ماهی تون که در بخش‌های قبلی بیـان شد استفاده گردید (۱۳). سه میلی‌لیتر سرم بیمار (C) با عصاره استخراجی از مـاهی تـون زردبالـه و آلبـاکر (۰/۵ میلی‌گرم پروتئین در میلی‌لیتر) بمدت یک شب در درجه حرارت اتاق انکوباسـیون شـدند. آزمـایش رنـگ‌آمیـزی Immunobolt برای هر دوگونه با سرم غیرفعال شده انجام شد. هم‌چنین یک آزمایش با سرم غیرفعـال نشـده بعنوان شاهد انجام شد. سرم بیمار (c) و (h) با عصاره استخراجی آلباکروتون زردباله در همان غلظتی کـه قـبلاً در آزمایش ایمنو CAP انجام شده بود منعقد و غیرفعال شدند.

۶-۳- تجزیه واندازه‌گیری نتایج

عصاره استخراجی از ماهی تون به وسیله SDS-PAGE تجزیه واندازه‌گیری شدند. شکل ۱-۶ قطعه ژل هـای رنگ‌آمیزی شده ، نتایج حاصله از جداسازی عصاره از استخراج ماهی‌های تون های مختلـف را نشـان مـی‌دهـد. نوارهای a و b پروفیل پروتئین ماهی تون آلباکرو زردباله را به ترتیب نشان می‌دهد.



شکل ۱-۶ : پروفیل پروتئین آلباکر، زردباله، تون پخته شده و تون کنسرو شده که از ژل پلی‌اکریلامید ٪۱۲-۴ استفاده شده و با معرف رنگ‌آمیزی کومازی آبی است. (*a*) آلباکر (۱۲/۵ میکروگرم)، (*b*) تون زردباله (۱۲/۵ میکروگرم)، (*C*) تون پخته شده (۱۲/۵ میکروگرم) و (*d*) تون کنسرو شده است که ژل با رنگ کومازی رنگ-آمیزی شده است.

در این آزمایش ژل، ماهی آلباکر پروتئین‌های بیشتری با وزن مولکولی در حدود ۵۲ تا ۱۸۸ کیلودالتون در مقایسه با ماهی زردباله نشان داد. ماهی زردباله دارای پروتئین با وزن ۲۱ تا ۴۶ کیلودالتون بود. در عصاره زردباله پروتئین‌هایی وجود دارد که در عصاره الباکر دیده نشدند. نه تنها گونه‌های تون ماهی‌ها در شناخت آلرژیها در تون ماهی ها مهم هستند بلکه چگونگی آماده‌سازی عصاره استخراجی ماهی نیز مهم است. پروفیل پروتئین ماهی تون تازه و پخته شده ستون (C) و تون کنسرو شده ستون (d) با پروفیل حاصله از ماهی آلباکرو زردباله متفاوت هستند. ماهی تون پخته شده تشکیل کمپلکس‌های پروتئینی با وزن مولکولی بالا داد که در مواد خام چربی گیری شده از هر دوگونه تون دیده نشدند. تون کنسرو شده انتظار می‌رفت که قابلیت آلرژی‌زایی پائینی داشته باشد چون فرآوری طولانی کنسروسازی را طی کرده است (۱۵). اما بعضی از بیمارها دارای باندهای ایمنی IgE مثبت با عصاره استخراجی از ماهی پخته شده و کنسرو شده بودند (نتایج نشان داده نشده است). این موضوع پیشنهاد می‌کند که بعضی از پروتئین‌های خاص، ویژگی حفاظتی از فعالیت پیوستگی IgE دارند. بطوریکه بعد از فرآیند حرارتی این خاصیت پیوستگی[1] IgE را در فرآورده حفظ می‌کنند. شکل ۲-۶ بصورت خلاصه فراوانی

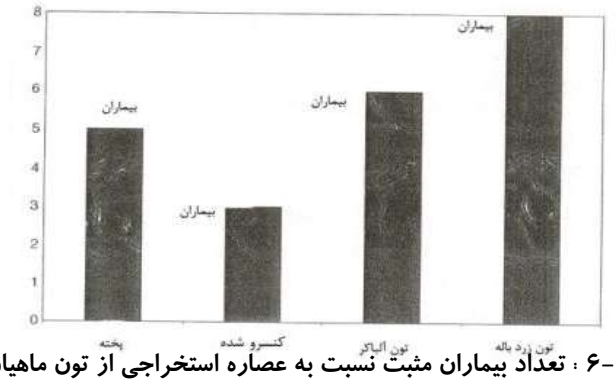
[1] -Binding

واکنش‌های IgE هشت بیمار را برای عصاره تون ماهیان مختلف را نشان می‌دهد. همهٔ بیماران دارای پاسخ مثبت به IgE به تون زردباله بودند. در صورتی که تون کنسرو شده از این ماهی به مقدار قابل توجهی دارای تعداد کمتری پاسخ مثبت بود.

مقدار IgE سرم بیماران مثبت به ماهی تون به وسیله آزمایش آلرژی CLA و آزمایش CAP برای سنجش حساسیت آلرژیک نسبت به ماهی زردباله‌اندازه‌گیری شد. جدول ۱-۶سرم‌های بیمار (a-h) با مقدار بالای IgE مخصوص به حساسیت زیاد نسبت به تون زردباله و همراه با مقدار افزایش یافته IgE کل را نشان می‌دهد. سرم بیمار (i) که منفی است بعنوان شاهد در این آزمایش بکار برده شد. ارزش بیولوژیکی سرم IgE برای تون آلباکر و زردباله با انجام آزمایش آزادسازی هیستامین ارزیابی شد. انطباق کامل بین‌اندازه‌گیری IgE سرم مثبت و آزمایش آزادسازی هیستامین برای عصاره استخراجی زردباله در این آزمایش نشان داده شد.

بیماران (c,e) پس از آزمایش مربوط به آزاد کردن هیستامین بر روی آنها هیستامین را در نمونه آلباکر آزاد نکردند. هیچکدام از عصاره‌های استخراجی از ماهیان تون، آزادسازی هیستامین را از سلول‌های بازوفیلی خون که غیر حساس به سرم گرفته شده از بیماران غیر آلرژیکی بود را تحریک نکرد، که این عدم سمیت یا دخالت هیستامین، آماده‌سازی از ماهی تون را در این افراد نشان می‌دهد.

با به کارگیری روش Western blot، سرم بیمار (C) با عصاره استخراجی از آلباکر غیرفعال شده و در هر دو گونه ماهی تون تشکیل باند داد، باند تشکیل شده با پروتئین ۳۲ کیلودالتون به مراتب کاهش زیادی را در هر دوگونه نشان داد. اما پروتئین به وزن مولکولی ۴۶ کیلو دالتن کاهشی در مقدار باند در دوگونه را نشان نداد. سرم همان بیمار با عصاره استخراجی از ماهی تون زردباله منعقد شد ولی تشکیل باند پروتئینی دیده نشد. با نتایج آزمایش پیشنهاد می‌کند که پروتئین ۴۶ کیلودالتون در عصاره استخراجی از آلباکر وجود ندارد و این پروتئین مخصوص تون زردباله است. نتایج مشابه با آزمایش‌های CAP برای تون زردباله بدست آمد. (جدول ۲-۶)



شکل ۲-۶ : تعداد بیماران مثبت نسبت به عصاره استخراجی از تون ماهیان مختلف توسط آزمایش بوسیله روش *Western blot* را نشان می‌دهد.

جدول ۱-۶ : ویژگیهای به دست آمده در آزمایشگاه از سرم‌های مثبت ماهی تون

Patient	Total IgE IU/mL	CAP IgE Class (IU/mL) Yellowfin	CLA IgE Class (LU)† Yellowfin	Histamine release Class (ng/mL histamine)* Albacore	Yellowfin
a	1545	2 (1.12)	3 (213)	1 (56)	2 (99)
b	1230	3 (3.38)	3 (195)	2 (102)	2 (147)
c	550	3 (11.30)	4 (300)	0 (22)	2 (61)
d	846	3 (9.39)	4 (300)	1 (94)	2 (106)
e	10269	3 (3.52)	4 (300)	0 (9)	2 (48)
f	3216	2 (2.69)	4 (212)	1 (50)	1 (54)
g	5310	4 (26.40)	4 (300)	2 (108)	2 (73)
h	274	3 (11.00)	4 (300)	2 (181)	3 (120)
i (control)	2	0 (<0.10)	0 (0)	0 (12)	0 (26)

*** *mg/ml* مقدار هیستامینی که با محاسبه مساحت زیر شش نمونه رقیق شده بدست آمد**

+ *Lo* مقدار اختیاری *Luminoter*

جدول ۲-۶: نتایج انعقادسازی *CAP* ایمنو

Test condition*	IU/mL	CAP Class	% Inhibition
Patient (c) + PBS (control)	10.80	3	
Patient (c) + albacore	4.72	3	56.20%
Patient (c) + yellowfin	1.67	2	84.50%
Patient (h) + PBS (control)	9.69	3	
Patient (h) + albacore	4.31	3	55.50%
Patient (h) + yellowfin	1.65	2	82.90%

*** سرم بیمار *(c)* و *(h)* بوسیله عصاره تون ماهی غیرفعال گردید و مورد آزمایش قرار گرفتند بوسیله *Immonocap* آزمایش برای حساسیت مثبت به تون زرد باله.**

نتایج بدست آمده (جدول ۲-۶) پیشنهاد می‌کنند که مواد آلرژیک در ماهی تن زرد باله و آلباکر باهم فرق دارند و این موضوع در آماده سازی‌های مختلف عصاره از تون ماهیان نیز صدق می‌کند. در مطالعه غیرفعال سازی، شواهدی بدست نیامد، دال بر اینکه آلباکر دارای پروتئینی ویژه ای در این زمینه است. اگرچه بعضی از پروتئین‌های متصل کننده IgE در تون پخته شده و کنسرو شده در این بررسی شناسائی شدند. پژوهش‌ها بر روی آزادسازی هیستامین، هیچگونه کاربرد بیولوژیکی را برای آن نشان ندادند. این نتیجه می‌تواند نشان دهد که بیمارانی که دارای حساسیت به ماهی می‌باشند. به علت دناتوره شدن پروتئین در ماهی فرآوری شده و شکسته شدن پروتئین‌های آلرژیک‌زا و کم شدن قدرت آلرژی زائی آنها قادر به تحمل این فرآورده‌ها هستند. در تجزیه واندازه‌گیری پروفیل‌های پروتئینی بوسیله SDS-PAGE و روش Western Blot، در ماهی تون زردباله یک پروتئین مخصوص شناسائی شد که در تشخیص آلرژی‌زا بودن گونه‌های مختلف مفید است.

۴-۶- پیش‌بینی برای آینده

تحقیق قبلی در زمینه آلرژیهای غذاهای دریائی روی آبزیان صدف‌دار و همچنین در بعضی از ماهیان باله‌دار مثل کاد متمرکز شده است. ماده Gad c1 به‌عنوان ماده اصلی حساسیت‌زا در ماهی کاد توسط بسیاری از محققان شناسائی شده است. اما، شناسائی پروتئین‌هایی که موجب بروز واکنش حساسیت می‌شوند ممکن است مثل ماده شناسائی شده در ماهی کاد نباشند و یا به عبارت دیگر مثل تحریک‌کنندهٔ تولید آنتی‌بادیهای IgE ممکن است باعث تحریک تولید آنتی بادیهای مخصوص IgE گردند. این موضوع را از نظر کلینیکی پیچیده میکند و میتوان بطور قطع گفت کدام یک از IgE شناسایی شده مرتبط باایجاد آلرژی می باشند. از طرف دیگر به خاطر مقدار بالای واکنش‌های که بین آلرژنهای ماهی صورت می‌گیرد، شناسائی آلرژنهای ایجاد کننده آلرژی در گونه‌های مختلف ماهی محدود شده است. برای دستیابی و درک بهتر آلرژی ماهی، ضروری است که پروتئین‌های متصل کنندهٔ IgE را مشخص کرده و تعیین کنیم که چه ویژگی خاص آنها را از نظر کلینیکی برای تشخیص ایجاد آلرژی شاخص می‌سازد و بدین ترتیب به راه درمان، بهتر و مؤثرتر دست یافت. این روش باعث می‌شود تا خطر آلرژنهای جدید را در غذاهای اصلاح شده از نظر ژنتیکی بهتر پیش‌بینی کنیم.

از آنجائیکه تمایلات جدید در جهت داشتن زندگی سالم‌تر از طریق جیرهٔ غذایی مناسب‌تر در حال رشد است، درک صحیح از حساسیت‌زایی پروتئین‌های آلرژیک زا غذایی حیاتی است. اخیراً اداره غذا و دارو آمریکا (FDA) قوانین جدیدی دربارهٔ مواد آلرژیهای زا غذایی اعلام نموده است و بیان داشت که بر چسب‌زنی روی غذا باعث می‌شود تا مصرف کننده به راحتی بتواند تصمیم بگیرد که آیا غذا برای خوردن مناسب است یا خیر. FDA اعتقاد

دارد که نوشتن تمام اجزا و ترکیبات غذایی که برای تولید غذا بکار رفته اند به روی برچسب غـذا بـرای کـاهش دادن به ایجاد واکنش‌های آلرژی بوسیله غذا ضروری است. FDA همراه با اتحادیه آلرژی غذایی هشـت آلـرژن عمده غذایی را اعلام کردند که ماهی یکی از آنها بود. همکاری توام تولیدکننـدگان و FDA ایـن امکـان را بـه وجود خواهد آورد تا اجازه دهد تا مصرف کنندگان، منابع ممکن آلرژنها در غذاها را تشخیص دهند.

۵-۶ - منابع جدید برای دست رسی به اطلاعات بیشتر و راهنمایی

دسترسی به انواع گونه ماهیان برای تولید فرآورده از آنها فقط از طریق درک صحیح تحقیقات انجام شـده بـرای حفاظت از منابع دریایی امکان پذیر است. چندین پروژه تحقیقاتی بـرای تولیـد فـرآورده از آبزیـان بخصـوص از مـاهی تـون از طریـق دادن آمـوزش وجـود دارد. یکـی از ایـن مراکـز The Tuna Research & Conservation Center (TRCC) که سایت آن (www.Tunaresearch.Org) می‌باشد. این مرکز در استخرهایی که ماهی تون را در آنها نگهداری می‌کند. مشغول تحقیق بر روی این ماهی می‌باشد، اگـر چـه ایـن مرکز در ساحل کالیفرنیا می‌باشد، علاوه بر آن در سطح بین المللی مراکز دیگـری بـر روی ایـن مـاهی مشـغول بتحقیق می باشـند، مثـل Kewalo Research Facility in Hawai ، (www.mmfs.hawaii.edu) این مرکز بر روی رفتار و فیزیولوژی ماهی تون در استخرها، بعلت اهمیت ایـن مـاهی در صـنایع شـیلاتی ایـن کشور این تحقیق هار را انجام می‌دهد. سازمان های دیگر عبارتند از: The International Commission for conservation of Atlantic Tuna (www.iccat.org) و سـازمان دیگـر Commission for Conservation of Southern Blue fin Tuna (www.home.aome.met.au/ccsbt) می‌باشد که روی رفتار ماهی تون وچگـونگی محافظـت از ذخـایر آن کـار تحقیقـاتی انجـام مـی‌دهـد. شـناخت فیزیولوژی ماهی تون قدم مؤثری در شناسائی پروتئین آن می‌باشد. آلرژی بوسیله گوشت ماهی تون زمانی قابـل کنترل است که منشاء آن شناخته شود. این واقعتی است درباره تمام مواد غذاهای آلرژی‌زا صدق می‌کند.

۶-۶- منابع فصل ششم

1. WEINBERG JM, HAIMOWITZ JE, SPIERS EM, MOWAD CM, Fish skin-induced dermatitis, *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2000 14 222–3.
2. PATIENT/PUBLIC RESOURCE CENTER, Tips to remember: food allergy ، AAAAI, 1996 1–5.
3. KROMHOUT D, BOSSCHIETER EB, COULANDER C, The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease, *N Engl J Med*, 1985 312 1205–9.
4. BURR ML, FEHILY AM, GILBERT JF, ROGERS S, HOLLIDAY RM, SWEETNAM PM, ELWOOD PC, DEADMAN NM, Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART) ، *Lancet* 1989 2 757–61.
5. AAS K, Fish allergy and the codfish allergen model, In: Brostoff J ، Challacombe ST, eds, *Food allergy and intolerance*, London: Balliere Tindall, 1987 356–60.
6. CRESPO JF, BLANCO C, CONTRERAS J, PASCUAL C, MARTIN ESTEBAN M, Food allergy: a clinical and epidemiological study (Abstract), *J Allergy Clin Immunol*, 1992 89 192.
7. JEEBHAY MF, ROBINS TG, LEHRER SB, LOPATA AL, Occupational seafood allergy: a review, *Occup Environ Med*, 2001 58 553–62.
8. GOETZ DW, WHISMAN BA, Occupational asthma in a seafood restaurant worker: cross-reactivity of shrimp and scallops, *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2000 85 461–6.
9. BUGASJSKA-SCHRETTER A, ELFMAN L, FUCHS T, KAPIOTIS S, RUMPOLD H, VALENTA R, SPITZAUER S, Parvalbumin, a cross-reactive fish allergen, contains IgE-binding epitopes sensitive to periodate treatment and Ca2+ depletion, *J Allergy Clin Immunol*, 1998 101 67–74.
10. DE MARTINO M, NOVEMBRE E, GALLI L, DE MARCO A, BOTARELLI P, MARANO E, VIERUCCI A, Allergy to different fish species in cod-allergic children: invivo and in-vitro studies, *J Allergy Clin Immunol*, 1990 86 909–14.
11. PASCUAL C, ESTEBAN MM, CRESPO JF, Fish allergy: evaluation of the importance of cross-reactivity, *J Pediatr*, 1992 121 S29–35.
12. MCCANTS ML, HELBLING A, SCHWARTZ HJ, LOPEZ M, LEHRER SE, Skin test and RAST reactivity to seafood, *J Allergy Clin Immunol*, 1992 89 194.
13. YAMADA S, NOLTE H, ZYCHLINSKY E, Identification and characterization of allergens in two species of tuna fish, *Annals of Allergy, Asthma, Immunol*, 1999 82 395–400
14. INVITROGEN, NuPAGE Bis-Tris Gel Instruction Booklet, 1996–2000.
15. BERNHISEL-BROADBENT J, STRAUSE D, SAMPSON H, Fish hypersensitivity II: Clinical relevance of altered fish allergenicity caused by various preparation methods, *J Allergy Clin Immunol*, 1992 90 622–9.

« **فصل هفتم** »

شناسایی فلزات سنگین در ماهی

۱-۷- مقدمه

بسیاری از عناصر، که در غذاهای دریائی (OE hlenchläger J ،1997) در مقدار کم برای زندگی انسان ضروری هستند (Fraustro da. Silva. JJR & williams, RJP,1993)، بهرصورت این مواد می‌توانند در تراکم‌های بالا سمی‌باشند. عناصری مثل جیوه، کادمیم و سرب عملکرد ضروری شناخته شده‌ای در بدن انسان را نشان نمی‌دهند و اگر حتی بمقدار کم بمدت طولانی مصرف شوند سمی‌هستند، بنابراین بسیاری از مصرف کنندگان وجود این عناصر در ماهی را به‌عنوان یک خطر برای سلامتی انسان می‌دانند. این عناصر در محیط‌های آبی قبل از اینکه بشر روی زمین وجود داشته باشد موجود بودند. این در تناقض است در مقابل باقیمانده‌های مواد آلی در آب که همگی این مواد، Anthropogenic Xnobiotic خارجی بوده تحت تأثیر فعالیت‌های بشر وارد محیط شده‌اند به جز دی‌اکسین‌ها[1] و PAH_s[2] (هیدروکربن‌های پلی‌آروماتیک) که در نتیجه فرایندهای سوختن و فرآیندهای طبیعی در محیط تشکیل شده‌اند.

حضور و تراکم فلزات سنگین در محیط و مخصوصاً در محیط‌های آبی و در آبزیان، یعنی در جانوران آبزی و گیاهانی که به‌عنوان غذای انسان مصرف می‌شوند بستگی به طبیعت و فعالیت‌های انسان دارد. تراکم طبیعی این عناصر در اقیانوس و منابع آب شیرین دنیا به خاطر فعالیت‌های غیرطبیعی، زلزله زمین و آتشفشانی (Davies IM & Topping G,1986 و Falconer CR ; Gonzalez F *et al.*,1998) و فرآیندهای حرارتی زمین و آلودگی ناشی از فعالیت انسان است که در انقلاب صنعتی با شروع به کارگیری فلزات مختلف در صنعت ایجاد شد، که بخش مهمی‌از منابع آلاینده بوده است ، در نتیجه باران‌های اسیدی که در نتیجهٔ آلودگی صنعتی

---

[1] Dioxines
[2] Polycyclik Amromatic Hydrocarbons

بوجود آورند، فلزات سنگین را از مواد معدنی شسته، حرکت داده و باعث می‌شدند تا غلظت آن‌ها در محیط‌های طبیعی وخصوصاً آب‌ها افزایش یابد.

ماهی و دیگر غذاهای دریائی، همیشه دارای مقداری از فلزات سنگین، در نتیجهٔ زندگی در آب می‌باشد. نسبت بین تراکم طبیعی فلزات سنگین و فلزات سنگین ناشی از فعالیت انسان در ماهی از عنصری به عنصر دیگر متفاوت است. این نسبت را می‌توان اینطور بیان شود که در دریاهای باز، که هنوز به وسیله آلودگی ناشی از فعالیت انسان تحت تأثیر قرار نگرفته‌اند، ماهی فقط حاوی مقداری طبیعی از غلظت فلزات سنگین را دارد. در مناطق آلوده، که آب تبادل کافی با اقیانوسهای جهان ندارد (مثل دریای بالتیک، دریای مدیترانه) در مصب‌ها، رودخانه‌ها و مخصوصاً در مکانهایی که نزدیک فعالیت‌های صنعتی هستند، تراکم فلزات سنگین خیلی بیشتر از مقدار طبیعی است (Claisse *et al.*,2001; Dobson, J,2000 ; Prudente.M, *et al.*,1997 ; Kalay.M *et al.*,1999).

مرجع‌های زیادی در مورد مقدار فلزات سنگین در ماهی ها، سخت‌پوستان و نرمتنان وجود دارد. اکثر این مقالات و منابع، گزارشاتی را دربارهٔ غلظت فلزات سنگین در این آبزیان ارائه داده‌اند. که بیشتر این گزارش‌ها درباره فلزات سنگین در آبزیان می‌باشد. به‌طور غیر معمول دارای تراکم بالایی هستند که ناشی از فعالیت انسان است و در مناطقی که تجمع این مواد در آبزیان بعلت شرایط طبیعی برای تجمع آنها در آبزیان فراهم آمده یافت می‌شوند (تبادل ناکافی آب، آب‌های کم عمق، مصب‌ها، رودخانه‌ها، آب‌های ساحلی و غیره). بافت‌ها و اعضا، که فلزات سنگین در آن تجمع و ذخیره می‌شوند (بیشتر مورد بررسی قرار گرفته‌اند) در حالیکه بافت ماهیچه‌ای (فیله) بخشی از ماهی که به‌طور کامل خورده می‌شود کمتر مورد توجه بوده است، علت آن ظرفیت کم تجمع این فلزها در فیله و سختی کار است. اطلاعات کمی‌در مورد مقدار فلزات سنگین در قسمتهای قابل تغذیه در غذاهای دریائی که در آب‌های آزاد و یا اقیانوسهای آزاد صید می‌شوند وجود دارد. این اطلاعات تقریباً با مقدار این فلزات سنگین در آبزیان که در آبهای آزاد صید می‌شوند برابر است.

مشکل عمده در ارزیابی اطلاعات انتشار یافته دربارهٔ تراکم فلزات سنگین در ماهی غیر دقیق بودن و دقت کم اطلاعات قدیمی‌است. تجزیه واندازه‌گیری دقیق مخصوصاً در غلظت پایین که در موجودات دریائی یافت می‌شود مشکل است. اطلاعات قدیمی‌موجود در این زمینه تحقیقاتی است که محققین تحت شرایط نامناسب آزمایشگاهی انجام داده‌اند. روش تحقیق چندان دقیق نیست، همچنین روش‌های مورد استفاده برای سنجش آلاینده‌ها پیشرفته نبوده و شرایط محیطی روی نتایج تأثیر می‌گذاشت. از طرف دیگر سنجش اطلاعات طبق روش استانداردهای امروزی چندان دقیق نبوده و به‌طور کلی محدودیت‌های موجود در گذشته خیلی بیشتر از

امروز بوده‌اند. بنابراین بسیاری از اطلاعات انتشار یافته در منابع خیلی بالاتر از حد واقعی هستند و استفاده از اطلاعات قدیمی، امروزه خیلی سؤال برانگیز است. بیش از هزاران گزارش وجود دارد که حد شناسایی فلزات سنگین را در تراکم خیلی پائین معلوم می‌کنند. (مثل کادمیم کمتر از ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم). این مقادیر از منابع ثانویه گرفته شده‌اند و به میزان ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شده‌اند اگر چه مقدار واقعی ممکن است ۰/۰۰۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده باشد. این مسئله مکانیسمی‌بوده که در نتیجه آن خیلی از اطلاعات اشتباه وارد کتاب‌های مرجع منابع و متأسفانه روزنامه‌ها شده است که در نتیجه نظر عموم مردم درباره فلزات سنگین در غذاهای دریائی را تحت تأثیر خود قرار داده است. روش‌های جدیداندازه گیری که براساس تنظیم نمونه (Lamble. KJ. & Hill. SJ,1988 ; Stoeppet,1994) ابزاری پیشرفته، روش‌های جدیداندازه‌گیری که اخیراً توسعه یافتند، تشخیص مواد غیر آلی زیستی (Szpunar, J, 2000; & Ebdon, et al;2001)، تکنولوژی تمیز، استریل کردن اتاق آزمایش، روش‌های آزمایشگاهی مناسب، روش‌های عملکردی استاندارد، سنجش و مقایسه مداوم اطلاعات، مواد و روشهای مرجع (Jens. PJ, Rucinski RD & Jerzak. H,2001) برای اثبات صحت و میزان دقت آزمایش‌ها و غیره پایه‌ریزی شده است، امروزه اطلاعات قابل اتکائی در مورد مقدار فلزات سنگین در ماهی بدست می‌دهد. (Neidhart, B, & Wegscheider, W,2002). اطلاعات قدیمی‌باید به دقت مورد بررسی قرار گیرند و در مواردی که شک درباره آن‌ها وجود دارد نباید از آن استفاده، یا گزارش کرد.

ماهی و دیگر جانوران آبزی فلزات سنگین را از غذاهایشان (Phillips. DJH ،1995) و همچنین از آبی که از آبشش هایشان عبور می‌دهند جذب می‌کنند. جذب فلزات سنگین اغلب بستگی به مقدار خورده شده و مقدار فلزات سنگین در غذا یا شکار دارد. مشخص شده است که در مناطق دریائی که تراکم بالای فیتوپلانکتون وجود دارد منجر به تراکم بالای این عناصر در ماهی‌های بزرگتر و مسن‌تر نسبت به مناطقی که مقدار فیتوپلانکتون کمتر است می‌شود. جمع شدن فلزات سنگین، مدت زیادی طول می‌کشد و در نتیجه مقدار زیاد،تجمیع این فلزات در ماهیان پیرو بزرگ صورت می‌گیرد. بعضی از گونه ماهی‌ها مخصوصاً گونه‌های شکارچی که معمولاً دارای عمر طولانی‌تر هستند دارای مقادیر بالاتر از فلزات سنگین در ارگانهای مختلف آنها جمع می‌شود. این تجمع فلزات سنگین که وابسته به زمان است منجر به جمع‌شدن مقدار بالای فلزات سنگین در گونه‌های بزرگ مثل ماهی قرمز یا سوف دریائی (*Sebastes* sp.)، هالیبوت اقیانوس آرام و آتلانتیک، تون ماهیان، کوسه‌ها، مارلین، شمشیری ماهی و دیگر گونه‌های شکارچی می‌شود که می‌توانند به سن ۲۵ سال و حتی بیشتر هم برسند می‌گردد. تراکم بالای فلزات سنگین به ندرت در ماهیچه ماهی یافت می‌شود. وقتی که این وضعیت بروز می‌کند

نشان می‌دهد که درجه بالایی از آلودگی در محیط اتفاق افتاده است مثل آلودگی شدید در جیوه در Minamata و کادمیوم Itai-Itai در کشور ژاپن (مثل کادمیم و جیوه)اندام‌های اصلی که ماهی برای ذخیره سازی و سم زدایی فلزات سنگین استفاده می‌کند، شامل کبد، کلیه و استخوانها می‌باشند. این‌اندامها معمولاً برای مصرف انسان در اروپا (به جز کبد کاد کنسرو شده) و آمریکا استفاده نمی‌شوند، زیرا بخشی که عمدتاً مصرف می‌شود همان فیله یا بافت ماهیچه‌ای است. اما، در آسیااندام‌های مختلف بصورت تمام ماهی و یا غذای مخصوص خورده می‌شوند. خوشبختانه این ماهی‌های کوچک و جوانتر می‌باشند که بیشتر مصرف می‌شوند اما تخمک‌ها و دیگر محتوای روده اغلب در فرآیندهای تهیه سس، فرآورده‌های تخمیری و یا نمک سود شده استفاده می‌شوند. در مواردی که امعا و احشا یا کبد ماهی کاد مصرف می‌شوند، باید توجه ویژه‌ای در روی، میزان فلزات سنگین آن قبل از فرآوری بعمل آید.

در این فصل فلزات سنگین مثل جیوه، کادمیم، سرب، روی، مس، قلع و آلومینیم در ماهی و دیگر موجودات دریائی تعریف خواهند شد، روش‌های تجزیه و ارزیابی آن‌ها داده خواهند شد و تراکم یافت شدهٔ این فلزات در بخش‌های خوردنی ماهی‌های مورد استفاده برای تغذیه انسان داده خواهد شد.

۲-۷- جیوه

جیوه در محیط به وسیله فعالیت‌های کشاورزی (قارچ کش‌ها و نگهدارنده‌های بذر)، کارخانه‌های داروسازی، به‌عنوان نگهدارندهٔ کاغذ و خمیر آن، کاتالیزور در سنتز مواد آلی، در تولید باتری‌ها و ترمومترها در تهیه فلز آمیخته با جیوه و در کارخانه‌های تهیه سود سوزآور کلرین رها می‌شود. تخمین زده می‌شود که میزان ورود سالیانه ۴۰۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰ تن در اتمسفر و تقریباً ۴۰۰۰ تن در دریا است. تراکم متوسط جیوه در آب دریا ۲-۰/۱ نانوگرم جیوه در لیتر در نواحی ساحلی ۱۰ ـ ۰/۵ نانوگرم جیوه و در رودخانه‌ها تا ۷۰ نانوگرم جیوه در لیتر است.

اولین مسمومیت به وسیله ماهی‌های آلوده به جیوه (Clarkson. TW,1998) موسوم به بیماری Minamata بود که بعد از تحقیقات کامل، مسمومیت با متیل جیوه شناسایی شد. جیوه بعد از واردشدن به آب شکل وینیل کلراید و استیل آلدئید بصورت پساب کارخانه سازنده این مواد، باعث تجمع آن بصورت متیل جیوه در آبزیان گردیده بود. ماهی آلوده حاوی ۲۵۰ ـ ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن و نرمتنان حاوی ۲۰۰ ـ ۵۰ میلی-گرم در کیلوگرم وزن جیوه بودند. غلظت‌های جیوه در ماهی‌های صید شده در دریاهای آزاد خیلی پائین‌تر از این مقدار می‌باشد، اگر چه در بعضی جاها مشکلاتی بحرانی با آلودگی وجود دارد، ولی علائم آلودگی جهانی به جیوه وجود ندارد. تجزیه واندازه‌گیری مقدار جیوه در گونه‌ها تون ماهیان موجود در موزه‌هایی که بیش از ۹۰ سال از

عمر آنها گذشته، آشکار ساخت که تقریباً همان مقدار جیوه که در تون‌های صید شده جدید از دریا ن و اقیانوس‌ها گزارش شده در آنها وجود داشته است. مقایسه نتایج تجزیه واندازه‌گیری انجام شده (Stock A, & Cucuel. F,1934) در دهه ۱۹۳۰ با نتایج اخیر نشان می‌دهد که ماهیان صید شده در پایان قرن تقریباً حاوی مقادیر مشابه‌ای از جیوه می‌باشند.

سمیت جیوه بستگی به شکل شیمیائی آن(آلی،> فلزی، >یونی) دارد. جیوه عمدتاً به شکل آلی خودش یا همان دی متیل جیوه در ماهی‌ها وجود دارد. این یک ترکیب چربی دوست است که تمایل به تجمع در بافت‌های چرب دارد. بنابراین تراکم زیاد جیوه عمدتاً در کبد گونه‌های کم چرب و در ماهیان چرب یافت می‌شود. متیل جیوه در بدن ماهی به موازات افزایش سن آن تجمع بیشتری می‌یابد. بنابراین غلظت بالاتری از جیوه در گونه‌های چرب شکارچی گوشتخوار با سن زیاد مثل تون، هالیبوت، ماهی قرمز، کوسه و نیزه ماهی یافت می‌شود. فرآوری این گونه‌ها به شکل فرآورده‌های غذایی مثل ماهی کنسرو شده، در دهۀ ۶۰ منجر به بروز مشکلاتی با مقدار جیوه بالاتر از حد مجاز شد. امروزه مقدار استاندارد برای جیوه در کشورهای مختلف متفاوت است مثلاً در آمریکا ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کانادا، ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در اتحادیه اروپا ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم متیل مرکوری و برای بیشتر گونه‌ها به جز ۲۲ گونه شکارچی گوشت‌خوار ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم متیل مرکوری[1] می‌باشد. این مقدار به وسیله تعدادی از کشورها جهت حفاظت از سلامتی مردم در برابر مخاطرات تهدیدکنندۀ سلامتی ناشی از تغذیه طولانی مدت از غذاهای دریائی آلوده به جیوه ارائه شد. امروزه، صنعت فرآوری ماهی دیگر از گونه‌های بزرگ استفاده نمی‌کند بلکه از گونه‌های کوچک تا متوسط که دارای مقادیر خیلی پائین‌تر جیوه از حد مجاز می‌باشند استفاده می‌کند. تحقیقات اخیر (Kruger. K.E & Kruse,1984) نشان داده‌اند که غلظت جیوه در ماهی تون کنسرو شده در مقدار خیلی پائینی است (۰/۲۱ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد این مقدار میانگین گرفته شده از ۷۶ نمونۀ بازاری است). این نمونه‌ها از نقاط مختلف دنیا نمونه‌برداری شده‌اند، USFDA[2] هنوز هم سفارش می‌کند که زنان حامله اصلاً گونه‌هایی مثل تون، نیزه ماهی، ماکرل و کوسه را مصرف نکنند در حالیکه دولت کانادا مصرف یکبار ماهی در ماه را توصیه می‌کند.

همچنان که ذکر شد، جیوه می‌تواند در ماهی و بی‌مهرگان تجمع یابد و غلظت آن نه تنها با افزایش سن بلکه با افزایش مقدار غذایی خورده شده نیز افزایش می‌یابد. در حالیکه جیوه غیر آلی شکل غالب جیوه در محیط است و

---

[1] - Methy Mercury
[2] - United States Food & Drug Adminstration

به آسانی جذب می‌شود و همچنین به سرعت از بدن دفع می‌شود، در حالیکه متیل جیوه به سرعت دربدن‌تجمع‌می‌یابد و به‌کندی دفع‌می‌شود. به‌این دلیل بخش اعظم جیوه در بافت ماهی به شکل متیل جیوه است (بیش از ۹۵٪) بنابراین روند دفع آن خیلی کند است (Joins CR et al,1997 ; Jows. CR, et al,1995; Bloom, NS,1992) از طرف دیگر سلینیوم یک عامل قوی در برابر سمیت جیوه در ماهی است. در بسیاری از گونه‌ها غلظت بالای سلینیوم یافت شده و در بیشتر ماهیان دریائی، مقدار سلینیوم در بافت ماهیچه‌ای آنان بیشتر از میزان جیوه است. (Oehlenschläer J, & Priebe K,1989; Cappon CJ & Smil JC,1981 ; Barghiani et al,1991) مقدار جیوه در ماهیان دریائی بعنوان نشانه آلودگی محیطی بین‌المللی ناشی از فعالیت بشر تفسیر شده است. اما، این موضوع در بیشتر مواقع مربوط به آلودگی محیط نیست. بهرحال مقدار متیل جیوه در ماهیان آب های آلوده از عمدتاً بعلت آلودگی محیطی گزارش شده، در آب‌های آلوده تجمع جیوه در آبزیان به‌عنوان یک شاخص آلودگی گزارش شده است (de Clercr, R, et al.,1995; Abreu, 2000 ; Kawaguchi, T et al.,1999 Sn, et al.,2000 و Joiris, CR et al.,1999) در ماهیان دریائی یک رابطه مستقیم بین تجمع جیوه با مقدار بیوماس آب دریا وجود دارد. ترکیبات جیوه توسط پلانکتون‌ها جذب می‌شوند و سپس ماهی‌های پلانکتون خوارها آن را می‌خورند. اگر مقدار زیادی پلانکتون در محیط آبی وجود داشته باشد در نتیجه میزان جیوه در هر پلانکتون کاهش می‌یابد (چون تعداد زیاد است) و بنابراین ماهی‌های پلانکتون‌خوار کمتر جیوه می‌خورند. این مورد هم برای ماهیان گیاهخوار و هم ماهیان گوشتخوار که از ماهیان گیاهخوار تغذیه می‌کنند صحیح است و در نتیجه میزان جیوه کمتری در ماهیان گوشتخوار یافت خواهد شد. تحقیقات اخیر در روی گونه‌های مختلف ماهی (کاد، سیت هد، هاداک، شگ ماهی و هالیبوت)[1] در دریای بارنت (Barents SEA) و دریای گریلند (Greenland) نشان داد که غلظت جیوه بین ۰/۰۱ میلی‌گرم در کیلوگرم و ۰/۰۶ میلی‌گرم در کیلوگرم بوده است و حتی مقدار میانگین جیوه در ماهی قرمز فقط در حدود ۰/۱۳ میلی‌گرم در کیلوگرم برآورد شد (Solberg,1997). سطوح جیوه در نرمتنان معمولاً در محدودهٔ ۰/۵۰ ـ ۰/۰۲ میلی‌گرم در کیلوگرم براساس وزن‌تر می‌باشد. بی‌مهرگان معمولاً مقدار خیلی کمتری از متیل جیوه در مقایسه با ماهی‌ها دارند. هم چنین در همهٔ گونه‌های ماهیان آب شیرین جیوه را در بدنشان تجمع می‌دهند.

[1] .Cod, saithe, haddock, herring, halibut

۱-۲-۷- تجزیه واندازه گیری

برای تجزیه واندازه‌گیری جیوه (Shrivastran, A.K, & 1982 Tandon, ; Bortoli, A et al.,1995 S.K,) لازم است تا نمونه بافت کاملاً هموژنیزه شود.، تا نمونه انتخاب شده میانگین نمونه باشد. باید توجه ویژه به تأثیر شرایط نگهداری نمونه در روی مقدار جیوه در نمونه شود. (de Boer. J & Smedes. F,1997).

برای هموژنیزه کردن می‌توان از هموژنیزه کردن با آب با استفاده از یک مخلوط کنندهٔ یا یک هموژنیزه کننده انجام می‌شود، یا با استفاده از روش خشک کردن نمونه با انجماد تصیعیدی (Lyophilization) که باعث تولید پودر خشک غنی از جیوه می‌شود استفاده نمود. برای تجزیه و بدست آوردن جیوه کل، احتیاج به یک مرحله خاکستری‌سازی فرآورده مرطوب برای تخریب بافت آلی وجود ندارد. معمولاً از مخلوطی از اسیدهای معدنی مثل اسیدنیتریک و اسیدسولفوریک (مثل ٪۲۰ اسیدنیتریک ٪۸۰ اسید سولفوریک در $۶۰^{\circ}C$) استفاده می‌شود. برای تجزیه و محاسبه متیل جیوه یا دیگر اشکال جیوه آلی، روش‌های متعدد زیادی برای استخراج جیوه وجود دارد، که در منابع پیشنهاد شده‌اند. روشی که معمولاً استفاده می‌شود دارای سه مرحله است: مرحله اول تیمار آزادسازی جیوه از بافت است (که از موادی مثل کلرید سدیم ٪۱، اسید هیدروکلریک ۱ نرمال) استفاده می‌شود. مرحله دوم استخراج جیوه با محلول آلی (مثل بنزن یا تولوئن) می‌باشد و سرانجام مرحله سوم یا خالص سازی است که با شست و شو مخلوط با ترکیبی از محلول آلی تیوسولفات سدیم برای خالص سازی نمونه انجام می‌شود. درصد استخراج جیوه معمولاً بین ٪ ۱۰۰ ـ ۷۰ است.

اخیراً، بعضی از روش‌های آماده‌سازی ساده و جدید پیشنهاد شده است (Cappon, CJ,1994) . روش‌های محاسبه زیر برای تعیین جیوه کل امروزه استفاده می‌شوند، اسپکتوفتومتری (Spectrophometery)، polarography، فلور سانس، اشعه X ، فعال‌سازی نوترون، طیف سنجی جذب اتمی(شعله، کوره و بخار سرد)، طیف‌سنجی توسط اشعه اتمی[1] (ICP) و فلور سانس بیشتر این روش‌ها، به جز بعضی از روش‌های طیف‌سنجی اتمی، نمی‌تواند مقدار پائین جیوه را شناسائی و یااندازه‌گیری کنند. علاوه بر آن، این روش‌ها نمی‌توانند برای تعیین اشکال مختلف جیوه استفاده شوند و گران و هم چنین زمان بر هستند و تحت تأثیر دخالت مواد موجود دیگر در بافت نمونه قرار می‌گیرند. اما، بعضی از روش‌های AAS کلاسیکی را می‌توان برای شناسائی و

[1] - Atomic Spectrometric Techniques

محاسبه غیر مستقیم متیل جیوه در نمونه استفاده نمود زیرا که بیش از ۹۵٪ از جیوه در بدن ماهی به شکل متیل جیوه می‌باشد.

روش‌های جدید که برای تعیین و تشخیص متیل جیوه استفاده می‌شوند یا براساس استفاده از دستگاه GC[1] (گاز کروماتوگرافی) و یا (Welz, B. & Sperling, M.1977) اخیراً HPLC[2] می‌باشد. در روش های جدید GC، از ستونهای موئین سیلیکاتی و تشخیص دهنده‌های حساس و انتخابی مثل AAS، DCP یا ICP جهت شناسایی استفاده می‌شوند. وقتی که از ستونهای موئین سیلیکات استفاده می‌شود باید دقت کرد که تزریق نمونه و شرایط سرنگ تزریق کننده بهینه باشد. امروزه از HPLC برای تشخیص شکل‌های مختلف جیوه استفاده می‌شود. در این روش بیشتر از مدل‌های فاز معکوس (Reversed-Phase) در تحت شرایط ثابت حرارتی (Isocratic) استفاده بعمل می‌آید. علت آن انعطاف پذیری بیشتر در انتخاب فاز مایع برای جداسازی بهتر مثل متانول و استونیتریل (Acetonitrile) می‌باشد. عوامل مختلف دیگر برای بهبود کیفیت کار و تشخیص بهتر نیز به کار گرفته شده است! مثل ۲ـ مرکاپتواتانول، EDTA، دی اتیل‌ـ دی تیوکربنات، دی تیوکربنات پیرولیدین و۶ ـــ مرکاپتوپورین می‌باشند. تشخیص دهندهٔ استفاده شده (EC)[3] می‌باشد. (Evans,O. & Mc (Kee,GD,1987

برای کنترل کیفیت، محاسبه مقدار جیوه، تعدادی از روشهای استاندارد برای آزمایش جیوه در دسترس هستند (Quevauviller, Ph,1995) ، مثل Community Bureauu of Referenc, (BCRO)، (ادارهٔ جامعه مرجع اتحادیه اروپا). همچنین مؤسسه ملی استاندارد و تکنولوژی (USA)، کنسول تحقیقاتی ملی کانادا، آژانس بین‌المللی انرژی اتمی Monaco نیز در دسترس هستند. بعضی از استانداردها برای مقدار جیوه در آبزیان به قرار زیرند: بافت اویستر (۰/۰۵۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، تون آلباکر (۰/۹۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، عضله سگ ماهی (۰/۷۸۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، کبد سگ ماهی (۰/۲۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، هپاتوپانکرانس لابستر (۰/۱۳ میلی گرم بر کیلوگرم) و بافت ماهی پودر شده به روش انجماد تصعیدی (۰/۵۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم).

[1] - Gas chromatography
[2] - High Performance Liquid chromatography.
[3] -Electrochemical detector

۳-۷- سرب

موقعیت سرب کاملاً متفاوت از وضع جیوه است. سرب به‌عنوان یک عنصر سمی‌و خطرناک از طریق فعالیت‌های انسان به مقدار زیاد وارد محیط طبیعی می‌شود و علیرغم تحرک ژئوشیمیائی کم آن این فلز در تمام جهان پخش شده است (Btanila, M. & Konrad, Z.,1980) استفاده سرب به وسیله بشر تقریباً به ۹۰۰۰ سال قبل بر می‌گردد، اما حداکثر افزایش آن با شروع استفاده صنعتی از معادن و استفاده متالورژی از آن در سال ۱۷۵۰ رخ داد. پس از آن افزایش استفاده از آن در سال ۱۹۴۰ در ماشین‌ها به شکل ترکیبات تتراآلکیل[1] سرب به‌عنوان ماده افزودنی جهت کاهش فرسایش موتور به بنزین صورت گرفت به طوری که امروزه ٪۹۸ ـ ۹۵ کل سرب موجود در محیط بعلت فعالیت‌های انسان می‌باشد.

مقدار سرب در آب‌های عمیق اقیانوس آرام جنوبی حدود ۲ ـ ۱ نانوگرم در لیتر و در آب‌های عمیق آتلانتیک ۰/۴ نانوگرم در لیتر است و (Betti, M., & Papoff, P.,1998) به نظر می‌رسد که مقدار طبیعی آن باشد. اما مقدار سرب در آب‌های سطحی آتلانتیک شمالی و آرام شمالی در حدود ۵۰ ـ ۵ نانوگرم در لیتر است. بهرحال میزان جذب سرب از طریق زنجیرهٔ غذایی کم است و اهمیت چندانی ندارد، به این علت که غلظت سرب در ماهیان با افزایش مقدار غذا و سن افزایش نمی‌یابد، اما با افزایش غلظت آن در آب مقدار جذب آن در آبزیان افزایش می‌یابد. در بسیاری از اطلاعات منتشر شده، مقدار سرب در قسمت خوردنی ماهی‌ها خیلی بالا می‌باشد و اطلاعات قابل قبول نمی‌باشد، چون کنترل آلودگی محیط، کنترل کیفیت و روش‌های‌اندازه‌گیری و تجزیه واندازه‌گیری نتایج در گذشته دقیق نبود. بیشتر اطلاعات گزارش شده مقدار آلودگی سرب در رابطه با محیط می‌باشد تا در بافت آبزیان به این دلیل که سرب به‌طور فراگیر در خشکی، در آزمایشگاه، تجهیزات و ظروف پراکنده بوده. تا دهه ۱۹۷۰ بسیاری از آزمایشگاهای قدیمی‌تر دارای نیمکت‌ها، میزها و قفس‌های لعاب داده شده با سرب بودند. تکنولوژی‌های جدید و روش‌های تجزیه واندازه‌گیری در آزمایشگاه‌های عاری از سرب اجازه داد تا تجزیه واندازه‌گیری مقدار سرب در ماهیچه خوراکی ماهی به دقت انجام شود. این تجزیه واندازه‌گیری‌های صحیح نشان داد که مقدار سرب در عضله ماهی، بخصوص در ماهی‌هایی که از دریاهای آزاد صید می‌شوند هنوز خیلی کم و به میزان ۱۰ ـ ۲ میکروگرم در کیلوگرم می‌باشد. ماهیان صید شده از دریای شمال یا دریای بالتیک

[1] - Leda Tetra Alkyl

تا حدی مقدار بالاتری از سرب (۵۰ ـ ۲۰) میکروگرم در کیلوگرم را نشان دادند. اما حتی این نتایج هم خیلی پائین‌تر از مقادیری هستند که در سال‌های قبل از ۱۹۷۰ اعلام شده است.

سرب به‌طور عمده در استخوان ماهی رسوب می‌کند، و بافت‌های نرم مثل قلب، گنادها واندام‌های گوارشی مقادیر بالای سرب را نشان نمی‌دهند. استخوانها بخش‌هایی هستند که معمولاً بوسیله انسان مصرف نمی‌شوند. آلودگی محیطی به سرب در بعضی از نقاط دنیا را می‌توان با تجزیه واندازه گیری مقدار سرب در استخوانها ماهی مشخص نمود نه عضله‌ها. اخیراً طی تحقیقاتی که توسط سولبورگ و همکارانش (Solberg, T., *et al*,1977) مقدار زیاد سرب فقط در بافت ماهیچه‌ای ماهی در مناطقی که دارای فعالیت کشاورزی و صنعتی زیاد و ورودی فاضلاب‌های شهری تصفیه نشده به محیط های آبی بودند گزارش شده، (Wong. CK, Wong, PPK, & chu, LM,2001). مقدار سرب در بی‌مهرگان مثل نرمتنان و سخت پوستان بالاتر و در حدود ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن‌تر است. این میزان سرب در لوله گوارش، هپاتوپانکراس در هر دو آبزی، نرمتنان و سخت پوستان صورت می‌گیرد. در ماهیان صدف‌دار، لوله گوارش قبل از مصرف باید برداشته شود و اینکار ترجیحاً بلافاصله پس از صید برای جلوگیری از مهاجرت سرب از لوله گوارشی به بافت که در صورت نگهداری بمدت طولانی انجام می‌شود باید صورت گیرد. اما، این عمل در گونه‌های کوچک که دارای لوله گوارش کوچکی هستند، مشکل است. سرب در طبیعت به دو شکل آلی و غیرآلی وجود دارد. شکل آلی آن عمدتاً بصورت تتراآلکیل[1] سرب است که در تعدادی از گونه‌های آب شیرین و دریائی در غلظت‌های ۱۰۰– ۵ میکروگرم در کیلوگرم وجود دارد. مقدار قانونی (EU-Directive 466/2001 from march 3, 2001 in force since April 5, 2001) سرب در اتحادیه اروپا به قرار زیر هستند: عضله ماهی ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم، عضله مارماهی، ماکرل اسبی، ساردین و بعضی از گونه‌های دیگر ۰/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم، سخت‌پوستان ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، ماسل ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم، سرپایان بدون روده ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم براساس وزن‌تر می‌باشند.

۱-۳-۷- تجزیه واندازه‌گیری

تجزیه واندازه‌گیری سرب خیلی مشکل است علت آن وجود سرب در تمام محیط ها می‌باشد که موجب آلودگی می‌شود. در مرحله نمونه‌گیری ضروری است که از چاقوهای شیشه‌ای و یا تیتانیمی‌برای نمونه‌برداری و از ظرف-های تفلون مخصوص اینکار و یا بطری های پلی‌پروپیلن استفاده شود. در مرحله قبل از شروع‌اندازه‌گیری غلظت.

[1] - Tetralkyl - Lead

اگر مقدار سرب درنمونه پیش بینی شود که کم باشد باید آب را از محیط نمونه با استفاده از انجماد تغلیظی خارج نمود. هضم نمونه عمدتاً باید با اکسیداسیون مرطوب انجام شود. روش خاکستر کردن سنتی که در گذشته انجام می‌شد، بعلت منابع آلودگی غیرقابل کنترل است. اما امروزه، روش‌های خاکستر کردن نوین مثل استفاده از میکروویو مجهز به پلاسما فعال شده با اکسیژن در خلاء گزینه‌ای مناسب برای هضم مرطوب بجای روش قدیمی‌می‌باشد اما گران است. بافت ماهی تازه را می‌توان توسط اسیدنیتریک تنظیم نمود غلیظ در قدم بعد بوسیله اکسیداسیون با پراکسید هیدروژن هیدرولیز نمود. روش‌های متعدد دیگر تجزیه واندازه‌گیری سرب در ماهی و در غذاهای دریائی نیز استفاده شده است (Lobinski, R, & Adam, FC.,1994) .

در بسیاری از کشورها روش تجزیه واندازه‌گیری مورده استفاده برای سرب اغلب از طریق قانون تدوین گردیده، ولی روش‌های دیگر که برای تجزیه واندازه‌گیری دقیق سرب نامناسب هستند هنوز استفاده می‌شود. برای تجزیه واندازه‌گیری سرب روشهای اسپکتوفتومتری، طیف‌سنجی جذب اتمی، طیف‌سنجی ایمنیشن اسپکترومتری، فلورسانس اشعهX، تجزیه واندازه‌گیری فعال‌سازی نوترون و روش‌های الکترو شیمیائی همه به کار رفته‌اند. امروزه، دقیق‌ترین روش‌ها، طیف‌سنجی جذب اتمی[1] (ICP-AES)،[2] (ICP-MS) و [3](DPSAV) استفاده می‌شود. جزئیات روشی که زیاد استفاده می‌شود (AAS) را می‌توان در منوگراف این روش یافت (Welz, B. & Sperling, M,1997). برای تشخیص مقدار ترکیب‌های سرب موجود دراندام‌ها جانوران روش‌های جدید جذب اتمی‌گاز کرومانوگرافی (GC-AAS) و پلاسماهای و گاز کرموتوگرافی – ایجاد تششع در پلاسمای تحریک شده با مایکروویو (GC-MID-AES) توسعه یافته است.

مثل دیگر موارد تجزیه واندازه‌گیری، مشکل‌های تجزیه واندازه‌گیری سرب معمولاً کمتر در نظر گرفته می‌شوند. شاهد این ادعاء نتایج آزمایش‌های درون آزمایشگاهها می‌باشد که در بین آزمایشگاههای مختلف صورت می‌گیرد و نتایج خیلی با هم متفاوت هستند. باید در جمع‌آوری نمونه دقت شود، نمونه درست انتخاب شود، دقت لازم در نگهداری نمونه بعمل آید. آماده‌سازی و تیمار اولیه نمونه صحیح و اصولی باشد. این موارد به‌عنوان بخش‌هایی مرتبط با تجزیه واندازه‌گیری پیچیده سنجش مقدار سرب در نمونه می‌باشند. کنترل نتایج و سنجش دقیق اطلاعات قبل از انتشار آن‌ها و ممانعت از انتشار اطلاعات مشکوک می‌تواند وضعیت فعلی را بهبود بخشد در حالیکه هنوز اطلاعات نادرست داده شده از مقدار سرب در آبزیان غالب است.

---

[1] - Inductively Coopled Plasma-Atomic Emission Spectrometry
[2] - Inductively coopled Plasma Mass Spectrometry
[3] - Differential Polse Anodic Scanning Voltammetry

۴-۷- کادمیوم

کادمیم به‌عنوان یکی از سمی ترین فلزات سنگین برای موجودات زنده می‌باشد. کادمیوم در جدار سخت زمین با عنصر روی وجود دارد و قرن هاست که از طریق فعالیت‌های معدنی برای استخراج منابع روی وارد محیط زیست می‌شود. سمیت کادمیوم به وسیله شیوع بیماری Itai-Itai در ژاپن مشخص شد. این بیماری با مصرف برنج حاوی کادمیوم شیوع یافت که علت آن استفاده از آبی که برای حفر معدن استفاده شده و بشدت، به کادمیوم آلوده بوده و از این آب برای آبیاری برنج استفاده گردیده بود می‌باشد. گروهی از پروتئین‌ها به نام متالوتیونین[1] وجود دارند که بدن را از سمیت ناشی از کادمیوم حفاظت می‌کنند (Klassen, CD, Liu J & Choudhuri, S.,1999).

کادمیوم همچنین در محیط آبی پراکنش وسیعی دارد و تجمع زیستی آن به وسیله موجودات آبزی بخوبی تشخیص داده شده است. مقدار کادمیوم در بخش خوردنی ماهی (عضله ماهی) به‌طور کلی پائین است در حالیکه کادمیوم دراندامهایی مثل کلیه و کبد تجمع پیدا می‌کند، بنابراین‌اندامها می‌توانند خیلی آلوده باشند و ترجیحاً نباید مصرف شوند. مقدار کادمیوم در بخش خوردنی ماهیان دریائی صید شده از آتلانتیک شمالی، دریای بارنت و آب-های اطراف گریلند بین ۵-۰/۵ میکروگرم در کیلوگرم وزن مرطوب می‌باشد. در مناطق ساحلی و در دریای بالتیک کادمیم می‌تواند بیشتر باشد و به ۲۰ ـ ۱۰ میکروگرم در کیلوگرم برسد. تمامی‌این اعداد خیلی پائین‌تر از حدود قانونی یا حدود توصیه شده توسط دولت‌ها هستند. غلظت‌های ذکر شده فقط در حدود ٪۲۰- ۱۰ از میزان مجاز قانونی هستند.

وضعیت مقدار کادمیوم در بی مهرگان دریایی مثل نرمتنان و سخت پوستان فرق میکند.

(Rainbow PS,1985; Rainbow PS,1997;Ruangwises N and Ruangwises S,1998;Ismail A,Jusoh NR and GLhani IA,1995)

دوکفه های(Molluscs) بخصوص سفلوپدها (Crustaceans) جمع کننده فعال کادمیوم دردستگاه گوارش خود می باشند.

(Francesconi KA,Moore EJ and Joll LM,1993;Bargagli *et al.*,1996;de Gregori I *et al.*,1996;Aboul Naga WM,1996;Odzak N *et al.*,1994)

1

این فرآیند موجب میشود که سرپایان،مثل اختاپوس، اسکوئیدها و ماهی مرکب مقدار زیادی کادمیوم دردستگاه گوارش تا mg/kg ۳۰۰ ذخیره نمایند.درحالیکه در عضله شان، شاخک ها و گوشت مقدار کادمیوم بمقدار کم یافت میگردد و مقدار آن تقریباً برابر کادمیوم گزارش شده در ماهیچه ماهی می باشد. (Oehlenschläger J,1991;Schulz-Schroeder G and Schering B,1995) بنابراین برداشتن تمام دستگاه گوارش سرپایان بلافاصله پس ازصید بسیار مهم است. اگراین عمل بلافاصله پس ازصید انجام نشود، کادمیوم از روده ها به بافت ماهیچه ای منتقل شده و این بافتهاراآلوده می سازد، بطوریکه میزان کادمیوم دریافت ماهیچه ای ازحد مجازقانونی میگذرد. دو کفه ای ها همین پدیده را نشان میدهند اما در مقدار پائین تر، بنابراین مقدار کادمیوم دردوکفه ای ها باید بصورت مستمر اندازه گیری شود.مقدار بالاتر کادمیوم در نرمتنان دلیلی است برای گذاشتن مقدار مجاز بالاتر کادمیوم برای این گروه از غذاهای دریایی است. همچنین اویستر هم می تواند کادمیوم را از فاضلاب های صنعتی جذب کند،بنابراین مقدار آن دراین آبزی باید بطور منظم کنترل گردد.

حد مجازکادمیوم دراتحادیه اروپا (EU-Directive 466/2001 ،March3,2001) که ازپنج فروردین سال ۲۰۰۱(April 5,2001) برای آبزیان به اجراء گذاشته شده است به شرح ذیل است:

برای عضله ماهی mg/kg ۰/۰۵ ، عضله مارماهی[1]،ساردین ، قباد[2]، و چند گونه دیگر mg/kg ۰/۱، سخت پوستان[3] mg/kg ۰/۵، دوکفه ای ها[4]، سفالوپد بدون امعاء واحشاء mg/kg ۱براساس وزن تر می باشد.

۱-۴-۷- تجزیه واندازه‌گیری

نمونه برداری و آماده‌سازی نمونه جهت تجزیه واندازه‌گیری کادمیوم باید با همان دقتی که برای سایر فلزات سنگین هست انجام گردد. اما، بهرحال خطر آلودگی به کادمیوم خیلی کمتر از سرب است. زمانی که از ظروف و کیسه‌های پلاستیکی استفاده می‌شوند باید دقت کرد چون کادمیوم به‌عنوان یک ثابت کننده در پلاستیک (PVC) استفاده می‌شود. برای هضم از روش خاکسترسازی خشک در ظروف سر باز نباید استفاده شود، چون منجر به از دست رفتن کنترل نشده و یا آلودگی در طی عمل هضم می‌شود. امروزه خاکستر غذایی نمونه بصورت مرطوب در ظروف دربسته ای که تحت درجه حرارت و فشار آن‌ها کنترل می‌شوند به‌عنوان روش مناسب انتخاب

[1] Eel
[2] Horce Macherel
[3] Crvstacenas
[4] M-ussels

می‌گردد. در اینجا باید تأکید نمود که اسید مورد استفاده برای عمل هضم باید خالص باشد (اسید نیتریک، اسید پرکلریک، اسید سولفوریک، اسید هیدروکلریک اسید هیدروژن پراکسید).

وسایل هضم جدید که اخیراً در دسترس می‌باشند، بدین صورت عمل می‌کنند که نمونه‌ها را با استفاده از انرژی مایکروویو در ظروف تفلونی و تحت فشار هضم می‌کنند. مزیت این وسایل این است که نمونه به سرعت گرم می‌شود و هضم کامل در عرض چند دقیقه انجام می‌شود. روش‌های تجزیه واندازه‌گیری استفاده شده دراندازه‌گری کادمیوم شامل (Ray, S.1994): اسپکتوفتومتری, طیف‌سنجی جذب اتمی، طیف‌سنجی اشعه اتمی، ICE-AES، روش آنالیز کنندهٔ الکتریکی مثل DPSAV (Bard, AJ. & Zoski, CG.,2000 ; Zuman,P.2000)، تجزیه واندازه‌گیری از طریق فعال‌سازی نوترون و ICP-MS می‌باشند. AAS معمولی‌ترین روش‌اندازه‌گیری کادمیوم است. روش AAS شعله‌ای به‌اندازهٔ کافی برای تعیین مقادیر کم کادمیوم حساس نیست و احتیاج به یک مرحله پیش تراکم سازی دارد (مرحله‌ای که در اثر خشک کردن، میزان آب بسیار کاهش یافته و فقط یکسری مواد باقی می‌مانند که در نتیجه مقدار کل کم شده و در حجم کل کم شناسایی کادمیوم آسانتر است)، (Electro Thermal AAS, Ealier Called GF Graphite Furnace AAS) روش ETAAS محدودیت‌های اساسی روش‌های شعله‌ای معمولی را برطرف کرده است که در نتیجهٔ آن حساسیت‌اندازه‌گیری خیلی بالاتری ایجاد گردیده. روش الکتروترمالAAS (حرارتی- الکتریکی) حد شناسائی کادمیوم را به ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر درمقایسه با ۲ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با روش قدیمی AAS شعله‌ای افزایش داده است. استفاده از اصلاح کننده‌های ماتریکسی (Carnick *et al.*, 1991) که بعضی از دخالت‌های بافت را از بین می‌برد, همچنین استفاده از گرافیت لعاب دهندهٔ پیرولیتیکی و استفاده از سکوی L, vov همراه با آماده سازی صحیح نمونه (بر مثال Zeeman Correction) باعث شده است تا روش ETAAS بهبود بیشتری یابد. DPSAV روشی است که سالها مورد توجه و استفاده قرار نمی‌گرفت اما وقتی که بافت به‌طور کامل تخریب می‌شود نتایج عالی می‌دهد. مزیت دیگر این روش این است که یک روش oligoelement همزمان تعیین واندازه‌گیری چهار فلز سنگین مثل (به ترتیب کم شدن غلظت ،سرب، روی، مس و کادمیوم) بوسیله آن در یک مرحله امکان‌پذیر است (Oehlenschlager, J.,1994).

۵-۷- مس

قابلیت انتقال مس در طبیعت در مقایسه با روی و کادمیوم خیلی کمتر است. مس در تراکم پائین برای انسان سمی‌نیست و به‌عنوان یک عنصر ضروری برای موجودات زنده می‌باشد (Linder, MC & Hazegh-

Azam,1996). بنابراین وجود مداوم مس در جیره غذایی ضروری است. منبع عمده و اصلی مس اویسترها هستند، که مس در غدد گوارشی و کلیه‌هایشان تجمع می‌یابد. غلظت‌های بالای مس در غذاهای آبزی فقط زمانی گزارش شده است که موجودات آبزی صید شده از محل‌های آلوده صید شده‌اند که توسط فعالیت‌های استخراج معدن توسط انسان آلوده شده‌اند. مقادیر بالای مس در سخت‌پوستان[1]، ده پایان[2]، شکم‌پایان[3] و سرپایان[4] وجود دارد (Whithe, SL, & Rainbow, PS.1985). این موجودات از مس در تولید هموسیانین خون برای حمل اکسیژن به بافت‌هایشان استفاده می‌کنند. علیرغم غلظت‌های بالای مس در بعضی از نرمتنان و سخت‌پوستان، غلظت مس خطری برای سلامت انسان در غذاهای دریایی بشمار نمی‌آید. مقدار مس در ماهیان صید شده از مناطق آلوده بالاتر از ماهیان صید شده از مناطق غیر آلوده است. اما تجمع این عنصر در زنجیرهٔ غذایی نمی‌تواند اثبات شود. مقدار مس در عضله ماهی به میزان متوسط ۰/۵ ـ ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن مرطوب است در حالیکه‌اندام‌هایی که مس بیشتری دارند به ترتیب شامل (کبد، فلسها، طحال، کلیه، آبشش‌ها) هستند. مقدار اضافی بر نیاز آبزی به مس عمدتاً در کبد ذخیره می‌شود.

۱-۵-۷- تجزیه واندازه‌گیری

برای اندازه گیری مقدار مس در ماهیان همان اصول استفاده شده در تجزیه واندازه‌گیری عناصر یا فلزات کمیاب باید رعایت شوند. اما، خطر آلودگی در طول نمونه برداری، حمل و نقل نمونه‌ها و آماده‌سازی اولیه نمونه نسبت به کادمیوم خیلی کمتر است زیرا که مقدار نسبتاً بالای از مس در غذاهای دریائی یافت می‌شوند. (نسبت کادمیوم به مس یک بر هزار می‌باشد = ۱۰۰۰: ۱). روش‌های تجزیه واندازه‌گیری مورد استفاده امروزی شامل ETAAS و DPSAV و گاهی اوقات ICP-AES است. (Bassar; A.1994) به خاطر تراکم بالای مس در ماهی، از روش AAS شعله‌ای می‌توان برای‌اندازه‌گیری آن استفاده نمود . اختلالات طیفی در AAS معمولاً پائین هستند.

---

[1] Crustacean
[2] Decapods
[3] Gastropods
[4] Cephalopods

۶-۷- روی

روی مثل مس یک عنصر ضروری برای انسان است و جز قسمت اصلی در آنزیمها است. روی معمولاً در ماهی و دیگر غذاهای دریائی بصورت mg/Kg وجود دارد و تاکنون گزارشی دربارهٔ مقدار آن در بخش‌های خوردنی ماهی که منجر به ایجاد خطر برای سلامتی انسان بشود ارائه نشده است. متوسط میزان روی ۵-۳ میلی‌گرم در کیلو براساس وزن مرطوب می‌باشد، و ماهی تازه مهمترین منبع این فلز ضروری برای انسان است. یکی از منبع‌های خیلی غنی روی، گرگ ماهی (*Anarhichas*: Spp.) است، که میزان روی در آن به ۹ میلی گرم در کیلو می‌رسد و دیگر منبع غنی از این فلز نرمتنان، مثل ماسل‌ها و اویسترها می‌باشند (Romeo, M. *et al.*,2000) که ممکن است میزان فلز روی به ده برابر مقدار آن در گرگ ماهی برسد، زیرا در این نرمتنان فلز روی جزئی از آنزیم کربونیک آنهیدراز[1] برای تولید و بازسازی پوسته آنها می‌باشد (Ratkowski, *et al.*,1974).

۱-۶-۷- تجزیه واندازه‌گیری

به علت تراکم بالای روی در ماهی و دیگر غذاهای دریائی مشکلی در تعیین مقدار فلز روی در این غذاها گزارش نشده است.

۷-۷- قلع

شواهدی وجود دارد مبنی بر اینکه قلع برای رشد پستانداران ضروری است. قلع برای ساخت قوطی‌ها در صنعت کنسروسازی استفاده شده است. قلع می‌تواند به درون محتوی قوطی کنسرو نشت کند و محتوی درون قوطی را آلوده سازد. این مسئله زمانی اتفاق می‌افتد که لایه قلع‌اندود شدهٔ داخل قوطی وجود ندارد یا ناکافی باشد و یا اگر محتوی قوطی دارای PH بالا داشته باشد و یا قوطی در محوطه سرباز انبار شوند این شرایط می‌تواند باعث ورود قلع به داخل محتویات قوطی شود. استفاده از قوطی‌های آلومینیمی‌لعاب داده شده، ظروف شیشه‌ای و پیشرفت در زمینهٔ لعاب دادن قوطی در بسیاری از کشورها باعث شد تا مسمومیت با قلع به علت تغذیه از محتویات آلوده قوطی‌ها بسیار نادر باشد. ترکیبات آلی (Fent, K.,199) ، ترکیب تری‌بوتیل‌تین (TBT)[2] به‌عنوان قوام دهنده به PVC، مخمر کش، قارچ کش و حشره کش و ازبین رفتن رنگ در کشتی ها، راه

[1] - Carbonic Anhydrase
[2] - Tributyltin.

خودشان را به محیط‌های آبی باز می کنند. TBT در قسمت قابل خوردن ماهی (Kannan et al.,1995 ; ; Takahashi, *et al.*,1997 و همچنین‌دوکفه ای ها (Bimato, et al.,1998) یافت‌شده‌است. اما، درحال‌حاضربحث‌زیادی (Belfroid *et al.*,2000 , Evans, SH. 1999 ; Goldberge,ED,1986) دربارهٔ احتمال خطر قلع در مقدار کم و ترکیبات آن در غذاهای دریایی برای سلامتی انسان وجود دارد. استفاده TBT در رنگ ها بعنوان کشنده موجودات مزاحم در بسیاری از کشورها ممنوع شده است. متوسط مقدار متوسط قلع یافت شده در ماهی بین ۸ ـ ۰/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد. مقدار TBT در گونه‌های ماهی و نرمتنان صید شده از دریای شمال بسته به گونه آبزی متفاوت گزارش شده از کمتر از ۱ میکروگرم در کیلوگرم برای کفشک (Plaice) تا بیشتر از ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم (در ماکرل و شگ ماهیان) بر حسب وزن مرطوب بوده است (Kruse, R.2001).

۱-۷-۷- تجزیه واندازه‌گیری

قلع به‌وسیلهٔتعدادزیادی‌ازروش‌های آزمایشگاهی قابل‌اندازه گیری‌می‌باشد (Caricchia, AM. et al.,1993; Sturgeon, RE. & Siu, KWM,1994) این روش‌ها شامل اسپکتوفتومتری[1]، فلوریمتری[2] اشعهX رنگی[3] DPSAV، ICP-MS، FAAS، ETAAS، HGAAS و برای ترکیبات آلی قلع گاز کروماتوگرافی (۱۹۸۹ ,Ishizaka, et al.) و HPLC می‌باشند. یک مشکل عمده در سنجش میزان قلع، وجود مقادیر قابل توجه قلع در مواد استفاده شده برای‌اندازه‌گیری آن است (مثل اسید پرکلریک، اسید سولفوریک و آب). برای ارزیابی مقدار و کیفیت آنالیز قلع، فقط تعداد کمی‌از مواد و روشهای استاندارد که تأیید شده می‌باشند در دسترس هستند.

۸-۷- آلومینیم

آلومینیم از زمانی مورد توجه قرار گرفت که پیشنهاد شد که جذب زیاد آن ممکن است با بیماری آلزایمر مرتبط باشد. این موضوع هنوز سوال برانگیز است، اما این حقیقت که آلومینیم یکی از فراوانترین فلزهای روی زمین است و در تماس زیادی با ماهی قرار دارد (قوطی‌های آلومینیمی، ماشین‌های فرآوری، ظروف پخت و غیره)

[1] Spectrophotometry
[2] Fluorimetry
[3] X-Ray Fluore

موجب شد تا بسیاری از محققان دربارهٔ مقدار آلومینیم در ماهی تحقیق کنند. مقدار آلومینیم در گوشت ماهی صید شده از دریای آزاد تقریباً ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن مرطوب آن است. در بافت ماهی‌های صید شده از آب-های ساحلی در مجاورت کارخانه‌های استخراج آلومینیم مقدار آن تا ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن مرطوب افزایش نشان می دهد (Ranau et al., 2001a). غلظت‌های بالاتر دراندامهایی مثل آبشش گزار ش شده. تحقیقی که روی فرآورده‌های کنسرو شده نشان داد که مقدار آلومینیم در چاشنی‌ها، سبزی‌ها و سس‌های استفاده شده در فرآورده‌های ماهی کنسرو شده خیلی بالاتر از مقدار آلومینیم در ماهی می‌باشد. بررسی‌ها نشان داد که تنها بعد از نگهداری طولانی، (بیش از ۴ سال) مقدار آلومینیم در ماهی بیشتر از مقدار آلومینیم در دیگر ترکیبات موجود در قوطی بود. مطالعات روی نمونه‌های قدیمی‌تولیدات کنسرو شده که بیش از ۳۰ سال قدمت داشتند نشان داد که افزایش مستمر غلظت آلومینیم در ماهی کنسرو شده با گذشت زمان ادامه داشته و مقدار آن به ۳۰ میلی‌گرم در کیلو بعد از ۳۰ سال رسیده است (Ranau et al.,200). این مسئله نشان داد که آلومینیم از دیواره‌های قوطی به درون محتویات آن نفوذ کرده و بنابراین تعیین مدت زمان ۴ سال برای فرآورده‌های کنسرو شده به‌عنوان زمان ماندگاری کافی است. تحقیقات جدید آشکار کردند که ماهی‌ای که در ورقه‌های آلومینیمی(برای کباب‌کردن) پیچیده می‌شوند, مقدار قابل توجه‌ای از آلومینیم را جذب می‌کند (Ranau et al.,2001 b)

۱-۸-۷- *تجزیه واندازه‌گیری*

آلومینیم ترجیحاً به روش ETAAS بعد از خاکستر شدن در یک سیستم بسته‌اندازه‌گیری می‌شود (Ranau et al.,1999) در هنگام تعیین مقدار آلومینیم در سخت‌پوستان و نرمتنان باید به این نکته دقت داشت که لوله گوارش این آبزیان که دارای مقادیر کمی‌از ماسه هستند باید کاملاً برداشته شود.

۹-۷- پیش‌بینی برای آینده

به نظر می‌رسد که خطر ناشی از مقدار فلزات سنگین در ماهی و دیگر غذاهای دریائی در حال کاهش است (Guns *et al.*,1999). ممنوع کردن استفاده از تتراآلکیل سرب در بنزین، تلاش‌های موفقیت‌آمیز برای جلوگیری از ریختن مقدار زیاد جیوه در رودخانه ها، جایگزینی جیوه و سرب در باتری‌ها با ترکیبات دیگر، ممنوعیت استفاده از TBT (تری‌بوتیل‌تین) و روش‌های جدید در صنعت متالوژیک همگی دست به دست هم دادند تا ورود فلزات‌سنگین به محیط‌های طبیعی بمقدار قابل توجهی کاهش‌یابد. اما، بهرحال

فلزات‌سنگین‌جدیدی به صحنه آمدند که شامل فلزاتی مثل گروه پلاتینم که در ماشین به‌عنوان کاتالیزور استفاده می‌شود و ترکیبات منگنز که به‌عنوان افزودنی به بنزین اضافه می‌شوند.(Hoppstock, K.,2001; Balcerak, M.1996)

روش‌های آنالیز به سرعت در حال پیدایش هستند و تجهیزات بسیار پیشرفته‌ای به بازار آمده‌اند که نتایج دقیق و قابل اتکایی بدست می‌دهند. اما، بهرحال این روش‌ها معمولاً استفاده نمی‌شوند چون خیلی گران هستند. بنابراین ما ناچاراً در حال دست و پنجه نرم کردن با اطلاعات غیردقیق بدست آمده از تجهیزات قدیمی هستیم که این همراه است متاسفانه با استفاده از افراد آموزش ندیده نیز می‌باشد.

وضع قوانینی که برای چندین دهه فقط برای تعیین مقدار مجاز جیوه یا متیل جیوه بکارمیرفت، اکنون برای تعیین مقدار مجاز روی, سرب و کادمیم بکار میروند. این قوانین، مقدار مجاز را که برای ماهی‌های صید شده از دریاهای آزاد را تعیین می کنند، اما برای ماهی‌های صید شده از مناطق آلوده بعلت فعالیت‌های انسان که غلظت فلزات سنگین در آن خیلی بالاست صادق نمی‌باشند.

۱۰-۷- منابع بیشتر برای دسترسی به اطلاعات و راهنمایی ها

اطلاعات بیشتر درباره مقدار فلزات سنگین در ماهی و فرآورده‌های دریائی و روش‌های‌اندازه‌گیری آنها را می‌توان در چند مونوگراف و فصل هایی از کتاب‌های مربوط به موضوع و یا مجله‌های علمی (Eisler. R.1981, Kiceniuk, Jw.And Ray,1994; Alfassi, ZB.1994) میتوان بدست آورد. بعضی از مجله‌های علمی‌مثل:

Bulletin در (Springer-Verlag) ، *Marine pollution Bulletin* (Elsevier Science Ltd.,) *of Environmental Cntamination and Toxicology* ، (Springer-Verlag) در *Archive of Environmental Contamination and Texicology*، (Elsevier) چاپ *Chemosphere,Science of the total Environment* ، (Klower) چاپ Environmental pollution

متخصص در آلودگی های آبزیان میتوان دسترسی یافت. در مجله‌های مربوط به این موضوع، اطلاعات زیادی منتشر شده، ولی برای افرادی که آشنائی به روش‌های‌اندازه گیری آزمایشگاهی ندارند خیلی مشکل است که بتوانند نسبت به صحت داده‌ها تصمیم گیری نمایند. برای این افراد بهتر است که از مقاله‌های منتشر شده در نشریه‌های Critical Reviews که معمولاً اطالعات صحیح را منتشر می‌کنند، استفاده نمایند.

یک مقدار زیادی اطلاعات را می‌توان از طریق اینترنت بدست آورد، ولی معمولاً این اطلاعات دست دوم و سوم هستند. این اطلاعات معمولاً برای تدریس و یا انتشار در مجله‌ها مناسب می‌باشند و غالباً دقت علمی‌لازم را ندارند. مقدار زیادی اطلاعات در مرکز نگهداری اطلاعات در کارخانه‌های مواد غذائی دریائی در رابطه با مقدار فلزات سنگین در مواد خام و یا فرآورده‌ها نگهداری می‌شوند. متاسفانه این اطلاعات معمولاً غیرقابل دسترس می‌باشند. یکی دیگر از محل‌های گرفتن اطلاعات در ر ابطه با فلزات سنگین در فرآورده‌های دریائی و مواد غذائی در انتشارات کنفرانس‌ها در این زمینه می‌باشد. این انتشارات معمولاً محدود بوده ولی از طریق کتابخانه‌ها می‌توان به آنها دسترسی پیدا نمود. بطور یک راهنمایی کلی در رابطه با مقدار فلزات سنگین در فرآورده‌های دریائی، می‌توان گفت که هرچه مقدار فلط سنگین گزارش شده کمتر باشد بیشتر می‌توان به آن اطمینان نمود. بالاخره مصرف کنندگان ماهی باید بدانند که ماهی یک غذای مفید از نظر تغذیه می‌باشد و مصرف آن اهمیت بیشتر دارد تا ترس از آلودگی به مواد شیمیائی و فلزات سنگین.

۱۱-۷- منابع فصل هفتم

ABOUL NAGA WM (1996), Comparative study of trace metals accumulated in the muscle tissues of the most common and marketable sea food in Alexandria waters, *Int J Environ Health Res*, 6, 289–300.
ABREU SN, PEREIREA E, VALE C and DUARTE ACr (2000), Accumulation of mercury in sea bass from a contaminated lagoon (Ria de Aveiro, Portugal) ، *Mar Poll Bull*, 40 (4), 293–7.
ALFASSI ZB (1994), *Determination of trace elements*, Weinheim, VCH.
BALCERAK M (1997), Analytical methods for the determination of platinum in biological and environmental materials, *Analyst*, 122, 67R–74R.
BARD AJ and ZOSKI CG (2000), Voltammetry retrospective, *Anal Chem* 62 ، 346A–352A.
BARGAGLI R, NELLI L, ANCORA S and FOCARDI S (1996), Elevated cadmium accumulation in marine organisms from Terra Nova Bay (Antarctica) ، *Polar Biol*, 16, 513–20.
BARGHIARNI G, PELLEGINI D, D'ULIVO A and DERANIERI S (1991), Mercury assessment and its relation to selenium levels in edible species of the Northern Tyrrhenian Sea, *Mar Poll Bull*, 22, 406–9.
BASSARI A (1994), A study on the trace element concentrations of Thunnus thynnus, Thunnus obesus and Katsuwonus pelamis by means of ICP-AES ، *Toxicol Environ Chem*, 44, 123–7.
BELFROID AC, PURPERHART M and ARIESE F (2000), Organotin levels in seafood, *Mar Poll Bull*, 40 (3), 226–32.
BETTY M and PAPOFF P (1988), Trace elements: Data and information in the characterisation of an aqueous ecosystem, *CRC Crit Rev Anal Chem* 19, 271–322.
BINATO G, BIANCOTTO G, PIRO R and ANGELETTI R (1998), Atomic absorption spectrometric screening and gas chromatograpHic-mass spectrometric determination of organotin compounds in marine mussels: an application in samples from the Venetian Lagoon, *Fresenius J Anal Chem, 361, 333-337.*
BLOOM NS (1992), On the chemical form of mercury in edible fish and marine invertebrate tissue, *Can J Fish Aquat Sci* 49, 1010–17.
BORTOLI A, GEROTTO M, MARCHIORI M, MUNTAU H and REHNERT A (1995), Critical comparison of methods for mercury determination in fish, *Mikrochim Acta*, 119, 305–310.
BRANICA M and KONRAD Z (1980), *Lead in the marine environment*, Oxford, Pergamon Press.
CAPPON CJ and SMITH JC (1981), Mercury and selenium content and chemical form in fish muscle, *Arch Environ Contam Toxicol* 10, 305–19.
CAPPON CJ (1994), Mercury and organomercurials, in: Kiceniuk JW and Ray S, *Analysis of contaminants in edible aquatic resources*, Weinheim, VCH, 175-205.

CARICCHIA AM, CHIAVARINI S, CREMISINI C, MORABITO R and UBALDI C (1993), Analytical methods for the determination of organotins in the marine environment, *Intern J Environ Anal Chem* 53, 37-52.
CARNRICK GR, SCHLEMMER G and SLAVIN W (1991), Matrix modifiers: their role and history for furnace AAS, *American Lab* 1991, 120–31.
CLAISSE D, COSSA D, BRETAUDEAU-SANJUAN J, TOUCHARD G and BOMBLED B(2001), Methylmercury in molluscs along the French coast, *Mar Poll Bull*, 42 (4), 329-332.
CLARKSON TW (1998), Human toxicology of mercury, *J Trace Elements Ex Med* 11, 303–317.
DE BOER J and SMEDES F (1997), Effect of storage conditions of biological materials on the contents of organochlorine compounds and mercury, *Mar Poll Bull*, 35 (1–6), 93–108.
DE CLERCK R, VYNCKE W, GUNS M and VAN HOEYWEGHEN P (1995) ، Concentrations of mercury, cadmium, copper, zinc and lead in sole from Belgian catches (1973–1991), *Med Fac Landbouww Univ Gent*, 60(1), 1–6.
DE GREGORI I, PINOCHET H, GRAS N and MUNOZ L (1996), Variability of cadmium, copper and zinc levels in molluscs and associated sediments from Chile ، *Environ Poll*, 92(3), 359–68.
DOBSON J (2000), Long term trends in trace metals in biota in the Forth estuaryScotland, 1981–1999, *Mar Poll Bull* 40 (12), 1214–1220.
EBDON L, PITTS L, CORNELIS R, CREWS H, DONARD OFX and QUEVAUVILLER P(2001), Trace element speciation for environment, food and health, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 391 pages.
EISLER R (1981), *Trace metal concentrations in marine organisms*, New York, Pergamon Press.
EVANS O and MCKEE GD (1987), Optimization of high-performance liquid chromatograpHic separations with reductive amperometric electrochemical detection: Speciation of inorganic and organic mercury, *Analyst* 112, 983–8.
EVANS SM (1999), Tributyltin pollution: the catastropHe that never happened, *Mar Poll Bull* 38 (8), 629–36.
FALCONER CR, DAVIES IM and TOPPING G (1986), Cadmium in edible crabs(*Cancer pagurus* L.) from Scottish coastal waters, *Sci Total Environ* 54 ، 73–183.
FENT K (1996), Ecotoxicology of organotin compounds, *Crit Rev Toxicol* 26 (1), 1–117.
FRANCESCONI KA, MOORE EJ and JOLL LM (1993), *Aust J Mar Freshwater Res* 44, 787–97.
FRAUSTRO DA SILVA JJR and WILLIAMS RJP (1993), *The biological chemistry o the elements The inorganic chemistry of life*, Oxford, Clarendon Press.
GOLDBERG ED (1986), TBT an environmental dilemma, *Environment*, 28 (8), 17–24.
GONZALEZ F, SILVA M, SCHALSCHA E and ALAY F (1998), Cadmium and lead in a tropHic marine chain, *Bull Environ Contam Toxicol*, 60, 112–8.

GUNS M, VAN HOEYWEGHEN P, VYNCKE W and HILLEWAERT H (1999), Trace metals in selected bentic invertebrates from Belgian coastal waters (1981–1996), *Mar Poll Bull*, 38 (12), 1184–93.
HARINO H, FUKUSHIMA M and KAWAI S (2000), Accumulation of butyltin and pHenyltin compounds in various fish species, *Arch Environ Contam Toxicol*, 39, 13–19.
HOPPSTOCK K (2001), Platinum group elements in the environment (in German), *Nachrichten Chemie*, 49, 1305–9.
ISHIZAKA T, NEMOTO S, SASAKI K, SUZUKI T and SAITO T (1989), Simultaneous determination of tri-n-butyltin, di-n-butyltin, and tripHenyltin compounds in marine products, *J Agric Food Chem* 37, 1523–7.
ISMAIL A, JUSOH NR and GHANI IA (1995), Trace metal concentrations in marine prawns off the Malaysian Coast, *Mar Poll Bull*, 31(1–3), 108–10.
JENKS PJ, RUCINSKI RD and JERZAK H (2001), Commercial approaches to the certification of reference materials for environmental analysis, *Spectroscopy Europe*, 13 (6), 10–20.
JOINS CR, ALI IB, HOLSBEEK L, BOSSICART M and TAPIA G (1995), Total and organic mercury in Barents Sea pelagic fish, *Bull Environ Contam Toxicol*, 55, 674–81.
JOINS CR, ALI IB, HOLSBEEK L, KANUYA-KINOTI M and TEKELE-MICHAEL Y (1997), , Total and organic mercury in Greenland and Barents Seas demersal fish, *Bull Environ Contam Toxicol*, 58, 101–7.
JOIRIS CR, HOLSBEEK L and KAROUSSI MOATEMRI L (1999), Total and methylmercury in sardines *Sardinella aurita* and *Sardina pilchardus* from Tunisia, *Mar Poll Bull*, 38 (3), 188–92.
JOIRIS CR, DAS HK and HOLSBEEK L (2000), Mercury accumulation and speciation in marine fish from Bangladesh, *Mar Poll Bull*, 40 (5), 454–7.
KALAY M, AY O¨ and CAHLI M (1999), Heavy metal concentrations in fish tissues from the northeast Mediterranean sea, *Bull Environ Contam Toxicol* 63, 673–81.
KANNAN KS, TANABE S, TATSUKAWA R and WILLIAMS RJ (1995), Butyltin residues in fish from Australia, Papua New Guinea and the Solomon Islands, *Int Environ Anal Chem*, 61, 263–73.
KAWAGUCHI T, PORTER D, BUSHEK D and JONES B (1999), Mercury in the American oyster *Crassostrea virginica* in South Carolina, USA, and public health concerns, *Mar Poll Bull*, 38 (4), 324–7.
KICENIUK JW and RAY S (1994), *Analysis of contaminants in edible aquati resources*, Weinheim, VCH.
KLAASEN CD, LIU J and CHOUDHURI S (1999), Metallothionein: An intracellular protein to protect against cadmium toxicity, *A. Rev Toxicol* 39, 267–94.
KRU¨ GER KE and KRUSE R (1984), Der Quecksilbergehalt in Thunfischkonserven aus Su¨deuropa, Afrika und Asien, *Arch Lebensm Hyg* 35, 55–8. KRUSE R (2001), unpublished results.
LAMBLE KJ and HILL SJ (1998), Microwave digestion procedures for environmental matrices, *Analyst* 123, 103R–133R.
LINDER MC and HAZEGH-AZAM M (1996), Copper biochemistry and molecular biology, *Am J Clin Nutr*, 63, 797S–811S.

LOBINSKI R and ADAMS FC (1994), Lead and organolead compounds, in: Kiceniuk JW and Ray S, *Analysis of contaminants in edible aquatic resources*, Weinheim, VCH, 115–56.
MASON RP, LAPORTE J-M and ANDRES S (2000), Factors controlling the bioaccumulation of mercury, methylmercury, arsenic, selenium, and cadmium by freshwater invertebrates and fish, *Arch Environ Contam Toxicol* 38, 283–97.
NEIDHART B and WEGSCHNEIDER W (2002), *Quality in chemical measurements – Training concepts and teaching materials*, Ijmuiden, Springer for Science.
ODZAK N, MARTINCIC D, ZVONARIC T and BRANICA M (1994), Bioaccumulation rate of Cd and Pb in *Mytilus galloprovincialis* foot and gills, *Mar Chem*, 46, 119–31.
OEHLENSCHLA¨ GER J (1991), Schwermetallgehalte in den Tuben (verzehrbarer Anteil) und Eingeweiden von Tintenfischen (CepHalopoden), *FIMA SchrReihe* Band 21, 105–15.
OEHLENSCHLA¨ GER J (1994), Experience with differential pulse scanning anodic voltammetry (DPSAV) in trace metal analysis in biological matrices, *Baltic Sea Environ Proc*. 58, 92–6.
OEHLENSCHLA¨ GER J (1997), Marine fish – a source for essential elements? In: Luten JB, Bo¨rresen, T and Oehlenschla¨ger J (eds.), *Seafood from producer to consumer, Integrated approach to quality*, Amsterdam, Elsevier Science BV, 641–52.
OEHLENSCHLA¨ GER J and PRIEBE K (1989), Quecksilber- und Selengehalte in Weißem Heilbutt *(Hippoglossus hippoglossus*) aus verschiedenen Fanggebieten des Nordatlantiks, *Lebensmittelchem Gerichtl Chem*, 43, 13–15.
PHILLIPS DJH (1995), The chemistries and environmental fates of trace metals and organochlorines in aquatic ecosystems, *Mar Poll Bull* 31 (4–12), 193– 200.
PRUDENTE M, KIM E-Y, TANABE S and TATSUKAWA R (1997), Metal levels in some commercial fish species from Manila Bay, the PHilippines, *Mar Poll Bull*, 34 (8), 671–4.
QUEVAUVILLER P (1995), Certified reference materials for specific chemical forms of elements, *Analyst*, 120, 597–602.
RAINBOW PS (1985), Accumulation of Zn, Cu and Cd by crabs and barnacles ، *Estuarine Coastal Shelf Sci*, 21, 669–86.
RAINBOW PS (1997), Trace metal accumulation in marine invertebrates: marine biology or marine chemistry?, *J Mar Biol Ass U.K.* 77, 195–210.
RANAU R, OEHLENSCHLA¨ GER J and STEINHART H (1999), Determination of aluminium in the edible part of fish by GFAAS after sample pretreatment with microwave activated oxygen plasma, *Fresenius J Anal Chem* 364, 599–604.
RANAU R, OEHLENSCHLA¨ GER J and STEINHART H (2000), Aluminiumgehalte im verzehrbaren Anteil von Fischdauerkonserven wa¨hrend Langzeitlagerung bei Raumtemperatur, *Arch Lebenm Hyg* 51, 142–50.
RANAU R, OEHLENSCHLA¨ GER J and STEINHART H (2001a), Aluminium content in edible part of seafood, *Eur Food Res Technol* 212, 431–8.
RANAU R, OEHLENSCHLA¨ GER J and STEINHART H (2001b), Aluminium levels of fish fillets baked and grilled in aluminium foil, *Food Chem* 73, 1–6.

RATKOWSKI DA, THROWER SJ, EUSTACE IJ and OLLEY J (1974), A numerical study of the concentration of some heavy metals in Tasmanian oysters, *J Fis Res Bd Can* 31 (7), 1165–71.
RAY S (1994), Cadmium, in: Kiceniuk JW and Ray S, *Analysis of contaminant in edible aquatic resources*, Weinheim, VCH, 91–113.
ROMEO M, SIDOUMOU Z and GNASSIA-BARELLI M (2000), Heavy metals in various molluscs from the Mauritanian coast, *Bull Environ Contamin Toxicol*, 65, 269–76.
RUANGWISES N and RUANGWISES S (1998), Heavy metals in green mussels(*Perna viridis*) from the Gulf of Thailand, *J Food Prot*, 61, 94–7.
SCHULZ-SCHROEDER G and SCHERING B (1995), Cadmiumbelastung von Tintenfischerzeugnissen, *Arch Lebensm Hyg*, 46, 40–3.
SHRIVASTRAN AK and TANDON S G (1982), The determination of mercury: A mini-review, *Toxicol Environm Chem*, 5, 311–29.
SOLBERG T, BECHER G, BERG V and ERIKSEN GS (1997), *Kartlegging av miljoegifter i fisk og skalldyr fra nord-omraadene*, SNT-rapport 4, Oslo, Statens naeringsmiddeltilsyn.
STOCK A and CUCUEL F (1934), Die Verbreitung des Quecksilbers ،
Naturwissenschaften 22, 390–3.
STOEPPLER M (1994), *Probenahme und Aufschluss – Basis der Spurenanalytik*, Berlin, Springer-Verlag.
STURGEON RE and SIU KWM (1994), Tin and organotin, in: Kiceniuk JW and Ray S, *Analysis of contaminants in edible aquatic resources*, Weinheim, VCH, 225–55.
SZPUNAR J (2000), Bio-inorganic speciation by hypHenated techniques, *Analys*125, 963–88
TAKAHASHI S, TANABE, S and KUBODERA T (1997), Butyltin residues in deep-sea organisms collected from Saruga Bay, Japan, *Environ Sci Technol* 31, 3103–9.
WELZ B and SPERLING M (1997), *Atomabsorptionsspektrometrie*, Weinheim, Wiley-VCH.
WHITE Sl and RAINBOW PS (1985), On the metabolic requirements for copper and zinc in molluscs and crustaceans, *Mar Environ Res*, 16, 215–29.
WONG CK, WONG PPK and CHU LM (2001), Heavy metal concentrations in marine fishes collected from fish culture sites in Hong Kong, *Arch Environ Contam Toxicol* 40, 60–9.
ZUMAN P (2000), Current status of polarograpHy and voltammetry in analytical chemistry, *Anal Lett* 33 (2), 163–74.

« **فصل هشتم**»

انگل‌های ماهی و قابلیت بیماریزایی آنها برای انسان : همه‌گیری، تشخیص و حذف

۸-۱- مقدمه

دانش و منابع مربوط به انگل‌های بیماریزای ماهی برای انسان در حال رشد هستند و بسیار مهم و حیاتی می‌باشند. در اینجا دامنه وسیع انگل‌های ماهی توضیح داده می‌شوند. این انگلها می‌توانند به انسانها منتقل شوند و بنابراین باعث بروز نگرانی در سطح جهانی برای سلامتی غذا و کیفیت آن می‌باشند. بیش از ۵۰ گونه انگل‌های (Helminth) کرمی‌به‌عنوان انگل‌های قابل انتقال به انسان از طریق تغذیه از ماهی، خرچنگ، حلزون و دوکفه‌ای پخته نشده شناسایی شده‌اند (Deardroff,1991). این کرمها شامل نماتودها، ترماتودها، سستودها و آکانتوسفال‌ها[1] می‌باشند. در سال ۱۹۹۵ سازمان WHO (سازمان بهداشت جهانی) برآورد کرده است که ۷۵۰ میلیون نفر در معرض خطر انگل ترماتود ناشی از ماهی و بی‌مهره‌گان می‌باشند. برای مثال، نماتود آنیزاکید[2]، سالانه موجب هزاران مورد بیماری در انسان در ژاپن و آمریکا می‌شود. (Todd,1989 ; Williams&Jones,; Ishikora & Kikuchi,1940) دریک سری بررسی توسط ایشیکورا و همکارانش در سال ۱۹۹۲ گزارش کردند که افراد آلوده به انگل آنیزاکیس در ژاپن بدین ترتیب بودند: ۱۱۶۲۹ مورد آنیزاکیس معده‌ای، ۵۶۷ مورد آنیزاکیس روده‌ای و ۴۵ مورد آنیزاکیس معده‌ای ـ روده‌ای و ۳۵۵ بیمار مبتلا به Gastric Pseudo-Terranoviasis. در سال (۱۹۹۸) ایشیکورا و همکارانش گزارش کردند که تعداد کل افراد مبتلا گزارش شده در دنیا ۳۳۷۴۷ مورد است. همچنین بیش از ۵۰۰ مورد بیماری ناشی از آنیزاکیس از دیگر کشورها نیز گزارش شده است.

---

[1] - Acanthocepalans
[2] - Anisakid Nematodes

تمرکز این فصل روی تشخیص و کاهش خطر بیماریزای ماهی برای انسان است. اگر چه تعداد گونه‌های انگلی که می‌توانند تولید بیماری کنند زیاد است، اما بیشتر آنها غیرمعمول و کمیاب هستند و به مناطق خاصی محدود می‌شوند و از همه مهمتر روش زدودن آنها همان روش‌های آلودگی‌زدایی است که برای دیگر عوامل بیماریزا توسط ماهی و فرآورده‌های آن به کار گرفته می‌شود. بنابراین در اینجا فقط مهمترین گونه‌های بیماری‌زا در این بخش توضیح داده خواهند شد. طبق معمول برای جلوگیری از انتقال انگل بیشتر تأکید روی روش‌هایی است که می‌تواند در طی صید، فرآوری و همچنین بعد از فرآوری (به وسیله مصرف کننده) جهت کاهش خطر آلودگی بکار گرفته شوند. بنابراین چرخه‌های زندگی، همه‌گیرشناسی و پراکندگی این انگل‌های عمده به‌طور خلاصه توضیح داده می‌شوند. درمقابل خواننده به چند مرجع عالی در این زمینه بشرح ذیل ارجاع می گردد (Williams & Jones,1994 ; Ko,1995 ; Kumar,1999 ; Anderson & Cross,2000)

در این فصل برنامه‌های مهم و کاربردی‌ای جدید (۳-۸) را که برای کاهش خطر آلودگی به این انگل‌ها، که شامل عملیات تولید مناسب (GMP_s)[1] و نظام حصپ (HACCP) را بصورت کامل شرح داد می شود. این راهکارها، روش‌های تشخیص و روش‌های فرآوری را جهت دستیابی به آلودگی‌زدایی مناسب را ارائه می‌دهند. در آخر، بحثی در قسمت گرایش‌های آینده ارائه می‌شود که در این بخش تمرکز شده روی شناسایی عواملی که می تواند خطر آلودگی را بعلت مصرف ماهی در انسان را تشدید کند، متمرکز شده است.

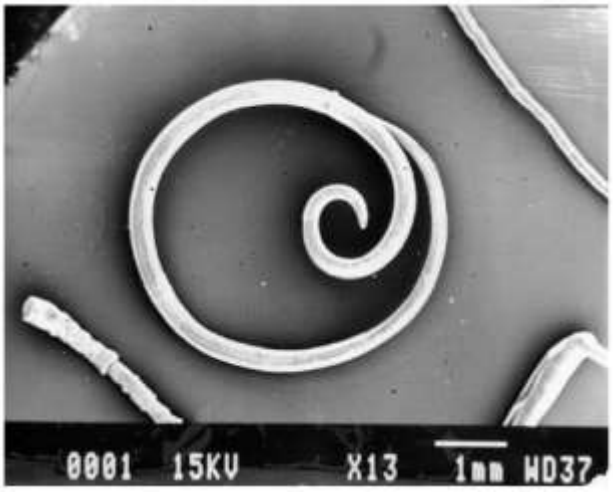
۲-۸- انگل‌های ماهیان دریائی

۱-۲-۸- نماتودها (کرم‌های گرد)

نماتودها کرمهای طویل، استوانه‌ای و بدون بند می‌باشند که در یک کوتیکول[2] قرار می‌گیرند (شکل۱-۸). آنها از نظر جنسی دو شکل[3] دارند و دارای چند میزبان می‌باشند. هر مرحله از چرخه زندگی‌شان همراه با یک پوست‌اندازی است (مجموعاً ۴ تا). این گروه از کرمها تعدادشان فراوان و در ماهیان زیاد یافت می‌شوند. مهمترین نماتود ماهیان دریائی که موجب بیماری در انسان می‌شود از خانواده Anisakidae می‌باشند که شامل چند جنس مثل Anisakis، Contraceacum و Pseudoterranova هستند که گونه A.simplex (شکل۱-۸) مهمترین عامل بیماریزا در انسان است اگر چه P.decipiens نیز اغلب گزارش شدکه موجب بروز بیماری شده است. بیش از ۹۵٪ از موارد

[1] -Good manufacturing practicesg
[2] - Cuticle
[3] - Dimorphic

آلودگی بصورت بیماری معده‌ای حاد هستند که باعث درد شدید در قسمت‌های بالای معده می‌شوند. درد بالای معده، در زمان کوتاهی بعد از خوردن ماهی حامل لارو، انگل گونه A.Simplex شروع می‌شود (McCarthy & Morre,2000)



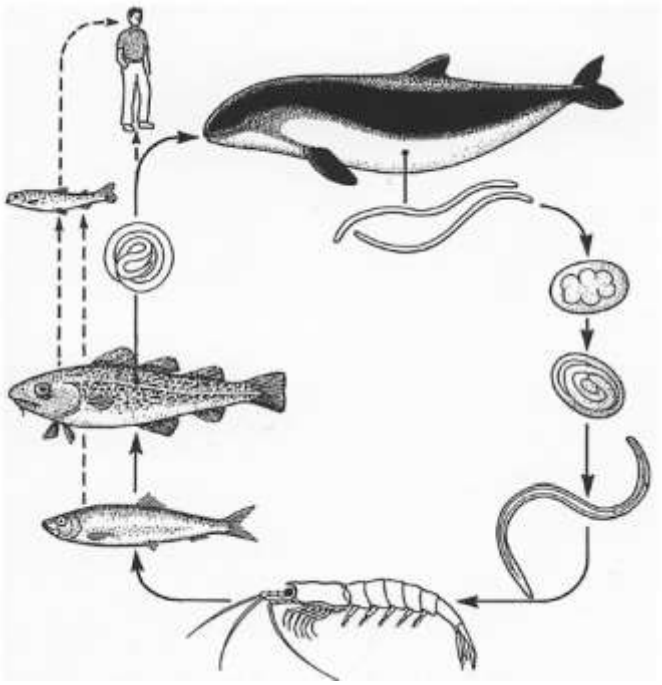
شکل ۱-۸ : مرحله سوم لاروی گونه *Anisakias spp.* استخراج شده از ماهیچه ماهی.

چرخه زندگی[1]

چرخه زندگی A.simplex پیچیده است (شکل۲-۸). کرمهای بالغ در معده پستاندارن دریائی میزبان واسطه که عمدتاً وال‌ها، دلفین‌ها، گاوهای دریائی و لاک‌پشت‌ها هستند باقی می‌مانند. تخم‌های تولید شده توسط کرمهای ماده وارد مدفوع میزبان می‌شود و از طریق مدفوع وارد آب اقیانوس می‌گردند. بعد از مرحله تکامل تخم‌ها، لاروها وارد بدن بی‌مهره‌گان کوچک دریائی (مثل سخت‌پوستان خانواده Euphausidae) شده و تا مرحله سوم لاروی رشد می‌کنند. وقتی که این سخت‌پوستان توسط ماهی یا اسکوئید خورده می‌شوند[2] (مهمان)، لاروها آزاد شده و به خارج از لوله گوارش مهمان مهاجرت کرده و وارد ماهیچه، امعاء و احشا و صفاق می‌شوند. اگر ماهی یا اسکوئید آلوده به وسیله پستانداران دریائی خورده شود، لاروها آزاد شده و در معده میزبان نهائی قرار می‌گیرند. این لاروها بخش جلوئی بدنشان را در موکوس معده میزبان نهائی مخفی میکنند.

1 - Life cyele
2 - Paratenic Host

P.decipiens معروف به کرم ماهی کاد و یا فوک است این انگل موضوع تحقیقات زیادی بوده است چرا که میزبان واسط آن ماهیانی مثل ماهی کادآتلانتیک هستند که از نظر اقتصادی و تجاری بسیار مهم هستند (Anderson,2000). اگر چه، چرخه زندگی این انگل مشابه *A.simplex* است، ولی میزبان مشخص و نهایی آن معمولاً (Pinnipedia) (فک‌ها، شیر دریائی و گراز دریائی) و سخت‌پوستان دریایی اولین میزبان واسط آن مثل پاروپایان[1] هستند.



شکل ۲-۸: چرخه انگل *Anisakis spp.*
Buchmann etal., (2001). Parasitic Diseases of Frashwaten Trout, DSR Publisher, copenhagen

همه‌گیرشناسی[2]

گونه‌های ماهی‌هایی که می‌توانند (مرحله سوم) لاروی انگل آنیزاکیس را در عضله‌شان پذیرا باشند بسیار زیاد هستند (Williams & Jones,1994). میزبانهای عمده ماهی برای انگل A.simplex شامل شگ ماهیان (Clupea

[1] - Copepod
[2] - Epidemiology

harengus)، کاد (Gadus spp.)، ماکرل (Scomber spp.)، آزاد ماهیان (Oncorhynchus spp.) و اسکوئید (Todarodes spp.) هستند. میزبانهای انگل P.decipiens شامل کاد، هالیبوت (Hippoglossus hippoglossus) ماهی پهن (خانواده Pleuronectidae) و یا باس قرمز اقیانوس آرام (Sebastes spp.) هستند برای اطلاعات بیشتر راجع به میزبان انگل ها به (Ko,1995) مراجعه کنید. لاروهای A.Simplex و P.Decipiens زمانی باعث آلودگی انسان می‌شوند که ماهی را بصورت خام یا نیمه پخته، یا درست عمل آوری نشده بصورت شور، ماریناد و کم دود داده شده مصرف گردد. منشاء عمده آلودگی شامل مصرف فرآورده‌های سنتی ماهی، مثل شگ ماهی خام، آزادماهی بصورت لومی لومی لومی‌لومی[1] (آزادماهی که به صورت خام یا ماریناد استفاده می-شود)، سوشی (sushi) ساشیمی(sashimi)، ایسوشی (Isushi)، سانومونو (sunomono) و سویک (ceviche) که عمدتاً به صورت خام و بدون پخت کافی مصرف می‌شوند هستند (Adams *et al.*,1997).

بیماری ناشی از آنیزاکیس[2] اولین بار در دهه ۶۰ در هلند تشخیص داده شد (Van Thiel *et al.*,1960) جائیکه مردم به مقدار زیاد از شگ ماهی خام یا به‌طور کمی‌ماریناد شده را مصرف می‌نماید. این بیماری در ابتدا به ماهی‌های سرد شده یا یخ گذاری شده نسبت داده شد. این ماهی‌ها که از اقیانوس صید و سپس روی کشتی ماهیگیری سرد می شوند و به مدت چند روز قبل از رسیدن به ساحل به حالت سرد و یا در یخ نگهداری میشوند قبل ازاستفاده از سرد کردن با استفاده از سردخانه و یا یخ ، قایق‌ها به مدت طولانی نمی‌توانستند در دریا بمانند و تخلیه شکمی‌با حداکثر سرعت ممکن بعد از صید یا در قایق یا در ساحل انجام می‌گردیده، استفاده از امکانات سردسازی این امکان را بوجود آورد، که اگر زمان سردسازی طولانی می‌گردید لاروهای آنیزاکیس می‌توانستند به خارج از امعا و احشا ماهی مهاجرت کرده و وارد ماهیچه‌های آن شوند. در این وضع در ساحل و یا بازار، اگر چه ماهی تخلیه شکمی می گردید ولی لاروها قبلاً به ماهیچه‌ها آن وارد شده بودند. بنابراین، نمک سود کردن یا دودی کردن ماهی برای از بین بردن انگل‌هایی که قبلاً به درون ماهیچه‌ها مهاجرت کرده بودند کافی نبود (Adamg *et al.*,1997).

در آسیا، ماهیان دریائی معمولاً در زمان کوتاهی پس از صید تخلیه شکمی‌می‌شوند و سرد یا یخ‌گذاری نمی‌شوند و در عرض چند ساعت به بازار می‌رسند. این موضوع احتمالاً علت کمتر شیوع آلودگی انگلی ناشی از مصرف ماهی در کشورهای آسیائی به غیر از ژاپن است. نکته دیگر اینکه مردم کشورهای آسیائی به تعداد کمتر ماهیان

---

[1] - Lomi Lomi Salmon
[2] -Anisakiasis

دریائی را بصورت خام همانند ژاپنی‌ها مصرف می‌کنند. بهرحال اما تعداد ۱۰۷ مورد بیماری ناشی از انگل آنیزاکیس در کره بین سال‌های ۱۹۸۹ و ۱۹۹۲ گزارش شد (Im *et al.*,1995). در اروپا موارد جدید ابتلا به این انگل مخصوصاً در مناطقی که قبلاً از آنها گزارش نشده بود مثل جنوب ایتالیا گزارش گردیده است (Maggi *et al.*,2000)

آسیب‌شناسی

در انسان، لاروهای A.*simplex* وارد موکوس روده یا معده می‌شوند و باعث ایجاد آبسه یا دانه‌های ائوزینوفیلی[1] می‌شوند (Ishikura *et al.*,1992). کرمها ممکن است وارد حفره صفاق و یا دیگراندامهای بدن شوند. بعضی از کرمها ممکن است به بافت‌ها حمله نکنند و به جای آن ممکن است از راه مدفوع و یا استفراغ از بدن خارج شوند. لاروهای P.*decipiens* ممکن است به بافت حمله کنند، اما به ندرت برای قرار گرفتن در دیواره مری تلاش می‌کنند. بهر صورت لاروهای ممکن است باعث سندرم خارش در گلو شوند که در این حالت، احساس خارش در گلو به بیمار دست داده و ممکن است بیمار با سرفه‌های متوالی لاروها را به بیرون پرتاب کند.

علائم بروز بیماری ناشی از آنیزاکیس شبیه زخم معده‌ای ـ درد حاد شکمی است. این انگل از طریق نمونه‌برداری از بافت معده یا روده تشخیص داده می‌شود. آزمایش‌های سرولوژیکی برای تشخیص اطمینان بخش و مؤثر نخواهند بود. درمان اصلی این آلودگی از طریق برداشتن انگل با جراحی یا با استفاده از پنس از طریق‌اندوسکوپی با چشم انجام می‌شود. پیشرفت سیر بهبودی بیماری زمانی که انگل برداشته شده است سریع می‌باشد.

۳-۸- انگل‌های ماهیان آب شیرین: نماتودها

۱-۳-۸- بیماری *Gnathostomiasis*

عامل بیماری‌های عفونی با نماتودها جنس Gnathostoma ها هستند. این بیماری اخیراً خیلی گزارش شده است. چند گونه از این انگل از طریق لاروهایی که در ماهیچه ماهیان آب شیرین قرار دارند به انسان منتقل می‌شوند ، مهمترین گونه‌های آن شامل G.*spinigerum* , G.*binucleatum* , G.*hispidum* و G.*doloresi* می‌باشند. میزبان نهایی این انگل‌ها معمولاً پستانداران گوشتخوار که شامل گربه، سگ و خوک هستند (Miyazaki,1996). کرم بالغ ،کوتاه و درشت است و دارای سری مجهز به ۹ ـ ۷ ردیف قلاب مورب

[1] -Eosinophilic granuloma

است. خارها به سمت پائین بدن گسترش یافته‌اند. این ساختار باعث می‌شود تا لارو در مرحله سوم لاروی در هنگام مهاجرت به بدن میزبان خسارت‌های زیادی به‌اندامها و بافت میزبان وارد سازد.

چرخه زندگی

چرخه زندگی این انگل کاملاً پیچیده است و ممکن است دارای چندین میزبان واسط باشد (Cross, ۲۰۰۱) کرمهای بالغ در دیوارهٔ معده میزبان نهایی (سگ، گربه و خوک) قرار می‌گیرند. تخم‌های تولید شده از روده وارد مدفوع می‌شوند. اولین مرحله لاروی خارج شدن از تخم می‌باشد در این مرحله لاروها به وسیله پاروپایان (Copepod) آب شیرین از جنس Cyclops خورده می‌شوند و سپس در درون بدن سیکلوپس وارد مرحله دوم لاروی می‌شوند. وقتی که میزبان اول به وسیله میزبان دوم خورده می‌شود (ماهی، پرنده، دوزیست، خزنده و پستاندار) انگل وارد بافت شده و بدین ترتیب وارد مرحله سوم لاروی می‌شود. وقتی که میزبان دوم توسط میزبان نهایی خورده می‌شود (در بدن میزبان نهایی شروع به تولید مثل می‌کند) شروع به یک مهاجرت پیچیده می‌کند. انگل از بافت میزبان بصورت آزاد پس از خورده شدن خارج شده و به درون دیواره معده نفوذ می‌کند. سپس به کبد و دیگراندامها مهاجرت کرده تا اینکه سرانجام به حفره صفاق برمی‌گردد. سپس به درون دیواره معده نفوذ می‌کند و تشکیل توده‌های شبیه تومور می‌دهد. کرمها بعد از ۶ ماه به بلوغ جنسی می‌رسند و تولید تخم می‌کنند. لاروها در بدن انسان به بلوغ نمی‌رسند چون انسان میزبان نهایی آن‌ها نیست.

همه‌گیر ی[1]

اگر چه آمار در زمینه گسترش و پراکندگی این انگل زیاد نیست ولی این انگل بیماریزا در انسان تقریباً در کل کشورهای جنوب شرق آسیا وجود دارد، مخصوصاً جایی که تغذیه توسط انسان از میزبانهای واسط این انگل‌ها (ماهی، قورباغه، مار، طیور و غیره) و بصورت خام یا خوب پخته مثل (ژاپن، تایلند و چین) معمول است (Nawa,1991). آلودگی به این انگل در همه گروههای سنی و همه جنس‌ها رخ می‌دهد. در ژاپن،تعداد شیوع آن در سال افزایش یافته است. یک مورد شیوع، در اثر ورود ماهی لوچ از چین بوده است (Akahane, *et al.*,1982) شاید، بیشترین منطقه افزایش شیوع این نوع بیماری انگلی در بین کشورهای آمریکای لاتین، آرژانتین، پرو، اکوادور و مکزیک می باشد در کشور مکزیک بیماری gnathostomiasis (بیماری ناشی از مصرف انگل جنس Gnithostomous) یک عامل اصلی تهدید کننده سلامتی به شمار میرود. (Akahane,

[1] -Epidemiology

McCarthy & Moore (et al.,2000). در سال ۲۰۰۰ گزارش نمودند که افزایش شدید و مستمر این بیماری که در شهرهای مکزیک، در امتداد رودخانه papaloan در خلیج مکزیک رخ داده در ارتباط با ساخت سد Presidente Migoel Aleman می باشد که در این سد در سال ۱۹۶۴ ماهی تیلاپیای آلوده به این انگل رهاسازی شده و مورد مصرف مردم قرار گرفته است. این بیماری همزمان شده با معروفیت و مصرف فرآورده‌های ماهی خام به شکل ceviche تیز بوده است. از اولین مورد گزارش بیماری در سال ۱۹۷۰ تا بحال بسیاری از مواردی این بیماری که تا اکنون گزارش شده‌اند.محل این بیماری عمدتاً در ۶ منطقه ساحلی هم‌مرز با اقیانوس آرام یا خلیج مکزیک می باشند. در شهر سینالوا (در ساحل شمال اقیانوس آرام در مکزیکو) از سال ۱۹۸۹ تا بحال بیش از ۷۰۰ مورد بیماری gnathostomiasis گزارش شده است (Diaz-Camacho,2000). بیشتر موارد مشاهده شده در مکزیکو بنظر می رسد که ناشی از G.binucleatum می‌باشد. اخیراً، چند مورد از این بیماری از مسافرانی که از تانزانیا برگشت بودند گزارش شده است. (McCarthy & Moore,2000)

آسیب‌شناسی

در انسان بعد از تغذیه از میزبان واسط دوم، لاروها از طریق بافت‌ها مهاجرت کرده و وارد هر عضوی می‌شوند. ممکن است لاروها وارد Subcutaneous tissue گردند و باعث Larval migrans ، تولید زخم بستر مهاجرت آنان گردد. در نتیجهٔ آن زخم‌هایی در امتداد مسیر مهاجرت کرم ایجاد می‌شود که موجب تورم، نکروزیس و خونریزی می‌شوند. بعلت تولید مواد سمی، بر اثر واکنش‌های ایمنولوژیکی بدن و صدمه مکانیکی توسط انگل باعث واکنش‌های آماسی، دانه‌های ائوزینوفیلی، ورم، درد و خیز می‌شود. این واکنش‌ها موقتی هستند و در عرض چند روز محو می‌شوند اما ممکن است پس از مدتی در مکانی جدید دیگر در بدن ایجاد شوند. انگل می‌تواند وارد چشم شده و موجب خیز در حاشیه چشم، خونریزی و صدمه به شبکیه چشم شود. حمله انگل به سیستم عصبی مرکزی(CNS) منجر به آنسفالیت و میلیتیز (Myelitis)، رولولینیس (Radiculitis) و خونریزی بخش‌های مرتبط با عصب می‌گردد (Chitanandh & Rosen,1967). همچنین ممکن است بیماری هماتوما (Intracerebral hematoma) و گرفتگی ناشی از هیدروسفالوس Hydrocephalos و نارسائی‌هایی مخچه‌ای تیتر گزارش شده است .

۴-۸- انگل‌های ماهیان آب شیرین: سستودها

سستودها کرمهای پهن بندبندی (کرم نواری) هستند که هرمافرودیت‌اند که به وسیله سرشان مشخص می شوند, scolex یا سر انگل‌ها با سر به سلولهای پوششی روده میزبان می‌چسبند، که به این ترتیب شناسائی می‌شوند. بدنی شبیه به نوار (strobila) دارند و از بخش‌هایی شامل‌اندام‌های تولیدمثلی و تخم تشکیل شده است. آنها به‌طور کلی دارای چرخهٔ زندگی چندمیزبانه هستند (شکل ۳-۸).

شکل ۳-۸: چرخه زندگی *Diphyllobothrium latum*

Buchmann etal., 2001. Parasitic Diseases of Freshwater Trout, DSR. Poblisher, Copenhagen

۱-۴-۸- دیفیلوبوتریوم[1]

از میان انگل‌های سستودی ماهی، تنها گونه‌های بیماریزای مهم آن برای انسان به جنس Diphyllobothrium تعلق دارند که اغلب از گونه‌های ماهی در آب شیرین منتقل می‌شود، اگر چه ماهیان دریائی نیز می‌توانند باعث انتقال آن‌ها شوند ولی خیلی نادر است. این انگل بیماریزا گسترش زیادی در مناطق معتدله و نیمه سرد نیمکرهٔ شمالی دارد، اگر چه بعضی از گونه‌های آن در آمریکای جنوبی، آسیا و آفریقا وجود دارند. در جهان حداقل ۱۳ گونه از جنس Diphyllobothorium وجود دارند که پتانسیل آلوده کردن انسان را دارند ، مهمترین آنها مهمترین گونهٔ D.latum است که در نیمکرهٔ شمالی وجود دارد، گونه بعد D.dendriticum در (مناطق نیمه سرد)،سپس گونه D.nihonkaiense در ژاپن و بالاخره گونه D.pacificum در شیلی و پرو وجود دارند.

چرخه زندگی

سستودها (Fish tapeworms) جز بزرگترین انگل‌های کرمی‌در انسان هستند. آنها در رودهٔ کوچک وجود دارند و دارای ۲ تا ۱۵ متر طول و پهنای ۲۰ میلی‌متر هستند. سر یا scolex دارای ۲ میلی‌متر طول است و دارای شیار مکندهٔ (or bothrium) شکمی‌پشتی است ، که بوسیله آن خود را به دیواره روده متصل نگه می‌دارد. بقیه بدن بندبند است که از گردن شروع شده و به سمت انتهای بدن پیش می‌رود و هر بخش به نام proglottid است که هر چه به سمت انتهای بدن یا بندهای انتهایی پیش می‌رویم بندها از نظر جنسی رسیده‌تر هستند و به ترتیب ازنظر رسیدگی از گردن به پایین عبارتند: نابالغ، بالغ (از نظر جنس) و بند پر از تخم (Gravid) بدن یک انگل می‌تواند 3000 proglottids (یا بند پر ازتخم) داشته باشد.

چرخه زندگی (شکل ۳-۸) *Diphyllobothrium* پیچیده است (Rausch, *et al.*,1998) و به سه میزبان برای تکمیل شدن چرخه‌اش زندگی نیاز دارد. اما،بهرحال می‌تواند میزبانهای بیشتری هم داشته باشد. بعد از بازشدن تخم‌ها در آب، جنین متحرک (coracidium) توسط سخت‌پوستان کوچک مثل (copepod) (پاروپایان) خورده می‌شود که در این زمان مرحله اول لاروی شروع می‌شود (procercoid). وقتی که پاروپای حاوی پروسرکوئیدprocercoid توسط میزبان دوم مثل ماهی خورده می‌شود لارو وارد مرحله plerocercoid

[1] - Diphyllobothrium

شده که برای میزبان نهایی عفونی است. محل قرار گیری پلروسرکوئید(procercoid)در بدن میزبان واسط دوم با توجه به گونه این انگل و تا حدی بسته به گونه ماهی متفاوت است.

بعد از اینکه میزبان نهائی (پستانداران) پلروسرکوتیدرا خوردند، کرم بالغ در روده آنان به سرعت رشد می‌نماید. تعداد میزبانان نهائی ویژه برای این ستود فراوان می‌باشند، بطوری که تعداد زیادی از پستانداران که از ماهی تغذیه می‌کنند می‌توانند میزبان نهائی این انگل باشند. اگرچه بنظر می رسد انسان میزبان اولیه برای D.Latum می‌باشد. مهمترین و مشخص‌ترین میزبان برای این انگل، سگ، مینگ، گربه، خوک، خرس، فوک و شیر دریائی نیز می‌باشند.

همه‌گیری[1]

دستیابی به آمارهای قابل اتکا در گسترش و شیوع دیفیلوبوتریوم[2] مشکل است. در بیشتر مناطق، شیوع این بیماری در چند دهه اخیر کاهش یافته است اما، در حوزه ولگا در روسیه شیوع آن هنوز بالاست (Cross,2001). بین سال‌های ۱۹۷۷ تا ۱۹۸۱، مراکز کنترل بیماری آمریکا[3] ۲۰۰ ـ ۱۲۵ مورد در هر سال گزارش کردند، اگر چه تعداد واقعی این آلودگی بنظر میرسد که خیلی بیشتر از این تعداد باشد (Deardroft & Kent,1989). در مناطق ساحلی اقیانوس آرام در ایالتهای آمریکا، فقط ۵۲ مورد بیماری در یک سال گزارش شده است, آزادماهیان (Oncor=hynchus) عامل اصلی حدود ۸۲٪ از این آلودگی بودند (William & Jones,1994). در کانادا، تقریباً ۲۵ مورد آلودگی در سال ثبت می‌شود که بعضی از آنها ناشی از ماهیان دریائی هستند. پلروسرکوئیدها (Plerocercoids) معمولاً در اردک ماهی (Pike)، قزل‌آلا، سوف و ماهی سفید Ruffusugmctroot یافت می‌شوند (Rausch, *et al.*,1998) و تا ۷۰ درصد اردک ماهی‌ها شمالی (Wall eye pir) ممکن است آلوده به این انگل باشند (Bogitsch & Cheng,1990).

در ژاپن، به نظر می‌رسد که شیوع آن از سال ۱۹۷۰ در حال افزایش می‌باشد و امروزه سالانه ۱۰۰ مورد بیماری گزارش می‌شود (Oshima,1984). در شوروی سابق گزارش شده که ۱۲/۴٪ ازجمعیت منطقه Khatangskii بوسیله‌گونه‌های D.latum و D.dendriticum آلوده میباشند (Klebanovski *et al.*, 1996). Romanenko در سال (۱۹۸۶) گزارش کرد که شیوع ۶/۳٪ از این آلودگی در مردمی‌که در نزدیک

[1] - Epidemiology
[2] - Diphyllobothriasis
[3] -Us Centers for Diseas Control

مخزن Krasnoyarsk زندگی می‌کردند دیده شده. طبق اطلاعات گزارش شده از طرف Williams و Jones (۱۹۹۴)، مهمترین ماهی‌هایی که این انگل را به انسان منتقل مـی‌کننـد در منطقـه Eutalia عبارتنـد از: اردک مـاهی (Esox lucius)، بـاربوت (Lota lota)، سـوف (Perca fluviatilis) و سـوف کوچـک رودخانـه‌ای (Acerina cernua).

در آمریکـای شـمالی: اردک مـاهی شـمالی (E.lucicus)، اردک مـاهی چشـم دیـواری (Stizostedium vitreum) و اردک مـــــاهی شـــــنی (S.canadense)، بوربـــــوت (L.macaulosa) ; و ســـــوف زرد (P.flavescens). همچنین گونه‌های مختلف آزادماهیان (*Onchorhynchus*) در امتداد سواحل اقیانوس آرام باعث انتقال این انگل می‌باشند.

ژاپن: *Onchorhynchus masu;* O.*gorbuscha*; O.*keta*;O.masu and O.*nerka*.

شیلی و پـرو: *Sciaena callaensis ، Cynoscion analis ،Merluccius gayi Peranus*; and *Genypterus maculatus .*

عامل مهم انتقال این انگل از ماهی به انسان، عادات سنتی مصرف ماهی بصورت خام یا کاملاً پختـه نشـده آن است که شامل دودی کردن یا مارینـاد کردن ناکافی است. یکی از فاکتورهای مهم در همه‌گیر این انگـل شـامل آلوده کردن به محل‌های طبیعی زیست ماهی بوسیله انسان آلوده با مدفوع است. اگر چه پستانداران ماهیخوار هم می‌توانند میزبانهای واسطه باشند ولی بشر میزبان نهایی و همچنین مسئول اصلی شیوع این بیمـاری از طریـق مدفوع است. حیاتی است که باید فاضلاب‌های حاصله از ساکنین کنار دریاچه‌ها، هتل‌هاو کشتی‌ها قبـل از اینکـه وارد محیط آبی شوند به درستی تصفیه شوند (Murrell, 1995). انگل زدایی از حیوانـات اهلـی نیـز همچنـین مفید است. اما، انگل زدایی حیـوان‌هـای اهلـی بصـورت وسـیعتر، خطـر بیمـاری Diphyllobothriasis را در محیط‌های دریائی را بطور کامل حذف نخواهد کرد زیرا وجود میزبانهای پسـتاندار متعـدد دیگـر در محـیط‌هـای دریایی برای جنس Diphyllobothrium مانع از این کار می‌شود. بنابراین، کنترل دقیـق پـس از صـید بطـور مثال فرآوری صحیح ماهی و آماده‌سازی مناسب غذاهای دریائی مهمتـرین و مـؤثرترین عوامـل در جلـوگیری از بیماری ناشی از انگل Diphyllobothriasis می‌باشند.برای اطلاعات بیشتر به قسمت (۳-۸) مراجعه فرمائید.

آسیب‌شناسی

اگر چه این کرم کاملاً بزرگ است، ولی بیماری حفیفی را ایجاد می‌کند. اما بهرحال ، D.latum می‌تواند با میزبان خود برای جذب ویتامین B12 رقابت کند که این امر می‌تواند بعد از چند سال منجر به کم خونی[1] شود. این بیماری بخصوص در کشورهای اسکاندیناوی دیده می‌شود (مخصوصاً فنلاند). البته این بیماری گه‌گاه می تواند باعث بروز دیگر بیماری‌های کلینیکی نیز شود (Cross,2001). ترشحات سمی‌کرم می‌تواند سیستم عصبی مرکزی را تحت تأثیر قرار دهد و نهایتاً منجر به اختلالات عصبی نخاعی و از بین رفتن آن شود (Rausch *et al.*,1998). گونه‌های دیگر *Diphyllobothrium* تاکنون شناخته نشده‌اند که در ایجاد بیماری کم خونی نقشی داشته باشند. تشخیص آلودگی با D.latum و دیگر سستودهای دیفیلوبوتریدی معمولاً بستگی به پیدا کردن تخم‌های آن در مدفوع میزبان دارد.

۵-۸- انگل‌های ماهیان آب شیرین: ترماتودها

این انگل‌های داخلی، کرمهای پهن بدون بند و از مشخصات آن‌ها داشتن دهان و عضو مکندهٔ شکمی‌می‌باشند هم‌چنین چرخه زندگی آن‌ها احتیاج به یک و یا تعداد بیشتری میزبانهای واسط دارد. آنها همانند سستودها عمدتاً هرمافرودیت هستند. آنها در بین طبقات بی‌مهره‌گان و مهره‌داران بصورت گسترده ای وجود دارند (Kumar,1999). در بین ترماتودهای بیماریزا بوسیله ماهی برای انسان فقط ۵ جنس آن‌ها دارای اهمیت می‌باشند: Clonorchis و Opisthorchis که مجاری صفرا و کبد را آلوده می‌سازنند و *Heterophyes* و *Haplorchris* و *Metagoniums* که انگل‌های روده‌ای هستند.

۵-۸-۱- Clonorchiasis

عامل مسبب این بیماری C.*sinensis* است. پراکنش فراوان آن در آسیا و شوروی سابق است که براساس برآورد سازمان بهداشت جهانی ۲۹۰ میلیون نفر در خطر آلودگی به آن و هفت میلیون نفر به آن آلوده شده‌اند. (WHO, 1995). اگر چه بیش از ۱۰۰ گونه ماهی می‌توانند حامل انگل در مرحلهٔ عفونت‌زدایی

[1] - Megablastic anemia

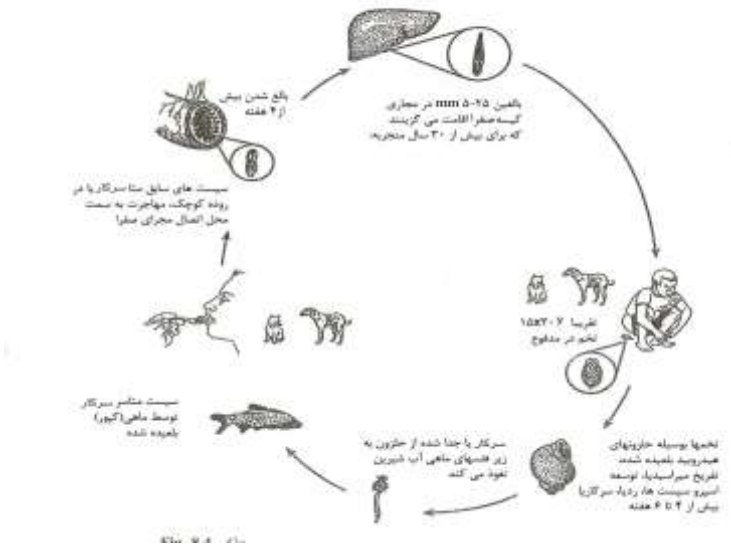
(Metacercaria) باشند، امّا بیشتر آلودگی بشر ناشی از کپور ماهیان پرورشی است. افزایش پرورش ماهی در لائوس، تایلند، ویتنام، ژاپن، کره و چین تأثیر مهمی‌در گسترش رو به رشد این عامل بیماری‌زا را داشته‌اند.

چرخه زندگی

میزبانهای نهایی شامل انسان، سگ‌ها، گربه‌ها، خوک‌ها و موش‌ها می‌باشند (شکل ۴-۸). وقتی که تخم‌ها از طریق مدفوع از بدن خارج و وارد آب شدند، توسط حلزونهای آبی خورده می‌شوند. تخم وقتی وارد بدن حلزون شد از وارد به مرحله مژه‌دار (Miracidia) می‌شود. میراسیدیاها بدرون بافت‌اندامهای بخصوص نفوذ کرده و در آنجا تکثیر غیرجنسی می‌کنند و وارد مرحله‌ای به نام Cercaria (دارای دم) می‌شوند. سرکرها از بدن حلزون خارج شده و تا رسیدن به ماهی میزبان واسط دیگر در آب به اطراف شنا می‌کنند. آنها پس از یافتن ماهی میزبان واسطه زیر فلس‌های ماهی قرار می‌گیرند و در ماهیچه‌ها و بافت‌های زیر جلدی تولید (Metacercaria) کیست می‌کنند.سپس انسان و دیگر میزبانها با خوردن ماهی خام آلوده دچار بیماری می‌شوند. متاسرکرها از عضله ماهی به دورن معده میزبان رفته و به سمت روده کوچک حرکت می‌کنند. سپس وارد مجرای صفراوی - شده (معمولاً ۷ ـ ۴ ساعت بعد از خورده شدن) و در حدود چهار هفته بعد بالغ می‌شوند.

همه‌گیری

شیوع بیماری در انسان ناشی از انگل *Clonorchis* درارتباط تنگاتنگ بـا آدات و رسـوم تغذیـه قـومی‌دارد کـه مصرف ماهی خام و یا به‌طور کم فرآوری شده را مطلوب می‌دانند (Kumar,1999). دومین دلیل عمـده ایجـاد این بیماری، آلوده‌شدن استخرهای ماهی و آب‌های طبیعی با پساب‌های مدفوعی انسـان آلـوده بـه ایـن انگـل و حیوانات می‌باشد. دلیل دیگر ارجحیت دادن به پرورش کپورماهیان است که به‌عنوان میزبان واسط مناسب انگـل C.*sinensis* عمل می‌کند. این انگل در آسیا بومی‌است.



شکل ٤-٨: چرخه زندگی کرمهای پهن در کبد ماهی که باعث بروز بیماری در انسان می‌شوند

طبق گزارش Li (۱۹۹۱) معلوم شد که در چین بیش از ۴ میلیون نفـر در اسـتانهای Guangxi و Guangdong آلوده شده‌اند. خوک‌ها در این کشور می‌توانند میزبانهای واسطه باشند که گسترش زیاد آلودگی در این حیـوان طبـق گـزارش پژوهشـگران بـین ۳۵-۱۱ (Li,1991) مـی‌باشـد. Soh در سـال ۱۹۸۴ گـزارش نمـود کـه آلـودگی بـه C.*sinensis* در کره مهم است، در این کشور پراکنش آن می‌تواند بیشتر از ۱۰٪ در بسـیاری از منـاطق روسـتایی باشد. در هنگ‌کنگ، گسترش این انگل در بعضی از روستاها تـا ۱۳٪ اسـت (Ko,1995). دلتـای رودخانـه قرمـز

ویتنام نیز منطقه گسترش زیاد این انگل می‌باشد (۲۸٪) (Kumar,1999) و در حدود ۱ میلیون ویتنامی‌پیش‌بینی می‌شود که در آنجا آلوده شده باشند.

آسیب‌شناسی

افراد بیمار از اسهال، ناراحتی معده‌ای و سوء هاضمه ابراز ناراحتی می‌کنند. اگر کرمهای بالغ به مجرای پانکراس حمله کنند، ناراحتی شدیدی در پانکراس ممکن است رخ دهد (Mascom *et al.*,2000). آلودگی مزمن ممکن است منجر به بروز ناراحتی‌هایی برای دستگاه گوارش[1] نیز شود (Cross,2001).

***Opisthorchiasis* -۸-۵-۲**

این بیماری LiverFluke در اثر وجود کرم پهن موجود در کبد ماهی می‌باشد که به انسان منتقل شده و باعث ایجاد بیماری می‌شود که دو گونه عمده آن شامل(Cat Liver Fluke) O.*felineus* , *Opisthrochis viverrini* می‌باشند. این انگل‌ها در مناطق مختلف جغرافیائی یافت می‌شوند. O.*viverrini* عمدتاً در جنوب شرق آسیا وجود دارد و O.*filineus* در اروپایی شرقی، لهستان، آلمان و سیبری یافت می‌شود. در جنوب شرق آسیا، O.*viverrini* نه تنها یک مشکل بهداشتی است بلکه باعث یک بار اقتصادی برای حفظ سلامتی عمومی‌می‌شود. در تایلند، هزینه بهداشتی که به دلیل بیماری ناشی از این انگل در افراد جوان پرداخت می‌شود چیزی حدود ۸۵ ـ ۶۵ میلیون دلار آمریکا در سال می‌باشد (Loaharanu & Santasiri,1991 ; Ko;1995 ; WHO,1995) بیماری ایجاد شده با O.*felineus* در روسیه، قزاقستان و اوکراین گسترده ترین حالت این بیماری بوسیله ترماتود است (WHO,1995).

چرخه زندگی

همه‌گیرشناسی و چرخه زندگی کرمهای پهن Opistorchid مشابه C.*sinesis* (شکل ۴-۸) است. آلودگی با این انگل با تغذیه از ماهی خام و یا خوب پخته نشده که حاوی انگل بیماری‌زا در ماهیچه درمرحله (Metacercaria) است، اتفاق می‌افتد. گونه‌های ماهی کپور میزبانهای اصلی این انگل هستند و سرعت انتشار آلودگی توسط این گونه در نقاطی که بومی شده می‌تواند ۹۰٪ ـ ۵۰ باشد.معمولاً هر ماهی حاوی ۵۰ ـ ۲۰ متاکرسر می باشد، (Ko,1995). جالب توجه است که آلودگی با O.*felineus* وقتی رخ می‌دهد که ماهی در

[1] - Cholangiocarcinoma

اولین روز نمک‌گذاری مصرف می شود. لذا در شور کردن ماهی باید به این نکته توجه نمود و بـه نمـک فرصـت لازم برای نفوذ به درون بافت‌ها و از بین بردن متاسرکرها را داد. سگ‌ها و گربه‌ها (میزبان‌های ذخیره کننده تخم انگل) معمولاً در مناطقی که این انگل بصورت بومی وجود دارد به این انگل‌ها آلوده مـی‌شـوند و بعنـوان عامـل شیوع این بیماری شناخته شده‌اند. که در این صورت تلاش‌ها برای حفاظت منابع آبـی کـه حلـزون دارنـد بـرای جلوگیری از آلودگی آنها به این انگل پیچیده و مشکلتر می‌شود.

همه‌گیری

دلیل اصلی آلودگی انسان، مصرف ماهی خـام اسـت. گونـه‌هـای *Hampala Cyclocheilicthys siaja, despar* و *Puntius Orphoides* ماهی‌های عمده میزبانان ایـن انگـل در جنـوب شـرقی آسـیا هسـتند، در حالیکـه در اروپـا و سـیبری گونـه‌هـای مهـم *Tinca tinca* ، *Barbus barbus* و *Leuciscus rutilus* ، *Blicca bjoerkna* هستند (Ko,1995 & Cross,2001). در تایلند، ماهی‌های پرورشی در استخرهایی که بوسیله کودهای انسانی و حیوانی تغذیه می‌شوند در معرض خطر بزرگی به آلودگی به این انگل‌ها هستند. فـاکتور خطرناک دیگر و تهدیدکنندهٔ سلامتی انسان، تغذیه کودکان با ماهی خام یا نیم پخته شده بوسیله مـادران اسـت، اگر چه فقط تعداد کمی‌از کرمها در بچه‌ها و کودکان دیده شده‌اند، ولی مصرف مداوم ماهی خام می‌تواند منجر به تجمع کرم‌ها در بدن کودکان که باعث می‌گردد کرم‌ها در بدن بومی‌شوند، رشد کـرده و حـدود ۴۰ ـ ۳۰ سـالگی باعث بروز بیماری گردند (Cross,2001). کرمها ممکن است تا ۲۰ سال هم زندگی کنند.

آسیب‌شناسی

آلودگی بـا *O.viverini* دارای‌علائـم‌کلینیکـی مشـابه بـا *C.sinensis* اسـت. (MAS-Coma *et al.*,2000) امـا، بیماری ناشی از این انگل می‌تواند خطری بیشتری نسبت به بیمـاری ناشـی از C.sinensis داشـته باشـد. زیـرا کـه ایـن آلودگی می‌تواند منجر به بیمـاری Cholangiocarcinoma و سـپس Clonorchiasis کـه عامـل عمـده مـرگ در روستاهای شمال شرقی تایلنـد اسـت (Haswell-Elkins *et al.*,1992) گـردد. آژانـس بـین‌المللـی تحقیقـات بـرای سرطان، این انگل را جز گروه ۱ عامل سرطان زا معرفی کرده است.

۳-۵-۸- ترماتودهای روده‌ای

تعداد زیادی از گونه‌های ترماتودی کوچک (معمولاً کمتر از ۲/۵ میلی‌متر طول دارند) وجود دارند که قادرند از ماهی به انسان منتقل شده و در روده جای بگیرند. ۲۸ کشور آسیایی وجود بیش از ۷۰ گونه ترماتود روده‌ای که باعث آلوده‌گی انسان می‌شوند را گزارش کرده‌اند. بیش از ۱۰ گونه از ترموتودهای خانواده Heterophyidae انسان را آلوده می‌کنند که مهمترین آنها شامل *Haplorchris ssp.*, *Hetlerophyes heterophyes* و *Metagonimus yokogawi* هستند. این گونه‌ها، به علاوه تعدادی از گونه‌های مشابه دیگر، در خاورمیانه (مخصوصاً در دلتای نیل) و همچنین در جنوب شرق آسیا نیز فراوان هستند. (Giboda *et al.*,1991 ,CHAI & Lee,1991 و Edoardo,1991 , Khamboonraung ,Mao,1988) تحقیقات در روستاهای لائوس نشان داده است که آلودگی با Heterophyid دارای سرعت شیوعی تا حدود ۸۶٪ است (Giboda *et al.*,1991).

چرخه زندگی

این انگلها، مثل ترماتودهای منتقل شده از طریق حلزون هستند این انگل ها تعدادی از ماهیان آب شیرین بعنوان میزبان دوم مورد استفاده قرار می دهد. مثل جنسهای *Clonorchis* و *Opisthorchis*، مرحله دوم یا متاسرکر (Metacercarial) در عضله ماهی میزبان سپری می‌شود. زمانی که ماهی به صورت خام یا پخته مصرف می‌شود، انگل تکامل خود را در روده میزبان کامل می‌کند (Ko,1995) چرخه زندگی وقتی کامل می‌شود که تخم کرم انگل روده‌ای با مدفوع میزبان به بیرون ریخته می‌شود. اگر این تخمها وارد آب شوند ممکن است توسط حلزون‌ها خورده شده که در این صورت تولید مثل غیرجنسی انجام می‌شود. نهایتاً سرکر Cercariae تولید شده که به دنبال ماهی مناسب به‌عنوان میزبان واسط می‌گردد. بسیاری از پرندگان و پستانداران ممکن است بعنوان میزبان نهایی این انگل مورد استفاده آن قرار گیرند. حداقل ۴۵ جنس ماهی می‌توانند میزبان واسط آن باشند، اما میزبانهای عمده انگل *Heterophyes* spp. شامل گونه‌های مختلف کفال (Mullet) مثل *Mugil cephalus*, M.*capito*, M.*japonicus* ، تیلاپیا Talapia milotica, *Aphanius fasciatus*,*Acanthogobius*, *Sciaena aguilla*, *Solea vulgaris*, *Arius manilensis* و *Ccrntho Gobitus* هستند (Ko,1995) ماهی مناسب برای انگل *Metagonimus* spp. شامل *Plecoglssus Acivelis*, P.*parva Leuciscus nakuensis*, *Odontobutis obscurus*، *Salmoperryi*، *Carassius carassius* و *Tribolodon* spp. و *Lateolabrax japonicus* هستند.
(Ko,1995 ; Kumar,1999)

همه‌گیری

بیش از ۳۰ کشور آلودگی با ترماتود روده‌ای را گزارش کرده‌اند (WHO, 1995). تمرکز این آلودگی در محلهای طبیعی مخصوص و محدود، برآورد گسترش جهانی جمعیت در معرض خطر آلودگی با این انگل را مشکل ساخته است، اما WHO برآورد کرده که حداقل ۱ میلیون نفر در جهان آلوده شده‌اند. (WHO, 1995). این تخمین براساس برآوردهای زیر بوده است.

مصر ۱۰/۰۰۰ و چین ۲۳۰/۰۰۰ نفر آلوده به Heteropyiasis ، و ژاپن ۱۵۰/۰۰۰، کره ۵۰۰/۰۰۰ و روسیه ۱۲/۵۰۰ نفر مبتلا به Metagonimiasis می‌باشند. تحقیقات مختلف درباره این آلودگی نشان داده است که این انگل‌ها در ویتنام، لائوس، تایوان، فیلیپین،اندونزی، اسرائیل، بالکان، اسپانیا، تونس، سودان، ترکیه، ایران، و هند کم نیست. (Kumar,1999 ; Cross,2001).

علت آلودگی تغذیه از ماهی خام یا نیمه پخته شده می باشد. همچنین ممکن است از طریق تغذیه از ماهی تازه نمک زده شده ایجاد شود. متاسرکر در ماهی تازه نمک زده شده به مدت ۱ هفته قادر به ایجاد عفونت می باشد (Kumar,1999) تعدادی از پرندگان و پستانداران ماهیخوار قادرند میزبان بوده و به‌عنوان منبع آلودگی عمل کنند. همچنین سگ‌ها منبع معمول آلودگی با این انگل در بسیاری از مناطق هستند.

آسیب‌شناسی

بیماری ایجاد شده توسط *H.heterophyes* به‌طور کامل توسط (Maclean *et al.*,1999) تشریح داده است. به‌طور متوسط نه روز بعد از خوردن (Metacercaria) متاسرکر، علائم آن مثل اسهال و درد شکم (Eosinophilia) اتفاق می‌افتد و واکنش التهابی ملایم و زخم‌های سطحی در محل چسبیدن انگل ایجاد می‌شود. کرمهای پهن(Flokes) معمولاً کمتر از یکسال زنده می‌مانند. کرم پهن می‌تواند در بدن از طریق موکوس نفوذ و سپس تخم‌ها ممکن است از این محل‌های موکوسی به وسیله ترشحات لنفی به سیستم عروق خونی وارد شوند. تخم‌ها از سه گونه مهم از انگل‌های Heterophyid از مویرگ‌های عروق مغز، قلب، شش‌ها، طحال و کبد به دست آمده است. زخم‌های ایجاد شده در مغز و طناب عصبی نخاع (Spinal cord) منجر به بروز آسیب‌های عمده بافتی (Pathologic) می‌شوند. میوکاردیتیس (نارسائی عضله قلب Myocarditis) در اثر انسداد عروق میوکاردی قلب به وسیله تخم‌ها و باعث ایجاد ضایعه‌های دانه شکل گرد روی قلب (Granulomatous) و ضخیم شدن دریچه میترال قلب در اثر وجود تخم این انگل‌ها در عروق میوکاردی قلب نیز گزارش شده است.

گونه *Metagonium yokogawi* علائم آسیب‌شناسی مشابه انگل قبلی را در انسان نشان می‌دهد. کرم‌ها در بخش میانی روده کوچک قابل تشخیص‌اند و در حالت اولیه آلودگی کرمها بین پرزها قرار می‌گیرند. این کرمها در زیر موکوس میزبانهای دارای سیستم ایمنی کامل مشاهده نشده اند. معمولاً میزبانها نسبت به این انگل علائم خاصی بروز نمی‌دهند، اما در آلودگی شدید ممکن است علائم شکمی‌ایجاد شود. (اسهال و کاهش وزن) (Ichiki *et al.*,1990).

سایر انگل‌های ماهی و قابلیت بیماریزایی آنها برای انسان

تعدادی از انگل‌های ترماتود و نماتود هستند که می‌توانند گاهی باعث بروز بیماری و آلودگی مخصوصاً در ماهیان وحشی شود. از این گروه می‌توان Echinostomes (حدود ۱۶ گونه از *Echinostoma* با سیکل‌های زندگی متفاوت) (Graczyk & Fried,1998)، *Nanophytes salminicola* (عامل مسمومیت ناشی از آزادماهی ، میزبان سگ‌های شمال غرب آمریکا) (Cross,2001) و *Metorchis conjunctus* (مردم کانادا با تغذیه از ماهی خام مثل: *Catostomus commersoni* ، آلوده می شوند) (Maclean, *et al.*,1996). برای اطلاعات بیشتر باید به منابع بیشتری در کتابخانه ها مراجعه شود.

از دهه ۱۹۶۰، مواردی از آلودگی انسان در جنوب شرق آسیا، ایران و مصر با نماتود *Capillaria philippinensis* گزارش شده است. اگر چه، میزبان نهایی احتمالاً یک پرنده ماهیخوار است, ولی میمونها و موش‌های صحرایی در آزمایشگاه به‌طور آزمایشی آلوده شده‌اند (Cross, 2001). ماهیان آب های شیرین باعث انتقال این انگل‌ها در مرحله لاروی به انسان در فیلیپین و تایلند شده‌اند احتمالاً تعداد ماهی ها بعنوان میزبان برای این انگل وسیع است.

۶-۸- پیشگیری و آلودگی زدایی: ماهیان دریائی

پیشگیری از آلودگی انسان با انگل‌های بیماریزای ماهی به آسانی با عدم تغذیه از ماهی خام، یا نیمه پخته و یا فرآوری نشده امکان پذیر است. اما، بهرحال، تقاضای زیاد برای مصرف غذاهای خام و یا کمتر فرآوری شده که اغلب ریشه در سنت‌های اجتماعی و فرهنگی ریشهٔ قوی دارند باعث شده تا ماهی به صورت خام مصرف شود و راهکار بالا (عدم مصرف ماهی خام) عملی و واقعی نباشد، پس راهکارهای دیگری باید در نظر گرفته شود.

شاید، بهترین و موثرترین روش‌های کنترل و پیشگیری در این مورد،راهکارهای پیشنهادی برای ماهیان دریائی و عمدتاً روش هایی است که برای نمادتودهای آنیزاکیس قبلاً شرح داده شده باشد.

نماتودهای (Anisakid) آنیزاکیس که بخشی از محیط طبیعی میزبانشان هستند، در ماهیان دریائی مثل شگ ماهیان، کاد، آزادماهیان و تون وجود دارند. جلوگیری یا حذف کامل آنها از بدن میزبانانشان مشکل است. اما، روش‌های مؤثری وجود دارد که می‌تواند برای کاهش خطرات آلودگی به این انگل به کار گرفته شوند. این روش‌ها عبارتند از اینکه یا به‌طور فیزیکی با برداشتن انگل‌ها از ماهی و یا غیر فعال‌سازی آنها انجام می‌شود. این روش‌ها ممکن است در زمان برداشت، فرآوری و یا بعد از فرآوری توسط مشتریان اعمال شود. این روش‌ها در ادامه بطور مفصل برای ماهیان دریائی توسط (Adams *et al.*,1997) و (Admas and De vlieger,2001) در زیر توضیح داده می‌شوند.

برداشت[1]

اقدام برای کاهش احتمال آلودگی یا فراوانی آلودگی انگلی یک فرآورده دریائی باید قبل از صید یا جمع‌آوری محصولات بعمل آید. نوع،اندازه و بیولوژی ماهی (ماهی پلاژیک یا کفزی و یا مهاجر به سمت رودخانه) مورد نظر برای صید باید مورد توجه قرار گیرد. برای مثال اکولوژی، بخصوص رفتارهای تغذیه‌ای ماهیان کفزی مثل کفشک دندان پیکانی (*Athersthes stomias*) و بسیاری از گونه‌های (Family Pleuronectidae) کفشک (Sole) سل باعث تجمع تعداد زیادی از لاروهای نماتودهای آنیزاکیس در آنها می‌شود. علاوه بر آن، انگل‌های بیماریزا ماهی برای انسان (آنیزاکیس و دیفیلوبوتریوم) در بدن میزبان در طول زندگی ماهی تجمع می-یابند. بنابراین، صید انتخابی ماهیان جوانتر احتمال وجود تعداد زیاد انگل را در بدن آنان را کاهش خواهد داد. یانگ (Young) (۱۹۷۲) در یک مطالعه گزارش کرد که ۸۳٪ ماهیان کاد قبل از اینکه به طول ۶۰ سانتی‌متر برسند صید می‌گردند، بنابراین، در این طول ماهیان خیلی جوانتر از آن بودنند که به انگل آنیزاکیس آلوده شوند. در نتیجه از خطر آلودگی به این انگل کاسته می‌گردید. ذخایر ماهیان خاص یا مکانهای جغرافیائی صید بخصوص مشهور به داشتن وجود تعداد زیادی انگل می باشند، از اینرو یا کشتی‌های ماهیگیری از صید در آن مکانها امتناع کرده و یا ماهی‌های صید شده عمدتاً به فرآورده‌های دیگر مثل گوشت چرخ شده برای از بین بردن خطر آلودگی به انگل فرآوری می‌شوند (مثل سوریمی). برای کاهش نیاز به فرآوری زیاد (Extensive

[1]- Harvesting

processing) بعضی از شرکت‌ها اقدام به خریداری ماهیان کوچکتر از آن گونه خاص می‌کنند تا مشکلات انگلی کمتری داشته باشند.

برای ماهیان آب‌های داخلی، بخصوص آب‌ها که محل رفت و آمد پستانداران دریائی هستند، اغلب تعداد بیشتری از انگل‌ها را در بافت خوردنی خود دارا می باشند. برای مثال، جمعیت فک‌های خاکستری (*Halichoerus grypus*) که در ۳۵ سال گذشته در آتلانتیک شمالی بطور چشمگیری در حال افزایش بوده است و ازدیاد آن باعث شیوع آشکارتر و بیشتر P.decipiens در ماهی کاد و دیگر ماهیان ساکن در بستر در این مکان ها شده اند. لذا از صید این نوع ماهیان باید اجتناب نمود، یا این ماهیان باید برای اطمینان از بین رفتن انگل در آنها باید کاملاً فرآوری شوند. برای جلوگیری از هزینه‌های اضافی که با انجام فرآوری کامل جهت اطمینان از این که انگل کاملاً برداشته شده است، معمولاً صاحبان کارخانه‌ها ترجیح می‌دهند تا هزینه اضافی به صیادی را برای صید ماهیان، خارج از مناطق زندگی پستانداران دریائی بپردازند.

طی صید، روش صید می‌تواند به‌طور غیر مستقیم اجباراً حذف انگل‌ها در ماهی را برای فرآوری آسانتر کند. مثلاً ماهیانی که با روش long-ling (روش صید با قلاب) صید می‌شوند تا آنهائیکه با تور صید می‌شوند نسبتاً تازه‌تراند، زیرا آنها فوراً بعد از مرگ خونگیری و تخلیه شکمی‌شده و سپس منجمد و یا سرد می‌شوند. چنین فرآورده‌هایی دارای بافت روشن‌تری هستند و عمل Candling (بازدید ماهی زیر نور قوی جهت تشخیص انگلها) برای شناسایی فیزیکی و برداشتن انگل‌ها آسانتر است.

بعد از صید (ماهی ممکن است در انبار نگهداری و یا سرد شود) و ممکن است که گاهی ماهی فرآوری اولیه (مثل سرزنی و تخلیه شکمی) شود. لاروهای کرم پهن در درجه اول در امعا و احشا و در درجه دوم در بافت‌های خوردنی ماهی وجود دارند. اگر از مهاجرت کرم‌ها به درون بافت ماهی با سردسازی یا تخلیه شکمی‌سریع جلوگیری شود، تعداد انگل‌های در حال حرکت در بافت کاهش خواهد یافت. بعضی از گونه‌های ماهی مثل آزادماهیان، شگ‌ماهیان و کفشک دندان پیکانی (Arrowtooth) نسبت به حرکت انگل بعد از مرگ به داخل عضله نسبت به گونه‌های دیگر آمادگی بیشتری دارند، بنابراین توجه دقیق تری باید برای این گونه‌ها بخصوص در نظر گرفته شود. تخلیه شکمی‌باعث تخلیه فیزیکی امعا و احشا می‌شود، اگر انگلی وجود داشته باشد برداشته می‌شود) و در ادامه سردسازی سریع یا انجماد باید به کار گرفته شود. اما، ممکن است تخلیه شکمی‌انجام نشود و فقط از سردسازی یا انجماد استفاده شود. از طرف دیگر سردسازی یا انجماد سریع علاوه بر جلوگیری از انتقال انگل، زمان ماندگاری و تازگی غذاهای دریائی را افزایش می‌دهد. انجماد ماهی در درجه برودت و مدت زمان

مناسب، انگل‌ها را خواهد کشت و احتمال آلودگی را از بین خواهد برد. اما، هیچکدام از این روش‌ها، انگل‌های وارد شده به بافت را قبل از صید از بین نخواهند برد.

برای ماهیانی که میزبانان بالقوه انگل هستند، شاید تولیدکننده فرآورده محدودیت‌های بیشتری برروی صیادان، مخصوصاً برای کشتی‌هایی که به مدت طولانی در دریا باقی می‌مانند و چند گونه ماهی را صید می‌کنند اعمال کند. مثلاً برای ماهیانی مثل کفشک‌دندان پیکانی، تولیدکنندگان فرآورده های دریایی را ممکن است از صیادان بخواهند زمان ماندن کشتی در دریا را کاهش دهند و یا اینکه این گونه های ماهی که میزبانان بالقوه انگل هستند فقط چند روز قبل از پایان صید، صید و نگهداری شوند (زمان نگهداری طول نکشد)، تا زمان برای انتقال آنیزاکیس پس از مرگ ماهی از امحاء و احشاء به بافت کاهش یابد. شاید تولیدکنندگان فرآورده های دریایی یک نمونه از صید را به‌طور تصادفی برای تعیین میزان انگل‌ها در بافت آزمایش کنند. اگر نماتودها در بالای خط جانبی فیله یافت شوند، این نوع صیدها معمولاً از طرف تولیدکنندگان فرآورده های دریایی قابل قبول نخواهد بود.

برای بعضی از ماهیان با ارزش تجاری، مخصوصاً آزادماهیان، آبزی‌پرور می‌تواند ماهی تولید کند که وجود انگل-های تهدیدکنندهٔ سلامتی انسان را بوسیله ماهی کاهش داده و یا حذف نماید. در آبزی‌پروری، ماهی را می‌توان آموزش داد که فقط از غذای پلت شد تغذیه کند. لذا چنین ماهی‌هایی از سخت‌پوستان و ماهیان کوچکتر را به‌عنوان غذا نمی‌شناسند، چون فقط برای خوردن غذای پلت شده آموزش دیده‌اند. تحت این شرایط، چرخه زندگی نماتودهای آنیزاکیس و کرمهای نواری از بین رفته و ماهی بدون آلودگی با این انگل‌ها پرورش می‌یابد. اما، اگر ماهی از مرکز تکثیری خریداری شود که محل زندگی حلزون *Juga plicifera* است (این حلزون به‌عنوان میزبان واسط برای انگل *Nanophyetus* ضروری است)، لذا آزاد ماهی ممکن است قبل از رسیدن به محل عمل آوری آلوده شده باشد. مراکز تاکثیری که دارای آب سالم وبدون آلودگی به حلزون باشند می توانند آزاد ماهیانی بدون آلودگی به ترماتود تولید کنند و در نتیجه فرآورده های نهایی از آنها عاری از انگل ترماتود خواهد بود. در مطالعه‌ای برروی پرورش ۲۳۷ عدد ماهی آزاد آتلانتیک (*Salmo salar*) در مراکز پرورش با شرایط بالا امعا و احشا و بافت ماهی کاملاً عاری از انگل آنیزاکیس، دیفیلوبوتریوم و N.*samincola* بودند (Deardroff & Kent,1989). بنابراین، استفاده از این آزادماهیان پرورشی برای تولید فرآورده بصورت خام می تواند یک گزینه منطقی نسبت به استفاده از آزادماهیان وحشی (صید شده در دریا) برای تولید اینگونه فرآورده ها جهت استفاده در جشن‌های که از این نوع غذا (خام) درشان استفاده می‌شود. زیرا که آزادماهیان وحشی می‌توانند آلوده به انگل‌های تهدیدکننده برای سلامتی انسان را باشند.

۲-۶-۸- فرآوری

بسته به فرآورده نهایی و بازار، تولیدکننده ممکن است چند مرحله آماده سازی در حمل و نقل ماهی را اعمال کند که شامل سرزنی، تخلیه شکمی، فیله سازی، پوست‌کنی، بررسی زیر نور جهت شناسایی انگل (Candling) و تمیز کردن و شست و شو می‌باشند. Candling فرآیندی است که در طی آن فیله ماهی روی میزی قرار می گیرد که منبع نور در زیر آن قرار دارد. سطح میز روشن است تا از این طریق بتوان انگل‌ها را شناسایی کرد. این روش در شناسایی و آشکار کردن همهٔ انگل‌ها کاملاً مؤثر نیست. فاکتورهایی که می‌توانند در شناسایی انگل‌ها ایجاد مشکل کند به قرار زیراند:

۱) ضخامت فیله

۲) حضور پوست روی فیله

۳) مقدار چربی

۴) رنگدانه‌ها

۵) میزان تجربه فرد انجام دهنده آزمایش.

در مقایسه بین‌چهارگونه ماهی که دارای گوشت سفید و تازه هستند مثلماهی صخره‌ای (*Sebastes* spp.)، کفشک‌دندان پیکانی (*Atheresthas stomias*) کفشک سل (Pleuronectidae) و کاد حقیقی (*Gadus macrocephalus*) عملیات Candling منجر به تشخیص ۷۹-۵۳ درصد فیله‌های آلوده شده گردید و همچنین ۷۶٪ ـ ۴۳ آنیزاکیس‌های Anisakids موجود را شناسایی کرده است (Adam *et al.*,1997). انگل‌های مشاهده شده با عمل Candling را می‌توان با پنس و یا برداشتن بخشی از فیله که آلوده است برداشت. بخشی از فیله که معمولاً دارای بیشترین مقدار انگل است، منطقه پرده شکمی‌می باشد. که امعا و احشا را می‌پوشاند (اولین محلی که انگل می‌تواند به آنجا مهاجرت نماید). بعضی از تولیدکنندگان به‌طور خودکار پرده شکمی‌را بدون انجام Candling برمی‌دارند، در حالی که شاید بعضی دیگر فیله را زیر نور بررسی کرده و فقط محلی را برمی‌دارند که انگل‌ها در آن مشاهده شده اند.

استفاده از اشعه (Irradiation) بعنوان یک روش جدید مثل از فرستادن فرآورده به بازار برای اینکه سلامتی غذا افزایش یابد برای بسیاری از فرآورده‌های غذایی مثل ماهی توصیه شده است Loaharau & Murell,1994). اما، باید به چند نکته اساسی قبل از استفاده از این روش جدید باید به آن توجه نمود. بسیاری از مصرف‌کنندگان نمی‌دانند که روش استفاده از تابش اشعه چگونه عمل می کند. (به عبارت دیگر آنها فکر می‌کنند که غذا رادیواکتیو می‌شود)، برای خرید غذاهایی که به این صورت فرآوری شده‌اند تمایلی نشان

نمی‌دهند. موضوع مهم دیگر این است که مقدار اشعه مورد نیاز جهت از بین بردن خطر، انواع انگل‌های زنده متفاوت است. تابش اشعه به گوشت خوک برای از بین بردن انگل عامل trichinellosis به میزان KGY ۰/۳ ـ ۰/۱۵ بسیار مؤثر است زیار نیازی به از بین بردن لاروها نمی باشد بلکه با این میزان اشعه لزوماً لاروها از بین نمی‌روند، اما از نظر جنسی عقیم شده و قادر به تکثیر و تولیدمثل نیستند (Brake *et al.*, ۱۹۸۵). متأسفانه،استفاده از تابش اشعه ممکن است برای ترماتودهای آنیزاکیس مناسب نباشد. این لارو ترماتود است که باعث بروز بیماری Anisakiasis در انسان می‌شود و در عضله ماهی وجود دارند و میزان تابش مورد نیاز برای از بین بردن این انگل خیلی بالاست (۱۰Kcy – ۰/۵) تا مانع از انتقال انگل شود. از طرف دیگر استفاده از اشعه پادوز بالای تابش، باعث می گردد ماهی دارای طعم و بافت نامناسب گردد.

علاوه بر غذاهای دریائی تازه و منجمد در بازار، فرآورده‌های دیگر مثل غذاهای نمک‌سود شده شور شده، ماریناد شده بطور آماده در دسترس هستند (مصرف‌کنندگان ممکن است این روش‌ها را در خانه برای آماده‌سازی غذاهای دریائی استفاده کنند). به‌طور کلی، دو ترکیب مهم در شور و ماریناد نمودن: ۱- نمک و اسید می‌باشند. اسید موجود در محلول آب نمک تأثیر محسوسی روی نماتودهای آنیزاکید ندارد. این موضوع چندان حیرت‌آور نیست زیرا که نماتودهای آنیزاکید در معدهٔ پستانداران دریائی زندگی می‌کند. بنابراین، توجه به میزان نمک در محلول بکار برده شده باید داده شود. از کرمهای پهن توضیح داده شده،در بالا نماتودها مقاومترین کرم‌ها نسبت به محلول‌های آب نمک هستند.در صورتیکه نمک خشک در عرض چند دقیقه در صورت تماس مستقیم با آنیزاکیس موجب مرگ آن می‌شود. در محلول نمک، ٪۲۲ (اشباع شده) کرم ها در عرض ده روز می‌میرند. همچنانکه غلظت نمک کاهش می‌یابد، زمان لازم برای کشتن نماتودها افزایش می‌یابد. در محلول ٪۱۵ نمک و ٪۷ اسید، ٪۹۷ کرمها بعد از ۳۰ روز کشته می‌شوند در حالیکه در محلول حاوی ٪۶ نمک و ٪۴ اسید (مشابه بیشتر محلول‌های آب نمک حاوی اسید در pickling) بیش از ۷۰ روز برای کشتن انگل‌ها زمان لازم است. برای بسیاری از فرآورده‌های مثل ماریندیا ترش ماهی که در آب نمک حاوی اسید قرار داده شده‌اند (مثل شگ-ماهی در آب نمک حاوی اسید و Ceviche) منجمد نمودن ماهی قبل از فرآوری آن برای شوری یا ماریناد نمودن در آب نمک و اسید تأکید می‌شود.

در چارچوب اقدامات موجود در نظام حصپ (HACCP) ، انجماد مهمترین راهکار عملی برای کنترل انگل‌ها است. در قانون نهایی نظام حصپ برای غذاهای دریائی، تولیدکنندگان باید طرحی کنترلی برای انگل‌ها بکارگیرند با این فرض که فرآورده ممکن است بدون کنترل کافی برای از بین بردن انگل تولید شده باشد، تا بدینوسیله فرآورده با حفظ کامل سلامتی مصرف کننده به مصرف برسد. بنابراین، چنین راهکار کنترلی برای

فرآورده های از ماهی که مشکل انگل دارند و یا به‌طور کلی به صورت خام و یا به صورت نیمه پخته شدهٔ مورد مصرف قرار می‌گیرند لاز الاجراء و ضروری است. انجماد در هرمرحله ازتولید فرآورده که بکارگرفته شود که در یکی از مراحل تولید استفاده می‌شود، نیاز حصپ را با از بین بردن انگل برطرف خواهد کرد. برای مثال، ماهی‌ای که بلافاصله پس از صید منجمد شده، لزومی‌ندارد به منظور کنترل انگل‌ها توسط تولیدکننده دوباره منجمد شود. در طی فرآوری آزادماهی دودی شده نوع Nova Scotia ، آزادماهی بعد از دودی شدن منجمد می شود تا امکان برش آن به ورقه های نازک ماهی، که ویژگی فرآورده های نهایی است فراهم آید.

انجماد به‌عنوان روشی برای کشتن انگل‌ها وابسته به زمان و درجه برودت است. به‌طور کلی، برای کرمهای انگلی، ۱۵ ساعت در فریزر دمندهٔ هوا در[1] $-۳۵C^{\circ}$ $(-۳۱F^{\circ})$ یا هفت روز در $-۲۰C^{\circ}$ $(-۴F^{\circ})$ کافی خواهد بود. فریزرهای خانگی را باید از نظر درجه برودت و جریان هوای کافی جهت انجام انجماد مؤثر مستمراً باید کنترل شوند تا از کار آنها اطمینان حاصل شود. غیر فعال‌سازی انگل‌ها به وسیله برودت، مؤثرترین روش برای از بین بردن خطر آلودگی انگلی است. این روش در طی فرآوری یا در خانه توسط مصرف کننده باید به اجرا گذاشته شود. اما، انگل‌های ماکروسکوپی ریز، مثل کرم ها، همچنان امکان دارد که در فرآورده باقی مانده و ممکن است حتماً به وسیله مصرف کننده مشاهده شوند، اگر چه این مسئله نکته‌ای مهم از نظر بازارپسندی و مشتری‌پسندی است ولی از نظر سلامتی خطری ندارد. غیرفعال‌سازی انگل‌ها به وسیله حرارت بستگی به زمان و درجه حرارت دارد (بالای حداقل یک درجه حرارت). برای پخت معمول، درجه حرارت ضخیم‌ترین بخش فرآورده باید حداقل در $۶۳C^{\circ}$ $(۱۴۵F^{\circ})$ به مدت ۱۵ ثانیه و یا بیشتر باشد. پخت با مایکروویو احتیاج به درجه حرارت بالاتری برای کشتن همه انگل‌ها دارد زیرا که گرم کردن غذا بطور نامتعادل و غیر یکنواخت در آن انجام می‌شود. رسیدن درجه حرارت به $۷۷C^{\circ}$ $(۱۷۰F^{\circ})$ برای ضخیم‌ترین بخش فرآورده توصیه می‌شود. حرکت دادن ماهی طی پخت، یا پوشاندن آن بوسیله مایع به پخت یکنواخت ماهی کمک می‌کند تا تمام قسمت‌های آن بطور یکنواخت حرارت ببینند.

کنترل انگل‌ها در فرآورده‌های دودی شده بستگی به نوع و روش دودی کردن دارد. دودی کردن به روش گرم، مخصوصاً در فرآورده‌های ماهی، می‌تواند به‌طور مؤثری انگل‌ها را غیرفعال کند چون فرآورده در طی فرآیند دودی کردن پخته می‌شود. بهرصورت، باید دقت شود که فرآورده در یک درجه حرارت که کشنده انگل است به مدت معین باقی بماند. برخلاف باکتریها، کرمهای انگلی پهن (Helminth Parasites) به وسیله چاشنی و

[1] - Blast freezer

عوامل طعم دهنده مثل (Liquid smoke) از بین نمی‌روند. smoke liquid محلولی است که برای ایجاد طعم مناسب دود در فرآورده‌های خام ماهی استفاده می‌شود. در دودی کردن به روش سرد که دود واقعی بوسیله براده چوب ایجاد می‌شود، ماهی در اتاق دود قرار گرفته و معمولاً در یک درجه حرارت پائین دود ایجاد شده که این حرارت برای کشتن انگل‌ها کافی نیست. آب نمک‌گذاری و یا نمک‌گذاری قبل از دودی کردن به روش سرد ممکن است که تأثیری چندانی در از بین بردن انگل‌ها نداشته باشد. در بسیاری از فرآوری‌ها از ماهیانی استفاده می‌شود که قبلاً منجمد شده و یا فرآورده بعد از دودی شدن برای نگهداری در انبار یا حمل و نقل منجمد می‌شود و یا برای تبدیل به برش‌های نازک بعد از دودی کردن منجمد می‌گردد. در این موارد انجماد فرآورده می‌تواند نیازهای کنترلی را برآورده سازد و این امر زمانی میسر است که درجه حرارت مورد نیاز و زمان مناسب برای از بین بردن انگل به کار گرفته شود. اما، باید خاطرنشان شود که وجود لاروهای مرده آنیزاکیس (Anisakid) در عضله ماهی ممکن است هنوز بعلت ایجاد واکنش‌های آلرژیکی خطری برای سلامتی مصرف کننده باشد (Audicana *et al.*,2002).

۷-۸- پیشگیری و آلودگی زدایی: ماهیان آب شیرین

انگل‌های بیماری‌زای در ماهی برای انسان هم در ماهیان آب شیرین وحشی و ماهیان پرورشی وجود دارند. به همین دلیل، کنترل کامل این انگل‌ها پیچیده و چندبعدی است. این موضوع علت عقب ماندگی روش‌های کنترل این انگل‌ها نسبت به روش‌های کنترل برای انگل‌های ماهیان دریائی می‌باشند. این کنترل احتیاج به طرحی ملی دارد که بین آژانس‌های مختلف و فعالیت‌های متنوع در این زمینه با هم ارتباط برقرار نماید (WHO,1995). مهمترین و بزرگترین مشکل در کنترل آلودگیها در ماهیان پرورشی در آب شیرین، جلوگیری از آلودگی استخرها با مدفوع انسانی و حیوانی است.

ممانعت از آلودگی ماهی به انگل بستگی به کنترل محیطی آب‌های سطحی دارد که ماهی از آنجا صید می‌شود. همچنین بهداشتی بودن سیستم آبزی پروری، کنترل و حذف اولین میزبان واسط انگل (حلزون) در جلویگری از آلودگی مؤثر است. علاوه بر آن، معالجه میزبان‌های واسطه (منبع انسانی یا حیوانی) هم یکی از روش‌های کنترلی مهم است. چندین مشکل بالقوه در زمینهٔ اجرای این روش‌ها وجود دارد. برای مثال، کنترل حجم زیاد آب سطحی (دریاچه‌ها و رودخانه‌ها) ممکن است در کشورهای در حال توسعه عملی نباشد. اما، اجرای بخصوص بعضی از عملیات آبزی‌پروری ویژه برای پیشگیری از شیوع ترماتودهای بیماریزای ماهی برای انسان می‌تواند عملی باشد (FAO,1974).

اولویت باید به پیشگیری از آلودگی آب با مدفوع انسان و حیوانات اهلی داده شود. استفاده رو به رشد از پساب‌ها در آبزی پروری و کشاورزی احتیاج به مدیریت بسیار پیشرفته دارد. باید مـواد دفعـی و آلـوده و مظنـون را بـرای جلوگیری از آلودگی منابع آب‌ها به میزبانهای واسط انگلی را از بـین بـرد. ایـن بـدان معنـا نیسـت کـه اسـتفاده بهداشتی، از ضایعات، پساب‌ها و لجن‌هایی که بصورت بهداشـتی تصـفیه شـده در اسـتخرهایی کـه بـه خـوبی مدیریت می شوند، مورد قبول نمی‌باشند. اگرچه این راهنمایی کیفیت برای آب مناسب و بدون آلودگی بـه تخـم کرم پهن را مورد تأکید قرار می‌دهد.اما کابرد آن به ندرت برای استخرهای کوچک پرورش ماهی در آسیا عملی است.ولی بهرصورت باید به‌عنوان یک هدف موردنظر باشد.

بطورکلی سیستم‌های تصفیه فاضلاب‌های سنتی برای از بین بردن تخم‌های کرمهای پهن مؤثر نیستند. مشخص شده است که استفاده از فیلتراسیون سریع شنی برای از بین بردن بعضی از تخم‌ها مؤثر است اما مـوثر بـودن آن در از بین بردن همهٔ تخم‌های کرم‌های پهن نامعلوم اسـت. راهنمـای کلـی و ثابـت شـده بـرای تصـفیه لجـن، فاضلاب، حرارت دادن آن در بیش از $55^{\circ}C$ است.بهرصورت تأثیر ایـن روش حـرارت‌دهـی بـه‌طـور ویـژه روی تخمهای ترماتودها آزمایش نشده است (WHO,1995).

WHO و FAO توصیه‌هایی را برای سیستم‌های حصپ در پرورش ماهی جهت کنترل انگل‌هـا بـه شـرح زیـر منتشر کرده‌اند (WHO,1995 ؛ Ahmed,1992):

به کاربردن روش حصپ برای کنترل انگل‌های بیماریزای ماهی برای انسان باید با ارزیابی خطراتی آغاز شود که گونه مخصوص ماهی (مثل کپور) که در آن منطقه صید شد و یا پرورش میشود، آلوده به انگل می‌باشد. همچنین خطر بیماری‌زایی گونه نیز باید مشخص شود. این خطر بیماری‌زایی به دو عامل بستگی دارد ۱) به نوع انگـل ۲) آیا آلودگی که از طریق تغذیه از ماهی ایجاد می‌شود، با حرارت پخت از بین مـی‌رود و یـا اینکـه بـه فرآینـدهای آماده‌سازی بیشتری قبل از مصرف احتیاج دارد. خطر دیگری که وجود خواهد داشت و باید روشن شود این اسـت که ماهی صید شده از مناطق آلوده (بصورت بومی) بوده و به صورت خام و یا به صورت نیمه پخته شده مصـرف می‌شود. دستورالعمل حصپ برای هر فرآورده و برای هر واحد تولید مخصوص آن گونه یا آن واحد تولیدی است. باید تاکید نمود که در هر مورد، مطالعه‌ای دقیق عملیات در زنجیرهٔ تولید، فرآوری، بازاریابی و آماده‌سـازی جهـت شناسایی خطرها و نقاط کنترل بحرانی برای آن مورد خاص ضروری است.

وقتی که تجزیه وتحلیل وضعیت اندازه‌گیری حصپ کامل شد و برنامه برای اجـرا آمـاده گردیـد، آمـوزش همگـانی (افراد مشمول بکار در آن واحد) باید داده شده بوسیله حصپ همهٔ افراد درگیر در برنامه باید انجام شود، مثل پـرورش دهنده ماهی، خریدار، تولیدکننده محصول، فروشندهٔ غذا، مدیران رستوران و غیـره بایـد ایـن آمـوزش‌هـا را دیـده و

اصول آن را فهمیده و دیدگاه روشن از نقش خودشان در سیستم داشته باشند. برای اجـرای برنامـه حصـپ بـه‌طـور کامل و کاربردی شدن آن، افزایش ارتباطات برای ارتقای دادن به درک و همکاری بـین جامعـه علمـی، بـین افـراد جامعه و سازمان‌های تنظیم کننده قوانین در موارد غذا ضروری و الزامی خواهد بود.

تلاشی اخیراً برای اجرای برنامه حصپ جهـت کنتـرل *Opistorchis viverrini* در کپـور پرورشـی (*puntius gonionotus*) از تایلنـد گـزارش شـده اسـت (Kamboonraung, *et al.*,1997). بـا اسـتفاده از چنـد گـروه تخصصی (مسئولین بهداشت مواد غذائی، متخصصین انگل شناسی، آبزی پروری، بهداشت غذا) نشان داده شد که با اجرا استراتژی HACCP می‌توان از شیوع O.*viverrini* در کپور پرورشی جلوگیری نمود. در این تحقیق تأکید بر از بین بردن تخم‌های کرم‌های پهن دراستخرهای پرورشی گذاشته شده بود.

روش های اختصاصی برای تشخیص و آلودگی زدایی از ماهیان آب شیرین بـه خـوبی ماهیـان آب دریـا توسـعه نیافته است. بهرحال، روش‌های آزمایشگاهی برای تشخیص بعضـی از ترماتودهـای بیمـاریزای در مـاهی بـرای انسان اخیراً بوسیله (WHO,1995) انتشار یافته که به شرح زیر خلاصه می‌شوند:

۱-۷-۸- روش‌های بازرسی

۱ ـ استفاده از روش فشردن

الف) ماهی را در چهار قسمت کالبد شکافی کنید (باله‌ها، فلس‌ها، بافت زیرجلدی و عضله). هر قسمت با له کردن و مشاهده محتویات آن در زیر میکروسکوپ برای شناسائی و تعیین پراکندگی تعداد لاروهای مورد آزمایش قـرار دهید. بعضی از نمونه مورد آزمایش ممکن است افزودن چند قطره آب یا آب نمک مورد نیاز باشـد، بـویژه بـرای باله‌ها و فلس‌ها برای شناسائی *Clonorchis sinensis* و *Opisthorchis spp* بافت زیرجلدی و عضله باید آزمایش شوند. برای شناسائی *Metagoniumus yokogawi*، فلس‌ها و باله‌ها باید ابتداء مورد آزمایش واقـع شوند. برای بررسی نمونه‌ها از بزرگنمایی کم (۳۰X یا ۵۰X) میکروسـکوپ دو چشـمی[1] کـه نـور از زیـر تابیـده می‌شود، استفاده بعمل می‌آورید. برای آزمایش بافت، قطعه‌ای از آن (۱ ـ ۰/۵ گرم) را بین دو لام شیشـه‌ای لـه کنید و سپس آن را با روش بالا بوسیله میکروسکوپ آزمایش کنید.

ب) شناسائی لارو انگل (Metacercariae) Encysted larvae متاسرکر را از نظر مورفولوژیکی بـه وسـیله میکروسکوپ بااندازه گیری اندازه و مشخصات شکل سیست و ویژگیهای‌اندامهای داخلی آن را از هم تمایز دهید.

[1] - Binocular dissecting stereomicroscope

اگر شناسائی متاسرکر فقط جهت شناسایی گونه بررسی می‌شود در این صورت می‌توان انگل را از نمونه جدا نمود. برای این کار از پنس و سوزن کالبد شکافی جهت تشریح آنها استفاده بعمل آورید. همچنین می‌توان با مراجعه به منابع استاندارد انگل‌هایی که کالبد شکافی شده‌اند از شکل آن‌ها جهت راهنمایی بهره گرفت.

پ) اگر تعداد کل متاسرکر را باید تعیین نمائید، می‌توان اینکار را با ضرب کردن وزن ماهی به گرم در تعداد متاسرکرهای مشاهده شده در هر گرم بافت انجام داده،سپس می‌توان تعداد لاروها را در هر گرم از نمونه گزارش نمود.

۲ ـ روش هضم (برای جداسازی لارو انگل ها)

الف) ماهی را به ۵ قسمت تقسیم کنید: سر، تنه جلوئی، تنه پشتی، دم و بافت زیرجلدی. هر قسمت به‌طور جداگانه با مایع معده‌ای صنعتی[1] هضم نمائید و لاروهای جدا شده جهت تعیین میزان پراکندگی‌شان را شمارش نمائید برای هر آزمایش قدم‌های زیر باید برای هر نمونه به کار گرفته شود.

ب) تکهٔ بزرگی از ماهی (۲۰ ـ ۱۰ گرم) را با استفاده از چرخ گوشت چرخ کنید و با ۳۰۰ ـ ۲۰۰ میلی‌لیتر عصاره معده‌ای مصنوعی (۰/۶ درصد Hcl و ۱٪ پپسین در آب مقطر) مخلوط کنید.

پ) مخلوط حاصله را در فلاسک (حاوی Glass beads) در $37C^{\circ}$ به مدت ۴ ـ ۳ ساعت اینکوبیت[2] و گه به گاه تکان بدهید و یا با استفاده از یک صفحه مجهز به هم زن با میله شیشه‌ای به هم بزنید. اگر از صفحهٔ مخلوط‌کننده استفاده شود و یا بافت ماهی نرم باشد هضم نمونه ممکن است کمتر از سه ساعت طول بکشد.

ت) لاروهای آزاد شده از مواد و بقایای نمونه را به وسیله عمل رسوب دادن مکرر در آب مقطر جداسازی کنید. در جداسازی به روش رسوب دادن، مایع شفاف روی رسوب حداقل سه بار باید تخلیه شود. تشخیص انگل‌ها ممکن است با ریختن رسوب در ظرفی سیاه یا قرار دادن ظرف شیشه‌ای در بالای یک کاغذی سیاه آسان شود. لاروهای جدا شده را روی یک صفحه شیشه‌ای (Watch Glass) جمع کنید و آنها را زیر میکروسکوپ دو چشمی[3] شمارش نماید.

ث) در مواقع ضروری، میتوان متاسرکرها را در آب نمک یا درجه حرارت $5C^{\circ}$ ـ ۴ تا ۳۰ روز نگهداری نمود.

---

[1] - Artificial Gastric Juice
[2] - Incubhte
[3] - Binocolar Dissecting Stereomicroscope

۳ ـ روش تشخیص انگل در بافت ماهی بوسیله نور[1]

روش زیر از پانزدهمین چاپ کتاب AOAC که درسال ۱۹۹۰ توسط K و Helicمورد ویرایش قرار گرفته (Arlington ,VA,A O A,Inc.,1990) برای تشخیص متاسرکرهای .*Opisthorchis* spp یا C.*sinensis* به خاطراندازهٔ کوچک‌شان مناسب نیست. دقت نتایج می‌تواند با ضخامت فیله، مقدار رنگدانه، روغن در فیله و وجود پوست روی فیله تحت تأثیر قرار گیرد. بعضی از لاروها با این روش قابل تشخیص نیستند. اما مزایای این روش، سریع و ارزان بودن آن است. همچنین باعث از بین رفتن فرآورده نمیشود و احتیاج به آموزش کمی‌برای انجام آن وجود دارد. این روش احتیاج به یک میز Candling دارد. بدین ترتیب که منبع نور در زیر یک صفحه نیمه شفاف قرار گرفته که این منبع، نور را به صفحه نیمه شفاف که فرآورده در روی آن قرارگرفته برای تشخیص انگل می تاباند.

الف) فیله بدون پوست (Fish steak) را روی سطح روشن قرار دهید. فیله‌های ضخیم را می‌توانید برای سهولت عبور نور از میان آن از طول برش بدهید.

ب) فیله‌ها را از نظر وجود انگل آزمایش کنید. لاروهای نزدیک یا روی سطح فیله معمولاض به آسانی دیده می شوند. لاروهای موجود در درون فیله ممکن است به صورت لکه‌های تیره‌ای در بافت دیده شوند. نمونه برداری از این نقاط تیره می‌تواند حضور انگل‌ها را مشخص کند.

پ) شمارش دقیق تعداد متاسرکرها را می توان با استفاده از روش هضم فیله‌های آلوده انجام گردد. علاوه بر روش‌های که در بالا توضیح داده شدند، روش‌های دیگری برای تعیین انگل‌های موجود در ماهی وجود دارند که این روش‌ها به وسیله سازمان‌های بازرسی ماهی استفاده نمی‌شوند. مثلاً یک روش ELISA برای تعیین لاروهای آنیزاکیس (A.*simplex*) درماهی (Saith) گزارش شده است (Huber *et al.*,1989). بهرحال، پیشرفت بیشتری در این روش مخصوصاً برای بهینه‌سازی و ویژه نمودن آن برای ماهی تاکنون انجام نشده است (Ko,1995). اگر چه، قابلیت کاربرد و انعطاف‌پذیری روش تشخیصی براساس اصول مولکولی هر روزه در حال توسعه است اما تحقیقات در این زمینه برای تشخیص انگل‌های ماهی بنظر می‌رسد خیلی کم مورد توجه قرار گرفته است (Who 1995, Annex 7).

---

[1] - Candling

۲-۷-۸- فرآوری

روشهای مناسب برای غیرفعال‌سازی انگل‌های ماهیان آب شیرین به جز برای تعداد خاصی از متاسرکر ترماتودهای به خوبی توسعه نیافته است (Farkas,1987). استفاده از دادن حرارت برای مرگ انگل‌های ماهی روش مناسبی تشخیص داده شده است ولی باید دقت شود که میزان حرارت به قدری باشد که باعث سخت شدن بافت وتولید رنگ سفید و یا مات در سراسر فیله گردد (جدول ۱-۸). بهرحال، *Opisthorchis* spp. ممکن است نیاز به دادن حرارت حداقل به مدت۳۰ دقیقه در $70^{\circ}C$ داشته باشد. انجماد می‌تواند برای از بین بردن متاسرکرها نیز مؤثر باشد (جدول ۱-۸). هم چنانکه روش‌های دیگر فرآوری مثل کنسرو کردن، نمک زدن، خشک کردن، دودی کردن، تخمیر کردن و غیره در صورتی که این روشها طبق دستور Codex و یا سازمان‌های بهداشت مواد غذائی انجام شوند برای غیر فعال‌سازی انگل‌ها مؤثر خواهند بود. ولی این روش‌ها در کشورهایی که انگل‌ها بومی‌آنجا هستند، چندان مؤثر نیستند. استفاده از اشعه می‌تواند به‌عنوان یک روش مناسب حتی در دوز کم (کمتر از 1 Krad). برای از بین بردن انگل‌های سستود و نماتود ماهی به کار رود (Farka,1987 ; Loakaranu & Murrel,1999) این روش برای ماهی‌هایی که در حجم زیاد (Bulk) حمل و نقل می شوند نیز قابل اجرا است. استفاده از تابش اشعه خیلی به آهستگی در حال توسعه است مخصوصاً به خاطر عدم رغبت مصرف‌کننده، قوانین مورد نیاز سازمان‌های کنترل کننده و هزینه‌های مربوط به این روش که همگی موجب شده‌اند تا استفاده از این روش محدود باشد. در بسیاری از مواقع، تابش اشعه برای از بین بردن یک انگل بیماریزای ماهی از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نخواهد بود، اما در صورتی که برای حفظ سلامتی فرآورده و سالم کردن آن از عوامل بیماریزائی در یک دامنه وسیعتر چون باکتریهای بیماریزا ممکن است استفاده از آن اقتصادی و ضروری به نظر برسد.

جدول ۱-۸ شرایط فرآیند مواد غذائی جهت جلوگیری از شیوع انگل *Erematode metocercariae* از طریق مواد غذایی (*WHO*,۱۹۹۵)

فرآیند یا متغیرها	انگل	شرایط فرآیند	
حرارت	O.*viverrini* free metacercariae	درجه	زمان
		۵۰°C	۵ ساعت
		۷۰°C	۳۰ دقیقه
		۸۰°C	۵ دقیقه
اسیدیته [a]		غلظت c	زمان
سرکه تجارتی	O.*viverrini* free metacercariae	٪۴	۱ ساعت
اسید استیک	O.*viverrini* free metacercaniae	٪۴	۱/۵ ساعت
اسید لاکتیک	O.*viverrini* free metacercaniae	٪۴	۱/۵ ساعت
سیتریک اسید	O.*viverrini* free metacercaniae	٪۴	۱ ساعت
شور نمودن (Nacl)[b]	Opisthorchis metacercariae in fish	غلظت C	زمان
		٪۹	۱۰ روز
		٪۱۰	۳/۶ روز
		٪۲۰	۱۲ ساعت
		٪۳۰	۱ ساعت
		٪۱۳/۶	۲۴ ساعت
انجماد	Clonorchis and Opistorchis metacercariae in Fish	−۱۰°C	۵ روز
	O.felineus metacercariae 1n fish	−۲۸°C	روز
		−۳۵°C	۱۴ ساعت
		−۴۰°C	۴۰ ساعت
	غلظت نمک در ماهی تخمیر شده‌اندازه گیری نشده	فعالیت آبی‌اندازه گیری baw نشده	اندازه گیری نشده PH[a]

۸-۸- گرایش‌های آینده

پیش‌بینی روش‌های آینده برای انهدام انگل‌های بیماریزا در ماهی برای انسان، خطرزا می‌باشد و علت آن را تأثیرات نامعلوم جهانی، تغییرات محیطی، جمعیت‌شناسی و چگونگی تغییر در فعالیت‌های صنعتی و افزایش

خطرات مرتبط به آن می‌باشد. وجود انگل‌های بیماریزا در بین حیوانات اهلی و وحشی و جمعیت‌های انسانی و برهم خوردن تعادل بین آنها می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی، تغییرات محیطی، جابه جائی انسانها و حیوانات، صادرات و توزیع مواد غذایی باشد.(Daszak *et al.*,2000)

انگل‌های ماهی که تحت تأثیر این عوامل بالا قرار می‌گیرند و باعث تغییر در تعداد آنها در پرورش ماهیان آب شیرین و دریائی می‌شوند، بسیار مهم‌اند. پیش بینی می‌شود که تقاضای جهانی برای مصرف ماهی و فرآورده‌های آن در حال افزایش است. (Deardorff,1991۱;WHO,1995; FAO,1992) بخصوص برای ماهیان آب شیرین که تولیدکنندگان آسیائی بازارهای سودآورتری را برای تولیدات خود در کشورهای توسعه یافته جستجو می‌کنند. این موضوع می‌تواند باعث افزایش خطر در مناطق شهری به دلیل فروش ماهی غیرمنجمد وارداتی توسط حمل و نقل هوائی بوسیله تولیدکنندگان شود که برای دستیابی سود بیشتر انجام می‌دهند. (; Nawa, *et al.*,2001 Kaferstein,1944).

همچنین خطر ورود این انگل ها به مناطق جدید بوسیله ماهی تازه و بومی شدن آنها وجود دارد، خطر دیگر ، با توجه به افزایش مسافرتهای جهانی توسط گزارشگران باید مورد نظر قرار گیرد (Ko,1935).

تقاضای روزافزون برای مصرف ماهی از مناطق بومی، مخصوصاً مصرف آن به صورت خام و یا به صورت نیمه پخته شده می‌تواند باعث تغییر ذائقه در مردم و در نتیجه منجر به بروز انواع بیماریهای ناشی از انگل‌های ماهی گردد (Deardorff,1991 , Ko,1995) یک نمونه معروف آن در آمریکا، آلودگی این کشور به انگل دیفیلوبوتریوم است، که در این کشور بومی‌شده است. آلودگی به این انگل از اسکاندیناویا بعلت مهاجرت مردم آن کشور به آمریکا و استفاده از غذاهای دریائی خام یا نیمه خام مورد علاقه شان می‌باشد.

ظاهراً حوادث محیطی غیر مرتبط با انگل ممکن است شیوع انگل‌ها را در یک منطقه یا مناطقی از دنیا را تشدید کنند. ایشیکورا و همکارانش (Ishikura *et al.*,1998) گزارش کردند که تغییرات آب و هوایی جهان تأثیر زیادی روی شیوع بیماری ناشی از انگل آنیزاکیس (Anisakidosis) در اقیانوس آرام غربی گذاشته است. مثلاً واقعه ELNino موجب کاهش فراوانی و پراکندگی میزبانهای واسط و نهایی انگل‌ها (مثلاً Sea Lions) شده اند که به موجب آن چرخه زندگی انگل مختل شده و خطر انتقال آن کاهش یافت. در مقابل در سال ۱۹۷۲ در پی قانون حفاظت از پستانداران دریائی، رشد بعضی از گونه‌های آن‌ها مثل شیر دریائی، دلفین و فک به شدت افزایش یافت که در پی این افزایش، باعث افزایش آلودگی ماهی‌ها به انگل نیز گردید (Ishikura,1998 ; Deardoff,1991).

چنین مثال‌هایی از متغیرها در شبکهٔ غذایی، نیاز به روشهای همه جانبه برای ارزیابی خطراتی کـه فـرآورده‌هـای ماهی و بازار آن را تهدید می‌کند را دو چندان ساخته است. هم چنین آگاهی رو بـه رشـد مـردم دربـارهٔ خطـرات تهدیدکنندهٔ سلامتی آنها از راه غذا، نیاز به فرآیندهای موثرتر و ارزیابی بهتـر خطـر را تقاضـا مـی‌نمایـد. صـنعت فرآوری و بازاریابی فرآورده‌های ماهی برای بهبود کنترل و ارزیابی خطر جهت برآوردن انتظـارات مصـرف‌کننـده نیاز به پیشرفت و کارهای تحقیقاتی بیشتری را دارد. یک راهکار مهم برای اطمینان از کیفیت و سلامتی فرآورده ایجاد یک سیستم یک پارچه جهانی بازرسی ماهیان دریائی و آب شیرین خواهد بود (Deardorff,1991).

۹-۸- منابع فصل هشتم

ADAMS AM and DEVLIEGER DD (2001). Seafood Parasites: Prevention, inspection and HACCP, in Hui YH, Sattar SA, Murrell KD, Nip W-K, Stanfield PS. *Foodborne Disease Handbook*, 2nd edn, New York, Marcel Dekker, 407–23.

ADAMS AM, MURRELL KD and CROSS JH (1997). Parasites of fish and risks to public health. *Rev.Sci.Tech.Off.Int.Epiz*, 16, 652–60.

AHMED FE (1992). Review: Assessing and managing risk due to consumption of food contaminated with microorgnisms, parasites, and natural toxins in the US. In *J.Food.Sci.Technol*., 27, 243–60.

AKAHANE H, IWATA K and MIYAZAKI I (1982). Studies on *Gnathostoma hispidum*. Fedchenko, 1872 parasitites in loaches imported from China. *JapJ.Parasitol*., 31, 507–16 (in Japanese).

AKAHANE H, KOGA M, ARGUMEDO RL, SARABIAN DO, PRIETO LG, DIAZ-CAMACHO SP, NUMTANONG S, WAIKAGULl J and KURAMOCHI T (2000). On *Gnathostoma binucleatum*: A causative agent of the Mexican gnathostomiasis. *Proceedings 3rd Seminar on Foodborne Parasitic Zoonoses*, Bangkok, Mahidol University, p. 89.

ANDERSON RC (2000). *Nematode Parasites of Vertebrates*, 2nd edn, CABI Publishing, New York.

AUDICANA MT, ANSOTEGUI IJ, FERNANDEZ DE CORRES L and KENNEDYMW (2002). *Anisakis simplex*: dangerous – dead and alive? Trends in Parasitol, 18, 20–25.

BOGITSCH BJ and CHENG TC (1990). *Human Parasitology*, PHiladelpHia; Sauders College Publishing.

BRAKE RJ, MURRELL KD, RAY EE, THOMAS JD, MUGGENBERG BA and SIVINSKI JS(1985). Destruction of *Trichinella spiralis* by low-dose irradiation of infected pork. *J. Food Safety*, 127–43.

CHAI JY and LEE SH (1991). Intestinal trematodes infecting humans in Korea. *Southeast Asian J.Trop.Med.Hyg*., 22, 163–70.

CHITONANDH H and ROSEN L (1967). Fatal encepHalomyelitis caused by the nematode *Gnathostoma spinigerum*. *Am. J. Trop. Med. Hyg*., 16, 638–45.

CROSS JH (2001). Fish and invertebrate-borne helminths, in Hui YH, Sattar SA ،

Murrell KD, Nip W-K and Stanfield PS. *Foodborne Disease Handbook*, 2nd edn, Marcel Dekker Inc., New York, pp. 249–88.

DASZAK P, CUNNINGHAM AA and HYATT AD (2000). Emerging infectious diseases of wildlife – threats to biodiversity and human health. *Science*, 287, 631–4

DEARDORFF TL (1991). Epidemiology of marine fishborne parasitic zoonoses. *Southeast Asian J.Trop.Med.Publ.Hlth*, 22, 146–9.

DEARDORFF TL and KENT ML (1989). Prevalence of larval *Anisakis simplex* in pen-reared and wild-caught salmon (salmonidae) from Puget Sound, Washington. *J.Wildlife Dis*, 25, 416–9.

DIAZ-CAMACHO SP, DE LA CRUZ-OTERO MC, ZANUETA-RAMOS ML, OSUNA-RAMIREZ I, BAYLISS-GAXIOLA S, NAWA Y and WILLMS K (2000).

Epidemiological survey of gnathostomosis in Sinaloa, Mexico (2000). *Proceedings, 3r Seminar on Foodborne Parasitic Zoonoses*, Bangkok, Mahidol University, p. 88.
EDOARDO SL (1991). Foodborne parasitic zoonoses in the PHilippines. *Southeas Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth*, 22, 16–22.
FAO (1974). Fish and shellfish hygiene. Report of a WHO Expert Committee convened in cooperation with FAO. WHO Technical Report Ser., No. 550.
FAO (1992). The state of food and agriculture. FAO Agriculture series No. 25. Food and Agricultural Organizations of the United Nations, Rome.
FARKAS J (1987). Decontamination, including parasite control, of dried, chilled and frozen foods by irradiation. *Acta alimentaria*, 16, 351–84.
GIBODA M, DITRICH O, SCHOLZ T, VIENGSAY T and BOVAPHAN (1991). Current status of foodborne parasitic zoonoses in Laos. *Southeast Asian J.Trop.Med.Publ.Hlth*, 22, 56–61.
GRACZYK TK and FRIED B (1998). Echinostomiasis: a common but forgotten food-borne disease. *Am.J.Trop.Med.Hyg*. 58, 501–4.
HASWELL-ELKINS MR, SITHITHAWORN P and ELKINS D (1992). *Opisthorchi viverrini* and cholangiocarcinoma in Northeast Thailand. *Parasitol. Today*, 8, 86–9.
HUBER C, MARTLBAUER E, PRIEBE K and TERPLAN G (1989). Entwicklung und Anwendung eines ELISA zum Nachweis von Antikorpen gegen *Anisaki simplex* (Nematoda) beim Seelachs *Pollachius virens*. *Deut. Vet.Gesellschaft*, 28, 272–5 (In German).
ICHIKI Y, TANAKA T, HARAGUCHI Y, TANAKA K and NAWA Y (1990). A case of severe metagonimiasis with abdominal symptoms. *Jap. J. Parasitol*., 39, 72–74.
IM KI, SHEN H, KIM B and MOON S (1995). Gastric anisakiasis in Cheju-do, Korea. *Kor.J.Parasitol*., 33, 179–86.
ISHIKURA H and KIKUCHI K (1990). *Intestinal Anasakinsis in Japan*. Springer-Verlag, Tokyo.
ISHIKURA H, KIKUCHI K, NAGASAWA K, OOIWA T, TAKAMIYA H, SATO N and SUGANE K (1992). Anisakidae and anisakidosis, in Sun T, *Progress clinical parasitology*, Vol. III, Springer Verlag, New York, 43–102.
ISHIKURA H, TAKAHASHI S, YAGU K, NAKAMURA K, KON S, MATSURA A, SATO N and KIKUCHI K (1998). Epidemiology: global aspects of anisakidosis. In Tada I, Kojima S and Tsuji M. *Proceedings, ICOPA IX*, Monduzi Editore Sp.A., 379–82.
KA¨ FERSTEIN F (1994). Comments, In Maurice J, *Is something lurking in you liver? New Scientist*, 19 March, 26–31.
KHAMBOONRAUNG C (1991). On emerging problems in food-borne parasitic zoonoses: impact on agriculture and public health. *Southeast Asian J.Trop .Med. Publ. Hlth*., 22, 1–7.
KHAMBOONRAUNG C, KEAWVICHIT R, WONGWARAPAT K, SUWANRANGSI S, HONGPROMIGART M, SUKHAWAT K, TONGUTHAI K and LIMA DOS SANTOS CA (1997). Application of hazard analysis critical control point (HACCP) Fishborne zoonotic parasites: epidemiology, detection and elimination 139as a possible control measure for *Opisthorchis viverrini* in cultured carp (*Puntius gonionotus*). *Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth*., 28 Suppl. 1, 65–72.

KLEBANOVSKII VA, SMIRNOV PL, LABANOVSKAYA IA and OBGOL'TS AA (1977).
Human helminthiasis in eastern Taimyr (Katangskii region), In *Probl.epidem. profilak. pirod. bolez*., Zapolyar'e, (Sb. Nauch.rabot), Omsk, USSR: Omskii Meditsinskii Institut, 144–64 (In Russian).
KO R (1995). Fish-borne parasitic zoonoses, In Woo PTK, *Fish Diseases and Disorders*, Vol. 1, CAB International, Cambridge, UK, 631–71.
KUMAR V (1999). *Trematode infections and diseases of man and animals* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, and ITG Press, Antwerp.
LI X (1991). Foodborne parasitic zoonoses in the People's Republic of China. *Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth*., 22 Suppl., 31–4.
LOAHARANU P and MURRELL D (1994). A role for irradiation in the control of foodborne parasites. *Tr. Food. Sci. Technol*., 5, 190–5.
LOAHARANU P and SANTASIRI S (1991). Preliminary estimates of economic impact of liver fluke infection in Thailand and the feasibility of irradiation as a control measure. *Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth*., 22, 384–90.
MCCARTHY J and MOORE TA (2000). Emerging helminth zoonoses. *Int.J.Parasitol*., 30, 1351–60.
MACLEAN JD, ARTHUR JR, WARD BJ, GYORKOS TW, CURTIS MA and KOKOSIN E(1996). Common-source outbreak of acute infection due to the North American liver fluke *Metorchis conjunctus*, *Lancet* 347, 154–8.
MACLEAN JD, CROSS J and MAHANTY S (1999). Liver, lung and intestinal fluke infections, in Guerrant RL, Walker DH and Weller PF, *Tropical Infectious Diseases*, Vol. II, Churchill Livingstone, PHiladelpHia, pp. 1039–57.
MAGGI P, CAPUTI-IAMBRENGHI O, SCARDIGNO A, SCOPPETTA L, SARACINO A, VALENTE M, PASTORE G, ANGARANO G (2000). Gastrointestinal infection due to *Anisakis simplex* in southern Italy. *Eur. J. Epidemiol*., 16, 75–8.
MAO S (1988). Control of parasitic diseases in China. *Chinese Med. J*., 100, 445–53.
MAS-COMA S, CASTELLO MDB, MARTY AM and NEAFIE RC (2000). Hepatic trematodiasis. In Meyers WM, Neafie RC, Neafie AM and Wear DJ. *Pathology of Infectious Diseases*, Vol. 1, Helminthiases, Armed Forces Institute of Pathology, Washington DC, 69-92.
MIYAZAKI I (1966). *Gnathostoma* and gnathostomiasis in Japan. In Morishita K, Komiya Y, and Matsubayashi H. *Progress of Medical Parasitology in Japan*, Vol. III, Meguro Parasitol. Mus, Tokyo, pp. 530–86.
MURRELL KD (1995). Foodborne parasites. *Int. J. Environ. Hlth. Res*., 5, 63–85.
NAWA Y (1991). Historical review and current status of gnathostomiasis in Asia. *Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth*., 22, 217–19.
NAWA Y, NODA S, UCHIYAMA-NAKAMURA F and ISHIWATA K (2001). Current Status of foodborne parasitic zoonoses in Japan. *Southeast Asian J. Trop. Med. Hyg*. (Suppl.), in press.
OSHIMA T (1984). Anisakiasis, dipHyllobothriasis and creeping disease –140 Safety and quality issues in fish processing changing pattern of disease in Japan, In Ko RC, *Current perspectives i parasitic diseases*, University of Hong Kong, 93–102.

RAUSCH RL, CROSS JH and CROSS AW (1998). Other cestodiasis and dipHyllobthriasis in Wallace RD, Doebbeling BN and Last JM, *Public Health and Preventive Medicine*, Appelton and Lange, Stamford, Conn, pp. 377–8.
ROMANENKO NA (1986). Emergence and current status of a dipHyllobothriasis focus in the Krasnoyarsk water reservoir. *Med. Parazit* No.1, 69–73 (In Russian).
SOH CT (1984). The current status of human parasitic infections in Korea. In Ko RC, *Current Perspectives in Parasitic Diseases*, University of Hong Kong, 83–92.
TODD ECD (1989). Preliminary estimates of costs of foodborne disease in the United States. *J. Food. Protect*., 52, 595–601.
VAN THIEL PHF, KUIPERS FC and ROSKAM R (1960). A nematode parasite of herring, causing acute abdominal syndromes in man. *Trop. GeograpH. Med*., 2, 97–113.
WHO (1995). *Control of foodborne trematode infections*. WHO Tech. Rept. Ser. 849.
WILLIAMS H and JONES A (1994). *Parasitic worms of fish*. Taylor and Francis, London.
YOUNG PC (1972). The relationship between the presence of larval anisakine nematodes in cod and marine mammals in British home waters. *J. Appl. Ecol*., 9, 459–485.
Fishborne zoonotic parasites: epidemiology, detection and elimination 141.

« **فصل نهم**»

تشخیص سریع توکسین‌ها در غذاهای دریائی

۹-۱ - مقدمه

نرمتنان فیلترکننده مثل صدف، اویستر (Oyster) و ماسل (Mussels)، می‌توانند طی فرآیند کشند قرمز (Red tide) برای انسان سمی‌شوند. فرآیند کشند قرمز در نتیجه رشد سریع نوعی جلبک تک سلولی میکروسکوپی اتفاق می‌افتد که معمولاً مضر نیست. متأسفانه، تعداد کمی‌از گونه‌ها (جلبک‌های مضر[1] HAB) تولید توکیسن‌های قوی می‌کنند که می‌توانند در زنجیرهٔ غذایی منتقل شده و سبب مرگ زئوپلانکتونها، ماهیان صدف‌دار و نهایتاً انسانهایی که از آنها چه به‌طور مستقیم و یا غیرمستقیم تغذیه کرده‌اند بشوند.

در حال حاضر تهدید روزافزون مسمومیت با غذاهای دریایی شواهد زیادی دارد. سردسازی فرآورده در محل صید و حمل و نقل مناسب آن باعث شده است که شیوع این موارد بسیار کاهش یابد. در اروپا، اقتصاد بسیاری از شهرهای ساحلی وابسته به تولیدات دریائی است، از این‌رو تشخیص توکسین‌ها بی‌نهایت مهم است. به‌طور کلی برای انسان چهار نوع بیماری ناشی از مسمومیت با آبزیان صدف‌دار و شکوفایی جلبک سمی‌وجود دارد: مسمومیت با آبزیان صدف‌دار که فلج‌کننده است[2] (PSP)، مسمومیت با آبزیان صدف‌دار که توکسین‌ها عصبی دارند[3] (NSP)، مسمومیت با آبزیان صدف‌دار که سموم فراموشی‌آور دارند.[4] (ASP) و مسمومیت با آبزیان صدف‌دار که سمومشان باعث اسهال می‌شود.[5] (DSP). شیوع این بیماریها خیلی کم است و قوانین زیادی در این زمینه برای حفاظت مصرف کنندگان از توکسین‌های آبزیان صدف‌دار به اجراء گذاشته می شود.

---

[1] - Harmful algae
[2] - Paralytic Shellfish Poisoning
[3] - Neurtoxic Shellfish Poisoning
[4] - Amnesic Shellfish Poisoning
[5] - Diarrhoeic Shellfish Poisoning

روشهایی که خیلی برای آزمایش توکسین‌های موجود در غذاهای دریائی استفاده می‌شوند شامل کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا [۱](HPLC) و آزمایش روی موش [۲](MBA) هستند. اما، این روش‌ها گران و کند هستند و به‌اندازه کافی برای استفاده روزمره یا برای تجزیه واندازه‌گیری در محیط کار مناسب نمی‌باشند، به عبارت دیگر این روش‌ها بیشتر آزمایشگاهی‌اند و قابل اجرا در محیط کار نیستند. برای تعیین سریع سموم در غذاهای دریایی، توسعه، حس‌گرهای زیستی در این زمینه مورد علاقه قرار گرفته اند. اکثر توکسین‌های در مواد غذائی دریائی ترکیبات غیر پروتئینی هستند مثل ساکسی توکسین [۳](STX) اوکادائیک اسید [۴](OA) و دومانیک اسید [۵](DA). این مولکولها به وسیله دودی کردن، منجمد کردن و پختن معمولی از بین نمی‌روند. در این زمینه، پروژه‌ای تحقیقاتی در اروپا تصویب شد، که دانشگاه رم " Tor Vergata "به‌عنوان هماهنگ کننده (Prof. G. Palleschi,Italy) از ایتالیا، دانشگاه کرک ایلند (prof.G.G.Guilnault,Ireland) و دانشگاه لیون فرانسه(prof.G. Coulet, Italy) به‌عنوان دستیار علمی در این پروژه شرکت نمودند. یک شرکت ایتالیایی (Domotek) که متخصص ساختن دستگاه های نمایشگر صفحه ای قابل حمل می باشد از اجزاء این تیم بود. الکترودهای نمایش‌گر صفحه‌ای توسط آزمایشگاه بیوسندر دانشگاه فلورانس ایتالیا توسط پرفسور (M.Mascini) ساخته شد. توسعه، ارزیابی آزمایشگاهی و کاربرد دستگاه‌ها که در این فصل آورده شده‌اند، نتیجه کار همهٔ گروههای تحقیقاتی ذکر شده در بالا هستند(۱).

در این فصل، روش‌های جدید شناسایی واندازه‌گیری توکسین های موجود درمواد غذائی دریایی براساس استفاده از حس‌گرهای ایمنی یکبار مصرف شرح داده شده‌اند. در ابتدا، آزمایش‌های شناسائی مرتبط با آنزیم [۶](ELISA) و استفاده از روش‌های الکتروشیمیایی و اسپکتوفتومتری جهت تعیین توکسین‌ها تقویت شده (Optimised) و سپس حس‌گرهای ایمنی یکبار مصرف برای‌اندازه‌گیری این توکسین‌ها با استفاده از آنتی-بادیهای اختصاصی بکار گرفته می‌شوند.

ابزار ساده و قابل حمل جیبی ساخته شده است که برای تعیین توکسین‌های در غذاهای دریائی در محل قابل استفاده است. نتایج، در مقایسه با نتایج حاصل از ابزارهای مرسوم، آزمایشگاهی، نشان دادند که می‌توان‌توکسینها

---

[1] - Hich Performance Liquid Chromatography
[2] - Mouse Bioassay
[3] - Sacitoxin
[4] - Okadaic Acid
[5] - Domoic Acid
[6] - Enzyme-Linked Immono Sorbent Assays.

درآبزیان دریایی (غذاهای دریایی) را که در آب های آلوده پرورش یافته اند را با این وسیله بطور مستقیم اندازه گیری نمود. توسعه حس‌گرهای ایمنی الکتروشیمیائی یکبار قابل مصرف نشان داد، که مزایائی چون حساسیت، سرعت، اقتصادی بودن و حساس بودن این روش در مقایسه با روش‌های تجزیه واندازه‌گیری قبلی مثل MBA و HPLC قابل مقایسه می‌باشند. از طرفی این حس‌گرهای ایمنی الکتروشیمیائی جهت آزمایش‌های تشخیص،جداسازی و تعیین توکسین‌ها با حداکثر سرعت، کاربرد دارند.

۲-۹ - سنسورهای ایمنی زیستی

حس‌گرهای ایمنی روش‌های تجزیه واندازه‌گیری هستند که به‌طور اختصاصی ترکیب ماده هدف را تعیین کرده و یک علامت در رابطه به غلظت ماده مورد آزمایش را نشان می‌دهند. حس‌گرهای ایمنی الکتروشیمیایی، آنتی-بادیها یا آنتی‌ژنها را به‌عنوان عناصر تشخیص دهنده زیستی همراه با انتقال دهنده‌های الکتروشیمیایی[1] را به کار می‌گیرند(۲).

اصول آزمایش‌های ایمنی براساس توانایی آنتی‌بادیها جهت تشکیل کمپلکس با آنتی‌ژنهای مربوطه می‌باشد. ویژگی تشخیص مولکولی خاص آنتی‌ژنها در تشخیص آنتی‌بادیهای مربوطه، منجر به آزمایش‌های خیلی اختصاصی شده که براساس اصول ایمنی پایه‌ریزی گردیده است. گزارش شدید واکنش‌های آنتی‌ژن ـ آنتی‌بادی به یکدیگر باعث دقت زیاد روش‌های آزمایشی ایمنی برای تشخیص نوع سم می‌شود. رایج‌ترین نوع آزمایش‌های ایمنی که با استفاده از ارتباط بین آنزیم و آزمایش زیستی تحت عنوان تحت ELISA[2] مشهور است امروزه مورد استفاده قرار می‌گیرد. اصول این روش به‌عنوان یک روش آزمایش ایمنی در فاز جامد می‌باشد که فعل و انفعال بین آنتی‌ژن ـ آنتی‌بادی در سطح جامد رخ می‌دهد. روش‌های مختلف ELISA وجود دارند و معروفترین آن روش آزمایش ایمنی اتصال (مستقیم یا غیرمستقیم) رقابتی بین آنتی‌ژن و آنتی بادی (۳). آزمایش‌های رقابتی مستقیم براساس رقابت آنتی‌ژنهای نشان دار شده (شاهد) بوسیلهٔ آنزیم و آنهایی که بدون اضافه شدن آنزیم (نمونه) برای مکانهای اتصال کنندهٔ آنتی‌بادی (نمونه) استفاده می‌شوند طراحی شده‌اند، در حالی که در حالت غیرمستقیم، رقابت بین آنتی‌ژنهای آزاد و غیر متحرک آنتی‌ژن در برابر نقاط متصل کننده روی آنتی‌بادیهای نشان دار شده با آنزیم صورت می‌گیرد. تعداد آنتی‌ژنهای نشان‌دار شده (برای تشخیص) بستگی به فاز جامد دارند و رابطه آنها به‌طور معکوس با غلظت آنتی‌ژن می‌باشد.

---

[1] - Electrochemical transducers
[2] -Enzyme Linked Immuno Sorbent assay

ELISA اسپکتروفتومتری با یک صفحه که دارای ۹۶ میکروتیتراسیون می‌باشد انجام می‌شود که نمونه‌ها میتوانند به‌طور همزمان‌اندازه‌گیری شوند. همه صفحه‌ها و میکروتیتراسیون‌ها از جنس از پلی‌وینیل‌کلراید ساخته شده‌اند. روش تشخیص سیستم‌های ELISA شامل افزودن ترکیب رنگ‌هنده به نمونه مورد آزمایش است و شدت رنگ ایجاد شده برابر میزان مقدار سم مورد نظر در نمونه است.

در ELISA الکتروشیمیایی، انتخاب تجزیه واندازه‌گیری ایمنولوژیکی سم با حساسیت دستگاه الکتروشیمیایی مرتبط می‌باشد. حس‌گرهای الکتروشیمیایی می‌توانند با استفاده از روش‌های‌اندازه‌گیری مختلف آزمایش را انجام دهند. بهمین دلیل حس‌گرهای مختلف که قادر به استفاده از Potentiometry ، Amperometry و یا Voltammetry ساخته شده‌اند (۴، ۵ و ۶). بیشترین دستگاه مورد استفاده، دستگاهها می‌باشد که سیستم حس‌گر آنها نزدیک به الکترود قرار گرفته و متصل به یک غشاء و یا بطور مستقیم بصورت غیر متحرک (Immobilised) در روی سطح آنها قرار گرفته‌اند.

آنزیم‌های نشان‌دار استفاده شده در چنین آزمایشهای ایمنی الکتروشیمیایی معمولاً اکسی‌ردوکتازها مثل پراکسیداز (HRP)[1] یا آنزیم‌های هیدرولیتیک مثل آلکالین فسفاتاز (AP)ها هستند که باعث تولید فرآورده های الکترواکتیو حاصل از واکنشهای آنزیمی‌می‌کنند.

حس‌گرهای الکترو شیمیائی فرصتی مناسب و بدون پیچیدگی جهت انجام تجزیه واندازه‌گیری اجزاء مواد تشکیل دهنده فرآورده‌های غذایی دور از آزمایشگاه های مرکزی را فراهم آورده‌اند. معمول‌ترین، حس‌گرهای زیستی یک بار مصرف آنهایی هستند که بوسیلهٔ تکنولوژی فیلمهای ضخیم تولید می‌شوند. توجهی ویژه به چاپگر الکترودی (Screen printed electrodes) (SPE) نشان داده شد، زیرا آنها را می‌توان به آسانی مورد استفاده قرار داد، و از مزایای دیگر آن قابلیت حمل و نقل آسان و کم هزینه بودن آن می‌باشد. یکی از مزیت‌های دیگر SPE ، یک بار مصرف بودن آن می‌باشد. از آنجا که دارای هزینه کمی‌که دارند، استفاده از آن مورد استقبال قرار گرفته است. از SPE می‌توان همراه با دستگاه‌های آزمایشگاهی دیگر برای شناسائی توکسین‌های موجود در مواد غذائی دریایی بکار برده شوند. اولین نمونه این وسیله (Prototype) ، برای‌اندازه‌گیری مواد سمی‌در مواد غذائی دریائی، با استفاده از دستگاه‌های DVP[2] و Potentiostatic و Potentiostatic بصورت آزمایشی ساخته و

[1] - Horseradish Peroxidase
[2] - Differential Pulse Volthammerty

مورد استفاده قرار گرفت. نتایج بدست آمده هم چنین با دستگاه‌های موجود در آزمایشگاه های استاندارد برای تشخیص واندازه‌گیری مقدار مواد سمی‌در مواد غذائی نیز مورد مقایسه قرار گرفته است.

۳-۹- شناسایی اسید دوموئیک[1]

اسید دوموئیک (DA) یک توکسین دریایی است (توسط فیتوپلانکتون*Nitzschia pungens* تولید می‌شود) و مهمترین علت مسمومیت با آن استفاده از آبزیان صدف‌دار می‌باشد، که باعث بیماری[2](ASP) می‌شوند. این بیماری در شرق و غرب سواحل آمریکائی شمالی دیده شده است. این سم طبیعی نادر، از تعدادی از آمینواسیدهای سمی‌برای سیستم عصبی تشکیل شده است که برعلیه گولوتات، یک ترکیب انتقال دهنده امواج عصبی درمرکز سیستم عصبی عمل میکند و باعث تولید اتصال با گلوتامات در مغز می‌کند و باعث تحریک مداوم سیستم عصبی و در نهایت ایجاد ضایعه درد می‌نماید و در نتیجه باعث از بین رفتن تعادل در انسان می‌گردد. گونه فیتوپلانکتونهای جنس *Pseudonitzschia* به‌عنوان منبع تولید DA و باعث شیوع این مسمومیت با غذاهای دریائی گزارش شده است (۷). تولید ایزومر در ساختار شیمیائی DA می‌تواند هم به طریق فتوشیمیایی و هم حرارتی انجام شود. این ایزومر آخری (حرارتی) برای غذاهای دریایی پخته شده حائز اهمیت است. این ایزومرها درجه‌های متفاوتی از سمیت برای انسان دارند (۸). روش‌های قابل اتکا جهت تجزیه واندازه‌گیری DA و ایزومرهای آن در فرآورده‌های دریایی برای حفظ سلامتی مصرف کننده غذاهای دریایی بسیار مهم هستند.

۱-۳-۹- روش‌های تجزیه واندازه‌گیری

روش آزمایشهای Bioassa با استفاده از موش‌های آزمایشگاهی معمولاً برای شناسایی توکسین‌ها در مواد غذاهای دریایی استفاده می‌شوند. این روش به‌اندازه کافی حساس نمی باشد که بتواند طبق استاندارد مقدار ۲۰ میکروگرم (۲۰mg) DA را در یک گرم از بافت قابل خوردن را تشخیص دهد. روشی که برای تعیین DA در نمونه‌های آلوده به کار می‌رود شامل گروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) همراه با روش‌های مختلف استخراج DA از نمونه است (۱۰ و۹). روش کروماتوگرافی مایع برای شناسایی DA بوسیله جذب اشعه ماوراءبنفش[3](LC-UND) اخیراً برای تعیین DA در آبزیان صدف‌دار ترجیح داده شده است (۱۲و۱۱). DA

[1] - Domoic Acid
[2] - Amnesic Shell Fish Poisoning
[3] - Liquid Chromatography – Ultraviolet Absorbance Detection

ممکن است از بافت آبزیان صدف‌دار با روش اسیدگرم (۱۳) AOAC یا بوسیلهٔ مخلوط کردن با متانول استخراج شود (۱۵ و۱۴). روش اختلاط با متانول امروزه بیشتر استفاده می‌شود چرا که این روش برای انجام تجزیه واندازه‌گیری DA به مقدار جزئی موثر می‌باشد و از طرفی به خوبی با مراحل دیگر جداسازی که براساس تبادل آنیونی قوی می‌باشد جواب می‌دهد. حد شناسایی توکسین در محلول استخراج شده ۸۰ ـ ۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر است و حساسیت در اندازه گیری بستگی به حساسیت شناساگر UV دارد. ضمناً حد تعیین DA بستگی به مقدار آن در بافت اولیه و روش استخراج وجداسازی (Clean- up) بعدی دارد.

اخیراً یک روش جدید ، روش حساس و یکبار مصرف ELISA[1] جهت تعیین مقدار DA در نمونه‌های دریایی مختلف و بدون نیاز به Clean-up کردن، براساس آزمایش کروماتوگرافی به کار گرفته شده است.

اسپکتوفتومتری

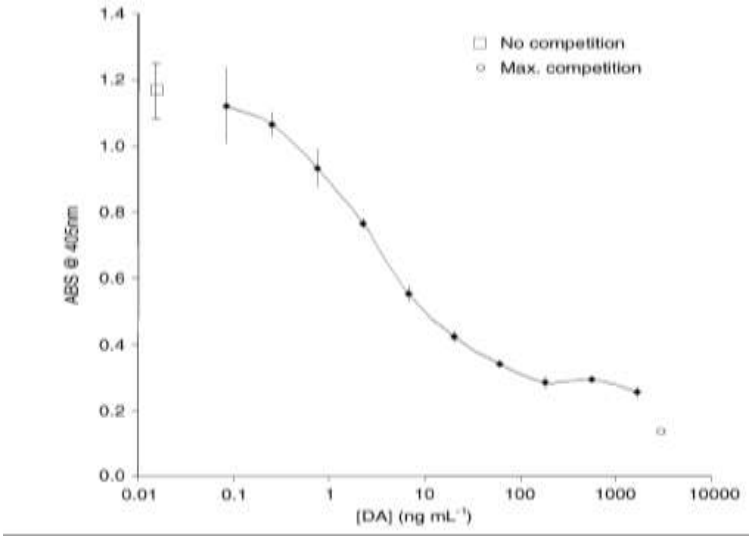
توسعه اسپکتوفتومتری ELISA قبل از مطالعه بوسیله الکتروشیمیایی، اجازه می‌داد که حد و مرز آزمایش، حد شناسایی و واکنش جانبی را قبل از انجام آزمایش با الکترود را تعریف نمود. آزمایش در یک صفحهٔ دارای ۹۶میکروپلیت بر طبق روش Garthwaite (۱۹۹۸) انجام می شد (۱۶). این آزمایش ایمنی به شکل آزمایش رقابتی غیرمستقیم انجام می گردید. در این آزمایش از آنتی‌بادیهای علیه DA و DA ترکیب شده با سرم آلبومین گاو (BSA-DA)[2] که بوسیله Toxicology and Food Safety AgResearch (NZ) برای پوشاندن و استفاده از آلکالین فسفاتاز IgG[3] اسب ضد بز(IgG-AP) برای شناسایی استفاده گردید. سوبسترا، آنزیم، فسفات ۴- نیتروفنیل 4-Nitrophenyl Phosphate (4-NPP) می باشد.

شکل ۱-۹ نتایج حاصل از آزمایش ELISA اسپکتوفتومتری غیرمستقیم با همه فاکتورهای آنالیزی که Optimised شده بودند را نشان می‌دهد. محدودهٔ عملی با مدل 4-Parameter Logistic Model محاسبه شد که با فرمول (۱-۹) زیر مشخص می‌شود

$$y = d + \left[\frac{(a-d)}{1 + \left(\frac{x}{c}\right)^b} \right] \qquad \text{(معادله ۱-۹)}$$

[1] - Enzyme-Linked Immonosorbent Assay.
[2] - Bovine Serum Albomin – Domic Acid
[3] - Horse Antigoat – Alhaline Phosphatase

که d و a مقادیر حداکثر غلظت و حداقل غلظت است (غلظت های بالاتر و غلظت صفر)، C غلظت ماده x مورد نظر است که $y=\frac{a+b}{۲}$ را ارائه می‌دهد و مرکز منحنی (IC50) را مشخص می‌کند. b شیب منحنی را می‌دهد(۱۷). میزان خطا زیر ۱۰٪ (m=3) بود و محدوده خطی برای چنین آزمایشی بین ۱ و ۱۸۵ نانوگرم در میلی‌لیتر DA می‌باشد.



شکل ۱-۹ : منحنی مقایسه‌ای برای شناسایی اسیددموئیک بوسیلهٔ آزمایش اسپکتوفتومتریک (بصورت غیرمستقیم)

مطالعه الکتروشیمیایی

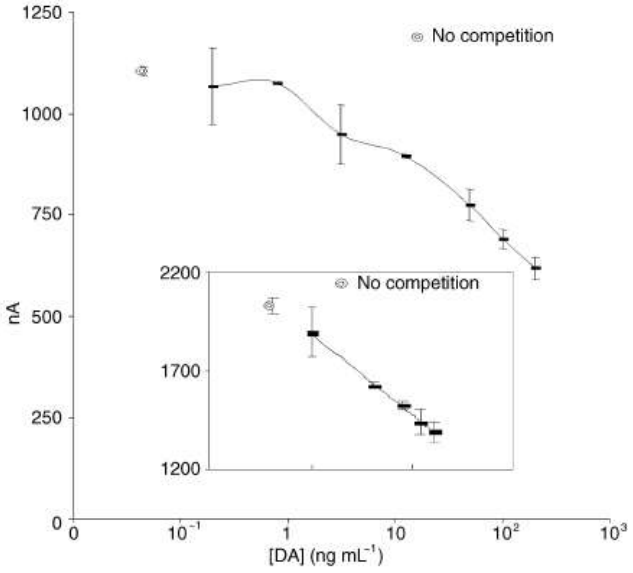
حس‌گر زیستی یکبار مصرف (طراحی شده براساس (SPE)[1] پوشیده شده با (BSA-DA)[2] برای‌اندازه‌گیری DA در بافت نرم‌تن ماسل براساس روش آماده شده است(Kreuzer,2000) (۱).

تیتراسیون صفحه شطرنجی بر روی الکترودها برای ارزیابی شرایط مناسب که منجر به ایجاد جریان کافی (یک میکروآمپر) می‌شد انجام گردید. غلظت های مختلف از محلول‌های BSA-DA و DA سرم گوسفند آماده گردید. این عملیات بااندازه گیری مقدار سپس اندازه گیری DA با استفاده از مقدار زیاد $\alpha-\text{sleep IgG}-\text{Ap}$ و SPE در ۳۰۰mv+ در مقابل(V_s) Ag/Agcl انجام شد. زمانی که این شرایط به حداکثر خود رسیدند، آنالیز

[1] - Screen Primted Electrodes
[2] -Bovine Allumin Serum-Domic Acid

غیر مستقیم در روی SPE_s صورت گرفت. یک نمونه از این آزمایش در شکل ۲-۹ نشان داده شده است که رابط مستقیمی بین نشانه حداکثر و غلظت حداقل DH در آن پائین دیده می‌شود. در شکل ۲-۹ آنالیز دیگر در محدودهٔ خطی نتایج آزمایش دیگری را بین ۱۰ و ۱۶۰ نانوگرم در میلی‌لیتر همراه با ضریب همبستگی ۰/۹۹۷ را نشان می‌دهد. خطاهای مرتبط با هر استاندارد عمدتاً زیر ۶٪ (n=۲) است.

برای بدست آوردن مقدار DA از نمونه ماسل خاردار (Spiked mussel) از روش ELISA استفاده گردید.برای اثبات دقت مقدار DA درنمونه، از هر دو روش اسپکتوفتری و آزمایش حس گرا استفاده بعمل آمد طبق روش (۱۶) (Garthwaitw) از بافت هموژنیزه شده (DA)استخراج شد (۱۶). از آنجاییکه منحنی های کالیبرسیون به دقت تعیین شده اند، محلولهای استخراج شده از بافت حاوی توکسین بنحوی رقیق شدند تا اطمینان حاصل گردد که این رقت ها در بین محدوده منحنی کالیبرسیون قرار خواهند گرفت.



شکل ۲-۹: حس‌گر ایمنی رقابتی غیرمستقیم برای اسیددوموئیک[1] با تأئید بر حداکثر کنترل مقدار اسید دوموئیک همچنین محدوده خطی نتایج آزمایش دیگری را بین ۱۰ و ۱۶۰ نانوگرم در میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسید دوموئیک را نشان می‌دهد. (r^2 = ۰/۹۹۷)

[1] - Okadaic Acid

بررسی نمونه های استاندارد، آزمایش تعیین درصد DA بعمل بااستفاده از منحنی کالیبرسیون انجام گردید تا دقت مقدار DA درنمونه نامعلوم مشخص گردد.سپس ازمعادله (۲-۹) مقدار DA در هرنمونه محاسبه گردید.

معادله(۲-۹):
$$\%\,\mathrm{Recovery} = \left(\frac{[\mathrm{DA}]\text{in Sample}_{۱،۲} - [\mathrm{DA}]\text{in Blank}_{۱،۲}}{[\mathrm{DA}]\text{in Original Sample}} \right) \times ۱۰۰$$

روش اسپکتوفتومتری دقت خوبی را در محدودهٔ ٪۱۱۲ ـ ۹۹ از غلظت واقعی (DA) نشان داد. اما، بهرصورت روش حس‌گر فاقد این دقت و صحت بود، که دلیل این عدم دقت را به کمبود تعداد الکترودها برای هر استاندارد نسبت داده شده است که این موضوع آشکارا در نتایج حاصل از اسپکتوفتومتری مشاهده می‌شود. ELISA اسپکتوفتومتری ظرفیت پذیرش نمونه بیشتری به دلیل سادگی آماده‌سازی استاندارد واندازه‌گیری دارد در حالیکه کار با SPE_s مشکل‌تر است. علیرغم این، نتایج بدست آمده با روش حس‌گرا در محدودهٔ ٪۱۲۵ ـ ۹۱ غلظت واقعی (DA) بوده و این نتایج قابل قبول می باشند

۴-۹- شناسایی اسید اوکادائیک

اسید اوکادائیک (OA)[1] و ساختارهای هماهنگ آن برای انسان سمی‌هستند و باعث بروز مسمومیت ناشی از خوردن آبزیان صدف‌دار ایجاد اسهال می‌شود (DSP)[2] می‌گردد. این اسید اولین بار از دو اسفنج به نامهای *Halichondria okadai* و H.*melanodocia* جدا شدند و متعاقب آن در دینوفلاژله‌های *Prorocentrum lima*[۱۸] و *Dinophysis* spp.[۱۹] یافت شد (۱۹ و ۱۸). OAیک اسید چرب حلقوی (C38) است که ساختارش اولین بار درسال ۱۹۸۱توسط Tachibana و همکاران شناسایی شد(۲۰).

در سال ۱۹۸۲، شیباتا و همکارانش یافتند که OA باعث انقباض طویل المدت ماهیچه صاف عروق خونی مخصوصاً سرخرگ در انسان می‌شود (۲۱). OA هم‌چنین موجب اسهال می‌شود که این عمل را با تحریک فسفریلاسیون پروتئین‌های کنترل کنندهٔ ترشح سدیم در سلولهای روده‌ای انجام می‌دهد (۲۲). مصرف مستمر اسید اکادائیک و توکسین‌های ناشی از Dinophysistoxins به دلیل فعالیت تحریک کنندگی و ایجاد غده در معده که باعث بروز خطر برای سلامتی مصرف کننده می گردد (۲۳)، باید اجتناب بعمل آید. سمیت حاد

[1] - Okadiac acid
[2] - Diarhetic shelfish poisoning

توکسین‌های مختلف از گروه OA بعد از تزریق درون صفاقی در موش‌ها حدود ۲۰۰ میکروگرم در کیلوگرم در موش تعیین گردید (۲۴).

۱-۴-۹-اندازه‌گیریهای آزمایشگاهی

معمولی‌ترین آزمایش برای تشخیص DSP روش‌های بیولوژیکی است. شناسایی توکسین غیر اختصاصی و خطر دادن جواب (اشتباه) مثبت توسط اسیدهای چرب موجب گردید تا تحقیق برای دستیابی به روش ساده‌تر و قابل اتکاتر صورت پذیرد(۲۵). در نتیجه این بررسی‌ها روش‌های Immonoassays مثل RIA[۲۶] و ELSIA [۲۷] بدست آمد.روش آخری ELISA دارای مزایایی است مثل زمان آزمایش کوتاهتر, باندازه‌گیری دقیقتر و دادن واکنش‌های جانبی کمتر با دیگر توکسین‌هایی از خانواده DPS (۲۷ و ۲۶).

روش‌های HPLC (براساس روش‌های Lee (۲۸) و Aase (۲۹)) قادر به شناسائی واندازه‌گیری OA و DTX_s با روش اسپکتوفتومتری و مشتقات ۹- آنتاریل دیازومتان[۱] می‌باشند. درجه حساسیت این روش در حدود ۱۵ میکروگرم OA در ۱۰۰ گرم بافت آبزی صدفدار (MOA $۴/۶\times۱۰^{-۸}$ یا $۳۷/۵\,mg\,ml^{-۱}$) می‌باشد. اثبات شده است که روش استفاده هم زمان HPLC و اسپکتوفتومتری نیز حساس بوده و (تا ۲ نانوگرم از OA قابلیت تشخیص دارند (۳۰). علیرغم آن، نشان داده شده است که تا ۵۰٪ از توکسین‌ها می‌توانند در زمان استخراج و پاک سازی نمونه از بین بروند.

پیشرفت‌های اخیر منجر به وجود آمدن روش نسبتاً سریع براساس پروتئین فسفاتاز (pp)[۲] رادیواکتیو برای‌اندازه‌گیری OA (Honkanen,31) گردید. این روش برای شناسایی واندازه‌گیری OA در عصاره استخراج شده از اویستر و نمونه حاوی بیشتر از ۰/۲ نانوگرم ($OA\geq 0.2\ ng/g$) در گرم OA که مثبت بود استفاده شد. این نتایج به خوبی هماهنگی داشت با تعیین مقدار OA که بوسیله روش Tubaro L.C. (۳۲) اندازه گیری شده بود.هم چنین (Tubaro,1996) یک روش رنگ‌سنجی با استفاده از pp2A بوجود آورد که قادر به سنجش میزان OA تا ۲ نانوگرم در گرم از عصاره غدد گوارشی می باشد (۳۲). در سال ۱۹۹۷ او قادر به گرفتن Patent برای یک روش Fluorimetric pp شددر این روش با استفاده از 4-Methylumbelliferyl Phosphate بعنوان سوبستر از قدرت تشخیص OA در نمونه را به لیست برابر افزایش داد.(۳۳)

---

[1] -9-Antharyldiazomethane
[2] - protein phosphatase

به دلایل اقتصادی و سلامت انسان، وجود OA باید فوراً در مکان تولید با حداکثر سرعت و بدون هیچ‌گونه عملیات جانبی حساسیت زیاد با توجه به حد بحرانی EU، شناسایی و گزارش شود.براساس قوانینEU مقدار OA نباید بیشتر از ۶۰ ـ ۴۰ نانوگرم OA در گرم بافت ماسل باشد (۱۳). از این لحاظ، ما در اینجا نتایج دو گزارش برای تعیین سریع مقدار و OA در بافت‌های ماسل را بوسیله دو روش متفاوت شرح می‌دهیم یکی از روش‌ها Chemiluminescent Immunosensor همراه بایک روش تزریقی و دیگر روش Immunosensor براساس استفاده از SPE_s می باشد.

Chemiluminescent Immunosensor

در حال حاضر نور شیمیائی بعلت حساسیت زیاد نور به‌عنوان سیستم علامت دهنده در روش ELISA برای شناسایی مواد سمی بسیار استفاده می‌شود. آنزیم پراکسیداز موجود Horseradish (HRP) که اکسیداسیون Luminescent Luminol را در حضور هیدروژن پراکسید کاتالیز می‌کند، یکی از بیشترین آنزیم مورد استفاده در روش تولید نور شیمیائی برای نشان‌دار کردن آنتی‌ژن/ آنتی‌بادی است. این حس‌گر نور شیمیائی توسط Marquette در سال ۱۹۹۹ (۳۴)با یک سیستم متحرک (Flow system) برای شناسایی OA بینه سازی و مورد استفاده قرار گرفت. این روش حس گر ایمنی نوری که به BSA-OA مجهز بوده روی یک غشاء از Polyethersul Fone که بصورت تجارتی[1] قابل خریداری است، بوسیله خیساندن ثابت گردید. سپس تک کلونی های آنتی بادی OA بوسیله آنزیم پراکسید از Horseradish (HRP) برای رقابت با آنتی ژن های آزاد در نمونه نشان دار شدند. این روش Bioanalytical در آزمایش انجامشده برروی عصاره Mussel هموژنیزه شده، نتایج نشان داد که این روش غیرگزینه‌ای عمل نموده و با مقدار کمی‌از آنتی بادی اتصال برقرار می‌سازد.

حس‌گر ایمنی بصورت نیمه اتوماتیک برای تشخیص OA مورد استفاده قرار گرفت. بدین ترتیب که نمونه دارای OA آزاد در سیستم به‌طور پیوسته با آنتی‌بادیهای نشان‌دار شده، تزریق می‌شود. با زمان کل تزریق برای‌اندازه‌گیری در حدود ۲۰ دقیقه بود، حس‌گر ایمنی قادر به‌اندازه‌گیری حداقل ۰/۲ نانوگرم OA در ۱۰۰ گرم عصاره هموژن شده ماسل می‌باشد (۰/۱ میکروگرم OA در لیتر در محلول آزمایش)، واندازه‌گیریها می‌تواند با بیش از سه برابر غلظت از ۲۰۰ ـ ۰/۲ میکروگرم OA در ۱۰۰ گرم از عصاره هموژن ماسل صورت پذیرد (شکل۳-۹). مقدار شناسایی از منحنی استاندارد خطی تعیین می‌شود که به صورت لگاریتمی‌تعیین می‌شود

[1] - Ultra Bind™Mehbranes, Pall German Science

(معادله ۹-۳) حداکثر قدرت OAبا این روش را با استفاده ازمنحنی خطی نشان میدهد، که این مقدار بااستفاده از معادله [Logit =In [B/ (B_0-B) که B_o بدست می آید. در این فرمول B_0 علامت حداکثر (Signal) درغیاب آنتی ژن آزاد و B علامت اندازه مقدار OA در حضور غلظت ثابت آنتی است.

عملکرد این حس‌گر ایمنی نور شیمیایی برای شناسایی OA کافی بنظر می‌رسد، زیرا که مقدار بحرانی در بافت ماسل ۴۰ میکروگرم OA در ۱۰۰ گرم بوسیله EU (حد بحرانی EU) تعیین شده است. ثبات عملکرد این حس-گر در حد بحرانی (۴۰ میکروگرم در ۱۰۰ گرم هموژن ماسل) جهت شناسایی ماسل‌های آلوده در بیش از ۳۸ مورد برای شناسائی OA مورد آزمایش و بررسی گردید. در این ۳۸مورد آزمایش، نتایج نسبتاً برابر و درصد مورد خطا برابر با ٪۱۱/۷ به دست آمد. علاوه بر آن، تغییر معنی‌دار در عملکرد حس‌گر ایمنی نور شیمیایی طی نگهداری طویل‌المدت و کوتاه مدت غشاها (۱ ماه) مشاهده نشد. عملکرد حس‌گر ایمنی مجهز (با پنج غشاء متفاوت) نتایج قابل تکرار و مقایسه مناسب از خود نشان دادند. نتایج برای شاهد (Blank Signal) دارای ۷ درصد و برای نمونه آلوده در حد بحرانی (غیر مجاز) دارای ۱۲/۶ درصد خطا بودند.

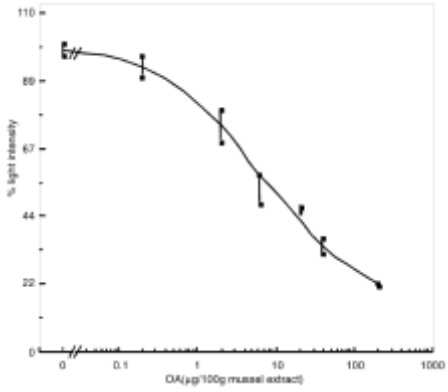
حس‌گر ایمنی SPE[1]

آزمایشگاه ایمنی آنزیم الکتروشیمیایی برای‌اندازه‌گیری OA با استفاده از الکترودهای کربنی یک بار مصرف که از طرفی هم بعنوان فاز جامد برای ثابت نگهداشتن معرف (Reagent) روی آن استفاده می‌گردد، بکار برده شد. این موضوع مهم بود که حساسیت کاری این دستگاه برای شناسائی واندازه گیری ایمنی OA قبل از ساخت دستگاه SPE تعیین گردد. این دستگاه قبلاً توسط Kreuzer (۳۵) با استفاده از اسپکترفتومتریک ELISA ساخته شده بود.سپس نتایج بدست آمده برای بررسی بوسیله دستگاه الکترو شیمیائی مورد استفاده قرار گرفتند.

ابتداء SPE آماده گردید و در دسیکاتور در دمای اطاق نگهداری شد. سپس معرف‌ها بر روی الکترودها برای ثابت شدن روی آنها با قطره چکان، چکانیده شدند. پس از انجام تمام این مراحل، آزمایش Immuno assay انجام گردید. برای انجام این آزمایش مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول بافر حاوی آنزیم که حاوی سوبسترا، الکتروشیمیائی[2] ρ- آمینو فنیل فسفات(P-APP) بود به الکترودها اضافه گردیدند. شناسائی علامت (Signal) با قراردادن SPE در یک لوله الکترو شیمیائی که حاوی سوبسترا در بافر بود و مرتباً بهم زده می‌شد و در این وقت اقدام به تزریق P-APP به میزان ۱ میلی مول (1mol) در لوله آزمایش گردید. و جریان

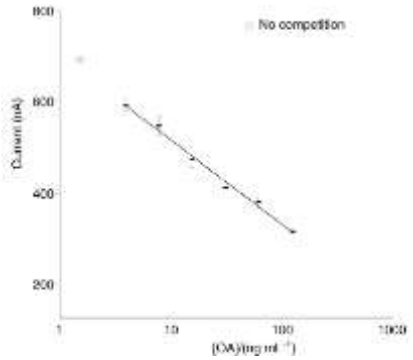
[1] - SPE Immunosensor
[2] - ρ-Aminophenyl Phosphate (ρ-APP)

الکترسیته به شدت ۳۰۰+ میلی ولت برقرار گردید و با استفاده از الکترود شاهد Ag/Agcl نتایج ثبت و مقایسه گردیدند. شکل ELISA غیرمستقیم(۳۵). رقابتی روی SPEs بهترین جواب را از نظر حداقل غلظت شناسائی و رابطه خطی بین میزان غلظت OA وشدت Signal را بدست داد. در این آزمایش از شرایط اپیتم برای بدست آوردن بزرگترین (Signal) استفاده گردید. قدم آخری در این آزمایش Immunosensor شامل رقابت بین آنتی بادی‌های نشان دار (*Ab) با محلول شاهد (OA) بود.



شکل۳-۹: منحنی کالیبراسیون اسیدآکادائیک آزاد در هموژن ماسل. هر غلظت نشان داده شده میانگین ۲ آزمایش‌اند.

دقت مناسبی،برحسب $r^2 >$ ۰/۹۹۱ برای همهٔ آزمایش‌های انجام شده در محدوده رابطه خطی بین ۴ و ۱۲۵ نانوگرم در میلی‌لیتر OA به دست آمد. شکل ۴-۹ نتایج این آزمایش‌ها را نشان می‌دهد.اندازه‌گیری مکرر هر استاندارد OA تا حدودی با زمان لازم برای‌اندازه‌گیری توسط هر الکترود محدود می‌گردید. این مشکل را می‌توان با استفاده از پتانسیل‌سنج چند الکترودی حل نمود ، در نتیجه مقدار درصد خطا در هر آزمایش را برای هر نقطه را می‌توان کم نمود. مشکل مهم دیگر این روش (OA-SPEs) تعیین حد شناسایی است. این مشکل را با تکرار چندباری آزمایش برطرف گردید و حد شناسایی بین ۱ و ۴ نانوگرم در میلی‌لیتر برای OA بدست آمد. این مقدار در محدودهٔ مجاز نانو مولی OA ($۱/۲۴\times۱۰^{۹}$ مول در لیتر) بود و وقتی این نتایج با نتایج بدست آمده از (Fluorimetric) آزمایش فلور متریک مقایسه گردید، این نتایج دقیق‌تر و بدون نیاز به کارهای آماده‌سازی را نشان می‌دهد (۳۶).



شکل ۴-۹: آزمایش ایمنی رقابتی برای شناسایی اسید اوکادوئیک با استفاده از *SPE* مجهز به آمپرسنج در ۳۰۰+ میلی‌ولت *Ag /AgcL* را نمایش می‌دهد.

مقدار استخراج سم OA از نمونه‌های ماسل (mussel samples) با استفاده از حس‌گر OA مطالعه شد. ابتدا منحنی‌های تیترسنجی تهیه گردید، محلول‌های از حلال آلی که حاوی توکسین بودند در چنان رقتی آماده شدند تا مقدار سم موجود در آنها در محدودهٔ تیتراسیون استاندارد قرار بگیرند.از طرفی محلول شاهد بدون توکسین نیز آماده شد که غلظت توکسین در آن صفر بود. این شاهد بدون توکسین به‌عنوان شاخص نشان دهنده تأثیر ماتریکس حاوی بافت ماسل و چربی موجود در آن و همینطور چربی موجود در حلال آبی بر روی نتایج عمل می نماید.درصد استخراج سم بوسیله الکترودهای چاپگر روی صفحه‌ای تعیین گردید و برای نمونه‌های اصلی،اختلاف بین ۱۰ ± درصد مقدار واقعی سم در آن‌ها را نشان داد. تمام ارزشیابی ها برای سم درنمونه ها در ۶۰ دقیقه انجام شدند ومدت اندازه گیری برای هر نمونه فقط ۵ دقیقه بود. زمان انکوباسیون را می‌توان تا حدود ۳۰ دقیقه کاهش داد، بنابراین کل فرآیند با استفاده از این روش بیشتر از ۳۵ دقیقه طول نمی‌کشد.

۵-۹- شناسایی ساکسی توکسین[1]

ساکسی توکسین یکی از خطرناک‌ترین توکسین‌های غیر پروتئینی شناخته شده است (LD_{50} ۹μg / kg) و یکی از عوامل فلج کننده و ایجاد مسمومیت ناشی از مصرف آبزیان صدف‌دار می باشد(۳۷). این عامل فلج کننده[2] (PSP) به وسیله دینوفلاژله‌های دریائی و جلبک‌های آب شیرین تولید می شود. آلودگی آبزیان صدف‌دار با

[1] - Saxitoxin
[2] - Paralytic Shellfish Poisoning

ساکسی توکسین با شکوفائی جلبکی خطرناک در کل جهان مرتبط است. در انسان،شدت مسمومیت با PSP بسته به مقدار مصرف آن دارد که باعث بروز علائمی‌همچون، بیحسی، احساس خارش و سوزش و فلج ماهیچه-ای پیشرونده می‌شود، که در نهایت می‌تواند بعلت اختلال تنفسی باعث مرگ انسان شود(۳۸). براساس قانون FDA، حداکثر مقدار قابل قبول سم فلج کننده در بافت آبزیان صدف‌دار کنسروشده یا منجمد شده تا ۴۰۰ واحد موشی[1] (MU) یا در حدود ۸۰ ـ ۴۰ میکروگرم در ۱۰۰ گرم در بخش خوردنی صدف است(۱۳). این مقدار معادل دو برابر حداقل مقدار اعلام شده در آزمایش ارزیابی در موش است، اولین و هنوز متداولترین روش تعیین مقدار توکسین PSP، در آبزیان صدف دار روش AOAC است (۳۹).

۱-۵-۹- روش‌های تجزیه واندازه‌گیری

آزمایش ارزیابی PSP بوسیله موش[2] (MBA) روش رسمی تعیین مقدار PSP در غذاهای دریائی است، اما این روش نه اختصاصی و نه حساس برای‌اندازه‌گیری PSP می باشد و احتیاج به استفاده مداوم از موش دارد و نتایج حاصله با متغیرهای مثل گونه موش و آماده‌سازی نمونه برای استخراج سم از نمونه تحت تأثیر قرار می‌گیرد. روش‌های دیگر شامل آزمایش فلورسنسی[3] و کروماتوگرافی مایع است. روش کروماتوگرافی مایع نیاز به تجهیزات گران قیمت برای اکسیداسیون ماده مورد نیاز (post – column analyte oxidation) دارد. علاوه بر آن، نمونه‌ها باید یکی یکی مورد آزمایش قرار گیرند. چنین روشی برای آزمایش روزانه در محل صید نامناسب می‌باشد (۴۰، ۴۱، ۴۲).

روشهای شیمیائی ـ ایمنی مزایائی[4] چون حساسیت و سرعت دارند و اهمیت روزافزونی به‌عنوان روش شناسایی سریع در کنترل مواد غذایی دارند پیدا می کنند. به دلیل خیلی اختصاصی بودن واکنش آنتی‌ژن ـ آنتی‌بادی که پایه و اساس این نوع آزمایش‌اند، چند آزمایشگاه برای توسعه آزمایش ایمنی جهت شناسایی PSP براساس این روش تلاش می کنند (۴۴و۴۳). در پاراگراف‌های زیر، چگونگی بهینه‌سازی و مقایسه آزمایش ELISA رقابتی الکتروشیمیائی و اسپکتوفتومتری (بطور مستقیم و غیر مستقیم) برای شناسایی ساکسی توکسین‌ها (STX) شرح داده می‌شوند.

---

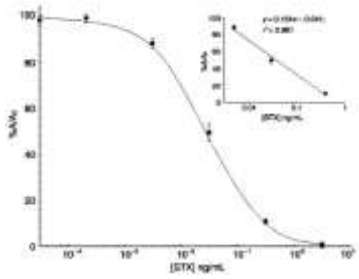
[1] - Mouse Units
[2] -Mouse Bioassay
[3] - Floorimetric Assay
[4] - Immunochemical Methods

روش اسپکتوفتومتری

این آزمایش بوسیله میکروپلتی که دارای ۹۶ لوله بود و هر کدام از آن‌ها با آنتی‌بادیهای چند کلونی مخصوص توکسین Toxin-Specific Polyclonal که در آزمایشگاها تولید گردیده بود انجام شد(۴۵). آنتی‌بادیها از خرگوش‌های ایمن شده با هموسیانین Saxitoxin-Keyhole Limpet Hemocyanin صدف لیمپت که حاوی ساکسی توکسین است (STX-KLH)، به دست آمده بود انجام شد. در روش ELISA بشکل غیرمستقیم، ساکسی توکسین ترکیب شد با آلبومین سرم گاو (BSA-STX) روی صفحه میکروتیتر قرار داده شد، و همراه با توکسین استاندارد و آنتی‌بادیهای ضد ساکسی توکسین انکوباسیون گردید. یک بنر پراکسیداز IgG بز ضد خرگوش، بدست آمده از بز[1] (IgG-HRP) جهت شناسایی سم استفاده گردید. در روش ELISA مستقیم، مقدار سم استاندارد که بوسیله STX پراکسیداز ریشه خردل (STX-HRP)، محلول رنگ‌دهنده و Sobstrate/Chromogen در آخر به دستگاه میکروپلت بعد از پوشیده شدن با آنتی‌بادی افزوده گردید.

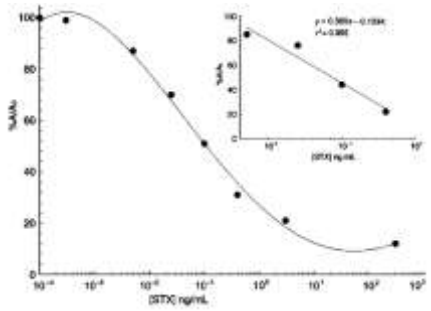
محدودهٔ کار با استفاده از مدل 4-Parameter, logistic طبق فرمول ۱-۹ محاسبه گردید. حد شناسایی، غلظت استاندارد توکسین با سه انحراف استاندارد در A_o (بدون رقابت) تعریف شد، که به این ترتیب ۳×۱۰^{-۳} و ۱×۱۰^{-۲} نانوگرم در میلی‌لیتر برای ترسیم شکل‌های مستقیم و غیر مستقیم با روش ELISA مورد استفاده قرار گرفتند (شکل‌های ۵-۹ و ۶-۹). در هر دو آزمایش، همبستگی خطی بین ۵×۱۰^{-۳} و ۴×۱۰^{-۱} نانوگرم در میلی-لیتر بود. (سمت راست در قسمت بالای اشکال ۵-۹ و ۶-۹).

پایداری معرف‌های استفاده شده برای پوشش الکترودها با استفاده از میکروپلت‌های حاوی آنتی‌ژن یا آنتی‌بادی (Conjugated) به آنها متصل شده بودند محاسبه شدند و سپس در انباری با برودت در $۴^{\circ}C$ نگهداری شدند.



شکل ۵-۹: آزمایش مستقیم با *ELISA* برای شناسایی ساکسی توکسین. آنتی‌بادی‌های ضد ساکسی توکسین (۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) روی صفحه *ELISA* قرار داده شدند و *STX-HRP* (۳۰ : ۱) به‌عنوان رقیب استفاده شدند.

[1] - Goat Anti-Rabbit IgG Peroxidase



شکل ۶-۹ : آزمایش غیر مستقیم با *ELISA* برای شناسایی ساکسی توکسین *BSA-STX* (۳ میکروگرم در میلی‌لیتر) روی صفحه *ELISA* قرار داده شد.

جدول ۱-۹- دقت *(RSD)* و درصد صحت *(RE%)* لازم برای‌اندازه گیری *SAXITOXIN* در عضله با استفاده از روش‌های *ELISA* و *Lc*. *(a)* : روش *ELISA*، *(b)*: روش *LC*، *(c)* مقایسه نتایج *ELISA/LC*

(a)

STX اضافه شده $\mu g/g$	STX یافته شده $\mu g/g$	RSD	RE%
۰/۲	۰/۱۹	۴	۳
۰/۴	۰/۴۳	۱	۷
۰/۸	۰/۸۳	۳	۴

(b)

STX اضافه شده $\mu g/g$	STX یافته شده $\mu g/g$	RSD	RE%
۰/۲	۰/۱۸	۴	-۱۰
۰/۴	۰/۴۲	۵	۵
۰/۸	۰/۸۸	۵	۸

(c)

STX اضافه شده $\mu g/g$	روش مستقیم ELISA/LC RE(%)
۰/۲	۶
۰/۴	۲
۰/۸	-۶

آزمایش‌ها به صورت دوره‌ای براساس دستورالعمل تعیین شده، انجام شدند. نتایج نشان دادند که صفحه‌های پوشیده شده با آنتی‌بادی (آزمایش مستقیم) را می‌توان به مدت سه هفته بعد از پوشش دهی استفاده نمود، در حالی که آنتی‌ژن ثابت شده در چاهک های میکروپلت (Well Microplate) فقط به مدت ۲۴ ساعت (آزمایش غیرمستقیم) پایدار و قابل استفاده بودند. بنابراین علت بدست آوردن نتایج بهتر با بکار بردن روش مستقیم، بعلت پایداری (Stability) بیشتر آنتی بادی می‌باشد.

مناسب بودن روش ارزیابی کمی‌برای تعیین مقدار ساکسی توکسین در بافت ماسل‌ها نیز مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه استخراج سم از نمونه بافت ماسل براساس روش AOAC انجام شد(۱۳). برای اطمینان از مناسب بودن این روش در ابتداء نمونه‌های با مقدار مشخصی از سم ساکسی توکسین آلوده و با مقایسه نتایج با شاهد قبل و بعد از استخراج درصد استخراج و اثر بافت، موثر بودن روش استخراج واثر بافت بر روی درصد استخراج سم به ترتیب مشخص شده بعد از بدست آوردن عصاره، نمونه‌ها را برای کم نمودن تاثیر بافت (Matrix) و شناسائی حداقل تعیین شده ۴۰ میکروگرم ساکسی توکسین در ۱۰۰ گرم بافت ماسل، به رقتV/V ۱:۱۰۰۰ رقیق نموده و سپس آزمایش بر روی آنها انجام شد. راندمان استخراج سم (Saxitoxin) از نمونه‌ها بین ۱۰۲-۷۲ درصد با استفاده فرمول (۲-۹) بدست آمد.

قابلیت تکرارپذیری و درستی نتایج آزمایشهای ارزیابی به روش ELISA با شش تکرار از شش بافت محاسبه شدند. نمونه‌ها شاهد بدون توکسین تهیه شده و به شاهد نمونه هایی که حاوی با غلظت دو برابر (۰/۸ میکروگرم در گرم)، نصف (۰/۲ میکروگرم در گرم) و مقدار مجاز (۰/۴ میکروگرم در گرم) از Saxitoxin بودنند اضافه و بمدت سه روز و برای هر غلظت (n= ۱۸) عمل t استخراج برروی آنها انجام و سپس آزمایش شدند. دقت آزمایش با استفاده از انحراف استاندارد نسبی (٪ RSD) محاسبه و با درصد خطا (درصد خطای نسبی، ٪RE) مقایسه گردید، نتایج بدست آمده همچنین با نتایج‌اندازه‌گیری بوسیله روش استاندارد LC (۴۲) مقایسه و مورد تأیید واقع شدند. نتایج این بررسی در جدول ۱-۹ و در قسمت‌ها (a، b، c) گزارش شده اند. نتایج بدست آمده از ارزیابی سم بوسیله دو روش ELISA اسیکتروفتومتری و LC نشان دهنده یک هم‌گرائی خوب بین این دو روش را با هم نشان می‌دهند.

در جمع بندی می‌توان گفت که ارزیابی سم بوسیله آزمایش ELISA ابزار مناسبی، برای اندازه گیری روزمره ساکسی توکسین‌ها در بافت ماسل‌ها می‌باشد. در واقع، در مقایسه با روش LC، روش ELISA مستقیم اسپکتوفتومتری دارای حساسیت مشابه‌ای در مقایسه با LC، همچنین را نشان داد، دارای دقت با سرعت بیشتر و هزینه کمتر در مقایسه با روش LC می‌باشد. از طرف دیگر روش ELISA مستقیم نیازی به خالص‌سازی نمونه ندارد.

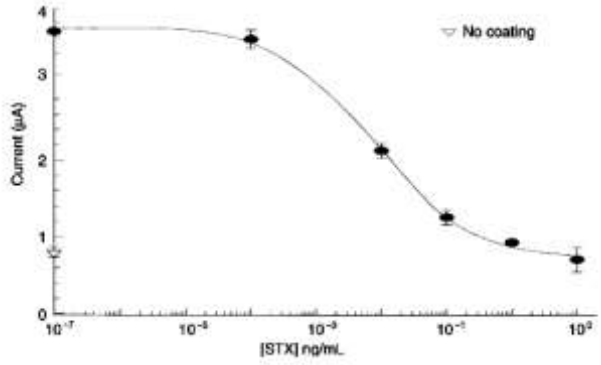
ارزیابی ایمنی براساس الکترودهای مدار چاپی [۱] (SPE)

آزمایش ایمنی الکتروشیمیایی آنزیمی‌با استفاده از الکترودهای مدار چاپی برای‌اندازه‌گیری STX[۲] انجام گردید. در این ارزیابی از الکترود کربن فعال حس‌گرا یکبار مصرف به عنوان فاز جامد برای ثابت نمودن معرف و انتقال دهنده امواج هشدار دهنده طبق دستورالعمل روش اسپکتروفتومتری ELISA انجام گردید، اما نتایج رضایت بخش نبودند. برای دستیابی به بالاترین حساسیت و دقت برای تشخیص واندازه‌گیری STX از طریق بدست آوردن نسبت شدت امواج به صدا (Signal/Noise) و اطمینان از نتایج آزمایش‌ها برای هر نمونه تحت شرایط اپتم چندبار تکرار گردید. در نتیجه روش ارزیابی ایمنی براساس الکترودهای مدار چاپی برای ارزیابی STX با استفاده از حس گرای رقابتی نشان دار شده با آنتی بادی انتخاب گردید. آنزیم مورد استفاده ۳، '۳، ۵، '۵ تترامتیل‌بنزیدن[۳] (TMB) همراه با هیدروژن پراکسید بود. ماده حاصل از واکنش این مواد با STX بوسیله کرونوآمپرومتری[۴] در ۱۰۰- میلی ولت بعد از ۶۰ ثانیه تشخیص داده شد.

منحنی تیراسیون استاندارد برای STX رد دامنه غلظت صفر تا $۱۰^{۳}$ نانوگرم در میلی لیتر از توکسین تهیه گردید (شکل ۷-۹)، طبق این منحنی استاندارد حساسیت این روش برای STX برابر $۱۰^{۳}÷۱$ نانوگرم در میلی‌لیتر می‌باشد. نتایج ارزیابی بدست آمده با این روش در مقایسه با روش اسپکتروفتومتری از مزیت بهتری برخوردار بود.

---

[1] - SPE immunoassy (Screen Primted Electrodes immunossy)
[2] - SAXI Toxin
[3] - Tetramethyl Benzidine
[4] - Chronoamperometry



شکل ۷-۹ : منحنی مقایسه‌ای با آزمایش مستقیم برای شناسایی ساکسی توکسین با استفاده از SPE_s

۶-۹- ارزیابی اولیه از دستگاه ساخته شده

برای اولین بار یک دستگاه کوچک (به‌اندازه ماشین حساب) قابل حمل، مجهز به میکروپروسسور قابل کنترل با نوارهای یکبار مصرف که ضمناً به آسانی قابل استفاده برای‌اندازه‌گیری توکسین در آبزیان می‌باشد ساخته شد. این دستگاه دارای محل برای اتصال نوار یکبار مصرف می‌باشد. یک باطری پتانسیل موردنظر را به الکترودها مجهز به نوار قابل جداسازی و ثبت نتیجه آزمایش متصل ننماید، عبور جریان الکتریسیته باعث واکنش در نوار گردیده و بدین ترتیب غلظت توکسین‌اندازه‌گیری و در صفحه نمایشگر LCD نشان داده می‌شود. این دستگاه مجهز به دستگاهی برای کشیدن منحنی استاندارد بصورت خودکار نیز می‌باشد تا بدینوسیله افراد غیر متخصص و آموزش ندیده قادر به استفاده از آن باشند.

این دستگاه کوچک قادر به اجزاء DPV واندازه گیری کرنوآمپرومتریک در محدوده بین ۱۰۰۰÷۱۰۰۰mV بوده و هم چنین می‌توان از آن برای‌اندازه گیری (۱- نفتول)[1] که فرآورده حاصل از واکنش آنزیمیAP با ۱- نفتیل فسفات است، استفاده نمود. نتایج بدست آمده از این دستگاه در آزمایشگاه با نتایج حاصل از دستگاه‌های خودکار آزمایشگاهی (مجهز به نرم افزار GPES) و Polarographic آنالیزور، مدل 433/W، ساخت Amel (میلان، ایتالیا) و نتایج حاصل از این مقایسه کاملاً با هم دیگر برابر بودند که دال بر مفید بودن بکار گرفتن دستگاه مورد بحث می‌باشد.

[1] - Naphthol

آزمایش‌های رقابتی و غیر رقابتی غیر مستقیم با استفاده از الکترودکاری SPE همچنین فاز جامد برای غیر متحرک نمودن معرف‌ها و آزمایش مشابه با استفاده از دستگاه (Autolab) برای سنجش توکسین و مقایسه این نتایج با نتیجه بدست آمده از دستگاه ساخته شده، نشان داد که نتایج مقایسه خیلی مشابهه هم بودند.

۷-۹- نتیجه‌گیری و پیش‌بینی برای آینده

در این فصل گزارش مربوط به روش‌ها و دستورالعمل‌های جدید برای شناسائی و ارزیابی توکسین در مواد غذائی دریایی بوسیله استفاده از آنتی بادیهای تک کلونی و چند کلونی براساس روش‌های ارزیابی الکترودهای مدار چاپی، مجهز به الکترودهای نواری و قابل حمل و نقل که از نظر اقتصادی هم به صرفه است داده شده است. این کار با استفاده از توکسین‌های متداول در غذاهای دریائی و تولید آنتی بادی‌های اختصاصی تک کلونی و چند کلونی آنتی بادی انجام گردید. همزمان یک روش ارزیابی حس گرزلیتی با بهره‌گیری از دستورالعمل برای ELISA با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری و سپس شناسائی توکسین بوسیله الکترودهای مدار چاپی بعمل آمد.

تولید یک دستورالعمل برای‌اندازه‌گیری توکسین بوسیله الکترودهای مدار چاپی مجهز به نوارهای یکبار مصرف ابتداء در آزمایشگاه با استفاده از دستگاه الکتروشیمیائی و بعداً یک دستگاه قابل حمل و نقل برای‌اندازه‌گیری توکسین با کمک شرکای صنعتی انجام گردید. ارزشیابی نتایج بدست آمده بوسیله این دستگاه قابل حمل و نقل با استفاده از روش‌های داده شده در مرجع‌ها رسمی انجام گرفت. این تحقیق با موقعیت به نتایج موردنظر که شناسائی واندازه‌گیری توکسین‌ها در مواد غذائی دریائی، بوسیله دستگاه قابل حمل و استفاده از نوارهای چاپی یکبار مصرف بود، دست یافت. بهرحال، تحقیقات بیشتری برای تولید آنتی بادیهای با قدرت بهینه (Optimised) و ثبات بیشتر برای تولید انبوه این سیستم ضروری می‌باشد.

۸-۹- منابع فصل نهم

1. PALLESCHI G, Final Report for European Union Fair Ct 95–1092, Rome Italy, 2000.
2. GHINDILIS AL, ATANASOV P, WILKINS M and WILKINS E, 'Immunosensors: electrochemical sensing and other engineering approaches', *Biosensors& Bioelectronics*, 1998 13(1) 113–31.
3. HARLOW E and LANE D, *Antibodies: A Laboratory Manual*, New York, CRC Press, Cold Spring Harbor, 1988.
4. SANTANDREU M, SOLE` S, FA` BREGAS E ALEGRET S, 'Development of electrochemical immunosensing system with renewable superfaces', *Biosensors & Bioelectronics*, 1998 13(1) 7–17.
5. PEMBERTON PM, HART JP, STODDARD P and FOULKE S, 'A comparison of 1-napHthyl pHospHate and 4-aminopHenyl pHospHate as enzyme substrates for use with a screen-printed amperometric immunosensor for progesterone in cow's milk', *Biosensors & Bioelectronics*, 1999 14(5) 495–503.
6. DEL CARLO M, LIONTA I, TACCINI M, CAGNINI A and MASCINI M, 'Disposable screen-printed electrodes for the immunochemical detection of polychlorinated bipHenyls', *Analytical Chimica Acta*, 1997 342(3/2) 189–97.
7. QUILLIAM MA and WRIGHT JL, 'The amnesic shellfish poisoning mystery', *Anal Chem*, 1989 61 1053A–9A.
8. WRIGHT JLC, FALKEL M, MCINNES AG and WALTER JA, 'Identification of isodomoic acid D and two new geometrical isomers of domoic acid in toxic mussels', *Can J Chem*, 1990 68 22–5.
9. LAWRENCE JF, CLEROUX C and TRUELOVE JF, 'Comparison of highperformance chromatograpHy with radioimmunoassay for the determination of domoic acid in biological samples', *J Chromatogr A*, 1994 662(1) 173–7.
10. QUILLIAM MA, SIM PG, MCCULLOCH AW and MCINNES AG, 'Highperformance liquid chromatograpHy of domoic acid, a marine neurotoxin, with application to shellfish and plankton', *Int J Envir Analyt Chem*, 1989 36 139–54.
11. LAWRENCE JF, CHARBONNEAU CF, MENARD C, QUILLIAM MA and SIM PG, 'Liquid chromatograpHic determination of domoic acid in shellfish products using the paralytic poison extraction procedure of the Association of Official Analytical Chemists', *J AOAC Int*, 1995 78(2) 555–70.
12. EILERS P, CONRAD S and HALL S, 'Domoic acid analysis', *Toxicon*, 1996 34338.
13. CUNNIFF P, *Official Methods of Analysis of AOAC International* (16th edn), Gaithersburg (USA), AOAC International, 1999.

14. QUILLIAM MA, XIEM and HARDSTAFF WR, 'Rapid extraction and cleanup for liquid chromatograpHic determination of domoic acid in unsalted seafood', Rapid detection of seafood toxins 157 *J AOAC Int*, 1995 78(2) 543–54.
15. QUILLIAM MA, XIE M and HARDSTAFF WR, *National Research Council o Canada*, Institute of Marine Biosciences, Technical Report 64, NRCC,
1991.
16. GARTHWAITE I, ROSS KM, MILES CO, HANSEN RP, FOSTER D, WILKINS AL and TOWERS NR, 'Polyclonal antibodies to domoic acid, and their use in immunoassay for domoic acid in seawater and shellfish', *Natural Toxins*,
1998 6 93-104.
17. DIAMANDIS EP and CHRISTOPOULOS TK, *Immunoassay*, Toronto (Canada), Academic Press Inc., 1996.
18. MURAKAMI Y, OSHIMA Y and YASUMOTO T, 'Identification of okadaic acid as a toxic component of a marine dinoflagellate Prorocentrum lima', *Bul Jpn Soc Sci Fish*, 1982 48 69–72.
19. YASUMOTO T, OSHIMA Y, SUGAWA W, FUKUYO Y, OGURI H, IGARASHI T and FUJITA N, 'Identification of DynopHysis fortii as a causative organism of diarrhetic shellfish poisoning', *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 1980 46 1405–11.
20. TACHIBANA K, SCHEUER PJ, TSUKITANI Y, KIKUCHI H, VAN ENGEN D, CLARDY J, GOPICHAND Y and SCHMITZ FJ, 'Okadaic acid, a cytotoxin polyether from two marine sponges of the genus Halichondria', *J Am Chem Soc*, 1981 1032469–71.
21. SHIBATA S, ISHIDA Y, KITANO H, OHIZUMI Y, HABON J, TSUKITANI Y and KIKUCHI H, 'Contractile effects of okadaic acid, a novel ionopHore-like substance from black sponge, on isolated muscles under the condition of Ca deficiency', *J PHarmacol Exp Ther*, 1982 223 135–43.
22. COHEN P, HOLMES CFB and TSUKITANI Y, 'Okadaic acid: a new probe for the study of cellular regulation', *TIS*, 1990 15 98–102.
23. SAKAI A and FUJIKI H, 'Promotion of BALB/3T3 cell transformation by the okadaic acid class of tumor promoters, okadaic and dinopHysistoxin-1',
Jpn J Cancer Res, 1991 82 518–23.
24. YASUMOTO T, MURATA M, LEE JS and TOROGOE K, *Mycotoxins an PHycotoxins '88*, Amsterdam, Elsevier, 1989.
25. SAJIKI J and TAKAHASHI K, 'Free fatty acids inducing mouse lethal toxicity in lipid extracts of Engraulis japonica, the Japanese anchovy', *Lipids*, 1992
27 988–92.
26. LEVINE L, FUJIKI H, KIYOYUKI Y, OJIKA H and VAN VAKIS, 'Production of antibodies and development of a radioimmunoassay for okadaic acid', *Toxicon*, 1988 26 1123–8.
27. USAGAWA T, NISHIMURI M, ITOH Y, UDA T and YASUMOTO T, 'Preparation of monoclonal antibodies against okadaic acid prepared from the sponge Halichondria okadai', *Toxicon*, 1989 27 1323–30.
28. LEE J, YANAGI T, KENMA R and YASUMOTO T, 'Fluorimetric determination of diarrhetic shellfish toxins by high-performance liquid chromatograpHy', *Agric Biol Chem*, 1987 51 877–81.
29. AASE B and ROGSTAD A, 'Optimisation of sample cleanup procedure for

determination of diarrhoeic shellfish poisoning toxins by use of experimental design', *J Chromatogr A*, 1997 764 223–31.
30. PLEASANCE S, QUILLIAM MA and MAR JC, 'IonSpray mass spectrometry of marine toxins. IV. Determination of diarrhoetic shellfish poisoning toxins in mussel tissue by liquid chromatograpHy/mass spectropHotometry',
Rapid Comm Mass Spec, 1992 6(2) 121–7.
31. HONKANEN RE, STAPLETON JD, BRYAN DE and ABERCROMBIE J, 'Development of a protein pHospHate-based assay for the detection of pHospHate inhibitors in crude whole cell and animal extracts' , *Toxicon*, 1996 34(11/12) 1385–92.
32. TUBARO A, FLORIO C, LUXICH E, SOSA S, DELLA LOGGIA R and YASUMOTO T, 'A protein pHospHate 2A inhibition assay for a fast and sensitive assessment of okadaic acid contamination in mussels', *Toxicon*, 1996 34(7) 743–52.
33. VIEYTES MR, FONTAL OI, LEIRA F, BABTISTA DE SOUSA JMV and BOTANA LM, 'A fluorescent microplate assay for diarrhetic shellfish toxins', *Anal Biochem*, 1997 248 258–64.
34. MARQUETTE CA, COULET PR and BLUM LJ, 'Semi-automated membrane based chemiluminescent immunosensor for flow injection analysis of okadaic acid in mussel', *Analytica chimica Acta*, 1999 19931 1–10.
35. KREUZER M, O'SULLIVAN C and GUILBAULT GG, 'Development of an ultrasensitive immunoassay for rapid measurement of okadaic acid and its isomers', *Anal Chem*, 1997 71(19) 4198–202.
36. DRAISCI R, GIANNETTI L, LUCENTINI L, MACHIAFAVA C, JAMES KJ, BISHOP AG, HEALY BM and KELLY SS, 'Isolation of a new okadaic acid analogue from pHytoplankton implicated in diarrhetic shellfish poisoning', *J Chromatog A*, 1998 798(1/2) 137–45.
37. BROWER DJ, HART RJ, MATTHEWS PA and HOWDEN MEH, 'Non protein neurotoxins', *Clin Toxicol*, 1981 18 813–65.
38. USLEBER E, SHNEIDER E, TERPLAAN G and LAYCOCK MV, 'Two formats of enzyme immunoassay for the detection of saxitoxin and other paralytic shellfish poisoning toxins', *Food Addit Contam*, 1995 12(3) 405–13.
39. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana* (8-9-1990), serie generale no. 218.
40. BATES HA and RAPOPORT H, 'A chemical assay for saxitoxin, the paralytical shellfish poison', *J Agr Food Chem*, 1975 23(2) 237–9.
41. LAWRENCE JF and MENARD C, 'Liquid chromatograpHic determination of paralytic shellfish poisons in shellfish after prechromatograpHic oxidation', *J Assoc Off Anal Chem*, 1991 74(6) 1006–12.
42. OSHIMA Y, 'Postcolumn derivatisation liquid chromatograpHic method for paralytic shellfish toxins', *J AOAC Int*, 1995 78(2) 528–32.
43. CHU FS and FAN TL, 'Indirect enzyme-linked immunosorbent assay for saxitoxin in shellfish', *J Assoc Off Anal Chem*, 1985 68(1) 13–16.
44. DAVIO SR and FONTELLO PA, 'A competitive displacement assay to detect saxitoxin and tetrodotoxin', *Anal Biochem*, 1984 141199–204.

45. MICHELI L, DI STEFANO S, MOSCONE D, MARINI S, COLETTA M, DRAISCI R, Rapid detection of seafood toxins 159 DELLI QUADRI F and PALLESCHI G, 'Production of antibodies and development of highly sensitive formats of enzyme immunoassay for saxitoxin analysis', *Frez J Anal Chem*, 200

۹-۹- تشکر و تقدیر

بدینوسیله از (European Concerted Action QK3 200013) تشکر و تقدیر بعمل می‌آید که با پشتیبانی خود موجب انجام این تحقیق به شماره CT96 FAIR 1092 تحت عنوان ارزیابی / تائید روش‌های جدید ارزیابی حسی در محیط طبیعی و مواد غذائی گردید.

بخش دوم

«تجزیه و تحلیل کیفیت»

« **فصل دهم** »

درک مفهوم کیفیت و تازگی در ماهی

۱-۱۰- مقدمه

واژه‌های کیفیت و تازگی معمولاً در همه منابع علمیو تکنولوژی ماهی در همه سطوح از پیچیده‌ترین مقاله‌های علمی‌تا روزنامه‌ها، خبرنامه‌ها و مقالات به کار گرفته می‌شوند. معنی این واژه بازگوکننده نقش چندجانبه آن در عملکرد صحیح و قانونی یک فرآیند است. در بسیاری از موارد، معنی این واژه‌ها در زمینهٔ کاربردیشان مشخص می‌شود اما در موارد دیگر معنی مستقلی از کاربرد در زمینه خاص دارند. (Gärdenfors,2000).

عرضه کنندگان، فقط کیفیت فرآورده ساخته شده از ماهی تازه را به طرف مقابل منتقل می‌کنند. اما منظور مردم چه می‌باشد وقتی که این واژه‌ها را بکار می‌گیرند؟ این واژه‌ها، قابل سوء استفاده می‌باشند، به این معنی که اتلاق کلمه کیفیت به هر فرآورده برای پاسخ دادن به بسیاری از سؤالات مورد استفاده قرار می‌گیرد. بهر صورت دادن چنین صفتی فقط از کنار سئوال گذشتن است، زیرا جواب دقیق و صحیحی در رابطه با مواد اولیه مورد سوال نمی‌دهد. در حقیقت این واژه بیشتر درباره مصرف کننده می گوید تا فرآورده. واژه کیفیت، بیشتر برای مشهور کردن تولید کنده، تأمین کننده مواد اولیه و یا شرکت صیادی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گروه اعتقاد دارند که هرچه کمتر درباره فرآورده اطلاعات بدهند به همان‌اندازه اهمیت کارشان در نزد خریدار بالاتر می‌رود. در تبلیغات و آگهی‌ها تعریف و ظاهر فرآورده همه چیز است.

خوشبختانه در علم و صنعت باعث تسلی خاطر است که ظاهر (Image) کمتر مورد قبول است و در اینجا کیفیت است که حرف اول را می‌زند. اما این موضوع در همه حال صدق نمی‌کند. در تعداد زیادی از مجله‌ها و نوشته‌ها می‌توان دید که از واژه کیفیت و یا تازگی در سر مقاله، یا در پاورقی و یا متن از این واژه‌ها استفاده می‌شود. کمی‌دقت در این مورد نشان می‌دهد که کیفیت و یا تازگی به درستی هرگز تعریف، توضیح و یا مورد ارزیابی براساس یک قانون یا اصل قابل قبول قرار نگرفته‌اند.بعضی وقت ها، توسط یک پژوهشگر در رابطه با کار

در دست انجامش سعی می نماید که از نتایج بدست آورده یک تعریف ابتدائی برای واژه کیفیت مواد بکار برده بنماید و بگوئید که منظور از کیفیت چه می‌باشد. این تلاش « مثل قراردادن گاری در مقابل اسب می‌باشد» اگرچه تلاش برای کشف معنی کیفیت از طریق آزمایش‌های شیمیائی و ارزیابی تلاش قابل تقدیری می‌باشد، در رابطه با روشن نمودن نقاط مبهم ویژگی‌های موجود در مواد غذائی و چگونگی ارتباط آنها با همدیگر، اما نتایج بدست آمده از این روش ها، معنی کیفیت نمی‌باشد.

در هر علمی، تعریف روشن و واضح از قدم به قدم از جزئیات روش و نمونه‌ها مورد استفاده از واجبات حیاتی آن علم است، اگر این تعاریف به روشنی انجام نگیرد و یا مبهم و نادرست بیان شوند، در نتیجه تفسیر نتایج و نتیجه گیری بدست آمده از آنها نامفهوم و نادرست خواهد بود. نمونه‌های زیادی از این تعریف‌ها وجود دارد و اگر این تعاریف و اصطلاحات راه خودشان به مرجع‌های تکنیکی و تجاری پیدا نمایند، اثر استفاده غلط از آنها در مرجع‌های علمی‌می‌تواند نتایج غیر قابل پیش بینی را در بر داشته باشد. یک نمونه از این موارد سرمقاله‌ی «رژیم غذایی دارای تاثیر کمی بر روی کیفیت بافت دارد» می‌باشد (Anon,2000). این عنوان سرمقاله برای تبلیغ نمودن غذائی آماده ''Take Home'' بکار برده شد. اگر بصورت اتفاقی خواننده این مقاله یک فردی که مسئول تنظیم قوانین صنعتی در یک کمیته نظارتی باشد، دیدن این جمله آن را یک واقعیت جهانی در نظر بگیرد و باعث گردد که او اثر کیفیت بر روی ارزش مواد غذایی را کم اهمیت بودند و در نتیجه از قبول درخواست هایی که هدفشان بررسی روی کیفیت مواد غذایی می باشد را بدون هیچگونه تأملی آنها را رد نماید. در حقیقت تحقیقات بر روی بافت (Flesh) ماده غذایی صورت نمی گردد، بلکه رنگ، رنگدانه، مقدار چربی و مقدار مواد فیبری در ماده غذائی مورد توجه و تحقیق قرار می گیرند. این موارد فاکتورهای مهم در تولید می‌باشند که می‌توانند در رابطه با خرید فرآورده از طرف مصرف کننده و یا دیگر فاکتورهای ارزیابی کیفیت مواد غذایی مورد توجه قرار داشته باشند، اما این فاکتورها نشان دهنده کیفیت ماده غذایی بصورت صوری نمی‌باشند.

این بحث‌ها بصورت دقیق توسط (Bremner,1997,2000 ; Bremner & Sakaguchi,2000) مورد بررسی قرار گرفته‌اند و در این فصل بصورت بیشتر در رابطه با کیفیت مورد بررسی قرار خواهند گرفت. بعلاوه در این فصل من (Bramner) نظر خودم را در رابطه با معنی کیفیت در تجارت و تکنولوژی و بکار گرفتن کلمه کیفیت بعنوان یک جاذبه را شرح خواهم داد. در این فصل لغت کیفیت بعنوان یک مثال مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما در بیشتر موارد منظور از کیفیت، تازگی مواد غذائی می باشد.

۲-۱۰- کیفیت و تازگی بعنوان یک مفهوم[1] (Concept)

بسیار مهم است که تشخیص بدهیم که کیفیت و تازگی یک تصور می‌باشند و نمی‌توان آنها را مثل وزن، اسیدیته، نیروی شکنندگی و امثال اینهااندازه‌گیری نمود. بدین علت نمی‌توان پیشنهاد نمود که کیفیت یک جسم، یا خدمات را بدون اینکه ابتداء کیفیت را براساس‌اندازه‌گیری و یا تخمین زدن تعریف نمود مشخص کرد. این موضوع باعث گردید که تشخیص داده شود که در سلسله مراتب تعریف کیفیت یک حلقه گمشده وجود دارد (Bremner,2000).

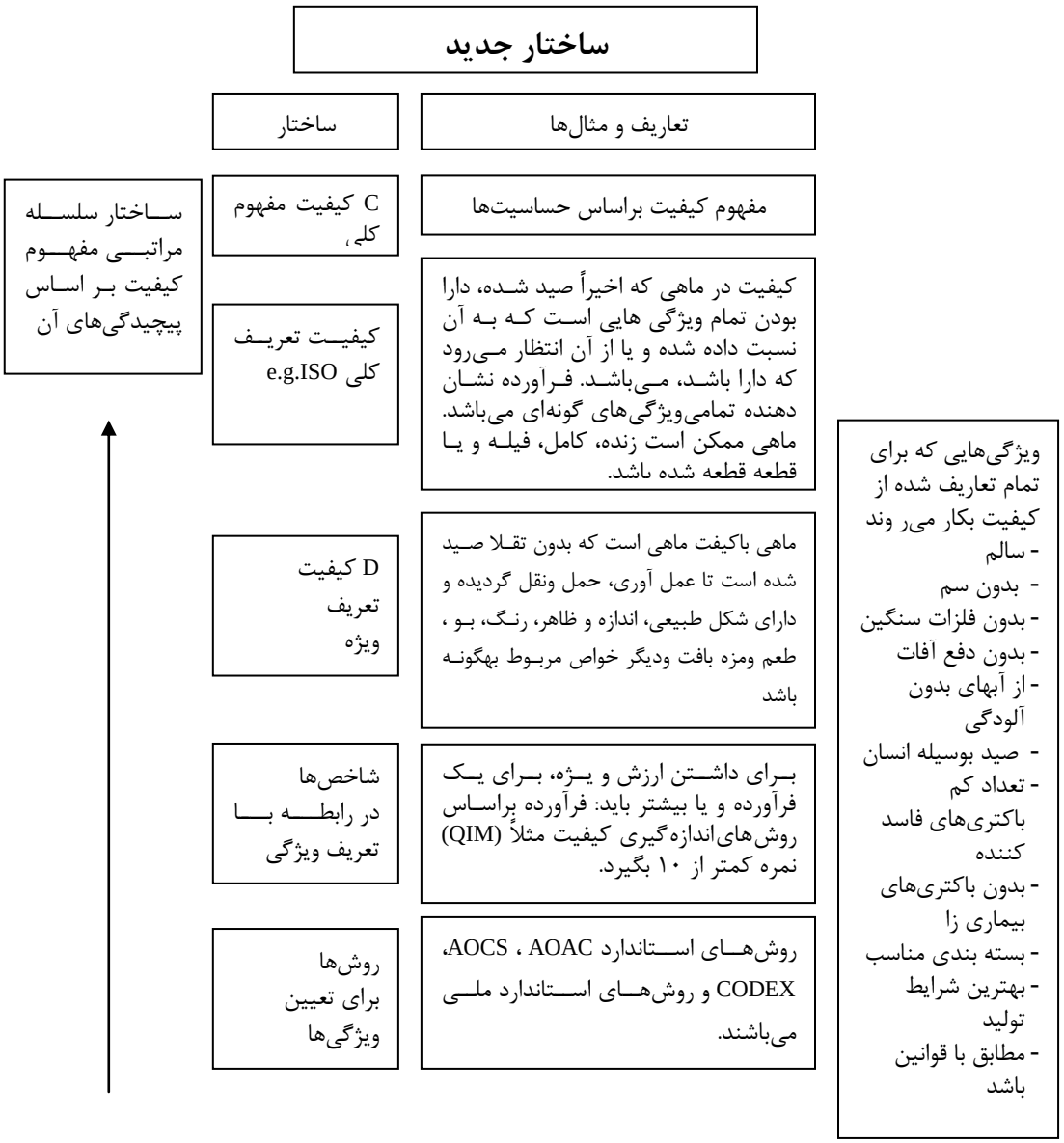
۱-۲-۱۰- تعریف کیفیت، حلقه گمشده

تابحال هزاران تلاش برای تعریف نمودن کیفیت در ماهی بعمل آمده است. این تلاش‌ها شامل تعاریف بعمل آمده از کیفیت از فرهنگ‌های لغت گرفته تا تعاریف انجام شده توسط نویسندگان مختلف برای اهدافشان و همچنین تعارفی که توسط سازمان‌های وضع کننده قوانین انجام شده می‌گردد. یک تعریف کلی و قابل قبولی از کیفیت توسط سازمان بین المللی برای استاندارد (ISO) در سال ۲۰۰۰ بعمل آمد (ISO,2000). اما این تعرفی نمی‌باشد که بتوان فوراً آن را برای هر محصولی بکار برد. چیزی که مورد نیاز می‌باشد یک تعریف اختصاصی‌تر می‌باشد که بتوان آن را بصورت مستقیم و هماهنگ با تعریف ISO از کیفیت، یا در حقیقت همگن‌تر با دیگر تعریف های کلی کیفیت بکار گرفت. این مووضع در سلسله مراتب داده شده در شکل (۱-۱۰) نشان داده شده است. در این روش، اولویت به مفهوم کلی کیفیت داده شده است که در زیر آن تعریف ISO از کیفیت، قابل قبول است و پس از آن کیفیت های تعریف شده آمده، زیر آن روش شناسائی و در ادامه درجه استاندارد و نظایر آن آورده شده است. ارزش اصلی از تعریف نمودن دقیق کیفیت در این است که هر فرد صاحب نظر یا دارای منافعی به درستی می‌داند که به درستی منظور گوینده اولیه از بکار بردن لغت کیفیت چه صفاتی می‌باشد، وقتی که آنها لغت کیفیت را بکار می‌برند. این در گزارش نمودن نتایج تحقق‌ها بخصوص در زمانی که نویسندگان نظر خودشان را در رابطه به اینکه چه اجزایی تشکیل دهنده کیفیت می‌باشند را می دهند خیلی مفید و سودمند می‌باشد. بهر صورت این مهم نمی‌باشد که خواننده با نظر نوشته شده موافق و یا مخالف باشد، حداقل آنها می‌توانند علت تعریف شده از کیفیت را ببینند. در بسیاری از موارد تعریف انجام شده از کیفیت ممکن است

---

[1] - Concept = یک فکر، مفهوم، تصور، حس

بصورت مکرر و با توجه به هدفهای گویندگان و یا نویسندگان نوشته شود. یک تعریف عمومی‌از کیفیت می‌توانند به شکل‌های زیر باشد:



شکل ۱-۱۰- ساختار سلسله مراتب کیفیت که مفهوم کیفیت را از تعریف کلی تا تعریف ویژه و در موارد خاص ارائه می‌دهد.

در شرایط زیر (شرایط ۱... تا x)، یک فرآورده با کیفیت دارای ویژگی های زیر باشد:
(ویژگی ۱... تا ویژگی x) ، ساخته شده از (مواد ۱... و x) ، یا روئیده شده بوسیله روش (۱... تا x)، یا برداشت شده باشد براساس روش (۱... تا x)، مواد زیر در آن وجود ندارد (۱... تا x) و دارای خواص مطلوب (خواص ۱... تا خواص x) باشد و امثال آن.

نوشتار زیر می‌تواند سنگ زیربنای اولیه و دقیق تری از تعریف کیفیت برای یک فرآورده بخصوص قرار بگیرد. یک نمونه از تعریف کیفیت برای فیله منجمد ماهی کاد بدین شرح است:

«در دریا برای تولید فیله ماهی منجمد از ماهی کاد (Gadus morhua) با کیفیت ممتاز باید، ویژگی‌های اختصاصی مربوط به گونه را حفظ نماید. باید با ترال استاندارد مورد قبول صید گردد. عمل صید باید در منطقه مجاز صورت گیرد، مدت زمان صید ماهی باید کوتاه با حجم صید کم صورت پذیرد. زمان بین تخلیه ماهی صید شده روی عرشه و انجماد باید کوتاه باشد و پس از چند ساعت پس از صید ماهی کاد باید بصورت بهداشتی و با روش صحیح تخلیه شکمی، فیله، منجمد و بسته بندی گردد. فیله‌های منجمد ماهی کاد باید در انبار سردخانه در زیر (۲۰-) سانتیگراد و کمتر از ۱۲ ماه قبل از فروش نهایی نگهداری شوند. فیله‌های منجمد ماهی کاد، پس از یخ زدایی باید ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی مطلوب و خصوصیات حسی مناسب را باید دارا باشد. همچنین شمارش میکروبی آن باید پائین باشد.

لغت‌های کلیدی و جمله هایی که زیر آنها خط کشیده شده است، به نوبه خود باعث دادن اطلاعات بیشتر دربارهٔ جزئیات محیط، عملکرد، ویژگی‌های روش صید و امکان روش‌های‌اندازه‌گیری آنها، محدودیت‌ها و دیگر اطلاعات مرتبط با عملیات را بدست می‌دهند. این اطلاعات یک پایه خوبی برای درک کیفیت برپایه تعریف ISO که خود براساس تعریف کلی از کیفیت است بدست می‌دهد. این روش در حال حاضر در حال تولید و توسعه می‌باشد و از طرف دیگر شبکه (Web) و نرم افزار (PC) در دست طراحی می‌باشند، تا تمام اطلاعات بدست آمده را جمع آوری و بهم ارتباط دهند، این شبکه نرم افزاری این امکان را بوجود می‌آورد که بین شرکای تجاری، سازمان‌های تحقیقاتی و زنجیره تولید و عرضه بر سر تعریف کیفیت توافق بوجود آورده شود. این روش، وسیله ایست که تهیه اطلاعات صحیح را بوسیله ماشین امکان پذیر ساخته و راه کاری است برای سازمان دهی اطلاعات صحیح، اما جایگزینی برای تفکر و تحقیق نمی‌باشد. ایجاد تعریف عملی برای کیفیت کار چندان ساده‌ای نمی‌باشد.

۲-۲-۱۰- کیفیت تعریف شده و کیفیت بعنوان یک مفهوم

این خیلی متداول است که تعاریف مختلفی برای کیفیت در مرجع‌ها پیدا نمود، مثلاً کیفیت بعنوان یک مفهوم، کیفیت دراندازه‌گیری‌ها و یا کیفیت بعنوان یک صفت. نویسندگان معمولاً در تعریف نمودن بین دو نوع از کیفیت عقب وجلو میروند و بدون اینکه بصورت واقعی احساس و منظورشان از کلمه کیفیت را بگویند چه می‌باشد و آن را تعریف نمایند. بکاربردن روش کیفیت تعریف شده آنها را به این راهبرد می‌رساند که باید از بحث نمودن درباره تعریف کیفیت و یا مفهوم آن در مباحثات پرهیز نمایند. علت این امر در این است که برداشت افراد و گروه‌ها از کیفیت خیلی متفاوت از همدیگر می‌باشد و این باعث سردرگمی‌در نتیجه گیری می‌گردد. من در اینجا بحث نمی‌کنم که یک مفهوم بعنوان کیفیت وجود ندارد، بلکه برخلاف آن و این مهم است. من عقیده دارم که بحث نمودن درباره مفهوم کیفیت باید بطور جداگانه صورت گیرد زیرا این بحث در حیطه فلسفه می‌باشد. من درباره فلسفه‌ای بودن آن بعداً بحث خواهم نمود.

۳-۲-۱۰- حرف آخر (Watershed)

حرف آخر در این است که آیا کیفیت بعضی از خاصیت های اساسی قابل اندازه گیری از مواد غذائی است که نمی‌توان آنرا با جمله‌ها تعریف نمود و یا اینکه کیفیت مجموعه‌ای بزرگی از ویژگی‌های ماده غذائی می‌باشد. من فکر نمی‌کنم که اصلاً عملی باشد، که بتوان این دو نظر کاملاً متضاد را در یک زمان داشت، در حقیقت یا باید نظر دوم را قبول داشت یا نظر اول را. اگر نظر دوم را قبول داشت که کیفیت یک جزء جداناپذیر و غیرقابل توصیف یک فرآورده ماهی می‌باشد که به منظور خاص آماده و مصرف می‌شود، تنها راه ارزیابی از کیفیت این فرآورده یک روش فلسفی (Psychophysical) می‌باشد. اما اگر نظر اول مورد قبول باشد که می‌توان کیفیت را بصورت مجموعه‌ای از ویژگی‌های قابل‌اندازه‌گیری تعریف نمود، بنابراین می‌توان آن را بااندازه‌گیری با روشهای مختلف آزمایشگاهی‌اندازه‌گیری و تعریف نمود. بهر صورت این دو نظریه کاملاً متفاوت می‌باشند و نمی‌توان نتایج بدست آمده از نظریه دوم را به نظریه اول تسریع داد.

۴-۲-۱۰- موقعیت‌ها و انتظارات

همه با این نظر که این دو دیدگاه با همدیگر قابل قبول هستند موافق نمی‌باشند (Meiselmann, 2001). بهرحال، هر تلاشی برای‌اندازه‌گیری کیفیت به خودی خود تحت تأثیر موقعیت‌ها و انتظارات قرار می‌گیرد. (Meiselmann) در سال ۲۰۰۱ گزارشی تهیه نمود که در آن شرح داده شده که چگونه مفهوم کیفیت تحت تاثیر شرایطی که غذا

تهیه شده است تغییر می‌نماید. علاوه بر آن، روشن بود که از طریق آزمایش‌ها، خیلی مشکل خواهد بود که بتوان اثر انتظارات از غذا را در موقعیت‌های مختلف را از هم جدا نمود. بنابراین براساس استدلال یا مقایسه نمی‌توان مثلاً برای یک غذای دریائی یک تعریف مطلق برای کیفیت آن بعمل آورد. مثال‌های زیادی وجود دارد، درباره اینکه اگر یک غذای دریائی توسط یک تولید کننده یا منطقه مشهور تهیه شده باشد به کیفیت آن درجه بالایی داده می‌شود در صورتی که برای همین فرآورده که توسط تولید کننده و محل دیگر تهیه شده چنین امتیازی داده نمی‌شود. براساس این دلائل بود که شرایط تولید فرآورده جزء تعریف ارزیابی کیفیت آورده شده است.

مطالبی باهمین طبیعت درجایی که زمان ماندگاری (Shelf-life)، شرایطی که باید فرآورده فروخته شود، روشهای مناسبی که باید بکارگرفته شوند، و اطلاعاتی که باید بدست آیند، همه این موارد در فصل ۱۱مورد بحث قرار گرفته اند.

۳-۱۰- دیدگاههای دیگر برای تعریف مفهوم کیفیت

۱-۳-۱۰-اندازه‌گیری ویژگی‌های چند متغیره کیفیت

در کتاب بسیار خوب و جدیدی که اخیراً توسط (Martens & Martens,2001) راجع به‌اندازه‌گیری ویژگی‌های چند متغیره کیفیت *(Multivariate Analysis of Quality)* منتشر کرده‌اند، بخوبی نشان دادند، که‌اندازه‌گیری ویژگی‌های چند متغیره کیفیت از پیچیدگی زیادی با توجه به تعداد روش‌های‌اندازه‌گیری در دنیا برخوردار است. استخراج تعریف واقعی کیفیت، از انبوه اطلاعاتی که از طریق آزمایش‌های مختلف‌اندازه‌گیری ویژگی‌های مواد غذائی مثل استفاده از روش‌های حسی، ابزارهای مکانیکی و یا آزمایش‌های آزمایشگاهی وجو دارد کار چندان ساده‌ای نمی‌باشد. این حجم اطلاعات بقدری زیاد و پیچیده می‌باشند که مغز انسان به سادگی قادر به نتیجه گیری از آنها نمی‌باشد. لذا روش تجزیه و تحلیل چند متغیری، روش بسیار مناسبی برای تجزیه و تحلیل این متغیرهای پیچیده که بصورت آشکار و پنهان وجود دارند می‌باشد. بنابراین این پژوهشگران، مثل خیلی دیگر، از مدل سازی ساده بوسیله نرم افزارهای ساده که نیازی به فرض‌های سخت در رابطه با روابط بین پارامتری متغیر مختلف ندارد، استفاده نموده‌اند. تجزیه و تحلیل بدست آمده خودشان جواب مورد نظر درباره کیفیت را بدست می دهند.

آنها با توجه به تعریف کلی از کیفیت، به این نتیجه رسیدند که، چهار روش برای اینکه ما بتوانیم کیفیت را تعریف نماییم وجود دارد. برای سهولت این چهار روش را به اسم‌های QD1، تا QD4 (Quality Definition) بشرح زیر تعریف نمودند:

۱- QD1 – نشان دهنده ویژگی طبیعی، ویژگی ژنتیکی یا صفت ارثی می‌باشد.

۲- QD2 – نشان دهنده کیفیت عالی و خوبی آن برای مصرف کننده، تشخیص درجه ممتاز و سالم بودن می‌باشد.

۳- QD3 – نشان دهنده کیفیت استاندارد، کیفیت بعنوان رابطه متقابل بین ویژگیهای ارثی یک ماده غذائی، برآوردن نیازهای انسان، شامل اغناء نمودن، انتظاراتی که باید برآورده سازد می‌باشد.

۴- QD4 – یک خاطره می‌باشد، که کیفیت در اینجا یک خاطره تجربه انگیز است.

تمام این تعاریف از کیفیت QD1 تا QD4 ، موضوع‌های جدا از هم بوده و نشان می‌دهند که چگونه تعریف کیفیت می‌تواند در آنها با هم مرتبط باشد (Martens & Martens,2001). موضوعی که روشن می‌باشد این است که تجزیه و تحلیل داده‌ها برای تعریف نمودن کیفیت بوسیله روش آنالیز Multivariate یک روش مناسب می‌باشد. زیرا این روش قادر به تجزیه و تحلیل نمودن اطلاعات ناقص بدست آمده از مدل‌های نرم افزاری و سخت افزاری می‌باشد و مهم‌تر از آن قادر به تجزیه و تحلیلی نمودن مقدار وسیعی از اطلاعات مرتبط با هم که با روش‌های مختلف بدست آمده‌اند می‌باشد. از طرف دیگر از این روش می‌توان برای بدست آوردن اطلاعات مورد نظر از کیفیت ماده اولیه و یافراورده بعد از عمل آوری استفاده نمود.

۲-۳-۱۰- دیدگاه‌های موجود

نظریاتی که کیفیت براساس آنها پایه‌ریزی می‌شود را می‌توان به عنوان قسمتی از علم نظرپردازی مورد توجه قرارداد. در کتابی که اخیراً توسط (Gärdenfors,2000) منتشر شده، او پیشنهاد نموده که تصورات و ایده‌ها را می‌توان با استفاده از علم نظرپردازی یا ارائه تئوری تعریف نمود. این تلاشی است که بتوان دو نظریه متضاد را با هم براساس فلسفه علمی‌توآم نمود. این موارد را می‌توان بصورت زیر بیان نمود:

۱. دیدگاه نمادین فرض می‌کند که علم نظری مثل چرخ در گوشت است که علم نظری در آن هم بصورت جمعی و هم فردی عمل می‌نماید.
۲. دیدگاه جمع گرا، در این روش، ارتباط بین اطلاعات مختلف نقش اصلی را بعهده دارد، و ارتباط دهنده‌ها یک نوع خاص از جمع گرائی بوده و مدل جمع گرا از یک سیستم عصبی مصنوعی برای تجزیه و تحلیل اطلاعات استفاده می‌کند.

عقیده گراند فوردبر بر این است که استفاده از این دیدگاه‌ها نمی‌تواند مکانیسم مفهوم بدست آوردن و یا مفهوم یاد گرفتن را که خیلی شبیه به هم هستند را تشریح نمایند. بنابراین او یک مدل تئوری که براساس ساختار

هندسی و توپوگرافی می‌باشد را پیشنهاد و اظهار نمود این مدل می‌تواند همان قدر درست باشد که نظریه‌های در حال حاضر می‌باشند. او اسم این مدل را "Conceptual Space" یا مفهوم فضایی برای نظریه پردازی گذاشت. این فضای نظریه پردازی را براساس ساختار هندسی برای تعدادی از پارامترهای کیفیت تعریف نمود. بعنوان مثال "Spatial concepts" متعلق به یک حوزه از دانش، رنگ به حوزه دیگر و شکل به حوزه دیگر و بالاخره درجه حرارت، روشنی، وزن، شدت صدا و عمق و ... هر کدام به یک حوزه از دانش تعلق دارند. این بدین معنا نیست که تمام حوزه‌ها قابل‌اندازه‌گیری می‌باشند، ممکن است پارامترها در یک سلسله مراتب بدون مرزبندی مشخصی قرار داشته باشند. یک حوزه تشکیل شده از تعدادی ازاندازه‌ها که از حوزه‌های دیگر جدا بوده، اگرچه ممکن است بصورت کامل از همدیگر مستقل نباشند، برای نمونه، رسیدگی و رنگ در میوه که با همدیگر مرتبطاند. نقش اساسی و ابعاد کیفیت "Quality Dimensions" در این است که بتواند ساختاری را بوجود آورد که در آن بتوان مفهوم کیفیت را تعریف نمود. این ساختار کیفیتی این امکان را بوجود می‌آورد که در آن بتوان فاصله‌ها (Distances) را همراه با ابعاد واندازه‌ها (Dimensions) را با همدیگر تعریف نمود و در نتیجه باعث ایجاد رابطه‌ای بین همانندها می‌گردد.

بنابراین برای فراورده‌های تولید شده از گونه‌های مختلف ماهی می‌توان از مدل مفهوم فضائی Conceptual Space براساس ابعاد بسیار متفاوت و در حوزه‌های مختلف مدلی ایجاد نمود که قادر به مرتبط نمودن این ابعاد و قلمروهائی مختلف بهم دیگر باشد. اینجا هر روش‌اندازه گیری باید با دقت بسیار صورت گیرد، این روش باعث می‌گردد که بتوان رابطه‌ای بین پارامترهای علمی‌و کمی‌با پدیده‌های ظاهری ایجاد نمود. مثلاً پدیده روحی و روانی مثل رنگ قرمز، سبز و آبی را می‌توان به طول موج این رنگ‌ها، قرینه چشم و انعکاس آنها در چشم نسبت داد.اندازه‌گیری‌های روحی و روانی نه اندازه های تئوری، برای‌اندازه‌گیری‌ها در قلمرو روحی و روانی مورد نیاز می‌باشند.

استفاده از Multidimensional Scaling برای این منظور مورد استفاده قرار گرفته که بتوان سیستم‌های عصبی را بوجود آورد، اگرچه این روش ممکن است بدون تردید نیاز به آموزش‌های زیاد برای رسیدن به یک تقسیم بندی خوب دارد، همچنین از طرفی به آسانی نمی‌توان یافته‌های بدست آمده از یک گروه را به گروه دیگر تعمیم داد.

بطور کلی اساس این ایده استفاده از Conceptoal Space بر این مبنا استوار است که بتوان از روش‌های حسی با بوجود آوردن یک چهارچوب علمی‌برای آنها بتوان آنها را در یک سیستم فلسفی اساسی Cognitive Philosophy ادغام نمود. هنوز راه طولانی در این زمینه باید طی شود، اما این ایده بصورت غیر منتظره‌ای تشویق کننده می‌باشد. زیرا از این این طریق می‌توان احساسات انسانی را در بعد Conceptoal

Space در مورد تعریف کیفیت، تجزیه و تحلیل نمود و زمینه را برای بوجود آرودن یک چهارچوب برای ارتباط دادن پارامترهای متضاد با همدیگر در تحت شرایط مختلف(۳-۱۰) که تابحال شرح داده شده است آماده نمود.

۴-۳-۱۰- تلفیق نمودن نظریه Conceptoal Space با چند متغیره بودن مفهوم کیفیت

تابحال برای دفاع از نظریه Conceptual Space از نتایج بدست آمده از بررسی‌های انجام شده بر روی تشخیص و تعریف رنگ استفاده شده است. معمولاً برای تعریف و انتخاب رنگ انسان از خواص حسی خود استفاده می‌کند. سپس برای درجه بندی رنگ براساس انتخاب، از میان روش‌های مختلف برای این کار از روش Fuzzy Algebra استفاده بعمل آمده است. امروز علوم برای سنجش پارامترهای مختلف تأکید زیاید بر کنار گذاشتن روشهایی که براساس احساس انسان عمل می‌کنند دراندازه گیری‌های عملی دارد. این روند برای مواد طبیعی مثل مواد غذائی احتمالاً در مسیر صحیحی نمی‌باشد. پیشرفت‌های فوق العاده زیاد که در روش‌های‌اندازه‌گیری‌های چند متغیره و حسی که نتایج بدست آمده از این روش‌ها برای نتیجه گیری بهتر درهم تلفیق می‌گردند، باعث بوجود آمدن راه حل بسیار خوبی برای ایجاد ساختاری برای اساس Conceptoal Space برای اینگونه‌اندازه‌گیری‌ها که براساس حواس انسان می‌باشند بوجود آورده است.

۴-۱۰- کیفیت بعنوان یک جاذبه

این مهم نیست که کیفیت چطور تعریف بشود، بلکه پی‌گیری آن می‌تواند یک جاذبه قوی برای کارخانه‌های فرآوری غذاهای دریایی باشد. بعنوان یک اصل مهم، کوشش برای بدست آوردن کیفیت بهتر، نیروی پشت سر تمام موفقیت‌ها و بازده‌های مفید در تمام کارخانه‌ها مثل معادن، اتومبیل سازها، الکترونیک و ارتباطات می‌باشد. کمپانی‌های مشغول بکار در این بخش‌ها نه تنها به کیفیت فرآورده‌های خود توجه می‌کنند، بلکه در تمام خط تولید، از طراحی خط تا کنترل مواد اولیه، فرآورده تولید شده، حسابرسی، نیروی کار و در حقیقت تمام اجزاء کارخانه را برای بدست آوردن کیفیت و راندمان بهتر مرتباً مورد بررسی قرار می‌دهند. این توجه و علاقه در کارخانه‌های غذاهای دریایی کمتر مشهود است. اگرچه کمپانی‌های بزرگ چند ملیتی که در زمینه فرآورده‌های دریایی دارای فعالیت می‌باشند، یک سیستم کنترل کیفیت برای غذاهای دریائی را مورد توجه و عمل قرار می‌دهند. این سیستم شامل تمام کنترل‌های مدیریتی برای کیفیت بنام Total Quality Management (TQM) می‌گردد. عمل نمودن به شش دستور عمل بنام شش زیگما Six Sigma Approach (SSA) که در برگیرنده تمام عملیات مربوط به ماده اولیه، خط تولید، پرسنل، روش‌های تولید، انجام آزمایش ها، انبارداری و

فروش می‌باشد باعث صرفه جوئی، بازدهی بیشتر و کیفیت بهتر فرآورده‌ها با جلوگیری از ضایعات مختلف در سیستم تولید گردیده است (Harry & Schroeder,2000).

۱-۴-۱۰-اندازه گیری روزانه و IT

نیاز به گفتن نمی‌باشد که کارخانه‌ها برای اطمینان از کیفیت Quality Assurance (QA) فرآورده هایشان بطور روزانه احتیاج به ابزاری دارند که بتوانند بطور روزانه برای‌اندازه گیری پارامترهای مورد نظر و ارزیابی کیفیت، روش تولید و فرآورده هایشان از آنها استفاده نمایند، ضمناً بتوانند از این نتایج در روش حصب HACCP نیز استفاده نمایید یا در حقیقت رابطه‌ای بین (QA) و HACCP ایجاد نمایند. این نکته خیلی مهم است که باید در نظر گرفته شود که اطلاعات بدست آمده از این سیستم کنترل کیفیت برای تجزیه تحلیل کردن برنامه‌ها مورد استفاده قرار گیرند نه اینکه در قفسه‌های کتاب خانه‌ها بایگانی و فراموش گردند. امروزه نرم افزارهای پیشرفته‌ای برای ثبت و تجزیه تحلیل کردن اطلاعات بدست آمده از خط تولید و فرآورده‌ها وجود دارد. بوسیله این نرم افزارها می‌توان ویژگی‌های خط تولید و فرآورده‌ها را برای تولید بهتر مورد استفاده قرار داد. تمایل روزافزون به بازاریابی برای ماهی تازه و فرآورده‌های تولید شده و تعیین کیفیت آن‌ها از طریق روش‌های الکترونیکی در فصل ۱۵ این کتاب توضیح داده شده است.

۵-۱۰- تازه بودن

بخش زیادی از این فصل روی کیفیت متمرکز گردیده است و مقداری از نظریات داده شده در رابطه با کیفیت به تازگی هم مربوط می‌گردد. صفت تازگی یکی دیگر از مفهوم‌های مشکل برای تعریف نمودن آن بدقت از نظر علمی‌می‌باشد که در مورد آن یک توافق نظر همه جانبه هنوز بین پژوهشگران بوجود نیامده است. تازگی واژه‌ای است که بصورت وسیعی در بیشتر از یک زمینه بکار می‌رود. در یک زمان، در مورد ماهی که جدیداً صید گردیده بکار می‌رود، در زمان دیگر در مورد ماهی منجمد نشده و یا فرآوری نشده بکار می‌رود، گاهی از واژه ماهی تازه منجمد شده استفاده بعمل می‌آید. به غیر از زمانی که زمینه مورد استفاده از (تازگی) به درستی و بدقت تعریف نشده باشد بهتر است از بکار بردن صفت تازگی خودداری شود (Bremner & Sakaguchi,2000). تابحال تلاش‌های زیادی بر توسعه روش هایی برای‌اندازه‌گیری صفت تازگی بعمل آمده است، اما نتایج بیشتر این تلاش‌ها چندان رضایت بخش نبود و این آزمایش‌ها قادر به نشان دادن تغییرهای پس از صید نمی‌باشند. علت این امر در قادر نبودن این آزمایش‌ها در ادغام نمودن تاثیر گذشت زمان و

درجه‌حرارت‌محیط بـر روی تـازگی مـی‌باشـد (Bremner & Sakaguchi,2000 و Bremner *et al.* , 1987). این تلاش‌ها بهتر است برای توسعه روش‌های کنترل و کیفیت از طریق زنجیره مدیریت مثل روش‌هـای ردیـابی (Traceability) گذاشته شود ((فصل ۱۵)، (Fraderiksen *et al.*,2002).

۶-۱۰- سالم بودن

بنظر می‌رسد که چرا نباید ایده‌های خلاصه شده در بالا (۱-۲-۱۰) درباره تعریف سالم بودن فرآورده‌هـای مـاهی نباید بصورت منطقی و در یک ساختار علمی‌بکار گرفته شوند. این روش را می‌توان با اسـتفاده از تعریـف موجـود درباره پارامترهای نشان دهنده سالم بودن فرآورده‌های ماهی توسعه داد. با جمع آوری اطلاعات و مرتبط نمـودن آنها در یک ساختار علمی‌و منطقی و با استفاده از نرم افزارها می‌توان ایـن کـار را انجـام داد و سـپس از مزایـای بی‌شمار آن بهره برد.

۷-۱۰- پیش بینی آینده

همیشه مقدار قابل ملاحظه‌ای هم‌پوشانی و موافقت در بیشتر بحث‌ها انجام شده درباره تعریف کیفیت وجود دارد. در این فصل من(Bremner) سعی کردم یک تعریف مشخص از کیفیت با در نظر گـرفتن تمـام تعریـف‌هـای انجام شده و با درهم آمیختن آنها و دیگر فاکتورهایی که بعنوان کیفیت تابحال از آنها نامبرده شـده بعمـل آورم. این بخوبی روشن است که سنگ اولیه برای تعریف کیفیت در برگیرنده تعریف‌های QDI تـا QD4 کـه توسـط (Martens & Marten,2001) برای تعریف کیفیت شده با اجزاء مشخص آنها می‌گردد. از طرفی برای تجزیه و تحلیل اطلاعات می‌توان از فرمول چند متغیری (Multivariate Measures) برای کیفیت اسـتفاده نمـود. بدین ترتیب می‌توان از ساختار وسیعتری که دربرگیرنده تعاریف متعارف و محـدودیت‌هـا دربـاره تعریـف کیفیـت می‌باشد استفاده نمود.

بهرحال، هر روشی را که برای تعریف نمودن کیفیت و تازگی انتخاب می‌گـردد، بهتـر اسـت از بکـاربردن کلمـه «کیفیت» بدون ذکر دقیقی از جزئیات که منظور از کیفیت چه می‌باشد برای جلب نظر خریداران خودداری نمود.

۸-۱۰- منابع فصل دهم

ANONYMOUS, 'Diet has little impact on flesh quality'. *Global Aquaculture Th Advocate*, 2000, October, p. 69. BREMNER, H A, OLLEY J and VAIL A M A, 'Estimating time-temperature effects by a rapid systematic sensory method'. In *Seafood Quality Determination*, Kramer D E and Liston J (eds) Elsevier, Amsterdam, 1987, pp. 413–35. BREMNER, H A, 'If freshness is lost, where does it go?' In *Methods t Determin the Freshness of Fish in Research and Industry*, Olaffsdo´ttir G, Luten J, Dalgaard P, Careche M, Verrez-Bagris V, Martinsdo´ttir E and Heia K(eds). Final meeting of the Concerted Action 'Evaluation of Fish
Freshness'. International Institute of Refrigeration, Paris, 1997, pp. 36–51.
BREMNER, H A, 'Towards practical definitions of quality for food science',
Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2000, 40, 83–90.
BREMNER, H A and SAKAGUCHI M, 'A critical look at whether 'freshness' can be determined'. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2000, 9, 5–25.
FREDERIKSEN M A, ØSTERBERG C, SILBERG S T, LARSEN E and BREMNER H A, 'Infofisk. Development and validation of an Internet based traceability system in a Danish domestic fresh fish chain'. *Journal of Aquatic Food Produc Technology*, 2002, 11 (2), 13–34
GA¨ RDENFORS P, *Conceptual Spaces:the geometry of thought*. MIT Press,
Cambridge Mass. USA, 2000. HARRY M and SCHROEDER R, *Six Sigma*, Doubleday, NY, USA. 2000. ISO, *Quality management systems – Fundamentals and vocabulary*. Brussels, Belgium, European Standard (EN ISO 9000:2000, Point 3.5.4), European Committee for Standardisation. 2000.
MARTENS H and MARTENS M, *Multivariate Analysis of Quality*, John Wiley & Sons, Chichester UK. 2001.
MEISELMANN H L, 'Criteria of food quality in different contexts' *Food Servic Technology*. 2001, 1, 67–84.

« **فصل یازدهم**»

معنای زمان ماندگاری

۱-۱۱- مقدمه: مفهوم زمان ماندگاری

۱-۱-۱۱- زبان مورد استفاده

اگر چه تعریف ساده‌ای برای زمان ماندگاری را به آسانی می‌توان در نشریات یافت، اما این تعریف‌ها هرگز به روشنی مشخص کننده منظور نویسنده نمی‌باشند. حتی بعضی وقت‌ها واژه زمان ماندگاری بصورت (Shelf-life) و یا "Shelfliff" نوشته می‌شوند که دومی‌در زبان انگلیسی صحیح بحساب نمی‌آید (Fox *et al.*,1987). زمانی که اجزاء واژه زمان ماندگاری را "Shelf-Life" را بصورت جداگانه مورد بررسی قرار می‌دهیم لغت "Shelf" در برگیرنده مدت زمان انتظار ماده غذائی در قفسه سوپرمارکت تا زمان فروش فرآورده غذائی می‌باشد. این مفهوم کلمه "Shelf" یک برداشت محدود از کل منظور از جمله "Shelf-Life" را در برمی‌گردد. در حقیقت طول زمان کل خیلی بیشتر از آن، و در برگیرنده از زمان تولید غذا، مثلاً از زمان صید ماهی (برای ماهی‌های وحشی) یا زمان برداشت و مرگ (ماهی‌های پرورشی)، و مرحله دورریز آنان بعلل مختلف می‌باشد. کلمه زندگی (Life) در اینجا همچنین می‌تواند دارای معنی قابل بحث باشد، بطوری که در اینجا می‌تواند بعنوان شروع بعد از مرگ باشد. این کلمه نشان دهنده یک دوره زمانی می‌باشد، بنابراین یک دوره زمانی مشخص برای شروع و خاتمه آن باید داده شود. این کلمه همچنین در برگیرنده ایده مناسب بودن برای هدف خاصی است که باید بر آن عنصر خاص این زمان تعریف گردد. در نتیجه گیری کلی می‌توان گفت اگرچه این کلمه "Shelf-Life" محدود کننده می‌باشد، از آنجائی که بصورت خیلی وسیعی در نوشته‌های معمولی و

علمی‌مواد غذائی بکار برده شده است و کاربرد آن خیلی باارزش می‌باشد، لذا باید این لغت را حفظ نمود. اما آنچه که در مورد آن ضروری است تعریف روشن‌تر و دقیقتر از بکاربردن آن برای منظورهای مختلف می‌باشد.

۲-۱-۱۱- تعریف زمان ماندگاری

چند تعریف برای زمان ماندگاری توسط نویسندگان مختلف پیشنهاد شده که بطور کلی بین این تعریف‌ها تقریباً شباهت زیادی وجود دارد. برطبق تعریف (۱۹۹۳ Daun,1993) زمان ماندگاری، حداکثر زمانی است که ویژگی‌های کیفی تعیین شده از قبل برای ماده غذائی در طول مدت آن حفظ شود. تعریف دیگری که برای زمان ماندگاری شده است، برای هر غذا بصورت جداگانه می‌باشد، در این تعریف یک زمان مشخص، بعد از تولید می‌باشد که در طول آن ماده غذائی باید یک مقدار مشخص از خواص حسی و سالم بودن در طی شرایط مشخصی از انبارداری را حفظ نماید (Taoukis *et al.*,1997). دقت نمائید کلمه «مشخص» که بصورت روشن اشاره به زمان خاتمه می‌کند و همچنین نویسندگان بصورت آشکار مقداری اختلاف در ویژه‌گی‌های تعریف شده برای ماده غذائی را که مربوط به شرایط انبارداری می‌گردد را قبول دارند. این نویسندگان همچنین در مورد تعریفی که برای زمان ماندگاری نموده‌اند قدری دارای تردید هستند، چون در همین مقاله بعداً اظهار می‌کنند که «یک تعریف مشخص، معین و قابل استفاده برای زمان ماندگاری وجود ندراد». در یک واژه نماه نسبتاً کوچک برای اجزاء و کیفیت ماهی (Waterman,1982)، زمان ماندگاری را اینطور تعریف می‌کند، که زمان ماندگاری برابر زمان نگهداری (Storage Life)، زمان حفظ کیفیت (Keeping Quality) و زمان انبارداری (Storage Time) می‌باشد. در تعریف داده شده، منظور از زمان نگهداری، زمانی است که ماهی یا فرآورده آن با کیفیت بالا را می‌توان تا زمانی در تحت شرایط مشخص نگهداری نمود، قبل از آنکه کیفیت آن بصورت زیادی افت نموده یا غیر قابل فروش برای مصرف انسانی گردد.

از این تعریف‌ها، اینطور برداشت می‌شود که، تعریف زمان ماندگاری، مفهومی‌آسان و ساده است. در تعریف داده شده بوسیله (Water man,1982)، بهرصورت، بکاربردن جمله «فرآورده با کیفیت اولیه بالا» یک نمونه از مبهم بودن، مشخص نمودن زمان اولیه برای شروع محاسبه نمودن زمان ماندگاری از آن لحظه می‌باشد. بررسی دقیق‌تر کلمه‌های بکار برده شده برای تعریف نمودن «زمان ماندگاری» برای قضاوت نمودن در مورد زمان ماندگاری، مثل کیفیت، سالم بودن جمله بدرستی تعریف نشده و خودشان دارای ابهام هستند. احتمالاً با بکاربردن آنها، کلمه زمان ماندگاری دوباره مطرح گردیده و باعث تکرار مکررات دوباره می‌گردد. این وضعیت زمانی بوجود می‌آید که از واژه نامه برای تعریف معنی‌های مورد نظر استفاده بعمل می‌آید. علت آن استفاده از معنی لغت بدون

در نظر گرفتن آن بعنوان قسمتی از ساختار به هم پیوسته در یک مجموعه مورد استفاده قرار می‌گیرند. در مورد «زمان ماندگاری» مشکل ساختاری آن تعیین زمان نهائی برای هر واژه مرتبط می‌باشد، بطوری که به سادگی آنها را درک نموده و در عمل بتوان بکار برد.

این فصل در مورد مشکل هایی بحث می‌کند که در زمان استفاده از واژه «زمان ماندگاری» بروز می‌کند، که علت آن عدم تعریف دقیق آغاز زمان شروع و خاتمه زمان ماندگاری می‌باشد. در ادامه تعریف‌های دیگر را پیشنهاد می‌کند که بتوان در شرایط ویژه و بخصوص و در یک دامنه وسیعتر با استفاده از فن آوری تکنولوژی جدید آنها را بهم ربط داده و تعریف یک پارچه و در ارتباط به هم درباره زمان ماندگاری ارائه نمود.

۲-۱۱- شروع زمان ماندگاری

به‌طور کلی شروع زمان ماندگاری عموماً اما نه همیشه یک پدیدهٔ توافقی است. به نظر می‌رسد که نویسندگان با این نظر موافق هستند که شروع زمان ماندگاری با مرگ ماهی شروع می‌شود و این لحظه معمولاً زمانی است که ماهی‌ها از آب خارج می‌شوند (Doyle,1989). این موضوع برای ماهیان پرورشی و وحشی نیز صدق می‌کند اما، گاهی اوقات ماهی قبل از این که از آب خارج شود در تور می‌میرد و این زمانی است که ماهی در تور ماهیگیری یا در قلاب برای فرار تقلای زیادی کرده است. مرگ ماهی‌ها می‌تواند بعد از صید و خروج از آب در اثر کمبود اکسیژن در زمانیکه روی عرشه تخلیه می‌شوند و یا وقتی که تخلیه شکمی‌در مزرعه می‌شوند، اتفاق افتد. در این زمان معمولاً تغییرات غیر قابل برگشت در ویژگیهای ماهی آغاز می‌گردد و این مجموع فرآیندهای تخریبی است که در نهایت منجر به اتمام زمان ماندگاری خواهد شد. معمولاً شروع این تغییرها، بعنوان زمان حداکثر تازگی در ماهی صید شده شناخته می‌شود. اما باید خاطرنشان کرد، که این کلمه «تازگی» یک کلمه دقیق برای تمام فرآورده‌ها نمی‌باشد و باید جمله دقیق‌تری را که تازگی را از نظر ویژگی‌های فرآورده‌ها تعریف می‌کند جانشین این کلمه تصوری و مبهم نمود (Bremner,2000). لازم به ذکر است که ماهی ضرورتاً زمانی که صید می‌شود و یا از آب خارج می‌شود نمی‌میرد. برای دانشمندان فیزیولوژی تعریف مرگ ماهی ساده نیست چرا که قلب ماهی باوجود از کار افتادن مغز آن هنوز در حال تپیدن است، اما فعالیت قلب در این حالت به‌اندازه کافی دقیق نمی‌باشد. توقف فعالیت مغزی ممکن است به‌عنوان شاخص مناسبی در آزمایشات فیزیولوژیکی برای زمان مرگ باشد، اما استفاده از آن برای صنعت خیلی پیچیده است. حرکات ماهیچه‌ها، اختصاصی و ویژه نیستند مثلاً ، انقباض ماهیچه‌ها ممکن است به دلیل تحریک‌های عصبی بعد از توقف فعالیت‌های مغزی و قلبی اتفاق می‌افتد. در بعضی شرایط ممکن است از حرکت آبشش‌ها یا واکنش بخشی از بدن به محرک‌های فیزیکی نیز

استفاده شود. مثلاً در نرمتنان، ممکن است توانایی باز و بسته کردن صدف‌ها و یا بعضی دیگر از فعالیت‌های ماهیچه‌ای برای تعیین زمان مرگ استفاده بعمل آید.

در بعضی از شرایط خاص، برای نمونه در کشورهای اروپائی که ماهی به صورت زنده صید و فروخته می‌شود، زمان ماندگاری را می‌تواند در دو زمان بررسی نمود، مرحله اول از زمانی که ماهی در مخزن خاص که حاوی آب است ریخته می‌شود تا زمان فروش به صورت زنده می‌باشد. مرحله دوم زمانی است که معمولاً تخلیه شکمی‌می-شود و معمولاً ماهی می‌میرد. تا لحظه‌ای که ماهی از نظر کیفیت افت کرده، برای مثال برای تولید فرآورده ساشیمی(sushimi) جهت مصرف بعد از پخت یا برای اهداف دیگر مناسب نمی‌باشد. فرآورده مثل اویسترها و بسیاری از دوکفه‌ایها اغلب به صورت زنده مصرف می‌شوند و تا زمان مصرف، در خانه‌ها یا رستورانها زنده نگهداری می‌شوند معمولاً صدفها به صورت خام و زنده بعد از صید مصرف می‌شوند و واژه life برای این مورد خاص بسیار مناسب است. اما بهرصورت، ارگانیسم‌های عامل فساد می‌توانند روی سطح خارجی پوسته و در صورت وجود مواد آلی تکثیر کرده و موجب بروز بو و طعم نامناسب در فرآورده‌های شده و زمان ماندگاری آن را کاهش دهند اگرچه موجود هنوز زنده است.

از آنجائیکه بعضی از ماهیان می‌توان فقط از مناطق دور از ساحل صید نمود و صاحبان کارخانه می‌توانند این ماهیان را فقط بعد از چند روز نگهداری در کشتی خریداری کنند، لذا محاسبه زمان ماندگاری پس از چند روز بعد از نگهداری در یخ (۱ تا ۳ روز) شروع می‌شود. به‌طور کلی در مقاله‌ها منحنی زمان ماندگاری، زمان صفر، واقعی و عدم شروع فساد به‌عنوان زمان صفر واقعی نیست. زیرا ماهی‌ها یک تا سه روز در کشتی نگهداری می‌شوند و سپس به ساحل آورده شده و به آزمایشگاه انتقال یابند. این روزها باید در شمارش زمان ماندگاری به حساب آیند. واژه روزهای نگهداری در یخ (Icedays) یک روش ساده بیان روزهای نگهداری ماهی در یخ است (Bremmer & Sakaguchi,2000). این مهم است که تأکید کنیم که سابقه درجه حرارت / زمان نگهداری ماهی باید به دقت ثبت شود در غیر این صورت دقت‌اندازه‌گیریهای، زمان ماندگاری چندان قابل اتکا نخواهد بود. در حقیقت، محققین باید وقتی که ماهی صید می‌شود روی عرشه باشند و سپس نمونه‌ها را جداگانه تیمار کنند تا از دخالت متغیرهای مختلف که معمولاً کنترل آنها غیرممکن است نمونه‌های انتخاب شده در امان باشند. متأسفانه، این موضوع همیشه ممکن نیست. شرایط بعد از مرگ ماهی باید در تعریف این زمان درنظر گرفته شوند و همچنین شرایط قبل از صید، تمییز کردن و بعد از تمییز کردن و نگهداری آن زیرا این فاکتورها روی ویژگیهای کیفی بافت خیلی اثرگذار هستند. روش‌هایی مثل روش صید بعد از استراحت مناسب (در زمان کوتاه) و سرد کردن سریع صید و از کارانداختن مغز جز عملیات معمول استاندارد صید تجاری امروزی هستند

(Bremner & sakaguchi,2000). این روش‌ها باعث می‌شوند که فعالیت‌های منجر به فساد کاهش یابند و طول مدت زمان ماندگاری با کیفیت خوب افزایش یابد. بنابراین، در کشورهایی که این عملیات را انجام می‌دهند مدت زمان ماندگاری فرآورده‌های آنها خیلی طولانی‌تر از کشورهایی است که براساس روش‌های سنتی مثل زدن ضربه به سر، شوک الکتریکی منتشر شده برای آبزیان اقدام به صید، حمل و نقل و فرآوری می‌کنند.

در جمع بندی نهائی، می‌توان نتیجه گرفت که تعیین شروع زمان ماندگاری بستگی به تمام شرائطی دارد که از زمان صید آبزی شروع می‌گردد تا زمان مصرف توسط خریدار. فقط در شرایط خاص آزمایشگاهی که کنترل نمونه از زمان صید درون عرشه کشتی تا رسیدن نمونه‌ها به آزمایشگاه می‌توان بصورت دقیقی و با دقیقه این زمان شروع ماندگاری را تعریف نمود. در کشت پرورش ماهی قزل آلا، استفاده از ضربه به سر ماهی بوسیله چماق یا ماشین‌های بیحس کنده، همراه با قطع آبشش‌ها و خونگیری، می‌توان تعیین زمان شروع ماندگاری را به ساعت تعیین نمود. هم چنین در صید آبزیان به روش‌های قلاب و گوشگیر در صورتی که آبزیان صید شده بصورت زنده به عرشه کشتی آورده شوند، می‌توان مثل ماهی قزل آلا، زمان شروع ماندگاری آنها را با یک تأخیر چند ساعته تعیین نمود. برای صید آبزیان بصورت گله‌ای زمان مرگ آبزی را می‌توان بصورت تقریبی، از زمانی که صید روی کشتی تخلیه می‌شود، یا زمانی که انبار می‌گردد، تعیین نمود. بهرصورت، شروع زمان مانگاری معمولاً از چند ساعت پس از صید تا چند روز تعیین می‌گردد. این دقت بستگی به سرنوشت صید دارد که برای چه فرآورده و یا بازاری آبزی صید گردیده است.

۳-۱۱- پایان زمان ماندگاری

به نظر می‌رسد نویسندگان متخصص، هرکدام نظر خاصی درباره پایان زمان ماندگاری دارند، در پایان این دوره بستگی به چند فاکتور مثل فرآوری یا بازار هدف دارد (HOWgate,1985 b). برخی از نویسندگان با محدودیت با زمان ماندگاری نظراتی دارند. «تعریف زمان ماندگاری و معیارهای برای تعیین خاتمه آن بستگی به نوع مخصوص کالا یا تعریف انجام شده توسط قانون گذار، تولید کننده و برای هدف و مصرف استفاده از آن دارد (Taoukis *et al.*,1977). بسیاری از پروژه‌ها برای ازدیاد زمان ماندگاری شروع شده‌اند، اما در بسیاری از موارد، زمان ماندگاری را به وسیله نتایج بدست آمده تعریف کرده اند بجای آنکه از روی معیارهای قبلی تعیین شده تعریف شوند. این نتیجه کاملاً منطقی است، زمانی که اطلاعات قبلی در مورد گونه‌ها یا شرایط زندگی آنها وجود ندارد. جهت کسب اعتبار برای نتایج گزارش شده، ضروری است که تعدادی از روش‌های استاندارد که بیان کنندهٔ زمان ماندگاری است بکار گرفته شوند.

۱-۳-۱۱- اثرات جغرافیایی برمفهوم ماندگاری

گزارشات چندی در مورد چگونگی ازدیاد زمان ماندگاری ماهی از طریق استفاده از چند روش انتشار یافته است. یک مورد از آنها استفاده از روش اتمسفر اصلاح شده است که در آن مدت زمان نگهداری به چند هفته افزایش یافت. این افزایش زمان به وسیله شاخص آزمایش مزه فیله‌های پخته شده گزارش شده (Reddy *et al.*,1992; Fey & Regenstein,1982). اما به‌طور قابل توجهی وقتی که زمان ماندگاری براساس با تجزیه واندازه‌گیری حسی و براساس ویژگیهای خارجی ماهی کامل انجام شد، این زمان کوتاهتر بود (Capell,1999). هر دوی این نتایج صحیح هستند. اما نویسندگان از روش‌های مختلف برای‌اندازه‌گیری پایان زمان ماندگاری استفاده نموده‌اند. این مثال همچنین «ارزش منطقه‌ای» این ملاحظات علمی‌را نشان می‌دهد. در این مثال بخصوص، فیله‌ها عمده فرآورده های مورد مصرف در کشورهای شمال اروپا و آمریکا هستند در حالیکه در کشورهای جنوب مدیترانه ماهی کامل هنوز فرآورده عمده برای عرضه به مصرف‌کنندگان است. این بدان معنا است که فعالیت‌های علمی‌هنوز خیلی تحت تأثیر فرهنگ اجتماعی و جغرافیای منطقه ای هستند که این موضوع هم در طراحی آزمایش و هم در نتیجه‌گیری از نتایج دیده می‌شوند.

۲-۳-۱۱- دیدگاههای: صنعت ماهی و مصرف کننده‌ها

فو و لابوزا (۱۹۹۳) در یک بررسی پیش‌بینی زمان ماندگاری، بیان کردند که زمان ماندگاری یک غذا مدت زمانی است که طی آن فرآورده از نظر حسی، تغذیه‌ای یا جنبه‌های سلامتی غیر قابل قبول شود. اما همین نویسندگان نیز نتیجه گرفتند که «تعریف جهانی برای زمان ماندگاری و پذیرش آن غیرممکن است». برای صنعت غذایی، زمان ماندگاری براساس حد تغییرات ویژگیها و خصوصیات غذا پایه‌ریزی شده است که بدینوسیله یک شرکت غذایی جهت فروش محصولاتش تحت عنوان برند (Brand) شرکت در بازار قبل از فروش آن‌ها را مشخص می‌کند. در حالیکه برای مصرف‌کنندگان، پایان زمان ماندگاری، زمانیست که غذا دیگر مزه یا ظاهر قابل قبول ندارد. باید ذکر کرد که این تعاریف موافق و منطبق بر یکدیگر نیستند چرا که ازدیدگاه صنعت غذایی، در پایان زمان ماندگاری ممکن است هنوز غذا از نظر مردم در شرایط قابل قبولی از نظر ارگانولپتیکی باشد. هدف صنعت غذایی، زمان ماندگاری مطلق نیست، بلکه هدف ایجاد اطمینان از این موضوع است که زمان ماندگاری طولانی‌تر از زمان توزیع و مصرف عادی فرآورده‌های است (Fu and Labuza,1993). در صنعت غذا زمان ماندگاری اغلب براساس آزمایش‌های چشائی توسط تعدادی از قبل تعیین شده از کارشناسان و تعیین زمان کمتر (به روز) برای ردشدن فرآورده توسط مصرف کننده پیش بینی می‌گردد، تعیین می‌شود.

۳-۳-۱۱- زمان ماندگاری و تاریخ‌های مصرف غذا برچسب دار

وقتی که می‌خواهیم تغییری در مورد زمان ماندگاری و تاریخ مصرف غذاهای برچسب‌دار بکنیم، معمولاً با مشکل روبرو می‌شویم. طبق قوانین اتحادیه اروپا رعایت موارد زیر در برچسب مواد غذائی اجباری می‌باشد: حداقل زمان قابل مصرف یا، در موارد غذاهایی که از نظر میکروبی بسیار فساد پذیراند. قید زمانی که غذا تا آن تاریخ باید مصرف گردد (Anonymous,2000). این قوانین منعکس کننده آنست که باید مصرف کننده را آگاه نمود که تا چه تاریخی فرآورده غذائی قابل مصرف است، اما این معنی را نمی‌دهد، در تمام موارد، که در برگیرنده، خاتمه زمان ماندگاری طبق چند تعریف بیان شده برای زمان ماندگاری می‌باشد، اگرچه فروش با تاریخ و بهتر است، اگر فرآورده تا تاریخ ذکر شده در برچسب مصرف شود، باید برپایه یک نوع آزمایش بر روی زمان ماندگاری، بر روی برچسب غذا نوشته شده باشند (Fu & Labuza,1993)

در حقیقت، حداقل زمان قابل مصرف بودن، از روی پیش بینی اتمام زمان مدندگاری منهای زمانی که خواص چشائی مواد غذائی دیگر کاملاً قابل قبول نمی‌باشند محاسبه می شود، این زمان ممکن است نشان دهنده پایان قابل عرضه نمودن غذا از نظر تجارتی باشد. استفاده از جمله، قابل مصرف تا تاریخ مشخص، بدین معنی است که پس از گذشت این تاریخ غذا از نظر میکروبیولوژی دیگر برای مصرف انسانی قابل استفاده نیست، این تاریخ ممکن است همزمان با پایان زمان ماندگاری غذا باشد، اما اگر سلامتی غذا، بیشترین اهمیت را برای شرکت‌های غذائی را داشته باشد، آنها یک حاشیه ایمنی را برای اطمینان از سلامتی غذا در نظر می‌گیرند. این بدین معنی است که کلمه « مصرف نماید تا تاریخ» نشان دهنده تاریخ قبل از پایان زمان ماندگاری می‌باشد (کل زمانی ماندگاری منهای زمان حاشیه ایمنی). در مشخص نمودن، یک زمان ماندگاری، هر شرکت غذائی بایستی ویژگی‌های غیر قابل قبول برای مادهٔ غذائی را که علاقمند به وجود آنها در فرآورده شان نیستند. ابتدا شناسائی نمایند و براساس آن تصمیم گیری درباره زمان ماندگاری برای آن فرآورده را بنمایند. این یک تصمیم تجارتی، بازاریابی و خرید و فروش می‌باشد، که مدیران شرکت‌های مواد غذائی باید اتخاذ نمایند، در این صورت این یک موضوع فنی نمی‌باشد.

۴-۱۱- آیا چند زمان ماندگاری وجود دارد؟

۱-۴-۱۱- نمونه‌هایی از مقالات

مجموعهٔ وسیعی از مراجع‌های موجود در زمینه غذا (عمدتاً غذاهای دریایی)، بعضی از مرجع‌ها، معنی زمان ماندگاری (جدول ۱-۱۱) یا مفهوم‌های مشابه (۲-۱۱) را ارائه می‌دهند. در حقیقت چند تفسیر و معنی متفاوت در

ارتباط با زمان ماندگاری وجود دارد، اما بیشترین تعریف زمان ماندگاری آن براساس خواص حسی رد شده ای است که توسط گروه متخصص آزمایش کنندهٔ این خواص حسی صورت گرفته حتی در این موارد گاهی اوقات نویسندگان درباره زمانهای نگهداری متفاوتی بحث می‌کنند، زیرا رد شدن خواص حسی همیشه بستگی به فرآورده استفاده شده برای تجزیه واندازه‌گیری (ماهی کامل، فیله، و بخش‌های دیگر) و هم چنین از اینکه از افراد عضو گروه آزمایش حسی چه درخواستی شده است (برای قضاوت از طریق بینائی، بویایی، چشیدن) دارد. یک مثال خوب از این قبیل نتایج توسط فی و (Fey & Regenstein,1982) ارائه شد. آنها بیان کردند که کیفیت ماهی پخته شده خوب بود اما ظاهر ماهی خام کامل به خوبی آن نبود. بنابراین، پتانسیل استفاده پایانی فرآورده تا حدی مهم است و شاید این ماهیان برای فیله مناسب‌تر باشند.

تحقیق کتابخانه ای کاملی در مورد ماهی منجمد و تازه توسط هوگت (Howgate,1985 a) جمع‌آوری شده است. در آن مقاله و دیگر مقالات (Howgate,1983 ;Howgate,1985b) او ترجیح می‌دهد نام زمان انبارداری را به جای زمان ماندگاری استفاده کند . این عبارت "زمان انبارداری" غالباً تا آن زمان (۱۹۸۵) استفاده می‌شد. او همچنین اظهار کرد، زمان انبارداری را تعریف نمود مثلاً برای ماهی زمان انبارداری، از زمان صید تا فروش نهایی و یا تغییر شکل ماهی به فرآورده دیگر مثل فیله‌های بسته‌بندی شده را در بر می‌گیرد، بنابراین طبق تعریف او زمان ماندگاری به فرآورده‌های فرآوری شده و یا بسته‌بندی شده اطلاق می‌گردد. این بدان معنی است که زمان انبارداری ماهی صید شده از طریق ترال (شاید ۱۰ روز) خیلی بیشتر از زمان ماندگاری که (شاید ۳ تا ۴ روز) خواهد بود می‌گردد. در حالیکه در ماهیان پرورشی مثل آزادماهیان این وضعیت برعکس خواهد بود، چون زمان انبارداری در این صورت وجود ندارد، بلکه زمان ماندگاری طولانی‌تر است.

در این فصل ما استفاده از عبارت زمان ماندگاری را به زمان انبارداری ترجیح دادیم چرا که به نظر می‌رسد این عبارت زمان ماندگاری بیشترین واژه استفاده شده در چند ده سال اخیر است. این واژه برای استفاده مناسب‌تر است و بیشتر منعکس کنده وضع ماهی یا فرآورده می‌باشد، و برای اطلاع‌رسانی به مصرف‌کننده مناسبتر است. به نظر می‌رسد که تحقیقات بیشتری روی ماهی منجمد نشده نسبت به فرآورده‌های ماهی منجمد شده انجام شده است و این واژه زمان نگهداری می‌تواند شرایط ماهی از صید تا مصرف را در برگیرد. در اینجا باید خاطر نشان کرد که هیچکدام از این دو واژه مطلق نمی‌باشند و هیچ دلیل اساسی‌ای برای انتخاب یکی نسبت به دیگر وجود ندارد. برای فرآورده‌های کنسرو شده و مواد منجمد، و مواد منجمد و همچنین فرآورده‌های خشک شده یا نمک سودشده واژه زمان انبارداری ممکن است مناسب تر باشد، چون که در این موارد فرآورده مخصوصاً برای استفاده بعدی انباری می‌شود. پرواضح است که مشابه واژه‌های کیفیت (Bremmer,2000) و تازگی

(Bremner & Sakaguchi,2000) این واژه‌های استفاده شده (چه زمان ماندگاری و چـه زمـان انبـارداری) باید بنحوی توصیف شوند که خواننده و استفاده کننده متوجه گردد که دقیقاً چه موضـوعی گـزارش مـی‌شـود او دربارهٔ آن واژه برای خواننده وجود نداشته باشد (Howgate,1985b).

جدول ۱-۱۱- مرجع هایی که در رابطه با زمان ماندگاری می‌باشند

عنوان و محتویات	اطلاعات	اندازه گیری	فرآورده	مرجع
زمان ماندگاری تجارتی	مدت زمانی که ماهی قابل عرضه می‌باشد	حسی قابل قبول برای مصرف کننده	ماهی کامل، شکم خالی شده، فیله، پخته شده	Gelman *et al.*, (1990)
پایان زمان ماندگاری، زمان ماندگاری میکروبی افزایش زمان ماندگاری	رشد میکروبی	شمارش میکروبی	در هر ماده غذایی	Labuza *et al.*, (1992)
زمان ماندگاری افزایش یافته	تمام شاخص ها	بیشتر آزمایش‌های حسی (بو و مزه غذایی پخته شده)	غذاهای سریع الفساد	Labuza *et al.*, (1992)
افزایش زمان ماندگاری	رد شده براساس آزمایش‌های حسی	آزمایش‌های حسی (بو و مزه)	تعدادی	Flick et al., (1991)
افزایش زمان ماندگاری	رد شده براساس آزمایش‌های حسی	آزمایش‌های حسی (بو)	ماهی کامل و فیله شده (ماهی فلاورر – زمستانی)	Field *et al* (1986)
طولانی شدن زمان ماندگاری میکروبی	رشد میکروب ها	شمارش میکروبی	فیله ماهی مرکب	Kim and hearnsberger., (1994)
افزایش زمان ماندگاری	آیا غیرقابل قبول بودن از طرف مصرف کننده	میکروبی، بافت و مزه	خرما تازه	Nussinovich *et al.*, (1989)
افزایش زمان ماندگاری	میزان رشد SSOs، مقدار از دست دادن سولفیت آزاد	شمارش SSOs مثل *Brocotrix thermosphacta*	سوسیس تازه انگلیسی	Adams *et al.*, (1987)
حداکثر زمان ماندگاری	تا غیر قابل مصرف شدن ماهی	روش‌های حسی	ماهی کامل و فیله شده، فیله پخته شده	Gelman *et al.*, (1990)
زمان ماندگاری میکروبی	غیرقابل قبول شدن از نظر رشد میکروب ها	شمارش میکروبی	گوشت گاو پخته شده	Papadopoulos *et al.*, (1991)
پیش بینی زمان ماندگاری	براساس شمارش میکروبی	*She wanella pseudomonas and photobacterium*	فرآورده ها	Gram And Huss (1996)

عنوان و محتویات	اطلاعات	اندازه گیری	فرآورده	مرجع
زمان ماندگاری باقیمانده	غیرقابل مصرف بودن براساس آزمایش‌های حسی و میکروبی	بو و مزه غذای پخته شده و شمارش میکروبی	ماهی کاد بسته بندی شده در خلاء و فیله آن	JORGENSEN *et al.* (1988)
زمان ماندگاری باقیمانده	غیرقابل مصرف بودن براساس آزمایش‌های حسی و میکروبی	شاخص‌های کیفیت	ماهی کامل	Branch And Vail (1985)
زمان ماندگاری	غیرقابل مصرف بودن براساس آزمایش‌های میکروبی	شمارش باکتری ها	گوشت چرخ شده ماهی	Mattila-Sandholm And Skyttä(1991)
افزایش زمان ماندگاری	غیرقابل مصرف بودن براساس مزه و ظاهر عمومی	اندازه گیری‌های شیمیائی	فیله ماهی هک و آزاد بسته بندی شده در MAP	Fey And Regenstein (1982)
پیش بینی زمان ماندگاری	شمارش یعنی از میکروارگانیسم‌های فاسد کننده	*Shewanella & Photobacterima*	MAP ماهی کاد	Dalgaand (1995)
زمان ماندگاری کامل	تا زمان غیرقابل مصرف بودن – حسی برای هرگونه مصرف غذائی	آزمایش‌های حسی	ماهی	Gelman et al., (1990)
زمان ماندگاری واقعی	غیرقابل مصرف بودن براساس آزمایش‌های میکروبی	شمارش میکروبی پیش بینی از طریق محاسبه‌های ریاضی	تمام غذاها	Fu & Labuza (1993)

جدول ۲-۱۱- مرجع‌های دیگر در رابطه با معنی زمان ماندگاری

عنوان	اطلاعات	اندازه گیری	فرآورده	مرجع
افزایش زمان انبارداری	شاخص‌های حسی	طعم و مزه فیله پخته شده استیک	ماهی کامل کاد و آزاد قزل آلای شکم خالی شده	Cann (1988)
زمان انبارداری	شاخص‌های حسی رد شده	آزمایش‌های حسی	آلباکور	Perez-villarreal And pozo (1990)
حداکثر زمان انبارداری	شاخص‌های حسی و شیمیایی (کامل و پخته)	آزمایش تازگی، TVB، TMA، K-VALUE	آلباکور	Perez-villarreal and pozo (1990)
زمان انبارداری کامل	امتیاز بافت، بو و طعم و مزه	فیله‌های پخته شده	کادوپلایس شکم خالی شده	Huss et al., (1974)
زمان انبارداری باقیمانده در روی یخ (زیر یخ)	غیرقابل قبول بودن مزه ماهی پخته شده	QIM	چندگونه	Larsen et al., (1992)
پایداری در انبار	شاخص‌های شیمیائی و فیزیکی	قدرت نگهداری آب،اندازه گیری بافت	گوشت چرخ شده و نمک زده سبک ماهی کاد	Bligh and duclos-rendell (1986)
حفظ کیفیت و زمان انبارداری	غیرقابل قبول بودن بوسیله آزمایش‌های حسی	جدول امتیازهای حسی و کارشناسان حسی (خام و پخته)	ماهی در کل	Lima dos santos et al., (1981)

۲-۴-۱۱- غذای دریائی منجمد شده

بخصوص در مورد غذاهای منجمد، مفاهیم و تفسیرها کاملاً متفاوت هستند. انجماد فرآیند فساد را متوقف می‌سازد، به نحویکه، دیگر استفاده از واژه فسادهای بیولوژیکی دیگر برای ارزیابی قابلیت پذیرش بودن ماده غذائی ممکن نیست. این تفاوت باعث ایجاد واژه‌های متفاوتی برای فرآورده‌های منجمد شده می‌شود.

مؤسسه بین‌المللی انجماد[1](IIR) و برای غذاهای منجمد (IIR,1972) دو تعریف جدید را پیشنهاد کرده است: زمان کیفیت بالا[2] (HQL) که عبارت است از طول زمان انجمادی که اختلاف حسی جزئی قابل حس کردن

[1] - International Institute of Repnigehation.
[2] - High Quality life

بوجود می‌آید (۸۰٪ ـ ۷۰ جواب‌های صحیح در آزمایش حسی سه جوابی) و زمان نگهداری عملی [1] (PSL) که عبارت است از زمان نگهداری صحیح کالای منجمد شده بعد از فرآوری و منجمد کردن یک فرآورده با کیفیت بالا، که بعد از آن کیفیت حسی آن فرآورده برای مصرف یا برای فرآوری‌های دیگر مناسب باقی می‌ماند (Taoukis *et al.*,1997; Howgate,1983 ;IIR,1972). اما Howgate در سال (b ۱۹۸۳ و ۱۹۸۵)، بدرستی خاطرنشان نمود که در صورت استفاده از روش‌های نامناسب ارزشیابی با درجه اطمینانی کم برای ارزش‌یابی فرآورده‌های HGL و منجر به دادن گزارش غلط با زمان ماندگاری کم و غیرقابل قبول از نظر تجاری می‌شود.

نگهداری فرآورده منجمد شده تحت شرایط مناسب هرگز منجر به فساد به علت فعلایت باکتری‌ها نخواهد شد چون فعالیت باکتریائی بعلت انجماد به شدت توقف می‌یابد، اما انواع دیگر از فرآیندهای فساد ممکن است اتفاق بیافتد. بنابراین رد کیفیت نامناسب فرآورده باید براساس فرآیندهایی باشد که طی زمان نگهداری در انبار سردخانه رخ می‌دهد، مثل اکسیداسیون چربی، تغییرات در بافت، مثلاً از دست دادن آب یا تغییراتی که آنزیم‌ها در طول مدت طولانی انبارداری ایجاد می‌کند، بعلت اینکه میکروارگانیسم‌ها قادر به رشد در درجه برودت بکار برده شده در انجماد تجاری نمی‌باشند. (حدود $-18c^{\circ}$)

۳-۴-۱۱- روش‌های مختلف‌اندازه‌گیری زمان ماندگاری

زمان ماندگاری در تحقیقات علمی‌عمدتاً با روش‌های حسی‌اندازه‌گیری شده است اما، روش‌های فیزیکی، شیمیائی و میکروبیولوژیکی نیز برای‌اندازه‌گیری زمان ماندگاری استفاده نیز می گردند. روش‌های حسی معمولا براساس جداول حسی انجام می‌شوند. متداولترین روش در اروپا روش EC در بازارهای رسمی‌است (Howgate *et al.*,1992). زمانی که دقت بیشتری مدنظر باشد مثل آزمایش‌های علمی‌از روش Torry استفاده می‌شود. (Shewan *et al.*,1953) و اخیراً تنوع گونه‌ای بیشتر مورد نظر باشد از شاخص (QTM) بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bremner, *et al.*,1987 ;Luten & Martinsdottir,1997; Bremner,1985 ;Branch & Vail,1985). وقتی از روش‌های Torryو EC استفاده می‌شود؛ پایان زمان ماندگاری با زمان غیرقابل قبول بودن ماهی کامل تعیین می‌شود، که براساس آزمایشهای دیدن ویژگی‌های خارجی ماهی و بدون استفاده از آزمایش‌های شیمیائی انجام می‌شود، اما گاهی اوقات که ماهی تخلیه می‌شود

[1] - Practical Storage Life

ارزشیابی شامل ویژگیهای درونی نیز می‌گیرد. رد نمودن کیفیت مناسب QIM نیز از طریق مقایسه امتیاز بدست آمده از ارزیابی فرآورده پخته شده توسط گروه ارزیابی کننده (panel) نیز حاصل می‌شود. جدول از جداول یا روش‌های دیگر، روش‌های حسی مناسب‌ترین گزینه می‌باشند، زیرا که این روش‌ها بیشتر نظر مصرف کننده را منعکس می‌کنند و همچنین این روش‌اندازه گیری سریع و ساده است، که یک اصل مهم در ارزشیابی غذاهای دریائی فرآوری نشده می‌باشد، زیرا غذاهای دریائی فرآوری نشده بسیار فسادپذیر هستند. روش‌های دیگر باید براساس روش حسی تعریف و طراحی شوند تا نتایج بدست آمده از آن‌ها با نتایج حاصل از روش‌های حسی برابر باشند.

روش‌های میکروبیولوژیکی براساس شمارش باکتریها انجام می‌شوند. تعداد کل میکروارگانیسم‌ها در سانتی متر مربع یا در گرم بصورت مستدل یک رابطه‌ای را به نحویکه قابل اطمینان باشند با زمان ماندگاری نشان نمی‌دهند، از زمان شروع نگهداری در انبار و یا بعد از صید، شمارش کلی باکتریهائی بین $۱۰^{۱}$ تا $۱۰^{۴}$ واحد تشکیل دهنده کلونی در گرم یا در سانتی‌متر مربع متغیر می‌باشند. اما در زمان رد شدن نمونه براساس خصوصیات کیفی این تعداد بین $۱۰^{۵}$ تا $۱۰^{۸}$ و معمولاً بین $۱۰^{۶}-۱۰^{۷}$ در گرم یا سانتیمتر مربع می‌باشد (Fu & Labuza,1993). از آنجاییکه بسیاری از این ارگانیسم باعث تغییراتی در فرآورده ایجاد نمی‌کنند که ما این تغییرات را فساد بخوانیم، مثلاً تولید (ترکیبات فرار عامل تغییر طعم یا بو، آنها فقط به‌عنوان شاخص ضمنی درمورد زمان ماندگاری میزان استفاده نموند . در اکثر مواقع، تغییرات عمده در کیفیت بخاطر تکثیر ارگانیسم‌های عامل فساد (SSo)[1] است. شمارش این ارگانیسم‌ها، با زمان ماندگاری ارتباط دارد. معمول‌ترین این میکروارگانیسم‌ها، تولیدکنندگان H_2S هستند که شامل *photobacterium* , *shewanella* و در آب‌های گرم‌تر و *pseudomonas* هستند. امروزه می‌توان که زمان ماندگاری را با استفاده از شمارش SSo محاسبه نمود (رجوع کنید به فصل دوازدهم)، اما تجزیه واندازه‌گیری حسی هنوز برای معتبر کردن نتایج این روش ضروری است.

روش‌های شیمیائی معمولاً باعث تجزیه شدن نمونه هستند و شاخص فسادند، زیرا که بسیاری از تغییرات در کیفیت فرآورده یا ماهی طی چند روز اول نگهداری غیرقابل تشخیص هستند. آزمایش‌ها شیمیائی نشان دهنده تغییرات در کیفیت فرآورده پس از چند روز نگهداری در یخ را نشان می‌دهند، در حالیکه برای مشخص نمودن تغییرات در روزهای اول نگهداری در یخ چندان مناسب نیست به عبارت دیگر آزمایش‌های شیمیائی در نگهداری طولانی ماهی در یخ بیشتر کاربرد دارند. یکی از موارد استثنائی و بسیار کاربردی در این زمینه‌اندازه‌گیری k-

[1] -Specific spoilage organisms

value یا عدد k است که می‌تواند برای تعیین کیفیت بعضی از گونه‌ها در ابتدای زمان نگهداری بسیار مفید باشد، زیرا که این شاخص شیمیائی حاصل از تجزیه ATP رااندازه‌گیری می‌کند. این نتایج این آزمایش خیلی تحت تاثیر شرایط صید ماهی (تلاش در نور) و گونه آبزی می‌باشد. اما حتی زمانی که مناسب است از آن استفاده شود، روش گرانی است و احتیاج به افراد مجرب و آموزش دیده و آزمایشگاه مجهز دارد.

روش‌های فیزیکی شامل بعضی از روشهایی نوین و امیدوار کننده هستند که به‌طور کلی این روش‌ها تخریب کننده نمونه نیستند. این روش‌ها خیلی سریع هستند و احتیاج به افراد آموزش دیده زیاد ندارند و هم‌چنین گران نیز نیستند. اما به دلیل وجود تنوع زیاد در بین گونه‌های ماهیان دریائی، چه بین گونه‌ای و خارج گونه‌ای نتایج بدست آمده از یک ماهی برای تفسیر، نتیجه‌گیری و تعمیم دادن آن به تمام گونه خیلی مشکل است. بعضی از ابزارها و تجهیزات مثل توری متر (Torry meter) ، تازگی سنج (Fresh meter) و آزمایش کننده ماهی (Fishtester) (ابزار دی الکتریک) احتیاج به آزمایش نمودن تعداد زیادی از نمونه ماهی دارند و این ابزار نمی توانند تاثیرات درجه حرارت و زمان را همزمان بر روی کیفیت و زمان ماندگاری بررسی کنند Bremner (*et al.*,1987). ثبت درجه حرارت و زمان بعد از صید و در مدت نگهداری در انبار بهترین شاخصی است که می‌تواند از روی این نتایج زمان ماندگاری باقیمانده را تخمین زد. این ثبت اطلاعات، زمان و درجه حرارت اساسی هستند. ابزارهای نشان دهنده درجه حرارت– زمان مختلفی توسعه یافته‌اند اما آنها تاکنون در مقیاس تجاری مورد استفاده قرار نگرفته‌اند. مناسب‌ترین راهکار داشتن زنجیره کنترل کیفی به‌طور کامل می‌باشد که دستورالعمل‌های مناسب دارند و به‌عنوان روش‌های استاندارد برای حفظ کیفیت و زمان ماندگاری از آنها استفاده بعمل می آید و برآوردها مورد نظر را می‌توان به آسانی از اطلاعات ثبت شده محاسبه نمود (رجوع کنید به فصل ۱۵). محققین کمی فقط از روش‌های فیزیکی به تنهایی برای تعیین پایان زمان ماندگاری استفاده می کنند. این روش‌ها باید به‌عنوان مکمل در کنار روش‌های حسی استفاده شوند.

در جمع بندی نهایی، می‌توان اظهار نمود که روش‌های حسی معمولاً به تنهایی یا همراه با روش‌های مکمل کننده آن برای تعیین کیفیت و زمان ماندگاری بکار می‌روند. برای ماهی کامل معمولاً از روش مورد استفاده در EC بیشتر استفاده بعمل می‌آید، برای فیله ماهی و دید فرآورده‌ها معمولاً از ارزشیابی حسی بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد، روش QIM به تدریج جایگزین روش EC در تجارت ماهی در اروپا می‌گردد به سایت (http://ww.QIM-Eurofish.com) مراجعه نمائید. در جواب به سوال انجام شده «که آیا چند زمان ماندگاری وجود دارد؟ می‌توان گفت بلی، از آنجائیکه از زمان صید تا مصرف چند زمان ماندگاری برای هر مرحله وجود خواهد داشت. همچنین باید خاطرنشان ساخت که هیچکدام از روش‌های ذکر شده برای تعیین زمان

ماندگاری به تنهایی بسیار دقیق نمی‌باشند. برای تعیین پایان زمان ماندگاری، این زمان می‌تواند با در نظر گرفتن طول نگهداری ماهی یا فرآورده بیشتر و طولانی‌تر از زمان‌اندازه‌گیری شده باشد. در خاتمه می‌توان گفت زمان پایان ماندگاری بین ۱± روز از زمانی که تعیین شده می‌تواند خیلی دقیق باشد.

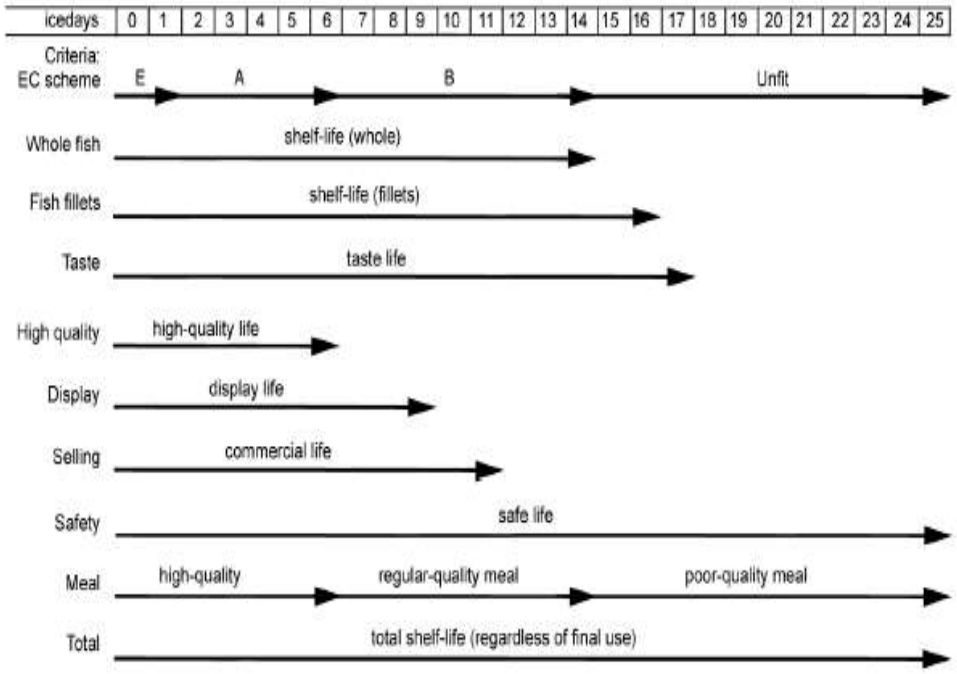
۱۱-۵- آیا احتیاج به دانستن زمان ماندگاری داریم؟

جواب بله است، اما فقط زمانی که این واژه معتبر است که حد آن (مخصوصاً پایان زمان ماندگاری) و چگونگی‌اندازه‌گیری آن مشخص و تعریف شده باشد. این اعتقاد وجود دارد که نیاز به تعریف زمان ماندگاری استفاده عملی زیادی در وضع قوانین با در نظر گرفتن بکار بردن جمله‌های مثل (مصرف شود تا تاریخ داده شده) و هم نیاز به دادن اطلاعات صحیح به مصرف کننده (بهترین خرید)، زمان روی برچسب‌ها، باعث می‌گردد که زمان ماندگاری به صورت یک اطلاع اساسی درمی‌آید. این اطلاعات هم چنین برای صنعت هم حیاتی می‌باشند. صنعت برای تعیین اهداف تولید، پشتیبانی، بازاریابی و توزیع نیز ضروری هستند.

۱۱-۶- پیش‌بینی برای آینده

تلاش‌هایی قبلاً برای پیدا کردن اصطلاحات بیشتر مثل "taste-life " که به‌معنای زمان ماندگاری است که به وسیله مزه‌اندازه‌گیری می‌شود، "safe-life" یعنی زمان ماندگاری‌اندازه‌گیری شده برای سلامتی مصرف کننده، عمر تجارتی، "commercial-life" (پیشنهاد شده برای ماهی توسط Gelman, *et al.*,1990 & VAZ-Pires,1995) یا "display-life" (پیشنهاد شده برای گوشت به وسیله Lavelle *et al.*,1995) انجام شده است. این پیشنهادها براساس پارامترهای بوده که می‌خواسته‌اند تضاد حاصل از کاربرد این جمله ها را با پذیرش تجاری کالا را برطرف نماید ، بکار برده شده اند.

شکل ۱-۱۱، مفهوم بعضی از واژه‌های پیشنهادی و معنای آنها را نشان می‌دهد.



شکل ۱-۱۱: مفاهیم و فرضیات مختلف برای زمان ماندگاری و واحدهای مرتبط به آنها. طرح *EC* موجود برای ماهی کاد یخ‌گذاری شده است *(Howgate, 1992)*. همه مقادیر بالا تئوریک هستند.

ما برای نشریات آینده پیشنهاد می‌کنیم که این کلمات ویژه که به وسیله آزمایش‌ها، جنبه‌های سلامتی یا اهداف تجاری‌اندازه‌گیری می‌شوند و دقیق‌تر توضیح داده شوند و گویا باشند که زمان ماندگاری بوسیله روش حسی و یاروش دیگر اندازه گیرده شده. به جای زمان ماندگاری استفاده شوند. اما روش تعیین زمان ماندگاری همیشه باید وضعیت فرآورده نهایی را منعکس ساخته و آشکارا آن را تعریف نماید. برای مثال، به گزارش مربوط به افزایش زمان ماندگاری باید به دقت زمان افزایش را تعریف و زمان یا ردشدن آن را مشخص نمود و این معمولاً بدون معنی است زیرا که تعیین پایان زمان ماندگاری غذای دریائی برای مصرف عادی توسط مصرف کننده دیگر ممکن نیست. افزایش زمان ماندگاری با کیفیت بالا (of high-quality life) اگر این واژه به درستی تعریف شود، هم برای صنعت و هم برای مصرف کننده‌ها خیلی با ارزش‌تر از زمان ماندگاری خواهد بود. ما لیست زیر را

برای نویسندگانی که در حال تعریف مدت زمان و افزایش زمان ماندگاری هستند را طبق شکل (۲-۱۱)، پیشنهاد می‌کنیم.

پس شروع و پایان زمان ماندگاری چیست؟ برای جواب به این سوال با توجه به آنچه که گذشت کاملاً آشکار است که باید به تمام عوامل عملی و همه شرایط مرتبط، توجه و مورد نظر قرار گیرند. بسیاری از فاکتورها اثر مهمی‌برای اتخاذ جواب مناسب دارند مثلاً (a) آنهایی که به ماده خام و فرآورده برمی‌گردند مثل روش صید، شرایط قبل و بعد از مرگ ماهی، گونه‌ها، شرایط محیطی، زنجیره توزیع و (b) فاکتورهای مرتبط با مصرف کننده مثل منطقه، نژاد مذهب، نوع محصول، چگونگی فروش، غذاهای مصرفی از ماهی و امثال آن است. (ج) زمانیکه جواب داده شده برای استفاده در مسائل فنی، تجاری ، بازاریابی، شخصی، تغذیه‌ای، سلامتی، سازمانی، ملی یا وضع قوانین و یا ترکیبی از این فاکتورها مورد استفاده قرار گیرد. در دادن جواب به سوال شده، همه فاکتورهای بالا موثر می‌باشند.

تعریف زمان ماندگاری
هدف کلی ازاندازه‌گیری
روش ماهیگیری – جزئیات مربوط به ایجاد استرس، روش صید، عملیات بعد از صید
جزئیات جغرافیایی محل صید
زمانی که ماهی صید می‌شود
شروع زمان ماندگاری
روند تغییرات درجه حرارت – زمان از صید تا پایان ماندگاری
استفاده نهایی فرآورده

شکل ۲-۱۱ : لیست پیشنهاد شده برای اطلاعاتی که باید وقتیکه که زمان ماندگاری‌اندازه‌گیری می‌شود، معلوم شوند. *(Lima dos and santos, 1981)*

احتمالاً جواب‌های حاصل در ترکیب‌های مختلف این شرایط مشابه نیستند. بنابراین راهکار ارائه شده در اینجا استفاده از سلسله مراتب تعاریف سازمان دهی شده زمان ماندگاری است که با همدیگر مربوط هستند و از طریق لغات کلیدی تعریف و مرتبط با موارد بالا می‌شوند. این روش‌ها می‌توانند به همه سوال‌های مشخص شده در بالا مربوط شوند. این راهکار مشابه راهکار پیشنهاد شده برای کیفیت (Bremner,2000) و تازگی (Bremner & Sakaguchi,2000) است. پیچیدگی موارد بالا مدیریت اطلاعات را به وسیله تجهیزات جدید تکنولوژی ایجاب می‌کند.

این نیاز باعث توسعه تعاریف سازماندهی شده‌ای از زمان ماندگاری می‌شود که از لغات و عبارات کلیدی برای کاربرد در شرایط مختلف قابل استفاده گردد می‌شود. همه این موارد هم در نرم‌افزارهای قابل برنامه‌ریزی خواهند شد. در نتیجه کلیک روی یک لغت کلیدی مناسب باعث توصیف بیشتر آن لغت کلیدی در صفحهٔ مانیتور می‌شود. برای مثال، روش ماهیگیری، حمل و نقل و روش‌های فرآوری، شرایط نگهداری و غیره که منجر به لغات کلیدی بیشتری در رابطه با روش‌ها و ارزش‌ها را فراهم می‌آورد. یک کلیک دیگر منجر به نشان دادن محدودیت‌ها و شرایط مناسب برای استفاده از آن را نیز فراهم می‌کند. این روش بر مشکلات ذکر شده (۲-۱-۱۱) در بالا غلبه خواهد کرد. در واقع که فرهنگ‌های لغت، سازمانها، شرکت‌ها، بخش‌های صنعتی و آژانس‌های تنظیم کننده تعاریفی که با بکار بردن معنی بصورت مستقل مخصوص برای اصطلاحات با توجه به شرایط و نیاز خودشان که ارائه می‌دهند و گاهی اوقات با همدیگر در تناقض هستند با بکاربردن این سیستم باعث می‌شود تا این مشکلات مرتفع شوند. در این سیستم یک حالت ثابت و پایدار برای واژه‌های مختلف در بخش‌های مختلف بدون از دست رفتن قابلیت انعطاف و یا استقلال و یا در نظر گرفتن نیازهای یک گروه خاص ایجاد می‌گردد.

۷-۱۱- منابع برای دسترسی به اطلاعات و راهنمائی بیشتر

تعریف‌های علمی‌و معنی‌های آنها را می‌توان در مقدمه مقاله‌های علمی‌که معمولاً نویسندگان برای آشنای خواننده، بعنوان شروع مقاله از آنها استفاده می‌کنند، پیدا نمود. در بعضی مواقع می‌توان در قسمت‌های دیگر مجله علمی‌بجز خود مقاله مثلاً در قسمت «نقطه نظرها»، «نامه‌های کوتاه»، اظهار نظرهای علمی‌و غیره این تعریف‌های علمی را مشاهده نمود، نشریه‌های علمی‌معمولاً به زبان علمی‌و با دقت منتشر می‌شوند، و معمولاً برای پرهیز از سردرگمی‌و بی معنی شدن، در خاتمه اقدام به دادن پیشنهادها و یا مثال‌هایی می‌مانید. برای نمونه در مورد ماهی (Connell,1989) ، در رابطه با ارگانولپنیک و حواس حسی، که مورد توجه اوست، اظهار می‌دارد، که خواص ارگانولپتیک یک ماده غذائی بوسیله «ارزیابی حسی» تعیین می‌گردد و از جمله «ارزیابی ارگانولپتیک» نباید استفاده شود، بنابراین انسان متوجه می‌شود که بعد از ۱۲ سال کاربرد غلط جمله «ارزیابی ارگانولپتیک» جمله صحیح آن در قسمت مربوط به ماهی در کتاب Connell ، یعنی «ارزیابی حسی» بکار برده شده است.

یک بحث در مورد چگونگی‌اندازه‌گیری «تازگی» در فرآورده‌های دریائی اخیراً توسط (Bremner&Sakaguchi,2000) صورت گرفته. این محققین پیشنهاد می‌کنند که، استفاده از جمله « اندازه گیری –تازگی» باید در مقاله‌های علمی‌باید به حداقل، مورد استفاده قرار گیرد و زمانی که از آن استفاده می‌شود، باید با دقت آنرا تعریف نمود.

۸-۱۱- منابع فصل یازدهم

ADAMS M R, BAKER T and FORREST C L (1987), 'A note on shelf-life extension of British fresh sausage by vacuum packing', *Journal of Applied Bacteriology*, 63, 227–32.
ANONYMOUS (2000), Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council of 20 March 2000, article 3, (5).
BLIGH E G and DUCLOS-RENDELL R (1986), 'Chemical and pHysical characteristics of lightly salted minced cod (*Gadus morhua*)', *Journal of Food Science*, 51 (1), 76–8.
BRANCH A C and VAIL A M A (1985), 'Bringing fish inspection into the computer age', *Food Technology in Australia*, 37 (8), 352–55.
BREMNER H A (1985), 'A convenient easy-to-use system for estimating the quality of chilled seafoods', *DSIR Fish Processing Bulletin*, 7, 59–70.
BREMNER H A (2000), 'Towards practical definitions of quality for food science', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40, 83–90.
BREMNER H A and SAKAGUCHI M (2000), 'A critical look at whether 'freshness'can be determined', *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 9, 5–25.
BREMNER H A, OLLEY J and VAIL A M A (1987), 'Estimating time-temperature effects by a rapid systematic sensory method', in Kramer D E and Liston J, *Seafood Quality Determination*, Amsterdam, Elsevier, 413–35.
CANN D C (1988), 'Modified atmospHere packaging of fishery products', *INFOFISH International*, 1, 37–39.
CAPELL C (1999), *Growth and interaction of bacteria during spoilage of fresh fish*, PHD thesis, Portuguese Catholic University, Porto, Portugal.
CONNELL J J (1989), 'Sensory assessment of fish quality', *Torry advisory note no. 91*, Aberdeen, Torry Reseach Station.
DALGAARD P (1995), 'Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish', *International Journal of Food Microbiology*, 26, 319–33.
DAUN H (1993), 'Introduction', in Charalambous G, *Shelf-life studies of foods* The meaning of shelf-life 187 *and beverages Chemical, Biological, PHysical and Nutritional Aspects*, Amsterdam, Elsevier Science Publishers B V, ix–x.
DOYLE J P (1989), 'Seafood shelflife as a function of temperature', *Alaska Sea-Gram 30*, Marine advisory program, University of Alaska.
FEY M S and REGENSTEIN J M (1982), 'Extending the shelf-life of fresh wet red hake and salmon using CO2–O2 modified atmospHere and potassium sorbate ice at 1ºC', *Journal of Food Science*, 47, 1048–54.
FIELD C E, PIVARNIK L F, BARNETT S M and RAND A G (1986), 'Utilization of glucose oxidase for extending shelf-life of fish', *Journal of Food Science*, 51, 66–70.
FLICK G J, HONG G P and KNOBL G M (1991), 'Non-traditional method of seafood preservation', *MTS Journal*, 25 (1), 35–43.
FOX G, MOON R and STOCK P (1987), *Collins Cobuild English Language Dictionary*, London, Collins Publishers.

FU B and LABUZA T P (1993), 'Shelf-life prediction: theory and application', *Food Control*, 4 (3), 125–33.
GELMAN A, PASTEUR R and RAVE M (1990), 'Quality changes and storage life of common carp (*Cyprinus carpio*) at various storage temperatures', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 52, 231–47.
GRAM L and HUSS H H (1996), 'Microbial spoilage of fish and fish products', *International Journal of Food Microbiology*, 33, 121–37.
HOWGATE P (1983), 'Measuring the storage lives of chilled and frozen fish products', in *Proceedings XVI Congress of Refrigeration*, Paris, International Institute of Refrigeration, 537–45.
HOWGATE P (1985a), 'BibliograpHy of storage lives of wet and frozen fish', in *Storage lives of chilled and frozen fish products*, Proceedings of meetings of Commissions C2 and D3 (1–3 October 1985) Paris, International Institute of Refrigeration, 389–401.
HOWGATE P (1985b), 'Approaches to the definition and measurement of the storage life of chilled and frozen fish: a brief review', *Refrigeration Science and Technology*, 4, 45-53.
HOWGATE P, JOHNSTON A and WHITTLE K J (1992), *Multilingual Guide to EC Freshness Grades for Fishery Products*, Aberdeen, Torry Research Station.
HUSS H H, DALSGAARD D, HANSEN L, LADEFOGED H, PEDERSEN A and ZITTAN L (1974), 'The influence of hygiene in catch handling on the storage life of iced cod and plaice', *Journal of Food Technology*, 9, 213–21.
INTERNATIONAL INSTITUTE OF REFRIGERATION (1972), *Recommendations for the processing and handling of frozen foods*, 2nd edition, Paris, International Institute of Refrigeration.
JORGENSEN B R, GIBSON D M and HUSS H H (1988), 'Microbiological quality and shelf life prediction of chilled fish', *International Journal of Food Microbiology*, 6, 295–307.
KIM C R and HEARNSBERGER J O (1994), 'Gram negative bacteria inhibition by lactic acid culture and food preservatives on catfish fillets during refrigerated storage', *Journal of Food Science*, 59 (3), 513–16.
LABUZA T P (2000), 'The search for shelf life', *Food Testing & Analysis*, 6 (2), 26–36.
LABUZA T P, FU B and TAOUKIS P S (1992), 'Prediction for shelf-life and safety of minimally processed CAP/MAP chilled foods: a review', *Journal of Food Protection*, 55 (9), 741–50.
LARSEN E, HELDBO J, JESPERSEN C M and NIELSEN J (1992), 'Development of a method for quality assessment of fish for human consumption based on sensory evaluation', in Huss H H *et al.*, *Quality Assurance in the Fish Industry*, Amsterdam, Elsevier Science Publishers B V, 351–8.
LAVELLE C L, HUNT M C and KROPF D H (1995), 'Display life and internal cooked color of ground beef from vitamin E-supplemented steers', *Journal of Food Science*, 60 (6), 1175–8, 1190.

LIMA DOS SANTOS C A M, JAMES D and TEUTSCHER F (1981), 'Guidelines for chilled fish storage experiments', *FAO Technical Paper 210*, Rome, FAO.
LUTEN J B and MARTINSDO´ TTIR E (1997), 'QIM: a European tool for fish freshness evaluation in the fishery chain', in Olafsdo´ttir G, Luten J, Dalgaard P, Careche M, Verrez-Bagnis V, Martinsdo´ttir E and Heia K, *Methods to determine the freshness of fish in research and industry*, Paris, International Institute of Refrigeration, 287–96.
MATTILA-SANDHOLM T and SKYTTA¨ E (1991), 'The effect of spoilage flora on the growth of food pathogens in minced meat stored at chilled temperature', *Lebensmittel-Wissenshaft und-Technology*, 24, 116–20.
NUSSINOVICH A, ROSEN B, SALIK H and KOPELMAN I J (1989), 'Effect of heating media on the microbiology and shelf-life of heat-pasteurized soft dates', *Lebensmittel-Wissenshaft und-Technology*, 22, 245–47.
PAPADOPOULOS L S, MILLER R K, ACUFF G R, VANDERZANT C and CROSS H R (1991), 'Effect of sodium lactate on microbial and chemical composition of cooked beef during storage', *Journal of Food Science*, 56 (2), 341–7.
PE´REZ-VILLARREAL B and POZO R (1990), 'Chemical composition and ice spoilage of albacore (*Thunnus alalunga*)', *Journal of Food Science*, 55 (3), 678–82.
REDDY N R, ARMSTRONG D J, RHODEHAMEL E J and KAUTTER D A (1992), 'Shelflife extension and safety concerns about fresh fishery products packaged under modified atmospHeres: a review', *Journal of Food Safety*, 12, 87–118.
SHEWAN J M, MACINTOSH R G, TUCKER C G and EHRENBERG A S C (1953), 'The development of a numerical scoring system for the sensory assessment of the spoilage of wet white fish stored in ice', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 4, 283–98.
TAOUKIS P, LABUZA T and SAGUY S (1997), 'Kinetics of food deterioration and shelf-life prediction', in Valentas K, Rotstein E and Singh P, *The Handbook of Food Engineering Practice*, New York, CRC Press, 361–403.
VAZ-PIRES P (1995), *Efficacy of heat treatments for reducing microbial activity during refrigerated storage of fresh fish*, PHD thesis, Portuguese Catholic University, Porto, Portugal.
WATERMAN J J (1982), 'Composition and quality of fish: a dictionary', *Torry advisory note no. 87*, Aberdeen, Torry Research Station.

« فصل دوازدهم»

مدل‌سازی و پیش‌بینی زمان ماندگاری در غذاهای دریایی

۱-۱۲- مقدمه

سازمان FAO برآورد کرده است که ۲۵٪ از صید ماهیان در جهان بخاطر فساد دور ریخته می‌شوند. این آمار نشان می‌دهد که این مسئله موضوع بسیار مهمی بوده و باید به آن توجه شود. علاوه بر ابزارهای مدیریتی و اقتصادی، روش‌های فن‌آوری متفاوتی را میتوان جهت کاهش ضایعات وفساد ماهی و غذاهای دریایی را میتوان بکار گرفت. این روش‌ها شامل تکنیک‌های چگونگی افزایش زمان ماندگاری و درنتیجه کاهش فساد در ماهی و غذاهای دریایی می گردد.بهینه سازی روشهای ارزیابی فساد در غذاهای دریایی واطمینان ازاینکه بعلت اشتباه در ارزیاب کنندگان ، غذاهای دریایی به اشتباه دور ریخته نمی شوند و در نهایت باعث ازدیاد زمان ماندگاری می گردد. پیش‌بینی زمان ماندگاری به‌عنوان یک عملکرد از ویژگیهای فرآورده ، شرایط نگهداری و توزیع می‌تواند برای سنجش تاثیر حمل و نقل و فرآوری درست و یا نادرست و تأثیر آنها برروی زمان ماندگاری استفاده شود. این پیش‌بینی زمان ماندگاری می‌تواند به تعیین زمانهای توزیع و پخش مواد غذائی دریایی بصورت واقع بینانه تر یا دادن تذکرات نکات مهم در زنجیره توزیع و پخش که تأثیری برروی طولانی تر شدن زمان ماندگاری فرآورده داشته باشد. در هر دو مورد پیش‌بینی زمان ماندگاری می‌تواند ضایعات غذاهای دریائی را بعلت فساد بسیار کاهش دهد. علاوه براین، پیش‌بینی زمان ماندگاری باعث توسعه در آموزش و تحقیق نیز می گردد استفاده از مدل‌های ریاضی برای تعیین زمان ماندگاری، به آسانی تاثیر فاکتورهای محیطی را بعنوان مثال بر روی رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد را نشان می‌دهد.

مجموعه پیچیده ای از واکنش‌ها، طی نگهداری غذاهای دریائی در انبار صورت می گیرد واز طرفی فرآیندهای فساد در خیلی از زمینه‌های کاملاً شناخته شده نیست.از طرف دیگر ، فساد در غذاهای دریائی یک واکنش دینـامیکی مـی باشد که این رابطه به شریط صید، حمل ونقل، ترکیب غذا و شرایط نگهداری آن در انبار وابسته است، این فاکتورهـا و تأثیرات آنها برروی هم ، پیش بینی فساد غذاهای دریایی و پیش بینی زمان ماندگاری آنها بسیار پیچیده می سازد. علیرغم این، بعضی از طرحهای ساده و کلی فساد غذاهای دریائی بخصوص مفهـوم نـرخ نسـبی فسـاد [1](RRS) و میکروارگانیسم‌های ویژه [2] (SSO) فساد شناخته شده اند. این شناخت اجـازه مـی دهـد کـه یـک مـدلهای زمـان ماندگاری برای تعیین زمان ماندگاری براساس تأثیر درجه حرارت و آزمایش های نگهداری در انبار تعیین . در مقابل، مدل‌های جنبش (Kinetic) بیشتر روی اطلاعات دقیق‌تر واکنش‌های عامـل فسـاد و تـاثیر فاکتورهـای محیطـی (درجه حرارت، PH ، فعالیت آبی، دی‌اکسیدکربن و غیره) روی رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد تکیه می‌کنند.

در فرآورده‌های دریائی تازه و یا نیمه فرآوری شده، واکنش‌های شـیمیائی و آنزیمـی‌معمـولاً عامـل اولیـه کاهش ویژگیهای تازگی هستند، در حالیکه فعالیت میکروارگانیسم‌های عامل فساد، عامل اصلی فساد هستند و به موجب آن زمان ماندگاری محدود می‌شود. بنابراین، از مدل‌های رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد برای پـیش بینی زمان ماندگاری این فرآورده‌های می‌توان استفاده نمود.یک روش SSO براساس کل میکروارگانیسم هـای عامل فساد فرآورده تعریف شده است. اهمیت عملی یک SSO در رابطه با پیش‌بینی زمان ماندگاری بستگی بـه قلمرو فساد SSO دارد. مثلا بسته به دامنه محیطی دارد که در تحت شرایط آن SSO باعث رد شـدن فـرآورده می گردد براساس مفهوم SSO یک مدل مفهومی ساده(شکل ۱-۱۲) برای فساد غذاهای دریائی پیشنهاد شـده است.

شکل ۱-۱۲ نشان می‌دهد که ممکن است پیش‌بینی رشد،تولید متابولیت‌ها و زمان ماندگاری غـذاهای دریـائی را براساس غلظت اولیه SSO در فرآورده انجام شود. این مدل مفهومی‌ساده بصورت روشن شـامل تعـدادی فـرض است:

الف) در فرآورده فرآوری شده تـازه، SSO فقـط بخـش کـوچکی از میکروفلـورا را تشـکیل مـی‌دهـد و میکروفلورهای باقیمانده تاثیری روی رشد SSO ندارند.

---

[1]- Relative Rate of Spoilage
[2] - Specific Spoilage Organisms

ب) باکتریهای SSO فاقد فاز تاخیری رشد (Lage phase) هستند و تولید متابولیت‌هایی می‌کنند که باعث فساد می‌شوند.

ج) تولید متابولیت‌ها به‌طور مستقیم در تناسب با رشد SSo می‌باشند

د) غذاهای دریائی از نظر ویژگیهای حسی وقتی فاسد می گردد که SSO به یک حداقل از سطح فساد[1](MSL).

ه) میکروارگانیسم‌های دیگر به غیر از SSO در فرآیند فساد مهم نیستند. شکل ۱-۱۲ شرح ساده‌ای از فساد میکروبی غذاهای دریائی را نشان می‌دهد و این نمودار با وجود سادگی هنوز بسیار باارزش است. برای نمونه، مدل مفهومی‌اجازه می‌دهد تا فرضیه‌های موجود درباره فرآیند فساد مورد آزمایش واقع شوند. در صورتیکه فرضیه‌ها صحیح باشند، باعث می‌شوند تا مدل ساده‌ای برای پیش‌بینی زمان ماندگاری فراهم شود.

برای پیش بینی زمان ماندگاری غذاهای همیشه به یک نوع از مدل های ریاضی نیاز دارد . در این فصل نظری قطعی به مدل‌های موجود برای پیش‌بینی زمان ماندگاری غذاهای دریایی انداخته می شود. مدل‌های تئوری منحصراً براساس اطلاعات بدست آمده از آزمون نگهداری فرآورده در انبار طراحی شده اند، اما مدل‌های جنبشی (Kinetic) برای اساس رشد میکروب ها و فعالیت آن در بخش‌های دیگر بصورت مجزا مورد بحث واقع می شود. علاوه بر آن، اعتبار مدل‌ها و نرم افزارهایی که مورد استفاده عملی برای تعیین زمان ماندگاری و تسهیل در نقص آن می شوند را در این فصل ارائه می‌شوند.

۲-۱۲- مدل‌سازی و ویژگیهای کیفی برای تعیین زمان ماندگاری در فرآورده‌های نگهداری شده در انبار

آزمون‌های زمان نگهداری غذاهای دریائی تحت شرایط کنترل شده درجه حرارت و فشار اتمسفر انجام می‌شوند که این فاکتورها در تعیین زمان ماندگاری ضروری هستند. زمان ماندگاری فرآورده‌های اصلاح شده یا جدید فقط با تلفیق نتایج آزمونهای نگهداری درانبار و روش‌های حسی با هم می‌تواند تعیین شود. اما، به صورت روش‌های حسی معایبی دارند مثل، مشکل بودن موجود در درجه بندی(Calibate)، گرانی و وقت‌گیر بودن، مخصوصاً زمانی که از ارزیاب‌های آموزش دیده زیادی استفاده می‌شود. بنابراین،روش‌های ابزاری برای تکمیل یا جایگزینی با روش‌های ارزیابی‌های حسی مورد احتیاج اند. این بخش مدل‌های تاثیر درجه حرارت را بر روی زمان ماندگاری

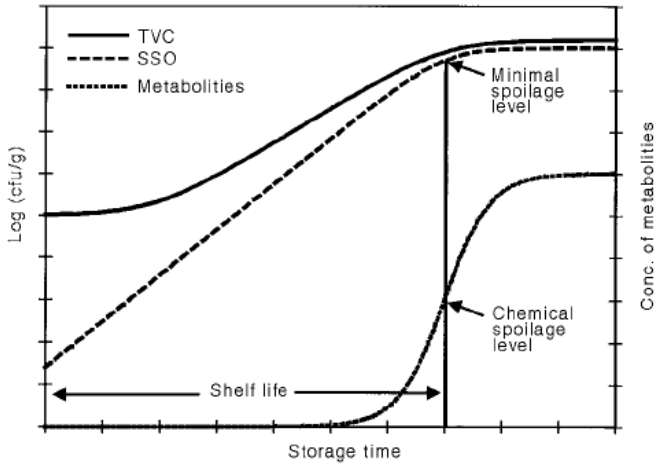
[1]- Minimal Spoilage Level

را شرح میدهد و همچنین مدل‌هایی که برای ارتباط دادن پاسخ‌های بدست آمده از روش ابـزاری بـه امتیـازات بدست آمده از ارزیابی را نشان میدهد و همچنین حسی یا برای زمان ماندگاری باقیمانده در فرآورده‌هایی استفاده می‌شوند.

۱-۲-۱۲- تاثیر درجه حرارت برروی نرخ میزان فساد

زمان ماندگاری غذاهای دریائی به‌طور قابل ملاحظه‌ای بین گونه‌هـای مـاهی و در انـواع مختلـف فـرآورده‌هـای فرآوری شده متفاوت می‌باشد. علیرغم آن، به نظر می‌رسد تاثیر درجه حـرارت نگهـداری فـرآورده در انبـار روی زمان ماندگاری در بین گروههای همانند فرآورده‌های یکسان می‌باشد. مدل‌های ریاضی این تـاثیرات را توصـیف و نشان می‌دهند که این تاثیرات تقریباً در بین گونه‌های همانند یکسان است. ماهی تازه اغلب در درجـه حـرارت نزدیک به c° صفر در یخ نگهداری می‌شود و تاثیر درجه حرارت روی زمان ماندگاری توسط نسـبت‌هـای نسـبی فساد (RRS)[1] تعریف می‌شوند که برای بدست آوردن آن زمان ماندگاری بدست آمـده در c° صـفر تقسـیم بـر زمان ماندگاری در $T c^{\circ}$ می گردد (Spencer and Baines,1994; Nixon,1971). در غذاهای دریائی‌که کمی فرآوری شده، بکاربردن درجه حرارت مرجع (T_{ref}) $5 c^{\circ}$ به جای c° صفر ممکن است مناسب‌تر باشد.

[1] - Relative rates of spoilage



شکل ۱-۱۲: مدل مفهومی‌فساد میکروبی غذای دریائی. حداقل سطح فساد[1] *(MSL)*و سطح فساد شیمیایی[2] *(CSL)* نسبت به غلظت ارگانیسم‌های اختصاصی فساد *(SSO)* و متابولیت‌های آنها در زمان از بین رفتن کیفیت حسی *(Dalgaard, 1993)*.

مدل‌های تاثیر درجه حرارت روی RRS غذاهای دریائی اجازه می‌دهد تا زمان ماندگاری یک فرآورده را در درجه حرارت‌های مختلف نگهداری پیش‌بینی گردد. پیش‌بینی زمان ماندگاری به وسیله این مدل RRS جالب افزایش است چون اطلاعات مورد نیاز برای تعیین زمان ماندگاری فقط نیاز به یک درجه حرارت نگهداری است که فرآورده در آن نگهداری می شود

$$\mathrm{RSS} = \frac{\mathrm{Shelf-life\,at\,Tref}}{\mathrm{Shelf-life\,at\,T}} = \mathrm{Exp}[\mathrm{a}\times(\mathrm{T}=\mathrm{T_{ref}})] \qquad \text{معادله (۱-۱۲)}$$

$$RRS = E \times P\left[\frac{-E_A}{R}\times\left(\frac{1}{T+273}-\frac{1}{T_{ref}+273}\right)\right] \qquad \text{معادله (۲-۱۲)}$$

$$RRs = \left(\frac{T-T_{\min}}{T_{ref}-T_{\min}}\right) \qquad \text{معادله (۳-۱۲)}$$

مدل‌های RRS براساس اطلاعات زمان ماندگاری تعیین شده توسط ارزیابی حسی و تبیین شده به صورت مقادیر RRS طراحی می‌شوند. ویژگیهای درجه حرارتa، $\mathrm{E_A}$,$\mathrm{T_{min}}$ در معادله‌های ۱-۱۲، معادله

[1] - Minimal Spoilage Level
[2] - Chemical Spilage Level

۲-۱۲، معادله ۳-۱۲محاسبه می‌شوند. در معادله‌های ۱-۲،۱۲-۱۲و ۳-T۱۲ و T_{ref} به ترتیب درجه حرارت و درجه حرارت مرجع هستند و R ثابت گاز است $(۸/۳۱ J \times mol^{-۱} \times k^{-۱})$. واحدهای ویژگیهای درجه حرارت a، $T_{\min}, E_A$ از جدول۱-۱۲مشخص می‌شوند.

مدل‌های RRS ۱-۱۲ (تصاعدی) و ۲-۱۲ (آرنیوس) با موفقیت در انواع غذاهای دریائی استفاده شده‌اند (جدول ۱-۱۲). اُلی و رتوسکی (۱۹۷۳) دریافتند که مدل آرنیوس برای غذاهای دریائی تازه صید شده از آب های معتدله مناسب نیست. (جدول ۱-۱۲). مدل مرجع فساد (معادله ۳-۱۲) به وسیله رتوسکی و همکارانش (۱۹۸۲) پیشنهاد شد که براساس مدل ساده رشد میکروارگانیسم‌های گرم منفی عامل فساد می‌باشد. (معادله ۲-۱۲) از آنجاییکه $T_{\min} = -۱۰$ برای باکتریهای عامل فساد مثل *Shewanella putrefaciens* و سودوموناس‌های مقاوم به سرما می‌باشد، در نتیجه معادله ۳-۱۲ می‌تواند به صورت $\sqrt{RSS} = ۱+۰/۱ \times T$ بیان شود. این مدل مرجع فساد در درجه حرارت $-۳^{\circ}c$ تا $+۱۵^{\circ}c$ برای فرآورده‌های دریایی تازه بسته بندی شده در فشار اصلاح شده اتمسفر که در انبار سرد نگهداری شده کاربرد دارد (Dalgrard & Huss,1997). ماهی دریائی صید شده و سرد شده از آب‌های نواحی گرمسیری معمولاً به مدت طولانی‌تر نسبت به ماهی‌ها دریائی صید شده از آب‌های سرد قابل نگهداری در یخ و یا نگهداری به صورت سرد شده هستند (Huss,1997). اما بهر صورت در درجه حرارت $۱۵^{\circ}c$ مقدار RRS در ماهی آبهای گرم بالاتر است و بنابراین مدل‌های RRS متفاوتی برای این دوگونه ماهی دریائی (آب گرم و سرد) مورد نیاز است (جدول ۱-۱۲). درجه حررات ماهیان گرمسیری در زمان صید بین $۲۰-۳۰^{\circ}c$ می‌باشد. بنابراین اگر عمل یخ گذاری با تأخیر انجام شود و یا میزان یخ کم باشد اثر نامطلوب روی زمان ماندگاری ماهی دارد. معادله ۱-۱۲ و ۲-۱۲ می توانند برای ارزیابی تاثیر درجه حرارت روی زمان ماندگاری ماهی‌های دریایی نواحی گرمسیری بین $۰-۳۰^{\circ}c$ استفاده شوند. (جدول ۱-۱۲)

تاثیر درجه حرارت روی زمان ماندگاری فرآورده‌های غذایی کم عمل‌آوری یا فرآوری شده در بین گروههای مختلف غذایی خیلی متفاوت است و استفاده از مدل RRS مناسب برای پیش‌بینی زمان ماندگاری مهم است. (جدول ۱-۱۲) بعضی از مطالعات، از مقادیر $Q_{۱۰}$ را برای تشخیص و ارزیابی انواع مختلف فساد در مواد غذایی استفاده کرده‌اند. مقدار $Q_{۱۰}$ به‌عنوان تغییر در نرخ واکنش همراه با افزایش هر ۱۰ سانیگراد در فرآورده $۱۰^{\circ}c$ تعریف می‌شود و به آسانی با استفاده از مدل فساد $Q_{۱۰} = e \times p(a \times ۱۰)$ محاسبه می‌شوند (Taoukis,1997).

به نظر می‌رسد در آینده توسعه مدل‌های RRS برای ماهیان منجمد / انجمادزدایی شده سرد شده و همچنین اثر نگهداری در درجه برودت $-۳^{\circ}c$ و $-۶۰^{\circ}c$ ، روی زمان ماندگاری غذاهای دریائی منجمد مفید باشد. علاوه بر

آن؛ تاثیر درجه حرارت روی زمان ماندگاری غذاهای دریائی دودی و بسته‌بندی شده نیاز به تحقیقات و مطالعـات بیشتر دارد.

جدول ۱-۱۲میزان نسبی فساد(*RRS*)

نوع غذای دریایی	ویژگیهای درجه حرارت				مرجع
	a در فرمول ۱۲/۱ ($°C^{-1}$)	Ea در فرمول ۱۲/۲ ($۱۲\ Jmol^{-1}$)	Tmin در فرمول ۱۲/۳ (°C)	RRS در ۲۵ °C ($Tret = •C$)[e]	
غذاهای دریایی تازه					SPENCER AND BAINES (1964).
غـذاهای دریـای تـازه از آبهای معتدل یا سرد	nd[a]	~۶۰ [b]	-۱۰	۹-۱۳	OLLEY AND RATKOWSKY (1973)
غذا دریـای تـازه از آبهـای گرم	۰/۱۲	۸۰	-c	~۲۰	RATKOWSKY *et al.*, (1982)
ماهی کـاد و قبـاد دودی و بسته بندی شده	%۲۵[d]	~۲۰ [d]	Md	~۲ [d]	CANN *et al.*, (1983) TINRER *et al.*, (1985)
مـاهی آزاد دودی سـرد و بسته بندی در خـلاء، مـار مـاهی، مـاهی هـالیبوت و شک ماهی دودی شـده گـرم و نگهداری شـده در شـرایط محیطی	۰/۰۸۹	۶۱	-۱۰	۹-۱۳	DALGAARD *et. al.*, (2002a)
میگو شـور و بسـته بنـدی شده در اتمسفر تغییر یافته	>۰/۱۵	>۱۰۰	−c	> ~۵۰	DALGAARD AND Jogensen (2000)

a-اندازه گیری نشده است

b- EA بستگی به درجه انبار دارد (OLLEY AND RATKOWSKY, 1983)

c- استفاده از فرمول ۱۲/۱ و ۱۲/۲ تهیه می‌باشد تا استفاده از رساندن ریشه بتوان دو

b- محاسبه شده از تعداد کمی‌آزمایش‌های انجام شده بین ۰ و ۱۱/۷ سانتیگراد

e- مقدار RRS (میزان نسبی فساد) در ۲۵ درجه سانتیگراد برای چند مدل محاسبه گردیده است تا اختلاف بین هر مدل را نشان داده شـود. درجـه قابـل اسـتفاده برای هر مدل در متن کتاب و یا مرجع‌ها داده شده است.

*RELATIVE RATES OF SPOILAGE (RRS)

۲-۲-۱۲- شاخص‌های کیفیت و فساد

روش‌های ابزاری می‌توانند برای تعیین زمان ماندگاری یک فرآورده خاص به کار گرفته شوند و این زمانی میسر است که واکنش یا تغییر شکل واکنش به‌عنوان یک شاخص کیفیت[1] (QI) بیان شود به نحوی که با امتیازات حسی یا زمان ماندگاری باقیمانده ارتباط یابد. به‌عنوان مثال، اسپنکر و بینس (۱۹۶۴) مدل ریاضی معادل مدل ۴-۱۲ برای پیش‌بینی زمان ماندگاری ماهی کاد که در محیط اتمسفر انبار شده بود از نظر تاثیرات درجه حرارت نگهداری و مقدار اولیه شرایط میکروبیولوژیکی، شاخص‌های کیفی حسی و شیمیائی به (QI inilial) به کار گرفته‌اند مراجعه شود.اُلافر-دوتیر و همکاران (۱۹۹۸) و دالگارد (۲۰۰۰) از روشهای فیزیکی یا شیمیایی، بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی به‌عنوان شاخص‌های کیفی غذاهای دریائی استفاده کرد.

معادله ۴-۱۲

$$T^{\circ}c = \frac{\text{ضریب ثابت} \times [QI_{\text{فساد}} - QI_{\text{اولیه}}]}{RRS\ AT\ Tc^{\circ}}$$ زمان باقیمانده قابل مصرف

در این فرمول فساد QIاندیس کیفیت می‌باشد که در زمان رد کیفیت توسط ارزشیابان کیفی مشخص می‌شود.

اندازه‌گیری کیفیت با استفاده از یک‌اندیس(SCQI)[2]

تکامل‌اندازه‌گیری‌اندیس‌های تری متیل آمین (TMA) ، تری متیل آمین اکسید (TMAO) و نیتروژن‌های فرار (TVN) در زمان نگهداری غذاهای دریائی، بوسیله استفاده از یک مدل خط ساده توسط (Ehrenberg & Shewan,1995 ;Oehlenschläger,1992) بوجود آمد. برای بدست آوردن رابطه مستقیم بین متابولیت‌های تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها مثل TMA ، اطلاعات بدست آمده باید تبدیل به‌اندیس TMA (طبق فرمول ۵-۱۲ ، Ehrenberg & Shewan,1995) گردد. مقدار TMA برای نمونه‌های رد شده توسط آرزیابان چشائی زمانی قابل‌اندازه‌گیری می‌باشد که مقدار مواد زائد (متابولیت) به یک حد قابل‌اندازه‌گیری رسیده باشد و این زمانی است که تعداد باکتری‌های فاسد کننده به حد ماکزیمم خود رسیده باشند (شکل ۱-۱۲ و ۳-۱۲). بنابراین، از غلظت TMA واندیس TMA نمی‌توان برای پیش بینی زمان باقیمانده برای مصرف فرآورده‌های دریائی که از ماهی تازه صید شده تهیه گردیده استفاده نمود. اما از این‌اندیس

---

[1] - C_1 = quality Index.
[2] -*Single compound quality idices*

TMA فقط می‌توان برای فرآورده هایی که فساد در آنها شروع شد و نه تازه و یا کاملاً فاسد شده‌اند استفاده بعمل آورد.

رابطه ۵-۱۲ TMA-index=log(1+mg-N TMA/100mg)

با توجه به شکل ۱-۱۲، مقدار SSOs در ماهیان مختلف دارای هم بستگی نزدیک با مقدار زمان بایمانده از زمان مصرف فرآورده می‌باشد (جدول ۲-۱۲). رابطه ۴-۱۲ را می‌توان زمانی برای پیش بینی زمان باقیمانده قابل مصرف برای ماهی بکار برد که رابطه هم بستگی نزدیک، همانطور که در جدول ۲-۱۲ نشان داده شده است، بین درجه حررات انبار در درجه‌های مختلف واندیس TMA وجود داشته باشد. این رابطه هم چنی برای فیله ماهی کاد بسته بندی شده در اتمسفراصلاح شده (MAP) (Dalgaard,1998 و Gibson,1985) مشاهده شده است.

طی نگهداری غذاهای دریائی، امتیازهای حسی می‌توانند به‌طور خطی با زمان نگهداری تغییر کنند (Shewan *et al.*,1953 ; Bremner,1985). از معادله۴-۱۲ می‌توان برای پیش‌بینی زمان ماندگاری استفاده نمود (Branch & vail,1985). امتیازات حسی بدست آمده با روش شاخص کیفیت (QIM) طی نگهداری ماهیان تازه در زیر یخ بطور خطی افزایش نشان می‌دهد، اما مطالعات بیشتر برای تائید سودمندی استفاده از QIM با معادله ۴-۱۲ برای زمانی که غذاهای دریائی در درجه حرارت‌های بالا نگهداری می‌شوند ضروری است (Dalagaard,2000).

جدول ۲-۱۲- رابطه بین تعداد ارگانیسم‌های ویژه فاسد کننده و زمان ماندگاری باقیمانده در ماهی تازه نگهداری شده در صفر درجه سانتیگراد

باکتری فاسد کننده و محصول	اتمسفر	مبداء	پارامترهای بکار برده شده در مدل [a]			مرجع
			محل برخورد	شیب	ضریب همبستگی	
SEWANELLA PUTREFACINES ماهی کاد	هوا	دانمارک	۱۵	-۲/۳	-۰/۹۷۴	CAPELL et al., (1998)
شک ماهی	هوا	انگلستان	۱۱/۴	-۱/۹	-۰/۹۲۹	CAPELL et al., (1998)
اسکو	هوا	پرتقال	۱۵/۷	-۲/۵	-۰/۹۳۷	CAPELL et al., (1998)
قزل آلا	هوا	انگلستان	۱۹/۹	-۳/۳	-۰/۹۷۵	CAPELL et al., (1998)
ماهی گرمسیری	هوا	آفریقا	۲۸/۲	-۴/۲	-۰/۹۵۰	CAPELL et al., (1998)
PHOTOBACTERIUM PHOS PHOREUM ماهی کاد	اتمسفر تغییر یافته	دانمارک	۱۸/۵	-۲/۳	-۰/۹۵۴	DALGAARD (1998)
BROCHOTHRIX THERMOSPHACTA مولت قرمز	اتمسفر تغییر یافته	یونان	۳۳/۲	-۳/۹	-۰/۹۷۰	KOUTSOUMANIS et al., (1998)
بریم دریایی	اتمسفر تغیر یافته	یونان	۳۳/۶	-۳/۸	۰/۹۴۹	KOUTSOUMANIS et al., (1998)

a= زمان ماندگاری باقیمانده (روز در صفر درجه C°) = مختصات محل برخورد + شیب leg(ssolg)

* SSO=SPECIFIC SPOILAGE ORGANISMS

شاخص‌های کیفی ترکیبی چنداندیس[1] (MCQI)

برای بسیاری از غذاهای دریایی، مخصوصاً فرآورده‌های نیمه فرآوری شده، شناسایی[2] SCQI موفقیت‌آمیز نبوده است. در بعضی موارد به این مشکل با ایجاد شاخص‌های کیفی که از چند ترکیب و یا چند روش‌اندازه‌گیری استفاده شده غلبه گردیده است. یک مثال خوب در این زمینه استفاده از آزمایش K-Value است. در این آزمایش از نسبت مواد تجزیه شده از ATP و یا غلظت آمین‌های بیوژنیک، برای تعیین کیفیت ماهی یا فرآورده آن استفاده شده است.

[1] - Multiple Compound quality Indices
[2] - Singel Compound quality Indices

(Saito *et al.*,1959; Mietz & Karamas; 1977; Veciana-Nogues *et al*, 1977; Duflos *et al.*, 1999)

اخیراً از روش‌های آماری با چند متغیر برای شناسائی MCQI استفاده شده است. بعنوان مثال با تجزیه و تحلیل موادهای فرار واصلی[1] (PAC)[44] نمونه از ترکیب های فرار باعث شناسائی ۹۳٪ از نمونه‌های مورد آزمایش به سه دسته برحسب کیفیت آنها گردیدند. در تأیید این روش، قبلاً نمونه‌های ، آزاد ماهی صورتی اقیانوس آرام توسط ارزیابان حسی نیز به همین سه دسته از نظر کیفیت تقسیم بندی شده بودند (Girad & Nakai,1994). روش MCQI براساس شناسائی ۴۴ ترکیب فرار صورت می‌گیرد، در عمل امکان استفاده از این روش مشکل است. از طرف دیگر برای ماهی دودی شده به روش سرد[2] با استفاده از روش همبستگی[3](PLSR)، این امکان بوجود آمده که با استفاده از pH و غلظت چهارآمین بیوژنیکی یک روش MCQI برای تعیین کیفیت این فرآورده ایجاد بگردد. ارزش کیفی بدست آمده با این روش MCQICss برابر بود با ارزش کیفی که توسط روش حسی انجام گردید و باعث ردشدن نمونه‌های Css گردیده بود. این هماهنگی تائید بر صحت نتایج MCQICss توسط (Jqrgensen *et al.*,2000) و فرمول ۶-۱۲ فرمول بود. با استفاده از روش PLSR و تجزیه و تحلیل داده ها، می‌توان نسبت به شناسائی بعضی از ویژگی های که با امتیازهای حسی و یا زمان باقیمانده ماندگاری (کیفیت) هم بستگی دارد دسترسی پیدا نمود. علاوه بر آن از روش PLSR می‌توان زمانی که تعداد مواد و یا واکنش‌های‌اندازه‌گیری شده بیشتر از تعداد نمونه‌ها است نیز استفاده بعمل آورد. بنظر می‌رسد که این روش در توسعه MCQI خیلی موثر باشد

فرمول (۱۲-۶)

$$MCQI_{css} = 200\text{-}31 \times pH + 0.06 \times Tyramine\ (ppm) + 0.06$$

فرمول (۱۲-۷)

زمان باقیمانده از زمان ماندگاری (هفته در $5C^{\circ}$) = $(4.87 - 0.34) \times log\ (lacobacillys/g) - 0.06 \times TVN\ (mg - N/100g)$

یک نمونه دیگر از روش MCQI با استفاده از همستگی خطی با چند متغیر برای تعیین زمان ماندگاری باقیمانده Css در پنج درجه سانتیگراد با استفاده از شمارش لاکتوباسیلوس و مقدار TVN در فرمول (۷-۱۲) تعریف گردید.(Leroi *et al.*,2001). زمان ماندگاری CSS بستگی زیادی به درجه حرارت انبار، مقدار نمک و

[1] - Pincipal Component analysis
[2] - Cold Smoked Salmon
[3] - Partial ALeast Squares Regression

ترکیب‌های دود دارد (جدول ۱-۱۲، و Leroi & Joffraud,2000) این نکته باقیمانده که روشن شود که روش MCQI پیشنهادی برای CSS (فرمول‌های ۶-۱۲ و ۷-۱۲) آیا برای انبار نمودن ماهی و فرآورده‌های آن در درجه حرارت‌های مختلف با ترکیب‌های متفاوت و با توجه به مقدار نمک و ترکیب دود صدق می‌کند یا نه – در نهایت باید متذکر شد که روش‌های آماری با چند متغیر، برای شناسائی روابط بین واکنش‌های مختلف اسپکتروفتومتری و ویژگیهای کیفی و یا زمان انبارداری نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند. این نوع از روش‌های MCQI در فصل ۲۴ مورد بحث قرار خواهند گرفت.

جدول ۳-۱۲- پارامترهای جنبشی تشریح کننده رشد و فعالیت‌های میکروبی

تراکم سلولی و مقدار متابولیت	نرخ رشد واقعی و تولید متابولیت	سرعت رشد مخصوص یا تولید متابولیت
تراکم سلول (N) (وزن غذا$^{-1}$ × سلول)	$dN/dt = N \times \mu$ (زمان $^{-1}$ × سلول × وزن غذا$^{-1}$)	$\mu = dN/dt \times N^{-1}$ $(time^{-1})$
وزن متابولیت (M) (وزن متابولیت × مقدار غذا$^{-1}$)	dM/dt (وزن متابولیت × وزن غذا$^{-1}$ × زمان$^{-1}$)	$q_M = dM/dt \times N^{-1}$ (زمان$^{-1}$ × سلول$^{-1}$ × وزن متابولیت)

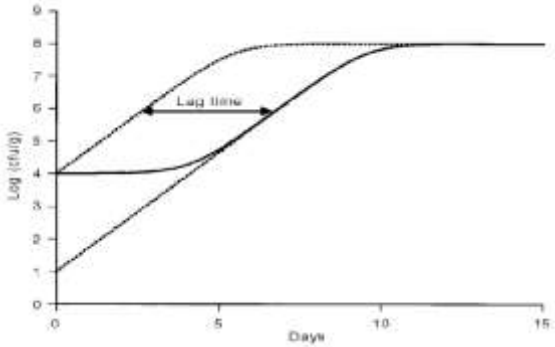
۳-۱۲- مدل‌سازی جنبشی[1] برای میکروب‌ها براساس رشد آنها

مدل‌های رشد و فعالیت میکروبی به مقدار زیادی مطالعه شده‌اند، مثلاً در رابطه با (i) فن‌آوری تخمیر، که مدل های رشد، فعالیت میکروبی و انتقال گرما و متابولیت‌ها برای کنترل و افزایش تولید راکتورهای زیستی استفاده شده‌اند (Roels & Kossen,19781 ;Nielsen & Villadsen,19921992) (ii) اکولوژی که فعالیت و فعل و انفعالات میکروارگانیسم‌ها در محل‌های متفاوت زندگی که شامل فیلم‌های زیستی هستند، توصیف شده‌اند (Lynch & Hobbie,1988 ;Kreft *et al.*,2001) (iii) در رابطه با میکروبیولوژی غذایی، پیش‌بینی تاثیر ویژگیهای فرآورده و شرایط نگهداری روی رشد و بقای عوامل بیماری‌زا و میکروارگانیسم‌های عامل فساد به صورت مدل محاسبه و مورد استفاده و برای پیش‌بینی سلامتی و زمان ماندگاری غذاها بکاربرده شده اند.

[1] - Microbial kineties

مدل‌های ریاضی برای رشد و فعالیت میکروبی اغلب براساس بیوماس سلول‌ها طراحی شده‌اند (Pirt,1975). در غذاها، به آسانی بیوماس سلول‌های میکروبی را نمی‌توانند تعیین نمود، اما اگر فرض شود که‌اندازه متوسط میکروارگانیسم‌ها طی نگهداری در انبار ثابت باقی می‌ماند حالا اصول کلی رشد کنتیتکی (Kinetics) و فعالیت باکتریها را می‌توان بکار برد (جدول ۳-۱۲). همچنانکه در شکل ۱-۱۲ نشان داده می‌شود، مدل‌های رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد را می‌توان برای پیش‌بینی زمان ماندگاری غذاهای دریائی را مورد استفاده قرار داد. علاوه بر مدل‌های رشد، پیش‌بینی زمان ماندگاری نیاز به اطلاعاتی درباره موارد زیر دارد:

(i) SSO و محدوده فساد آن، (ii) تعداد اولیه SSO و (iii) مشخصات فساد. در بعضی موارد تعداد $۱۰^{۷}$ سلول SSO در هر گرم فرآورده برابری نشان داده با زمان از بین رفتن کیفیت حسی و ردشدن فرآورده توسط کارشناسان آزمایش‌ها چشائی و بعنوان اندیس فساد فرآورده استفاده می‌شود. اما بهرحال فرآورده ممکن است مدتی بعد از اینکه SSO به حداکثر میزان تراکم خود رسد، فاسد شود (Koutsouumanis & Nychas,2000 و Dalgaard *et al*,1997). در بین مدل‌های پیش‌بینی در میکروبیولوژی غذائی برای واکنش‌های میکروبی در شرایط متفاوت در غذا، معمولاً از روش دو مرحله‌ای استفاده می‌کنند. در مدل‌های اولیه تغییرات تراکم سلول‌ها در نتیجه عامل گذشت زمان توصیف کرده و در مدل‌های ثانویه تاثیر فاکتورهای محیطی را روی فعالیت های کنیتکی مثل پارامتر تاخیر در رشد (Lage time) و سرعت حداکثر رشد مخصوص μ_{max} نشان می‌دهند (Buchanan,1993 ; McClure *et al.*,1994).



شکل ۲-۱۲ : مدل‌های رشد پیش بینی شده لگاریتمی‌باکتریها. مدل ساده سه فاکتوری (معادله ۱۲-۱۳) با $N_{.}$ معادل ۱۰ و ۱۰۰۰۰ واحد تشکیل دهنده کلونی در گرم *(cfu/g)* می‌باشد (خطوط نقطه‌چین). مدل ۴ فاکتور (معادله ۱۲-۱۴) با N_{min} از ۱۰۰۰۰ واحد *cfu/g* تشکیل دهنده کلونی در گرم می‌باشد (خط کامل). برای سه مدل حداکثر تغییرات μ_{max} برابر $\%۷۰h^{-۱}$ و μ_{max} برابر *cfu/g* ۱×۱۰^{۸} بود.

۱-۳-۱۲- مدل‌های اولیه

مدل‌های رشد برای اهداف زیر استفاده می‌شوند:

(i) برای پیش بینی نمودن فاکتورهای جنبشی رشد (Kinetics) و فعالیت باکتریها مثل، زمان رشد تاخیر[1]، نسبت حداکثر رشد مخصوص (μ_{max})[2] و حداکثر تراکم سلول (N_{max}) این اطلاعات پس از انجام آزمایش‌های اولیه بدست می‌آیند.

(ii) وقتی مقادیر فاکتورهای جنبشی رشد دانسته شد، میتوان زمان لازم برای رسیدن به تراکم سلولی (N_t) را پیش بینی نمود در این زمان مشخص می گردد که نسبت مطلق تشکیل متابولیت‌ها (dM/dt) خیلی بالا است و بنابراین ممکن است باعث فساد شود. زمان رشد تأخیری چنین تعریف شد که در منحنی لگاریتمی باکتری (μ_{max}) دارای تأخیر بوده در مقایسه با رشد همان باکتری با تراکم اولیه دارای تاخیر بوده و یک ضریب رشد ثابت معادل (μ_{max}) (شکل ۲-۱۲) دارد. زمان رشد تاخیری (lag phase) بستگی به شرایط فیزیولوژیکی سلول‌ها و دسترسی به مواد مورد نیاز برای رشد دارد. بنابراین این پدیده یک ویژگی خاص باکتری نیست (Lodge & Hinshelwood,1943 ;Monod,1949 ;Pirt,1975). حداکثر رشد مخصوص (μ_{max})(جدول ۳-۱۲) یک سرعت رشد مخصوصی است که یک جمعیت باکتریایی می‌تواند تحت شرایط معین بدست آورد. μ_{max} به زمان دو برابر شدن یا زمان تولید $(t_g = [Ln۲]/\mu_{max})$ بستگی دارد و بطور غیرقابل تصور یکی از ویژگی قابل تجدید در جمعیت‌های میکروبی است (Monod,1949).

رشد تصاعدی

مدل رشد تصاعدی ساده (معادله ۸-۱۲) بیش از دو قرن پیش ارائه شد. معادله (۹-۱۲) شکل یک پارچه و لگاریتمی‌این مدل را نشان می‌دهد. در میکروبیولوژی مواد غذائی، تعداد باکتری‌ها معمولاً بصورت لگاریتمی‌نشان داده می‌شود $\lg(N_t)$. این موضوع باعث می‌شود تا اختلاف در شمارش باکتری‌های زنده معنی دار گردد، هم چنین این امکان را بوجود می‌آورد تا پارامترهای نیرو جنبشی (Kinetic parameters) با دقت بیشتری محاسبه گردند و در نتیجه در زمانی که داده‌های آزمایشگاهی در این مدل بکار می‌روند ایجاد یک منحنی رشد مناسب و جذابی را بنماید. برای حفظ معنی دار بودن پارامترهای در یک مدل رشد، این نکته مهم است که هر دو طرف معادله (۹-۱۲) را باید بصورت لگاریتمی درآورد.

---

[1] - Lag phase = Lag time
[2] -Specific growth rate

مدل رشد تصاعدی برای پیش بینی چگونگی رشد باکتری‌ها به مقدار زیاد با دانستن رشد ماکزیمم μ_{max} (فرمول ۹-۱۲) مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای تعیین نرخ رشد باکتری‌ها از داده‌های بدست آمده آزمایشگاهی باید از فرمول (۱۲-۱۰) استفاده نمود. بهرحال، یک مدل ساده رشد تصاعدی باکتری‌ها قادر به دادن اطلاعات خیلی واقعی در رابطه با منحنی رشد باکتری، که شامل فاز تأخیری (Lag Phase) باشد که نخواهد بود بلکه زمان رسیدن باکتری‌ها به حداکثر تعدادشان را نشان می‌دهد.

$$\frac{dN}{dt} = N \times \mu_{max};\ Nt = N_0 \times Exp(\mu_{max} \times t) \qquad (۱۲-۸)$$

$$Log(Nt) = log(N_0 \times exp(\mu_{max} \times t) \qquad (۱۲-۹)$$

$$\mu_{max} = \frac{Log(Nt_2) - Log(Nt_1) \times Lm(10)}{t_2 - t_1} \qquad (۱۲-۱۰)$$

مفاهیم پارامترهای بکار برده شده در فرمول‌های ۸-۱۲، ۹-۱۲ و ۱۰-۱۲ را می‌توان از جدول ۳-۱۲ بدست آورد. مدل رشد تصاعدی را می‌توان توسعه داد تا فاز تاخیری (Lag Phase) را به آن اضافه کرد معادله (۱۱-۱۲). می توان ازمعادله (۱۱-۱۲) t Lag را که در برابر تعریف کلاسیکی Lag time می باشد را با استفاده از معادله همبستگی که توسط (Lodge & Hinshelwood,1943 ;Einarsson,1994; Mono D,1949) داده شده بدست آورد.

فرمول (۱۱-۱۲) $N_t = N_0$ if $t < t_{lag}$; $N_t = N_0 \times \exp(\mu_{max}$ $[t - t_{lag}]$ if $t \geq t_{lag})$

منحنی‌های ساده برای رشد مرحله‌ای میکروبی[1]

مدل‌های این نوع منحنی (Verholst,1838 ومعادله ۱۲-۱۲) توسعه‌ای از مدل رشد تصاعدی است. وقتی که N به N_{max} می‌رسد رشد متوقف می‌شود. از آنجائیکه در این مدل (Autonomous) می باشد ، زیرا نسبت رشد مخصوص فقط بستگی به تعداد سلول دارد .

معادله (۱۲-۱۲)
$$\frac{dN}{dt} = N \times \mu_{max}\left(1 - \frac{N}{N_{max}}\right)$$

فرمول (۱۳-۱۲)
$$N_t = \frac{N_{max}}{1 + \left[\frac{N_{max}}{N_o} - 1\right] \times \exp(-\mu_{max} \times t)} = \frac{N_{max}}{1 + \exp[-\mu_{max}(t - t_i)]}$$

[1] -simple sigmoidal growth curves

در فرمول ۱۳-۱۲ فاکتور t_i به نقطه انحنا مربوط است یعنی زمانی که $N_t = N_{\max}$ می‌شود. این مدل ساده (معادله ۱۳-۱۲ و ۱۲-۱۲) برای دربرگرفتن فاز رشد تأخیری در همان معادله‌ای که در بالا برای مدل‌های حداکثر رشد که داده شده است می‌تواند گسترش یابد (Rosso,1995 ; Rosso *et al.*,1996) . زمان رشد تأخیری به وسیله مدل ساده چهار فاکتوری می‌تواند برآورد شود (معادله‌های ۱۴-۱۲ و ۱۵-۱۲ و شکل ۲-۱۲).

معادله (۱۴-۱۲)
$$N_t = N_{\min} + \frac{N_{\max} - N_{\min}}{1 + \exp[-\mu_{\max}(t - t_i)]}$$

معادله (۱۵-۱۲)
$$Lag\ time = t_i - \frac{1}{\mu_{max}} \times \ln\left(\frac{N_{max} + N_{max} \times \exp(\mu_{max} \times t_i)}{N_{max} + N_{max} \times \exp(\mu_{max} \times t_i)} - 1\right)$$

در کنار مدل رشد میکروبی ساده، مدل گامپرتز[1] در سال ۱۸۲۵ (معادله ۱۶-۱۲) پیشنهاد شد که فاقد فاز رشد تأخیری بود. این مدل در اینجا فقط به این دلیل ذکر می‌شود چون نوع تصحیح شده آن به‌طور زیادی در پیش‌بینی میکروبیولوژی غذایی خیلی استفاده شده است (Gibson *et al.*,1988 ;Zwietering *et al.*,1995). مدل تصحیح شده گامپرتز با گرفتن لگاریتم از سمت چپ معادله ۱۶-۱۲ به دست آمد و سمت راست معادله بدون تغییر شکل باقی ماند. به دلیل این تغییر شکل عجیب، مقادیر زمان رشد تأخیری و $\mu_{\max}$ برآورد شده از اطلاعات حاصل از آزمایش که به وسیله مدل‌های گامپرتز اصلاح شده بدست می آید با تعریف کلاسیک این فاکتورها انطباق ندارد. مقادیر $\mu_{\max}$ معمولاً ۲۰-۱۰ درصد بیش از مقدار واقعی برآورد می‌شوند. (Baranyi *et al.*,1993 و Dalgaard *et al.*,1994) استفاده از مدل‌هایی که برآورد نادرستی از فاکتورهای جنبشی رشد و فعالیت باکتریها بدست می‌دهند نامناسب‌اند و به‌نظر می‌رسد که نیازی به استفاده از مدل اصلاح شده گامپرتز اصلاح شده در میکروبیولوژی غذاها دریائی وجود نداشته باشد.

معادله (۱۶-۱۲)
$$Lag\,time = t_i - \frac{1}{\mu_{\max}} \times \ln\left(\frac{N_{\max} + N_{\max} \times \exp(\mu_{\max} \times t_i)}{N_{\max} + N_{\max} \times \exp(\mu_{\max} \times t_i)} - 1\right)$$

یک مدل با قابلیت انعطاف بیشتر برای رشد میکروبی

مدل ریچارد (معادله ۱۷-۱۲) شامل فاکتور m برای کنترل میزان توقف رشد در زمانیکه N به $N_{\max}$ نزدیک می‌شود، است. همچنانکه در مقایسه معادله ۱۲-۱۲ با ۱۲-۱۷ دیده می‌شود مدل (Logistic) ۱۷-۱۲ یک مورد

[1] - Gompertz Model

مخصوص از مدل ریچارد می‌باشد که m در آن معادله ۱ می‌باشد. (Turner *et al.*,1969 ; Pruitt *et al.*,1979).

فرمول (۱۲ -۱۷a)

$$\frac{dN}{dt} = N \times \mu_{max} \times \left(1 - \frac{N^m}{N_{max}^m}\right)$$

فرمول (۱۲-۱۸b)

$$N_t = \frac{N_{max}}{[1 + \exp(-\mu_{max} \times m \times (t - t_i)]^{1/m}}$$

$$= \frac{N_{max}}{\left[1 + \left(\left(\frac{N_{max}}{N_0}\right)^m - 1\right) \times \exp(-\mu_{max} \times m \times t)\right]^{1/m}}$$

فاکتورهای موجود در مدل ریچارد مخصوصاً m ویژگیهای آماری ضعیفی دارد. (۷۵-۷۳ pp ، Ratkowsky,1983). این مدل معمولاً برای برآورد مقادیر پارامترهای رشدجنبشی و فعالیت باکتریها از داده‌های منحنی رشد آزمایشی مناسب نیست. بهرحال، با تثبیت مقادیر فاکتور m به ۰/۵، ۱ یا ۲، مدل ریچارد می‌تواند برای برآورد مقادیر μ_{max} از منحنی‌های Absorbance رشد مناسب استفاده شود. (Dalgaard & koutsoumanis,2001).

مدل‌های انعطاف پذیر و غیرقابل انعطاف (Non-Autonomous مدل) با وابستگی μ_{max} به زمان (t) و تراکم سلولی (N) توسط (Rosso,1995، Baranyi *et al.*,1993) برای استفاده در میکروبیولوژی مواد غذائی پیشنهاد شده‌اند. این مدل بنام Baranyi معروف و مورد استقبال قرار گرفته است. این مدل ترکیبی از مدل ریچارد (فرمول ۱۷-۱۲) و یک عملکرد تأخیری حساب شده برای جایگزینی زمان رشد با تأخیر (lag phase) می‌باشد. این مدل پیچیده می‌باشد، اما استفاده از نرم افزار (Microfit) (قابل دسترس و بدون هزینه در سایت www.ifr.bbsrc.ac.uk/MicroFit) و سایت DMfit (با هزینه کم www.ifr.bbsrc.ac.uk/Safety/DMfit/ امکان استفاده از این مدل را فراهم ساخته است.

زمانی که منحنی بدست آمده از رشد باکتری‌های فاسد کننده غذاهای دریائی با منحنی رشد بارانی (Baranyi) و منحنی بدست آمده از مدل Log-Transformed-4-Parameter Logistic (فرمول ۱۴-۱۲) مقایسه می‌گردند عملاً جواب‌های بدست آمده مشابهه می‌باشند (Dalgaard,1995 b). مدل رشد بارانی

(Baranyi) اختصاصاً برای پیش بینی رشد میکروارگانیسم‌ها در شرایطی که درجه حرارت محیط متغیر است توسعه یافت و مقایسه این دو مدل در تحت چنین شرایطی جالب خواهد بود.

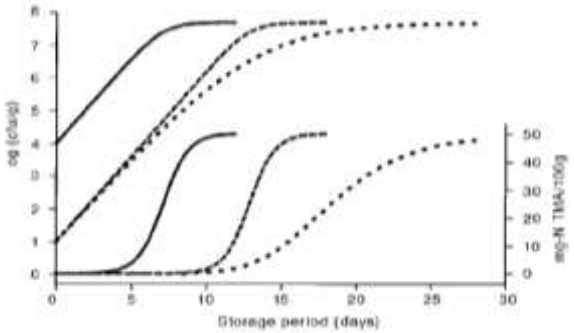
مدل‌های ریاضی که شامل تعداد اولیه و یا کاهش نهائی تعداد باکتری‌ها یی باشد نیز مورد نیاز می‌باشند. مثلاً در زمان مطالعه مأورا سردشدن غذاهای دریائی. مدل هایی که این پدیده را مدنظر قرار می‌دهند بعنوان مدل‌های ساده پیش بینی رشد باکتری‌ها با بسط دادن مدل (Pruitt & Kamao,1993 ; Peleg,1977) پیشنهاد شده‌اند.

بطور خلاصه می‌توان گفت که مدل‌های اولیه‌ای که قادر به تشریح نیروی (Kinetic) و فساد در مواد غذائی دریائی توسط میکروارگانیسم‌ها و زدن تخمین برای μ_{max} و زمان تأخیر (lag time) در تأیید و تطبیق با تعریف‌های کلاسیک این پارامترها، در دسترس می‌باشند. علاوه بر این مدل هایی بر اصول پارامترهای موثر که شامل تعداد اولیه باکتری‌ها N_0 نیز در دسترس می‌باشند و این مدل‌ها برای پیش بینی چگونگی رشد میکروارگانیسم‌ها در مواد غذائی دریائی بسیار مهم می‌باشند.

۲-۳-۱۲- مدل سازی برای فعالیت‌های میکروبی و رابطه بین آنها

مفهوم بازده، این پیشنهاد را مطرح می‌کند که بین بیوماس یک کشت میکروبی و مقدار مصرف ماده اولیه (Substrate) و ضریب ثابت رشد باکتری ($Y_{Biomass/substrate}$) را می‌توان بهم مرتبط دانست (Monod,1942). بهمین ترتیب، نرخ تولید مطلق متابولیت (dM/dt) را می‌توان مرتبط دانست با نرخ مطلق رشد باکتری‌ها (فرمول ۱۸-۱۲، Pirt,1972). بصورت روشن، میکروارگانیسم‌ها انرژی حاصل از فعالیت متابولیکی را برای تولید بیوماس و همچنین نگهداری خودشان مصرف می‌کنند. بهرصورت، در بیشتر مواقع انرژی مصرفی برای نگهداری میکروارگانیسم کم می‌باشد و با گرفتن انتگرال از فرمول ۱۸-۱۲ می‌توان به یک مدل ساده برای پیش بینی تولید متابولیت‌ها (فرمول ۱۹-۱۲) دسترسی پیدا نمود. مفهوم بازده، یک وسیله با ارزشی برای شناسائی SSO تولید کننده TMA، بیوژنیک آمین و آمین‌های فرار در غذاهای متفاوت دریائی می‌باشد (Dalgaard,1995a ; JØrgensen *et al.*,2000b ; Koutsou Manis & Nychas,2000). پیش بینی تولید متابولیت‌ها در غذاهای دریائی به مقدار کم مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. شکل ۳-۱۲ نشان می‌دهد یک نمونه از شبیه سازی، زمانی که فرمول ۱۹-۱۲ همراه با ترکیبی از Logistic modle فرمول (۱۳-۱۲) و مدل ریچارد (۱۷b-۱۲) مورد استفاده قرار گیرد، می‌توان دید که تعداد اولیه باکتری‌ها (N_0) و مقدار رشد تأخیری (lag phase) اثر فراوانی بر روی تولید متابولیت‌ها مثل TMA دارد. مقایسه مدل‌های شبیه سازی شده

(Simulations)، مثل شکل (۳-۱۲)، و داده‌های بدست آمده از آزمایشگاه باید مورد مطالعه بیشتر قرار گیرند تا دانش ما را در مورد فاکتورهایی که می توانند موثر در تولید متابولیت‌های عامل فساد در مواد غذائی دریائی می‌گردند را بیشتر شناسائی کنیم.



شکل ۳-۱۲: شبیه‌سازی رشد و تولید *TMA* توسط ارگانیسم‌های اختصاصی عامل فساد. شبیه سازی هر سه منحنی رشد با استفاده از $۱۰^{۷/۷}\,cfu/g$ برابر μ_{max} و $\%۵h^{-۱}$ برابر μ_{max} انجام گردید. شبیه‌سازی تولید *TMA* با استفاده از فرمول (۱۲-۱۹) و ضریب ثابت تولید $(Y_{TMA/cfu})۱۰^{-۸}\,mg-N\ TMA/cfu$ و مدل *Logistic* (فرمول ۱۲-۱۳) و $N۰=۱۰۰۰۰cfu/g$ (منحنی پیوسته)، و $N۰=۱۰cfu/g$ (منحنی‌های نقطه چین) و مدل ریچارد (فرمول ۱۲-*۱۷b*) با $N۰=۱۰۱۰cfu/q$ و *m* برابر ۰/۲۵ میل (منحنی‌های نقطه چین) انجام شده است.

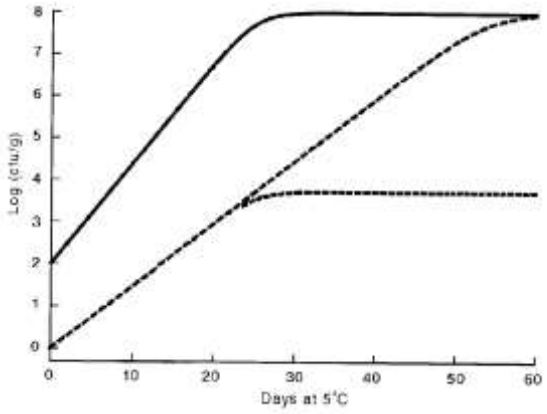
$$\frac{dM}{dt} = Y_{M/N} \times \frac{dN}{dt}$$ معادله (۱۲-۱۸)

$$M_t = M_0 + [Y_{M/N} \times (N_t - N_0)]$$ معادله (۱۲-۱۹)

اغلب مشاهده شده که گروههایی از میکروارگانیسمی‌که به مقدار کم در غذاهای دریائی وجود دارند، رشدشان در زمانی که میکروفلورهای دیگر در محیط غالب‌اندو تعدادشان به حداکثر می‌رسد، متوقف می گردد.
(Gram & Melchiorsen,1996; Dalgaard,1999a, Kootsoumanis & Nychhs,2000; Kootsoumanis *et al.*,2000; Emborg *et al.*,2002).

و این پدیده به نام پدیده جامسون (The Jamson effect) هم نامیده می‌شود (Ross *et al.*,2000) که منحصر به غذاهای دریائی نیست. فعل و انفعلات میکروبی که عامل بوجود آمدن پدیده جامسون هستند می

توانند به‌دلیل رقابت برای ماده غذایی باشند و یا به دلیل مداخله متابولیت‌های مختلف شامل باکتری‌کش‌ها Siderophores و یا مولکول‌های مخصوص باشند. اما در حال حاضر مکانیسم این پدیده هنوز به درستی شناسایی نشده است. در آینده با استفاده از مدل‌سازی رشد جنبشی و فعالیت باکتریها ممکن است کمک به افزایش دانش ما درباره مکانیسم جامسون کمک کند. درحال حاضر فعل و انفعالات میکروبی را می‌توان با توسعه مدل رشد ساده باکتریائی Logiatic model (مدل ۲۰-۱۲) پیش‌بینی نمود. این مدل برای پیش‌بینی اینکه چگونه تعداد زیادی از باکتریهای اسیدلاکتیک از رشد L.monocytogenes در ماهی آزاد دودی شده به روش سرد جلوگیری می‌کند استفاده گردیده است (شکل ۴-۱۲، Dalgaard *et al.*,2002a). این فرضیه پشت سر فرمول ۲۰-۱۲ می‌باشد که مکانیسم جلویگری از رشد باکتری‌های L.monocytogenes توسط باکتری اسیدلاکتیک همان مکانیسمی‌است که از رشد خود باکتری‌های اسید لاکتیک جلوگیری بعمل می‌آورد.



شکل۴-۱۲: رشد پیش‌بینی *L.monocytogenes* و باکتریهای اسیدلاکتیک در $5^{\circ}C$. باکتریهای اسیدلاکتیک (خط پیوسته)،باکتریهای *Lm*(خط تیره) و باکتریهای *Lm* با *LAB*(خط نقطه‌ای (*Jorgenson*,۲۰۰۰)

وقتی رشد L.monocytogenes در آزاد ماهی دودی شده به روش سرد پیش‌بینی می‌شود، مهم است که فعل و انفعال آن با میکروفلورا عامل فساد در نظر گرفته شود. در حقیقت، استفاده از معادله ۲۰-۱۲ باعث تخمین واقع بینانه‌تر نسبت به‌مدل‌های‌معمول دیگر استفاده شده در میکروبیولوژی غذاهای دریایی می‌شود. (شکل ۴-۱۲، Dalgaard *et al.*,2002a)

$$\frac{dLm}{dt} = Lm_t \times \mu_{max}^{Lm} \times \left(1 - \frac{Lm_t}{Lm_{max}}\right) \times \left(1 - \frac{LAB_t}{LAB_{max}}\right)$$

معادله (۲۰-۱۲)

که Lm و LAB که به ترتیب نشان دهنده L.monocytogenes و باکتریهای اسیدلاکتیک می‌باشند. dLm/dt نسبت‌های رشد مطلق است، LAB_t, Lm_t تعداد $cfug^{-1}$ سلول در زمان Lm_{max}, t و LAB_{max} حداکثر تعداد ($cfug^{-1}$) سلول و μ_{max}^{Lm} حداکثر نسبت رشد مخصوص می‌باشد (h^{-1}) .

۳-۳-۱۲- مدل‌های ثانویه

زمان رشد تأخیری، μ_{max} و در بعضی موارد، حداکثر تعداد باکتریهای عامل فساد، بستگی به فاکتورهای محیطی مثل درجه حرارت، دی‌اکسید کربن موجود در اتمسفر $PH, Nacl, a_w$، لاکتات، مواد نگهدارنده‌ها و ترکیب‌های دود دارد. در بین روش‌های پیش‌بینی در مورد میکروبیولوژی غذاهای دریائی، مدل‌های ثانویه برای توصیف تاثیر فاکتورهای محیطی، بر روی فاکتورهای رشد جنبشی و فعالیت باکتریها استفاده می‌شوند. جداسازی مدل‌های اولیه و ثانویه به‌طور زیادی استفاده شده اما برای مدل سازی برای رشد استفاده از یک مدل یک مرحله ای استفاده از مدل یکسان هم پیشنهاد شده است (Membre *et al.*,1997 ; Hajmeer *et al.*,1997 ۱۹۹۷).

مدل‌های ثانویه، که محدوده وسیعی از فاکتورهای محیطی را پوشش می‌دهند، قابل توسعه می‌باشند. اما ممکن است که این مدل هابرای پیش بینی زمان ماندگاری توسط باکتری‌های SSO اگر تعداد این باکتری ها کمتر نسبت به مدل مورد نظر باشد، در این صورت این مدل‌ها قابل استفاده برای پیش بینی زمان ماندگاری نخواهند بود. این مشکل بعداً در رابطه با ارزشیابی مدلها بحث خواهد شد. در این قسمت فقط روی مدل‌های که تاثیر فاکتورهای محیطی، بر روی مقادیر μ_{max} و کاربرد آنها برروی SSO_S در غذاهای دریائی را مورد بحث قرار می‌دهد.

مدل‌های چندوجهی[1] و شبکه‌های فرضی عصبی[2]

مدل‌های چندوجهی ساده می‌توانند برای تاثیر ترکیبی چند فاکتور و روابط آنها برروی هم استفاده شوند. این مدل ها را به آسانی می‌توان با استفاده از همبستگی خطی چندتایی بکار برد و این مدل ها در پیش‌بینی‌های میکروبیولوژی مواد غذایی خیلی استفاده شده‌اند (MeClure *et al.*,1994). مدل‌های چندوجهی (Polynomial) خیلی مورد انتقاد قرار گرفته‌اند زیرا بعضی از مدل‌ها تعداد زیادی از فاکتورهایی را بکار می‌برند که این فاکتورها تفسیر بیولوژیکی ندارند. این موضوع باعث می‌شود که نتایج این مدل‌ها برای مقایسه با نتایج فاکتورهای حاصل از مطالعات دیگر مشکل باشد (Baranyi *et al.*,1996). بهرصورت یک مدل چندوجهی ساده (معادله ۲۱-۱۲) برای ارزیابی تاثیر درجه حرارت (T) و co_2 روی باکتری SSO *Photobacterium phisphoreum* برای پیش‌بینی زمان ماندگاری فیله‌های ماهی کاد در بسته بندی در MAP با موفقیت استفاده شده است (Dalgaard,1997).

معادله (۲۱-۱۲)

$$\sqrt{\mu_{max}} = 0.29 + 0.032 \times T - 1.16 \times 10^{-3} \times \%CO_2 - 9 \times 10^{-5} \times T \times \%CO_2 + 9 \times 10^{-6} \times (\%CO_2)^2$$

شبکه‌های فرضی عصبی (Artificihl Neural Networks) (ANN) نوع دیگری از مدل‌های تئوری پیشنهاد شده به‌عنوان مدل‌های ثانویه هستند که گاهی اوقات به‌عنوان مدل‌های اولیه نیز نامبرده شده‌اند و برای پیش‌بینی فعالیت میکروب ها در میکروبیولوژیکی غذا استفاده می‌شوند (Geeraerd *et al.*,1998 ; Hajmeer *et al.*,1997). این شبکیه ANN هنوز برای پیش بینی زمان ماندگاری در مواد غذائی دریائی مورد استفاده قرار نگرفته است.

[1] -*Polynomial models*
[2] - *Artifikal neuralnetworks*(ANN)

مدل‌های رشد جنبشی[1]

درجه حرارت مهمترین فاکتور موثر روی رشد و فعالیت میکروبی در فساد مواد غذاهای دریائی است. مدل‌های زیادی برای تاثیر این فاکتور محیطی پیشنهاد شده‌اند. معادله آرنیوس[2] (معادله ۱۲-۲) که برای مدل‌سازی تاثیر درجه حرارت روی فساد مواد غذایی به فراوانی استفاده می‌شود. این معادله (آرنیوس) هم چنین برای تعیین نرخ رشد و زمان‌های رشد کم میکروارگانیسم‌های عامل فساد در غذاهای دریائی به کار گرفته شده است. اما در بسیاری از موارد معلوم شده که انرژی فعال سازی (E_A) خودش وابسته به درجه حرارت می‌باشد و این موضوع در تضاد با فرضیه در معادله آرنیوس می‌باشد که طبق آن (E_A) باید مستقل از درجه حرارت باشد (Mc Meekin *et al.*,1993 و Ratkowsky *et al.*,1982) برای S.*Putrefaciens* SSO در مواد غذائی دریائی مقدار متوسط E_A در درجه حرارت بین صفر و ۱۵ درجه سانتیگراد ۸۵ کیلو ژول بر مول می‌باشد و برای درجه حرارت بین ۲۷ تا ۱۵ سانتیگراد E_A برابر ۵۴ کیلو ژول بر مول است (Dalgaard,1996). برای جانشین کردن معادله آرینوس (Ratkowsky *et al.*,1982) یک مدل ساده دو فاکتوری برای بررسی تاثیر درجه حرارت زیر درجه اپتیمم (Optimal) بر روی رشد میکروارگانیسم‌ها پیشنهاد نمودند (معادله ۲۲-۱۲). این مدل بعدها توسعه داده شد تا تمام درجه حرارت‌های لازم برای رشد باکتری‌ها را در بر گیرد معادله (۲۳-۱۲) (Ratkowsky *et al.*,1983). این مدل‌ها و توسعه یافته آنان بنام مدل‌های (Square root) یا ریشه مربع و یا مدل رتکوسیکی (Ratkowsky) معروف گردیدند. این مدل‌ها در زیر شرح داده خواهند شد. چند مطالعه تابحال نشان داده که جانشین کردن این مدل بجای مدل‌های قبلی باعث تثبیت نتایج بدست آمده و جلوگیری از بوجودآمدن اختلاف در نتایج مربوط به رشد باکتری‌ها می‌گردد (Zwietering *et al.*,1994 a ، McMeekin *et al.*,1993).

فرمول (۲۲-۱۲)

$$\sqrt{\mu_{max}} = b(T - T\min)$$

فرمول (۲۳-۱۲)

$$\sqrt{\mu_{max}} = b(T - T_{min}) \times \{1 - \exp[c(T - T_{max})]\}$$

در ماهی تازه که در اتمسفر اصلاح شده بسته‌بندی شده است، رشد SSO توسط درجه حرارت و غلظت Co_2 در اتمسفر اصلاح شده کنترل می‌گردد. برای مدل‌سازی بررسی اثر این فاکتورها

[1] - kinetic models
[2] - Arrhenius equation

روی رشد P.Phosphoreum از مدل ساده Square Root با سه پارامتر استفاده بعمل آمد (معادله ۱۲-۲۴) (Dalgaard *et al.*,1997). بعداً استفاده از معادله (۱۲-۲۴) برای پیش‌بینی رشد *Brochothrix Thermosphacta* در ماهی کفال تازه بسته بندی شده در اتمسفر اصلاح شده سودمندی و صحت آن تائید شد (Koutosoumanis *et al.*,2000). هم چنین محاسبه مقدار μ_{max} برای باکتریهای عامل فساد در ماهی مدیترانه‌ای که در اتمسفر اصلاح شده بسته‌بندی شده بود، یا استفاده از ترکیبی از مدل آرنیوس برای بررسی تاثیر درجه حرارت و مدل Kalina (1993) برای تاثیر Co_2 مورد استفاده قرار گرفته و نتایج مناسبی بدست آمد (معادله ۱۲-۲۵) (Koutsoumanis *et al.*,2000) .

$$\sqrt{\mu_{max}} = b(T - T\min) \times \frac{(\%Co_{2\max} - \%Co_2)}{\%Co_{2\max}}$$ معادله (۱۲-۲۴)

$$\ln(\mu_{max}) = \frac{E_a}{R} \times \left(\frac{1}{T_{ref}} - \frac{1}{T}\right) + \ln(\mu_{ref} - d_{CO_2} \times \%CO_2)$$ معادله ۱۲-۲۵

که T و T_{ref} درجه حرارت در k است (معادله ۱۲-۲۵).

در غذاهای دریائی نیمه فرآوری شده، مقدار PH, aw/Nacl، مقدار لاکتات (Lactate) و نگهدارنده‌های مختلف می‌توانند در رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد و زمان ماندگاری فرآورده موثر باشند. برای مدل‌سازی اثر توام تعداد فاکتورهای محیطی از مدل Square Root، از زمانی که (McMeehin *et al.*,1987) فرمول ۱۲-۲۲ را بسط دادند و از آن برای بررسی تاثیر درجه حرارت و فعالیت آبی استفاده نمودند، بعدها سایر پژوهشگران با جمع‌آوری اطلاعات مربوط به استفاده از مدل Square Root ، ثابت نمودند، که می‌توان با اضافه کردن فاکتورهای مختلف محیطی، اثر هر فاکتور را می‌توان با استفاده از معادله (۱۲-۲۶) که شکل توسعه یافته مدل Square Root می‌باشد را محاسبه نمود. پژوهشگرانی که اقدام به جمع آوری این اطلاعات نمودند عبارتند از: (Devlieghere *et al.*,1999 ;Wijtzes *et al.*,2001; Neumeyer *et al.*,1997a).دامنه پارامترهای محیطی برای تخمین زمان ماندگاری ماهی های که بصورت کمی فرآورده شده اند محدود می باشند و لذا می‌توان از ترکیب مدل‌های ساده مثل معادله (۱۲-۲۲) و معادله (۱۲-۲۶) استفاده نمود. اما بهرحال میکروارگانیسم‌های دریائی و بعضی از میکروارگانیسم‌های عامل فساد در مواد غذائی دریائی، نیاز اساسی و زیادی به عناصر معدنی غذائی دارند و در نتیجه استفاده از مدل‌های پیچیده‌تر مثل

فرمول زیر باید برای پیش بینی، تاثیر بازدارندگی رشد به وسیله فعالیت آبی بالا، مثلاً در غذاهای دریائی که مقدار نمک در آنها پائین است ضروری می‌باشد (Miles *et al.*,1997).

$$\sqrt{\mu_{max}} = b(a_w - a_{w\,max}) \times \{1 - \exp[c(a_w - a_{w\,max})]$$

یک نمونه در این زمینه، مثل رشد باکتری‌های عامل فساد در ماهی خشک شده باکتری Halobacterium Salinarium می‌باشد که باکتری فقط در فعالیت a_w بین ۰/۷۵-۰/۸۹ قادر به رشد می‌باشد (Chandler & McMeekin,1989).

معادله (۲۶-۱۲)

$$\begin{aligned}\sqrt{\mu_{max}} = {} & b \\ & \times (T - T_{min}) \\ & \times \sqrt{(a_w - a_{wmin})} \\ & \times \sqrt{(pH - pH_{min})} \\ & \times (\%CO_{2max} - \%CO_2)/\%CO_{2max}\end{aligned}$$

مدل Square Root ساده است و در آن فاکتورهای مختلفی مثل $PH_{min}, a_{w\,max}, T_{min}$ و درصد $co_{2\,max}$ را در آن وجود دارد، که این فاکتورها دارای تفسیر بیولوژیکی هستند. بدین ترتیب این مدل امکان مقایسه اطلاعات بدست آمده از بررسی مختلف را که دارای تفسیر بیولوژیکی هستند را فراهم می آورد. بدین ترتیب این مدل امکان مقایسه اطلاعات بدست آمده از بررسی مختلف را امکان پذیر و آسان می نماید (جدول ۴-۱۲). مقدار بعضی از فاکتورهای اصلی بر باکتری‌های SSOs در غذاهای دریائی همانطوریکه در جدول ۴-۱۲ نشان داده شد. نسبت بهم بسیار متفاوت هستند. برآورده‌های قابل اتکا از مقدار این فاکتورها می‌تواند، زمان و تلاش برای توسعه یک مدل جدید، برای پیش بینی رشد یک باکتری معین SSO در غذاهای دریائی جدید و یا تغییر یافته را کاهش دهد. بعبارت دیگر، تعداد آزمایش‌ها برای تعیین زمان نگهداری مواد غذائی را برای برآورد نمودن مقدار (b) مورد نیاز در (معادله ۲۶-۱۲) را کاهش می دهد. این راهکار، یا راهکارهای بسیار شبیه به آن معروف به مدل گاما هنوز برای ایجاد مدلی جهت پیش بینی زمان ماندگاری در مواد غذائی دریائی هنوز بصورت عملی صورت نگرفته است. (; Zwietering *et al.*,1992 ;Rosso,1999 Wijtes *et al.*,2001).

ساختار غذاهای دریایی عامل مهم دیگری است، زمانی که هدف پیش بینی رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد می‌باشد. نرخ رشد میکروارگانیسم‌ها در ۲۰ درجه سانتیگراد در محیطی کشتی که بوسیله ژلاتین جامد گردیده است در مقایسه با رشد همین میکروارگانیسم‌ها در محیط کشت مشابه ولی بصورت مایع و بدون ژلاتین بسیار کاهش

می‌یابد. اثر جلوگیری از رشد میکروارگانیسم در نتیجه یافت و ساختار مواد غذائی بعلت افزودن ژلاتین، بخصوص در محیطهایی که PH آن بین ۵-۴/۵ و مقدار نمک افزوده شده زیاد می باشد بسیار مشهودتر می‌باشد (; Robins & Wilson,1994 Brocklehorst *et al.*,1995). طبق این اطلاعات، مدل هایی که برای پیش بینی نرخ رشد میکروب‌ها از محیط‌های مایع استفاده می کنند، ممکن است، نرخ رشد میکروارگانیسم‌ها در مواد غذائی نیمه آماده دریایی را بیشتر از واقعیت برآورد نمایند. بعنوان نمونه، رشد *Staphylococcus xylosus* در ۲۹-۲۶ درجه سانتیگراد خیلی سریعتر در محیط مایع می باشند (Broth) در مقایسه با رشد آن در ماهی قباد و تونا نمک سود و خشک شده با همان فعالیت آبی (a_w) (Doe & Heruwati,1988) بود. انتشار و نفوذ مواد اولیه (Substrate) و یا متابولیت ها ممکن است مرتبط باشد با اثر بازدارندگی رشد باکتری در مواد غذائی یا ساختار و مقدار ژلاتین در محیط باشد. بهرحال مقدار انرژی اولیه مورد نیاز برای نفوذ و بخش خیلی کمتر از این انرژی برای نرخ رشد باکتری‌ها می‌باشد (Saguy & Karel.,1980). احتمالاً اثر بافت غذاهای دریائی در جلوگیری از رشد باکتری‌ها ممکن است به مقدار زیادی در ارتباط با کم شدن درجه حرارت باشد. نیاز به بررسی هایی برای تعیین اثر بافت غذاهای دریائی بر روی رشد میکروارگانیسم‌ها فاسد کننده آن وجود دارد.

٤-۱۲- ارزشیابی مدل‌های زمان ماندگاری

مدل‌های زمان ماندگاری و مدل‌های رشد میکروبی را می‌توان با اطلاعات بدست آمده از پیش بینی بصورت تئوری با نتایج عملی بدست آمده از بررسی آزمایشگاهی را با هم مقایسه و ارزشیابی نمود. برای مقایسه می‌توان از روش هایی مثل (i) – استفاده از منحنی که در ان نتایج بدست آمده از روش تئوری و کار آزمایشگاهی را می‌توان رسم و باهم مقایسه نمود (McClure *et al.*,1994). (ii) می‌توان ازاندیس‌های آزمون درستی و خطا (Ross,1996) که در ان زمان تأخیر رشد (Lag times)، مقدار μ_{max}، دو برابرشدن زمان، زمان لازم برای افزایش ۱۰۰۰ برابر شدن تعداد سلول‌ها و یا مقایسه نسبی فساد را می‌توان با استفاده از معادله (۲۸-۱۲ ؛ ۲۷-۱۲) با هم مقایسه (Neumeyer *et al.*,1997b ;Dalgaard *et al.*,1997) نمود. (iii) یا مقایسه مستقیم زمان ماندگاری پیش بینی شده با زمان ماندگاری مشاهده شده (Dalgaad *et al.*,1997).

جدول ۴-۱۲- دامنه عوامل مهم برای بعضی از موجودات ذره بینی فاسد کننده مواد غذائی دریائی

موجودهای ذره بینی فاسد کننده	دامنه عوامل مهم				مرجع
	Tmin	a_{wmin}	pH_{min}	%Co2max	
Shewanella putrefaciens	$-۸/۰To-۹/۹$	۰/۹۵	nd[a]	۱۵۰-۱۵۶	DALGAARD (1993, 1995b) KOUTSOUMANIS et al., (2000)
Pseudomonds	$-۶/۱To-۱۱۰۴$	۰/۹۵	nd[a]	۱۲۱	NEUMEYER et al., (1997a); KOUTSOUMANIS et al., (2000)
Photobacterium phosphoreum	-۹/۰	۰/۹۵	۴/۳[b]	۳۷۶	DALGAARD (1997); DALGAARD et al., (1997)
Lactobacillus curvatus	-۳/۳	۰/۹۵	۴/۲	Md	WIJTES et ak., (2001)
Lactic acid bacteria	$-۳/۶To-۱۱/۴$	nd	nd	۲۳۲	KOUTSOUMANIS et al., (2002a)
Brochothrix thermo sphacta	-۱۰/۹	nd	nd	۱۸۷	KOUTSOUMANIS et al, (2000)
Staphylococcus xylosus	+۳/۴	۰/۸۴	nd	nd	McMEEKIN et al, (1987)
Halobacterium salinariom	+۸/۳	۰/۷۰	nd	nd	CHANDLER AND McMEEKIN (1989); DOE AND HERUWATI (1988)
Enterobacteriaceae	-۰/۷	nd	nd	nd	DALGAARD et al. (2002a)
Enterococcus faecalis	+۳/۶ to + ۷/۷	nd	nd	nd	THAMMAVONGS et al., (1996); Dalgaard et al. (2002a)

a*-اندازه گیری نشده است** ***b*- اطلاعات منتشر نشده از *DIFRES

$$\text{bias factor } (\mu_{max}) = 10^{(\Sigma \log \mu_{max\ predicted}/\mu_{max\ observed})/n)}$$

معادله ۱۲-۲۷

$$\text{accuracy factor } (\mu_{max}) = 10^{(\Sigma |\log \mu_{max\ predicted}/\mu_{max\ observed}|)/n}$$

معادله ۱۲-۲۸

فاکتور خطا (Bias) معمولاً نشان دهنده درصد خطا بیشتر و یا کمتر از مقدار پیش بینی شده می‌باشد. مثلاً یک فاکتور خطا ۱/۲ نشان می‌دهد که مقدار پیش بینی شده μ_{max} بطور کلی ۱/۲مرتبه بیشتر از مقدار واقعی بدست آمده از زمان ماندگاری در انبار می‌باشد. در مقایسه با روش استفاده از منحنی برای مقایسه مقدار رشد باکتری ها، فاکتور خطا این مزیت را دارد که مستقیماً می‌توان نتیجه آن را با مقدارهای داده شده در مرجع مقایسه نمود. پیشنهاد شده که می‌توان مقدار فاکتور خطاهایی را که بین ۱/۲۵ تا ۰/۷۵ می‌باشند را بعنوان یک شاخص برای ارزشیابی مدل زمان ماندگاری مواد غذائی دریائی با موفقیت بکار برد (Dalgaard,2000). شاخص فاکتور خطا را می‌توان هم چنین برای مدرج نمودن مدل‌ها بکار برد. بعنوان مثال در پیش بینی رشد باکتری‌های اسید لاکتیک می‌توان آن را تابعی از درجه حرارت، فعالیت آبی و pH فرض نموده و نرخ رشد را از روی این پارامترها (Wijtzes *et al.*,2001). این مدل را نمی‌توان برای اثر دود و یا لاکتات برای پیش بینی رشد اسید لاکتیک باکتری‌ها بعلت پیش بینی رشد بی‌اندازه و غیر واقعی مورد استفاده قرار داد، در یک مورد که برای پیش بینی رشد این باکتری در ماهی آزاد دودی شده به روش سرد، مورد استفاده قرار گرفت نتیجه شاخص فاکتور خطا برای رشد این باکتری بیشتر از ۲ بود. تا زمانی که یک مدل مناسب بوجود نیاید، پیش بینی μ_{max} را می‌توان بوسیله تقسیم نمودن آن با شاخص فاکتور خطا محاسبه نمود. مقدار مدرج شده μ_{max} با این روش را می‌توان سپس برای پیش بینی واکنش اسید لاکتیک باکتری در CSS بعنوان تابعی از، درجه حرارت، فعالیت آبی و pH بکار گرفت (Dalgaard etal.,2002a).

اگرچه نرخ رشد یک میکروارگانیسم عامل فساد بصورت دقیق در تحت شرایط معینی قابل پیش بینی می‌باشد، اما پیش بینی زمان ماندگاری می‌تواند بصورت جدی گمراه کننده باشد، اگر پیش بینی نرخ رشد باکتری‌های SSO خارج از توان آنها محاسبه شود (Dalgaard,1995b). مقایسه مستقیم زمان ماندگاری پیش بینی شده و مشاهده شده به جای نرخ رشد باکتری‌ها می‌تواند این مشکل را برطرف نماید. برای جلوگیری از تولید اطلاعات زیاد و بی فایده درباره شرایط رشد باکتری هایی که در تولید فساد مهم نمی‌باشند، ایجاد یک مدل حذفی براساس تکرار مکرر آزمایش‌ها پیشنهاد شده است (Dalgaard *et al.*,1997). ایده اصلی در پشت سر این روش حذفی و تکرار، شناسائی و ارزشیابی اجزاء مورد نیاز برای ایجاد این مدل، مثل شناسائی SSO باکتری ها، شرایط مورد نیاز برای ایجاد فساد، وسعت فساد، محیط لازم برای رشد، قبل از اینکه مقدار زیادی اطلاعات بی فایده جمع آوری و مورد استفاده در مدل سازی قرار گیرند می‌باشد. این فلسفه شبیه فلسفه مورد استفاده در تضمین کیفیت می‌باشد که تعداد آزمایش‌ها در فرآورده‌های تولید شده کم گردیده و بجای آن‌ها بیشتر تأکید در کنترل مراحل حساس در زمان تولید گردیده است. مدل حذفی و تکرار، برای ایجاد مدل هایی که شامل اثر درجه

حرارت و غلظت Co_2 برای تعیین زمان ماندگاری فیله کاد در بسته بندی‌های شامل اتمسفر تغییر یافته (MAP) می‌باشند مورد بررسی قرار گرفته است. ارزشیابی این مدل در درجه حرارت ثابت و متغییر نشان داد که زمان ماندگاری پیش بینی شده با این روش فقط ۹ درصد با زمان ماندگاری بدست آمده توسط کارشناسان چشائی فرق داشت (Dalgaard *et al.*,1997). ارزشیابی موفق مدل ساده‌ای که برای تعیین نرخ رشد باکتری *P.phosphoreum* در محیط مایع نشان داد که ساختار غذا، فعل و انفعالات میکروبی و تمام دیگر پارامترها بجز درجه حرارت، درصد Co_2 و تعداد اولیه باکتری‌های SSO ، اهمیت کمی‌در فساد فیله کاد بسته بندی شده در اتمسفر تغییر یافته شده (MAP) دارند.

برای تعیین اهمیت اثر نوسانات درجه حرارت در زمان فرآوری و توزیع مواد غذائی دریائی باید این درجه حرارت‌ها ثبت و در مدلی که با استفاده از یک درجه حرارت ثابت ایجاد می‌گردد، بکار گرفته شوند. تاثیر درجه حرارت بر روی زمان ماندگاری ماهی و فرآورده‌های آن به اثبات رسیده است افزایش درجه حرارت از صفر تا ۱۵ درجه سانتیگراد در ماهی تازه و از ۵ تا ۱۵ درجه سانتیگراد در ماهی آزاد دودی شده به روش سرد باعث کم شدن زمان ماندگاری آنان با افزایش درجه حرارت (Dalgaard *et al.*,2002a; Mc Meekin *et al.*,1988 ; Charm *et al.*,1972) می‌گردد. شکل ساده درجه حرارت به سادگی قابل ارزشیابی شدن می‌باشد (Rovsivalli *et al.*,1973). تغییر در درجه حرارت دارای اثر کمی‌یا بدون اثر، بر روی تاریخچه باقی ماندگی نرخ رشد باکتری دارد، اما ممکن است نوسانات درجه حرارت بر روی زمان تاخیر (Lag Phase) تاثیر گذار باشد بخصوص اگر باکتری در شرایط نزدکی به خاتمه رشد باشد (Zwietering *et al.*,1994b; Mc Meekin *et al.*,1993 ; Fu *et al.*,1991) در بررسی های جدیدتر بر روی نگهداری مواد غذائی دریائی تازه در انبارهایی که درجه حرارت آنان بین صفر و پانزده درجه سانتیگراد بود،نتایجی شبیه به نتایج بالا بدست است (Koutsoumanis,2001; Dalgaard *et al.*,1997). تحقیقات بیشتر برای ارزشیابی اثر درجه حرارت‌های با تغییرات شدید بیشتر مثلاً در زمان ماوراءسردشدن و یا دودی کردن ماهی بر روی نرخ رشد باکتری‌های SSOs در غذاهای دریائی ضروری می‌باشد.

۵-۱۲- کاربرد نرم افزار

مدل‌های ریاضی مختلف برای پیش بینی زمان ماندگاری به نرم افزارهای کامپیوتری اضافه گردیده‌اند. این برنامه‌ها از آنجا مهم می‌باشند که این قابلیت را دارند که به افراد زیادی در صنایع غذائی، مثل بازرسان مواد

غذائی، آموزش دهندگان، پژوهشگران و سازمان‌های مصرف کننده این امکان را می‌دهند که به راحتی و آسانی از این نرم افزارها برای پیش بینی زمان ماندگاری مدل سازی نمایند. چند برنامه قادر به خواندن فایل‌های مربوط به درجه حرارت می‌باشند و قادر به پیش بینی زمان ماندگاری فرآورده براساس سابقه درجه حرارت (Temperature Profile) فرآورده می‌باشند، مثلاً تغییرات درجه فرآورده در زنجیره سرد در زمان حمل و نقل و پخش، بصورت روشن، این نوع دستگاه‌های الکترونیکی که قادر به محاسبه اثر زمان و درجه حرارت بر روی زمان ماندگاری فرآورده‌های غذائی و دریائی می‌باشند نه تنها در تعیین زمان ماندگاری مفیداند، بلکه باعث استفاده بیشتر عملی از مدل‌های ایجاد شده برای تعیین زمان ماندگاری مواد غذائی می‌گردند.

از نرم افزارهای پیش بینی کننده فساد در مواد غذائی دریائی[1] (SSP) را می‌توان بصورت آزاد و بدون پرداخت هزینه استفاده نمود. یکی از این نرم افزارها www.dfu.min.dk/micro/ssp/ می‌باشد که توسط (Dalgaard *et al.*,2002b) داده شده است. نرم افزار (SSP) شامل چهار مدل می‌باشد: (i) – مدل اول RRS[2] برای مواد غذایی دریائی تازه که از آبزیان آبهای معتدل تولید می‌شوند، (ii) مدل دوم RRS برای مواد غذائی دریائی تازه که از آبزیان آبهای گرمسیری تهیه می‌شوند، (iii) مدل سوم برای اثر درجه حرارت و مقدار Co_2 بر روی رشد باکتری *P.phosphoreum* در فیله ماهی کاد بسته بندی شده در اتمسفر تغییر یافته (MAP) کاربرد دارد و بالاخره مدل (iv) چهارم که برای بررسی اثر درجه حرارت بر روی رشد باکتری *Shewanella Putrefaciens* در شرایط مختلف انبار داری بصورت هوازی را می‌توان بوسیله SSP خوانده و ارزیابی نمود. با بیش از ۵۰۰ کاربر از نقاط مختلف دنیا، استفاده از SSP مورد استقبال بوده و مدل جدید این نرم افزار توسط استیو[3] تحقیقات شیلات دانمارک اخیراً در حال توسعه می‌باشد.

دستگاه پیش بینی کننده فساد در مواد غذائی[4](FSP) دارای مدلی می‌باشد که قادر به ارزشیابی اثر مقدار فعالیت آبی (a_w) و درجه حرارت بر روی رشد باکتری‌های سودوموناس *Pseudomonads* مقاوم به سرما می‌باشد (Neumeyer *et al.*,1997a). مدل پیش بینی رشد نصب شده در FSP بطور خاص برای پیش بینی زمان ماندگاری مواد غذائی دریائی ایجاد نشده است. این مدل بهرصورت، با موفقیت برای ارزشیابی زمان ماندگاری چند ماده غذائی دریائی مورد استفاده قرار گرفته است (Neumeyer *et al.*,1997 , Dalgaard,1999b) FSP یک

---

[1] - Seafood Spoilage Predictor
[2] - Relative Rate of Spoilage
[3] - Danish Institiote for Fisheries Research
[4] - Food Spoilage Predictor

قسمت از دستگاه مدیریت (Gemini Logger) می‌باشد که قادر به خواندن مسابقه درجه حرارت مواد غذائی با استفاده از Tinytag Logger متصل شده به مواد غذائی و دستگاه می‌باشد. این نرم افزار بصورت تجارتی از طریق شرکت Gemini Data Logger Ltd قابل خریداری می‌باشد سایت این شرکت (www.gemini data loggers.com) می‌باشد. نرم افزار جدیدی بنام Spreadsheet که اخیراً ساخته شده و به زودی تجارتی خواهد شد، قادر به پیش بینی زمان ماندگاری شانک سرطلائی دریائی، (Gilt-Head Sea Bream) ، Seabass و کفال قرمز (Red Mullet) صید شده از آبهای یونان می‌باشد. این نرم افزار شامل یک مدل برای پیش بینی اثر درجه حرارت بر روی رشد گونه‌های سودوموناس مقاوم به سرما (Koutsoumanis & Nychas,2000) و یک مدل برای بررسی اثر درجه حرارت و اتمسفر بر روی رشد باکتری (Brochothrix Thermosphacta) می‌باشد (Koutsoumanis *et al.*,2000). مدل هایی برای بعضی از باکتری‌های فاسد کننده مواد غذائی (Food Micromodel) ساخته شده‌اند، اما باید دید آیا این مدل‌ها کاربردی برای پیش‌بینی زمان ماندگاری غذاهای دریائی دارند یا خیر (Anon.,1997).

در سال‌های اخیر، نرم افزارهایی مثل Visual Basic، C# & Delphi ساخته شده‌اند. این نرم افزارها هم بسیار قویتر و هم استفاده از آنان آسانتر می‌باشد، به همین علت و با توجه به اینکه تعداد مدل هایی که برای پیش بینی زمان ماندگاری هر روز رو به افزایش می‌باشند، دور از انتظار نمی‌باشد که استفاده از نرم افزارهای جدید برای پیش بینی زمان ماندگاری غذاهای دریائی و استفاده همزمان از ابزار الکترونیکی برای‌اندازه گیری زمان و درجه حرارت در مواد غذائی دریائی بزودی قابل دسترس باشند. این برنامه‌های جدید ممکن است، بعنوان مثال شامل مدل Stochastic که این امکان را بوجود می‌آورد که تغییرات آلودگی‌های مختلف میکروبی و شرایط انبارداری را در زمانیکه برای تعیین زمان ماندگاری مواد غذائی دریائی بکار میرود رادر نظر میگیرد (Giannakourou *et al.*,2001 ;Rasmussen *et al.*,2000).

٦-١٢- پیش بینی برای آینده

مفهوم‌های نرخ نسبی فساد (RRS) و ارگانیسم‌های ویژه فساد (SSO) باعث گردیدند که چندین مدل برای پیش بینی زمان ماندگاری برای غذاهای دریائی طراحی و مورد استفاده قرار گیرند. ارزش مفهوم SSO در دیگر علوم مواد غذائی مورد روزبروز بیشتر مورد قبول و استفاده قرار می‌گیرند، بعنوان نمونه، یک مدل برای پیش بینی زمان ماندگاری در صنایع گوشت طراحی و مورد استفاده است. بهر صورت هنوز، مدل هایی برای پیش بینی زمان ماندگاری برای یک تعداد از مواد غذائی تازه، کم فرآوری و نیمه فرآوری غذاهای دریائی وجود ندارد. برای

نشان دادن این مشکل و برای توسعه دادن مدل‌های پیش بینی زمان ماندگاری، فرآیند و چگونگی دسترسی به مدل‌های زمان ماندگاری در غذاهای دریائی، لیست زیر برای پی‌گیری و ایجاد روش‌های لازم در آینده پیشنهاد می‌شود. نویسنده بخوبی از این موضوع آگاه است که این لیست به هیچ وجه کامل نمی‌باشد.

۱- استفاده از روش‌های آماری با چند متغیر، برای شناسائی شاخص‌های کیفی با چند پارامتر که قابل استفاده در تعداد وسیعی از فرآورده‌ها و شرایط متغیر انبارداری آنان (MCQI) باشند.

۲- شناسائی SSO و دامنه فساد این باکتری‌ها در غذاهای دریائی نیمه فرآوری شده و ایجاد و توسعه مدل‌های (Kinetic models) جدید برای پیش بینی زمان ماندگاری این نوع از مواد غذائی دریائی.

۳- توسعه مدل‌های Stochastic برای شامل نمودن ویژگی‌های متنوع فرآورده و شرایط متغیر انبار برای پیش بینی زمان ماندگاری فرآورده.

۴- توسعه و ایجاد مدل‌های نرم افزارهایی که قادر به ردیابی چند نوع از واکنش هایی که باعث فساد در فرآورده می‌گردند را (مثل واکنش‌های آنزیمیو فعالیت‌های میکروبی) را قابل پیش بینی سازند.

۵- طراحی و ساخت مدل‌های نرم افزاری که قادر به پیش بینی هم فساد و هم سلامتی غذاهای دریائی باشند.

۶- طراحی وساخت نرم افزارهایی که بتوانند هم مدل‌های زمان ماندگاری و هم مدل‌های ردیابی را باهم داشته باشند.

۷- در آخر، مدل‌های Kinetic احتمالاً هر روز بیشتر به عنوان یک ابزار علمی‌برای آسان سازی شناسائی واکنش‌های ایجاد کننده فساد و فاکتروهایی که موثر در مدت زمانی نگهداری در مواد غذائی دریایی می‌شوند مورد استفاده قرار خواهند گرفت.

۷-۱۲- منابع

ANONYMOUS (1997), *Food MicroModel – User Manual v. 2.5*, Surrey, UK, Food Micromodel Ltd.
BARANYI J, ROBERTS TA and MCCLURE P (1993), 'A non-autonomous differential equation to model bacterial growth', *Food Microbiol*, 10, 43–59.
BARANYI J, ROSS T, MCMEEKIN TA and ROBERTS TA (1996), 'Effects of parametrization on the performance of empirical models used in 'predictive microbiology', *Food Microbiol*, 13, 83–91.
BRANCH AC and VAIL AMA (1985), 'Bringing fish inspection into the computer age', *Food Technol Aust*, 37, 352–5.
BREMNER HA (1985), 'A convenient, easy to use system for estimating the quality of chilled seafoods', *Fish Processing Bulletin No.7*, Wellington, N.Z., Department of Scientific and Industrial Research, 59–70.
BROCKLEHURST TF, MITCHELL GA, RIDGE YP, SEALE R and SMITH AC (1995), 'The effect of transient temperatures on the growth of *Salmonalla typHimurium* LT2 in gelatin gel', *Int J Food Microbiol*, 27, 45–60.
BUCHANAN RL (1993), 'Predictive food microbiology', *Trends Food Sci Technol*, 41, 6–11.
CANN DC, SMITH GL and HOUSTON NC (1983), *Further studies on marine fish stored under modified atmospHere packaging*, Aberdeen, UK, Torry Research Station, MAFF.
CAPELL C, VAZ-PIRES P and KIRBY R (1998) 'Use of counts of hydrogen sulpHide producing bacteria to estimate remaining shelf-life of fresh fish', in O´ lafsdo´ttir *et al. Methods to determine the freshness of fish in research and industry*, Paris France, Int. Inst. Refrig., 175–82.
CHANDLER RE and MCMEEKIN TA (1989), 'Combined effect of temperature and salt concentration/water activity on growth rate of *Halobacterium* spp', *J Appl Bact*, 67, 71–6.
CHARM SE, LEARSON RJ, RONSIVALLI LJ and SCHWARTZ M (1972), 'Organoleptic technique predicts refrigeration shelf life of fish', *Food Technol*, 26, 65–8.
DALGAARD P (1993), *Evaluation and prediction of microbial fish spoilage (PH.D-thesis)*, Lyngby, Denmark, Technological Laboratory, Danish Ministry of Fisheries.
DALGAARD P, ROSS T, KAMPERMAN L, NEUMEYER K and MCMEEKIN TA (1994), 'Estimation of bacterial growth rates from turbidimetric and viable count data', *Int J Food Microbiol*, 23, 391–404.
DALGAARD P (1995a), 'Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish', *Int J Food Microbiol*, 26, 319–333.
DALGAARD P (1995b), 'Modelling of microbial activity and prediction of shelf Modelling and predicting the shelf-life of seafood life for packed fresh fish', *Int J Food Microbiol*, 26, 305–17.
DALGAARD P (1996), 'Predictive modelling and time-temperature integration', *Refrig Sci Technol*, 409–19.

DALGAARD P AND HUSS HH (1997), 'Mathematical modelling used for evaluation and prediction of microbial fish spoilage', in Shahidi F, Jones Y and Kitts DD, *Seafood safety, processing and biotechnology*, Lancaster, PA, echnomic Publishing Co., Inc., 73–89.
DALGAARD P, MEJLHOLM O and HUSS HH (1997), 'Application of an iterative approach for development of a microbial model predicting the shelf-life of packed fish', *Int J Food Microbiol*, 38, 169–79.
DALGAARD P (1998) '*PHotobacterium pHospHoreum* – a microbial parameter for prediction of remaining shelf life in MAP cod fillets', in O´ lafsdo´ttir *et al*. *Methods to determine the freshness of fish in research and industry*, Paris France, Int Inst Refrig, 166–74.
DALGAARD P (1999a), 'Importance and modelling of the interaction between specific fish spoilage bacteria', in Roberts TA, *COST 914 – Predictive modelling of microbial growth and survival in foods*, Wageningen, European Commission, 235–9.
DALGAARD P (1999b), 'Modelling of seafood spoilage', *Refrig Sci Technol*, EUR 18816, 143–51.
DALGAARD P (2000), 'Fresh and lightly preserved seafood', in Man CMD and Jones AA, *Shelf-Life Evaluation of Foods*, 2nd edn, London, Aspen Publishers, Inc., 110–39.
DALGAARD P AND JØRGENSEN LV (2000), 'Cooked and brined shrimps packed in a modified atmospHere have a shelf-life of > 7 months at 0ºC, but spoil at 4–6 days at 25ºC', *Int J Food Sci Technol*, 35, 431–42.
DALGAARD P AND KOUTSOUMANIS K (2001), 'Comparison of maximum specific growth rates and lag times estimated from absorbance and viable count data by different mathematical models', *J Microbiol Meth*, 43, 183–96.
DALGAARD P, MURILLO E and JØRGENSEN LV (2002a), 'Modelling the effect of temperature on shelf-life and on the interaction between the spoilage microflora and *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon', in Proceedings of the 46th Atlantic Fisheries Technology Conference, 27–29 August 2001, Rimouski, Canada. submitted.
DALGAARD P, BUCH P and SILBERG S (2002b), 'Seafood Spoilage Predictor – development and distribution of a product specific application software' *Int J Food Microbiol*, 73, 227–33.
DEVLIEGHERE F, VAN BELLE B and DEBEVERE J (1999), 'Shelf life of modified atmospHere packed cooked meat products: a predictive model', *Int J Food Microbiol*, 46, 57–70.
DOE PE and HERUWATI E (1988), 'A model for the prediction of the microbial spoilage of sun-dried tropical fish', *J Food Eng*, 8, 47-72.
DUFLOS G, DERVIN C, MALLE P and BOUQUELET S (1999), 'Use of biogenic amines to evaluate spoilage in plaice (*Pleuronectes platessa*) and whiting (*Merlangus merlangus*)', *J AOAC Int*, 82 (6), 1357–63.
EHRENBERG ASC AND SHEWAN JM (1955), 'Volatile bases and sensory qualityfactors in iced white fish', *J Sci Food Agric*, 6, 207–217.

EINARSSON H (1994), 'Evaluation of a predictive model for the shelf life of cod (*Gadus morhua*) fillets stored in two different atmospHeres at varying temperatures', *Int J Food Microbiol*, 24, 93–102.
EMBORG J, LAURSEN BG, RATHJEN T and DALGAARD P (2002), 'Microbial spoilage and formation of biogenic amines in fresh and thawed modified atmospHere packed salmon (*Salmo salar*) at 2ºC', *J Appl Microbiol*, 92, 790–799.
FU B, TAOUKIS P and LABOUZA TP (1991), 'Predictive microbiology for monitoring spoilage of dairy products with time-temperature integrators', *J Food Sci*, 56 (5), 1209–15.
GEERAERD AH, HERREMANS CH, CENENS C and VAN IMPE JF (1998), 'Application of artificial neural networks as a non-linear modular modeling technique to describe bacterial growth in chilled food products', *Int J Food Microbiol*, 44, 49–68.
GIANNAKOUROU MC, KOUTSOUMANIS K, NYCHAS GJE and TAOUKIS PS (2001), 'Development and assessment of an intelligent shelf life decision system for quality optimiztion of the food chill chain', *J Food Prot*, 64 (7), 1051–7.
GIBSON AM, BRATCHELL N and ROBERTS TA (1988), 'Predicting microbial growth: growth responses of salmonellae in a laboratory medium as affected by pH, sodium chloride and storage temperature', *Int J Food Microbiol*, 6, 155–78.
GIBSON DM (1985), 'Predicting the shelf life of packed fish from conductance measurements', *J Appl Bact*, 58, 465–470.
GIRARD B and NAKAI S (1994), 'Grade classification of canned pink salmon with static headspace volatile patterns', *J Food Sci*, 59 (3), 507–12.
GRAM L and MELCHIORSEN J (1996), 'Interaction between fish spoilage *Pseudomonas sp.* and *Shewanella putrefaciens* in fish extracts and on fish tissue', *J Appl Bact*, 80, 589–95.
HAJMEER MN, BASHEER IA and NAJJAR YM (1997), 'Computational neural networks for predictive microbiology II. Application to microbial growth', *Int J Food Microbiol*, 34, 51–66.
HUSS HH (1995), *Quality and quality changes in fresh fish*, Rome, FAO Fisheries Technical Paper No. 348.
JØRGENSEN, LV (2000), *'Spoilage and safety of cold-smoked salmon'* (PH.D. thesis). Lyngby, Denmark, Danish Institute for Fisheries Research.
JØRGENSEN LV, DALGAARD P and HUSS HH (2000a), 'Multiple compound quality index for cold-smoked salmon (*Salmo salar*) developed by multivariate regression of biogenic amines and pH', *J Agric Food Chem*, 48 (6), 2448–53.
JØRGENSEN LV, HUSS HH and DALGAARD P (2000b), 'The effect of biogenic amine production by single bacterial cultures and metabiosis on cold-smoked salmon', *J Appl Microbiol*, 89, 920–34.
KALINA V (1993), 'Dynamics of microbial growth and metabolic activity and their control by aeration', *Antonie v Leeuw*, 63, 353-373.
KOUTSOUMANIS K (2001), 'Predictive modeling of the shelf life of fish under nonisothermal conditions', *Appl Env Microbiol*, 67 (4), 1821–9.
KOUTSOUMANIS K, TAOUKIS P, DROSINOS ES and NYCHAS GJE (1998) 'Lactic acid bacteria and *Brochothrix thermospHacta* – the dominant spoilage

microflora of Mediterranean fresh fish stored under modified atmospHere packaging conditions', in O´ lafsdo´ttir *et al*. *Methods to determine the freshness of fish in research and industry*, Paris France, Int Inst Refrig, 158–65.
KOUTSOUMANIS K AND NYCHAS G-JE (2000), 'Application of a systematic experimental procedure to develop a microbial model for rapid fish shelf life prediction', *Int J Food Microbiol*, 60, 171–84.
KOUTSOUMANIS KP, TAOUKIS PS, DROSINOS EH and NYCHAS G-JE (2000), 'Application of an Arrhenius model for the combined effect of temperature and CO2 packaging on the spoilage microflora of fish', *Appl Env Microbiol*, 66 (8), 3528–34.
KREFT J-U, PICIOREANU C, WIMPENNY JWT and VAN LOOSDRECHT MCM (2001), 'Individual-based modelling of biofilms', *Microbiol*, 147, 2897–912.
LEROI F and JOFFRAUD JJ (2000), 'Salt and smoke simultaneously affect chemical and sensory quality of cold-smoked salmon during 5ºC storage predicted using factorial design', *J Food Prot*, 63 (9), 1222–7.
LEROI F, JOFFRAUD JJ, CHEVALIER F and CARDINAL M (2001), 'Research of quality indices for cold-smoked salmon using a stepwise multiple regression of microbiological counts and pHysico-chemical parameters', *J Appl Microbiol*, 90, 578–87.
LODGE RM and HINSHLEWOOD CN (1943), 'PHysiological aspects of bacterial growth. Part IX. The lag pHase of *Bact. Lactis Aerogenes*', *J Chem Soc*, 213–19.
LYNCH JM and HOBBIE JE (1988), 'Microbial population and community dynamics', in Lynch JM and Hobbie JE, *Micro-organisms in action: Concepts and applications in microbial ecology*, second edn, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 51–74.
MCCLURE PJ, BLACKBURN CD, COLE MB, CURTIS PS, JONES JE, LEGAN JD, OGDEN ID and PECK MW (1994), 'Modelling the growth, survival and death of microorganisms in foods: the UK Food Micromodel approach', *Int J Food Microbiol*, 23 (3, 4), 265–75.
MCMEEKIN TA, CHANDLER RE, DOE PE, GARLAND CD, OLLEY J, PUTRO S and RATKOWSKY DA (1987), 'Model for the combined effect of temperature and salt concentration/water activity on growth rate of *Staphylococcus xylosus*', *J Appl Bact*, 62, 543–50.
MCMEEKIN TA, OLLEY J and RATKOWSKY DA (1988), 'Temperature effects on bacterial growth rates', in Bazin MJ and Prosser JI, *PHysiological models in microbiology*, vol. 1, Boca Raton, Florida, CRC Press, Inc., 75–89.
MCMEEKIN TA, OLLEY J, ROSS T and RATKOWSKY DA (1993), *Predictive microbiology: Theory and application*, Taunton, UK, Research Studies Press Ltd.
MEMBRE´ JM, THURETTE J and CATTEAUM (1997), 'Modelling the growth, survival and death of *Listeria monocytogenes*', *J Appl Bact*, 82, 345–50.
MIETZ JL and KARMAS E (1977), 'Chemical quality index of canned tuna as determined by high-pressure liquid chromatograpHy', *J Food Sci*, 42, 155–8.
MILES DW, ROSS T, OLLEY J and MCMEEKIN TA (1997), 'Development and evaluation of a predictive model for the effect of temperature and water activity on the growth rate of *Vibrio parahaemolyticus*', *Int J Food Microbiol*, 38, 133–42.

MONOD J (1942), *Recherches sur la croissance des cultures bacte´riennes*, Paris, Hermann.
MONOD J (1949), 'The growth of bacterial cultures', *Annu Rev Microbiol*, 3, 371–94.
NEUMEYER K, ROSS T and MCMEEKIN TA (1997a), 'Development of a predictive model to describe the effect of temperature and water activity on the growth of spoilage pseudomonads', *Int J Food Microbiol*, 38, 45–54.
NEUMEYER K, ROSS T, THOMSON G and MCMEEKIN TA (1997b), 'Validation of a model describing the effect of temperature and water activity on the growth of psychrotropHic pseudomonads', *Int J Food Microbiol*, 38, 55–63.
NIELSEN J and VILLADSEN J (1992), 'Modelling of microbial kinetics', *Chem Eng Sci*, 47, 4225–70.
NIXON PA (1971), 'Temperature integration as a means of assessing storage conditions (Paper No. 6)', Report on quality in fish products, Seminar No. 3, Wellington, New Zealand, Fishing Industry Board, 34–44.
OEHLENSCHLA¨ GER J (1992), 'Evaluation of some well established and some underrated indices for the determination of freshness and/or spoilage of ice stored wet fish.', in Huss HH, Jacobsen M and Liston J, *Quality Assurance in the Fish Industry*, Amsterdam, Elsevier Science Publishers B.V., 339–50.
OLLEY J and RATKOWSKY DA (1973), 'Temperature function integration and its importance in the storage and distribution of fresh foods above the freezing point', *Food Technol Aust*, 25, 66–73.
O´ LAFSDO´ TTIR G, LUTEN J, DALGAARD P, CARECHE M, VERREZ-BAGNIS V, MARTINSDO´ TTIR E and HEIA K (1998), *Methods to determine the freshness of fish in research and industry* Paris, Int Inst Refrig.
PELEG M (1997), 'Modeling microbial populations with the original and modified versions of the continous and discrete Logistic equations', *Cri Rev Food Sci Nut*, 37, 471–90.
PIRT SJ (1975), *Principles of microbial and cell cultivation*, Oxford, Blackwell Scientific Publications.
PRUITT KM, DEMUTH RE and TURNER ME (1979), 'Practical application of generic growth theory and the significance of the growth curve parameters', *Growth*, 43, 19–35.
PRUITT KM and KAMAU DN (1993), 'Mathematical models of bacterial growth, inhibition and death under combined stress conditions', *J Ind Microbiol*, 12, 221–31.
RASMUSSEN SKJ, ROSS T, OLLEY J. and MCMEEKIN T (2002), 'A process risk model for the shelf-life of Atlantic salmon fillets', *Int J Food Microbiol*, 73, 47– 60.
RATKOWSKY DA (1983), *Nonlinear regression modeling: A unified practical approach*, New York, USA, Marcel Dekker, Inc.
RATKOWSKY DA, OLLEY J, MCMEEKIN TA and BALL A (1982), 'Relation between temperature and growth rate of bacterial cultures', *J Bacteriol*, 149 (1), 1–5.
RATKOWSKY DA, LOWRY RK, MCMEEKIN TA, STOKES AN and CHANDLER RE (1983), 'Model for bacterial culture growth rate throughout the entire biokinetic temperature range', *J Bacteriol*, 154 (3), 1222–6.

ROBINS MM and WILSON PDG (1994), 'Food structure and microbial growth', *Trends Food Sci Technol*, 5, 289–93.
ROELS JA AND KOSSEN NWF (1978), 'On the modelling of microbial metabolism', in Bull MJ, *Progress in Industrial Microbiology*, Amsterdam, Elsevier, 95–203.
RONSIVALLI LJ, LEARSON RJ and CHARM SE (1973), 'Slide rule for predicting shelf life of cod', *Mar Fish Rev*, 35, 34–6.
ROSS T (1996), 'Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology', *J Appl Bact*, 81, 501–8.
ROSS T, DALGAARD P and TIENUNGOON S (2000), 'Predictive modelling of the growth and survival of *Listeria* in fishery products', *Int J Food Microbiol*, 62, 231–45.
ROSSO L (1995), *Mode´lisation et Microbiologie Pre´vissionnelle: E´ laboration d'un nouvel outil pour l'Agro-alimentaire* (PH.D. thesis), Lyon, Universite´ Claude Bernard.
ROSSO L (1999), 'Models using cardinal values', *Refrig Sci Technol*, EUR 18816, 48–55.
ROSSO L, BAJARD S, FLANDOIS JP, LAHELLEC C, FOURNAUD J and VEIT P (1996), 'Differential growth of *Listeria monocytogenes* at 4ºC and 8ºC: Consequences for the shelf life of chilled products', *J Food Prot*, 59 (9), 944–9.
SAGUY I and KAREL M (1980), 'Modeling of quality deterioration during food processing and storage', *Food Technol*, 34 (2), 78–85.
SAITO T, ARAI K and MATSUYOSHI M (1959), 'A new method for estimating the freshness of fish', *Bull Jap Soc Sci Fish*, 24, 749–50.
SHEWAN JM, MACINTOSH RC, TUCKER CG and EHRENBERG ASC (1953), 'The development of a numerical scoring system for the sensory assessment of the spoilage of wet white fish stored in ice', *J Sci Food Agric*, 4, 283–98.
SPENCER R and BAINES CR (1964), 'The effect of tempetrature on the spoilage of wet white fish. I. Storage at constant temperatures between 1ºC and 25ºC', *Food Technol*, 18, 769-772.
TAOUKIS PS, LABUZA TP and SAGUY IS (1997), 'Kinetics of food deterioration and shelf-life prediction', in Valentas KJ, Rotstein E and Singh RP, *Handbook of Food Engineering Practice*, Boca Raton, CRC Press, 361–403.
THAMMAVONGS B, CORROLER D, PANOFF J-M, AUFFRAY Y and BOUTIBONNES P (1996), 'PHysiological response of *Enterococcus faecalis* JH2-2 to cold shock: growth at low temperatures and freezing/thawing challenge', *Lett Appl Microbiol*, 23, 398–402.
TINKER BL, SLAVIN JW, LEARSON RJ and AMPOLA VG (1985), 'Evaluation of automated time-temperature monitoring system in measuring the freshness of chilled fish', *Refrig Sci Technol Proceedings*, 1985-4, 281–91.
TURNER ME, BRADLEY JrEL, KIRK KA and PRUITT KM (1976), 'A theory of growth', *Math Biosci*, 29, 367–73.
VECIANA-NOGUe´S MT, MARINE´-FONT A and VIDAL-CAROU MC (1997), 'Biogenic amines as hygienic quality indicators of tuna. Relationships with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines and organoleptic changes', *J Agric Food Chem*, 45, 2036–41.
VERHULST PF (1838), 'Notice sur la loi que la population suit dans son

accroissement', *Corr Math PHys*, 41, 1–47.
WIJTZES T, ROMBOUTS FM, KANT-MUERMANS ML, RIET KV and ZWIETERING M (2001), 'Development and validation of a combined temperature, water activity, pH model for bacterial growth rate of *Lactobacillus curvatus*', *Int J Food Microbiol*, 63, 57–64.
ZWIETERING MH, JONGENBURGER I, ROMBOUTS FM and VAN'T REIT K (1990), 'Modeling of the bacterial growth curve', *Appl Environ Microbiol*, 56, 1875–81.
ZWIETERING MH, WIJTZES T, DE WIT JC and VAN'T RIET K (1992), 'A decision support system for prediction of the microbial spoilage in foods', *J Food Prot*, 55, 973–79.
ZWIETERING MH, CUPPERS HGAM, DE WIT JC and VAN'T RIET K (1994a), 'Evaluation of data transformations and validation of models for the effect of temperature on bacterial growth', *Appl Environ Microbiol*, 60, 195–203.
ZWIETERING MH, CUPPERS HGAM, DE WIT JC and VAN'T RIET K (1994b), 'Modelling of bacterial growth with shifts in temperature', *Appl Environ Microbiol*, 60, 204–13.

« **فصل سیزدهم** »

نقش آنزیم‌ها در تعیین رنگ، طعم و بافت غذاهای دریایی

The Role of Enzymes In Determining Sea-Food Color, Flavor and Texture

۱-۱۳- مقدمه: اهمیت آنزیم‌ها بعد از مرگ ماهی

Introduction: The Importance of Enzymes in Postmortem Fish

آنزیم‌ها ترکیب‌هایی می‌باشند که در تمام بافت‌های خوراکی ماهی و دیگر آبزیان وجود دارند. این ترکیب ها از راه‌های مختلف بر کیفیت غذاهای دریایی تاثیر می‌گذارند. لازم به ذکر است که هیچ ترکیب‌های دیگری به‌اندازه آنزیم‌ها برای تولید کنندگان غذاهای دریایی دارای اهمیت نیستند.

۱-۱-۱۳- جمود نعشی: *Rigor Mortis*

زمانی که در بافت عضلانی اکسیژن به‌اندازه کافی برای فعالیت میتوکندری وجود ندارد، متابولیسم هوازی عضله به تدریج به متابولیسم بی هوازی تبدیل می‌شود. در زمان گلیکولیز بی هوازی، گلیکوژن تبدیل به لاکتات شده و برای هر مول از گلوکز دو و یا سه مول ادنوزین تری فسفات (ATP) تولید می‌گردد. ATP بتدریج توسط دیواره سلولی و آنزیم منقبض کننده عضله‌ها ATPase به مصرف رسیده و باعث تولید ادنوزین دی فسفات (ADP)، یون هیدروژن و کاهش PH می‌گردد. تمام شدن ATP ممکن است بعلت ازدست رفتن قدرت نگهداری کلسیم بوسیله ساکروپلازمیک ریتکولم و یا میتوکندری به سرعت صورت پذیرد. سرعت و کاهش PH تاثیر زیادی بر کیفیت گوشت ماهی و همچنین فساد بعلت واکنش‌های شیمیایی، آنزیمیو میکروبی

دارد. زمانی که گلیکولیز بعلت متوقف شدن فعالیت آنزیم‌های تنظیم کننده مانند فسفوفروکتوکیناز یا تمام شدن گلیکوژن متوقف می‌شود، عضله وارد یک محله سفت شدن بعلت مرگ شده، که این پدیده به نام جمود نعشی یا Rigor Mortis شناخته شده است. بعد از ان آنزیم‌های پروتیناز با کاتالیز نمودن پیوندهای بوجود آمده باعث از بین رفتن حالت جمود نعشی می‌گردند. معمولاً بهتر است برای جلوگیری از بروز مشکل‌های مربوط به کیفیت فرآورده، عملیات مربوط به فرآوری را تا پایان دوره جمود نعشی به تاخیرانداخت. مرحله پس از جمود نعشی با از بین رفتن آنزیم‌های تنظیم کننده و تغییرات قابل توجه در کیفیت ماهی بوجود می‌آید، که علت آن فعالیت آنزیم های تجزیه کننده نوکلئوتیدها، آنزیم لیپاز، آنزیم‌های اکسید کنده چربی، فعالیت‌های آنزیم‌های پروتنولیتیک و دیگر آنزیم‌ها می‌باشد.

۲-۱-۱۳- از دست رفتن بهترین کیفیت غذاهای دریایی

چندین مطالعه انجام شده نشان داده که شروع اولیه فساد در آبزیان صید شده در تمام بافت‌های استریل و غیر استریل یکسان است (Haard,1992b). علت این امر، این است که در سه چهار روز اول پس از صید، تمام واکنش‌های بیوشیمیائی در داخل و خارج ماهی سرد شده، بوسیله آنزیم‌هایی داخلی که باعث از دست رفتن کیفیت می‌شود صورت می‌پذیرد. علاوه بر آن بیشتر روش‌های ابداع شده برای طولانی‌تر نمودن زمان ماندگاری غذاهای دریائی سرد شده، مثل پاستوریزه نمودن با دوزهای مختلف پرتوهای یونیزه کننده، افزودنی‌های شیمیایی و اتمسفرهای تغییر داده شده تماماً در حفظ بهترین کیفیت (کیفیت طبیعی) بی تاثیر بوده، زیرا آنها آنزیم‌هایی را که باعث از دست رفتن اولیه کیفیت در ماهی تازه می‌گردند را هدف قرار نمی‌دهند. حتی این روش‌ها ممکن است نقش کاتالیزور کننده داشته و باعث افزایش واکنش‌های آنزیم‌های تخریب کننده کیفیت و در نتیجه باعث از بین رفتن کیفیت درجه A در ماهی گردند.

۳-۱-۱۳- کیفیت غذاهای دریائی فرآوری شده

واکنش‌هایی که توسط آنزیم‌ها تولید می‌شوند می‌توانند نقش کلیدی در کاهش کیفیت مواد غذائی دریائی فرآوری شده با روش‌های مختلف مثل منجمد شدن و نگهداری در سردخانه، تحت فشار بالا، دوزهای مختلف پرتوهای یونیزه کننده ایفا کنند. روش‌های نگهداری بدون استفاده از حرارت مثل این روش‌ها و سایر روش‌های نگهداری معمولاً در غیر فعال نمودن فعالیت‌های آنزیمی بی اثر می‌باشند. بنابراین ممکن است نیاز به استفاده از

ترکیبی از روش‌های مناسب شیمیائی یا حرارتی و روش غیر حرارتی برای نگهداری مواد غذایی دریایی لازم باشد.

۴-۱-۱۳- استفاده از آنزیم‌ها در فرآوری غذاهای دریائی

استفاده از آنزیم‌های صنعتی که از منابع مختلف بدست آمده‌اند، اهمیت زیادی در تکنولوژی مواد غذائی دریائی دارد. زیرا که آنها در تولید فرآورده و همچنین بعنوان حس گرهای زیستی در کنترل کیفیت غذاهای دریائی کاربرد دارند. آنزیم‌های بدست آمده از فرآورده‌ها و یا ضایعات شیلاتی، بعنوان آنزیم‌های صنعتی در صنایع غذایی دریائی و دیگر صنایع غذایی یا غیر غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

۲-۱۳- آنزیم‌ها در ساختار ماهیچه‌ای ماهی

۲-۱-۱۳- آنزیم‌های مشابه

تقریباً ۴۰۰۰ آنزیم‌های مختلف توسط، اتحادیه بین المللی آنزیم و اتحادیه بین المللی بیوشیمی‌طبقه‌بندی شده‌اند (Bairoch,2000). در بیشتر موارد، آنزیم‌های یافته شده در ساختار مواد غذائی و مثلاً در عضله‌های آبزیان دریائی یا جانوران خشکی زی مشابه و هم اسم بودند (Haard,1990). آنزیم‌های شناخته شده مشابه چنان شباهت‌های زیادی در ساختار و عملکرد با همدیگر داشتند که یک نام و شماره طبقه بندی توسط (EC) به آنها داده شده. آنزیم‌های پارالوگ Paralogous همان آنزیم‌های مشابه (همولوگ) می‌باشند که پهلو به پهلو از یک ژن مادر ایجاد می‌شوند. برای نمونه در کتابخانه ژن ماهی آزاد اتلانتیک، حاوی پنج گروه (کلون) متمایز از هم تریپیسن می‌باشد که احتمالاً درزمان‌های مختلف از نظر شرایط محیطی و ژن شناسی، شناسائی گردیده‌اند (Male *et al.*,1995).

آنزیم‌های اُرتولوگ (Orthologous) نوعی از آنزیم‌های همولوگ هستند که اختلاف ساختاریشان بعلت عمل کردن آنها در گونه‌های مختلف می‌باشد. این آنزیم‌ها معمولاً عملکرد مشخصی در گونه‌های مختلف دارند. آنزیم های آنالوگ (Analogous) دارای فعالیت تجزیه کنندگی مشابه‌ای هستند، اما از نظر ساختاری تفاوت‌های زیادی با هم دیگر هستند. مثلاًبعضی‌ازتریپسین‌هادریائی به‌علت دارابودن‌اندازه‌مولکولی نسبتاً کوچک بعنوان "مشابه تریپسین" "Trypsin-like" نامیده شده‌اند (Simpson and Haard, ۱۹۸۷ b). واژه ایزو آنزیم (Isoenzyme) برای آنزیم هایی بکار می‌رود که دارای شکل‌های چندگانه بوده و قادر به تجزیه کردن واکنش های مشابهی هستند. از نظر ژنتیکی با شناسائی زنجیره اسید آمینه‌ها در یک گونه مشخص می‌شوند. ایزوفرم

(Isoforms) به تغییرات ساختمانی در آنزیم‌هایی که دارای یک زنجیره مشخص آمینواسیدی در جانور می‌باشند اتلاق گردیده است.

۳-۲-۱۳- تفاوت‌های بین گونه آنزیم‌ها

بعضی از آنزیم‌ها در تمام گونه‌های آبزیان وجود ندارند. اثبات این موضوع که آیا ژن مربوط به آنزیم در گونه وجود ندارد یا خودش را نشان نمی‌دهد، اظهار نظر در این مورد بدون جستجو در کتابخانه ژن مشکل می‌باشد. اثبات وجود آنزیم بر مبنای استدلالهای فیلوژنتیکی بسیار مشکل می‌باشد، زیرا بود یا نبود آنزیم بستگی بسیار زیادی به عوامل درون گونه‌ای دارد. (Rudneeva-Titova,1997 ;Haard,2000). برای نمونه آنزیم‌هایی که روی کیفیت مواد غذائی موثرند فقط در بعضی از گوشت‌های دریائی چون آنزیم گانولاکتون اکسیداز (ساخت اسید اسکوربیک)، پلی فنل اکسیداز (تولید رنگ قهوه‌ای آنزمی)، آمیلاز (هیدرولیز کننده گلیکوژن)، تیامیناز (تجزیه کننده تیامین)، TMAO دی‌میتلاز (باعث سفت شدن بافت)، اینوزین هیدرولاز و اینوزین فسفوریلاز (جمع کننده هیپوزانتین در بافت) و تعداد زیادی از آنزیم‌ها که در تبدیل کاروتنوئید به اُکسی کاروتنوئید (تولید رنگدانه قرمز) وجود دارند. این آنزیم‌ها و دیگر آنزیم‌هایی که در غذاهای دریائی وجود دارند توسط (Simpson *et al.*,2000 ,Haard,2000) مورد بحث قرار گرفته‌اند.

۳-۲-۱۳- آنزیم‌های خارجی: *Extrinsic Enzymes*

گوشت‌آبزیان دریائی ممکن است دارای آنزیم‌هایی با منشاء میکروبی، انگل‌ها و یا غذا مصرف شده توسط آبزی باشد (Norquist *et al.*,1990;Venugopal 1990 ;Chang-Lee *et al.*,1984 ;Haard,1994) وجود آنزیم های خارجی که روی کیفیت غذاهای دریائی تاثیر می‌گذارند همیشه تشخیص داده نمی‌شود. مثال‌هایی که می توان به آنها اشاره نمود مثل آنزیم TMAO اُکسی ردوکتاز که بوسیله آلودگی با باکتری سودموناس و دیگر باکتری ها، و یا آنزیم مشابه کاتپسین L (Cathepsin-L) که منشاء آن پروتوزوا ماکسواسپرودین بیماریزا (Myxosporidean) یا (*Kudoa*) و همچنین نوکلئوتید فسفوریلاز و اینوزین نوکلئوزید می‌باشند که منشاء آنها باکتری پروتئوس (Proteus) است را می‌توان نام برد.

۳-۱۳- فیزیولوژی پس از مرگ postmortem physiology

در نتیجه مرگ ماهی و متوقف شدن جریان خون که باعث بوجود آوردن یک سری از واکنش‌های بیوشیمیائی می‌شود، تغییرات زیادی در ظاهر، بافت، طعم و ویژگیهای عملکردی عضله‌ها ایجاد می‌شود. تمام این تغییرات را

اصطلاحاً بنام فیزیولوژی پس از مرگ می‌نامند. کیفیت خوراکی عضله در زمان صید کاملاً با کیفیت آن پس از گذشت زمان جمود نعشی متفاوت است، چگونگی تبدیل عضله به گوشت توسط (Foegeding *et al.*,1996) مورد بحث قرار گرفته است. یکی از فاکتورهای مهم و موثری که تغییرات بیوشیمیائی عضله را پس از مرگ را تحت تأثیر خود قرار می‌دهد عملکرد بیولوژیکی عضله می‌باشد. تمام عمل عضله‌ها تولید انرژی لازم از طریق فرآیند پیچیده انبساط و انقباض عضله می‌باشد. انرژی لازم برای انقباض عضله مستقیماً به وسیله هیدرولیزشدن ادنوزین تری فسفات (ATP) بوسیله میوزین ATPase به ادنوزین دی فسفات (ADP) فراهم می‌شود. در بدن هر جانور هر عضله برای عملکرد بیولوژیکی خاصی طراحی شده مثلاً عضله‌هایی که کار آنها ایجاد انقباض‌های قوی سریع ولی کوتاه مدت می‌باشد و برعکس عضله‌هایی وجود دارد که کار آنها ایجاد انقباضات ضعیف ولی طولانی مدت می‌باشد. عضله‌های نوع اول بنام عضله‌های انقباضی سریع یا (Fast Twitch) نامیده شده‌اند. ویژگی این عضله‌ها بودن رنگ سفید بوده و از روش گلیکولز برای ساختن ATP استفاده می‌کنند. عضله‌های نوع دوم به‌عنوان عضله‌های انقباضی کند یا (Slow Twitch) می‌باشند. این عضله‌ها دارای ظاهری قرمز رنگ یا سیاه می‌باشند و برای تولید ATP از روش متابولیسم هوازی در میتوکندری استفاده می‌کنند. در مقایسه با جانوران خشکی زی، در ماهی‌ها انواع رشته‌های عضلانی قرمز و سفید که عضله‌های قرمز و سیاه را تشکیل می‌دهند بصورت مشخص تری از هم جدا و تشخیص داده می‌شوند. عضله ماهیان پلاژیک مهاجر، مثل ساردین، ممکن است حاوی بیش از ۳۰ درصد از عضله رشته‌ای قرمز رنگ باشد در حالیکه در عضله ماهیان بومی‌ساکن در کف دریا این رشته‌های فرمز کمتر از ۲ درصد است (Greer-Walker,1970). نوع دیگر سازگاری بیولوژیکی در رابطه با عمل انقباض و تولید انرژی در ماهیان و صدف دارانی که قادر به تحمل تغییرات در درجه حرارت‌های مختلف می‌باشند (Poikilo therms) دیده ی‌شود. این آبزیان در یک محدوده وسیعی از شرایط محیطی مثل درجه حرارت، عمق و فشار، شوری، آلودگی و مقدار اکسیژن آب قادر به سازگاری و زندگی در این محدوده می‌باشند (Haard, 2000).

گروه دوم عوامل موثر که در تغییرات بیوشیمایی در عضله بعد از مرگ اهمیت دارند، شرایط زندگی قبل از مرگ مثل، (مقدار فعالیت، غذا و ترکیب‌های آن، مدت زمان گرسنگی، استرس و.....) و روش کشتن ماهی بعد از صید و قبل از توقف جریان خون در بدن است. همچنین عواملی مثل درجه حرارت لاشه، روش حمل و نقل، عمل آوری و ویژگی‌های مربوط به گونه، از دیگر فاکتورهایی می‌باشند که تاثیر زیادی بر روی واکنش‌های بیوشیمیائی لاشه قبل از شروع جمود نعشی دارند. در جمع بندی باید متذکر شد که نکته اصلی بعد از مرگ ماهی کم شدن

اکسیژن و تمام شدن ATP در عضله‌ها می‌باشد. تولید ADP موجب باز ساخت مجدد ATP از طریق گلیکولبتیک کاتابولیسم از گلیکوژن بعد از مرگ ماهی به مدت کوتاهی صورت می گیرد.

۱-۳-۱۳- شروع جمود نعشی: *Onset of rigor mortis*

جمود نعشی پس از مرگ ماهی نوعی فرآیند انقباضی است که در عضله‌ها صورت می‌گیرد. زمان شروع جمود نعشی، مدت زمانی که جمود نعشی طول می‌کشد و مقدار کوتاه شدن عضله‌ها در نتیجه انقباض اثر مهمی بر کیفیت قسمت خوراکی‌گوشت ماهی دارند. عضله‌های سفید ماهی عامل اصلی سفت شدت عضله‌ها در زمان جمودنعشی‌می‌باشند درصورتی‌که‌عضله‌های‌قرمزرنگ‌نقش‌چندانی در این پدیده ندارند (Watabe *et al.*,1991) در موجودات زنده انقباض زمانی صورت می‌گیرد، که عضله بوسیله تحریک الکتریکی برانگیخته شوند. در اثر این تحریک غشاء سلول‌های عضلانی که سارکولما (Sarcolemma) نامیده می‌شوند قدرت مقاومت خود را در مقابل الکتریسیته (Depolarized) از دست داده و در نتیجه جریان تحریک کننده الکتریکی به عضله‌های منقبض کننده میوفیبریل (Myofibrils) که در مرکز سلول قرار دارند رسیده و باعث رها شدن یون Ca^{++} از سارکوپلازمیک ریتوکلوم (Reticulum) می‌گردد. انقباض عضله بعلت سرخوردن میوزین (Thick) و اکتین (Thin) که یک پروتئین تنظیم کننده است) بر روی هم که اجزاء تشکیل دهنده میوفیبریل می‌باشند بوجود می آید. انقباض در عضله بوسیله Myosin ATPase زمانی شروع می‌شود که غلظت $Ca^{۲+}$ از ۰/۱ به ۱۰μM در سارکوپلاسم افزایش یابد. شل شدن عضله یا (Relaxation) زمانی شروع می‌شود که غلظت $Ca^{۲+}$ در سارکوپلاسم به حالت اولی ۰/۱μM می‌رسد و همچنین مولکول ATP مجدداً با سرمیوزین اتصال می‌یابد. ATP هم برای انقباض و هم برای استراحت عضله ضروری است. در زمانی انقباض ATP انرژی مورد نیاز برای آزاد نمودن $Ca^{۲+}$ و واکنش Myosin ATPase و در زمان استراحت انرژی لازم برای جذب $Ca^{۲+}$ و اتصال ATP به سر میوزین را فراهم می‌آورد.

جمود نعشی یک واکنش غیرقابل برگشت است که بین رشته‌های نازک و ضخیم (اکتین و میوسین) پس از مرگ ماهی و پائین افتادن مقدار ATP به مقدار قابل توجهی به زیر ۵ میلی مول که شاخص زمان استراحت در عضله ماهی است می‌رسد، اتفاق می افتد. حمل و نقل ماهی در زمان جمود نعشی باعث صدمه‌های فیزیکی به ماهی مثل بوجود آمدن پارگی در عضله‌ها (Gaping)، پاره شدن اجزاء عضله بنام میوتوم (Myotome) می‌گردد. فیله کردن ماهی قبل از جمود ناشی باعث تولید فیله با کیفیت پائین مثل کوتاه شدن و ضخیم بودن فیله و همچنین آبچک (DRIP) فراوان در زمان جمود نعشی می‌گردد. فیله کردن قبل از جمود نعشی در ماهی کاد

باعث، تولید فیله‌ای آبکی (Haard,1985) در ماهی استروژن بعلت اینکه گوشت دارای مقدار زیادی بافت‌های پیوندی است باعث میگردد که بافت فیله سفت گردد (Izquierdo-pulido *et al.*,1992)). فرآوری قبل از جمود نعشی بوسیله استفاده از روش‌هایی مثل پختن و یا انجماد باعث کوتاه شدن فیله و از دست رفتن کیفیت به علت دلائل بالا نیز می‌گردد. در ماهیانی که قبل از جمود نعشی فرآوری می‌شوند، بعلت مصرف شدن سریع ATP همراه با نبودن امکان جذب مجدد یون کلسیم Ca^{2+} به داخل شبکه سارکوپلاسمی و میتوکندری بعلت از بین رفتن آنها،وجود ندارد در نتیجه این عوامل باعث سرعت بخشیدن به هیدرولیز ATP ، بازسازی ATP و در نهایت تمام شدن ATP در بافت گوشت و پائین آمدن PH گوشت و افزایش آبچک و دیگر تغییرات در گوشت که باعث کاهش کیفیت آن می‌شود می‌گردد.

۲-۳-۱۳- متابولیسم گلیکوژن: *Glycogen Metabolism*

بعد از مرگ ماهی بعلت بوجود آمدن شرایط بی هوازی، گلیکوژن بوسیله آنزیم فسفوریلاز (EC2.4.1.1.) تبدیل به کلوکز ۱ فسفات و سپس از طریق یک سری از واکنش‌های واسطه‌ای فسفریلیشن تبدیل به پیروات و سپس از طریق گلیکولز تبدیل به لاکتات می‌گردد. طبق تحقیقات انجام شده توسط BURT بعضی از گونه‌های ماهی دارای یک مکانیسم هیدرولیز کننده می‌باشند که قادر به تبدیل گلیکوژن به گلوکز می‌باشند (Burt, 1966). گلیکولیز قادر به تولید ۲ تا ۳ مول از ATP به ازاء هر مولکول گلوکز می‌باشد. بنابراین بعد از مرحله جمود نعشی سنتز ATP از این محل تا تمام شدن گلیکوژن و یا کاهش PH به نقطه‌ای که باعث غیرفعال نمودن آنزیم‌هایی که گلیکولیز را انجام می‌دادند بویژه آنزیم فسفوفروکتیناز رسیده و در نتیجه عمل گلیکولیز متوقف می‌گردد. مقدار گلیکوژن در عضله ماهی بستگی به گونه، شرایط بیولوژیکی و استرس‌های قبل از مرگ ماهی دارد. در بعضی از ماهی ها، قند آزاد و قندهای فسفوریله شده که در نتیجه گلیکولیز تولید می‌شوند ممکن است تا مدت‌ها بعد از جمود نعشی در عضله ماهی وجود داشته باشند. این قندها بخصوص قندهای فسفوریله شده ممکن است در واکنش قهوه‌ای شدن در زمان فرآوری گوشت ماهی در فرآیندهای مثل تولید کنسرو، انجماد و یا خشک نمودن شرکت نموده و باعث کاهش کیفیت فرآورده‌های شیلاتی گردند، به بخش ۴-۵-۱۳) مراجعه نمائید.

۳-۳-۱۳- متابولیسم ATP : *ATP METABOLISM*

مقدار ATP در عضله ماهی در حالت استراحت بین $۷-۱۰\mu_{moles}$ یا حدود ۵mμ می‌باشد. تمام شدن ATP در عضله ماهی بعد از خاتمه جمود نعشی معمولاً در طول ۲۴ ساعت صورت می‌پذیرد. اما در بعضی از گونه‌های این فرآیند ممکن است حتی چند روز بطور انجامد (Izquierdo-pulido *et al.*,1992). آنزیم‌های ATPase که پس از مرگ ماهی هیدرولیز ATP را انجام می‌دهند، کاملاً شناخته نشده‌اند، بعضی از این آنزیم ها از میوزین ATPase ولی بیشتر آنها از دیواره سلولی منشاء می‌گیرند. عضله ماهی دارای حدود ۲۰ میلی‌مول فسفات کراتین می‌باشد و ساخت مجدد ATP از ADP بوسیله آنزیم کراتین کیناز صورت می گیرد(Ec2.7.3.2) . آنزیم Adenylat Kinase (EC2.7.4.3) از دو مول ADP یک مول ATP و یک مول AMP تولید می‌کند. در بیشتر موارد، برای ساخت مجدد ATP از گلیکولیز ADP در تحت شرایط بی هوازی استفاده بعمل می‌آید. آخرین آنزیم در زنجیره گلیکولیز آنزیم لاکتات هیدروژناز می‌باشد (EC1.1.1.27) که باعث ساخت دوباره NADH از NAD^+ و تولید لاکتات از پیروات می‌گردد. در ماهی‌ها مدت زمان تولید مجدد و به مصرف رسیدن ATP و همچنین زمان شروع و خاتمه جمود نعشی بطور قابل ملاحظه‌ای متغیر می باشند. در این زمینه چندین عامل مهم مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Gill, 2000).

درجه حرارت انبار نگهداری: *Storage temperature*

در بسیاری از ماهیان سردآبی، کاهش درجه انبار نگهداری به صفر درجه سانتیگراد باعث کم شدن سرعت مصرف و تمام شدن ATP در بافت می‌گردد (Huynh *et al.*,1992). ضریب وابستگی درجه حرارت $Q_{۱۰}$ بین صفر درجه و ۱۰ درجه سانتیگراد ممکن است به بزرگی ۱۰ برسد. بهر صورت برای عضله بعضی از گونه ها، با کاهش درجه حرارت انبار نگهداری سرعت مصرف و تمام شدن ATP در عضله بیشتر و در نتیجه زمان شروع جمود نعشی کوتاه‌تر می‌گردد (Iwamoto *et al.*,1991). پژوهش‌ها انجام شده بر روی ماهی‌های کپور که در درجه حرارت‌های محیطی مختلف زندگی می‌کردند ثابت کرد که هرچه اختلاف درجه محیط پرورش ماهی با درجه نگهداری آن در انبار بیشتر باشد بهمان نسبت سرعت مصرف و تخلیه شدن ATP در عضله ماهی سریعتر اتفاق می‌افتد (Abe & Okuma,1991) . برای بیشتر گونه ها، قبل از شروع جمود نعشی در صورت نگهداری آنان در نقطه انجماد یا زیر آن باعث تجزیه شدن سریع ATP و بوجود آمدن پدیده‌های "Thaw Rigor" در ماهی می‌گردد (Hiltz *et al.*,1973). بعضی از گونه‌های مناطق گرمسیری که پس از صید سرد و یا منجمد می‌گردند، در زمان انجماد زدائی، ATP در آنها بسرعت تجزیه می‌گردد. علت این پدیده، را احتمالاً در صدمه

دیدن دیواره سلولی که باعث از بین رفتن قدرت شبکه سارکوپلاسمیو یا میتوکندری در جذب مجدد یون $Ca^{+۲}$ می‌باشد، می‌دانند.

صید و حمل و نقل : Harvest and handling

تقلای ماهی در زمان صید باعث بمصرف رسیدن ATP بوسیله عضله‌ها می‌گردد. در نتیجه در زمان تخلیه در ساحل عضله‌ها دارای مقدار خیلی کمی‌از ATP و یا تهی از آن می‌باشند. بخصوص در صید کف روب ماهیان آبهای عمیق، تقلای ماهی در تور باعث بمصرف رسیدن انرژی ذخیره در عضله‌ها و در نتیجه باعث شروع زودرس جمود نعشی می‌گردد (Fraser *et al.*,1965). همچنین در ماهیان پرورشی که پس از صید به سرعت بیهوش نشوند ، عیناً مقدار ATP در عضله آنها بعلت تقلا نمودن تمام گردیده و جمود نعشی زودرس در آنها بوجود می‌آید (Izquierdo-pulido *et al.*,1992 ;Sigholt *et al.*,1997).

در بعضی از بازارهای ماهی، ماهیانی که قبل از شروع جمود نعشی بفروش گذاشته می‌شوند قیمت بالائی توسط خریداران برای آنها پرداخت می‌شود. از این جهت صیادان با زدن ضربه به سر ماهی و با بریدن عصب نخاعی ماهیان بلافاصله پس از صید باعث به تأخیر افتادن زمان جمود نعشی تا چند برابر ی می‌گردند (Mochizuki & Sato,1996). موثر بودن زدن ضربه به سر ماهی در تأخیر جمود نعشی بنظر می‌رسد در ارتباط با پائین آوردن مقدار هورمون استرس زا کورتیزول در خون باشد (Lowe *et al.*,1993).

۴-۳-۱۳- ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی: *Physiological disorders*

هیدرولیز زیاد و سریع ATP می‌تواند باعث بوجود آمدن کیفیت نامطلوب در گوشت ماهی بعلت (دناتوره شدن پروتئین‌های انقباض کننده و یا سارکوپلاسمی‌گردد. گوشت چنین عضله‌ای دارای بافت نرم، قدرت کم نگهداری آب و رنگ پریده می باشد. هیدرولیز ATP باعث بوجود آمدن یون هیدروژن $\left(H^{+}\right)$ گردیده که این پدیده به نوبه خود باعث کاهش pH عضله می‌شود. $ATP + H۲O \Rightarrow ADP + PO۴^{-۳} + ۳H^{+} + ۱۱.۶\ Kcal.$

کاهش سریع pH در گوشت باعث بوجود آمدن ناهنجاری‌های مثل «رنگ گچی در ماهی هالیبوت[1]» طعم و مزه سوختگی در گوشت ماهی تون[2] و بافت آبکی[3] در ماهی کاد می‌گردد. بنظر می‌رسد که علت کاهش زیاد و

[1] -Chalky halibut
[2] -Burnt tuna
[3] -Slopy cod

سریع PH، ترشح هورمون استرس قبل از مرگ ماهی می‌باشد. این چنین ناهنجاری‌ها زمانی رخ می‌دهد که درجه حرارت لاشه ماهی بالا و همزمان بعلت هیدرولیز ATP، در گوشت ماهی اسید نیز تولید می‌گردد.

۴-۱۳- تغییرات بیوشیمیائی در عضله ماهی بعد از جمود نعشی

۴-۱۳-۱- PH

با توقف تولید مجدد ATP هم چنین ATP، PH عضله ماهی بعد از جمود نعشی به مقدار ثابتی می‌رسد که به آن PH نهایی (Ultimate PH) گفته می‌شود. PH نهایی در گونه‌های مختلف با هم فرق می‌کند. مثلاً در ماهی تونا، مکرل و خاویاری، PH نهایی ممکن است حتی به ۵/۵ برسد در صورتی که در بیشتر ماهی‌ها این PH بین ۶/۶ – ۶/۲ متغیر است. عوامل موثر در تعیین PH نهائی، عواملی می‌باشند که بر روی هیدرولیز ATP هم چنانکه قبلاً شرح داده شد موثرند، عامل دیگر، قدرت بافری گوشت ماهی می‌باشد، بنظر می‌رسد که PH طبیعی در گونه‌ها در مقایسه با PH نهائی آنها مهمتر می‌باشد. مثلاً در ماهی کادی که بمدت طولانی تغذیه ننموده است و جدیداً شروع به تغذیه کرده ممکن است دارای PH نسبتاً پائینی تا حد $PH = ۶$ باشد. این PH برابر ۶ در ماهی صید شده با پدیده تولید پارگی حفره (Gaping) بعلت ضعیف بودن عضله‌های غضروفی و باعث بوجود آمدن بافت آبکی (Sloppy) مرتبط می‌باشد (Ang & Haard,1985) . در بعضی از گونه‌ها سفت شدن بافت، در زمان پخت را به اسیدی بودن PH نهایی نسبت داده‌اند. هم‌چنین یک PH نسبتاً پائین می‌تواند باعث کم شدن قدرت اتصال آب به میوفیبریل گردیده و باعث انعکاس نور و در نتیجه ظاهر ماهی گرد. از طرف دیگر PH نسبتاً پایین همچنین می‌تواند باعث سرعت بخشیدن به اکسیده شدن چربی در میوگلوبین گردد. از آنجائی که فعالیت آنزیم‌ها به PH محیط آنها بستگی دارد، از این رو انتظار می‌رود که PH نهائی بر خیلی از واکنش‌های بافت ماهی تأثیر گذار باشد.

۴-۱۳-۲- تجزیه شدن نوکلئوتید: Nuclotid Catabolism

یک سری از آنزیم ها، ADP را به هیپوزانتین و یا اسید اُریک تبدیل می‌کنند. جزئیات این واکنش‌ها توسط (Gill,2000) گزارش شده است. ساخت مجدد ATP و هیدرولیز آن همراه با تجزیه شدن ADP از مهمترین فاکتورهای موثر در از بین رفتن کیفیت ممتاز[1] در ماهی تازه می‌باشند (Tarr, 1966). ادنوزین منو فسفات

[1] -Prime quality

(AMP) از (ADP) بوسیله آنزیم آدینلات کیناز (Adenylate Kinase) که بنام Myokinase نیز شناخته می‌شود، تجزیه و تبدیل به AMP یا ادنوزین منوفسفات می‌گردد. [$۲ADP \Leftrightarrow ATP + AMP$]

در بعضی از گونه‌ها مثل اسکوئید (Sagedhal *et al.*,1997) و یا بی مهرگان دریائی AMP ممکن است در بافت آن‌ها جمع گردد و در نتیجه تاثیر مهمی‌در طعم و مزه غذاهای دریائی تولید شده از آنها بگذارد. پژوهشگرانی مثل (Devido de Mattio *et al.*,1992) پیشنهاد نموده‌اند که در بی مهرگانی که دارای بافتی مثل اسکالپ می‌باشند AMP در آنها بجای تبدیل به IMP تبدیل به ادنوزین می‌گردد. تصور می‌شود که دی آمینه شدن سریع AMP باعث تولید آمونیاک در میگو می‌گردد (Finne,1982) . بهر صورت در بیشتر گونه‌ها AMP توسط آنزیم AMP Deamiase (EC2.5.4.6) به سرعت تجزیه به اینوزین منوفسفات (IMP) می‌گردد. $[AMP \Leftrightarrow IMP + NH_۳]$

تبدیل IMP به اینوزین (Ino) آخرین حد تجزیه نوکلئوتیدها می‌باشد. در بعضی از گونه‌های مقاوم ماهیان که بلافاصله پس از صید سرد شده‌اند مثل گونه تونا،IMP ممکن است بمدت چند روز و یا حتی چند هفته پایدار باقی بماند. جمع شدن IMP در عضله ماهی مقبول است. چون این مولکول دارای ویژگی‌هایی می‌باشد که باعث بهبود در طعم و مزه گوشت ماهی می‌گردد. سه آنزیم شناخته شده‌اند که قادر به تجزیه IMP به اینوزین و فسفات (Pi) می‌باشند. این آنزیم‌ها عبارتند از: ′۵ – نوکلئوتیداز[۱] (EC 3.1.3.35)، آلکالین فسفاتاز[۲] (EC3.1.3.1) و اسید فسفاتاز[۳] (EC3.1.3.2) می‌باشند. سرعت از بین رفتن مقدار IMP در ماهی سرد شده بیشتر به آنزیم ′۵ – نوکلئوتیداز نسبت داده شده است. $[IMP \Leftrightarrow Ino + Pi]$

اهمیت این واکنش در معادله زیر که برای تعیین مقدار تازگی در ماهی و بنام (K value) و توسط Saito در سال ۱۹۵۹ پیشنهاد شده است دیده می‌شود (Saito *et al.*,1959) .

$$K = \frac{[Ino] + [H_x]}{[ATP] + [ADP] + [AMP] + [IMP] + [Ino] + [H_x]} \times ۱۰۰$$

در سال ۱۹۸۴ تحقیقات (Karube *et al.*,1984) منجر به فرمول ساده تری (Ki valve) که براساس تجزیه سریع ATP به ADP و AMP و بالاخره Ino و هیپوزانتین H_x بشرح زیر بود گردید.

$$\left[Ki = \frac{[Ino] + [H_x]}{[IMP] + [Ino] + [H_x]} \times ۱۰۰ \right]$$

---

[1] - 5′-nucleutidase
[2] -Alkaline phosphatase
[3] - Acid phosphatase

از سویی‌این‌فرمول‌دارای‌ضریب‌همبستگی‌بالای با درجه تازگی ماهی دارد (Karube *et al.*,1984) . تجزیه شدن اینوزین (Ino) به هیپوزانتین (H_X) توسط آنزیم نوکلئوزید فسفریلاز (EC2.4.2.1) و یا اینوزین کلئوزید (EC2.4.22) بشرح زیر صورت می‌گیرد.

$$Ino + Pi \Leftrightarrow H_x + Ribose-1-P\,(Nucleoside\,Phosphorylase)$$

$$Ino + H_2O \Leftrightarrow H_x + D-Ribose\,(Ino\sin e\,Nucleosidase)$$

برخلاف دیگر واکنش‌های نوکلئوتیدها که بوسیله آنزیم‌ها تجزیه می‌شوند، باکتری‌های فاسد کننده ماهی ممکن است در تجزیه نوکلئوئیدها شرکت کنند (Surette et al.,۱۹۸۸). در اوائل شروع فساد در ماهی، بنظر می‌رسد که آنزیم نوکلئوزید فسفریلاز نقش بیشتر و مهم‌تری داشته باشد. براساس گزارش داده شده توسط گیل، هیوزانتین (H_X) دارای مزه تلخی می‌باشد و باعث تلخ شدن ماهی و در نتیجه اثر بسیار منفی روی طعم و مزه ماهی می‌گذارد (Gill,2000).

از دیگر فعالیت‌های آنزیمی‌که در ماهی صورت می‌گیرد تبدیل هیپوزانتین (H_X) به زانتین (Xa) و اسید اُریک توسط آنزیم زانتین اکسیداز (Xanthin Oxidase) (EC1.1.3.22) طبق واکنش‌های زیر می‌باشد.

$$H_x + H_2O + O_2 \rightarrow Xa + H_2O_2$$

$$Xa + H_2O + O_2 \rightarrow Uric\,Acid + H_2O_2$$

این واکنش‌ها هم چنین بعلت تولید O_2 باعث سرعت بخشیدن به فساد ماهی و اکسیده شدن چربی در ماهی بعلت تولید H_2O_2 و رادیکال آزاد $Ho^{\bullet}$ می‌گردند .(Hultin, 1992)

۳-۴-۱۳- هیدرولیز و اکسیده شدن چربی‌ها : *Lipid Hydrolysis and Oxidation*

هیدرولیز چربی‌ها : Lipid Hydrolysis

لیپازها و فسفولیپازها استرهای اسیدهای چرب گلیسرول را تجزیه و تولید اسید چرب آزاد (FFA) می‌کنند. نقش این آنزیم‌ها بر روی کیفیت غذاهای دریائی توسط چندین پژوهشگر مورد بررسی قرار گرفته است (a,b Lopez-Amaya & Maragoni,2000) ، هیدرولیز اسیل تری گلیسرید در عضله‌های قرمز بعلت وجود بیشتر چربی در آن شاخص‌تر می‌باشد در حالی که در عضله سفید ماهی که مقدار فسفولیپید(PL) در آن بیشتر است هیدرولیز این چربی بیشتر صورت می‌گیرد. بدون در نظر گرفتن منشاء تولید اسیدهای چرب آزاد، در عضله های ماهی، این اسیدها موجب تولید بو و طعم نامناسب، از بین رفتن بعضی از ویتامین ها، آمینو اسیدها، تغییر در بافت و قدرت نگهداری آب در گوشت ماهی می‌گردند. این دو عامل آخری، بخصوص در ماهی منجمد باعث می

گردند که اسیدهای چرب آزاد بصورت طبیعی در ماهی با پروتئین‌های میوفیبریل، ایجاد باندهای شیمیائی نمـوده و باعث دناتوره شدن آنان گردند (Haad,1992 a). بررسی محققین نشان داده که هیـدرولیز تـری گلیسـریدها توسط آنزیم لیپاز، اکسیده شدن چربی‌ها را سرعت می‌بخشد، در صورتی که تجزیـه فسـفولیپیدها (PL) بوسـیله آنزیم فسفولیپاز ممکن است باعث جلوگیری از اکسـیده شـدن چربـی در مـاهی گـردد (Schewfelt,1981). به نظر می‌رسد که اسیدهای چرب در مقایسه با استر اسـیدهای چـرب بـه اکسیداسـیون حساس‌تر می‌باشند (Toyomizu *et al.*,1981) . مطالعه پژوهشگران نشان مـی‌دهـد کـه ایـن تـاثیر تثبیـت کنندگی فعالیت آنزیم فسفاتاز بر روی عضله ماهی در ارتباط با محل قرارداشتن فسفولیپید در غشاء سلولی اسـت (Schewfelt & Hultinm.,1983).

اکسیداسیون چربی : *Lipid oxidation*

اکسیده شدن اسیدهای چربی غیر اشباع در چربی ماهی، دلیل اولیه فساد در ماهی می‌باشد. میـزان اکسیداسـیون چربی در گوشت ماهی تابعی از عملکرد آنتی اکسیدان‌های طبیعی و صنعتی اضافه شده و همچنین فعالیـت‌هـای آنزیمیو غیر آنزیمی‌تشدید کننده عمل اکسیداسیون می‌باشد. آنزیم‌های میکروزومی[1]قادر به تبدیل آهن Fe^{+3} به آهـــن Fe^{+2} کـــه یـــک عامـــل قـــوی تشـــدید کننـــده عمـــل اکسیداســـیون اســـت مـــی‌باشـــد (Hultin,1992 , Haard,1992). همچنین آنزیم‌های لیپواکسـیژناز (EC1.13.11.12, LOX) مـی‌توانـد اکسیداسیون چربی‌ها را سرعت ببخشد، اما این گروه از آنزیم‌ها غالباً برای تولید الکل‌هـا و آلدئیـدها فـرار کـه در ماهی تازه تولید طعم و مزه تازه می‌کنند شناخته می‌شوند. (۱-۴-۱۳)

(Josephson & Lindsay,1986 ; Sun Pan & Kuo,2000)

طبق گزارش (Chan & Decker,1994) آنزیم گلوتاتیون[2] پراکسیداز دارای خاصیت ضد آنتی اکسیداسیونی دارد و معمولاً برای جلوگیری از اکسیده شدن چربی در گوشت مصرف می‌گردد.

۴-۴-۱۳- هیدرولیز پروئین‌ها : *Protein Hydrolysis*

از بین رفتن جمود نعشی – *Resolution of Rigor*

زمـانی کـه مـاهی در حالـت جمـود بمـدتی نگهـداری شـود، در ایـن حالـت رشـته‌هـای عضـلانی طولانی‌تر و گوشت در زمـان پختـه شـدن تردتـر مـی‌گـردد. ایـن پدیـده بنـام از بـین رفـتن جمـود نعشـی یـا

[1] -Microsomal enzymes
[2] -Glutathione peroxidase

"Resolution of Rigor" نامیده می‌شود. این پدیده بعلت سرخوردن رشته‌های ضخیم و نازک بداخل هم که در زمان استراحت عضله (Relaxation) اتفاق می‌افتد، نمی‌باشد بلکه بیشتر بعلت فعالیت آنزیم‌های پروتیناز داخل گوشت بر روی پیوندهای کلیدی داخل پروتئین گوشت می‌باشد، که در نتیجه باعث شکسته شدن ساختمان میوفیبریل می‌گردند. این فعالیت پروتینازها بر روی غذاهای دریائی توسط (Haard,1994) مورد بررسی قرار گرفته است. شرکت دو گروه از آنزیم‌های پروتیناز در عضله ماهی برای از بین بردن جمود نعشی تا بحال شناسائی گردیده‌اند. این دو گروه عبارتند از Calpains (EC 3-2-22-17) آنزیم Caplains یک آنزیم طبیعی می‌باشد که توسط یون کلسیم فعال می‌شود و باعث جداشدن واحدهای تشکیل دهنده میوفیبریل به اسم ساکرومر (Sarcomers) از همدیگر می‌گردند. این آنزیم همچنین در نارسائی‌های فیزیولوژیکی که بنام پدیده (Burnt Tuna) شناخته شده نقش دارند (Watson *et al.*, 1988). گروه دوم آنزیم‌های کاتپسین (Cathepsins) و از گروه پروتیناز و متعلق به گروه آنزیم‌های لیزوزوم بوده و بیشتر در PH بین ۳ و ۶ فعال می‌باشند.

تجزیه کلاژن: Collagen Degradation

براساس گزارش (Cepeda *et al.*,1992) در صورت نگهداری ماهی صخره‌ای پس از مرگ زیر دمای بحرانی، کلاژن نوع اول در این ماهی تجزیه نمی‌شود، اما پژوهش‌های (Bremne,1992) بیانگر این موضوع است که در ساعت‌های اولیه مرگ ماهی احتمالاً تغییراتی در بافت‌های اتصال دهنده اجزاء میوکوماتا[1] در عضله های ماهی صورت می‌گیرد، این تغییرها شامل هیدرولیزشدن غشاءها در برگیرنده کلاژن‌های نوع چهارم و پنجم می‌باشد (Sato *et al.*,1994). همچنین توسط (Bracho & Haard,1995) دو آنزیم هیدرولیز کننده کلاژن در ماهی به اسم‌های Matrix Metalloprotinases (EC 3.4.24.35) شناسائی گردیده‌اند. از طرف دیگر اخیراً از کلون‌های cDNA از Gelatinase Type Matrix Metalloprotinase (EC 3.4.24.24) و همچنین یک آنزیم کلاژناز (EC 3.4.24) که قادر به تجزیه کلاژن نوع اول بدست آمده از فیبروپلاست ماهی قزل آلا رنگین کمان می‌باشند به دست آمده‌اند (Saito *et al.*, 2000 a,b) .

پروتینازهای دستگاه گوارش: Digestive proteinase

در ماهی و صدف داران در صورتی که پس از صید امعاء و احشاء سریعاً خالی نشوند، نفوذ آنزیم‌های پروتیناز موجود در دستگاه گوارشی به داخل عضله ماهی و صدف داران باعث فساد سریع و از دست رفتن کیفیت گوشت

[1] -Myocommata

آنها خواهد شد (Almy,1926). این مشکل در ماهیانی که تغذیه زیادی نموده‌اند و یا در سخت پوستانی که دستگاه گوارش آنها در مجاور گوشتشان می‌باشد بسیار شدیدتر است (Nip & Moy,1988).

۵-۴-۱۳- دیگر واکنش‌های آنزیمی پس از جمود و اثر آنها بر روی مواد غذایی دریائی

نمونه‌هایی از آنزیم‌هایی که پس از جمود نعشی فعالیت آنها بر روی کیفیت مواد غذایی دریائی موثرند عبارتند از: تیامیناز[1] (EC 3.5.99.2) اُره از[2]، تری متیل آمین اُکسیداز (TMAOase) دی‌میتیلاز (EC 4.1.2.32) و پلی فنل اُکسیداز (PPO). مالانوزیس یا لکه سیاه که توسط آنزیم پلی فنل اکسیداز در سخت پوستانی مثل، لابستر، میگو و خرچنگ تولید می‌شود یک مشکل عمومی‌در آنها می‌باشد. فعالیت PPO در غذاهای دریائی توسط (Kim *et al.*,2000) مورد بحث قرار گرفته است. فعالیت تری متیل آمین اکسید TMAO دی متیلاز توسط (Sotelo & Rehbein,2000) مورد بررسی قرارگرفته است. این آنزیم باعث تولید دی متیل آمین و فرم آلدئید از TMAO می‌گردد. فرم آلدئید تولید شده باعث بوجود آمدن پیوندهای عرضی بین مولکول‌های پروتئین در عضله و در نتیجه باعث افزایش سفتی در گوشت می‌گردد. باور بر اینست که معمولاً این مشکل در گوشت ماهی‌های یخ زده دیده می‌شود (Haard,1992a). این واکنش ممکن است در گونه‌هایی از ماهیان مثل ماهی قرمز رنگ هیک در صورت ایجاد شرایط بی هوازی در درجه بالاتر از نقطه انجماد ماهی نیز دیده شود. آنزیم تیامیناز که یک آنزیم ترانسفراز می‌باشد، کاتالیز کننده واکنش بین تیامین و آمین می‌باشد. بنظر می‌رسد این آنزیم در امعاء و احشاء چندگونه از ماهیان آب شیرین و شور وجود داشته باشد (Haard,1990). فعالیت آنزیم اُره آز عموماً در کوسه ماهیان که مقدار اُره در گوشت آنها بالا است (۲/۵-۱٪ در گوشت کوسه) مشکل ساز است. بطور کامل روشن نشده است که آنزیم‌های اُره آز موجود در گوشت و یا باکتری‌های حاوی این آنزیم باعث تولید سریع آمونیاک از اوره در گوشت کوسه‌ها می‌شوند (Finne,1992).

۵-۱۳- آنزیم‌ها و رنگ و ظاهر غذاهای دریائی

رنگدانه‌ها در غذاهای دریائی دارای دو منشاء می‌باشند. رنگ دانه‌هایی که بطور طبیعی در بافت وجود دارند و آنهایی که پس از مرگ ماهی تولید می‌شوند. رنگدانه‌های طبیعی که معمولاً کیفیت مواد غذائی دریائی را تحت تأثیر قرار می‌دهند عبارتند از، پروتئینهایی که دارای آهن می‌باشد و کاروتنوئیدها و رنگ‌های خاکستری و

[1] -Thiaminase
[2] - Urease

سیاهی می‌باشند که بعلت واکنش‌های آنزیمی‌و غیر آنزیمی‌در بافت ایجاد می‌شوند. بیوشیمی‌رنـگ‌هـای غـذاهای دریائی توسط (Haard,1992b) مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. نمونه‌هایی از آنزیم‌هایی که بر روی رنـگ و ظـاهر غذاهای دریائی اثر گذار می‌باشند در جدول ۱-۱۳ آورده شده‌اند.

جدول ۱-۱۳- آنزیم‌های موثر در ظاهر غذاهای دریایی

آنزیم ها	اجزاء	نتیجه
Atpase	میوگلوبین و H^+	PH پائین کمک به اکسیده شدن میوگلوبین می‌نماید ↓
Calpain, cathepsins Glycolytic enzymes	Cytoskeletal گلیکوژن	افزایش کدورت رنگ گوشت و تشکیل قندهای هگزوز و شروع واکنش میلارد
Lipoxy genase-like, enzyme meyeloperoxidase	کاروتنوئیدها	سفید کردن رنگدانه‌های زرد و قرمز اپی‌تلیال و بافت گوشت
Metmyoglobin reducthase	مت میوگلوبین	کم شدن تولید رنگ زرد در گوشت
Nucleoside phosphory lase, inosine nucleosidase	اینو	تولید قندهای پنتوز و تسریع در واکنش میلارد
Polyphenol oxidase	تیزوزین	تولید رنگ سیاه

۱-۵-۱۳- تیرگی بافت: *Flesh Opacity*

هرچه بیشتر از زمان صید ماهی می‌گذرد شکست نور و پخش شدن آن در بافت ماهی بیشتر می‌شـود. این پدیده باعث تغییر رنگ ماهی تازه از آبی شفاف به سفید مات پس از پخت ماهی مـی‌گـردد. رنـگ سـفید در ماهی زیاد می‌شود زمانی که نور طبیعی بوسیله اجزاء تشکیل دهنده گوشت که دارای قطر بیش از ۰/۷ میکـرون می‌باشند شکسته و منعکس می‌شوند. یکی از ویژگی‌های پس از جمود نعشی ایجاد فضاهای بـین اجـزاء درون و بیرون سلولی، بین تارهای میوفیبریلی و رشته‌های متراکم میوفیلامنت‌ها می‌باشـد. تغییـرات در واکـنش‌هـا بـین

رشته‌های نازک و ضخیم و یا شبکه‌های پروتئین در اسکلت ماهی مثل (Desmin, Nebulin & Titin) که بوسیله آنزیم‌های پروتیناز بوجود می‌آید، بنظر می‌رسد که باعث ایجاد بی نظمی‌در ساختار درونی میوفیبریل‌ها در عضله ماهی پس از صید و نگهداری آن در انبار می‌گردند. هر دو آنزیم کالپین (Calpains) و کاتپسین (Cathepsins) (۴-۵- ۱۳) در تجزیه پروتئین‌های اسکلت ماهی و از بین بردن ساختار طبیعی در بدن ماهی پس از صید نقش دارند. از فاکتورهای دیگر که موجب تولید رنگ تیره در گوشت ماهی می‌گردد، گرسنگی شدید ماهی قبل از صید آن می‌باشد (Haard,1987) .

۲-۵-۱۳-پروئتین‌های آهن دار: Heme Proteins

پروتئین‌های آهن دار گروهی از پروتئین‌ها در ماهی می‌باشند که باعث تولید رنگ قرمز روشن در گوشت ماهی می‌شوند، این پروتئین‌ها شامل اُکسی میوگلوبین و اُکسی هموگلوبین می‌باشند. اکسیده شدن این پروتئین‌ها به مت هموگلوبین[1] و مت میوگلوبین[2] باعث تولید رنگ قهوه‌ای در ماهی فاسد شده می‌گردند. اکسیده شدن پروتئین‌های آهن دار در گوشت ماهی غیر آنزیمی‌بوده و در قسمت مربوطه مورد بحث قرار خواهد گرفت. بهرصورت، اکسیده‌شدن مت میوگلوبین توسط آنزیم به میوگلوبین در عضله آبزیانی مثل دلفین، ماهی تن باله آبی، ماکرل و دلفین به رنگ آبی و سفید توسط (Mastsui *et al.*,1975) گزارش شده است. همچنین جداسازی و خالص سازی آنزیم مت میوگلوبین، ردکتاز از ماهی تن توسط (AL-Shaibani,1977; Pong *et al.*,2000) منتشر شده است. تبدیل مت میوگلوبین پس از جمود نعشی در عضله ماهی به میوگلوبین بنظر میرسد نیاز به ردیوس پیریدبن نوکلئوتید[3] و آنزیم NADH سیستوکروم b5 ردکتاز وجود دارد (Arihara *etal.*,1991 ; Macdougall,1982) . واکنش‌های سیستم آنزیمی‌تبدیل کننده مت میوگلوبین به میوگلوبین در PHهای اسیدی غیرفعال می‌گردند (Foegeding *et al.*,1996). میتوکندری‌های موجود در عضله ممکن است برای جذب اکسیژن با میوگلوبین رقابت نموده و در نتیجه باعث افزایش تغییر رنگ در عضله از قرمز روشن که توسط اُکسی میوگلوبین به ایجاد می‌شود به آبی قرمز رنگ که توسط میوگلوبین تولید می‌گردد و بالاخره به رنگ قهوه ای که در نتیجه اکسیده شدن میوگلوبین به مت میوگلوبین می‌باشد گردد. یکی دیگر از تغییر رنگ‌های مهم که در تونا توسط واکنش‌های غیر آنزیمی تولید رنگ سبز می‌باشد، که علت آن اکسیده شدن میوگلوبین با TMAO

[1] -Methemoglobin
[2] -Metmyoglobin
[3] - Reduced pyridine nucleotids

و تولید ترکیب‌های سولفیدریلی سبز رنگ می‌باشد است تولید رنگ سبز در ماهی تونا را موجب میگردد (Haard, ۱۹۹۲ b).

۳-۵-۱۳- کاروتنوئیدها: *Carotenoids*

کاروتنوئیدها در چند گونه از ماهیان و صدف داران باعث تولید رنگ‌های چشم گیر، زرد، نارنجی و قرمز در پوست و گوشت فرآورده‌های تولیدی از آنها می‌شوند. در بعضی مواقع درجه بندی و قیمت گذاری این گونه‌ها رابطه مستقیم با شدت رنگ قرمز در آنها دارد (Sackton,1986). جانوران کاروتنوئیدها را از طریق غذا دریافت می کنند، و گونه‌های آبزی مثل آزاد ماهیان قادرند که اُکسی کاروتنوئیدها را در گوشت و همچنین در پوست خود ذخیره نمایند. آبزیان در تبدیل کاروتنوئیدها با هم فرق دارند، مثلاً سخت پوستان، بتاکاروتن را تبدیل به اکسی کاروتنوئید که دارای رنگ قرمز روشن است می‌کنند (Fox,1976).

بیشتر جانوران دارای آنزیم ۱۵، ′۱۵–دی اُکسیژناز (EC 1.13.11.21) هستند. این آنزیم قادر است که کاروتنوئیدها را به آلدئید ویتامین A تبدیل نماید. رنگ صورتی و یا قرمز پوست و یا گوشت ماهی در زمان نگهداری در زیر یخ یا انجماد رنگ می‌بازد (Tsukuda & Amano,1966) . سرعت از بین رفتن رنگ در گونه‌های مختلف با هم فرق دارد (Scott *et al.*, 1986). تغییرات حاصل شده بعلت انجماد ناقص یا کامل معمولاً در ساختار سلولی باعث سرعت بخشیدن به اکسیداسیون کاروتنوئیدها می‌شود و این پدیده گویای جدا از هم بودن آنزیم‌ها در ساختار سلولی می‌باشد. تازوگودا(Tsukuda *et al.*, 1970) و همکاران در سال ۱۹۷۰ شاخص‌هایی را برای آنزیمی‌شبیه به لیپواُکسیژناز تعریف نمود که این شبیه آنزیم قادر به اکسیده نمودن آستاگزانتین(Astaxanthin) و دیگر اُکسی کاروتنوئیدها در آبزیان می‌باشد (Tsukuda,۱۹۷۰). لوکوسیت های ماهی دارای آنزیم میلوپراکسیداز[1] (EC 1.1.11.1.7) می‌باشد که می‌تواند در مجاورت هیدروژن پراکسید و یون هالوژن رنگ بتاکاروتن را از بین ببرد (Kanner & Kinsella, 1983). از آنجائیکه اکسیده شدن کاروتنوئیدها و چربی‌ها ممکن است همزمان با هم اتفاق بیافتد، لذا اهمیت یک سیستم مخصوص اکسید کننده کاروتنوئیدها در زمان نگهداری غذاهای دریائی در انبار هنوز نامشخص می‌باشد.

[1]- Myeloperoxidase

۴-۵-۱۳- تولید رنگ دانه در زمان انبارداری

قهوه‌ای شدن آنزیمی

چگونگی تولید لکه سیاه در سخت پوستانی مثل کریل، لابستر، میگو و خرچنگ توسط آنزیم ها، یکی از موضوع هایی می‌باشد که در صنعت فرآوری آبزیان بر روی آن تحقیق زیادی صورت گرفته است. تولید لکه سیاه بر روی فرآورده باعث ایجاد ظاهر غیرقابل قبول و در نتیجه پائین آمدن قیمت آن می‌گردد. آنزیم پلی فنول[1] اکسیداز (EC 1.10.3.1) در این گونه‌ها در دو مرحله تولید لکه سیاه در آنها می‌کند. در مرحله اول آنزیم منوفنل اکسیداز، منوفنل را هیدروکسیله نموده مثلاً تیروزین توسط منوفنل اکسیداز را تبدیل به اُدی فنل (O-Diphenol) (DOPA) نموده و در مرحله دوم آنزیم دی فنل اکسیداز DOPA را به دی کیونون Di-quinones از طریق واکنش Diphenol Oxidase مبدل می‌سازد. سپس توسط یک سری از واکنش‌های غیر آنزیمی‌دی کیونون تبدیل به لکه سیاه یا ملانین می‌گردد. دو پژوهشگر در این زمینه (Savagaon & Sreenivasan,1987) پیشنهاد نموده‌اند که زیموژن Zymogens یک ترکیب پیش ساز آنزیم پلی فنل اکسیداز (Pre-PPOs) در سخت پوستان ابتداء بوسیله آنزیم‌های پروتیناز مثل شبه تریپسین فعال شده، و باعث تولید آنزیم پلی فنل اکسیداز برای شروع واکنش تولید لکه سیاه در آبزیان می‌گردد. بنظر می رسد که تریپسین ماده اصلی (Substrate) برای آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPOs) در سخت پوستان می‌باشد. علت تولید رنگ آبی در گوشت خرچنگ را انجام واکنش‌های بین تیروزین و پروتئین هموسیانین مس دار و دیگر یون‌های فلزی موجود در خون خرچنگ گزارش شده است (Boon,1975) . ویژگی‌های PPOs در مواد غذائی دریائی وکنترل تولید لکه سیاه در آبزیان جدیداً بوسیله (Kiem *et al.*,2000) بازنگری و گزارش گردیده است.

قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی: *Non-enzymic browning*

واکنش میلارد[2] علت تغییر رنگ غیر آنزیمی‌شناسائی شده در تعدادی از غذاهای دریائی، مثل فرآورده‌های منجمد، خشک، شور و کنسرو شده و سخت پوستان می‌باشد. بعضی از آنزیم‌ها ممکن است بصورت غیر مستقیم در این واکنش شرکت داشته باشند. در فرآورده‌های دریائی عامل محدود کننده تولید رنگ قهوه‌ای بوسیله

[1] - Polyphenol Oxidase
[2] -Millard reaction

واکنش غیر آنزیمی‌مقدار قندهای احیاء کننده (Reducing Sugars) در آنها می‌باشد. واکنش میلارد شامل یک مرحله واسطه‌ای (Schiff Base) می‌باشد. این مرحله از ترکیب قندهای احیاء کننده با یک ماده که شامل آمینواسید می‌باشد بوجود می‌آید. سپس واکنش Amadori ایجاد گردیده و فرآورده تولید شده به آهستگی آب از دست داده و پس از جابجائی شیمیائی که در ماده تولید شده بوجود می‌آید که رنگ آن ابتداء زرد و سپس قهوه‌ای می‌گردد. این رنگ قهوه ای خاصیت فلورسنتی (Fluoresent) داشته و فرآورده تولید شده قادر به ایجاد پیوند عرضی با مواد پروتئینی و غیره می‌باشد. در ماهی و صدف داران معمولاً گلوکز و ریبوز اصلی ترین قندهای آزاد می‌باشند، اما قندهای فسفوریله شده مثل ریبوز ۵- فسفات، گلوکز ۶- فسفات فرکتوز ۶- فسفات نیز وجود دارند. این قندها بصورت خیلی فعال در واکنش تولید رنگ قهوه‌ای نیز شرکت می‌کنند (Harrd & Arcilla,1985).

علت تولید رنگ نارنجی ناخواسته در کنسرو ماهی تن ترکیب گلوکز ۶- فسفات با گروه‌های آمینی در هیستیدین و دی پپتیدها می‌باشد (Nakayama *et al.*,1976) . به نظر می‌رسد شرایطی که منجر به جمع شدن گلوکز ۶- فسفات و دیگر قندها در آبزیان می‌گردد، به گلیکولیز و هیدرولیز گلیکوژن (۲-۲-۱۴) برای قندهای هگزوز و تجزیه شدن نوکلئوتیدها (۲-۳-۱۴) برای قندهای پنتوز باشد. این واکنش‌ها زمانی رخ خواهند داد، که شرایط نگهداری آبزیان در سردخانه برای بروز آنها مناسب باشد (Burt,1971) . ایجاد رنگ قهوه‌ای در سوریمی‌ممکن است بعلت تبدیل گلوکز به ۲، ۵- دی کیتوگلونیک اسید[1] بوسیله آنزیم‌های مترشحه از باکتری‌ها باشد. از طرف دیگر مشتقات گلوکز ترکیب‌های احیاء کنده بسیار قوی می‌باشند و در واکنش میلارد بصورت فعالی شرکت می‌کند و تولید رنگ قهوه‌ای می‌نمایند (Fujita *et al.*,1987) .

تولید رنگ قهوه‌ای بعلت واکنش بین پروتئین و چربی نیز می‌تواند واکنش مهمی‌در فرآورده‌های شیلاتی نیز باشد (Harrd,1992b). کربونیل‌های غیر اشباع، مثل ۲- هگزانال و استیل آلدهید، از طریق واکنش با آلدول باهم ترکیب و با از دست دادن آب، تولید کروتونال آلدئید (Crotonaldehyde) و 2-(1- Butenyl)-Octa-2,4-Dienal نموده که این مواد با ترکیب‌های آمینی در اوایل انبارداری ترکیب و تولید رنگ قهوه‌ای می‌نماید (Fujimoto & Kaneda,1973b). بنظر می‌رسد که منشاء تولید کربونیل و آمین های فرار مثل (TMA, NH3) به ترتیب از اکسیده شده غیر آنزیمی‌چربی و آنزیم‌های داخلی و مترشحه از

[1] -2,5-Diketogluconic acid

باکتری‌ها می‌باشند. ترکیب این مواد با هم نیز می‌تواند در فرآورده‌های دریائی منجر به تولید رنگ قهوه‌ای گردد. (Fujimoto & Kaneda,1973a).

۶-۱۳- آنزیم‌ها و طعم غذاهای دریائی

بوی ماهی خام یکی از مهمترین نشانه‌ها برای ارزیابی کیفیت آن می‌باشد (Lindsay,1990). عطر و طعم مزه غذاهای دریائی از پیچیدگی خاصی برخوردار می‌باشد. علت این پدیده تولید غذاهای دریائی از انواع و اقسام آبزیان مهره دار و بی مهره می‌باشد. براساس عطر، طعم و مزه می‌توان کیفیت آبزیان را به سه گروه به شرح زیر تقسیم نمود:

۱. آبزیان بسیار تازه که دارای بوی بسیار مطبوع مثل بوی گیاهان تازه دریائی و یا شبیه به خربزه (Melon- like) می‌باشند.
۲. آبزیان مانده و فاسد شده که دارای بوی بسیار زننده می‌باشند.
۳. طعم و مزه ماهیان و صدف داران پخته شده

در آبزیان دسته اول، آنزیم‌های داخلی عامل اصلی ایجاد بوی تازگی در آنها می‌باشند. اما در دسته دوم، آنزیم‌های داخلی در ماهی همراه با باکتری‌های فاسد کننده، علت تولید بوی ماندگی (Fishy Odor) و یا ترشیدگی و تندی در آبزیان می‌باشند. علت ایجاد طعم و مزه پخته گی هم چنین بعلت فعالیت‌های آنزیم‌های داخلی قبل از پخت آبزی و ایجاد ترکیب‌هایی که باعث تحریک عصب‌های بویائی و چشائی می‌گردند نیز می‌باشد. در جدول ۳-۱۳، انواع آنزیم و ترکیب‌هایی را که باعث ایجاد عطر، طعم و مزه در آبزیان می‌شوند را می‌توان مشاهده نمود.

۱-۶-۱۳- طعم ماهی تازه : *Fresh Fish flavour*

نقش آنزیم‌ها در ایجاد بوی تازه در ماهی اخیر توسط (Cadwallader,2000) گزارش گردیده است. عطر، طعم و مزه ماهی خیلی تازه بسیار با آنچه در خرید و فروش غذاهای دریائی بعنوان شاخص تازگی شناخته می شود بسیار متفاوت است. آنزیم لیپواکسیژناز (LOX;EC1.13.11.12) باعث تولید اسیدهای چرب هیدروپراکسید در ماهی می‌گردد. این اسیدهای چرب ممکن است بوسیله واکنش‌های آنزیمی‌و یا غیر آنزیمی‌به ترکیب‌های فرار با وزن مولکولی کوچک شکسته شوند. هیدروپراکسید تولید شده در ماهی بوسیله آنزیم لیپاز

جدول ۲-۱۳- آنزیم های موثر در طعم و مزه غذاهای دریایی

آنزیم ها	اجزاء	نتیجه
Amp deaminase deaminase	AMP	تولید IMP که باعث تولید طعم خوشمزه می‌گردد.
Bromoperoxidase	HALOFORMS	بوی مخصوص بعضی از علف‌های دریایی
Dethiomethylase	DMPT	تولید DMS که ممکن است باعث اثر مثبت یا منفی در بو گردد.
Lafe	اسیدهای چرب	تولید آلدئیدها با زنجیره بلند در علف دریایی
Lipoxygenase, Hydroperoxide Layd	اسیدهای جرب غیر اشباع	تولید بوی تازه علف‌های دریایی
Nulleoside phosphorylase, inosine nucleosidase	Ino	تولید هیپوزانتین و طعم تلخ
Phospholiphse, lipase	فسفولیپید، اسیل تری گلیسیرید	تولید ترشیدگی در چربی
Tmao-reductase	TMAO	تولید بوی ماندگی در ماهی
Urease	اوره	تولید بوی آمونیاک
Uarious deaminase	آمینو اسید نوکلوتید	تولید بوی ناهنجار.

هیدروپراکسیداز (HOL, EC.4.2.92) هیدرولیزو تبدیل به Z-Aldehydes می‌گردد. این آلدئیدها سپس ایزومریزه گردیده و تولید E-Aldehydes می‌نمایدو در عین حال ممکن است این آلدئید سپس ایزومریزه گردیده و تولید $E-aldelydes$ نماید. هم چنین تبدیل این آلدئیدها به الکل بوسیله عمل آنزیم الکل دی هیدروژناز ممکن است صورت گیرد (EC.1.1.1.2). طیف مواد شیمیایی که تولید میگردند، بستگی به طیف مواد حاصل شده بعلت این واکنش‌ها بستگی به اسید چرب اولیه که بعنوان سوبسترا مورد استفاده آنزیم‌ها قرار گرفته، اختصاصی بودن عمل آنزیم لیپوژنز و محل عمل این آنزیم (Lox) در سوبسترا دارد. آنزیم‌های لیپوژنز (Lox) شناسائی شده برای انواع غذاهای دریائی می‌تواند بصورت اختصاصی (Specificity) بر روی آراشیدونیک اسید بعنوان سوبسترا در محل باندهای (R) ۱۱و ۸، (R) ۱۲، (S) ۱۳، ۱۲،۱۵+۵ ، ۱۵، ۱۵+۱۲، ۱۲+۵، ۱۵+۱۲+۸ و ۱۳+۹ عمل نمایند (Sun Pan & Kuo,2000). بنابراین تعداد زیادی از کربونیل و الکل‌ها ممکن است در گونه‌های مختلف تولید گردند. ترکیب‌های اصلی که در ایجاد بوی ماهی تازه نقش اصلی دارند کربونیل‌ها و الکل‌های با تعداد کربن C_9, C_8, C_6 می‌باشند. همچنین پیشنهاد شده است

کـه اکسـیده شـدن همزمـان کاروتنوئیـدها ممکـن اسـت در تولیـد بـو در ماهیـان نقـش داشـته باشـد (Winter halter,1996).

طعم و مزه غذاهای دریائی تولید شده از آبزیان سردابی در آبهای شیرین معمولاً تا ۲۴ ساعت پس از نگهداری در یخ بعلت اینکه مقدار IMP در آبزی به حداکثر خود می‌رسد، در بـالاترین حـد خـود مـی‌باشـد. چگـونگی تولیـد IMP بوسیله آنزیم‌ها قبلاً در قسمت (۲،۱۳،۵) مورد بحث قرار گرفته است. IMP عامل تشدید کننـده طعـم و مزه در آبزیان می‌باشد. این نوکلئوتید ترکیب اصلی ایجاد طعم و مزه ممتاز در غذاهای دریـائی مـی‌باشـد. IMP ممکن است در بعضی از گونه‌ها مثل تن ماهیان بمدت چند روز پایدار باقی بماند. شواهدی وجود دارد که AMP ممکن است در گونه‌هایی که این نوکلئوتید را در خود ذخیره می‌کنند مثل اسکالپ و اسکوئید علت اصلی طعـم و مزه تازگی در فرآورده‌های تولیدی از آنها باشد. طعم و مزه تازه صدف داران بشدت تحت تاثیراز قبل تشکیل شده آمینو اسیدهای آزادی می‌باشد که قبلاً در آبزی تولید شده است. مثلاً، طعم شیرین گوشت خرچنگ بعلـت وجـود L-Glycine به مقدار ۲ درصد برحسب وزن تازه آن می‌باشد. در آبزیانی که از زئوپلانکتون‌ها تغذیـه مـی‌کننـد، Dimthyl-β-Propriothetin (DMPT) بصورت ماده پیش سازنده برای تولید دی متیل سـولفید (DMS) مورد استفاده قرار می‌گیرد. (DMS) فرار بـوده و در بعضـی از ماهیـان اسـتخوانی تولیـد مـی‌گـردد. DMS در فرآورده‌های پخته شده از خرچنگ و اُیستر (Oyster) باعث تولید طعم و مزه خاص و مورد پسـند در آنهـا مـی گردد. از طرف دیگر باید توجه نمود که ماهیانی که به مقدار زیاد از غذاهایی کـه حـاوی مـواد مـورد نیـاز بـرای ساخت سولفیدها باشند، تغذیه نموده باشند باعث تولید طعم و مزه ناخوشایندی در فـرآورده‌هـای تولیـدی از آنهـا مینماید (Motohito,1962 ۱۹۶۲). ترکیب‌های سولفیددار در زمان پخت غذاهای دریائی ممکـن اسـت بعلـت حرارت از پیش ساخت‌های خود تولید شوند، در این صورت مشخص نیست که آیا آنزیم و یا آنزیم‌هایی در ساخت آنها دخالت دارند یا خیر.

۲-۶-۱۳- طعم جلبک‌های دریائی: *Seaweed Flavor*

آنزیم‌های تولید کننده طعم و مزه از جلبک‌های دریائی توسط (Fujimura & Kawai,2000) مورد بررسـی قرار گرفته‌اند. بنظر می‌رسد که جلبک‌های دریائی بدون وجود پیش ماده‌ها و آنزیم‌هایی که موجب ایجاد طعـم و مزه متمایز در آنها می‌گردد، این ویژگی خود را نمی‌داشتند. DMS یکی از مهمترین تولید کننـده عطـر، طعـم و مـزه در جلبـک‌هـای سـبز دریـائی مـی‌باشـد. جلبـک‌هـای سـبز دریـائی دارای مقـدار زیـادی از آنـزیم (Dethiomethylase) دی تیومتیلاز می‌باشد کـه قـادر بـه تجزیـه نمـودن DMPT بـه DMS مـی‌باشـد

(Iida *et al.*, 1985, Cantoni & Anderson, 1956). DMS همچنین در تولید بوی مخصوص جلبک های قرمز و قهوه‌ای دریائی هم نقش دارد. آنزیم‌های موجود در جلبک‌ها از استارئیک (Stearic) اولئیک (Oleic)، لینولنیک (Linoleic) و لینولینک Linolenic اسید موجود در جلبک‌های دریائی، آلدئیدهای اشباع و غیر اشباع با زنجیره بلند ($C_{۱۷}CHO$) را تولید می‌نمایند. به نظر می‌رسد که آلدئیدهای با زنجیره بلند که توسط آنزیم‌ها[1] (LAFE) تولید گردیده‌اند فقط در جلبک‌های دریائی وجود دارند و گیاهان خشکی فاقد آنها می باشند (Kajiwara *et al.*,1996) . واکنش‌هایی که منجر به تولید این آلدئیدها می‌گردند شامل تولید هیدروپراکسید چسبیده به عامل اسیدی، اسید چرب و سپس این ترکیب دی کربوکسیله گردیده و تولید یک آلدئید با زنجیره بلند می‌نماید. از طرف دیگر واکنش‌هایی که توسط Lox و HoL انجام می‌گردد منجر به تولید آلدئیدهای با زنجیره نسبتاً کوتاه مانند 2E)-nonenal) می‌گردد. این آلدئیدها در ایجاد طعم ویژه جلبک‌های دریائی نیز نقش مهمی‌دارند. موادی که حاوی ترکیب‌های هالوژنه می‌باشند در تولید بوی جلبک‌های قرمز دریائی نیز موثر می‌باشند. تعدادی از آنزیم‌های برمو پراکسیداز (EC.1.11.18) (Bromoperoxidases) توسط (Yamada *et al.*,1985) در تعدادی از جلبک‌های قرمز دریائی شناسائی گردیده‌اند، اما مشخص نیست که آیا آنزیم‌ها در تبدیل هالوفرم‌ها بعد از برداشت جلبک‌ها نقشی دارند یا نه. جلبک‌های قرمز دریائی همچنین دارای مقدار زیادی آنزیم‌های سولفیت – آدنیل ترانسفراز (EC.2.7.7) (Sulfate-Adenyltransferas) هستند. این آنزیم ها، اولین آنزیم‌هایی می‌باشند که در سیکل جذب سولفات آلی در گیاهان شرکت می‌کنند. یک جلبک قهوه‌ای دریائی (Desmarestia) دارای یک آنزیم ناشناخته می‌باشد که پس از برداشت این جلبک از دریا باعث تولید مقدار زیادی اسید سولفوریک و بوی زننده می‌گردد (Chihara,1982).

طعم و بوی ماهی مانده

بیشتر طعم و بوی ماهی فاسد شده بعلت فعالیت آنزیم‌های مترشحه از باکتری‌ها می‌باشد، بهرحال در بعضی از گونه‌ها آنزیم‌های داخلی خود ماهی یکی از فاکتورهای مهم تولیدی بوی ماهی فاسد می‌باشند. گوشت کوسه ماهیان (Rays & Sharks) قبل از شروع جمود نعشی معمولاً دارای بوی شدید آمونیاکی و گوشت و طعم و مزه تلخ می‌باشند. علت این بو و مزه، وجود مقدار زیاد اوره (۱-۲/۵٪ fwb) در گوشت کوسه ماهیان می‌باشد که بوسیله آنزیم اُره آز تبدیل به آمونیاک و دی اکسید کربن می‌گردد (EC.3.5.1.5). با شستشوی گوشت کوسه

[1] -Long chain aldehyde-forming enzyme

ماهیان در آب می‌توان این مشکل را حل نمود. در بعضی از ماهیان تن و فرآورده‌های آنان، یکی از عیب‌های کیفی، طعم و مزه مخصوصی است که پس از خوردن گوشت اینگونه از تن ماهیان در دهان باقی می‌ماند و به اسم طعم و مزه تن سوخته (Burnt Tuna) شناخته شده است. علت این پدیده، تقلای بیش از حد ماهی در زمان صید و فعالیت آنزیم‌های Caplins موجود در گوشت تن ماهیان می‌باشد (Watson *et al.*,1988) . یکی دیگر از عطر و بوهای نامطبوع که بعلت فعالیت‌های آنزیمی‌بوجود می‌آید، تولید عطر و بوی توت فرنگی (Blackberry) یا ترشیدگی در شک ماهیان است. که بعلت فعالیت آنزیم DMS می‌باشد این آنزیم منجر به شکسته شدن سریع DMPT می‌گردد (Iida *et al.*,1985). تولید سریع آمونیاک در میگو را بعلت فعالیت آنزیم داخلی دی آمیناز گزارش شده است. در ماهیان دریائی و همچنین بعضی از ماهیان آب شیرین مقدار متفاوتی از TMAO وجود دارد. TMAO توسط آنزیم متیل آمین ردوکتاز (EC.1.6.6.9) تبدیل به TMA می‌گردد. این آنزیم از باکتری های فاسد کننده آبزیان می باشد و از آبزیان جدا و خالص سازی گردیده است (Clark & Ward,1988). اگرچه بعضی از پژوهشگران اظهار می‌دارند که آنزیم داخلی متیل آمین رودکتاز در آبزیان قادر به تولید TMA از TMAO می‌باشند ولی حقیقت این است که عامل اصلی تولید TMA باکتری‌های فاسد کننده آبزیان می‌باشند. TMA دارای مقدار آستانه خیلی پائینی برای تولید بو (Low odor thres hold) می‌باشد و یکی از شاخص‌های اصلی فساد در آبزیان دریائی می‌باشد. در بعضی از فرآورده‌های دریائی منجمد شده، فسفولیپازهای داخلی و احتمالاً آنزیم‌های لیپاز نقش اساسی در تخریب طعم و مزه فرآورده‌های دریائی در زمان نگهداری آنها در سردخانه دارند. تولید اسیدهای چرب آزاد، از فسفولیپیدها ممکن است باعث تولید طعم و مزه ناهنجار در فرآورده می‌گردند. ضمناً واکنش‌های هیدرولیتکی ممکن است باعث تسهیل واکنش هایی از قبیل آنزیمی و غیر آنزیمی و باعث اکسیده و تندشدن اسیدهای چرب و تشدید ناهنجاری در طعم و مزه آبزیان و فرآورده‌های تولید از آنان می‌گردند. (Lopez-Amaya & b Marangoni,2000)

۷-۱۳- آنزیم‌ها و بافت غذاهای دریائی

آنزیم‌های موجود در مواد اولیه برای تولید غذاهای دریائی می‌توانند یا بیش از حد باعث نرم یا سفت شدن فرآورده‌های دریائی گردند. در جدول ۳-۱۳ بعضی از این آنزیم‌ها نشان داده شده‌اند. آنزیم‌هایی که باعث نرم شدن گوشت ماهیان سرد شده می‌شوند، معمولاً روی میوفیبریل و یا بافت‌های پیوندی پروتئین عمل نموده و از این پروتئین‌ها بعنوان سوبسترا استفاده می‌کنند.

جدول ۳-۱۳- آنزیم‌های موثر در بافت غذاهای دریایی

آنزیم‌ها	اجزاء	نتیجه
ATP ase	ATP	شروع جمعود نعشی
Calpains, Cathepsins	پروتئین میوفیبریل	خروج از جمعود نعش
Cathepsin L,alkaline Proteases	میوسین	ضعیف شدن ژل سوریمی
Matrix metalloprotinase	کلاژن	پارگی، بافت ماهی خام
Phospholiphases, LIPase	فسفولیپید، آسیل تری گلیسرید	سفت شدن بافت ماهی منجمد
Tmao demethylase	TMAO	سفت شدن بافت ماهی منجمد
Trans glutaminase	میوسین	زیاد شدن قدرت ژل سوریمی

آنزیم‌های پروتیناز که در اثر حرارت فعال می‌شوند عموماً باعث نرم شدن ژل در سوریمی‌می‌گردند (Kang & Lanier,2000). اخیراً آنزیمی‌هایی حقیقی کلاژناز از بافت‌های آبزیان دریائی که به مصرف غذاهای دریائی می رسند به اسم کلاژنازهای حقیقی (True Collagenase) تهیه و خالص سازی شده است (a, b & Sato *et al.*,1994 ; Saito *et al.*,2000 ; Bracho & Haard,1995). عقیده این پژوهشگران بر این است که این آنزیم‌ها باعث ایجاد شکستگی (Gaping) در بافت و متلاشی شدن در زمان فیله نمودن ماهی می‌گردد. آنزیم ترانس گلوتامیناز (Tgase, EC.2.3.2.13) باعث ایجاد پیوند در سوریمی و در نتیجه باعث قوام بخشیدن به ژل سوریمی‌در درجه حرارت بین $40-50\,C^{o}$ می‌گردد (Ashie & Lanier,2000). از سوی دیگر آنزیم تری متیل آمین اُکسید دی میتلاز (TMAO-Demethylase, EC.4.1.2.32) در ماهیان منجمد شده بعلت تولید فرم آلدئید و ایجاد باندهای پیوندی بین فرم آلدئید و پروتئین گوشت ماهی، باعث از دست رفتن خاصیت آبدار بودن گوشت و سفت شدن آن در زمان فرآوری می‌گردد.

۱-۷-۱۳- ترد و نرم شدن

از بین رفتن جمود نعشی

همانطور که قبلاً توسط (Haard,1994) در بخش ۴-۴-۱۳ گزارش گردیده است علت نرم شدن عضله آبزیان پس از جمود نعشی فعالیت آنزیم‌های کاتپسین (Cathepsins)، کالپین (Calpains) و کلاژناز (Collagenases) می‌باشد. تردشدن گوشت در آبزیان پس از از بین رفتن جمود نعشی معمولا از اهمیت چندانی در غذاهای دریائی برخوردار نمی‌باشد. اگر چه استثناهایی ممکن است وجود داشته باشد (Izquierdo-Pulido et al.,۱۹۹۲). تحقیقات اولیه نشان داد که فعالیت‌های پروتئولیتیکی در بافت ماهی ده بار بیشتر در مقایسه با بافت جانوران زمینی می‌باشد (Siebert,1985). از ۱۳ لیزوزومال کاتپسین (Lysosomal Cathepsins) شناخته شده تا بحال شش عدد از آنها مثل کاتپسین B، D، H، L، شبه L و X از عضله ماهی و سخت پوستان جدا و خالص سازی شده‌اند (Jiang,2000). همچنین پروتینازهای کالپلین (Calpanin) خنثی از عضله ماهی و سخت پوستان جدا و خالص سازی شده‌اند (Wang *et al.*, 1993). ویژگیهای این پروتینازها موجود در بافت آبزیان اخیراً جمع آوری و منتشر شده است (Jiang,2000). بیشتر تحقیقات انجام شده بر روی چگونگی ترد شدن گوشت پس از جمود نعشی بر روی جانوران خشک زی انجام شده است. بصورت کلی، مکانیسم ترد شدن گوشت بر اثر فعالیت آنزیم‌های پروتئولتیک و شکستن پیوندهای داخلی (desmin, vinculin) و خارجی (titin, nebulin, troponin-T) میوفیبریل در پروتئین می‌باشد. افزایش شکنندگی میوفیبریل در ناحیه Z-disk بوسیله آنزیم کلپین(Calpins) و در محل اتصال بین باندهای I-bands, A-bands بوسیله آنزیم لیزوزومال کاتپسین[1] علت اصلی تردی در گوشت می‌باشد.

تجزیه بافت پیوندی

شواهد موجود نشان می‌دهد که تجزیه آنزیمی‌کلاژن و نرم شدن بافت‌های در ماهیان از اهمیت خیلی بیشتری در مقایسه با بافت مشابه در جانوران خشک زی دارد. در ماهی، علت نرم شدن بافت را نسبت داده‌اند به افزایش حلالیت کلاژِن نوع V (Seto *et al.*, 1991, 1994, 1997). در ماهی کفشک Plecoglossus altivelis در حال تخم‌ریزی، تجزیه‌سریع کلاژن علت اصلی نرم شدن بافت در این ماهی می‌باشد (Itoh *et al.*,1992) .

[1] -Lysosmal cathepsins

بافت بسیار نرم در گونه‌های دیگر پس از تخم ریزی مثل ماهی کاد Gadus morhua نیز دیده شده است (Ang & Haard,1985). بررسی‌های انجام شده بوسیله میکروسکوپ الکترونی بر روی بافت پیوندی میگوهای آب شیرین، سرد شده بوسیله یخ، هم‌چنین بیانگر تجزیه شدن بافت پیوندی در میگونیز می‌باشد (Nip & Moy,1988) . از طرف دیگر مطالعات انجام شده بوسیله (Mizuta *et al.*,1997) بر روی علت نرم‌شدن بافت پیوندی در میگو کومارا (Kumara Prawn) نشان داد که علت نرم شدن بافت میگو، تجزیه آنزیمی رشته‌های غیر حلزونی در پروتئین (non-helical) می‌باشد.

۲-۷-۱۳-آنزیم‌های پروتیناز که بوسیله حرارت فعال می‌شوند

پختن گوشت ماهی و یا فرآورده‌های تولید شده از سوریمی‌در حرارت حدود ۶۰ سانتیگراد ممکن است باعث فعال شدن آنزیم‌های پروئیناز طبیعی در گوشت و در نتیجه باعث متلاشی شدن بافت فرآورده و با مواد اولیه برای تولید سوریمی‌گردد. برخلاف گوشت سرد شده آبزیان، این آنزیم‌های پروتیناز فعال شده بوسیله حرارت بر روی میوزین پروتئین معمولاً تاثیر نموده و باعث شکسته شدن آن به مقدار زیاد می‌گردند. وجود آنزیم‌های پروتینازی که بوسیله حرارت در زمان پخت فعال می‌گردند وابستگی به گونه آبزی دارد و این وابستگی به گونه بسیار متغیر می‌باشد. در بعضی از گونه ها، مثل ماهی وایتینگ (Pacific Whiting) اُقیانوس آرام (An *et al.*,1994) ، کفشک‌دندان پیکانی (Izquerdo-Pulido etal., ۱۹۹۴) ، آزاد ماهی چام (Chum Salmon) (Yamashita & Konagaya.,1991) و ماهی ماکرل (Jiang *et al.*,1997)، آنزیمی‌که باعث نرمی‌بسیار در گوشت این گونه‌ها می‌گردد، آنزیم سیستئین پروتیناز کاتپسین ال (Cystein Proteinase Cathepsin L) (EC. 3.4.22.15) یا آنزیم شبیه کاتپسین ال می‌باشد. در بسیاری دیگر از گونه آبزیان آنزیم‌های دیگری مثل آنزیم سرین پروتیناز (Serine Proteinases) که به اسم پروتیناز قلیائی نیز نامیده می‌شود، باعث شل شدن ژِل در سوریمی‌می‌گردند (Kang & Lanier,2000). تعدادی از این آنزیم‌های پروتیناز قلیائی دارای وزن مولکولی خیلی بزرگ می‌باشند (Iwata *et al.*,1973). تعدادی از آنزیم‌های پروتیناز قلیائی که باعث شل شدن ژل در سوریمی‌می‌شوند، بوسیله نمک نیز فعال می‌گردند در نتیجه در مرحله‌های شستشوی سوریمی‌بوسیله آب از سوریمی‌بوسیله آب شسته نشده و شکل آخرین در تولید فرآورده از سوریمی‌می‌باشند (An *et al.*,1944; Haard,1994 ; Kinoshita *et al.*,1990).

۳-۷-۱۳- ترانس گلوتامیناز

ترانس گلوتامیناز طبیعی با اضافه شده به سوریمی‌باعث ایجاد پیوندهای ایزوپپتید بین مولکول‌های میوزین و بهبود قوام ژل در زمان تشکیل ژل (Setting Stage) در فرآوری سوریمی می‌گردد (Ashie & Jiang,2000, Lanier,2000) . ژل تولید شده در درجه حرارت پائین در مقایسه با ژل تولید شده که بصورت مستقیم در زمان پخت تولید می‌شود از قوام بیشتری پس از پخت برخوردار می‌باشد وجود آنزیم ترانس گلوتامیناز (Tgase) در ماهیان متغیر بوده و بستگی به گونه ماهی دارد. این آنزیم در چندین گونه از ماهیان مثل کپور، قزل آلای رنگین کمان، ماهی آزاد، آتاکا قباد (Atka Mackerel) و شوریده سفید (White Croaker) شناسائی گردیده است (Ashie & Lanier,2000). آنزیم ترانس گلوتامیناز از گوشت و سوریمی تهیه شده از ماهی آلاسکاپولاک استخراج و خالص سازی گردیده است (Seki *et al.*,1990). آنزیم‌های دیگر ممکن است در ایجاد پیوند بین پروتئین شرکت داشته باشند ولی تاکنون در فرآورده‌های دریائی مورد مطالعه قرار نگرفته‌اند (Haard,2001).

۴-۷-۱۳- گوله شدن پروتئین در ماهی منجمد

بافت ماهی منجمد شده در زمان نگهداری در سرد خانه ممکن است خشک و فیبری گردد. علت بیشتر این فرآیند دناتوره و گوله شدن پروتئین‌های میوفیبریل و احتمالاً کلاژن می‌باشد (Haard, 1992a). بنظر می‌رسد آنزیم‌ها از چند راه به ایجاد این ناهنجاری کیفی کمک می‌نمایند. اسیدهای چرب حاصل از هیدرولیز چربی و یا فسفولیپیدها با پروتئین‌های میوفیبریل تشکیل پیوند داده و باعث دناتوره و گوله شدن پروتئین گردند. ضمناً مواد شیمیایی تولید شده از اکسیده شدن چربی مثل مالون آلدئید (Malonaldehyde) یا بوتیر آلدئید (Butyraldehyde) با پروتئین ترکیب و تولید پروتئین‌های فلورسنت نمایند (Leak & Karel,1985). آنزیم تری متیل آمین اکسید دی متیلاز در ماهی منجمد تولید فرم آلدئید و دی متیل آمین می‌نماید. وجود فرم آلدئید در گوشت ماهی را مرتبط با از دست رفتن کیفیت بافت ماهی منجمد شده، بخصوص در ماهیان گونه Gadoid دانسته‌اند (Castel *et al.*,1971 ;Stelo & Rehbein, *et al.*,1971). گزارش‌های مربوط به استخراج و خالص سازی این پروتئین‌های غشائی فلورسنت در گونه‌های مختلف توسط (Sotelo & Rehbein,2000) جمع آوری و گزارش گردیده است.

۱۳-۸- استفاده از آنزیم‌ها در فرآوری و کنترل کیفیت غذاهای دریائی

در طول سه دهه اخیر استفاده از آنزیم‌ها در فرآوری ماهی بعنوان یک ابـزار کمـی‌و روش‌هـای آزمایشـگاهی در صنایع غذایی دریائی به نحو چشم گیری افزایش داشته است. استفاده از آنـزیم‌هـا در فـرآوری غـذاهای دریـائی دارای مزیت‌های فراوانی در مقایسه با بیشتر روش‌های مرسوم (سنتی) به چند دلیل زیر می‌باشد. معمولاً، واکنش های آنزیمی‌انرژی کمتری مصرف می‌کنند، با محیط زیست سازگارترند، اختصاصی‌تر عمل می‌کنند، واکنش‌هـای جانبی زیان آور کمتری را ایجاد می‌کنند، می‌توان آنها را در تحت شرایط نسبتاً متعـادل از نظـر درجـه حـرارت و PH بکار برد و همچنین به سادگی قابل کنترل می‌باشند. استفاده از آنـزیم‌هـا بعنـوان روش‌هـای آزمایشـگاهی، بعنوان تشخیص دهنده‌های زیستی، برای کنترل کیفیت، شناسائی گونه‌ها و درجه تازگی بوسـیله صـنایع غـذایی دریائی مدت‌ها است که بکار گرفته شده است. بالاخره، آنزیم‌ها از ضایعات کارخانه‌های فرآوری غذاهای دریـائی، جداسازی و به‌عنوان مواد افزودنی در صنایع زیادی مورد استفاده قرار می‌گیرند. استفاده از آنزیم‌هـا در فـرآوری و کنترل کیفیت غذاهای دریائی توسط تعداد زیادی از پژوهشگران مورد بازنگری، جمع‌آوری و نتایج منتشر گردیده است. برای اطلاعات بیشتر، خواننده می‌تواند به مرجع‌های زیر مراجعه نماید.

(Haard & Simpson, 1985, Reece, 1988, Stefansson & Steingrim sdottir, 1990, Haard, 1992c, Gildberg, 1993, Haard & Simpson, 1994, Kolodziejska & Sirkorski, 1995, de Vecchi & Coppes, 1996, Raa, 1997, Vilhelmsson, 1997, Haard, 1998, Diaz-Lopez & Garcia-Carreno, 2000, Gildberg et al., 2000, An & Visessanguan, 2000, Venugopal et al., 2000).

این موضوع مورد علاقه پژوهشگران زیادی در سراسر دنیا بوده و در کشورهایی مثل دانمارک، کانادا، هند، نـروژ، لهستان، اسپانیا، آمریکا و اُروگوئه مورد بررسی قرار گرفته و نتایج بدست آمده در مرجـع‌هـای داده شـده نشـانگر اهمیت جهانی بودن آن نیز می‌باشد.

۱۳-۹- استفاده از آنزیم‌ها در فرآوری غذاهای دریائی

۱۳-۹-۱- آنزیم‌های پروتئولیتیک

مهم ترین آنزیم‌های مورد استفاده در فرآوری غذاهای دریائی، آنزیم‌های پروتیناز می‌باشند، چگـونگی اسـتفاده از این آنزیم‌ها و کاربرد آنها در صنایع فرآوری غذاهای دریائی در جدول ۴-۱۳ داده شده است. برای بعضی فرآوری ها، مثل تولید سس ماهی و جداسازی پروتئین ها، نیاز به آنزیم پروتیناز و یا مخلوطی از این آنزیم‌ها می‌باشد کـه

در ضمن اختصاصی عمل کردن قادر به هیدرولیز باندهای پپتیدی در یک دامنه وسیعی باشند. از طرف دیگر در بعضی موارد مثل جداسازی کاروتینوپروتئین و یا تولید ترشی از شک ماهی (Matjes Herring) نیاز به آنزیم‌هایی می‌باشد که حیطه عمل آنها اختصاصی‌تر و دامنه آن متل تریپسین محدود باشد. یکی از مشکل‌هایی که غالباً در هیدرولیز پروتئین‌ها مشاهده می‌شود تولید پپتیدهای تلخ مزه می باشند (Haard,2001). آنزیم‌های پروتینازی و کاربرد آنها که در جدول ۴-۱۳ بصورت خلاصه شده آورده شده. این آنزیم‌ها معمولاً بیشتر از آنزیم‌هایی هستند که از ضایعات دستگاه گوارش ماهیان (Simpson,2000) تهیه گردیده‌اند، اگرچه بعضی مواقع از آنزیم‌های پروتیناز مترشحه از باکتری ها، گیاهان و جانوران خشکی زی در این مطالعه‌ها استفاده به عمل آمده است.

آنزیم‌های دیگر

آنزیم‌های دیگر که در فرآیندهای فرآوری غذاهای دریائی مورد استفاده قرار می‌گیرند عبارتند از آنزیم ترانسفراز (Tgase)، اکسی ردوکتاز(Oxidoreductases) , (Glucose Oxidase, Superoxide dismutase) و آنزیم‌های هیدرولاز (Lipase, PHospholipase, Lysozyme, Urease, Carbohydrases). این آنزیم‌ها در جدول ۵-۱۳ بصورت خلاصه شده آورده شده‌اند. در بین این آنزیم‌ها، آنزیم ترانسفراز Tgase بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. کاربردهای آنزیم Tgase در فرآوری غذاهای دریائی بیشتر در قوام بخشیدن به ژل سوریمی‌و فرآورده‌های شبه سوریمی، پیونددادن مواد افزودنی به پروتئین‌های ماهی، ورقه‌های گوشتی تولید شده از ماهی، فرآورده‌های خام و پخته تهیه شده از تخمک ماهی، بافت باله اصلاح شده بوسیله ژلاتین، فرآوری باله کوسه، کم نمودن آبچک در ماهی یخ زدائی شده، ترد نمودن بافت فرآورده‌های منجمد شده و چسباندن قطعه‌های ماهی به شکل موردنظر است (Venugopal *et al.*,2000) .

جدول ۴-۱۳- کاربرد آنزیم‌های هیدرولیز کننده پروتئین در فرآوری غذاهای دریایی

کاربرد	مرجع
کاروتنو پروتئین از ضایعات سخت پوستان	Simpson and Haard.; (1985)
تولید خاویار و تخمک ماهی	Sugihara *et al.*, (1973)
پوست گیری از صدف	Fehmerling., (1970)
آرد ماهی و گران روی آب چسبنده	Jacobsen and Rasmussen., (1984)
پروتئین هیدرولیز شده ماهی	Barzana and Garcia-Garibay (1994)
سس ماهی	Raksakulthai *et al.*, (1986)
فرآورده از شک ماهی	Simpson and Haard., (1984)
پپتون از ماهی کامل	Gildberg *et al.*, (1989)
جلوگیری از تولید لخته در کنسرو ماهی آزاد	Yamahoto and Msckey, (1981)
بازیافت پروتئین از ضایعات اسکلت ماهی	Kim *et al.*, (1997)
پروراندن ماهی شور شده	Gora, (1972)
جداسازی فلس از ماهی	Stefansson and Steingrimsdottir., (1990)
تولید طعم و مزه در غذاهای دریایی	In, (1990)
تولید فرآورده از اسکوئید	Lee *et al*., (1982)
استخراج طعم و مزه از میگو	Gildberg *et al.*, (2000)
پوست کنی و رگ زنی در میگو	Fehmerling., (1970)
پوست کنی	Stefansson, (1988)
ترد نمودن اسکوئید	Kolodziejska *et al.*, (1992)
جداسازی غشاء کیسه شنا	Stefansson and Steingrimsdottir, (1990)

جدول ۵-۱۳ کاربرد آنزیم‌های دیگر در فرآوری غذاهای دریائی

آنزیم	کاربرد	مرجع
آمیلاز، سلولاز	پوست گیری صدف	Scott, (1975b)
کربوهیدرازها	پوست گیری	Stefansson, (1988)
گلوکز اکسیداز	حفظ رنگ در میگو	Scott, (1975a)
گلوکز اکسیداز	حفظ رنگ در گوشت هوور	Koczot *et al.*, (1985)
گلوکز اکسیداز	نگهداری	Field *et al.*, (1986)
لیپاز	تعمیر در روغن آبزیان دریایی	Wanasundra and Shahidi, (1991)
لیزوزیم	نگهداری	Ramesh and Lewis, (1980)
فسفولیپاز A_2	تغییر در روغن آبزیان دریایی	Tocher *et al.*, (1986)
سوپراکسید دیسموتاز	نگهداری	Ashie *et al.*, (1996)
ترانس گلوتامیناز	بهینه سازی بافت	Ashie and Lanier (2000)
اوره آز	کم کردن بوی بد	Ghosh, (1989)

۲-۹-۱۳- کاربرد آنزیم بعنوان یک ابزار آزمایشگاهی برای تعیین کیفیت

آنزیم‌های درونی بعنوان شاخص کیفیت

از فعالیت آنزیم‌های درونی ماهی و فرآورده‌های آن می‌توان برای تعیین درجه تازگی، طول زمان نگهداری در انبار و یا کیفیت آنان استفاده نمود (Gopakumar,2000). در جدول۶-۱۳ نمونه‌هایی از چگونگی استفاده از آنزیم برای تعیین کیفیت داده شده است. برای‌اندازه گیری درجه تازگی ماهی، از شدت فعالیت آنزیم های، بعنوان نشانگر، استفاده به عمل می‌آید. کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در طول مدت زمان نگهداری، بیانگر کاهش کیفیت در ماهی می‌باشد. در بعضی از بازارهای فروش ماهی، مثل اروپا ماهی تازه از قیمت بالاتری در مقایسه با ماهی منجمد شده برخوردار هستند. آنزیم‌های موجود در غذاهای دریائی منجمد شده، بعلت انجماد، اجزاء آن از هم جدا و در زمان یخ زدائی ماهی دارای فعالیت کمتری می‌باشند از این پدیده بعنوان یک شاخص، برای تعیین طول زمان نگهداری ماهی منجمد شده در انبار سردخانه استفاده بعمل می‌آید.

آنزیم‌های خارجی بعنوان نشانگرهای زیستی

در ارزیابی کیفیت ماهی، ممکن است از آنزیم‌های خارجی بعنوان یک ابزار تعیین کیفیت استفاده نمود. در جدول ۷-۱۳ تعدادی از آنزیم‌هایی را که از فعالیت آنها برای تعیین کیفیت غذاهای دریائی استفاده می‌شود، آورده شده‌اند. در بررسی های اولیه با استفاده از واکنش‌های آنزیم‌ها در لوله آزمایش بعنوان (Enzyme Test Tube Assay) برای تعیین کیفیت غذاهای دریائی استفاده می‌گردید. اما اخیراً از روش‌های پیشرفته تری که در آن از آنزیم‌های غیر متحرک (Imobilized) که قابل استفاده مجدد نیز می‌باشند بعنوان نشانگرهای زیستی استفاده می‌شود. نشانگر زیستی هیپوزانتین که بوسیله واتابل و همکاران اختراع گردیده است، قادر به انجام بیش از صد آزمایش تعیین کیفیت بوده و در $5C^{\circ}$ بمدت یکماه نیز پایدار است (Watanabe *et al.*,1983) . آینده پیشرفت‌هایی که در این زمینه پیش بینی می‌شود، استفاده از نشانگرهای زیستی می‌باشد که قادرند همزمان تعدادی از پارامترهای مربوط به کیفیت برای هرگونه رااندازه گیری و با هم مقایسه نمایند. سپس این اطلاعات بصورت بانک اطلاعاتی مورد استفاده قرار گیرند.

جدول ۶-۱۳- کاربرد آنزیم‌های داخلی ماهی بعنوان نشانگرهای زیستی برای تعیین کیفیت ماهی

آنزیم	اندازه گیری	مرجع
Ca^{+2} ATPase	کیفیت ماهی منجمد	Nambudiri and gopakumar (1990)
Ca^{+2} ATPase	کیفیت سوریمی	Katoh *et al.*, (1969)
lactate dedhydro genase	کیفیت ماهی نگهداری شده در یخ و منجمد شده	Nambudiri and gopakumar, (1990)
sarcoplasmic Mg^{+2} ATPase	درجه تازگی ماهی در زمان انبارداری در زیر یخ	Yamanaka and mackie (1961)
trans glutaminase	قدرت ژل در سوریمی	An *et al.*, (1996)
various lysosomal and mitochondrial enzymes	تاریخچه انجماد زدائی ماهی و سخت پوستان	Chhatbar and velanker, (1966).

جدول ۷-۱۳- کاربرد آنزیم‌های بیرونی در ماهی بعنوان نشانگرهای زیستی برای تعیین کیفیت ماهی

آنزیم	اندازه گیری	مرجع
۵- نوکلئوتاز، نوکلئوساید، فسفریلاز و زانتین اکسیداز	K-value	Lou, (1998)
الکل دهیدروژناز	اتانول در کنسرو ماهی	Gill, (1990)
دی آمین اکسیداز پراکسیداز	هیستامین	Lopez- Sabater *et al.*, 1993)
ELISA	شناسائی گونه	Carrera, (1996)
گلوتامات دی هیدروژناز	آمونیاک	Huss, (1995)
اُکتوپین دی هیدروژناز پیرووات اکسیداز	تازگی اسکالوپ	Shin *et al.*, (1996)
پورین نوکلئوساید، فسفریلاز زانتین اکسیداز	ATPase	Chenu *et al.*, (1996)
یوترسین اکسیداز	پلی آمین‌ها	Chemnitius *et al.*, (1992)
تری متیل آمین دی هیدروژناز	تری متیل آمین	Wong and Gill, (1987)
اوره آز	اوره	Sheppard *et al.*, (1996)
زانتین اکسیداز	هیپوزانتین	Shen *et al.*, (1996)

۳-۹-۱۳- تهیه آنزیم‌ها بعنوان فرآورده‌های جانبی از ضایعات کارخانه‌های غذاهای دریائی:

اگرچه بیشتر آنزیم‌های صنعتی از میکروارگانیسم ها، گیاهان و جانوران در خشکی بعنوان یک فرآورده جانبی تهیه می‌گردند، ولی در حال حاضر تقاضا برای آنزیم‌های بدست آمده از آبزیان رو به افزایش است (Haard,1998). استفاده از آنزیم‌هایی هم مانند (Homologous) برای کاربردهای ویژه دارای برتری بیشتری نسبت به استفاده از آنزیم‌های سنتی می‌باشد. علت این امر در فرق بین چگونگی انجام واکنش‌ها و خصوصیات فیزیکوشیمیائی این دو گروه آنزیم از هم نهفته است. برای نمونه بعضی از تفاوت‌ها بین تریپسین

تهیه شده‌اند از آبزیان و گاو در جدول ۸-۱۳ بصورت خلاصه، نشان داده شده است. ویژگی‌های اصلی آنزیم‌هایی هم مانند جداشده از آبزیان سردآبی شامل مقاومت حرارتی پائین‌تر و فعالیت مولکولی بیشتر در درجه حرارت‌های پاینتر می‌باشند (Simpson & Haard,1987a). بنابراین می‌توان از این آنزیم‌ها در غلظت‌های کم و در درجه حرارت پائین‌تر در مقایسه با آنزیم‌های تهیه شده از موجودات خون گرم استفاده نمود. از طرف دیگر این آنزیم‌ها در درجه حرارت پایینتر در مقایسه با آنزیم‌های سنتی بوسیله حرارت غیرفعال شده و در نتیجه خطر ایجاد واکنش‌های جانبی که نیاز به درجه حرارت بالاتر را دارند وجود ندارد. بعضی از کاربردهای آنزیم‌ها بدست آمده از آبزیان سردآبی در جدول ۹-۱۳ خلاصه گریده‌اند. روش‌های مختلفی برای تهیه آنزیم‌ها بصورت اقتصادی از ضایعات کارخانه‌های صنایع شیلاتی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. این روش‌ها شامل استفاده از سیلاژ ماهی، تغلیظ غشائی، حرارت اُهمیک، دناتوره کردن انتخابی بوسیله حرارت (Selective heat denaturation)، جداسازی بوسیله لایه‌های آبی (Aqueous Two phase Systems) و کروماتوگرافی[1] پیشرفته می‌باشند (An & Visessanguan,2000).

[1] -Scale-up chromatography

جدول ۸-۱۳ مقایسه بعضی از شاخص‌های آنزیم ترتپسین در جانوران خاکی و آبی

شاخص	جانوران خاکی	جانوران آبی
پایداری pH اسیدی	خیلی بالا	خیلی پائین
پایداری pH قلیایی	متوسط	بالا
واکنش اختصاصی	مثل هم	مثل هم
ضریب ثابت Michaelis	پائین	بالا
فعالیت مولکولی در $0-5^{\circ}C$	پائین	بالا
اُپتیم PH	مثل هم	مثل هم
حساسیت در مقابل سویابین	متوسط	خیلی بالا
ضریب حرارتی	۲	۱/۴-۱/۶
درجه دناتوره شدن	$80^{\circ}C$	۳۵-۴۵

مقایسه انجام شده در بالا بیشتر بین تریپسین جداشده از آبزیان سردآبی با تریپسین گاو می‌باشد.

جدول ۹-۱۳ کاربرد آنزیم‌های تهیه شده از آبزیان سردآابی

آنزیم	منبع	کاربرد	مرجع
آلکالین فسفاتاز	میگو صورتی شمال	کیت r-DNA	OLSEN et al., (1990)
آمینوپپتیداز	ILLEX SQUID	رساندن پنیر چدار	RAKSAKULTHAL et al., (2001)
کلاژناز	خرچنگ	تولید خاویار	GILDBERG, (1993)
پروتیناز دستگاه گوارش	ILLEX SQUID	سرعت بخشیدن به تولید سس از ماهی	RAKSAKULTHAI et al., (1986)
لیپاز	ماهی کاد اقیانوس آرام	ایجاد تغییرات در روغن	LIE AND LAMBERTSON (1985)
لیزوزیم	اسکالوپ قطب شمال	مواد ضد میکروبی	MYRNES AND JOHANSEN (1994)
پپسین	ماهی کاد اقیانوس آرام و قطب شمال	COLD RENNETING	BREWER et al., (1984)
پپسین	ماهی کاد اقیانوس آرام	جدا کردن پوست	Haard, (1992c)
تریپسین	ماهی کاد گرین لند	جلوگیری از اکسیده شدن طعم مزه در شیر	SIMPSON AND HAARD, (1984)
تریپسین	ماهی کاد گرین لند	سرعت بخشیدن به تخمیر شک ماهی	SIMPSON AND HAARD, (1984)
تریپسین	ماهی کاد اقیانوس آرام	جداسازی کاروتنین پروتئین از ضایعات میگو	CANO-LOPEZ et al., (1987)
تریپسین/ کیموتریپسین	کفشک ماهی Torbot	استخراج طعم و مزه از میگو	GILDBERG et al., (2000)

۱۰-۱۳- منابع فصل سیزدهم

ABE, H. and OKUMA, E. (1991) Rigor-mortis progress of carp acclimated to different water temperatures. *Nippon Suisan Gakk*, 57, 2095–100.
AL-SHAIBANI, K. A. (1977) Purification of metmyoglobin reductase from bluefin tuna. *J Food Sci*, 42, 1013.
ALMY, L. H. (1926) The role of the proteolytic enzymes in the decomposition of the herring. *J Am Chem Soc*, 48, 2136–46.
AN, H., PETERS, M. Y. and SEYMOUR, T. A. (1996) Roles of endogenous enzymes in surimi gelation. *Trends Food sci Technol*, 7, 321–7.
AN, H. and VISESSANGUAN, W. (2000) Recovery of enzymes from seafoodprocessing wastes. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B. K.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 641–64.
AN, H., WEERASINGHE, V. and SEYMOUR, T. (1994) Cathepsin degradation of Pacific whiting surimi proteins. *J Food Sci*, 59, 1013–17.
ANG, J. and HAARD, N. F. (1985) Chemical composition and postmortem changes in soft textured muscle from intensely feeding Atlantic cod, *Gadus morhua. J Food Biochemistry*, 9, 49–64.
ARIHARA, K., ITOH, M. and KONDO, Y. (1991) Biochemical basis for meat color control systems. *Rakuno Kagaku Shokuhin no Kenkyu*, 40, 317–22.
ASHIE, I. N., SIMPSON, B. K. and SMITH, J. P. (1996) Spoilage and shelf life extension of fresh fish and shellfish. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 36, 87–121.
ASHIE, I. N. A. and LANIER, T. C. (2000) Transglutaminases in seafood processing. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B. K.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 147–90.
BAIROCH, A. (2000) The enzyme database in 2000 *Nucleic Acids Res.*, 28, 304–5.
BARZANA, E. and GARCIA-GARIBAY, M. (1994) Production of fish protein concentrates. In *Fisheries Processing: Biotechnological Applications* (ed. Martin, A. M.) Chapman & Hall, London, pp. 206–22.
BOON, D. D. (1975) Discoloration in processed crab meat. A review. *J Food Sci*, 40, 756–61.
BRACHO, G. and HAARD, N. F. (1995) Identification of two matrix metalloproteinases in the skeletal muscle of Pacific rockfish (*Sebastes sp*.). *J Food Biochemistry*, 19, 299–319.
BREMNER, H. A. (1992) Fish flesh structure and the role of collagen-its postmortem aspects and implications for fish processing. In *Quality Assurance in the Fish Industry* (eds, Huss, H. H., Jacobsen, M. and Liston, J.) Elsevier, London, pp. 39–62.
BREWER, P., HELBIG, N. and N.F., H. (1984) Atlantic cod pepsin. Characterization and use as a rennet substitute. *Can Inst Food Sci Technol J*, 17, 38–43.
BURT, J. R. (1966) Glycogenolytic enzymes of cod (*Gadus callaria*) muscle. *J Fish Res Bd Can*, 23, 527.

BURT, J. R. (1971) Changes in sugar pHospate and lactate concentration in trawled cod (*Gadus callarias*) muscle during frozen storage. *J Sci Food Agric*, 22, 536–9.

CADWALLADER, K. R. (2000) Enzymes and flavor biogenesis in fish. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B. K.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 365–83.

CANO-LOPEZ, A., SIMPSON, B. K. and HAARD, N. F. (1987) Extraction of carotenoprotein from shrimp process waste with the aid of trypsin from Atlantic cod. *J Food Sci*, 52, 503–4.

CANTONI, G. L. and ANDERSON, D. G. (1956) Enzymatic cleavage of dimethylpropriothetin by *PolysipHonia lanosa. J Biol Chem*, 222, 171–7.

CARRERA, E. (1996) Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the identification of smoked salmon (*Salmo salar*), trout (*Oncrhynchus mykiss*) and bream (*Brama raii*). *J Food Protect*, 59, 521–4.

CASTELL, C. H., SMITH, B. and NEAL, W. (1971) Production of dimethylamine in muscle of several species of gadoid fish during frozen storage, especially in relation to presence of dark muscle. *J Fish Res Board Can*, 28, 1–5.

CEPEDA, R., CHOU, E., BRACHO, G. and HAARD, N. F. (1990) An immunological method for measuring collagen degradation in muscle of fish. In *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability* (eds, Voigt, M. N. and Botta, J. R.) Technomic Publishing Co., Lancaster, pp. 487–506.

CHAN, K. M. and DEKKER, E. A. (1994) Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutri*, 34, 403–26.

CHANG-LEE, M. V., PACHECO-AGUILAR, R., CRAWFORD, D. L. and LAMPILA, L. E. (1989) Proteolytic activity of surimi from Pacific whiting (*Merlucciu productus*) and heat-set gel texture. *J Food Sci*, 54.

CHEMNITIUS, G. C., SUZUKI, M., ISOBU, K., KIMURA, J., KARUBE, I. and SCHMID, R. D. (1992) Thin-film polyamine biosensor: Substrate specificty and application to fish freshness determination. *Anal Chimica Acta*, 263, 93–100.

CHEUN, B., ENDO, H., HAYSHI, T. and WATANABE, E. (1996) Development of a sensor for ATPase activity. *Fisheries Sci Tokyo*, 62, 950–4.

CHHATBAR, S. K. and VELENKAR, N. K. (1977) A biochemical test for the distinction of fresh fish from frozen and thawed fish. *Fish Technol*, 14, 131–6.

CHIHARA, M. (1982) *Common Seaweeds of Japan in Color,* Hoikusha Publishing Co., Ltd., Osaka.

CLARK, G. J. and WARD, D. R. (1988) Purification and properties of trimethylamine N-oxide reductase from *Schewanella* sp. NCMB 400. *J Gen Microbiol*, 133, 379–86.

DE VECCHI, S. and COPPES, Z. (1996) Marine fish digestive enzymes. Relevance to food industry and the South-West Atlantic region – a review. *J Food Biochemistry*, 20, 193–214.

DEVIDO DE MATTIO, N., PAREDI, M. E. and CRUPKIN, M. (1992) Post mortem changes in glycogen, ATP, hypoxanthine and 260/250 absorbance ratio in

extracts of adductor muscles from *Aulacomya ater ater* (Molina) at different biological conditions. *Comp Biochem PHysiol*, 103A, 605–8.
DIAZ-LOPEZ, M. and GARCIA-CARRENO, F. L. (2000) Applications of fish and shellfish enzymes in food and feed products. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B. K.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 571–618.
FEHNERLING, G. B. (1970) Separation of edible tissue from edible flesh of marine creatures. US Patent No 3513071.
FIELD, C. E., PIVARNIK, L. F., BARNETT, S. M. and RAND, A. G. (1986) Utilization of glucose oxidase for extending the shelf life of fish. *J Food Sci*, 51, 66–70.
FINNE, G. (1982) Enzymatic ammonia production in penaied shrimp held on ice. In *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products* (eds, Flick, G. E., Hebard, C. E. and Ward, D. W.) AVI, Westport, pp. 323–31.
FINNE, G. (1992) Non-protein nitrogen compounds in fish and shellfish. In *Advances in Seafood Biochemistry* (eds, Flick, G. J. and Martin, R. E.) Technomic Publishing Co., Lancaster, pp. 393–401.
FOEGEDING, E. A., LANIER, T. C. and HULTIN, H. O. (1996) Characteristics of edible muscle tissues. In *Food Chemistry* (ed. Fennema, O. R.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 879–942.
FOX, D. L. (1979) *Biochromy: Natural Coloration of Living Things.,* University of California Press, Berkeley.
FRASER, D. I., WEINSTEIN, W. J. and DYER, W. J. (1965) Post-mortem glycolytic and associated changes in the muscle of trap- and trawl-caught cod. *J Fish Res Bd Can*, 22, 83–100.
FUJIMOTO, K. and KANEDA, T. (1973a) Studies on the brown discoloration of fish products. IV. Nitrogen content of the browning substances. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 39, 179–83.
FUJIMOTO, K. and KANEDA, T. (1973b) Studies on the brown discoloration of fish products. V. Reaction mechanism in the early stage. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 39, 185–90.
FUJIMURA, T. and KAWAI, T. (2000) Enzymes and seaweed flavor. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B. K.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 385–409.
FUJITA, Y., MATSUMOTO, T. and MATSUDA, T. (1978) On the browning discoloration in fish jelly products. VII. The mechanism of browning precursor production by *Enterobacter cloacae* UFF-107. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 44, 643–51.
GHOSH, S. (1989) A simple method to remove urea from shark. *J Food Sci Technol*, 26, 164–5.
GILDBERG, A. (1993) Enzymic processing of marine raw materials. *Process Biochem*, 28, 1–15.
GILDBERG, A., BATISTA, I. and STROM, E. (1989) Preparation and characterization of peptones obtained by two-step enzymatic hydrolysis of whole fish. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 11, 413–23.

GILDBERG, A., SIMPSON, B. K. and HAARD, N. F. (2000) Uses of enzymes from marine organisms. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B. K.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 619–39.
GILL, T. (2000) Nucleotide-degrading enzymes. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B. K.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 37–68.
GILL, T. A. (1990) Objective analysis of seafood quality. *Food Rev Int*, 6, 681–714.
GOPAKUMAR, K. (2000) Enzymes and enzyme products as quality indices. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B. K.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 337–3.
GORA, A. (1972) The technology of light salting of herring and mackerel and of enzymatically salted herring fillets. Sea Fisheries Institute, Gdynia, pp. 1–37.
GREER-WALKER, M. (1970) Growth and development of the skeletal muscle fibers of the cod (*Gadus morhua*, L.). *J. Cons. Int. Explor. Mer.*, 33, 228–44.
HAARD, N. F. (1987) Protein and non-protein constituents in jellied American plaice, *Hippoglossoides platessoides*. *Can Inst Food Sci and Technol J*, 20, 98–101.
HAARD, N. F. (1990) Enzymes from food myosystems. *J Muscle Foods*, 1, 293– 338.
HAARD, N. F. (1992a) Biochemical reactions in fish muscle during frozen storage. In *Seafood Science and Technology* (ed. Bligh, E. G.) Fishing News Books, Oxford, pp. 176–209.
HAARD, N. F. (1992b) Biochemistry and chemistry of color and color changes in seafoods. In *Advances in Seafood Biochemistry* (eds, Flick, G. J. and Martin, R. E.) Technomic Publishing Co., Lancaster, pp. 305–60.
HAARD, N. F. (1992c) A review of proteolytic enzymes from marine organisms and their application in the food industry. *J Aquatic Food Product Technol*, 1, 17-35.
HAARD, N. F. (1992d) Technological aspects of extending prime quality of seafoods: a review. *J Aquatic Food Product Technol*, 1, 9–27.
HAARD, N. F. (1994) Protein hydrolysis in seafood. In *Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality* (eds, Shahidi, F. and Botta, R.) Chapman and Hall, London, pp. 10–33.
HAARD, N. F. (1998) Specialty enzymes from marine organisms. *Food Tech*, 57, 64–7.
HAARD, N. F. (2000) Seafood enzymes: The role of adaptation and other intraspecific factors. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B. K.) Marcel Dekker, Inc, New York, NY, pp. 1–36.
HAARD, N. F.. (2001) Enzymic modification of proteins. In *The Chemical and Functional Properties of Food Proteins* (ed. Sikorski, Z.) Technomic Publishing Co., Lancaster, pp. 155–90.
HAARD, N. F. and ARCILLA, R. (1985) Precursors of Maillard browning in dehydrated squid, *Illex illecebrosus*. *Can Inst Food Sci Technol J*, 18, 326–31.
HAARD, N. F. and SIMPSON, B. K. (1985) Cold-adapted enzymes from fish. In *Food Biotechnology* (ed. Knorr, D.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 495–

527.
HAARD, N. F. and SIMPSON, B. K. (1994) Proteases from aquatic organisms and their uses in the seafood industry. In *Fisheries Processing: Biotechnological applications* (ed. Martin, A. M.) Chapman and Hall, London, pp. 132–54.
HILTZ, D. F., BISHOP, L. J. and DYER, W. J. (1973) Accelerated nucleotide degradation and glycolysis during warming to and subsequent storage at ÿ5ºC in pre-rigor cod muscle frozen at various rates. *J Fish Res Bd Can*, 31, 1181–7.
HULTIN, H. O. (1992) Biochemical deterioration of fish flesh. In *Quality Assurance in the Fish Industry* (eds, Huss, H. H., Jakobsen, M. and Liston, J.) Elsevier, Oxford, pp. 125–38.
HUSS, H. H. (1995) *Quality and quality changes in fresh fish* FAO, Rome.
HUYNH, M. D., MACKEY, J. and GAWLEY, R. (1992) Freshness assessment of Pacific fish species using K-value. In *Seafood Science and Technology* (ed. Bligh, E. G.) Fishing News Books, Oxford, pp. 258–68.
IIDA, H., NAKAMURA, K. and TOKUNAGA, T. (1985) Dimethyl sulfide and dimethyl- _-propriothetin in sea algae. *Bull Japn Soc Sci Fish*, 51, 1145–50.
IN, T. (1990) Seafood flavourants produced by enzymatic hydrolysis. In *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability* (eds, Voigt, M. N. and Botta, J. R.) Technomic Publishing, Lancaster, pp. 425–36.
ITOH, K., TOYOHARA, H., ANDO, M. and SAKAGUCHI, M. (1992) Disintegration of the pericellular connective tissue of ayu muscle in the spawning season relevant to softening. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 1553.
IWAMOTO, M., YAMNAKA, H., WATABE, S. and HASHIMOTO, K. (1991) Changes in ATP and related breakdown compounds in the adductor muscle of Itayagai scallop *Pecten albicans* during storage at various temperatures. *Nippon Suisan Gakk*, 57, 153–6.
IWATA, K., KOBASHI, K. and HASE, J. (1973) Studies on muscle alkaline protease. I Isolation, purification and some pHysico-chemical properties of an alkaline protease from carp muscle. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 39, 1325–37.
IZQUIERDO-PULIDO, M. L., HAARD, T. A., HUNG, J. and HAARD, N. F. (1994) Oryzacystatin and other proteinase inhibitors in rice grain: Potential use as fish processing aid. *J Agric Food Chem*, 42, 616–22.
IZQUIERDO-PULIDO, M., HATAE, K. and HAARD, N. F. (1992) Nucleotide catabolism and changes in texture during ice storage of cultured sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *J Food Biochemistry*, 16, 173–92.
JACOBSEN, F. and RASMUSSEN, O. L. (1984) Energy savings through enzymatic treatment of stickwater in the fish meal industry. *Process Biochem*, 19, 165–9.
JIANG, S.-T. (2000) Enzymes and their effects on seafood texture. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B. K.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 411–50.

JIANG, S. T., LEE, J. J. and CHEN, H. C. (1997) Mackerel cathepsin B and L effects on thermal degradation of surimi. *J Food Sci*, 62, 1–6.
JOSEPHSON, D. B. and LINDSAY, R. C. (1986) Enzymatic generation of volatile aroma compounds from fresh fish. In *Biogeneration of Aromas* (eds, Parliment, T. H. and Croteau, R.) American Chem Soc, Washington, D.C., pp. 201–21.
KAJIWARA, T., MATSUI, K. and AKAKABE, Y. (1996) Biogeneration of volatile compounds via oxylipins in edible seaweeds. In *Biotechnology for Improved Foods and Flavors*, Vol. 637 (eds, Takeoka, G. R., Teranishi, R. and Williams, P. J.) American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 146–66.
KANG, I.-S. and LANIER, T. C. (2000) Heat-induced softening of surimi gels by proteinases. In *Surimi and Surimi Seafood* (ed. Park, J. W.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 445–74.
KANNER, J. and KINSELLA, J. E. (1983) Lipid deterioration initiated by pHagocytic cells in muscle foods; beta carotene destruction by myeloperoxidasehalide system. *J Agric Food Chem*, 31, 370–6.
KARUBE, H., MATSUOKA, H., SUZUKI, S., WATANABE, E. and TOYAMA, K. (1984) Determination of fish freshness with an enzyme sensor. *J Agric Food Chem*, 32, 314–19.
KATOH, N., NOZAKI, N., KOMATSU, K. and ARAI, K. (1979) A new method for evaluation of quality of frozen surimi from Alaska pollack. Relationship between myofibrillar ATPase activity and kamaboko forming ability of frozen surimi. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 48, 1027–32.
KIM, J., MARSHALL, M. R. and WEI, C.-I. (2000) PolypHenoloxidase. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B.K.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 271–315.
KIM, S. K., JEON, Y. J., BYENN, H. G., KIM, Y. T. and LEE, C. K. (1997) Enzymatic ecovery of cod frame proteins with crude proteinases from tuna pyloric caeca. *Fisheries Sci (Tokyo)*, 63, 421–7.
KINOSHITA, M., TOYOHARA, H. and SCHIMIZY, Y. (1990) Diverse distribution of four distinct types of modori (gel degrading)-inducing proteinases among fish species. *Nippoon Suisan Gakkaishi*, 56, 1485–92.
KOCZOT, A. B., , SZEWCZUK, M. A. and MALDER, J. (1985) Protecting fish against color changes during refrigeration *Poland*, pp. 2.
KOLODZIEJSKA, I., PACANA, J. and SIKORSKI, Z. E. (1992) Effect of squid liver extract on proteins and on cooked squid mantle. *J Food Biochemistry*, 16, 141–50.
KOLODZIEJSKA, I. and SIKORSKI, Z. E. (1995) The properties and utilization of proteases of marine fish and invertebrates. *Pol J Food Nutr Sci*, 45, 5–12.
LEAKE, L. and KAREL, M. (1985) Nature of fluorescent compounds generated by exposure of proteins to oxidized lipids. *J Food Biochemistry*, 9, 117.
LEE, Y. Z., SIMPSON, B. K. and HAARD, N. F. (1982) Supplementation of squid fermentation with proteolytic enzymes. *J Food Biochemistry*, 6, 127–34.

LIE, O. and LAMBERTSON, G. (1985) Digestive enzymes in cod (*Gadus morhua*): Fatty acid specificity. *Comp Biochem PHysiol*, 80B, 447–50.
LINDSAY, R. C. (1990) Fish flavors. *Food Rev Int*, 6, 437–55.
LOPEZ-AMAYA, C. and MARANGONI, A. G. (2000a) Lipases. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B. K.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 121–46.
LOPEZ-AMAYA, C. and MARANGONI, A. G. (2000b) PHospHolipases. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B. K.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 91–119.
LOPEZ-SABATER, E. I., RODRIGUEZ-JEREZ, J. J., ROIG-SAQUES, A. X. and MORAVENTURA, M. T. (1993) Determination of histamine in fish using enzymic method. *Food Additives and Contaminants*, 19, 593–602.
LOU, S. (1998) Purine content in grass shrimp during storage as related to freshness. *J Food Sci*, 63, 442–9.
LOWE, T., RYDER, J. M., CARREGER, J. F. and WELLS, R. M. G. (1993) Flesh quality in snapper, *Pagrus auratus*, affected by capture stress. *J Food Sci*, 58, 770–3, 796.
MACDOUGALL, D. B. (1982) Changes in colour and opacity of meat *Food Chem*, 9, 75.
MALE, R., LORENS, J., SMALAS, A. and TORRISEN, K. (1995) Molecular cloning and characterization of anionic and cationic variants of trypsin from Atlantic salmon. *Eur J Biochem*, 232, 677–85.
MATSUI, T., SHIMIZU, C. and MATSUURA, F. (1975) Studies on metmyoglobin reducing systems in the muscle of blue white dolpHin. II. Purification and some pHysico-chemical properties of ferrimyoglobin reductase. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 41, 771.
MIZUTA, S., YOSHINAKA, R., SATO, M. and SAKAGUCHI, M. (1997) Histological and biochemical changes of muscle collagen during chilled storage of the kuruma prawn *Panaeus japonicus*. *Fish Sci*, 63, 784–95.
MOCHIZUKI, S. and SATO, A. (1996) Effects of various killing procedures on postmortem changes in the muscle of chub mackeral and round scad. *Nippon Suisan Gakk*, 62, 453–7.
MOTOHITO, T. (1962) Studies on the petroleum odor in canned chum salmon. *Mem Fac Fisheries, Hokkaido University*, 10, 1–5.
MYRNES, B. and JOHANSEN, A. (1994) Recovery of lysozyme from scallop waste. *Prep Biochem*, 24, 69–80.
NAKAYAMA, H., BITO, M. and YOKOSEKI, M. (1976) Orange discoloration of canned skipjack. VIII. Effects of G-6-P accumulation and raw material treatments and storage conditions. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 42, 1299–308.
NAMBUDIRI, D. O. and GOPAKUMAR, K. (1990) *Effect of freezing and thawing on press juice and enzyme activity in the muscle of farmed fish and shellfish* I.I.F.-I.I.R Commission, Aberdeen.
NIP, W. K. and MOY, J. H. (1988) Microstructural changes of ice-chilled and cooked freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *J Food Sci*, 53, 319–22.
NORQVIST, A., NORMAN, B. and WOLF-WATZ, H. (1990) Identification and characterization of a zinc metalloproteinase associated with invasion by

the fish pathogen *Vibrio anguiillarum*. *Infect Immun*, 58, 3731–6.
OLSEN, R. L., JOHANSEN, A. and MYRNES, B. (1990) Recovery of enzymes from shrimp waste. *Process Biochem*, 25, 67–8.
PONG, C.-Y., CHIOU, T.-K., NIEH, F.-P. and JIANG, S.-T. (2000) Purification and characterization of metmyoglobin reductase from ordinary muscle of bluefin tuna. *Fish Sci*, 66, 599–604.
RAA, J. (1997) New commercial products based on waste from the fish processing industry. In *Making the Most of the Catch* (eds, Bremner, A., Davis, C. and Austin, B.) AUSEAS, Brisbane, pp. 1–4.
RAKSAKULTHAI, N., LEE, Y. Z. and HAARD, N. F. (1986) Effect of enzyme supplements on the production of fish sauce from male capelin (*Mallotus villosus*). *Can Inst Food Sci Technol J*, 19, 28–33.
RAKSAKULTHAI, R., ROSENBERG, M. and HAARD, N. F. (2001) Accelerated Cheddar cheese ripening with an aminopeptidase fraction from squid hepatopancreas. *J Food Sci*, in press.
RAMESH, C. and LEWIS, N. F. (1980) Effect of lysozyme and sodium EDTA on shrimp microflora. *J Appl Microbiol Biotechnol*, 10, 253–8.
REECE, P. (1988) Recovery of proteinase from fish waste. *Process Biochem*, 6, 62–6.
RUDNEEVA-TITOVA, I. (1997) Ecological and pHytogenetic features of some antioxidant enzymes activity and antioxidant content in Black Sea cartilaginous and teleost fish. *Z Evol Biokh Fiziol*, 33, 29–37.
SACKTON, J. (1986) *The Seafood Handbook*, Seafood Business, Seattle.
SAGEDHAL, A., BRUSALMEN, J. P., ROLDMAN, H. A., PAREDI, M. E. and CRUPKIN, M. (1997) Post-mortem changes in adenosine tripHospHate and related compounds in mantle of squid (*Illex argentinus*) at different stages of sexual maturation. *J Aquat Food Prod Technol*, 6, 43–56.
SAITO, M., KUNISAKI, N., URANO, N. and KIMURA, S. (2000a) Characterization of cDNA clone encoding the matrix metalloproteinase 2 from rainbow trout fibroblast. *Fisheries Science*, 66, 334–42.
SAITO, M., SATO, K., KUNISAKI, N. and KIMURA, S. (2000b) Characterization of a rainbow trout matrix metalloproteinase capable of degrading type I collagen. *Eur J Biochem*, 267, 6943–50.
SAITO, T., ARAI, K. and MATSUYOSHI M. (1959) A new method for estimating the freshness of fish. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 24.
SATO, K., ANDO, M. and KUBATA, S. (1997) Involvement of type V collagen in softening of fish muscle during short-term chilled storage. *J Agric Food Chem*, 45, 343–8.
SATO, K., KOIKE, A., YOSHINAKA, R., SATO, M. and SHIMIZU, Y. (1994) Postmortem changes in type I and V collagens in myocommatal and endomysial fractions of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle. *J Aquat Food Prod Technol*, 3, 5–11.
SATO, K., OHASHI, C., OHTSUKI, K. and KAWABATA, M. (1991) Type V collagen in trout (*Salmo gairdneri*) muscle and its solubility change during chilled storage of muscle. *J Agric Food Chem*, 39, 1222–5.

SAVAGAON, K. A. and SREENIVASAN, A. (1978) Activation mechanism of pre-polypHenoloxidase in lobster and shrimp. *Fish Technol*, 15, 49–55.
SCHEWFELT, R. L. (1981) Fish muscle lipolysis- a review. *J Food Biochemistry*, 5, 79–100.
SCHEWFELT, R. L. and HULTIN, H. O. (1983) Inhibition of enzymic, non-enzymic lipid peroxidation of flounder muscle sarcoplasmic reticulum by pretreatment with pHospHolipase A2. *Biochim BiopHys Acta*, 751, 432–8.
SCOTT, D. (1975a) Application of glucose oxidase. In *Enzymes in Food Processing* (ed. Reed, G.) Academic Press, New York, pp. 519–47.
SCOTT, D. (1975b) Miscellaneous applications of enzymes. In *Enzymes in Food Processing* (ed. Reed, G.) Academic Press, New York, pp. 493–547.
SCOTT, O. N., FLETCHER, G. C., HOGG, M. G. and RYDER, J. M. (1986) Comparison of whole with headed and gutted orange roughy stored in ice: Sensory, microbiology and chemical assessment. *J Food Sci*, 51, 79–83, 86.
SEKI, N., UNO, H., LEE, N. H., KIMURA, I., TOYODA, K., FUJITA, T. and ARAI, K. (1990) Transglutaminase activity in Alaska pollack muscle and surimi, and its reactions with myosin B. *Nippon Suisan Gakk*, 56, 125–32.
SHEN, L.-Q., YANG, L.-J. and PENG, T.-Z. (1996) Amperometric determination of fish freshness by a hypoxanthine biosensor. *J Sci Food Agric*, 70, 298– 302.
SHEPPARD, N. F., MEANS, D. J. and GINSEPPI, E. A. (1996) Model of an immobilized enzyme conductimetric urea biosensor. *Biosensors & Bioelectronics*, 11, 967-979.
SHIN, S. J., YAMARIAKA, H., ENDO, H. and WATANABE, E. (1998) Development of an octopine biosensor and its application to the estimation of scallop freshness. *Enz Microbiol Technol*, 23, 10–13.
SIEBERT, G. (1958) Protein-splitting enzyme activity of fish flesh. *Experientia*, 14, 65–66.
SIGHOLT, T., ERIKSON, U., RUSTAD, T., JOHANSEN, S., NORDVEDT, T. S. and SELAND, A. (1997) Handling stress and storage temperature affect meat quality of farm-raised Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J Food Sci*, 62, 895–905.
SIMPSON, B. K. (2000) Digestive proteinases from marine animals. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B. K.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 191–213.
SIMPSON, B. K. and HAARD, N. F. (1984) Trypsin from Greenland cod as a foodprocessing aid. *J Appl Biochem*, 6, 135–43.
SIMPSON, B. K. and HAARD, N. F. (1985) Extraction of carotenoprotein from shrimp processing offal with the aid of trypsin. *J Appl Biochem*, 7, 212–22.
SIMPSON, B. K. and HAARD, N. F. (1987a) Cold-adapted enzymes from fish. In *Food Biotechnology* (ed. Knorr, D.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp.495–572.
SIMPSON, B. K. and HAARD, N. F. (1987b) Trypsin and trypsin-like enzymes from stomachless cunner. Kinetic and pHysical properties. *J Agric Food Chem*, 35, 652–6.
SIMPSON, B. K., SEQUEIRA-MUNOZ, A. and HAARD, N. F. (2000) Marine enzymes In *Encyclopedia of Food Science and Technology*, Vol. 3 (ed. Francis, F. J.) John Wiley & Sons, Inc., New York, pp. 1525–34.

SOTELO, C. G. and REHBEIN, H. (2000) TMAO-degrading enzymes. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B. K.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 167–90.
STEFANSSON, G. (1988) Enzymes in the fishing industry. *Food Technol*, 42, 64–6.
STEFANSSON, G. and STEINGRIMSDOTTIR, U. (1990) Applications of enzymes for fish processing in Iceland – present and future aspects. In *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability* (eds, Voigt, M. N. and Botta, J. R.) Technomic Publishing, Lancaster, pp. 237–50.
SUGIHARA, T., YASHIMA, C., TAMURA, H., KAWASAKI, M. and SHIMIZU, S. (1973) Process for preparation of ikura (salmon egg) US No 3759718.
SUN PAN, B. and KUO, J.-M. (2000) Lipoxygenases. In *Seafood Enzymes* (eds, Haard, N. F. and Simpson, B. K.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp.317–36.
SURETTE, M., GILL, T. A. and LEBLANC, P. J. (1988) Biochemical basis of postmortem nucleotide catabolism in cod (*Gadus morhua*) and its relationship to spoilage. *J Agric Food Chem*, 36, 19–22.
TARR, H. L. A. (1966) Post-mortem changes in glycogen, nucleotides, sugar pHospHates, and sugars in fish muscle – a review. *J Food Sci*, 53, 6–11.
TOCHER, D. R., WEBSTER, A. and SARGENT, J. R. (1986) Utilization of porcine pancreatic pHospHolipase A for the preparation of marine fish oil enriched in n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biotechnol Appl Biochem*, 8, 657–79.
TOYOMIZU, M., HANAOKA, K. and YAMAGUCHI, K. (1981) Effect of release of free fatty acids by enzmatic hydrolysis of pHospHolipids on oxidation during storage of fish muscle at ÿ5ºC. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 47, 615–20.
TSUKUDA, N. (1970) Studies on the discoloration of red fishes. VI. Partial purification and specificity of the lipoxygenase-like enzyme responsible for carotenoid discoloration of fish skin during refrigerated storage. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 36, 725–33.
TSUKUDA, N. and AMANO, K. (1966) Studies on the discoloration of red fishes II The discoloration of three species during ice and freeze storage. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 32, 522–9.
VENUGOPAL, V. (1990) Extracellular proteases of contaminant bacteria in fish spoilage: a review *J Food Protection*, 53, 341–50.
VENUGOPAL, V., LAKSHMANAN, R., DOKE, S. N. and BONGIRWAR, D. R. (2000) Enzymes in fish processing, biosensors and quality control. *Food Biotechnology*, 14, 21–77.
VILHELMSSON, O. (1997) The state of enzyme biotechnology in the fish processing industry. *Trends Food Sci Technol*, 8, 266–70.
WANASUNDRA, U. N. and SHAHIDI, F. (1997) Lipase assisted concentration of w-3 polyunsaturated fatty acids in acylglycerols from marine oils. *J Am Oil Chem Soc*, 75, 945–51.
WANG, J. H., MA, W. C., SU, J. C., CHEN, C. S. and JIANG, S. T. (1993) Comparison of the properties of m-calpain from tilapia and grass shrimp muscles. *J Agri Food Chem*, 41, 1379–84.
WATABE, S., KAMAL, M. and HASHIMOTO, K. (1991) Postmortem changes in ATP, creatine pHospHate, and lactate in sardine muscle. *J Food Sci*, 56, 151–3.

WATANABE, E., ANDO, K., KARUBE, I., MATSUOKA, H. and SUZUKI, S. (1983) Determination of hypoxanthine in fish meat with an enzyme sensor. *J Food Sci*, 48, 496–500.
WATSON, C., BOURKE, R. E. and BRILL, R. W. (1988) A comprehensive theory on the etiology of burned tuna. *Fish Bull*, 86, 367–72.
WINTERHALTER, P. (1996) Carotenoid-derived aroma compounds: biogenic and biotechnological aspects. In *Biotechnology for Improved Foods and Flavors*, Vol. 637 (eds, Takeoka, G. R., Teranishi, R., Williams, P. J. and Kobayashi, A.) American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 295–308.
WONG, K. and GILL, T. A. (1987) Enzymatic determination of trimethylamine and its relationship to fish quality. *J Food Sci*, 52, 1–3, 6.
YAMADA, N., ITOH, N., MURAKAMI, S. and IZUMI, Y. (1985) New bromoperoxidase from coralline algae that brominates pHenol compounds. *Agric Biol Chem*, 49, 2961–7.
YAMAHOTO, M. and MACKEY, J. (1981) An enzymatic method for reducing curd formation in canned salmon. *J Food Sci*, 46, 656–7.
YAMANAKA, A. and MACKIE, I. M. (1971) Changes in the activity of a sarcoplasmic adenosine tripHospHatase during iced-storage and frozen storage of cod. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 37, 1105–9.
YAMASHITA, M. and KONAGAYA, S. (1991) Immunochemical localization of cathepsins B and L in the white muscle of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in spawning migration. Probable participation of pHagocytes rich in cathepsins in extensive muscle softening of the mature salmon. *J Agric Food Chem*, 39, 1402–5.
'Antioxidants in Muscle Foods; Nutritional Strategies to Improve Quality' (2000) (E.A. Decker, C. Faustman and C.J. Lopez-Bote eds) Wiley Interscience, New York. 'Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants – Pathological and PHysiological Significance' (1998) (T. Ozben ed.) Plenum Press, New York and London.
'Free Radicals in Biology and Medicine' 2nd edition (1989) (B. Halliwell and J.C. Gutteridge eds) Clarendon Press, Oxford.
'Natural Antioxidants – Chemistry, Health effects and Applications' (1997) (F. Shahidi ed.) AOCS Press, Champaign, Illinois. 'Rancidity in Foods' 3rd edition (1999) (J.C. Allen and R.J. Hamilton eds) Aspen Publications, Gaithburg, Maryland.
'Muscle as Food' (1986) (P.J. Becktel ed.) Academic Press, New York.
Aust S.D. and Svingen B.A. (1982) `*The role of iron in enzymatic lipid per oxidation*' *in Free Radical Biology* vol. 5 (Pryor, W. ed).
Decker, E.A. and Hultin, H.O. (1992) 'Lipid Oxidation in Muscle Foods via Redox Iron' *ACS Symposium Series* 500, p33–54.
Frankel, E.N. (1985) 'Chemistry of free radical and singlet oxidation of lipids' *Prog. Lipid Res*. 23, p197–221.
Hsieh, R.J. and Kinsella, J.E. (1989) 'Oxidation of PUFAs, Mechanisms, Products and Inhibition with EmpHasis on Fish' *Adv. Food Nutr. Res*. 33, p233–41.
Kanner, J. (1992) 'Mechanisms of Nonenzymatic Lipid Peroxidation in Muscle Foods in Lipid Oxidation In Foods' *ACS Symposium Series* 500, p55–73.

« فصل چهاردهم»

چگونگی اکسیداسیون چربی در ماهی

۱-۱۴- مقدمه

تند شدن مشکل همیشگی ماهیان چرب خصوصاً ماهیان چرب منجمد و خشک شده می‌باشد. در حقیقت، زمان ماندگاری ماهی چرب منجمد معمولاً با شروع طعم‌های تند بعلت اکسیده شدن چربی تمام می‌شود. اگرچه مطالعاتی در مورد ایجاد تغییر طعم در ماهی طی نگهداری سرد (Chill storage) وجود دارد ولی به‌طور کلی این موضوع به‌عنوان یک مشکل مطرح نمی‌باشد زیرا ایجاد فساد در ماهی بعلت فعالیت‌های میکروبی از شدت بسیار بالاتری نسبت به تغییر طعم آن به دلیل اکسیده شدن چربی در زمان نگهداری طولانی بصورت سردشده برخوردار است. در ماهی کنسروشده، حذف کامل اکسیژن طی فرآوری، کافی است تا باعث طولانی شدن زمان ماندگاری فرآورده‌ها بمدت چند سال گردد.

در این فصل در مورد فاکتورهای موثر در ایجاد تغییر طعم تند در ماهی مخصوصاً طی نگهداری آن به صورت منجمد و روش‌هایی که برای کاهش این مشکل گزارش شده، بحث می‌کند. راهکارهای بحث شده شامل افزودن آنتی اکسیدانها و کمپلکس دهنده‌ها، توجه روزافزون به مصرف عصاره‌های طبیعی گیاهی، کارایی آنها و قوانین مرتبط به اضافه کردن آنتی اکسیدان‌ها به فرآورده‌های ماهی می‌باشد. پایداری فرآورده‌ها با اضافه کردن مقدار زیاد مواد آنتی اکسیدان طبیعی به آنها با مثل توکوفرول، بسته بندی در اتمسفر تغییر یافته و در خلاء نیز مورد بحث قرار گرفته‌اند.

در موجودات زنده مصرف و تولید مجدد آنتی اکسیدانها از فساد اکسیداتیوی اضافی ترکیبات بیولوژیک مهم ممانعت بعمل می‌آورد. بعد از مرگ، سیستم‌های حفاظتی از بین می‌روند و قادر به تولید مجدد این آنتی اکسیدانها نمی‌باشند. بنابراین، قسمتهای خوردنی ماهی وقتی در معرض هوا قرار می‌گیرند با اکسیژن واکنش می‌دهند و

اکسیده می‌شوند. اکسیژن ممکن است با بسیاری از ترکیب‌های بیوشیمیائی بافت‌های حیوانی مثل چربی واکنش دهد.

این اکسیده شدن اسیدهای چرب غیراشباع[1] (PUFAs) در چربی ماهی می‌باشند که باعث تغییر طعم و بوهای نامناسب می‌شوند که اغلب به تند شدن (Rancidity) معروف‌اند می‌گردند. فرآورده‌های اولیه حاصل از اکسیداسیون اسیدهای چرب (هیدروپراکسیدها) بنظر می‌رسند که به‌طور کلی تاثیری روی طعم ندارند. ترکیباتی که باعث افزایش طعم و بوی نامناسب می‌شوند فرآورده‌های حاصل از اکسیداسیون ثانویه فرآورده می‌باشند که از تجزیه هیدروپراکسیدها به وجود می‌آیند، هستند.

فاکتورهای درونی مهم که سرعت و میزان ایجاد تند شدن را در ماهی تعیین می‌کنند شامل موارد زیر هستند:

۱. مقدار چربی و ترکیب اسیدچرب لیپیدها
۲. مقدار آنتی اکسیدانهای داخلی و کاتالیزورهای اکسیداسیون داخلی

فاکتورهای بیرونی موثر بر اکسیداسیون چربی موارد زیر را شامل می‌شوند:

۱. میزان اکسیژن
۲. وسعت سطحی از فرآورده که در معرض اکسیژن اتمسفری قرار می‌گیرد.
۳. درجه انبار نگهداری فرآورده
۴. روش‌های فرآوری که منجر به صدمه دیدن بافت می‌شوند.

مقدار چربی در گوشت ماهیان در گونه‌های مختلف متفاوت است. مثلاً در ماهیان کم چرب کمتر از ۲٪ چربی در بافت آنها وجود دارد مثل کاد، پولاک و هد داک و گونه‌های پرچرب که ٪۲۰-۸ چربی در بافت آنها وجود دارد مثل شگ ماهیان، ماکرل و آزادماهیان. مقدار ۵٪ چربی مرز بین ماهیان کم چرب و ماهیان با چربی متوسط در نظر گرفته می‌شود. علاوه بر اختلاف گونه‌ای، مقدار چربی با جنس، رژیم غذایی، نوسانات فصلی و عضله تغییر می‌کند. برای مثال، عضله تیره ماکرل حاوی ٪۲۰ چربی می‌باشد در حالیکه در عضله سفید ۴٪ چربی وجود دارد. در حالیکه در شگ ماهیان آتلانتیک بعلت اختلافات فصلی چربی در بافت آن‌ها بین ٪۲۵- ۱ نوسان دارد.

به‌طور کلی ثابت شده که ماهیان چرب نسبت به اکسیداسیون چربی و ایجاد طعم تند بسیار حساس هستند چون این ماهی‌ها حاوی مقادیر زیادی از اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFAs) در چربی موجود در بافت شان هستند و مخصوصاً و دو اسید چرب غیراشباع با ارزش تغذیه‌ای n.3 به نام‌های eicosapentaenoic Acid

[1] -Polyunsturated fatty acids

EPA (20:5 n-3) و DHA (20:6 n-3) docosahexaenoic acids غنی می‌باشند. هم چنین پروفایل اسیدهای چرب ماهی به‌طور قابل ملاحظه‌ای در بین گونه‌ها و در درون یک گونه نیز متفاوت است و این نوسانات تحت تاثیر فاکتورهای آمده در بالا می‌باشند(۱).

در بین بافت‌های ماهیچه‌ای دو گروه از اسیدهای چرب وجود دارند که ممکن است در واکنش‌های اکسیداسیون دخالت داشته باشند. گروه اول اسیدهای چرب شامل تری‌گلیسیریدهای ذخیره شده‌ای هستند (TAGs)[1] که بخش عمده چربی را در ماهیان چرب تشکیل می‌دهد و قسمتی که باعث نوسان‌هایی در مقدار چربی در بافت ماهی می‌گردند و گروه دوم فسفولیپیدها می‌باشند که در غشاهای سلولی وجود دارند. نسبت چربی گروه اول حدود ۱٪ از وزن کل بافت ماهی است. نقش این گروههای چربی در ایجاد تند شدن موضوعی قابل بحث در تحقیقات مختلف است. اگرچه میزان فسفولیپید در عضله کم است اما حالت فیزیکی فسفولیپیدها در غشاء دو لایه‌ای باعث می‌شود تا سطح وسیعی برای واکنش‌های اکسیداسیون در این منطقه را فراهم نمایند که در مقایسه با (Droplets) سطح چربی‌های ذخیره‌ای TAG در بافت‌های ماهیان چرب سطح آن خیلی بیشتر است. میزان سطح فسفولیپیدهای در دسترس برای اکسیداسیون بوسیله کاتالیزورها برابر است با مقدار سطح در فاز آبی می باشد(۲). فسفولیپیدها برای شروع مراحل اولیه اکسیداسیون چربی‌ها دارای اهمیت مهمی‌هستند. هم چنین فسفولیپیدها حاوی مقادیر زیاد از اسیدهای چرب چند غیراشباع در مقایسه نسبت با اسیدهای چرب TAG هستند. جالب آنکه کاملاً پذیرفته شده است که ماهیان کم چرب سفید مثل کاد مستعد تند شدن در زمان نگهداری نیستند اگرچه آنها حاوی مقادیر زیادی فسفولیپید که حاوی اسیدهای چرب چند غیراشباع می‌باشند. این گونه‌ها فاقد TAGیامیوگلوبین در بافت ماهیچه‌ای خودشان هستند. این موضوع می‌رساند که این دو ماده (TAGو میوگلوبین) در پایداری چربی در زمان نگهداری در سردخانه نقش مهمی‌دارند.

نقش غشاهای سلولی به‌عنوان ماده اولیه برای اکسیداسیون چربی‌ها می‌تواند توضیح دهنده این موضوع باشد که چرا مکمل‌های غذائی توکوفرول حافظ مناسبی برای فرآورده‌های ماهی طی نگهداری در سردخانه هستند (بخش ۵-۱۴). این آنتی (توکوفرول) اکسیدانهای محلول در چربی نقش اساسی در جلوگیری از اکسیداسیون غشاهای سلولی و صدمه به آنها دارند. ساختار مولکول توکوفرول آن چنان است که به بخش آب گریز (زنجیره‌های اسیل چرب) غشاء دو لایه با زنجیره $C_{۱۳}$ متصل است در حالیکه هسته کروموزومی‌آن در سطح بین آب و غشاء قرار می‌گیرد. این قسمت اخیر است که به علت داشتن ترکیب فنولی باعث جلوگیری از اکسیده شدن چربی می‌گردد.

[1] -Tracyl glycerids

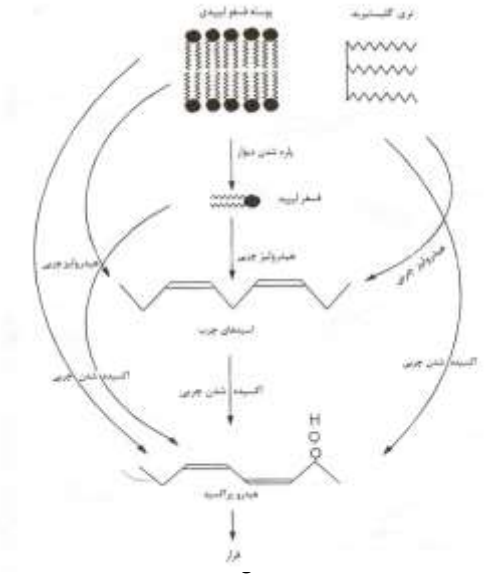
تاثیر سینرژیستی بین فسفولیپیدها و آلفا توکوفرول در حفاظت از چربی‌ها از اکسیده شدن در تعدادی از سیستم‌های چربی مثل ساردین و ماکرل گزارش شده است(۳).

۲-۱۴- نقش لیپولیز در پیشرفت تند شدگی

افزایش در میزان اسید چرب آزاد (FFA) بعلت Lipolysis در بافت ماهی بعد از مرگ در نتیجه هیدرولیز آنزیمی‌چربی‌های استری شده به خوبی ثابت شده است(۵و۴). مقدار تولید FFA می‌تواند کاملاً چشم‌گیر باشد. اینگمانسون و همکارانش (۱۹۹۵) نشان داده‌اند که در قزل آلا منجمد نگهداری شده در c° ۱۵- مقدار FFA بعد از ۳۴ هفته بین ٪۱۵-۵ از کل چربی در ماهی را تشکیل داد اما این افزایش در عضله سفید بیشتر از عضله تیره بود(۸). تسوکودا در (۱۹۷۶) تغییرات در چربی‌ها در عضله روشن و تیره در ماهی هوور مسقطی، را در که در ۱۰- ، ۲۰- ، ۳۰- درجه سانتی گراد نگهداری شده را بررسی کرد(۹). این مطالعه نشان داد که FFA در عضله تیره و روشن به ترتیب ۱۳ و ۴برابر بعد از ۸۰ روز نگهداری در ۱۰- افزایش یافته و میزان نهایی FFA در عضله به بیش از ٪۵۰ کل چربی رسید. این افزایش FFA پس از ۱۴۰ روز نگهداری در c° ۳۰- به ٪۱۳ از میزان کل چربی رسیده است.

سوال مهم با توجه به رابطه بین لیپولیز و اکسیداسیون چربی (تند شدن) این است که آیا اسیدهای چرب آزاد (Polyunsaturated) بیشتر و آسانتر نسبت به چربی استریفیه شده اکسیده می‌شوند؟ برای اکسیده شدن فسفولیپید و TAG چند راه وجود دارد (شکل ۱-۱۴). اما، بهر صورت رابطه بین لیپولیز و اکسیداسیون چربی موضوعی برای تحقیق بیشتر است. بطور کلی پذیرفته شده است که FFA با سهولت بیشتری نسبت به اسیدهای چرب (FA) استریفیه شده اکسیده می‌شوند بخصوص وقتی که آنزیم‌هایی مثل لیپواکسیژناز (LOX) در بافت‌های پخته نشده وجود داشته باشند (۱۱و۱۰). همچنین، بصورت قابل قبولی، ممکن است مراحل محدود کننده‌ای در اکسیداسیون اسید چرب وجود داشته باشد. اما شواهدی مبنی برخلاف این موضوع در سرعت اکسیداسیون اسیدهای چرب نیز وجود دارد. در مطالعه روی شبکه سارکوپلاسمی‌جدا شده از (Flounder) ماهیچه ماهی پهن قبل از انکوباسیون اولیه با PLA_2 و قبل از شروع اکسیداسیون آنزیمی‌و غیرآنزیمی‌موجب کاهش در تولید مواد حاصل از اکسیداسیون چربی شد. در نتیجه پیشنهاد شد که علت این کاهش نظم در تغییرات در ساختاری اسیدهای چرب غشاء بعلت هیدرولیز موجب کاهش زنجیره رادیکال آزاد می‌شود، می‌باشد(۱۲).

در مطالعه بر روی منشاء چربی تولید کننده FFA بوسیله (Dekoning *et al.*,1987) (۱۳) نشان دادند که FFA تولید شده طی نگهداری گوشت چرخ شده هیک در $-۱۸^{\circ}C$ از تجزیه فسفولیپیدها و اسیدهای چرب خنثی ایجاد شده‌اند.



شکل ۱-۱۴: مسیرهای ممکن برای اکسیداسیون چربی

Dekoning & Theodera تحقیق‌های دقیقتری بر روی این سیستم انجام دادند (۱۴). در این تحقیق آنها میزان هیدرولیز آنزیمی‌فسفولیپید و اسیدهای چرب خنثی در درجه حرارت‌های مختلف انجام دادند. این تحقیق نشان داد که کاهش در سرعت FFA با کاهش درجه حرارت برای فسفولیپیدها نسبت به اسیدهای چرب خنثی بیشتر است. افزایش سریع در مقدار FFA زمانی مشاهده شد که هیدرولیز فسفولیپیدها و اسیدهای چرب خنثی به صورت یکسان در ۱۲- درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. در درجه حرارت‌های بالاتر، نسبت هیدرولیز فسفولیپید سریعتر از چربی‌های خنثی بود در حالیکه در زیر این درجه حرارت، عکس این موضوع دیده شد. تسوکودا(۹) هم‌چنین دریافت که FFA از هر دو هم از فسفولیپید و هم از اسیدهای چرب خنثی در ماهی هوور مسقطی منجمد تولید می‌شود. همچنین مشاهده شد که در عضله تیره عمده FFA از TAG تولید می‌شود در حالیکه در عضله سفید بیشتر FFA از هیدرولیز فسفولیپیدها تولید می‌گردد.

هیدرولیز چربی ماکرل منجمد شده نشان داد که افزایش مقدار FFA در تناسب مستقیم با افزایش هیدرولیز فسفولیپیدها است(۶). بهر صورت مقدار FFA در نمونه‌های پخته شده تغییراتی با افزایش زمان نشان نداده‌اند. این موضوع نشان می‌دهد که هیدرولیز چربی عمدتاً به دلیل عمل آنزیم‌ها است که در اثر حرارت غیرفعال گردیده‌اند. نتایج مشابه در مطالعات کانینا و همکارانش (۱۵) مشاهده شده است. این پژوهشگران، تحقیقی بر روی بافت ده گونه ماهی آب شیرین چینی صورت دادند. افزایش مقدار FFA در کپور نقره‌ای را نسبت داده‌اند به هیدرولیز فسفولیپیدها بوده است. این افزایش در مقدار FFA با حرارت‌دهی به ماهیچه متوقف شد. این موضوع نشان داد که هیدرولیزلیپیدها تحت کنترل فسفولیپازها هستند.

شناخت کلی از هیدرولیز فسفولیپیدها، اهمیت فیزیکی ماده اولیه در درون بافت، مساحت سطحی فراهم شده بوسیله فسفولیپد را نشان می‌دهد. شواهدی مبنی بر وجود مکانیسم‌های غیرآنزیمی‌برای هیدرولیز TAGدر ماهی گزارش شده است (۱۶). مقایسه بین اسیدهای چرب آزاد در ماهی تون کنسرو شده و منجمد شده نشان داد که فرآوری حرارتی ماهی تون در کنسرو ماهی موجب تجزیه اسیدهای چرب در موقعیت(۲) در تری اسیدگلیسرول (TAG) تحت این شرایط، هیدرولیز آنزیمی‌بخاطر تغییر ماهیت ایجاد شده در پروتئین آنزیم به وسیله فرآیند حرارتی سریع رد شد.در مقایسه در مواد خام منجمد شده، تجزیه در موقعیت‌های ۱ و ۳ اتفاق می‌افتد که احتمالاً تجزیه آنزیمی‌است.

FFA نه فقط از دیدگاه مواد حاصل از اکسیداسیون مهم هستند، بلکه تاثیر مستقیم روی ویژگی‌های حسی فرآورده نیز دارد. افزایش مقدار FFA طی نگهداری ماهی آزاد آتلانتیک در $-۱۰^{\circ}c$ تاثیر منفی روی خصوصیات حسی نشان داد که به‌طور مستقیم به FFA مرتبط می‌شود و ربطی به مواد حاصل از اکسیداسیون ندارد(۱۷). این تند شدن هیدرولیزی، بر حسب افزایش مزه روغن، تلخی و مزه فلزی توصیف می‌گردید.

پژوهشگران با اضافه کردن FFAs به گوشت تازه ماهی چرخ شده (یک میلی گرم / بر گرم)، قادر به نشان دادن قدرت این مواد بر روی خواص حسی گوشت به شرح EPA< اسیدلینولئیک< اسید پالمیتولئیک< DHA گردیدند.

بیشتر تحقیقات در زمینه مکانیسم لیپولیز در گوشت ماهی، بر روی ماهیان کم چرب مثل کاد که ترکیب چربی اولیه آنها فسفولیپید است و اصولاً مشکل تند شدن در آن ایجاد نمی‌گردد انجام شده است. به‌طور کلی، تحقیقات مستقیم بر روی نقش فسفولیپیدها معطوف شده و مقدار کمی‌پژوهش بر روی TAG انجام شده است. در حقیقت یافته‌ها در مورد اثرگذاری فسفولیپیدها و TAG بر روی میزان اکسیداسیون چربی قطعی نبوده. در حقیقت دیدگاه اظهار شده در ماهی قطعی نبوده است. دیدگاهی وجود دارد که فسفولیپیدها را به‌عنوان بخش مهم و باعث عمده فساد اکسیداسیونی بخاطر مقدار بالای PUFA در آن می‌داند(۹).

۱-۲-۱۴- فسفولیپازها

اطلاعات بدست آمده تا به امروز نشان می‌دهد که هیدرولیز آنزیمی‌فسفولیپیدها در بافت ماهی اصولاً تحت کنترل فسفولیپاز $(PLA_2)A_2$ می‌باشد. این آنزیم پیوند استری را در موقعیت ۲ فسفولیپید هیدرولیز کرده و FFA و لیزوفسفولیپید تولید می‌شوند. هر دو فعالیت PLA_2 میکروزمی‌و سیتوزولی مربوط به ساختار PLA در گونه‌های مختلف ماهی گزارش شده است (۴و۱۸). فعالیت PLA_1 میکروزومی‌در عضله تیره ماهی قزل آلا رنگین کمان گزارش شده است(۱۹). این آنزیم بیشترین فعالیت را در PH=7 داراست و نیازی به یون کلسیم برای فعالیت ندارد. فعالیت PLA_2 میکروزمی‌در بافت عضلانی ماهی پهن (Flounder) گزارش شده(۱۲) نتایج حاصل از مطالعه (۲۰) Chawla & Ablett وجود فسفولیپازهای مشابهی را در میکروزوم‌های ماهی کاد آتلانتیک نشان دادند. ظرفیت هیدرولیز فسفولیپید در ماهی کاد در زمان اولیه نگهداری آن بصورت منجمد در $-۳۰^{\circ}c$ در هشت هفته اول افزایش یافته سپس شروع به کاهش نموده و این کاهش تا هفته دوازدهم ادامه داشته است(۲۱) و سپس از یک ماده مستقل از کلسیم، ۵۰KDa ، PLA2 از سیتوزول ماهیچه‌ای ماهی کاد در pH اسید بصورت نیمه خالص استخراج شده است (۲۳). این نکته حائز اهمیت است که فعالیت فسفولیپاز در ماهی‌های کم چرب مثل کاد به سخت شدن بافت آنها ارتباط داده شده است. علت این پدیده را بوجود آمدن اتصال بین FFA و پروتئین عضله دانسته‌اند(۲۳).

ویژگی مهم PLA_2 نیاز آن به یون کلسیم است. این آنزیم در غیاب کلسیم و یا در حضور عوامل کمپلکس دهنده مثل EDTA غیرفعال است. این نیاز با PLA_2 ۱۳/۷KDa جدا شده از سیتوزول ماهیچه پولاک اثبات شده است(۱۸). برخلاف ماهی کاد آنزیم‌های جدا شده از ماهی پولاک بهترین فعالیت خودشان را در PH قلیائی دارند. مطالعات اولیه فعالیت PLA_2 را در بافت عضلانی قزل آلا رنگین کمان نشان می‌دهد. فعالیت این آنزیم در عضله تیره در مقایسه با عضله سفید خیلی بیشتر است و نیازی به کلسیم ندارد. علاوه بر آن، این مطالعه شواهدی از فعالیت PLD و PLC را نشان نداد. مطالعات بعدی (۱۹) برروی قسمی‌از ساختمان سلولی نشان داد که فعالیت PLA_1 در بافت‌های مختلف عضلانی در ماهی قزل‌الای رنگین کمان صورت می‌گردد ولی بیشتر آن در میکروزوم عضلانی صورت می‌گیرد.

یکی از مهمترین نقش PLA_2 در پستانداران این است که عامل واکنش التهابی بوده و با آزادکردن اسیدهای چرب و در نهایت باعث متابولیسم آنها و تولید یک عامل شروع التهاب در آن‌ها به نام (Eicosanoids) میگردد(۲۵). شواهد آشکاری وجود دارد که نشان می‌دهد، تعدادی از ایزوآنزیم‌های PLA_2 در پستانداران در واکنش به آغاز کننده‌های التهابی فعال شده و بروز آنها شرکت دارند. در ماهیانی مثل قزل‌آلا و آزاد ماهی، شواهد

زیادی مبنی بر نقش PLA_2 در واکنش التهابی در آنها وجود دارد اما مکانیسم‌های کنترلی برای PLA_2 در این فرآیند نامشخص هستند(۲۷و۲۶). اگر در آبزیان شباهتی در آنها در این زمینه با پستانداران وجود داشته باشد، بنابراین بافت‌های صدمه دیده در زمان صید، شاید حتی استرس، می‌تواند باعث افزایش فعالیت PLA_2 شود. این موضوع می‌تواند عواقب مهمی‌برای زمان ماندگاری گوشت منجمد آبزی در طی نگهداری آن در سردخانه داشته باشد.

دیگر هیدرولازهای اسیل فسفولیپیدی در بافت ماهیان گزارش شده است. تجمع مقادیر زیادی از لیزوفسفولیپیدها که در ماهیچه ماهی تن (Euthnnus pelamis) مشاهده گردیده، علت آنرا به‌دلیل فعالیت PLA_2 گزارش شده است(۲۸). ادامه تحقیق‌ها در این مورد، وجود PLA1 در عضله سفید این گونه را تأیید نمود(۲۹). این آنزیم مستقل از یون کلسیم بوده و بهترین فعالیت آنها در PH خنثی (۷-۶/۵) صورت می‌گیرد. این فعالیت این آنزیم عمومی‌نبوده بلکه اختصاصی بوده و برای موضع خاصی است. بهر صورت پژوهشگران هنوز در مورد امکان اینکه این آنزیم می‌تواند آنزیم لیپازی باشد که در موقعیت ۱ فسفولیپیدها عمل می‌کنند، بررسی و تحقیق نکرده اند. در مطالعهٔ دیگری که اجزای تمام شده توسط EU FAIR poroject انجام شده (CFAIR CT 97) 3228 فعالیت‌های لیپولیتیک در عضله ماهی ماکرل آتلانتیک تائید شد و مشخص گردید که این آنزیم، یک آنزیم سیتوزولیک (Cytosolic) با وزن مولکولی ۶۶ کیلو دالتون، می‌باشد و بیشترین فعالیت آن در PH=4 می‌باشد و عمل آن مستقل از یون کلسیم PLA1 است. این آنزیم در آزمایشگاه حتی تحت شرایط فسفریلاسیونی فعالیت لیپازی از خود نشان نداد.

۲-۲-۱۴- لیپازها

بیشتر پژوهش‌ها در مورد لیپازها در ماهی، در روی آنزیم‌هایی که در لوله گوارش وجود دارند متمرکز انجام، و گزارش شده است(۳۰). در ماهی منجمد لیپازهای روده‌ای در صورتی در بافت‌های ماهیچه‌ای ایجاد مشکل می کنند که محتوی روده با بافت ماهی طی فرآوری مخلوط شوند. این عمل معمولاً در چرخ کردن ماهیان کامل رخ می‌دهد. در فرآورده‌های فیله شده، لیپازهای موجود در بافت عضلانی می‌توانند یک منبع ایجاد مشکل گردند. گزارش‌های حاصل از مطالعه پروفیل چربی‌های در ماهیهای نگهداری شده در سردخانه نشان می‌دهد که احتمالاً هیدرولیز TAG برای تولید FFA در بافت عضلانی ماهی می‌تواند مهم باشد(۷).

مطالعات اولیه، لیپازهای با زنجیره کوتاه در ماهیان پلاژیک (ماکرل) نشان داده است(۳۱). مقایسه فعالیت این آنزیم در ماهیچه‌های تیره و روشن، فعالیت بیشتر آن را در ماهیچه تیره آشکار ساخت. این پژوهش می‌تواند

روشنگر این موضوع باشد که چرا اکسیداسیون چربی در عضله تیره ماکرل با سرعت بیشتری مشاهده می‌شود، باشد(۳۲). Bosund & Ganrot (۶) دریافتند که TAG با سهولت بیشتر نسبت به فسفولیپید هیدرولیز می شود. این موضوع می‌تواند اثر مهمی‌در نگهداری ماهیان سطح زی داشته باشد به دلیل اینکه بخش اعظمی‌از چربی در این گونه‌های بصورت تری گلیسرید ذخیره می‌شود.

Bilinski etal (۳۳)، نشان دادند که یک لیپاز بدست آمده از عضله تیره قزل آلای رنگین کمان با نسبت میتوکندری موجود در این عضله مرتبط است و این آنزیم در میتوکندری مخصوص TAG که حاوی اسیدهای چرب با زنجیره طویل هستند می‌باشد. به نظر می‌رسد که این یک آنزیم متفاوت از آنزیم‌هایی باشد که قبلاً از این از بافت جدا شده و فعالیت بهینه آن در PH بالاتر بوده و بوسیله Trion×۱۰۰ تحریک می‌گردد(۳۴). مطالعه بیشتر روی لیپاز اسیدی حاصل از عضله تیره ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نشان داد که فعالیت آن در ماهی گرسنه افزایش می‌یابد و حدود ۶۰ درصد آن در قسمت لیزوزم قرار دارد(۳۵). سرعت زیاد یا متوسط انجماد موجب آزادسازی لیپاز نگردید. اما، بهرصورت انجماد کند و نوسانات در درجه برودت انبار منجر به آزادسازی مقدار قابل توجهی از این آنزیم‌ها از لیزوزم در فیله‌های منجمد شده گردید. طی نگهداری ماهی منجمد در انبار بیشتر لیپاز در ماه اول آزاد گردید. درجه برودت پایین‌تر انبار نگهداری سرعت آزادسازی آنزیم را کاهش داد. تاکنون خالص‌سازی از لیپاز TAG جدا شده از عضله ماهیان انجام نشده است. فقط خالص‌سازی جزئی از لیپاز TAG از بافت چربی قزل‌آلا استیل هد انجام شده است(۳۶). آنزیم سیتوزولی به صورت جزئی خالص‌سازی (۷۱ درصد) شده و وزن مولکولی آن ۴۸ کیلودالتون می‌باشد.

شواهد نشان می‌دهد که لیپازهای در بعضی از بافت‌های عضلانی ماهی‌ها شناسائی گردیده‌اند حساس به هورمون هستند (HSL)[1] می‌باشند. این نوع از لیپازها در آزادسازی اسیدهای چرب از TAG ذخیره‌ای نقش دارند. بنابراین، چگونگی تغذیه‌ای ماهی قبل از صید می‌تواند یک عامل مهم در تعیین مقدار فعالیت لیپاز در بافت عضلانی ماهی و از اینرو تولید FFA بعد از صید ماهی باشد. از طرفی استرس نیز می‌تواند در افزایش مقدار لیپاز نقش داشته باشد مثلاً در پستانداران آزادسازی کتیکول آمین (Catecholamine) که منجر به ترشح آدرنالین شده که باعث فعال شدن لیپازهای حساس به هورمون می‌شود(۳۷).

HSL به وسیله سیگنال‌هایی فرستاده شده توسط آنزیم پروتئین کیناز در زمان فسفریلاسیون و تحریک هورمون Adipocyte برای آنزیم‌های لیپاز حساس به هورمون فعال می‌گردند(۳۹ و۳۸). ماهی ذخیره سازی

[1] - Hormon- Sanestive lipase

TAG را در چند بخش از بدنش ذخیره می‌کند که شامل، چربی احشائی، کبد و ماهیچه تیره است. مطالعات روی قزل آلای رنگین کمان نشان داده‌اند که گرسنگی قبل از کشتن ماهی باعث فعالیت بیشتر لیپازها در عضله تیره نسبت به ماهیان سیر می‌شود(۳۵). احتمال داده می‌شود که افزایش فعالیت لیپاز در فسفریلاسیون و یا وضعیت تغذیه‌ای ماهی قبل از صید می‌تواند روی فعالیت لیپولیتیکی آن پس از مرگ موثر باشد. این شواهد غیرمستقیم بر روی فعالیت لیپازهای حساس به هورمون که در متابولیسم اسیدهای چرب TAG ذخیره شده در عضله تیره ماهی، دخالت دارند، مورد تائید واقع شده است(۴۰). فعالیت لیپاز، بافت چربی در ماهی قزل آلای رنگین کمان بوسیله فسفریلاسیون مدل سازی شده است(۴۱)، که از ویژگی HSL است. این آنزیم تا ۱۳۷٪ به وسیله cAMP که وابسته به فسفریلاسیون فعال گردیده است. میلیورینی و همکارانش (۴۲) در محیط آزمایشگاهی نشان دادند که cAMP و عوامل شناخته شده adipokinetic فعال کننده چربی عضلانی، قادر به تسهیل در آزادسازی اسیدچرب از سلولهای Adipocytes در ماهی ببری می‌باشند.

۳-۱۴- واکنش‌های اکسیداسیون چربی

برای اکسیداسیون PUFA نیاز به شکل فعال اکسیژن است، زیرا در شرایط معمول میل ترکیبی برای واکنش PUFA با اکسیژن محیط محدود است. براین محدودیت با واکنش فعال سازی (Initiation) توسط کاتالیزور برای تولید رادیکال‌های آزاد و شروع مرحله گسترش (Propacation) می‌توان غلبه نمود. هیدروپراکسیدهای تشکیل شده ترکیبات ناپایداری هستند که بعداً به مواد فرار تبدیل می‌شوند. این مواد فرار باعث بروز پدیده تند شدن در چربی می‌شوند. مواد فرار تولید شده طی نگهداری فرآورده در سردخانه در بعضی از گونه‌های ماهی مثل ماکرل(۴۵)، آزاد آتلانتیک(۴۴)، آنچوی(۴۳)، به‌طور کامل بررسی شده‌اند. هم‌چنین مکانیسم چگونگی تجزیه‌شدن هیدروپراکسید تولید شده از چربی گزارش شده(۴۶).

در ماهیچه ماهی مکانیسم‌هایی وجود دارد که می‌توانند در واکنش فعال‌سازی و تولید اکسیژن فعال جهت اکسیداسیون چربی دخالت کنند. این مکانیسم‌های شامل مکانیسم غیرآنزیمی‌می‌باشند که شامل پروتئین‌های آهن‌دار خون مثل میوگلوبین، هموگلوبین و سیتوکروم P_{450}، آهن آزاد و شروع‌کننده‌های آنزیمی‌مثل لیپواکسیژناز (Lipoxygenase)(LOX) و سیلواکسیژناز Cyloxygenase (COX) می‌باشند. تمام این آنزیمها بصورت کاملی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (۴۹،۴۸ و ۴۷). در واقع بعضی از این مکانیسم‌ها از اهمیت کمی‌برخوردار هستند. برای مثال، اگرچه آنزیم‌هایی مثل LOX پس از مرگ در بافت ماهی گزارش شده‌اند، هنوز تاثیر کلی آنها برروی ایجاد تند شدن چربی در ماهی سوال برانگیز است. همچنین شواهد محکمی‌دال بر

نقش اکسیژن تنها در فرآیند اکسیداسیون وجود ندارد بویژه در زمانی که نور به‌عنوان یک فاکتور مؤثر طی نگهداری در انبار وجود ندارد.

۱-۳-۱۴- اکسیداسیون غیر آنزیمی‌چربی

پروتئین‌های آهن‌دار خون و یونهای آزاد آهن نقش کلیدی در اکسیداسیون چربی غیرآنزیمی‌دارند. یونهای آهن می‌توانند در واکنش انتقال الکترون با اکسیژن مولکولی شرکت کرده و باعث رفع محدودیت‌های اکسیداسیونی در مرحله شروع شوند. در زیر این واکنش‌ها نشان داده شده‌اند:

واکنش ۱-۱۴: $Fe^{2++} + o_2 \rightarrow [Fe - o_2]^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + O_2^-$

واکنش ۲-۱۴: $O_2^- + H^+ \rightarrow HOO^{\square}$

واکنش ۳-۱۴: $2HOO^{\square} \rightarrow H_2O_2 + O_2$

نه سوپراکسید (o_2^-) و نه هیدروژن پراکسید (H_2O_2) احتمالاً مستقیماً در اکسیداسیون چربی‌ها نقشی ندارند. اینها به اکسیژن فعال‌تری مثل رادیکال هیدروکسی نیاز دارند. سوپراکسید می‌تواند برای تشکیل هیدروژن پراکسید (واکنش ۲و۳) وارد واکنش شود که رادیکال آزاد ایجاد می‌شود، رادیکال‌های هیدروکسی می‌توانند با واکنش بیشتر کمپلکس‌های آهن با پراکسیدهیدروژن به وسیله واکنش Fenton-Haber-Weiss تشکیل دهند (واکنش ۴)

واکنش ۴-۱۴: $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^{\square} + HO^-$

این نوع اکسیداسیون به وسیله آنزیم پراکسیداز، که باعث جذب رادیکال $HO^{\cdot}$ و عوامل کمپلکس دهنده که با آهن کمپلکس می‌دهند، قابل پیشگیری است. اگرچه در بعضی مواقع برای تحریک اکسیداسیون، عوامل کمپلکس دهنده با آهن مثل EDTA گزارش شده‌اند، در این زمینه نتایج تحقیقات منتشر شده است(۴۹).

همچنین آهن نقش دیگری در اکسیداسیون چربی نیز دارد. علاوه بر نقشی که آهن در واکنش فنتون دارد، می تواند باعث تجزیه پراکسیدهای چربی شود (واکنش ۵).

واکنش ۵-۱۴: $Fe^{2+} + L + O_2H \rightarrow Fe^{3+} + LOO^{\square} + HO^-$

پروتئین‌های آهن‌دار خون منبع فراوان آهن در ماهیان چرب پلاژیک هستند. دو منبع عمده این نوع پروتئین‌ها میوگلوبین و هموگلوبین خون‌اند. این پروتئین‌های حاوی آهن قادرند که اکسیداسیون چربی را به وسیله واکنش ردوکس (Redox) با کمک هیدروپراکسید یا پراکسید هیدروژن موجود در محیط گسترش دهند. این چرخه

ردوکس باعث پیشرفت بیشتر تولیدات حاصل از اکسیداسیون چربی می‌شود که در نهایت منجر به تولید ترکیبات فرار می‌شوند.

بخوبی ثابت شده که ترکیب فریل میوگلوبین فریل Fe^{4+} و یا به‌طور دقیق‌تر رادیکال کاتیونی پورفیرین [(P-FeIV=0)] که از واکنش مت Fe^{3+} میوگلوبین و یا Fe^{2+} با پراکسیدهیدروژن تشکیل می‌شود می‌تواند منجر به اکسیداسیون چربی در غشاء شود(۵۰). اینروفرم[1] قادر هستند که یک هیدورژن از چربی جدا کرده (LH) و تشکیل رادیکال آلکیل (L°) دهند. در حضور اکسیژن یک رادیکال هیدروپراکسید (LOO°) تشکیل می‌شود. این رادیکال قادر است تا هیدروژن دیگری را از چربی جدا کرده و تشکیل هیدروپراکسید (LOOH) دهد که باعث گسترش چرخه اکسیداسیون مضر در چربی گردد. هم چنین هیدروپراکسید قادر است تا هر دو، میوگلوبین فریل و فریک را اکسیده کرده و چرخه ردوکس را ایجاد کند (۵۲و۵۱). در زمانی که Hemolysate برای شستشوی عضله ماهی کاد بکار گرفته شد، مشاهده شد که این واکنش اکسیده شدن چربی بطور قابل توجهی تحت تاثیر pH می‌باشد. با کم شدن PH، قبل از شروع اکسیده شدن چربی، زمان lag time برای تولید اسیدیته باربیتوریک اسید به مقدار قابل ملاحظه‌ای کاهش پیدا نمود(۵۳). با بکار بردن همین مدل، ریچارد و هالتین نشان داد که بوهای تند و اکسیداسیون زیاد چربی حتی در ماهی کاد هم که حاوی مقدار خیلی کم چربی است رخ می‌دهد. این واکنش زمانی در ماهی کاد رخ می‌دهد که کاتالیزور کننده‌های آهن خون وجود دارند(۵۴).

پروژه تحقیقاتی EU FAIR (Fair CT 3238) که اخیراً تمام شده است و در رابطه با اهمیت اکسیده‌شدن چربی بین غشائی در رابطه با شروع اکسیده شدن چربی در ماهی مکرل آتلانتیک بود. نشان داد که مهمترین کاتالیزور در آسان نمودن اکسیداسیون چربی آهن موجود در پروتئین میوگلوبین، و آهن سه ظرفیتی $\left(Fe^{3+}\right)$ در مت میوگلوبین می‌باشد. بوسیله دو مدل، فعالیت اکسیداسیونی میوگلوبین استخراج و خالص‌سازی شده از ماهی مکرل مورد آزمایش قرار گرفت. در مدل اول از تک لایه فسفولیپید و در مدل دوم از لیپوزوم با استفاده از فلورسنس استفاده بعمل آمد. در مدل اول با استفاده Dilinoleoyl-PC، Dioleoyl-PC و Dipalmitoyl-PC آزمایش‌ها با قراردادن سطح در تحت فشارهای مختلف انجام گردید (Abousalham & Riverger, CNRS, Marseilles france, unpublished data.). این تحقیق نشان داد که مت میوگلوبین قادر است که اکسیده شدن فسفولیپید را در تحت هر سه فشار بکار برده شده کاتالیز نماید (شکل ۲-۱۴). نرخ اکسیده شدن چربی با افزایش فشار و در نتیجه افزایش سطح بیشتر گردید، مثلاً در فشار کم اولیه

[1] - Farryl isoform

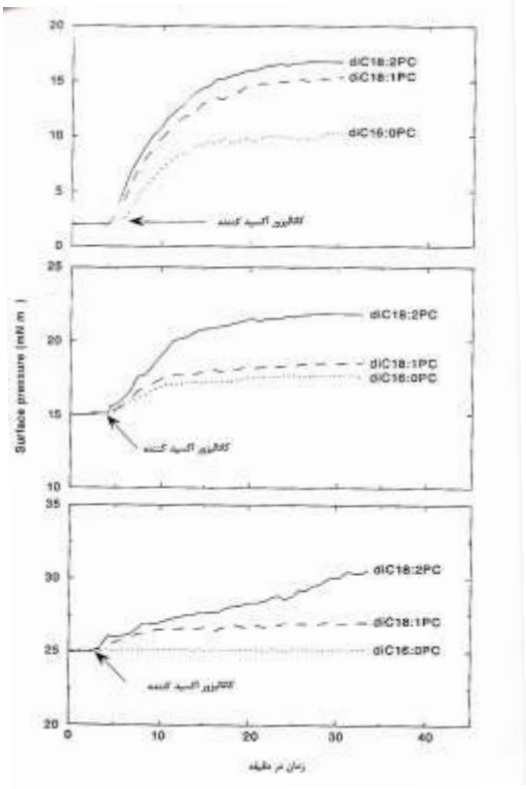
$\left(۲mN.m^{-۱}\right)$ با مقایسه نرخ اکسیده شدن در تحت فشار $\left(۲۵mN.m^{-۱}\right)$ که بطور طبیعی در سیستم غشاء طبیعی وجود دارد. حتی در فشار اولیه اخیر اکسیده شدن قابل توجه هر دو ترکیب Dilinoleoyl-PC و Dioleoyl-PC با سرعت بیشتر در مقایسه با فسفولیپید تک لایه مشاهده گردید. این نتایج نشان می‌دهد ساختاری در غشاء وجود دارد که در حالت طبیعی از دسترسی میوگلوبین به اسیدهای چرب جلوگیری بعمل می‌آورد. این نکته ثابت گردید که در زمان استفاده از Dipalmitoyl-PC در زمان استفاده از فشار زیاد، افزایش فشاری مشاهده نگردید. این ماده، قابل اکسیده شدن نمی‌باشد و در نتیجه امکان نفوذ پروتئین به داخل آن امکان پذیر نمی‌باشد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که نرخ اکسیده شدن بیشتر است در غشاءهایی که دارای: الف – اسیدهای چرب غیر اشباع در فسفولیپید می‌باشند، ب- با فشار کمتر و مساحت بیشتری از اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشند. در تحت این شرایط، اسیدهای چرب به مقدار خیلی بیشتری در تحت تاثیر میوگلوبین پراکسیداز قرار گرفته و به مقدار بیشتری اکسیده می‌شوند. با استفاده از L–α-Phosphatidyl Choline، 3– Arachidonyl–γ-Stearoyl $\left(۲۰:۴(n-۶)/۱۸:۰\right)$ لیپوزوم دارای $C_{۱۱}$ فلورسنت برای آزمایش Bodipy n581/591 برای بررسی اکسیده شدن چربی، ثابت نمود که میوگلوبین قادر به اکسیده نمودن فسفولیپید استریفیه شده می‌باشد. اکسیده شدن چربی با حضور Cumenehydro Peroxide بصورت قابل توجهی افزایش نشان داد. نتایج تحقیق دیگر نشان داد در صورتی که مقدار اسیدهای چرب غیر اشباع در فسفولیپید افزایش یابد، باعث افزایش میزان اکسیده‌شدن فسفولیپید می‌گردد(۵۵).اندازه‌گیری Single Unilamellar Vesicles (SUVs) . بیانگر این موضوع بود که هرچه چربی بیشتر غیراشباع باشد، باعث کوچک‌ترشدن SUVs و در نتیجه باعث بزرگترشدن قوس خارجی Bilayer می‌گردد. این پدیده باعث افزایش فضا بین مولکول‌های چربی، و در نتیجه اسیدهای چرب غیراشباع ساده‌تر در دسترس اکسیژن و اکسیده‌شدن قرار می‌گیرند. این پدیده را می‌توان باعث تغییر در دانسیته چربی در لایه‌های بیرونی غشاء تفسیر نمود و این موضوع نتایج بدست آمده از تحقیقات انجام شده بر روی چربی‌های در غشاء تک لایه را تأیید می‌نماید. بنابراین وجود مقدار زیاد اسیدهای چرب غیر اشباع در غشاء سلولی آنها را مستعدتر برای اکسیده شدن می‌نماید. علاوه بر این، یک مطالعه روی میزان روانی اسید آراشیدونیک بوسیله بوسیله Acid-PC Liposome نشان داد که افزایش درجه اکسیده شدن این اسید باعث کم شدن درجه روانی آن و ازدیاد سختی در آن گردید.

بررسی‌ها روی غشاء تک لایه و لیپوزم نشان داد که برای اکسیداسیون چربی‌ها دسترسی به FFA ضروری نمی‌باشد. بهرصورت، ممکن است لیپولیز قبل از شروع اکسیداسیون موجب گسترش غشاء و در نتیجه باعث افزایش امکان دسترسی به FFA و موجب افزایش اکسیداسیون در چربی گردد. اما تحقیقات بر روی

میکروزم‌های ماهیچه‌ای در ماهی کفشک با استفاده از Exogenous Pla2 نشان داد که لیپولیز قبل از اکسیداسیون باعث جلوگیری از اکسیده شدن چربی می‌گردد(۱۲). مطالعه‌های انجام شده بوسیله مدل‌های میکروزومی‌نشان داده‌اند که در زمانی که واکنش اکسیداسیون قبل از شروع فعالیت PLA2 شروع می‌شود، هیدرولیز چربی‌ها موجب آسان شدن مرحله Propagation در پروسه اکسیداسیون می‌گردد. با چنین فعالیت زیاد اکسیداسیونی، بخصوص در عضله تیره، اینطور بنظر می‌رسد که مقدار فعالیت لیپولیتیک، مثلاً PLA2 افزایش یافته و در نتیجه باعث هیدرولیز و اکسیده شدن فسفولیپیدها و در نتیجه حفظ یک پارچگی غشاء سلولی با آسان نمودن تبادل اسیل (ACYL)ها گردد(۵۷و۵۶). مهمترین فعالیتلیپولیتیکی در عضله ماهی ماکرل توسط آنزیم PLA1 که وابسته به یون کلسیم $\left(Ca^{2+}\right)$ و در PH اپتیمم چهار (PH = ۴) صورت می‌گیرد. این PH اپتیمم با کمال تعجب برای این آنزیم بسیار پائین است، اما ممکن است دلیل آن حفظ یک پارچگی غشاء سلولی رد مقابل استرس ایجاد شده بعلت واکنش‌های اکسیداسیون باشد. همچنین این احتمال وجود دارد که در زمان صید، بعلت تقلا ماهی مقدار اسید لاکتیک در بعضی از نقاط عضلهٔ افزایش یافته و در نتیجه منجر به فعال شدن آنزیم به طور موثر گردد. پس از صید ماهی این پدیده باعث افزایش مقدار FFA در بافت با توجه به مقدار اسیدلاکتیک می‌گردد.

۲-۳-۱۴- اکسیداسیون آنزیمی‌چربی

در فرآورده‌های پخته شده ماهی، اکسیداسیون چربی، اکسیداسیون غیرآنزیمی‌است زیرا که آنزیم‌های موجود در بافت عضلانی در اثر حرارت غیرفعال می‌گردند. بنابراین طعم مناسب گوشت ماهی پخته شده در نیتجه واکنش‌های غیرآنزیمی‌است. در ماهی خام امکان کاتالیز اکسیداسیون چربی توسط یک یا چند آنزیم وجود دارد. عمدتاً اکسیداسیون چریب از طرف دو گروه از آنزیم انجام می‌شود. آنزیم هایی مثل LOX و COX مستقیماً اکسیژن را به اسیدهای چرب متصل می‌کنند. در دومین نوع اکسیداسیون، آنزیم هایی شرکت دارند که کمپلکس‌های آهن، مثل پروتئین‌های آهن دار (Haem Proteins) را ترکیب نموده و رادیکال‌های هیدروکسی را طبق آنچه قبلاً آورده شد تولید نموده و باعث اکسیده شدن چربی‌ها گردند. این گروه شامل آنزیم‌های میکروزومی‌اکسیداسیون کننده چربی‌ها (Microsomal Lipid Oxidation Enzymes) هستند.



شکل ۲-۱۴: تاثیر مت میوگلوبین ماهی ماکرل آتلانتیک روی فشار سطحی غشاهای فسفا تیدیل کولین را نشان می‌دهد. به‌طور کلی با افزایش فشار و کاهش میزان غیراشباعیت میزان اکسیداسیون کاهش می‌یابد. ***(Abousalham,K & R.Verger, C,N Rs, Marsilles, France)***

لیپواکسیژناز (Lipoxygenase (LOX

بسیاری از آنزیم‌های LOX و COX بیشتر روی اسیدهای چرب آزاد عمل می‌کنند. هر دوی این آنزیم‌ها مستقیماً اکسیژن را به زنجیره‌های اسیل (Acyl) چربی‌ها اضافه می‌کنند. آنزیم LOX با استفاده از روش Sterospecifically یک مولکول از اکسیژن را متصل به بند غیر اشباع می‌کند در صورتی که آنزیم COX در مولکول از اکسیژن را به اسید چرب غیراشباع متصل می‌نماید. شواهدی وجود دارد مبنی بر اینکه اکسیداسیون آنزیمی‌اسیدهای چرب به وسیله LOX باعث تولید ترکیب‌های بودار و شروع تندشدن چربی در ماهی می‌شوند(۵۹ و۵۸). فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز در تعدادی از گونه‌های ماهی نیز گزارش شده است(۴۶). چرمن و

کرولینگ(۶۰)، آنزیم 12-LOX را در پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان را شناسائی نموده‌اند و این آنزیم قادر به تولید 12-HETE که فرآورده عمده آن مونوهیدروکسیل است می‌باشد. آنزیم 12-LOX در آبشش قزل آلا هم شناسائی گردیده است(۳۱). فعالیت آن رد یک مدل مطالعاتی باعث تولید ترکیب‌های فرار کربونیل برای اکسیدکردن چربی گردید(۶۲).

این آنزیم قادر به اکسیده کردن EPA، آرشیدونیک اسید AA و DHA می‌باشد. اما چندان قادر به اکسیده کردن لینولئیک اسید نمی‌باشد. فعالیت آنزیم 12-LOX در پوست و آبشش شانزده گونه ماهی دیگر طی این بررسی شناسائی گردید. مقایسه بین میزان فعالیت‌های آنزیم جداشده از دو بافت آبشش و پوست در گونه‌های متفاوت، مختلف بوده و نشان دهنده اختلاف فعالیت گونه‌ای آن بود. بررسی بیشتر 12-LOX جدا شده از آبشش قزل‌آلا نشان داد که ترکیب‌های فلاونوئیدها (Flavonoids) قادر به جلوگیری از فعالیت این آنزیم می‌باشند(۶۳).

تحقیقات زیادی بر روی آنزیم 12-LOX جدا شده از آبشش ماهی قزل آلا منجر به شناسائی ترکیب‌های اکسیژن دار ناشی آرشیدونیک اسید AA و DHA که به گلوتاتیون (Glotathion) دسترسی داشتند گردید(۶۴). بنودگلوتاتیون در محیط باعث تولید غیرآنزیمی‌تری هیدروکسی (Trihydroxy) و تولید اولیه هیدروپراکسید می‌گردد. اضافه نمودن گلوتاتیون به محیط باعث افزایش تبدیل هیدروپراکسید به ترکیب‌های منوهیدروکسی Monohydroxy و مشتقات آن می‌گردد. این نتیجه نقش گلوتاتیون را بعنوان سوبسترا کمکی (Co-Substrate) در واکنش آنزیمی‌پراکسیداز مطابقت دارد.

فعالیت آنزیم LOX در آبشش ماهی متعادل طبق تحقیقات انجام شده مستقیماً به تولید مواد فرار مرتبط دانسته است(۶۵). آزمایش‌های حسی که بر روی بوی استرهای اتیل n-۳ که به آن عصاره آنزیم LOX اضافه و انکوباسیون شده بود، نشان داد که بوی حاصل از نمونه تیمار شده نسبت به نمونه تیمار نشده خیلی قویتری بود. بهرحال باید پراکسیدان دیگر بجزء LOX احتمالاً می‌توانند در اکسیداسیون چربی‌ها نقش داشته باشند.

یک آنزیم فعال 15-LOX در زمان خالص سازی آنزیم 12-LOX از آبشش ماهی Trout شناسائی گردید(۶۶). بعد از خالص سازی این آنزیم توسط هیدروکسی آپاتیت (Hydroxy Apatite) ثابت شد که فعالیت این آنزیم بصورت خالص خیلی بیشتر از فعلایت آن بصورت هموژن شده در نمونه خام می‌باشد. آنزیم LOX−۱۵ روی اسیدهای چرب $C_{۱۸}$ ، $C_{۲۰}$ و PUFA عمل نموده و تولید متابولیت‌های هیدروکسیل بنماید. تولید ایکوزانوید لوکوترین Eicosanoid Leucotriene C از آینوفر (Ionophore) جدا شده از بافت

آبشش ماهی قزل آلا نشان دهنده وجود آنزیم 15-LOX و فعالیت آن در ماهی می‌باشد(۶۷). این نتایج بدست آمده در تحقیقات قبلی(۶۴) همخانی دارد و ثابت کننده وجود سه نوع آنزیم LOX در ماهی می‌باشد.

آنزیم Lox همچنین در بافت ماهیان پلازیک مثل ساردین(۶۹،۶۸) و ماکرل(۱۰) نیز شناسائی شده است. آنزیم Lox که بصورت نیمه خالص از پوست ماهی ساردین(۶۹) تهیه شده بود به راحتی قادر به اکسیده کردن استرهای اسیدهای چرب مثل متیل لینولید (Methyl Linoleate) و تری لینولئین (Trilioline) می‌باشد. زمانی که خاصیت ویژگی Lox بدست آمده از بافت ماکرل بصورت ماده هموژن خام مورد آزمایش قرار گرفت، معلوم شد که اسید لینولئیک و DHA آسانتر از EPA و یا اسید لینولنیک (Linolenic) بوسیله آن اکسیده می‌شوند(۱۰). ترکیب‌های پیچیده چربی‌ها مثل چربی‌های اسیل دار و TAG و لیستین سوبستراهای خوبی برای اکسیده شدن بوسیله این آنزیم Lox نبودند، در صورتی که چربی 1,3-Dilinolein بعنوان سوبسترا به مقدار قابل توجهی توسط این آنزیم مورد استفاده قرار گرفت. گزارش جدید(۷۰) در رابطه با شناسائی و خالص‌سازی آنزیم 12-LOX از ماهی ماکرل آتلانتیک پیشنهاد می‌کند که این آنزیم احتمالاً در نقشی در شروع اکسیده شدن در چربی‌ها داشته باشد(۷۰)، هر چند که ممکن است منشاء این آنزیم از خون باقی مانده در موی رگ‌ها ممکن است باشد نه خود بافت عضله.

نسبتاً مقدار کمی‌اطلاعات درباره تعمیرات در Lox در گونه‌های مختلف، بافت‌ها و سلول‌ها ماهی‌ها وجود دارد. در بررسی‌های انجام شده توسط (Knight *et al*) اطلاعات فراوانی در رابطه با متابولیت‌های ناشی از فعالیت Lox بدست آمده از بافت ماهی قزل آلا رنگین کمان داده‌اند(۶۷). تمام این بافت‌های آزمایش شده، تولید فرآورده‌های حاصل از فعالیت آنزیم 12-LOX را نشان می‌دهند و این نتایج بیانگر این است که این آنزیم بصورت وسیعی در این گونه ماهی وجود دارد. تفاوت‌های قابل توجهی در پروفیل تولیدهای بدست آمده از فعالیت Lox براساس اختلاف در بافت ماهی نیز مشاهده گردیده است. در داخل بافت این آنزیم‌ها در بیوسنتز اسیدهای چرب $C_{۲۰}$ و اکسیده شدن، فرآیندهای فیزیولوژیکی شامل واکنش‌های التهابی در ماهی‌ها نیز شرکت دارند(۷۱). جالب توجه است که حدس زده می‌شود که فعالیت این آنزیم ها، بطوری که برای آنزیم فسفالیپاز $A_{۲}$ پیشنهاد شده، ممکن است بعلت صدمه وارده در زمان صید به ماهی فعال شده و نتایج فعالیت آن در ماهی پس از صید و در زمان انبارداری مشاهده گردد.

۱۴-۴- روش‌های کنترل اکسیداسیون چربی و ایجاد تغییر طعم در ماهی

برای کاهش تلوید ترکیب‌های فرار مرتبط با تغییر طعم، فرآیند اکسیداسیون چربی باید متوقف گردد و یا کاهش یابد. استراتژیهایی برای فرآورده‌ای منجمد وجود دارد که می‌تواند برای دستیابی به این اهداف موثر باشند، اما هیچکدام از این استراتژی‌ها قادر به بهبود طعم فرآورده تند شده حاصل از اکسیداسیون چربی‌ها نمی‌یابد بلکه آنها روش‌های حفاظتی مناسبی برای کاهش اکسیداسیون چربی و تجزیه ترکیب‌های حاصل از اکسیداسیون چربی و جلوگیری از تولید ترکیب‌های فرار هستند. تعدادی از استراتژی‌ها به مقدار زیادی مورد بحث قرار گرفته‌اند، در صورتی که استراتژی‌های دیگر کمتر مورد توجه واقع شده‌اند، بهرصورت هنوز این دسته از استراتژی‌ها این اهمیت را دارند که مورد توجه واقع شوند.

۱۴-۵- کاربرد مستقیم آنتی اکسیدانها در ماهی

این روشی است که بیشترین مطالعه برروی آن برای جلوگیری از تولید طعم و مزه ناخواسته در ماهی بعمل آمده استفاده از آنتی اکسیدان‌ها مناسب ترین روش برای کاهش تغییر طعم در ماهی است. چند گروه از آنتی اکسیدان‌ها وجود دارند که می‌توان از آنها برای جلوگیری از اکسیده شدن چربی و جلوگیری از تغییر طعم از آن‌ها استفاده نمود. این آنتی اکسیدان‌ها باید دارای چند ویژگی مهم باشند. آنها باید در غلظت کم موثر بوده، نباید تاثیر زیادی روی ویژگی‌های حسی فرآورده داشته باشند و همچنین سمی‌نباشند.

آنتی اکسیدان‌ها از راه برای جلوگیری از اکسیده شدن چربی بشرح زیر عمل می‌کنند:

۱. غیرفعال نمودن یون فلزهای فعال با جذب و در برگرفتن (Chelation) آنها و در نتیجه جلوگیری از ادامه واکنش اکسیده شدن چربی
۲. کاهش غلظت اکسیژن
۳. کم کردن انرژی (Singlet) اکسیژن و آنیون (Superoxide).
۴. تجزیه کردن فرآورده‌های اولیه از اکسیداسیون به ترکیب‌های غیر فرار
۵. جلوگیری از مرحله آغازی (Initiation) با جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد مثل رادیکال هیدروکسیل
۶. با جلوگیری از تولید رادیکال آزاد بوسیله جلوگیری کننده از تولید رادیکال آزاد بنام Radical Interceptor antioxidants (AO) که با دادن یک هیدروچن به رادیکال لیپوپراکسیل از تولید رادیکال آزاد $\left(A^{\square}\right)$ جلوگیری بعمل آورده و تولید $AO^{\square}$ می‌نماید که قادر به جداسازی هیدروژن از اسید چرب نمی‌باشد. پایداری

رادیکال $AO^{\square}$ در این مورد بوسیله یک سیستم Conjugated که در این حالت بوجود می‌آید تأمین می‌شود.

مکانیسم عملکرد آنتی اکسیدان هایی که باعث جلوگیری از تولید رادیکال آزاد می‌شوند به شرح زیر بوسیله فرمول (۶-۱۴) نشان داده شده است:

$$L^{\square} + AH \rightarrow LH + A^{\square} \qquad ۱۴-۶$$

معادله (۷-۱۴) نشان می‌دهد که این معادله فقط در زمانی صدق می‌کند که میزان اکسیژن در محیط بسیار کم است. مکانیسم واقع بینانه‌تر در معادله (۷-۱۴) برای اکسیده شدن چربی شکل زیر است.

$$Loo^{\square} + AH \rightarrow LOOH + A^{\square} \qquad ۱۴-۷$$

معادله (۷-۱۴) نشان می‌دهد که افزودن آنتی اکسیدان به مواد چرب بصورت کامل باعث توقف واکنش اکسیداسیون چربی‌ها نخواهد شد زیرا هیدروپراکسید تشکیل می‌شود. علاوه بر آن رادیکال‌های پراکسید با اسیدهای چرب غیراشباع که دارای چند باند دوگانه (PUFA) می‌باشند واکنش داده و تولید رادیکال‌های آزاد دیگر می‌کنند. بنابراین در بهترین حالت آنتی اکسیدان‌ها فقط می‌توانند کمک به کاهش نرخ اکسیداسیون در چربی‌ها بنمایند. از طرف دیگر باید دانست که مواد آنتی اکسیدان قادر به جلوگیری از تولید FFA نمی‌شوند.

در رابطه با مکانیسم AO برای جلوگیری یا کاهش نرخ اکسیداسیون چربی باید قبول نمود که این مکانیسم به دلیل قابلیت حلالیت آن، چگونگی ساختار مولکولی و غیره فقط قادر به ایجاد واکنش و جلوگیری از فعالیت بعضی از رادیکال‌های آزاد می‌باشد. بنابراین AO قادر به جلوگیری از انواع رادیکال‌های آزاد نمی‌باشد. به این علت است که در موارد از اثر تشدید کنندگی چند آنتی اکسیدان همراه با AO استفاده بعمل می‌آید. زمانی که از اثر تشدید کنندگی چند آنتی اکسیدان برای کاهش نرخ اکسید کنندگی در چربی‌ها استفاده می‌شود، از فعالیت تعداد بیشتری از رادیکال‌های آزاد جلوگیری بعمل می‌آید(۷۲).

۱-۵-۱۴- موارد قانونی در ارتباط با افزودن مستقیم مواد آنتی اکسیدان به ماهی

استفاده از آنتی اکسیدان‌ها در ماهی در اتحادیه اروپا (EU) شدیداً توسط قانون کنترل می‌شود. بلوک‌های ماهی بعنوان فرآورده عمل نشدنی بحساب می‌آیند و بنابراین آنتی اکسیدانها بجزء اسکوربیک و سیتریک اسید را نمی‌توان در تولید فرآورده از آنها افزود. دیگر مواد آنتی اکسیدان برای افزودن به ماهی باید از نظر موازین قانونی مجوز دریافت نمایند. معمولاً این کار حدود ۲ تا ۳ سال طول می‌کشد. از مخلوط هایی از آنتی اکسیدان‌ها می‌توان استفاده نمود. این مخلوطها در تولید طعم و مزه در فرآورده نقش دارند. بنابراین قبل از افزودن آنها باید

از اثر آنها بر روی طعم و مزه فرآورده اطمینان حاصل نمود. قوانین مربوط به این مورد توسط قانون وضع شده توسط اتحادیه اروپا تحت شماره No.95.2/EC برای اضافه نمودن مواد افزودنی به مواد غذائی بجزء مواد تولید کننده بود و شیرین کننده‌ها داده شده است.

اگر فرآورده نهائی از چند ترکیب تشکیل شده باشد، بنابراین قوانین برای افزودن مواد آنتی اکسیدان به این نوع مواد غذائی، همان قوانینی است که برای مواد غذائی وضع شده می‌باشد. بهر صورت از نظر مصرف کننده طبیعی است که این فرآورده‌ها دارای برچسبی حاوی تمام اطلاعات مربوط به فرآورده باشند. برای راهنمایی بیشتر در رابطه با افزودن مواد آنتی اکسیدان به فرآورده هایی که از گوشت و ماهی تولید شده‌اند، نیاز بیشتری به دانستن مقدار دقیق نوع فرآورده وجود دارد، چون طبق قوانین EC برای هر فرآورده مقدار معینی از هر آنتی اکسیدان باید به آن افزوده شود، که این مقدار از فرآورده به فرآورده دیگر طبق قانون مواد افزودنی متغیر است.

۲-۵-۱۴- کمپلکس[1] دهنده‌ها با یون‌های فلزی

این گروه از ترکیب‌ها با در بر گرفتن و جداسازی با ایجاد پیوند با یون‌های فلزی فعال در کاتالیزور نمودن واکنش‌های اکسیده نمودن چربی‌ها مانند یون آهن و مس باعث غیرفعال شدن این یون‌ها و در نتیجه کاهش نرخ اکسیده شدن چربی می‌گردند. این ترکیب‌ها شامل اسید سیتریک، استرهای سیترات، EDTA، اسید فسفریک خوراکی، فیتات‌های بدست آمده از گیاهان، اسید تارتاریک و پلی ساکاریدها می‌باشند. استفاده از این مواد (Chelators) معمولاً در ارتباط با غیرفعال کردن یون آهن مثلاً در نگهداری گوشت پخته بکار گرفته می‌شوند. این مواد کمپلکس دهنده با یون‌های فلزی معمولاً بر روی آهن موجود در مواد خام، مثل آهن موجود در میوگلوبین بی اثراند، احتمالاً دلیل آن غیرقابل دسترس بودن یون آهن در مواد خام می‌باشد(۷۳). در بسیاری از گزارش‌های بررسی‌های انجام شده بر روی خاصیت ضد اکسیداسیون EDTA نشان داده که این ترکیب در کاهش نرخ اکسیداسیون در روغن و چربی ها(۷۴) و روغن گوشت(۷۵) موثر است. بهرصورت، در چند بررسی انجام شده بر روی مدل ها، نشان می‌دهد که EDTA زمانی که یون آهن را در خودش انباشته می‌کند (Chelating) می‌تواند اثر کاتالیزوری در واکنش اکسیداسیون چربی‌ها داشته باشد(۷۶).

یکی دیگر از کمپلکس دهنده‌های طبیعی استرهگزافسفات میواینوزیتول Hexaphosphate Ester of Myoinositol که در بیشتر غلات، لوبیا و دانه‌های روغنی بصورت فسفر ذخیره شده در آنها موجود است. این

[1] - Sequestants

ترکیب‌ها در ایجاد کمپلکس با یون‌های Mg^{+2} ، Ca^{+2}، Fe^{+3}، Cu^{+2} و Zn^{+2} بصورت موثری عمل می‌کنند(۷۷). در تحقیقات انجام شده توسط Graf etal این موضوع ثابت گردیده است(۷۹). بررسی این پژوهشگران بر روی فیتات نشان داد که این ترکیب یکی از موثرترین مواد محافظ کننده چربی‌ها از اکسیده شدن چربی و تولید طعم مزه گوشت مانده در زمان نگهداری در یخچال می‌باشد(۸۰).

۳-۵-۱۴- آنتی اکسیدانهای صنعتی

تعداد محدودی از آنتی اکسیدان‌های صنعتی برای استفاده در غذا در دسترس می‌باشند. این آنتی اکسیدان‌های محلول در چربی عبارتند از:

۱. بوتیل هیدروکسی آنیزول[۱] $(BHA-E۳۲۰)$
۲. بوتیل هیدروکسی تولوئن[۲] $(BHT-E۳۲۱)$
۳. پروپیل، اکتیل و دودی سیل گالات[۳] $(E۳۱۰-۱۲)$
۴. ترتابوتیل هیدروکوینین[۴]

ویژگی‌های آنتی اکسیدانی TBHa در مقایسه با آنتی اکسیدان‌های طبیعی مثل عصاره رزماری و اسکوربیک اسید به تنهایی و مخلوطی از ترکیب آنها مورد بررسی قرار گرفته‌اند. این آنتی اکسیدان‌ها به تنهایی و بصورت مخلوط بصورت محلول به گوشت ماهی قزل آلای پخته شده افزوده و سپس نمونه‌ها در فریزر $-۲۰c^{\circ}$ نگهداری شدند. مقدار اکسیدگی نمونه‌ها بمدت ۹۰ روز باانداره‌گیری مقدار تیوبار بیتوریک اسید (TBA) و تعبیرها در خواص حسی آنها مورد آزمایش قرار گرفتند. تاثیر مواد آنتی اکسیدان بر روی نرخ اکسیده شدن چربی به این شرح بود:

TBHQ + ACORBIC ACID > TBHQ + ASCORBIC ACID + ROSMERY > ROSMERY ALONE > UNTREATED CONTROL AT ($-70C^{o}$)> UNTREATED ($-20C^{o}$)(81).

نمونه‌های مشابه طبیعی آنتی اکسیدان‌ها که بصورت صنعتی تولید می‌شوند به مقدار فراوان و ارزان در دسترس می‌باشند. در میان آنها می‌توان از توکوفرول (α،β،β و δ) که در جیره غذائی ماهیان پرورشی برای بهبود ظاهر

[1] - Butylated Hydroxy Anisole
[2] - Butylated Hydroxytoluene
[3] - Propyl, Octyl & Dodecyl Gallate
[4] - Tert-Butyl Hydroquinone

و افزایش زمان ماندگاری و هم چنین از توکوترینول (Tocotrienols)، اسکوربیک اسید، و اسکوربیل پالمیتات (Ascorbyl Palmitate) نامبرد به قسمت ۵-۱۴ مراجعه شود).

طبق تحقیقات انجام روی مدل‌های طراحی شده، نشان داده شده که ترکیب‌های حاصل از واکنش میلارد دارای ویژگی‌های ضد آنتی اکسیدانی می‌باشند(۸۲). بهرصورت ترکیب‌های خام و قسمتی خالص سازی شده تولید شده از واکنش میلارد که به گوشت چرخ شده ماهی شک ماهی افزوده و بمدت ۲۸ هفته در $-20^{\circ}c$ نگهداری شد نشان داد که این ترکیب‌ها در مقابل اکسیدشوندگی چربی در این بررسی بدون اثر می‌باشند(۸۳).

۴-۵-۱۴- گیاهان معطر و ادویه‌ها

تعدادی از گیاهان معطر و ادویه‌ها شناسائی شده دارای خاصیت ضد آنتی اکسیدانی نسبتاً زیادی می‌باشند. مشکل کلی تمام این گیاهان معطر و ادویه ها، ویژگیهای خاص بو و مزه هریک از آنها برای استفاده در مواد غذائی و دریائی بعنوان آنتی اکسیدان می‌باشد. این ویژگی باعث گردیده که برای مصرف در بسیاری از مواد غذائی مناسب نباشند. فعالیت ضد آنتی اکسیدانی آنها در بسیاری موارد کمتر از عصاره و یا مواد خالص سازی شده مشابه می‌باشد. بعلاوه دسترسی مواد ضد آنتی اکسیدانی موجود در گیاهان معطر و ادویه به چربی موجود در گوشت و ماهی بعلت قرار داشتن آنها در بافت گیاهی بسیار محدود می‌باشد.

دو پژوهشگر(۸۴) Ramana than & Das در سال ۱۹۹۳ بررسی بر روی تأثیر آنتی اکسیدان‌ها در تعدادی از پلی فنل‌های گیاهی بصورت تازه و خشک شده بر روی گوشت چرخ شده ماهی ماکرل نمک سود شده با استفاده ازاندازه‌گیری اسید باربیتوریک اسید (TBAS) بعمل آوردند. براساس این تحقیق تاثیر مواد ضد آنتی اکسیدانی برای جلوگیری از اکسیده شدن چربی در این نمونه به شرح زیر گزارش گردیده است:

Dried clove > Cinnamon >Cumin=Black Peper> Fennel=Foenugreek.

این پژوهشگران همچنین گزارش نمودند که اثر آنتی اکسیدانی در نمونه‌های گیاهان خشک شده بیشتر از گیاهان معطر تازه بود. هم چنین ترکیب‌های پلی فنلی بیشترین اثر آنتی اکسیدانی در میان آنتی اکسیدان‌های طبیعی دارا بودند. اضافه نمودن ۱٪ درصد از هر کدام از مواد آنتی اکسیدان جدا شده از این گیاهان نشان داد که قدرت آنتی اکسیدانی آنها به ترتیب به شرح زیر بود:

Ellagic Acid>Tannic Acid> Myricietin> Quercetin

۵-۵-۱۴- عصاره آنتی اکسیدان‌های طبیعی

تقاضا برای مواد غذائی طبیعی توسط مصرف کنندگان روز به روز رو به افزایش است. در نتیجه این استقبال از مواد غذائی طبیعی، هم چنین درخواست برای جایگزینی مواد نگهدارنده طبیعی بجای مواد افزودنی صنعتی رو به ازدیاد است. این پدیده منجر به تحقیقات وسیعی برای بدست آوردن مواد آنتی اکسیدان قابل رقابت با مشابه صنعتی آنها گردیده است. این درخواست جایگزینی را می‌توان با تعداد Patentهای داده شده در این زمینه در سال‌های اخیر مشاهده نمود.

عصاره گیاهان معطر

در مطالعه دیگر، اثر آنتی اکسیدانی عصاره رزماری (Rosemary) ، TBHQ و اسید اسکوربیک به تنهایی و بصورت مخلوط با اضافه کردن به گوشت (Flake) ماهی قزل آلای پخته، منجمد شده و نگهداری شده در $-20^{\circ}c$ مورد بررسی قرار گرفته است(۸۲). اثر این آنتی اکسیدان‌ها باندازه گیری تیوباربیتوریک (TBA) و آزمایش‌های حسی بمدت ۹۰ روز مورد مطالعه گردید. اثر این آنتی اکسیدان‌ها برای جلوگیری از اکسیده شدن چربی در مقایسه با تیمار شاهد نگهداری شده در $-70^{\circ}c$ و $-20^{\circ}c$ به شرح زیر بود

TBHQ + ASCORBIC ACID > TBHQ + ASCORBIC ACID + ROSMERY > ROSMERY > UNTREATED CONTROL -70C^{o} > UNTREATED -20C^{o}.

نتایج آزمایش‌های حسی برای تیمارهایی که به آنها عصاره رزماری اضافه شده بود، نشان دهنده تولید طعم و مزه‌ای ویژه‌ای بنام طعم و مزه سبزی (Green) در تیمارها بود. در تحقیقات انجام شده بوسیله Fang x Wadas & در سال (۱۹۹۳) که با استفاده از یک مدل بر روی روغن ماهی ساردین و گوشت تیره ماهی انجام شد، نتایج بیانگر این موضوع بود که اضافه کردن α توکوفرول به عصاره رزماری باعث تشدید اثر آنها در جلوگیری از اکسیده شدن چربی در مدل مورد مطالعه گردیده است(۸۵).

عصاره گیاهان

بعضی از بافت‌های گیاهی مثل برگ چای حاوی گروهی از ترکیب‌های فنلی یا پلی فنل‌ها به نام فلانوئید هستند که دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قوی هستند. علت آنتی اکسیدانی قوی فلاونوئیدها در عملکرد چند جانبه آنها می‌باشد. به جز واکنش با هیدروکسی رادیکال ها، سوپراکسید آنیون ها، اکسیژن‌ها با بار مثبت، فلاونوئیدها دارای قدرت زیاد در غیر فعال کردن کاتالیزورهای تسهیل کننده واکنش‌های اکسیدکنندگی نیز می‌باشند. فلاونوئیدها

هم چنین دارای قدرت زیاد TEAC، یک اندیس برای‌اندازه گیری قدرت آنتی اکسیدانی می‌باشد نیز هستند. عصاره چای سبز دارای سابقه طولانی و ثبت شده‌ای در بوگیری می‌باشد و ممکن است از سرعت ترشیدگی چربی نیز بکاهد.

تعداد زیادی از فلاونوئیدها برای کنترل اکسیده شدن چربی در ماهی ماکرل مورد آزمایش قرار گرفته‌اند(۸۶). این ترکیب‌ها عبارتند از quercetin، Myricetin، Tannic Acid و Ellagic Acid، مقدار مورد استفاده در این تحقیقات ۲۰۰ppm بود. تمام ترکیب‌های فنلی مورد آزمایش بنظر می‌رسد که طبق نتایج بدست آمده ازاندازه گیری اندیس TEAC دارای قدرت موثری در جلوگیری از اکسیده شدن چربی در ماهی ماکرل که در سردخانه $-۲۰c^{\circ}$ نگهداری می‌شود را دارا هستند. بهرصورت از آنجائیکه مدت زمان این تحقیق بر روی ماهی ماکرل فقط یک هفته بود و در این مطالعه رابطه بین ویژگی‌های حسی واندیس TBAR صورت نگرفته است، بنابراین بطور قاطع نمی‌توان اظهار نظری درباره موثر بودن این ترکیب برای جلوگیری از ترشیدگی چربی برای مدت زمان طولانی‌تر نگهداری ماهی ماکرل در سردخانه نمود. فلاونوئیدهای موجود در عصاره چای نیز از خود قدرت جلویگری از اکسیده شدن چربی را با تغیر دادن قوی ترین کاتالیزور کنده واکنش اکسیده شدن چربی یعنی میوگلوبین در گوشت مثل Ferry Moglobin به Metmyoglobin را نشان داده‌اند(۸۷).

۶-۵-۱۴- انتی اکسیدانهای درون سلولی

عضله‌های موجود در اسکلت ماهی دارای موادی می‌باشند که از چند ترکیب درون سلولی بوجود آمده‌اند مثل، مواد آنتی اکسیدانی که هم در فاز آبی و هم فاز چربی وجود دارند. هدف این سیستم جلوگیری از فعالیت مواد تسهیل کننده واکنش اکسیداسیون چربی و رادیکال‌های آزاد در محیط آبی، چربی و لایه‌های حد فاصل در محیط عضله می‌باشند. در ماهیان این مواد شامل آنسرین (Anserin)، اسید اسکوربیک، α توکوفرول و گلوتاتیون (Glutathione) می‌باشند(۸۹،۸۸). این ترکیب‌ها و نحوه عمل آنها به مقدار وسیعی مورد بررسی قرار گرفته‌اند(۹۰).

بمدت شش ماه تغییرات اسید اسکوربیک، توکوفرول‌ها و گلوتاتیون در گوشت چرخ شده و فیله گربه ماهی منجمد شده در $-۶c^{\circ}$ به ترتیب اهمیت عبارت بودند از glutathionc > ascorbic acid > α-tocopherol برای تیمارهای گوشت چرخ شده و فیله به ترتیب ۸۷ درصد برای اسید اسکوربیک و ۸۴ درصد برای گلوتاتیون در مقایسه با تیمار فیله که این کاهش به ترتیب ۷۱ و ۸۰ درصد بود. افزایش مقدار ترکیب فرار هگزانال (Hexanal) برای هر دو تیمار برابر بود(۹۱).

مقدار مصرف و تمام شدن گلوتاتیون در گوشت چرخ شده و فیله ماهی ماکرل و ماهی آبی رنگ (blue fish) در زمان نگهداری در $-۲۰^{\circ}c$ نیز مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان داد که گلوتاتیون در تیمار مربوط به ماهی ماکرل با سرعت بیشتری در مقایسه با ماهی آبی بمصرف رسید. کاهش در امتیازهای حسی در هر دو ماهی پس از بمصرف رسیدن $\frac{۲}{۳}$ گلوتاتیون در آنها مشاهده شد. در تحقیقاتی که با استفاده از مدل سازی برای تعیین درجه موثر بودن گلوتاتیون بر روی اکسید شدن چربی بعمل آمد، نشان داد که گلوتاتیون فقط در مراحل اولیه اکسیداسیون چربی برای جلوگیری از اکسیده شدن چربی موثر است(۸۹). برای اینکه گلوتاتیون قادر به کاهش مقدار هیدروپراکسید باشد، معمولاً در گوشت باید آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز وجود داشته باشد. این پدیده در تعداد زیادی از ماهیان مثل ساردین، ماهی آزاد (Coho Salmon) و ماهی قزل آلای رنگین کمان نیز مشاهده شده است(۹۲). بهرحال در سال ۱۹۸۴ بل و همکارانش گزارش دادند استفاده ترکیبی از دو آنتی اکسیدان اسید اسکوربیک و گلوتانیون تاثیر چندانی در کم کردن سرعت اکسیداسیون در چربی بدست آمده از کبد ماهی Trout در مقایسه با بکاربردن گلوتاتیون به تنهایی ندارد(۹۳).

کارنوزین (Carnosine) و آنسرین (Anserine) دی پپتیدهای محلول در آب هستند که خاصیت آنتی اکسیدانی دارند و در بافت عضلانی جانوران و از آن جمله ماهیان وجود دارند. این آنتی اکسیدان‌ها قادرند از اکسیدشدن چربی‌ها بوسیله آهن موجود در پروتئین، Lox و اکسیژن در خارج از بدن جانوران جلوگیری بعمل آورند(۹۰). خالص این دی پپتیدها یک مواد آنتی اکسیدان قوی برای جلوگیری از اکسیده شدن لیپوزم موجود در فسفولیپید موجود در عضله ماهی می‌باشد. این خاصیت آنتی اکسیدانی این دی پپتیدها بوسیله استفاده از یک مدل به اثبات رسیده است. کارنوزین از شروع مرحله شروع (Initiation) واکنش اکسیده شدن چربی جلوگیری نموده و همچنین با فرآورده‌های ثانوی که قبلاً تولید شده‌اند واکنش داده و جلوی اکسیده شدن چربی را می‌گیرد(۹۴).

۶-۱۴- دادن تغییر در جیره ماهی پرورشی

این موضوع به صورت زیادی در تولید گوشت از حیوانات پرورشی و به میزان کمتری در آبزیان پرورشی مطالعه شده است(۹۵). نتایج بررسی‌ها روی گوشت احتمالاً دانش کاربردی مفیدی را برای پرورش دهندگان ماهیان چرب، مثل آزاد ماهیان می‌تواند فراهم سازد. ترکیب مواد مغذی و پایداری بافت‌های حیوانی بعد از کشتن حیوان، تحت تاثیر ترکیب جیره غذائی آن و از آن جمله مقدار و نوع آنتی اکسیدان و ترکیب اسیدهای چرب می‌باشد.

بسیاری از تحقیقات نشان داده‌اند که افزودن مواد آنتی اکسیدان به جیره غذائی در زمان حیات باعث افزایش آنها در عضله‌ها و در نهایت باعث افزایش زمان ماندگاری بیشتر گوشت دام و آبزی پس از ذبح و صید می‌شود. بررسی‌های انجام شده روی آنتی اکسیدان‌های اضافه شده به جیره‌های غذای دام و آبزیان سالم، توکوفرول، اسید اسکوربیک اسید و کاروتنوئیدها می‌باشد(۹۶).

جذب آنتی اکسیدانهای موجود در جیره غذائی به وسیله جانوران پرورشی دارای مزیت آشکاری در مقایسه به اضافه کردن مواد آنتی اکسیدان به گوشت یا فرآورده‌های آنان دارد. علت این برتری، رسیدن مولکول‌های فعال آنتی اکسیدان به داخل سلول‌های بافت دارد که می‌توانند بصورت موثر بکار گرفته شوند. برای نمونه، α توکوفرول اضافه شده به جیره غذائی اثر وسیعتری در کنترل اکسیداسیون چربی‌ها دارد، تا α توکوفرول اضافه شده به گوشت بعد از ذبح حیوان(۹۵). علت این برتری این است که α توکوفرول در جیره غذائی مستقیماً در غشاء سلولی وارد شده در صورتی که آنتی اکسیدان اضافه شده به گوشت فقط در سطح خارجی غشاء عمل می‌کند. توکوفرول افزوده شده به جیره غذائی، یکی از آنتی اکسیدان هایی می‌باشد که تا حال بیشترین مطالعه بر روی آن انجام شده است. نتایج این مطالعه نشانگر این واقعیت است که یکی از مهمترین آنتی اکسیدان‌ها برای پایداری چربی‌ها در گوشت حیوان‌ها و آبزیان می‌باشد(۹۷). در بعضی از تحقیقات به این موضوع اشاره شده است که زمانی توکوفرول می‌تواند در جلوگیری از اکسیده شدن چربی در گوشت دام و آبزیان موثر باشد که به مقدار زیاد به جیره غذائی اضافه شده باشد. بعنوان مثال در بررسی انجام شده توسط (Raskin *et al.*,1996) مقدار توکوفرول اضافه شده به گوشت باید بین ۲۰-۱۰ برابر بیشتر از مقدار موجود در جیره غذائی باشد تا اینکه موثر در جلوگیری از اکسیده شدن چربی در گوشت شود یکی از معایب آن اضافه شدن قیمت جیره غذائی می‌باشد(۹۸). استفاده از استراتژی اضافه نمودن α توکوفرول بعنوان مکمل به جیره غذائی در این است که هیچگونه منع قانونی از نظر ترکیب و مقدار برای آن بعنوان آنتی اکسیدان وجود ندارد.

مقدار ویتامین E در چربی خوراکی ممکن است دارای اثر جلوگیری کننده در چربی گوشت داشته باشد. افزایش مقدار Pufa در گوشت معمولاً باعث افزایش نرخ اکسیده شدن چربی و تولید طعم و مزه بد می‌گردد. بهرحال تحقیقات انجام شده برای جلوگیری از طعم و مزه بد در گوشت خوک نشان داد در صورت اضافه کردن روغن کتان (Linseed Oil) به جیره غذائی خوک می‌توان مقدار اسیدهای چرب n-۳ در PUFA را افزایش داد بدون اینکه این افزایش اثری برروی کیفیت حسی فرآورده در سردخانه نداشت (۱۰۰،۹۹). در سال ۱۹۸۵ Biggo و همکاران گزارش نمودند که چربی‌های موجود در جیره غذائی و α توکوفرول هیچگونه تاثیری در جلوگیری از اکسیده شدن چربی در ماهی Trout منجمد شده در زمان انبارداری ندارند. بهرصورت پژوهشگران

دیگر مثل Frigg etal., در سال ۱۹۹۰ گزارش دادند که در صورت نگهداری فیله منجمد Trout در $-۲۸c^{\circ}$ در صورتی که در جیره غذائی آن از $\alpha ۱۰۰-۲۰۰mg/kg$ توکوفرول قبل از صید استفاده شده باشد هیچگونه اثر سوئی از نظر آزمایش‌های حس و شیمیائی در طعم و مزه آن بوجود نخواهد آورد (۱۰۲).

اثر اکسیده شدن چربی در آرد ماهی و غذائی که دارای γ,α توکوفرول بود بر روی کیفیت فیله منجمد شده ماهی آزاد آتلانتیک مورد بررسی قرار گرفته است(۱۰۳). تغذیه با غذای دارای مکمل‌ها نشان داد که آنتی اکسیدان α توکوفرول توسط بافت هایی که از نظر فسفولیپید غنی می‌باشند جذب می‌گردد در صورتیکه γ توکوفرول توسط بافت ذخیره کننده (Adipocyte) چربی جذب می‌شود. تغذیه ماهی آزاد با غذاهایی که روغن موجود در آنها به مقدارهای متفاوتی اکسیده شده بود در آزمایش‌های چشائی اختلافی را نشان ندادند، هم چنین مقدار TBARاندازه‌گیری شده در لاشه ماهی آزاد تغذیه شده با غذای حاوی توکوفرول و نمونه شاهد که بمدت شش ماه در سردخانه $-۴۰c^{\circ}$ نگهداری شده بودند اختلاف قابل توجهی با هم نداشتند. احتمالاً علت این نتایج، نگهداری نمونه‌ها در سردخانه $-۴۰c^{\circ}$ که درجه بسیار پائینی برای اینگونه آزمایش‌ها برای دیدن هرگونه تغییر می‌باشد باید دانست.

تاکنون گزارشی دال بر محافظت چربی در مقابل اکسیده شدن در گوشت سفید ماهی قزل آلای رنگین کمان توسط آلفا توکوفرول داده نشده است اگرچه اثر حفاظتی کمی‌برای چربی‌های موجود در عضله‌های تیره داده شده (۱۰۴).توسط Hamer *et al.*, در سال ۱۹۸۸(۱۰۵، ۱۰۴) داده نشده است. این پژوهشگران بمدت ۴۸ هفته اثر غنی سازی فیله ماهی آزاد آتلانتیک را از طریق اضافه نمودن آلفا، زتا و گاما توکوفرول به جیره غذائی برای جلوگیری از اکسیده شدن چربی در زمان نگهداری ماهی زیر یخ و پس از انجماد و نگهداری در سردخانه $-۳۰c^{\circ}$ مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که هیچکدام از توکوفرول‌ها کاتالیزور کننده اکسید شوندگی چربی نمی‌باشند و همچنین اثر جلوگیری کنندگی آنها از اکسیده شدن چربی در زمان نگهداری در سردخانه $-۳۰c^{\circ}$ بستگی به نحوه استفاده و مقدار توکوفرول بکار برده شده دارد. نتیجه گیری نهائی این پژوهشگران از این تحقیق این بود که استفاده از آلفا توکوفرول در مقایسه با استفاده از مخلوط نمودن با دیگر توکوفرول‌ها برای جلوگیری از اکسیده شدن چربی در فیله ماهی آزاد مناسب‌تر می‌باشد.

استفاده از کاروتنوئیدها مثل آستاگزانتین در آبزی پروری به طور زیادی مورد مطالعه قرار گرفته است. بیشتر این تحقیق‌ها بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان و ماهی آزاد آتلانتیک انجام شده است. اثر جلوگیری از اکسیده شدن چربی در ماهی قزل آلای تغذیه شده با ۱۰۰ppm از استاگزانتین در مقایسه با قزل آلای تغذیه شده با ۴۰ppm از این ماده پس از ۱۸ ماه نگهداری ماهی بصورت منجمد در سردخانه دارای تفاوت معنی داری

نبود(۱۰۶). در تیمار دیگر که از آلفا توکوفرول به مقدار ۶۰۰–۱۰۰۰ppm در تغذیه این ماهی استفاده شده بود تاثیر معنی داری برای جلوگیری از اکسیده شدن چربی در زمان انبارداری ماهی بصورت منجمد دیده نشد. اما برای ماهی‌های فرآوری شده عکس این نتایج بخصوص در مواردی که پیشرفت اکسیدگی چربی زیاد گزارش گردیده است. از این تحقیق این جمع بندی بعمل آمد که کارروتنوئیدها در جلوگیری از اکسیده شدن چربی در مرحله اولیه با شروع اکسیده شدن چربی‌ها در ماهی دارای اهمیت می‌باشند.

۷-۱۴- اتمسفر اصلاح شده و بسته بندی در خلاء

بسته بندی در اتمسفر اصلاح شده (Modified atmosphere packaging (MA)) شامل جایگزینی هوا با گازهای دیگر، معمولاً Co_2 و یا N_2 می‌باشد. در حالیکه بسته بندی در خلاء (Vacuum Packaging (VP شامل حذف هوا اتمسفری و کم کردن فضای خالی بالای (Headspace)در بسته حاوی فرآورده تا حد امکان می‌باشد. هر دو روش طراحی شده‌اند برای افزایش مدت زمان نگهداری فرآورده با استفاده از حذف اکسیژن داخل بسته و در نتیجه کم نمودن خطر فساد در فرآورده بعلت اکسیداسیون چربی در زمان انبارداری می‌باشند. گزارش‌های انتشار یافته درباره استفاده از بسته بندی در اتمسفر اصلاح شده و یا در خلاء که بر روی بعضی از فرآورده‌های گوشتی حساس به فساد بعلت اکسیده شدن مثل گوشت گاو و خوک پیشنهاد می‌کنند که این روش‌های بسته بندی به مقدار قابل توجهی باعث افزایش زمان ماندگاری فرآورده‌های گوشتی منجمد شده می‌گردند و حتی در بعضی از موارد استفاده از آنها موفقیت آمیزتر از استفاده از مواد آنتی اکسیدان گزارش شده(۱۰۷). بهر صورت گزارش‌های خیلی کمی‌درباره استفاده از این روش‌ها برای بسته بندی ماهی‌های چرب منجمد شده وجود دارد.

به منظور حفظ ترکیب اتمسفری مناسب در اطراف فرآورده باید از مواد بسته بندی با قابلیت نفوذپذیری کم برای گازها و رطوبت استفاده بعمل آورد $\left(<۵۰\text{Cim}^{۳}.\text{m}^{-۲}\text{day}^{-۱}\text{atm}^{-۱}\right)$. این مواد بسته بندی باعث جلوگیری از ورود اکسیژن به داخل بسته و در مورد بسته بندی بصورت اتمسفر اصلاح شده مانع خروج گازها از درون بسته به خارج می‌شوند. تاثیر مواد بسته بندی با قابلیت نفوذپذیری زیاد، متوسط و کم Oxygen Tension Rate(OTR) در ایجاد Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) و پایدار استاگزانتین در فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان منجمد بمدت ۳۶ هفته در سردخانه مورد بررسی قرار گرفته است(۱۰۸). نتایج این تحقیق نشان داد که در فیله‌های بسته بندی شده در مواد بسته بندی با قابلیت نفوذپذیری زیاد در مقابل اکسیژن ، باعث اکسیده شده چربی با سرعت بیشتر و بخصوص در بسته‌هایی که در معرض نور

بودند گردید. نتایج آزمایش‌های چشائی، نیز تأئید کننده این نتایج نیز بود. نمونه‌هایی که حاوی بیشترین مقدار استاگزانتین در مقایسه با دیگر نمونه‌ها بودند پس از ۲۹ هفته مقدار TBARS در آنها به حد ماکزیمم و از نظر جسمانی غیرقابل قبول رسیدند. دو تیمار دیگر که دارای مقدار کمتری از رنگهدانه آستاگزانتین بودند پس از ۱۷ هفته در شرایط مشابه با تیمار اولیه مقدار TBARS در آنها به حداکثر رسید و این نتایج بیانگر این موضوع است که رنگدانه آستاگزانتین دارای خاصیت ضد اکسیدانی چربی می‌باشد. بررسی مشابهی که توسط (۱۰۹) Anelich *et al* در سال ۲۰۰۱ بر روی اثر دو نوع از مواد بسته بندی بر روی کیفیت فیله منجمد شده گربه ماهی در $-۲۰^{\circ}c$ بمدت یازده ماه نمود. در تیمار اول ماده بسته بندی دارای قابلیت نفوذ در برابر اکسیژن بود و نوع بسته بندی تیمار دوم فقط بسته بندی در خلاء بود. در این بررسی اکسیداسیون چربی در دو تیمار روند خاصی را نشان نداد. بهرحال پژوهشگران دیگر مثل Santos و Regenstein در سال ۱۹۹۰ بررسی را بر روی اثر بسته بندی در خلاء همراه با استفاده از مواد جلوگیری کننده از اکسیده شدن چربی مثل Erythorbic Acid بر روی ماهی ماکرل آتلانتیک منجمد و نگهداری شده در انبار با درجه $-۷^{\circ}c$ انجام دادند(۱۱۰). با استفاده ازاندازه گیری TBA و آزمایش چشائی نشان دادند که استفاده از بسته بندی در خلاء همراه با Erythorbic Acid باعث جلوگیری از اکسیدشدن چربی به مقدار قابل توجهی در ماهی ماکرل آتلانتیک می‌گردد(۱۱۰).

در تحقیقی که توسط Christophersen و همکاران در سال ۱۹۹۲ اثر هم زمان نفوذ پذیری ماده بسته‌بندی به اکسیژن و اثر اشعه ماوراء بنفش (UV) را بر روی اکسیداسیون و تجزیه شدن چربی در استیک منجمد شده از ماهی قزل آلای رنگین کمان در زمان نگهداری در سردخانه انجام دادند، گزارش دادند که شدت اکسیده شدن چربی بیشتر بستگی به مقدار دسترس اکسیژن به چربی دارد تا قرار گرفتن در معرض اشعه(UV) دارد(۱۱۱).

اکسیده شدن چربی در ماهیانی که دارای مقدار زیادی میوگلوبین می‌باشند با ایجاد مت میوگلوبین باعث از دست رفتن کیفیت ظاهری اینگونه از آبزیان می‌گردد. کم و زیاد شدن درجه برودت سردخانه در زمان نگهداری ماهی منجمد شده ماهی تونا باعث تشدید این پدیده می‌گردد(۱۱۲). پژوهش انجام شده بر روی شرایط بسته بندی ماهی تونا بمدت شش ماه در سردخانه $-۲۰^{\circ}c$ با اتمسفر اصلاح شده، باعث از بین رفتن این مشکل و ثابت ماندن مقدار میوگلوبین گردید(۱۱۳).

جذب اکسیژن موجود در محیط با استفاده از روش‌های شیمیایی راه حل دیگری برای حفظ کیفیت و ظاهر ماهی می‌باشد. یک نمونه از این روش تولید پودر اکسید آهن می‌باشد که توسط شرکت شیمیائی میتسوبیشی تولید و تحت عنوان Ageless در کیسه‌های کوچکی فروخته می‌شود. اکسیژن بوسیله ایجاد واکنش بوسیله پودر اکسید

آهن از محیط حذف می‌گردد و باعث باثبات شدن محیط می‌شود. پیشنهاد شده که این فرآورده در مورد فرآورده‌های نگهداری شده در $-۴۰^{\circ}C$ بکار گرفته شود و ادعا شده که با این روش می‌توان مقدار اکسیژن در بسته‌های مواد غذائی را تا ۰/۰۱ درصد (یک صدم درصد) کاهش داد.

۸-۱۴- اثر انجماد بر چربی

تاثیر اثر انجماد بر روی تندشدن چربی به روشنی شناخته نشده است و نتایج تعداد زیادی از گزارش‌ها در این زمینه قطعی نمی‌باشند. منجمدنمودن فرآورده بصورت صحیح ممکن است در انبار با کم کردن ضایعات سردخانه بافت از طریق ایجاد کریستال‌های ریز یخ ، باعث کاهش مقدار تندشدن چربی بخصوص در بافت چربی در غشاء سلولی که معمولاً نقطه شروع اکسیده شدن چربی است گردد. اگرچه سرعت واکنش‌های شیمیائی با کاهش درجه برودت کم می‌شوند، اما اکسیده شدن چربی در گوشت و ماهی در زیر نقطه انجماد افزایش می‌یابد و به حداکثر خود در $-۱۰^{\circ}C$ می‌رسد. تاثیر کاهش درجه برودت، بوسیله سرعت در تولید غلظت مواد منجمد شونده و مواد واکنش دهنده و کاتالیزورها بی اثر می‌گردد. افزایش سرعت در تندشدن چربی‌ها بعلت انجماد بستگی به سرعت تولید کریستال‌های یخ و بخصوص در نقاط پرچرب ماهی دارد. در حالیکه درجه برودت در بافت ماهی به زیر صفردرجه سانتیگراد می‌رسد، کریستال‌های یخ افزایش یافته و باعث غلیظ شدن مایع بین بافتی و پائین رفتن درجه انجماد می‌گردد. بنابراین، حتی در درجه برودت $-۲۰^{\circ}C$ مقداری از آب غیرقابل انجماد در بافت باقیمانده که باعث می‌گردد آنزیم‌ها از آن برای ایجاد واکنش برای اکسیده کردن چربی استفاده کنند.

ایجاد کریستال‌های یخ و افزایش آنها در بافت ماهی باعث ایجاد ضایعاتی سردخانه‌ای در ساختارهای ظریف بافت ماهی می‌گردد. مثلاً دیواره سلولی پاره شده و به آسانی مواد واکنش دهنده دسترسی به چربی پیدا نموده و باعث اکسیده شدن آن شوند. نتایج آزمایش هایی که اخیراً بر روی گربه ماهی در زمان یخ زدائی انجام شده، بیانگر این موضوع بود که سیکل یخ زدائی باعث اثر تخریبی، تسهیل کننده عمل اکسیده شدن چربی در ماهی می‌باشد(۱۱۴). یکی از دلائل این تاثیر تخریبی آزادشدن یون آهن از پروتئین که تشدید کننده واکنش اکسیدشدن چربی است می‌باشد. یکی دیگر از دلائل ذکر شده برای اثر تشدید کنندگی این یون آهن در اکسیده شدن چربی در ماهی، نفوذ بیشتر آن به داخل دیواره سلولی در مقایسه با یون آهن در پروتئین بومی‌در ماهی می‌باشد(۱۱۴). علاوه بر این بنظر می‌رسد که در دوره یخ زدائی، یون آهن فعال شده در $Haem\text{-}Proteins(Fe^{++})$ که همراه است با کم شدن مت میوگلوبین باعث تشدید خاصیت اکسیدکنندگی در چربی ماهی می‌شوند. طول زمان نگهداری ماهی قبل از انجماد نیز باعث اثرگذاری چشم گیری در پایداری چربی

در مقابل اکسیده شدن در زمان نگهداری در سردخانه دارد. نتایج آزمایش بر روی فیله شک ماهی که به ترتیب پس از سه و شش روز از صید منجمد شده بودند نشان داد که سرعت اکسیده شدن چربی در فیله‌ای که پس از شش روز منجمد شده بود خیلی بیشتر از فیله‌ای بود که پس از سه روز منجمد شده بود، علت این پدیده را تمام شدن مواد آنتی اکسیدان طبیعی در فیله اولی گزارش نمودند(۱۱۵).

۱-۸-۱۴- انجماد سریع و کیریوپروتکشن Cryoprotection

انجماد سریع باعث کم شدن ضایعات در سلول‌های غشائی و در نتیجه باعث کم شدن ترشیدگی چربی در ماهی می‌شود. هم چنین ممکن است که انجماد سریع باعث تولید کریستال‌های کوچک یخ و منتشرشدن یکنواخت آنها در بافت گردیده که این پدیده باعث کم شدن تخریب اولیه در بافت ماهی گردد. این نکته باید در نظر گرفته شود که حتی زمانی که ماده اولیه بصورت سریع منجمد شده است. در صورتی که در سردخانه‌ای که درجه برودت آن دستخوش تغییرات است انبار شود، تغییر درجه باعث بوجود امدن کریستال‌های بزرگ از کریستال‌های کوچک یخ و در نتیجه باعث ایجاد تخریب در بافت ماهی می‌گردد. مقدار کمی‌گزارش در منابع علمی‌در مورد تاثیراندازه و محل کریستال‌های یخ و تاثیر آنها بر روی مقدار تندشدن چربی در ماهی منتشر شده است. بعضی از نتایج منتشر شده نشان می‌دهد که انواع روش‌های انجماد تاثیری بر روی اکسیدشدن چربی ندارند(۱۱۶). در یک بررسی سینه مرغ و عضله ماهی قزل آلا در $-۲۵c^{\circ}$ منجمد گردیدند و سپس در سردخانه $-۵c^{\circ}$ بمدت ۸۳ و ۴۷ روز به ترتیب نگهداری شدند.اندازه گیری TBA در هر دو تیمار به مقدار زیادی افزایش یافت، در نتیجه گزارش شد که درجه روش انجماد تاثیری در جلوگیری از تولید TBA در این دو تیمار نداشته است. در اینجا این نکته باید ذکر شود که ممکن است روش انجماد که استفاده از انجماد صفحه‌ای $\left(-۳۵c^{\circ}\right)$ بود شاید برای این نمونه‌ها بهینه نبوده است و باعث ایجاد اختلاف درجه در نقاط مختلف نمونه‌ها کرده باشد (Temperature Gradients) که اگر این اتفاق افتاده باشد، باعث بدست آمدن چنین نتیجه‌ای شده است. علاوه بر این در این تحقیق، مرفولوژی و محل پراکندگی کریستال‌های یخ در نمونه‌ها تعیین نشده بودند(۱۱۶).

استفاده از مواد محافظ کننده (Cryoprotectants) از اثر انجماد در تخریب در بافت ماهی می‌تواند یکی از راه‌های جلوگیری از بوجودآمدن طعم و مزه ناخواسته در فرآورده‌های دریائی باشد. استفاده از آن همراه با انجماد سریع می‌تواند اثر تشدیدکنندگی برای جلوگیری از تخریب بافت ماهی بعلت نوسانات درجه برودت در سردخانه گردد، اگرچه هنوز اطلاعاتی در این زمینه وجود ندارد.

۹-۱۴- نتیجه گیری و پیشرفت‌های آینده

تندشدن چربی به عنوان مشکلی اساسی و دائمیو مرتبط با نگهداری ماهی چرب منجمد هنوز در صنعت شیلات وجود دارد. تدابیری باید در رابطه با طولانی نمودن زمان ماندگاری و جلوگیری از تولید طعم و مزه ناخواسته در زمان انبارداری ماهی باید گرفته شود. بنظر می‌رسد که راه حل نهائی و همه جانبه‌ای برای حل این مشکل تندشدن چربی در ماهی هنوز در دسترس نمی‌باشد. در حقیقت گاهی اوقات به دلائل متناقض نمی‌توان یک راه مشخص را پیشنهاد نمود. اما این بدین معنی نمی‌باشد که نمی‌توان راه حل هایی را فرموله نمود. این بدین معنا است که در مورد نمونه‌های موردنظر راه حل‌های بکار برده شده باید بصورت دائم مورد بررسی و با توجه به شرایط محیطی و بخصوص مواد خام موردنظر تجدیدنظر قرار گیرند.

روشن است که روز به روز آگاهی مصرف کنندگان در مورد افزون مواد نگهدارنده به مواد غذائی در حال افزایش است و باعث گردیده که در مورد انتخاب مواد غذائی که حاوی مواد نگهدارنده و یا بنظرشان غیرطبیعی می‌آید بصورت انتخابی اقدام نمایند. این بدان معنی است که جلوگیری از تندشدن چربی در ماهی بوسیله مواد نگهدارنده سنتتیکی باید با دقت مورد بازنگری قرار گیرد. این امر باعث گردیده که بررسی‌های امروزی به سمت آنتی اکسیدانی‌های طبیعی مانند عصاره‌های گیاهی (Herb)، رزماری (Rosemary) و موجب پیدایش مالکیت‌های معنوی (Patent) در این زمینه گردید. بنابراین در این زمینه فضای زیادی برای انجام تحقیق در مورد دسترسی به آنتی اکسیدان‌های طبیعی و قوی‌تر و یا عصاره آنها امروزه پیدا شده است.

رشد فوق تصورآبزی پروری و مصرف ماهیان چرب مثل آزاد ماهیان زمینه بزرگی را در تولید ماهیان چرب بوجود آورده. این پیشرفت آبزی پروری در آینده ممکن است در برگیرنده دیگر ماهیان چرب نیز شود. استفاده از مواد آنتی اکسیدان خوراکی و بوجود آوردن آنتی اکسیدان هایی از ترکیب نمودن چند آنتی اکسیدان مشخصاً یکی از زمینه‌های مهم تحقیقاتی برای تولید آنتی اکسیدان‌های نوین برای جلوگیری از تندشدن چربی در ماهیان چرب تولید شده از راه آبزی پروری خواهد بود.

روش‌های جلوگیری برای کم کردن ایجاد ترشیدگی در چربی ماهی غیرقابل پیش بینی می‌باشند و ارزیابی نتایج این روش‌ها زمان گیر و دربرگیرنده دوره طولانی نگهداشتن نمونه در انبار و آزمایش‌های زمان‌گیر چشائی می‌باشد. استفاده از روش‌های شبیه سازی انبار داری (Accelerated Storag Conditions) بخصوص برای فرآورده‌های منجمد شده می‌تواند تا حدودی باعث کاهش زمان آزمایش‌ها بشود. اما باید دقت نمود که نتایج بدست آمده از این روش، بخصوص در درجه‌های برودت بالا به درجه برودت‌های پائین‌تر بدرستی و به دقت مورد محاسبه قرار گیرند. داشتن نتایج قابل اطمینان از بکاربردن روش‌های شبیه سازی در آزمایش‌های انبارداری و یا حتی مدل‌های سریعتر (Rapid Modle System) دارای مزایای زیادی در اینگونه آزمایش‌ها از

نظر صرفه‌جوئی در زمان می‌باشد. از طرف دیگر داشتن روش‌های سریع آزمایشگاهی برای جایگزینی آنها با روش‌های حسی می‌تواند دارای امتیازهای زیادی باشد. تعدادی از روش مورد استفاده امروزی، مثل‌اندازه گیری بازهای فرار، اگرچه روش‌های دقیق و قوی می‌باشند ولی بهرحال وقت گیری و نیاز به تکرار و اپتیمم کردن نتایج دارند. بنابراین ابداع یک روش سریع، قابل اعتماد شیمیائی با استفاده از ابزار حساس که به سرعت قادر به تعیین مقدار اکسیده شدن چربی و از دست رفتن کیفیت باشد می‌تواند دستگاه ارزشمندی در این زمینه باشد.

۱۰-۱۴- منابع فصل چهاردهم

1. BODY, D.R. and VLIEG, P. (1989) 'Distribution of the lipid classes and eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in different sites in blue mackerel Fillets.' *J. Food Sci.* 54, 569–72.
2. DEEMS, R.A., EATON, B.R. and DENNIS, E.A. (1975) 'Kinetic analysis of phospHolipase A2 activity toward mixed micelles and its implications for the study of lipolytic enzymes' *J. Biol. Chem*., 250, 9013–20.
3. OHSIMA, T., FUJITA, Y. and KOIZUMI, C. (1993) 'Oxidative stability of sardine and mackerel lipids with a reference to synergism between phospHolipids and alpHa tocopHerol. *J. Amer. Oil Soc.* 70, 269–76.
4. SHEWFELT, R.L. (1981) 'Fish Muscle Lipolysis' *J. Food Biochem*. 5, 79–100.
5. OHSHIMA T., WADA S. and KOIZUMI, C. (1985) 'Accumulation of lyso pHospHolipids in several species of fish flesh during storage at ÿ5ºC.'*Bulletin Jap. Soc. Sci. Fisheries* 51, 965–71.
6. BOSUND, I. and GANROT, B. (1969) 'Lipid hydrolysis in frozen Baltic herring' *J. Food Sci.*, 34, 13–17.
7. HWANG, K.T. and REGENSTEIN J.M. (1993) 'Characteristics of mackerel mince lipid hydrolysis.' *J.Food Sci.* 58, 79–83.
8. INGEMANSSON, T., KAUFMANN, P. and EKSTRAND, B. (1995) 'Multivariant evaluation of lipid hydrolysis and oxidation data from light and dark muscle of frozen stored Rainbow trout.' *J. Agri. Food Chem*. 43, 2046–52.
9. TSUKADA, N. (1976) 'Changes in the Lipids of Skipjack during Frozen Storage' *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab*. 84, 31–41.
10. HARRIS, P. and TALL, J. (1994b). 'Substrate Specificity of Mackerel Flesh Lipoxygenase'. *J. Food Sci.* 59, 504–6.
11. MIYASHITA, K. and TAKAGI, T. (1986) 'Study on the oxidative rate and prooxidant activity of free fatty acids' *JAOCS* 63, 1380–4.
12. SCHEWFELT, R.L and HULTIN, H.O. (1983) 'Inhibition of Enzymatic and Non-Enzymatic Lipid Peroxidation of Flounder Muscle Sarcoplasmic Reticulum by Pretreatment with PHospHolipase A2' *Biochim. BiopHys. Acta* 751, 432–8.

13. DEKONING A.J., MILKOVITCH, S. and THEODORA, H.M. (1987) 'The origin of free fatty acids formed in frozen cape hake mince during cold storage at ÿ18ºC.' *J. Sci. Food Agric*., 39, 79–84.
14. DEKONING A.J. and THEODORA, H.M. (1990) 'Rates of free fatty acid formation from pHospHolipids and neutral lipids in frozen cape hake mince at various teperatures.' *J. Sci. Food Agric.*, 50, 391–8.
15. KANENIWA, M., MIAO, S., YUAN. C.H., IIDA, H., and FUKUDA, Y. (2000) 'Lipid components and enzymatic hydrolysis of lipids in muscle of Chinese freshwater fish' *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 77, 825–30.
16. MEDINA I., SACCHI R. and AUBOURG, S. (1994) '13C Nuclear magnetic resonance monitoring of free fatty acid release after fish therma processing' *JAOCS* 71, 479–82.
17. REFSGAARD H.H.F., BROCKHOFF P.M.B. and JENSEN B. (2000) 'Free polyunsaturated fatty acids cause taste deterioration of salmon during frozen storage.' *J. Agri Food Chem.* 48, 3280–5.
18. AUDLEY, A., SHETTY, K.J. and KINSELLA, J.E. (1978) 'Isolation and properties of pHospHolipase A from pollock .' *J. Food Sci*. 43, 1771–5.
19. BILINSKI, E. and JONAS, R.E.E. (1966b) 'Distribution of Lecithinase in the subcellular fractions of rainbow trout lateral line' *J. Fish Res. Bd. Canada*23, 1811–3.
20. CHAWLA, P. and ABLETT, R.F. (1987) 'Detection of microsomal pHospHolipase activity in myotomal tissue of Atlantic cod.' *J. Food Sci*.52, 1194–7.
21. CHAWLA P., MACKEIGAN B., GOULD S.P. and ABLETT R.F. (1988) 'Influence of frozen storage on microsomal pHospHolipase activity in myotomal tissue of Atlantic cod' *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 21, 399–402.
22. AAEN, B., JESSEN, F. and JENSEN, J. (1995) 'Partial purification and characterisation of a cellular acid pHospHolipase A(2) from cod.' *Comp. Biochem. PHysiol.* 110B (3) 547.
23. SIKORSKI, Z., OLLEY, J. and KASTUCH, S. (1976) 'Protein changes in frozen fish.' *Food Sci. and Nutr*. 8, 97–104.
24. BILINSKI, E. and JONAS, R.E.E. (1966a) 'Lecithinase activity in the muscle of rainbow trout' *J. Fish Res. Bd. Canada* 23, 207–20.
25. LOCATI, M., LAMORTE, G., LUINI, W., INTRONA, M., BERNASCONI, S., MANTOVANI, A. and SOZZANI, S. (1996) 'Inhibition of monocyte chemotaxis to C-C chemokines by antisense oligonucleotide for cytosolic pHospHolipase A(2)' *J. Biol. Chem.* 271, 6010.
26. PETTIT, T.R., ROWLEY, A.F. and BARROW, S.E. (1989) Synthesis of leukotriene-B and other conjugated triene lipoxygenase products by blood-cells of the rainbow trout (Salmo-Gairdneri) *Biochem. BiopHys. Acta* 1003, 397–402.
27. BELL, J.G., SARGENT, J.R. and RAYNARD, R.S. (1992) 'Effects of increasing dietary linoleic acid on pHospHolipid fatty acid composition and eicosanoid production in leucocytes and gill cells of Atlantic Salmon' *Prostaglandins, Leukotriens and Essential Fatty Acids* 45, 197–206.

28. SATOUCHI K., SAKAGUCHI M., SHIRAKAWA M., HIRANO K. and TANAKA T. (1994) 'Lyso-pHospHatidylcholine from white muscle of Bonitoeuthynnus-Pelamis – Involvement of pHospHolipase A(1) activity for its production' *Biochim BiopHys Acta* 1214, 303–8.
29. HIRANO K., TANAKA A., YOSHIZUMI K., TANAKA T. and SATOUCHI K (1997) 'Properties of pHospHolipase A(1) transacylase in the white muscle of bonito Euthynnus pelamis (Linnaeus)' *J. Biochem.* 122, 1160–6.
30. GREENE, D.H.S. and SELIVONCHICK, D.P. (1987) 'Lipid metabolism in fish' *Prog. Lipid Res*. 26, 53–85.
31. GEORGE, J.C. (1962) 'A histopHysiological study of the red and white muscle of mackerel' *Am. Midl. Nat.* 68, 487–94.
32. KE, P.J., ACKMAN, R.G., LINKE, B.A. and NASH, D.M. 'Differential lipid oxidation in various parts of frozen mackerel' (1977) *J. Food Technol.* 12, 37–42.
33. BILINSKI, E.R., JONAS, R.E.E. and LAU, Y.C. (1971) 'Lysosomal Triglyceride lipase from the lateral line tissue of rainbow trout.' *J. Res. Bd. Canada*, 28, 1015–18.
34. BILINSKI, E.R. and LAU, Y.C. (1969) 'Lipolytic activity toward long-chain triglycerides in lateral line muscle of rainbow trout.' *J. Fish Res. Bd. Canada* 26, 1857–66.
35. GEROMEL, E.J. and MONTGOMERY, M.W (1980) 'Lipase release from lysosomes of rainbow trout (*Salmo-Gairdneri*) muscle subjected to low temperature' *J. Food Sci.* 45, 412–15.
36. SHERIDAN, M.A. and ALLEN, W.V. (1984) 'Partial-purification of a triacylglycerol lipase isolated from steelhead trout (*Salmo-Gairdneri)* adipose tissue' *Lipids* 19, 347–52.
37. GREENBERG A.S., SHEN W.J., MULIRO K., PATEL S., SOUZA S.C., ROTH R.A. and KRAEMER F.B. (2001) 'Stimulation of lipolysis and hormone-sensitive lipase via the extracellular signal-regulated kinase pathway' *J. Biol. Chem* 276, 45456–61.
38. FREDERIKSSON, G., TORQUVIST, H. and BELFRAGE, P. (1986) 'Hormone sensitive lipase and monoacylglycerol lipase are both required for complete degradation of adipocyte triacylglycerol' *Biochem. BiopHys.Acta*, 876, 288–93.
39. SHERIDAN, M.A. (1988) 'Lipid dynamics in fish – aspects of absorption, transport, deposition and mobilization' *Comp. Biochem. PHysiol*. 90B, 679–90.
40. HENDERSON, R.J. and TOCHER, D.R. (1987) 'The lipid composition and biochemistry of fresh water fish' *Prog. Lipid Res*. 26, 281–347.
41. MICHELSEN, K.G., HARMON, J.S. and SHERIDAN, M.A. (1994) 'Adipose-tissue lipolysis in rainbow trout, *Onorhynchus mykiss*, is modulated by pHospHorylation of triacylglycerol lipase' *Comp. Biochem. PHysiol.*107B, 509–13.
42. MIGLIORINI, R.H., LIMA-VERDE, J.S., MAVHADO, C.R., CARDONA, G.M.P., GAROFALO, M.A.R. and KETTLEHUT, I.C. (1992) 'Control of adipose-tissue lipolysis in ectotherm vertebrates' *Am. J. PHysiol*. 263, 857–62.
43. TRIQUI R. and REINECCIUS G.A. (1995) 'Changes in Flavour Profiles with Ripening Anchovy' *J. Agric Food Chem*, 43, 1883–9.

44. REFSGAARD H.H.F., BROCKHOFF, P.B. and JENSEN B. (1998) 'Sensory and chemical changes in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) during frozen storage.' *J. Agri. Food Chem.* 46, 3473–9.
45. REFSGAARD H.H.F., HAAHR A.M. and JENSEN B. (1999) 'Isolation and quantification of volatiles in fish by dynamic headspace sampling and mass spectrometry.' *J. Agri. Food Chem.* 47, 1114–18.
46. HSIEH, R.J. and KINSELLA, J.E. (1989). 'Oxidation of PUFAs, Mechanisms, Products and Inhibition with EmpHasis on Fish' *Adv. Food Nutr. Res.* 33, 233–41.
47. HARRIS, P. and TALLl, J. (1994) in '*Rancidity in Foods*' (J.C. Allen and R.J. Hamilton eds) Blackie Academic & Professional 256–70.
48. KANNER, J. (1992) 'Mechanisms of Nonenzymatic Lipid Peroxidation in Muscle Foods in Lipid Oxidation In Foods' *ACS Symposium Series* 500, 55–73.
49. AUST S.D. and SVINGEN B.A. (1982) 'The role of iron in enzymatic lipid peroxidation' in *Free Radical Biology* vol. 5 (Pryor, W.A., ed) Academic Press, pp 1–28.
50. KANNER, J. and HAREL, S. (1985) 'Initiation of membranal lipid peroxidation by activated metmyoglobin and methemoglobin' *Arch. Biochem. BiopHys.* 237, 314–21.
51. REEDER, B.J. and WILSON, M.T. (1998) 'Mechanism of reaction of myoglobin with the lipid hydroperoxide hydroperoxyoctadecadienoicacid' *Biochem. J.* 330, 1317–23.
52. CHAN, W.K.M. FAUSTMAN C. and DECKER E.A. (1997) Oxymyoglobin Oxidation as affected by Oxidation Products of PHospHatidylcholine Liposomes, *J. Food Sci.* 62, 709–12.
53. RICHARDS M.P. and HULTIN H.O. (2000) Effect of pH on lipid oxidation using trout hemolysate as a catalyst: A possible role fordeoxyhemoglobin.' *J. Agri. Food Chem.* 48, 3141–47.
54. RICHARDS M.P. and HULTIN H.O. (2001) 'Rancidity development in a fish model system as affected by pHospHolipids' *J. Food Lipids* 8, 215–30.
55. BORST J.W., VISSER N.V., KOUPTSOVA O. and VISSER A.J.W.G. (2000) 'Oxidation of unsaturated pHospHolipids in membrane bilayer mixtures is accompanied by membrane fluidity changes' *Biochim. BiopHys. Acta*1487, 61–73.
56. HAN, T.J. and LISTON, J. (1987) 'Lipid peroxidation and pHospHolipid hydrolysis in fish muscle microsomes and frozen fish' *J. Food Sci.* 52, 294–301.
57. TOYOMIZU, M., HANAOKA, K. and YAMAGUCHI, K. (1981) 'Effect of release of free fatty acids by enzymatic hydrolysis of pHospHolipids on lipid oxidation during storage of fish muscle' *Bulletin of the Japanese Soc. Sci. Fish* 47, 615–20.
58. JOSEPHSON, D.B., LINDSAY, R.C. and STUIBER, D.A. (1984) 'Biogenesis of lipid-derived volatile aroma compounds in the emerald shiner (*Notropisatherinoides*)' *J. Agri. Food Chem*., 32, 1347–1351.
59. JOSEPHSON, D.B., LINDSAY, R.C. and STUIBER, D.A (1987) 'Influence of processing on the volatile compounds characterising the flavor of pickled fish' *J. Food Sci. 52,* 596–602.

60. GERMAN, J.B. and CREVELING R.K. (1985) 'Lipid oxidation in fish tissue enzymatic initiation via lipoxygenase' *J. Agric. Chem.* 33, 680–83.
61. HSIEH, R.J., GERMAN, J.B. and KINSELLA, J.E. (1988) 'Lipoxygenase in fish tissue – some properties of the 12 lipoxygenase from trout gill' *J.Agri.Food Chemi.* 36, 680–5.
62. HSIEH, R.J. and KINSELLA, J.E. (1989) 'Lipoxygenase generation of specific volatile flavour carbonyl compounds in fish tissue' *J. Agri. Food Chem.*37, 279–86.
63. HSIEH, R.J., GERMAN, J.B. and KINSELLA, J.E. (1990) 'Relative inhibitory potencies of flavonoids on 12 lipoxygenase of fish gill' *Lipids* 23, 322–326.
64. GERMAN, J.B. and KINSELLA, J.E. (1986) 'Hydroperoxide metabolism in trout gill tissue – Effect of glutathione on lipoxygenase products generated from arachidonic acid and dococahexaenoic acid' *Biochem. BiopHys. Acta*879, 378–87.
65. GRUN, I.U. and BARBEAU, W.E. (1995) 'Lipoxygenase activity in menhaden gill tissue and its effect on odor of *n-3* fatty acid ester concentrates' *J. Food Biochem*., 18, 199–212.
66. GERMAN, J.B. and CREVELING R.K. (1990) 'Identification and characterization of a 15 lipoxygenase from fish gill' *J. Agri., Food Chem.* 38, 2144–7.
67. KNIGHT, J., HOLLAND, J.W., BOWDEN, L.A., HALLIDAY, K and ROWLEY, A.F. 'Eicosanoid generating capacities of different tissues from the rainbow trout *Onorhynchus mykiss*' (1995) *Lipids* 70, 451–8.
68. MOHRI, S., CHO, S.Y., ENDO, Y. and FUJIMOTO, K. (1990) 'Lipoxygenase activity in sardine skin' *J. Agri. Food Chem.*, 54, 1889–91.
69. MOHRI, S., CHO, S.Y., ENDO, Y. and FUJIMOTO, K. (1992) 'Linoleate 13(S)- Lipoxygeanse in sardine skin' *J. Agri. Food Chem*., 40, 573–6.
70. SAEED S. and HOWELL N.K. (2001) '12-lipoxygenase activity in the muscle tissue of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) and its prevention by antioxidants.' *J. Sci, Food Agri*. 81, 745–50.
71. SHARP, G.J.E., PETTITT, T.R., ROWLEY, A.F. and SECOMBES, C.J. (1992) 'Lipoxin-induced migration of fish leukocytes' *J. Leuk. Biol.* 51, 140–5.
72. EVANS R.J. 'Optimizing lipid stability with matural inhibitors' in *Natural Antioxidants Chemistry, Health effects and Application* (1997) (F. Shahidi ed.) chapter 13, p 224–44, AOCS Press, Champaign, Illinois.
73. OHSHIMA T., WADA S. and KOIZUMI C. (1988) 'Influence of heme pigment, non haem pigment, non haem iron and nitrite on lipid oxidation in cooked mackerel meat' *Nippon Suisan Gakkaishi* 54, 2165–71.
74. EUN J.B., HEARNSBERGER J.O. and KIM J.M. (1993) 'Antioxidants, activators, and inhibitors affect the enzymatic lipid-peroxidation system of catfish muscle microsomes' *J. Food Sci*. 58, 71–4.
75. DECKER E.A., CRUM A.D., SHANTHA N.C. and MORRISSEY P.A. (1993) 'Catalysis of lipid oxidation by iron from insoluble fraction of beef diapHragm muscle' *J. Food Sci*. 58, 233.
76. MCCORD J.M. and DAY E.D. (1978) 'Superoxide-dependant production of hydroxy radicals catalysed by iron complex' *FEBS Letters* 86, 139–42.

77. NOLAN, K.B., DUFFIN, P.A. and MCWEENY, D.J. (1987) 'Effect of pHytate on mineral bioavailability *in vitro* studies on Mg2+, Ca2+, Fe3+, Cu2+ and Zn2+ (also Cd2+) solubilities in the presence of pHytate' *J. Sci. Food Agric*. 40, 79–85.
78. GRAF, E., EMPSON, K.L. and EATON, J.W. (1987) 'PHytic-Acid A natural antioxidant' *J. Biol. Chem* 262, 11647.
79. GRAF, E., MAHONEY, J.R., BRYANT, R.G. and EATON, J.W. (1984) 'Ironcatalysed hydroxyl radical formation – stringent requirement for free iron coordination site' *J. Biol. Chem*. 259, 3620.
80. EMPSON, K.L., THEODORE, P.L. and GRAF, E. (1991) 'PHytic acid as a food antioxidant' *J. Food Sci*. 56, 560–3.
81. BOYD, L.C., GREEN, D.P., GIESBRECHT, F.B. and KING, M.F. (1993) 'Inhibition of oxidative rancidity in frozen cooked fish flakes by tertbutylhydroquinone and rosemary extract' *J. Sci. Food Agric*. 61, 87–93.
82. LINGNERT, H. and ERIJSSON, C.E. (1981) 'Antioxidant effect of Maillard reaction products' *Prog. Food Nutr. Sci*. 5, 453.
83. BECKEL, R., LINGNERT, H., LUNDGREN, B., HALL, G. and WALLER, G.R. (1985) 'Effect of Maillard Reaction on the stability of Minced herring in frozen storage' *J. Food Sci.* 50, 501–2.
84. RAMANATHAN, L. and DAS, N.P. (1993) 'Natural products inhibit rancidity in salted cooked ground fish' *J. Food Sci.* 58, 318–20.
85. FANG X. and WADA, S. (1993) Enhancing the antioxidant effect of atocopHerol with rosemary in inhibiting catalysed oxidation caused by Fe2+ and hemoprotein, *Food Res. Int*. 26, 405–11.
86. RAMANATHAN, L. and DAS N.P. (1992) 'Studies on the control of lipid oxidation in ground fish by some polypHenolic natural products' *J. Agri. Food Chem*. 40, 17–21.
87. JORGENSEN, L.V. and SKIBSTEAD, I.H. (1998) 'Flavonoid deactivation of ferrylmyoglobin in relation to ease of oxidation as determined by cyclic voltammetry' *Free Radical Research* 28, 335–51.
88. DECKER, E.A. and HULTIN, H.O. (1992) 'Some factors influencing the catalysis of lipid oxidation in mackerel ordinary muscle' *J. Food Sci.* 55, 947–50.
89. JIA T.D., KELLEHER S.D., HULTIN H.O., PETILLO D., MANEY R. and RZYNOWEK J. (1996) 'Comparison of quality loss and changes in the glutathione antioxidant system in stored mackerel and blue fish muscle' *J. Agri. FoodChem.* 44, 1195–201.
90. DECKER E.A., LIVISAY S.A. and ZHOU S. (2000) 'Re-evaluation of the antioxidant activity of purified carnosine' *Bioch.-Moscow* 65, 766–70.
91. BRANNAN, R.G. and ERICKSON, M.C. (1996) 'Quantification of antioxidants in channel catfish during frozen storage' *J. Agri. Food Chem.* 44, 1361–6.
92. NAKANO, T., SATO, M. and TAKEUCHI, M. (1992) 'Glutathione Peroxidase in fish' *J. Food Sci.* 57, 1116–9.
93. BELL, J.G., COWEY, C.B. and YOUNGSON, A. (1984) 'Rainbow trout liver microsomal lipid peroxidation, the effect of purified glutathioneperoxidase, glutathione S-transferase and other factors' *Biochim. BiopHys. Acta* 795, 91–9.

94. KANSCI, G., GENOT, C., MEYNIER, A. and GANDEMER, G. (1997) 'The antioxidant activity of carnosine and its consequences on the volatile profiles of liposomes during iron/ascorbate induced phospholipids oxidation' *Food Chem.* 60, 165–75.
95. MITSUMOTO, M. (2000) in '*Antioxidants in Muscle Foods; Nutritional Strategies to Improve Quality*' (E.A. Decker, C. Faustman and C.J. Lopez- Bote eds.) Wiley Interscience, Chichester, Ch. 12, pp. 315–66.
96. MORRISSEY, P.A., SHEEHY, P.J.A., GALVIN, K., KERRY, J.P. and BUCKLEY, D.J. (1998) 'Lipid stability in meat and meat products' *Meat Sci*. 49, S73–S86.
97. O'NEILL, L.M., GALVIN, K., MORRISSEY, P.A. and BUCKLEY, D.J. (1999) 'Effect of carnosine, salt and dietary vitamin E on the oxidative stability of chicken meat' *Meat Sci.* 52, 89–94.
98. RASKIN, P., CLINQUART, A., MARCHE, C. and ISTASSE, L. (1997) 'Vitamin E and meat quality' *Annales de Medecine Veterinaire* 141, 113–26.
99. RILEY, P.A., ENSER, M., NUTE, G.R. and WOOD, J.D. (2000) 'Shelf life and eating quality of beef from cattle of different breeds given diets differing in n-3 polyunsaturated fatty acid composition' *Animal Science* 71, 483–500.
100. SHEARD, P.R., ENSER, M., WOOD, J.D., NUTE, G.R, GILL, B.P. and RICHARDSON, R.I. (2000) 'Shelf life and quality of pork and pork products with raised n-3 PUFA' *Meat Sci*. 55, 213–21.
101. BOGGIO, S.M. HARDY, R.W. BABBITT, J.K. and BRANNON, E.L. (1985) 'The influence of dietary lipid source and _-tocopHerol level on product quality of Rainbow trout' *Aquaculture* 51, 13–24.
102. FRIGG, M., PRABUCKI, A.L. and RUHDEL, E.U. (1990) 'Effect of dietary Vitamin E level on oxidative stability of trout fillet' *Aquaculture* 84, 145–58.
103. ACKMAN R.G., PARAZO, M.P.M. and LALL, S.P. (1997) 'Impact of dietary peroxides and tocopHerols on fillet flavor of farmed Atlantic salmon' *ACS Symposium series* 674, 148–65.
104. POZO, R., LAVETY, J. and LOVE, M. (1988) 'The role of dietary _-tocopHerol in stabilising the canthaxanthin and lipids of rainbow trout' *Aquaculture*73, 165–75.
105. HAMRE, K., BERGE, R.K. and LIE, O. (1998) 'Oxidative stability of Atlantic salmon fillet enriched in -, and - tocopHerol through dietary supplementation.' *Food Chem.* 62, 173–8.
106. JENSEN, C., BIRK, E., JOKUMSEN, A., SKIBSTEAD, L.H. and BERTELSSEN, G. (1998) 'Effect of dietary levels of fat, _-tocopHerol and astaxanthin on the colour and lipid oxidation during storage of frozen rainbow trout and chilled storage of smoked trout' *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 207, 189–96.
107. BRUUNJENSEN, L, SKOVGAARD, M., SKIBSTEAD, L.H. and BERTELSEN, G. (1994) 'Antioxidant synergism between tocopHerols and ascorbyl palmitate in cooked, minced turkey' *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 199, 210–13.
108. BJERKENG, B. and JOHNSEN, G. J. (1995) 'Frozen Storage Quality of Rainbow trout as affected by oxygen, illumination, and fillet pigment.' *Food Sci* 60, 284–8.

109. ANELICH, L.E., HOFFMAN, L.C. and SWANEPOEL, M.J.J. (2001) 'The quality of frozen African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) fillets under longterm storage conditions'. *Food and Agri.* 81, 632–9.
110. SANTOS, E.E.M. and REGENSTEIN, J.M. (1990) 'Effects of Vacuum Packing, Glazing and Erythorbic Acid on the shelf-life of Frozen White Hake and Mackerel' *J. Food Sci.* 55, 64–70.
111. CHISTOPHERSEN A.G., BERTELSEN, G., ANDERSEN, H.J., KNUTHSEN, P. and SKIBSTEAD, L.H. (1992) 'Storage Life of Frozen Salmonoids – Effect of light and packaging conditions on carotenoid and lipid oxidation' *Z Lebensm. Unters. Forsch.* 194, 115–19.
112. CHOW, C.J., OCHIAI, Y., WATABES, S. and HASHIMOTO, K. (1989) 'Reduced stability and accelerated autoxidation of tuna myoglobin in association with freezing and thawing' *J. Agri. Food Chem*. 37, 1391–5.
113. CHOW, C.J., HSIEH, P.P., TSAI, M.L. and CHU Y.J. (1998) 'Quality changes during iced and frozen storage of tuna flesh treated with carbon monoxide gas' *J. Food Drug Analysis* 6, 615–23.
114. BENJAKUL, S. and BAUER, F. (2001) 'Biochemical and pHysicochemical changes in catfish (*Silurus glanis Linne*) muscle as influenced by different freeze-thaw cycles.' *Food Chem.* 72, 207–17.
115. UNDELAND, I. and LINGNERT, H J. (1999) 'Lipid oxidation in fillets of herring (*Clupea harengus*) during frozen storage. Influence of prefreezing storage.' *Agri Food Chem.* 47, 2075–81.
116. TOAMA, M.C. (1990) 'Study on the influence of freezing rate on lipid oxidation in fish (salmon) and chichen breast muscles' *Int. J. Food Sci. Tech.* 25, 718–21.

بخش سوم

«بهبود کیفیت در زنجیره عرضه»

« **فصل پانزدهم**»

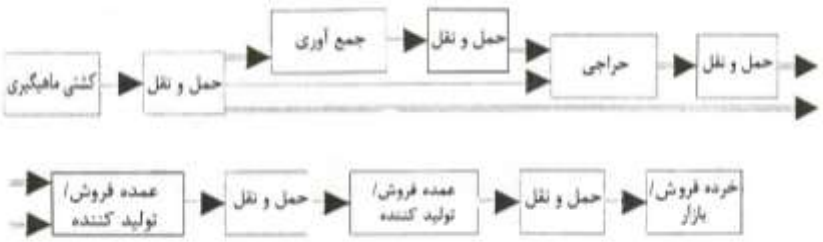
مدیریت در زنجیره کیفیت فرآوری ماهی

۱-۱۵- مقدمه: زنجیره عرضه ماهی

زنجیره عرضه ماهی بستگی به گونه ماهی و نوع فرآورده دارد. این فصل عمدتاً درباره صید تازه ماهی وحشی و روش حمل و نقل و سرد کردن (ماهی در زیر یخ و حدود صفر درجه c°) آن بحث می‌کند. فرآورده‌های ماهی منجمد و ماهی پرورشی دارای ساختار زنجیره متفاوتی برای عرضه می‌باشند که در حیطه این فصل نمی‌باشند. معمولاً ساختار عرضه ماهیان تازه را می‌تواند به‌طور کلی به صورت مراحل داده شده در شکل ۱-۱۵ باشد. اکثر این فرآیندها بیش از یکبار در زنجیره انجام نمی‌شوند ولی در جدول ۱-۱۵ همه مراحل دیگری که می‌توانند انجام شوند، آورده شده‌اند.

معمولاً بازار ماهی تازه بوسیله شرکت‌های کوچک و متوسط اداره می‌شوند[1] (SMEs) در همه مراحل زنجیره به صورت کامل انجام می‌شوند. در بسیاری از کشورها مراحل فروش و جمع‌آوری بوسیله جمع کننده و حراج کننده‌ها ممکن است انجام بشود و فروش در این کشورها مستقیم به عمده فروش‌ها صورت می‌گیرد. در بعضی از کشورها کشتی‌های ماهیگیری متعلق به عمده فروش‌ها یا کارخانه داران می‌باشد، در روش‌های دیگر مراحل مختلف در زنجیره، تقریباً مستقل از همدیگر عمل می‌کنند. در بعضی کشورها انواع دیگر از مالکیت زنجیره (از صید تا تولید) نیز وجود دارد.

[1] - Small & mediom enterprise companies



شکل ۱۵-۱- نمونه‌ای از زنجیره ماهی تازه امروزی در کارخانه‌های صنایع شیلاتی.
فلشها در شکل نشان دهنده حرکت ماهی و فرآورده های آن در خط فروش می باشند.

زنجیره سرد ماهی در بازار فرانسه بنام (Intermarche) یکی از معدود شرکت‌هایی در اروپا است که همه مراحل زنجیره در آن وجود دارد و به صورت فعالی از ساختار منظم و مستمر خود برای عرضه ماهی بدون اتلاف وقت و یا هزینه اضافی به صورت مستقیم به بازارهای خرده فروشی استفاده می‌کنند (Anon,1998).

جدول ۱-۱۵- مراحل مختلف امروزی در زنجیره ماهی تازه

قدم‌ها	مراحل آماده سازی در زنجیره
کشتی صیادی برای ماهی تازه	صید، خالی کردن شکم، خون گری، شستشو، درجه بندی براساس گونه،اندازه، وزن یخ پوشی، انبار و تخلیه
واسطه ها	درجه بندی براساس‌اندازه، وزن، یخ پوشی، انبار نمودن و آوردن برای حراج
حراج	انبار و حراج نمودن
خریداران بزرگ	درجه بندی، آماده سازی، وزن نمودن، یخ پوشی انبار و فروختن – ممکن است چند مرحله بین خریداران بزرگ و کارخانه داران مشترک باشد.
موسسه‌های حمل و نقل	بارزدن، انبار و تخلیه نمودن
خرده فروشی / فروشگاه	آماده سازی، وزن، یخ پوشی، انبار و فروش

بصورت سنتی هر مرحله با مراحل دیگر در زنجیره به منظور بقا با هم رقابت می‌کند. به همین دلیل در این زنجیره بعد از مرحله صید با کشتی یا مراحل دیگر از جهت داشتن توانایی نگهداری ماهی به صورت صحیح

داشتن یک سردخانه برای مطمئن شدن از اینکه فرآورده در دیدگاه مشتریهای مورد قبول قرار می‌گیرند را مورد بررسی قرار می‌دهد. بعلاوه این انبار باید به‌اندازهٔ کافی بزرگ باشد تا بتواند بیشتر از نیاز بازار بتوان در آن ماهی ذخیره نمود تا در صورتی که درصدی از ماهی‌ها دارای ضایعات بودند از این نظر کمبودی حاصل نشود (Olsen,2001). شاید در کوتاه مدت این کار برای یک مرحله از داد و ستد قابل انجام باشد، اما برای درازمدت و برای تمام مراحل امکان پذیر نمی‌باشد و منجر به دادن ضرر توسط زنجیره می‌گردد. علاوه بر آن این احتمال وجود دارد که انتظارات مشتری نهائی برآورده نشود و بنابراین بازار احتمالاً در طول زمان بعلت ضرر حاصله کوچک خواهد شد. مرحله‌های با قدرت رقابتی کمتر در طول زمان از بین خواهند رفت (Porter,۱۹۸۸). پیش بینی می‌شود که در آینده رقابت واقعی بین مراحل موجود در یک زنجیره نخواهد بود بلکه بین زنجیره‌های عرضه در بازار خواهد بود (Christopher,1998). به‌عنوان مثال زنجیره‌های میوه و سبزیجات در شمال اروپا تحت فشار زیادی هستند تا نحوه کارشان را تغییر داده و همکاری نزدیکتری داشته باشند. پیشرفته‌ترین زنجیره‌ها، براساس سیستم‌های مدیریتی جاافتاده مناسب در عرضه زنجیره‌های (SMC)[1]، در انگلستان وجود دارند که عرضه مستقیم در آن رواج کامل دارد. در کشورهای اروپای شمالی شرکت‌هایی وجود دارد که با سیستم‌های جاافتاده و مناسب SMC مناسب سازمان‌دهی شده‌اند. بیشترین سود در زنجیره‌های تازه تولید شده در انگلستان بدست می‌آید، اینطور استدلال شده است که این کشور دارای بهترین و پیشرفته ترین سازمان زنجیره برای غذاهای تازه می‌باشد (Wilson,1996).

یک علت تغییر ساختار در زنجیره‌ها، کاهش بازار عمده فروشی ماهی در انگلستان می‌باشد. بازار عمده فروشی ماهی در سال ۱۹۸۹ حدود ۲۵ درصد کل خرده فروشی داخلی و ماهی تازه و سلف سرویس‌ها را در بر داشت اما آنها اکنون درصد بسیار کمتری را در اختیار دارند. در چند سال گذشته تعداد شرکت‌های عمده فروشی در خشکی و هم چنین مقدار حجم ماهی که بوسیله آنها خرید و فروش در حال کاهش بوده است. دلیل این موضوع تغییر عادت مصرف، رفتار خریدار و بوجود آمدن کانال‌های توزیع جدید بصورت مستمر می‌باشد (Symes and Maddock,1989).

از آنجائیکه ماهی در مقایسه با فرآورده‌های دیگر دارای زمان ماندگاری کمی‌می‌باشد، دستورات زیادی برای زنجیره وضع شده تا بتواند بصورت موثر بکار گرفته شود، وجود دارد. در اروپا بازار ماهی تازه با کیفیت بالا، ماهی تازه‌ای را حداکثر ۹–۸ روز از صید آن گذشته دریافت می‌کند و این تقاضا در اجرا بستگی به یک سیستم کامل

[1] -Supply chain management

پشتیبانی، فاصله بین اسکله برای تخلیه ماهی، خرده فروش و مصرف کننده نهائی در زنجیره دارد. سیستم حمل و نقل ماهی در اروپا هر روز بیشتر و بیشتر کارآمدتر شده است. امروزه، امکان دارد که ماهی تازه را از شمال اروپا به بخش‌های جنوبی آن در مدت دو روز انتقال داد. حمل و نقل به وسیله کامیونهای یخچال‌دار صورت می گیرد که در نتیجه فرآورده ماهی در زمان رسیده به مقصد در شرایط مناسب قرار دارند. کل عملیات در واحدهای بزرگ سازماندهی شده است. برای مثال، همه ماهیان تازه برای صادرات در دانمارک در مکانی، قبل از اینکه به جنوب اروپا منتقل شوند جمع آوری می‌شوند. در این روش این امکان وجود دارد که از صحت و سلامتی بارهای کامیونهای یخچال‌دار مطمئن شویم. بسیاری از این کامیونها دارای سیستم GPS (سیستم نقطه یابی جهانی) با ارتباط ماهواره‌ای با مرکز بارگیری در کشورشان می‌باشند. بنابراین ممکن است با استفاده از این سیستم مدیریتی، را بهینه نمود، مسیر هر کامیون را و زمان رسیدن آن را قبلاً به خرده فروش اطلاع داد و از اتلاف وقت جلوگیری نمود. این روش مناسب و موثر برای صادرات ماهی تازه از بخش‌های شمالی به جنوبی اروپا توسعه یافته و می‌توان بوسیله این روش، حمل و نقل موثر، در عرض دو روز نسبت به توزیع ماهی تازه با کیفیت مناسب برای تمام نقاط اروپا اقدام نمود.

امروزه، همکاری بسیار کمی‌بین مراحل زنجیره عرضه ماهی تازه وجود دارد و اطلاعات در مورد اولین مرحله در این زنجیره و اطلاعات اساسی راجع به محصول، اغلب بین کشتی‌های ماهیگیر و خریدار اولیه اغلب وجود ندارد (Frederiksen and Bremner,2001). سیستم‌هایی برای انتقال اطلاعات از کشتی‌ها به قدم بعدی در زنجیره عرضه ماهی توسعه یافته است. سیستم‌های که امروزه وجود دارند بنام Sea-Scale (اندازه‌گیری در روی دریا) شامل توزین فرآورده در روی عرشه در دریا می‌باشند اما این کار تقریباً فقط به کشتی‌های بزرگتر بخاطر داشتن نیاز به فضا و هزینه بالا مورد نیاز محدود می‌شود. یک سیستم ساده براساس اینترنت در موسسه تحقیقات دانمارک[1] DIFRES طراحی شده است (Frederiksen *et al.*,2002) که بعداً در این فصل درباره آن بحث خواهد شد.

[1] -Danish Institute for Fisheries Research

۲-۱۵- تعاریف

۲-۱۵-۱- زنجیره چیست و قدمهای آن کدامند؟

قسمت‌های مختلف ردگیری و جستجو در ساخت غذا بوسیله کارخانه‌های صنایع غذائی اخیراً مورد بررسی قرار گرفته است (Moe,1988) . واژه شناسی این مقاله به صورت زیر در اینجا آورده شده است:

۱. یک قدم به عملیاتی اطلاق می‌گردد که در محل مشخص بعضی از فرآیندها یا فعالیت‌ها روی فرآورده در آن انجام می‌شود.
۲. زنجیره از تعدادی از این قدم‌ها تشکیل شده است.
۳. یک فرآورده می‌تواند هر ماده‌ای در هر مرحله از فرآوری باشد، مثلاً ماهی زنده، ماهی کامل، یا ماهی تخلیه شکمی‌و فیله شده.

۲-۱۵-۲- ردیابی نمودن

تعریف جستجو یا ردیابی به وسیله ISO9000 (ISO,2000) ارائه شده است. قابلیت ردیابی عبارت از توانایی بررسی تاریخچه، کاربری یا محل محصولی است که تحت ردیابی است، می‌باشد. وقتی که محصولی مورد ردیابی است، این عمل می‌تواند با موارد زیر مرتبط شود:

۱. منشاء مواد و بخش‌های تشکیل دهنده آن
۲. تاریخچه فرآوری
۳. توزیع و محل فرآورده بعد از تحویل آن

به‌طور کلی واژه بررسی ردیابی (trace) وقتی استفاده می‌شود که تاریخچه منشا فرآورده بررسی می‌شود و از واژه اثر یا نشانه (track) برای جستجو تاریخچه آن بعد از تحویل استفاده می‌شود.

۲-۱۵-۳- مدیریت زنجیره عرضه

مدیریت زنجیره عرضه[1] (SCM) عبارت است از مدیریت روابط بالا و پائین زنجیره با فروشندگان و مشتریان فرآورده می‌باشد، برای اینکه کالای تحویل شده به مشتری در درجه اول دارای کیفیت ممتاز با قیمت کمتر برای او و از

[1] - Supply chain Management

طرف دیگر دارای سود بیشتر با توجه به ارزش تمام شده برای تولید کننده در زنجیره عرضه داشته باشد (Christopher,1988)

۴-۲-۱۵- کیفیت در ماهی تازه چیست؟

مهمترین فاکتور تعیین کننده ویژگی ماهی عامل رابط درجه حرارت- زمان است (Fredreiksen ۱۹۹۷ *etal.*,1997) مثلاً گونه‌های ماهی سفید کیفیت بالایی در ۸-۶ روز اول بعد از صید و نگهداری شده در ۰°C دارند اما بعد از ۸-۶ روز اول ویژگیهای ماهی و در نتیجه کیفیت ماهی هم تغییر می‌کند. جمود نعشی پس از مدت کوتاهی بعد از مرگ شروع می‌شود که زمان آن بستگی به درجه حرارت، استرس وارده در زمان صید و گونه دارد. اگر ماهی در درجه حرارت ۰°C نگهداری شود، جمود نعشی حدود ۴-۲ روز طول می‌کشد (برای گونه های آب سرد مثل کاد و کفشک در ۰°C (Huss,1995) . اگر ماهی در مرحله پیش از جمود فیله شود بازده آن کاهش می‌یابد زیرا که فیله‌ها منقبض خواهند شد و باعث بروز و از دست رفتن آبچک در مرحله بعدی می شود. فیله نمودن بوسیله ماشین در شرایط جمود، بازده کمتری می‌دهد. همچنین طعم هم در طول مدت جمود تغییر می‌کند. ماهیگیران و افراد نزدیک به دریا خوردن ماهی را قبل از شروع جمود نعشی در آن را ترجیح می دهند. اما بیشتر مصرف کنندگان , دور از دریا خوردنماهی پس از جمود نعشی را بعلت بافت و مزه آن را ترجیح می‌دهند. اما به بطور ایده‌آل ماهی در زمان قبل از جمود و زمان جمود را می‌توان به خرده فروشی‌ها حمل و نقل نمود و در نتیجه در زمان ماندگاری باقیمانده ماهی برای فرآوری و فروش از کیفیت بالائی برخوردار خواهد بود.

در این فصل، کیفیت ماهی عبارت از تحمل درجه حرارت و زمان می‌باشد که عبارت است از تعداد روزهایی که ماهی پس از صید در ۰°C نگهداری شده و طبق روش‌های استاندارد نگهداری می‌شود و اگر تمام اطلاعات مهم درباره کیفیت ماهی براساس تاریخ صید در همه مراحل داده شود. در این صورت مشتری همه اطلاعات ضروری را برای اتخاذ تصمیم اینکه چه چیزی را بخرد خواهد داشت. امتیاز داده شده برای کیفیت برابر تعداد روزهای نگهداری ماهی در ۰°C می‌باشد (گاهی اوقات به این، روزهای مدت دریخ یا Icedays هم گفته می شود). استفاده از تعداد ساعتی که ماهی در ۰°C نگهداری شده غیر عملی است و این بدلیل متغیرهای طبیعی است که در ویژگیهای کیفی مواد خام وجود دارد که دقت بیشتری را نمی‌توان بکار برد (Hyldig, ۲۰۰۱). اختلاف‌های تعریف شده در ویژگیهای کیفی ماهی در نتیجه وجود ماهی‌ها تعبیرات تعریف شده در ویژگی های کیفی در ماهی رابعلت مخلوط ماهی، با تعداد روزهای یخی متفاوت در مرتبط می باشد (۲ یا چندین روز

در زیر یخ بودن) اختلافات کیفی در ماهی را می‌توان با اجتناب از مخلوط کردن ماهی‌های با روزهای مختلف که در زیر یخ بوده اند، را کاهش داد.

۵-۲-۱۵- زنجیره کیفی چیست؟

اگر کیفیت در همه مراحل یک زنجیره تضمین کیفیت تعریف شود و این تعریف کیفیت در تمام زنجیره بکار گرفته شوند، در این صورت این زنجیره به‌عنوان یک زنجیره کیفی محسوب می‌گردد. یک روش اصولی برای طراحی سیستم‌های تضمین کیفیت در صنعت ماهی براساس اصول نظام حصپ[1](HACCP) (که در جای دیگری در این کتاب تعریف شده) و GMP[2] (عملیات در تولید مناسب محصول) می‌باشد. با یک سیستم تضمین کیفیت موثر، در صورتیکه نقضی در فرآورده رخ دهداین عدم موفقیت در انجام وظیفه می‌باشد و سریعاً باید نقص را شناسائی و برای جلویگری از وقوع مجدد باید سیستم را بررسی و بازسازی گردد. امروزه برای تولید کنندگان و خرده فروشان ماهی داشتن سیستمی‌بنام خود کنترل کننده (own check) در اتحادیه اروپا یک امر الزامی‌است که عمدتاً براساس اصول نظام حصپ طراحی و بکار گرفته می‌شود (EEC,1994). حداقل تعهد در سیستم تضمین کیفیت، جلوگیری از بروز هر خطری برای مصرف کننده می‌باشد. این فقط یک تعهد اولیه ضروری است، تعهد دیگر انتخاب سطح کیفی برای هر مشتری در هر بخش و مرحله و تعیین نمودن تغییرات کیفی قابل قبول در هر سطح کیفی برای هر قدم می‌باشد. این سطح تغییرات می‌تواند از قدم به قدم دیگر در یک زنجیره متفاوت باشد. این هماهنگی در سطح کیفی و تغییرات کیفی برای هر بخش چیزی است که زنجیره را به صورت یک زنجیره کیفی می‌سازد.

فاکتور دیگر، توانایی نشان دادن واکنش به بحران‌ها در یک زنجیره می‌باشد. اتفاق بحران در بخش گوشت، سنگ زیربنای سیستم‌های قابلیت ردیابی می‌باشد که قادر به بازگرداندن سریع فرآورده می‌باشد. یک سیستم موثر بازگرداندن فرآورده قادر به واکنش سریع بوده و این سیستم مؤثر به سرعت مواد مشکوک و محل آنرا شناسایی و سعی در کم نمودن خطر و بازگرداندن فرآورده می‌نماید. برای رسیدگی به بحران‌ها بصورت موثر در زنجیره بخش ماهی تازه، ردیابی یکی از بایدها می‌باشد. یک زنجیره کیفیت باید دارای این قابلیت باشد.

---

[1] - Hazard Analysis Critical Control Point
[2] - Good Manufactoring Practice

۳-۱۵- سازماندهی زنجیره کیفی

یک زنجیره کیفی ماهی تازه، فرآورده سالم را در محل مشخص و در زمان درست تحویل می‌دهد. ساختار فیزیکی و مدیریت زنجیره باید این شرایط را حمایت کند، و برای رقابتی بودن باید تعداد قدم ها در زنجیره را از همان قدم اول یا همان کشتی ماهیگیری تا مشتری نهائی باید حتی‌المقدور کاهش یابد. نتیجه این عمل کاهش زمان و هزینه در زنجیره می‌باشد. بصورت ایده آلی در زنجیره کیفی ماهی تازه تنها محل انبار ماهی باید همان انبار ماهی سرد در کشتی ماهیگیری می‌باشد تا زمانیکه ماهی به اسکله برسد و سپس در کامیونها تا رسیدن به خرده فروشی می‌باشد. در واقع بر ماهی باید بصورت فیزیکی فقط دو بار در یک زنجیره قدم اول به کشتی صیادی و دیگر قدم حمل به خرده فروشی می باشد:

۱. روی عرشه کشتی: تخلیه شکمی، خونگیری، شستن، دسته بندی براساس گونه واندازه، وزن کردن، یخ گذاری،نشانه‌دار کردن جعبه‌ها با تاریخ صید

۲. در خرده فروشی: فرآوری، در صورت لزوم، در معرض دید قرار دادن، یخ گذاری و فروش به مصرف کننده.

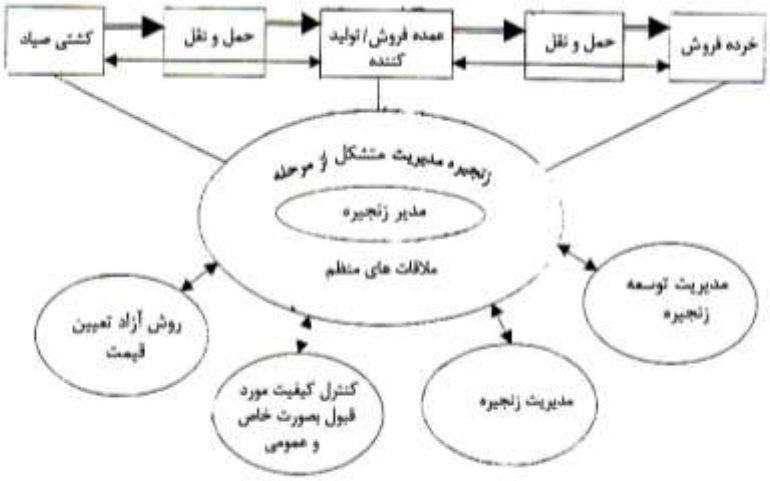
درجه بندی براساس‌اندازه و وزن ماهی صید شده فقط در روی عرشه بعضی از کشتی‌های بزرگ در اروپا امروزه ممکن است. در بعضی از کشورها از مخازن به جای جعبه‌در روی عرشه کشتی‌ها استفاده می‌شود. بنابراین کنترل نمودن نسبت آب و یخ مهم است تا درجه حرارت این مخلوط در مخازن در حدود $0^{\circ}C$ باشد. کشتی‌ها باید مقدار فروش ماهی به مشتریان را در هر روز بدانند تا بتوانند برنامه ریزی برای مدت سفر و مقدار صید را بعمل آورند. ماهی باید قبل از اینکه کشتی وارد اسکله شود باید فروخته شود.

برنامه ریزی برای صید روز به روز براساس تقاضای مشتریان در عمل امکان پذیر نمی‌باشد، زیرا مدت زمان سفر کشتی تا ده روز طول می‌کشد و این بستگی به مقدار صید نیز دارد ثبت تاریخ که مای صید ماهی زمانی که صید شد، همراه با یک سیستم تضمین کیفیت موثر و ثبت پایان سفر، به خرده فروشان این امکان را می‌دهد که ماهی را از راه دور خریداری نماید. این روش به خرده فروشان این امکان را می‌دهد که ماهی را از چند کشتی خریداری نمایند، اما کشتی‌های صیادی باید قادر باشند که اطلاعات مربوط به صید را بصورت مستقیم (Online) به ساحل بفرستند. امروز این کار فقط بوسیله کشتی‌های بزرگ که از ارتباط با ماهواره برخوردار می‌باشند امکان پذیر است. راه دیگر استفاده از کامپیوتر می‌باشد که باعث صرفه جوئی در زمان برای معاملات بوسیله خرده فروشی‌ها می‌شود. امروزه هنوز یک سیستم کامپیوتری برای خرده فروشان توسعه نیافته و سیستم ماهواره‌ای در خیلی از کشتی‌ها هنوز وجود ندارد.

مثال‌هایی از واحدهای تجاری بزرگ در زنجیره‌های ماهی تازه وجود دارند اما، بیشتر آن‌ها SMEs هستند، که مستقل می‌باشند. به‌طور کلی،پرسنل و خدمهٔ این واحدها دارای سطح پائینی از آموزش‌اند بنابراین به کارگیری فلسفه مدیریت بوسیله آنها اغلب مشکل است. انجام تغییر چندان فنی نیست بلکه بیشتر اجتماعی می‌باشد. همه روش‌های فنی مثل سردکردن، فرآوری و حمل و نقل فرآورده‌های ماهی سال‌ها است که شناخته شده‌اند، بنابراین کمبود دانش و تجهیزات مناسب عملاً مانع عمده توسعه نمی‌باشند. مشکل اصلی این است که مراحل در زنجیره هم زمان برای تبادل اطلاعات با هم کار نمی‌کنند که تشکیل یک زنجیره قابل مدیریت را تشکیل دهند. برای مدیریت نمودن یک زنجیره کیفی اگر شرکت به‌اندازه کافی بزرگ نباشد که قادر به مدیریت نمودن تمام زنجیره مدیریت تضمین کیفی باشد، در این صورت راه کار ایجاد یک زنجیره مدیریت برای بخش فرآورده می‌باشد. همچنین انتظار نمی‌رود که یک کشتی همه صیدش را به یک زنجیره به فروش برساند، مگر اینکه طبق یک قرارداد بعنوان یک همکار در زنجیره مشغول بکار باشد.

یک روش برای سازمان دهی یک زنجیره کیفیت، ایجاد سیستم زنجیره‌ای است، بطوری که هر مرحله، مرحله دیگر را به بهترین صورت تأئید نماید. بصورت ایده آل، اعضای یک زنجیره باید طوری عمل کنند که گویی کل زنجیره، یک شرکت واحد می‌باشد و در این صورت قیمت فروش را به حداکثر رسانده و سود حاصل را بین همدیگر تقسیم نمایند. شرایط ایده آل زمانی ممکن است که تمام قدم‌ها در زنجیره متعلق به یک کمپانی باشد در این صورت چکار می‌توان کرد؟ اول از همه تمام مراحل در زنجیره باید بصورت باز و شفاف عمل کنند و سود حاصله و نیازها باید بین همه به تساوی تقسیم گردد، تا عملیات زنجیره سودآور باشد. نویسنده برای یک سیستم ایده آل مدیریت یک زنجیره برای ماهی تازه را طبق شکل (۲-۱۵) پیشنهاد می‌نماید. در این زنجیره تعداد مرحله‌ها کم شده (جمع کننده‌های ماهی و حراج کننده حذف گردیده‌اند و فقط یک فروشنده عمده و فرآوری کننده در نظر گرفته شده است). اهداف مشترک در این زنجیره از طریق بحث و توافق در بین گروه مدیریت زنجیره بدست می‌آید. نماینده بخش صید می‌تواند از هر کشتی و یا نماینده یک کشتی به نمایندگی از دیگر کشتی‌ها باشد. نماینده‌ای برای حمل و نقل در گروه مدیریت زنجیره‌ای دیده نشده است. شاید بهتر باشد شرحی از اینکه گروه مدیریت از شرکت‌های حمل و نقل چه انتظاراتی را دارد بصورت دقیق به آنها توضیح داده شود، سپس از یکی از شرکت‌ها برای حمل و نقل ماهی در تمام مدت استفاده بعمل آید. حتی اگر مرحله جمع آوری و حراج در زنجیره وجود داشته بادش، از آنها نباید در گروه مدریتی زنجیره نماینده‌ای وجود داشته باشد، زیرا آنها فقط درجه بندی ماهی و قیمت گذاری را کنترل می‌کنند و می‌توان این اعمال را با دادن شرح دقیقی از کار در مرحله حمل و نقل می‌توان مدیریت و کنترل نمود. همکاری در زنجیره برای بهبود شرایط موجود و مقایسه آن با

شرایط قبلی باید توسط افراد تجربه و بعنوان یک برنامه بلندمدت موردنظر قرار گیرد. ایـن همکـاری بایـد سـاده باشد و بصورت دوستانه صورت گیرد نه دستوردهی. اطلاعات بایستی فقط یکبار مشخص و در زنجیره بکار بـرده شوند و بصورت ساده در تمام طول زنجیره بکار گرفته شوند



شکل ۱۵-۲: یک سیستم مدیریتی ایده آل توزیع برای کنترل کیفیت در یک زنجیره ماهی تازه، فلش های دو تایی نشان دهند مراحل انتقال اطلاعات می باشد.

همه اعضای زنجیره باید یک هدف واحد داشته باشند. هدف اصلی عبارت است از:

همه مراحل از همکاری و هماهنگی اعضاء با هم باید باعث سوددهی زنجیره در درازمدت گـرد و ایـن ایـده هـم چنین بنام «برد–برد» نیز تعریف شده است لزوماًبه معنی سهمیه‌بندی ۵۰/۵۰ نیست بلکه همه شرکاء بایـد سـود ببرند و بعلت این همکاری و هماهنگی از رشد اقتصادی مناسبی برخوردار شوند (Chritopher,1998) . چهـار سیستم در شکل ۲–۱۵ نشان داده شده است که در ادامه توضیح داده می‌شوند.

۱. روش آزاد تعیین قیمت
۲. سیستم تضمین کیفیت قبول شده شفافیت بصورت فردی و جمعی
۳. سیستم مدیریتی زنجیره ای
۴. سیستم توسعه زنجیره ای

۴-۱۵- روشی آزاد برای تعیین قیمت‌ها

۱. ایجاد یک سیستم شفاف تعیین قیمت در زنجیره (تجارت با شریک شدن در سود کل، یا سهیم شدن مراحل مختلف در زنجیره در سود.)
۲. این ارزش را دارد که به درستی و صداقت عمل نمودنی.
۳. باید برای همه اعضای در زنجیره باید روشن باشد که چه قیمتی (ضرر و زیانی) برای فرآورده‌های غیرقابل عرضه به بازار باید پرداخت شود، اما این موضوع هم باید روشن شود که کاهش در کیفیت یا نبود کیفیت غیرقابل قبول می‌باشند.

بصورت ایده آلی سود هر فرآورده باید در هر زمان برای اعضای زنجیره (فقط اعضای زنجیره) مشخص باشد. اگر این امر غیرممکن باشد، باید یک سیستم ایجاد نمود که دارای شفافیت لازم در داد و ستد باشد تا هر کس در زنجیره از قیمت‌گذاری در هر مرحله مطلع شود. این قیمت‌گذاری براساس مقدار پول معین در ازای هر کیلوگرم، هر جعبه و یا درصد ارزش واقعی فرآورده باید باشد.

یکی از مشکلات عمده درگیر نمودن (شریک نمودن) ماهیگیران در زنجیره است. مخصوص در بعضی از کشورها که بخش عمده فروش یا تجارت دسته اول را در حراج تشکیل می‌دهد ماهیگیران می‌توانند بصورت سنتی در این نوع فروش نقش داشته باشند. این بدان معنی است که تغییر روش به قرارداد بستن بصورت مستقیم با عمده فروش‌ها برای آنها مشکل است، زیرا در روش فروش بوسیله حراج کننده ها، آنها قیمت بالاتری را دریافت می‌کنند، که دلیل آن هم عرضه کم و تقاضای بالاست. در روزی بخصوص است که باعث بالارفتن قیمت می‌گردد می‌باشد. این برای زنجیره مشکل است که با چنین روشی رقابت نماید. چون عمده فروش‌های رقیب در زمانی که می‌دانند زنجیره از یک کشتی خاص خریداری خواهد کرد قادر به تخریب همکاری و هماهنگی بین این دو می‌باشند. یک روش مقابله با این مشکل ارائه قیمت بالاتر یا در روزهای خاص مشابه در حراج می‌باشد. مزیت این کار این است که زنجیره می‌تواند ماهی را براساس ویژگی‌های کیفی معلوم مثل‌اندازه و وزن در روی عرشه یا ساحل انتخاب کند. بنابراین ناخدا و خدمه کشتی ماهیگیری می‌دانند که هرگز قیمتی کمتر از قیمت بازار نخواهند گرفت. ماهی‌ای که در زنجیره خریداران ندارد، می توان آن را در حراج فروخته شود. امروزه قیمت مواد خام برای آرد ماهی براساس قیمت جهانی برای قیمت آرد و روغن ماهی پرداخته می‌شود و در بعضی از صنایع فرآوری شگ ماهیان چنین قیمت گذاری که قیمت مواد خام را با قیمت صادراتی آن را ارتباط می‌دهند (Olsen.2001).

۱۵-۵- نظام‌های تضمین کیفیت

نیازهای ضروری چنین سیستم‌هایی این است که آنها باید براساس اصول نظام حصپ و (GMP) پایه‌ریزی شوند تاسلامتی مشتری مصرف کنده را از صحت و سلامتی فراورده مطمئن سازند و هم چنین این سیستم باید بصورت مستمر و براساس اطلاعات داده شده بوسیله مصرف کنده و بازرسان نسبت به تصحیح روش های خود عمل نماید. در این سیستم‌ها باید:

۱. زنجیره سرد یک پارچه باید در درون و بین مراحل مختلف زنجیره وجود داشته باشد.
۲. جریان اطلاعات صحیح در درون و بین مراحل زنجیره باید وجود داشته باشد (ردیابی فرآورده ها).
۳. یک روش استاندارد مورد توافق باید در طول تمام زنجیره برای‌اندازه‌گیری کیفیت ماهی (بازرسی) وجود داشته باشد.

نظام حصپ و GMP که باید در هر مرحله به کار گرفته شوند در اینجا بحث نخواهند شد اما نیازهای اساسی آن در زیر آورده شده است.

۱۵-۶- نگهداری زنجیره سرد

همانطوری‌که در ابتدا بحث شد، کنترل درجه حرارت فرآورده در $0^{\circ}C$ کلید تضمین کیفیت فرآورده‌ها بدون نیاز به بازرسی از آن می‌باشد. معاینه فقط یکبار در روی عرشه کشتی وقتی که ماهی تخلیه شکمی‌می‌شود، انجام گردد و در نتیجه هزینه زنجیره به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. اگر زنجیره سرد شکسته شود، یک محاسبه ساده برای کیفیت فرآورده از زمان صید، براساس روزهای سپری شده از زمان شکسته شدن زنجیره سرد ($0^{\circ}C$) صحیح نخواهد بود و این فرآورده را نمی‌توان در زنجیره کیفی استفاده نمود. تجهیزات سالم و روش‌ها برای اطمینان از زنجیره سرد سالم به آسانی قابل دسترس هستند. این فقط نیاز به بکاربردن این تجهیزات در زنجیره بصورت سالم و استفاده از دستورالعمل‌های مناسب در هر قدم از زنجیره سرد وجود دارد تا از سالم بودن زنیجره سرد مطمئن شد. در این مورد انسان‌ها شکل سازند نه تجهیزات.

۱۵-۷- قابلیت ردیابی محصول

بسیاری از رسوایی‌های غذایی در اروپا باعث گردیده که نیاز به یک سیستم ردیابی بوجود آید. در حال حاضر این کار در صنعت گوشت اجباری است و در چند سال آینده در صنعت ماهی نیز اجباری خواهد شد. بحران بوجود

آمده در صنعت گوشت که در اثر BSE[1] (آنسفالیت قارچی- شکل گاو) به وجود آمده است نتایج و عواقب بد زیادی داشته است که تا چند سال آینده سروصدای آن بگوش خواهد رسید. اگرچه خود حیوان یک جزء قابل ردیابی از طریق چشم است، اما حقیقتی که وجود دارد این است که ترکیبات غذا داده شده به حیوان عامل گسترش عفونت می‌باشند که باعث پیچیدگی زیادی در سیستم‌های ردیابی شدند. در ابتدای سیستم‌های ردیابی کننده ابتدایی بودند و الکترونیکی نبودند. در نتیجه جمع آوری اطلاعات آهسته و مشکل بود. زمانی که حیوان به سلاخ خانه فرستاده می‌شد، اطلاعات مربوط به آن بوسیله پست از مزرعه پرورشی به دفتر ثبت مرکزی ارسال می‌شود. این بدان معنی است که اغلب گوشت مصرف می‌شد، قبل از اینکه اطلاعات مربوط به حیوان مورد بررسی قرار گرفته باشد. از طرف دیگر قوانین در اروپا ذکر نکرده بودند که سرعت و بکار بردن اطلاعات با چه سرعتی و زمانی باید مورد استفاده قرار گیرند.

برای غذاهای فاسد شدنی مثل ماهی تازه، نیاز به مدیریت موثر در کل زنجیره بالا است چرا که برای ماهیان گونه سردآبی از زمان صید تا مصرف فقط۸-۶ روز فرصت وجود دارد تا بعنوان کیفیت بالا در بازارهای اروپا بفروش برسند. مطالعات نشان داده است که امروزه روش ردیابی در همه زنجیره‌های کیفی ماهی تازه در بازارهای داخلی دانمارک وجود ندارد و همکاری و هماهنگی بین مراحل محدود می باشد (Frederiksen, & Bremner,2001). از آنجائیکه داشتن یک روش ردیابی یک نیاز اجباری و قانونی است، این ردیابی نیز یک وسیله برای اعمال مدیریت در یک زنجیره سرد برای حفظ کیفیت نیز می‌باشد.

امروزه، سیستم‌های در دسترس می‌باشد که می‌توانند تمام چرخه را ردیابی نمایند اما خیلی گران هستند و استفاده از نرم افزار IT تجاری برای استفاده در و SMEs خیلی گران می‌باشد. در DIFRES یک سیستم ردیاب کوچک تولید و آزمایش شده وجود دارد و این سیستم نشان داده که امکان ایجاد یک سیستم ردیاب ساده و آسان برای استفاده روز به روز با استفاده از با آخرین فن‌آوری اینترنتی وجود دارد (Frederiksen *et al.*,2002) . بهترین استفاده از این سیستم را می‌توان نمود اگر این روش در سیستم مدیریت تولید در هر مرحله به کار گرفته شود. وقتی که اطلاعات قابل اتکا از کیفیت فرآورده از اولین قدم تولید به سرعت و با اطمینان بدست آید و در اختیار تمام مراحل زنجیره قرار گیرد در این صورت می‌توان ایجاد اطمینان کامل در بین تمام حلقه‌های زنجیره ارزیابی نمود.

[1] - Bovine Spongiform Encephalistis

بزرگترین مشکل زمانی بروز می‌کند که کیفیت و یکنواختی در مـواد خـام را نـتـوان تضـمین نمـود و در نتیجـه خریدار ناچار است مقدار بیشتری از مواد اولیه را که نیاز دارد خریداری کند تا اطمینان لازم درباره کیفیت موردنظر را بدست آورد. در نتیجه، قیمت‌های پائین‌تر برای خرید مواد اولیه بعلت احتمال دادن وجود مواد بدون کیفیـت در مواد خام پیشنهاد می‌شود. علاوه بر این، هزینه و امکانات بیشتر برای کنترل موادخام، جداسازی مواد خام معیوب و یا طبقه‌بندی مجدد این مواد در سطوح کیفی دیگر را ضروری مـی‌نمایـد، در نتیجـه باعـث کـاهش کـارایی و افزایش هزینه‌ها در حلقه‌های فرآوری از نتایج آن خواهد بود. در شرایط ایده‌آل، ارزیابی کیفیت فقط باید یکبار در زنجیره انجام شود و آن هم زمانیست که ماهیگیر، ماهی را بعد از صید تخلیه شکمی‌می‌کنـد.ارزیابی کیفـی فقـط برای دور ریختن مواد خام معیوب از صید انجام می‌پذیرد و درجه برودت انبـار و روش جابجـائی در روی کشـتی بخوبی کنترل می شود.

اگر ماهیگیر بخاطر کارش مورد تشویق قرار گیرد (پول و احترام) این باعث عرضه پایـداری بـرای تحویـل دادن ماهی بوسیله او با کیفیت مشخص باشد و این باعث اطمینان گرفتن ماهی با کیفیت خوب از کشـتی مـاهیگیری می شود. با استفاده از فن‌آوری اطلاعات جدید ممکن است که اطلاعات راجع به صید را قبل از رسیدن کشتی به اسکله را بدست آوریم. اطمینان از کیفیت ماهی فرصت مناسبی خواهد بود تا آن را برای فروش به مشتری حتـی قبل از اینکه کشتی، ماهی را در اسکله خالی کند عرضه نمایم.

۸-۱۵- بازرسی

هدف ازاندازه‌گیری و توافق بر سر درجه کیفیت ماهی لازم و ضروری می‌باشند، تا بتـوان بـین حلقـه‌هـای تولیـد روابط نزدیکی بوجود آورد. روش بازرسی مورد استفاده در زنجیره بایستی حتی‌المقدور حقیقی (Objective) و تا حد امکان متکی به استفاده از ابزار باشد. روابط نزدیـک و اعتمـاد دو طرفـه بـرای رفـع اختلافـات هـر تنـاقض احتمـــالی ضروری می‌باشد. روش بازرسی کیفیت مورد استفاده در اروپا دارای چهار درجـه E (عـالی)A ، B و C (منع شده) می‌باشد (EEC,1996). مشکلی که در اینجا هست اینست که کشتی ماهیگیری که مـثلاً دارای سفری پنج روزه است و صید حاصل از روزهای مختلف می‌تواند در زمان تخلیه، حـراج و بسـته‌بنـدی مجـدد بـه مقدار نامشخصی با همدیگر مخلوط شوند. ثبت تاریخ صید روی جعبه‌های حـاوی مـاهی در روی عرشـه کشـتی انجام نمی‌شود و ارزیابی کیفی و درجه بندی براساس‌اندازه ماهی بوسیله کارگران در ساحل در حدود ۱ ثانیه برای هر ماهی طول می‌کشد. بدیهی است که ارزیابی با این سرعت نمی‌تواند خیلی دقیق باشد. جمع کننـدگان مـاهی

ادعا می‌کنند که آنها می‌توانند کیفیت ماهی را که در ساحل تخلیه می‌شود تا مدت سه روز از صید اگر در زیر یخ (صفر درجه c°) نگهداری شده باشد را ارزیابی نمایند، اما این ارزیابی به‌اندازه کافی برای یک زنجیر کیفیت دقیق نمی‌باشد.

یک وسیله بهتر برای‌اندازه‌گیری پارامترهای کیفیت، تعریف نمودن دقیق پارامترهای مربوط به کیفیت (Objective) یااندیس‌های کیفیت روش (QIM) و (Warm *et al.*,1998 ;Bremner *et al.*,1987) می‌باشد. QIM یکی از بهترین روش‌های تعیین دقیق کیفیت موجود برای تصمیم گیری برای درجه کیفیت ماهی می‌باشد، و احتمالاً در آینده این روش استانداردراندازه‌گیری کیفیت ماهی در اروپا خواهد بود. این روش براساس خواص حسی انسان (روش حسی) پایه گذاری شده است و این روش برای تعیین کیفیت برای هرگونه توسعه یافته است. فعلاً روش‌های تکنیکی برای‌اندازه‌گیری کیفیت ماهی تازه با دقت زیاد وجود ندارد. زمانی که روش‌اندازه‌گیری کیفیت ماهی در یک زنجیره یکسان باشد، در این صورت اگر خطای در یک حلقه از این زنجیره صورت پذیرد، بحث‌ها در این مورد می‌تواند عقلانی و گفتگو در مورد نارسائی‌ها کیفیت در این حلقه‌ها می‌تواند بیشتر سازنده باشد. روش (QIM) دارای دقتی در حدود $\pm$۱ روز می‌باشد (Jansdottir *et al.*,1991) این میزان دقت مناسب می‌باشد. در این روش برای ارزیابی ویژگی‌های کیفی هر ماهی حدود ۱ دقیقه زمان لازم است (Hylding,2001). در حال حاضر می‌توان با خرید یک دستگاه قابل حمل دستی، ترمینان آن و برنامه مربوطه، سرعت QIM و ثبت اطلاعات را بصورت استاندارد در فرم‌های مخصوص سرعت بخشید. این روش هنوز آنقدر سریع نمی‌باشد که بتوان آنرا برای هر ماهی و یا حتی هر جعبه از ماهی بصورت یک ابزار کنترل کیفیت در خط تولید بکار برد. اما در یک خط کنترل کیفیت که بدرستی عمل می‌کند، می‌توان از ان بعنوان یک روش پشتیبانی، کنترل بصورت تصادفی و یا برای پیدا نمودن نقاط بحرانی بهره برد. برای جلوگیری از بروز اختلافات در بازار بعلت مختلف بودن کیفیت ماهی تازه باید درجه برودت ماهی بصورت مستمر کنترل و درجه آن صفر درجه سانتیگراد باشد، همچنین باید ماهی‌های صید شده دارای تاریخ روز صید در جعبه‌های بسته بندی گردند و هم چنین ماهی‌های صید شده در روزهای مختلف را از همدیگر جدا نگهداری نمود. QIM بهترین ابزار ممکن برای بازرسی کیفیت ماهی بصورتObjective در یک زنجیره و یا حلقه‌های از آن تولید در زمانی که مورد نیاز است.

۹-۱۵- سازمان‌دهی نظام مدیریتی زنجیره‌ای

سازمان دهی مدیریت برای یک زنجیره کیفی ماهی تازه را می توان به وسیله نمایندگان مدیریتی حلقه‌های موجود در زنجیره انجام داد. در این گروه یک مدیر زنجیره یا استخدام می‌گردد برای اینکار و یا از میان مدیران حلقه‌ها برگزیده می‌شود. این مدیر مسئولیت برگزاری جلسه ها، نوشتن گزارش‌ها و مدیریت روزانه را در صورتی که نیاز وجود داشته باشد دارا می‌باشد. مدیران هر حلقه باید در این فعالیت شرکت نموده و از طرف سازمان خودشان کاملاً حمایت گردند، تا اطمینان حاصل شود هرگونه تغییری که پیشنهاد می‌شود مورد حمایت از طرف مدیران حلقه‌ها در زنجیر قرار میگردد. نیازهای اساسی در زنجیره در زیر آورده شده است:

۱. یک فلسفه مدیریتی زنجیره مورد قبول همه باید ایجاد و سپس تعریف و اجرا شود.

۲. ایجاد استانداردی برای نحوه ارتباطات:

الف) وسیله مورد استفاده در ارتباطات

ب) کدام بخش از اطلاعات بین حلقه موجود در زنجیره باید داده شود و چه اطلاعاتی براساس درخواست در قرار گیرند.

۳. همکاری تعریف شده در زنجیره:

الف) یک قانون مکتوب که بیان کند که مسئول هر حلقه باید چه کاری را انجام دهد و هدف کلی همگی چه می‌باشد.

ب) ایجاد یک سیستم که تناقض‌ها را مدیریت می‌کند

ج) تبیین اینکه چگونه مسئولین هر حلقه یکدیگر را به‌عنوان مشتری در تمام سطوح پشتیبانی کنند.

۱۰-۱۵- فلسفه مدیریتی در یک زنجیره معمولی

یکی از معروفترین فلسفه‌های مدیریتی، مدیریت کیفی کل (TQM)[1] می‌باشد. TQM فلسفه مدیریتی‌ایست که به موجب آن هر شخص در مدیریت از پاسخگویی به آنچه که مشتریها در اکثر اوقات انتظار دارند حمایت می کند. این یک روشی می‌باشد برای‌اندازه‌گیری درجه علاقمندی یک شرکت برای بهینه سازی مستمر روش‌ها برای دادن خدمات به مشتریان، با تأکید بر تبادل اطلاعات بصورت مستقیم بین مدیریت، کارمندان، و مشتریان

[1] 0 Total Quality Management

بنا شده است (Gould,1992). Total به این معنی است که هر کس باید در درون و بیرون شرکت نقش داشته باشد. Quality به معنای حفظ کیفیت فرآورده‌های است که بطور مداوم برای بهبود کیفیت آنها تلاش می‌شود تا قابل رقابت باقی بمانند.مدیریت(Management) به معنای روشی برای اقدام و انجام دادن کار و همکاری با همه عوامل درونی و بیرونی شرکت است. (هیچ زنجیره ماهی تازه در دانمارک وجود ندارد که دارای سیستم TQM در حال کار باشد. به‌طور کلی زنجیره‌های مدیریت ماهی دانمارک در مقایسه با TQM در دیگر صنایع آن کشور در سطح خیلی پایینی از پ قرار دارند. برنامه‌های کیفی شبیه TQM در یک چهارچوب فرآیندهای شرکت‌ها عمل می‌کنند و شرکت ها به دنبال ارتقای سطح آن به وسیله بهینه سازی قدم به قدم می‌باشد آنچه که ژاپنی‌ها آن را *kaizen* می‌نامند هستند (Hammer & Champy,1993).

فلسفه دیگر مدیریتی که پیش روتر می‌باشد به نام مهندسی دوباره فرآیند تجارت (BPR) Business Process Reengineering است که بیشتر یک پروژه‌ای یک باره برای دستیابی به پیشرفت سریع است. تعریف اساسی آن عبارت است از: بازنگری کامل و طراحی کلی و مجدد فرآیندهای تجاری برای رسیدن و دستیابی به پیشرفت هرچه سریع‌تر و به روز شدن در اجراء عملیات حیاتی مثل هزینه، کیفیت، و دادن خدمات به مشتری سرعت است (Hammer & Champy,1993). فرآیندهای تجاری مجموعه‌ای از فعالیت هایی هستند که اگر در کنار یکدیگر صورت گیرند، باعث رضایت بهره‌مندی مشتریان می‌گردد. BPR دارای نکات مشترک با TQM می‌باشد. اما به‌طور کلی BPR بیشتر روی فرآیندها بدون در نظر گرفتن سازمان موجود تمرکز نموده و از فن‌آوری اطلاعاتی برای بهبود سریع عمل کرد استفاده می‌کند.

مدیریت زنجیره عرضه [1](SCM) به‌عنوان مدیریت بالا و پائین دستی در یک زنجیره با عرضه کننده‌ها و مشتریها جهت ارائه فرآورده ممتاز به مشتری با هزینه کمتر و کیفیت بهتر در زنجیره عرضه عمل می‌کند (Christopher,1998). برای یک زنجیره ماهی تازه SCMs، SCM دارای فلسفه بسیار مناسبی است زیرا یک مرکز اصلی برای تمرکز بر روی هسته تجارت (Core business) و منابع بیرونی[2] شرکت می‌باشد. این به معنای است که این (SCM) یک سلسله مراتب عمودی نیست که معمولاً بصورت مستقیم بر اصل مالکیت مدیریت مراحل بالا و پائین دستی در زنجیره عمل می‌کند، که در ساختارهای کنونی قابل عمل نیست. برای یک زنجیره ماهی تازه با داشتن تجربه همکاری در زنجیره، یک پروژه BPR در صورت بوجود آمدن بحران قابل

[1] - Supply chain Management
[2] -Out-Source

بکارگیری است که در این صورت تمام عملیات در تمام طول زنجیره یا باید تغییر نماید و یا اینکه شرکت از بین خواهد رفت.

پشتیبانی ضرورتاً یک چهارچوب و جهت برنامه ریزی است که سعی در ایجاد یک برنامه برای جریان فرآورده و بدست آوردن اطلاعات از طریق تجارت می نماید. SCM براساس این چهارچوب شکل می‌گیرد و به دنبال دستیابی به ایجاد ارتباط و هماهنگی بین فعالیت‌های دیگر شرکت‌ها فعال در این زمینه و هماهنگی خود با آنها می‌باشد (Christopher,1998).

آخرین فلسفه مدیریتی زنجیره بهینه یا گسترش سازمان می‌باشد. همانند SCM این سیستم روی منابع خارجی شرکت و IT به‌عنوان ابزار اصلی استوار است با این اختلاف که بیشتر این نوع مدیریت یک سیستم شبکه موقتی می‌باشد و برای تولید محصولی خاص، حل مشکل و یا توسعه می‌باشد.

ویژگی مدیریتی زنجیره بهینه واقعی در اینست که فرآورده نهایی تا آخرین لحظه ممکن تولید نمی‌شود. و از اصل " زمان مشخص ، محل مشخص، معرف مشخص " در این فلسفه استفاده می شود. این فلسفه بر این عقیده استوار است که بیشترین انعطاف پذیر بدست آید، که اگر تغییری در برنامه بعلت تعویق افتادن بوجود آمد، بتوان در زمان باقیمانده راه دیگر برای ارائه فرآورده در نظر گرفته شود، و با این تغییر بتوان برخورد مناسب نمود (Christopher,1998). انتقال این فلسفه به زنجیره ماهی تازه نشان می‌دهد که زنجیره ماهی تازه و یا زنجیره موقتی متشکل از چند عضو، زمانی که زنجیره برای اولین بار از خرده فروشان و مشتریان تشکیل گردیده باید ابتداء ساختار آن ایجاد شود. سپس تصمیم درباره زمانی که گروه تبلیغ کننده باید تبلیغ نمایند مثلاً یک هفته تصمیم شد.سپس نوع گونه باید تعیین شود که کدام گونه ماهی باید انتخاب شود برای فروش، ودر نهایت زنجیره از بهترین افراد در هر سطح از بازار و زنجیره باید تشکیل گردد، در این شکل بمدت یک هفته فعالیت نمایند. و در این شکل است که در صورت موفقیت زنجیره به وجود خود ادامه خواهد داد. در صنایع جا افتاده و پیشرفته که کیفیت به خوبی در آن تعریف شده و به آسانی قابل اندازه‌گیری و کنترل است این روش به‌عنوان یک راهکار، مناسب است اما در زنجیره ماهی تازه این ممکن نیست، که بدون ایجاد اعتماد دوطرفه در زمانی طولانی از طریق همکاری و هماهنگی بین حلقه‌ها این روش ایجاد شود. همچنین یک مشکل اساسی برخورد طول متغیر سفر کشتی‌های ماهیگیری تا ۱۰ روز و مقدار صید متغیر بصورت روز به روز می‌باشد. اما، می‌توان از اصل تعلیق نمودن قرارداد در طول تمام زنجیره تا لحظه موردنظر استفاده نمود. در بیشتر مغازه‌های خرده فروشی ماهی فرآوری ماهی کامل به فیله قبل از آنکه مصرف کننده فرآورده را بخرد صورت می‌گیرد. اما می‌توان با کنترل

کیفیت، حمل و نقل ماهی را تا روز قبل از مصرف (بستگی به فاصله دارد) به تعویق‌انداخته شود. در این صورت هنوز فرصت برای مصرف ماهی به شکل دیگر در صورت نیاز وجود دارد.

۱۱-۱۵- ارتباط و همکاری

تجزیه و تحلیل‌ها نشان داده‌اند که تلفن و فاکس به‌عنوان وسایل اولیه ارتباطی امروزه استفاده می‌شوند. حتی در زنجیره‌های ماهی در استرالیا و ژاپن که دارای آبزیان با ارزش بسیار بالایی مثل تن آبی باله و میگو ژاپنی می‌باشد، وسایل ارتباطی در این زنجیره‌ها همان تلفن و فاکس هستند. (Frederiksen & Bremner,2001).

توسعه اینترنت باعث تسریع ارتباطات شده است و میزان اطلاعات برای انتقال زمانی که ارتباط حاصل شد محدود نمی‌شود. روش‌های قدیمی‌برای ارزیابی یک فرآورده با ارزش نسبتاً کم مثل گونه‌های سفید ماهی خیلی گران است. به روشنی مشخص است که اینترنت در آینده بعنوان اصلی‌ترین وسیله ارتباطی مورد استفاده قرار خواهد گرفت. از اینترنت بعنوان یک روش استاندارد برای ارتباط‌های روزانه باید استفاده بعمل آید و از تلفن برای حفظ روابط مناسب در حلقه و حل تناقض‌های بوجود آمده در زنجیره باید استفاده نمود. کدام بخش از اطلاعات باید در بین حلقه‌های زنجیره انتقال داده شوند و چه اطلاعاتی برحسب نیاز در دسترس قرار گیرند، باید در جلسات گروه مدیریتی زنجیره تصمیم گیری شود. بخش‌های اساسی اطلاعات که می‌تواند با ماهی تازه منتقل شوند شامل: تاریخ صید ماهی، نام کشتی، گونه ماهی،اندازه ماهی، شماره اختصاص داده شده به جعبه محتوی ماهی می‌باشد (Fredrriksen *et al.*,2001). این اطلاعات برای زنجیره به‌اندازه کافی کامل می‌باشند که دیگر نیازی به ارزیابی کیفیت برای به حمل و نقل محموله ماهی وجود ندارد. وقتی که عیبی در کیفیت فرآورده اتفاق می‌افتد باید توافق شده باشد که چه اطلاعاتی برای پیدا نمودن علت نقض منجر به از دست رفتن کیفیت باید درخواست شود تا بتوان اقدام به اصلاح اشتباه نمود و یا چه اطلاعاتی برای دادن به دیگران امکانش وجود ندارد. اطلاعات اضافی دیگر شامل مواردی از قبیل حرارت انبارها نگهداری فرآورده ، روش‌های مختلف بکاربرده شده جهت تضمین کیفیت در حلقه‌های مختلف تولید می باشد. اما نکته اصلی این است که اطلاعات زنجیره باید به درستی و دست نخورده نگهداری شوند در صورت نیاز میتوان از آنها برای رفع مشکل استفاده نمود.

از روش‌های نوشتاری روی کاغذ نباید برای درخواست اطلاعات استفاده نمود، زیرا که این روش‌ها بسیار وقت‌گیر و پر هزینه هستند. روش‌های براساس روش های الکترونیکی (Database) در آینده روش هایی می‌باشند که برای ردیابی اطلاعات در مورد ماهیان تازه با قیمت نسبتاً پائین در زنجیره ماهی تازه مورد استفاده قرار خواهند گرفت. هم چنین خوشبختانه انتقال اطلاعات از یک حلقه به حلقه دیگر دارای اثرات مثبت در شناخت کیفیت

ماهی در زنجیره دارد. امروزه در صنعت ماهیگیری مانند دیگر صنایع احساس غرور وجود ندارد. ایجاد بسته بندی ماهی در کشتی ماهیگیری باعث بوجود آمدن یک حس غروری در کارکنان گردیده است، زیر اسم آنها در روی جعبه‌های بسته بندی شده نوشته می‌شود.

پیشرفت در سیستم‌های الکترونیکی و انتقال اطلاعات باعث شده که فرآورده‌های و اطلاعات مربوطه از طریق اینترنتی به فروش برسند. چند سیستم دیگر وجود دارند که قادرند اطلاعات مربوط به فرآورده را ثبت و منتقل نمایند. بسته‌بندی در دریا از اواسط دهه ۹۰ میلادی توسعه یافته. بسته بندی در دریا باعث می‌شود که ماهیگیر جعبه‌های ماهی را در روی عرشه کشتی وزن کرده و وزن آن را ثبت و برچسب بزند. امروزه حداقل چهار سیستم برای بسته بندی ماهی در دریا توسط شرکت‌های مختلف عرضه می‌شود، این روش‌ها دارای تجهیزات توزین فرآورده روی عرشه می‌باشند و در بازار اروپا در دسترس می‌باشند.

همه این سیستم‌ها این امکان را بوجود می آورند که ماهی، کشتی صیادی قبل از ورود کشتی به اسکله به فروش برسد، اما تعداد بسیار محدودی از دست‌اندرکاران از این سیستم استفاده می‌کنند. دلیل این امر فقدان وجود سیستمی‌در ساحل است که قادر به گفتگو و انتقال اطلاعات بیشتر در زنجیره باشد و حراج کننده، ماهی را که هنوز در سالن حراج نمی‌باشد برای فروش قبول نمی‌کند. اگر در بعنوان مثال بخش حراج از زنجیره حذف شود و ماهی به‌طور مستقیم از کشتی به کامیونها و وارد به زنجیره شود، در این صورت، زنجیره برای برنامه‌ریزی و حمل و نقل زمان بیشتری در اختیار خواهد داشت. این بدان معنی است که فرآورده می‌تواند با سرعت بیشتری به بازار نهایی برسد و از هزینه‌های اضافی جلوگیری بعمل آید.

جدیدترین پیشرفت در انتقال اطلاعات مربوط به کیفیت ماهی تازه در زنجیره‌های ماهی تازه، سیستمی‌است به اسم Info-fisk می‌باشد که در DIFRES توسعه یافته است (Frederiksen *et al.*,2002). این سیستم حاوی اطلاعات مربوط به کیفیت هر جعبه از ماهی است و قادر به ارسال صحیح جریان اطلاعات در طول کلی زنجیره از ماهیگیر تا خرده فروش می‌باشد. این سیستم هنوز بصورت تجارتی در دسترس نیست و یک سیستم آزمایشی است. ثابت شده که با استفاده از فن‌آوری اینترنت، می‌توان نسبت به انتقال اطلاعات بطوری مؤثر و مطمئن و بدون نیاز به سرمایه گذاری زیادی برای تجهیزات و صرف زمان اقدام نمود. پیشرفت دیگری که در زنجیره امروزه امکان پذیر است در مورد ردیابی می‌باشد. این روش باید در روش سنتی مربوط به سرمایه گذاری و کنترل تولید ماهی درهم آمیخته شود. قوانین مکتوب درباره وظایف هر بخش چه کاری باید در زنجیره انجام دهد و هدف همگی چه می‌باشد فقط از طریق مذاکراتی که اختلافات در هر حلقه را مورد بحث قرار می‌گیرد و باعث رسیدن به توافق جمع می‌گردد قابل انجام است. مشابه این روش برای حل اختلافات زمانی که بروز می‌کنند باید

به کار بسته شود. نوشتن قوانینی که هر فرد در حلقه زنجیره چگونه باید با دیگران رفتار نماید و هر فرد دیگـری را باید بصورت مشتری ببیند از طبیعت اصلی اینکار می‌باشد.

۱۲-۱۵- ایجاد زنجیره‌های کیفیت

هدف از ایجاد یک زنجیره کیفیت عبارتند از:

۱) توسعه مداوم زنجیره برای:

الف) بهبود کیفیت و یا کاهش اختلاف در کیفیت در هر بخش برای مشتری.

ب) بهینه سازی عملیات و کاهش قیمت‌ها

پ) شناسایی اهداف استراتژیک آینده (مثل اخذ گواهینامه ISO ، تغییر در سازماندهی / اعضای زنجیره)

۲) ارزیابی عملکرد زنجیره. که الگوی مناسـب در ایـن مـورد، موسسـه اروپـایی بـرای مـدیریت کیفیـت (EFQM)[1] هدف مناسبی برای این منظور است.

بدیهی است که برای تعداد کمی‌از SMEsها که تشکیل زنجیره می‌دهند اجرای همه این نکـات از آغـاز بسـیار مشکل است. اما، بهرحال، لازم است از ابتداء برای ایجاد یک زنجیره کیفیت سالم و قابل رقابت آنها را بـه اجـراء گذاشت، یا با آنها برخورد نمود یا حداقل در نظرشان داشت تا زنجیره بتواند بمدت طولانی در بازار بصورت رقابتی به کار خودش ادامه دهد. همه موارد بالا را نمی‌توان در اینجا بصورت کامل توضیح داد. در بخش بعدی بعضی از این نکات با تأکید بر اثر آنها بر روی مدیریت زنجیره مورد بررسی قرار خواهند گرفت.

[1] - Europen Foundation for Quality Management

۱-۱۲-۱۵- توسعه مستمر زنجیره

توسعه مداوم زنجیره برای بهبود کیفیت و یا کاهش اختلاف در کیفیت برای مشتریان مختلف بستگی به شهرت واقعی بازار دارد، چرا که زنجیره باید قادر به رقابت باشد. از دیدگاه درون زنجیره همیشه ارتقا کیفیت فرآورده و کاهش اختلاف در کیفیت یک امتیاز خواهد بود چرا که این باعث ایجاد ظرفیتی برای ارائه کیفیت بالاتر نسبت به رقبا فراهم می‌سازد و یا زمان بیشتری برای فرآوری و فروش فرآورده در اختیار آن قرار می‌دهد.

اهداف استراتژیکی آینده

اهداف استراتژیکی آینده باید در سیستم توسعه زنجیره، مشخص و تعیین شوند. مثلاً اخذ گواهینامه ISO به‌عنوان یکی از اهداف استراتژیکی آینده برای زنجیره کیفی ماهی تازه می‌تواند موردنظر باشد. مثال‌های دیگر شامل تغییرات عمده در سازمان، زنجیره تعداد اعضای زنجیره و تغییر در مدیریت و فلسفه مدیریت است.

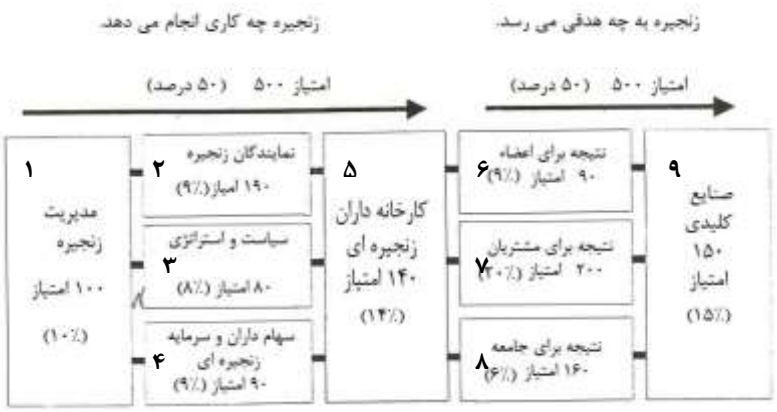
۲-۱۲-۱۵- سنجش عملکرد زنجیره

برای دستیابی به اهداف آینده زنجیره باید عملکرد کنونی مدیریت زنجیره را ارزیابی کنیم. به نظر می‌رسد موسسه اروپایی برای مدیریت [1](EFQM). مدلی مناسب برای‌اندازه‌گیری این هدف می‌باشد. شکل ۱۵-۳ مدل EFQM را نشان می‌دهد. این مدل یک چهارچوب کلی برای خودسنجی است که می‌تواند برای ارزیابی عملکرد سیستم مدیریتی در هر صنعتی استفاده شود. این مدل یک چهارچوب ثابت نیست و به‌طور مداوم به وسیله EFQM سازمان بهینه می‌شود (EFQM,2001).

از ۱۰۰درصد از ۱۰۰۰ نکته موجود، ۵۰۰ نکته برای طرف کننده (Enabler) و ۵۰۰ نکته دیگر برای نتایج (Result) می‌باشد. این مدل به نه بخش تقسیم می‌شود. ۵ بخش تحت عنوان کننده (Enabler) و ۴ بخش دیگر برای نتایج (Result) می‌باشد (جدول ۲-۱۵) و تمامی ارزیابی نکات برای هر بخش به نحوی توزیع گردیده که عملکرد دو بخش متفاوت را متعادل می‌سازد. تأکید اصلی بر روی فرآیندها، رضایت مشتری و نتیجه تجارت گذاشته شده است. اغلب TQM در ارتباط با این مدل استفاده می‌شود. از تأکیدی هایی که انجام شده، مشاهده می‌شود زیربنای این مدل در حقیقت فلسفه TQM می‌باشد. اگر یک پروژه براساس BPR در یک

[1] - European Foundation for Quality Managment

سال شروع و اجرا شده باشد، نتایج حاصل بدست آمده از مدل BPR نمی‌تواند قابل مقایسه با نتایج BPR برای سال آنیده باشد و علت آن تغییر نمودن تمام قسمت‌های ساختار سازمانی BPR برای سال آینده می‌باشد.



شکل ۳-۱۵- مدل *EFQM* تغییر داده شد برای زنجیر ماهی تازه (*EFQM*, ۲۰۰۱)

هربخش مدل EFQM در جدول ۲-۱۵ به خوبی توضیح داده شده است. باقبول این مدل می توان عملکرد مدیریتی زنجیره ماهی تازه را ارزیابی کرد. برای سیستم کوچکی مثل SMEs غیر ممکن است سیستم این را بکار گرفت.اما این جدول برای ارزیابی عملکرد همکاری و توسعه یک سیستم بسیار مناسب است.جزئیات بیشتر در (EFQM,2001) است.

جدول ۲-۱۵- شرح نه مرحله‌ای برنامه *EFQM*

مراحل برنامه EFQM	شرح هرمرحله
۱- زنجیره رهبری	چگونه رهبرهای ایده دهنده، توسعه و آسان سازی مأموریت را هدایت و امکان‌های لازم برای موفقیت در درازمدت را با ایجاد دستورالعمل‌های مناسب درگیرشدن خودشان فراهم می‌آورند و اطمینان حاصل می‌کنند که سازمان و مدیریت ایجاد شده قادر به اجراء و توسعه برنامه مورد نظر می‌باشند.
۲- زنجیره سیاستگزاری و استراتژی	چگونه سلسله مدیریت سازمان، مأموریت داده شده را با بکارگیری آینده نگری و یک استراتژی که بوسیله سیاستگزاری ها، برنامه ریزی و هدف‌های مشخص تعریف شده برای موفقیت بکار می‌گیرد.
۳- زنجیره اعضاء	چگونه اعضاء زنجیره عمل می‌کند. برای توسعه و استفاده از پتانسیل اعضاء بصورت فردی، گروهی و در سطح سازمان برای ایجاد برنامه در راستای پشتیبانی کردن از سیاست و استراتژی و بکارگیری فرآیندهای مورد نظر
۴- زنجیره شرکاء و منابع	چگونه سازمان برنامه ریزی می‌کند برای استفاده از شرکاء و منابع در جهت پیشبرد سیاست و استراتژی تعریف شده برای عملیات و تولید موثر
۵- زنجیره فرآیند	چگونه سازمان طراحی، اجراء و فرآیند را بهینه سازی می‌کند که بتواند کمک به پیشبرد سیاست و استراتژی و گرفتن نتیجه دلخواه و در ضمن ایجاد ارزش برای مشتریان و دیگر شرکاء نماید.
۶- رضایت مشتریان	چه نتیجه‌ای سازمان در رابطه با مشتریان خارجی بدست آورده.
۷- زنجیره اعضاء	چه نتیجه‌ای سازمان رد رابطه با اعضاء خودش گرفته
۸- زنجیره اجتماعی	چه نتیجه‌ای سازمان در رابطه با مردم محلی، ملی و بین المللی بدست آورده
۹- نتایج مهم عملکرد	چه نتیجه سازمان در رابطه با برنامه مورد نظر بدست آورده است.

هربخش از مدل EFQM در جدول ۲-۱۵ آروده و شرح داده شده است. با بکارگیری این مدل امکان‌اندازه‌گیری و کارآیی یک زنجیره ماهی تازه وجود دارد. برای یک زنجیره کوچک ماهی تازه SMES تقریباً غیرممکن است که یک سیستم نقل EFQM از ابتداء برای کنترل کیفیت بوجود آورد. اما این یک لیست خوبی می‌باشد که براساس آن یک روش کنترل کیفیت برای ماهی تازه راه ارزیابی و همکاری در زنجیره پایه‌ریزی نمود و سپس آنرا بتدریج کامل نمود. جزئیات بیشتر در مورد این مدل را می‌توان در (EFQM,2001) یافت.

۱۳-۱۵- پیش‌بینی برای آینده

از آنجائی که پیشرفت در فن آوری اطلاعات باعث شروع بسیاری از فلسفه‌های مدیریتی مثل BPR و در نتیجه در Virtual chain زنجیره گردیده، احتمالاً در آینده این توسعه در IT باعث پیشرفت در کارخانه‌های فرآوری

ماهی خواهد گردید بطوری که آنها را قادر به استفاده از این روش در ایجاد همکاری در مدیریت و کنترل کیفیت در زنجیره خواهد نمود. استفاده از اینترنت برای عرضه ماهی و فرآورده‌های آن در ۳-۲ ساله گذشته بسرعت رد حال افزایش بوده و پیش بینی می‌شود که در آینده از گسترش بیشتری برخوردار خواهد گشت. اخیراً توسط انواع سایت‌های اینترنتی برنامه هایی برای تجارت ماهی و فرآورده آن پیشنهاد نموده‌اند (Kyprianou,2001). B_2C[1] در بازار ماهی در دانمارک به این معنی است که مشتریان مستقیماً ماهی تازه را از عمده فروشان (Buisness to customers) از طریق اینترنت خریداری می‌نمایند. در این روش حلقه‌های واسطه حذف و ماهی در بسته‌های مخصوص که حاوی یخ می‌باشند بسته بندی و بدین ترتیب اطمینان از زنجیره سرد برای حفظ کیفیت ماهی در مشتری بالا حاصل می‌گردد. از روش‌های مختلف برای مطمئن نمودن مشتریان از کیفیت ماهی تازه استفاده می‌شود. یکی از روش‌ها امکان ردیابی را به مشتری از طریق دادن اطلاعات مربوط به اسم کشتی، منطقه صید، تاریخ صید می‌باشد، که این اطلاعات در روی هر بسته نوشته شده و خریدار را قادر به ردیابی در مورد کیفیت ماهی تازه می‌نماید. بعلت رقابت شدید در این بازار احتمالاً روش‌های جدیدی برای ردیابی را فراهم خواهد آورد. بسیاری از شرکت‌های مشغول در بسته بندی و حمل و نقل ماهی تازه از روش «تخفیف و اثر» و "Track & Trace" برای جلب مشتریان استفاده می‌کنند و با این روش خریدارها قادر به دریافت اطلاعات دقیق در زمان حمل ونقل ماهی خریداری شده می‌باشند.

B_2B یا تجارت با تجارت (Business to Business) در سایت و 'Pefa.com" برای جلب عمده فروشان امروزه در این سایت مورد استفاده قرار می‌گیرد. این شرکت یک روش حراج الکترونیکی که در بیشتر کشورهای اروپائی قابل دسترسی می‌باشد را ارائه می‌دهد (www.pefa.com) . این روش این امکان را بوجود آورده که ماهی را از طریق اینترنت و بدون بازرسی خریداری نمود. کیفیت ماهی از طریق کارگزاران دستور حمل داده شده توسط 'Pefa.com" در اسکله و قبل از حراج تعیین می‌گردد. در بقیه صنایع بندرت از روش B_2B استفاده بعمل می‌آید. زمانی که روش B_2B در صنعت ماهی توسعه یافت و زمانی که این روش شامل ردیابی نیز گردید، یک زمینه جدید برای تحقیقات برای تجزیه و تحلیل و شبیه سازی براساس اختلافات در اطلاعات داده شده توسط زنجیره بوجود خواهد آمد. سود و کارآئی زنجیره بعلت رسیدن اطلاعات سریع به آن درباره فرآورده و خریدار نهائی افزایش خواهد یافت. زمانی که مقدار اطلاعات رسیده به زنجیره در مورد فرآورده افزایش یافت، در این زمان باید تصمیم گیری شود که چه اطلاعاتی توسط همگان قابل دسترس، چه اطلاعاتی بنا بر درخواست و

[1] -Business to Customers

کی‌دسترسی به این اطلاعات باید داشته باشد باید گرفته شود. روش هایی برای جمع آوری اطلاعات مربوط به انبارداری، دسترسی و حمل و نقل باید توسعه یابد. استانداردهای موجود باید تا آینده نزدیک که این روش‌های قابل دسترس می‌گردند برای انتقال به اینترنت بایستی حفظ گردند، برای انتقال اطلاعات به اینترنت بایستی از زبان (XML) که قابل توسعه است استفاده بعمل آید. استاندار نمودن نام متغیرها و جدول‌ها (فرمت ها) باعث آسان شدن و ارزان شدن انتقال اطلاعات به XML خواهد گردید. امروزه در کشورهای EU تلاش فراوان در حال انجام است که به یک وحدت نظر درباره اینکه چه اطلاعاتی درباره ماهی و فرآورده‌های آن باید موردنظر قرار گیرند و از چه کدهایی برای انتقال آنها به (www.tracefish.org) باید استفاده نمود.

باید تأکید نمود که این خیلی مهم است که بطور مستمر باید کیفیت ماهی در زنجیره سرد مورد تأکید قرار گیرد و همزمان برای بهینه سازی و توسعه همکاری و انتقال اطلاعات در زنجیره سرد تلاش‌های لازم صورت گیرند. اگر کیفیت ماهی در زنجیره سرد تضمین نشود، اساس همکاری و انتقال اطلاعات پایدار نبوده و از بین خواهند رفت، زیرا در صورتیکه زنجیره سرد از بین برود این‌ها دیگر ارزشی نخواهند داشت.

۱۴-۱۵- منابع

ANONYMOUS (1998), 'French trawlers truck catches back home', *Fishing News*, May 1998.
BREMNER H A, OLLEY J and VAIL A M A (1987), 'Estimating time-temperature effects by rapid systematic sensory method', in: Kramer D E and Liston J, *Seafood Quality Determination*, Amsterdam, Elsevier, 413–35.
CHRISTOPHER M (1998), *Logistics and supply chain management*, London ،
Financial Times.
EEC (1994), 'Commission Decision 94/356/EC of 20 May 1994 laying down detailed rules for the application of Council Directive 91/493/EEC, as regards own health checks on fishery products', *Official Journal of the European Communities* No. L 156, 23.06.1994, 50–57.
EEC (1996), 'Council Regulation 2406/96/EEC of 26 November 1996 laying down common marketing standards for certain fishery products', *Official Journal of the European Communities* No. L 334, 23.12.1996, 1–15.
EFQM (2001), *The EFQM Excellence Model*. The European Foundation for Quality management, Brussels, www.efqm.org.
FREDERIKSEN M and BREMNER HA (2001), Fresh fish distribution chains, *Food Australia*, 54, 117–23.
FREDERIKSEN M, POPESCU V and OLSEN, K B (1997), 'Integrated Quality Assurance of Chilled Food Fish at Sea', in Luten J B, Børresen T and Oehlenschla¨ger J, *Seafood from producer to consumer, integrated approach to quality*, Amsterdam, Elsevier, 87–96.
FREDERIKSEN M, ØSTERBERG C, SILBERG S, LARSEN E and BREMNER H A (2002), 'Info-fisk. Development and validation of an Internet based traceability system in a Danish domestic fresh fish chain', *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 11 (2), 13–34.
GOULDW A (1992), *Total quality management for the food industries*, Maryland, USA, CTI publications.
HAMMER M and CHAMPY J (1993), *Reengineering the cooperation*, New York, USA, HarperCollins Publishers.
HUSS H H (1995), *Quality and quality changes in fresh fish*, Rome, Italy, FAO fisheries technical paper 348.
HYLDIG G (2001), *Personal communication*, Danish Institute for Fisheries Research, Department of Seafood Research, Lyngby, Denmark.
ISO (2000), *Quality management systems – Fundamentals and vocabulary*. Brussels, Belgium, European Standard [EN ISO 9000:2000, Point 3.5.4.], European Committee for Standardisation.
JO´ NSDO´ TTIR S, LARSEN E, MARTINSDO´ TTIR E, BRATTA° R R and GUDJO´ NSSON A (1991), '*Kvalitetsnormer pa° fisk*', A report and manual (sensory evaluation of fish) to the Nordic Industry Foundation.
KYPRIANOU M (2001), 'Fisheries and e-commerce', *INFOFISH International*, 2, 21–4.
MOE T (1998), 'Perspectives on traceability in food manufacture', *Trends in*

Food Science & Technology, 9: 211–4.
OLSEN K B (2001), *Personal communication*, Danish Institute for Fisheries Research, Department of Seafood Research, Lyngby, Denmark.
PORTER M E (1998), *Competitive Strategy*, 2nd edn, New York, The Free Press.
SYMES D and MADDOCK S (1989), 'The role of the inland wholesale markets in the distribution of fresh fish in the UK', *British Food Journal*, (91/51989), 7–12.
WARM K, BØKNES N and NIELSEN J (1998), 'Development of Quality Index Method for evaluation of frozen cod (*Gadus morhua*) and cod fillets', *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 7, 45–59.
WILSON N (1996), 'The supply chain of perishable products in northern Europe', *British Food Journal*, 98/6, 9–15.

« **فصل شانزدهم**»

روش‌های جدید غیرحرارتی برای فرآوری غذاهای دریایی

۱-۱۶- مقدمه

تلاش برای توسعه روش‌های جدید برای نگهداری غذاها به طوری که باعث حداقل صدمه به ظاهر و ویژگیهای غذاها شود سبب ایجاد انگیزه در محققان برای تحقیق روی روش‌های جدید شده است. تابش اشعه به غذا یکی از این روش‌ها است که مدت‌هاست شناخته و استفاده شده است اما به‌طور کلی مورد پذیرش عمومی‌واقع نشده است. بهرحال در چند دهه اخیر روش‌های جدید دیگری نیز یافت شده‌اند. این روش‌ها شامل فرآوری تحت فشار بالا، استفاده از میدان‌های الکتریکی با جریان بالا و دیگر روش‌هایی که کمتر روی آنها تحقیق شده است مثل استفاده از میدان‌های مغناطیسی با جریان بالا و استفاده از شوک‌های نور برای استریل کردن مواد غذائی می باشند. تاکید عمده در این فصل روی تاثیر فشار بالا و میدان‌های مغناطیسی با جریان بالا در غذاهای دریائی می‌باشد.

۲-۱۶- پتانسیل کاربرد فشار بالا

فرآوری غذا با فشار بالا یکی از آخرین روش‌های نگهداری مواد غذایی است که اگرچه هنوز در مرحله توسعه و تحقیق است. غذاهای فرآوری شده با فشار بالا نوید بخش می‌باشند زیرا آنها دارای ظاهر، مزه و طعم طبیعی می باشند. اگر چه فرآوری تحت فشار بالا از نظر تجاری برای فرآورده مثل آب میوه‌ها و مرباجات استفاده می‌شود (Farr,1990)، ولی هنوز برای فرآورده‌های دریائی بصورت تجاری استفاده نشده. اثر فشار بالا بر روی غذاهای

دریائی بصورت محدودی مورد تحقیق قرار گرفته است. این تحقیق‌ها بر روی انواع مختلف ماهی، گوشت چرخ شده ماهی ، سوریمی‌و اثرهای آن بر روی پروتئین‌های ماهی تمرکز یافته است.

(Shoji & Saeki 1989, Shoji *et al,* 1990, Okamoto *et al.,* 1990, Ohshima *et al.,* 1992, Yoshioka *et al.,* 1992, Murakami *et al.,* 1992, Goto *etal.,* 1993, Iso *et al.,* 1993, Ohshima *et al.,* 1993 Yukizaki *et al.,* 1993, Yukizaki *et al.,* 1994, Ledward,1998).

۳-۱۶- تاثیر بر رشد میکروبی

مطالعات زیادی روی چگونگی تاثیر فشار بالا در کاهش رشد میکروبی و استریل نمودن غذا و آشامیدنی‌ها انجام شده است (Cheftel,1995 ; Hoover *et al.*,1989,Jaenicke,1981 ; Johnson & Zobell,1949). این مطالعات نشان دادند که غیرفعال کردن میکروارگانیسم‌ها به وسیله فشار بالا بستگی به میزان فشار و مدت زمان آن به منظور کاهش رشد باکتری‌ها در بسیاری از غذاها مثل شیر، گوشت، میوه و آب میوه‌ها دارد. مکانیسم غیرفعال‌سازی شامل تغییر ماهیت پروتئین‌ها (Denaturation) مثل باز شدن مولکول پروتئین، جمع شدن مولکول و تشکیل ژل است که که باعث جلوگیری از فعالیت‌های آنزیمی(مثل ATP_{ase}) و تخریب فعالیت‌های درون سلولی که حیاتی برای میکروارگانیسم‌ها است (Johnston *et al.*,1992 ,Suzuki *et al.*,1992, Ogawa *et al.*,1992, Cheftel,1995).

فشار بالا هم چنین می‌تواند روی ساختار غشا، واکنش شیمیایی و آزادسازی ترکیبات درون سلولی نقش داشته باشد که این عوامل در نهایت باعث غیرفعال سازی میکروب می‌شوند (Macdonald,1992 , Shimada *et al.*,1993 ,Cheftel,1995,Mozhazv *et al.*,1994). میزان غیرفعال‌سازی بستگی به نوع میکروارگانیسم، وضعیت رشد میکروب (مرحله رشد، مرحله سکون یا اسپور) مقدار فشار، زمان و درجه حرارت و ترکیب محیط کشت میکروب دارد (Cheftel,1995, Carlez *et al.*,1994).

pH محیط کشت ظاهراً تاثیر کمی‌روی حفاظت از میکروب‌ها دارد اما نمک، شکر و مقدار کم آب به‌نظر می‌رسد تاثیر حفاظتی قوی در مقابل فشار دارند (Cheftel,1995). در بیشتر موارد، در درجه حرارت محیطی باید از میزان فشار ۲۰۰ مگاپاسکال به منظور شروع غیرفعال نمودن میکروارگانیسم‌های در فاز رویشی باید استفاده نمود. بعضی از میکروب‌های بیماریزا مثل Yersinia enterocolitica و دیگر میکروب‌ها برای غیرفعال نمودن آنها نیاز به فشار ۲۷۵ مگاپاسکال به مدت ۳۰-۱۵ دقیقه در درجه حرارت $۲۰^{\circ}c$ دارند، اما گونه‌های مثل

Staphylococcus aurreus, E.coli , Salmonella enteritis برای غیرفعال شدن نیاز به ۷۰۰ مگاپاسکال فشار دارند (Patterson *et al.*,1995).

مطالعات کمی‌به صورت مشخص بر روی تاثیر فشار بالا در غیرفعال سازی میکروب‌ها در غذاهای دریائی انجام شده است. تاثیر فشار بالا روی شمارش کل باکتریها در ماهی تن و اسکوئید که تحت فشار ۴۵۰ مگاپاسکال به مدت ۱۵ دقیقه در $25^{\circ}c$ قرار گرفته بودند نشان داد که تعداد آنها به‌اندازه یک تا دو سیکل لگاریتمی‌کاهش یافت. این روش، کاهش کمی‌در تعداد باکتریها برای جلوگیری از فساد یا استریل نمودن نمونه‌ها فراهم کرده است (Shoji & Saeki,1989).

شاید بکار بردن ترکیبی از فشار متوسط و گرما به منظور جلوگیری یا غیرفعال کردن باکتری‌های رویشی مناسب باشد. ترکیبی از دادن حرارت، از $0^{\circ}c$ تا $60^{\circ}c$ و فشار بالا تا ۴۰۰ مگاپاسکال روی باکتریهای *Lactobacillus casei, E.coli* نشان داد که استفاده از درجه حرارت پائین $0^{\circ}c$ و فشار بالا موثرتر از تیمارهای دیگر در غیرفعال سازی میکروب‌ها می‌باشد (Sonoike *et al.*,1992).

نشان داده شده که استفاده از فشار بالا (500 MPa/10min) به منظور از بین بردن باکتریهایی مثل *V.mimicus , Vibrio paraheamolyticus* و *V.cholerae* برروی تخم‌های خارتن[1] دریائی بسیار موثر بوده و این تخم‌ها طعم و مزه اصلی و طبیعی‌شان را حفظ کرده‌اند (Yukizaki *et al.*,1993). بهرحال، فقط فشار ۲۰۰ مگاپاسکال به مدت ۵ دقیقه در $0^{\circ}c$ برای غیرفعال کردن *Vibrio parahaemaly ticus* در محلول بافر مورد نیاز است (Yakizaki *et al.*,1994). که این آزمایش نشان دهنده این است که بعضی از مواد در تخم خارتن دریائی دارای خاصیت حفاظتی در مقابل فشار می‌باشند. یک مطالعه روی کاهش باکتری‌ها در اویستر به وسیله فشار بالا نشان داد که (Lopez-Caballero *et al.*,2000) بکار بردن فشار ۴۰۰ مگاپاسکال به مدت ۵ دقیقه باعث گردید تا تعداد میزان میکروارگانیسم‌ها را تا ۵ سیکل لگاریتمی‌کاهش می‌یابند. اویسترهایی که تحت فشار بالا قرار گرفته بودند به مدت ۴۱ روز در $2^{\circ}c$ پایدار بودند در مقایسه با نمونه کنترل که فقط ۱۳ روز پایدار بودند. مطالعه دیگری روی زمان ماندگاری میگوی بسته بندی شده در خلا و سرد شده به وسیله فشارهای ۲۰۰ و ۴۰۰ مگاپاسکال نشان داد که زمان ماندگاری به ترتیب ۱و۲ هفته در مقایسه با میگو فقط سرد شده و بسته بندی شده در خلا سرد و بدون استفاده از فشار افزایش نشان داد (Lopez-caballero,2000 b).

[1] - Urchineggs

۴-۱۶- تاثیر بر کیفیت غذاهای دریائی

طعم، مزه و بافت فاکتورهای کیفی مهم غذاهای دریائی برای انتخاب آنها از طرف مصرف کننده‌گان مواد غذائی دریائی می‌باشند. این فاکتورهای کیفی طی نگهداری فرآورده در انبار توسط فاکتورهای زیادی تحت تاثیر قرار می‌گیرند که می‌توانند تازگی فرآورده را کاهش داده و یا باعث فساد آن شوند. این فاکتورها ممکن است شامل تغییر در ماهیت پروتئین (دناتوره)، فعالیت‌های آنزیم‌هایی که باعث تولید طعم و مزه ناخوشایند را می‌کنند و یا اکسیداسیون چربی‌ها باشد. این تغییرات باعث تولید آب چک (Drip) از عضله ماهی می‌شوند که در نهایت منجر به خشک شدن و سفت شدن بافت، تند شدن و تغییر طعم می‌گردند. استفاده از فشار بالا روی این فاکتورها تاثیر خواهد گذاشت بنحویکه در بعضی مواقع باعث بهینه شدن این ویژگی ها در مقایسه با روش‌های دیگر نگهداری خواهد شد و در مواقع دیگر باعث کاهش این تغییرات نامناسب در بافت در مقایسه با فرآورده‌های تازه می‌گردد.

۱-۴-۱۶- *تاثیرات روی ساختارهای میکروسکوپی، پروتئین‌ها و آنزیم‌های ماهی*

گفته شده که فشار بالا باعث شد شکستن پیوندهای یونی بدلیل خاصیت الکتریکی مولکولهای آب در میدان الکتریکی و اثر یون‌ها روی پیوندهای دو قطبی حلال و اختلال جزئی در فعل و انفعالات گروه‌های آب‌گریز می‌گردد (Heremans,1992). در مقابل، پیوندهای هیدروژنی به نظر می‌رسند تا حدی تحت فشار قوی می‌گردند و پیوندهای کووالانس حساسیت کمی‌نسبت به فشار بالا از خود نشان می‌دهند. این بستگی به مقدار فشار دارد و اینکه دناتوره شدن پروتئین وغیرفعال شدن آنزیم ها اتفاق می‌افتد یا خیر؟. دناتوره شدن پروتئین می تواند شامل تجزیه ساختار الیگومریک (ساختار پروتئینی که از چند رشته پلی پپتیدی تشکیل شده است) ، باز شدن ساختار مونومریک، انبوهش پروتئین‌ها و تشکیل ژل بوسیله پروتئین باشد (Balny & Masson,1993 ,Cheftel,1995,Fontenberger *et al*,1995,Gross & Jaenike,1994). تغییر ماهیت (دناتوره شده) پروتئین‌ها مهمترین فاکتور در تغییر ساختار میکروسکوپی فرآورده‌های گوشتی و غیرفعال شدن آنزیم‌ها می‌باشد. غذاهای دریائی فرآوری شده با فشار بالا در نتیجه مستعد همه این تغییرات می‌باشند، که بستگی به شدت مقدار فشار بکار بدره شده دارد. تغییرات ایجاد شده در پروتئین تحت فشار بالا می‌تواند برگشت پذیر و یا برگشت ناپذیر باشد که این موضوع بستگی به مقدار فشار و درجه حرارت بکار برده شده دارد. بصورت برگشت پذیری در ساختار پروتئین در فشار بالا در زیر ۲۰۰-۱۰۰ مگاپاسکال مشاهده می‌شود (تجزیه پروتئین‌ها به اجزاء آن).

فشار بالای ۲۰۰ مگاپاسکال دارای تاثیر برگشت ناپذیر در ساختار پروتئین می‌باشد و ممکن است باعث غیرفعال شدن کامل آنزیم‌ها و تغییر ماهیت (دناتوره) پروتئین‌ها شود (Balny & Masson ,1993). تغییر ماهیت

پروتئین بستگی به تاثیر فاکتورهای خارجی هم دارد مثل درجه حرارت، PH و ترکیب حلال (نمک، شکر و دیگر افزودنیها). واکنشهای آب گریز در فشار زیر ۱۵۰ مگاپاسکال ابتدائاً تحت تاثیر قرار می‌گیرند در نتیجه ساختمان چهارم پروتئین‌ها.اولین ساختاری می باشد که ساختمان سوم پروتئین‌ها در فشار بالای ۲۰۰ مگاپاسکال و ساختمان دوم پروتئین‌ها در فشار ۷۰۰ مگا پاسکال دستخوش تغییرات می‌شوند (Balny and ,Cheftel,1995 Masson,1993). بنابراین، تغییر ماهیت پروتئین‌ها تحت تاثیر فشار بالا شامل جابجایی دوباره و یا تخریب پیوندهای غیرکووالانت (Non- Covalent) مثل پیوند هیدروژنی، پیوندهای آب گریز و پیوندهای یونی ساختار سوم و چهارم پروتئینی می‌شود در حالیکه پیوندهای کووالانت تحت تاثیر قرار نمی‌گیرند. (Okamato *et al.*,1990 ;Cheftel,1995;Balny & Masson,1993).

پروتئین‌های مهم عضله ماهی شامل پروتئین‌های سارکوپلاسمیو میوفیبریلی می‌باشند. پروتئین‌های میوفیبریلی پروتئین‌های هستند که ساختار ماهیچه را تعیین می‌کنند در حالیکه پروتئین‌های سارکوپلاسمی‌پروتئین‌هایی غیرساختاری و محلول در آب می‌باشند. پروتئین‌های میوفیبریل بین ٪۸۰–۶۵ از کل پروتئین‌های عضله ماهی را تشکیل می‌دهند. آنها عمدتاً از پروتئین‌های انقباضی اکتین و میوزین،پروتئین‌های تنظیم کننده، پروتئین‌های الاستیک و بعضی دیگر از پروتئین‌ها جزئی تشکیل می‌شوند. میوزین در ۲۰۰–۱۰۰ مگاپاسکال و اکتین در ۳۰۰ مگاپاسکال دناتوره می‌شوند فقط تعداد کمی‌از پروتئین‌های محلول در آب در فشار ۸۰۰ مگاپاسکال بدون تغییر باقی می‌مانند (Balny & Masson,1993).

استفاده از فشار بالا با قدرت ۱۵۰ مگا پاسکال به مدت ۳۰ دقیقه بر روی میوفیبریلی ماهی کپور باعث تخریب میوفیبریل و از بین رفتن شکل مخطط عضله گردید (Ohshima *et al.*,1993). برخلاف این میوفیبریل‌های که بمدت دو ساعت در $38^{\circ}c$ حرارت داده شدند هنوز شکل مخطط ظاهری خود را حفظ نمودند، اگرچه بعضی از تغییرات در ساختار عضله رخ داد. قابلیت حرکت زنجیره سنگین میوزین و اکتین در روی ژل الکتروفورز که تحت تاثیر فشار ۱۵۰ مگاپاسکال با دادن درجه حرارت در $38^{\circ}c$ قرار گرفتند تغییر نکرده (Shoji & Saeki,1989). بهرصورت، وقتی که عضله ماهی کاد و ماکرل تحت فشار بالا قرار داده شدند بعضی از پروتئین‌های سارکوپلاسمی‌از طریق پیوند کووالانت به همدیگر متصل شدند و در نتیجه نسبت به استخراج به روش SDS مقاوم شدند (Ohshima *et al.*,1992).

۲-۴-۱۶- تاثیر روی فعالیت آنزیمی

جمود نعشی پس از مرگ ماهی زمانی شروع می‌شود که مقدارATP در عضله ماهی پس از مرگ کاهش می‌یابد. ATp توسط آنزیم‌های دفسفریلاز موجود در عضله‌ها به ترکیبات دیگری تجزیه می‌شود. بعضی از این‌ها ترکیبات واسطه‌ای هستند اما ترکیبات دیگر هستند که طی نگهداری ماهی در سردخانه می‌توانند در ماهی تجمع نمایند. مقدار این ترکیبات برای ارزیابی تازگی ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرند. با استفاده از نسبت دو تا از این ترکیب‌ها به k ATP که معروف به عدد k است این ارزیابی صورت می‌گیرد. (Sakaghuchi & ; Saito *et al.*,1959 Koike,1992). وقتی که عضله ماهی کپور تحت فشارهای ۲۰۰ و ۳۵۰ و ۵۰۰ مگاپاسکال قرار داده شد و سپس در $5c^{\circ}$ انبار شد، کاهش بیشتر در مقدار اینوزین ٬۵ منوفسفات (ترکیب واسطه‌ای) در ۳۵۰ و ۵۰۰ مگاپاسکال مشاهده شد (Shoji & Saeki,1989) . این نتایج به قوت پیشنهاد می‌کنند که پروتئین آنزیم‌های موثر در تجزیه ATP در زمانی که تحت تأثیر فشار بالا قرار می گیرنداعث تغییر ماهیت پروتئین می‌شوند و در نتیجه غیرفعال میشوند از طرف دیگر، حرارت باعث سرعت بخشیدن به تجزیه ATP را در ماهی، حتی در ماهیان خیلی تازه می گردد.

اختلافی بین غیرفعال کردن فعالیت ATPase به وسیله گرما و فشار بالا وجود دارد. غیرفعال‌سازی فعالیت ATPase به وسیله گرما یک فرآیند کنیتکی درجه یک[1] است (Arai,1977) . از طرف دیگر فعالیت ATPase در میوفیبریل‌های ماهی کپور که تحت فشار ۱۲۵ و ۱۵۰ مگاپاسکال قرار گرفتند، تغییرات خطی مستقیمی‌را با زمان نشان می‌دهند. بعد از گذشت مدت زمانی خاص، یک نقطه شکست مشخص در رابطه زمان- فشار و فعالیت آنزیم مشاهده می‌شود و فعالیت آنزیمی‌با سرعت کمتری کاهش می‌یابد. این فرآیند پیشنهاد می کند که مکانیسم دناتوره شدن پروتئین به وسیله گرما بنحوی از مکانیسم دناتوره شدن پروتئین‌ها به وسیله فشار بالا متفاوت است (Ohshima *et al.*,1993).

این موضوع با تحقیق روی ۷گونه ماهی تأیید شد (ISO *et al.*,1994) . آنها تاثیر گرما و فشار را (۲۰۰ مگاپاسکال در ۱۳ ساعت) روی دناتوره شدن پروتئین‌های میوفیبریل را به وسیله رنگ سنجی Differential Scanning (DSC)اندازه گیری کردند. منحنی حرارتی پروتئین‌های حرارت شده در DSC سه پیک مختلف را نشان داد که این امر نشان دهنده تغییر دناتوره شدن پروتئین دو زنجیره متفاوت از میوزین در $51c^{\circ}$ ،$44c^{\circ}$ و اکتین در $71c^{\circ}$ می‌باشد. اما بهرصورت، پروتئین‌های تحت فشار ماهی وقتی که حررات داده شدند در آنها فقط

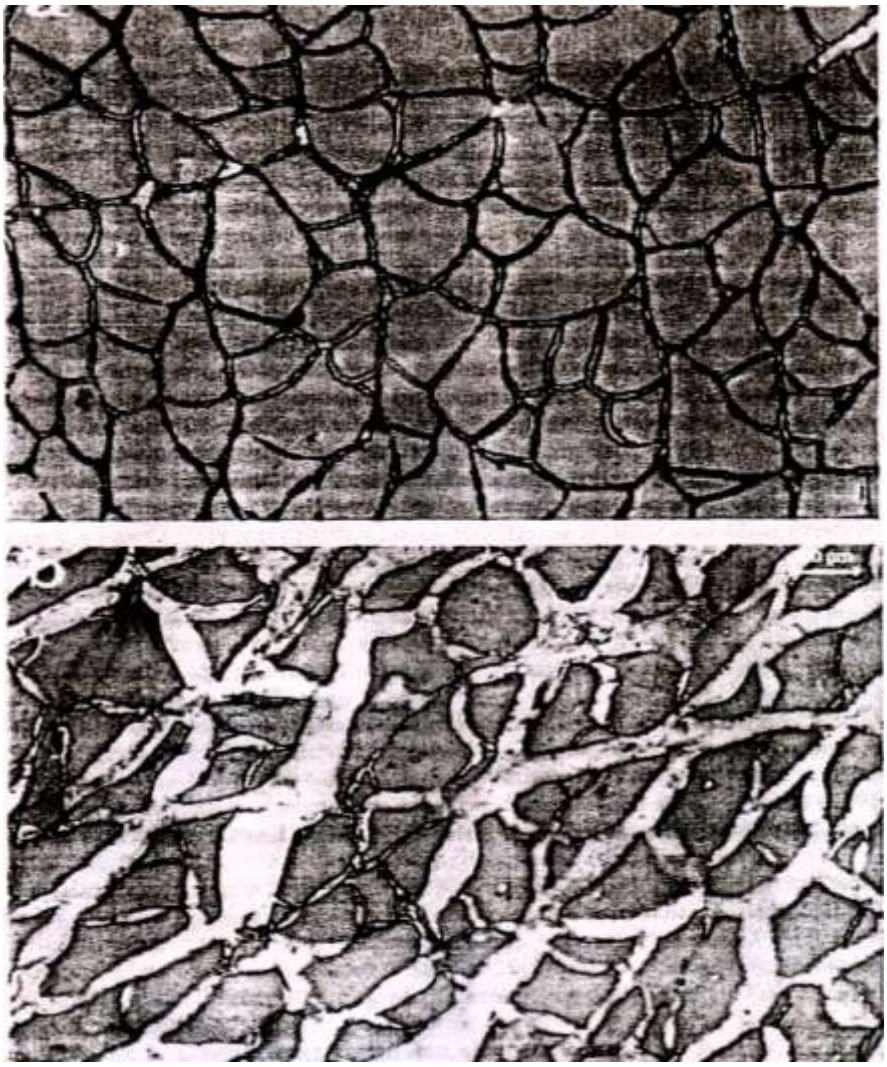
[1] - First Order Kinetics

دو پیک را نشان دادند که یک پیک کوچک برای میوزین و یک پیک پهن و بزرگتر برای اکتین بود. پروتئین های تحت فشار بالا در ماهی به نظر می‌رسد که به صورت جزئی دناتوره شده بودنند، زیرا که تغییر آنتالپی کل به شکل قابل توجه‌ای برای پروتئین‌هایی که تحت فشار بالا قرار گرفته بودند نسبت به پروتئین‌های تیمار نشده کمتر بود. میوزین و اکتین هر دو به صورت جزئی به وسیله فشار بالا در زمانهای مشابه دناتوره شده بودند.

مطالعاتی روی تاثیر فشار بالا روی آنزیم‌هایی که به فرآیند فساد غذاهای دریائی کمک می‌کنند انجام شده است (Ashie & Simpson,1995). این آنزیم‌ها شامل تریپسین، کیموتریپسین؛ کاتپسین و کلاژناز می‌باشند. این پژوهشگران یافتند که همه آنزیم‌های مطالعه شده نسبت به فشار ۴۰۰-۱۰۰ مگاپاسکال و طول مدت اعمال فشار حساس هستند. تریپسین نسبت به کیموتریپسین نسبت به غیرفعال شدن حساس‌تر بود. اما لیپازها در عضله ماهی در درجه حرارت‌های پائین درسردخانه نگهداری شده بودند هنوز فعال بودند و آنها در نهایت اسیدهای چرب آزاد را از گلیکولیپیدها آزاد می‌کنند که منجر به جمع‌شدن اسیدهای چرب آزاد در عضله ماهی می‌شوند (de Koning & Mol,1990) . استفاده از فشار بالا به بالاتر از ۴۰۵ مگاپاسگال برای جلوگیری از افزایش اسیدهای چرب و کم شدن فسفولیپیدها قبل از نگهداری ماهی در انبار ضروری است (Ohshima *et al.*,1993)

۳-۴-۱۶- تاثیر روی بافت و ساختار میکروسکوپی

تحقیقات روی گوشت قرمز نشان داد که پاستوریزه نمودن گوشت در تحت زیر ۲۰۰ مگا پاسکال در درجه حرارت محیطی تأثیر چندانی در نرم شدن و جمود نعشی آن ندارد (Cheftel & Culioli,1997). همچنین کلاژن که عمدتاً به وسیله پیوندهای هیدروژنی پایدار می باشد، به مقدار جرئی در تحت فشار و در درجه حرارت محیطی تحت تاثیر قرار می‌گیرد. در صورتی که استفاده از فشار روی ساختار پروتئین‌های میوفیبریل و تولید ژل هم در گوشت قرمز و ماهی تأثیر فراوان دارد (Ledward,1998). در شکل ۱-۱۶ می‌توانید مقایسه بین نمونه‌های عضله ماهی آزاد فرآوری شده با فشار و بدون فشار را ملاحظه کنید. در این شکل تاثیر فشار ۴۰۰ مگاپاسکال به مدت ۳۰ دقیقه روی ساختار میکروسکوپی عضله ماهی آزاد آشکارا مشاهده می‌شود در نمونه تیمار شده ماهیچه پاره شده و سلول‌ها از نظراندازه نسبت به نمونه تیمار نشده از نظراندازه کوچکتر شده‌اند. (Gudmunsson.MAND Habsteinsson,H,2001)



شکل ۱-۱۶

پایداری میوزین‌های مختلف نسبت به فشار مثل پایدار آنها در مقابل حرارت، بستگی به محیط زندگی گونه دارد. بنابراین میوزین‌های گاو و بوقلمون به مقدار قابل توجه‌ای در مقابل فشار پایدارتر می‌باشند در مقایسه با میوزین‌های ماهیان آب سرد مثل ماهی کاد (Cheah & Leward,1996 Angsupanich etal.,1999;Angsupanich & Ledward,1998). در فشار نسبتاً پائین ۲۰۰-۱۰۰ مگاپاسکال، میوزین در ابتداء به وسیله دو سر به‌هم متصل و گلوله می‌شوند و تشکیل یک

ساختار با یک سر می‌دهند، سپس بیشه گلوله شده وتولید توده‌ای از سرها و با دم‌هایی کـه بـه صـورت آزاد بـه سـمت بیرون گسترش یافته‌اند را تشکیل می‌دهند (Cheftel & Culioli ,1997). مکانیسم مشابهی برای مراحـل شـروع در تشکیل ژل بوسیله حرارت برای میوزین پیشنهاد شده است (Yamamoto *et al.*,1990) .

مراحل ابتدایی توده شدن (گلوله شدن) میوزین چه به وسیله گرما و چه به وسیله فشار، برای تشـکیل ژل خیلـی شبیه هم هستند، اما مراحل دیگر تولید ژل بوسیله این دو روش خیلی با هم تفاوت دارند که تعجب برانگیـز مـی باشد زیرا پایداری نسبی پیوندهای هیدروژنی و فعل و انفعالات آب گریز نسبت به فشار و گرمـا بـا هـم متفـاوت می‌باشند. بعلت اینکه در تیمار حرارتی دم‌های میوزین بسته به شرایط به آسانی باز می‌شوند و تشکیل شبکه ژلی یا توده می‌دهند و در ابتداء این ژل‌ها یا توده به وسیله پیوندهای دی سولفید و فعل و انفعـالات آب گریـز پایـدار می‌شوند (Yamamoto *et al.*,1990). در صورتی که در نمونه‌های میوزین که تحت فشار قـرار گرفتـه‌انـد یک پیوند تغییر یافته از پیوندهای هیدروژنی شکل می‌گیرد و در صورتی که این سـاختار جدیـد و تغییـر یافتـه را بوسیله Differntial Scanning Calorimetry مورد مطالعه قرار دهیم، ملاحظه می‌شود کـه ایـن سـاختار جدیـد چنـد درجـه پـائین‌تـر از درجـه‌ای کـه میـوزین طبیعـی ذوب مـی‌شـود، ذوب خواهـد شـد (Angsupanich & Leward,1998). پیوندهای هیدروژنی در درجه حرارت‌های نسبتاً پایین ذوب میشـوند اما به فشارهای ۸۰۰-۲۰۰ مگاپاسکال تقریباً غیرحسـاس هسـتند (Angsupanich & Leward,1998). علاوه بر آن، ثابت شده است که در فشارهای بالای ۴۰۰ مگاپاسکال، زنجیره سنگین میوزین مـی‌توانـد تشـکیل پیوندهای دی سولفید دهد. (Angsupanich & Leward,1998) پیوندهای دی‌سولفید برای تشکیل ژل از طریـق گرما در این سیستم‌ها نیز تشکیل می‌شوند (Lee & Lanier,1995).

بصورت کوتاه، ژل های تشکیل شده از میوزین بوسیله حرارت توسط پیوندهای دی سـولفید و فعـل و انفعـالات آب گریز پایدار می‌شوند. اما، ژل‌های میوزین تشکیل شده به وسیله فشار توسط پیونـدهای دی سـولفید و تعـداد قابل توجه‌ای پیوندهای هیدروژنی پایدار می‌شوند که پیوندهای هیدروژنی قابل شکسته شدن بوسـیله گرمـا مـی باشند.

بافت گوشت ماهی تیمار شده با فشار به طول قابل ملاحظه‌ای با بافت ماهی تیمار شده بوسیله حرارت متفاوت اسـت (Angsupanich & Ledward,1998 ; Angsupanich *et al.*,1999). نتـایج بدسـت آمـده از آزمایش‌اندازه گیری سختی بافت بوسیله (Texter Profile & Anlysis) نشان داد که تیمارهای تهیه شده بوسـیله فشار در ۴۰۰مگاپاسکال در مقایسه با نمونه‌ای که به آن ۵۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شده است در سختی بیشـتری برخوردار بودنند. عضله ماهی کادی که تحت فشار زیر یا بالای ۴۰۰ مگا پاسکال قرار گرفته بود دارای سـختی کمتـری

نسبت به نمونه‌ای بود که تحت فشار ۴۰۰ مگا پاسکال قرار داشته است. بهرصورت، اگر به عضله تیمار شده با فشار حرارت داده شود سختی بافت آن مشابه سختی بافت نمونه‌ای خواهد بود که به آن حرارت داده شده است. بافت ماهی تیمار شده با فشار نسبت به حرارت حساس بوده و با دادن حرارت در درجه حرارت پائین نرم خواهد شد. در مقایسه با عضله طبیعی ماهی کاد، بیشترین تغییرات در خواص چسبندگی، جوندگی و تردی در نمونه هایی دیده شد که تحت فشار کمتر از ۴۰۰ مگا پاسکال قرار گرفته بودند.

بهرصورت، نتایج آزمایش‌هایی که روی Bluefish بعمل آمده، نشان داد که استفاده از فشار ۱۰۱ مگاپاسکال باعث افزایش سختی بافت در زمان نگهداری در انبار $۷c^{\circ}-۴$ می‌گردد، اما افزایش فشار به ۲۰۲ و ۳۰۲ مگا پاسکال دارای تاثیر معکوسی در روی سختی بافت داشت (Ashie *et al.*,1997). انتخاب روش‌اندازه‌گیری مهم می‌باشد زیرا Ashie & Sipmpson در سال ۱۹۹۶ با استفاده ا زروش‌های حسی و Instron compression بر روی Blue Fish با بکاربردن فشار ۳۰۰ مگا پاسکال نتایج متفاوتی را گزاش نموده‌اند. ماهی تیمار شده بوسیله فشار، در آزمایش انجام شده از طرف ارزیاب های حسی دارای بافت سخت تری بود درمقایسه با بافت شاهد تا نمونه‌ای که بوسیله Instron compression ارزیابی گردید دارای بافت گزارش شده و در نتیجه، نتایج مختلفی ازاین گزارش گردیده است.

ایسترهای فرآیند شده با فشار در مقایسه با ایسترهای فرآیند نشده از خود سختی بیشتری را نشان دادند (Lopez-Caballero *et al.*,200a) میگوهای فرآیند شده با فشار ۲۰۰ یا ۴۰۰ مگا پاسکال بافت آنها از سختی بیشتر در مقایسه با میگوهای فرآیند نشده با فشار برخوردار بودند (Lopez-Caballero *et al.*,2000). تحقیقات نشان داده که ساتفاده از فشار بالا باعث بهینه شدن قدرت تولید ژل در گوشت چرخ شده ماهیانی که قادر به تولییدد ژل مناسب نمی‌باشند می‌گردد (Perez-Mateos & Montero,2000). استفاده از فشار بالا در تولید سوریمی‌و دیگر فرآورده‌های گوشتی از ماهیان باعث تسهیل در تولید ژل دردرجه حرارت پائین می‌گردد (Ohshima *et al.*,1993 , Shoji *et al.*,1994).

فشارهای هیدرواستاتیکی ۲۰۰ مگاپاسکال به مدت ۳۰ دقیقه و در $25^{\circ}c$ برای شروع تشکیل ژل از اکتومیوزین خام ماهی کپور ضروری است زیرا به این ترتیب ژل می‌تواند وزن و شکل خودش را حفظ کند. ژل تشکیل شده به وسیله فشار، رنگ و طعم اصلی خودش را حفظ کرده و همچنین شفاف تر و نرم تر در مقایسه با ژل‌های تشکیل شده به وسیله حرارت (Ohshima *et al.*,1993). در صورت افزایش فشار ژل تولیدی دارای سختی بیشتر و چسبندگی کمتر خواهد بود. اما، هنوز این ژل نرم بوده و قابلیت کشش زیادی داشته و به وسیله فشار بالا شکسته نمی‌شود. اختلافات قابل توجه‌ای در ظاهر و ویژگیهای بافتی ژل‌های تولید شده از ماهی کپور توسط فشار و گرما وجود

دارد. ژل‌های تشکیل شده به وسیله گرماندکی متورم می‌شوند و نسبتاً سخت می‌باشند. اما فاقد چسبندگی هستند. این نتایج نشان می‌دهند که مکانیسم تشکیل ژل بین ژل‌های تشکیل شده به وسیله فشار و حرارت متفاوت از هم می‌باشند.

مطالعه روی اختلاف بین ژل‌های تشکیل شده به وسیله حرارت و فشار نشان داد که ژل تهیه شده از Blue Whiting در فشار بالا ۲۰۰ مگاپاسکال (به مدت ۱۰ دقیقه در c° ۱۰) دارای نیروی شکنندگی و چسبندگی بیشتر در مقایسه با ژل تولید شده به وسیله گرما است (Borderias *et al.*,1997). استفاده از فشار فشار در c° ۴ قبل از انکوباسیون در c° ۲۵ یا c° ۴۰ باعث افزایش به قدرت ژل ۲ تا ۳ برابر در ژل سوریمی‌گاهی که حاوی آنزیم ترانس گلوتامیناز (TGase) بود گردید. فشار بالا باعث می‌شود تا سوبستراهای پروتئینی برای TGase قابل دسترس‌تر بوده که به این دلیل شکل گیری پیوندهای عرضی درون سلولی و تولید قدرت ژل افزایش می‌یابد. آنزیم TGase به وسیله فشار بالا تا ۳۰۰ مگا پاسکال در c° ۴ تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد (Ashie & Lanier,1999)

تاثیر فشار بالا روی پروتئین‌های سارکوپلاسمی‌ماهی ساردین[1]، پولاک[2]، سل[3] و ماکرل[4] اسبی بررسی شده است (Okamoto *et al.,1*990). پروتئین‌های سارکوپلاسمی‌در فشار بالای ۱۴۰ مگاپاسکال غیرمحلول و رسوب می‌کنند و زمانی که غلظت این پروتئین‌ها به بالای ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر می‌رسد تشکیل ژل می‌دهند. ویژگی این ژل‌ها تحت تأثیر فاکتورهایی مثل گونه ماهی، PH، غلظت پروتئین؛ فشار و زمان تیمار قرار می گیرند. مثلاً سختی ژل‌های تشکیل شده به وسیله فشار برای ماهی سل از همه بالاتر بود اما قدرت مورد نیاز برای شکستن ژل تولید شده از ماهی برای ماکرل اسبی از همه زیادتر بود. قدرت ژل همراه ازدیاد فشار به کار گرفته شده افزایش می‌یافت، که در بین ژل‌ها، ژل ماهی سل بیشترین افزایش را نشان داد. ظرفیت نگهداری آب در ژل‌ها به‌طور کلی با ازدیاد فشار در ماهی سل و پولاک کاهش یافت اما برای ماهی ساردین و ماکرل اسبی تا فشار ۳۷۰ مگاپاسکال تقریباً ثابت بود. نیروی شکنندگی ژل در PH ۵ تا ۶ دارای حداکثر میزان بود اما ظرفیت نگهداری آب در این PH به حداقل خود رسید (Okamoto *et al.*,1990). مشاهده ساختار ژل با میکروسکوپ الکترونی نشان داد که این ژل‌ها متخلخل بوده واندازه‌گیریهای رئولوژیکی بافت نشان داد که آنها الاستیک و کاملاً دارای خواص متفاوت از ژل‌های تولید شده توسط حرارت می باشند. نیروی شکنندگی ژل‌های

---

[1] - Sardine
[2] - Walleye Pollack
[3] - Marble sole
[4] - Horse Mackerel

تشکیل شده در فشار ۴۷۰ مگاپاسکال خیلی بیشتر از ژل‌های تشکیل شده توسط حرارت از همان نوع پروتئین بودند (Okazaki & Nakamura,1990). این نتایج برای پروتئین‌های سارکوپلاسمیک در ماهیان شبیه نتایجی است که برای پروتئین‌های میوفیبریل زمانی که تحت فشار قرار گرفته‌اند می‌باشند.

فشار بالا برای تولید سوریمی‌از هر دو ماهی آلاسکا پولاک[1] و وایتینگ آرام[2] به کار گرفته شده است. (Shojie *et al.*,1990 ,Chung *et al.*,1994). سوریمی‌بصورت سنتی معمولاً از حرارت دادن ژل‌ها در حدود $۹۰^{\circ}c$ تولید می‌گردند (Lee 1984 ,Lanier and Lee,1992). در تعدادی از گونه‌های ماهی ممکن است حرارت دادن معمول بعلت وجود انزیم پروتناز در گوشت باعث تولید ژل ضعیف گردد (Niwa,1992). بهرصورت، با افزایش درجه حرارت در زمان پخت موجب تشکیل ژل در فرآورده‌های سوریمی‌خواهد شد. بهرحال فرآورده‌ها معمولاً در درجه ۶۰-۵۰ سانتیگراد حرارت داده می‌شوند که در این درجه‌ها پروئینازها خیلی فعال هستند. در حال حاضر با استفاده از بازدارنده‌های پروتئینی مثل پروتئین‌های پلاسمای گاو یا سفیده تخم مرغ از ضعیف شدن ژل جلوگیری بعمل می‌آید (Matsumoto & Noguchi,1992). ژل سوریمی‌ماهی آلاسکا پولاک و وایتینگ آرام که تحت تاثیر فشار بالا تولید شده‌اند با افزودن بازدارنده‌های پروتئینی، قابلیت ارتجاعی آنها در تمام دامنه و ترکیب درجه حرارت- فشار (۲۸۰-۱۰۰ مگاپاسکال و درجه حرارت‌های بین $۵۰c^{\circ}-۲۸$) به مقدار زیاد در مقایسه با ژل‌های تولید شده با حرارت از افزایش زیادی برخوردار بودند. بهرصورت قدرت تولید ژل در ماهیان مختلف متغیر می‌باشد. قدرت ژل در فرآورده‌های تولید شده در ماهی آلاسکاپولاک که به آن مود بازدارنده پروتئینی بر جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های پروئتناز افزوده شده بود نسبت به نمونه‌های کنترل از قدرت ژلی بالاتری برخوردار بود.بجز ژلی که با استفاده از $۵۰C^{\circ}$وفشار بالا تولید شده بود که از قدرت ژلی برخوردار بود. یک ژل تولید شده تحت فشار بالا از ماهی، Pacific Whiting، بدون استفاده از بازدارنده‌های آنزیمی، در مقایسه با ژل تولید شده توسط حرارت سه بار قوی‌تر از نظر قدرت ژلی و مقاوم به فشار بود. در صورتی که اگر سوریمی‌ابتداء $۵۰c^{\circ}$ حرارت داده شود سپس تحت فشار بالا قرار گیرد، این سوریمی‌قادر به تولید ژل بخواهد بود. این نشان دهنده این پدیده است که فعالیت آنزیمی‌پروتیناز در تحت فشار در درجه $۵۰c^{\circ}$ افزایش یافته و از تولید ژل جلوگیری بعمل آمده است (Chung *et al.*,1994).

در تحقیقی دیگری (Shoji *et al.*,1990) بر روی سوریمی‌نشان دادند که سوریمی که ۲/۵ درصد نمک به آن اضافه شده باشد زمانی که تحت فشار بین ۴۰۰-۲۰۰ مگا پاسکال در صفردرجه سانتیگراد بمدت ۱۰ دقیقه قرار گیرد

[1] -Alaska Pollack
[2] -Pacific Whiting

تولید ژل بسیار قوی می‌نماید. ژل تولید شده تحت فشار ۳۰۰ مگا پاسکال دارای قوی ترین قدرت ژلی بود. ژل تولید شده در سوریمی‌در تحت شرایط بالا، دارای قوی‌ترین قدرت ژل در مقایسه با ژل تولید شده بوسیله حرارت بوده و همچنین شفاف‌تر می‌باشد. بررسی بوسیله الکتروفورز و تجزیه نمودن پروتئین‌های ژلی سوریمی‌تولید شده بوسیله فشار، بیانگر این موضوع بود که، تولید ژل بوسیله فشار بالا به مقدار زیادی بستگی به ایجاد پیوندهای زنجیره‌ای (Cross-Linking) در زنجیره‌های سنگین میوزین دارد (Shoji *et al.*,1990).

۴-۴-۱۶- تاثیرات روی اکسیداسیون چربی

چربی‌های دریایی با داشتن مقادیر بالایی از اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFA) مشخص می‌شوند (Ackman, 1990). PUFA به‌طور کلی نسبت به اکسیداسیون و تجزیه شدن به فرآورده‌های ناشی از اکسیداسیون چربی‌ها در غذاها، طی فرآوری و نگهداری آنها در انبار حساس هستند که به‌طور مستقیم کیفیت فرآورده را که شامل طعم، رنگ، بافت و ارزش تغذیه‌ای می‌باشد را کاهش می‌دهند (Eriksson,1982). چربی ها و روغن‌های کاملاً خالص شده زمانی که تحت تاثیر فشار بالا قرار می‌گیرند نسبت به اکسیداسیون تقریباً پایدار هستند. اما، بهر صورت در چربی‌های تجاری، رابطه بین فشار بالا و حساسیت چربی به اکسیداسیون بعلت رابطه پیچیده آن با فعالیت آبی موجود در محیط است (Cheah & Leward,1995).

مطالعات بسیار کمی‌درباره تاثیرات فشار بالا روی روغن ماهی وجود دارد. وقتی که روغن ماهی ساردین با فشار هیدرواستاتیکی ۵۰۶ مگاپاسکال به مدت ۶۰ دقیقه تیمار شد نشانگرهای اکسیداسیون چربی مثل، عدد پراکسید[1] (POU) و تیوباربیوتریک اسید[2] (TBA) تغییری نکردند (Tanaka *et al.*,1991). از طرف دیگر، وقتی عضله ماهی کاد تحت تاثیر فشارهای ۲۰۲، ۴۰۴ و ۶۰۸ مگا پاسکال به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه قرار داده شد، عدد پراکسید روغن‌های استخراج شده از عضله همراه با افزایش فشار هیدرواستاتیکی و زمان فرآوری افزایش یافت. حتی تاثیر ملموس‌تری در اکسیده شدن چربی‌های عضله ماهی ماکرل مشاهده شد (Ohshima,1992). این نتایج نشان داد که روغن‌های خالص بعد از تیمار در فشار بالا پایدار هستند اما چربی ها در عضله ماهی پایدار نمی‌باشند که احتمالاً علت آن بخاطر آزاد سازی یونهای فلزی در اثر فشار می‌باشد که بعنوان کاتالیزور عمل می‌کنند. این موضوع توسط تحقیقات دیگر محققین اثبات شده است (;

[1] - Peroxide value
[2] - Thiobarbituric acid

Cheah & Ledward,1955 Angsupanich & Ledward,1988). آنها هم چنین دریافتند که به کارگیری فشار بالاتر از ۴۰۰ مگاپاسکال باعث کاهش پایداری اکسیداسیون چربی‌ها در ماهی کاد می‌شود.
به نظر می‌رسد که اکسیداسیون چربی در محدوده‌ای از فعالیت آبی که در گوشت و ماهی معمول می‌باشد زمانی که آنها تحت فشار بالاتر از ۴۰۰ مگا پاسکال قرار می‌گیرد کاتالیز می‌شود (Cheah & Ledward,1955) . فشار باعث شروع تغییراتی در چربی و بافت می‌شود که احتمالاًفشار باعث آزادی یونهای فلزی از کمپلکس‌های خاص گردید و این یونها در مرحله بعدی باعث کاتالیز نمودن اکسیداسیون چربی‌ها می‌گردند. این فرضیه با افزودن آنتی‌اکسیدانهای مناسب و کمپلکس دهنده‌های فلزی (Chelator) بخصوص که ازاکسیده شدن چربی بصورت موثر جلوگیری می کند آزمایش گردیده است (Cheah & Ledward,1995). هنوز کاملاً آشکار نیست که این یونها از چه ترکیباتی آزاد می‌شوند. ترکیب‌های حاوی آهن بعنوان کاتالیزور کننده غیرمحتمل بنظر می‌رسند، در عضله‌های ماهی کاد یک اثر کاتالیزوری مشاهده شده و در این مورد کمپلکس‌های مثل Haemosiderin و دیگر ترکیب‌های غیر محلول بعنوان کاتالیزورکننده واکنش اکسیداسیون چربی‌ها در ماهی پیشنهاد شده‌اند، بهرصورت، علیرغم حذف کمپلکس‌های فلزی محلول هنوز اکسیداسیون چربی‌ها صورت می‌گیرد (Cheah & Ledward,1996 ,Ledward,1998).

۵-۴-۱۶- *تاثیرها روی ظاهر و رنگ*

فشار بالا می‌تواند در فرآوری غذا به کار رود اگرچه موجب تغییر ماهیت پروتئین‌ها شده ولی میگروارگانیسم‌ها را غیرفعال می‌سازد بدون اینکه تغییری در طعم، رنگ، ویتامین‌ها و مزه غذا ایجاد کند (Hayashi,1993) . تنها تغییر رنگ قابل توجه در ماهی‌های سفید مثل کاد و ماکرل، از بین رفتن حالت شفافی در ماهی و کدر شدن گوشت آن بعلت تغییر ماهیت پروتئین‌هاست و گوشت ماهی ظاهری شبیه گوشت ماهی پخته شده پیدا می‌کند (Shoji *et al.*,1990 ,Cheah & Ledward,1996 ,Angsuponish *et al.*,1999, Ohshima *et al.*,1992). این تغییرات‌ها در فشارهای بین ۱۰۰-۲۰۰ مگاپاسکال در ماهی کاد رخ می‌دهد (Angsuponish and Ledward,1998) .

۵-۱۶- کاربردهای دیگر فشار بالا و پیش‌بینی برای آینده

همانطوری که گفته شد فشار بالا را می‌توان برای تولید ژل‌های سوریمی‌و دیگر فرآورده‌های ماهی برای ایجاد کیفیت بهتر مورد استفاده قرار داد (Okamato *et al.*,1990) . می‌توان از فشار بالا در زیر $0^{\circ}c$ برای تولید

کریستال‌های کوچک یخ در فرآورده استفاده نمود، که کمتر در ساختار میکروسکپی و بافت فرآورده در مقایسه با انجماد به روش سنتی تأثیر منفی ایجاد میکند (Karino *et al.*,1944 ,Cheftel,1995). این موضوع می تواند در تولید فرآورده‌های منجمد ماهی خیلی مفید باشد. کاربرد دیگر آن در انجماد زدایی فرآورده‌های منجمد در درجه حرارت‌های بین $-20^{\circ}c$ می‌باشد چون آب در این محدوده حرارتی در فشار ۲۱۰ مگاپاسکال منجمد نمی‌شود. بنابراین ممکن است که فرآورده‌های منجمد شده را در برودت زیر صفر درجه سانتیگراد با کمک فشار بالا انجمادزدائی نمود (Kalichevsxy *et al.*,1995 ,Cheftel,1995).

از آنجائیکه تخریب میکروارگانیسم‌ها و اسپورهای میکروب حتی در فشارهای بالا مثل ۴۵۰ مگاپاسکال مشکل است (Miyao *et al.*,1993) به نظر می‌رسد که استفاده از ترکیب تیمار فشار بالا با درجه برودت زیر $-20^{\circ}c$ یا درجه حرارت‌های نسبتاً بالا برای دستیابی به زمان نگهداری قابل قبول و پایداری ویژگیهای کیفی فرآورده‌های ماهی ضروری باشد. این تاثیر همچنین ممکن است ترکیب با روش‌های فرآوری دیگر قابل دستیابی باشد. بنابراین مطالعات بیشتر بر روی استفاده از فشار بالا و ترکیب با روش‌های فرآوری دیگر ضروری می‌باشد. استفاده از فشارهای بالا۴۰۵ مگاپاسکال به‌طور موفقیت آمیزی در جلوگیری از فعالیت بعضی از آنزیم‌ها که منجر به بروز تغییرات نامناسب در ویژگیهای کیفی غذاهای دریائی می‌شود به کار گرفته شده است. لذا استفاده از فشار بالا ممکن است باعث ایجاد فرآورده‌های شود که در مدت نگهداری در انبار پایدارتر می‌باشند و از طرفی دارای زمان ماندگاری طولانی‌تری گردند.

استفاده از تیمار فشار بالا برای تولید کامابوکو نشان داده که باعث تولید کامابوکوی با سطحی ظریف و تولید ژلی با ویژگیهای مناسب گردیده است. ژل‌های ماهی تولید شده در تحت فشار باعث نوآوری‌های جدید در فرآورده‌های ماهی گردیده که یا دیگر فرآورده‌های دریائی که با استفاده از روشهای سنتی تولید شده که از نظر ظاهر و بافت کاملاً متفاوت می‌باشند.

۶-۱۶- پتانسیل کاربرد میدان الکتریکی با ضربان بالا [1](PEFs)

استفاده از PEFs به‌عنوان یک روش غیرحرارتی برای نگهداری غذا مثل کاربرد فشار بالا است یک روش غیر حرارتی است که می‌تواند در صنعت فرآوری ماهی استفاده شود. کاربرد PEF به‌عنوان یک روش نگهداری مواد غذا چندین سال است که موضوع تحقیق و بررسی است

[1] - The Potential Application of High-Intensity Publsed Electric

(Knorr,1995 : Knorr *et al.*,1998 , Barbosa-Canovas *et al.*,1998). تاکید عمده روی غیرفعال سازی انواع مختلف میکروارگانیسم‌ها در مراحل مختلف مثل مرحله رشد، سکون و یا اسپور است (Castro *et al.*,1993 ; Hülsheger & Nieman,1980 ; Wooters *et al.*,1999 و Sale & Hamilton,1967). مطالعات کمی درباره استفاده PEF برای بهبود بازدهی فرآورده آبمیوه‌ها انجام گرفته است (Knorr *et al.*,1994; Flaumenbaum,1968). برای مصرف کننده فرآورده‌های ماهی، ویژگی حسی در کنار سلامتی فرآورده و کیفیت بافت بخش مهمی‌از این ویژگی است. فرآیندهای سنتی برای تولید فرآورده‌های ماهی مثل نگهداری به صورت منجمد، خشک کردن، نمک زدن و کنسرو کردن تاثیرات متوسط تا شدیدی روی ساختار میکروسکوپی فرآورده در مقایسه با فرآورده تازه دارند (Duerr & Dyer 1952, Connell 1964, chu & Sterling 1970, Dunajski 1979, Bello *et al.*, 1982, Fennema, 1990, Mackie, 1993, Sikorski & Kotakowaska 1994, Greaser & Pearson, 1999). تحقیقات بسیار کمی درباره تاثیر تیمار PEF روی ساختار میکروسکوپی غذا وجود دارد (Barsotti *et al.*,1999, Fernadwz-Diaz *et al.*,2000) و تا آنجا که ما می‌دانیم فقط یک تحقیق درباره فرآورده‌های ماهی وجود دارد (Gudmundsson & Hafsteinsson,2001).

۷-۱۶- تاثیر بر رشد میکروبی

عمل کشندگی میدان الکتریکی بر روی سلول‌های زنده به وسیله از بین رفتن غشاء سلولی توسط نیروی دی الکتریک توضیح داده شده است (Zimmermann Zimmermann,1986 ,Sale & Hamilton,1967 *et al.*,1967). میدان الکتریکی به کار گرفته شده پتانسیل انتقال غشاء را شروع می‌کند که در بالاتر از یک حد خاص یا ولتاژ الکتریکی موجب ایجاد منفذ در غشاء سلولی می‌گردد که این منفذ می‌تواند برای میکروارگانیسم کشنده باشد. تغییر غیرقابل برگشت در فعالیت سلول، زمانی رخ می‌دهد که میدان الکتریکی بکار رفته به میزان ۱ تا ۱۰ کیلوولت در سانتی متر بمدت ۱۵-۱۰ دقیقه بکار برده شود (Zimmermann *et al.*,1976).

مشخص شده که سرعت نسبی کشتن باکتریها بستگی به قدرت میدان الکتریکی، طول زمان بکارگیری میدان الکتریکی، تعداد ضربان‌ها و وسعت باند ضربان‌ها دارد. هم چنین ثابت شده است که غیرفعال سازی میکروارگانیسم‌ها به وسیله PEF بستگی به نوع میکروارگانیسم، مرحله رشد میکروبی، تعداد اولیه میکروب‌ها، غلظت یونی و قابلیت هدایت الکتریکی محلول دارد (Hülsheger *et al.*,1981 , Woutsrs & Smelt,1977). باکتری ها در مرحله رشد در مقابل میدان الکتریکی آسیب پذیرند تا در مرحله سکون واسپورها در مقابل میدان

الکتریکی خیلی مقاوم اند.(Sale and Hamilton 1967, Wouters and Smelt 1997). بعضی از فاکتور در ساخت محیط کشت‌های محلول یا در نمونه بنظر می‌رسند که نقش حفاظتی برای میکروارگانیسم ها در مقابل میدان الکتریکی دارند، برای مثال، کاتیون ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها (Martin *et al.*,1997 و Hülsheger *et al.*,1981 ,Grahl & Markl,1996, Zang *et al.*,1994). تاثیر باکتری کشی PEF با افزایش قدرت یونی محیط کشت یا مواد غذایی کاهش می‌یابد (Hülsheger 1981). لذا، غیرفعال سازی میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی نیمه جامد و جامد نسبت به محلول‌های رقیق و بافر بعلت غنی بودن این محیط‌ها از یون‌ها و دیگر مواد حفاظتی مشکل‌تر است (Zhang *et al.*,1994 و Hülsheger *et al.*,1981). از طرف دیگر بسیاری از غذاها بعلت ناهمگنی در ساختار آنها دارای مناطقی با مقاومت الکتریکی متفاوت می‌باشند، که این وضعیت باعث تغییر دادن میدان الکتریکی PEF می‌گردد، بنابراین در بعضی از مناطق مواد غذائی تاثیر PEF ناچیز و در مناطق دیگر بیش از حد مورد نیاز خواهد شد (Basotti *et al.*,1999).

تا جایی که ما می‌دانیم مطالعات بخصوص درباره تاثیر PEF روی انواع مختلف باکتریها در غذاهای دریائی انتشار نیافته است. تاثیر PEF روی شمارش کلی باکتریها در تخم‌های ماهی لومپ (Lumpfish Roes) گزارش شده است که استفاده از ۱۱ کیلووات بر سانتی‌متری و هفت ضربان در ثانیه 11KV/Cim&Seven Polses (2µsin Width) تعداد باکتریها را به‌اندازه یک سیکل لگاریتمی‌کاهش داده است (Gudmundsson & Hafsteinsson 2001). در غذاهای دریائی، بیشتر باکتریهای عامل بیماریزا از خانواده Vibrionaceaeمی باشد که گونه‌های مهم آن شامل V.vulnificus V.cholereae و V.parhaemolyticus می‌باشند و همچنین گونه‌ای دیگر که می‌توان نامبرد Aeromonadas hydrophila می‌باشد (Wekell *et al.*,1994). دیگر گونه‌های بیماریزا که می‌توانند در غذاهای دریائی به دلائلی مختلف وجود داشته باشند شامل: *Staphyloccus aureus*،Salmonella sp,*E.coli Shigella*, ،*Campylobacter, yersinia entrocolitica* ،*CL.botulinum* ،*Listeria monocytogenes* و *Bacillus cereus* می‌باشند (Liston,1990).

Listeria monocytogenes در مرحله سکون(Stationary Phase) تا دو سیکل لگاریتمی‌و در مرحله رشد بین دو تا سه سیکل لگاریتمی‌با استفاده از ۲۰ کیلوولت در سانتی متر (20 KV/cm) و ۳۰ضربان در ثانیه به ترتیب کاهش نشان دادند (Hülsheger *et al.*,1983).Staphylococcus.aureus و E.coli که به ترتیب بالا مورد آزمایش قرار گرفتند در مرحله سکون سه تا چهار سیکل لگاریتمی‌کاهش داشتند. بررسی دیگر پژوهشگران بر روی تعداد E.coli با استفاده از 20KV/cm تا 70KV/cm نشان دهنده کاهش بین دو تا ۹

سیکل لگاریتمی‌بود (Dunn & Pearlman,1987 ,Zhang *et al.*,1994). کاهش تعداد برای Staphylococcus.aureus در ۲۷/۵ کیلوولت در سانتی‌متر دو سیکل لگاریتمی‌بوده است (۱۹۶۷ ,.Hamilton & Sale) و استفاده از 18KV/cm برای Salmonella dublin باعث . کاهش چهار سیکل لگاریتمی‌گردیده است (Dunn & Pearlman,1987). مطالعاتی درباره گونه‌هایی مانند Shigella Vibrio یا Campylobacter در دسترس نیست. اما بهرصورت آشکار است که میدان الکتریکی بالاتر از ۲۰ کیلووات در سانتی‌متر برای غیرفعال‌سازی بیشتر میکروارگانیسم‌ها به میزان حداقل دو تا سه سیکل لگاریتمی‌لازم است.

۸-۱۶- تاثیر بر کیفیت غذاهای دریایی

۱-۸-۱۶- تاثیر روی پروتئین‌ها و فعالیت آنزیمی

مشخص شده که آلبومین و دیگر پروتئین‌های سفیده تخم‌مرغ وقتی که تحت اثر PEF با قدرت الکتریکی بین ۳۳-۲۷ کیلوولت در سانتی‌متر همراه با ۵۰ تا ۴۰۰ ضربان در ثانیه قرار می‌گیرند تغییر ماهیت نمی‌دهند (Jeantet *et al.*,1999 و Fernadez *et al.*,2000). تحقیقاتی در زمینه تغییر ماهیت دادن (دناتوره) پروتئین‌ها در غذاهای دریائی تحت تاثیر PEF وجود ندارد، به جز یک مورد که گزارش شده که پروتئین ماهی کاد که تحت تاثیر KV/cm ۱۸/۶ و ۷ ضربان در ثانیه با پهنای باندی برابر($۲\mu_s$) قرار داده شده تغییری در آن مشاهده نشده است (Gudmundsson & Hafsteinsson,2001). برطبق گزارش این پژوهشگران، نتایج بدست آمده از آزمایش SDS-Electrophoresis تغییری در پیوندهای مولکولی پروتئین کاد مورد آزمایش با PEF و نمونه شاهد مشاهده نگردیده است.

مطالعات درباره تاثیر میدان PEF روی فعالیت آنزیم ها نشان می‌دهد که بسیاری از آنزیم‌ها حتی در میدان الکتریکی ۳۰ کیلوولت در سانتی‌متر تغییری در فعالیتتان ایجاد نمی شود. آنزیم‌های مورد آزمایش شامل لیپاز، آمیلاز، NADH دهیدروژناز، سوکسنیک هیدروژناز و هگزوژناز بودنند (Hamilton & Sale,1967). اما میدان PEF روی بعضی از آنزیم‌ها مثل پروتئازها حاصل از Pseudomones Flucrescans در ۱۵ کیلووات در سانتی متر و ۹۸ضربان در ثانیه و پلاسمین Plasmin در ۳۰ کیلوولت در سانتی‌متر و ۵۰ ضربان در ثانیه اثر نموده و آنها را غیرفعال می سازد (Vega-Mercado *et al.*, 1995a,b). آنزیم α – آمیلاز، لیپاز و گلوکز اکسیداز در میدان الکتریکی خیلی بالا (۸۷-۶۴ کیلوولت در سانتی متر) غیرفعال می گردند در حالیکه پراکسیدازها و پلی فنل‌اکسیدازها مقاوم‌تر از آنها بودند (Ho *et al.*,1997). هیچ‌گونه مطالعاتی دربارهٔ آنزیم‌های منابع دریائی در دست نیست.

۲-۸-۱۶- تاثیر روی بافت و ساختار میکروسکوپی

مطالعات کمی‌مبنی بر تاثیر تیمار PEF روی ویژگیهای غذاها بخصوص آبمیوه‌ها و دیگر غذاهای مایع قابل پمپ شدن در دسترس است که نشان می‌دهند ویژگیهای حسی تحت تاثیر میدان PEF قرار نمی گیرند (Barbosa-Canovas *et al.*,1996 و Knorr *et al.*,1994, Qin *et al.*,1995). تحقیقات روی گوشت و غذاهای دریائی بسیار کم است. فقط یک مقاله بر روی اثر PEF بر روی ریزساختار غذاهای گوشی منتشر شده است (Gudmundsson & Hafsteinsson,2001) تغییرات در ساختار میکروسکوپی بافت می‌تواند در نتیجه افزایش قابلیت نفوذپذیری ایجاد شده به وسیله میدان PEF باشد که می‌تواند تغییراتی در ویژگیهای نگهداری آب در ماهیچه‌ها ایجاد کند.

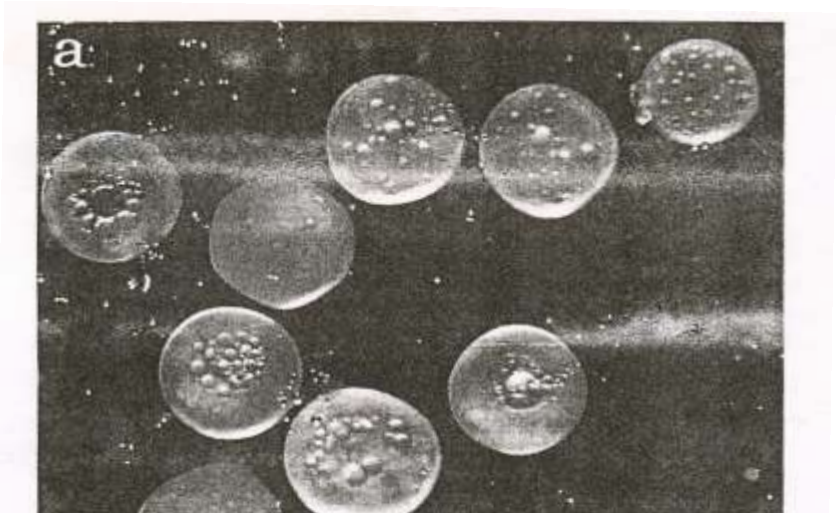
آزاد ماهی تیمار شده با PEF ۱/۳۶ کیلووات در سانتی متر و ۴۰ ضربان در ثانیه باعث ایجاد پدیده (پارگی Gaping) در عضله و ترشح کلاژن به فضای خارج سلولی بین سلول‌های ماهیچه گردید، بطوری که این پدیده بوسیله میکروسکوپ قابل مشاهده بود (Gudmundsson & Hafsteinsson,2001). استفاده از فشار بالا در ۳۰۰ مگاپاسکال موجب از پارگی در ماهیچه ماهیان استخوانی شده است. ماهیان استخوانی Teleostic fish مثل ماهی آزاد حاوی مقادیر کمی‌از کلاژن و بافت پیوندی در عضله‌شان (۰/۶۶٪) می‌باشند (Eckoff *et al.*,1998 و Dunajski,1979). از سوی دیگر، برای نمونه گوشت جوجه حاوی ۲٪ بافت پیوندی است (Baily & Light,1989) مشخص شده است که افزایش‌اندازه سلول آن را نسبت به PEF صدمه پذیرتر می‌سازد (Sale & Hamilton,1967, Hulsheger *et al.*,1993). سلول‌های ماهیچه‌ای آزاد ماهیان به‌طور قابل توجه‌ای بزرگتر از باکتریها می‌باشند زیرا که سلول‌های ماهیچه‌ای در آزاد ماهیان بین ۱۰۰-۵۰ میکرومتر و سلول‌های باکتریائی بین ۲-۰/۳ میکرومتر می‌باشند(Wong,1989 و Nester *et al.*,1983). این دو واقعیت نشان می دهد که چرا آزاد ماهیان نمی‌توانند یک میدان PEF حتی کم قدرت را تحمل کنند و ساختار میکروسکوپی آنها دستخوش تغییرات می‌شود. تاثیر میدان PEF روی ساختار میکروسکوپی ماهیچه ماهی نمی تواند نتیجه تغییر ماهیت پروتئین (دناتوره) باشد چرا که چه از شدت میدان الکتریکی خیلی پائینی استفاده شود یا شدت بالا در هر حال ساختار میکروسکوپی ماهی دستخوش تغییرات می‌شود. دلیل احتمالی آن سوراخ شدن غشاهای سلولی است که موجب ترشح مایعات داخل سلولی به فضاهای خارج سلولی می‌شود.

تخم‌های تازه ماهی لومپ (Lumpfish) که با ۱۲ کیلوولت در سانتی متر و ۱۲ ضربان در ثانیه با پهنای باند (۲μs) تیمار شده‌اند بعد از تیمار سالم بودند به جز درصد کمی‌از تخم‌ها که می‌توان در شکل ۲-۱۶ مشاهده نمود. سفتی تخم‌های تیمار شده با PEF که به وسیله روش فشردن Compression ارزیابی می‌گردید و نشان

داد که سفتی نمونه‌های تیمار شده فقط به میزان‌اندکی تحت تـاثیر قـرار گرفتـه بودنـد (Gudmundsson & Hafsteinsson,2001). در مطالعه دیگر که توسط (Craig & Powrie,1988) روی تخمک‌های منجمـد شده آزاد ماهی و پس از انجماد زدایی شده، نشان داد که انرژی مـورد نیـاز بـرای از هـم گسـیختن تخـم‌هـای انجمادزدایی شده ۴۶٪ کمتر از تخم‌های تازه می‌باشد. غشاء سه لایه تخمک تـازه احتمـالاً قـدرت تحمـل آن را نسبت به میدان PEF در مقایسه با تخمک انجماد زدائی شده افزایش می‌دهد بخاطر همـین، ایـن روشPEF در نگهداری تخمک ماهی آزاد می‌تواند سؤال برانگیز باشد.

۹-۱۶- پیش‌بینی برای آینده در PEF

به نظر نمی‌رسد که نگهداری فرآورده‌های ماهی با تیمار PEF امکان پذیر باشد چرا که به کـارگیری ایـن روش حتی در شدت‌های نسبتاً پائین باعث صدمه به ساختار میکروسکوپی عضله ماهی می‌شود و از طـرف دیگـر ایـن میزان شدت، تاثیری روی رشد باکتریها ندارد. از طرف دیگر، به نظر مـی‌رسـد کـه تخمـک‌هـای مـاهی تحمـل مناسبی نسبت به PEF بدون تاثیر محسوسی روی ساختار میکروسکوپی دارند. بنـابراین تیمـار PEF مـی‌توانـد به‌عنوان یک پیش تیمار برای تخمک ماهی بکار آید اما نیاز به تحقیقات بیشـتری در ایـن زمینـه وجـود دارد. از دیگر استفاده‌های ممکن از روش PEF در صنعت ماهی هنوز بررسی نشده است اما استفاده از روش PEF مثل روش‌های مشابه که برای فرآورده‌های آبمیوه بکار میرود و باعث پاره شدن دیواره سلولی و در نتیجـه اسـتخراج مواد با ارزش را راحتتر می‌سازد را میتوان در صورت نیاز در صنعت شیلات مورد اسـتفاده قـرار گیـرد. ایـن کـار می‌تواند روی مواد زائد و فرآورده‌های ضمنی در صنعت ماهی انجام شود و بعنوان مثال فرآورده‌های حاصـله مـی توانند استخراج آنزیم‌ها یا روغن ماهی در بافت ماهی باشند.



شکل ۲-۱۶

۱۰-۱۶- منابع فصل شانزدهم

ACKMAN R G (1990), 'Seafood lipids and fatty acids', *Food Review International*, 6 (4) 617–46.
ANGSUPANICH K and LEDWARD D A (1998), 'High pressure treatment effects on cod (Gadus morhua) muscle', *Food chemistry*, 63 (1), 39–50.
ANGSUPANICH K, EDDE M and LEDWARD D A (1999) 'The effects of high pressure on the myofibrillar proteins of cod and turkey', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (1), 92–9.
ARAI K (1977), 'Fish muscle proteins' Tokyo, Japanese Society of Scientific Fisheries. Kouseisha-kouseikaku, 75–90.
ASHIE I N A and SIMPSON B K (1995), 'High pressure effects on some seafood enzymes', IFT Annual Meeting, Session 71D-9.
ASHIE I N A and SIMPSON B K (1996), 'Application of hydrostatic pressure control enzyme-related seafood texture deterioration', *Food Res Int*, 29, 564–75.
ASHIE I N A, SIMPSON B K and RAMASWAMY H S (1997), 'Changes in texture and microstructure of pressure-treated fish muscle tissue during chilled storage', *Journal of Muscle Foods*, 8, 13–32.
ASHIE I N A and LANIER T C (1999), 'High pressure effects on gelation of surimi and turkey breast muscle enhanced by microbial transglutaminase', *Journal of Food Science*, 64 (4), 704–8.
BAILY A J and LIGHT N D (1989), *Connective Tissue in Meat and Meat Products*, London, Elsevier Applied Science.
BALNY C and MASSON P (1993), 'Effects of high pressure on proteins', *Foods Review International*, 9 (4), 611–28.
BARBOSA-CA´ NOVAS G V, QIN B L and SWANSON B G (1996), 'Preservation of foods by pulsed electric fields: system design and key components', in Rodrigo M, Martinez A, Fiszman S M, Rodrigo C, and Mateu A, *Proceedings of the international symposium on Advanced Technologies in Sterilization and Safety of Foods and Non Food Products*, Valencia, Instituto de Agroquı´mica y Technologica de Alimentos, 273–87.
BARBOSA-CA´ NOVAS G V, POTHAKAMURY U R, PALOU E and SWANSON B G (1998), *Non-Thermal Preservation of Foods*, New York, Marcel Dekker Inc, pp 1– 276.
BARSOTTI L, MERLE P and CHEFTEL J C (1999), 'Food processing by pulsed electric fields. I. PHysical aspects', *Food Review International*, 15 (2),163–80.
BELLO R A, LUFT J H and PIGOTT G M (1982) 'Ultrastructural Study of Skeletal Fish Muscle after Freezing at Different Rates', *Journal of Food Science*, 47, 1389–94.
BORDERIAS A J, PE´REZ-MATEOS M, SOLAS M and MONTERO P (1997), 'Frozen storage of high-pressure and heat induced gels of blue whiting (Micromesistius poutassou) muscle: rheological, chemical and ultrastructure studies', *Z Lebensm Unters Forch A*, 205, 335–42.
CARLEZ A, ROSEC J P, RICHARD N and CHEFTEL J C (1994), 'Bacterial growth during chilled storage of high pressure-treated minced meat' *Lebensm Wiss Technol*, 27, 48–54.

CASTRO A J, BARBOSA-CA´NOVAS G V and SWANSON B G (1993), 'Microbial inactivation of foods by pulsed electric fields', *J Food Proc Pres*, 17, 47–73.
CHEAH P B and LEDWARD D A (1995), 'High pressure effects on lipid oxidations', *Journal of American Oil Chemist Society*, 72, 1059–63.
CHEAH P B and LEDWARD D A (1996), 'High pressure effects on lipid oxidation in minced pork', *Meat Science*, 43, 123–34.
CHEAH P B and LEDWARD D A (1997), 'Catalytic mechanism of lipid oxidation following high pressure treatment of pork fat and meat' *Journal of Food Science*, 62, 1135–8, 1141.
CHEFTEL J C (1995), 'Review: High pressure, microbial inactivation and food preservation' *Food Science and Technology International*, 1, 75–90.
CHEFTEL J C and CULIOLI J (1997), 'Effects of high pressure on meat: a review', *Meat Science* 46, 211–36.
CHU G H and STERLING C (1970), 'Parameters of Texture Change in Processed Fish: Myosin Denaturation', *Journal of Texture Studies*, 2, 214–22.
CHUNG Y C, GEBREHIWOT A, FARKAS D F, and MORRISSEY M T (1994), 'Gelation of surimi by high hydrostatic pressure' *Journal of Food Science*, 59 (3), 523–4.
CONNELL J J (1964), 'Fish Muscle Proteins and some Effect on them of Processing', in Schultz H W and Anglemier A F, *Proteins and their Reactions*, Connecticut, Avi Westport, pp. 255–94.
CRAIG C L and POWRIE W D (1988), 'Rheological Properties of Fresh and Frozen Chum Salmon Eggs with and without Treatment by Cryoprotectants', *Journal of Food Science*, 53 (3), 684–7.
DE KONING A J and MOL T H (1990), 'Rates of free fatty acid formation from pHospHolipids and neutral lipids in frozen cape hake (Merluccius spp) mince at various temperatures', *Journal of Science of Food and Agriculture*, 50, 391–8.
DUERR J D and DYER W J (1952), 'Protein in fish muscle. IV. Denaturation by salt', J. *Fish Res Bd Can*, 325–31.
DUNAJSKI E (1979), 'Texture of fish muscle' *Journal of Texture Studies*, 10, 301–9.
DUNN J E and PEARLMAN J S (1987), 'Methods and apparatus for extending the shelf-life of fluid food products', US Patent 4, 695, 472.
ECKHOFF K M, AIDOS I, HEMRE G I and LIE Ø (1998), 'Collagen content in farmed Atlantic salmon (Salmo salar, L.) and subsequent changes in solubility during storage on ice', *Food Chemistry*, 62, 197–200.
ERIKSSON C E (1982), 'Lipid oxidation catalysis and inhibitions in raw materials and processed foods', *Food Chemistry*, 9, 3–19.
FARR D (1990), 'High pressure technology in the food industry', *Trends in Food Science and Technology*, 1 (1), 14–16.
FENNEMA O R (1990), 'Comparative water holding properties of various muscle foods', *Journal of Muscle Foods*, 1, 363–81.
FERNANDES-DIAZ MD, BARSOTTI L, DUMAY E and CHEFTEL J C (2000), 'Effects of pulsed electric fields on ovalbumin solutions and dialyzed egg white', *J. Agric Food Chem* 48, 2332–9.
FLAUMENBAUM B L (1968), 'Anwendung der Elektroplasmolyse bei der Herstellung von Fruchtscha¨ften', *Flu¨ssiges Obst* 35, 19–22.

FUNTENBERGER S, DUMAY E and CHEFTEL J C (1995), 'Pressure aggregation of b-lactoglobulin isolate in different pH 7 buffers', *Lebensm Wiss Technol*, 28, 410–18.
GOTO H, KAJIYAMA N and NOGUCHI A (1993), 'Changes of soy and fish proteins under high pressure', in Hayashi R, *High pressure Bioscience and Food Science*, Kyoto, San-Ei Publications, 315–21.
GRAHL T and MA¨ RKL H (1996), 'Killing of microorganisms by pulsed electric fields', *Appl Microbiol Biotechnol*, 45, 148–57.
GREASER M L and PEARSON A M (1999), 'Flesh foods and their analogues', in Rosenthal A J, *Food Texture*, Gaithersburg, Maryland, Aspen Publishers Inc, 228–58.
GROSS M and JAENICKE R (1994), 'Protein under pressure. The influence of high hydrostatic pressure on structure, function and assembly of proteins and protein complexes', *Eur J Biochem*, 221, 617–30.
GUDMUNSSON M and HAFSTEINSSON H (2001), 'Effect of electric field pulses on microstructure of muscle foods and roes', *Trends in Food Science and Technology*, 12, 122–8.
HAMILTON W A and SALE A J H (1967), 'Effects of high electric fields on microorganisms. II. Mechanism of action of the lethal effect', *Biochim BiopHys Acta*, 148, 789–800.
HAYASHI R (1993), *High pressure bioscience and food science*, Kyoto, San-Ei Suppan.
HEREMANS K (1995), 'High pressure effects on biomolecules, in Ledward D A, Johnston D E, Earnshaw R G and Hasting A P M, *High pressure processing of foods*, Nottingham, Nottingham University Press, 81–98.
HO S Y, MITTAL G S and CROSS J D (1997), 'Effects of high field electric pulses on activity of selected enzymes', *Journal of Food Engineering*, 31, 69–84.
HOOVER D G, METRICK C, PAPINEAU A M, FARKAS D F and KNORR D (1989), 'Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms', *Food Technology*, 43, 99–107.
HU¨ LSHEGER H and NIEMANN E G (1980), 'Lethal effects of high voltage pulses on E. coli K12', *Radiat Environ BiopHys*, 18, 281–8.
HU¨ LSHEGER H, POTEL J and NIEMANN EG (1981), 'Killing of bacteria with electric pulses of high field strength', *Raditiat Environ BiopHys* 20, 53–65.
HU¨ LSHEGER H, POTEL J and NIEMANN E G (1983), 'Electric field effects on bacteria and yeast cells' Raditiat Environ BiopHys, *22*, 149–62.
ISO S, MIZUNO H, OGAWA H, MOCHIZUKI Y and ISO N (1994), 'Differential scanning calorimetry of pressurized fish meat', *Fisheries Science*, 60 (1), 127–8.
JAENICKE R (1981), 'Enzymes under extreme conditions', *Ann Rev BiopHys Bioeng*, 10, 1–67.
JEANTET R, BARON F, NAU F, ROIGNANT M and BRUTE´ G (1999), 'High intensity pulsed electric fields applied to egg white: Effect on Salmonella enteritis inactivation and protein denaturation', *J Food Protect*, 62, 1381–6.
JOHNSON F H and ZOBELL C E (1949), 'The retardation of thermal disinfection of Bacillus subtilis spores by hydrostatic pressure' *J Bacteriol*, 57, 353–8.
JOHNSTON D E, AUSTIN B A and MURPHY R J (1992), 'The effects of high pressure treatment on skim milk, in Balny C, Hayashi R, Heremans K and Masson

P, *High pressure and Biotechnology*, Colloque INSERM/ John Libbey Ltd, 243–7.
KALICHEVSKI M T, KNORR D and LILLFORD P J (1995), 'The effects of high pressure on water and potential food applications', *Trends in Food Science and Technology*, 6, 253–9.
KARINO S, HANE H and MAKITA T (1994), 'Behavior of water and ice at low temperature and high pressure' in Hayashi R, *High pressure bioscience*, Kyoto, San-Ei Suppan Co, 54–65.
KNORR D, GEULEN M, GRAHL T and SITZMANNW (1994), 'Food application of high electric field pulses', *Trends in Food Science and Technology*, 5, 71–5.
KNORR D (1995), 'Advances and limitations of non-thermal food preservation methods', in Ahvenainen R, Mattila-Sandholm T and Ohlsson T, *New Self-life Technologies and Safety Assessments*, Helsinki, VTT Symposium 148, 7–18.
KNORR D, HEINZ V, UN-LEE D, SCHLU¨ TER O and ZENKER M (1998), 'High pressure processing of foods: Introduction', in Autio K, *Fresh Novel Foods by High Pressure*, Espoo, VTT Symposium 186, Finland.
LANIER T C and LEE C M (1992), *Surimi Technology*, New York, Marcel Dekker INC,
LEDWARD D A (1998), 'High pressure processing of meat and fish' in Autio K, *Fresh Novel Foods by High Pressure*, Espoo, VTT Symposium 186, 165–176.
LEE C M (1984), 'Surimi process technology', *Food Technology*, 38 (11), 69–80. LEE H and LANIER T C (1995), 'The role of crosslinking in the texturizing of muscle protein sols', *Journal of Muscle Foods*, 6, 125–38.
LISTON J (1990), 'Microbial hazards of seafoods consumption', *Food Technol*, 44 (2), 56–62.
LO´ PEZ-CABELLERO M E, PE´REZ-MATEOS M, MONTERO P and BORDERI´S JA (2000a), 'Oyster preservation by high-pressure treatment', Journal of Food Protection, 63 (2), 196–201.
LO´ PEZ-CABELLERO M E, PE´REZ-MATEOS M, BORDERI´S J A and MONTERO P (2000b), 'Extension of the shelf-life of prawns (Penaeus japonicus) 63 (10), 1381–8.
MACDONALD A G (1992), 'Effects of high hydrostatic pressure on natural and artificial membranes', in Balny C, Hayashi R, Heremans K and Masson P, *High Pressure and Biotechnology*, Colloque INSERM/ John Libbey Ltd, 67–74.
MACKIE I M (1993), 'The Effects of freezing on flesh proteins', *Food Review International*, 9, 575–610.
MARTI´N O, QIN B L, CHANG F J, BARBOSA-CA´ NOVAS G V and SWANSON B G (1997), 'Inactivation of Echerichia coli in skim milk by high intensity pulsed electric fields', *J Food Process Eng*, 20, 317–36.
MATSUMOTO J J and NOGUCHI S F (1992), 'Cryostabilization of protein in surimi', in Lanier T C and Lee C M, *Surimi Technology*, New York, Marcel Dekker INC, 357–88.
MIYAO S, SHINDOH T, MIYAMORI K and ARITA T (1993), 'Effects of high pressurization on the growth of bacteria derived from surimi (fish paste)', *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 40 (7), 478–84.

MOZHAEV V V, HEREMANS K, FRANK J, MASSON P and BALNY C (1994), 'Exploiting the effects of high hydrostatic pressure in biotechnological applications', *Trends in Biotechnol*, 12, 493–501.
MURAKAMI T, KIMURA I, YAMAGISHI T, YAMASHITA M and SATAKE M (1992), Thawing of frozen fish by hydrostatic pressure' in Balny C, Hayashi R, Heremans K and Masson P, *High pressure and Biotechnology*, Colloque INSERM/ John Libbey Ltd, 329–31.
NESTER E, ROBERTS C E, LIDSTROM M E, PEARSALL N N and NESTER M T (1983), *Microbiology*, PHiladelpHia, Holt-Saunders International Edition, p 16.
NIWA E (1992), 'Chemistry of surimi gelation', in Lanier T C and Lee C M, *Surimi Technology*, New York, Marcel Dekker INC, 389–428.
PATTERSON M F, QUINN M, SIMPSON R and GILMOUR M (1995), 'The sensitivity of vegetative pathogens to high hydrostatic pressure treatment in pHospHatebuffer saline and foods', *J Food Protect*, 58, 524–9.
PE´REZ-MATEOS M and MONTERO P (2000), 'Response surface methodology multivariate analysis of properties of high-pressure induced fish mince gel', *Eur Food Res Technol* 211, 79–85.
OGAWA H, FUKUHISA K and FUKUMOTO H (1992), 'Effect of high hydrostatic pressure on sterilization and preservation of citrus juice', in Balny C, Hayashi R, Heremans K and Masson P, *High pressure and Biotechnology*, Colloque INSERM/ John Libbey Ltd, 269–78.
OHSHIMA T, NAKAGAWA T and KOIZUMI C (1992), 'Effect of high hydrostatic pressure on the enzymatic degradation of pHospHolipid in fish muscle during storage', in Blight, E G, *Seafood Science and Technology*, Oxford, Fishing News Books, 64–75.
OHSHIMA T, USHIO H and KOIZUMI C (1993), 'High-pressure processing of fish and fish products', *Trends in Food Science and Technology*, 4, 370–75.
OKAMOTO M, KAWAMURA Y and HAYASHI R (1990), 'Application of high pressure to food processing: Textural comparison of pressure- and heat-induced gels of food proteins', *Agric Biol Chem*, 54 (1), 183–9.
OKAZAKI E and NAKAMURA K (1992), 'Factors influencing texturization of sarcoplasmic protein of fish by high pressure treatment', *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58 (11), 2197–2206.
QIN B L, POTHAKAMURY U R, VEGA H, MARTI´N O, BARBOSA-CA´ NOVAS G V and SWANSON B G (1995), 'Food pasteurization using high-intensity pulsed electric fields', *Food Technology*, 49 (12), 55–60.
SAITO T, ARAI K and MATSUYOSHI M (1959), 'A new method for estimating the freshness of fish', *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 24, 749–50.
SAKAGUCHIM and KOIKE A (1992), 'Freshness assessment of fish fillets using theTorrymeter and k-value', in Huss H H, Jakobsen M and Liston J, *Qualit Assurance in the Fish Industry*, Amsterdam, Elsevier, 321–32.
SALE A J H. and HAMILTON W A (1967), 'Effects of high electric fields on microorganisms I. Killing of bacteria and yeasts', *Biochim BiopHys Acta*,148, 781–8.
SHIMADA S, ANDOU M, NAITO N, YAMADA N, OSUMI M and HAYASHI R (1993), 'Effects of hydrostatic pressure on the ultrastructure and leakage of

internal substances in the yeast Saccharomyces cerevisiae', *App Microbiol Biotechnol*, 40, 123–31.
SHOJI T and SAEKI H (1989), 'Processing and preservation of fish meat by pressurization' in Hayashi R, *Use of High Pressure in Food*, Kyoto, San-Ei Publications, 75–87.
SHOJI T, SAEKI H, WAKAMEDA A, NAKAMURA M and NONAKA M (1990), 'Gelation of salted paste of Alaska pollack by high hydrostatic pressure and change in myofibrillar protein in it', *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56 (12), 2069–76.
SHOJI T, SAKEI H, WAKAMEDA A and NONAKA M (1994), 'Influence of ammonium sulfate on the formation of pressure-induced gel formation walleye pollack surimi', *Nippon Suisan Gakkaaishi*, 60, 101–9.
SIKORSKI A E and KOTAKOWSKA A (1994), 'Changes in protein in frozen stored fish', in Sikorski Z E, Pan B S and Shahidi F, *Seafood Proteins*, New York, Chapman and Hall, 99–112.
SONOIKE K, SETAYMA T, KUMA Y and KOBAYASHI S (1992), 'Effects of pressure and temperature on the death rate of Lactobacillus casei and E. coli', in Balny C, Hayashi R, Heremans K and Masson P, *High pressure and Biotechnology*, Colloque INSERM/ John Libbey Ltd, 297–301.
SUZUKI A, KIM K, HONMA N, IKEUCHI Y and SAITOM (1992), 'Acceleration of meat conditioning by high pressure treatment', in Balny C, Hayashi R, Heremans K and Masson P, *High pressure and Biotechnology*, Colloque INSERM/ John Libbey Ltd, 217–27.
TANAKA M, XUEYI Z, NAGASHIMA Y and TAGUCHI T (1991), 'Effect of high pressure on lipid oxidation in sardine meat', *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57 (5), 957–63.
VEGA-MERCADO H, POWERS J, BARBOSA-CA´ NOVAS G V and SWANSON B G (1995a),'Plasmin inactivation with pulsed electric fields', *Journal of Food Science*, 60, 1143–6.
VEGA-MERCADO H, POWERS J, BARBOSA-CA´NOVAS G V, SWANSON B G and LU¨ DECKE L (1995b), 'Inactivation of protease from Pseudomonas fluorescens M3/6 using high voltage pulsed electric fields', Anaheim CA, Annual IFT 1995 Meeting, June 3–7, Book of abstracts, paper no. 89-3, p. 267.
WEKELL M M, MANGER R, COLBURN K, ADAMS A and HILL W (1994), 'Microbiological quality of seafoods: bacteria and parasites', in Shahidi F and Botta J D, *Seafoods: chemistry, processing technology and quality*, London, Blackie Academic and Professional, 196–219.
WONG D W S (1989), *Mechnism and theory in food chemistry*, New York, AVI Book, 48–109.
WOUTERS P C and SMELT J P P M (1997), 'Inactivation of microorganisms with pulsed electric fields: Potential for food preservation', *Food Biotechnology*, 11 (3), 193–229.
WOUTERS P C, DUTREUX W, SMALT J P P M and LELIEVELD H L M (1999), 'Effects of pulsed electric fields on inactivation kinetics of Listeria innocua', *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (12), 5364–71

YAMAMOTO K, MIURA T and YASUI T (1990), 'Gelation of myosin filament under high hydrostatic pressure', *Food structure*, 9, 269–77.
YOSHIOKA K, KAGE Y and OMURA H (1992), 'Effect of high pressure on texture and ultrastructure of fish and chicken muscles and their gels', in Balny C, Hayashi R, Heremans K and Masson P, *High pressure and biotechnology*, Colloque INSERM/ John Libbey Ltd, 325–7.
YUKIZAKI C, KANO M and TSUMAGARI H (1993), 'The sterilization of sea urchin eggs by hydrostatic pressure', in Hayashi R, *High Pressure Bioscience an Food Science*, Kyoto, San-Ei Publications, 225–8.
YUKIZAKI C, KAWANO M, JO N and KAWANO K (1994), 'High pressure sterilization and processing of sea urchin eggs', in Hayashi R, Kunagi S, Shimada S and Suzuki A, *High Pressure Bioscience*, Kyoto, San-Ei Suppan Co, 248–58.
ZHANG Q, CHANG F J, BARBOSA-CA´NOVAS G V and SWANSON B G (1994), 'Inactivation of microorganisms in a semisolid model food using high electric voltage pulsed electric fields', *Lebensm Wiss u Technol*, 27, 538–43.
ZIMMERMANN U, PILWAT G, BECKERS F and RIEMANN F (1976), 'Effects of external electrical fields on cell membranes', *Bioelectrochem Bioenergetics*, 3, 58–83.
ZIMMERMANN U (1986), 'Electrical breakdown, electropermeabilization and electrofusion', *Rev PHysiol Biochem PHarmacol*, 105, 176–256.

« **فصل هفدهم** »

باکتریهای اسیدلاکتیک در نگهداری ماهی

۱-۱۷- مقدمه

در این فصل ماهیت باکتریهای اسیدلاکتیک (LAB)[1] به‌عنوان یک گروه و نقش آنها را در تخمیر مواد غذای توضیح داده خواهد شد. فرآورده که در اینجا به‌طور مختصر درباره آن‌ها شرح داده می‌شوند شامل لبنیات، سبزیجات، غلات و گوشت خواهند بود. مکانیسم‌های مختلف دربارهٔ تاثیرات نگهداری تخمیر اسید لاکتیک توصیف می‌شود و هم‌چنین مفهوم پروبیوتیک و تاثیر آن در اینجا نیز بحث خواهد شد. این اصول سپس به صورت کامل برای تخمیر ماهی و فرآورده‌های آن به کار گرفته خواهند شد. در این جا کلمه ماهی شامل همه دیگر گونه‌های آبزی مخصوصاً سخت پوستان می‌گردد که به‌عنوان فرآورده‌های اصلی تخمیری می‌باشند. تخمیر دراینجا شامل سس‌ها و خمیرهای ماهی در کشورهای جنوب شرق آسیا و تولید سپلاژ از ضایعات ماهی یا ضایعات فرآورده ماهی و یا صید ضمنی به منظور تولید غذا برای حیوانات و دیگر فرآورده‌ها از آنها با ارزش افزوده می‌باشد. استفاده از تخمیر با استفاده از LAB به‌عنوان نگهدارنده برای فیله‌های ماهی نیز شرح داده خواهد شد. در نهایت بعضی از گرایش‌ها برای آینده در زمینه تخمیر بوسیله LAB همراه با مرجع‌های مربوطه مطرح خواهد شد.

---

[1] - Lactic acid bacteria

۲-۱۷- باکتریهای اسید لاکتیک (LAB)

۲-۱۷-۱- تعریف کلی

LAB گروهی از باکتریها هستند که چندین جنس با ویژگیهای متابولیکی، فیزیولوژیکی و موفولوژیکی مختص به خودشان را شامل می‌شوند. این ویژگیها شامل رنگ آمیزی گرم مثبت، غیرهوازی بودن قدرت تحمل شرایط هوازی را داشته یااندکی اکسیژن را دارند، کاتالاز منفی و از نظر شکل میله‌ای یا گرد می‌باشند. همچنین طبق تعریف اسیدلاکتیک به‌عنوان تنها و یا عمده‌ترین ترکیب متابولیسمی‌آنها می‌باشد. آنها به‌عنوان موجودات بی خطری می‌باشند که توانایی نگهداری انواع مواد غذایی را دارند و هم‌چنین تغییرات مناسب و مطلوب در بافت و طعم آنها ایجاد کرده و دارای اثر پروبیوتیک نیز می‌باشند. پیشرفت اخیر در رده‌بندی باکتریها منجر به توصیف باکتری‌های بیشتری در گروه LAB شد و باکتری اضافه شده بیشتر LAB شد و آنها را در گروهی از میکروارگانیسم‌ها هستند که تولید کننده اسپور، بیماریزا، متحرک و به صورت کاذب کاتالاز مثبت می‌باشند. اما، برای اهداف این فصل فقط جنبه‌های مفید LAB بررسی خواهد شد. محل زندگی، LAB ، روی گیاهان، پساب ها و در روده، لوله‌های تنفسی و اعضاء تناسلی حیوانات و انسان‌ها می‌باشد.

۲-۱۷-۲- متابولیسم

تولید اسیدلاکتیک به وسیله LAB می‌تواند به‌عنوان هموﻻکتیک[1] (فقط اسیدلاکتیک تولید می‌کند) و یا هتروﻻکتیک[2] (تولید دی اکسید کربن، لاکتات، استات و گاهی اوقات اتانول می کند) توصیف شود. نقطه شروع یک قند هگزوز است، معمولاً گلوکز، و اسیدلاکتیک فرآورده نهایی از مسیر گلیکولینتیکی معروف به Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) می‌باشد. مسیر هتروﻻکتیک تحت شرایط مخصوص انتخاب می‌شود در تخمیر مواد غذائی اگر هدف فقط تولید اسید لاکتیک باشد، شاید ضروری باشد که از شرایط بخصوص استفاده شود. لاکتوز (دی ساکارید) و پنتوز می‌توانند مورد متابولیسم واقع شده و تولید اسید لاکتیک به مقدارهای متفاوتی تولید کنند. تهیه قندهای قابل تخمیرشدن در غذایی که برای نگهداری آنها از تخمیر با LAB در نظر گرفته می‌شوند. به‌عنوان یک پیش شرط ضروری برای انجام موفقیت آمیز تخمیر می‌باشد.

---

[1] - Homolactic
[2] - Heterlactic

شکل ۱-۱۷ مسیرهای تخمیر همو و هترلاکتیک را با استفاده از گلوکز نشان می‌دهد. بعضی از باکتری‌های LAB می‌توانند اسیدهای آمینه را به وسیله دی‌آمیناسیون یا دکربوکسیلاسیون برای تولید دی اکسیدکربن، آمونیاک و اسیدهای چرب فرار (VFA)[1] کاتالیز کنند. این ترکیبات می‌توانند به طعم فرآورده ماهی کمک کنند، اگرچه وجود آمونیاک می‌تواند از کاهش PH جلوگیری کند. آرژنین در بافت ماهی موجود است و متابولیسم می شود اما هر آمینواسید دیگر نیز می‌تواند مورد استفاده واقع شود. دکربوکسیلاسیون آمینو اسیدها و آمینواسیدهای حاوی سولفور می‌توانند به ترتیب باعث تولید ازت‌های بیوژنیک و هیدروژن سولفید بنمایند (Han-ching *et al.*,1992).

۳-۲-۱۷- جنس‌ها

پیشرفت‌های اخیر در علم رده بندی باکتریها، روش‌های جدیدی را برای طبقه بندی باکتریها ارائه داده‌اند که این روشها شامل: روشهای طبقه بندی متابولیکی و بیولوژی مولکولی می‌باشد که منجر به ایجاد جنس‌های جدیدی شده‌اند (Wood & Holzapfel,1995) به‌طور کلی جنس‌های LAB شامل:

Lactobacillus, Streptococcous, Pediococcus, Lactococcus, Leuconostoc, Bifidobacterium, Entrococcous, Carnobacterium & Sporolactobacillus

می‌باشند. جدول ۱-۱۷ نمونه هایی از گونه‌های این جنس را ارائه می‌دهد که در تخمیر مهم هستند. از این جنس‌ها، Lactobacillus با (۵۶) گونه، Streptococeus با (۳۹) گونه و Bifidobaeterium با (۲۹) گونه معروفترین این جنس هستند. چندین گونه از این جنس‌ها در مرتبط با فرآورده‌های تخمیر شده ماهی هستند اگرچه بعضی از پژوهشگران عقیده دارند که وجود LAB زمینی در آب دریا و رودخانه‌ها ناشی از آلودگی است. جنس Carnobacterium شامل شش گونه است که اساساً به‌عنوان اعضای غیرعادی جنس Lactobacillus شناخته می شوند که از گوشت دام، طیور، ماهی و آب دریا جدا شده است. C.piscicola از چندین گونه ماهی جدا شده است و C.funditum وC.alterfunditum از آب دریا جداسازی شده‌اند.

۳-۱۷- تاثیرات بازدارندگی

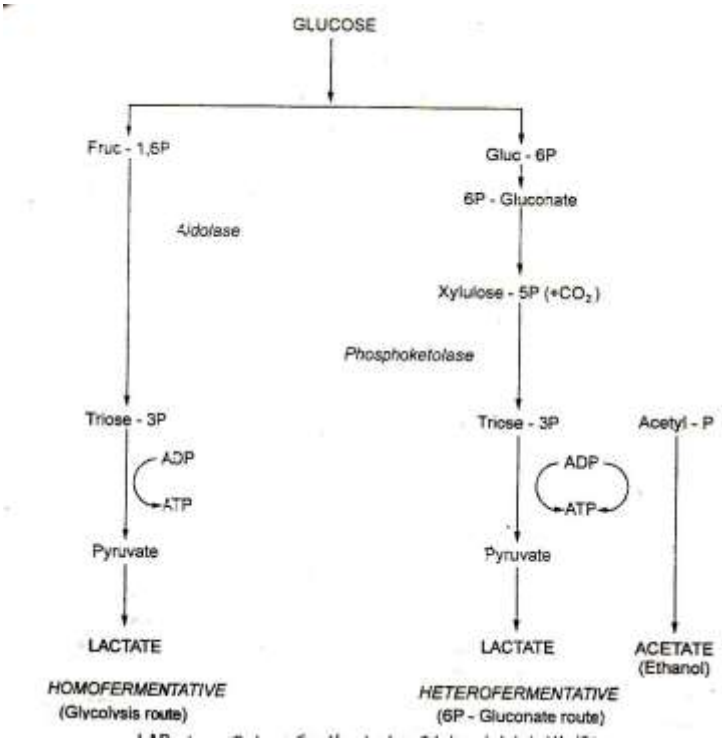
نگهداری غذاها از طریق تخمیر با LAB بخاطر جلوگیری از فعالیت تعداد وسیعی از میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماریزا به وسیله فرآورده‌های تولید شده در ضمن عمل تخمیر باشد.

---

[1] - Volatile Firtty Acid

۱-۳-۱۷- تولید اسید

تجمع اسیدلاکتیک و دیگر اسیدهای آلی تولید شده به وسیله LAB، باعث کاهش PH می گردد محیط که این امر اثر تاثیر بازدارندگی روی فعالیت‌های باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی دارد. علاوه بر این، اسیدهای آلی تجزیه نشده در محیط می‌تواند به درون دیواره سلولی میکروب‌ها نفوذ کند که PH بالاتر درون سلول باعث آزادسازی یونهای هیدروژن و آنیون اسید می گردد و مقدار این ترکیب ها در گونه باکتری افزایش یافته و در متابولیسم سلولی دخالت و آنرا مختل می‌کنند و در نتیجه از فعالیت باکتری فاسد کننده جلوگیری بعمل می آورند. PK اسیدهای آلی مهم هستند چون گونه‌های غیر مرتبط با LAB در PH زیر pk برای آن اسید در محیط غالب می‌شوند. از اینرو اسید استیک با (pk =۴/۷۶) تاثیر میکروب کشی بیشتری نسبت به اسید لاکتیک با (pk =۳/۸۶)در یک PH مشابه خواهد داشت. معمولاً داشتن PH بالا نه تنها برای نگهداری ماده غذائی ضروری است بلکه برای ایجاد طعم و مزه مناسب در فرآورده ضروری است. اهمیت این موضوع بعداً در تولید سپلاژ دیده خواهد شد.



شکل ۱-۱۷: مسیر متابولیکی عمده برای تولید *LAB* از اسیدلاکتیک

۲-۳-۱۷- پراکسیدهیدروژن و دی اکسید کربن

وقتی که اکسیژن در محیط موجود است باکتری LAB می‌تواند تولید پراکسیدهیدروژن کند که به نوبه خود می تواند رادیکال‌های هیدروکسیل را تولید کند که موجب اکسیداسیون چربی‌هایی در غشائی سلولی باکتری و آسیب پذیری میکروبی می‌شود. این تاثیرها برای بسیاری از باکتری ها مشخص شده‌اند. دی‌اکسید کربن فرآورده پایانی تخمیر هترولاکتیک می باشد و گاهی اوقات به وسیله دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه به وسیله LAB. تولید دی اکسید کربن می گردد که باعث محیط بی‌هوازی گردیده و از طرف دیگر PH محیط را کاهش می‌دهد و در نتیجه کمک می‌کند که دیواره سلولی میکروب‌های مضر را تخریب و ازفعالیت آنها در محیط جلوگیری بعمل آورد.

باکتری‌های اسید لاکتیک در نگهداری ماهی

جدول ۱-۱۷- جنس‌های مهم مورد استفاده از باکتریهای اسید لاکتیک در تخمیر

جنس	گونه مورد استفاده
لاکتوباسیلوس	*Lb. Acido Philus* *Lb. Brevis* *Lb. Casei Sub Sp Casei* *Lb. Delbrueckii* *Lb. Paracasei* *Lb.Plan Tarum*
پدیوکوکوس	*P. Acidilactici* *P. Halophilus* *P. Parvulus*
لاکتوکوکوس	*Lc. Lactis Sub Sp Lactis* *Lc. Lactis Sub Sp Cremoris*
لوکونستک	*L. Mesenteroides (Various Subsp)* *L. Lactis*
بیفیدوباکتریوم	*B. Bifidum* *B. Longum* *B. Breve*
کارنو باکتریوم	*C. Piscicola* *C. Funditum* *C. Alterfunditum*

۳-۳-۱۷- باکتری‌کش‌ها[1]

باکتری‌کش‌ها در طول سال‌های اخیر به شکل‌های مختلف شرح داده شده‌اند. آنها شبیه آنتی‌بیوتیک‌ها هستند، مولکول می‌باشند معمولاً دارای ماهیت پروتئینی هستند، با وزن‌مولکولی‌متفاوتی دارند دارای شکل عملکرد عمومی و اختصاصی دارند. درنوع عملکرد باکتری کش ها جدول ۲-۱۷ را ملاحظه نمائید.

جدول ۲-۱۷- مواد ضد میکروبی تولید شونده بوسیله باکتریهای اسید لاکتیک

مواد ضد میکروبی	تولید شده بوسیله	موثر بر روی
نیاسین	Lc. Lactis subsp p.lactis	*Bacillus cereus* *Clostridium botulinum* *Staphylococcus aureus*
پدیوسین	P.acidilactis	*Listeria monocytogenes* *Clostridium sporogenes*
ری یوتیرین	Lb. Reuteri	*Listeria monocytogenes* *Salmonella typhimurium* *Shigella spp.*

آنها به وسیله بسیاری از LAB باکتری‌های تولید می‌شوند یا (به صورت طبیعی یا تحریک شده). در این زمینه بعضی از LABها تنها یک نوع ترکیب باکتری کش تولید می‌کنند در حالیکه بعضی دیگر دو و یا سه نوع از این ترکیبات را تولید می‌کنند. طبقه بندی اخیر، باکتری‌کش‌ها را در چهار گروه تقسیم کرده است:

گروه اول شامل Lantibiotics (حاوی Lanthionine)؛ گروه دوم پپتیدهای کوچک مقاوم به حرارت، گروه سوم، پروتئین‌های بزرگ مقاوم به حررات و بالاخره گروه چهارم پروتئین‌های پیچیده‌ای ساخته شده اند که وجود چربی یا کربوهیدرات برای ساختمانشان ضروری است. اهمیت باکتری کش‌ها در نگهداری مواد غذای به وسیله تحقیقات زیادی که برروی ویژگی هایشان و نحوه تولیدشان در این زمینه صورت گرفته است بعنوان Bio-Preservatives شناخته شده اند. Nisin یک باکتری کش تولید شده به وسیله *Lactococcus lactis* می باشد که دارای اثر ضدباکتریایی بر علیه باکتریهای گرم مثبت دارا می‌باشد اما در برابر باکتریهای گرم منفی بیماریزا مثل *E.coli* و *Salmonella* تاثیری ندارد. تحقیق‌های اخیر سعی در ایجاد اثر سینرژیستی بین نیسین و دیگر ترکیبات و روش‌های فرآوری نموده، تا کارائی آن را در برابر ارگانیسم‌های گرم مثبت بهبود بخشند.

---

[1] - Bacteriocins

۱۷-۴- اثر پروبیوتیک

کلمه پروبیوتیک[1] یک واژه یونانی است و معنی آن برای زندگی "Fore life" است و اولین بار برای تشریح اثرهای مثبت ماده‌ای که از یک میکروارگانیسم روی میکروارگانیسم دیگر ترشح می‌شد استفاده گردید (متضاد آنتی بیوتیک). جستجوی بیشتر روی این خصوصیت منجر به شناسایی فواید مثبت میکروارگانیسم‌ها روی موجودات تکامل یافته، مثل انسان‌ها شد. Metchnikoff (1907) تاثیرات مثبت مصرف منظم فرآورده‌های شیر تخمیر شده را روی سلامتی و طول عمر مردم روسیه مشاهده کرد. اهمیتLAB در این فرآیند از همان آغاز مورد قبول بود. تعریف جدید پروبیوتیک (Naidu *et al.*,1999) به این صورت است که یک ماده کمک کننده میکروبی در جیره غذایی است که از یک طرف به شکل موثر روی فیزیولوژی میزبان با تنظیم ایمنی مخاطی و به همراه بهبود دادن به سیستم دفاعی و از طرف دیگر بعلت ایجاد بهبود در تعادل غذایی و میکروبی در لوله گوارش باعث سلامت و طول عمر انسان می‌گردد. در حال حاضر چندین ترکیب تجاری در دسترس هستند که ادعا می‌کنند که این ترکیب ها قادرند که فلور باکتریای روده‌ای را به نفع تعداد باکتری های مفید با تأثیرات پیشگیری از بیماریها را در انسان تغییر دهند. تاثیر LAB روی E.coli با شماره 0157:H7 گزارش شده است (Erkkila *et al.*,2000) . گسترش اثر پروبیوتیک‌ها تاثیر آنها بر روی تومورها (ضد تومور) و تقویت کننده سیستم ایمنی انسان گسترش یافته است.

در کنار توجه‌های خاص به اثرات مفید باکتری‌های LAB برای انسان، تحقیقات بر روی تاثیر این باکتری ها در صنعت ماکیان و خوک و کنترل عوامل بیماریزای گیاهی و به مقدار کم هم در آبزی پروری مورد توجه قرار گرفته است (Wood,1992). استفاده از پروبیوتیک‌ها برای جلوگیری از بیماری‌ها در آبزی پروری پیشنهاد شده است و استفاده از آنتی بیوتیک برای جلوگیری یا بهبود آبزیان، در آبزی پروری باعث کم شدن مشکلات زیست محیطی در آبزی پروری گردیده است (Kumar & Sharma,2001).

۱۷-۵- تخمیر غذاها توسط LAB

از آنجائیکه این فصل به تخمیر ماهی توسط LAB تخصیص یافته است، روی دیگر تخمیرهای LAB تمرکز نخواهد شد. بهرحال، درس‌های زیادی از این تخمیر می‌توان فراگرفت، که می‌توان از آنها در تخمیر ماهی استفاده نمود.

---

[1] -Probiotic

۱۷-۵-۱- تخمیر لبنیات

تخمیر شیر توسط LAB فرآیندی کلاسیک می‌باشد که برای نگهداری غذاهای فسادپذیر مورد استفاده می‌باشد. اگرچه ا ز زمان‌های قدیم می‌دانستند که تخمیر فرآیند مناسبی برای نگهداری غذا است امروزه هم هنوز هم این فرایند به‌عنوان فرآیندی مهم برای نگهداری مواد غذائی در بعضی از نقاط جهان که سرد کردن و امکانات آن به راحتی در دسترس نیست بکار برده می‌شود. شیرهای حاصل از گاو، گوسفند، بز، شتر، بوفالوی آبی، گوزن و مادیان هنوز برای تخمیر آنها از LAB استفاده می‌شود. محدوده این فرآورده‌ها وسیع است و تخمیر آنها می‌تواند با استفاده از LAB طبیعی صورت گیرد و یا اینکه در مقیاس صنعتی، با افزودن LAB هایی که بصورت کنترل شده تولید شده‌اند. لاکتوز منبع اصلی کربن در شیر است و از طریق آنزیم می‌توان آن را به D-گلوکز و D گالاکتوز هیدرولیز نمود که هر دوی این قندها می‌توانند به فرآورده نهائی که اسید لاکتیک است تبدیل شوند. سرعت تبدیل شیر در گونه‌های مختلف، که در بالا ذکر شدند متفاوت می‌باشد اما نتیجه نهائی تولید طعم اسیدی بخاطر اسید لاکتیک و رسوب کازئین در PH ایزوالکتریک آن می‌باشد.

تغییرات فیزیکی دیگر که رخ می‌دهند مثل تشکیل ژل و محلولی شبیه آب پنیر می‌باشد (Kosikowsk,1977). کوزیکوسکی (۱۹۷۷) شیرهای تخمیر شده به وسیله LAB را به چهار گروه تقسیم بندی کرد:

۱. نوع اسید/ الکل مانند کفیر (نوعی خوراک شبیه ماست است)
۲. فرآورده‌های تخمیری با اسیدیته بالا، مثل شیر ترش بلغاری
۳. فرآورده‌های تخمیری با اسیدیته متوسط مثل ماست
۴. فرآورده‌های تخمیری با اسید کم مثل خامه و کره

در جدول ۳-۱۷ بعضی از انواع فرآورده‌های تخمیر شده شیر به وسیله LAB را نشان داده شده است. تخمیر بوسیله LAB در لبنیات نیاز به یک منبع کربن قابل تخمیر شدن، تغییرات فیزیکی که بوسیله PH ایجاد می‌شود علاوه بر ایجاد طعم‌های مخصوص را در فرآورده‌های تخمیری را نشان می‌دهد.

۱۷-۵-۲- تخمیر سبزی ها

تخمیر سبزی‌ها به وسیله LAB فرآیندی است که دارای قدمتی به‌اندازه فرآورده‌های شیر می‌باشد. فرآورده‌های تخمیری از سبزی‌ها هنوز هم در بعضی از کشورها به‌عنوان بخش عمده‌ای از رژیم غذایی مردم آنها می‌باشند.

مثال کلاسیک سبزی‌های تخمیر شده شامل خیار شور، کلم تخمیر[1] شده در اروپا و کیم شی[2] شامل کلم، خیار و تربچه تخمیر شده در کره می‌باشند. تولید کلم تخمیر شده یک تولید صنعتی و کنترل شده در تمام مراحل مختلف تولید می‌باشد، در صورتی که فرآورده‌های تخمیری مثل کیم شی در مقیاس تجاری تولید نمی‌شوند و معمولاً بصورت سنتی در منازل درست می‌شوند. هرچند در تخمیر این دو فرآورده فرق‌های با هم وجود دارد، ولی بصورت کلی زیربنا و اصول هر دو یکی می‌باشد. معمولاً در فرآورده‌های تخمیری مراحل زیر صورت می‌گیرد. در ابتداء با افزودن نمک مواد مغذی محلول در آب موجود در سبزی را خارج می کنند تا باکتری‌های LAB بتوانند از این مواد مغذی برای عمل تخمیر استفاده نمایند و از طرف دیگر از رقابت دیگر باکتری‌ها با آنها جلوگیری بعمل آید.سپس تولید طعم در فرآورده‌های تخمیری می باشد که بعلت ترکیب‌های سولفور و چربی‌ها در مواد اولیه بوسیله اسید لاکتیک باکتری‌ها درشان تغییرهایی ایجاد و باعث ایجاد طعم و مزه ویژه در آنها می‌گردد. در جدول ۴-۱۷ لیست بعضی از فرآورده‌های تخمیری تولید شده از سبزی‌ها داده شده است.

جدول ۳-۱۷- باکتری‌های اسید لاکتیک تخمیر کننده شیر

نوع تخمیر	فرآورده	نوع شیر	باکتری مورد استفاده
اسیدی / الکلی	کفیر – کومیس	بز، گوسفند، گاو مادیان	*Lb. Brevis* *Lb. Delbrueckii sub sp. Bulgaricus and yeasts*
اسیدی زیاد	شیر ترش بلغاری	گاو	*Lb. Delbrueckii sub sp. Bulgaricus*
اسیدی متوسط	ماست	گاو، گاومیش، گوسفند و بز	*Lb. Delbruecki sub sp. Bulgaricus*
کم اسید	کره	شیرخشک کم چربی	*Streptococcus lactis sub sp. Diace tylactis*

[1] - Sauerkraut
[2] - Kimchi

جدول ۴-۱۷- باکتری‌های اسید لاکتیک تخمیر کننده سبزی ها

فرآورده	مواد خام	باکتری مورد استفاده
کلم ترشی	کلم سفید	*Lb. Brevis, lb. Plantarum ، Lb. Mesenteriodes, p.cercivisiae*
کی میش (KINCHI)	کلم کره ای، ترب قرمز، خیار	*L. Mesenteroides, l. Brevis P.cerevisiae, l.plantarum (and aerobes, yeasts)*
کلم ترش چینی (HOM CHOY)	CAI-CHOY	*As above*

۳-۵-۱۷- تخمیر غلات

فرآورده‌های غلات تخمیر شده به وسیله LAB در دو گروه عمده قرار می‌گیرند: نان‌های تخمیر شده اسیدی و غذاهای شبیه فرنی. نان‌های تخمیر شده در بسیاری از مناطق مثل شبه قاره هند، فیلیپین و شمال شرقی آفریقا (اتیوپی و سودان) یافت می‌شود اگرچه تقاضا برای این چنین نان‌ها در اروپا و آمریکا هم وجود دارد. فرآورده‌های شبه فرنی در بسیاری از مناطق آفریقا وجود دارد. جدول ۵-۱۷ مثال هایی از این نوع فرآورده‌های را نشان داده شده. غلات استفاده شده در تخمیر شامل گندم، ذرت، گندم سیاه و غیره می‌باشند و همچنین تلاش‌ها برای گسترش این فرآورده‌ها و استفاده از لوبیا (Legumes) و کازاوا در حال افزایش است. ویژگی این ترکیبات تخمیری این است که تولید اسیدلاکتیک در اثر تخمیر ملایم LAB و مخمر اتفاق می‌افتد. این چنین تخمیرها نیاز به قندهای قابل تخمیری دارند که برای هر دو موجود (باکتری و مخمر) مناسب باشد. مثلاً برای نان تخمیر شده، *Torulopsis holmii* مخمری است که می‌تواند از گلوکزی استفاده کند که توسط *Lactobacillus* SPP. از مالتوز تولید شده و خودش به وسیله فعالیت آمیلاز روی نشاسته بدست آمده است (Steinkraus,1996).

جدول ۵-۱۷- باکتری‌های اسید لاکتیک تخمیر کننده غلات

فرآورده	مواد خام	باکتری مورد استفاده
نان خمیر ترش ENJERA	جو، گندم TEF (اتیوپی)	*Lactobacillus spp. Moulds, yeasts, such as Candida. Guillier mondii Various lab.*
شیر برنج، OGI (نیجریه)	ذرت و آرد سورگام برای OGI	*Various moulds, yeasts, bacteria, lb. Plantarum*
UJI (کنیا)	ذرت و آرد سورگام	*Various moulds, yeasts, bacteria, lb. Plantarum And p.acidilactici, lb. Fermentum.*
GARI (نیجریه)	کازاوا	*Lb. Plantarum, streptococcus spp, candida.*
KENKEY (گانا)	مثل Gai	*Fungi, yeasts, p.cerevisiae, L. Mesen teroides, lb. Ferhentum.*

گونه لاکتوباسیلوس که با استفاده از مالتوز بدست آمده از عمل آمیلاز بر روی نشاسته تهیه گردیده است (STEINKRAUS, 1996).

۶-۱۷- تخمیر ماهی به وسیله LAB

همچنانکه در بخش‌های قبل ذکر شد، در این بخش واژه ماهی شامل انواع گونه‌های آبزی مخصوصاً سخت پوستان خواهد بود و اگر چه تاکید بر روی منابع دریائی است ولی این اصول برای ماهیان آب شیرین هم کاربرد دارد.

۱-۶-۱۷- فرآورده‌های اروپائی

در اروپا تخمیر ماهی دارای تاریخچه طولانی است که اکنون بیشتر در کشورهای اسکاندیناوی وجود دارد. محصولی معروف به garum در رم باستان محصولی بود که از ماهی تخمیر شده و خمیر ماهی اتولیز شده تهیه می‌شده است و ارزش محبوبیت زیادی داشته است. Tidbits, Gaffelbitar و Surstromming فرآورده‌های تخمیر شده‌ای می‌باشند که از شگ ماهی آتلانتیک (*Clupea harengus*) تهیه می‌شوند در حالیکه Rake fisk از قزل‌آلا (*Salmo trutta*) تولید می‌شود. Gaffelbitar و Tidbits به مدت ۱۸-۱۲ ماه با مخلوطی از نمک، قند و چاشنی‌ها تخمیر می‌شوند. سپس ماهی‌های تخمیر شده فیله شده و برای فروش بسته بندی می‌شوند. طعم عمدتاً بخاطر فعالیت آنزیم‌های داخلی است اما نقش LAB نیز مهم است. ارگانیسم هایی که در این عمل نقش دارند شامل : *Pediococcus, Lactobacillus* and *Leconostoc* spp می باشند. Surstromming و Rekefisk بمدت کوتاهی (دو هفته) در نمک تخمیر می‌شوند و بوی خیلی شدیدی بخاطر تولید متیل مرکاپتن ایجاد می‌شود (Han-Ching *et al.*,1992) .

۲-۶-۱۷- فرآورده‌های جنوب شرقی آسیا

فرآورده‌های تخمیر شده در جنوب شرق آسیا از نظر تعداد، تنوع اسم و توزیع حیرت آوراند. اگرچه ماهی و سخت پوستان، مواد خام عمده، برای تولید فرآورده‌های تخمیری می‌باشند ولی از بسیاری از موجودات دریائی دیگر هم استفاده می‌گردد. بعضی از فرآورده‌ها از گونه‌های خاصی بدست می‌آیند در حالیکه فرآورده‌های دیگر از هر گونه های در دسترس تولید می‌شوند. نامگذاری فرآورده‌های مشابه در کشورهای مختلف می‌تواند متفاوت باشد، یا اگر زبان مردم در کشورهای مختلف یکی یا مشابه باشد یک فرآورده با یک اسم در ارتباطات زبان شناسی مرزها را درنوردیده و نام مشابه برای یک فرآورده در چندین کشور استفاده می‌شود. در جدول ۶-۱۷ اسم چندین فرآورده تخمیری که بهتر شناخته شده‌اند بعنوان نمونه آورده شده‌اند.

جدول ۶-۱۷ – فرآورده‌های تخمیر شده بوسیله لاکتیک اسید باکتری‌ها در جنوب شرقی آسیا

فرآورده	کشور	گونه ماهی
NUCO-MAM	ویتنام	*Stelo phorus, engraulis, rastre lliger*
PATIES	فیلیپین	*Stelophorus, leiognathus, sardinella*
NAM-PLN KETJAP-IKN	اندونزی	*Stelophorus, leiogntthus, clupeidae*
BUDU	مالزی	*Ikan-bilis (anchoviella)*
PASTE BAGOONG	فیلیپین	*Engraulis, clupeidae and shrimps*
TRASSI	اندونزی	*Shrimps*
BELACHAN	مالزی	*Shrimps (acetes spp).*
PRAHOC	کامبوج	*Fresh water fish (cyprinidae)*

توجه: با اضافه کردن برنج و نمک به‌اندازه‌های مختلف، باعث تولید فرآورده‌های متفاوت نیز می‌گردد.

ویژگیهای معمول این فرآورده‌های تخمیری شامل استفاده از ماهیان کوچک که دارای زندگی دسته‌جمعی یا فصلی هستند می‌باشد، ماهیانی که به صورت مستقیم مورد مصرف قرار نمی‌گیرند، استفاده از مقادیر متفاوت نمک مواد نشاسته‌ای با منشاءهای مختلف، بخصوص کربوهیدراتی مثل برنج پخته شده در تولید فرآورده‌های تخمیری از ماهی استفاده می‌شوند. اهمیت این فرآورده‌ها برای مردم کم درآمد نباید از نظر دور بماند. برای این افراد استفاده از برنج پخته شده همراه با ماهی خشک شده و افزودن سس، قند، خمیر ماهی یک منبع غنی از پروتئین هیدرولیز شده آمینواسیدها با طعم و مزه گوشت با قیمت ارزان یک منشاء غذایی مناسب با تولید ساده برای آنها می‌باشد. وجود نمک و اسیدلاکتیک باعث افزایش زمان ماندگاری فرآورده‌های تخمیر شده از ماهی می‌شود.

۳-۶-۱۷- طبقه بندی فرآورده‌های ماهی تخمیر شده با *LAB*

همانطور که قبلاً توضیح داده شد، به علت تنوع زیاد فرآورده‌های تخمیر شده از ماهی در جنوب شرق آسیا، چند پژوهشگر را بر آن داشت که روش یا روش هایی برای تقسیم بندی آنها براساس قوانین و یا ویژگیهای مختلف فرآورده تخمیر شده را ایجاد نمایند (Subba Rao,1967)، سه گروه عمده از فرآورده‌های تخمیری را براساس شکل نهایی فرآورده را تقسیم بندی کرد. گروه اول شامل فرآورده هایی بودند که ماهی یا آبزی شکل ظاهری و یا بخش اعظم شکل ظاهری‌شان را در فرآورده حفظ کرده‌اند. گروه دوم شامل فرآورده هایی هستند که بصورت خمیر می‌باشند و بالاخره گروه سوم فرآورده‌های تخمیری هستند که بشکل مایع درآمده‌اند. پژوهشگر دیگر بنام Amono (1962)، فرآورده‌های تخمیری را براساس مکانیسم تجزیه پروتئین به سه دسته تقسیم نمود: دسته

اول فرآورده‌های سنتی نمک زده‌ای می‌باشند که توسط انزیم‌های موجود در امعاء و احشاء و بافت ماهی تخمیر شده‌اند. دسته دوم، فرآورده‌های سنتی نمک زده‌ای می‌باشند که آنزیم به آنها اضافه گردیده است و بالاخره، دسته سوم فرآورده‌های غیر سنتی که عمل تخمیر بوسیله اضافه کردن آنزیم‌های صنعتی و یا هیدرولیز اسیدی در آنها تسریع گردیده است. در دسته بندی دیگر فرآورده‌های تخمیری که توسط (Orejana,1983)، تعریف گردید، چهار گروه برای تقسیم بندی این فرآورده پیشنهاد گردید، گروه اول، که با اضافه نمودن مقدار بالای نمک (۲۰-۱۵٪) عمل تخمیر آنها انجام گردیده، گروه دوم یا تخمیر واقعی که بوسیله باکتری‌های LAB عمل تخمیر صورت گرفته و گاهی از مواد کربوهیدراتی برای سرعت بخشیدن به عمل تخمیر استفاده بعمل می آید و گروه سوم شامل فرآورده‌های تخمیری می‌گردد که بوسیله اسیدهای معدنی عمل تخمیر در آنها صورت می‌گیرد و بالاخره گروه چهارم که با ساتفاده از اسیدهای آلی عمل تخمیر اتفاق می‌افتد. در تقسیم بندی دیگر که جدیداً توسط (Adams *et al.*,1985) صورت گرفت اساس تقسیم بندی بر سوبسترا (Substrate) گذاشته شده است، که شامل یا مخلوط ماهی / نمک و یا ماهی / نمک / کربوهیدرات می‌باشد. در سال 1987 محقق دیگر بنام Saisiti تقسیم بندی دیگری را براساس آنزیم‌ها پیشنهاد نمود که عبارتند از: تخمیر بوسیله آنزیم‌ها و LAB آنزیم، تخمیر بوسیله LAB موجود در ماهی همراه با مخلوطی از نمک و کربوهیدرات و بالاخره تخمیر بوسیله آنزیم LAB در مخلوطی از کربوهیدرات‌ها و مخمر و قارچ‌های اضافه شده برای عمل تخمیر.

این طبقه بندی‌ها ممکن است صرفاً از نظر آکادمیک قابل توجه باشند. اما آنها اشاره به یک تناقض در این تقسیم بندی‌ها می‌کنند. اگرچه تولید سس و خمیر ماهی به‌عنوان تخمیر تعریف می‌شوند؛ اما بعضی‌ها از پژوهشگران معتقدند که این فرآورده‌ها واقعاً نتیجه فعالیت آنزیم‌های داخلی ماهی و تخمیر به وسیله LAB نقش بسیار کم و یا بدون تاثیر در آنها دارد (Adnam & Owens,1984). آنزیم موثر در عمل تخمیر در PH اسیدی فعال می‌باشند و به نظر می‌رسد که شامل پپسین (از امعا و احشا) و کاتپسین (از سلول‌ها) باشند، این آنزیم‌ها در شروع عمل تخمیر خیلی فعال می‌باشند و آنزیم‌های باکتریایی در مراحل آخری تخمیر وارد عمل شده و دارای نقشی می باشند. به نظر می‌رسد تاثیر LAB از فرآورده به فرآورده دیگر متفاوت باشد و ممکن است شامل فعالیت زیاد آنزیم پروتئاز و ایجاد طعم در از بعضی موارد باشند. از آنجائیکه LAB در بسیاری از فرآورده‌های تخمیری دیده شده‌اند (Ohhira *et al.*,1988 ;Pederson,1979)، حتی اگر این باکتری های LAB به میزان کم نقش داشته باشند، به نظر می‌رسد نادیده گرفتن تاثیر آنها در توسعه فرآورده‌های تخمیری غیرواقع بینانه است.

فرآورده‌های مشابه تولید شده در مکانهای متفاوت دارای کیفیت‌های مختلف می‌باشند.(در طعم، رنگ، شفافیت و غیره) مثلاً شراب‌های تولید شده در مکان‌های مختلف دارای کیفیت‌های متفاوتی می‌باشند. تکامل فلورهای LAB در این مناطق می‌تواند در این تغییر کیفیت‌ها کاملاً نقش داشته باشند. پیشرفت اخیر در نامگذاری و طبقه بندی گونه‌های LAB (بخش ۲-۳-۱۷) پیشنهاد می‌کند که کل موارد مورد اختلاف در مورد LAB و نکات مربوط به حضور آنها در در فرآورده‌های تخمیر از ماهی باید دوباره بازنگر و مورد مطالعه قرار گیرد. طبقه بندی‌های انجام شده نشانگر اهمیت ویژگی های LAB برای تولید فرآورده بوسیله تخمیر است.

کربوهیدرات‌های قابل تخمیر

وجود کربوهیدراتهای قابل تخمیر (مونو و دی ساکارید) برای عمل تخمیر ضروری است و معمولاً با افزودن برنج یاکازاوا (Cassava) فراهم می‌شود. اما، مواد نشاسته‌ای باید توسط فعالیت آنزیم‌های آمیلازی شکسته شوند تا به واحدهای سازنده تبدیل و سپس مورد استفاده قرار گیرند. آزمایش‌های کنترل شده برای مشاهده این اثرات با گلوکز و ساکارز (Adam *et al.*,1987) و برنج و کازاوا (Twiddy *et al.*,1987) . صورت گرفته است.

حضور نمک

وجود نمک باعث کاهش فعالیت آبی شده و از فساد باکتریایی معمولی جلوگیری می‌کند و هم چنین باعث افزایش تعداد LAB و باکتری‌های نمک دوست‌ها می‌شود. تاثیر نمک براساس حالت فیزیکی نمک می‌تواند متفاوت باشد که در حالت جامد بیشترین تاثیر و در حالت مایع کمترین تاثیر را دارد و نمک اجازه می‌دهد تا باکتریهای LAB تکثیر کنند (Han-Ching *et al.*,1992). از آنجائیکه نمک از فعالیت LAB به وسیله پایین آوردن فعالیت کم جلوگیری می نماید, بنابراین مقدار نمک افزوده شده به محیط روی طول مدت تخمیر اثر زیادی خواهد گذاشت (Adams *et al.*,1987).

pH *اولیه*

pH اولیهٔ در مواد خام مختلف است و از اینرو کاهشpH بخاطر فعالیت LAB ، بستگی به این مقدار اولیه pH در محیط دارد. به‌طور کلی فرآیند تخمیر نیازبه کاهش سریع pH و حضور کربوهیدرات‌های قابل تخمیر برای شکل‌گیری عمل تخمیر دارد.

درجه حرارت

درجه حرارت تاثیر زیادی روی فرآیند تخمیر دارد اما در بیشتر فرآورده‌های سنتی درجه حرارت محیط در حدود $25-35^{\circ}c$ می‌باشد که این میزان تاثیر بسیار زیادی روی سرعت عمل تخمیر و افزایش تجزیه بافتی و تولید طعم سس دارد.

۴-۶-۱۷- فرآورده خاص

شرح فرآیندهای تولید بعضی از فرآورده‌های خاص در نشان دادن نکات ذکر شدهٔ بالا مفید و موثر خواهد بود. به‌عنوان مثال، تولید خمیر و سس ماهی در فیلیپین، برای این منظور استفاده می‌شود. باید متذکر شد که ترکیب های مشابه سس و خمیر ماهی در همه کشورهای جنوب شرق آسیا یافت می‌شوند.

Balao balao

یک فرآورده تخمیر شده می‌باشد که از مخلوطی از میگو، نمک و برنج پخته شده تولید می‌شود. میگو (معمولاً peneaus indicus) که بنام محلی Suahe مشهور است یک گونه کوچک آب شور است و باید در شروع فرایند به صورت تازه و ترجیحاً زنده باشد. نمک دریائی براساس نوع فرآیند به مقادیر مختلف استفاده می‌شود و برنج آنقدر پخته می شود تا بشکل خمیری درآید (شکل ۲-۱۷). متغیر عمده در این فرآیند, میزان نمک افزوده شده می‌باشد که می‌تواند از ۳ تا ۲۰ درصد (W/W) باشد و مدت زمان تخمیر را برای تولید فرآورده قابل قبول تعیین می‌کند. به‌طور کلی مقدار نمک بیشتر باعث طولانی‌تر شدن فرآیند تخمیر می‌شود. در میزان ۳٪ نمک (به‌عنوان حداقل)، و PH کمتر از ۴ برای مدت زمان لازم برای اتمام دوره تخمیر برای تولید یک فراورده مطلوب چهار روز خواهد بود. ویژگیهای فیزیکی این فرآیند تخمیر شامل آزادسازی گاز، تولید مایع، تولید رنگ قرمز و نرم شدن پوسته میگو می‌باشد. ویژگیهای میکروبی این فرآیند ایجاد پیک‌های میکروبی در فواصل مختلف زمانی براساس گونه‌های مختلف می‌باشند که در هر دوره، پیک یک گونه خاص غالب می‌گردد. این پدیده در تخمیر بمدت ده روز ادامه خواهد داشت. (Solidum,1979) گزارش کرده که پیک اول در روز سوم بخاطر Leuconostoc mesenteroides، پیک دوم در روز پنجم بخاطر Pediococcus cerevisiae و پیک سوم در روز هفتم بخاطر Lactobacillus plantarum می‌باشد. این روند فرآیند تخمیر ویژه است و معمولاً به وسیله LAB صورت می‌گیرد، که در هر مرحله از تخمیر PH محیط تغییر نموده و برای فعالییت گونه خاص مساعد می‌گردد، از این رو هر گونه در pH مربوطه به حداکثر رشد خود رسیده و تولید پیک می‌نماید. از آنجائیکه به محیط تخمیر باکتری اضافه نمی‌شود (Inoculum). بنابراین باید گونه‌های فعال در عمل تخمیر در ماده

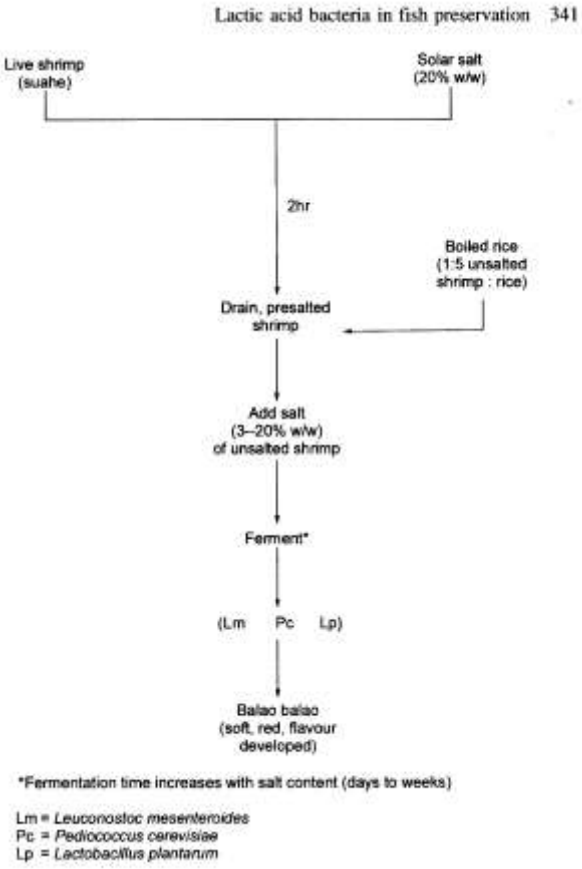
اولیه استفاده شده برای تخمیر وجود داشته باشند. فرآورده بصورت کامل با پوست که نرم شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد و می‌تواند تشکیل دهنده غذای اصلی و یا قسمتی از آن باشد.

Patis

سس ماهی است که از مخلوط ماهی و نمک ساخته می‌شود و اغلب کنار فرآورده خمیری ماهی به نام bagoong (که با balao فرق دارد و این فرآورده فاقد برنج پخته شده است) تولید می‌شود. مواد خام می‌تواند هرگونه ماهی یا میگو که به آسانی بدست می‌آید، باشد. اگرچه بعضی از گونه‌ها ترجیح داده می‌شوند مثل Stolephorus, Sardinella و Dacapterus و بصورت سنتی در منازل و در صنعت تا مقیاس تجاری تولید می‌گردد. میزان نمک افزوده شده مختلف است اما نسبت ۱ (ماهی) به ۳ نمک به ماهی به‌عنوان مکانیسم کنترل کننده تخمیر می‌باشد. در منازل بصورت سنتی ماهی و نمک با هم مخلوط می‌شوند و به مدت طولانی عمل تخمیر ادامه دارد (۶ تا ۱۲ ماه) که هر چند وقت یکبار این مخلوط به خوبی به هم زده می‌شود. وقتی که فرآیند تخمیر کامل شد پاتیس (Patis) شفاف تخلیه می‌شود و سس بیشتر با فشردن و پرس کردن مواد جامد تولید می‌شود و فرآورده جامدی که باقی می‌ماند به‌عنوان bagoong نامیده می‌شود. رنگ و شفافیت پاتیس (Patis) با توجه به زمان و فرآیند تخمیر متفاوت می‌باشد که رنگ آن از زرد روشن تا قهوه‌ای تیره متغیر می باشد. در مقیاس تجاری ضرورتاً فرآیندی مشابه انجام می‌شود اما باید در پرس کردن مخلوط ماهی و نمک دقت کرد، چون مایعی که خارج می‌شود می‌تواند باعث شناور شدن ماهی و در نتیجه باعث فساد آن شود. مایع را می توان در طول تخمیر در زمانهای متفاوت برای مصرف برداشت و این عمل باعث تولید پاتیس‌ها با کیفیت‌های متفاوت می‌شود.

برداشت مایع می‌تواند به وسیله ملاقه از بالا و یا به وسیله شیر از پائین فرمانتور صورت بگیرد. پاتیس با کیفیت پائین‌تر به وسیله شستن مواد جامد باقیمانده با آب نمک در پایان تخمیر تولید می‌گردد (مواد جامد باقیمانده bagoong است). روی طعم پاتیس (Patis) مطالعه شده است. این طعم عمدتاً نتیجه عمل آنزیم‌های داخلی بر روی اسیدهای آمینه و پپتید، آمونیاک و نوکلئوتیدهای، چربی و ترکیبات اسیدآلی می‌باشد. طعم آن شبیه طعم پنیر (شرح داده شده بوسیله چربی‌ها) است که دلیل آن وجود اسیدهای چرب فرار تولید شده در نتیجه تجزیه آمینواسیدها به وسیله باکتری‌های LAB می‌باشد. افزایش طعم را می‌توان با افزایش نیتروژن آمینی، اسیدهای چرب آزاد و اسیدهای آلی تشدید نمود. هم‌چنان‌که در بخش‌های قبل ذکر شد نقش LAB و یا میکروارگانیسمهای دیگر درتولید طعم و مزه مورد سوال است ونقش آنزیم ها در هیدرولیز و ایجاد طعم به‌عنوان

فاکتور اصلی پذیرفته شده است. اما، تولید اسید لاکتیک و دیگر اسیدهای آلی بعلت فعالیت LAB نقش این باکتری را متذکر می‌شود. در این مورد اینطور بحث شده که مقدار نمک زیاد از فعالیت میکروبی جلوگیری می‌کند و تعداد باکتریها با افزایش زمان کاهش می‌یابند، اگر چه بعضی از گونه‌های نمک دوست (Pediococcus halophlpus) هنوز باقی می‌مانند. اما آنزیم‌های موجود در میکروب‌ها ممکن است حتی بعد از مرگ باکتریها به تجزیه پروتئین کمک کنند. باکتریهای عامل فساد، باعث تولید آمونیاک می کنند که یک فرآیند نامطلوب می‌باشد.



زمان تخمیر با مقدار نمک افزایش پیدا می‌کند (بین روزها و هفته ها)

شکل ۲-۱۷: مراحل تولید برای فرآورده *balao balao* فیلیپینی

Lm=Leuconostoc Mesenteroides
Pc=Pediococcus Cerevisiae
Lp=Lactobacillos Plantarum

ویژگیهای balao-Balao ، patis و bagoong در بسیاری از فرآورده‌های تخمیر شده از ماهی در این مناطق تکرار گردیده است، و ویژگی خاص بر فرآورده مربوط به گونه‌های ماهی مورد استفاده، باکتری‌های بکار برده شده و روش تخمیر بکار برده شده می‌گردد.

کیفیت و استانداردها

بخش زیادی از فرآورده‌های تخمیر شده ماهی بصورت سنتی در خانه ساخته می‌شوند و اگر هم در مقیاس تجاری تولید شوند به صورت محلی و یا نهایتا در همان کشور مصرف می‌شوند. ویژگیهای کیفی متفاوتی که برای فرآورده‌ها تعریف شده به طول مدت تخمیر و استخراج سس‌ها ارتباط دارد. بازار صادرات این فرآورده‌های محدود به داخل منطقه است چون این غذا فقط در بعضی از نقاط بخصوص در جنوب شرق آسیا علاقمند دارد، اما تجارت آن به آمریکای شمالی، اروپا و استرالیا همراه با مهاجرت ساکنان جنوب شرق آسیا به این مناطق با توجه به علاقه این افراد به غذاهای بومی‌افزایش یافته است. بنابراین، استفاده از استانداردهای مجاز غذایی در ارتباط با کیفیت، ترکیب و خصوصیات مسمومیت زایی این غذاها در سال‌های اخیر توسعه یافته است. به‌عنوان مثال، استاندارد nam-pla در تایلند (Virul hakul,2000) جدیداً وضع شده است، که شامل فاکتورهایی مثل مقدار کلرید سدیم (٪)، نیتروژن، اسید آمینه، اسید گلوتامیک / نیتروژن کل pH و چگالی نسبی می‌باشند.

اطلاعات تغذیه‌ای روی مقدار اسید آمینه تمرکز پیدا کرده (که تأمین اسید آمینه ضروری مورد نیاز است). توجه‌ها در رابطه با سم شناسی روی آمین‌های بیوژنی تمرکز پیدا کرده که در این راه هیستامین به‌عنوان شاخص مورد استفاده قرار گرفته است که مقدار آن به میزان ۲۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم حداکثر در امریکا و کانادا مشخص شده است. مقادیر بالاتر هیستامین نشانه حمل و نقل نامناسب مواد خام را قبل از عمل تخمیر نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد استفاده از قوانین مشابه بوسیله کشورهای دیگر برای دامنه وسیعتری از فرآورده‌های تخمیر شده ماهی در آینده غیرقابل اجتناب می‌باشد. باید در نظر داشت که این فرآورده‌های سنتی سال‌ها است که تحت شرایط غیر بهداشتی تولید می‌شوند اما احتمالا بخاطر وجود نمک و فلور فعال باکتری‌های LAB مناسب مشکلات بسیار کمی‌ایجاد کرده‌اند. تلاش‌های اولیه انجام شده بوسیله کارخانه‌های کشورهای غربی برای تولید فرآورده‌های تخمیری تحت شرایط بهداشتی، منجر به تولید فرآورده‌های با کیفیت نامناسب و آلوده به باکتری‌های بیماری زا گردید. این تجربه نشان دهنده کمبود دانش و تجربه لازم (Know-How) در این کارخانه‌ها دارد.

۷-۱۷- LAB در تولید سیلاژ

تولید سیلاژ عبارت است از فرآیند نگهداری مواد خام به وسیله استفاده از اسید است که این فرآیند برای ضایعات ماهی و ماکیان و علف‌ها به کار می‌رود. اسید می‌تواند به شکل اسیدهای آلی و یا معدنی مثل هیدروکلریک، سولفوریک، فرمیک، پروپیونیک و اسیداستیک بصورت جدا و یا اینکه ممکن است به صورت ترکیبی افزوده شود. مشکلی که در اضافه کردن اسیدهای معدنی بروز می‌یابد این است که گونه‌های باکتریایی جدا شده و شناسایی نشده در PH پایین غالب می‌شوند (قسمت ۱-۳-۱۷ را ملاحظه نمایند) و همچنین این غذاها قبل از مصرف باید خنثی شوند. هر دو اسید آلی و معدنی خورنده (Corrosive) هستند و جابجایی آنها به مقدار زیاد بسیار مشکل است. روش دیگر تولید اسید در محیط می‌باشد که در این مورد LAB و اضافه کردن قند قابل احیا به یکی از شرایط لازمه هستند اگر چه نمک هرگز به‌عنوان یک ماده کمکی به محیط تخمیر افزوده نمی‌شود. ویژگی‌های سیلاژ مشابه ویژگیهای ذکر شده برای سس ماهی است و شامل تولید قابل توجهی از، اتولیز پروتئین‌ها به وسیله آنزیم‌های درونی و آزاد سازی چربی (در گونه‌های چرب) می‌باشند. بر خلاف آرد ماهی، آب حاصل در سیلاژ نگهداری می‌شود (مگر اینکه به وسیله خشک شدن حذف شود) که این مقدار آب می‌تواند به‌عنوان عامل محدود کننده در حمل و نقل آن باشد.

سیلاژ ماهی به‌عنوان روشی برای استفاده از ضایعات ماهی، صید ضمنی و ضایعات فرآوری برای تولید پروتئین با کیفیت بالا برای تغذیه جانورانی مثل ماکیان، خوک‌ها، گوساله‌ها و دیگر گونه‌ها مثل مینک‌ها و دیگر جانوران مورد استفاده قرار می‌گیرد. آزمایش‌های اولیه تغذیه ای، ماکیان بوسیله سیلاژهای تهیه شده بوسیله اسید روی ماکیان نتایج متغیر را بدست داد، اگرچه ممکن است این نتایج با استفاده از مواد خام با کیفیت پائین، شرایط مختلف تولید سیلاژ، و با رژیم‌های مختلف سیلاژ ارتباط داشته باشد. آزمایش انجام شده برای تغذیه ماکیان با سیلاژ نتایج بهتری داشته است (Vizcarra Magana *et al.*,1999). نتایج آزمایش‌های تغذیه‌ای با سیلاژهای اسیدی در روی خوک خوب بوده است. آزمایش‌های کمی‌در آبزی پروری در تغذیه آبزیان بوسیله سیلاژ در چند سال گذشته انجام شده که نتایج آنها مطلوب بوده است (Jackson *et al.*,1984 ;Haras *et al.*,1994;Stone *et al.*,1998).

نتایج آزمایش‌های تغذیه جانوران با سیلاژهای اسید و مشکلات حاصل از آن در بررسی که توسط (Raa & Gildberg,1982) انجام شده شرح داده شده است. برخلاف آن، نتایج آزمایش‌های تغذیه‌ای انجام شده بوسیله سیلاژ تولید شده بوسیله LAB خیلی موفقیت آمیزتر بوده. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که وجود

باکتری LAB دارای منافعی از نظر ارزش غذائی و پروتئینی بوده و هم چنانکه در بخش (۴-۱۷) ذکر شد دارای تاثیر پروبایوتیکی (Probiotic) برای ماکیان و خوک نیز می‌باشد.

۱-۷-۱۷- LAB در ضایعات سخت پوستان

تولید سیلاژ از ضایعات بدست آمده از فرآوری سخت پوستان به وسیله افزودن اسید به آن‌ها صورت می‌گیرد. که برای آماده کردن غذای که حاوی رنگدانه‌های طبیعی هستند برای تغذیه آزاد ماهیان مورد استفاده قرار گرفته است (Raa *et al.*,1983). استفاده از LAB برای تخمیر ضایعات سخت پوستان جهت بازیافت کیتین، پروتئین و رنگدانه‌ها از میگوهای گرمسیری پیشنهاد گردید (Hall and de Silva, 1992) . این راهکار یکی از چندین تلاش صورت گرفته برای استفاده از فن‌آوری‌های میکروبیولوژی صنعتی برای تولید کیتین و تبدیل آن به مشتقات قابل استفاده از نظر تجاری بوده است (Hall,1997). کیتین یک پلی ساکاریدی است که بخش عمده‌ای از اسکلت خارجی سخت پوستان را همراه با پروتئین‌ها و کربنات کلسیم را تشکیل می‌دهد. پروتئین‌های دیگر مربوط به بخش‌های آلی سخت پوستان می‌باشند. روش سنتی تولید کیتین شامل زدودن مواد معدنی از پوسته به وسیله اسیدهای معدنی و از بین بردن پروتئین‌ها به وسیله محلول‌های قلیائی جهت حل کردن پوسته کلسیمی‌و پروتئین‌های از مواد خام می‌باشد. این فرآیند مقدار زیادی اسید محلول قلیائی در درجه حرارت‌های بالا همراه با مقدار زیادی آب برای شست وشو نیاز دارد و در نتیجه با آلوده نمودن محیط زیست همراه است. علاوه بر آن، استفاده تیمار اسید/ قلیا منجر به دپلیمراسیون در مولکول کیتین می‌شود که به نوبه خود منجر به تولید فرآورده با کیفیت های متفاوت می‌شود.

سیلاژ شامل افزودن باکتری‌های LAB و قند قابل احیا به فرمانتور است که منجر به کاهش PH (از ۸-۷/۵ به ۴/۵-۴ بسته به طبیعت ضایعات دارد)، مایع شدن، هیدرولیز پروتئین و آزاد سازی کلسیم از پوسته میگو می‌شود. این فرآیند منجر به بازیافت کیتین نسبتاً خالص (به ترتیب ۹۰ و ۶۷ درصد با حذف پروتئین و کلسیم)، هیدرولیز پروتئین قابل مصرف و احتمالاً بازیافت رنگدانه می‌گردد (Shirai-Matsumoto 1999 و Zakaria, 1977). سیلاژی از ضایعات سخت پوستان به وسیله تخمیر LAB و اضافه نمودن کازاوا برای تغذیه ماکیان تهیه گردیده است (de Sliva,1998). یک غذا برای آبزیان با استفاده از ضایعات میگو با استفاده از هیدرولیز پروتئین بوسیله استفاده از تخمیر با LAB از هیدرولیز پروتئین تولید گردیده است. (Plascencia-Jotomea,2000). این فرآورده هیدرولیز شده به‌عنوان جایگزین برای آرد ماهی در جیره

غذایی تیلاپیا که احتمالاً شامل خواص پروبیوتیکی و فواید تغذیه‌ای بود بانتایج مطلوب استفاده شد. این روش به نظر می‌رسد که برای فرآوری ضایعات سخت پوستان به‌عنوان تولید غذای مناسب برای آبزی‌پروری می توانند سودآور باشد، زیرا که مشکلات زیادی در تهیه آرد ماهی بعلت کمبود آبزیان ریز در آینده برای صنعت آبزی پروری که در حال گسترش است پیش‌بینی می‌گردد (Tacon, 1995,1998).

آبزی پروری با تغذیه حیوانات خشکی بوسیله آرد ماهی، با هم برای آرد ماهی رقابت می‌کنند و تولید آرد ماهی ممکن است به زودی به حداکثر مقدار پایدار خود پس از رسیدن صید ماهی به مقدار صید ۱۰۰ میلیون تن در سال برسد. این میزان عرضه حتی ممکن است کاهش یابد که ماهیان صنعتی مناسب برای تبدیل به آرد ماهی به‌عنوان بخش حیاتی زنجیره غذایی برای گونه‌های خوراکی در دریا تشخیص داده می شوند، که این امر منجر به اتخاذ تدابیر حفاظتی از طرف کشورهای صیادی از آنها خواهد شد. لذا، جایگزینی آرد ماهی در آبزی پروری به وسیله منابع پروتئینی دیگر خصوصا از منابع گیاهی، در حال حاضر دردست تحقیق و بررسی است، اما برای گونه‌های گوشتخوار آبزیان جایگزینی آن بجای آرد ماهی دارای مشکل است. هیدرولیز پروتئین سخت پوستان می‌تواند نقش مهمی‌در حل این مشکل با بهبود قابلیت پذیرش این نوع پروتئین بوسیله گونه‌های گوشت‌خوار آبزی پروری به‌عنوان جذب کننده یا اشتهاآور برای افزایش دریافت غذا از طرف این‌گونه بازی کنند. استفاده از مقادیر زیادی از ضایعات فرآوری سخت پوستان تولید شده برای تبدیل به غذا برای آبزی پروری در بسیاری از کشورها شروع شده این کشورها شامل کشورهای جنوب شرقی آسیا، چین، لاتین آمریکا، می باشند که احتمالاً این فعالیت باعث کاهش آلودگی زیست محیطی نیز خواهد شد (Subasinghe,1994).

۸-۱۷- تخمیر ماهیان با LAB

فرآورده‌های شرح داده شده در بالا با استفاده از ماهیانی تولید می‌شود که این ماهی ها دارای استفاده مستقیم بعلت‌اندازه و شکل آنها بوسیله انسان نیستند و برای استفاده به شکل سس و خمیر (یا غذاهای حیوانی) در می‌آیند و به‌عنوان یک بخش از غذا با جیره‌های دیگر مورد استفاده قرار می‌گیرند. تلاش‌ها برای به کار گیری LAB در ماهی کامل یا فیله آن برای مصرف آنها انجام گرفته است. هدف از این تلاش‌ها، نگهداری ماهی از هنگام صید تا فرآوری و تولید فرآورده‌های جدید می‌باشد. در اروپا روش‌های سنتی نگهداری ماهی مثل نمک زدن، دودی کردن، نمک سود کردن، خشک کردن و دیگر روش های نگهداری دیگر مطلوب خریدارن نیستند، زیرا که مصرف کنندگان از نگهدارنده‌های شیمیایی مثل نمک، سرکه و ترکیبات دودی دیگر استقبال نمی‌کنند و

در عوض از روش‌هایی که ایجاد طعم و مزه سبک‌تری تولید می‌کنند و شیمیایی نمی‌باشند استقبال می‌کنند. که استفاده LAB می‌تواند جایگزین بعضی از این روش‌های نگهداری بخاطر عمل تخمیرشان شوند.

سوالی که در اینجا مطرح می‌شود این است که آیا شرایط تخمیر LAB (PH پائین و وجود اسید لاکتیک) باید تاثیری خنثی روی طعم و بافت نداشته باشد و یا اینکه تغییرات باید مورد قبول و مورد تاکید واقع شوند. پروژه‌ای با بودجه اتحادیه اروپا روی باکتری‌های LAB جدا شده از محیط دریائی برای نگهداری ماهی وایتینگ (فیله و چرخ شده) و آزاد ماهی دودی شده با تاکید روی کنترل فساد، تغییرهای حسی و ویژگیهای کاربردی پروتئین‌های عضله ماهی انجام گردیده (Hall *et al.*,1995) . در این تحقیق مشخص شد که باکتری‌های گونه *Carnobacterium* spp قادر به پائین آوردن PH در درجه حرارت پائین و بدون هیچگونه فعالییت پرونتولیتیک و لیپولتیک می‌باشند. در وایتینگ چرخ شده، اثر LAB روی فساد متغیر بود اما تاثیری روی ویژگیهای اورگانولپتیکی یا شیمیائی نداشت. آزاد ماهی دودی شده که با LAB تلقیح شده و سپس در خلا بسته بندی و در درجه حرارت‌های سرد نگهداری شده بود دارای ویژگیهای حسی مناسب بود. (طبق آزمایش‌های حسی) اگر چه تفسیر نتایج مربوط به شاخص‌های میکروبی و شیمیائی چندان آسان نبود. Morzel etal در سال ۲۰۰۰ با استفاده از LAB ، گونه Lactobacterius sake اثر تخمیر را روی فیله آزاد ماهی و تغییرات بافت آن با استفاده از میکروسکوپ الکترونی ارزیابی و تغییرات بافت با استفاده از (Texture Profile Analysis) یا (TPA) مورد بررسی قرار دادند. این پژوهشگران گزارش دادند که بیشتر تغییرات بافتی بخاطر pH، از دست رفتن رطوبت و تغییرات ساختار میکروسکوپی بافت بودند. (Glatman etal., ۲۰۰۰) تحقیقات مشابه‌ای روی گوشت چرخ شده ماهی تن زرد باله با استفاده از *Lauconostoc mesenteriodes* ، *p. pentosaceus* و *L.plantarum* انجام دادند. تحت شرایط دمای پایین (Chill) فعالیت باکتری *L.mesenteroides* منجر به ایجاد طعم گوشتی، بافت آبدار، کم شدن شاخص‌های شیمیائی فساد و افزایش زمان ماندگاری نمونه به مدت بیشتر از چهار هفته گردید.

بخصوص استفاده از تخمیر بوسیله LAB همراه با روش‌های دیگر نگهداری می‌تواند در کنترل فعالیت میکروبی و حفظ کیفیت کمک کند (فن آوری hurdle) . مخصوصا ترکیبی از LAB و بسته بندی در اتمسفر اصلاح شده (MAP) یا بسته بندی در خلا در درجه حرارت‌های پایین می‌تواند موثر واقع شوند. در روش MAP هوا، در بسته‌بندی با اکسیژن، نیتروژن، گاز دی اکسید کربن و یا مخلوطی از این گازها جایگزین می‌شود (Davies,1997) . استفاده از دی‌اکسید کربن یک روش انتخابی برای *Lactobacillus* spp است (Han-Ching *et al.*,1992) .

۹-۱۷- پیش‌بینی برای آینده

باید یادآوری شود که تحقیق در باره LAB بسیار فشرده در هر جنبه آن می‌باشد، و نتایج به شکل‌های کنفرانس، مقاله‌ها و کتاب‌ها بصورت مستمر چاپ می‌گردند و خوانندگان علاقمند به این رشته باید از این موضوع اطلاع داشته باشند. تحقیق در زمینه LAB و انواع ماهی در دهه ۸۰-۷۰ بسیار زیاد صورت می‌گرفت. از آن به بعد پژوهش‌ها در این زمینه به صورت کم و اتفاقی در دو زمینه صورت گرفته است. اولاً، برای استفاده از LAB برای تولید صنعتی غذا برای تغذیه جانوران با استفاده از تولید سپلاژ از ماهی و ضایعات کارخانه‌های فرآوری سخت پوستان بوده است. برای سالها تحقیق در زمینه سپلاژ چندان زیاد و پرطرفدار نبوده است، احتمالاً علت آن عملکرد نه چندان مطلوب، بعلت تولید سپلاژ با استفاده از اسید می‌باشد، که قبلاً در این مورد شرح داده شده، بهرصورت این تکنولوژی شایسته بازنگری با هدف انتخاب باکتری LAB مناسب و تولید فرآورده پروتئین هیدرولیز شده با توجه به ویژگی‌های تغذیه و ارزش بپروبیوتیکی (Probiotic) آن است. از طرفی تقاضا برای پیدا نمودن جانشینی برای آرد ماهی این نیاز را دوچندان نموده است. لذا این نیاز باعث گردیده تا تحقیقات و مطالعات در این زمینه بیشتر مورد توجه قرار گیرد. این تحقیقات باید همراه با طراحی کارخانه برای تولید سپلاژ در مقیاس صنعتی و توسعه روشهای کنترل فرآورده جهت یکنواخت بودن کیفیت تغذیه ای آن همراه گردد. این نکته جالب است که اگرچه تولید سپلاژ ماهی بصورت اتفاقی بنظر می‌رسد باعث فرآورده ای می‌گردد که از ارزش غذایی یکنواختی برخوردار نمی‌باشد، اما زمانی که از مواد خام یک دست و بصورت مستمر برای تولید سپلاژ استفاده می‌گردد، باعث تولیدی با کیفیت یکنواخت که لازمه تولید غذا برای تغذیه دام است می‌گردد. ضروری است که این ویژگیهای مثبت مورد بررسی برای تولید سپلاژ در مقیاس صنعتی قرار گیرند.

کاربرد LAB در تولید غذا از ماهی برای تغذیه انسان اخیراً مورد توجه قرار گرفته است، با توجه به قیمت بالای این گونه فرآورده‌ها باید تکنولوژی برای تولید آنها مورد استفاده قرار گیرد، که فرآورده‌های حاصل قابل صدور به بازارهای آمریکا و اروپائی باشند.

۱۰-۱۷- منابع برای اطلاعات بیشتر و راهنمایی

مراجع‌های داده شده در بخش مربوطه، مرجع هایی می‌باشند که در نوشتن این فصل از آنها استفاده شده است. از این مرجع‌ها بعضی لازم و ضروری برای شناخت ویژگی‌های باکتری‌های LAB و تکنولوژی‌های مورد استفاده می‌باشند. با توجه به تاریخچه مربوط به تخمیر بوسیله LAB و منابع وسیع مربوط به آن، کتاب *Handbook of Indigenous Fermented Foods* که بوسیله Keith H Steinkraus ویراستاری گردیده از اهمیت

ویژه مربوط به خود برخوردار است، هم چنانکه کتاب *The Lactic Acid Bacteria* که توسط Brian Wood ویراستاری گردیده همپایه آن می‌باشد. از خوانندگانی که مایل به تحقیق و اضافه نمودن به دانش بیشتری در زمینه فرآورده‌های تخمیر از ماهی می‌باشند، خواسته می‌شود که به وب سایت (Web site) که توسط FAO UN در رم بنام "Onefish" به آدرس (htt://www.onefish.org) که متصل به Database در htt:www.nelfish.com مراجعه نمایند.

۱۱-۱۷- منابع فصل هفدهم

ADAMS M R, COOKE R D, PONGPEN R (1985), 'Fermented fish products of South-East Asia', *Trop Sci*, 25, 61–73.
ADAMS M R, COOKE R D, TWIDDY D R (1987), 'Fermentation parameters involved in the production of lactic acid preserved fish-glucose substrates', *Int J Food Sci Technol*, 22, 105–114.l
ADNAM N A M, OWENS J D (1984), 'Technical note: Microbiology of oriental shrimp paste', *J Food Tech*, 19, 499–502.
AMANO K (1962), 'The influence of fermentation on the nutritive value of fish with special reference to fermented fish products of South-East Asia', in Heen E and Kreuser R, *Fish and Nutrition*, London, Fishing News, 180–200.
DAVIES A R (1997), 'Modified-atmospHere packaging of fish and fish products', in Hall G M, *Fish Processing Technology*, 2nd edn, Glasgow, Blackie Academic and Professional, 200–23.
DE SILVA, L L S S K (1998), 'Poultry feeds prepared from fermented prawn waste, PHD thesis, Loughborough University.
ERKKILA S, VENELAINEN M, HIELM S, PETAJA E, PUOLANNE E, MATTILA-SANDHOLM T (2000), 'Survival of *Escherichia coli* 0157:H7 in dry sausage fermented by probiotic lactic acid bacteria', *J Sci Food Agric*, 80, 2101–104.
GLATMAN L, DRABKIN V, GELMAN A (2000), 'Using lactic acid bacteria for developing novel fish food products', *J Sci Food Agric*, 80 (3), 375–80.
HALL G M, DE SILVA L L S S K (1992), 'Lactic acid fermentation of shrimp (*Peneaus monodon*) waste for chitin recovery, in Brine C J, Sandford P A and Zikakis J P, *Advances in Chitin and Chitosan*, London, Elsevier Applied Science, 633–8.
HALL G M, MESCLE J-P, HAN-CHING L (1995), 'Application of a lactic acid fermentation to the preservation of fish and fish products', Final report for publication, FAR Project UP-2-514.
HALL G M (1997), 'Biotechnology approaches to chitin recovery', in Stevens W F, Rao M S and Chandrkrachang, *Chitin and Chitosan, Environmentally friendly and Versatile Biomaterials*, Proceedings of the 2nd Asia Pacific Symposium on Chitin and Chitosan, Bangkok, 26–33.
HAN-CHING L, IN T, MAUGUIN S, MESCLE J-P (1992), 'Application of lactic acid fermentations', in Hall G M, *Fish Processing Technology*, 1st edn, Glasgow, Blackie Academic and Professional, 193–211.
HERAS H, MCLOED C A, ACKMAN R G (1994), 'Atlantic dogfish silage vs. herring silage for Atlantic salmon (*Salmo salar*): growth and sensory evaluation of fillets', *Aquaculture*, 125, 93–106.
JACKSON A J, KERR A K, BULLOCK A M (1984), 'Fish silage as a dietary ingredient for salmon. II. Preliminary growth findings and nutritional pathology', *Aquaculture*, 40, 283–91.
KOSIKOWSKI E (1977), *Cheese and fermented milk foods*, Ann Arbor, Michigan, Edwards Bros Inc Printers and Distributors.

KUMAR G, SHARMA R (2001), 'Probiotics – the mainstay in aquaculture health management', *Infofish international*, 5/2001, 42–7.
METCHNIKOFF E (1907), *The Prolongation of Life*, London, Heinemann.
MORZEL M, HEAPES M M, REVILLE W J, ARENDT E K (2000), 'Textural and ultrastructural changes during the processing and storage of lightly preserved salmon (*Salmo salar)', J Sci Food Agric*, 80 (11), 1691–7.
NAIDU A S, BIDLACK W R, CLEMENS R A (1999), 'Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB), *Crit Rev Food Sci Nutrit*, 38 (1), 13–126.
OHHIRA L, CAHN MIN C, MIYAMOTO T, KATAOKA K, NAKAE T (1988), 'Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional side-dish fermented foods of southeast asia', *Jap J Dairy Food Sci*, 37, 185–93.
OREJANA F M (1983), 'Fermented fish products', in Chan H T, *Handbook of tropical foods*, New York, Marcel Dekker, 255–95.
PEDERSON C S (1979), 'Nutritious Fermented Foods of the Orient', in *Microbiology of Food Fermentations*, Westport Connecticut, AVI, 310–33.
PLASCENCIA-JATOMEAM (2000), 'Recuperacion de proteinas a partir de desechos de camaron y su aplicacion de dietas para acuicultura', Maestro de Biotecnologia thesis, Universidad Autonoma Metropolitana-Iztapalapa, Mexico City.
RAA J, GILDBERG A (1982), 'Fish silage', *Crit Rev Food Sci Nutrit*, 16 (4), 383-419.
RAA J, GILDBERG A, STROM T (1983), 'Silage production – theory and practice', in Ledward D A, Taylor A J, Lawrie R A, *Upgrading waste for feeds and food*, London, Butterworths, 117–132.
SAISITHI P (1987), 'Traditional fermented fish products with special reference to Thai products', *Asian Food J*, 3 (1), 3–10.
SHIRAI-MATSUMOTO C K (1999), 'Utilizacion de desperdicios de camaron para recuperacion de quitina, proteinas y pigmentos por via microbiana', Doctor en Ciencias Biologicas thesis, Universidad Autonoma Metropolitana-Iztapalapa, Mexico.
SOLIDUM H (1979), 'Chemical and microbiological changes during the fermentation of balao-balao', *J Food Sci Tech* (Manila, PHilippines), 3, 1–16.
STEINKRAUS K H (1996), *Handbook of indigenous fermented foods*, 2nd edn, New York, Marcel Dekker.
STONE F E, HARDY R W, SHEARER K D, SCOTT T M (1989), 'Utilisation of fish silage for rainbow trout (*Salmo gairdneri*)', *Aquaculture*, 76, 109–18.
SUBASINGHE S (1994), 'Greening the seafood processing industry', *Infofish International*, 1/94, 27–34.
SUBBA RAO G N (1967), *'Fish processing in the Indo-Pacific area'*, Bangkok, Indo-Pacific Fisheries Council Regional Studies, 4, 75–76, 81.
TACON A G J (1995), 'The potential for fish meal substitution in aquafeeds', *Infofish International*, 3/95, 29–34.
TACON A G J (1998), 'Issue: Dependence on agricultural and fishery resources', *Infofish International*, 2/98, 19–25.
TWIDDY D R, CROSS S J and COOKE RD (1987) 'Parameters involved in the production of lactic acid preserved fish-starchy substrate combinations', *Int J Food Sci Technol*, 22, 115–21.

VIRUHAKUL P (2000), 'The processing of Thai fish sauce', *Infofish International*, 2/2000, 49–53.
VIZCARRA-MAGANA L A, AVILA E, SOTELO A (1999), 'Silage preparation from tuna fish wastes and its nutritional evaluation in broilers',
J Sci Food Agric, 79, 1915–22.
WOOD B J B (1992), *The lactic acid bacteria: Volume 1: The lactic acid bacterai in health and disease*, London, Elsevier Applied Science.
WOOD B J B, HOLZAPFEL W H (1995), *The lactic acid bacteria: Volume 2: The genera of lactic acid bacteria*, Glasgow, Blackie Academic and Professional.
ZAKARIA Z (1997), 'Lactic acid purification of chitin from prawn processing waste using a horizontal rotating bioreactor', PHD thesis, Loughborough University, UK.

« **فصل هیجدهم**»

خشک کردن ماهی

۱-۱۸- مقدمه

در بسیاری از نقاط دنیا امکان دسترسی به یخ یا یخچال وجود ندارد. در چنین شرایطی تاکید زیادی به فرآیندهای فیزیکی، شیمایی و بیولوژیکی که قادر به آهسته نمودن نرخ فساد در ماهی تازه صید شده که قادر به کاهش مقدار آب در ماهی از طریق خشک، دودی و نمک سود یا شور نمودن وارد بعمل می آید. استفاده از این روش‌ها باعث تولید پروتئینی پایدار از ماهی می‌شود که می‌توان آن را به جوامعی که دسترسی محدودی به ماهی تازه دارند حمل نمود. دودی، نمک سود و خشک کردن ماهی روشهایی هستند که قرن‌ها بوسیله جوامع مختلف برای افزایش زمان ماندگاری و یا تولید طعم و بافت مطلوب در ماهی مورد استفده قرار گرفته‌اند. وسعت فرآورده‌های خشک شده از ماهی Boinito که مثل چوب سخت در ژاپن خشک می‌گردد تا ماهی آزاد که بصورت دودی سبک تولید می‌گردند و در کشورهای پیشرفته با قیمت زیاد بفروش می‌رسند می‌باشند.

هم با تنوع در فرآورده‌های مختلف دودی و خشک شده، روش هایی می‌باشند که برای تولید این فرآورده‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. روش‌های سنتی برای خشک نمودن ماهی در کشورهای گرمسیری، شامل خشک کردن ماهی با قراردادن آن در مقابل نور مستقیم آفتاب در روی زمین، روی حصیر و یا آویزان نمودن از طناب‌های مخصوص می‌باشد. بعضی از فرآیندها شامل شور نمودن و یا نمک سودکردن همزمان با خشک کردن ماهی می‌باشد. در اروپای شمالی و دیگر جاها که استفاده از روش‌های سرد نمودن مکانیکی‌به راحتی در دسترس می‌باشد، ماهی را در دودخانه‌های مکانیکی، جهت تولید فرآورده‌های دودی با ویژگیهای خاص نیز خشک و دودی می‌نمایند. کیفیت ماهیان دودی، نمک سود و یا خشک شده را می‌توان با استفاده از روش‌های فیزیکی،

شیمیائی و ارگانولپتیکی ارزیابی نمود. روش‌های ارزیابی کیفیت جدید مثل نظام حصپ (HACCP)[1] به صورت روزافزون در صنایع خشک، نمک سود و دودی کردن ماهی مورد استفاده می‌باشد.

۲-۱۸- فرآیند خشک کردن

خشک کردن ماهی یک فرآیندی کاملاً شناخته شده فیزیکی است. وقتی که ماهی در معرض هوا قرار داده می‌شود سطح ماهی شروع به خشک شدن می‌کند و رطوبت از سطح به داخل هوا از طریق فرایندی بنام جریان کنوکسیون جرم[2] انتقال می‌یابد. سرعت این تبخیر در درجه اول به وسیله رطوبت موجود در جریان هوا کنترل می‌شود و از طرف دیگر فاکتورهای مثل سرعت هوا نیز در تبخیر آب موثر می‌باشند. وقتی که آب آزاد در سطح فرآورده موجود می‌باشد تبخیر با سرعت ثابت[3] از سطح صورت می‌گیرد. این فرآیند معروف به جریان کنترل شده توسط فرآیند کنوکسیون یا خشک شدن با سرعت ثابت می‌باشد. اما بهرصورت، سطح شروع به خشک شدن می‌کند و این باعث ایجاد شیب رطوبتی نزدیک به سطح می‌شود که باعث می‌شود تا آب بیشتری از بخش‌های درونی ماهی به سمت سطح بدن ماهی حرکت کنند. آب در درون ماهی شروع به حرکت به طرف سطح می‌کند که مکانیسم‌های این حرکت به علت انتشار مایع، انتشار بخار، حرکت‌های مولکولی و فشار اسمزی می‌باشد. در همان هنگام، نمک ممکن است که از سطح در حال حرکت به سمت قسمت‌های درونی ماهی باشد و این امر در صورتی اتفاق می‌افتد که غلظت نمک در سطح بدن ماهی بیشتر از درون ماهی باشد.

هم‌چنان‌که ماهی از طریق حرکت آب درونی بطرف سطح آن خشک می‌شود، شیب غلظت رطوبت به تدریج کاهش می‌یابد. بنابراین ، نیروی حرکت دهنده آب به قسمت‌های سطحی کاهش می‌یابد و سرعت خشک شدن کاهش می‌یابد. این بخش از فرآیند خشک کردن معروف به کنترل حرکت آب از طریق پدیده انتشار و یا خشک شدن با سرعت رو به کاهش یا (Falling Rate) نامیده می‌شود. خشک شدن با سرعت کاهنده‌ای ادامه می‌یابد تا اینکه به سطح تعادل می‌رسد که در این مرحله آب در ماهی به حالت تعادل یا Equilibrium Moistpure Content، رسیده است.

---

[1] - Hazard Analysis Critical Control Point
[2] - Convective mass transfer
[3] - Constant rate of drying

۳-۱۸- فساد در ماهی دودی، نمک سود و خشک

به ماهی زمانی می‌گویند فاسد شده که برای مصرف انسانی یا حیوانی نامناسب است. این فساد ممکن است بخاطر عوامل فیزیکی، شیمیائی یا میکروبیولوژیکی بصورت جداگانه و یا باهم صورت پذیرد. فساد فیزیکی شامل ضایعات فیزیکی توسط پرندگان، سگ‌ها و غیره و یا حمله سوسک‌ها و یا لارو پشه‌ها می‌باشد . روش‌های جلوگیری شامل بسته بندی ، استفاده از خشک کن‌ها در محیط بسته یا مکانیکی، نمک زدن، استفاده از حشره‌کش‌ها یا نگهداشتن محل فرآیند بصورت بهداشتی بوسیله تخلیه نمودن زوائد و باقیمانده ماهی برای جلوگیری از هجوم حشرات می‌باشد.

فساد شیمیایی شامل آلودگی شیمیائی با روغن‌های سوخت، کروزان و حشره کش‌ها می‌باشد. که می‌تواند به وسیله عملیات حمل و نقل مناسب و بسته بندی بهداشتی و موثر کاهش یابد. شکل دیگر فساد شیمیائی بخاطر اکسید اسیون چربی است که منجر به تند شدن روغن (Rancidity) می‌شود. این واکنش‌ها با افزایش درجه حرارت در دودی کردن به روش گرم و یا اینکه خشک کردن ماهی در معرض نور مستقیم خورشید باعث تسریع این نوع فساد می‌شود. اما در بعضی از فرآورده‌های سنتی قهوه‌ای شدن به وسیله واکنش میلارد که در اثر واکنش قندهای داخلی ایجاد می‌شوند ممکن است مطلوب باشد. به کارگیری مخلوطی از آنتی اکسیدان‌ها (بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA) ۱۹ گرم، بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) ۱ گرم، اسید سیتریک ۵ گرم و پروپیل گلیکول ۱۰۰ میلی لیتر) برای جلوگیری از تغییر رنگ و جلوگیری از رشد کپک‌ها و باکتری‌های هالوفیل‌های قرمز مفید است. روش استفاده به این ترتیب است که به محلول آب نمک یک میلی لیتر در لیتر و در صورت استفاده از نمک خشک یک میلی لیتر در هر کیلو از نمک باید اضافه شوند (Doe,1998).

فساد آنزیمی‌به محض اینکه ماهی صید شد شروع می‌شود. بعضی از ماهیان به صورت طبیعی حاوی مقدارهای بالایی از آنزیم‌های خیلی فعال هیدرولیز کننده می‌باشند که موجب اتولیز ماهی با سرعت شده و باعث پارگی شکم ماهی (Belly Burst) می گردد. باکتریهای داخلی موجود در روده یا وارد شده از طریق آب نمک، یخ یا تجهیزات حمل و نقل در شرایط مناسب تولید مثل خواهند کرد که این شرایط مناسب شامل درجه حرارت مناسب، عناصر غذایی قابل دسترس و بخصوص کمبود یخ می‌باشد. هر گونه باکتری محدوده خاصی از درجه حرارت و فعالیت آب را برای رشد مستمر (Optimom) نیاز دارد و بعض‌ها دارای نیازهای خاص غذایی هستند (برای مثال نمک). رشد باکتری می‌تواند از طریق یخ گذاری یا خشک کردن کنترل شود. برای مثال یک گونه باکتری مزوفیلیک *E.coli* که بهترین رشد را در ۴۱ درجه سانتی گراد دارد، اگر درجه حرارت زیر ۳C باشد رشد

نخواهد کرد اما در این درجه حرارت باکتری سرما دوستی مثل *Pseudomonas* sp به‌طور نسبتا زیادی رشد خواهد کرد.

فساد میکروبی را می‌توان به وسیله عملیات فرآوری و حمل و نقل مناسب و بهداشتی کاهش داد. نگهداری ماهی تازه در جعبه‌های تمیز و بدور از ماهی‌های نسبتاً فاسد، استفاده از یخ تمیز و سالم و عملیات بهداشتی مناسب در کاهش بار میکروبی کمک شایانی می‌کنند. دودی کردن ماهی دارای اثر خشک کنندگی کمی‌روی ماهی می‌باشد و بنابراین باعث کاهش رشد باکتری می‌شوند. ولی هم چنین باعث می‌گرد که سطح ماهی با مواد باکتری کش‌ها Bactriostatic پوشیده گردد.

۴-۱۸- فعالیت آبی و اهمیت آن

فعالیت آبی، میزان آب در دسترس برای تولید مثل و رشد پایدار میکروارگانیسم‌ها در غذا می‌باشد. میزان فعالیت آبی (a_w) به‌عنوان نسبتی بیان می‌شود که عبارتست از نسبت فشار آب محلول در مواد غذائی به فشار آب حلال می‌باشد و مقدار آن همیشه عددی اعشاری می‌باشد برای‌اندازه‌گیری فعالیت آبی یک نمونه غذا در داخل یک ظرف در بسته قرار داده می‌شود و رطوبت فضای بالای ظرف (Hehd Space) و رطوبت غذای درون آن‌اندازه‌گیری می‌شود. اگر میزان رطوبت ۹۴٪ باشد می‌گویند که (a_w) برابر ۰/۹۴ است.

در اوایل قرن گذشته مشخص شد که کاهش فعالیت آبی باعث می‌شود تا استرسی روی میکروارگانیسم وارد آید (Scott,1936) . علاوه بر آن مشخص شد که میکروارگانیسم‌های بخصوص نمی‌توانند تولید مثل و یا رشد کنند مگر اینکه فعالیت آبی بیشتر از حد معینی باشد. در جدول (۱-۱۸) حداقل مقادیر فعالیت آبی را برای رشد انواع مختلف میکروارگانیسم‌های یافت شده در غذای تازه و خشک شده را نشان می‌دهد. همانطور که در جدول (۱-۱۸) مشاهده می‌کنیم اگر فعالیت آبی ماهی خشک شده به زیر ۰/۶ کاهش یابد فعالیت باکتریائی نمی‌تواند صورت بگیرد. اما، این میزان از خورده شدن ماهی توسط سوسک‌ها جلوگیری نمی‌کند.

فشار بیشتری را می‌توان روی رشد میکروارگانیسم با افزایش اسیدیته وارد نمود یک مدلی ۴ فاکتوری ساده برای تعیین سرعت رشد (k) باکتریها تحت شرایط Sub-Optimal؛ در نتیجه تاثیر درجه حرارت، فعالیت آبی و PH را توسط (McMeekin *et al.*,1992) گزارش گردیده است (معادله ۱-۱۸).

معادله ۱-۱۸:
$$\sqrt{k} = b(T - T\min)\sqrt{(Aw\,Aw_{min})}\sqrt{(PH - PH_{min})}$$

خشک کردن ماهی

جدول ۱ -۱۸- حداقل فعالیت آبی برای رشد میکروارگانیسم‌ها *(BURT, 1988)*

میکرو ارگانیسم‌ها	فعالیت آبی
باکتری‌ها	۰/۹۱
مخمرها	۰/۸۵
قارچ‌ها	۰/۸۰
باکتری‌های نمک دوست	۰/۷۵
قارچ‌های مقاوم به خشکی	۰/۶۵
مخمرهای اسموفیلیک	۰/۶۰

که PH و (a_w) و T به ترتیب درجه حرارت، فعالیت آبی و PH هستند و $pH_{\min}$ ، $aw_{\min}$ و $T_{\min}$ در معرض محل برخورد محورهای X و Y بوده که مقادیر رشد برابر صفر هستند. برای مثال رشد باکتری *Staphylococcus xylosis* به وسیله معادله زیر (۲-۱۸) می‌تواند توصیف شود.

معادله ۲-۱۸ : $\sqrt{k} = ۰/۰۲۰۵(T - ۲۷۵۰۹)\sqrt{(Aw - ۰/۸۳۵)}$

این روش که مجموعه‌ای از فاکتورها را برای کاهش فساد باکتری‌هایی به کار می‌گیرند در اصطلاح به نام "hurdle technology" معروف است.

کاهش فعالیت آبی ماهی می‌تواند با خشک کردن، نمک زدن یا ترکیبی از هر دو صورت بگیرد. بسیاری از فرآیندهای نگهداری از نمک زنی و خشک کردن سنتی، از نمک به‌عنوان کاهش دهنده فعالیت آبی استفاده می کنند. نمک از طریق پیوند با مولکول‌های آب عمل می‌کند. یک محلول اشباع شده نمک دارای فعالیت آبی حدود ۰/۷۵ است. بنابراین نمک زدن روشی موثر برای جلوگیری کردن از تولید توکسین‌های مرتبط با رشد باکتریها مثل *Clostridium* sp. می‌باشد.اندازه‌گیری فعالیت آبی بوسیله روش‌های موجود دارای پیچیدگی می‌باشد و هم چنین با تغییرها در ماده ای خشک شونده فعالیت آبی در طول خشک کردن تغییر خواهد کرد. ساده‌ترین روش‌اندازه‌گیری فعالیت آبی قرار دادن یک نمونه در داخل ظرف در بسته شده (airtight) می‌باشد و باید صبر نمود تا آب موجود در ماده غذائی با هوای موجود در فضای درب قوطی (Headspace) با نمونه بصورت تعادل درآید و سپس رطوبت هواراندازه‌گیری می‌شود. مشکل موجود در این روش این می‌باشد که بسیاری از ابزارهای‌اندازه‌گیری رطوبت (Hygrometer) (دستگاه برای‌اندازه‌گیری رطوبت) در رطوبت بالا دچار اختلالات (Hysteresis) می‌شوند. ابزارهای تجاری‌اندازه‌گیری (a_w) مثل LLUFT ، که وابسته به هیگرومتر

مکانیکی (Mechanical hygrometer) می‌باشند به یک حس‌گر مویی وابسته‌اند هستند و نیاز به کالیبرشدن بصورت مداوم در مقابل استانداردهای محلول نمک اشباع شده دارند.

بسیاری از مشکلات مرتبط با جذب رطوبت با هیگرومتر با استفاده از دستگاه‌ها برای‌اندازه‌گیری نقطه شبنم مرتفع گردیده. دستگاه Aqualab CX_2 ساخت (Pullman, Washington, USA و Decagon Devices Inc)وسیله‌ای مناسب برای‌اندازه‌گیری مقدار بالای فعالیت‌های آبی در مواد غذایی می‌باشد. دستگاه‌های‌اندازه‌گیری نقطه شبنم براساس روش شناسایی نشست آب بر روی آینه روی شیشه‌ای می‌باشد که به صورت مکرر سرد و گرم می‌شود. دقت این ابزار در حدود ۰/۰۰۳+ واحد می‌باشد. خواندن آن معمولاً ۵ دقیقه طول می‌کشد (Doe,1998) . فعالیت آبی برای ماهی نمک سود و خشک شده را می‌توان از محاسبه مقدار نمک، چربی و رطوبت آن برآورد نمود (Doe *et al.*,1982) .

۵-۱۸- روش‌های خشک کردن

ساده‌ترین شکل خشک کردن ماهی قرار دادن آن به شکل کامل یا فیله به صورت مستقیم روی زمین یا روی طبقه‌هایی از حصیر در مقابل نور مستقیم خورشید به مدت ۱ تا ۳ روز می‌باشد. ماهی‌های خشک شده به وسیله این روش محتملاً به وسیله ماسه یا گرد و خاک آلوده می‌شوند و به وسیله لاروهای حشرات مورد هجوم واقع می‌شوند و تا مقداری هم تند می‌شوند. این روش فقط برای گونه‌های خیلی کوچک (مثل آنچوی) توصیه می‌شود که می‌توانند در عرض چند ساعت خشک شوند.

نمک زدن ماهی به وسیله غوطه ور کردن آن در آب نمک باعث کاهش هجوم لاروهای حشرات به آن می‌گردد، همانطوری که اگر ماهی را از سطح زمین با آویزان کردن دور کنیم در ماهیانی که روی زمین قرار داده می‌شوند لاروهای حشرات به راحتی می‌توانند روی ماهی حرکت کنند و به سادگی زمانی که ماهی یا خیلی داغ و یا خشک شده به زمین برگردند. آویزان کردن ماهی از پایه‌های چوبی (Racks) باعث می‌گردد که هوا از بین ماهیان جریان یافته و هم چنین جمع آوری ماهی برای انبار نمودن در شب ساده تر می‌گردد یا زمانی که باران می‌بارد.

خشک کن‌های خورشیدی در بسیاری از نقاط جهان ساخته و آزمایش شده‌اند. بیشتر خشک کن‌ها دارای پوشش پلاستیکی یا شیشه‌ای هستند که باعث افزایش درجه حرارت هوا در اطراف ماهی می‌گردند و از این رو فرآیند خشک کردن ماهی را تسریع می‌کنند. آزمایش‌های رو سه نوع خشک کن صنعتی در جزیره Galapagos

Island در سال ۱۹۸۳ بوسیله (Trim & Curran) در مقایسه با خشک کردن ماهی از نور مستقیم خورشید بر روی صخره‌های سیاه رنگ حاصل از کوه آتشفشان انجام گردید. این آزمایش‌ها نشان داد که ماهیان خشک شده بوسیله فرآیند خشک کن‌های صنعتی از کیفیت خیلی بالاتری نسبت به ماهیان خشک شده در زیر مستقیم خورشید برخوردار بودند. یک خشک کن خورشیدی که از چادری از پلی اتیلن سیاه و شفاف که روی یک اسکلت چوبی بعنوان یک چهارچوب (Fram) کشیده شده بود مقداری ارزان تر (Doe *et al.*,1977) از خشک کن خورشیدی قفسه ای بود (Excell & Kornsakoo,1978) و خیلی ارزان‌تر از خشک‌کن خورشیدی بود که بوسیله انستیتو تحقیقاتی Brace Research Institote در سال ۱۹۷۳ ساخته بود. تمام این سه خشک کن خورشیدی در خشک کردن ماهی از راندمان بالاتری (Fish Dried/m^2/day) نسبت به خشک کردن ماهی در زیر نور مستقیم خورشید داشتند. یک خشک کن خورشیدی برای خشک کردن ماهی که براساس گلخانه‌های زراعی در یمن و گامبیا با راندمان یک تن ماهی در روز ساخته شده بودند، بصورت موفقیت آمیزی مورد بهره‌برداری قرار گرفتند (Sachi-thananthan *et al.*,1986). اصول طراحی، عملیات و اقتصاد خشک کن‌های خورشیدی بوسیله (Brennendorfer *et al.*,1985) شرح داده شده‌اند.

تعداد زیادی خشک کن‌های کشاورزی (Agro-Waste Dryer) که بوسیله ضایعات کشاورزی کار می‌کنند، ساخته و مورد آزمایش قرار گرفته‌اند (Clucas & Ward,1996). یک مشکل اساسی با این خشک کن‌ها این است که آنها براساس انتقال طبیعی هوا (سیرکولاسیون) کار می‌کنند، در نتیجه با افزایش جریان هوا درجه حرارت در آنها بالا می‌رود. اگر درجه حرارت هوا به بیشتر از ۴۰ درجه سانتیگراد برسد، باعث پخته شدن ماهی می‌شود نه خشک شدن آن.

۶-۱۸- فرآورده‌های خشک و نمک سود شده ماهی

فرآورده‌های ماهی خشک شده را می‌توان به دو گروه اصلی تقسیم نمود:

۱. ماهی کاملاً خشک شده

۲. ماهی خشک شده بصورت نسبی.

ماهی کاملاً خشک شده (Fully Dried) به‌اندازه ای خشک می‌شود که مقدار رطوبت آن در تمام قسمت‌های ماهی برابر و فعلایت آبی نزدیک و یا زیر ۰/۷۵ می‌باشد. نمونه‌هایی از ماهی کاملاً خشک شده عبارتند از، (Burt,1988):

۱. ماهی بونیتو (Bonito) در ژاپن – فیله این ماهی بدون پوست بمدت ۹۰–۶۰ دقیقه جوشانده می‌شود، سپس بوسیله قارچ (*Aspergillus glaucus, A.mallous & P.glaucum*) در یک دودخانه حرارات داده شده و سپس در زیر نور خورشید بمدت یک ماه تارسیدن فعالیت آبی به ۰/۷۶ ($a_w = ۰/۷۶$) خشک می‌شود.

۲. Anchovy (مالزی): ماهی‌های کامل در آب نمک ۱۰٪ در سبدهای ساخته شده از بامبو به مدت یک دقیقه با تکان دادن روی عرشه کشتی پخته می‌شوند. سپس سبدها از درون آب نمک برداشته می‌شوند و اجازه می‌دهند تا آب آن خارج و سرد شود. سپس ماهی‌ها برای خشک شدن در زیر نور خورشید به مدت ۱ روز گسترده می‌شوند) $a_w = ۰/۷۹$ (

۳. Stockfish (نروژ): ماهی کاد (*Gadus morrhua*) در امتداد طول بدن بریده و تخلیه شکمی‌می شود فیله‌ها فقط در قسمت دم هنوز به هم متصل هستند و سپس شسته می‌شوند و به مدت ۴۵ روز تا ۲ ماه در هوای با رطوبت نسبی ۸۰–۷۰ درصد آویزان می شوند تا خشک شوند و بعد از خشک شدن در اتاق‌های مخصوصی با جریان هوای مناسب نگهداری می‌شود. ($a_w = ۰/۷۴$) .

۴. Skipjack (سریلانکا): ماهی بمدت نیم ساعت نمک زده شده یا بمدت چند دقیقه در آب نمک پخته شده به مدت ۱۲–۱۰ ساعت دودی و خشک و یا در زیر نور خورشید به مدت ۷–۶ روز خشک می‌شود. $a_w = ۰/۶۴ - ۰/۶۷$. ماهی کاملاً خشک شده (Fully Dried) اگر بصورت مناسب بسته بندی و در انبار نگهداری شوند، دارای زمان ماندگاری بین یک هفته تا چند ماه می‌باشند.

مثال هایی از فرآورده‌های ماهی خشک شده به صورت نسبی (Partly Dried) بشرح زیراند (Burt,1988):

۱. Mackerel (اندونزی) : ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در نمک ۳۰٪ (براساس وزن) و یا آب نمک اشباع قرار داده می‌شود، سپس به وسیله خشک کن خورشیدی به مدت ۴۸ ساعت خشک می شود.($a_w = ۰/۸۹$) .

۲. Sand lance (ژاپن) : ماهی کامل در آب نمک ۱۲–۱۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده می‌شود و سپس به مدت ۳–۲ روز در آفتاب خشک می‌شود. ($A_w = ۰/۹۸$)

۳. Herring Kippers (نروژ) : ماهی‌ها از وسط نصف، تخلیه شکمی‌و شسته می‌شوند و سپس در آب نمک ۸۰٪ به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده می‌شود و به مدت ۱ ساعت برای از دست دادن آب آویزان

می‌شوند و سپس در درجه حرارت $۲۹c^{\circ}$ در دودخانه صنعتی (Kila) به مدت ۴ ساعت دود داده می‌شوند $(a_w = ۰/۹۸)$.

۴. Catfish (مالزی) : ماهی از وسط نصف و تخلیه شکمی‌سیبلیک‌ها بریده شده و شست و شو داده می شود. سپس در خمره بتونی حاوی آب نمک از شور نمودن قبلی بمدت ۲-۱ روز قرار داده می‌شوند سپس به مدت ۳-۲ روز در زیر خورشید خشک می‌شوند $(a_w = ۰/۸۲)$

این فرآورده‌های خشک شده به صورت نسبی دارای زمان ماندگاری حداکثر تا یک هفته می‌باشند و معمولاً قبل از مصرف در یخچال یا(Chill Room) نگهداری می‌شوند.

۷-۱۸- پیشرفت‌های اخیر

تحقیق اخیر بیشتر تاکید در زمینه توسعه فرآورده‌های خشک شده جدید بدست آمده از صید ضمنی ترال و دیگر ماهیان غیر سنتی که برای خشک شدن مورد استفاده نبوده و هم چنین بهبود روش‌های سنتی برای تولیید فرآورده‌های سنتی تمرکز کرده است.

فرآورده هندی Masmin که از دودی کردن زیاد (Heavily Smoked) و خشک کردن کامل گوشت ماهی تن بدست می‌آید. روش تولید سنتی آن شامل جوشاندن ماهی در آب دریا است که باعث ازبین رفتن قسمتی از پروتئین‌ها و مواد غذایی می‌شود. (Muraleedharan & Valsan,1980) روشی را ابداع نمودند که ماهی تن را ابتدا بصورت نوارهای بریده و سپس شست و شو می‌دهند و سپس در آب نمک اشباع شده به مدت ۳۰ دقیقه غوطه ور می‌سازند و بعداً در روی سیم توری به وسیله بخار به مدت یک ساعت قبل از خشک کردن و دودی کردن حرارت می‌دهند. فرآورده جدید دارای ۷۶/۶ درصد پروتئین و ۱/۶ درصد نمک در مقایسه با فرآورده سنتی که دارای ۶۶/۳٪ پروتئین و ۷/۶ درصد نمک بود می‌باشد. آزمایشات با خشک کن‌های خورشیدی در تایلند برای در خشک کردن اسکوئیدها موثر بوده‌اند. نگهداری از طریق تابش گاما با نتایج رضایت بخشی در جلوگیری از رشد کپک روبرو شده است. یک ترکیبی از غوطه‌وری در رسوبات و تابش اشعه باعث افزایش زمان ماندگاری بمدت ۶ ماه برای اسکوئیدها که بطور فله‌ای بسته بندی شده بودند گردیده است. این روش موثرتر و ارزان‌تر بود نسبت به بسته‌بندی در خلا که زمان ماندگاری آن فقط ۴ ماهه می‌باشد بود (Doe,1998).

در ژاپن استقبال از مصرف فرآورده جدید اسکوئید خشک شده و چاشنی زده شده در حال افزایش است. این فرآورده به این صورت تهیه می‌شود: فلس کنی، پوست کنی، جوشاندن، چاشنی زدن، دودی کردن، برش دادن، چاشنی زدن برای دفعه دوم، خشک کردن و بسته بندی کردن است (Doe,1998).

۸-۱۸- تضمین کیفیت و کنترل آن

تفاوت بین تضمین کیفیت و کنترل کیفیت این است که تضمین کیفیت فرآیندها و روش‌ها را مشخص می‌کند، که در صورت انجام دادن دقیق آنها باعث تضمین کیفیت فرآورده های نهائی را ضمانت می‌کند. در حالیکه کنترل کیفیت شامل نمونه‌برداری از فرآورده واندازه‌گیری شاخص‌های کیفیت است که اگر شاخصه‌های کیفی و دفعات نمونه‌برداری در محدوده پروتکل نمونه برداری بودند، کیفیت فرآورده را به‌عنوان محصولی استاندارد تائید خواهد کرد.

۱-۸-۱۸- کنترل کیفیت

مثال‌های‌اندازه‌گیری کنترل کیفیت برای ماهی خشک شده و نمک سود شده شامل موارد زیر است:

۱. اندازه‌گیری مواد مغذی (Proximat analysis)
۲. شمارش کل باکتری‌های زنده [۱] (TVC)، بعنوان‌اندیس آلودگی به باکتری ها
۳. اندازه گیری کل بازها TVB[۲] (معیار فساد آمینو اسیدها)
۴. اندازه گیری پراکسید PV[۳] (معیار اکسیده شدن چربی)
۵. آزمایش اسید تیوباربیوتوریک TBA[۴] (معیار تند شدن اکسیداسیونی چربی)
۶. قابلیت هضم پروتئین

همه این آزمایش‌ها نیاز به افراد مجرب و ماهر و گاهی اوقات تجهیزات آزمایشگاهی پیچیده و گران قیمت دارد. علاوه بر این، بعضی از آزمایش‌ها که مخصوص ماهی تازه یا منجمد می‌باشند اگر زمانی برای ماهی خشک شده استفاده شوند می‌توانند باعث دادن نتایج اشتباه گردند. برای مثال، دراندازه‌گیری TVC که از محیط‌های کشت

---

[1] - Total Viable Count
[2] - Total volatile Base
[3] - Peroxide Value
[4] - Thiobarbituric Acid

استاندارد استفاده بعمل می‌آید، اگر برای شناسائی یکی از گونه‌های غالب باکتری یافت شده در ماهی خشک شده به نام*Vibrio paraheamlyticus* مورد استفاده قرار گیرد جواب نخواهد داد و با شکست مواجه خواهد شد زیرا این باکتری برای رشد نیاز مبرم و ویژه‌ای به نمک دارد و در غیاب نمک رشد نخواهد کرد مثال دیگر استفاده از TVB برای الاسموبرانش‌ها (کوسه‌ها و سفره ماهیان) می‌باشد که حاوی مقدار زیادی اوره هستند. در طول نمک سود و مراحل انبارداری، اوره تبدیل به آمونیاک می‌شود و باعث نشان دادن مقدار زیادی TVB ، در ماهی با کیفیت خوب خواهد شد.

مشکل دیگر در آزمایش‌های آزمایشگاهی، کمبود روش‌های استاندارد و گزارش دادن استاندارد می‌باشد. برای مثال روشی که برای‌اندازه‌گیری قابلیت هضم آرد ماهی معمول است استفاده از آنزیم‌پپسین در غلظت ۰/۰۲ گرم در لیتر تا ۲/۵ گرم در لیتر و زمان واکنش ۰/۵ ساعت تا ۴۸ ساعت می‌باشد که در آزمایشگاههای مختلف از این مقادیر کاملاً متفاوت استفاده می‌کنند (Doe *et al.*,1998).

یک راهکار مناسب دیگر برای کنترل کیفیت در اصطلاح معروف به "demerit point" یا اندیس فیزیکی عیب قابل دیدن است (Doe & Olley,1990). در این روش تعدادی از ویژگیهای فیزیکی براساس مقیاس ۱-۰ یا ۲-۰ ارزیابی ۰درجه بندی می‌شوند. برای مثال، صدمه فیزیکی به این صورت ارزیابی می‌شود:

۱) عدم وجود صدمه با امتیاز صفر

۲) وجود صدمه متوسط امتیاز ۱

۳) وجود صدمه زیاد امتیاز ۲

برای نبود کپک (۰) عدم وجود کپک (۱) وجود کپک خیلی زیاد (۲) داده می‌شود. این روش برای ماهی خشک شده دارای حداکثر امتیاز ۱۲ است که این امتیاز (۱۲) به‌عنوان ضعیف‌ترین کیفیت است، در حالیکه امتیاز ۵ متوسط و امتیاز۰ خوب خواهد بود .

۲-۸-۱۸- تضمین کیفیت

سیستم تضمین کیفیت براساس اصول نظام حصپ[1] (HACCP) که برای ماهی نمک زده و خشک شده پایه‌ریزی و استفاده می‌شود. نقطه کنترل بحرانی[2] (CCP) می‌تواند به‌عنوان یک محل، روش، یا مرحله فرآوری تعریف شود که خطر در آن کنترل می‌شود. وقتی که CCP خطر را به صورت کامل کنترل و یا حذف می‌کند به

[1] - Hazard analysis Critical control Points
[2] - Critical control Point

صورت CCP-1 نشان داده می‌شود و وقتی خطر را به صورت کامل کنترل و یا حذف نکرده است بصورت CCP-2 آورده می‌شود. وقتی که نظام حصپ را برای تولید ماهی خشک شده و نمک سود شده به کار می‌بریم، مشکلی که وجود دارد این است که در بیشتر مواقع عرضه کننده‌های ماهی تازه و تولید کنندگان ماهی خشک شده متغیر هستند و فقط در بازار خرید و فروش همدیگر را ملاقات می‌کنند، چون موثر بودن سیستم حصپ بستگی به این دارد که این سیستم برای همه مراحل از صید تا مصرف توسط یک گروه به کار گرفته شود. خطرات مرتبط با صید و حمل و نقل ماهی تازه شامل آلودگی‌های شیمیایی و فیزیکی از منابع خارجی مثل نفت، آلودگی میکروبیولوژیکی ناشی مگس ها، از عمل آنزیم‌ها و پاره شدن شکم، تولید توکسین‌ها ، اتولیز، تغییر ماهیت پروتئین، اکسیداسیون و دیگر واکنش‌های بیوشیمیایی می‌باشند که همه اینها را می‌توان کاهش داد اما حذف نمی‌شوند، از اینرو جز CCP-2 می‌باشند. طی خشک کردن و نمک سود کردن امکان بیشتری برای ایجاد فساد فیزیکی، میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی وجود دارد که همه آنها از CCP-2 هستند (Kow *et al.*,1998).

جدول ۲-۱۸ نکات بحرانی که در فرآورده‌های خشک و نمک سود شده باید کنترل شوند را نشان می‌دهد.

جدول ۲-۱۸ – موارد قانونی که باید در تولید فرآورده خشک و نمک سود شده ماهی باید کنترل شوند.

تجزیه واندازه‌گیری خطرات نقاط خطرزا	نوع خطر	عوامل بحرانی مورد کنترل	جلوگیری، کنترل، عوامل مورد بازرسی
مکان تخلیه ماهی	رشد میکروبها	زمان – درجه حرارت طبق (CCP2)	استفاده از یخ بهداشتی، یخ گذاری هرچه زودتر – درجه $۱-۵\,°C$
شستشوی	آلودگی بوسیله میکروب‌ها و مواد شیمیایی	دستورات بهداشتی (CCP2)	استفاده از آب بهداشتی
شور نمودن	آلودگی بوسیله میکروب‌ها	دستورات بهداشتی (CCP2)	استفاده از نمک تمیز، بازرسی برای وجود باکتری‌های نمک دوست استفاده از مخزن بهداشتی برای شور کردن
خشک نمودن	رشد میکروب‌ها و آلودگی به حشرات	زمان – درجه حرارت طبق (CCP2)	کم کردن فعالیت آبی به ۰/۹۱ در کمتر از ۴۸ ساعت. استفاده از محل‌های بدون حشرات
انبار نمودن	رشد میکروب‌ها و آلودگی به حشرات	رطوبت، بهداشت، درجه حرارت و زمان طبق (CCP2)	رطوبت کمتر از ۶۵٪، عدم وجود حشرات، درجه کمتر از $۱۰\,^{\circ}C$

بنابراین با اعمال شدیدترین کنترل نظام حصپ و به کارگیری آن در طول فرآوری ماهیان از صید تا مصرف به بهترین هدفی که می‌توان رسید، فقط دستیابی به حداقل خطر برای هر فرآورده ممکن است.

یک مثال برای کاربرد حصپ HACCP برای تولید اسکوئید خشک و چاشنی زده شده توسط (Doe, ۱۹۸۸) ارائه شده است. همچنین در این مرجع دستورات پیشنهادی دولت‌اندونزی برای ماهی تازه و تولید فرآورده‌های عمل آوری شده، همراه با دستورات دولت هندوستان برای فرآوری و انبارداری ماهی خشک شده و سایر فرآورده‌های آبزیان داده شده است. تا چه‌اندازه تولید کنندگان سنتی فرآورده‌های خشک شده از ماهی این دستورات را بکار می‌برند. بستگی به اعتقاد آنها به معیارهای تضمین کیفیت دارد. بکارگیری دستورات داده شده در روش تضمین کیفیت یک اصل ضروری برای توسعه و یا وارد شدن به بازارهای بین‌المللی برای فرآورده‌های خشک شده از آبزیان می‌باشد.

کنترل‌درجه حرارت- زمان[1] (TTM) ممکن است برای کنترل زمان ماندگاری ماهی منجمد یا سرد شده استفاده شود. TTM درجه حرارت فرآورده رااندازه‌گیری می‌کند و تاثیرات نوسانات درجه حرارت‌های مختلف پیش آمد شده برای فرآورده را در زمانهای متفاوت نشان می‌دهد. تاثیر کلی نوسانات درجه به وسیله تغییر رنگ در بعضی از انواع TTM مشخص می‌شود (Olley & Lisac, ۱۹۸۵). نوع دیگر از TTM درجه حرارت رااندازه می‌گیرد و بااندازه‌گیری سرعت‌های رشد باکتریهای عامل فساد را از روی مدل‌های مربوطه محاسبه می‌کند، سپس مربع ریشه سرعت رشد باکتری را به درجه حرارت ارتباط می‌دهد (Owen & Nesbitt, ۱۹۸۴).

مدل رشد باکتری در معادله ۱۸-۱ می‌توان به صورت کاربردی در یک دستگاه الکترونیکی مورد استفاده قرارد داد، تا سرعت رشد باکتریهای عامل فساد در ماهی خشک شده و نمک سود شده را کنترل نمود. از مقدارهای‌اندازه‌گیری شده درجه حرارت، فعالیت آبی، PH می‌توان به‌عنوان داده‌ها، برای محاسبه سرعت رشد باکتریهای مخصوص استفاده نمود و از طرفی با استفاده از زمان امکان دارد که تعداد باکتری اولیه در فرآورده را حدس زد. تلاش هایی برای بهبود این روش جهت کارآیی هرچه بهتر آغاز شده است. تلاش اصلی در اینست که بتوان دستگاه را هرچه کوچکتر، ارزان تر و به‌اندازه کافی تغییرپذیر ساخت تا بتواند ماهی را در تمام مراحل عمل آوری و خشک نمودن همراهی نماید. گزینه جانشین دیگر دستگاه‌های بیوشیمیایی و یا بیولوژیکی می‌باشند. روش TTM[2] برپایه ماده شیمیائی حساس به حرارت، تغییر رنگ را سنجش می‌نماید. آیا یک ماده شیمیائی حساس به درجه حرارت، فعالیت آبی و PH وجود دارد؟ اگر جواب مثبت باشد، آیا می‌توان روشی را پیدا نمود که

[1] - Time- Temperature Monitors
[2] - Time-Temperature Monitors

این ماده در تحت آن تغییر رنگ داده و این تغییر رنگ نشانه‌ای از تغییرها در سه فاکتور بالا و ارزیابی از کیفیت باشد؟

امکان دیگر را که می‌توان بنام "Miner's Canary" نامیده می‌شود، آن این است که آیا باکتری بی خطری وجود دارد که بتوان آن را به محیط رشد باکتری‌ها تلقیح نمود بطوری که باعث آلودگی ماهی نگردد و ضمناً با یک نرخ مشخص فاسد شود و نشانه‌های قابل مشاهده از فساد را نشان دهد؟ این روش بنظر می‌رسد که محتمل ترین کاندیدا برای تحقیقات آینده می‌باشد. شاید نگهداشتن این باکتری به صورت زنده تا شروع فرآیند مشکل اصلی موجود در این روش باشد.

۹-۱۸- منابع فصل هجدهم

BRACE RESEARCH INSTITUTE. 1973. 'How to make a solar cabinet dryer for agricultural produce.' Ste Anne deBekkevue, Canada: McGill University.8p.
BRENNENDORFER, B., KENNEDY, L., OSWIM BATEMAN, C.O., TRIM, D.S., MEMMA, G.C. and WEREKO-BROBBY, C. 1985. Solar Dryers- their role in post-harvest processing. Commonwealth Scientific Council, Commonwealth Secretariat, Marlborough House, Pall Mall, London SW1Y 5HX, 337p.
BURT, J.R. (ed.) 1988. *Fish smoking and drying: the effect of smoking and dryin on the nutritional properties of fish.* Elsevier Science Publishers Ltd.
Barking, England. 166p.
CLUCAS, I.J.. and WARD, A.R. 1966. *Post-harvest Fisheries Development: A Guid to Handling, Preservation, Processing and Quality.* Chatham Maritime,
Kent ME44TB, United Kingdom, 443p.
DOE, P.E. (ed.) 1998. *Fish drying and smoking production and quality.*
Technomic Publishing Co Inc. Lancaster. 250p.
DOE, P.E., AHMED, M., MUSSELMUDDIN, M. and SACHITHANANTHAN, K. 1977. 'A polythene tent dryer for improved sun drying of fish.' *J. Food Technol*.,
17:124–134.
DOE, P.E. and OLLEY, J.N. 1990 'Drying and dried fish products'. In *Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation*. (ZE Sikorski ed.)
CRC Press, Boca Raton, Florida, Chap 8 125–45.
DOE, P.E, OLLEY, J.N, HAARD, N.F. and GOPAKUMAR, K. 1998' Methodology for quality measurements' in *Fish Smoking and Drying Production an Quality* (PE Doe ed.) Technomic Publishing Company Inc, Lancaster,
USA Chap 5, 117–35.
DOE P.E., RAHILA HASHMI, POULTER R.G. and JUNE OLLEY 1982.' Isohalic sorption isotherms I. Determination for dried salted cod (*Gadus morrhua*)'. *J.F Techno*l. 17:125–34.
EXCELL, R.H.B. and KORNSAKOO, S. 1978. 'A low cost solar rice dryer.'
Appropriate Technology, 5(1):23–4.
KOW, F., MOTOHIRO, T., DOE, P.E., HERUWATI E.S. 1998 'Quality assurance'. in *Fis Smoking and Drying Production and Quality* (P.E. Doe ed.) Technomic Publishing Company Inc, Lancaster, USA Chap 6, 137–55.
MCKEEKIN, T.A., ROSS, T and OLLEY, J. 1992. 'Application of predictive microbiology to assure the quality and safety of fish and fish products.'
Int.J.Food Microbiol. 15:13–32.
MURALEEDHARAN, V. and VALSAN, A.P. 1980. 'Preparation of masmin – an improved method' *Fish Technol*., 17(2):99–101.
OLLEY, J.N. and LISAC, H. 1985 'Time-temperature monitors'. *Infofish Marketin Digest* 3, 45–7.
OWEN, D. and NESBITT, M.A. 1984 'A versatile time-temperature function

integrator'. *Lab. Pract.* 33, 30–75.
SACHITHANANTHAN, K., TRIM, D.S. and SPEIRS, C.I. 1986. *Proc FAO Exper Consultation on Fish Technology in Africa*, Lusaka, Zambia, FAO Fish.
Rep.No 329, Food and Agricultural Organisation, Rome. 161p.
SCOTT, W.J. 1936. 'The growth rate of micro-organisms on ox muscle. 1. The influence of water content of substrate on growth at 1ºC' *J. Counc. Sci. Ind. Res. Aust*., 9:177–90.
TRIM, D.S. and CURRAN, C.A. 1983. *Comparative study of solar and sun drying i Ecuador*. London: Report of the Tropical Products Institute, L60. 44p

« فصل نوزدهم »

مدیریت کیفیت ماهیان انبار شده

۱-۱۹- مقدمه: شاخص‌های کیفی برای ماهی

مدیریت تولید و کیفیت ماهی به‌عنوان ماده خام در مرحله نگهداری در انبار دارای اهمیت زیادی در شیلات می‌باشد. ماهی محصولی با فسادپذیری بالا است. عرضه ماهی ثابت نیست و ماهی تازه را می‌توان فقط به مدت کوتاهی نگهداری نمود. تازگی یکی از مهمترین جنبه‌های کیفی ماهی و فرآورده‌های آن می‌باشد. برای همه نوع ماهی و فرآورده‌های آن تازگی کمک شایانی به کیفیت آنها می‌کند (Olafsdottir,1997). از لحظه‌ای که ماهی صید می‌شود فرآیند فساد شروع می‌شود و کیفیت ماهی برای استفاده به‌عنوان یک غذا تحت تاثیر قرار می‌گیرد. تغییرات در ترکیب و ساختار بخاطر فعالیت‌های باکتریایی, آنزیمی, فیزیکی و شیمیایی رخ می‌دهد.

تغییرات حسی از طریق حواس انسان احساس می‌شوند، مثل ظاهر،بو،بافت و مزه. روش‌های حسی دارای فواید زیادی می‌باشند. ارزیابی حسی, روشی سریع و قابل اتکاء بالا و بدون نیاز به تجزیه ماهی می‌باشد و نیازی به تجهیزات گران قیمت ندارند. اما افراد گروه ارزیابی کننده خصوصیات کیفی(panellists) نیاز به آموزش بصورت مستمر تحت نظارت کارشناسان مجرب حسی را دارند که این کارشناسان مجرب برای آموزش از نمونه‌های ماهی در مراحل تازگی مشخص شده استفاده می‌کنند.

ارزیابی حسی ماهی خام در محل تخلیه ماهی در بنادر و عمده فروش‌ها و طی نگهداری ماهی در یخ قبل از فرآوری به وسیله ارزیابی از ظاهر، بافت و بو ماهی انجام می‌شود. بیشتر روش‌های امتیاز دهی بر اساس تغییراتی طراحی می‌شوند که طی نگهداری ماهی در یخ در حال ذوب در آن رخ می‌دهد. تغییرات در ویژگی‌های کیفی ماهی مختلف‌اند که بستگی به روش نگهداری ماهی در انبار دارد. دانستن تاریخچه درجه حرارت، زمان و حمل و نقل ماهی اطلاعات مهم و مفیدی درباره‌ی کیفیت ماهی بدست می‌دهند. مراحل و ویژگی فساد در ماهی

نگهداری شده در یخ می‌تواند به وسیله ارزیابی حسی تعیین و به چهار مرحله تقسیم شود (Huss,1988). در اولین مرحله ماهی تازه با مزه عالی تعریف می‌شود اما در مرحله دوم ماهی بو و مزه‌ی ویژه و اصلی خودش را از دست می‌دهد. در مرحله سوم علائم فساد بروز می‌یابد و بالاخره در مرحله چهارم ماهی را می‌توان به‌عنوان یک فرآورده فاسد و گندیده به حساب آورد. تغییرات بافتی بعد از صید در شروع جمود نعشی علائم خیلی مشهود می گردند، اولاً ماهیچه‌ها سفت و سخت می گردند،زمانی که جمود از بین می‌رود و ماهیچه به حالت اول برمی‌گردد، و شل و نرم می‌شود اما این ماهیچه‌ها مانند گذشته الاستیک نمی‌باشد.

استفاده از آنالیز حسی در شیلات و فرآورده‌های ماهی در حال افزایش است (York & Sereda,1993). آزمایش‌های حسی ضروری می‌باشند و ادامه خواهند یافت ولو اینکه روش‌های ابزاری موثرتر و ارزان‌تر توسعه یابند. ارزیابی حسی به‌عنوان ابزاری برای درجه بندی براساس استانداردهای فرآورده و برای مطالعه ویژگیهای مخصوص گونه‌های ماهی در ارتباط با ارزیابی کیفی، زمان ماندگاری، شرایط نگهداری و بهبود و نوآوری فرآورده استفاده می‌شود (Nielsen,1997). روش‌های حسی ، اگر بطور صحیح استفاده شوند آنها سریع و دقیق هستند و اطلاعات ویژه‌ای را درباره فرآورده ارائه می‌دهند. آنها باعث‌اندازه‌گیری مستقیم ویژگی‌های حسی ماهی شده و اطلاعاتی را فراهم می‌آورند که به درک بهتر نیاز و انتظار مصرف کننده از فرآورده کمک می‌کند.

روش‌های مشخص کننده تازگی در تمام مراحل تجارتی مختلف در زنجیره شیلاتی از مرحله صید تا مصرف، در محل تخلیه ماهی، حراج، در تمام مرحله خرید و فروش فرآورده به وسیله عمده فروش تا خرده فروش ضروری و لازم است (Oehlenshlager,1997) . ارزیابی مواد خام در کارخانه و طی تولید به صورت منظم در کارخانه های فرآوری ماهی انجام می‌شود، همچنین کنترل کیفیت از مواد خام تازه وارد شده به کارخانه و طی فرآوری برای تطابق و همخوانی با ویژگی یا ویژگیهای مورد درخواست استفاده می‌شود. تشخیص، ضربه دیدگی، استخوانها، فلس‌ها، انگل‌ها و لکه‌های خونی بخشی از این بازرسی است. ارزیابی حسی عمدتاً به وسیله یک کارشناس و یا در بعضی اوقات توسط یک گروه کوچک انجام می‌شود. در کارخانه‌های فرآوری ماهی، گروههای کوچک ارزیاب به معمولاً نمونه‌های پخته شده را براساس ویژگی مورد علاقه خریداران و خرده فروش‌ها ارزیابی می‌کنند.

ایده کلی درباره مفهوم تازگی توسط (Bremner & Sakaguchi,2000) پیشنهاد گردید که در طی آن کلیه ویژگیهای فرآورده تازه صید شده که روی کیفیت آن تاثیر می‌گذارد را جز تازگی بیان کردند. در این ماهی تازه نشانه‌ای از صدمه دیده نمی‌باشد و علامتی از فساد وجود ندارد. تازگی ارزیابی شده به وسیله حواس حسی نه تنها ویژگیهای حسی تازگی ماهی را شرح می‌دهند، بلکه شامل فاکتورهایی مثل خون‌ریزی و نگهداری در انبار می

باشند که می‌توان به‌عنوان هنرکاری (Workmanship) به آنها توجه نمود. در این فصل شاخص‌های کیفیت ماهی توضیح داده خواهند شد که عمدتاً شامل شاخص‌های تازگی و حمل و نقل یا نگهداری ماهی در انبار می باشند و همچنین معیارهای مرتبط با تعریف‌های خاص و روش‌های حسی برای تعیین این ویژگی توضیح داده می‌شود.

۲-۱۹- راهنمایی جهت ارزیابی حسی ماهی

چگونگی نمونه‌برداری، روش‌ها و ابزار و دستگاه‌های لازم برای ارزیابی حسی باید به خوبی و بدون هیچگونه ابهام برای ارزیابی حسی نمونه تعریف شوند تا اهداف موردنظر در مدیریت کیفیت تحقق یابند. روش نمونه‌برداری برای غذاهای از پیش بسته بندی شده که بوسیله روش نمونه برداری از طرف Codex برای غذاهای از پیش بسته‌بندی شده تعریف شده است (Codex XPT13,1969) را می‌توان بعنوان پایه برای طرح‌های نمونه برداری برای ماهی و فرآورده‌های آن مورد استفاده قرار داد. تعداد (Lots) و گروه‌ها (Batches) باید قبل از تصمیم گیری برای تعیین تعداد نمونه‌ها از هر کدام از Batches باید بخوبی تعریف شوند.ارزیابی حسی می‌تواند در مراحل مختلف در فرآوری ماهی بکار گرفته شوند. ارزیابی حسی برای ماهی کامل بطور کلی به وسیله ارزیاب‌های حسی مجرب یا در زمان دریافت ماهی در کارخانه، یا در سالن فرآوری در کارخانه و یا در محل فروش ماهی انجام می‌شود. بهرصورت، ارزیابی حسی فیله پخته شده باید در اتاق هایی در آزمایشگاه با تجهیزات خاص انجام شود. راهنمایی Codex برای ارزیابی حسی ماهی در آزمایشگاه در دستورالعمل (Codex CAC-GL31,1999) درباره تجهیزات، دستورالعمل‌ها و آموزش ارزیاب‌ها شرح داده شده است. می‌توان برای ارزیابی حسی ماهی و فرآورده‌های آن مورد استفاده قرار داده شود. دستورالعمل‌ها برای ارزیابی حسی با توجه به نیازهای Codex نوشته شده‌اند، اما می‌توان از آنها در جایی که ارزیابی حسی فرآورده‌های ماهی برای تأئید کیفیت ماهی و فرآورده‌های آن مورد نیاز است از آن استفاده نمود. دستورالعمل‌های Codex معمولاً همراه با لیستی از مرجع‌ها و سندها می‌باشد. در آزمایش‌های تضمین کیفیت معمول است که از تعداد کمی از آزمایش‌های حسی و ارزیاب‌های مجرب استفاده بعمل آید.

۱-۲-۱۹- تجهیزات برای ارزیابی حسی

در ارزیابی حسی در صنعت شیلات از فرآورده‌های ماهی یک ارزیاب مجرب یا یک تیم، ارزیابی حسی را به صورت روزانه انجام می‌دهند. برای جلوگیری از بروز اشتباه در ارزیابی حسی در کنترل کیفی روزانه، ضروری است که از سیستم‌های درجه بندی یا از راهنمایی‌ها و استانداردها که بخوبی تعریف شده‌اند استفاده کنیم. برای گرفتن نتیجه خوب در ارزیابی حسی، ارزیاب‌ها باید به خوبی آموزش ببیند و راهنمایی‌های توصیفی و آشکاری از آنچه که ارزیابی می‌کنند داشته باشند. کتاب‌های مربوط به ارزشیابی حسی مواد غذائی معمولاً امکانات مورد نیاز برای ارزشیایب حسی را تعریف می‌کند. در استانداردهای بین المللی و ملی راهنمایی هایی درباره طراحی و ساخت اطاق برای ارزشیابی حسی داده شده (ISO 8589,1988, Meilgaard *et al.*,1999). دستورالعمل‌های داده شده در این مرجع‌ها برای مراکز و محل‌های داده شده است که ارزشیابی حسی یک فعالیت عمده روزانه در آنها می‌باشد، مثلاً در آزمایشگاه هایی که به کار تحقیق و نوآوری در مواد غذائی (R&D)[1] در شرکت‌های بزرگ مواد غذایی مشغول بکارند. ارزشیابی حسی برای کنترل کیفیت مواد غذائی باید بهمان دقتی که در آزمایشگاه‌های (R&D) تحقیقاتی انجام می‌شود، مورد توجه قرار گیرد. اما امکانات نیازی ندارند که به پیشرفتگی در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی باشند. این ابزار پیشرفته مغمولاً بوسیله کارشناسان مجربی بکار گرفته می‌شوند که نیاز به تعیین یک ویژگی خاصی از موارد حسی در غذا را دارند (Botta,1995).

تأثیرات عوامل محیطی بر روی نتایج باید تا حد امکان کاهش یابند، مثل سیستم روشنائی، تهویه، صدا، بوهای خارجی و عوامل استرس زا یا ایجاد پرتی حواس که از آن جمله می‌باشند.

۲-۲-۱۹- آموزش افراد ارزیاب

چگونگی انتخاب و آموزش ارزیاب‌ها در راهنمایی‌های بین‌المللی و استانداردها مفصلاً شرح داده شده است (; Codex CAC-GL31,1999 ISO-B586-1,1993). ارزیاب‌ها باید قادر به شناسایی بوها و مزه‌های اساسی باشند و آنها را در تکرارها بدون خطا توصیف کنند. آنها باید دید رنگی طبیعی داشته باشند و قادر به آموزش لغت‌ها و اصطلاحات تخصصی باشند. در صورت نیاز به شرکت کننده‌ها برای ارزیابی باید برای درک بو؛ رنگ و بافت باید پس از آزمایش، انتخاب شوند. راهنمایی‌های Codex پیشنهاد می‌کند که برای ارزیاب‌ها یک واحد درسی برای ارزیابی حسی فرآورده‌های ماهی تدوین شود.

---

[1] -Research anddevelopment

برای راهنمائی تیم‌های ارزیاب حسی، که کار آنها در زمینه تحقیق و نوآوری می‌باشد ISO یک راهنمای ارزیاب (ISO-8586-2,1994) منتشر کرد. پیشنهاد شد شرکت‌هایی که از ارزیاب حسی برای کنترل فرآورده‌هایشان استفاده می‌کنند. این افراد باید دارای شخصیت‌های ویژه‌ای باشند، این ویژگیهای شخصی خیلی مهم هستند زیرا که در انتخاب افراد برای کارهای حسی، ویژگیهای مثل صداقت و وظیفه شناسی و دقیق بودن خیلی تعیین کننده هستند. هم‌چنین این افراد باید علاقمند به ارزیابی حسی و به‌طور کلی به مواد غذائی غذا باشند. آنها براساس وظیفه روزانه، باید به آسانی در دسترس و سالم باشند. آموزش یک کار هزینه براست و ارزیاب‌ها باید براساس یک طرح منظم آموزش لازم را بطور مستمر فرا بگیرند. ارزیاب‌های خیلی تخصصی‌تر و تیم‌های بزرگتر که برای ارزیابی ویژگیهای فرآورده‌های ماهی استفاده شدند به وسیله (Botta,1995) توصیف شده است.

۳-۱۹- ارزیابی حسی ماهی

طی ۵۰ سال گذشته، طرح‌های زیادی برای ارزیابی حسی ماهی خام ارائه شدند. در ایستگاه تحقیقاتی Torry (Shewan *et al.*,1953) اولین روش جدید را با ارائه جزئیات ارائه نمود. در این روش از صفحه امتیازبندی شده برای ارزیابی حسی ماهی خام سفید استفاده می‌شود و فاکتورهای حسی طبقه‌بندی گردیده‌اند. ظاهر کلی ماهی، بو و بافت ماهی و گوشت ماهی، شامل پارگی شکم شرح داده شده‌اند. هم‌چنین بو، مزه و بافت ماهی پخته نیز شرح داده شده است.

از آزمایش توصیفی[1] برای تعیین کیفیت و زمان ماندگاری می‌توان استفاده نمود. در روش امتیاز دهی[2] سازمان‌دهی شده به ارزیاب‌ها یک صفحه امتیاز بندی شده می‌دهند که در آن درجه شدت ویژگی مدنظر را نشان می‌دهد. تعداد کمی‌از ویژگی‌های تخصصی‌تر را غالباً براساس کار ارزیاب‌های مجرب تر انتخاب می‌گردند. واژه‌های توصیفی انتخاب، سپس ارزیاب‌ها را آموزش می‌دهند که بتوانند از این واژه‌ها برای ارزشیابی بصورت کیفی (Objective) بجای (Subjective) استفاده نمایند (ISO 11035,1994 ، Nielsen,1995).

[1] - Descriptive Testing
[2] - Structural Scaling

۱-۱۳-۱۹- ارزیابی ماهی کامل: روش اتحادیه اروپا

امروزه در اروپا روشی که برای ارزیابی کیفیت ماهی خام در صنعت و بازرسی اداره نظارت فرآورده بیشتر استفاده و پیشنهاد می‌شود روش Eu است که توسط دستورالعمل (EC) به شماره No2406/96 در ۲۶ نوامبر سال ۱۹۹۶ تصویب شده (Anon,1996). در این طرح سه درجه تازگی برای ماهی در نظر گرفته شده است که براساس پیشرفت فساد می‌باشد و شامل درجه‌های E ,A ,B است . E (extra) بالاترین کیفیت تازگی ممکن است در حالیکه درجه‌های زیر B درجه است که ماهی برای مصرف انسانی نامناسب است. این روش، اطلاعات نسبتاً محدودی دربارهٔ وضعیت ماهی می‌دهد زیرا که این روش وابسته به گونه ماهی نمی باشد و درنتیجه اختلاف های بین گونه ای را در نظر نمی گیرد و یا بعبارت دیگر مرتبط به گونه نمی‌باشد و بنابراین فرقی بین گونه‌ها نمی‌گذارد. روش Eu معمولاً در سطوح عمده فروشی‌ها نیز پذیرفته شده اما، بهرصورت استفاده از آن مورد اختلاف می‌باشد. استفاده از روش Eu منتج به این نمی‌شود که این روش بتواند اطلاعات لازم برای پیش بینی زمان ماندگاری و یا زمان ماندگاری باقیمانده را فراهم آورد. از دست رفتن درجه تازگی در مرحله‌های شرح داده می‌شوند که مستمر نیستند. لذا سیستم درجه بندی روش Eu دارای چندین اشکال عمده می‌باشد. قبل از اینکه ماهی در یک درجه معین طبقه بندی شود، ویژگی‌های کیفی مختلف ارزیابی می‌شوند. بهر دلیل زمانی‌که ویژگیهای حسی با همهٔ موارد تعریف شده در یک درجه‌بندی یک تطابق نیابند، درجه بندی کننده یا ارزیاب دچار سردرگمی‌می‌شود. این امر باعث افزایش زمان جهت تصمیم گیری در مورد درجه فرآورده می‌شود و همچنین باعث کاهش ارزش نتایج و هدف از ارزیابی می‌شود (Botta ,1995).

نتایج آنالیز آماری حاصل از درجه بندی به وسیله‌ی لند و شیردینگ (Land & Shepeding ,1984) مورد سؤال واقع شده است. استفاده از درجه‌بندی نمودن بین درجه‌ها مورد موافقت قرار نگرفته است. پردازش اطلاعات امتیازات کیفی داده شده می‌تواند خیلی مشکل آفرین باشد. از درجه‌های بدون ابعاد (یک بعدی) در صورت امکان می‌توان استفاده نمود. اما به هر حال امتیازهای کیفی حتی برای یک عیب مثل اکسیداسیون نیز چند بعدی می‌باشند (Lawless ,1994).

۲-۳-۱۹- ارزیابی ماهی کامل : روش درجه‌بندی

این موضوع برای یک روش ارزیابی حسی که برای مدیریت کیفیت بکار برده می‌شود حیاتی است که این روش قادر به انعکاس سطوح کیفی مختلف بصورت ساده و قابل نوشته‌شدن باشد (مستند نمودن). بنابراین، روش‌های

جدید و بهینه شده برای ارزیابی تازگی و درجه‌بندی فرآورده‌های شیلاتی که هم سریع و هم قابل‌اندازه‌گیری می‌باشند، برای گونه‌های مختلف در حال تکامل‌اند. روش Guality Index Method (QTM) یکی از این روش‌ها است و دارای چند ویژگی خاص می‌باشد. QIM روشی است که ابتداً براساس طرح داده شده توسط واحد Tasmanian Food Research پایه‌ریزی شده است (Bremner,1985). روش QIM باید برای هرگونه بصورت جداگانه بکار گرفته شود.

روش QIM تا امروز در ماهیان زیر به کار رفته است. شگ ماهی (Clupea haengus)، ماهی کاد (Godus Morhuo)، (Jonsdottir ; Larsen *et al.*,1992)، ماکرل اسبی (Trachurus trchurus) ماکرل آتلانتیک (*Scomber Somberus*)، ساردین اروپائی (*Sardina pilchardus*)، (Andrade *et al.*,1997)، ماهی قرمز(*Sebastes mentella marinus*)، بریل (*Rhombus laevis*)، دب (*Limanda Limanda*)، هاداک (*Melanogrammus aeglefinus*)، پولاک (*Pollachius virens*)، سُل (*Soleas vulgaris*) توربوکت (*Scophtalmus maximus*)، و میگو (*Pandalus Borealis*) (Mrtinsdo-Ttir *et al.*,2001; ۲۰۰۰a Luten) بریم سرطلائی دریائی (*Sparus Aurata*) (Huidobro *et al.*,2000) و ماهی آزاد پرورشی (*Salmo Salar*) (Sveinsdottir *et al*,.2001,2002,)، روش QIM توسط (Warm *et al.*,1998) برای ارزشیابی کیفیت ماهی کاد منجمد پیشنهاد گردیده است. (Jensen & Jorgensen,1988) روش QIM را در ماهی کاد انجماد زدایی شده مورد استفاده قرار دادند و گزارش دادند که این روش برای درجه بندی کیفی صنعتی مواد خام منجمد بسیار موثر است. (Huidobro *et al.*,2001). اثر شست و شوی شانک سر طلایی را روی ارزیابی حسی به وسیله QIM بررسی کردند. QIM دارای چندین مزیت است که شامل زمان نگهداری طی شده و باقیمانده در یخ (Botta,1995 ;Luten & Martinsbottin,1997;Hylding & Nielsen,1996) می‌باشد. این روش براساس تغییرات ویژگی‌های کیفی پایه ریزی شده که در ماهی خام صورت می‌گیرد. QIM براساس تغییرات ویژگی‌های مهمی‌مثل وضع ظاهری (چشم ، پوست، آبشش، بو) ماهی خام طراحی گردیده و روش امتیازدهی آن از ۰ تا ۳ می‌باشد. این امتیازها برای همه ویژگیها خلاصه گردیده تا نتیجه امتیاز کلی که معروف به شاخص کیفیت است بدست آید. در جدول ۱۹-۱ نمونه‌ای از روش QIM داده شده است. در این روش توسعه علمیQIM برای گونه‌های مختلف که خواستار داشتن در زمینه شاخص کیفیت برای آنها در صنعت می‌باشند به صورت خطی با زمان نگهداری در یخ افزایش می‌یابد (Nielsen,1995).

شرح هر امتیاز برای هر فاکتور در روش QIM در جدول لیست گردیده. ارزیاب حسی باید همهٔ فاکتورهای مشخص شده در این روش را ارزیابی کند. از آنجائیکه شاخص کیفیت به صورت خطی با زمان نگهداری در یخ

افزایش می‌یابد لذا این اطلاعات خیلی مناسب برای استفاده در مدیریت تولید می‌باشند. (QIM) برای استفاده افراد کم تجربه جهت ارزیابی ویژگی‌های کیفی ماهی، آموزش ارزیاب‌ها و کنترل عمل ارزیاب بسیار مناسب است.

وقتی که از روش QIM استفاده می‌شود، ویژگی‌های ظاهری ماهی مثل چشم، آبشش‌ها و بافت ارزیابی می شوند. بوی آبشش‌ها ارزیابی می‌شود و برای بعضی گونه‌ها بو و موکوس پوست نیز ارزیابی می‌شود. رنگ خون و فیله در ماهی (سطح بریدگی شکمی) در ماهی‌هایی که تخلیه شکمی‌شده‌اند ارزیابی می‌شود. برای بعضی گونه‌های ماهی که تخلیه شکمی‌نمی‌شوند مثل ماهی قرمز، تجزیه امعا و احشا همچنین ارزیابی می‌شود. روشQIM به‌عنوان یک روش سریع گزارش شده است (Lersen *et al.*,1992). برای استفاده QIM و دیگراندازه گیریهای کیفیت در سیستم تضمین کیفیت ، یک نمونه باید از یک جمعیت معین گرفته شود. جمعیت همگن نیز باید تعریف شود. این جمعیت می‌تواند جمعیت یک روز صید باشد اما می‌تواند شامل جمعیت‌های متفاوت ماهیان باشد که از محل‌های صید متفاوت در همان روز صید شده‌اند باشد. ماهی‌های مختلف با سرعت‌های متفاوت فاسد می‌شوند. می‌توان با استفاده از آزمایش‌های انجام شده قبلی به یک نتیجه برای‌اندازه نمونه مورد نیاز برای آزمایش‌های حسی رسید. در چنین آزمایشی می‌توان از یک تور ماهی صید شده و یا از یک مزرعه ماهی پرورشی را بطور تصادفی در چند روز متوالی انتخاب نمود. (Sveinsdottier *et al.*,2002) گزارش کردند که با ارزیابی سه ماهی آزاد از هر نمونه (Lot) می‌توان زمان ماندگاری را با اختلاف دو روز در سطح اطمینان ۹۵ درصد پیش بینی نمود اما ارزیابی تعداد بیشتری ماهی آزاد از صید معین ممکن است میزان دقت را افزایش و نتایج را مطمئن تر سازد (Larson *et al.*,1977) گزارش نمودند که در صورتی که میانگین امتیازهای ارزیابی‌ها را مورد استفاده قرارگیرد این امکان وجود دارد که زمان ماندگاری باقیمانده را به فاصله ۱± روز با پیش بینی نمود. این روش خیلی سریع است (تقریباً ۵ دقیقه برای ارزیابی ۱۰ ماهی). در یک دستورالعمل مرجع (Martinsdottir *et al.*,2001). برای ارزیابی تازگی ماهی کامل به وسیله روش (QIM) داده شده در این روش حداقل سه ماهی تا حداکثر ده ماهی به صورت تصادفی و از قسمت‌های مختلف در جعبه‌های ماهی از یک صید همگن باید نمونه برداری شود تا بدین ترتیب اثر اختلافات بیولوژیکی برای تعیین نرخ فساد ماهی به حداقل برسند.

مدیریت کیفیت ماهی در انبار نگهداری

جدول ۱-۱۹- شاخص‌های مدیریت کیفیت برای ماهی آزاد پرورشی

(SVEINS DOTTIR et al., 2002)

شاخص‌های کیفیت	شرح شاخص	امتیاز
پوست: رنگ	صدفی – درخشان در تمام پوست	۰
ظاهر	پوست کمتر صدفی – درخشان است	۱
	روشن، منعقد نشده	۰
مخاط	شیری، منعقد شده	۱
	زرد . منعقد شده	۲
بو	بوی تازه علف دریایی، طبیعی	۰
	خیارر، فلزی، کاه	۱
	ترش، بوی پارچه ظرف پاکنی متعفن	۲
بافت	در مرحله جمود نعشی	۰
	اثر انگشت بسرعت ناپدید می‌شود	۱
	اثر انگشت بمدت ۳ ثانیه باقی می‌ماند	۲
چشم ها: قرنیه	روشن و سیاه، فلزی درخشان	۰
	سیاه متمایل به خاکستری	۱
شکل	کدر، خاکستری	۲
	برآمده	۰
	صاف	۱
	فرو رفته	۲
آبشش ها*:		
رنگ و ظاهر	قرمز تیره متمایل به قهوه ای	۰
	قرمز رنگ پدیده، قهوه ای، خاکستری، سبز روشن ، خاکستری	۱
	متمایل به قهوه‌ای، قهوه ای، سبز	۲
مخاط	شفاف	۰
	شیری، منعقد شده	۱
	قهوه‌ای، منعقد شده	۲
بو	بوی تازه علف دریایی	۰
	فلزی، خیار	۱
	ترش، قارچی متعفن	۲
		۳
شکم:		
خون در شکم	خون قرمز / وجود ندارد	۰
	خون قهوه‌ای شده یا زرد شده	۱
بو	طبیعی	۰
	خیار، خربزه	۱
	ترشیده، تخمیر شده	۲
	متعفن، کلمی	۳
جمع کل شاخص کیفیت		۲۴

* طرفی را آزمایش کنید که آبشش‌ها قطع نشده باشد.

۳-۳-۱۹- ارزیابی فیله‌های خام

برای درجه بندی و ارزیابی کیفی فیله‌ها، نیاز به شرح ویژگیهای حسی متفاوت، مثل ظاهر، بو و بافت وجود دارد. ویژگیهای حسی عمده فیله شامل بو، پارگی در عضله، رگ‌های خونی در پرده شکمی، رنگ خون، ضربه‌دیدگی، رنگ ماهیچه و تعداد نقاط صدمه دیده به وسیله کرمهای روده‌ای می‌باشند. بعضی از اینها با تازگی ماهی مرتبط می‌شوند و بعضی دیگر به علت شکل در حمل و نقل می‌باشند. نقایصی مثل ضربه‌دیدگی و لکه‌های خونی می تواند ارزیابی و شمرده شوند و کرمها می‌توانند شمرده و با استانداردها مقایسه شوند. معیار درجه بندی برای فیله به وسیله (Learson & Ronisvalli,1969) گزارش گردیده است. امتیازات از ۰ تا ۵ داده شدند و برای هر امتیاز ویژگی بو و ظاهر شرح داده شده است. روش درجه بندی کیفیت تازگی برای فیله‌های کاد به وسیله (Martinsdottir & Stefansson,1989) پیشنهاد شده است. نتایج ارزیابی فیله بوسیله استفانسون و همکارانش (1984) پیشنهاد شد. روش QIM نشان داد که این نتایج با مدت زمان نگهداری فیله در شرایط سرد (Chill) دارای همبستگی مستقیم می‌باشند (Bremner *et al.*,1987). یک شاخص کیفیت برای فیله ماهی کاد انجماد زدائی شده توسط (Warm *et al.*,1998) بوجود آمده و روش مشابه ای را می‌توان برای فیله‌های منجمد نشده از گونه‌های مختلف دیگر را بوجود آورد.

۴-۳-۱۹- ارزیابی فیله‌های پخته شده : به روش Torry و QDA[1]

برای ارزیابی حسی, فیله‌های ماهی معمولاً پخته می‌شوند و سپس ارزیابی بو و طعم صورت می‌گیرد. روش Torry قابل استفاده ترین روش برای ارزیابی تازگی ماهی پخته شده می‌باشد (Mastinsdottir,1997)، اما پروفیل حسی هم در آزمایشگاههای تحقیقاتی در اروپا برای این آزمایش نیز استفاده می‌شود (Hylding & Nielsen,1977).

روش Torry در صنایع شیلاتی در بعضی از کشورها و هم‌چنین به وسیله خریداران فرآورده‌های ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرد این روش که یک مقیاس ۱۰ امتیازی توصیفی است که در ایستگاه تحقیقاتی Torry برای گونه‌های چرب، متوسط و کم چرب ماهی بوجود آمد. امتیازها از ۱۰ (خیلی تازه) تا ۳ (فاسد شده) داده می‌شوند. ارائه توضیحات حسی زیر امتیاز ۳ غیر ضروری به نظر می‌رسد زیرا که ماهی کاملاً برای مصرف انسانی نامناسب است. حداکثر زمان نگهداری ماهی را می‌توان به وسیله ارزیابی حسی نمونه‌های پخته شده تعیین نمود. امتیاز حسی

[1] - Quantitative Descriptive Analysis

متوسط ۵/۵ به‌عنوان مرزی برای مصرف ماهی در نظر گرفته شده است (Martinsdottir *et al.*,2001) . در آن مرحله اعضای گروه ارزیابی ویژگی‌های بارز فساد را شناسایی کرده‌اند که شامل مزهٔ تلخ و تغییر طعم می‌باشند.

در مطالعه دیگری که در یک پروژه مربوط به EU روی تازگی ماهی، که در آن از کامپیوتر برای ایجاد و بکاربردن (Development & Implementation) روشی برای ارزیابی تازگی ماهی (QIM) استفاده شده بود. یک رابطه خطی مستقیم بین QI مواد خام و روش Torry برای فیله پخته شده (ماهی هداک و کاد صید شده در دو فصلی) مشاهده گردیده (Martinsdottir *et al.*,2001 ;Lutenetal,2000). این نشان می‌دهد که می‌توان QIM که برای ماهی خام بصورت کامل مورد استفاده است، جانشین آزمایش‌های حسی برای ماهی پخته شده نمود. QIM سریعتر و زودتر در زنجیره تولیداندازه گیری می‌شود.

روش Torry اطلاعات محدودی درباره اینکه چگونه ویژگی‌های هر ماهی پخته شده در طول زمان انبارداری تغییر می‌کند را بدست می‌دهد، اما با استفاده از آنالیز توصیفی که Quantitative Descriptive Analysis (QDA) جزئیات و اطلاعات خیلی بیشتری را می‌توان بدست آورد. آنالیز توصیفی یک روش ارزیابی حسی است که می‌توان بوسیله آن علاوه بر اطلاعات بیشتر درباره نمونه از آن برای تعیین بیشترین زمان ماندگاری فرآورده استفاده بعمل آورد (1988 و Stone & Sidel,1992). در روش (QDA)، تمام ویژگی‌های قابل ارزیابی فرآورده بوسیله ارزیاب‌های مجرد و زیر نظر یک مدیر مجرب ارزیاب، تشریح و لیست برداری می‌شوند. این لیست برای ارزیابی فرآورده بوسیله ارزیاب‌های مجرب، با استفاده از یک معیار تعریف شده برای هر ویژگی ارزیابی می‌گردد. لغات‌های بکار برده شده برای تشریح بو و طعم ماهی به دو گروه ویژگی‌های مثبت و منفی برای خواص حسی تقسیم می‌شوند. بسته به اینکه ارزاب‌های ماهی تازه را ارزیابی نموده و یا ماهی که نزدیک به پایان زماندگاری است، در صورتی که ویژگی‌های تازگی غالب باشند ماهی را تازه و در صورتی که ویژگی‌ها برای ماندگی بیشتر باشند (تعریف‌های منفی) ماهی به حداقل قابلیت پذیرش درجه بندی می‌گردد (2002 و 2001 Sveinsdottir *et al.*,).

۴-۱۹- بوجود آوردن یک شاخص ارزیابی

اطلاعات یا راهنمایی‌های با جزئیات درباره چگونگی ایجاد یک شاخص کیفی در منابع بسیار کم است. دو پژوهشگر (Hyldig & Nielsen,1977) دستورات لازم برای بوجود آوردن شاخص QIM را شرح داده‌اند. هر زمان QIM برای گونه‌های جدید بکار گرفته می‌شود، باید بررسی‌های لازم در زمینه نگهداری فرآورده و یا

ماهی در انبار صورت گیرد، تا اطمینان حاصل شود که معیارهای مناسب و ویژگیهای تعریف شده در طرح QIM بکار گرفته شده‌اند. بطور کلی سه مرحله در ایجاد یک طرح QIM وجود دارد (Sveinsdottir *etal.*,2001a) در قدم اول باید یک بررسی اولیه صورت گیرد. دو یا سه کارشناس در ارزیابی حسی ماهی. ماهیانی را که مدت‌های مختلف در زیر یخ نگهداری شده‌اند را مطالعه می‌کنند. همه تغییراتی که در ظاهر بو و بافت در طول نگهداری ماهی رخ می‌دهد در طراحی مقدماتی لیست می‌شوند (ISO 11035,1994). در قدم دوم توسعه طرح QIM و آموزش یک تیم قرار دارد. قبل از شروع بررسی برای تعیین زمان ماندگاری چندین جلسه و آزمایش‌های حسی باید با همکاری تیم توسعه طرح و انجام شود. در هر جلسه ۳ تا ۴ گروه مختلف از نمونه ماهیانی که در مدت زمانها متفاوت در یخ نگهداری شده‌اند توسط تیم مورد بررسی واقع می‌شوند. در اولین جلسه طرح مقدماتی برای ارزیاب‌های حسی اهداف طرح توضیح داده می‌شود و هم زمان ارزیاب‌ها از نمونه‌های ماهی که برای مدت زمانهای متفاوت در انبار نگهداری شده‌اند را جهت آشنائی با تغییرهایی که در مدت زمان نگهداری ایجاد شده را شناسائی و ارزیابی می‌کنند. توجه ویژه ای باید به نحو ارزیابی داده شود، اگر ارزیابی بعضی از فاکتورها باعث از بین رفتن نمونه ماهی می‌گردد، در این مورد باید پیشنهادات برای تغییر نحوه ارزیابی مورد نظر واقع شود. در جلسه‌های بعدی ارزیاب‌ها نمونه هایی را باید ارزیابی نمایند که اطلاعی از طول مدت نگهداری نمونه در انبار را ندارند. در طول زمان ایجاد روش ارزیابی ممکن است بعضی از پارامترهای ارزیابی حذف شوندو و این در صورتی است که این فاکتورها برای نمونه در هنگام ارزیابی، باعث از بین رفتن آن گردند. هم چنین در صورت تیاز ممکن است از جملات توصیفی که برای شرح دادن تغییرات در نمونه بکار می‌روند و قادر به شرح دقیق تغییرها نمی‌باشند خودداری و از جملاتی که بطوردقیق تر قادر به شرح تغییر یا تغییرات می‌باشند استفاده شود.

در قدم سوم توسعه طرح ارزیابی QIM ، مطالعه کامل برای تعیین زمان ماندگاری صورت می‌گردد که در تمام مرحله‌های این بررسی نباید ماهی‌های نگهداری شده در انبار حمل و نقل شوند. هم چنین در هر زمان نمونه برداری یک نمونه بصورت تصادفی از انبار برداشت می‌شود. به موازات این بررسی‌های برروی شاخص‌های حسی، یک تیم آموزش دیده آزمایش‌های حسی را بر روی نمونه‌های پخته شده بوسیله تجهیزات و روش پیشنهاد شده توسط (ISO8589,1988) برای تعیین حداکثر زمان ماندگاری را باید انجام دهند. روش نمونه برداری طبق طرح QIM برای ارزیابی حسی ماهی باید حداقل به سه روز یکبار و ترجیحاً بر روی پنج ماهی باید صورت گیرد. اما در ماهیان ریز ممکن است از تعداد بیشتری ماهی استفاده به عمل آید. در طول مدت زمان آزمایش‌های مربوط به تعیین زمان ماندگجاری ماهی، شاخص‌های شیمیایی، میکروبی برای تعیین چگونگی فساد

ممکن استاندازه گیری شوند. سپس می‌توان از این نتایج برای مقایسه و تعیین چگونگی فساد با نتـایج ارزیـابی حسی استفاده به عمل آورد (2002 و Sveinsdottir *et al.*, 2001). آزمایش‌های مربـوط بـه تعیـین زمـان ماندگاری باید چندبار تکرار گردد تا ضریب همگنی بین شاخص‌های کیفیت و زمان ماندگاری مـاهی در انبـار در زیر یخ بدست آید.

تجزیه و تحلیل نتایج بدست آمده از آزمایش ها، بخش مهمی‌از توسعه طرح QIM می‌باشـد. روش‌هـای آمـاری جهت تجزیه و تحلیل نمودن نتایج بدست آمده از آزمایش‌های حسی توسـط (O'Mahony,1986) شـرح داده شده‌اند. نتایج حاصل از پژوهش بایستی در یک رابطه خطی بکار برده شوند و بدین ترتیب می‌توان رابطـه خطـی بین شاخص‌ها را بدست آورد.

تغییر در تمام ویژگیها در طول نگهداری ماهی در انبار باید مورد بررسی واقع شود و چگونگی و مقدار امتیـازهـای داده شـده به ویژگیها مورد بررسی باید چنان تغییر داده شوند که بالاترین ضریب همـاهنگی بـین شـاخص کیفیـت (QI) و مـدت زمان نگهداری ماهی در انبار بدست آید. برای درک بهتر از چگونگی تغییر در پارامترهای شاخص کیفیت مـاهی بـا مدت طول زمان نگهـداری در انبـار بایـد نتـایج بدسـت آمـده از بررسـی‌هـای حسـی را بـا روش آمـاری چنـد متغیـری (Multivariate Statistcal Methods) مثل Princrpal Component analysis (PCA) باید مـورد تجزیه و تحلیل قرار داد (Martens & Jorgensen,1977). تجزیه و تحلیل آماری بوسـیله (PCA) ممکـن است برای کم نمودن تعداد ویژگیهای مورد نیاز برای تعیین شاخص کیفیت نیز مورد استفاده قرار گیرد. بهر صورت، باید تعداد این ویژگیها به‌اندازه‌ای باشند که نتیجه بدست آمده از نظر آماری معنی‌دار باشـد (Bremener *et al.*,1987).

۵-۱۹- استفاده از شاخص‌های کیفیت در مدیریت نگهداری و طراحی تولید

۱-۵-۱۹- زمان ماندگاری

طرح QIM برای ماهی کامل جهت پیش بینی زمان نگهداری آن در یخ، مدت زمان ماندگاری باقیمانـده و دادن امتیازات طبق روش Torry-Scores برای فیله‌های پخته شده در مدیریت انبار نگهداری و برنامـه‌ریـزی بـرای تولید می‌تواند استفاده شود. پایان زمان ماندگاری ماهی به عنوان تعداد روزهای تعریف شده که ماهی کامل تـازه و یا شکم خالی شده را که در زیر یخ نگهداری شده برای مصرف انسانی نامناسب می‌گردد. بنابراین، تعریف زمان ماندگاری ماهی، تمام مدت زمانی است که ماهی برای مصرف انسانی قابل قبول و مناسـب اسـت. فسـاد بعلـت

فعالیت میکروارگانیسم‌ها عامل اصلی و محدود کننده طول زمان ماندگاری ماهی می‌باشد. عامل دیگر ممکن است اکسیده شدن چربی بخصوص در ماهی‌های چرب می‌باشد. تخمین زمان نگهداری در زیر یخ با تعداد روزهای تعریف شده که ماهی در زیر یخ نگهداری شده است. از این نتایج، می‌توان زمان باقیمانده برای زمان ماندگاری ماهی را طبق فرمول: زمان باقیمانده برای نگهداری ماهی = زمان نگهداری – زمان تخمین زده شده در انبار را پیش بینی و محاسبه نمود.

از آنجائی که تخمین زمان باقیمانده برای نگهداری براساس حدس و بعضی شواهد ظاهری پیش بینی می‌شود لذا تاکید بر آن است که استفاده از آن با احتیاط مورد استفاده قرار گیرد. بعضی از عوامل می‌توانند در روی تخمین زمان ماندگاری باقیمانده تأثیر بگذارند. این عوامل عبارتند از روش حمل و نقل ماهی، سرد کردن سریع ماهی بلافاصله پس از صید و فرستادن بدون تأخیر آن به سردخانه، روش صید، روشهای مختلف خون‌گیری و تخلیه امعاء و احشاء و از آن جمله فصل صید و موقعیت صیدگاه از آن جمله‌اند.

در دستورالعمل منتشر شده بوسیله (Martinsdottir *et al.*,2001) تخمین مدت باقیمانده زمان نگهداری برای ۱۲گونه از ماهی‌ها با فرض شرایط خوب (Optimal) نگهداری در انبار و بدون نوسانات در درجه برودت انبار نگهداری داده شده است. زمان نگهداری و هم چنین تخمین زمان باقیمانده برای نگهداری ماهی در زیر یخ، براساس آزمایش‌های بسیار دقیق در انبارهای نگهدرای کنترل شده، برای ماهی کامل، ماهی تازه شکم خالی شده و در زیر یخ نگهداری شده در روی کشتی، که شامل تخلیه کامل شکمی‌بصورت بهداشتی، شستشو و استفاده از نسبت صحیح ماهی به یخ حاصل گردیده است. پایان زمان نگهداری، زمانی تعریف گردیده که کارشناسان مجرب حسی، طعم فساد را در نمونه پخته شده ماهی را تشخیص دادند. زمان باقیمانده نگهداری برای بیشتر گونه‌ها بین ۱۸–۱۳ روز در زیر یخ تعیین گردیده است. اما برای ماهی شک ماهی (۸روز) و میگو (۶روز) و ماهی آزاد ممکن است (۲۰روز) به ترتیب ۸، ۶ و ۲۰ روز در نظر گرفته شود.

یک رابطه خطی بین شاخص کیفیت و زمان نگهداری در زیر یخ با بهترین ضریب همبستگی برای هرگونه در دستورالعمل (Martinsdottir *et al.*,2001) داده شده است. از خطوط همبستگی برای پیش‌بینی زمان نگهداری گونه موردنظر در زیر یخ بعد از ارزشیابی شاخص کیفیت (QI) و زمان باقیمانده نگهداری استفاده بعمل آمده است. این اطلاعات در کنترل کیفیت و مدیریت انبار ماهی نگهداری شده در زیر یخ مورد استفاده می‌باشند.

۲-۵-۱۹- جدول QC و تجزیه و تحلیل آماری

هر زمان که نتایج درجه بندگی تازگی ماهی بعنوان بخشی از برنامه کنترل کیفی در نظر گرفته می‌شود، تجزیه و تحلیل این اطلاعات ممکن است شامل مقایسه نتایج برای پائین‌ترین امتیاز و یا بالاترین امتیاز یا برای هر دو امتیاز بالاتر و پائین‌تر که قبلاً توسط مدیریت کیفیت و خریدار موافقت شده است، باشد. وقتی که نتایج QIM مورد استفاده واقع می‌شوند، این درجه بندی‌ها به تمام عیب‌های موجود یا شاخص کیفیت ارتباط داده می‌شوند. زمانی که از جدول‌های کنترلی برای کنترل نمودن تازگی غذاهای دریائی، برای یک غذای دریایی بخصوص در یک مدت زمان مشخص استفاده می‌شود، این جدول ها، شناسائی سریع نقاط و شرایط خارج از کنترل را میسر می‌سازند، در نتیجه این امکان را بوجود می‌آورند که تا روش‌های فرآوری و حمل و نقل مشکل ساز را برطرف نموده و از تولید فرآورده‌های با کیفیت مختلف جلوگیری یا تعداد آن را کم نمود. تهیه نمودارهایی از نتایج امتیازهای داده شده به QIM برای یک دسته یا گروه مشخص از نمونه ها، مثل نمونه‌های انتخاب شده از یک Batch و یا از تمام خط تولید باعث آشکارشدن میزان تغییرات و میانگین امتیاز QI می‌گردد. از نمودارهای کنترل کیفیت برای کنترل تولیدات یک خط تولید استفاده بعمل می‌آید تا مشخص شود که تولید تحت شرایط موردنظر صورت می‌گیرد و تحت کنترل می‌باشد. استفاده کنندگان از نمودار (Control Chart) دارای نتایج آماری می‌باشند، که می‌توانند از روی آنها بین تغییرات اتفاقی و علت ایجاد آنها را شناسائی نمایند. زمانی که نتایج آزمایش‌های حسی در یک روش آماری برای کنترل برنامه تولید مورد استفاده قرار می‌گیرند، باید توجه داشت خیلی مهم است که بین میانگین بدست آمده از نتایج آزمایش‌ها برای یک نمونه از فرآورده و میانگین حاصل شده از یک گروه از نمونه‌ها فرقی گذاشته شود. اگر فقط یک نمونه از فرآورده در زمان‌های تعیین شده، توسط تیم نمونه‌بردار، نمونه‌گیری بعمل آید، نتیجه فقط اطلاعات خام درباره فرآیند در آن نقطه از زمان خواهد بود و نتیجه مستقل از تعداد افراد تیم نمونه برداری می‌باشد. سومین منشاء مهم متغیر بودن نتایج حسی متغیر بودن نحوه‌اندازه‌گیری و یا ارزیابی می‌باشد. در اینجا، وسیله ارزیابی، تیم ارزیاب می‌باشد، که می‌تواند دارای حساسیت در مقابل تعداد زیادی از ویژگی باشد، که این خود می‌تواند باعث تأثیرگذاری روی ارزشیابی گردد. می‌توان از استانداردهای کیفیت برای نتایج بدست آمده از ارزشیابی حسی مانند دیگر روش‌های‌اندازه‌گیری بوسیله آزمایش‌های آزمایشگاهی استفاده نمود. معمولاً دو علت برای متغیر بودن (Variability) نتایج باید در نظر گرفت، علت اول را باید در داخل هر دوره و در زمان نمونه برداری و علت دوم را درفاصله بین دوره های نمونه‌برداری. اختلاف در نتایج ارزیابی در داخل هر دوره را می‌توان با افزایش تعداد افراد کارشناس ارزیابی با این فرض که بخوبی آموزش دیده‌اند و در یک سطح استاندارد می‌باشند، کاهش داد. اختلاف در نتایج، در فاصله بین

دوره های نمونه برداری می‌تواند بعلت تغییردادن شرایط محیط ارزیابی، استفاده از کارشناسان ارزیاب مختلف و هم‌طراز نبودن آنها بوجود آید. برای کم نمودن اختلافات در نتایج در چنین شرایطی باید از استانداردهای آزمایشگاهی بر کنترل و کاهش دادن آنها استفاده نمود. داشتن یک تیم ارزیاب مجرب و نگهداشتن آنها از موارد خیلی مهم برای بدست آوردن نتایج قابل اعتماد است (Munoz *et al.*,1992).

استفاده نمودن از آنالیز واریانس برای تجزیه و تحلیل نمودن بعضی از نتایج بدست آمده از روش درجه بندی می‌تواند مشکل آفرین باشد. نتایج ممکن است که مطابق با فرض هایی که برای استفاده از تجزیه و تحلیل آنها بوسیله واریانس لازم است نباشند (O'Mahony,1982). تجزیه و تحلیل امتیازهای حاصل از بکاربردن QI براساس جمع عیب‌ها در تمام نمونه می‌باشند نه براساس هریک از ویژگی‌ها برای یک نمونه. لذا محدود امتیازهای مورد استفاده در QI خیلی وسیع‌تر از محدوده ای می‌باشد که معمولاً برای درجه بندی و فرض‌هایی می‌باشند که در تجزیه و تحلیل آماری بکار می‌روند (Botta,1995). مجموع امتیازها ممکن است بصورت یکنواخت توزیع شوند. اگرچه این روش در مورد هر امتیاز بصورت جداگانه شاید اینطور نباشد.

۶-۱۹- نگهداری ماهی در تحت شرایط مختلف انبارداری

بررسی‌های انجام شده توسط (Bremner *et al.*,1987) تاثیرهای درجه حرارت و زمان را به وسیله روش حسی QIM بر کیفیت ماهی را شرح داده‌اند. دو عامل تعیین کننده فساد در غذاهای دریائی سرد شده (Chilled)،طبق گزارش آنها فساد میکروبی و تجزیه شدن نوکلئوتیدها می‌باشند که تحت تاثیر درجه حرارت محیط می‌باشند. هم چنین شواهدی در دست است که در مجموع تمام فرآیندهای فساد در غذاهای دریائی تا ۱۵ درجه سانتیگراد دارای روندی مشابه‌اند، زمانی که بعضی از عوامل ممکن است که دخالت داشته باشند. هر روشی که برای ارزیابی تغییرها در مواد غذائی دریائی نگهداری شده در انبار مورد استفاده قرار گیرد،خود روش باید به تغییر درجه حرارت در انبار همان واکنشی را نشان دهد که مواد غذائی دریائی از خود نشان می‌دهد. اگر روش مورد استفاده دارای چنین ویژگی هایی نباشد می‌توان آن را فقط در نزدیک به درجه و یا در یک درجه مشخص مورد استفاده قرار داد. از روش‌های ارزیابی حسی بندرت بعنوان توام کننده اثر زمان و درجه حرارت بر روی کیفیت ماهی استفاده بعمل آمده است. بیشتر آزمایش‌ها در یک درجه حرارت و معمولاً در نقطه ذوب یخ صورت گرفته‌اند. علاوه براین، بعضی از روش‌های امتیازدهی، اجازه انجام ارزیابی مستمر و یا شناسائی اختلاف‌های معنی دار بین نمونه‌ها را امکان پذیر نمی‌سازند. در روش امتیازدهی Torry-Scale در زمان نگهداری ماهی در

سردخانه، هر ماهی دستخوش یک سری تغییرات مخصوص بخودش می‌گردد، بنابراین به هر ماهی طبق تغییرات انجام شده در آن براساس Torry-Scale امتیازی داده می‌شود. روش امتیازدهی براساس Descriptive Scale به نحوی طراحی گردیده که نتایج بدست آمده را بصورت یک رابطه خطی نشان بدهد. در سال (Bremner,1985) روش جایگزینی دیگر برای‌اندازه‌گیری کیفیت عمومی‌ماهی که در درجه‌های مختلف نگهداری شده بود پیشنهاد نمود و آن‌اندازه‌گیری یک ویژگی برای کیفیت ماهی در درجه حرارت‌های مختلف نگهداری بود. این روش باید برای ماهی در هر شکل بصورت کامل، شکم خالی شده و یا فیله شده بکار برده شود. زمانی که شکل کلی فساد برای یک گونه بدست آمده، می‌توان از روش امتیازدهی Demerit Point Score برای ارتباط دادن آن با یک درجه مناسب بعنوان مرجع مثلاً مدت زمان نگهداری در یخ استفاه نمود. زمان نگهداری باقیمانده و یا زمان از دست رفته پس از جمود نعشی (Post-Mortem) را می‌توان به سادگی محاسبه نمود (Branch & Vail,1985). این موضوع که امتیازهای منفی (Demerit Point) برای شاخص‌های کیفیت برای هرگونه بنظر می‌رسد که پشت سرهم اتفاق می‌افتند باعث بی اعتبارشدن این روش نمی‌گردد زیر نسبت نرخ فساد در منحنی فساد براساس مدت زمان در درجه‌های مختلف برای رسیدن به یک حد مشخص شده از فساد قرار دارد. بیشتر مکانیسم‌های فساد (Degradation phenomena) از یک روش پیروی می‌کنند. برسی‌های نشان داده که نسبت میزان افزایش ارزش K (K.Value) و امتیازهای منفی داده شده برای شاخص‌های کیفیت برای دوگونه از ماهی‌ها که در زیر یخ و ۲۶-۲۴ درجه سانتیگراد نگهداری شده بودند شبیه بهم بودند. بیشتر تاکیدها در این بررسی‌ها بر روی زمان ماندگاری ماهی نگهداری شده در انبار سرد (Chilled Storage) گذاشته شده بود، در صورتی که روش‌های ارزیابی باید طوری باشند که بتوان آنها را برای ماهی‌های منجمد هم بکار برد. این روش مناسب استفاده برای کنترل کیفیت در کارخانه و تمام فرآورده هایی می‌باشد که کیفیت آنها با زمان و درجه حرارت تغییر می‌نماید.

احتیاج بع پژوهش‌های بیشتری برای اثبات اینکه QIM این قابلیت را دارد که برای ماهی هایی که تحت شرایط مختلف مثل ماهی منجمد، یخ زدائی شده، نگهداری شده در زیر مخلوطی از یخ و آب (Slurry)، تغییرات در درجه برودت انبار نگهداری... بکار گرفته شود یا خیر. این موضوع خیلی مهم است زیرا در عمل اغلب در زمان انبارداری ماهی در بهترین شرایط زیر یخ نگهداری نمی‌شود و از همه مهمتر اینکه روش‌های بسته‌بندی جدید باعث افزایش زمان ماندگاری ماهی گردیده و همچنین در روند فساد ماهی تغییراتی را ایجاد نموده است. لذا زمانی که از شاخص QIM برای ارزیابی زمان ماندگاری ماهی استفاده می‌شود باید همه این عوامل را در نظر گرفت. نظر Bremner در رابطه با در نظر گرفتن تاثیر هم زمان درجه حرارت و زمان برای پیش بینی زمان

ماندگاری ماهی با طراحی مدل‌های مختلف ارزشیابی حسی براساس شاخص QIM در زمانهای مختلف نگهداری و درجه‌های متفاوت باید بیشتر مورد بررسی قرار گیرد.

۷-۱۹- پیش بینی برای آینده

تلاش‌های تحقیقاتی که در طول چندسال گذشته توسط کشورهای اروپایی (EU) سرمایه گذاری شده است. بیشتر در زمینه توسعه هرچه بیشتر روش‌های حسی (Objective) برای گونه‌های مختلف ماهی می‌باشد. نیاز به‌اندازه گیری کیفیت ماهی، کنترل و برچسب زدن به ماهی نیز مورد بررسی قرار گرفته است. یکی از نتایج بدست آمده از این پروژه‌های سرمایه گذاری شده جدیداً تمام شده بوسیله کشورهای اروپایی "Evaluation Fish Freshness" (EU AIR3 CT942283) در آخر سالی ۱۹۹۷ بنا (Quality Index Method) یا QIM می‌باشد. این روش (QTM) بوسیله European Fish Research Institutes یک روش معتبر برای ارزیابی حسی و تعیین درجه تازگی ماهی به روش Objective می‌باشد (Olafbdottir *et al.*,1997). نتایج نهائی پروژه سرمایه‌گذاری شده بوسیله کشورهای اروپائی (EU) بنام پروژه برای توسعه و کاربرد کامپیوتر برای ارزیابی حسی[1](Qimtt) برای‌اندازه‌گیری درجه تازگی ماهی، (Craft Fair FA-S2-9063)، نشان داد که شاخص QIM یک روش سریع و قابل اتکا و عملی برای ارزیابی تازگی ماهی در حراجها و کارخانه‌های فرآوری ماهی می‌باشد (Luten,2000 a). در حال حاضر یک سیستم کامپیوتری و یک نرم افزاری QIM برای ۱۲ گونه از ماهی‌های مهم اروپائی در دسترس می‌باشد (Martinsdottir *et al.*,2001). از طرف دیگر تعدادی از پروژه‌های QIM بصورت تحقیقاتی در دست اقدام می‌باشند و روز به روز به تعدادشان اضافه می‌شود. نتایج حاصل از تحقیقات فشرده بوسیله "EU Concereteaction, 1998" بر روی زدن برچسب کیفیت و کنترل بر روی ماهی و فرآورده‌های آن نشان می‌دهد که این عمل بوسیله دست‌اندرکاران صنعت شیلات روزبه روز بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (Luten,1999 ;Luten,2000 b). بهرحال، یک مرحله حساس برای بکاربردن QIM در دایره و سیعتر در زنجیره صنعت شیلات فرا رسیده بکار گرفتن QIM-Eurofish از آپریل ۲۰۰۱ یک قدم به جلو در استفاده از روش ارزیابی کیفی QIM بعنوان یک روش استاندارد در طول زنجیره از صید تا توزیع ماهی و فرآورده‌های آن در کشورهای اروپائی (www.qim-eurofish.com) بکار گرفته شده

[1] - Development & Implementation of a Computerised Sensory System

است. مأموریت این روش تشویق به استفاده از روش ارزیابی کیفی QIM بعنوان یک روش ارزیابی کیفیت که می‌توان آن را در شرایط مختلف در زنجیره صید، تولید و توزیع فرآورده‌های شیلاتی در اروپا بکار برد (QIM-Eurofish,2000).

۲۵ سال گذشته شاهد افزایش علاقه در روشهای تضمین کیفیت و بهبود و توسعه آنها در صنعت فرآوری ماهی بوده است (Howgate,1987 ; Luten & Martinsdottir,1997). این خیلی مهم است که تمام دست‌اندرکاران در صنعت ماهی: مثل ماهیگیرها، حراج کنندگان، حمل و نقل کنندگان ماهی، فرآوری کننده‌های ماهی و خرده فروشان ماهی موافقت نمایند که از یک روش استاندارد برای ارزشیابی کیفیت ماهی و تازگی آن استفاده بعمل آورند.

برای سرعت بخشیدن و کوتاه نمودن زمان بین صید ماهی و فرآوری آن، امروزه معمول شده که ماهی را از طریق سیستم کامپیوتری توسط حراج کنندگان آن و در بعضی از مواقع حتی قبل از تخلیه در اسکله به فروش برسانند. بهرصورت، خریدن ماهی بدون دیدن آن می‌تواند مشکل باشد، زیرا برای این کار نیاز به اطلاعات قابل اتکاء درباره کیفیت ماهی دارد. استفاده از یک روش برای ارزیابی کیفیت / تازگی ماهی، می‌تواند باعث سهولت و آسان سازی در خرید و فروش ماهی و تجارت آن گردد. تجارت ماهی از طریق اینترنت افزایش خواهد یافت و استفاده از اطلاعات کامپیوتری درباره تازگی ماهی یک ضرورت خواهد بود. حراج کننده‌های عمده ماهی و کارخانه‌های فرآوری ماهی علاقمند به داشتن یک روش معتبر و قابل اتکاء برای ایجاد سهولت در درجه بندی مواد خام و گرفتن اطلاعات مطمئن درباره کیفیت ماهی می‌باشند.

روش‌های اطلاعاتی در صنعت ماهی برای اطمینان از ردیابی برای کنترل داخلی شرکت ها، طبق دستورالعمل‌های EC یک نیاز ضروری است. روش‌های جدید تضمین کیفیت خواستار ردیابی، کنترل و ثبت کردن تمام پارامترهای مهم و هم چنین پارامترهایی که ممکن است در زنجیره تولید بصورت بحرانی دربیایند می‌باشد. اطلاعات درباره درجه و میزان صید ماهی برای هر صید از جمله این فاکتورهای مهم می باشند. برای تأیید درست بودن این اطلاعات استفاده از روش شاخص حسی QIM می‌تواند یک وسیله مفیدی باشد. پیش بینی می‌شود که QI در آینده وسیله مفیدی برای دادن اطلاعات به صیادان و خدمه کشتی‌های صیادی در رابطه با کیفیت صیدشان باشد، این می‌تواند باعث بهینه شدن روش حمل و نقل ماهی در کشتی صیادی و در نتیجه متجر به کیفیت بهتر ماهی صید شده گردد. کارخانه‌های فرآوری ماهی، که از ماهی صید شده توسط کشتی‌های متعلق بخودشان بعنوان مواد خام استفاده می‌کنند، در زمان صید زمان و درجه حرارت ماهی را ثبت می‌کنند. اما بهرحال آنها مجبور به خرید ماهی از حراجی‌ها و یا دیگر منابع نیز می‌باشند. لذا علاقمند هستند که بدانند تا

چه‌اندازه این ماهی‌های خریداری شده تازه می‌باشند. خریداران ماهی معمولاً از روش‌های حسی و یا دستورالعمل‌های حسی مختلف استفاده می‌کنند و اغلب از کارخانه‌های فرآوری می‌خواهند که روش حسی مورد نظرشان را برای تعیین کیفیت فرآورده بکار گیرند، در صورتی که خریدار و فروشنده از یک روش حسی برای تعیین کیفیت استفاده کنند، این باعث صرفه‌جوئی در زمان و قسمت خواهد شد.

برای ردیابی و مشخص نمودن مسیر ماهی در سراسر زنجیره مدیریتی، پیشنهاد می‌شود که از روش‌های استاندارد مورد قبول برای تعیین کیفیت و تازگی ماهی استفاده بعمل آید. ویژگی‌های کیفیت هر صید را می‌توان در هر مرحله تعریف و ثبت نمود. برای اطمینان از ردیابی و ثبت ویژگی‌ها صید، یک روش برای‌اندازه‌گیری و تأیید نتایج در هر مرحله مورد نیاز است. یک پروژه سرمایه گذاری شده بوسیله (EU-Funded) برای ردیابی فرآورده‌های ماهی "Traceability of Fish Products" بنام (EU-Concerted Action) در سال ۲۰۰۰ برای چگونگی بررسی ردیابی ماهی صید شده و فرآورده‌های ماهی انجام شد. اطلاعات لازم در مورد ویژگیهای کیفی فرآورده‌های ماهی و تغییراتی که در آنها در زمان فرآوری صورت می‌گیرد لازم و ضروری می‌باشد و می‌توان این اطلاعات را از سایت (http://www.tracefish.org) بدست آورد. این سهولتی که در ردیابی فرآورده‌های ماهی در طول تمام زنجیره فرآوری بوجود آمده، در نهایت کمک به مصرف کننده نهایی می‌نماید که مطمئن ا زسلامتی فرآورده با مشاهده تمام اطلاعات بخوبی ثبت شده درباره فرآورده گردد.

مصرف کنندگان درخواست اطلاعات بیشتر درباره کیفیت ماهی و فرآورده‌های آن دارند. پذیرش ماهی و فرآورده آن از طرف مصرف کننده به تازگی آنها مربوط می‌گردد. مصرف کننده ممکن است که در زمانی که ماهی را برای تهیه غذا آماده می‌کند، قادر به شناسائی تمام مراحل تازگی و فساد ماهی نباشد، اما طعم ترکیب‌های نیترونی و سولفوری تولید شده در زمان نگهداری در انبار معمولاً برایش خوش آیند نخواهد بود. در بعضی از کشورها مصرف کنندگان ماهی اغلب آن را در رستوران می‌خورند تا در خانه‌هایشان. بنابراین تقاضا برای تازه بودن ماهی یا دانستن درجه تازگی آن از طرف خرده‌فروشان صورت می‌گیرد. خرده فروشان نقش مهمی‌را در درک مفهوم تازگی در مصرف کننده را دارا می‌باشند (Bisogny *et al.*,1987). امروزه بیشتر ماهی از طرف سوپر مارکت‌ها فروخته می‌شود تا مغازه‌های قدیمی‌ماهی فروشان. لذا صاحبان سوپر مارکت امروزه، اطلاعاتی درباره تازگی ماهی یا فرآورده‌های آن از فروشندگان درخواست می‌کنند، هرچند که این اطلاعات در بسته هایی که ماهی در آن بسته بندی شده نوشته نمی‌شود. چگونه مصرف کننده فرآورده‌های ماهی قابل مصرف را تشخیص می‌دهد، چه ویژگی حسی را آنها در نظر می‌گیرند که بین فرآورده از گونه‌های مختلف را از هم تشخیص دهند و چه ویژگی خاصی بیشترین نقش را در مصرف ماهی و فرآورده‌های آن را بازی می‌کند، این

فاکتورها توسط چندین پژوهشگر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. هم چنین چند محقق در رابطه بااندازه مطلع بودن مصرف کنندگان درباره فاکتورهای مرتبط با کیفیت ماهی را مورد مطالعه قرار داده‌اند. یک ارتباط خیلی نزدیکی بین ویژگی شرح داده شده توسط تیم آموزش دیده شده برای آزمایش‌های حسی و نظر مصرف کنندگان ماهی درباره ویژگی‌های کیفی ماهی تازه، علیرغم استفاده تیم ارزشیابی از مقیاس ارزیابی دقیقتری، دیده می‌شود. پژوهشگرانی مثل (Sawyer *et al.*,1988 ; Bech *et al.*,1977) گزارش دادند که می‌توان یک رابطه بین تقاضای مصرف کنندگان برای کیفیت مزه (Taste Quality) و ویژگی‌های مربوط به آنچه که از روش‌های حسی (Sensory Profiling) تصور می‌شود ایجاد نمود. انتخاب مواد غذائی تحت تأثیر عواملی خارج از ملاحظه‌های حسی می‌باشد (Mashall,1988). بهرحال، عامل مزه یکی از فاکتورهای عمده برای تمایل به خرید ماهی می‌باشد (Bredahl & Grunert,1997). تصور مزه یکی از عامل‌های مهم برای تعیین دفعات خرید و مصرف مواد غذائی می‌باشد (Nauman *et al.*,1995 ، Myrland *et al.*,2000). معیار مصرف کننده در رابطه با ویژگی تازگی هنوز مشخص و جا نیفتاده است. اخیراً توجه به برچسب برای نشان دادن کیفیت (Quality Labels) برای فرآورده‌های ماهی، این موضوع را مورد توجه قرار داده است که چه مواردی را باید برای نشان دادن کیفیت فرآورده در برچسب مورد استفاده باید آورده شود و چه فاکتورهایی مورد نیازند که برای کنترل کیفیت بایداندازه‌گیری و در برچسب شرح داده شوند (Luten, 1999 و2000 b).

روش‌های توصیفی (Objective) حسی استاندارد شده باعث ایجاد اطمینان بیشتر در مورد کیفیت و قابل دسترس نمودن این اطلاعات و از طرفی موجب ارتقاء سطح مدیریت در کنترل کیفیت و تولید در صنایع ماهی می‌گردد. از آن مهم‌تر، یک روش حسی استاندارد باعث سهولت در ارتباطات بین خریداران، فروشندگان ماهی و همچنین برآوردن درخواست سازمان‌های بازرسی، نظارت و قانون گذار برای ردگیری و بدست آوردن اطلاعات در مورد کیفیت ماهی می‌گردد.

۸-۱۹- منابع فصل نوزدهم

ANDRADE A, NUNES M L and BATISTA I (1997), 'Freshness quality grading of small pelagic species by sensory analysis', in Olafsdo´ttir G *et al., Methods to determine the freshness of fish in research and industry. Proceedings of the Final Meeting of the concerted Action `Evaluation of Fish Freshness' AIR3CT942283, Nantes Conference, Nov 12–14,* Paris, International Institute of Refrigeration, 333–8.

ANON. (1996), 'Council regulation (EC) No. 2406/96 of 26. November 1996 laying down common marketing standards for certain fishery products', *Official Journal of the European Communities*, No. L334., 1–14.

BECH A C, KRISTENSEN K, JUHLA H J and POULSEN C S (1997), 'Development of farmed smoked eel in accordance with consumer demands', in Luten J, Børresen T and Oehlenschla¨ger J, *Seafood from producer to consumer, integrated approch to quality, Proceedings of the International Seafood Conference on the occasion of the 25th anniversary of the WEFTA, held in Noordwijkerhout, The Netherlands, 13–16 November, 1995*, Amsterdam, Elsevier Science B.V., 21–30.

BISOGNY C A, RYAN J and REGENSTEIN J M (1987), 'What is fish quality? Can we incorporate consumer perceptions?', in Kramer D E and Liston J, *Seafood Quality Determination, Proceedings of the International Symposium on Seafood Quality Determination, Coordinated by the University of Alaska Sea Grant College Program, Anchorage, Alaska, U.S.A., 10–14 November 1986*, New York, Elsevier Science B.V., 547–73.

BOTTA, J R (1995), *Evaluation of Seafood Freshness Quality*, New York, VCH Publishers Inc.

BRANCH A C and VAIL A M A (1985), 'Bringing fish into the computer age', *Food Technol. Aust.*, 37, 352–5.

BREDAHL L and GRUNERT K G (1997), 'Determinants of the consumption of fish and shellfish in Denmark: an application of the theory of planned behaviour', in Luten J, Børresen T and Oehlenschla¨ger J, *Seafood from producer to consumer, integrated approch to quality, Proceedings of the International Seafood Conference on the occasion of the 25th anniversary of the WEFTA, held in Noordwijkerhout, The Netherlands, 13–16 November, 1995*, Amsterdam, Elsevier Science B.V., 3–19

BREMNER H A (1985), 'A convenient easy to use system for estimating the quality of chilled seafood' in Scott D N and Summers C, *Proceedings of* BREMNER A and SAKAGUCHI M (2000), 'A Critical Look at Whether 'Freshness' Can be Determined'. *J Aquatic Fd Prod Techn*, 9, 5–24.

CODEX STANDARDS FOR METHODS OF ANALYSIS AND SAMPLING, 'Sampling Plans for Prepackaged Foods (AQL 6.5)', XPT 13-1969, Rome, FAO/WHO Codex Alimentarius.

CODEX STANDARDS FOR FISH AND FISHERY PROJECT, 'Guidelines for the sensory evaluation of fish and shellfish in laboratories' CAC-GL 31-1999 Rome, FAO/WHO Codex Alimentarius.
EU CONCERTED ACTION (1998) FAIR PL 98–4174, 'Fish quality labelling and monitoring', http://www.fqlm.nl
EU CONCERTED ACTION (2000) QLK1-2000-00164 'Traceability of fish products', http://www.tracefish.org
HOWGATE P (1987), 'Fish inspection and quality control in Europe' in Kramer D E and Liston J, *Seafood Quality Determination,* Amsterdam, Elsevier Science B.V., 605–13.
HUIDOBRO A, PASTOR A and TEJADA M (2000), 'Quality Index Method Developed for Raw Gilthead Seabream (*Sparus aurata*)', *J. Fd Science,* 65 (7), 1202–

5.
HUIDOBRO A, PASTOR A, LOPEZ-CABALLERO M E and TEJADA M (2001), 'Washing effect on the quality index method (QIM) developed for raw gilthead seabream (*Sparus aurata*)', *European Fd Research and Technol,* 212 (4). 408–12.
HUSS, H H (1988), *Fresh fish quality and quality changes,* FAO Fisheries Series 29, Italy, 27–61.
HYLDIG, G and NIELSEN J (1997), 'A rapid sensory method for quality management', in Olafsdo´ttir G and others, *Methods to determine the freshness of fish in research and industry. Proceedings of the Final Meeting of the concerted Action ' Evaluation of Fish Freshness' AIR3CT942283, Nantes Conference, Nov 12–14,* Paris, International Institute of Refrigeration, 297–306.
ISO 8586-1 (1993), 'Sensory Analysis – general guidance for the selection, training and monitoring of assessors. Part 1: Selected Assessors', The International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
ISO 8586-2 (1994), 'Sensory Analysis – general guidance for the selection ، training and monitoring of assessors. Part 2: Experts', The International Organization for Standardization, Geneva Switzerland.
ISO 8589 (1988), 'Sensory Analysis – general guidance for the design of test rooms', The International Organization for Standardization, Geneva ، Switzerland.
ISO 11035 (1994), 'Sensory Analysis – Identification and selection of descriptors for establishing a sensory profile by a multidimensional approach', The International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
JENSEN H S and JØRGENSEN B M (1997), 'A sensometric approach to cod-quality measurement', *Food Quality and Preferences,* 8 (5/6), 404–7.
JONSDO´ TTIR S (1992), 'Quality index method and TQM system', in O´ lafsson R *the fish processing conference, Nelson, New Zealand, 23–25 April 1985*

Fish Processing Bulletin , 7, 59–703.

BREMNER H A, OLLEY A and VAIL, A M V (1987). 'Estimating time-temperature effect by a rapid sensory method' in Kramer D E and Liston J, *Seafood Quality Determination, Proceedings of the International Symposium on Seafood Quality Determination, Coordinated by the University of Alaska Sea Grant College Program, Anchorage, Alaska, U.S.A., 10–14 November 1986, New York,* Elsevier Science B.V., 413–36.
and Ingthorsson A H, *Quality Issues in the Fish Industry*, Reykjavik, Iceland, the Research Liaison Office, University of Iceland, 81–94.
LAND D and SHEPERDING R (1984), 'Scaling and Ranking methods', in Piggott J R, *Sensory analysis of Foods,* New York, Elsevier, 141–9.
LAWLESS H T (1994), 'Getting results you can trust from sensory evaluation', *Cereal Foods World*, 39 (11), 809–14.
LARSEN E, HELDBO J, JESPERSEN C M and NIELSEN J (1997), 'Development of a method for quality assessment of fish for human consumption based on sensory evaluation', in Huss H H M and Liston J. *Quality Assurance in the Fish Industry, Proceedings of an International Conference, Copenhagen, Denmark, 26-30 August 1991*, Amsterdam, Elsevier Science Publishers B. V., 351–8.
LEARSON R J and RONISVALLI L J (1969), 'A new approach for evaluating the quality of fish products' *Fishery Industry Research* 4(7), 249–59.
LUTEN J B and MARTINSDO´ TTIR E (1997), 'QIM – a European tool for fish freshness evaluation in the fishery chain', in Olafsdo´ttir G *et al., Methods to determine the the freshness of fish in research and industry ustry. Proceedings of the Final Meeting of the concerted Action `Evaluation of Fish Freshness' AIR3CT942283, Nantes Conference, Nov 12–14,* Paris, International Institute of Refrigeration, 287–96.
LUTEN J B (1999), 'Annual Reports EU Concerted Action PL98-4174 'Fish Quality Labelling and Monitoring', November 1999 (ISBN 90-74549-03-9)', Wageningen, The Netherlands, RIVO The Netherlands Institute for Fisheries Research, p 22.
LUTEN J B (2000a), 'Development and implementation of a computerised sensory system (QIM) for evaluating fish freshness. CRAFT FAIR CT97 9063. Final Report for the period from 01-01-98 to 31-03-00', Wageningen, The Netherlands, RIVO The Netherlands Institute for Fisheries Research, p 18.
LUTEN J B (2000b), Annual Reports EU Concerted Action PL98-4174 'Fish Quality Labelling and Monitoring', December 2000, (ISBN 90-74549-05-5), p 23.
MARSHALL, P W (1988), 'Behavioural variables influencing the consumption of fish and fish products', in Thompson D M H, *Food Acceptability*, London, Elsevier Applied Science, 219–31.
MARTENS M and JØRGENSEN B M (1997), 'Multivariate data analysis used for investigation of the sensory quality of fish', in *Methods to determine the the freshness of fish in research and industry. Proceedings of the Final Meeting of the concerted Action `Evaluation of Fish Freshness' AIR3CT942283, Nantes Conference, Nov 12–14,* Paris, International Institute of Refrigeration, 325–32.

MARTINSDO´ TTIR E (1997), 'Sensory evaluation in research of fish freshness', inOlafsdo´ttir G *et al., Methods to determine the freshness of fish in resear and industry. Proceedings of the Final Meeting of the concerted Action `Evaluation of Fish Freshness' AIR3CT942283, Nantes Conference, Nov 12–14,* Paris, International Institute of Refrigeration, 306–12.
MARTINSDO´ TTIR E and STEFANSSON G (1984), 'Development of a new grading system for fresh fish' in Mo¨ller A, *Fifty Years of Fisheries Research in Iceland,* Reykjavik, Iceland, Icelandic Fisheries Laboratories, 23–31.
MARTINSDO´ TTIR E, SVEINSDO´ TTIR K, LUTEN J, SCHELVIS-SMIT R and HYLDIG G(2001) *Sensory Evaluation of Fish Freshness. Reference manual for th Fish Sector,* IJmuiden, The Netherlands, QIM-Eurofish.
MEILGAARD G, CIVILLE V and CARR B T (1999), *Sensory Evaluation Techniques*, 3rd. ed., New York, CRC Press, 23–36.

MUNOZ A M, CIVILLE G V and CARR B T (1992), *Sensory Evaluation in Qualit Control,* New York, Van Nostrand Reunhold.
MYRLAND O, TRONDSEN T, JOHNSTON R S and LUND E (2000), '*Determinants of seafood consumption in Norway: lifestyle, revealed preferences an barriers to consumption',* Food Quality and Preferences, 11(3), 169–88.
NAUMAN F A, GEMPESAW C M and BACON J R (1995), 'Consumer Choice for Fresh Fish: Factors Affecting Purchase Decisions', *Marine Resource Economics*, 10, 117–42.
NIELSEN, J (1995), 'Sensory methods', in Huss H H, *Quality and quality change in fresh fish*. Rome, FAO Fisheries Technical Paper, No 348, 130–9.
NIELSEN, J (1997), 'Sensory analysis of fish', in Olafsdo´ttir G and others, *Methods to determine the freshness of fish in in research and industry. Proceedings of the Final Meeting of the concerted Action ' `Evaluation of Fish Freshness' AIR3CT942283, Nantes Conference, Nov 12–14,* Paris, International Institute of Refrigeration, 279–86.
OEHLENSCHLA¨ GER, J (1997), 'Sensory evaluation in inspection', in Olafsdo´ttir G and others, *Methods to determine the freshness of fish in research and industry. Proceedings of the Final Meeting of the concerted Action ' `Evaluation of Fish Freshness' AIR3CT942283, Nantes Conference, Nov 12–14,* Paris, International Institute of Refrigeration, 339–44.
O´ LAFSDO´ TTIR G, MARTINSDO´ TTIR E, OEHLENSCHLA¨ GER J, DALGAARD P, JENSEN B, UNDELAND I, MACKIE I M, HENEHAN G, NIELSEN J and NILSEN H (1997), 'Methods to evaluate fish freshness in research and industry'. *Trends Foo Sci. Technol*., 258–65.
O'MAHONY, M (1982), 'Some assumptions and difficulties with common statistics for sensory analysis', *Food Technol*. 36 (11), 75–82.
O'MAHONY, M (1986), *Sensory evaluation of food. Statistical methods and procedures*, New York, Marcel Dekker INC.
QIM-Eurofish (2000) web page, http:www//qim-eurofish.com.
SAWYER F M, CARDELLO A V and PRELL P A (1988), 'Consumer evaluation of sensory properties of fish'. *J.Food Sci*. 53 (1), 12-24.

SHEWAN J M, MACKINTOSH R G, TUCKER C G and EHRENBERG A S C (1953), 'The development of a numerical scoring system for the sensory assessment of the spoilage of wet white fish stored in ice', *J. Sci. Food Agric*., 4, 283–98.
STONE H and SIDEL J L 1992. *Sensory evaluation practices*. Academic Press, Inc., Orlando, Florida
STONE H and SIDEL J L (1998), 'Quantitative Descriptive Analysis: Developments, Applications and the Future', *Fd. Technol.*, 52 (8), 48–52.
SVEINSDO´ TTIR K, HYLDIG G, MARTINSDO´ TTIR E, JØRGENSEN, B and KRISTBERGSSON, K. (2001), 'Quality Index Method (QIM) scheme
developed for Farmed Atlantic Salmon (Salmo salar) *(in press).*
SVIENSDO´ TTIR K, MARTINSDO´ TTIR E, HYLDIG G, JØRGENSTEIN B and KRISTBERGSSON, K (2002), Application of Quality Index Method (QIM)
Scheme in Shelf Life Study of Farmed Atlantic Salmon (Salmo salar). *J. Fd. Science*, 67 (4).
WARM K, BØKNÆS N and NIELSEN J (1998), 'Development of Quality Index Methods for Evaluation of Frozen Cod (*Gadus morhua*) and Cod Fillets',
J. Aquat. Food Prod. Tech., 7(1), 45–59.
YORK, R K and SEREDA, L M (1993), 'Sensory assessment of quality on fish and seafood', in Shahidi F and Botta J R, *Seafood: Chemistry, Processing, Technology and Quality*, New York, Blackie Academic and Professional,
233–62.

« **فصل بیست**»

حفظ کیفیت ماهی منجمد

۱-۲۰- مقدمه

فرآیند انجماد به‌عنوان روشی برای حفظ کیفیت ماهی از زمانهای دور مورد استفاده می‌باشد. در اوایل قرن بیستم Clarance Birdseye کشف نمود که غذاهای دریائی و گوشت‌های منجمد شده در سرمای کشنده زمستان در قطب شمال دارای طعم و مزه بهتری نسبت به گوشت‌های منجمد شده در پائیز و بهار می‌باشند. از نتیجه این مشاهده بود که او اقدام به ساخت و توسعه ماشینی نمود که آن را بنام دستگاه تولید انجماد سریع توصیف نمود(۱). روش انجماد سریع هنوز هم یک روش مناسب برای نگهداری ماهی به شکل طبیعی برای مدت نسبتاً طولانی مثلاً چند ماه و حتی سال می‌باشد. برای فرآورده‌های دیگر مثل سبزی‌های بلانچ شده، انجماد می‌تواند ارزش تغذیه ای آنها را در هنگام نگهداری بصورت منجمد به مدت حداقل ۶ ماه حفظ کند(۳و۲). بنابراین انجماد برای سبزی‌ها دارای مزایای متمایزی نسبت به دیگر روش‌های نگهداری می‌باشد، و حتی ممکن است دارای ویژگی‌های برتری نسبت به فرآورده‌های تازه ای که بمدت چند روز در انبار سرد و یا در انبار معمولی نگهداری شده‌اند، داشته باشد. چالش تولید کنندگان ماهی منجمد و فرآورده‌های منجمد ماهی بهینه سازی توانائی قدرت فرآیند انجماد جهت تولید فرآورده‌های با کیفیتی مشابه و نزدیک به کیفیت مواد خامی‌است که عمدتاً از طبیعت صید و دارای ماهیت وحشی (Wild Origin) می‌باشند، است. علاوه بر آن، با افزایش فشار روی ذخایر ماهیانی که بصورت سنتی برای تولید فرآورده مورد صید قرار می‌گرفتند، چالش کلیدی دیگر برای تولید کنندگان فرآورده‌های منجمد از ماهی، استفاده بیشتر از ماهیانی می‌باشد که تاکنون معمولاً کمتر برای مصرف انسان مورد استفاده قرار می‌گرفتند (Under-Utilised) و از طرفی این ذخایر از منابع پایداری برخوردار می‌باشند. هدف این فصل این است که بعضی از موضوع‌های مرتبط با زنجیره عرضه ماهی منجمد را شرح داده و با برجسته

نمودن فاکتورهای کلیدی که به منظور حفظ کیفیت، کنترل آنها ضروری می‌باشد را بصورت برجسته نشان دهند و همچنین هر کجا که ممکن است شرح داده شود که چگونه این کنترل‌ها را می‌توان اعمال نمود.

۲-۲۰- زنجیره‌های عرضه فرآورده‌های منجمد

در این بخش زنجیره‌های مرتبط با تولید فرآورده از فیله ماهی شرح داده می‌شود، اما فرآیندهای مرتبط با فرآورده‌های تولیدی از گوشت چرخ شده ماهی و یا سوریمی(Surimi) توضیح داده نمی‌شوند.
Lanier & Lee در کتاب (۴) Surimi Technology بصورت کامل درباره این فرآورده‌های شرح داده‌اند.
در این فصل روی زنجیره‌های عرضه ماهیان دریائی متمرکز گردیده زیرا که فیله‌های حاصل از این ماهیان بیشترین میزان فرآورده‌های ماهی را در جهان تشکیل می‌دهند.
ماهی امروزه معمولاً یا به صورت بلوک‌های منظم و یا به صورت جداگانه‌ای در قالب فیله و فرآورده‌های دیگر منجمد می‌شود. برای بلوک‌های منجمد، فیله‌ها معمولاً در داخل یک آستر کارتنی در داخل قالب‌های استیلی چهارگوش قرار داده می‌شوند. سپس ماهی به خوبی بوسیله آستر پوشیده می‌شود و سرپوش روی قالب گذاشته می‌شود. قالب‌های در بسته شده در درون فریزرهای صفحه‌ای قرار داده می‌شوند که به این ترتیب قالب‌ها بین دو صفحه خیلی سرد قرار داده می‌شوند (بین $^{\circ}C$۴۰- و ۳۰- درجه). چگالی یخ کمتر از آب است و بنابراین در زمان انجماد یخ منبسط می‌گردد. اما، چون قالب‌ها بسته می‌باشند لذا انبساط فیله‌ها در زمان انجماد در فیله‌های ماهی محدود می‌شود. این باعث می‌شود تا هوای محبوس خارج شود و بلوک‌های بشکل منظم در پایان انجماد تولید گردند. یکنواختی در شکل بلوک‌ها و نظم آن‌ها و حذف فضاهای خالی در بین بلوک‌ها بخش مهمی‌از ساخت بلوک است. زیرا بلوک‌ها باید در نهایت به بخش‌هایی با شکل ثابت برش داده شوند و عدم یکنواختی در شکل بلوک‌ها منجر به ضایعات بیشتری در طول این فرآیند خواهد شد. راه حل دیگر در ساخت بلوک‌ها این است که فیله‌ها به صورت کامل یا برش داده شده قبل از عمل انجماد، بریده شوند. این نوع فرآورده‌های به‌عنوان فیله‌ها یا قسمت‌های بریده (Portion) شده که به صورت دانه‌ای و سریع منجمد می‌شوند [1](IQF) نامیده می‌شوند. یکی از نکات مهم در فرآوری Fish Portion بوسیله IQF این است که تمام قطعه‌های ماهی در زمان کنترل

[1] -Individual –Quick freezing

وزن فرآورده نهایی در جعبه‌ها یا کیسه‌های وزن ثابتی داشته باشند. بخش بعدی انواع زنجیره‌های عرضه ماهی را توصیف خواهد کرد که تولید ماهی منجمد می‌کنند.

اولین بخش در زنجیره عرضه برای فرآورده‌های فیله ماهی شامل صید ماهی، جدا کردن سر و روده‌ها و امعا و احشا، پوست کنی و فلس کنی و فیله کردن می‌باشد که در ادامه فیله ماهی را منجمد می‌کنیم. این مراحل به‌عنوان فرآوری اولیه نامیده می‌شوند، که به موجب آن یک ماده خام منجمد تولید می‌شود. این ماده خام منجمد شده ممکن است به همین شکل به مصرف کننده فروخته شود و یا اینکه برای فرآوری ثانویه مورد استفاده قرار گیرد. مثل فرآورده آرد[1] پوشی شده ماهی دراندازه‌های انگشت قد Fish Finger و، به شکل استیک ماهی آماده شوند. انواع زنجیره‌های عرضه ماهی منجمد می‌توانند از همدیگر متمایز شوند براساس اینکه مرحله‌های اولیه فرآوری مثل فیله ساختن، پوست کنی و انجماد نهایی در کجا صورت می‌گیرند. بنابراین محل عملیات یا در دریا و یا در خشکی می‌باشد. عملیات در دریا نیاز به کشتی‌های بزرگ و مجهز به کارخانه‌ای دارد که قادر به صید، فرآوری و انجماد ماهی می‌باشند. تمام فرآوری‌های اولیه برای تولید فرآورده‌های منجمد در دریا ممکن است در زمان کوتاهی بعد از صید انجام شود. این نوع فرآوری نیاز به نگهداری ماهی صید شده در جعبه‌های حاوی یخ را دیگر ندارد. یکی از سؤال‌های مهم برای مواد خام منجمد شده در دریا این است که آیا ماهی قبل از اینکه فیله‌ها مرحله جمود را سپری کرده‌اند منجمد می‌شوند؟ و یا اینکه بعد از آن منجمد می‌شود. برای مثال آیا فیله‌ها بنحوی منجمد می‌شوند که دارای انرژی لازم برای عمل انقباض عضله‌ها در سردخانه را دارا باشند یا خیر؟ فرآیند جمود بصورت خلاصه و همراه با مزایا و مشکل‌های مرتبط با انجماد ماهی قبل از جمود در قسمت ۳-۵-۲۰ نیز توضیح داده شده است.

در فرآوری ماهی در خشکی فاکتورهای دیگری مهمتر می‌باشند. معمولاً ماهی برای فرآوری در ساحل پس از صید در دریا تخلیه شکمی‌می‌شود و گاهی اوقات سرها بریده می‌شوند. سپس ماهی تا هنگامیکه کشتی به ساحل برسد در یخ نگهداری می‌شود. بنابراین، زمان نگهداری ماهی در یخ بستگی به مدت زمانی دارد که کشتی در دریا باقی می‌ماند. یک کشتی ترال‌کش ممکن است چند روز در دریا باقی بماند تا میزان کافی ماهی مورد نظر را صید نماید. بنابراین ممکن است ماهی چندین روز قبل از رسیدن کشتی به ساحل در یخ نگهداری شود. علاوه برآن، ماهیانی که روزهای اول صید می‌شوند مدت زمان طولانی تری در یخ، نسبت به آنهائیکه در روزهای آخر صید می‌شوند نگهداری می‌شوند. بنابراین آشکار است که این ماهیان با مدت زمان متفاوت نگهداری در یخ در

[1] - Coated fish products

نهایت با همدیگر فرآوری می‌شوند. این اختلاف زمان در نگهداری ماهی در زیر یخ می‌تواند بر یکنواختی کیفیت مواد خام برای فرآوری تاثیرگذار باشد. مشکل‌های بالقوه در رابطه با نگهداری ماهی در زیر یخ و چگونگی سرد نودن / انبار کردن ماهی در زیر یخ را برای کم نمودن تغییرات در کیفیت در قسمت‌های (۵-۵-۲۰- و ۴-۵-۲۰) شرح داده شده است.

زنجیره سومی‌بنام، زنجیره عرضه هیبرید[1] نیز وجود دارد. در این زنجیره عرضه فقط بخشی از فرآوری اولیه در دریا صورت می‌گیرد. ماهی در دریا تخلیه شکمی‌می‌شود و گاهی اوقات سر آن جدا می‌شود. ماهی سرزده و تخلیه شکمی‌شده منجمد می‌شود (اغلب با یخ پوش کردن) و معمولاً در فریزرها عمودی منجمد می‌شوند. در این روش تعداد زیادی ماهی بصورت بلوک ماهی می‌تواند به آسانی در کنار هم که بوسیله یخ پوشیده شده‌اند در پلاستیک بسته‌بندی و در کارتن‌های مربوطه بسته‌بندی گردند. ماهی منجمد شده سپس به خشکی منتقل می‌شود که در ادامه انجماد زدایی شده، فیله و پوست‌گیری می‌شوند و مجدداً منجمد می‌شوند. از آنجایی که در این روش دو مرحله انجماد وجود دارد این فرآورده‌های خام معروف به دوبار منجمد شده (Double Frozen) می‌باشند. این نوع زنجیره عرضه معمولاً برای ماهی آلاسکا پولاک استفاده می‌شود.

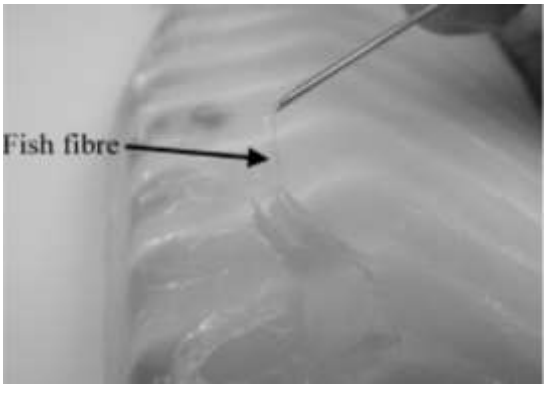
در بین هر زنجیره عرضه توصیف شده، مراحلی وجود دارد که برای کیفیت نهایی فرآورده حیاتی هستند. قبل از اینکه این مراحل حیاتی را مورد بحث قرار دهیم، پی‌آمدهای منجمد کردن فیله ماهی را ابتدا توضیح داده می‌شود.

۳-۲۰- انجماد بافت ماهی

شکل ۲۰-۱ تصویر فیله ماهی کاد با یک فیبر ماهیچه‌ای جدا شده از آن را نشان می‌دهد. فیبر ماهیچه‌ای که حدود قطر آن ۵۰ تا ۲۰۰ میکرومتر است (مشابه ضخامت موی انسان) یک سلول ماهیچه‌ای است و بنابراین دارای غشاء سلولی و اجزای سلولی می‌باشد. سلول‌ماهیچه‌ای غیرمعمول می‌باشند به این شکل که نازک و طویل است و با تعداد زیادی میوفیبریل پر می‌شود. میوفیبریل‌ها عناصر انقباضی می‌باشند که عامل حرکت عضلانی در حیوانات زنده می باشند. شکل ۲-۲۰ یک شکل ساده شده از سلسله مراتب ساختاری را در عضله ماهی از فیله تا میوفیلامنت‌ها را نشان می‌دهد. بیشتر آبی که در فیله ماهی موجود است (۸۰٪ وزن کل) در بین فیبرها عضلانی وجود دارند و بیشتر آب در

[1] -Hybrid supply chain

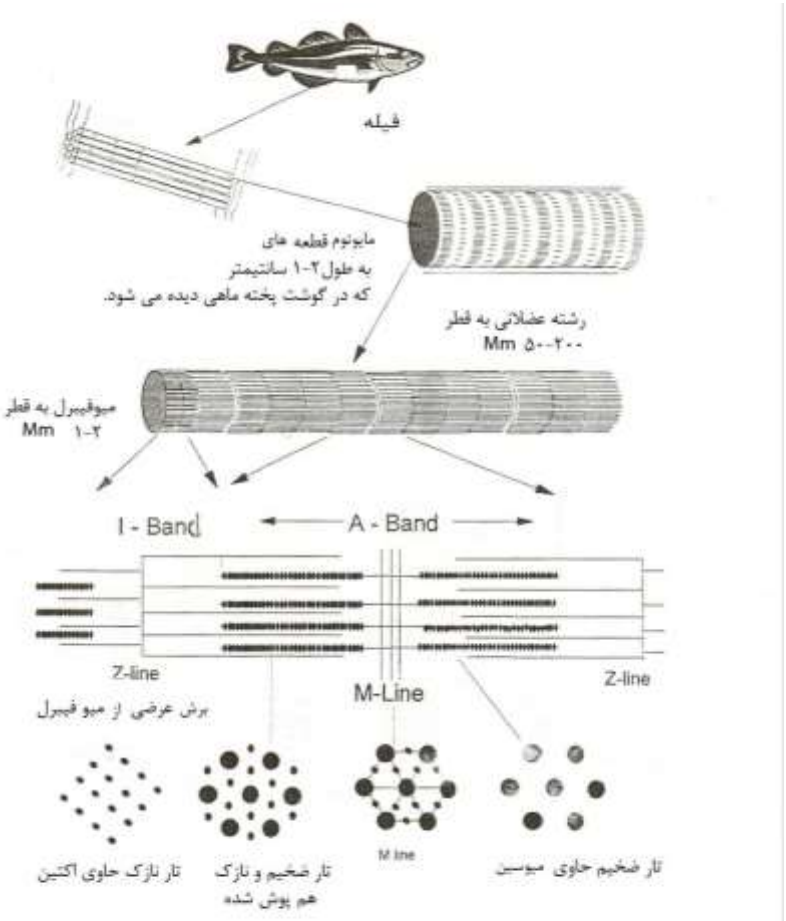
فیبرها در بین میوفیبریل‌ها قرار دارند. شکل ۳-۲۰ تصویر میکروسکوپ الکترونیکی میوفیبریل را در عضله ماهی کاد نشان می‌دهد. شکل مدوری که بین میوفیبریل‌ها مشاهده می‌شود دیواره ساکروپلاسمیک ریتیکلوم می‌باشد در بیشتر فرآیندهای انجماد تجاری یخ در بین فیبرها عضلانی تشکیل می‌شود و فیبرها عضلانی به صورت مورب و چروکیده درمی‌آیند زیرا که آب آنها برای تشکیل یخ خارج از سلول خارج می‌شود. شکل ۴a-۲۰ یک قسمت از فیله منجمد شده از ماهی کاد را که به روش انجماد وزشی در $-30^{\circ}c$ منجمد نشان می‌دهد. مناطق مربوط به یخ و مناطق فیبرهای عضلانی که متراکم شده‌اند را می‌توان مشاهده نمود. به‌طور شگفت‌آوری حتی در درجه برودت پائین هنوز مقدار کمی‌از آب به صورت مایع باقی مانده (Non-Frozen Fraction) تبدیل به یخ نمی‌شوند. این مقدار آب همیشه وجود خواهد داشت زیرا که یخ باعث افزایش تراکم املاح در آب بین فیبرها عضلانی می‌شود و این تراکم، در نقطه انجماد آب را کاهش می‌دهد. در ادامه درجه برودت این آب به نقطه‌ای می‌رسد که نقطه انجماد برابر درجه برودتی می‌گرد که ماهی در آن درجه منجمد می‌شود. وقتی که به این درجه برودت می‌رسیم تعادل برودت بین یخ وآب منجمد نشده ایجاد می‌شود. در جدول ۱-۲۰ میزان آب غیرقابل انجماد را در عضله فیله کاد را در رابطه با درجه برودت را نشان می‌دهد(۵). به صورت روشن، مقدار آب غیرقابل انجماد بعنوان تابعی از درجه برودت تغییر خواهد نمود و هم چنین ویسکازیته محیط. در این فاز ویسکاز سرعت انتشار مواد واکنش دهنده و مواد تولید شده مهم می‌باشند. در نتیجه رشد و توسعه بسیاری از فرآیندهای وابسته به زمان ممکن نیست که به وسیله رابطه ساده آرنیوس پیش‌بینی گردند. اما می‌توان بوسیله Non-Linear Form of Kinetics سرعت رشد و توسعه در محیط‌های با ویسکازیته بالا را می‌توان به وسیله یک معادله تجربی که توسط Slade etal., & Reid *et al.*, در سال (۱۹۹۳) پیشنهاد شده است را پیش بینی نمود(۷و۶).



شکل ۱-۲۰: فیبرعضلانی جدا شده از فیله کاد.

۲۰-۴- تغییر بافت و مزه در سردخانه

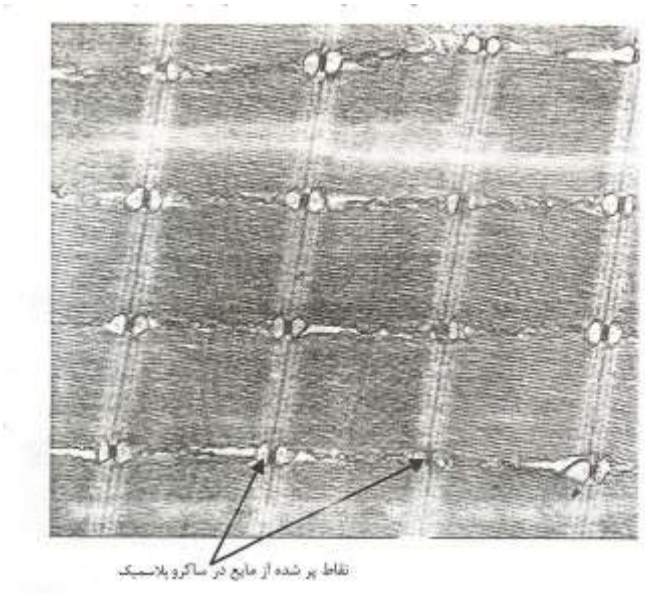
یکی از مشکل‌های مرتبط با انجماد ماهی و فرآورده‌های آن در زمان نگهدرای در سردخانه ایجاد تغییرات انجام شده در طعم و بافت فرآورده پخته شده نهایی می‌باشد. طی انجماد به علت متراکم شدن مایع در عضله و ساختار آن، واکنش دهنده‌های بالقوه (آنزیم‌ها و سوبستراها) با یکدیگر نزدیک می‌شوند و فواصل انتشار بین آنها کوتاه می‌شود. به عبارت دیگر، مواد واکنش‌دهنده که در سلول‌های منجمد نشده دسترسی به همدیگر نداشتند، بعد از انجماد به راحتی به هم نزدیک می‌شوند. در چهار بخش زیر، طبیعت تغییراتی که در سردخانه رخ می‌دهند،اندازه‌گیری این تغییرات و مکانیسم پیشنهادی که چگونگی این تغییرات را شرح می‌دهد مورد بررسی قرار خواهند گرفت.



شکل ۲-۲۰- سلسله مراتب ساختار در فیله ماهی

۲۰-۵- تغییرات بافتی طی نگهداری فرآورده منجمد

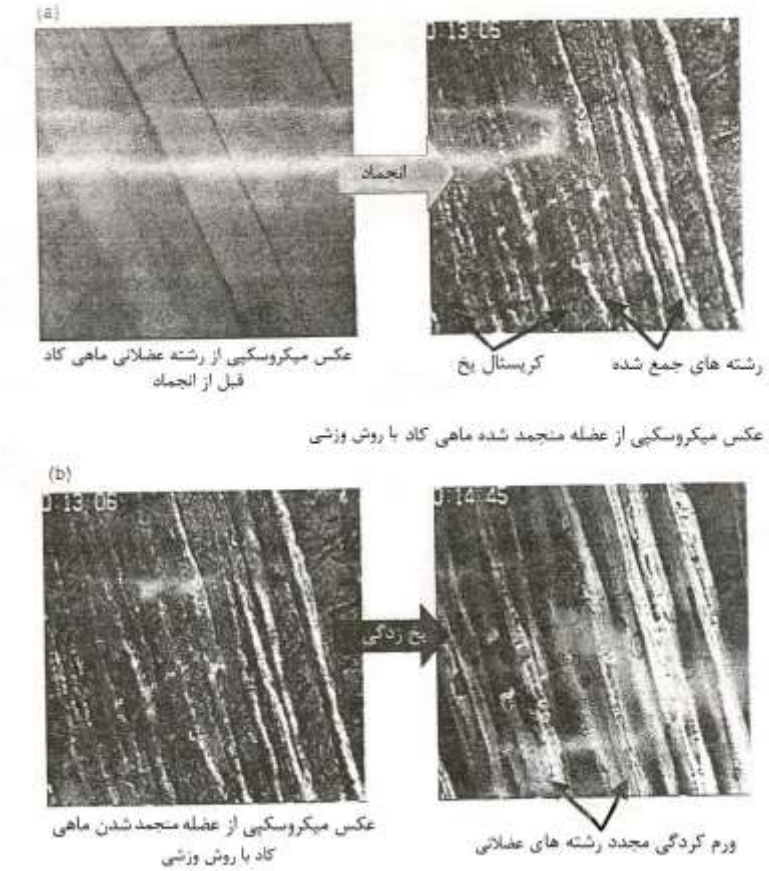
در ابتدا باید خاطر نشان شود که اگر ماهی با کیفیت خوب با سرعت کافی منجمد شود و به مدت کوتاهی به حالت منجمد در سردخانه نگهداری شود تغییرات در ویژگیهای حسی آن در مرحله انجمادزدایی و پخت فرآورده کاملاً ناچیز می‌باشد. ضایعات عمده در ویژگیهای کیفی در طول نگهداری طولانی فرآورده منجمد اتفاق می‌افتد. در طول نگهداری گونه‌های خاص ماهی به صورت منجمد تغییراتی رخ می‌دهد که منتج به فساد ویژگیهای بافتی در فیله‌های پخته شده می‌شود. تغییرات در بافت ماهی چنین تعریف شده که پس از اولین فشار دهان به ماهی باعث حس فیبری بودن ماهی خواهد بود. این مشکل در مورد ورقه هایی از فیله ماهی کاد، هدداک، بولاک و غیره حادتر می‌باشد (۱۱و۱۰و۹و۸).



شکل ۳-۲۰: تصویر میوفیبریل عضله ماهی کاد تازه که به وسیله میکروسکوپ الکترونی گرفته شده است. در شکل ۴*b*-۲۰ یک *Light Micrograph* از یک قسمت از عضله منجمد شده نشان داده شده است. در شکل دیگر ۴*a*-۲۰ همان قسمت از عضله منجمد شد که حالا یخ زدائی شده دیده می‌شود.

از آنجائیکه یخ به آب تبدیل می‌شود بسیاری از مایعات جدا شده به علت تشکیل یخ به فیبرهای ماهیچه‌ای دوباره بازگشت می‌کنند. در نتیجه قطر فیبرهای عضله‌ای افزایش می‌یابند. نیروی محرک برای این تورم مجدد احتمالاً یک نیروی دافعه ناشی از بار الکتریکی می‌باشد. pH فیله‌ماهی مثلاً کاد و آلاسکا پولاک معمولاً بین ۷/۰-۶/۸ می‌باشد. در این محدوده pH، رشته‌های ضخیم و نازک در بین هر شبکه میوفیبریلی به صورت منفی

باردار خواهند شد. همچنانکه یخ ذوب می‌شود و محیط عضله دارای آب بیشتری می‌شود نیروی دافعه بین فیلامنت‌های ماهیچه‌ای موجب خواهد شد تا میوفیبریل‌ها متورم شوند و بیشتر آب به داخل میوفیبریل‌ها باز خواهد گشت. در این مورد تغییرات بافتی ناشی از فرآیندهای انجماد و انجمادزدایی خیلی کم می‌باشند. آبی که به میوفیبریل بازگشته به آسانی از دست داده نمی‌شود.



شکل b -۲۰میکروگراف بخش منجمد شده در بخش a -۲۰را بعد از انجماد زدایی به وسیله عکس‌های میکروسکوپی نشان می‌دهد .

بنابراین تورم مجدد میوفیبریل به صورت مستقیم روی توانایی ماهی برای نگهداری آب بعد از انجمادزدایی و پختن تاثیر خواهد داشت. اگر آب کمتری به فیبرها عضلانی برگردد در نتیجه فیبرها عضلانی تراکم پروتئینی بالاتری خواهند داشت و ممکن است این پدیده روی ویژگیهای مکانیکی آنها تاثیر گذارد. پیشنهاد شده است که قطر فیبرهای عضلانی به‌عنوان عامل تعیین کننده اساسی و کلیدی بر روی سختی گوشت ماهی (Firmnes) در زمانی‌که گونه‌های مختلف ماهی را با هم مقایسه می‌کنیم می‌باشد (هرچه قطر کمتر باشد سختی بافتی بیشتر است) و ویژگی‌های رئولوژیکی فیبرهای عضلانی ماهی ممکن است در طول مدت نگهداری آن بصورت منجمد تغییر کنند (۱۴و۱۳و۱۲).

بطور کلی گزارش شده که تغییرات بافتی که طی نگهداری در فرآورده منجمد رخ می‌دهد در نهایت به دلیل تغییرات در میوفیبریل می‌باشد، اگرچه مکانیسم دقیق آن آشکار نیست. مطالعات روی قدرت نگهداری آب در گوشت‌های دیگر نشان داده که این تغییرات در قدرت نگهداری آب را می‌توان به تغییرات در قدرت نگهداری آب توسط میوفیبریل نسبت داد(۱۵). در حقیقت در ماهی، تغییرات میوفیبریلی طی نگهداری فرآورده منجمد شده در زمان نگهداری دیده شده است. برای مثال، مطالعه توسط(۱۶) Jarenbach & Liljemark نشان داد که از دست رفتن کیفیت در ماهی کاد منجمد (*Gadus marhua*) کاهش در ابعاد شبکه ضخیم فیلا منتی مشاهده شد که با اختلالات موجود در شبکه شش وجهی[1] همراه بود. هم‌چنین دیده شد که میوفیبریل‌های ماهیچه در ماهی منجمد شده که کیفیت خودشان را از دست داده بودند به هم نزدیکتر گردیده که این عمل بعلت از بین رفتن تناسب بین شبکیه‌های سارکوپلاسمی‌که در بین میوفیبریل‌ها قرار دارند صورت گرفته بود.

جدول ۱-۲۰- تعمیرات در درصد آب منجمد نشده در فیله ماهی کاد

درجه $°C$	٪ آب غیرقابل انجماد
−۱	۹۲
−۲	۴۸
−۳	۳۳
−۴	۲۷
−۵	۲۱
−۱۰	۱۶
−۲۰	۱۱

[1] -Hexagonal lattice spacing

نتایج گزارش شده به وسیله گارسیا و همکارانش (۱۹۹۹) برای فیله ماهی کاد منجمد هم‌چنین نشان داد که افزایش از بین رفتن در نظم شش وجهی فیلامنت‌های ضخیم طی نگهداری فرآورده به صورت منجمد نیز اتفاق می‌افتد(۱۷). تاثیرات مشابه برای عضله‌های ماهی آلاسکا پولاک که در برودت $-۲۰^{\circ}c$ به مدت دو ماه نگهداری شده نیز مشاهده گردیده است(۱۸). در انجمادزدایی میوفیبریل‌های در هر سلول عضله‌ای قطر اصلی خودشان را بدست نیاورده و در فاصله نزدیکتر به همدیگر قرار داشتند. نگهداری فرآورده به صورت منجمد برای مدت طولانی‌تر (۱۲ ماه در $-۲۰^{\circ}c$) باعث گردید تا میوفیبریل‌ها خیلی کمتر قادر به برگشت به قطر اصلی شان در زمان انجمادزدایی باشند، و هم‌چنین صدمات زیادی در نظم ساختار بین هر میوفیبریل نیز مشاهده گردید. بنابراین تغییرات در ظرفیت قدرت نگهداری آب در عضله ماهی طی نگهداری به صورت منجمد ممکن است به دو دلیل باشد:

دلیل اول جمع شدن با نزدیک شدن میوفیبریل‌ها در بین رشته‌های عضلانی تشکیل یخ در خارج سلول می‌باشد که بعلت انبساط باعث ایجاد فشار می‌کند. دلیل دوم اینکه تغییراتی که در بین رشته میوفیبریل‌ها صورت می‌گیرد که باعث می‌شود که آنها قادر به جذب آب و تورم به‌اندازه کافی در زمان انجمادزدایی یا پختن نمی‌باشند. بنابراین بنظر می‌رسد که عامل اصلی که باعث ایجاد تغییر در بافت ماهی در ز مان نگهداری ماهی منجمد در انبار می‌گردد، تغییراتی است که در ساختار میوفیبریل‌ها اتفاق می‌افتد.

تنوری‌های زیادی برای دلیل تغییرات مشاهده شده، پیشنهاد شده‌اند. یکی از مکانیسم‌هایی که خیلی زیاد گزارش گردیده، بوجود آمدن مواد پیوند دهنده بین پروتئین‌ها تعیین فرم آلدهید ناشی از تجزیه تری متیل آمین اکسید (Thao) می‌باشد. TMAO در روغن ماهیان (Gadoid Fish) وجود دارد و این ماده فقط در ماهیان دریائی وجود دارد که به‌عنوان یک منبع تنظیم کننده اسمزی عمل می‌کند(۱۹). این ترکیب در آب محلول است و به وسیله آنزیم $TMAO_{ase}$ (تری متیل آمین اکسیداز) طی نگهداری فرآورده منجمد تولید دی متیل آمین و فرم آلدهید می‌کند (۲۱،۲۲،۲۳و۲۰). تولید دی‌متیل آمین و فرم آلدهید با تغییرات بافت ماهی در حالت انجماد ارتباط دارد (۲۴،۲۵،۲۹ و۱۰). برای توضیح اختلافات مشاهده شده در سرعت ایجاد تخریب‌های بافتی بین گونه‌های مختلف آبزیان در طی نگهداری فرآورده به صورت منجمد از وجود تری میتل آمین اکساید و سرعت تجزیه آن در زمان نگهداری در انبار سرد به ترکیبات دیگر استفاده می‌شود(۲۷و۸). اما، بهرحال یکسری عدم هماهنگی‌ها و اختلافات وجود دارند که نشان می‌دهند که تجزیه TMAO توضیح کاملی برای تغییرات مشاهده شده نمی‌باشد. اولاً مشاهده شده است که فیله‌های هاداک (Haddock) یک گونه از خانواده Gadoid Fish کیفیت خود را درطی نگهداری به صورت منجمد از دست می دهد، هد داک هم از TMAO به‌عنوان یک تنظیم‌کننده

Osmoregulator استفاده می‌کند اما TMAO در این ماهی به فرم آلدهید و دی متیل آمین طی نگهداری فرآورده منجمد در انبار تجزیه نمی‌شود(۲۸و۱۰). بنابراین به نظر می‌رسد که بافت فیله‌های هد داک طی نگهداری آن بصورت منجمد بدون هیچگونه تولید فرم آلدهید یا دی متیل آمین تغییر می‌کنند. چرخ کردن فیله های هد داک باعث تحریک آنزیم تجزیه $TMAO_{ase}$ می‌شود(۲۹)، که این موضوع پیشنهاد می‌کند که ممکن است فعالیت آنزیم تری متیل آمین اکسیداز ممکن است در فیله‌ها صورت گیرد.

ثانیاً، گزارش شده است که گوشت های چرخ کرده ماهی به وسیله شست و شو پایدار نمی‌شوند(۳۲،۳۱و۳۰). برای نمونه، گزارش شده است که فیله چرخ شده ماهی هیک قرمز (یک نوع روغن ماهی) مستعدترند در ایجاد تغییرات ساختاری در بین میوفیبریل‌ها بافت بعد از انجماد و انجمادزدایی نسبت به فیله‌های چرخ شده‌ای که شست و شو داده نشده‌اند(۳۲). همچنین گزارش شده است که با شست‌وشو دادن سختی بافت بعد از سه چرخه انجماد–انجمادزدایی یا شش ماه نگهداری در $-۲۰^{\circ}c$ در مقایسه با فیله‌های شست و شو نداده شده افزایش می یابد (سختی به‌عنوان نیروی برش‌اندازه‌گیری می‌شود که این نیرو برای برش دادن فیله ماهی پخته شده به وسیله یک تیغه انجام می‌شود). این اطلاعات باعث به وجود آمدن سوالی شد درباره نقش کلیدی و انحصاری TMAO در فساد فرآورده منجمد چراکه اگر دلیل انحصاری فساد درماهی TMAO و مواد تولید شده از آن باشد.پس چرا پس از شستشوی بافت با آب اثر آن از بین نمی رود؟ اگر ترکیبات حاصل از تجزیه TMAO دلیل عمده از بین رفتن کیفیت در فرآورده‌های منجمد در گونه‌هایی مثل هیک هستند، بنابراین از بین بردن آنها به وسیله شست و شو باید روند تغییرات بافتی را کاهش می‌داد. علاوه بر آن، پژوهشگران دیگر مکانیسم‌های دیگری برای انبوهش (Aggregation) میوفیبریلی پیشنهاد داده‌اند. تئوری‌های دیگر شامل فعل و انفعال میوزین با چربی و همچنین با فرآورده‌های حاصل از اکسیداسیونی چربی با میوزین (۳۵،۳۴و۳۳). همچنین، مشاهده شده است که میوزین گونه‌هایی که در آب‌های گرم‌تر زندگی می‌کنند مقاومت حرارتی بیشتری دارند (۳۷و۳۶) و نسبت به فساد انجماد مقام تراند. هم‌چنین این گونه‌ها در مقابل از دست رفتن کیفیت در فرآورده‌های منجمد مقاومتر هستند، بخصوص پروتئین‌های بافتی و میوزین که مقاومت حرارتی آنها با افزایش حرارت افزایش یابد (۳۸). این مشاهدات پیشنهاد می‌کنند که ارتباطی بین استحکام حرارتی میوزین (که درجه حرارت محیطی که ماهی در آن زندگی می‌کند) و کاهش انبوهش[1] میوفیبریل طی نگهداری فرآورده منجمد شده وجود دارد.

[1] -Aggregation

۱-۵-۲۰-اندازه‌گیری تغییرات بافتی

از میکروسکوپ الکترونی برای بررسی علت تغییرات صورت گرفته در ساختار اولترا ماهیچه ماهی طی از دست رفتن کیفیت بافت در زمان نگهداری ماهی بصورت منجمد و در انبار استفاده گردیده. اما، باید خاطر نشان کرد که در این روش امکان مطالعه بر روی مقادیر خیلی کوچک نمونه وجود دارد. بنابراین، از روش‌های دیگر که امکان بررسی بر روی مقادیر بزرگتری از نمونه را برای‌اندازه‌گیری تغییرات ممکن می‌سازد می‌توان استفاده نمود. یکی از آن روش‌ها برای مطالعه علت این پدیده استفاده از غلظت بالای نمک $\left(۰/۶ \mathrm{mol/dcm^{۳}}\right)$ می‌باشد، که بنام حلالیت در نمک[1] مشهور است. در غلظت بالای محلول نمک، مولکول میوزین از میوفلیمنت و اکتین از z-line جدا شده و وارد محلول می‌گردند و تولید اکتومیوسین می‌کنند. اگر از ماهی تازه کاد برای تهیه اکتومیوسین استفاده شود مقدار زیادی اکتومیوسین تولید می‌شود(۴۰) اما اگر از ماهی کادی که کیفیت آن در حال از دست رفتن است استفاده شود. مقدار حل شدن میوزین و اکتین کم شده و در نتیجه مقدار اکتومیوسین حاصل چنان نخواهد بود و میوفیبریل‌ها نسبت به حلالیت در محلول نمک مقاومت نشان می‌دهند(۴۱و۴۰).

نتیجه دیگر اینکه، عدم توانایی رشته‌های ماهی برای برگشت به حجم اصلی شان در فرآیند انجمادزدایی این است که آبی که در بین رشته‌های میوفیبریل‌ها قبل از شروع از دست رفتن کیفیت وجود داشت اکنون در خارج رشته وجود دارد. از روش دیگری که ممکن است برای تعیین تغییرات توزیع آب در ماهیچه‌ها به کار گرفته شود Pulsed Proton Nuclear Magneic یا (NMR) می‌باشد (۴۲و۴۳). روش Spin-Spin یا $T_۲$ که بنام آرامش پروتون مشهور است بستگی به ضریب حرکتی مولکول آب دارد. زمان ارتباط حرکتی آب منعکس کننده جهت کلی ایزوتروپیک مولکول آب می‌باشد[2] این فاکتور می‌تواند به‌عنوان زمان متوسط مورد نیاز برای مولکول آب برای چرخیدن به‌اندازه یک رادیان تعریف شود. بنابراین مولکولهای آبی که حرکت محدودی را برای نمونه در سطح سخت ساختاری یک پروتئینی در داخل یک میوفیبریل را دارند در نتیجه دارای زمان آرامش $T_۲$ کوتاهتری نسبت به مولکول‌های آبی که قادر به تماس با سطح نیستند دارا می‌باشند. بنابراین،اندازه‌گیری توزیع زمانهای آرامش مولکول آب نشان دهنده مقدار اتصال مولکول‌های آب با ساختار میوفیبریلی می‌باشد(۴۲).

در حقیقت، مشاهده شده است که‌اندازه‌گیری زمانهای آرامش $T_۲$ آب در عضله کامل ماهی پیچیده می‌باشد(۴۴)، اما نشان دهنده ناهماهنگی می‌باشد که در فضای ساختاری میوفیبریل وجود دارد همچنین نشان داده شده است

---

[1] -Salt solubility
[2] -Overall isotropic reorientation

که نوسانات در توزیع زمان T_2 بازگو کننده تغییرات در ساختار اولترا، ظرفیت نگهداری آب و ویژگیهای حسی بافت گوشت ماهی می‌باشد(۴۶،۴۷،۴۸و۴۵). بنابراین روش NMR ابزاری مناسب برای بررسی تغییرات توزیع آب در ارتباط با از دست رفتن کیفیت بافت ماهی منجمد می‌باشد و می‌تواند تغییرات ایجاد شده در ویژگیهای حسی در ماهی را که در ارتباط با تغییرات توزیع آب است را نیز نشان دهد.

به منظوراندازه‌گیری بروز تغییرات بافتی بعضی از پژوهشگران از آزمایش‌های مکانیکی برای ردیابی تغییرات در سخت شدن فیله و ماهی چرخ شده استفاده نموده‌اند(۵۰و۴۹). این آزمایشات اجازه می‌دهند تا تغییرات صورت گرفته که باعث سفت شدن بافتها گردیده‌اندازه‌گیری شوند. اما، باید بخاطر داشت که در ارزیابی نتایج حاصل از بعضی از آزمایش‌های مکانیکی مدل‌های بسیار کمی‌برای مرتبط نمودن نتایج ویژگیهای رد شده مکانیکی برای فیله‌های کامل وجود دارد تا بتوان این نتایج را با ویژگیهای حسی مقایسه نمود. برای مثال، توزیع نقش بافت پیوندی و رشته‌های میوفیبریلی در ایجاد بافت معینی معلوم نیست. بنابراین، قضاوت در مورد چگونگی تغییرات در این عناصر ساختاری بافت که به تغییرات حسی منجر می‌شوند ممکن است مشکل باشد.

مکان تشکیل یخ واندازه کریستال‌های یخ می‌تواند تاثیر مهمی‌روی ساختار سلول‌های ماهیچه‌ای واندامک‌های آن داشته باشد. این موضوع بنوبه خود می‌تواند روی پایداری ماهی در زمان نگهداری به حالت منجمد نیز تاثیرگذار باشد.، بیشتر بررسی‌های انجام شده مختلفی برروی تاثیر انجماد بر روی زمان ماندگاری گزارش شده، اما در هیچکدام از آنها اشاره ای به‌اندازه‌گیری‌اندازه‌های کریستال یخ و یا محل آنها و تاثیر آنها برروی بافت و مزه انجام نگردیده است. بنابراین، گاهی اوقات نامعلوم است که آیا روش انجمادهای متفاوت یا رژیم‌های نگهداری فرآورده منجر به بروز اختلافات در ساختار و محل کریستال یخ شده‌اند یا نه؟ بنابراین، اگرچه بسیاری از پژوهشگران تغییرات بیوشیمیایی را در زمان نگهداری فرآورده منجمد گزارش کردند اما چه مقدار از این تغییرات مشاهده شده به وسیله تغییرات دراندازه کریستال‌های یخ به وجود می‌آیند و چه تاثیری برروی بافت و مزه دارند نامعلوم است. تاثیر سرعت انجماد روی‌اندازه و محل کریستال یخ در بخش ۶-۲۰ به‌طور مفصل مورد بحث واقع می‌شود.

۶-۲۰- تغییرات طعم طی زمان نگهداری در سردخانه

بیشتر ماهیانی که در تولید فرآورده از آنها استفاده می‌شود متعلق Super Order Teleostel ماهیان استخوانی هستند. این فوق رده شامل همه ماهیان با ستون فقرات می‌باشند. در این فوق رده بسیاری از ماهیان آب شیرین

و شور وجود دارند. بقیه متعلق به Elasmobrachii و یا Cartilaginous که شامل کوسه‌ها، سفره ماهی و اسکات‌ها می‌باشند. ماهیان استخوانی ممکن است به دو گروه عمده تقسیم شوند:

۱. demersal (کف زی‌ها)

۲. پلاژیک (سطح زی‌ها)

ماهیان کف زی با جریان‌های اقیانوسی حرکت می‌کنند بنابراین به صورت فعال برای مدت زمان طولانی شنا نمی‌کنند، در نتیجه آنها خیلی دارای عضلات تیره یا قرمز که ضروری برای متابولیسم هوازی برای ذخیره کردن انرژی بمدت طولانی را ندارند. دومین گروه ماهیان استخوانی شامل ماهیان پلاژیک می‌باشند یا ماهیان روغنی می‌باشند. این ماهیان به صورت فعال به مدت طولانی شنا می‌کنند و در نتیجه عضلات آنها دارای سیستم مناسب برای فعالیت های عضلانی هوازی بمدت طولانی برای ذخیره کردن انرژی می‌باشند. بنابراین، این ماهیان دارای عضله تیره مناسب برای فعالیت عضلانی هوازی و ذخایر چربی در سرتاسر بافت ماهیچه‌ای و در زیر پوست هستند.

تند شدن (چربی‌ها ضرورتاً اکسیداسیون چربی‌های اشباع نشده و تولید طعم مزه نامطبوع) در بسیاری از گونه‌های ماهی مشکل آفرین و به صورت موثری زمان ماندگاری آنها را محدود می‌سازد(۵۲و۵۱). به همین دلیل، بسیاری از مطالعات تغییر طعم در ماهی منجمد در زمینه جلوگیری از ایجاد تند شدن چربی در ماهیان پلاژیکی که دارای مقدار نسبتاً زیاد چربی غیر اشباع می‌باشند متمرکز شده است. گونه‌های حاوی چربی کم مثل ماهی کاد[1] و هد داک[2] غالباً چربی را در کبدشان ذخیره می‌کنند. بافت‌های عضلانی این ماهیان حاوی ۱/۵-۰/۵ درصد چربی به شکل چربی‌های ساختاری مثل لیپو پروتئین یا فسفولیپید درغشاهای سلولی می‌باشند. ماهی چرب بیشتر از ۵٪ چربی در بافت‌شان دارند که معمولاً به شکل تری گلیسرید می‌باشد(۵۳). نمونه گونه‌ها با چربی بالا ماهی ماکرل آتلانتیک[3] و ماهی آزاد[4] می‌باشد. مقدار چربی کل بستگی به فاکتورهای مختلف مثل دسترسی به غذا و چرخه های تولید مثلی دارد. در بعضی از گونه‌ها اختلاف فصلی در مقدار چربی می‌تواند خیلی موثر باشد برای مثل در شگ ماهی آلاتینک[5] که چربی از ۱ تا ۲۵ درصدد متغیر است. حساسیت نسبت به تند شدن فقط بستگی به مقدار چربی ندارد بلکه ترکیب چربی و محل آن در بافت ماهی نیز موثر است(۵۴). ماهی حاوی مقدار بالای اسیدهای

---

[1] -Gadus Morhua
[2] - Gadus Aeglefinus
[3] - Scombr Scombrus
[4] - Salmo Salar
[5] - Clupa Haren Gus

چرب چند غیر اشباع و مخصوصا اسیدهای چرب m-3 مثل EPA[1] و DHA[2] میباشد. این امر می‌رساند که چربی در اینگونه ماهی‌ها نسبت به اکسیداسیون بسیار حساس می‌باشد.

اگر چه فرایند اکسیداسیون چربی از نظر ترمودینامیکی بسیار مطلوب است اما بصورت کنتیکی Kinetically از واکنش مستقم بین اکسیژن و اسیدهای چرب چند غیر اشباع بکندی صورت میگیرد (۵۴). از اینرو یک واکنش فعال کننده برای شروع واکنش‌های زنجیره‌ای و تولید رادیکال آزاد ضروری است. لذا پیشنهاد شده است که اکسیداسیون چربی در ماهی ممکن است به وسیله چندین مکانیسم شروع و یا تسهیل شود. که شامل تولید اکسیژن فعال (Singlet)، فعالیت آنزیمی‌یا غیر آنزیمی تولید اکسیژن رادیکال آزاد (پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسی)، کمپلکس‌های آهن، اکسیژن فعال و تجزیه هیدروپراکسیدها می‌باشد. جزئیات دقیق این مکانیسم‌ها در اینجا توضیح داده نمی‌شود. ما توسط پژوهشگران در مرجع‌های ۵۶ و ۵۵ شرح داده شده‌اند. از نقطه نظر عملی بعضی از فاکتورهای کلیدی که روی سرعت و میزان توسعه تند شدگی تاثیر دارند شامل غلظت اکسیژن، مساحت سطحی که تحت تاثیر اکسیژن قرار می‌گیرد، ترکیب اسیدهای چرب لیپیدها، مقدار آنتی اکسیدانی طبیعی در ماهی و یا کاتالاز اکسیداسیونی داخلی و درجه حرارت نگهداری می‌باشد(۵۷). همچنین پیشنهاد شده است که فرآورده‌های اکسیداسیون چربی می‌توانند روی رنگ و ارزش تغذیه‌ای غذا موثر باشد. چربی‌های غیر اشباع مهم از نظر تغذیه‌ای مثل اسیدهای چرب n-3 ممکن است در روغن‌های ماهی خالص شده تجزیه شوند(۵۸). اما تا چه مقدار این مولکولها چربی در فیله‌های ماهی تجزیه می‌شود که هنوز نامعلوم است(۵۹).

موضوعی که در این بررسی‌ها کمتر مورد توجه واقع شده است، تولید تغییر طعم در بسیاری از ماهیان دارای گوشت سفید (Flaky fish) می‌باشد. این ماهیان جزء ماهیان کف زی در بستر یا نزدیک به آن می‌باشند و دارای مقدار کمی‌چربی در عضلاتشان می‌باشند. بهرصورت تغییر در طعم و مزه گوشت آنها در زمان نگهداری بصورت منجمد در سردخانه ممکن است صورت پذیرد. تغییر در طعم و مزه در آنها به اسم طعم و مزه کارتونی (Carboard) و یا سردخانه ای (Cold Store) تعریف شده (۶۱و۶۰). تولید طعم و مزه سردخانه‌ای در این گونه ماهیان نسبت داده شده به ترکیب‌های حاصل از اکسیداسیون فسفولیپیدها موجود در دیواره سلولی. کار کمی‌برای جلوگیری از تولید طعم و مزه سردخانه ای در ماهی انجام گردیده، اگرچه پیشنهاد شده عدم تغذیه قبل

[1] - Eicosapentanoic Acid
[2] - Docosahexanoic Acid

از کشتن ماهی می‌تواند در جلوگیری از این طعم و مزه موثر باشد(۶۲). موضوع دیگری که به مقدار کمی‌مورد توجه قرار گرفته است از دست رفتن طعم و مزه تازه در ماهی می‌باشد. این موضوع به صورت کامل در بخش ۴-۷-۲۰ در رابطه با نگهداری و انبارداری ماهی در زیر یخ مورد بحث قرار خواهد گرفت.

۱-۶-۲۰-اندازه‌گیری پارامترهایی که باعث تندشدن و منجر به تغییر طعم می‌شوند

روش‌های استفاده شده برای ردیابی افزایش تند شدگی در ماهی و فرآورده‌های آن ممکن است به آزمایش‌های رنگ‌سنجی، اسپکتوفتومتری و کروماتوگرافی تقسیم شود. آزمایش‌های رنگ سنجی بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرند، که مهمترین آنها شامل‌اندازه‌گیری عدد پراکسید (PV)[1] و آزمایش تیوباربیوتریک اسید (TBA) یا (TBARS) [2]می‌باشد.

PV به وسیله تیتراسیون ید آزاده شده از واکنش بین چربی استخراج شده از ماهی و محلول یدات پتاسیم‌اندازه گیری می‌شود. مسائلی بخاطر حساسیت پایین، تداخل رنگ دانه‌های محلول در چربی ماهی پیش می‌آید. تغییراتی برای افزایش حساسیت این روش برای نمونه‌های کوچک چربی استخراج شده از مواد غذائی بعمل آمده است. در روش اصلاح شده از واکنش بین تیوسیانات سدیم و آهن فریک که منجر به تولید کمپلکس تیوسیانات قرمز می‌گردد استفاده می‌نماید. آهن فر و به وسیله آنزیم پراکسیداز موجود در چربی استخراج شده از ماهی تبدیل به آهن فریک می‌گردد(۵۵).

آزمایش TBA یکی از متداولترین روش‌های برای مطالعه میزان اکسیداسیون چربی در فرآورده‌های گوشتی می‌باشد. این آزمایش براساس واکنش بین TBA و آلدهیدها برای ایجاد یک آلکانال (Alkanal) رنگی دارد که جذب آن از طریق اسپکتوفتومتری در ۴۵۰ نانو متراندازه‌گیری می‌شود قرار دارد. علیرغم استفاده زیاد از آن انتقادات زیادی درباره استفاده از این روش وجود دارد. این انتقادات شامل شک و تردید در مورد چگونگی ماهیت واکنش تولید رنگ، عدم اختصاصی عمل نمودن واکنش TBA (TBA ممکن است با ترکیب‌های دیگر واکنش دهد که به وسیله اکسیداسیون چربی برای ایجاد رنگ قرمز تولید نمی‌شوند) و TBA فقط با تعداد اجزاء جزئی از ترکیبات حاصل از اکسیداسیون چربی (مالون دی آلدهید) واکنش می‌دهد. جمله TBA در بررسی‌های اخیر به وسیله TBARS جایگزین می‌شود که نشان دهنده اختصاصی عمل نکردن این آزمایش می‌باشد. بهرصورت این

[1] - Peroxide value
[2] -Thiobarbituric reactive substance

آزمایش می‌تواند با به کارگیری دستگاه کروماتوگرافی مایع (HPLC) برای جدا کردن فرآورده‌های حاصل از واکنش TBA بهبود یابد. علیر غم این بهبودها، به‌طور کلی پیشنهاد می‌شود که آزمایش TBARS همراه با دیگر روش‌های آزمایشی مورد استفاده واقع شود. اگرچه روش های PV و TBV محدودیت‌هایی دارند اما می‌توانند به‌عنوان شاخص‌های مناسبی برای تند شدن ماهی باشند و ممکن است برای تمایز بین تاثیر تیمارهای مختلف و رژیم‌های متفاوت، فرآیندی موثر باشند(۶۳). برای نمونه Hwang & Regenstein در سال (۱۹۸۹) از PV برای‌اندازه گیری سرعت تند شدگی چربی در ماهی منهادن چرخ شده که با آنتی اکسیدانهای مختلف و مولکولهایی که دارای تاثیر سینرژیکی روی فعالیت آنتی اکسیدان‌ها می‌باشند، استفاده کردند(۶۴).

آزمایش‌های اسپکتروفتومتری مستقیم (آزمایش‌هایی که نیاز به واکنش اضافی برای تولید تغییر رنگ ندارند) برای اندازه گیری میزان تندشدگی در چربی‌ها ایجاد شده‌اند. وقتی که اسیدهای چرب به هیدروپراکسید اکسید می‌شوند، پیوندهای دوگانه در بین مولکول ممکن است کانجوگیت[1] شوند (پیوندهای دوگانه به وسیله یک پیوند یگانه از هم جدا می‌شوند). کانجوگیت شدن پیوندهای دوگانه با جذب اشعه ماورا بنفش در طول موج ۲۳۲ نانومتر مشخص می‌گردد. به همین ترتیب کانجوگیت دی‌ان[2]های ممکن است از تجزیه هیدروپراکسیدها تولید شوند، که این ترکیب طول موج را جذب می‌کنند. دیگر فرآورده‌های ثانویه اکسیداسیون اشعه ماوراء بنفش را در محدوده دیگری از طول موج جذب می‌کنند. برای مثال دی‌کتونها اشعه ماوراء بنفش را در طول موجها ۲۶۸ نانومتر جذب می‌کنند.

روش‌های ایجاد شده براساس سنجش میزان تشعشعات رنگی (Fluorimetry) برای‌اندازه‌گیری مقدار اکسیداسیون در چربی‌ها به این علت توسعه یافته‌اند، زیرا این روش‌ها دارای حساسیت خیلی بیشتری نسبت به آزمایش‌های TBA می‌باشند. اگرچه از این روش‌ها زیاد استفاده نمی‌شوند ولی نمونه‌های از کاربرد این روش‌ها برای ردیابی تغییرات اکسیداسیونی در بافت ماهی وجود دارد. (Smith *et al.*,1990) از روش (فلورسنس) برای‌اندازه‌گیری اکسیداسیون در گربه ماهی دریائی نمک زده شده و خشک شده‌اند و نزیایی (*Arius thalassinus*) استفاده نموده اند(۶۵).

امروزه از کروماتوگرافی گازی (GC) برای‌اندازه‌گیری مقدار تندشدن اکسیداسیونی در روغن‌ها و غذاها روز به روز بیشتر استفاده می‌شود. ترکیبات اکسیداسیونی فرار به صورت مستقیم از طریق روش‌هایی مثل GC

[1] - Conjugate
[2] - Conjugated Dienes

Headspace می‌توانناندازه‌گیری شوند. روش‌های Headspace را می‌توان برای تعیین ترکیبات فرار در گاز جمع شده در بالای غذا مورد نظر مورد استفاده قرار داد.این روش، پروفیل دقیقی از ترکیبات فرار بدست خواهد داد که بسیار باارزش است زیرا که بعضی از این ترکیبات فرار در ایجاد طعم یا مزه تند چربی‌ها نقش دارند. نمونه برداری از فضای بالای غذا، گازهای موجود در Headspace می‌تواند یک مشکل مهم باشد، زیرا که در نمونه برداری حجمی‌از این فضاء محدودیت وجود دارد. همچنین اگرچه مساحت زیر پیک متناسب با غلظت هر ترکیب می‌باشند ولی عکس‌العمل حسی بستگی به ساختار شیمیایی هر مولکول نیز دارد. بنابراین، رابطه زیر هر پیک به پاسخ آزمایش‌های ارگانولپتیک به منظور اینکه کدام ترکیب فرار در تغییر طعم نقش دارد باید مورد تحقیق و بررسی قرار داده شود. تا بتوان تصمیم گرفت که کدام ترکیب فرار برای تغییر طعم مهم می‌باشد و مقدرای که قادر به تغییر طعم است بوسیله تیم آزمایش‌های حسی تعیین گردد. با استفاده از روش تخلیه (Porge) و بدام‌انداختن (Trap) می‌توان مشکل‌های مرتبط با حساسیت فضای بالای GC را کاهش داد. در این روش یک گاز ساکن (معمولاً هلیم یا نیتروژن) از بالای نمونه عبور داده می‌شود و ترکیبات فرار در یک ظرف مخصوص Fartridge جمع‌آوری می‌شوند که این ظرف حاوی یا Charcoal فعال و یا Chromosors می‌باشد. ترکیبات فرار در ادامه از ظرف مخصوص به وسیله گرم کردن سریع، آزاد و به وسیله GC آنالیز می‌شوند. محدودیتهای این روش شامل تغییر یا تجزیه ترکیبات فرار طی جذب از ظرف مخصوص، بازیافت کم ترکیبات فرار با درجه حرارت جوش بالا و انتقال آب از ظرف مخصوص به ستون GC می‌باشد.

در اینجا باید خاطر نشان شود که برخلاف از دست رفتن کیفیت بافت برای تندشدن یاتغییر طعم روش‌اندازه‌گیری استاندارد صنعتی وجود ندارد. این بستگی به هر پژوهشگر دارد که باید اهمیت تغییرات در پروفیل گازهای فرار را که مشاهده نموده برروی تغییرات طعم و مزه و ارتباط آنها را باید با تغییرات حسی تعیین نماید(تغییرات حسی به وسیله ارزیاب‌های آموزش دیده سنجش می‌شوند) و در نهایت تغییرات باید با واکنش مصرف کننده با قبول یا عدم پذیرش او نسبت به فرآورده ارزیابی شود.

۷-۲۰- فاکتورهایی که پیش از انجماد روی پایداری فرآورده در انبار نقش دارند

هدف این بخش بحث نمودن درباره بعضی از فاکتورهایی است که ممکن است کیفیت فرآورده‌های ماهی منجمد شده را تحت تاثیر خود قرار دهند. تعدادی از فاکتورها و تیمارهایی وجود دارند که ممکن است تاثیر مثبت یا منفی روی پایداری فرآورده منجمد و کیفیت نهایی فرآورده که توسط مصرف کننده تجربه می‌شود داشته باشند. این عوامل در اینجا از زمان صید تا فرآیند انجماد به ترتیب مورد بررسی قرار می‌گیرند.

۱-۷-۲۰- نوع گونه و تغییر بافت

تعداد زیادی از پژوهشگران گزارش کرده‌اند که گونه‌های مختلف ماهی دارای حساسیت‌های متفاوتی نسبت به ویژگیهای فساد بافتی طی دوره نگهداری فرآورده منجمد شده در انبار می‌باشند(۹،۱۰،۱۱و۸). دلیل آن کاملاً آشکار نیست، اما رابطه یک (Correlation) بین درجه حرارت بدن ماهی و افزایش پایداری در زمان نگهداری فرآورده منجمد پیشنهاد شده است(۳۷،۳۸و۳۶). علاوه بر آن، گزارش شده است که ماهی‌های پهن مثل سل[1] و پلایس[2] نسبت به تغییرات بافتی کمتر حساس می‌باشند(۶۶،۶۷و۲۷). بعضی از پژوهشگران وجود TMAO و تجزیه شدن آن به دی متیل آمین و فرم آلدهید را به‌عنوان دلیلی برای سرعت‌های متفاوت در تغییرات بافتی طی نگهداری فرآورده منجمد ذکر می‌کنند. اما، این فرضیه ها توضیح کاملی درباره همه نتایج مشاهده شده ارائه نمی‌دهند. در نتیجه، دلیل منطقی برای اینکه چرا گونه‌های مختلف ماهی با سرعت‌های متفاوت در زمان نگهداری فرآورده کیفیت خود را از دست می‌دهند و یا اینکه چرا بعضی از تیمارها پیش از انجماد مفید یا مضر هستند ارائه نشده است.

۲-۷-۲۰- زمان صید و روش‌های حمل و نقل

این موضوع به خوبی مشخص شده است که فصلی که ماهی در آن صید می‌شود، تاثیرات فراوان روی ویژگیهای بافتی دارد. مهمترین تاثیر فصل همان اثر تخم ریزی است. نتیجه عمده تخمریزی این است که خیلی از چربی‌ها و پروتئین‌ها در ماهی تبدیل به تخم یا اسپرم می‌شوند. در نتیجه این، فیله‌ها این های خیلی نرم‌تر و آبکی‌تر می‌گردند. علاوه بر آن، وقتی که تخم‌ریزی صورت گرفت، ماهی نیاز به جایگزینی پروتئین و ذخایر انرژی از

---

[1] - Sole
[2] - Plaice

دست رفته دارد.زمانی که تخم ریزی تمام شد این به نوبه خود منجر به ساخت گلیکوژن ماهیچه‌ای می‌شود زمانی که تخم ریزی نمی‌شده است. نتیجه این عمل این است که pH نهایی پس از صید ماهی و تولید فیله ممکن است پائین‌تر از حد معمول باشد. نتیجه مقدار گلیکوژن بالا وچگونگی اثر آن برروی pH نهایی فرآورده و نتیجه کاهش pH برروی کیفیت در بخش‌های بعدی توضیح داده می‌شود.

حمل و نقل نامناسب ممکن است موجب از بین رفتن ویژگیهای مطلوب بافت شود. برای مثال ضربه دیدن ماهی ممکن است باعث سرعت افزایش تندشدگی در فرآورده منجمد در زمان نگهداری شود. بنابراین، پیشنهاد شده است که از آب دریای سرد شده (CSW)[1] به جای یخ برای کاهش ضربه دیدگی و بهبود پایداری طعم ماهی ساردین[2] و اسپنر[3] استفاده شود(۶۹و۶۸). همچنین گزارش شده است که ماهی کامل ممکن است با سرعت کمتری زمانی که منجمد و در انبار نگهداری می‌شود نسبت به فیله ماهی کیفیت خود را از دست دهد، که نشان دهنده آن است که فرآیند فیله‌سازی می‌تواند باعث صدمه زدن به بافت شود(۷۰). مخصوصاً چرخ‌کردن فیله‌ها باعث افزایش تغییرات طعم و بافت در هنگام نگهداری فرآورده منجمد (در مقایسه با فیله می‌شود).

آلودگی فیله‌ها با خون و امعا و احشا مخصوصاً مواد حاصل از کلیه‌ها، باعث افزایش سرعت در تغییرات بافتی در هنگام نگهداری فرآورده بصورت منجمد می‌شود. این مخصوصاً مشکل زا است در زمانی که فرآورده بصورت گوشت چرخ شده می‌باشد. همچنین گزارش شده که افزودن عصاره کلیه ماهی به گوشت چرخ شده ماهی کاد ممکن است پایداری آن را در زمان نگهداری فرآورده بصورت منجمد را کاهش دهد(۷۲و۷۱). همچنین پیشنهاد شده که علت این امر می‌تواند بخاطر غلظت بالای آنزیم‌تری‌متیل‌آمین اکسیداز در عصاره کلیه باشد که باعث تولید فرم آلدهید می‌شود. هم چنین مشاهده شده که افزودن ماهی کامل کاد چرخ شده (آلوده به با خون و عصاره کلیه) ممکن است باعث ناپایداری در گوشت چرخ شده و نسبتاً پایدار ماهی سل (Sole) گردد(۲۳).

۳-۷-۲۰- *تاثیر* pH

بعد از مرگ جریان خون به عضله‌ها متوقف می‌شود و اکسیژن و عناصر غذایی، دیگر به عضله نمی‌رسند. ترکیبی که به‌طور مستقیم انرژی را برای فرآیندهای متابولیسمی‌در سلول عضله فراهم می‌سازد آدنوزین تری فسفات (ATP) می‌باشد. به منظور حفظ مقدار ATP ، ذخایر انرژی در بین سلول‌های عضله‌ی (مخصوصاً گلیکوژن) به

---

[1] -Chi sea water
[2] - Sardina Pilchardus
[3] - Chrysophrys Auratus (Snapper)

صورت بی‌هوازی متابولیسم می‌شوند. نتیجه این عمل تولید اسیدلاکتیک می‌باشد که در عضله تولید می‌شود و نمی‌توان آن را از بین برد. هم‌چنانکه میزان اسیدلاکتیک افزایش می‌یابد، pH کاهش خواهد یافت. میزان کاهش pH بستگی به مقدار ذخیره انرژی موجود در بافت ماهی قبل از مرگ آن دارد. میزان این ذخایر انرژی بستگی به وضع تغذیه‌ای ماهی قبل از صید، میزان انرژی که ماهی در طول فرآیند صید برای فرار از تور و از دست می‌دهد دارد. علیرغم اختلاف در ذخایر انرژی، بلافاصله بعد از مرگ مقدار آن به نقطه‌ای می‌رسد که تولید مجدد ATP متوقف می‌شود و ATP باقیمانده مصرف می‌شود. در این زمان است که ماهی وارد مرحله جمود پس از مرگ شده و عضله‌های آن سفت و سخت می‌شوند. پدیده جمود پس از مرگ (Rigor Mortis) در اثر اتصال رشته‌های ضخیم به رشته‌های نازک در بین میوفیبریل‌ها صورت می‌گیرد.

pH نهایی عضله ماهی می‌تواند تاثیر مستقیم روی بافت ماهی تازه داشته باشد. برای مثال، مشاهده شده است که فیله‌های ماهی کاد که pH پائین‌تر دارند، استحکام بافتی بیشتری دارند(۷۵و۷۴). همچنین pH ممکن است روی سرعت تغییرات بافت و طعم در زمان نگهداری فرآورده بصورت منجمد در سردخانه نقش داشته باشد. عضله ماهی کاد با pH پائین سریع‌تر سخت و خشک می‌شود در حالی که ماهی کاد با pH بالاتر در زمان انبارداری تولید طعم و مزه غیرقابل قبول می‌نماید قبل از آنکه بافت آن سخت و مشکل آفرین شود(۷۶). تغییر pH عضله ماهی تاثیر مستقیم روی ظرفیت نگهداری آب توسط پروتئین‌های میوفیبریل دارد(۱۵). همچنانکه pH عضله کاهش می‌یابد بار منفی روی رشته‌های شبکه میوفیبریل نیز کاهش می‌یابد. این کاهش در بار منفی شبکه، نیروی دافعه را در بین رشته‌ها کاهش می‌دهد و باعث می‌شود تا شبکه میوفیبریل منقبض شود. این انقباض باعث خارج شدن مایع از رشته میوفیبریل گردیده و در نتیجه باعث می‌شود تا چگالی پروتئین افزایش یابد. بنابراین، اگر ماهی‌ای که صید می‌شود مقدار ذخیره انرژی‌اش بالا باشد در نتیجه pH نهایی آن پائین‌تر خواهد بود و این ممکن است به‌طور مستقیم روی بافت ماهی و زمان و قابلیت نگهداری فرآورده در سردخانه تاثیر بگذارد.

۴-۷-۲۰- نگهداری در یخ

طی نگهداری فرآورده در یخ بعضی از تغییرات ممکن است رخ دهد. این تغییرات ممکن است به وسیله آنزیم‌های موجود در عضله ماهی یا با افزایش بار میکروبی روی سطح ماهی ایجاد شوند. این تغییرات می‌توانند روی طعم اولیه، بافت ماهی و همچنین مقاومت فیله‌ها نسبت به تغییرات طی نگهداری فرآورده به صورت منجمد در سردخانه تاثیر داشته باشند.

طعم و مزه روغن ماهیان مثل کاد، هد داک و وایتینگ به‌عنوان طعم شیرین و گوشتی توصیف می‌شوند. طعم شیرین در زمانی که ماهیان مرحله جمود را طی می‌کند تولید می‌شود، در این ماهیان بیشترین شدت طعم بعد از ۲-۱ روز زیر یخ قرار داشتن تولید می‌شود(۷۷). شدت طعم و مزه شیرین با گذشت زمان کاهش می‌یابد بطوری که پس از ۸-۷ روز ماهی کاد بدون طعم و مزه (Blend) می‌شود. بعد از آن طعم فساد ایجاد که توسط باکتری‌ها ایجاد گردیده احساس خواهد شد. در ماهی هداک (Haddock)، از بین رفتن طعم شیرین آهسته تر از ماهی کاد می‌باشد و مرحله بدون طعم و مزه شدن در این ماهی در زمان نگهداری زیر یخ قبل از بوجود آمدن طعم و مزه فساد وجود ندارد(۷۸). از بین رفتن طعم و مزه تازگی و شیرین طبق بررسی‌ها انجام شده بعلت فعالیت آنزیمی‌می‌باشد(۷۹). نمونه‌های از فیله که ابتدا استریل شده‌اند و سپس در صفر درجه سانتیگراد نگهداری شده‌اند را می‌توان بمدت طولانی تر بدون تولید طعم و مزه فساد در آنها نگهداری نمود(۷۹). در این نمونه‌ها تغییراتی که در طعم و مزه دیده شد مربوط به از دست رفتن طعم و مزه تازگی و شیرین بود و سپس بمدت زیادی نمونه بدون مزه باقی ماند.

نتیجه رشد میکروبی روی سطح فیله‌ها در ماهیان دریائی افزایش بوی ماهی (Fishy Aroma) است. اگرچه تولید طعم فساد فرایندی پیچیده است، اما مولکولی که بیشترین توجه به آن برای درک تغییر طعم در ماهی بر آن معطوف شد تری میتل آمین (TMA) می‌باشد. این آمین فرار در نتیجه فعالیت میکروب‌ها روی TMAO تولید می‌شوند. چون ماهیان آب شیرین فاقد TMAO هستند بنابراین، این ترکیب باعث ایجاد بوی ماهی در ماهیان آب شیرین در زمان نگهداری ماهی در انبار سرد نمی‌شود، و در نتیجه این ماهیان ممکن است به مدت طولانی‌تری قابل پذیرش توسط مصرف کننده باقی بمانند. TMA معمولاً در به مقدار پائینی در ۱۰ روز اول نگهداری ماهی در زیر یخ باقی می‌ماند. سپس غلظت آن سرعت افزایش می‌یابد و بنابراین می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای شروع فساد میکروبی بکار گرفته شود. روش ساده ای برای‌اندازه‌گیری TMA پیشنهاد شده (۸۲،۸۹و۸۰). وقتی ماهی منجمد می‌شود TMA میزان پیش از انجماد طی نگهداری در سردخانه باقی می‌ماند، اما DMA که از TMAO در طول نگهداری فرآورده منجمد تولید می‌گردد و همراه با افزایش زمان نگهداری میزان آن افزایش می‌یابد. بنابراین‌اندازه‌گیریهای DMA و TMA این پتانسیل را دارند که برای ارزیابی تاریخچه بعضی از گونه‌های روغن ماهیان طی نگهداری آن در زیر یخ و به صورت منجمد استفاده شوند و تنها استثناء در این مورد ماهی هداک (Haddock) می‌باشد.

مدت زمانی که ماهی در زیر یخ، قبل از فرآوری نگهداری می‌شود می‌تواند اثرات مهمی‌روی بافت داشته باشد. نگهداری بعد از مرگ منجر به نرم شدن بافت عضله می‌شود. در ماهیچه در چهارپایان پس از کشتار، یک مدت

زمان نگهداری در سرد خانه برای نرم کردن عضله ضروری است. در بافت عضله ماهیان، فرآیند جمود نعشی بعد از مرگ می‌تواند منجر به نرم شدن بیش از حد بافت شود و سرعت آن بستگی بـه درجـه حـرارت آبـی دارد کـه ماهی در آن زندگی می‌کرده است (۸۳). اگرچه بخش اعظم پروتئین‌های میوفیبریل (اکتین و میوزین) طی جمود نعشی فرآورده بدون تغییر و سالم باقی می‌مانند اما بسیاری از پروتئین‌های اسکلتی سلول (پروتئین‌هایی که سلول ها را به هم اتصال می‌دهند) مثل desmin, nebulin, تجزیه می‌شوند(۸۴). مطالعات زیـادی در مـورد آمـاده سازی (Conditioning) بعد از مرگ در ماهی انجام شده ولی به نظر می‌رسد که این فرآیند در همـه ماهیـان یکسان نباشد. مخصوصاً سرعت تغییراتی که به تجزیه و نرم شدن بافت ماهی مرتبط می‌باشند به‌طور قابل توجه ای بین گونه‌های مختلف ماهی باهم فرق دارند.

۵-۷-۲۰- قبل از سردسازی

معمولاً یخ بطور سنتی برای سرد کردن ماهی قبل از انجماد استفاده می‌شود .این کار چند مزیت دارد. اول اینکـه تماس مناسب بین ماهی و یخ اجازه می‌دهد تا انتقال گرمایی از ماهی به یخ صورت بگیرد. دوم اینکـه ذوب یـخ باعث می‌شود تا بخش از انرژی گرمایی از ماهی گرفته شود. معایب استفاده از یخ ایـن اسـت کـه دارای هزینـه کارگری زیاد می‌باشد و ممکن است ارتباط بین ماهی و یخ در جعبه چندان مناسب نباشد. راه دیگر منجمد کردن ماهی (بوسیله) یخ، انجماد ماهی به صورت جزئی[1] می‌باشد. با کاهش درجه حـرارت بـدن مـاهی بـه $-3^{\circ}C$ یـا $-4^{\circ}C$، ماهی به صورت جزئی منجمد می‌شود. ادعاء شده که با انجماد ماهی به صورت جزئـی، بـه ایـن حالـت، باعث افزایش زمان ماندگاری ماهی تا چند هفته می‌شود(۸۶و۸۵). علاوه بر آن، پیشنهاد شده کـه مـاهی‌ای کـه قبلاً به صورت جزئی منجمد شده است باعث افزایش کارایی در زمان انجماد ماهی می‌شود.

۶-۷-۲۰- انجماد در دریا

اثرات نگهداری ماهی در زیر یخ روی بافت و طعم می‌تواند با انجماد ماهی بلافاصله بعد از صید آن کاهش یابـد، اما انجماد در دریا می‌تواند موجب بروز مشکلاتی شود. اگر فیله ماهی قبل از اینکه ذخیره انـرژی‌اش تمـام شـود منجمد گردد، فیله ممکن است در زمان فرآیند انجمادزدایی و پختن دوباره به حالت پدیده معروف به زنـده شـدن برگردد. این حالت ممکن است باعث کوتاه شدن بیش از حد فیله‌ها شود که به‌عنوان جمود انجمـادزدایی نامیـده

[1] -Partially freeze

می‌شود گردد، که در نهایت باعث خروج مقدار زیادی مایع از ماهی و تغییر شکل آن خواهد شد. علاوه بر آن، فیله کردن قبل از مرحله جمود ممکن است منجر به انقباض شدید عضلانی شود که در نهایت باعث پاره‌گی بیش از حد در بافت فیله می‌شود (Gaping).

۷-۷-۲۰- افزودن محافظ کننده از سرما برای نگهداری از بافت

محافظ کننده از سرما[1] ترکیباتی هستند که کیفیت را بهبود داده و زمان ماندگاری غذاهای منجمد را افزایش می دهند. تعداد وسیعی از ترکیبات محافظ کننده از سرما در دسترس می‌باشند. این ترکیب‌ها شامل قندها، اسیدهای آمینه، پلی اُل، متیل آمین، کربوهیدرات، بعضی از پروتئین‌ها و حتی نمک‌های آلی مثل فسفات پتاسیم و سولفات آمونیوم می‌باشند. انتخاب محافظ کننده از سرما بستگی به این دارد که آیا کاربرد آن برای فرآورده چرخ شده است یا برای فیله کامل می‌باشد. در فرآورده‌های چرخ شده محافظ کننده سرما می‌تواند با پروتئین‌های عضله مخلوط شود. برای فیله‌های کامل توانایی نفوذ محافظ کننده از سرما به محل مناسب در بین ساختار فیله باید مورد توجه واقع شود. برای نمونه، استفاده از مواد محافظتی با وزن مولکولی بالا ممکن است در فیله‌ها میسر نباشد چون آنها به آسانی به داخل بافت ماهی به خوبی نفوذ نمی‌کنند. بسیاری از مواد حفاظت کننده از سرما به فیله ماهی و ماهی چرخ شده افزوده شده‌اند و باعث بهبود کیفیت آنها شدند. این افزودنیها شامل پلی فسفات‌ها، قندها ،اسیدکربوکسیلیک و پروتئین‌های شیر می‌باشد(۸۷،۸۸،۸۹،۹۰و۷۲). مک دولاند و همکارانش (۱۹۹۷) بررسی بسیار مناسبی درباره استفاده از مواد حفاظت کننده از سرما در نگهداری از بافت ماهی منجمد شده ارائه داده‌اند(۹۱).

در انتخاب یک ماده حفاظت کننده از سرما، باید توجه به قوانین مربوطه برای استفاده از آن در فرآورده‌ها نمود. در حقیقت، برای فرآورده‌های از فیله کامل تعداد بسیار کمی‌از افزودینها برای استفاده در جامعه اروپائی دارای مجوز می‌باشند. نگهدارنده‌های جدید از سرما، که اخیراً معرفی شده‌اند، پروتئین‌های ضد سرما می‌باشند. پیشنهاد شده است که افزودن AFPs[2] به گوشت،اندازه کریستال‌های یخ را نیز کنترل خواهد کرد. در این روش مقدار آب چک کاهش یافته و کیفیت بافتی حفظ می‌گردد(۹۲و۹۳). اما، روش افزودن این حفاظت کننده‌ها شامل غوطه‌ور نمودن ماهیچه در محلول AFP یا تزریق محلول AFP در جریان خون قبل از کشتن دام می‌باشد. برای فیله های ماهی کامل و گوشت ماکیان مشکل موجود، یافتن راه مناسب برای نفوذدادن مولکول‌های AFP در ساختار

[1] - Cryoprotectants
[2] - Antifreeze Proteins

عضله بدون اینکه موجب صدمه دیدن آن شود، می‌باشد. اما، پروتئین‌های ضدانجماد به صورت طبیعی در بعضی از گونه‌های ماهی وجود دارد و این ممکن است باعث کنترل ساختار کریستال یخ در این گونه‌ها شود(۹۴).

۸-۷-۲۰- کنترل تغییر طعم بعلت اکسیداسیون چربی و افزودن آنتی اکسیدان

باید یادآوری که افزودن آنتی اکسیدان فقط یکی از روش‌ها برای کنترل تغییرات اکسیداسیونی در فرآورده‌های منجمد شده ماهی می‌باشد. راههای دیگر کنترل اکسیداسیون، بسته بندی در خلا یا اتمسفر کنترل شده می‌باشد. هر دو روش بسته بندی به صورت موثری از تماس اکسیژن اتمسفری با چربی موجود در فرآورده جلوگیری می نمایند(۹۵و۹۶،۹۷). راه و روش‌های دیگر جلوگیری از تماس مستقیم اکسیژن، با فرآورده استفاده از پوشش‌های مثل یخ و یا پوشیدن سطح فرآورده با اسیدهای چرب اشباع شده می‌باشد. همچنین کاهش درجه برودتی که فرآورده در آن بصورت منجمد نگهداری می‌شود مفید خواهد بود(۹۸و۹۹).

از آنجائیکه بسیاری از واکنش‌ها که منجر به تند شدن چربی می‌شوند اکسیداسیونی هستند، افزودن آنتی اکسیدان می‌تواند باعث پایداری فرآورده در زمان نگهداری در انبار شود. بسیاری از ادویه‌های گیاهی حاوی موادی هستند که در کنترل نمودن تند شدگی در گوشت موثر خواهند بود. برای مثال، عصاره حاصل از رزماری می‌تواند باعث ممانعت از تند شدن اکسیداسیونی شود و ایجاد طعم warm-over را در بعضی از فرآورده‌های گوشتی به تعویق‌اندازد(۱۰۰). همچنین گزارش شده که عصاره رزماری ممکن است دارای مزایایی باشد برای کنترل تغییرات اکسیداسیونی در ماهی باشد(۱۰۱). اما، در انتخاب استفاده از آنتی اکسیدانهای طبیعی در گیاهان و ادویه‌ها، باید تاثیر این مولکول‌ها روی طعم فرآورده و ظاهر آن مورد بررسی و تحقیق قرار گیرد. همچنین در انتخاب آنتی اکسیدانها خیلی مهم است که باید مجاز بودن استفاده از آنها را مورد توجه قرار گیرد.

۸-۲۰- تاثیر سرعت انجماد

در بخش ۳-۲۰ تاثیر انجماد روی ساختار فیبری فیله‌های ماهی شرح داده شد. سرعت انجماد به کار رفته باید به نحوی باشد که قادر به ایجاد کریستال‌های یخ در بین فیبرهای ماهیچه‌ای و باعث سفت شدن آنها گردد. تاثیر سرعت انجماد روی ساختار کریستال یخ غالباً به صورت کم و موردی مورد بررسی قرار گرفته است. اغلب تیمارهای مختلف انجماد، برای منجمد نمودن فیله‌های ماهی به کار رفته است، اما تاثیر این روش‌ها روی ساختار یخ گزارش نشده است.

انجماد با سرعت کم باعث افزایش آب چک(۱۰۲) می‌گردد و برعکس استفاده از انجماد تند و سریع باعث جلوگیری از آبچک و ضایعات دیگر می‌شود(۱۰۵و۱۰۳). بهرصورت در بعضی از بررسی‌ها سرعت انجماد بالا تاثیری نداشته است(۱۰۵). در انجماد سریع در بعضی مواقع ممکن است که بخش‌های بیرونی نمونه سریعاً منجمد گردد و در صورتی که بخش‌های درونی منجمد نگردند(۱۰۶). نتایج مختلف دیده شده، ممکن است نشان دهند که آیا واقعاً رژیم‌های برودتی مختلف بکار برده شده با توجه به سرعت انجماد آیا قادر به تولید کریستال‌های با اندازه‌های مختلف در کل فرآورده می‌باشند یا خیر؟ بعلاوه بعضی از گونه‌ها ممکن است بعلت سرعت انجماد دچار ضایعه گردند تا دیگران. هم چنین مزایای بدست آمده از انجماد سریع ممکن است بعلت رشد کریستال‌ها در انبار نگهداری که دارای درجه بالاتری است از بین برود.

۱-۸-۲۰- تاثیر درجه حرارت نگهداری و تغییرات آن بر روی کیفیت

بخوبی مشخص شده است که کیفیت کلی فرآورده‌های منجمد وابسته به درجه برودت انبار نگهداری آن می‌باشد و کاهش درجه حرارت می‌تواند تغییرات بیوشیمیائی و فیزیکی مخرب را کاهش دهد. بنابراین برای تولید کنندگان، توزیع کننده‌ها و خرده فروش‌ها ارزشمند خواهد بود که قادر به پیش‌بینی تغییرات در کیفیت مواد غذائی در طول نگهداری فرآورده به صورت منجمد باشند. یکی از معمول‌ترین فرضیه‌ها این است که از دست رفتن کیفیت را می‌توان از رابطه ساده بین زمان نگهداری و درجه حرارت پیش‌بینی نمود. اما، بسیاری از فرآورده‌های منجمد دارای سیستم‌های در حال تعادل پایدار نیستند و پایداری آنها در انبار نگهداری ممکن است به کنیتیک پیچیده و فرآیندهای انتشار وابسته باشند. تاثیر درجه حرارت نگهداری مورد بررسی قرار گرفته و باانداره‌گیری بعضی از پارامترهای قابل تغییر، مشخص شده که کاهش درجه حرارت منجر به کاهش از دست رفتن کیفیت می‌شود. اما، بهرحال ایجاد مدل‌های پیش‌بینی که تاریخچه درجه حرارت- زمان را به کیفیت فرآورده نهایی ارتباط می‌دهد بسیار مشکل است که بوجود آورد.

مطالعات نشان داده است که نوسانات درجه حرارت باعث ایجاد سرعت و تغییرات نامطلوب در مواد غذائی می‌گردد(۱۰۸و۱۰۷). (Love, ۱۹۸۸) پیشنهاد کرد که بخاطر وجود یک رابطه لگاریتمی‌بین از دست رفتن کیفیت و درجه حرارت، نگهداری مواد غذائی در درجه حرارت بالا باعث تغییرات سریع در کیفیت ماده غذائی می‌گردد، بنابراین از این کار باید خودداری نمود(۱۰۹). بخاطر ماهیت پیچیده سیستم‌های منجمد(۱۱۰)، Scudder مشاهده کرد که تجزیه شدن TMAO به فرم آلدهید و دی متیل آمین در $-۱۸\ ^{\circ}c$ در به حداکثر سرعت خودش می‌رسد. این مشاهده تاثیر پیچیده درجه حرارت، انجماد و تغلیظ انجمادی

Freeze-Concentration را روی واکنش‌هایی که موجب کاهش کیفیت در ماهی منجمد می‌گردند را نشان می‌دهد.

۲-۸-۲۰- نیازهای زنجیره سرد به درجه حرارت پائین

پیشنهاد شده است که درجه حرارت نگهداری ماهیان کم چرب کف زی باید بین $-۲۴^{\circ}c$ تا $-۳۰^{\circ}c$ باشد. برای ماهیان چرب درجه حرارت نگهداری باید بین $-۳۰^{\circ}c$ تا $-۷۰^{\circ}c$ که پیشنهاد شده است (۹۹و۹۸). در ماهیان چرب این درجه حرارت‌های پائین برای کم نمودن سرعت تغییرات اکسیداسیونی می‌باشد. اما، استفاده از درجه برودت‌های پائین هنوز عمل نمی‌گردد، زیرا نگهداری در درجه حرارت پایین باعث افزایش خیلی زیاد هزینه ها و در نهایت قیمت گران فرآورده نهایی برای مصرف کننده می‌شود. در بعضی از مواد غذائی، ممکن است سرعت واکنش‌های منجر به از دست رفتن کیفیت از طریق روش انتشار (Diffusion) قابل کنترل باشد(۶۷). در حقیقت، کنترل از طریق روش انتشار ممکن است در زیر درجه‌ای که تولید شیشه‌های یخ یا (Glass Transition Temp) می‌گردد خیلی آهسته باشد. علت این پدیده ایجاد ویسکازیته زیاد بعلت تولید آب غیر قابل انجماد و ایجاد صفحه‌های شیشه‌ای مانند در این ناحیه می‌باشد. این پدیده موجب کم شدن تولید آب غیر قابل انجماد و ایجاد صفحه‌های شیشه‌ای مانند در این ناحیه می‌باشد. این پدیده موجب کم شدن قابل توجه نرخ واکنش‌ها می‌گردد. با بالا آوردن درجه حرارت (Glass Transition Temp) یک ماده غذائی به نحوی که بتوان ماده غذائی منجمد شده را نگهداری نمود و در ضمن کیفیت آنرا حفظ نمود، ممکن است این مشکل برطرف شود. یک جمع بندی (Review) از سیستم چگونگی تولید شرایط ایجاد صفحه‌های یخی (Glassy State in Food) و چگونه می‌توان آنها را دستکاری نمود در کتاب *Glassy State in Food*(۱۱۱) آورده شده است.

۹-۲۰- خلاصه

در ابتدا، در هر زنجیره عرضه فرآورده‌های ماهی نکات زیادی وجود دارند که بهینه‌سازی در آنها برای افزایش بهبود کیفیت فرآورده‌ها خیلی موثر می‌باشند. اما، برای کسب مزایای واقعی، تمام قسمت‌های زنجیره عرضه باید به صورت کامل بررسی شود. بنابراین اگر شرایط فرآوری، انجماد، نگهداری و توزیع نامناسب برای فرآورده به کار گرفته شوند کنترل ویژگی‌های کیفی مواد خام چندان مفید نخواهد بود. اما به‌طور کلی مواد خام بهتر و با کیفیت مناسب کیفیت خود را در زمان انجماد و نگهداری در سردخانه بهتر حفظ خواهند کرد.

فرآیندهایی که در طی انجماد و نگهداری فرآورده منجمد اتفاق می‌افتد کاملاً پیچیده هستند. بعضی از روش های‌اندازه‌گیری پیچیده را ممکن است به منظور ردیابی این تغییرها به کار گرفته شوند. اما، اهمیت این‌اندازه‌گیری‌ها در این است که این تغییرهای‌اندازه‌گیری شده باید به تغییرهای حسی مشاهده شد و در نهایت به واکنش مصرف کنندگان ارتباط داده شوند.

در این فصل سعی شد تا اطلاعات کافی در مورد فاکتورهای موثر روی کیفیت در زنجیره‌های مختلف عرضه ماهی داده شود و فاکتورهای موثر در هر مرحله به دقت مورد بررسی قرار گرفت، اما باید بدانید که توضیح کامل مشکل است چرا که زنجیره عرضه کیفی هر ماهی متفاوت می‌باشد. امید است این اطلاعات به خواننده کمک نماید تا شناخت کاملی درباره عواملی که روی کیفیت ماهی تاثیر می‌گذارند پیدا نموده باشد.

۱۰-۲۰- پیش‌بینی برای آینده

بازار غذاهای منجمد در قرن بیستم افزایش یافته است و از زمان Clarenc Birdseye امکان انتخاب طیف وسیعتری از غذاهای منجمد در دسترس می‌باشد. با توجه به زندگی امروزی که اکثر افراد زمان بسیار کمی‌دارند نیاز است که غذای آنها در حداقل زمان آماده شود. بنابراین غذای منجمد برای برآورد نیاز مصرف کنندگان بسیار مناسب است.

به‌طور کلی ماهی به‌عنوان یک منبع غذائی مغذی سرشار از پروتئین می‌باشد، اما مهمترین نکته برای صنعت ماهیگیری کم‌شدن ذخایر ماهی می‌باشد. بنابراین باید محدودیت‌هایی بیشتری برای صید گونه‌های سنتی در نظر گرفته شود. برای نمونه محدودیت‌های جدی در میزان صید ماهی کاد در دریای شمال صورت گرفته است که احتمالاً این محدودیت باقی خواهند ماند و یا حتی در آینده شدیدتر خواهند شد. بنابراین این نکته حائز اهمیت است که استفاده از مواد خام موجود را بهینه کنیم و همچنین استفاده از گونه‌های جدیدتر را ارتقا ببخشیم. همچنین، پرورش ماهی ممکن است توسعه بیشتری پیدا نماید و عمومی‌تر شود.. پرورش آزاد ماهیان در بسیاری از کشورها توسعه یافته تا جایی که آزاد ماهی تازه پرورشی در بعضی از کشورها از آن جمله انگلستان از ماهی کاد در بازارهای این کشور ارزانتر است.

با افزایش میزان مسافرت‌های خارجی‌ها، مصرف کنندگان محلی با تعداد بیشتری از گونه‌های ماهی و فرآورده‌های آن آشنا شدند. بنابراین این امکان وجود دارد که مصرف کنندگان فرآورده‌های ماهی در جستجوی فرآورده با تنوع و کیفیت بیشتر برآیند شکل فرآورده احتمالاً تغییر خواهد نمود و قطعه‌ای از ماهی جایگزین فیله کامل خواهد شد. این تغییر و استفاده از قطعه‌های کوچک گوشت ماهی مشکلات مربوط به خودش را به همراه

خواهد شد. مثلاً جلوگیری از اکسیده شدن چربی در ان بعلت افزایش سطح و قرار گرفتن در معرض اکسیژن هـوا از آن جمله می‌باشد.

در نهایت، گرایش به سمت غذاهای طبیعی باعث شده است تا دانشمندان نتوانند از انـواع مولکـول‌هـای خاص برای حفظ کیفیت بافت و طعم ماهی بهره بگیرند. بنابراین چالش موجود در این زمینه، انتخاب طبیعی‌ترین مواد افزودنیها به غذا جهت افزایش کیفیت و جهت ایجاد علاقمندی و رضایت در مصرف کننده خواهد بود.

۱۱-۲۰- منابع برای اطلاعات بیشتر

ERICKSON, M.C. and HUNG,Y.C.*Quality in Frozen Foods* New York International Publishing(1997).

LOVE R.M. *The Food Fishes: their intrinsic variation and partical implications.* LONDON Farrand Press(1988).

ALLEN, J.C. and HAMILTON, R.J. *Rancidity in Foods (3 rd edn)* Gaithersburg Maryland Blackie Academic and Professional(1994).

BLANCHARD J.M.V. and LILLFORD P.J. *the Glassy in Foods* Nottingham university press(1993).

۱۲-۲۰- منابع فصل بیستم

1. FUCINI, J.J. and FUCINI, S.F. *Entrepreneurs* Boston. 1985.
2. TRIFIRO, A., SACCANI, G. FRANZONI, A. FRULLANTI, B., ZANOTTI, A. and GHERARDI, S. 'Vitamin content of frozen vegetables' *Industria Conserv*. (2001) 76(2) 151–66.
3. FAVELL D. 'A comparison of the vitamin content of fresh and frozen vegetables' *Food Chem*. (1998) 62(1) 59–64
4. LANIER T.C. and LEE C.M. *Surimi Technology* New York Marcel Dekker Inc1992.
5. NOIKOV V. *Handbook of Fishery Technology Vol. I* New Dehli Amerind Publishing Co Pvt. Ltd. (1981).
6. SLADE L., LEVINE H., IEVOLELLA J. and WANG M. 'The glassy state pHenomenon in applications for the food industry – application of the food polymer science approach to structure-function relationships of sucrose in cookie and cracker systems' *J. Sci. Food Agric*. (1993) 63(2) 133–76.
7. REID D.S., HSU J. and KERR W. *The Glassy State in Foods* Nottingham University Press (1993).
8. HSIEH Y.L. and REGENSTEIN J.M. 'Texture changes of frozen stored cod and ocean perch minces' *J. Food Sci.* (1989) 54(4) 824–6.
9. KIM Y.J. and HELDMAN D.R. 'Quantitative analysis of texture change in cod muscle during frozen storage' *J. Food Proc. Eng.* (1985) 7(4) 265–72.
10. GILL T.A., KEITH R.A. and SMITH LALL B. 'Textural deterioration of red hake and haddock muscle in frozen storage as related to chemical parameters and changes in the myofibrillar proteins' *J. Food Sci*. (1979) 44(3) 661–7.
11. HILTZ D.F., LALL B.S., LEMON D.W. and DYER W.J. 'Deteriorative changes during frozen storage of fillets and minced flesh of silver hake (*Melucciusbilinearis*) processed from round fish held in ice and refrigerated sea water' *J. Fisheries Res. Board Can*. (1976) 33(11) 2560–7.
12. HURLING R., RODELL J.B. and HUNT H.D. 'Fibre diameter and fish texture' *J exture Studies* (1996) 27(6) 679–85..
13. HATAE K., YOSHIMATSU F. and MATSUMOTO J.J. 'Role of muscle fibres in contributing firmness of cooked fish' *J. Food Sci.* (1990) 55(3) 693–6.
14. PARTMANN W. 'Contractability of muscle fibres as a possible aid to judging textural changes in frozen meats and fish' *J. Texture Studies* (1971) 2(3) 328–38.
15. OFFER G. and TRINICK J. 'On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils' *Meat Sci*. (1983) 8(4) 245–81.
16. JARENBACK, L. and LILJEMARK, A. 'Ultrastructure changes during frozen storage of cod. I: Structure of myofibrils as revealed by freeze etching preparation' *J. Food. Technol.* (1975) 10(2) 229–39.
17. GARCIA M.L., MARTIN-BENITO J., SOLAS M.T. and FERNANDEZ B. 'Ultrastructure of the myofibrillar component of cod (*Gadus morhua*)

and hake (*Merluccius merluccius L.*), stored at 20ºC as a function of time.'
J. Agric. Food Chem. 47(9) (1999) 3809–15.
18. TANAKA, T. 'Electron microscopic studies on toughness in frozen fish'
Proc. Int. Symp. (1964) 121–6.
19. LOVE R.M. *The Food Fishes: their intrinsic variation and practical implications* London Farrand Press (1988) 156–7.
20. REY-MANILLA M.D., SOTELO C.G., AUBOURG S.P., REHBEIN H., HAVERMEISTER
W., JORGENSEN B. and NIELSEN M.K. 'Localisation of formaldehyde production during frozen storage of European hake (*Merluccius merluccius*)' *European Food Res. Tech*. (2001) 213(1) 43–7.
21. SOTELO C.G., PINIERO C. and PEREZMARTIN R.I. 'Denaturation of fish proteins during frozen storage – role of formaldehyde' *Zeitschrift Lebensmittel Untersuch. Fors.* (1995) 200(1) 14–23.
22. CASTELL, C.H., NEAL, W. and SMITH, B. 'Formation of dimethylamine in stored frozen sea fish' *J. Fish. Res. Bd. Can.* (1970) 10 1685–90.
23. SOKORSKI, Z. and KOSTUCH, S. 'Trimethylamine N-oxide demethylase: its occurrence, properties and role in technological changes in frozen fish'
Food.Chem. (1982) 9(3) 213–22.
24. REHBEIN H. 'Relevance of trimethylamine oxide demethylase activity and haemoglobin content to formaldehyde production and texture deterioration in frozen stored minced fish muscle' *J Sci. Food Agric.* (1988) 43(3) 261–76.
25. RODRIGUEZ, C., MASOUD, T. and HEURTA, M.D., 'Degradation of trimethylamine oxide for evaluation of quality of frozen fish' *Alimentaria* (1997) No. 288 125–9.
26. TOKUNAGA T. 'The effect of decomposition products of trimethlyamine oxide on the quality of frozen Alaska pollack fillets' (1974) *Bul. Jap. Soc. Sci. Fish.* 40(2) 167–71.
27. DINGLE J.R., KEITH R.A. and LALL B. 'Protein instability in frozen storage included in mince muscle of flatfshes by mixing with muscle of red hake'*Can Inst. Food Sci. Tech. J.* (1977) 10(3) 143–6..
28. AUBOURG S.P. and MEDINA I. 'Influence of storage time and temperature on lipid deterioration during cod (*Gadus morhua*) and haddock
(*Melanogrammus aeglefinus*) frozen storage' *J. Sci. Food Agric.* (1999) 79(13) 1943–8.
29. LAIRD W.M., MACKIE I.M. and REGENSTEIN J.M. 'Deterioration of frozen cod and haddock minces' *Refrigeration Sci Tech.* (1981) 1981 ÿ4 395–400
30. TRAN V.D. and HAN-CHING L. 'Preliminary studies on use of cryoprotective agents in comminuted fish' *Revue Travaux Institut Peches Maritime* (1981) 45(3) 215–7.
31. MIYAUCHI D., KUDO G. and PATASHNIK M. 'Effect of processing variables on storage characteristics of frozen minced Alaska pollack' *Marine Fish. Rev. Nat. Oceanic Atmos. Admin*. 39(5) (1977) 11–14.
32. YOON K.S, LEE C.M. and HUFNAGEL L.A. 'Effect of washing on the texture and microstructure of frozen fish mince' *J. Food Sci.* (1991) 56(2) 294–8.
33. SHENOUDA, S.Y.K. and PIGGOT, G.M. 'Lipid-protein intraction during

aqueous extraction of fish proteins: myosin-lipid interaction' *J. Food Sci*. (1974) 39(4) 726–34.
34. SIKORSKI Z.E., KOSTUCH S. and OLLEY J. 'Protein changes in frozen fish' *CRC Critical Rev. Food Sci.* (1976) 8(1) 97–129.
35. SAEED S., FAWTHROP S.A. and HOWELL N.K. 'Electron spin resonance (ESR) study on free radical transfer in fish lipid-protein interaction*' J. Sci. Food Agric.* (1999) 79(13) 1809–16.
36. HASTINGS R.J., ROGER G.W., PARK R., MATHEWS A.D. and ANDERSON E.M'Differential scanning calorimetry of fish muscle: the effect of processing and species variation' *J. Food Sci*. (1985) 50(2) 503–6, 510.
37. DAVIES J.R., LEDWARD D.A., BARDSLEY R.G. and POULTER R.G. 'Species dependence of fish myosin stability to heat and frozen storage' *Int. J. Foo Sci. Tech.* (1994) 29(3) 287–301.
38. HOWELL, B.K., MATHEWS, A.D. and DONNELY, A.P. 'Thermal stability of fish myofibrils: a differential scanning calorimetry study.' *Int. J. Food Sci echnol.* (1991) 26(3) 283–95..
39. JARENBACK L. and LILJEMARK A. 'Ultrastructural changes during frozen storage of cod (*Gadus morhua*) II Structures of extracted myofibrillar proteins and myofibril residues' (1975) *J Food Technol.* 10(3) 309–25.
40. DEL MAZO M.L., TORREJON P., CARECHE M. and TEJADA M. 'Characteristics of the salt soluble fraction of hake (*Merluccius merluccius*) fillets stored at ÿ20 and ÿ30 degrees C' (1999) *J. Agric. Food Chem.* 47(4) 1372–7.
41. MACKIE I.M. 'The effect of freezing on flesh proteins' (1993) *Foods Rev. Int.* 9(4) 575–610.
42. LILLFORD P.J., CLARK A.H. and JONES D.V. 'Distribution of water in foods and model systems' (1980) *A.C.S. Symp. Ser* 127 177–95.
43. PEARSON R.T., DUFF I.D., DERBYSHIRE W. and BLANCHARD J.M.V. 'NMR investigation of rigor in porcine muscle' (1974) *Biochim. Biochem. Acta* 362 188–200.
44. HAZELWOOD C.F., CHANG D.C., NICHOLS B.L. and WOESSNER D.E. 'Nuclear magnetic resonance transverse relaxation times of water protons in skeletal muscle' (1974) *BiopHysical J.* (1974) 14(8) 583–602.
45. FJELKNERMODIG S. and TORNBERG E. 'Water distribution in porcine Longissimus dorsi in relation to sensory properties' (1986) *Meat Sci.* 17(3) 213–31.
46. LAMBELET P., RENEVEY F., KAABI C. and RAEMY A. 'Low-field nuclear magnetic resonance relaxation study of stored or processed cod' (1995) *J. Agric. Food Chem*. 43(6) 1462–6.
47. STEEN C. and LAMBERLET P. 'Texture changes in frozen cod mince measured by low-field nuclear magnetic resonance spectroscopy' (1997) *J. Sci. Food Agric.* 75(2) 268–72.
48. SAMSON A.D. 'Textural changes in frozen gadoid minces stored at various temperatures' (1985) *Dis. Abs. Int. – B* 44(8) 2374.
49. KIM Y.J. and HELDMAN D.R. 'Quantitative analysis of texture change in cod muscle during frozen storage' *J. Food Proc Eng.* 7(4) 265–72

50. JEPSEN M.J., PEDERSEN H.T. and ENGELSEN S.B. 'Application of chemometrics to low-field 1H NMR relaxation data of intact fish flesh' (1999) *J.Sci. Food Agric.* 79 1793–1802.
51. RAMANATHAN L. and DAS N.P. 'Studies on the control of lipid oxidation in ground fish by some polypHenolic natural products' (1992) *J. Agric. Food Chem.* 40(1) 17–21.
52. TILLACK J. 'The storage characteristics of deep-frozen trout and slice salmon' *Archiv Lebensmittelhygiene* (1975) 26(2) 69–73.
53. CASTELL, C.H. 'Metal-catalyzed lipid oxidation and changes of proteins in fish' (1971). *J. Am. Oil Chem. Soc*. 48(11) 645–9.
54. LABUZA, T.P. 'Kinetics of lipid oxidation in foods' (1971) *CRC Critical Reviews in Food Technology*. 2(3) 355–405.
55. ALLEN J.C. and HAMILTON R.J. *Rancidity in Foods* Gaithersburg Maryland Aspen Publishers Inc (1999).
56. ERCKSON M.C. and HUNG Y.C. *Quality in Frozen Foods* New York International Thomsom Publishing (1997) 141–73.
57. TIMMERMAN F. and MEGREMIS C. 'More to it than meets the eye' (1996) *Food Ingred. Anal. Int* 18(3) 41–3.
58. MENDEZ E., SANHUEZA, J., SPEISKY H. and VALENZUELA A. 'Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils' (1996) *J. Ail Oil Chem. Soc.* 73(8) 1033–7.
59. POLVI S.M., ACKMAN R.G., LALL S.P. and SAUNDERS R.L. 'Stability of lipids and omega-3 fatty acids during frozen storage of Atlantic salmon' (1991) *J. Food Proc. Pres.* 15(3) 167–81.
60. MCGILL A.S., HARDY R., BURT J.R. and GUNSTONE F.D. 'Hept-cis-4-enal and its contribution to the off-flavour in cold stored cod' (1974) *J. Food Sci. Agric.* 25(10) 1477–89.
61. MCGILL A.S., HARDY R. and GUNSTONE F.D. 'Further analysis of volatile components of frozen cold stored cod and the influence of these on flavour' (1977) *J. Food Sci. Agric.* 28(2) 200–5.
62. ROSS D.A. and LOVE R.M. 'Decease in the cold store flavour developed by frozen fillets of starved cod (*Gadus morhua* L.)' (1979) *J. Food Tech.* 14(2) 115–22.
63. SANTOS E.E.M. and REGENSTEIN J.M. 'Effects of vacuum packaging and erythorbic acid on the shelf-life of frozen white hake and mackerel.' (1990) *J. Food Sci.* 55(1) 64–70.
64. HWANG, K.T. and REGENSTEIN, J.M. 'Protection of Menhaden mince lipids from rancidity during frozen storage.'(1989) *J. Food Sci.* 54(5) 1120–4.
65. SMITH, G., HOLE, M. and HANSON, W.H. 'Assessment of lipid oxidation in Indonesian salted-dried marine catfish (*Arius thalassinus*).'(1990) *J. Sci. Food Agric.* 51(2) 193–205.
66. KIM H.K., ROBERTSON I. and LOVE R.M. 'Changes in the muscle of lemon sole (*Pleuonectes microcepHalus*) after very long cold storage' (1977) *J. Sci. Food Agric.* 28(8) 699–700.
67. SAMSON A.D. 'Textural changes in frozen gadoid minces stored at various

temperatures' (1984) *Diss. Abs. Int. – B* 44(8) 2374.
68. HARVIE R.E. 'The importance of chilling in producing top quality snapper (*ChrysopHrys auratus*) for the Japanese market' (1982) *Refrigeration Sci. Tech.* 1982-1 163–8.
69. BARHOUMIE M., FAYE A.A., TEUTSCHER F. LIMA-DOS-SANTOS C.A.M. and VIKE E. 'Storage characteristics of sardine (*Sardina pilchardus Walbaum*) held in ice and chilled seawater' (1981) *Refrigeration Sci. Tech.* 1981–4 243–9.
70. PEREZ-VILLAREAL B. and HOWGATE P. 'Deterioration of frozen hake (*Merluccius merrlucius*). (1991) *J. Food Sci. Agric*. 55(3) 455–69.
71. REHBEIN H. and ORLICK B. 'Comparison of the contribution of formaldehyde and lipid oxidation products on protein denaturation and texture deterioration during frozen storage of ice-fish fillet (*ChampsocepHalus gumnnari* and *Pseudchaenichthys georgianus*)' *Int. J Refrigeration*. (1990) 13(5) 336–41.
72. CHANG C.C. and REGENSTEIN J.M. 'Texture changes and functional properties of cod mince proteins as affected by kidney tissue and cryoprotectants' (1997) *J. Food Sci.* 62(2) 299–304.
73. LAIRD W.M., MAACKIE I.M. and REGENSTEIN J.M. 'Deterioration of frozen cod and haddock minces*' Refigeration Sci. Tech*. 1981–4 395–400.
74. LOVE R.M., ROBERTSON I., SMITH G.L. and WHITTLE K.J. 'The texture of cod muscle' (1974) *J. Texture Stud*. 5(2) 201–12.
75. LOVE R.M. 'The post-mortem pH of cod and haddock muscle and its seasonal variation' (1979) *J. Sci. Food Agric*. 30(4) 433–8.
76. KELLY T.R. 'Quality of frozen cod and limiting factors on its shelf life' (1969) *J. Food Tech.* 4(2) 95–103.
77. MCGILL, A.S., HOWGATE, P., THOMSON, A.B., SMITH, G.L., RITCHIE, A. and HARDY, R. 'The flavour of white fish and the relationship between the chemical analyses and sensory data.' *Progress in Flavour Research 1984*, Amsterdam Elsevier Science Publishers B.V. (1985) 149–64.
78. LOVE R.M. *The Food Fishes: their intrinsic variation and practical implications* London Farrand Press (1988) 149–60.
79. FLETCHER, G.C. and STATHAM, J.A. 'Shelf-life of sterile yellow-eyed mullet(*Aldrichetta fosteri*)'. (1988) *J. Food Sci.* 53(4) 1030–5.
80. CHANG G.W., CHANG W.L. and LEW K.B.K. 'Trimethylamine-specific electrode for fish quality control' (1976) 41(3) 723–4.
81. VALLE M., EB P., TAILLEZ R. and MALLE P. 'New method for evaluating bacterial reduction of trimethylamine N-oxide and its application to bacterial populations in fish muscle' *J. Rapid Methods Aut. Microbiol.* (1999) 7(2) 119–33.
82. LOUGHRAN M. and DIAMOND D. 'Monitoring of volatile bases in fish sample headspace using an acidochromic dye' (2000) *Food Chem.* 69(1) 97–103.
83. SUMNER J.L., GORCZYCA E., COHEN D. and BRADY P. 'Do fish from tropical waters spoil less rapidly in ice than fish from temperate waters?' (1984) *Food Tech. Aus.* 36(7) 328–29.
84. SEKI N. and TSUCHIYA H. 'Extensive changes during storage of carp myofibrillar proteins in relation to fragmentation' (1991) *Bul. Jap Soc.*

Sci. Fish. 57(5) 927–33.
85. KE-LIANG B.C., JEJIA C., CHYUAN Y.S. and PAN B.S. 'Biochemical, microbiological and sensory changes of sea bass (*Lateolabrax japonicus*) under partial freezing and refrigerated storage' (1998) *J. Agric. Food Chem.* 46(2) 682–6.
86. NOWLAN S.S., DYER W.J. and KEITH R.A. 'Superchilling – a new application for preserving freshness of filets during marketing' (1974) *Can. Inst. Foo Sci. Tech. J.* 7(1) A16–A19.
87. PARK J.W. and LANIER T.C. 'Cryoprotective effects of sugars, polyols and/or pHospHates on Alaska pollack surimi' (1988) *J. Food Sci*. 53(1) 1–3.
88. NOGUCHI S. and MATSUMOTO J.J. 'The control of denaturation of fish muscle proteins during frozen storage. IV. Preventive effects of carboxyllic acids' (1975) *Bull. J. Soc. Sci. Fisheries* 41(3) 329–35.
89. KRUEGER D.J. and FENNEMA O.R. 'Effect of chemical additives on toughening of frozen Alaska pollack *(Theragra chalcogramma)* (1989) *J. Food Sci*. 54(5) 1101–6.
90. ANESE M. and GORMLEY R. 'Effects of dairy ingredients on some chemical, pHysico-chemical and functional properties of fish mince during freezing and frozen storage' (1996) *Lebensmittel Wissenschaft Tech*. 29(1/2) 151–7.
91. ERCKSON M.C. and HUNG Y.C. *Quality in Frozen Foods* New York International Thomsom Publishing (1997) 197–232.
92. PAYNE S.R., SANDFORD D., HARRIS A. and YOUNG O.A. 'Effects of antifreeze proteins on chilled and frozen meat' (1994) *Meat Sci.* 37(3) 429–38.
93. PAYNE S.R. and YOUNG O.A. 'Effects of pre-slaughter administration of antifreeze proteins on frozen meat quality' (1995) *Meat Sci* 41(2) 147–55.
94. PAYNE S.R. and WILSON P.W. 'Comparison of the freeze/thaw characteristics of Antarctic cod (*Dissostichus mawsoni*) and black cod (*Paranototheni ugusta*)-possible effects of antifreeze glycoproteins.' (1994) *J. MuscleFoods* 5(3) 233–55.
95. SANTOS E.E. and REGENSTEIN J.M. 'Effects of vacuum packaging, glazing and erthorbic acid on the shelf life of frozen white hake and mackerel' (1990) *J. Food Sci*. 55(1) 64.
96. SIROIS M.E, SLABYJ B.M, TRUE R.H. and MARTIN R.E. 'Effect of vacuum packaging on changes associated with frozen cod fillets' (1991) *J. Muscle Foods* 2(3) 197–208
97. ALLEN, J.C. and HAMILTON, R.J *Rancidity in Foods (3rd edn)* Gaithersburg Maryland Blackie Academic and Professional (1994) 256–72.
98. CHAPMAN K.W., SAGI I., HWANG K.T. and REGENSTEIN J.M. 'Extra-cold storage of hake and mackerel fillets and mince' (1993) *J. Food Sci*. 58(6) 1208–11.
99. INOUE C. and ISHIKAWA M. 'Glass transition of tuna flesh at low temperature and effects of salt and moisture' (1997) *J. Food Sci.* 62(3) 496–9.
100. MURPHY A., KERRY J.P., BUCKLEY J. and GREY I. 'The antioxidative properties of rosemary oleoresin and inhibition of off-flavours in precooked roast beef slices' (1998) *J. Sci. Food Agric.* 77(2) 235–43.

101. AKHTAR P., GRAY J.I., GOMAA E.A. and BOOREN A.M. 'Effect of dietary vitamin E and surface application of oleoresin rosemary on iron/ascorbate stimulated lipid oxidation in muscle and microsomes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)' (1998) *J. Lipid Foods* 5(1) 73–86.
102. BILINSKI E., JONAS R.E.E., LAU Y.C. and GIBBARD G. 'Treatments before *Fisheries Res. Board Can.* 34(9) 1431–5.
103. CHEN Y.C. and PAN B.S. 'MorpHological changes in tilapia muscle following freezing by air-blast and liquid nitrogen methods' *Int. J. Food Sci. Tech.* (1997) 32(2) 159–68.
104. PAN B.S. and YEH W.T. 'Biochemical and morpHological changes in grass shrimp (*Penaeus monodon*) following freezing by air blast and liquid nitrogen methods' (1993) *J. Food Biochem.* 17(3) 147–60.
105. CUTTING C.L. 'The influence of freezing practice on the quaility of meat and fish' (1977) *Aus. Refrigeration Air Cond. Heat.* 31(2) 25–8, 37–41.
106. CREPY J.R. and CORBIC G. 'Liquid nitrogen freezing. Experimental for sea foods. Quality of frozen products' *Rev. Gen. Froid* (1974) 65(2) 133–9.
107. LEBLANC E.L., LEBLANC R.J. and BLUM I.E. 'Prediction of quality in frozen cod (*Gadus morhua*) fillets' (1988) *J. Food Sci.* 53(2) 328–40.
108. BILINSKI E., JONAS R.E.E. and PETERS M.D. 'Treatments affecting the degradation of lipids in frozen Pacific herring *Clupea harengus pallase*' (1981) *Can Inst. Food Sci. Tech. J.* 14(2) 123–7.
109. LOVE R.M. *The Food Fishes: their intrinsic variation and practical implications* London Farrand Press (1988) 121–40.
110. SCUDDER B. 'Icelandic research warning on frozen fish'. (1995) *Seafood Int.* 10(6) 51.
111. BLANCHARD J.M.V. and LILLFORD P.J *The Glassy State in Foods* Nottingham University Press (1993).

«فصل بیست و یکم»

اندازه گیری زمان ماندگاری ماهی منجمد

۲۱-۱- مقدمه

در اولین بخش این فصل فاکتورهای مرتبط با کیفیت و فساد ماهی منجمد مورد بحث واقع می‌شوند و واکنش های فیزیکی و شیمیایی که منجر به از دست رفتن کیفیت می‌شوند به صورت خلاصه تشریح می‌شوند. سپس روش‌های سنتی و پیشرفته برای‌اندازه‌گیری زمان ماندگاری فرآورده‌های منجمد شده ارائه می‌گردند و در نهایت گرایش‌های آینده برای‌اندازه‌گیری کیفیت پیش‌بینی می‌شوند. در این فصل واژه ماهی برای ماهی کامل، فیله، برای ماهی چرخ شده استفاده می‌شود، مگر اینکه اختلافات بین این فرآورده‌ها مورد بحث واقع شوند.

۲۱-۲- شروع فساد در ماهی منجمد شده

مطالعات جامعه اروپایی و امریکا آشکار کرده است که ماهی منجمد چندان موردپسند نیست. در حالیکه مصرف کنندگان اروپایی تاکید روی بی‌طعم و مزه این فرآورده‌ها دارند (Anonymous,1993) و بسیاری از مصرف کنندگان امریکایی اعتقاد دارند که ماهی منجمد از نظر ارزش غذایی نسبت به ماهی تازه در سطح پائین‌تری هم‌چنین دارای استخوان بیشتری است و از طرفی بافت سخت و خشک و بوی بد و مزه نامناسب است (Peavey *et al.*,1994). اما، بهر حال با انتخاب دقیق مواد خام، فرآوری و شرایط نگهداری مناسب می‌توان که فرآورده‌ها منجمد با کیفیت بالا را تولید نمود (Boknas *et al.*,2001). دلایل زیادی برای از بین رفتن کیفیت فرآورده منجمد وجود دارد همچنانکه روش‌های زیادی هم برای جلوگیری یا به تعویق‌انداختن آن وجود دارد (Erikson and Hung,1997). در مورد غذاهای دریائی منجمد، هرگونه بررسی بر روی کیفیت باید موارد زیر را مورد توجه قرار دهد:

الف) تعداد زیادی حدود چندین هزار گونه ماهی در جهان وجود دارد، که هرگونه دارای ویژگیهای بیوشیمیایی و ترکیب متفاوت مربوط به خودش را دارا می‌باشد.

ب) این حقیقت که بیشتر مواد خام از گونه‌های وحشی بدست می‌آیند نه از گونه‌های پرورشی که این موضوع برعکس تولید گوشت قرمز است (Love,1988) . از دست رفتن کیفیت در فرآورده‌های منجمد هم چنین بستگی به فاکتورهای درونی و بیرونی دارد. مهمترین فاکتور بیرونی شامل سرعت انجماد ، درجه حرارت نگهداری، نوسانات درجه حرارت، نفوذ اکسیژن در فرآورده طی نگهداری و نباید فراموش نمود نحوه شکل انجمادزدایی و حرارت دادن، به فرآورده می‌باشد. فاکتورهای درونی به وسیله ویژگیهای بیوشیمیایی ماهی یا ماهی صدف‌دار مشخص می‌شود. میزان آنزیم‌های موجود، نوع و درصد اسیدهای چرب در چربی و حضور دیگر متابولیت‌ها که به‌عنوان ماده زمینه‌ای (پیش ماده) نامناسب می‌باشند که عامل فرآیندهای فساد می‌گردد (Love,1988).

درجه برودت ماهی منجمد برای جهت نگهداری فرآورده باید به‌اندازه پائین باشد که سبب ایجاد لایه یخی درخشان در سطح ماهی گردد و از نفوذ مولکول‌های اکسیژن به داخل بافت ماهی جلوگیری و یا آنرا به تعویق‌اندازد (Broke & Fennema,1999 b) درجه برودتی که باعث ایجاد لایه یخی در ماهی می‌شود $-12^{\circ}c$ برای ماهی کاد و قباد می‌باشد. (Brake and Fennema,1990 a). در زیر این درجه برودت بافت عضلانی ماهی به خوبی از واکنش‌های که منجر به از دست رفتن کیفیت می‌گردد و علت آن نفوذ مولکول اکسیژن است بخوبی محافظت می‌گردد.

انجماد ماهی با تشکیل کریستال یخ که باعث متراکم شدن نمک و ترکیبات آلی و تغییرات pH در فاز مایع می شود. این فرآیندها به وسیله سرعت انجماد، درجه حرارت نگهداری (Haard,1992) و نوسانات درجه حرارت تحت تاثیر قرار می‌گیرند. پروتیئن‌های عضله، آب از دست داده و تغییر ماهیت می‌دهند و غشاهای سلولی آن تخریب می‌شوند (Mackie,1993; Hultin,1995 ، Haard,1992). دو عامل اصلی فساد شامل هیدرولیز و اکسیداسیون چربی‌ها (Sheweelt,1981 , Hultin *et al.*,1999) و در ماهیان gadoids و چند گونه دیگر، تجزیه TMAO به فرم آلدئید دی متیل آمین به وسیله آنزیم تری متیل آمین اکسیداز TMAase می‌باشد

(Sotelo & Rehbein,2000). از طرف دیگر شکل فساد در مواد غذائی دریـائی ممکـن اسـت تحـت تـأثیر فاکتورهای بیولوژیکی نیز قرار گیرد (Haard,2000 ، Love,1970,1980,1988).

● گونه ماهی

مکانیسم ایجاد تند شدگی برای ماهیان چرب و بدون چرب متفاوت است و همچنین برای ماهیان کفزی و سطح زی که دارای مقادیر مختلفی از گوشت قرمز در عضله نمی باشند. گوشت قرمـز مثـل میوگلـوبین و هموگلـوبین دارای خاصیت پراکسیدانی بوده و تسهیل کننده عمل اکسیداسیون چربی‌ها می‌باشند.

● حالت فیزیولوژیکی ماهی

رسیدگی جنسی‌ماهی وابسته به فصل است. مقدار چربی در شگ ماهیان، ماکرل و دیگر گونه‌ها به صورت قابـل ملاحظه‌ای در طول سال متفاوت است. هم‌چنین مقدار و ویژگیهای کاربردی اکتومیوزین در ماهی قبـل و بعـد از تخمریزی متفاوت می‌باشـد. بـرای مثـال، در مـورد مـاهی هیـک آرژانتـین (*Merluccius hubbsi*) قبـل از تخمریزی، تغییر ماهیت پروتئین در میوفیبریل خیلی سریعتر از ماهی پس از تخم‌ریزی در زمان نگهداری بصورت منجمد می‌باشد (Roura *et al.*,2000).

● محل صید

شرایط محیطی مثل درجه حرارت آب و وجود غذا، می‌تواند تاثیر زیادی روی فعالیت آنزیم‌هـای عضـلانی داشـته باشد. سازگاری با درجه حرارت پائین اغلب با افزایش فعالیت آنزیم‌های گلیکولیتیک و ATP_{ase} ارتباط داده می شود (Haard,2000) تغییرات در سرعت تولید و استفاده از فسفات‌ها با انرژی زیاد ممکـن اسـت تـاثیری روی فرآیند جمود نعشی پس از مرگ و مقدار pH در عضله ماهی داشته باشد. اخیراً نشان داده شده است کـه انجمـاد ماهی در مرحله قبل و بعد از جمود نعشی ممکن است باعث تولید کیفیت‌های متفاوت در فـرآورده‌هـای منجمـد شود(Schubring,1999 d).

●اندازه ماهی

قدرت متابولیکی عضله ماهی و ساختار و ویژگیهای کلاژن می‌تواند با سن واندازه ماهی تغییر نماید. استحکام در کلاژن ماهی می‌تواند بافت ماهی را در زمان انجماد تحت تأثیر قرار دهد.

● جنس ماهی

متابولیسم، ساختار عضله و فعالیت‌های آنزیمی‌در طول تخمریزی برای گونه‌های نرو ماده با هم متفاوت می‌باشند (Haard,2000). تاثیر جنس، رسیدگی جنسی واندازه ماهی روی ویژگیهای کیفی فیله‌های منجمد شده ماهی هیک آرژانتینی در زمان نگهداری در سردخانه به وسیله ارزیابی حسی واندازه‌گیری فاکتورهای شیمیایی و فیزیکی تعیین شده است (Fuselli *et al.*,1996).

ثابت شده است که مقدار فرم آلدئید، دی متیل آمین، پروتئین محلول در آب نمک و میزان آبچک تحت تأثیر جنسیت،اندازه و رسیدگی ماهی قرار دارند، اما مقدار کل بازهای فرار تحت تاثیر این فاکتورها نیست. مقدار میانگین متوسط فیبری بودن گوشت نمونه‌های پخته شده برای ماهی‌های نر نسبت به ماهی‌های ماده با همان‌اندازه و حالت جنسی برابر و بصورت معنی داری بالاتر می‌باشد.

● ترکیب غذا برای ماهی پرورشی

بخوبی شناخته شده است که ویژگیهای کیفی ماهی پرورشی را می‌توان به‌اندازه زیادی به وسیله ترکیب غذای آن کنترل نمود (Morris,2001) برای نمونه مقدار و ترکیب چربی عضله هم‌چنین رنگ عضله در آزادماهی پرورشی آتلانتیک را می‌توان براساس علاقه مصرف کننده تغییر داده شود. بیشتر آزاد ماهیان به صورت فیله‌های دودی شده به روش سرد فرآوری می‌شوند اما انجماد مواد خام تازه یا فرآورده‌های دودی شده معمولاً به منظور تعادل در تولید برحسب تغییر در تقاضا انجام می‌شود. بنابراین، وقتی که ترکیب غذا تعریف می‌شود مرحله فرآوری انجماد باید در نظر گرفته شوند.

شرایط صید و فرآوری در از دست رفتن کیفیت ماهی منجمد بسیار مهم هستند. کیفیت در این مراحل به وسیله فاکتورهای زیر تحت تأثیر قرار می‌گیرد:

● روش صید؛ طول زمان ترال کشی

روش صید (گوشگیر، قلاب، قفس،...) ماهی کاد (Gadus morhua) به صورت معنی داری روی مقدار پروتئین، رطوبت و انرژی تاثیر دارد (Botta *et al.*,1987 a). هم‌چنین روی بعضی از ویژگی‌های حسی تأثیر می‌گذارد (Botta *et al.*,1987 a). وقتی که ذخایر آبزیان در حال کاهش می‌باشد، زمانهای ترال‌کشی طولانی تا ۱۶ ساعت ممکن است برای پرشدن تور ضروری باشد و این شرایط برای ماهی خیلی استرس‌زا می‌باشد. وقتی که ماهی‌ها به روی عرشه آورده می‌شوند، در حالات متفاوت از جمود نعشی پس از مرگ یا بی‌رمقی[1] محض می باشند.

● بی حس کردن و روش کشتن

رابطه بین روش‌های کشتن ماهی و کیفیت آن اخیراً بحث شده است (Robb,2001) . هرچه ماهی طی صید تلاش بیشتر نماید به همان نسبت کاهش pH بعد از مرگ سریعتر خواهد بود. از آنجائیکه pH پائین‌تر از (۶) باعث تغییر ماهیت پروتئین‌های عضله طی نگهداری فرآورده به صورت منجمد خواهد شد، در این شرایط اگر از ماهی استرس دیده برای فرآوری استفاده شود ممکن است بافت آن خشک و سفت گردد.

● جمود پس از مرگ

به جز فاکتورهای بیولوژیکی، صید و کشتن ماهی دارای تاثیر زیادی روی فرآیند جمود نعشی می‌باشد. تقلا زیاد باعث تخلیه شدن فسفات با انرژی بالا و ذخایر گلیکوژن می‌شود و ممکن است منجر به شروع سریع پدیده جمود نعشی شود. فرآوری ماهی یا در مرحله قبل و یا بعد از جمود نعشی می‌تواند منجر به تولید فرآورده با کیفیت بالا شود (Boknase *et al.*,2001 ;Erik son,2001). وقتی که ماهی در مرحله قبل از جمود نعشی منجمد می‌شود انجمادزدایی آن ممکن است همراه با پدیده جمود نعشی باشد که در این حالت انقباض عضلانی سریع و قوی رخ می‌دهد که منجر به تولید میزان زیاد آبچک و پارگی عضله و سخت شدن بافت ماهی می‌شود (Torrissen,2001) .

[1] -Exhaustion

● خونگیری

خونگیری ماهی به دقت قبل از فرآوری دارای مزایای زیادی جهت بهبود کیفیت بافت ماهی به دو علت می‌باشد. رنگ و ظاهر ماهی به وسیله خونگیری بهبود می‌یابد زیرا که وجود لکه‌های خونی منجر به بو، رنگ و ظاهر نامناسب و کم ارزش‌شدن فیله‌های انجماد زدایی شده می‌شود (Warm *et al.*,1998). از طرف دیگر سرعت، اکسیداسیون چربی به وسیله هموگلوبین افزایش می‌یابد (Hultin *et al.*,1992) و هم چنین خون گونه‌های روغن ماهی‌ها حاوی فعالیت تری متیل آمین اکسید از بیشتری نسبت به عضله سفید می‌باشد. بنابراین، خون باقیمانده ممکن است باعث تجزیه TMAO به فرم آلدئید و DMA گردد (Rehbein,1988).

● منجمد کردن در یک مرحله و یا دو مرحله

فیله‌های منجمد به صورت مستقیم بعد از صید روی کشتی‌های مجهز به سردخانه تولید می‌شوند و یااینکه ماهیانی که در دریا منجمد می‌شوند به کارخانه‌های واقع در خشکی انتقال داده می‌شوند و سپس انجمادزدایی و فیله و منجمد می‌شوند. بسته به گونه ماهی و شرایط فرآوری، ماهی کوچک و بزرگ اختلافات کم یا زیادی در کیفیت فرآورده‌ای که یک بار و یا دوبار منجمد شده است وجود دارد (Hurling & Mcarthor,1996 , Schubring,2000، Thiemig & Oelker,1999).

● گلاینرینگ[1] و روکش نمودن[2]

گلیزینگ، از فیله‌های منجمد در برابر پدیده سوخت سردخانه‌ای[3] و اکسیداسیون چربی محافظت می‌کند (Josephson *et al.*,1985). همچنین استفاده از پوشاننده‌های خوراکی می‌تواند سرعت انتقال اکسیژن و رطوبت را در بین بخش مرکزی بافت و هوای اطراف آن کاهش دهند (Stuchell & Krochta,1997). مثلاً فرآورده حاصل از فیله که بوسیله مخلوطی از خرده نان و مایع پوشیده شده و یا فرآورده معروف به fish stick دارای زمان ماندگاری طولانی‌تری نسبت به فرآورده‌های مشابه تیمار نشده می‌باشند.

---

[1] - Glazing
[2] - Clating
[3] - Freezer Burn

● نوع فرآورده: ماهی کامل، فیله، ماهی چرخ شده

ماهی تخلیه شکمی‌شده و منجمد یا به صورت مستقیم در سوپر مارکت به فروش می‌رسند و یا اینکه برای تولید فرآورده‌های دیگر مثل کنسرو ماهی، ماهی دودی ماهی عمل‌آورده شده به کار می‌رود و یا بصورت تازه مثل ماهی آزاد فروخته می‌شوند. اما عمده ترین فرآورده نهایی ماهی منجمد شامل فیله‌ها، یا قسمتی از فیله‌های کوچک و کیک ماهی و یا Fish stick می‌باشند. فرآورده اخیر ممکن است حاوی مقادیر متفاوتی از ماهی چرخ شده باشد.

بافت ماهی کامل ممکن است به وسیله پوشش طبیعی خودش (پوست) در مقابل از دست دادن رطوبت و نفوذ اکسیژن مقاومت کند. از طرف دیگر، لایه‌های چربی زیر پوست و عضله قرمز ممکن است باعث سرعت بخشیدن به تندشدگی چربی در عضله‌ها گردد (Undeland,2001). این لایه‌ها را ممکن است به وسیله پوست کنی عمیق برای کاهش اکسیداسیون چربی طی نگهداری فیله‌های منجمد در سردخانه، برداشته شوند. مقایسه اکسیداسیون چربی در فیله‌های پوست کنی شده و یا گوشت چرخ شده، نتایج مختلفی را نشان می‌دهند. (Undeland,2001). در زمان چرخ کردن فیله، اکسیژن وارد آن می‌شود و از طرف دیگر چرخ کردن ممکن است آنزیم‌های آنتی اکسیداسیونی را فعال کند.

در طول فیله سازی و به صورت ملموس‌تر در زمان چرخ کردن ماهی، ساختار ماهیچه‌ها تخریب می‌شوند در نتیجه آنزیم‌های محصور شده در سلول‌ها آزاد می‌شوند. در نتیجه ممکن است در تماس با سوبسترا قرار بگیرند که آنها قبلاً به صورت کامل از آنها جدا بوده‌اند. در نتیجه واکنش‌های آنزیمی‌مثل لیپولیتیک، پروتئولیتیک و غیره در گوشت ماهی چرخ شده مثل تجزیه‌شدن نوکلوتیدها یا تری‌متیل آمین اکسید شدت خواهد یافت (Gran Tham,1981).

در چند نوع فرآورده از گوشت چرخ شده ماهی در صنعت فرآوری استفاده می‌شود: گوشت چرخ شده تهیه شده از تکه‌های فیله دارای بالاترین کیفیت است، در حالیکه گوشت چرخ شده بدست آمده از ضایعات فیله یا ماهی کامل دارای ارزش کمتری از نظر رنگ، بافت می‌باشند؛ و هم‌چنین دارای زمان ماندگاری بسیار پائینی هستند. دلیل این کیفیت پائین علت آلودگی گوشت چرخ شده با خون کلیه و بافت‌های دیگر که غنی از نظر آنزیم‌ها و پروتئین‌های آهن‌دار می‌باشند، است.

● شرایط نگهداری

درجه حرارت و زمان نگهداری فرآورده منجمد شده تاثیر زیادی روی زمان ماندگاری ماهی منجمد شده در سردخانه دارد. از نظر تجاری درجه حرارت باید در حداقل ممکن پائین نگهداری شود، حداقل در کمتر از $-20^{\circ}c$ نگهداری شود.در زنجیره سرد در سوپر مارکت‌ها نقطه ضعیف، درجه برودت فریزرها می‌باشد که معمولاً خیلی بالاتر از درجه برودت مورد نظر استاندارد بوده و هم‌چنین در طول روز دارای نوسان می‌باشد. شرایط دیگر مثل بسته‌بندی در خلا یا حفاظت از نور ممکن است تاثیر کمتری روی از دست رفتن کیفیت داشته باشند. آزمایشی روی نگهداری فیله‌های گربه ماهی در $-۲۰^{\circ}c$ به مدت ۱۱ ماه اختلافات معنی داری را در ویژگیهای حسی فیله‌ها که در شرایط خلا یا بسته‌های نفوذپذیر نسبت به اکسیژن بسته بندی شده‌اند، نشان نداده‌اند (Anelich *et al.*,2001).

● شرایط انجماد و انجمادزدایی

بخوبی مشخص شده است که سرعت انجماد تاثیرهای زیادی روی ویژگیهای فرآورده دارد. انجماد با سرعت کم (باعث تولیداندازه‌های بزرگ کریستال یخ می‌شود، برای جلوگیری از تغییر ماهیت پروتئین باید اجتناب شود. در صنعت معمولاً ماهی را در هوا یا آب انجماد زدایی می‌کنند. روش‌های جدیدتر مثل انجمادزدایی در خلا یا انجمادزدایی با استفاده از میکروویو، دی الکتریک یا گرم کردن بوسیله مقاومت الکتریکی سریعتر هستند اما گران‌تر می‌باشند. در هر مورد، روش انجمادزدایی باید از گرم‌شدن بیش از حد یا یک قسمت از ماهی و خشک شدن، در یک نقطه و آبگیری آن، آبچک زیاد و رشد باکتریائی جلوگیری نمود (Garthwaite,1997) .

نتیجه حاصل از این بخش این است که از دست رفتن ویژگیهای کیفی طی نگهداری فرآورده منجمد به فاکتورها و فرآیندهای متعددی بستگی دارند که شرح دادن همه این فرآیندها به وسیله یک یا دو روش فیزیکی یا شیمیایی خیلی مشکل می‌باشد.

۳-۲۱- شاخص‌های از دست رفتن کیفیت در ماهی منجمد

برای سال های زیادی سعی شد که زمان ماندگاری ماهی منجمد به وسیله روش‌های شیمیایی، بیوشیمیایی و فیزیکی تعیین گردد، اما امروزه هنوز روش طلائی و استاندارد هنوز ارزیابی حسی به وسیله تیم آموزش دیده ارزیاب حسی می‌باشد. بعضی از ویژگیهای حسی فساد ماهی منجمد، همراه با واکنش‌های مربوطه در جدول ۱-۲۱ بصورتی خلاصه توضیح داده شده‌اند.

۳۰ سال بعد از انتشار کتاب آزمایش تازگی ماهی منجمد (Gould & Peters,1971)، جمله موجود در بخش پیشگفتار آن هنوز صحیح است، که نوشته شده که معمولاً آزمایش قابل اتکا، ساده و پذیرفته شده‌ای برای‌اندازه گیری کیفیت ماهی منجمد وجود ندارد. در نتیجه کمبود روش‌های رسمی، آستانه‌ای برای مقدارهای‌اندازه‌گیری شده در ماهی منجمد، مثلاً برای TVB-N برای ماهی تازه وجود ندارد.

۴-۲۱- شاخص‌های بیوشیمیایی

شاخص‌های بیوشیمیایی می‌تواند در سه دسته تقسیم شوند:

۱. تغییر ماهیت پروتئین[1]، مثل قابلیت استخراج، آب‌گریزی، گران روی[2] شکل الکتروفورزی.
۲. کاهش یا افزایش فعالیت آنزیمی، آزادسازی ذرات چسبیده به آنزیم‌ها
۳. تغییرات در غلظت متابولیت‌ها (مثل آمین‌ها، آلدئیدها و فرآورده‌های حاصل از تجزیه نوکلئوتیدها)

جدول ۴-۲۱- رابطه بین شاخص حسی گوشت ماهی یخ زدائی و پخته شده و واکنش‌های شیمیائی و فیزیکی

شاخص‌های کیفیت	واکنش‌های شیمیائی و فیزیکی
ظاهر:	
خشک	دناتوره شدن پروتئین
پارگی در عضله	شکسته شدن بافت پیوندی
سوختگی سردخانه‌ای	تصعید یخ
زرد رنگ شدن	اکسیده شدن چربی، تولید فرم آلدئید
بو:	
بوی سردخانه (بوی مقوا)	تولید کربونیل‌ها بعلت اکسیده شدن چربی
ترشی	تولید کربونیل‌ها بعلت اکسیده شدن چربی
ترشیدگی چربی	تولید کربونیل‌ها بعلت اکسیده شدن چربی
آمین	شکسته شدن TMAO به DMA و TMA
طعم :	
طعم سردخانه‌ای	تولید کربونیل‌ها بعلت اکسیده شدن چربی
ترشی	تولید کربونیل‌ها بعلت اکسیده شدن چربی
ترشیدگی چربی	تولید کربونیل‌ها بعلت اکسیده شدن چربی
صابونی	هیدرولیز شدن چربی‌ها
آمین	شکسته شدن TMAO به DMA و TMA
بافت :	دناتوره شدن پروتئین و از بین رفتن ساختمان عضلانی
خشک	واکنش بین فرم آلدئید و پروتئین
سخت و سفت شدن	هیدرولیز پروتئین ها
نرم و شل شدن	

[1] - Denaturation
[2] - Viscosity

۱-۴-۲۱- پروتئین‌قابل استخراج

پروتئین‌های میوفیبریل و سارکوپلاسمیک، ماهی تازه در محلول ۱-۰/۵ مول سدیم، پتاسیم یا کلرید لیتیوم در PH خنثی بسیار محلول می‌باشند. کاهش قابلیت استخراج پروتئین‌های میوفیبریل طی نگهداری ماهی منجمد اغلب به‌عنوان شاخصی برای تعیین تغییر ماهیت پروتئین‌ها بوده است (; Fuselli *et al.*,1996 Lou *et al.*,2001) همچنین مشخص شد که این شاخص به صورت معنی‌داری با زمان نگهداری فرآورده رابطه دارد (Del Mazo *et al.*,1999 ;Kelleher& Hultin,1991) اما تاثیر درجه حرارت کمتر ملموس بود. بهرصورت تعیین پروتئین قابل استخراج به صورت وسیعی برای محاسبه زمان ماندگاری ماهی منجمد مورد استفاده واقع نشده است. احتمالاً برای اینکه این روش زمان‌بر است و رابطه همبستگی بین میزان پروتئین‌قابل استخراج و امتیازهای حسی و یا نتایج بدست آمده، از کاربرد دستگاه‌ها برای‌اندازه‌گیری بافت هنوز برای بسیاری از گونه‌های مهم تجاری ایجاد نشده است. مقایسه بین نمک‌های مختلف به صورت آشکاری نشان داد که LiCL (کلرید لیتیوم) به‌عنوان استخراج کننده مناسب‌تری برای پروتئین‌های عضله ماهی در محدوده وسیعی از شرایط (غلظت نمک، درجه حرارت طی استخراج، زمان مخلوط کردن با PH) نسبت به Nacl یا Kcl می‌باشد (Kelleher & Hultin,1991) . میوفیبریل پروتئین هیدرولیزشده و یا هموژنیز شده به‌صورت دقیق‌تر به وسیله روش‌های پیشرفته‌تر مثل گران روی[1] سنجی،اندازه گیری آب گریز بودن سطحی یا الکتروفورز می‌تواند مطالعه شود. دو روش اول ممکن است برای گرفتن اطلاعات درباره قابلیت عملکرد کاربردی پروتئین مفید باشد. و روش سوم (الکتروفورز) برای شناسایی پروتئین‌ها می‌تواند استفاده شود که نسبت به دیگر پروتئین‌ها دارای حساسیت بیشتری نسبت به تغییر ماهیت دادن می‌باشند (مثل زنجیره سنگین میوزین) (Careche et al.,1998).

ظاهراً گران روی سنج به‌عنوان روشی برای نشان دادن تغییر ماهیت و انبوهش[2] پروتئین ماهی منجمد شده پیشنهاد شده است (Borderias *et al.*,1985 ;Barroso *et al.*,1998). نسبت به آزمایش قابل حلالیت معین شده که دقیق‌تر می‌باشد، چون پروتئین محلول خارج شده از ماهی منجمد مقدار گران روی را کاهش می دهد (Cofrades *et al.*,1996). فاکتورهای آنالیزی که در تعیین گران روی به‌عنوان یک شاخص کنترل کیفیت برای ماهی منجمد تاثیر دارند قبلاً شرح داده شده‌اند(Borderias,1985) ، و این روش‌ها برای مقایسه و تعیین کیفیت بین چندین گونه ماهی هیک به کار گرفته شد (Barroso *et al.*,1996). به هرحال،اندازه گیری گران‌روی به ندرت برای تعیین زمان ماندگاری ماهی استفاده شده است. در مراحل آغازی تغییر ماهیت

[1] - Viscosimetry
[2] - Aggregation

پروتئین یک جابجایی بیشتر در گروههای آب گریز در پروتئین‌ها اتفاق می‌افتد. تغییرهای شکلی در اکتومیوزین عضله ماهی را می‌توان به وسیله‌اندازه‌گیری خاصیت آب گریزی سطحی شناسایی نمود که طی نگهداری ماهی بصورت منجمد افزایش می‌یابد (Cofrad *et al.*,1996).

۲-۴-۲۱- تغییرات در فعالیت‌های آنزیمی

تغییر ماهیت پروتئین در ماهی منجمد شده باید با کاهش فعالیت‌های آنزیمی‌همراه باشد. بنابراین، تعدادی از آنزیم‌ها (جدول۲-۲۱) برای کم‌شدن منظم و مداوم فعالیت آنها در طی نگهداری فرآورده منجمدشده آزمایش شده‌اند. نتایج حاصل از مطالعات اولیه که بصورت دقیق بررسی و بحث شده‌اند (Gould & peters,1971). اغلب ناامید کننده بودند زیرا که ارتباط همبستگی آنها با شرایط نگهداری (زمان، درجه حرارت) بسیار ضعیف بود. از طرف دیگر، مشکل در نوسانات و اختلافات فصلی گونه ای در گونه‌ها مورد بررسی قرار نگرفته بود.

جدول ۲-۲۱- آزمایش‌های آنزیمی‌بعنوان نشانه کیفیت ماهی منجمد شده .
(GOULD AND PETERS, 1971; YAMANAKA AND MACKIE, 1971; GODIKSEN AND JESSEN; 2001; CHAWLA et al., 1988)

آنزیم	نتایج و جمع بندی
میوفیبلیر ATPASE	افت فعالیت با حلالیت و یا سفت شدن پروتئین مرتبط نبود
آلدولاز	کاهش فعالیت آنزیم‌های محلول برای ماهی کاد و هواک نگهداری شده در $(-۱۴)^{\circ}C$ مشاهده شد.
آنزیم مالیک (ME)	طبق اطلاعات فعلی، در فعالیت آنزیم مالیک یک کاهش در زمان نگهداری ماهی بمدت پنج ماه در $(-۷)^{\circ}C$ دیده شده، اما در $(-۲۹)^{\circ}C$ تغییری مشاهده نشد.
آلفا گلیسرو فسفات دی هیدروژناز	آزمایش برای تعیین فعالیت ثابت با استفاده از ترسیم منحنی دو طرفه سرعت واکنش خیلی زمان گیر بود.
سارکوپلاسمیک ATPASE	کاهش سریع فعالیت آنزیم در زمان نگهداری بصورت منجمد دیده شده.
سیتوکروم اکسیداز	فعالیت آنزیمی‌در زمان نگهداری ماهی کاد در سردخانه کم شد و همچنین این امکان وجود داشت که بین ماهی نگهداری شده در (۹-) ، (۲۰-) و (۴۰-) درجه سانتیگراد را از هم تفکیک نمود.
اسید فسفاتاز	فعالیت آنزیم در طول دوره نگهداری ماهی کاد در $(-۳۰)^{\circ}C$ کاهش یافت.
نوکلئوتیداز (۵'-)	فعالیت آنزیم در طول دوره نگهداری ماهی کاد در $(-۳۰)^{\circ}C$ کاهش یافت.
فسفولیپاز	فعالیت آنزیم در هفته اول نگهداری ماهی کاد در $(-۳۰)^{\circ}C$ افزایش داشت، سپس شروع به کم شدن نمود تا به مقدار اولیه رسید.

اخیراً، فعالیت آنزییم سیتوکروم اکسیداز، که در غشاء داخلی میتوکندری وجود دارد، در عضله ماهی کاد تازه و منجمد شده‌اندازه‌گیری شد. فعالیت آن در زمان انجماد افزایش یافت ولی در طول نگهداری فرآورده منجمد شده کاهش یافت که این کاهش بستگی به درجه برودت داشت (Godiksen & Jessen,2001). پژوهشگران نتیجه گرفتند که سیتوکرم b ممکن است به‌عنوان شاخصی مناسبی برای تعیین شرایط نگهداری فرآورده منجمد شده در سردخانه باشد. آزادسازی ذرات متصل به آنزیم بعلت انجماد و انجمادزدایی برای تشخیص بین ماهی منجمد و تازه مورد استفاده واقع شده است. آنزیم‌های میتوکندری (HADH, GOT, ME, fumarase) همانند آنزیم‌های لیزوزم (اسیدآلفاگلوکوسیداز[1]، بتا–N– استیل گلوکوزامینیداز[2]) به‌عنوان شاخص‌های مناسبی می‌باشند که بستگی به گونه ماهی دارد (Rehbein,1992).

۳-۴-۲۱- تغییرات در غلظت‌های متابولیت

در روغن ماهیان (Gadoid Fish) منجمد شده بعلت وجود (TMAO) در آنها آنزیم تری‌متیل آمیتاز (TMAOase) قادر به تولید فرم آلدئید و (DMA) تا درجه $-۳۰^{\circ}c$ می‌باشد. هر دو متابولیت که در مقدار اکی مور (Equimolar) تولید می‌شوند را می‌توان بعنوان شاخص برای‌اندازه‌گیری از دست رفتن کیفیت در ماهی منجمد شده مورد استفاده قرار دارد (Leblance *et al.*,1988 ; Licciardelleo *et al.*,1982). از آنجائی که پیوند فرم آلدئید با پروتئین باعث سفت شدن پروتئین می‌شود (Sotelo *et al.*,1995). اخیراً یک روش سریع و نسبتاً آسان بصورت نیمه کمی‌بر (Semiouantative) برای‌اندازه‌گیری فرم آلدئید آزاد در فرآورده‌های شیلاتی ایجاد گردیده (Rehbein & Schmiot,1996). این آزمایش براساس Reflectometrically پایه‌ریزی شده و با خواندن نوارهای مربوطه، می‌تواند دارای پتانسیلی برای استفاده در کارخانه‌های فرآورده‌های ماهی برای کنترل کیفیت ماهی‌های Gadoid Fish داشته باشد.

از آنجائیکه فرم آلدئید خیلی فعال تشکیل پیوندهایی با درجه‌های مختلف استحکام با پروتئین می‌دهند، لذا تعیین مقدار کل فرم آلدئید از طریق‌اندازه‌گیری آن مشکل است و معمولاً برای اینگونه سنجش‌ها باید از مقدار DMA مورد محاسبه قرار گیرد (Rehbein, ۱۹۸۷).

اسیدهای چرب آزاد (FFA) به مقدار زیاد از هیدرولیز فسفولیپید در ماهی منجمد تشکیل می‌شود (Shewfelt,1981). بررسی‌ها نشان داده‌اند که افزایش مقدار (FFA) در ماهی هداک

[1] - α-Glococsidase
[2] - N-acetyglucosaminidase

(*Melanogrammus aeglefinus*)، کاد و هیک (*Merluccius merluccius*) در زمان انبارداری در سردخانه بصورت منجمد با زمان ماندگاری این ماهی‌ها همبستگی دارد (Aubourg *etal.*,1999 , Aubourg & Medina,1999). علیرغم این نتایج مثبت، این روش به ندرت برای تعیین زمان ماندگاری ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

ایجاد طعم، بو و مزه تلخ بعلت ترشیدگی اسیدهای چرب در ماهی منجمد، زمان نگهداری آن را در سردخانه به فقط چندماه محدود می‌سازد. فرآورده‌های حاصل از اکسیداسیون چربی‌ها که عامل این ویژگی‌های حسی نامطلوب می‌باشند، ترکیب‌های کربونیل می‌باشند که از شکسته شدن ترکیب بدون طعم و مزه هیدروپراکسید[1] تولید می‌شوند (Undeland,2001). اکسید شدن چربی را می‌توان بااندازه‌گیری هیدروپراکسید (Peroxid Value, POV) ردیابی واندازه‌گیری نمود (Chapman & Mackay,1949). یکی دیگر از روش‌های‌اندازه گیری (POV)اندازه‌گیری تولید مواد واکنش دهنده با اسید تیوباربیوتریک (TBARs) اسید می‌باشد، که بیشتر مالون دی آلدئید[2] (MA) می‌باشد (Vyncke,1970). غلظت (MA) بیشتر از طریق رنگ سنجی‌اندازه‌گیری می‌وشد. اما اخیراً از روش HPLC برای اینکار استفاده بعمل می‌آید (Tsaknis *et al.*,1999). هر دو نوع متابولیت، هیدروپراکسید و کربونیل خیلی در مقابل ترکیب‌های حاصل از عضله ماهی تولید واکنش می‌دهند. مثلاً با دادن واکنش با گروه‌های آمینی در عضله ماهی، ترکیب‌های فلورسنت تشکیل می‌گردند، که از این خاصیت برای تعیین کیفیت ماهی بدون چربی و یا پرچرب منجمد شده و نگهداری شده در سردخانه استفاده بعمل می‌آید (Aubourg *et al.*,1982,1999).

بررسی‌ها نشان داد که تولید POV و TBARS در ماهی کاد و هدداک منجمد شده در $\left(-۳۰^{\circ}c\right)$ سانتیگراد و نگهداری شده در سردخانه $\left(-۱۰^{\circ}c\right)$ و $\left(-۳۰^{\circ}c\right)$ خیلی با هم فرق داشتند. در ماهی منجمد نگهداری شده در سردخانه $\left(-۱۰^{\circ}c\right)$ در ابتداء یک افزایش در مقدار (POV) و (TBARs) مشاهده گردید، که در ادامه به یک مرحله سکون رسید و در انتهای آزمایش مقدار این دو ترکیب کاهش یافت، که نشان دهنده واکنش بیشتر POV و TBARS با دیگر ترکیب‌های عضله ماهی می‌باشد (Aulourg & Medina,1999). برخلاف این نتایج بدست آمده هیچگونه کاهش نهائی برای نمونه‌های نگهداری شده در سردخانه $\left(-۳۰^{\circ}c\right)$ مشاهده نگردید. مشاهدات مشابه ای در بررسی‌های انجام شده که توسط سایر پژوهشگران که بر روی گونه‌های دیگر انجام گردیده دیده

[1] - Hydroperoxide
[2] - Malondialdehyde

شده است که در نتیجه باعث محدود شدن استفاده از این‌اندازه‌گیری‌های POV و TBARS برای تعیین کیفیت و زمان نگهداری ماهی‌های نگهداری شده در سردخانه‌های با درجه ($-۲۰c^{\circ}$ تا $-۱۰c^{\circ}$) گردیده است (Jia *et al.*,1996).

۴-۴-۲۱- نوکلئوتیدها

در ماهی‌های منجمد شده تجزیه آدنوزین تری فسفات (ATP) و نوکلوتیدهای دیگر معمولاً در درجه برودت $(-۵c^{\circ})$ تا $(-۱۵c^{\circ})$ صورت می‌گردد و با پائین رفتن درجه برودت نرخ این تجزیه‌شدن‌ها آهسته تر می‌گردد (Love,1996). لذا استفاده ازاندازه‌گیری ادنوزین منوفسفات (Adenosine Monophosphate (AMP، اینوزین منوفسفات (Inosine Monophosphate (IMP و یا هیپوزانتین (Hypoxanthin (Hx به صورت متداول و مستمر برای‌اندازه‌گیری کیفیت ماهی‌های منجمد مورد استفاده نمی‌باشد.

۵-۲۱- شاخص‌های فیزیکی

تغییر ماهیت پروتئین (دناتوره) عضله ماهی در طول زمان نگهداری فرآورده منجمد شده اگر رژیم زمان و درجه برودت بکار برده شده مناسب نباشد منجر به کاهش ظرفیت نگهداری آب، خشک و سفت شدن عضله ماهی می‌گردد. وضعیت آب در ماهی یخ زدائی شده بوسیله‌اندازه‌گیری آبچک Thaw Drip (TD)، ظرفیت نگهداری آب Water Holding Capacity (WHC)، ظرفیت پیوند آب با مواد دیگر Water Bonding Capacity (WBC) و یا افت در زمان پخت Cooking Loss (CL) تعیین می‌گردد. می‌توان از تعیین مقدار آبچک در زمان انجماد زدائی بعنوان یک شاخص ساده برای بدست آوردن اطلاعات درباره کیفیت فرآورده استفاده نمود.

ظرفیت نگهداری آب در عضله خام ماهی یا به وسیله سانتریفیوژ (Eide *et al.*,1982) یا به وسیله جمع‌آوری مایع آزاد شده در زمان ارزیابی بافت‌اندازه‌گیری می‌شود. ظرفیت پیوند آب با همین روش تعیین می‌شود، اما قبل ازاندازه‌گیری مقدار معینی آب به نمونه افزوده می‌شود. WHC در بیشتر آزمایش‌ها برای تعیین‌اندازه واکنش آب با پروتئین طول نگهداری فرآورده منجمد در سردخانه‌اندازه‌گیری می‌شود. بعضی از مثال‌ها در جدول ۳-۲۱ آورده شده‌اند که در آن روش مناسب را برای ارزیابی کیفی و تعیین زمان ماندگاری ماهی منجمد را در زمان نگهداری در سردخانه را نشان می‌دهد.

ارزیابی بافتی در بررسی‌های زیادی به‌عنوان یک روش ابزاری برای ارزیابی ساختار عضله ماهی انجمادزدایی شده مورد استفاده واقع شده است. مروری کوتاه درباره رابطه بین ویژگیهای بافتی و تکنولوژیکی ماهی اخیراً منتشر شده است (Torrissen *et al.*,2001). تاثیر ویژگی‌های ابزاری بکار برده شده (فشار و سرعت) روی نتایج آنالیز پروفیل بافتی Texture Profile Analysis (TPA)بحث شده است (Schubring,1999a,2000b). مراحل مختلف منحنی نیرو ثبت شده در طول یک چرخه ATP و همبستگی آن را می‌توان با ویژگیهای بافتی، مثل سختی، قابلیت ارتجاعی، پیوستگی، چسبندگی، قابلیت جوندگی را می‌توان مشاهده نمود، تعداد کمی‌از کاربردهای ارزیابی بافتی ماهی انجمادزدایی شده در جدول ۴-۲۱ لیست شده است که مفید بودن این روش را برای تعیین کیفیت فرآورده‌های ماهی را نشان می‌دهد. روش‌های فیزیکی دیگر مثل بینی الکتریکی[1]،اندازه‌گیری رنگ (Schubring,1999b) یا کالری سنج اسکن کننده تفریقی[2] (Herrera,۲۰۰۰) فقط به صورت اتفاقی برای تعیین ویژگیهای ماهی منجمد استفاده شده‌اند.

جدول ۳-۲۱- ظرفیت نگهداری آب بوسیله ماهی منجمد و انجماد زدائی شده

(FUSELLI et al., 1996; HURLING AND McAR THUR, 1996; BECHMANN AND JORGENSEN, 1999, HENRY et al., 1995a; MONTERO AND GOMEZ-GUILLEN, 19999)

گونه ماهی و نوع فرآورده	شرایط انبار	نتایج
ماهی کامل کاد (G.MORHUA)	ترکیب های مختلف از زمان و درجه	رابطه بین WHC و شاخص های تیمهای کیفیت مثل DMA و FA بشدت منفی بود
فیله هیک آرژانتینی (MERLUCCLUS HUBBSI)	هفت هفته در $(-۷)c^{\circ}$	عوامل مثل جنسیت،اندازه و رسیدگی جنسی بر روی مقدار WHC اثر گذار بودند
گوشت خرچنگ آبی (CALLINECTES SAPIDUS)	۳۲ هفته در $(-۲۹)c^{\circ}$	WHC با اضافه کردن مواد محافظ کننده بهبود می‌یابد
فیله کاد (G.MORHUA) یک بار و دوبار منجمد شده	۹ ماه در $(-۲۲)c^{\circ}$	WHC برای فیله دوبار منجمد شده بمقدار قابل توجهی کم گردید، اما به مقدار کمتری برای فیله یک بار منجمد شده.
گوشت چرخ شده میگو (PENAEUS SPP.)	۹۰ روز در $(-۱۲)c^{\circ}$	مقدار اولیه WHC خیلی زیاد بود، بمقدار کمی‌در زمان انجماد کم شد و با اضافه کردن مواد محافظ کننده متوقف شد.

[1] - Electronic Nose
[2] - Differential Scaning Caloimetry

اندازه گیری زمان ماندگاری ماهی منجمد

جدول ۴-۲۱-اندازه گیری بافت ماهی منجمد و یخ زدائی شده

(BOTTA et al., 1987b; SCHUBRING, 2000; BARROSO et al., 1998; LEBLANC et al., 1988; HENRY et al., 1995a)

گونه ماهی و نوع فرآورده	شرایط انبار	نتایج
گونه های مختلف ماهی هیک	درجه متفاوت : $(-۴۰)C^{\circ}$ و (۱۸-) و (۱۲-) به مدت چند ماه	بافت با گران روی رابطه معکوس دارد
فیله ماهی کاد	یک هفته در $(-۱۵)C^{\circ}$، سپس دو هفته در $(-۴۰)C^{\circ}$	سفتی عضله پخته شده متأثر از روش صید و زمان صید در سال بود.
گوشت خرچنگ آبی (CALLINECTES SAPIDUS)	۳۲ هفته در $(-۲۹)C^{\circ}$	طول انبار داری و مواد محافظ بر روی کیفیت بافت تاثیر داشتند
فیله ماهی کاد	۹۰ روز در (۱۲-)، (۱۴-)، (۲۲-) و $(-۳۰)C^{\circ}$	کیفیت بافت مرتبط با خیلی از شاخص های شیمیایی و فیزیکی بود. ماکزیمم فشار با زمان و درجه افزایش نشان داد.
فیله و گوشت چرخ شده ماهی (POLLACHIUS) SAITH هداک (M.AEGLE FINUS) یک بار و دوبار منجمد شده	$(-۲۴)C^{\circ}$	اندازه گیری بافت قابل مقایسه با آزمایش های حسی بود. انجماد دوباره روی فشار کششی اثر گذار بود.

۱-۵-۲۱- *روش‌های فیزیکی پیشرفته*

تعدادی از روش‌های اسپکتوفتومتری اخیراً برای‌اندازه‌گیری ویژگیهای کیفی ماهی منجمد به کار گرفته شده‌اند. ارتعاش مغناطیسی هسته‌ای[1] (NMR) اشعه مادون قرمز[2] (IR) و اسپکتوفتومتری ممکن است که امکان ارزیابی سریع از وضعیت آب و پروتئین را در ماهی منجمد نشان دهند. بعضی از نتایج، حاصل از استفاده از این روش‌ها در جدول ۵-۲۱ خلاصه شده‌اند. IR, NMR ممکن است دارای بیشترین پتانسیل در آینده باشند.

۶-۲۱- ارزیابی حسی

همچنانکه در بالا ذکر شد، بهترین روش تعیین کیفیت در علوم مواد غذائی ارزیابی حسی است و این در صورتی است که این روش به درستی انجام شود. ویژگیهای حسی عملاً بازگو می‌کنند که یک فرآورده توسط مصرف کننده قابل پذیرش خواهد بود یا نه. در مورد ماهی منجمد، توصیف کننده‌های کیفیت معین

[1] - Noclear Magnetic Resonance
[2] - Infra-red

شده و در جدول۱-۲۱ با استفاده از روش‌های امتیازدهی متفاوت برای ارزیابی کیفیت استفاده می‌شوند (Anelich *et al.*,2001 ;Henry *et al.*,1995b;Barroso *et al.*,1998).

جدول ۵-۲۱- روش جدید اسپکتروسکپی برای‌اندازه گیری کیفیت ماهی منجمد و منجمد زدائی شده *(BECHMANN AND JORGENSEN, 1998; CARECHE et al., 1999; howell et al., 1996, LAMBELET et al., 1995; PINK et al., 1999; STEEN AND LAMBELET, 1997)*

گونه ماهی، نوع فرآورده شرایط انبار	روش اسپکتروسکپی	نتایج
ماهی کامل کاد، شرایط مختلف انبارداری	NEAR INFRA-RED (NIR) REFLECTANCE SPECTAR OF THE SKIN	این روش امکان‌اندازه گیری WHC را می‌دهد.
فیله ماهی هیک (M.MERLUCCIUS) انبار شده در (۱۰-)- (۳۰-) و $(-۸۰)°C$	RAMAN SPECTROSCOPY	تغییرات در شکل دوم پروتئین نشان داده شد که مرتبط است با تغییرات در گران روی و بافت
فیله ماهی کاد (G.MORHUA) و هداک (M.AEGLEFINUS) انبار شده در (۲۰-) و $(-۳۰)°C$	HIGH-RESOLUTION NMR, MAGNETIC RESONANCE IMAGING (MRI)	روش NMR امکان‌اندازه گیری متابولیت های مثل (TMAO، TMA، DMA، کریتین فسفات) و بوسیله روش (MRI) تغییرات در ساختمان عضله مشاهده گردید.
فیله ماهی کاد انبار شده در (۱۰-) و (۲۰-) و $(-۴۰)°C$	LOW-FIELD (NMR) RELAXATION	مقطع زمانی استراحت پروتون ارتباط داده شد به وابستگی فساد به درجه و زمان
گوشت چرخ شده ماهی قرمز هیک (UROPHYCIS CHUSS)	FOURIER TRANSFORM NIR	ناحیه بین ۱۸۶۶mm – ۱۵۳۰ بصورت معنی داری با غلظت DMA وابستگی دارد.
گوشت چرخ شده کاد انبار شده در (۱۰-)، (۲۰-) و $(-۷۰)°C$ بمدت چهار ماه	LOW-FIELD NMR RELAXATION	زمان استراحت WATER PROTON مرتبط بود با امتیاز داده شده بوسیله دستگاه و روش حسی برای کیفیت بافت و همین با غلظت DMA

راهکار جدیدی برای ارزیابی سریع ویژگی های کیفی ماهی منجمد یا ارزیابی شاخص کیفیت، Quality Index Method یا (QIM) اخیراً مورد استفاده قرار می‌گیرد، این روش در ابتداء برای تعیین کیفیت ماهی کامل و تازه طراحی و ایجاد شده بود (Warm *et al.*,1998). سه طرح درجه‌بندی مختلف برای ماهی کاد مورد استفاده قرار گرفته است، یکی برای ماهی کامل کاد یخ زدائی شده، دومی‌برای فیله یخ زدائی شده ماهی کاد و سومی‌برای فیله پخته شده ماهی کاد. طرح‌های درجه بندی براساس فاکتورهای پایه‌ریزی شده‌اند، که براساس شرایط نگهداری ماهی منجمد در انبار، خیلی با هم متفاوت می‌باشند. هر طرح شامل دو بخش است، که عبارتند از فاکتورهای کیفیت و ویژگی‌های هر شاخص. برای ویژگی هر شاخص امتیازهایی داده می‌شود. امتیاز صفر(۰) برای بالاترین و بهترین ویژگی داده می‌شود. بعنوان نمونه، در مورد تیمار یخ‌زدائی و پخته شده ماهی کاد، برای رنگ به ویژگی سفید درخشان امتیاز (صفر) که بیشترین امتیاز است داده می‌شود، از دست رفتن درخشندگی امتیاز(۱)، خاکستری شدن رنگ امیتاز (۳)، قهوه ای کم رنگ همراه با لکه‌های خونی، امتیاز (۴) داده می‌شود. این امتیازها

برای هر ویژگی با هم جمع شده و امتیاز نهائی برای تمام ویژگی‌های مورد بررسی بـرای کیفیـت آن نمونـه خـاص باهم جمع شده و بنام شاخص کیفیت نهایی یا QIM نامیده می‌شود.

برای ماهی کاد این طرح با نتایج بدست آمده از روش‌های فیزیکی و شیمیائی (WHC، غلظت فـرم آلدئیـد، مقـدار TVB-N، خاکستر) با استفاده از روش آنالیز بوسیله (PCA) مورد مقایسه و تغییر قرار گرفته‌اند. امتیازهای QIM با مقدار فرم آلدئید، TVB-N و خاکستر همبسـتگی نشـان داده در صـورتی کـه نسـبت عکـس بـا WHC داشـت. همچنین امتیاز QIM همبستگی با زمان نگهداری ماهی بصورت منجمد در سردخانه داشت.

۷-۲۱- نتایج

به رغم تحقیقات زیاد در چند سال گذشته، روش‌های کمی‌وجود دارند که می‌تواند برای تعیین ویژگیهـای کیفـی ماهی منجمد، پیشنهاد و مورد استفاده قرار گیرند.

این روش‌ها شامل:

۱. ارزیابی حسی
۲. تعیین پروتئین‌های محلول در آب نمک
۳. اندازه‌گیری DMA و FA در مورد روغن ماهیان (Gadoids Fish)
۴. اندازه‌گیری TABRS برای ماهی نگهداری شده در درجه حرارت پائین به مدت زمان کوتاه
۵. آنالیز پروفیل بافت
۶. اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب

مقید بودن روش‌های اسپکتروفتومتری Spectroscopic Techniques باید بوسیله بررسی بیشـتر در آینده به اثبات برسد.

۸-۲۱- منابع فصل بیست و یکم

ANELICH L E, HOFFMAN L C, SWANEPOEL M J (2001), 'The quality of frozen African sharptooth catfish (*Claria gariepinus*) fillets under long-term storage conditions', *J Sci Food Agric*, 81, 632–9.

ANONYMOUS (1993), *Parallel Food Testing in the European Union: Fish*, International Consumers Research & Testing Limited, London.

AUBOURG S, SOTELO C, PEREZ-MARTIN R (1982), 'Assessment of quality changes in frozen sardine (*Sardina pilchardus*) by fluorescence detection', *J Am Oil Chem Soc*, 75, 575–80.

AUBOURG S P, MEDINA I (1999), 'Influence of storage time and temperature on lipid deterioration during cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammu eglefinus*) frozen storage', *J Sci Food Agric*, 79, 1943–8*s*

AUBOURG S P, REY-MANSILLA M, SOTELO C (1999), 'Differential lipid damage in various muscle zones of frozen hake (*Merluccius merluccius*)', *Z Lebens nters Forsch*, 208, 189–93.

BARROSO M, CARECHE M, BARRIOS L, BORDERIAS A J (1998), 'Frozen hake fillets quality as related to texture and viscosity by mechanical methods', *J Foo Sci*, 63, 793–6.

BECHMANN I E, JORGENSEN B M (1998), 'Rapid assessment of quality parameters for frozen cod using near infrared spectroscopy', *Lebensm Wiss u Technol*, 31, 648–2.

BOKNAES N, GULDAGER H S, OSTERBERG C, NIELSEN J (2001), 'Production of high quality frozen cod (*Gadus morhua*) fillets and portions on a freezer trawler', *J Aquatic Food Product Technology*, 10, 33–47.

BORDERIAS A J, JIMENEZ-COLMENERO F, TEJADA M (1985), 'Parameters affecting viscosity as a quality control for frozen fish', *Marine Fish Rev* 47 (4), 43–5.

BOTTA J R, KENNEDY K, SQUIRES B E (1987a), 'Effect of method of catching and time of season on the composition of Atlantic cod (*Gadus morhua*)', *Food Sci* 52, 922–4, 927.

BOTTA J R, BONNELL G, SQUIRES B E (1987b), 'Effect of method of catching and time of season on sensory quality of fresh raw Atlantic cod (*Gadus morhua*)', *J Food Sci* 52, 928–38.

BRAKE N C, FENNEMA OR (1999a), 'Glass transition values of muscle tissue', *Food Sci*, 64, 10–14.

BRAKE C N, FENNEMA O R (1999b), 'Lipolysis and lipid oxidation in frozen minced mackerel as related to Tg', molecular diffusion, and presence of gelation', *J Food Sci*, 64, 25–32.

CARECHE M, DEL MAZO M L, TORREJON P, TEJADA M (1998), 'Importance of frozen storage temperature in the type of aggregation of myofibrillar proteins in cod (*Gadus morhua*)', *J Agric Food Chem*, 46, 1539–46.

CARECHE M, HERRERO A M, RODRIGUEZ-CASADO A, DEL MAZO M L, CARMONA P(1999), 'Structural changes of hake (*Merluccius merluccius*) fillets; effects of freezing and frozen storage', *J Agric Food Chem*, 47, 952–9.

CHAPMAN R, MACKAY J (1949). 'The estimation of peroxides in fats and oils by the ferric thiocyanate method', *J Am Oil Chem Soc*, 26, 360–3.
CHAWLA P, MACKEIGAN B, GOULD S P, ABLETT R F (1988), 'Influence of frozen storage on microsomal pHospHolipase activity in myotomal tissue of Atlantic cod (*Gadus morhua*)', *Can Inst Food Sci Technol*, 21, 399–402.
COFRADES S, CARECHE M, CARBALLO J, COLMENERO F J (1996), 'Freezing and frozen storage of actomysin from different species', *Z Lebensm Unter Forsch*, 203, 316–19.
DEL MAZOM L, TORREJON P, CARECHE M, TEJADA M (1999), 'Characteristics of the salt-soluble fraction of hake (*Merluccius merluccius*) fillets stored at ÿ20 and ÿ30ºC', *J Sci Food Agric*, 47, 1372–7.
EIDE O, BORRESEN T, STROM O (1982), 'Minced fish production from capelin(*Mallotus villosus*)', *J Food Sci*, 47, 347–54.
ERICKSON MC, HUNG Y-C (1997), *Quality in Frozen Food*, New York, Chapman and Hall.
ERIKSON U (2001), 'Rigor measurements', in Kestin S C, Warriss P D, *Farme Fish Quality*, Oxford, Fishing News Books, 283–97.
FUSELLI S R, ALMANDOS M E, CIARLO A S, BOERI R L, GIANNINI D H (1996), 'The influence of sexual maturity, sex and size on quality aspects of frozen Argentine hake (*Merluccius hubbsi*)', *J Aquatic Food Product Technology* 5, 81–94.
GARTHWAITE G A (1997), 'Chilling and freezing of fish', in Hall G M, *Fish Processing Technology*, 2nd edn, London, Blackie Academic & Professional, 93–118.
GODIKSEN H, JESSEN F (2001), 'Cytochrome oxidase as an indicator of ice storage and frozen storage', *J Agric Food Chem*, 49, 4488–93.
GOULD E, PETERS J A (1971), *On Testing the Freshness of Frozen Fish*, London, Fishing News Books.
GRANTHAM G J (1981), *Minced Fish Technology: A Review*, Rome, FAO Fisheries Technical Paper no. 216.
HAARD N F (1992), 'Biochemical reactions in fish muscle during frozen storage', in Bligh E G, *Seafood Science and Technology*, Oxford, Fishing News Books, 176–209.
HAARD N F (2000), 'Seafood enzymes: The role of adaptation and other intraspecific factors', in Haard N F, Simpson B K, *Seafood Enzymes*, New York, Marcel Dekker, 1–36.
HENRY L K, BOYD LC, GREEN D P (1995a), 'Cryoprotectants improve pHysical and chemical properties of frozen blue crab meat (*Callinectes sapidus)*', *J Sc Food Agric*, 69, 15–20.
HENRY L K, BOYD L C, GREEN D P (1995b), 'The effects of cryoprotectants on the sensory properties of frozen blue crab (*Callinectes sapidus)* meat', *J Sci Food Agric*, 69, 21–26.
HERRERA J J R, PASTORIZA L, SAMPEDRO G (2000), 'Inhibition of formaldehyde production in frozen-stored minced blue whiting (*Mikromesistius poutassou*) muscle by cryostabilizers: an approach from the glassy state

theory', *J Sci Food Agric*, 48, 5256-62.
HOWELL N, SHAVILA Y, GROOTVELD M, WILLIAMS S (1996), 'High-resolution NMR studies on fresh and frozen cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*)', *J Sci Food Agric*, 72, 49–56.
HULTIN H O, DECKER E A, KELLEHER S D, OSINCHAK J E (1992), 'Control of lipid oxidation processes in minced fatty fish', in Bligh E G, *Seafood Scienc and Technology*, Oxford, Fishing News Books, 93–100.
HULTIN H O (1995), 'Roles of membranes in fish quality', Paper presented at the Nordic Conference on 'Fish Quality-Role of Biological Membranes', Hillrod, Denmark, *TemaNord*, 624, 13–55.
HURLING R, MCARTHUR H (1996), 'Thawing, refreezing and frozen storage effectson muscle functionality and sensory attributes of frozen cod (*Gadu morhua*)', *J Food Sci*, 61, 1289–96.
JIA T, KELLEHER S, HULTIN H, PETILLO D, MANEY R, KRZYNOWEK J (1996), 'Comparison of quality loss and changes in the glutathione antioxidant system in stored mackerel and bluefish muscle', *J Agric Food Chem*, 44, 1195–201.
JOSEPHSON D B, LINDSAY R C, STUIBER D A (1985), 'Effect of handling and packaging on the quality of frozen whitefish', *J Food Sci*, 50, 1–4
KELLEHER S D, HULTIN H (1991), 'Lithium chloride as a preferred extractant of fish muscle proteins', *J Food Sci*, 56, 315–17
LAMBELET P, RENEVEY F, KAABI C, RAEMY A (1995), 'Low-field nuclear magnetic resonance study of stored or processed cod', *J Sci Food Agric*, 43, 1462–6.
LEBLANC E, LEBLANC R J, BLUM I E (1988), 'Prediction of quality in frozen cod(*Gadus morhua*) fillets', *J Food Sci*, 53, 328–40
LICCIARDELLO J J, RAVESI E M, LUNDSTROM R C, WILHELM KA, CORREIA F F, ALLSUP M G (1982), 'Time-temperature tolerance and pHysical-chemical quality tests for frozen red hake', *J Food Qual*, 5, 215–34.
LOU X, WANG C, XIONG YL, WANG B, LIU G, MIMS S D (2000), 'PHysicochemical stability of paddlefish (*Polyodon spathula*) meat under refrigerated and frozen storage', *J Aquatic Food Product Technology*, 9, 27–39. LOVE R M (1966), 'The freezing of animal tissue', in Meryman H T, *Cryobiology*, New York, Academic Press, 317–405
LOVE R M (1970), *The Chemical Biology of Fishes*, Vol I, London, Academic Press.
LOVE R M (1980), *The Chemical Biology of Fishes*, Vol. II, London, Academic Press.
LOVE RM (1988), *The Food Fishes, Their Intrinsic Variation and Practical Applications*, London, Farrand Press.
MACKIE I M (1993), 'The effect of freezing on flesh proteins', *Food Rev Intern*, 9, 575–610
MONTERO P, GOMEZ-GUILLEN M C (1999), 'Frozen storage of minced prawn flesh: effect of sorbitol, egg white and starch as protective ingredients', *Z Lebensm Unters Forsch* A, 208, 349–54
MORRIS P C (2001), 'The effects of nutrition on the composition of farmed fish', in Kestin S C, Warriss, P D, *Farmed Fish Quality*, Oxford, Fishing News Books, 161–79.
PEAVEY S, WORK T, RILEY J (1994), 'Consumer attitudes toward fresh and frozen fish', *J Aquatic Food Product Technology*, 3, 71–87.

PINK J, NACZK M, PINK D (1999), 'Evaluation of the quality of frozen minced red hake: use of Fourier transform near-infrared spectroscopy', *J Sci Food Agric*, 47, 4280–4.
REHBEIN H (1987), 'Determination of formaldehyde content in fishery products', *Z Lebensm Unters Forsch*, 185, 292–8.
REHBEIN H (1988), 'Relevance of trimethylamine oxide demethylase activity and hemoglobin content to formaldehyde production and texture deterioration in frozen stored minced fish muscle', *J Sci Food Agric*, 43, 261–76.
REHBEIN H (1992), 'PHysical and biochemical methods for differentiation between fresh and frozen-thawed fish or fillets', *Ital J Food Sci*, 4, 75–86.
REHBEIN H, SCHMIDT T (1996), 'A rapid and simple method for the determination of formaldehyde in fishery products', *Inf Fischwirtsch*, 43, 37–9.
ROBB D H F (2001), 'The relationship between killing methods and quality', in Kestin S C, Warriss P D, *Farmed Fish Quality*, Oxford, Fishing News Books, 220–33.
ROURA S I, MONTECCHIA C L, ROLDAN H, PEREZ-BORLA O, CRUPKIN M (2000), 'Ultrastructure of actomyosin in pre-and post-spawning hake (*Merlucciuhubbsi Martini*) during frozen storage', *J Aquatic Food Producs Technology*, 9, 85–94.
SCHUBRING, R (1999a), 'Untersuchung von Einflußfaktoren auf die instrumentelle Texturprofilanalyse (TPA) von Fischerzeugnissen, 1. Einfluß der Kompression', *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 95, 373–86.
SCHUBRING R (1999b), 'Determination of fish freshness by instrumental colour measurement', *Fleischwirtschaft*, 79, 26, 28, 29.
SCHUBRING R (1999c), 'DSC studies on deep frozen fishery products', *Thermochimica Acta*, 337, 89–95.
SCHUBRING R (1999d), 'Einfluß des Doppelgefrierens auf Qualita¨tsmerkmale des Filets von Seelachs (*Pollachius virens*) wa¨hrend der TK-Lagerung in Abha¨ngigkeit vom Rigor-Stadium', *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 95, 161–71.
SCHUBRING R (2000a), 'Untersuchung von Einflußfaktoren auf die instrumentelle Texturprofilanalyse (TPA) von Fischerzeugnissen, 2. Einfluß von Meßgeschwindigkeit und Kompression', *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 96, 45–50.
SCHUBRING R (2000b), 'Double freezing of fillets and minces prepared from saithe and haddock: influence on selected sensory and pHysical attributes', *Annales Societatis Scientiarium Faeroensis Supplementum*, XXVIII, 169–79.
SHEWFELT R L (1981), 'Fish muscle lipolysis – a review', *J Food Biochem*, 5, 79–100.
SOTELO C G, PINEIRO C, PEREZ-MARTIN R I (1995), 'Denaturation of fish proteins during frozen storage: role of formaldehyde', *Z Lebensm Unters Forsch*, 200, 14–23.
SOTELO C G, REHBEIN H (2000), 'TMAO-degrading enzymes', in Haard N F, Simpson B K, *Seafood Enzymes*, New York, Marcel Dekker, 167–90.
STEEN C, LAMBELET P (1997), 'Texture changes in frozen cod mince measured by ow-field nuclear magnetic resonance spectroscopy', *J Sci Food Agric*, 75, 68–72.
2STUCHELL Y M, KROCHTA J M (1997), 'Edible coatings and films', in Erickson M C, Hung Y-C, *Quality in Frozen Food*, New York, Chapman & Hall, 264–74.

THIEMIG F, OELKER P (1999), 'Weiterentwicklung der gaping-Bestimmungsmethode fu¨r unzubereitete Gefrierfischerzeugnisse(Improvement
of the gaping method for raw frozen fish products)', *Fleischwirtschaft*, 79, 82–5.
TORRISSEN O J, SIGURGISLADOTTIR S, SLINDE E (2001),
'Texture and technological properties of fish', in Kestin S C, Warriss P D, *Farmed Fish Quality*, Oxford, Fishing News Books, 42–57.
TSAKNIS J, LALAS S, EVMORFOPOULOS E (1999), 'Determination of
malondialdehyde in traditional fish products by HPLC', *Analyst*, 124, 843–5.
UNDELAND I (2001), 'Lipid oxidation in fatty fish during processing and
storage', in Kestin S C, Warriss P D, *Farmed Fish Quality*, Oxford,
Fishing News Books, 261–75.
VYNCKE W (1970), 'Direct determination of the thiobarbituric acid value in
trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity',
Fette Seifen Anstrichm, 72, 1084–7.
WARM K, BOKNAES N, NIELSEN J (1998), 'Development of quality index methods for evaluation of frozen cod (*Gadus morhua*) and cod fillets', *J AquaticFoo Product Technology*, 7, 45–59.
YAMANAKA H, MACKIE I M (1971), 'Changes in the activity of a sarcoplasmic adenosinetriphosphatase during iced-storage and frozen-storage of cod', *Bull Jap Soc Sci Fish*, 37, 1105–9.

«فصل بیست و دوم»

افزایش ارزش افزوده با استفاده بهینه

۱-۲۲- مقدمه: محدوده فرآورده‌های جانبی

فرآورده جانبی از هر نوع فرآوری مواد غذا تولید می‌شود. برای صنایع شیلاتی استفاده از فرآورده‌های جانبی برای حفظ توانایی اقتصادی نسبت به دیگر صنایع مهمتر است. دلیل آن هم کاملاً آشکار است چرا که فرآورده‌های جانبی بخش اعظمی‌از صید را تشکیل می‌دهند و در مواقع خاص حتی ممکن است که این فرآورده‌ها از نظر ارزش اقتصادی نسبت به فرآورده اصلی دارای ارزش بیشتری باشند و این در صورتی است که به شکل صحیح فرآوری شوند. در کارخانه‌های سنتی تقریبا از هر بخش ماهی برای غذای انسان یا حیوان استفاده می‌شود. از از زمانی که کارخانه‌های صنعتی در قرن بیستم توسعه یافته‌اند، حجم فرآورده‌های جانبی بی‌اندازه افزایش یافته است. یک مثال بارز صید میگو یا ترال صنعتی می‌باشد که صید ضمنی گاهی اوقات به حدود ۹۰ درصد از صید کل می‌رسد که بیشتر این صید ضمنی دور ریخته می‌شود(۱). یا بصورت ناقص مورد مصرف قرار می‌گیرد. همچنین در تولید فیله از ماهی سفید، بخش عمدهٔ آن ۶۰درصد (۹۰-۶) به‌عنوان ضایعات دور ریخته می‌شود. بعضی از این ضایعات، در صورتی که بعضی از این ضایعات در صورتیکه فرآوری در خشکی صورت بگیرد مورد استفاده واقع می‌شود اما معمولاً در زمان فرآوری در دریا و روی کشتی‌های ترال کش به دریا ریخته می‌شوند.

این فصل در مورد جنبه‌های متفاوت استفاده از فرآورده‌های جانبی صید ماهی و آبزی پروری بحث می‌کند. در بخش مقدمه واژه فرآورده جانبی بطور دقیق تعریف و یک حدود نسبی از مقدار فرآورده جانبی نیز داده می‌شود و پتانسیل اقتصادی آن قبل از اینکه موضوع‌های متفاوت دیگر فرآورده‌های جانبی شرح داده شوند، برآورد می‌گردد. امکان بازگشت ارزش افزوده با استفاده بهینه از فرآورده‌های جانبی برای تولید غذا مورد بحث واقع می‌شود و توجه خاصی روی جنبه‌های مولکولی مرتبط با فرآورده‌های جانبی خاص که ممکن است مواد خام مناسبی برای

تولید ترکیب‌های بیوشیمیایی برای تولید دارو باارزش افزوده بالا در داروسازی و یا دیگر کاربردهای بیوتکنولوژی داشته باشند مبذول می‌گردد.

۱-۱-۲۲- فرآورده‌های جانبی چه چیزی هستند؟

اغلب فرآورده‌های جانبی ماهی به‌عنوان واژه جدید برای ضایعات ماهی (OFFAL) استفاده شده‌اند، اما بهرصورت این تعریف نسبتاً گمراه کننده است. در حالیکه واژه ضایعات یا باقیمانده‌ها بخشی از ضایعات غیرقابل خوردن را تشکیل می‌دهند که دور ریخته می‌شوند، اما فرآورده‌های جانبی مطمئناً دارای مفهوم مثبت‌تری می باشند که نشان دهنده ماده‌ای است که می‌تواند مورد استفاده واقع شود. امروزه، معمول‌ترین مفهوم واژه فرآورده‌های جانبی شامل همه مواد خام، بخش‌های خوردنی و غیرقابل خوردن که طی آماده سازی فرآورده اصلی باقی می‌مانند، می‌باشد. مثلاً در تولید فیله از ماهی سفید که قسمت‌های بریده شده از فیله استخوان فقرات، سر، جگر، گنادها و روده‌ها همه به‌عنوان فرآورده‌های جانبی هستند. اما در موارد خاص این تعریف معتبر نیست. مثلا در ماهیان خاویاری که فرآوری می‌شوند تخمک آنها به‌عنوان خاویار فرآورده اصلی می‌باشد. در این فصل به صید ضمنی ماهی به‌عنوان محصولی جانبی نگاه می‌شود زیرا که به‌عنوان یک ماده خام برجا مانده از تولید فرآورده اصلی محسوب می‌گردد.

۲-۱-۲۲- کمیت ، عرضه و ارزش بالقوه

برآورد کمیت‌ها و ارزش فرآورده‌های جانبی براساس مقیاس جهانی بسیار مشکل است. ازاینرو، بیشتر ارقام داده شده در این بخش باید به‌عنوان محدوده و حدود نشان دهنده مورد توجه قرار گیرند. طی دهه گذشته صید جهانی ماهی در حدود ۹۰ میلیون تن بوده است (جدول ۱-۲۲) و براساس نظرات کارشناسان این میزان صید در آینده افزایش چندانی نخواهد یافت(۳). در حدود ۳۰ میلیون تن از این صید به آرد و روغن ماهی تبدیل می‌شوند. این فرآوریها اساساً دارای فرآورده‌های جانبی نمی‌باشند. به این صورت در حدود ۶۰ میلیون تن برای مصرف انسانی باقی می‌ماند. علاوه بر آن، آبزی پروری در حدود ۳۰ میلیون تن سالیانه فرآورده تولید می‌کند که دوسوم آن ماهی و باقیمانده آن را سخت پوستان و نرمتنان تشکیل می‌دهند(۴). این بدان معنی است که مقدار کل مواد خام در دسترس برای مصرف انسانی در حال حاضر در حدود ۹۰ میلیون تن است. مقدار قابل توجه‌ای از این مواد خام می‌توانند فرآورده‌های جانبی را در زمان فرآوری تولید کنند. وقتی که ماهی آتلانتیک کاد به فیله تبدیل می شود، در حدود ۶۰٪ از وزن کل، آن فرآورده جانبی هستند و هم‌چنین در طول فرآوری میگوی دریا شمال بیشتر

از ۷۰٪ آن را فرآورده جانبی تشکیل می‌دهد. در بسیاری از نقاط دنیا، بخش‌هایی از ماهی مثل کبد، گنادها، پوست، سر و حتی معده و کیسه شنا به‌عنوان غذا استفاده می‌شوند. اگرچه برآورد مقدار در دسترس فرآورده‌های جانبی در مقیاس جهانی مشکل است، اما در صورتیکه تمام ماهی به ساحل آورده شود، حداقل ۲۵ میلیون تن از آن می‌تواند بازیافت شود. علاوه بر آن، برآورد شده است که بیش از ۲۰ میلیون تن صید ضمنی در دریا ریخته می‌شود(۵). از اینرو برآورد کل جهانی فرآورده‌های جنبی حدود ۴۵ میلیون تن می‌باشد.

براساس مقیاس جهانی اطلاعات آماری در دسترس در خصوص ارزش فرآورده‌های جانبی وجود ندارد و لذا تعیین ارزش بالقوه این چنین مواد غیرهمگن جهت برآورد بسیار سخت است. اما، جهت ارائه نمونه، از بعضی از اطلاعاتی که از شیلات کشور نروژ در دسترس است در اینجا استفاده می‌شود. بخش ماهیگیری این کشور شامل صید گونه‌های بزرگ دریائی، کوچک پلاژیک؛سخت پوستان و نرمتنان و در کنار آن آزاد ماهیان پرورشی می باشند و ممکن است این نمونه بعنوان مشت خروار وضعیت را در مقیاس جهانی بازگو کند. فرآورده‌های جانبی نروژ در سال ۱۹۹۸، ۰/۴۷ میلیون تن بوده است که در حدود ۲۲٪ کل آن تولید ماهی می‌باشد. این تولید باعث درآمدی در حدود ۱۲۵ میلیون دلار آمریکا برای این کشور شده است(۶۱). با توجه به مقدار جهانی فرآورده‌های جانبی که در حدود ۴۵ میلیون تن برآورده شده، ارزش دلاری آن حدود ۱۲ میلیارد دلار می‌باشد. در نروژ، فرآوری فرآورده‌های به غذای انسانی و حیوانی دارای ارزش تقریباً مشابه‌ای است، فقط ۱۰ درصد مواد خام به غذای انسانی فرآوری می‌شود. با فرآوری بیشتر فرآورده‌های جانبی به غذا و فرآورده‌هایی که دارای ارزش بالا، می‌باشند، پیش بینی می‌شود که ارزش افزوده به وسیله فرآوری فرآورده‌های جانبی به در عرض ۱۰ سال آینده به پنج برابر افزایش خواهد یافت(۶).

از آنجائیکه انتظار نمی‌رود، که صید جهانی، در آینده افزایش یابد، افزایش ارزش افزوده بالقوه فرآورده‌های جانبی ماهی از رشد تولیدات آبزی پروری ناشی خواهد شد. براساس آمار FAO (۳) یک رشد آبزی پروری در حدود ۲/۵ درصد در هر سال در چین و ۵ درصدی در بقیه کشورهای جهان مورد انتظار می‌باشد. این بدان معنی است که تولید آبزی پروری جهانی تا سال ۲۰۱۵ به حدود ۵۵ میلیون تن خواهد رسید. دو مرتبه با توجه به اطلاعات داده شده توسط نروژی‌ها، دیده می‌شود که حدود ۲۵ درصد تولید آبزی پروری فرآورده‌های جانبی هستند(۶)، مقدار فرآورده‌های جانبی جهانی در این بخش از ۸ میلیون تن در حال حاضر به حدود ۱۴ میلیون تن در سال ۲۰۱۵ خواهد رسید.

جدول ۱-۲۲- آمار صید ماهیان و آبزیان دارای ستون فقرات به میلیون تن[۱]

نوع ماهی	سال					
	۱۹۹۵	۱۹۹۶	۱۹۹۷	۱۹۹۸	۱۹۹۹	میانگین
ماهیان بزرگ	۵۷/۳	۵۸/۶	۵۸/۲	۵۶/۶	۵۵/۹	۵۷/۳
ماهیان سطح زی کوچک	۲۲/۰	۲۲/۳	۲۱/۶	۱۶/۷	۲۲/۷	۲۱/۱
آبزیان دارای ستون فقرات	۱۲/۶	۱۲/۶	۱۳/۹	۱۳/۶	۱۴/۲	۱۳/۴
جمع صید سالیانه	۹۱/۹	۹۳/۵	۹۳/۸	۸۶/۹	۹۲/۹	۹۱/۸

۲-۲۲- فرآورده‌های فیزیکی

فرآورده‌های اصلی و جانبی ماهی به چهار گروه عمده تقسیم می‌شوند:

۱. مواد استفاده شده برای کود
۲. برای غذای دام و طیور
۳. غذای انسانی
۴. برای فرآورده‌های اختصاصی.

در بسیاری از جوامع ساحلی که وابسته به فرآورده‌های دریایی و کشاورزی هستند، ضایعات ماهی به‌عنوان کود نیتروژنی در گذشته و حال استفاده می‌شوند(۷). اگرچه نتایج مناسب با توجه به سلامتی و رشد محصول‌های کشاورزی حاصل شده است ولی این چنین استفاده از ماهی به‌عنوان پائین‌ترین بازده از نظر اقتصادی در بین چهار گروه بالا مطرح می‌باشد. تصورات سنتی استفاده عمده از فرآورده‌های جانبی گذشته‌های دور برای تولید غذای برای دام بوده است. اگرچه فرآورده‌های جانبی ماهی به‌عنوان مکمل‌های با ارزش در بسیاری از فرآورده‌های غذایی برای حیوانات مورد استفاده می‌باشند اما سودمندی چنین فرآورده‌هایی کاملاً پایین است. فرآوری فرآورده‌های جانبی به غذا یا مواد افزودنی به غذا عملاً از نظر اقتصادی سودمندتر و بهتر خواهد بود. حتی سودآوری بیشتر با استخراج و خالص کردن ترکیبات بیوشیمیایی با ارزش از فرآورده‌های جانبی می‌تواند حاصل شود. این چنین مواد مولکول‌های فعال زیستی مثل آنزیم‌ها، پلیمرهای زیستی یا پپتیدهای خاص می باشند که ممکن است دارای کاربردهای پزشکی یا بیوتکنولوژیکی داشته باشند و یا ممکن است به‌عنوان

[۱] - آمار داده شده از کتاب آمار FAO[2] محاسبه و گزارش گردیده است.

ترکیب‌های در مواد آرایشی استفاده شوند. اما، آماده کردن چنین فرآورده‌هایی مشکل است و اغلب وابسته به تحقیق و پیشرفت طولانی مدت به همراه سرمایه‌گذاری زیاد و در خط تولید و تجهیزات پیشرفته دارد. در نهایت، آشنا بودن و داشتن اطلاعات درباره بازار و همکاری نزدیک با نهادهای مرتبط بین‌المللی برای موفق بودن در فروش چنین فرآورده‌هایی ضروری است.

۱-۲-۲۲- شرح فیزیکی و شیمیایی از مواد عمده تولید

معمولاً، تازگی مواد خام دارای اهمیت زیادی برای ارزش فرآورده نهایی می‌باشد. وقتی که ضایعات ماهی برای تولید کود استفاده می‌شود، فساد میکروبی ممکن است بخشی از این فرآوری باشد. کمپوست کردن ضایعات ماهی به وسیله مخلوط کردن آن با مواد گیاهی غنی از کربن مثل خاک اره به‌عنوان روشی برای تولید کود برای گیاهان کشاورزی(۸). در حالیکه کمپوست کردن باعث تولید کود غنی از کربن و نیتروژن می‌شود، ولی نیتروژن مهمترین و غنی‌ترین بخش کودهای حاصله از تولید سیلاژ از ضایعات ماهی می‌باشد. با این روش ضایعات ماهی طی مخلوط کردن آنها با اسید به پروتئین هیدرولیز شده عمل آوری می‌شوند. همچنین نشان داده شده است که هم چنین پروتئین هیدرولیز شده علاوه بر افزایش رشد گیاهان، باعث ایجاد اثرهای بیولوژیکی جالبی می شوند(۷).

امروزه آرد ماهی به مراتب مهمترین فرآورده ساخته شده از ماهیان صید ضمنی یا دیگر فرآورده‌های جانبی ماهی می‌باشد. اگرچه بعضی از انواع آرد ماهی با کیفیت بالا برای مصرف انسانی استفاده می‌شوند ولی بخش عمده آن برای تغذیه دام و طیور به کار می‌رود. کیفیت آرد ماهی استفاده شده برای تولید غذای دام و طیور بستگی زیادی به کیفیت ماده خام و شرایط فرآوری دارد ولی معمولاً پودر قهوه‌ای یا خاکستری روشنی می‌باشد که حاوی ۷۰ ٪ پروتئین و ۱۰٪ مواد معدنی، ۹٪ چربی و ۸٪ رطوبت می‌باشد(۹).

سیلاژ ماهی دومین فرآورده عمده برای غذای دام و طیور بعد از آرد ماهی می‌باشد که از فرآورده‌های جانبی ساخته می‌شود(۱و۱۰). این مواد خام محافظت شده بوسیله اسید به صورت مایع بوده و می‌تواند به صورت مستقیم به‌عنوان یک ترکیب در غذای دام و طیور مورد استفاده واقع شود. اما، مقدار اسید و چربی، مقدار قابل مصرف آن را بعنوان غذا برای دادن به حیوانات اهلی را محدود می‌سازد. در بسیاری از کشورهای صنعتی، قوانین سختی برای کیفیت شیمیایی و میکروبی سیلاژ ماهی جهت استفاده برای غذای حیوانات وجود دارد. در نروژ، شمارش باکتریایی ۱۰۰/۰۰۰ در هر گرم و مقدار نیتروژن؛ کل ۱۰۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم از ماده خشک به‌عنوان حداکثر مقدار قابل مجاز مشخص شده است(۱۱). در تولید سیلاژ در مقیاس‌های بزرگ، بیشتر روغن به

وسیله سانتریفیوژ در درجه حرارت‌های بالا $\left(95c^{\circ}\right)$ گرفته می‌شود. این چنین فرآوری باعث ایجاد استریلیزاسیون تجارتی فرآورده می‌شود. بعد از گرفتن روغن ترکیب شیمیائی تقریبی سیلاژ ماهی شامل آب (۸۰٪)، پروتئین (۱۴٪)، خاکستر (۲٪) و کمتر از ۱٪ روغن و ۳٪ـ۲ اسید نگهدارنده (معمولاً اسیدفرمیک) می‌باشد. قبل از مخلوط با ترکیب‌های دیگر خشک غذائی برای تولید فرآورده خشک نهایی، آب موجود در سیلاژ معمولاً تا میزان ۴۵ درصد ماده خشک در سیلاژ تبخیر می‌شود(۱۲).

در بسیاری از کشورهای در حال توسعه هزینه‌های خرید اسیدهای نگهدارنده ممکن است مانع استفاده از این روش شود. در چنین مواردی، نگهداری به وسیله افزودن باکتریهای اسیدلاکتیک و به مواد کربوهیدراتی قابل تخمیر با قیمت پائین مثل توفاله چغندر، نشاسته کازآوا یا آب پنیر خشک شده ممکن است گزینه‌ای مناسبی باشد اگر باکتریهای اسید لاکتیک که تولید یک فرآورده نهایی می‌کنند (مثل Lactobacillus plantarum) به مخلوط ماهی چرخ شده و کربوهیدرات (۱۵–۲۰٪) افزوده شود، یک سیلاژ ماهی با دوام با PH ۴/۵ کمتر از ممکن است در عرض یک هفته پس از شروع تخمیر تولید شود. سیلاژ ماهی حاصل از تخمیر ثابت شده که به یک ماده غذایی مغذی برای ماهیان و حیوانات اهلی می‌باشد(۱۴،۱۳و۱).

از زمانهای گذشته مقادیر قابل توجه‌ای از فرآورده‌های جانبی ماهی به صورت مستقیم یا بعد از جوشاندن در آب به‌عنوان غذا برای تغذیه حیوانات مورد استفاده واقع شده‌اند که هنوز مطمئناً در بسیاری از مناطق روستایی در نقاط مختلف جهان در حال انجام است.

مشخص کردن ویژگی شیمیائی و فیزیکی مشترک برای دو فرآورده اخیر حاصل از صید ضمنی یا فرآورده‌های جانبی غذای و فرآورده‌های اختصاصی) مشکل است. اما چیزی که مسلم این است که فرآورده‌های جانبی استفاده شده برای این چنین اهدافی، باید عیناً با مراقبت‌ها و شرایط بهداشتی مشابه نمونه بکار برده شده برای دیگر مواد خام مورد استفاده برای فرآوری مواد غذائی برای انسان تولید شوند. در موارد خاص، وقتی که مواد خام برای تولید مولکول‌های فعال زیستی برای کاربردهای پزشکی و بیوتکنولوژیکی مورد استفاده واقع می‌شوند، رعایت اصول و موازین بهداشتی خیلی بالائی ضروری است که جزئی آلودگی میکروبی ممکن است که فرآورده نهایی را از بین ببرد.

بسیاری از فرآورده‌های جانبی آبزیان دارای ارزش غذائی مشابه بافت ماهی می‌باشند(۱۵). بیشتر پروتئین‌های ماهی دارای مقدار زیادی اسیدهای آمینه ضروری مثل لیزین و متیونین می‌باشند که می‌تواند مقدار پائین این اسیدهای آمینه را در پروتئین‌های گیاهی را غنی‌سازی کند(۱). بصورت روشن، فرآورده‌های جانبی دارای پتانسیل زیادی به‌عنوان مواد خام برای تولید مواد غذایی برای انسان می‌باشند. بعضی از آنها مثل کبد و تخمک ماهی اگر

به درستی حمل و نقل و فرآوری شوند دارای ارزش مصرفی بالایی می‌باشند. فرآورده‌های جانبی دیگر که اغلب تبدیل به آرد ماهی می‌شوند می‌توانند برای مصرف انسانی هم به خوبی مورد استفاده واقع شوند. مواد جانبی مثل مواد حاصل شده از برش فیله، ماهیچه‌های موجود در سر و استخوان پشتی جزء این موارد هستند. هر دو ترکیب هم از نظر شیمیائی و هم ارزش تغذیه‌ای ماده تهیه شده از چنین موادی کاملاً از این دو نظر شبیه به فیله ماهی می‌باشند.

بطور کلی، عادت‌های غذایی در جوامع مختلف متفاوت می‌باشد. فرآورده‌های جانبی که ممکن است در یک نقطه از جهان بعنوان مواد کم ارزش و فقط مناسب برای تولید کود و یا غذای دام و طیور در نظر آیند ممکن است در نقطه دیگر جهان بعنوان یک غذای بسیار خوشمزه و باارزش به حساب آیند. این موضوع نشان می‌دهد که تعریف دقیقی از فرآورده غذائی در این زمینه تقریباً غیرممکن است.

۲-۲-۲۲- کیفیت در صید و تحویل و امکان استفاده بهینه برای تولید فرآورده‌های قابل مصرف انسانی

کیفیت ماده خام در محل فرآوری باعث تصمیم‌گیری برای تولید فرآورده از آن می‌شود. فاکتورهای کلیدی برای کیفیت فرآورده‌های ماهی حمل و نقل آن روی عرشه کشتی است. فرآورده‌های جانبی و مخصوصاً امعا و احشا نسبت به فساد خیلی حساس هستند و این در صورتی است که به درستی نگهداری نشوند. عصاره‌های مغذی قابل استخراج از ماهی به عنوان یک ماده مناسب برای رشد میکروبی می‌باشند که طی نگهداری در انبار به وسیله هیدرولیز آنزیمی‌و به وسیله آنزیم‌های لیزوزومی‌و گوارشی باعث ایجاد محیط مناسب‌تری برای رشد باکتری‌ها می‌گردند. آلودگی خونی نیز باعث فساد از دو طریق می‌شود یکی تحریک رشد میکروبی و دیگری از طریق دادن شتاب به اکسیداسیون چربی باعث این عمل می‌شود(۱۶). یک راهکار مناسب برای جلوگیری از فساد، قطعه قطعه کردن فوری ماده خام و نگهداری آن در درجه حرارت پائین می‌باشد. در بیشتر موارد نگهداری فرآورده بصورت منجمد به‌عنوان بهترین روش نگهداری شناخته شده است. در بعضی از فرآورده‌های خاص مثل کبد و تخمک ماهی فرآیند انجماد انجمادزدایی ممکن است کیفیت را کاهش دهد چون موجب صدمه زدن به غشاهای حساس سلولی و از طرفی باعث تراوش آنزیم‌های لیزوزومی‌می‌گردد که این آنزیم‌ها بنوبه خود باعث تجزیه بیشتر بافت می‌گردند. نگهداری در یخ گزینه‌ای مناسبی برای جلوگیری از فساد مخصوصاً در مناطق گرمسیری که هر دو، هم میکروارگانیسم‌ها و هم آنزیم‌های داخلی در درجه حرارت‌های پائین دارای حداقل فعالیت می‌باشند.

کمبود فضا و تجهیزات روی عرشه کشتی‌های ماهیگیری یکی از مشکلات جهانی می‌باشند. فرآورده اصلی همیشه دارای اولین اولویت می‌باشد و در بدترین شرایط این بدان معنی است که هر ماده خام دیگر از روی عرشه کشتی به دریا ریخته می‌شود. حتی در بعضی از کشورهای صنعتی وضع قوانین دولتی برای ساخت کشتی ماهیگیری منجر به کاهش استفاده از فرآورده‌های جانبی شده است. اما، بهرصورت آگاهی رو به رشد در این زمینه در بیشتر مکانها این وضعیت را بهبود بخشیده است و امروزه بسیاری از کشتی‌ها با تجهیزاتی برای بازیافت کل از صید ماهی ساخته می‌شوند. اگر نگهداری فرآورده به صورت سرد در روی عرشه ممکن باشد و زمان نگهداری قبل از فرآوری کمتر از سه روز باشد، و ماهی تخلیه شکمی‌نشده باشد در این صورت بهترین کیفیت فرآورده در محل کارخانه بدست می‌آید. این موضوع بوسیله شمارش و آنالیز میکروبی و شیمیائی بر روی عضله و امحاء و احشاء ماهی کاد آتلانتیک شمالی به ثبوت رسیده است(۱۷).

۳-۲۲- فرآورده‌های حاصل از دستکاری آنزیمی

از زمانهای گذشته و قبل از اینکه کلمه آنزیم به وجود آید) اثرات آنزیمها در فرآوری ماهی مورد استفاده واقع شده‌اند. در همه فرآیندهای رسیدگی و جا افتادن فرآورده، آنزیم‌ها نقش بسیار مهم داشته‌اند. در بیشتر موارد آنزیم‌های داخلی و آنزیم‌های میکروبی نقشی را بازی نموده‌اند. آنزیم‌های داخلی در فرآیندهای سریع (سیلاژماهی) مهم‌تر از آنزیم‌های میکروبی می‌باشند در حالی که آنزیم‌های میکروبی در طول تخمیر طولانی مدت (ماهی تخمیر شده) اساسی‌تر هستند.

اخیراً، استفاده فعال از آنزیم‌های خارجی به‌عنوان گزینه‌ای بیوتکنولوژیکی به جای فرآوری مکانیکی سنتی وارد عمل شده است(۱۸). این گونه روش‌های آنزیمی‌هم برای تولید فرآورده‌های غذایی اصلی از ماهی و هم برای افزایش ارزش فرآورده‌های جانبی مختلف توسعه یافته‌اند. دامنه وسیعی از آنزیم‌ها مورد استفاده واقع شده‌اند که به خصوص در تخمیر و رسیدگی فرآورده. اما، در بیشتر فرآیندهای مورد بحث آمده در زیر آنزیم‌های هضم کننده پروتئینی‌ها (پروتئازها) دارای نقش کلیدی می‌باشند(۱۹).

۱-۳-۲۲-رسیدن و جاافتادن فرآورده

رسیدن و جاافتادن آنزیمی‌فرآورده از فرآیندهای مهم می‌باشد که بطور دائم در فرآورده ماهی نیمه فرآوری شده که به صورت سرد که فرآیند حرارتی نشده باشد، صورت می‌گیرد. این بدان معنی است که ویژگی‌های بافتی و ارگانولپتیکی در طول نگهداری در حال تغییر می‌باشند. فرآورده‌های نمک زده و دودی شده به این دسته از

فرآورده‌ها تعلق دارند. همهٔ بافت‌های بیولوژیکی غنی از آنزیم‌های لیزوزومی[1] هستند که زمانی که غشاء لیزومال[2] پاره می‌شود به بافت اطراف مواد نفوذ می‌کنند. لیزوزومها حاوی تعداد زیادی در آنزیم‌های متفاوت می‌باشند اما کاتپسین‌ها به‌عنوان مهمترین آنزیم‌ها برای تغییرات در بافت و طعم در این چنین فرآورده‌های می‌باشند زیرا که اینها پروتئازها می‌باشند که در شرایط اسیدی خفیف یا خنثی فعال هستند(۲۰). اگر چه میزان آنها کم است ولی این آنزیم‌ها تا حدی پروتئینهای عضله و حتی بافت پیوندی را طی نگهداری طولانی فرآورده هضم می‌کنند که باعث می‌شود تا فرآورده دارای بافت نرم‌تر و طعم غنی‌تری باشد. کاربرد این چنین روش‌هایی معمولاً در فرآورده‌های عمده ماهی مثل فیله یا ماهی کامل می‌باشد، اما نمک زدن فرآورده‌های جانبی نیمه نگهداری شده مثل گوشت سر، زبان و حتی کیسه شنا به کار گرفته می‌شود. این فرآورده‌ها که دارای بازار خوبی در اروپای جنوبی می‌باشد(۲۱).

۲-۳-۲۲- *برداشتن پوست‌ها، غشاها و انگل‌ها*

روش‌های مختلفی برای آماده سازی آنزیم‌های تجارتی برای تولید فرآورده‌های جانبی مناسب برای مصرف انسانی می‌توان بکار گرفت. در بیشتر موارد آنزیم‌های استفاده از پروتئازهای با منشاء گیاهی و یا میکروبی می‌باشند، اما ویژگی‌های دقیق این آنزیم‌ها معمولاً به‌عنوان یک راز نگهداری می‌شوند. با انتخاب دقیق آنزیم‌ها با ویژگی خاص و به کارگیری شرایط فیزیکی و شیمیائی خاص، ممکن است که بافت خاصی را تجزیه نمود در حالی که دیگر بافت‌ها بدون تغییر باقی خواهند ماند. در بیشتر موارد، هدف حل کردن یا اصلاح نمودن بافت‌های پیوندی بدون صدمه زدن به بافت‌های عضله‌ای می‌باشد. این کار اغلب چالش برانگیز است زیرا که بافت‌های پیوندی معمولاً به هضم آنزیمی‌نسبت به پروتئین‌های عضله مقاوم‌تر می‌باشند. کلاژن نوع I عمده‌ترین پروتئین پیوندی عضله می‌باشد و فقط آنزیم کلاژناز که خیلی گران می‌باشد می‌تواند این پروتئین را در شکل طبیعی خودش هضم کند. بعد از دادن حرارت نسبتاً کم یا استفاده از اسید با حرارت یا تیمار اسید، کلاژن تغییر ماهیت می‌دهد و قابل هضم به وسیله بیشتر پروتئازها می‌شود. چنین روشی وقتی به کار گرفته می‌شوند که هدف برداشتن یا تغییر دادن غشاهای خارجی یا پوست می‌باشند.

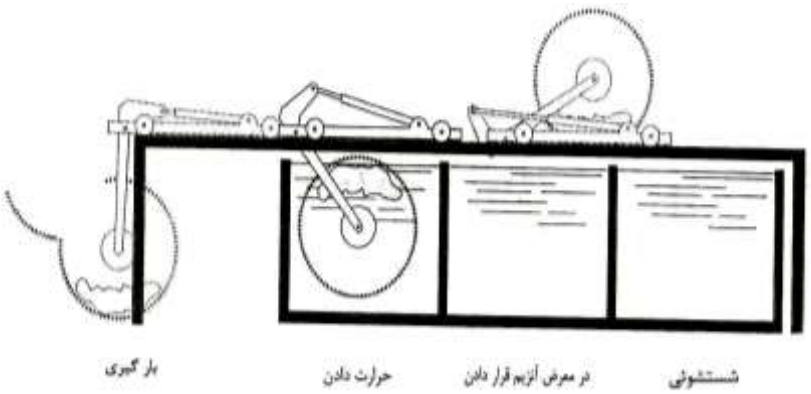
این روش برای برداشتن پوست از باله ماهی اسکات می‌تواند. بعد از فرآیند حرارتی ملایم استفاده گردد. پوست باله‌های ماهی اسکات پس دادن حرارت ملایم به آنها در درجه حرارت پائین در محلول آنزیمی‌حاوی هر دو آنزیم

[1] -Lysozomal enzyme
[2] - Lysozomal membranes

پروتئاز و آنزیم‌های تجزیه کننده کربوهیدرات انکوباسیون می‌شوند. بعد از چند ساعت پوست تجزیه شده را می‌تواند از طریق شستن برداشت. روشی مشابه این روش، برای برداشتن غشاء سیاهی که کیسه شنا ماهی کاد را احاطه کرده به کار گرفته شده است(۲۱).

در اروپای شمالی و شمال آمریکا، اسکوئید محصولی با ارزش پائین است که عمدتاً به‌عنوان غذای دام و طعمه برای صید استفاده می‌شود. یکی از دلائل چنین استفاده‌ای این می‌باشد که برداشتن غشاء لاستیکی مانند که پوشاننده همه سطوح اسکوئید می‌باشد به وسیله روش‌های تکنیکی بسیار مشکل است. اگر شاخک‌ها و ضمائم لوله‌ای در اسکوئید در محلولی از پروتئازی خاصی خیسانده شوند و تیمار حرارتی کوتاهی صورت بگیرد (۱ دقیقه در $80^{\circ}C$) بافت‌های پلاستیکی مانند محو می‌شوند(۲۲). این باعث می‌شود تا برداشتن غشاء دیگر ضروری نباشد و می‌توان آن را به‌عنوان بخشی از فرآورده برای مصرف انسانی فروخت.

کبد ماهی کاد کنسرو شده به‌عنوان فرآورده با ارزش در بعضی از کشورهای اروپائی دارای خریدار می‌باشد. در حال حاضر صنعت کنسروسازی در حدود ۱ دلار برای هر کیلوگرم از کبد کاد با کیفیت درجه اول می‌پردازد، اما آلودگی کبد کاد به وسیله تعداد زیادی از انگل‌های کرمی‌کوچک مشکلی در آتلانتیک شمالی می‌باشد که فک‌ها به‌عنوان میزبانهای واسط آن می‌باشند. بیشتر انگل‌ها در زیر غشاء خارجی قرار دارند و به آسانی می‌توان برداشته شوند. اگر غشاء مزبور پاره گردد. یک روش صنعتی توسعه یافته اینست که کبد ماهی کاد یک پارچه سرد را به سرعت در یک بشکه مشبک در آب گرم خیسانده می‌شود و سپس به یک محلول پروتئاز با درجه حرارت متوسط منتقل می‌گردد (شکل ۱-۲۲). بعد از تیمار آنزیمی‌کوتاه مدتی غشاها و آنزیم‌ها به راحتی شسته و جدا می‌شوند و کبد آماده برای کنسرونمودن می‌باشد(۲۳). برداشتن آنزیمی‌بافت‌های پیوندی غالباً یک تیمار ملایم‌تر و باعث تولید فرآورده بیشتر نسبت به فرآوری مکانیکی سنتی می‌شود. ولی مشکل روش آنزیمی‌این است که اولاً تولید مرحله به مرحله است و اغلب این روش وقت‌گیر است و در زمان انکوباسیون ممکن است باعث رشد باکتری در فرآورده شود.



شکل ۱-۲۲: مراحل زودن انگل از کبد ماهی کاد بوسیله آنزیم(۲۳).

۳-۳-۲۲- *تولید خاویار*

اگر چه تخمک ماهی به‌عنوان ماده خام با ارزش برای تولید فرآورده‌های خاویاری می‌باشد، اما در بسیاری از موارد به‌عنوان فرآورده جانبی می‌باشد. سودمندی تولید خاویار همیشه در ارتباط نزدیک با فرآورده حاصل از تخمک‌های ماهی صدمه ندیده بعد از فرآوری می‌باشد. در بسیاری از گونه‌های ماهی مثل ماهیان خاویاری، قزل‌آلا و آزادماهیان، تخمک، به صورت چسبنده‌ای به صفحه‌های بافتهای پیوندی متصل می‌شوند. تخمک به صورت سنتی به وسیله مالش دادن روی یک شبکه مشبک آزاد می‌شوند. در طول این فرآیند میزان قابل ملاحظه‌ای از تخمک‌ها صدمه می‌بینند. به وسیله فرآوری آنزیم ملایم، تخمک‌ها می‌توانند بدون صدمه دیدن فیزیکی آزاد شوند. آنزیم‌های مختلفی مانند کلاژناز به دست آمده از هپاتوپانکراس[1] خرچنگ و پپسین‌های ماهی به صورت موفقیت‌آمیزی برای این هدف استفاده شده‌اند(۲۴). بعد از فرآوری کوتاه مدت کیسه‌های تخمک در مخزن متحرک، بافت‌های پیوندی از تخمک به وسیله غوطه‌ورسازی جدا می‌شوند. با استفاده از روش آنزیمی‌برای تولید خاویار قزل‌آلای رنگین‌کمان، راندمان فرآورده از کمتر از ۷۰ درصد تا حدود ۹۰ درصد افزایش یافته است(۲۵). با این روش در حدود ۵۰ تن خاویار به صورت سالیانه با این روش در کانادا و اسکاندیناوی تولید می‌شوند(۲۶).

[1] - Crab Hepatopancreas

۴-۳-۲۲- تولید هیدرولیز، سس ماهی و سیلاژماهی

هیدرولیز پروتئین ماهی به وسیله هیدرولیز آنزیمی‌از مواد خام غنی از پروتئین ماهی تولید می‌شود. در بیشتر موارد ماده خام، ماهیان صید ضمنی با ارزش پائین، فرآورده‌های جانبی، یا گونه‌های پلاژیک ریز مثل آنچوی یا ساردین می‌باشند. آنزیم‌های مورد استفاده ممکن است آنزیم‌های داخلی، آنزیم‌های تجاری با منشاء گیاهی یا میکروبی یا آنزیم‌های تولید شده به وسیله کشت‌های میکروبی افزوده شده به مواد خام می‌باشند.

پروتئین هیدرولیز شده ماهی فرآورده بسیار پیچیده‌ای می‌باشد که شامل سیلاژ خام مورد استفاده برای غذای دام و طیور(۱۷)، سس ماهی برای مصرف انسانی(۲۷)، ترکیبات طعم دهنده ماهی(۲۸) و ترکیب‌های پیچیده زیستی فعال برای افزایش رشد (۳۹) مثل آنتی‌اکسیدها(۳) یا محرکهای ایمنی می‌باشد(۳۲،۳۱). قدیمی‌ترین استفاده از هیدرولیز پروتئین ماهی که در اروپا نیست شده شامل سس ماهی ساخته شده از روده‌های ماهی و دیگر فرآورده‌های جانبی آن است که اخیراً در اروپای جنوبی مورد استفاده می‌باشد. یونانی‌ها و رومی‌های باستان این فرآورده‌های را بیش از دوهزار سال قبل مصرف می‌کردند. تولید سس ماهی در اروپا متوقف شده است اما سس ماهی به‌عنوان فرآورده مصرفی مهمی‌در جنوب شرقی آسیا می‌باشد، که تولید سالیانه آن در حدود ۲۵۰ هزار تن است(۲۷،۲۶). سس ماهی به‌عنوان یک چاشنی در غذاهای آماده شده از سبزی‌ها مورد استفاده می‌باشد اما همچنین به‌عنوان یک مکمل مهم از اسیدهای آمینه ضروری برای بسیاری از افراد می‌باشد. پایداری زیاد آن (چندین سال) باعث گردیده که سس ماهی در هر فصل در دسترس باشد و این فرآورده مستقل از فصل صید ماهی می‌باشد یا نه.

سس ماهی به وسیله مخلوط کردن سه بخش ماده خام با یک بخش نمک و نگهداری آن در درجه حرارت‌های محیطی (نواحی گرمسیری) به مدت ۱۲ـ ۶ ماه تولید می‌شود(۳۴و۲۷). در طول این مدت نگهدرای آنزیم‌های میکروبی و داخلی پروتئین‌های عضله را حل می‌کند و سس ماهی بصورت مایع زرد رنگ با طعم خوشایند از عضله‌های هیدرولیز شده ماهی استخراج می‌شود که حاوی ۱۴ـ ۸ درصد پروتئین هضم شده و در حدود ۲۵ درصد نمک می‌باشد. اگر چه تولید سس ماهی ساده است و بستگی به تجهیزات پیشرفته ندارد، اما نیاز به فضای زیاد برای نگهداری به‌خاطر زمان طولانی تولید وجود دارد. تلاش‌ها برای تسریع در فرآیند به وسیله افزودن آنزیم‌های خارجی(۳۷و۳۵)، گرم کردن(۳۸) یا به وسیله تنظیم شرایط شیمیائی برای افزایش فعالیتهای آنزیمی‌صورت گرفته است(۴۱و۳۹). اگر چه جنوب شرقی آسیا هنوز مهمترین بازار برای سس ماهی می‌باشد اما علاقه رو به رشدی به چنین فرآورده‌هایی در کشورهای غربی نیز وجود دارد(۴۲و۴۱). در جنوب شرقی آسیا

قیمت یک بطری سس ماهی با کیفیت بالا در حدود ۱ دلار است در حالی که قیمت آن در اروپا ۳ دلار می‌باشد. برای تولید ۱ بطری سس ماهی (۰/۷۱ کیلوگرمی) حداقل یک کیلوگرم ماده خام لازم است.

سیلاژ ماهی فرآورده جدیدتری می‌باشد که تقریباً همه آن برای غذای دام و طیور استفاده می‌شود. همه انواع ماهی و فرآورده‌های جانبی با ارزش کم برای تولید سیلاژ ماهی مورد استفاده واقع می‌شوند که معمولاً به وسیله مخلوط کردن ۳ ـ ۲ درصد اسیدفرمیک در مواد خام چرخ شده و نگهداری آن در درجه حرارت محیط تا اینکه بافت‌ها به وسیله آنزیم‌های داخلی هضم شوند، ساخته می‌شوند(۱۰و۱). سیلاژ ماهی به خوبی نگهداری شده دارای PH بین ۴-۳ می‌باشد که PH اپتیمم برای هضم پروتئین به وسیله پپسین‌های ماهی می‌باشد(۴۳). اگر ماده خام حاوی مقدار کافی پپسین‌ها و دیگر پروتئازهای فعال در شرایط اسیدی (کاتپسین‌ها) باشد، بیشتر بافت ماهی بعد از چند روز نگهداری بصورت مایع می‌شود. چنین سیلاژی ممکن است به صورت مستقیم برای تغذیه دام مورد استفاده واقع شود و یا می‌توان فرآوری بیشتری روی آن به وسیله سانتریفیوژ و تبخیر برای تولید روغن و تولید پروتئین کنسانتره بعمل آورد. این محلول کنسانتره به‌عنوان ترکیب مناسب در فرآورده‌های غذایی حیوانی استاندارد شده به کار می‌روند(۱۲). مزیت‌های آشکار تولید سیلاژ ماهی نیاز کم آن به تجهیزات پیشرفته تولید و سرمایه‌گذاری کم آن می‌باشد. عیب عمده آن هزینه حمل و نقل زیاد فرآورده به خاطر مقدار زیاد آب در آن می‌باشد.

سیلاژ ماهی به‌عنوان جایگزینی برای آرد ماهی می‌باشد اما هرگز از نظر کمی‌به مقدارهای تولید مشابه آن نرسیده است. در حال حاضر نروژ به‌عنوان تولیدکننده عمده سیلاژ ماهی با تولید سالیانه حدود ۱۴۰/۰۰۰ تن ماده خام که عمدتاً از فرآورده‌های جانبی حاصل از آبزی‌پروری، آزادماهیان هستند، می‌باشد(۶). اگر چه سیلاژ ماهی فرآورده‌ای با قیمت کم می‌باشد اما دارای ارزش تغذیه‌ای بالایی می‌باشد و به‌عنوان جایگزینی مناسب برای استفاده در بعضی از فرآورده‌های جانبی می‌باشد که در غیر این صورت باید دور ریخته می‌شوند(۴۵و۳۴).

اطلاعات زیادی درباره مقادیر سیلاژ ماهی تخمیر شده وجود ندارد. اما بخوبی معلوم است که تحقیق و توسعه درباره تولید و استفاده سیلاژ ماهی تخمیر شده در نواحی گرمسیری در سرتاسر جهان در حال انجام است و بیشتر گزارش‌ها نشان می‌دهند که این روش تخمیر برای تبدیل مواد جانبی کم ارزش به غذای پرارزش به تغذیه دام و طیور در مقیاس کوچک در مناطق روستایی که پرورش حیوانات و ماهی با هم صورت می‌گیرد مناسب می‌باشد (۴۹،۴۸ و ۱۳).

تولید تجاری پروتئین هیدرولیز شده در مقیاس بزرگ از ماهی به وسیله افزودن آنزیم‌های پروتئولتیک برای اولین بار در فرانسه در سال ۱۹۶۰ توسعه یافت(۴۹). ماده خام آن صید ضمنی حاصل از کشتی‌های ترال‌کش بود و فرآورده نهایی کنستانتره پروتئینی از ماهی بود که برای استفاده به‌عنوان افزودنی غذایی، به غذای دام یا جایگزین کننده شیر استفاده می‌شد. این تولید هنوز وجود دارد و کارخانه عمده آن (CTPP) در Boulogne سالیانه در حدود ۶۰/۰۰۰ تن ماده خام را به ترکیبات با ارزش برای استفاده در غذا، غذای دام و طیور و مواد آرایشی فرآوری می‌کند.

روش کلی تولید کردن پروتئین هیدرولیز شده از ماهی کاملاً ساده است. ماده خام چرخ شده را با مقدار برابر آب در یک مخزن دارای بهم‌زن قبل از اینکه آنزیم‌های پروتئولیتیک افزوده شوند، مخلوط می‌شوند. انکوباسیون آنزیمی‌ممکن است ۲-۱ ساعت در ۶۰-۴۰ درجه سانتیگراد طول بکشد. سپس آنزیم‌ها به وسیله حرارت بالاتر از $90^{\circ}C$ به مدت چند دقیقه غیر فعال می‌شوند. معمولاً روغن و ذرات معلق جامد به وسیله سانتریفیوژ قبل از اینکه محلول هیدرولیز شده به وسیله تبخیر و خشک شود، جدا می‌شوند. روش‌های آرام و ملایم خشک کردن مثل خشک کردن در خلا[1] و خشک کردن پاششی[2] برای حفظ طعم مناسب و ویژگیهای کاربردی پروتئین پیشنهاد می‌شوند(۵۰و۱۸). در بیشتر موارد آنزیم‌های تجاری با قیمت کم با منشاء (گیاهی یا میکروبی) برای تولید پروتئین هیدرولیز شده ماهی مورد استفاده واقع می‌شوند. از آنزیم‌های گیاهی پاپائین (papain) که از گیاه Papaya Latex بدست می‌آید بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد هم چنین از آنزیم‌های پروتئاز (Proteases) بدست آمده از باسیلوس که توسط شرکت Novo Nordisk تهیه می‌شود و به عنوان آنزیم‌های پروتیناز که دارای منشاء میکروبی می‌باشند استفاده بعمل می‌آید.

مزه پروتئین هیدرولیز شده بستگی زیاد به نوع آنزیم استفاده شده و شرایط هیدرولیز می‌باشد. تولید مزه تلخ به خاطر ایجاد پپتیدهای تلخ به‌عنوان یک مشکل در این فرآوری می‌باشد. اینها معمولاً پپتیدهای کوچک تشکیل شده از (۴-۱۰ اسیدآمینه) با انتهای آب‌گریز می‌باشند. از شکل‌گیری این چنین پپتیدهایی ممکن است با به کارگیری شرایط هیدرولیز آرام جلوگیری شود. اما ممکن است فرآورده و حلالیت هیدرولیز این روش راندمان

[1] - Vacuom Drying
[2] - Spray Drying

فرآورده و حلالیت پروتئین هیدرولیز شده را کاهش دهد از این رو، راهکار دیگر، کـه شـامل هضـم گسـترده بـه پپتیدهای خیلی کوچک بدون مزه تلخ و اسیدهای آمینه آزاد می‌باشد و این روش راهکار بهتری است(۵۱و۲۸).

پروتئین هیدرولیز شده ماهی در انواع وسیعی تولید می‌شوند و قیمت بعضی از انواع آن ممکن است پائین بـوده و قابل مقایسه با آرد ماهی باشد انواع گران قیمت آن مثل پپتـون (Peptone) کـه بـه‌عنـوان منـابع نیتـروژن در محیط‌های کشت میکروبی برای رشد آن مورد استفاده بوده(۵۲). در آمریکا بازار عمـده پـروتئین هیـدرولیز شـده ماهی به‌عنوان یک جایگزین شیر برای بچه خوک‌های از شیر گرفته شده می‌باشد. برای این هـدف فـرآورده بـه وسیله هیدرولیز آرام (Gentle Hydrolysis) تولید و سپس بوسیله خشک کن پاششی خشک می‌شود و قیمت آن در حدود ۳ دلار برای هر کیلوگرم می‌باشد(۵۳). فرآورده مشابه در ژاپن ساخته می‌شوند که ثابـت شـده اسـت که پروتئین ماهی که به خوبی هیدرولیز شده خیلی مناسب برای تغذیـه حیـوان‌هـای جـوانی کـه دارای سیسـتم گوارشی ضعیفی هستند مصرف نمود، مانند گوساله، بچه خوک و بچه ماهی[1](۵۴).

۴-۲۲- عملکرد و فرآورده‌های جانبی در داروسازی

بسیاری از سنتهای قدیمی‌در مردمان ساحل‌نشین به ارث گذاشته شده است که نشان دهنده دانش زیاد گذشتگان نسبت به ویژگی‌های عملکرد با ارزش مواد خام دریایی می‌باشد. اما استفاده از این دانش در ساخت فرآورده‌هـای تجاری اخیراً صورت گرفته است. بازاریابی روغن ماهی به‌عنوان مکمل غذایی سرشار از ویتامین، احتمـالاً اولـین مثال عملکردی (Functional Food) نشأت گرفته از ماهی برای مصارف انسانی می‌باشـد. کیتـوزان سـاخته شده از پوسته‌های سخت‌پوستان پیشرفت اولیه دیگری اسـت کـه بـه‌عنـوان فـرآورده‌ای بـا محـدودهٔ وسـیعی از ویژگیهای کاربردی مفید مثل و حذف آلودگی از آب، غذاهای کاربردی، لوازم آرایشی، در تولید لنزهـای چشـمی‌و کیسه‌های خرید، قابل تجزیه‌شدن زیستی وارد بازار شده‌اند از آن جمله‌اند(۵۵). اخیراً چندین فـرآورده اختصاصـی برای کاربردهای داروسازی و بیوتکنولوژیکی از فرآورده‌های جانبی دریایی استخراج شده‌اند تولید تجاری بعضی از آنها باعث سودآوری زیاد گردیده است(۵۶و۲۴).

---

[1] - Fish Fry

۱-۴-۲۲- پلیمرهای زیستی کاربردی: کیتوزان و ژلاتین

در بین مولکولهای فعال زیستی بازیافت شده از فرآورده‌های جانبی ماهی، پلیمرهای زیستی دارای بیشترین مقدار می‌باشند. کیتین ترکیب ساختاری عمده در اسکلت خارجی بی‌مهرگان دریایی می‌باشد کیتین پلیمر غیر محلول با واحدهای N ـ استیل گلوگز آمین[1] می‌باشد. با برداشتن گروه استیل در شرایط قلیائی قوی کیتین به کیتوزان تغییر شکل می‌دهد که به‌عنوان یک پلیمر کاتیونی محلول در آب با محدودهٔ وسیعی از کاربردهای شیمیائی و بیوتکنولوژیکی می‌باشد. ضایعات فرآوری ماهیان صدف‌دار حاوی ۱۴-۳۵ درصد کیتین براساس ماده خشک می‌باشد. کل میزان کیتین حاصل از صید سالیانه سخت‌پوستان در حدود ۴۰ هزار تن می‌باشد(۵۷)، در حالی که در زمان حاضر تولید سالیانه کیتین به کیتوزان در حدود ۲/۲ هزار تن با ارزشی معادل ۲ بیلیون دلار آمریکا می‌باشد. عمده فرآورده‌ها برای تصفیه پساب‌ها، افزودن نیروی سطحی به غذا یا در تغذیه حیوانات به‌عنوان فیبر در جیره غذایی و پربیوتیکها جهت ارتقاء رشد بیفید[2] باکتریها مورد استفاده واقع می‌شود.

فرآورده‌های کیتوزان با خلوص بالا و ویژگیهای دقیق شیمیائی تعریف شده برای بازارهای داروسازی و لوازم آرایشی تولید می‌شوند. کیتوزان با قیمت بالا، ساخته شده از پوسته‌های میگو ویژگیهای مناسبی را نشان داده است که مثل تشکیل فیلم برای پشتیبانی از بالابردن نگهداری رطوبت در کرم (Creams) و افزودن نیروی ساختاری و الاستیستی به مو وقتی که به شامپو یا دیگر فرآورده‌های محافظت کننده از مو افزوده می‌شود(۵۶و۵۸). کاربردهای کیتوزان در داروسازی بسیار متنوع می‌باشد که شامل ضد انعقاد، ساخت غشاء در کلیه مصنوعی، تحریک کننده سیستم ایمنی، تولید نخ جراحی، عامل ضد تومور و برای انبوهش سلول‌ها می‌باشند(۵۵و۶۱،۶۰). قیمت کیتوزان براساس محدوده مصرف، خالص بودن و خواص کاربردی آن متفاوت است که بستگی به خلوص و ویژگیهای عملی دارد. در حالی که کیتوزان خام برای تصفیه پساب‌ها ممکن است قیمتی در حدود ۹۰ دلار در هر کیلوگرم داشته باشد در صورتی که گران‌ترین دارو ساخته شده از این مواد ممکن است ۷۰ دلار در گرم ارزش داشته باشد.

کلاژن مخصوصاً نوعI، به‌عنوان پروتئین ساختاری عمده در بافت‌های پیوندی جانوران مثل پوست، استخوان و تاندون مورد استفاده می‌باشد. این پروتئین به شکل Triple-Helical در ساختمان پروتئین وجود دارد. با

[1] - N-Acetyl Glucosa-Amine
[2] - Bifidobactera

استخراج بافت‌های پیوندی در محلول‌های قلیائی یا اسید ضعیف گرم، کلاژن محلول شده و تغییر ماهیت می‌دهد که باعث تولید فرآورده‌ای با ساختارهای مولکولی بالا بصورت رندم می‌شود که به نام ژلاتین است. وقتی که درجه حرارت ژلاتین به زیر حد معینی کاهش می‌یابد که بستگی به ترکیب شیمیائی خاص ژلاتین دارد، ژلاتین تشکیل ژل نرمی‌با ظرفیت نگهداری آب خیلی خوبی می‌دهد(۵۳). بیشتر ژلاتین از پوست خوک یا چرم بریده شده از دست گاو تولید می‌شوند و این چنین ژلاتین‌های بدست آمده از پستانداران در درجه حرارت اتاق جامد می‌باشند. به خاطر این خاصیت از آنها به‌عنوان تشکیل دهنده ژل در تعداد زیادی از فرآورده‌های غذایی مورد استفاده واقع می‌شوند. کل تولید جهانی ژلاتین چیزی حدود ۲۰۰ هزار تن در سال می‌باشد(۶۴).

اگر چه بیشتر ژلاتین به‌عنوان افزودنی غذایی مورد استفاده واقع می‌شود، اما تعدادی از کاربردهای فنی وجود دارند که شامل آماده کردن میکروکپسول‌های قابل تجزیه زیستی برای استفاده در داروسازی، پوشاندن کاغذ فتوگرافی و در آماده‌سازی ریزتراشه می‌باشد(۶۵). ژلاتین ساخته شده از پوست یا استخوان ماهی دارای نقطه ذوب زیر دمای اتاق می‌باشد(۶۷و۶۶). عمدتاً این خاصیت با کاربردهای تکنولوژیکی غذا سازگار نمی‌باشد، اما برای کپسول‌دار کردن مواد دارویی حساس به گرما و در پوشاندن کاغذ فتوگرافی خیلی مؤثر است. کاربرد اختصاصی دیگر برای ژلاتین ماهی این است که چون این ترکیب خاصیت حلالیت در آب را دارد به‌عنوان مقاوم به نور در لوله‌های تلویزیون استفاده می‌شود(۶۵).

۲-۴-۲۲- *پپتیدهای زیستی فعال*

بسیاری از عملکردهای بیولوژیکی به وسیله پپتیدهای فعال زیستی تنظیم می‌شوند. این چنین پپتیدها ممکن است برای انجام کار خاصی سنتز شوند اما ممکن است به صورت تصادفی طی هیدرولیز پروتئین آزاد شوند. افزودن این پپتیدها به پروتئین هیدرولیز شده فرآورده‌های جانبی ماهی بصورت کمکی که حاوی پپتیدهای فعال زیستی می‌باشند ممکن است باعث ارزش بیشتری برای غذاهای کاربردی زیستی انسانی و حیوانی را افزایش دهد. همچنین نشان داده شده است که پپتیدهای که دارای‌اندازه متوسط (۳-۱۰ کیلودالتون) در پروتئین هیدرولیز شده وجود دارند و از معده و سرماهی کاد تهیه شده‌اند رشد موش‌ها را در آزمایشگاهها تحریک می‌کنند در حالی که پپتیدهای خیلی کوچک در پروتئین هیدرولیز شده بدست آمده از ضایعات میگو و ساردین باعث تحریک نمودن تشرح‌ها در معده و پانکراس می‌گردند(۲۹). مقدار این فعالیت‌های زیستی در برد و غذاهای کاربردی

(Functional) برای انسان و هم برای جانوران بسیار ارزشمند می‌باشند نه تنها وابسته به ماده خام است بلکه بستگی به شرایط هیدرولیز نیز دارد(۶۹).

پپتیدهایی که از فعالیت آنزیم‌های تغییر دهنده I آنژیوتنسین[1] جلوگیری می‌کند دارای رابطه‌ای با غذاهای عمل‌گرا می‌باشد زیرا که گرفتن آنها از طریق دهان ممکن است فشار خون را کاهش دهد. همچنین نشان داده شده‌اند که پروتئین هیدرولیز شده امعا و احشا ماهی تن (Bonito) و پوست ماهی پولاک حاوی چنین پپتید هایی می‌باشد(۷۱،۷۰). محرک‌های ایمنی، سیستم پاسخ ایمنی غیر اختصاصی را فعال می‌کند و ارتباطی با غذاهای عمل‌گرا در انسان و حیوان دارند اما ممکن است در آبزی‌پروری برای افزایش مقاومت در مقابل بیماری‌ها در ماهی‌های جوان و میگو مؤثر باشد(۷۲). آزمایش نشان داده است که پپتیدهای کوچک حاصل از هیدرولیز معده ماهی کاد فعالیت لوکوسیت‌های آزادماهیان را تحریک می‌کند(۳۱). فعالیت‌های مشابه در مصرف پروتئین هیدرولیز شده حاصل از ضایعات میگو نیز دیده شده است(۷۳).

در حال حاضر علاقه رو به رشدی در زمینه تزریق پروتئین هیدورولیز شده از باقیمانده‌های فیله‌سازی و دیگر فرآورده‌های جانبی به فیله ماهی یا فرآورده‌های چرخ شده وجود دارد. این کار عمدتاً برای بهبود بازیافت و ظرفیت نگهداری آب انجام می‌شود. تأثیر جالب دیگر این عمل، این است که این پپتیدهای از اکسیداسیون چربی جلوگیری می‌کنند. پپتیدهای با خاصیت آنتی‌اکسیدانی هم در پروتئین هیدرولیز شده در هیدرولیز پروتئین میوفیبریلی ماهی ساردین و ژلاتین حاصل از پوست ماهی پولاک شناسایی شده است(۷۰و۳۰).

۳-۴-۲۲- ماهی و تریپسین‌های سخت‌پوستان

تریپسین‌ها مهمترین آنزیم موجود در جهاز هاضمه ماهی هستند مخصوصاً در مراحل جوانی قبل از اینکه هضم معده‌ای در شرایط اسیدی به صورت کامل تکامل یابد. کاربرد آنزیم‌های پانکراسی به‌عنوان یک کمک گوارشی در غذای لاروماهی مورد تحقیق و بررسی واقع شده است اما، بهرحال نتایج آن خیلی متغیر بوده و قابل اتکا نیست(۷۶و۷۵).

در ایسلند، تولید تجاری تریپسین از ماهی کاد آتلانتیک در مقیاس کوچک احداث شده است و محدودهٔ وسیعی از کاربردهای آن مورد بررسی واقع شده‌اند(۲۱). در سال ۱۹۹۶ کارخانه تولید آنزیمی‌با خلوص بالا (penzim) برای

[1] - Angiotensin I-Converting Enzymes

کاربردهای دارویی و لوازم آرایشی راه‌اندازی شده است. از این آنزیم در ساخت یک نوع پماد پوست جهت فراهم کردن تأثیرات مرطوب کنندگی و کاهش سوزش پوست استفاده شد.

بعضی از آنزیم‌های تریپتیک (Tryptic) استخراج شده از ضایعات سخت‌پوستان ممکن است که دارای کاربردهای پزشکی برای برداشتن بافت‌های پوستی صدمه دیده باشد. آنزیم شبیه کیموترپسین با فعالیت تجزیه کنندگی کلاژن از هپاتوپانکراس[1] شاه‌خرچنگ جدا شده است(۷۷). آزمایش روی خرگوش‌ها نشان داد که این آنزیم برای ترمیم زخم‌ها خیلی مؤثر است. نتایج مشابه با مخلوطی از آنزیم‌های تریپتیک استخراج شده از کریل قطب جنوب به دست آمده است. این فرمول اکنون برای تأیید و تصویب به‌عنوان یک فرآورده دارویی در حال آزمایش است(۷۹و۷۸).

۴-۴-۲۲- *روغن‌های دریائی؛ اسیدهای چرب یک و چند غیر اشباع*

اگرچه ترکیب روغن‌های دریائی بستگی به ماده خام دارد ولی مقدار بالای اسیدهای چرب غیر اشباع یک ویژگی معمول در آنها می‌باشد(۹). طی چندین دهه علاقه خاصی روی مقدار بالای اسیدهای چرب با طول زنجیره بلند مثل ۳- EPA n و DHA متمرکز شده است. تحقیق‌های پزشکی نشان داده‌اند که خوردن روغن با محتوی بالای این اسیدهای چرب ممکن است تأثیرات مؤثری روی سلامتی انسان داشته باشد، مخصوصاً در کاهش حساسیت نسبت به بیماری عروق کرونر قلب این اسیدهای چرب مؤثر می‌باشد(۸۰). اولین بار به وسیله بانگ و دیربرگ (Dyer Berg & Bang) (۱۹۷۹) که جیره غذایی اسکیموهای گرینلند را مطالعه می‌کردند و این مردم به بیماریهای قلبی بسیار کمی‌دچار می‌شدند پیشنهاد شد(۸۱). تحقیقات اخیر نشان داده است که خوردن زیاد اسیدهای چرب یک غیر اشباع بدست آمده از پستانداران دریائی ممکن است در حفاظت از بیماری کرونر قلب مؤثر باشد(۸۲). خوردن اسیدهای چرب چند غیر اشباع مخصوصاً دارای اهمیت حیاتی برای توسعه سیستم عصبی و مغزی می‌باشد. از این رو به‌نظر می‌رسد مکمل غذایی کامل این اسیدهای چرب غیراشباع در مراحل نوجوانی برای سلامتی و توانایی آموختن ضروری باشد(۸۳). غذای فرموله شده برای لاروماهی باید حاوی مقداری از فسفولیپیدهای چند غیر اشباع برای حمایت از رشد و بقا باشد(۸۴). تخمک ماهی، اسپرم، بافت چشم و مغز ماهی منابع سرشاری از این چنین چربی‌هایی می‌باشند.

---

[1] - Hepatophncrens

امروزه، تعدادی از شرکتها، کنستانتره‌های کپسول‌دار شده از اسیدهای چرب چند غیر اشباع را می‌سازند. این فرآورده‌های در سرتاسر جهان به‌عنوان مکمل‌های غذایی مهم به فروش می‌رسند و این تولیدها سود زیادی را برای این شرکت‌ها فراهم می‌سازند. در نروژ روغن کبد کاد خالص سازی شده به‌عنوان مکمل غذایی برای بیشتر از نیم قرن است که مورد استفاده واقع شده است و اخیراً قیمت این چنین فرآورده‌های در حدود ۱۳ دلار برای هر لیتر می‌باشد اما هنوز هم هرساله چند هزار تن از کبد ماهی کاد در دریا جزء ضایعات دور ریخته می‌شود.

۵-۲۲- آنزیم‌های مفید

در طول ۲۵ سال گذشته تلاش‌های زیادی برای امکان استفاده تجاری از آنزیم‌های حاصل از فرآورده‌های جانبی ماهی و آبزیان صدف‌دار صورت گرفته است. تحقیقات، طیف وسیعی از این امکانات را آشکار ساخته‌اند که محدوده آن از استفاده از بافت چرخ شده پانکراس ماهی برای رسیدگی فرآورده (استفاده آنزیم‌های پانکراسی جهت هضم بافت ماهی و مایع کردن آن که معروف به fish maturation است) تا کاربرد بیوتکنولوژیکی آماده‌سازی آنزیم‌های خالص شده بسیار اختصاصی می‌باشد. اگر چه تعداد کمی‌از این آنزیم و کاربرد آن‌ها به صورت تجاری در آمده است، اما تحقیق و توسعه در این بخش به دانش کلی انسان درباره ویژگیهای مخصوص به آنزیم‌های ماهی و آبزیان صدف‌داران به مقدار زیادی کمک کرده است. اطلاعات بیشتر در این زمینه در کتاب آنزیم‌های غذاهای دریائی (۲۰۰۰) نوشته هارد و سیمپسون داده شده است(۸۵).

بیشتر آنزیم‌های ماهی و آبزیان صدف‌دار بررسی شده دارای بخش‌های مشابه با پستانداران می‌باشند ، اما ویژگی‌های کلی در بین آنها وجود ندارد که بتوان براساس این ویژگی‌ها تمایزی بین آنزیم‌های ماهی از آنزیم-های پستانداران قائل شد اما، بهرحال، درجه حرارت پائین اغلب آبهای دریائی در ویژگی‌های درجه حرارتی که آنزیم‌های ماهی و آبزیان صدف‌دار قادر به فعالیت می‌باشند دیده می‌شود. در چندین آنزیم تجارتی مورد استفاده، در حقیقت این درجه حرارت پائین است که استفاده از این آنزیم‌ها را امکان پذیر ساخته است.

۱-۵-۲۲- *پپسین‌ها و تریپسین‌های ماهی*

پپسین آزاد ماهیان احتمالاً اولین آنزیم ماهی می‌باشد که برای اولین بار در اواخر دهه ۳۰ خالص سازی و ویژگی‌های آن مشخص شده‌اند(۸۶). از آن زمان به بعد تعداد زیادی از پپسین‌های ماهی مطالعه شده‌اند(۴۳). اگر چه ساختار مولکولی پپسین‌های ماهی و پستانداران کاملاً مشابه هستند(۸۶)، اما ویژگیهای شیمیائی آن مختلف می‌باشند. تفاوت‌های عمده در این می‌باشد که پپسین‌های ماهی در درجه حرارت پائین و شرایط کم اسید فعال

می‌باشند نسبت به آنزیم پپسین در پستانداران که مزیت حداقل در دو فرآیند تجاری در حال استفاده است: اولی در تولید خاویار که در بخش (۳-۳-۲۲) توضیح داده شده است و دومین کاربرد آن در فلس‌کنی آنزیمی‌می‌باشد. از طرفی بازار تجاری برای فیله‌های پوست‌کنی شده از گونه‌های خاص ماهی، مثل هیک و هد داک در حال حاضر وجود دارد. این گونه‌ها دارای بافت عضلانی بسیار نرمی‌می‌باشند که نسبت به فلس‌گیری بوسیله دستگاه مکانیکی فلس گیر بسیار صدمه‌پذیر می‌باشند. بعد از تیمار ماهی در پپسین در اسید ضعیف و دادن حرارت در درجه پائین فلس‌ها به آسانی به وسیله شستن با فشار آب برداشته می‌شوند. در نروژ این فرآیند در مقیاس صنعتی توسعه یافته است و ثابت شده که پپسین بدست آمده از ماهی کاد برای این فرآوری در مقیاس صنعتی خیلی مناسب می‌باشد(۸۱). طی روش مخصوصی برای فرآوری سیلاژ از معده ماهی کاد پپسینی تولید گردیده که برای تولید سیلاژ در مقیاس صنعتی مورد استفاده واقع می‌شود(۸۹).

یک توجه خاص در مورد تولید Kosher Enzyme برای استفاده در صنایع غذایی وجود دارد. یک مشکل اساسی پیدا نمودن یک جانشین برای Kosher بجای رنین (Rennet) استخراج شده از گوساله برای تولید در پنیرسازی می‌باشد. امکان استفاده از پپسین استخراج شده از چندگونه تابحال مورد آزمایش قرار گرفته است، اگرچه، چند نتیجه امیدوارکننده بدست آمده(۹۲و۹۰). اما هنوز پنیری که از این آنزیم‌ها در آن استفاده شده باشد گزارش نگردیده است.

تریپسین‌ها و کیموتریپسین‌ها از مهمترین عوامل در رساندن فرآورده‌های ماهی می‌باشند. معمولاً این آنزیم‌ها در ماده خام وجود دارند و دارای فعالیت کافی برای انجام این هدف می‌باشند اما تولیدکنندگان بخصوص ترجیح می‌دهند که روش‌های سریع تری را به کار گیرند که در این روش مقادیر خاصی از آنزیم‌ها را بکار گیرند. این دستورالعمل‌ها بصورت اسرار کار محافظت می‌شوند اما بخوبی شناخته شده که مقدارهای مختلفی از تریپسین-های ماهی برای این هدف مورد استفاده واقع شده‌اند. در تحقیقات ثبت شده (Patented)(۹۳)، ادعا شده است که فیله‌های شگ ماهیان را می‌توان به مدت ۵-۱ روز رسانده شود و این در صورتی است که روده‌های ماهی همگن شده را به صورت مستقیم به آب نمک مورد استفاده افزوده شود. در روش‌های سنتی برای رساندن شگ ماهیان سرزنی شده، زمان نگهداری ۷-۳ ماه است. تریپسین‌های ماهی برای هم‌چنین برای رساندن (Mantel) پوست اسکوئیدها مناسب می‌باشد(۹۴). همچنین در گزارش‌های دیگر آمده که تریپسین ماهی به‌عنوان یک کمک آنزیمی‌بسیار مؤثر در زمان استخراج کاروتنوپروتئین‌ها از ضایعات فرآوری میگو و همچنین به‌عنوان عامل هیدرولیز کننده در استخراج اسپرم از تن هوور مسقطعی مورد استفاده واقع شده است(۹۶و۹۵).

۲-۵-۲۲- فسفاتاز[1] و نوکلئوز[2] میگو

کارخانه‌های فرآوری برای میگوی شمالی (*pandalus borealis*) مواد خام را به صورت بلوک‌های منجمد شده دریافت می‌کنند. آب انجمادزدایی شده که در میگو منجمد شده بدست می آید و در درجه حرارت متوسط ($15C^{\circ}$) نگهداری می‌شود به‌عنوان منبع غنی از چندین آنزیم مورد توجه از نظر تجاری می‌باشد(۹۷). فسفاتاز قلیائی به صورت فراوانی در بیولوژی مولکولی به کار گرفته می‌شود و بصورت سنتی از روده گوساله استخراج و مورد استفاده واقع می‌شود. مشکل اصلی این آنزیم‌ها در این است که درجه حرارت‌های بالا برای غیرفعال کردن آن مورد نیاز است. فسفاتاز قلیائی به دست آمده از آب انجمادزدایی شده میگو در درجه حرارت‌های پائین خیلی فعال است و می‌توان آن را در درجه حرارت‌های پائین‌تری نسبت به آنزیم بدست آمده از گوساله غیرفعال نمود(۹۸). به خاطر همین ویژگی است که، این آنزیم در مقیاس تجاری تولید می‌شود و امروزه خالص این آنزیم که از آب ضایعات میگو جدا شده در بازار جهانی با قیمت بالایی فروخته می‌شود. اخیراً ژن این آنزیم جدا شده گردیده و قابلیت تولید تجاری این آنزیم بصورت بازساخت آن در حال ارزیابی است(۹۹). نوکلئوز با ویژگی اختصاصی زیاد که روی رشته دوگانه DNA عمل می‌کند ممکن است دومین آنزیم استخراج شده از آب ضایعات میگو باشد که برای اهداف تجاری مورد بازاریابی واقع گردد. یک روش برای استفاده از این آنزیم در انتقال فرآورده‌های بدست آمده در زمان DNA-Amplification (PCR-Reaction) ثبت (Patented) شده است(۱۰۰).

۳-۵-۲۲- لیزوزوم‌های[3] آبزیان صدف‌دار

لیزوزوم یک آنزیم ضدباکتری است که در بیشتر حیوانات وجود دارد. لیزوزوم در سفیده تخم مرغ، لیزوزومی‌است که بیشترین تحقیقات در مورد ویژگی‌های آن صورت گرفته است و ثابت شد که دارای فعالیت تجزیه‌کنندگی مخصوص برای دیواره سلولی باکتریهای گرم مثبت می‌باشد(۱۰۱). در لیزوزوم آبزیان صدف‌دار و آنزیم‌های شبیه لیزوزوم عامل ضروری در دفاع عمومی‌برعلیه باکتریهای بیماریزا می‌باشند(۱۰۳و۱۰۲). نگهداری زیستی به وسیله استفاده از چنین آنزیم‌هایی ممکن است گزینه‌ای مناسبی برای جانشین کردن آنها بجای نگهدارنده‌های شیمیائی باشد. کلامیزین (Chlamysin)، یک آنزیم مشابه لیزوزوم استخراج شده از امعا و احشا دو کفه‌ای دریائی به نام

---

[1] - Phosphatase
[2] - Nuclease
[3] - Lysozymes

Chlamys Islandica می‌باشد که دارای ویژگیهای جالبی می‌باشند که این ویژگی‌ها ممکن است تولید تجاری آن را ضمانت کند(۱۰۳). برخلاف لیزوزوم سفیده تخم کلامیزین به‌عنوان یک باز دارنده مؤثر برای باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد. این آنزیم در درجه حرارت‌های پائین فعال است و برخلاف اکثر آنزیم‌های از این نوع آنزیم‌های سازگار یافته به سرما دارای پایداری خیلی بیشتری حتی در درجه حرارت‌های بالا می‌باشد. ژن کلامیزین جدا شده و بازسازی‌های در حال بررسی است(۱۰۴).

۶-۲۲- پیش‌بینی برای آینده

همچنانکه در بخش مقدمه این فصل ذکر شد، افزایش صید آبزیان از دریاها در آینده افزایش نخواهند یافت. هر افزایش در مقدار برداشت آبزیان برای مصرف انسانی در نتیجهٔ افزایش تولید در آبزی‌پروری می‌باشد. اما بهرصورت در بخش فرآورده‌های جانبی هنوز پتانسیل زیادی برای بازیافت بهینه از صید ماهیان دریائی و آبزی-پروری وجود دارد.

به احتمال زیاد رشد مستمر در تولید آبزی‌پروری ادامه خواهد یافت. که در نتیجه تقاضا برای مواد خام با کیفیت مناسب برای غذای ماهی افزایش خواهد یافت. اگر چه فرآورده‌های گیاهی ممکن است برای این هدف مورد استفاده واقع شوند اما آشکار است که مواد خام دریائی و بخصوص روغن دریائی ممکن است حداقل فاکتوری محدود کننده برای آبزی‌پروری دریائی باشد. ارزش افزوده برای فرآورده‌های جانبی غنی از روغن برای تولید غذاهای مورد استفاده در آبزی‌پروری مورد انتظار است.

در نروژ قیمت فرآورده‌های جانبی از منابع دریائی و آبزی‌پروری و صید سه برابر بیشتر از ارزش این فرآورده در مقایسه با ۱۰ سال گذشته گردیده است و پیش‌بینی‌های خوش‌بینانه نشان می‌دهد که این افزایش قیمت ممکن است به بیش از ۵ برابر در طول ده سال آینده گردد(۶). اگر چه مقدار بیشتر فرآورده‌های جانبی برای تولید غذای حیوانی استفاده می‌شود، اما شواهد مبنی بر آن است که تولید مواد خام برای غذای انسان و فرآورده‌های ویژه دارای بیشترین پتانسیل برای ارزش افزوده می‌باشند. برای امکان ساختن این ایده، لازم و ضروری است که ما شرایطی را باید فراهم آوریم که براساس آن ما دیگر به فرآورده‌های جانبی به دید فرآورده جانبی نگاه نکنیم، بلکه بعنوان ماده اولیه برای مصرف انسانی در ساحل و روی عرشه باید برای دستیابی به این تقاضاها سازگار شوند. آموزش همه افراد در بخش صید برای به این مواد خام باید نگریسته شود. برای رسیدن به این هدف باید

در امکانات روی کشتی و خشکی تغییراتی ایجاد شود. از طرف دیگر باید تمام افراد مشغول در صید و صیادی و فرآوری در این زمینه آموزش‌های لازم داده شود.

وقتی که پرسنل و تسهیلات برای بازیافت همه ماده خام از بخش صید به خوبی سازماندهی شدند، بایستی که نهادهای ملی و بین‌المللی به وسیله فراهم کردن محدودیت‌هایی قانونی برعلیه به دور ریختن مواد خام در دریا یا دیگر مکانها باعث جلوگیری از دور ریختن آن و باعث استفاده بهینه از این مواد شوند. با تقاضای در حال رشد برای ماهی برای غذای انسان در نیمکره شرقی جهان با جمعیت زیاد مطمئناً به‌عنوان یک نیروی محرکی قوی برای رسیدن به این توسعه عمل خواهد کرد. نیاز و تمایل برای تبدیل ماده خام به غذاهای با ارزش زیاد یقیناً انگیزه‌ای برای تبدیل فرآورده‌های جانبی به فرآورده‌های باارزش فراهم خواهد کرد. بعضی از فرآورده‌های ویژه ممکن است به صورت ارزشمندی به این هدف کمک کند بخصوص زمانی که یک قسمت دز فرآورده ترکیبی از ماده خام با مواد دیگر با ویژگی‌های کاربردی مفیدی تشکیل شده باشد مثل پلیمرهای زیستی کیتوزان و ژلاتین. استفاده از روغن‌های دریائی در غذاهای عملگرا یکی دیگر از امکان‌های آماده برای تحقیقات و توسعه بیشتر در این زمینه می‌باشد.

از فرآورده‌های مورد توجه در این زمینه می‌توان از آنزیم‌ها و یا دیگر مولکول‌های فعال زیستی که معمولاً در فرآورده‌های ویژه جانبی به مقدار کم وجود دارند ممکن است حداقل بمدت کمی‌به سودآوری این فرآورده‌ها کمک نمایند. این احتمال وجود دارد که پس از معرفی به بازار، به صورت طبیعی و یا بصورت سنتز نمودن آنها از طریق روش Recombinant Technology بعد از چند سال ساخته خواهند شد. در این مرحله فرآورده‌های جانبی با آشکارشدن راز چگونگی دستیابی به آنها موارد استفاده‌شان زیاد گشته، اما نه دیگر بعنوان یک ماده خام.

۷-۲۲- منابع برای دسترسی به اطلاعات و راهنمائی‌های بیشتر

بدلیل روشن اطلاعات آماری مربوط به مقدار و ارزش فرآورده‌های جانبی و صید جابنی خیلی محدود می‌باشد. بهرصورت، براساس دانش بدست آمده و جمع شده امروزی درباره اجزاء شیمیائی و ترکیب خام انواع ماهی‌ها و مقدار قابل صید و آمار تولید می‌توان تخمین‌های نسبتاً درستی زده شود. فائو (FAO) معمولاً آمار دقیقی از مقدار صید دریایی و آبزی پروری در دنیا بدست می‌دهد و یکی از منابع ارزشمند برای اینگونه آمارها می‌باشد. با توجه به اجزاء شیمیائی و ترکیب خام انواع آبزیان و فرآورده‌های تولید از آنها، تعداد زیادی منابع باارزش وجود دارند، و ساده ترین راه دسترسی به اینگونه اطلاعات جستجو نمودن در دتابیس‌های عملی (Database for Scientific Publication) می‌باشد. کتاب‌ها و انتشارات کنگره‌ها هنوز منبع ذیقیمتی برای بدست آوردن

اطلاعات در زمینه‌های تحقیقی تر که اغلب مهم بوده و باعث کنجکاوی سازنده می‌گردد می‌باشند. حتی کتاب‌های قدیمی‌ممکن است در این زمینه اطلاعات اساسی را در دسترس در این حوزه قرار دهند. بعنوان نمونه The Chemical Biology of Fiskes که توسط Love در سال ۱۹۷۰ نوشته شده از آن جمله می‌باشد(۱۰۳).

در میان کتاب‌های نسبتاً جدیدتر در رابطه با بهره‌برداری و تولید فرآورده از صید ضمنی می‌توان کتاب‌های زیر را پیشنهاد نمود:

1. Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability, Editor: Voig T.M.N and Bott A.J.R, Technomic Publishing, Lancaster, 1990 (566P).
2. Making Profits out of Seafood Waste, Editor: Keller, S, Alaska Sea Grant. College Program, Anchorage, 1990(239 P.).
3. Fish and Fishery products, Editor: Ruiter A, CAB International, Wallingford, 1995 (387P).
4. Seafood Enzymes, Editors: Haad, N.F and Simpson, B.K, Marcel Dekker, NewYork, 2000 (681P).

۸-۲۲- منابع فصل بیست و سوم

RAA J and GILDBERG A, 'Fish silage: a review', *CRC Crit Rev Food Sci Nutr*, 1982, 16, 383–420.
ANON, *FAO Yearbook Fishery Statistics – Capture Production, Vol. 88/1*, Rome, FAO, 1999.
ANON, 'Issues of sustainable resource use and international fish trade', 7th session, *Committee on Fisheries, Sub-Committee on Fish Trade*, Bremen, FAO, 2000.
ANON, *FAO Yearbook Fishery Statistics – Aquaculture Production, Vol86/2*, Rome, FAO, 1998.
BRINK K and MOONEY H A, *Sustaining marine fisheries*, Committee on Ecosystem Management for Sustainable Marine Fisheries Ocean Studies Board. Commission on Geosciences, Environment, and Resources, National Research Council, Washington D.C., National Academy Press, 1999.
OLSEN S L, *From Waste to Income* (in Norwegian), Trondheim, RUBIN, 2000.
WYATT B and MCGOURTY G, 'Use of marine by-products on agricultural crops', int conf on *Fish By-Products*, Anchorage, Alaska Sea Grant Program, 1990, 187–95.
BRINTON W F, 'Composting seafood processing by-products: Solution for the 90s', int conf on *Fish By-Products*, Anchorage, Alaska Sea Grant Program, 1990, 183–6.
SCHMIDTSDORFF W, 'Fish meal and fish oil – not only by-products', in Ruiter A, *Fish and Fishery Products*, Wallingford, CAB International, 1995, 347–76.
ARASON S, 'Production of fish silage' in Martin A M, *Fisheries Processing: Biotechnological Applications*, London, Chapman & Hall, 1994, 244–72.
GILDBERG A and AKSE L, *Quality Demands in Utilisation of Fishery Byproducts – part 2 – Fish Silage* (in Norwegian), Norwegian Institute of Fisheries and Aquaculture, Tromsø, 1992.
RAA J, GILDBERG A and STRØM T, 'Silage production – theory and practice' in Ledward D A, Taylor A J and Lawrie R A, *Upgrading Waste for Feed and Food*, London, Butterworths, 1983, 117–32.
FAGBENRO O A and BELLO-OLUSOJI O A, 'Preparation, nutrient composition and digestibility of fermented shrimp head silage', *Food Chem*, 1997 60(4) 489–93.
DAPKEVICIUS M L E, BATISTA I, NOUT M J R, ROMBOUTS F M and HOUBEN J H, 'Lipid and protein changes during the ensilage of blue whiting (*Micromesistius poutassou* Risso) by acid and biological methods', *Food Chem*, 1998 63(1) 97–102.
STRØM T and EGGUM B O, 'Nutritional value of fish viscera silage', *J Sci*

Food Agric, 1981 32 115–20.
RAMSØY D E, *Byproducts from Salmon*, Thesis (in Norwegian), Norwegian College of Fisheries, Tromsø, 2000.
AKSE L, JOENSON S, EILERTSEN G and BARSTAD H, *Utilisation of Byproduct from Fish Landed Uneviscerated*, Project rep (in Norwegian), Norwegian Institute of Fisheries and Aquaculture, Tromsø, 2001.
GILDBERG A, 'Enzymic processing of marine raw materials', *Process Biochem*, 1993 28 1–15.
BEYNON R J and BOND J S, *Proteolytic Enzymes – a Practical Approach*, Oxford, IRL Press, 1989.
BARRETT A J, 'Lysosomal and related proteinases', in Reich E, Rifkin D B and Shaw E, *Proteases and Biological Control*, New York, Cold Spring Harbour Lab, 1975, 467–82.
STEFANSSON G and STEINGRIMSDO´ TTIR U, 'Application of enzymes for fish processing in Iceland – present and future aspects', in Voigt M N and Botta J R, *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability*, Lancaster, Technomic Publ Comp, 1990, 237–50.
NILSEN K, VIANA M T and RAA J, 'Biotechnology in squid processing: removing skins enzymatically', *Infofish Internat*, 1989(2) 27–8.
GILDBERG A and SVENNING R, 'Method and equipment for removal of connective tissue membranes and parasites from fish liver', Norwegian patent no 951873 (in Norwegian), 1995.
HAARD N F, 'Specialty enzymes from marine organisms', *Food Technol*, 52(7) 64–7.
RAA J, 'Biotechnology in aquaculture and fish processing industry: a success story in Norway', in Voigt M N and Botta J R, *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability*, Lancaster, Technomic Publ Comp, 1990, 509–24.
HAARD N F and SIMPSON B K, 'Proteases from aquatic organisms and their uses in the seafood industry', in Martin A M, *Fisheries Processing: Biotechnological Applications*, London, Chapman & Hall, 1994, 132–54.
SAISITHI P, 'Traditional fermented fish: fish sauce production', in Martin A M, *Fisheries Processing: Biotechnological Application*, London, Chapman & Hall, 1994, 110–31.
IN T, 'Seafood flavourants produced by enzymatic hydrolysis', in Voigt M N and Botta J R, *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability*, Lancaster, Technomic Publ Comp, 1990, 425–36.
CANCRE I, RAVALLEC R, VAN WORMHOUDT A, STENBERG E, GILDBERG A and LE GAL Y, 'Secretagogues and growth factors in fish and crustacean protein hydrolysates', *Marine Biotechnol*, 1999 1 489–94.
HATATE H, NUMATA Y and KO˜ CHI M, 'Synergistic effect of sardine myofibril protein hydrolyzates with antioxidants', *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1990 56(6) 1011.

GILDBERG A, BØGWALD J, JOHANSEN A and STENBERG E, 'Isolation of acid peptide fractions from fish protein hydrolysate with strong stimulatoryeffect on Atlantic salmon *(Salmo salar)* head kidney leucocytes', *Com Biochem PHysiol*, 1996 114B 97–101.
BØGWALD J, DALMO R A, LEIFSON R M, STENBERG E and GILDBERG A, 'The stimulatory effect of a muscle protein hydrolysate from Atlantic cod, *Gadus morhua* L., head kidney leucocytes', *Fish & Shellfish Immunol*, 1996 6 3–16.
CORCORAN T H, 'Roman fish sauce', *Classical J*, 1963 58(5) 204–10.
AMANO K, 'The influence of fermentation on the nutritive value of fish with special reference to fermented fish products of South-East Asia', in Heen E and Kreuzer R, *Fish in Nutrition*, London, Fishing News Books, 1962, 180–97.
BEDDOWS C G and ARDESHIR A G, 'The production of soluble fish protein solution for use in fish sauce manufacture. I. The use of added enzymes', *J Food Technol*, 1979 14 603–12.
RAKSAKULTHAI N, LEE Y Z and HAARD N F, 'Effect of enzyme supplements on the production of fish sauce from male capelin *(Mallotus villosus)*, *Ca Inst Food Sci Technol J*, 1986 19(1) 28–33.
GILDBERG A, 'Utilisation of male Arctic capelin and Atlantic cod intestines for fish sauce production – evaluation of fermentation conditions', *Bioresource Technol*, 2001 76 119–23.
MABESA R C, CARPIO E V and MABESA L B, 'An accelerated process for fish sauce (patis) production', in Reilly P J A, Parry R W H and Barile L E, *Post-Harvest Technology, Preservation and Quality of Fish in Southeast Asia*, Manila, Echanis Press, 1990, 45–9.
BEDDOWS C G and ARDESHIR A G, 'The production of soluble fish protein solution for use in fish sauce manufacture. II The use of acids at ambient temperature', *J Food Technol*, 1979 14 613–23.
GILDBERG A, HERMES J E and OREJANA F M, 'Acceleration of autolysis during fish sauce fermentation by adding acid and reducing the salt content', *J Sci Food Agric*, 1984 35 1363–9.
GILDBERG A and THONGTHAI C, 'The effect of reduced salt content and addition of halopHilic lactic acid bacteria on quality and composition of fish sauce made from sprat', *J Aquatic Food Product Technol*, 2001 10(1) 77–88.
RAKSAKULTHAI N and HAARD N F, 'Fish sauce from capelin *(Mallotus villosus)*: contribution of cathepsin C to the fermentation', *ASEAN Food J*, 1992 7(3) 147–51.
GILDBERG A, 'Aspartic proteinases in fishes and aquatic invertebrates', *Comp Biochem PHysiol*, 1988 91B(3) 425–35.
KROGDAHL A° , 'Fish silage as a protein source for poultry. I. Experiments with layer-type chicks and hens', *Acta Agric Scand*, 1985 35 3–23.
BALOGUN A M, FASAKIN E A and OWOLANKE D, 'Evaluation of fish silage/ soybean meal blends as protein feedstuff for *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) fingerlings', *J Appl Anim Res*, 1997 11 129–36.
LOPEZ C S, 'Microbial ensilage of trash fish for animal feeds', in Reilly P J

A, Parry R W H and Barile L E, *Post-Harvest Technology, Preservation and Quality of Fish in Southeast Asia*, Manila, Echanis Press, 1990, 189–92.
ZUBERI R, FATIMA R, SHAMSHAD S I and QUADRI R B, 'Preparation of fish silage by microbial fermentation', *FAO Fish Rep*, 1992 No 470 Suppl 155–61.
BELLO R, CARDILLO E and MARTINEZ R, 'Estudio sobre la elaboracio´n de ensilado microbiano a partir de pescado eviscerado', *Arch Latinoameric de Nutr*, 1993 43(3) 221–7.
NOEL H S, 'By-catches for protein', *World Fishing*, 1974 March 77.
KRISTINSSON H G and RASCO B A, 'Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties', *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2000 40(1) 43–81.
SUGIYAMA K, EGAWA M, ONZUKA H and OBA K, 'Characteristics of sardine muscle hydrolysates prepared by various enzymic treatments', *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1991 57(3) 475–9.
ALMA° S K A, 'Utilization of marine biomass for production of microbial growth media and biochemicals' in Voigt M N and Botta J R, *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability*, Lancaster, Technomic Publ Comp, 1990, 361–72.
GOLDHOR S H, CURREN R A, SOLSTAD O, LEVIN R E and NICHOLS D, 'Hydrolysis and fermentation of fishery by-products: costs and benefits of some processing variables', int conf on *Fish By-Products*, Anchorage, Alaska Sea Grant College Program, 1990, 203–8.
UCHIDA Y, HUKUHARA H, SHIRAKAWA Y and SHOJI Y, 'Bio-fish flour', int conf on *Fish By-Products*, Anchorage, Alaska Sea Grant College Program, 1990, 95–9.
SIMPSON B K, GAGNE N and SIMPSON M V, 'Bioprocessing of chitin andchitosan', in Martin A M, *Fisheries Processing: Biotechnologica Applications*, London, Chapman & Hall, 1994, 155–73.
STRØM T and RAA J, 'Marine biotechnology in Norway', *J Mar Biotechnol*, 1993 1 3–7.
SKAUGERUD Ø and SARGENT G, 'Chitin and chitosan: crustacean biopolymers with potential', int conf on *Fish By-Products*, Anchorage, Alaska Sea Grant College Program, 1990, 61–9.
WACHTER R and STENBERG E, 'HYDAGEN CMF in cosmetic applications. Efficacy in different *in-vitro* and *in-vivo* measurements', *Adv Chitin Sci*, 1996 1 381–8.
HO¨ RNER V, PITTERMANN W and WACHTER R, 'Efficiency of high molecular weight chitosan in skin care application', in Domard A, Roberts G A F and Va°rum K M, *Advances in Chitin Science Vol II*, Lyon, Jacques Andre´ Publ, 1997, 671–7.
GORBACH V I, KRASIKOVA I N, LUKYANOV P A, LOENKO Y N, SOLOVEVA T F, OVODOV Y S, DEEV V V and PIMENOV A A, 'New glycolipids(chitooligosaccharide derivatives) posessing immunostimulating and antitumor avtivities', *Carbohydr Res*, 1994 260(1) 73–82.
HOFFMAN J, JOHANSEN A, STEIRO K, GILDBERG A, STENBERG A and BØGWALD J, 'Chitooligosaccharides stimulate Atlantic salmon *Salmo salar* L., head kidney leukocytes to enhanced superoxide anion production

in vitro', *Comp Biochem PHysiol*, 1997 118B 105–15.
SIMPSON B K, AWAFO V and RAMASWAMY H, 'Biotechnological approaches for the production of value added substances from by-products of seafood harvesting', in *4th International Food Convention – Proc Tech Sess*, Mysore, Jwalamukhi Job Press, 1999, 151–7.
BABEL W, 'Gelatine a versatile biopolymer', *Chemie in unserer Zeit*, 1998(06), information from Deutsche Gelatine-Fabriken Stoess AG, 1–
CHOI S S and REGENSTEIN JM, 'PHysicochemical and sensory characteristics of fish gelatin', *J Food Sci*, 2000 65(2) 194–9.
DE CLERCQ M, 'PHotograpHic gelatin production', *J Imag Sci Technol*, 1995 39(4) 367–72.
GUDMUNDSSON M and HAFSTEINSSON H, 'Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments', *J Food Sci*, 1997 62(1) 37–39(47).
ARNESEN J A and GILDBERG A, 'Preparation and characterisation of gelatine from the skin of harp seal *(PHoca groendlandica), Bioresource Technol*, 2002, 82 191–4.
NORLAND R E, 'Fish gelatin', in Voigt M N and Botta J R, *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability*, Lancaster, Technomic Publ Comp, 1990, 325–33.
RAVALLEC-PLE R, GILMARTIN L, VAN WOURMHOUDT A and LE GAL Y, 'Influence of the hydrolysis process on the biological activities of the protein hydrolysates from cod *(Gadus morhua). J Sci Food Agric*, 2000 80(15) 2176–80.
MATSUMURA N, FUJII M, YASUHIKO T, SUGITA K and SHIMIZU T, 'Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from bonito bowels autolysate' *Biosci Biotech Biochem*, 1993 57(5) 695–7.
BYUN H G and KIM S K, 'Purification and characterization of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from Alaska pollack *(Theragra chalcogramma)* skin, *Process Biochem*, 2001 36 1155–62.
RAA J, 'The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming', *Rev Fish Sci*, 1996 4(3) 229–88.
GILDBERG A and STENBERG E, 'A new process for advanced utilisation of shrimp waste', *Process Biochem*, 2001 36 809–12.
KIM S K, KIM Y T, BYUN H G, NAM K S, JOO D S and SHAHIDI F, 'Isolation and characterization of antioxidative peptides from gelatin hydrolysate of Alaska pollack skin', *J Agric Food Chem*, 2001 49 1984–9.
(Dicentrarchus labrax) larvae, *Aquaculture*, 1997 148 313–22.
KOLKOVSKI S, 'Digestive enzymes in fish larvae and juveniles – implications and applications to formulated diets', *Aquaculture*, 2001 200(1–2) 181–201.
SAKHAROV I Y, GLYANZEV S P, LITVIN F E and SAVVINA T V, 'Potent debriding ability of collagenolytic protease isolated from the hepatopancreas of the king crab *Paralithodes camtschatica*, *Arch Dermatol Res*, 1993 285 32–5.

HELLGREN L, KARLSTAM B, MOHR V and VINCENT J, 'Krill enzymes – a new concept for efficient debridement of necrotic ulcers', *Internat J Dermatol*, 1991 30(2) 102–3.
MEKKES J R, LE POOLE I C, DAS P K, BOS J D and WESTERHOF W, 'Efficient debridment of necrotic wounds using proteolytic enzymes derived from Antarctic krill: a double blind, placebo-controlled study in standardized animal wound model', *Wound Rep Regeneration*, 1998 6(1) 50–7.
BARLOW S M, YOUNG F V K and DUTHIE I F, 'Nutritional recommendations for n-3 polyunsaturated fatty-acids and the challenge to the food-industry', *Proc Nutr Soc*, 1990 49(1) 13–21.
DYERBERG J and BANG H O, 'Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos', *Lancet*, 1979 2 433–5.
ELVEVOLL E O, MOEN P, OLSEN R L and BROX J, 'Some possible effects of dietary monounsaturated fatty acids on cardiovascular disease', *Atheriosclerosis*, 1990 81 71–4.
ELVEVOLL E O and JAMES D, 'The emerging importance of dietary lipids, quantity and quality, in the global disease burden: the potential of aquatic resources', *Nutr Health*, 2000 15 7–19.
TOCHER D R, MOURENTE G and SARGENT J R, 'The use of silages prepared from fish neural tissues as enrichers for rotifers *(Brachionus plicatilis)* and *Artemia* in the nutrition of larval marine fish', *Aquaculture*, 1997 148, 213–31.
HAARD N F and SIMPSON B K, *Seafood Enzymes*, New York, Marcel Dekker, 2000.
NORRIS E R and ELAM D W, 'Preparation and properties of crystalline salmon pepsin', *J Biol Chem*, 1940 134 443–54.
KARLSEN S, HOUGH E and OLSEN R L, 'Structure and proposed amino-acid sequence of pepsin from Atlantic cod *(Gadus morhua)*, *Acta Cryst*, 1998 D54 32–46.
SVENNING R, STENBERG E, GILDBERG A and NILSEN K, 'Biotechnological descaling of fish', *Infofish Internat*, 1993 (6) 30–1.
GILDBERG A, 'Recovery of proteinases and protein hydrolysates from fish viscera', *Bioresource Technol*, 1992 39 271—6.
TAVARES J F, 'Recovery of milk coagulating enzymes from tuna waste', in Hollo´ J, *Food Industries and Environment*, Amsterdam, Elsevier, 1984, 265–75.
HAARD N F, 'Atlantic cod gastric protease. Characterization with casein and milk substrate and influence of sepHarose immobilization on salt activation, temperature characteristics and milk clotting reaction', *J Food Sci*, 1986 51(2) 313–6(326).
GUERARD F and LE GAL Y, 'Dogfish pepsin as a rennet substitute', in Miyachi S, Karube I and Ishida Y, *Current Topics in Marine Biotechnology*, Tokyo, Fuji Technol Press, 1989, 357–60.
OPSHAUG K, 'Procedure for rapid enzymatic ripening of herring' Norwegian patent no 148207 (in Norwegian), 1983.
SIMPSON B K and HAARD N F, 'Trypsin from Greenland cod as a foodprocessing aid', *J Appl Biochem*, 1984 6 135–43.

LOPEZ A C, SIMPSON B K and HAARD N F, 'Extraction of carotenoprotein from shrimp process wastes with the aid of trypsin from Atlantic cod', *Food Sci*, 1987 52(2) 503–4(506).
MURATA Y, HAYASHI T, WATANABE E and TOYAMA K, 'Preparation of skipjack spermary extract by enzymolysis', *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1991 57(6) 1127–32.
OLSEN R L, JOHANSEN A and MYRNES B, 'Recovery of enzymes from shrimp waste, *Process Biochem*, 1990 25(2) 67–8.
OLSEN R L, ØVERBØ K and MYRNES B, 'Alkaline pHospHatase from the hepatopancreas of shrimp *(Pandalus borealis)*: a dimeric enzyme with catalytic active subunits. *Comp Biochem PHysiol*, 1991 99B(4) 755–61.
NILSEN I W, ØVERBØ, K and OLSEN R L, 'Thermolabile alkaline pHospHatase from northern shrimp *(Pandalus borealis)*: protein and cDNA sequence analyses', *Comp Biochem PHysiol*, 2001 129B 853–61.
NILSEN I W, SANDSDALEN E and STENBERG E, 'A method of removing nucleic acid contamination in amplification reactions. International patent application no. WO 99/07887, 1997.
PRAGER E M and JOLLE`S P, 'Animal lysozymes c and g: an overview', in Jolle`s P, *Lysozymes: Model Enzymes in Biochemistry and Biology*, Basel, Birkha¨user Verlag, 1996, 9–31.
ITO Y, YOSHIKAWA A, HOTANI T, FUKUDA S, SUGIMURA K and IMOTO T, 'Amino acid sequences of lysozymes newly purified from invertebrates imply wide distribution of a novel class in the lysozyme family, *Eur J Biochem*, 1999 259 456–61.
NILSEN I W, ØVERBØ K, SANDSDALEN E, SANDAKER E, SLETTEN K and MYRNES B, 'Protein purification and gene isolation of chlamysin, a cold active lysozyme-like enzyme with antibacterial activity', *FEBS Lett*, 1999 464 153–8.
104 NILSEN I W and MYRNES B, 'The gene of chlamysin, a marine invertebratetype lysozyme, is organized similar to vertebrate but different from invertebrate chicken-type lysozyme genes', *Gene*, 2001 269 27–32.
LOVE R M, *The Chemical Biology of Fishes*, London, Academic Press, 1970.

«فصل بیست و سوم»

شناسایی گونه در غذاهای دریایی فرآوری شده

۱-۲۳- مقدمه: اهمیت شناسایی گونه

در چند دهه قبل بیشتر کشورهای اروپایی، غذاهای دریایی مصرفی‌شان را از ماهی‌های صید شده در آب‌های نزدیک به آن که توسط کشتی‌های صیادی متعلق به هر کشور در مناطق صید مربوطه که بطور مستقل صید می‌شد تأمین می‌کردند. این وضع باعث می‌شد که فقط از چندگونه مشخص ماهی که برای تمام افراد دست‌اندرکار در زنجیره صید از صیاد تا مصرف کننده شناخته شده بودند مورد صید و مصرف قرار گیرند. بیشتر ماهی صید شده تخلیه شده در ساحل، بصورت کامل بودند و حتی سر و دم و امعاء و احشاء آنها زده و تخلیه نشده بود. بدین ترتیب تک تک ماهی‌های صید شده به آسانی بعلت وجود تمام شناسه‌های مورفولوژیکی برای تمام افراد قابل شناسائی بودند.

از آن زمان تاکنون وضعیت صید توسط تغییر در تعدادی از فاکتورها تغییر اساسی نموده است. اولین فاکتور توسعه کشتی‌های ماهیگیری با توانایی سفر به تمام آبهای موجود در جهان برای صید و حمل و نقل ماهی می‌باشند. دومین فاکتور پیشرفت، پیشرفت چشم‌گیر در فرآوری و درجه بندی ماهی هم در دریا و هم در خشکی می‌باشد. فاکتور دیگر بوجود آمدن صنعت ماهیگیری نوین در بعضی از کشورهای در حال توسعه مثل آمریکای جنوبی، آفریقا و آسیایی می‌باشند که تا چند سال قبل فقط قادر به صید در آبهای ساحلی با استفاده از صیادان و لنج و یا قایق‌های سنتی برای تأمین ماهی بازارهای سنتی ساحلی بودند. افزایش و توسعه ارتباطات هوائی، خشکی و دریائی و جهانی شدن بازار، باعث استفاده از گونه‌های بیشتر در هر دو زمینه ماهی تازه و ماهی فرآوری شده در بازار مصرف گردید.

برای نمونه هیک اروپائی (*Merluccius merluccius*) ماهی باارزش زیاد می‌باشد و به عنوان گونه ماهی سفید در اروپای جنوبی بسیار خریدار دارد و این گونه خانواده روغن ماهیان (Gadiformes) تعلق دارد. در چند سال قبل همه ماهی‌های هیک معرف شده در اروپا در آبهای ساحلی در اروپا صید می‌شدند و متعلق به گونه (*Merluccius merluccius*) بودند. امروز بازارهای ماهی اروپا از ماهی هیکی که بصورت تازه و یا منجمد است تأمین می‌شود. این ماهی هیک از کشورهایی مثل آرژانتین و شیلی (M.hubsi, & M.geyi) یا آفریقای جنوبی (M.*Capenis* & M.*Productus*) همراه با دیگر فرآورده‌ها که به آنها مارک هیک زده شده، مثل ماهی انگشت قدی (Fish finger) و یا فیله هیک که از گونه‌های ارزان تر مثل (*Macruronus*.SPP) تولید شده‌اند و به اسم ماهی هیک و یا فرآورده تولیدی از آن به بازار اروپا با سایر کشورها عرضه می‌گردند.

مصرف روبه رشد گونه‌های جدید با افزایش مستمرل صید همراه شده است. آمار FAO (۲۰۰۰) نشان می‌دهد که صید واقعی جهانی واقعی (آمار سال ۱۹۹۸) در حدود ۹۰ میلیون تن در هر سال بوده است، و کل صید از سال ۱۹۵۰ تا ۱۹۹۰ پنج برابر افزایش یافته است، که همچنین به موازات آن صید تعداد گونه‌های دارای ارزش تجاری افزایش یافته است. مصرف ماهی با همان سرعت قبلی ادامه یافته است که این میزان مصرف از ۴۰ میلیون تن در سال ۱۹۷۰ به ۸۶ میلیون تن در سال ۱۹۹۸ رسیده است، که افزایش رشد ۳۱ درصدی در مصرف ماهی بین سالهای ۱۹۹۰ تا ۱۹۹۷ می‌باشد. اما، در هم زمان کاهش در صید بیشتر گونه‌ها ارزشمند مثل کاد، سل یا هیک اروپایی عمدتاً به‌خاطر بهره‌برداری بیش از حد ذخایر این ماهی‌ها گزارش شده است. این بدان معنی است که این گونه‌ها به وسیله گونه‌های دیگری جایگزینی شده‌اند.

فاکتورهای مذکور فوق نقش اساسی را در افزایش عرضه ماهی در سرتاسر اروپا بازی کرده‌اند بخصوص از گونه-های جدید نه از گونه‌های سنتی در اروپا عادت‌های مصرف غذا باعث ایجاد تغییرات مهمی‌شده است و نسبت بیشتری از فرآورده‌های دریائی به مصرف غذاهای آماده شده می‌رسد که در به گذشته درکشورهای توسعه یافت تولید می‌گردند. این غذاها از ماهی فرآوری شده در کشورهای اروپائی و در کشورهای جهان سوم گونه‌های اروپائی و یا گونه‌هایی که به‌طور کلی برای مصرف کنندگان اروپائی که بطور کامل ناشناخته است می‌تواند تولید شود. از آنجائیکه فرآوری ماهی باعث از بین رفتن بخش‌های مهمی‌از ویژگی‌های مرفولوژیکی آن می‌شود، لذا تشخیص گونه دیگر ممکن نیست بنابراین ضروری است که روش دیگری برای شناسایی گونه‌ها به کار گیریم.

بطور مسلم قیمت هرگونه ماهی یا فرآورده‌های تولید شده از آن تحت تأثیر چندین فاکتور مثل کیفیت طبیعی فرآورده، پذیرش مصرف کننده (از کشوری به کشور دیگر متغیر است) فراوانی یا کمبود منابع آبزی و غیره می-

باشد. در هر صورت و هر مورد به خریداران باید دربارهٔ فرآورده اطلاعات کافی داده شود تا آنها بتوانند فرآورده را براساس اطلاعات دقیق و قابل اتکا خریداری کنند. این مسئله از طرفی به کارخانه‌های فرآوری کننده ماهی نیز مربوط می‌شود چون آن‌ها به صورت روزانه با مواد خام (با قیمتهای مختلف که بستگی به گونه و کیفیت آن دارد) خریداری شده تکیه دارد و بعنوان ماده اولیه برای تولید فرآورده روبرو هستند و از طرفی برچسب زدن با اطلاعات صحیح بر روی فرآورده‌های تولیدیشان می‌باشند. بنابراین آنها نیاز دارند تا بداند که ماهی خریداری شده دارای چه ویژگی‌ها و از چه گونه‌ای می‌باشند.

در طول دهه اخیر ، اتحادیه اروپا دستوراتی برای برچسب زدن به مواد غذائی داده که شامل ماهی و فرآورده‌های آن می‌باشد و حاوی اطلاعاتی می‌باشند که باید روی برچسب نوشته و روی فرآورده چسبانده شوند. اطلاعات خواسته شده درباره ویژگی‌های فرآورده توسط قانون گذاران که بایستی بر روی برچسب آورده شوند در مقایسه با قبل خیلی دقیق‌تر و سخت گیرانه‌تر می‌باشد. لذا به منظور کنترل و تطابق این اطلاعات خواسته شد قوانین، نهاد کنترل کننده باید ابزار کافی را برای تأئید صحت گونه‌های ذکر شده روی برچسب همراه با دیگر خواسته‌های مورد درخواست طبق قانون را در اختیار داشته باشد.

۲-۲۳- مشکل شناسایی گونه در فرآورده‌های دریائی

جایگزینی گونه‌های دارای قیمت بالا با گونه‌هایی که توسط مصرف کنندگان بیشتر مورد توجه هستند به وسیله گونه‌هایی که دارای ارزش تجاری کمتری می‌باشند یک مشکلی قدیمی‌می‌باشد و باید ذکر شود که این رفتار فریب دادن و تقلب انعکاسی از شرایط انسان می‌باشد (Dennis & Ashurst,1996). اما بهرحال، امروزه گونه های بیشتری در حال فرآوری شدن هستند که این امر باعث شده است تا شناسایی گونه‌ها مشکل شود و فرصت بیشتر و بهتری فراهم آید تا با تقلب و فریب کاری گونه‌های دیگر به جای گونه اصلی ذکر شده روی برچسب فرآورده جایگزین شوند.

شناسایی گونه ماهی خاص بستگی به تشخیص تعدادی از ویژگیهای مورفولوژیکی رده بندی مثل طرح پوست، شکل بدن واندازهٔ آن، شکل و تعداد باله‌ها، چشم‌ها یا حتی ارگانهای داخلی دارد. حتی وقتی که تمام ویژگیهای مورفولوژیکی سالم هستند ، شناسایی گونه‌های خیلی شبیه به هم بسیار مشکل است و فقط کارشناس متخصص و مسلط به اصول رده بندی می‌تواند آن را به درستی شناسایی کند. وقتی که این شاخص‌های مورفولوژیکی از

بین می‌روند (مثل ماهی فرآوری شده سرزده شده، شکم خالی شده، پوست گرفته و فیله شده، و یا بصورت کلی تغییر یافته مثل (دودی شده، پخته و کنسرو گردیده) شناسایی گونه خیلی مشکل و حتی گاهی غیر ممکن است. بخاطر این، به نظر می‌رسد که نیازی برای جانشین کردن روش‌های دیگر شناسایی برای گونه‌ها وجود دارد.

ماهی کاد آتلانتیک (*Gadus Morhua*) به‌عنوان یک ماهی با ارزش از قبل از قرون وسطا تابحال شناخته شده می‌باشد و مثال مناسبی از ماهی‌های با ارزش می‌باشد که در حال حاضر، کاهش ذخایر آن به‌عنوان مشکل اساسی مطرح می‌باشد. ماهی کاد آتلانتیک بیش از حد صید شده است و ذخائر آن به صورت زیادی کاهش یافته است. اما بهرصورت، تعداد فرآورده‌ها که در بازار به‌عنوان ماهی کاد عرضه و برچسب زده می‌شوند علیرغم کاهش ذخائر آن در حال افزایش می‌باشد. براساس تجربه ما، گونه‌های دیگر از ر وغن ماهیان (Gadoid) بعنوان ماهی کاد برای تولید فرآورده مورد استفاده قرار می‌گیرند و براین فرآورده برچسب حاوی ماهی کاد زده می‌شود.

راسته کفشک ماهیان (*Pleuronectiformes*) یا ماهی پهن (*Flat Fish*)، دارای تعداد زیادی گونه می‌باشد. سل (*Solea solea*)، توربوت (*Scophthalmus maximus*)، یا پلایس اروپائی (*Pleuronectes Platessa*). گونه‌هایی هستند که بصورت وسیعی در اروپا شناخته شده‌اند و دارای خریداران زیادی می‌باشند. فرآورده‌های با برچسب برای اینگونه ماهی‌ها را می‌توان در بازارهای اروپایی مشاهده نمود، که حاوی دیگر گونه‌های با قیمت ارزان تر می‌باشند و در بهترین حالت حاوی ماهی از گونه ماهی‌های پهن از فامیلی با ارزش کمتر از نظر تجاری می‌باشند.

ماهی تن (Tuna) به عنوان یک گونه مهاجر می‌باشد که در سراسر دنیا دارای بازار جهانی و مشتریان بی‌شمار می‌باشد. ارزش تجارتی این گروه از ماهی‌ها خیلی بالا است و در بیشتر نقاط جهان این گونه دارای ارزش متفاوتی می باشد. اتحادیه اروپا قوانینی در ارتباط با صدور برچسب برای گونه هایی مثل اکباکرو (*Thunnus alalunga*) Albacroe و زردباله Yellowfin (T.*albacares*) صادر نموده. اما بهرحال این گونه‌ها ممکن است با گونه‌های ارزان تر از ماهی‌های تونا، مثل توناچشم درشت (T.*obesus*) و یا هوور مسقطی Skipjack (*Katsuwonus Pelamis*) جایگزین شوند.

در نهایت گونه‌های حفاظت شده، مثل ماهی‌های خاویاری (Sturgeons) و یا وال‌ها (Whales)، ممکن است به صورت غیر قانونی در بازارهای غذایی برای فروش ارائه شوند. بنابراین اگر شناسائی گونه‌ها براساس

ویژگی‌های موفولوژیکی باشد، تشخیص گونه و تقلب در مورد جابجائی گونه‌ها بسیار مشکل است کـه بـه ثبـوت رسانده شود (Baker & Palumbi,1994 ; De Salle & Birstein,1996)

۳-۲۳- استفاده از مولکول‌های زیستی به‌عنوان نشانگرهای گونه‌ای

ضرورت طبقه بندی جانوران از زمانهای خیلی دور حمایت شده است و به‌عنوان علم رده بندی از چهـارمین قـرن قبل از میلاد (BC) با طبقه بندی آرسیتوتل (Aristotle's) در زمینه ارگانیسم‌های زنده مورد توجه واقع شـده است(Gosling,1994). مفهوم اینکه گونه از چه تشکیل شده در طـول زمـان تغییـر کـرده اسـت، و بیشـترین تعریفی که در مراجع ذکر می‌شود تعریف مایر (May's) در سال ۱۹۷۰ است که مفهوم جداسازی گونه‌ای بیـان می‌دارد که «گونه گروهی از جمعیت‌های طبیعی که دارای تولید مثل داخلی می‌باشند و از طریـق تولیـد مثـل از دیگر گونه‌ها جدا می‌شوند. طبقه بندی معمولاً به وسیله ویژگیهای بنام ویژگی‌های رده بندی ایجاد می‌شود. طبق گفته Ayala که در سال ۱۹۸۳ ذکر کرد «ویژگی رده بندی عبارت است از آن ویژگـی عضـوی از یـک رده یـا گروه است که با ویژگی عضو گروه دیگر در رده بندی دیگر متفاوت است». ویژگـی تشخیصـی گونـه‌ای همـان ویژگیهای رده بندی می‌باشد که به صورت کاملاً اختصاصی و واضح یک گروه رده بندی را مشـخص مـی‌سـازد (Ayala,1983).

پروتئین‌ها به‌عنوان نشانگرهای گونه‌ای، و نه فقط برای شناسایی حیوانات برای مصرف انسانی، بلکه برای اهداف رده بندی نیز خیلی استفاده شده‌اند (Ayala,1983). کارهای اولیه روی توسـعه روش‌هـای شناسـایی گونـه‌هـا نشان داد که جداسازی پروتئین‌های محلول در آب به وسیله الکتروفورز روی ژل آگارز[1] یا نشاسته می‌تواند بـرای این هدف به کار رود (Cowie,1968 ; Makie,1969). در ادامه روشـهای الکتروفـورز بـا پیشـرفت در روش Isoelectric Focusing یا (IEF) و باعث گردید که طرح‌های مشخص پروتئین محلول در آب حاصل شوند که تمایز این پیشرفت بین گونه‌ها را بر اساس ویژگی‌های ژنتیکی در گونه‌های نزدیک به هـم را میسـر سـاخت. (Makie,1980). طرح‌های پروتئینی بدست آمده بوسیله استفاده از IEF روشی مرجع بـرای شناسـایی گونـه های ماهی گردید (AOAC,1990) و بسیاری از گزارش‌ها منتشر شده کـه قابلیـت کـاربرد ایـن روش را برای حل مشکل شناسایی بیوشیمیائی گونه‌های ماهی در فرآورده‌هـای دریـائی را نشـان مـی‌دادنـد (; Rebein *et al.*,1995 Mackie,1996 و Rehbein,1990). طرح‌هـای پـروتئین مختلفـی بوسـیله IEF

[1] -Agarose electrophoresis

می‌توان برای همان گونه‌های بدست آورد، بنابراین شناسایی گونه‌ای را مشکل می‌سازد و بعضی از فاکتورهای مشکل ساز و پیچیده کنندهٔ شناسایی شده در اینجا توصیف می‌شوند، مثل وجود باندهای چند شکلی هم مانند اختلاف جمعیتی، نوع رشته‌ها عضلانی که بوسیله (Rehbein & Kündiger,1984) شناسائی و تجزیه و تحلیل شدند یا نگهداری فرآورده‌به صورت منجمد (Rehbein,1990) استفاده از روش‌های خیلی دقیق و بزرگ کننده تصویر مثل برای دیدن شکل پروتئین‌ها مثل 2-D-electrophoresis (Pineiro *et al.*,1998,1999) و به نظر می‌رسد که باعث تولید شکل‌های کاملاً پیچیده از پروتئین می‌شوند که در نتیجه، فرآیند شناسایی را عملی زمان بر می‌سازد. ارزش روش‌های دیگر مثل Matrix Asisted Laser Desorption، Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF-MS)، آنالیز 2D جدا شده از پروتئین‌های سارکوپلاسمی‌برای شناسائی گونه‌ها بصورت روزانه بعلت گرانی دستگاه‌های مورد نیاز و پیچیدگی روش شناسائی نسبتاً سوال برانگیز می‌باشد (Pineiro *et al.*,2001)

استفاده از روش IEF برای شناسایی ماهی فرآوری شده تا حدی پیچیده‌تر می‌باشد، اگرچه، این روش به صورت موفقیت آمیزی برای فرآورده‌هایی که بصورت متوسطی فرآوری شده‌اند، مثل ماهی دودی با استفاه از چند پروتئین مقاوم به حرارت استفاده شده (Sotelo *et al.*,1992). در مورد دیگر فرآورده‌ها پروتئین‌های تغییر ماهیت داده شده (دنتوره)، ابتداء بوسیله اوره یا SDS محلول شده و سپس بوسیله urea-IEF یا روش SDS-PAGE تجزیه و شناسائی گردیده‌اند و (Pineiro *et al.*,1990 ، Scobbie & Mackie,1988 و Rehbein *et al.*,1999 a). بهرصورت سطح شناسائی در بین گونه‌ها پائین است، و این روش‌ها برای شناسائی گونه‌های مختلف به فامیلی‌های مختلف از ماهیان یا گروه‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌اند. شناسائی گونه ای برای ماهی‌های نزدیک بهم از نظر گونه‌ای، مثل ماهی تونا فرآوری شده و یا آزاد ماهی‌های دودی شده ثابت گردید با استفاده از این روش‌ها خیلی مشکل می‌باشد (Mackie etal., ۱۹۹۲و۲۰۰۰).

روش دیگر استفاده از Capillary zone electrophoresis یکی دیگر از روش‌های الکتروفورز می‌باشد که برای شناسائی گونه‌ها مورد استفاده (LeBlanc *et al.*,1994 ; Gallardo *et al.*,1995) قرار گرفته است. این روش دارای مزایای نسبت به دیگر روش الکتروفورز می‌باشد. از آنجمله قیمت ارزان مواد شیمیایی، قدرت تجزیه و کارآئی بالای آن، نیاز به نمونه کم، عدم نیاز به حلال‌های مضر، شناسائی پروتئین‌های جدا شده بوسیله اسپکتروفتومتری، زمان کوتاه برای تجزیه (۱۰ تا ۲۰دقیقه) و امکان نمونه‌گیری بصورت خودکار از مزایای این روش نسبت به دیگر روش‌های الکتروفورز می‌باشد. بهرصورت این روش دارای محدودیت‌هایی می‌باشد که دیگر

روش‌ها دارند از آن جمله استفاده از آن فقط برای شناسائی و تأیید گونه برای فرآورده‌های تازه و یا منجمد فرآورده‌های دریائی می‌باشد.

شناسایی گونه‌ها با بکارگیری روش های دیگر مثل تجزیه ترکیب شیمیائی به وسیله Near & Mid Infrared Spectroscopy ، (NIR و MIR) انجام شده است. این روش‌ها به‌عنوان وسیله‌ای برای تمایز و تعیین بین گوشت گوسفند و گاو به کار گرفته شده‌اند (McElhinney *et al.*,1999). اگرچه این یک روش غیرمخرب است و ممکن است به شناسایی سریع گونه‌ها از خط تولید منجر شود اما استفاده ازآن برای شناسایی گونه ماهی به نظر می‌رسد غیر قابل اعتماد است. سطح تمایز گونه‌ای از طریق اختلافات در محتوی و ترکیب چربی، ترکیب پروتئین و مقدار آب برای دام قابل دستیابی است. اما، بهرصورت مشکل معمول در شناسایی و تأیید گونه‌های ماهی، تمایز گونه‌ها در بین یک خانواده و خانواده‌های دیگر ماهی در این است که معمولاً ماهی‌ها دارای ترکیب شیمیایی تقریبی یکسانی هستند.

استفاده آنالیز چربی برای شناسایی گونه‌ها دارای تأثیر خیلی کمی‌می‌باشد که عمدتاً به این علت است که ترکیب چربی در ماهی مخصوصاً ترکیب تری گلیسیرید، بستگی به غذا دارد و بنابراین ترکیب آن کاملاً متفاوت است، (Dotson,1976). اما، نتایج تجزیه ترکیب اسید چرب در فسفولیپیدها نشان داد که این روش دارای توانایی تمایز گونه‌های نزدیک به هم مثل تن ماهیان می‌باشند. (Medina *et al.*,1997). کاربرد این روش برای ماهی تن کنسرو شده نشان داده شده، اما هنوز استفاده از آن بصورت مستمر مورد تأیید واقع نشده است.

پروفیل‌های پروتئین سارکوپلاسمی‌محلول در آب (بعد از جداسازی به وسیله HPLC) برای شناسایی گونه‌های ماهی خام مورد استفاده واقع شدند. در بین مزایای استفاده از این روش، امکان شناسایی مقدار کمی‌پروتئین در گونه‌ها است که بستگی به شناسایی سریع پروتئین‌های جدا شده با استفاده از یک سیستم که دارای چند تشخیص دهنده مثل استفاده از UV دارد (Pineiro *et al.*,1997 ; Ashoor & Knox, 1985 ، Armstrong *et al.*,1992) از مزایای دیگر روش‌های HPLC سرعت، استفاده از دستگاه که نسبتاً در بیشتر آزمایشگاه‌های تجزیه مواد غذائی وجود دارد و قابلیت تولید هم‌سان و مجدد پروفیل‌ها می‌باشد. معایب آن امکان استفاده از آن فقط برای فرآورده‌های منجمد شده یا تازه، نیاز آن به استانداردهای درونی و خارجی و مشکلات عمومی‌در مقایسه پروفیل‌های ویژه مورد نظر می‌باشند.

روش‌های ایمنی شناسی برای شناسایی گونه‌ها براساس شناسایی پروتئین‌های تشخیصی (آنتی ژن) به وسیله آنتی بادی‌های قرار گرفته که در محل‌های خاص در پروتئین‌های تشخیصی قرار دارد می‌باشد. واکنش آنتی ژن

– آنتی بادی، شناسایی گونه‌ها را امکان پذیر می‌سازد. آنتی بادیهای گوشت که آنتی ژن‌های مخصوص موجود در گونه‌های مختلف را شناسایی می‌کند توسعه داده شدند و روش‌های آزمایشی مختلف مثل انتشار ایمنی روی ژل آگار (Hsieh etal.,1996) و آزمایش جذب کنندهٔایمنی مرتبط با آنزیم (ELISA)[1] برای این هدف به کار گرفته شدند(Dominguez *et al.*,1977; Kangethe & Lindqvist,1997 ; Andrews *et al.*,1992 و Whitaker *et al.*,1983) این روش برای شناسایی گونه‌های ماهی نیز به کار گرفته شدند (Taylor *et al.*,1994; Verrez-Bagnis,1993 ; Carrera *et al.*,1990; Huang *et al.*,1995 ۱۹۹۰; An *et al.*,1990). یکی از مشکل‌ها در بکاربردن روش ایمنی شناسایی برای شناسایی گونه‌ای این می‌باشد که در ابتداء این روش برای ماده خام صورت گرفته، اما بیشتر مواقع نیاز به شناسائی گونه‌ای می‌باشد که فرآورده تحت رژیم حرارتی در فرآوری محصول موردنظر قرار گرفته‌اند. (Chen *et al.*,1988) روش آنتی بادیهای تک کلونی را برای شناسائی پروتئین‌های عضله مقاوم به گرما در خوک را توسعه داده‌اند، که این روش، شناسایی گوشت خوک را در فرآورده‌ها که فرآوری حرارتی شده‌اند را میسر می‌سازد. بهرصورت اگر پروتئین‌ها در مقابل استریل شدن مقاومت کنند نتایج قابل تأئید نمی‌باشند (Chen etal., ۱۹۹۸). شناسائی گونه‌ها از طریق تشخیص شاخص‌های ایمنی دارای این مزیت است که توسعه کیت‌های رنگ سنجی را برای تشخیص شاخص‌های ایمنی مثل Immunosticks را ممکن می‌سازد، که این روش امکان شناسائی سریع گونه‌ها را در یک فرآورده را میسر می‌سازد (Carrera *et al.*,1997)، این روش فقط نیاز به تجهیزاتی برای آماده سازی عصاره از فرآورده مورد نظر را دارد. در تأیید شناسائی گونه در ماهی برخلاف دیگر گوشت‌ها هدف شناسائی برای تمایز گونه‌های نزدیک به هم صورت می‌گیرد. لذا مشکل اصلی در توسعه روش‌های شناسائی شاخص‌های ایمنی شناسائی در ماهی، پیدا نمودن یک آنتی ژن مناسب و اختصاصی می‌باشد که با گونه‌های نزدیک بهم واکنش نشان ندهد.

مولکول‌های DNA در هسته و در میتوکندری ارگانیسم‌های یوکاریوت قرار دارند. در DNA قسمت‌هایی به نام ژن وجود دارند که دارای اطلاعات مورد نیاز برای سنتز پروتئین‌ها در داخل سلول را در اختیار دارند. کل میزان DNA در داخل یک سلول می‌تواند متفاوت باشد، که این تفاوت بستگی به چندین شرط بیولوژیکی مثل مرحله چرخه سلولی، نوع بافت، سن و غیره دارد.اندازه ژنوم هسته‌ای ماهیان استخوانی در حدود ۴– ۰/۳

[1] - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

بیلیون براساس هر جفت باز (Base pairs) می‌باشد(Park & Moran,1994). ژنوم‌های DNA شامل یک سلسله از کد کننده و غیر کد کنندهٔ DNA می‌باشند، در حقیقت فقط یک درصد از کل ژنوم DNA در پستانداران پروتئین‌های ضروری را تنظیم و یا کدگذاری می‌کنند (Park & Moran,1994). این حقیقت نشان دهنده این است که ممکن است با استفاده از روش هایی که پایه آن‌ها براس DNA پایه ریزی شده میتوان بیشتر گونه‌ها و یا جمعیت ماهی را شناسائی نمود تا با استفاده از روش هایی که براساس شناسائی پروتئین‌ها در گونه می‌باشند.

لذا این دانسته ها، براساس سلسله ساختاری DNA برای شناسائی گونه‌ها به کار گرفته شده‌اند، مخصوصاً بعد از توسعه زیادی که با بکارگیری واکنش‌های زنجیره ای پلی مراز[1](PCR) در روش‌های بیولوژیکی صورت گرفت (Saiki *et al.*,1988). روش PCR امکان انتخاب نمودن یک قسمت از DNA و تجزیه و تحلیل نمودن جزئیات آن را با بزرگ نمودن شکل آن را در یک مدت نسبتاً کوتاه فراهم می‌آورد (دو ساعت). تجزیه و تحلیل سلسله ساختار موجود در DNA فرآورده را می‌توان با استفاده از هزاران روش انجام داد، احتمالاً بیشترین روش استفاده شده، روش سلسله ساختار DNA می‌باشد. این روش در هر دو نمونه بدست آمده از هسته و میتوکندری برای شناسائی گونه ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در مقایسه با روش شناسائی گونه براساس شاخص پروتئین که بتوان شاخص بکار می‌رود، این روش شناسائی براساس سلسله ساختار DNA دارای مزایای زیر می‌باشد:

- آنالیز کننده می‌تواند مناطق مختلف DNA را برای تجزیه و تحلیل با سرعت‌های متفاوت قابل جهش و تغییرهای و تنوع درون گونه‌ای و بین گونه‌ای در سطح مورد نیاز (افراد، جمعیت،گونه، جنس،خانواده و غیره) را انتخاب کند.
- DNA مقاومتر نسبت به پروتئین در فرآیندهای صنعتی متفاوت می‌باشد.
- DNA میتوکندری (mtDNA) خیلی زیاد به‌عنوان مولکول هدف برای شناسایی گونه‌ها استفاده شده است. دلایل انتخاب ژن‌های میتوکندری جهت استفاده در این نوع مطالعات شامل ویژگی هبلونیدی(Haploid) پلوئیدی این مولکول،اندازهٔ آن (mtDNA ماهی حدود ۱۵-۲۰Kb)، سرعت بالاتر جهش، یعنی دارای قابلیت تنوع ژنتیکی بیشتر می‌باشد (البته استثناهایی در این مورد و اختلافاتی در بین ژن ها نیز وجود دارد) و در نهایت اینکه نقاط اینترون (In Trons) روی mtDNA وجود ندارد.

---

[1] - Polymerase chain Reaction

به‌طور خلاصه، تجزیه پروتئین در گذشته برای شناسایی گونه‌ها خیلی مورد استفاده واقع شده است و در مورد غذاهای دریایی منجمد، سرد شده و تازه، مفید بوده است. یکی از مزایای این روش مخصوصاً IEF این است که نسبتاً ارزان است و زمان فرآوری سریع را میسر می‌سازد و نیازی به افراد خیلی آموزش دیده و یا تجهیزات گران و پیشرفته ندارد. اما، بهرحال، روش تجزیه پروتئین دو اشکال عمده دارد: اول آنکه این روش برای فرآورده‌های حرارت دیده نامناسب است چون پروتئین تغییر ماهیت (دناتوره) می‌دهد و دوم اینکه این روش قدرت تشخیص پائینی در مواردی که گونه‌های شبیه به هم باید داده شوند دارد.

۴-۲۳- استفاده DNA برای شناسایی گونه‌ها

یک پارچه‌گی DNA و تأثیر فرآوری

اولین قدم برای هدایت شناسایی گونه براساس آنالیز DNA استخراج و بزرگ نمودن شکل DNA می‌باشد. یک پارچه‌گی DNA در این مورد نقش مهمی‌را بازی می‌کند و در نتیجه نیاز به یکپارچگی DNA انتخاب روش آنالیز را جهت استفاده، محدود می‌سازد. اگرچه DNA یک مولکول خیلی پایدار است ولی تعدادی از فاکتورها وجود دارند که باعث تجزیه آن می‌شوند مثل فعالیت آنزیم نوکلئاز (Martinez *et al.*,1997 ;Cerda & Koppen,1998) ، اکسیداسیون، تیمار اسیدی و تجزیه حرارتی (Bossier,1999). DNA به قسمت‌های کوچکتر از ۵۰۰bp وسیله درجه حرارت‌های بالاتر از ۱۰۰c° تجزیه می‌شود، که بستگی به درجه حرارت و زمان تیمار حرارتی به کار رفته شده دارد(Chikuni *et al.*,1990 ;Quinteiro *et al.*,1998; RAM *et al.*,1996;Unseld *et al.*,1995).

با DNA استخراج شده از فرآورده‌های استریل شده که دارای‌اندازه متوسط حدود ۳۰۰bp می‌باشد (Ebbehøj and Thomson,1991). DNA میتوکندری ممکن است انتخابی مناسبی برای شناسایی گونه‌ها در فرآورده‌های حرارت دیده باشد، چرا که دارای تعداد بیشتری کپی (Copies) در هر گرم بافت در مقایسه با DNA جدا شده از هسته می‌باشد، لذا دارای تحمل و پایداری بالاتر مولکول mtDNA در مقابل حرارت نسبت به مولکول DNA دارد (Borgo *et al.*,1996).

۵-۲۳- روش‌های براساس واکنش زنجیره پلی مراز[1] (PCR)

روش PCR به وسیله Mullis و همکاران در دهه ۱۹۸۰ میلادی توسعه یافت (Mullis,1990; Mullis & Faloona,1987) و این روش امکان ساخت قسمت‌هایی از DNA را بصورت آزمایشگاهی را فراهم ساخت. بیش از هزاران مقاله وجود دارد که چگونگی استفاده از این واکنش را برای استفاده در زمینه‌های مختلف را شرح می‌دهند (Bej *et al.*,1991).

همانطور که در بالا آمده، قسمت‌های مختلف از DNA میتوکندری معمولاً هدف استفاده از PCR، گردیده که علت آن وسعت تغییرات ژنتیکی برای هر ژن میتوکندری می‌باشد. طراحی اولیه صحیح یکی از مهمترین قدم‌ها در استفاده موفقیت آمیز از روش PCR و روش‌های منشعب از آن می‌باشد، زیرا در صورت عدم تناسب کامل بین DNA (template DNA and 3´ and of the primer) و طرح پا ′۳ انتهای ممکن است باعث عدم موفقیت روش PCR گردد (Bej *et al.*,1991). در جدول شماره ۱-۲۳ طرح‌های اولیه و اجزائ مورد استفاده برای شناسائی گونه‌های ماهی در فرآورده‌های دریایی نشان داده شده است. سیتوکروم b همانطور که دیده می‌شود برای شناسائی خیلی از گونه‌ها استفاده شده است. اگرچه اجزاء ژن‌های دیگر مثل کد کننده DNA برای ریبوزم RNA، سیتوکرم اکسیداز، ATPase و منطقه کنترل کننده برای این هدف مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

[1] - Polymerase Chain Reaction

جدول ۲۳-۱- اسم آزمایش های اصلی که برای شناسائی گونه بکار می‌روند، شناسائی روش های بکار برده شده. آزمایش های تشخیص طبی برای تعیین زنجیره نوکلوتید[1] (FINS)، محدودیت‌اندازه گیری طول[2] (RFLP)

نام اصلی آزمایش	مهمترین زنجیره نوکلوتیدها	اندازه – روش	گونه	مرجع
CytbH/CytbL (cytb)	5'-CCCTCAAATGATATTTGTCCTA-3' 5'-CCATCCAACATCTCAGCATGATGAAA-3'	307 bp FINS 307 pb RFLP 307 bp RFLP	Several Flatfishes Several	Bartlett and Davidson, 1992 Cespedes et al., 1998 Cocolin et al., 2000
Tuna334F/Tuna395R (cytb)	5'-TAGGGATCCTYCTHTCIGCAGTMCCMTAYGT-3' 5'-GGTCTCAGGAAGTGGAAKGCRAAGAAYCGG-3'	60 bp RFLP	Tunas	1996 ,Ram et al.
TunaFOR/TunaREV (cytb)	5'-GGGAATTCCTMTACAAAGAAACMTGAAACA-3' 5'-DAGGATCCTCAGAANGAYATYTGTCCTCA-3'	59 bp RFLP	Tunas	Ram et al., 1996
59-3/59-5 (cytb)	5'-GCTGGTACCTCTACAAAGAAACAGAAACA-3'	59 pb	Tunas	Unseld et al., 1995
	5'-AAACTGCAGCCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA-3'			
L14735/H15149ad (cytb)	5'-AAAAACCACCGTTGTTATTCAACTA-3' 5'-GCNCCTCARAATGAYATTTGTCCTCA-3'	419 pb RFLP 419 pb RFLP 419 pb FINS / RFLP	Several Salmons Flatrishes	Wolf et al., 2000 Russell et al., 2000 Sotelo et al., 2001
		419 pb RFLP	Sturgeons	Wolf et al., 1999
MERFPDI/GADRPD1 (Control region) 16S-1/16S-2 (16s RNA)	5'-TCAACCCATAATACWCATTCC-3' 5'-ATGGACCTGAAGCTAGGCA-3' 5'-CACCACAACATACATACCC-3' 5'-CGTTAAACCCATAGTCACAG-3'	157 bp FINS/ RFLP 911 bp RELP 911 pb RELP	Hakes Salmon Flatfishes	Quinteiro et al., 2001 Carrera et al., 1999 Cespedes et al., 2000

۶-۲۳- روش هایی که نیاز به دانستن سلسله ساختار قبلی ندارد

دو روش عمده برای انجام بزرگ نمودن طرح سلسله ساختاری DNA با استفاده از پلی مراز وجود دارد، که اولین روش استفاده از پرایمر غیر اختصاصی[1] صورت می‌گیرد، و این بدان معنی است که دانستن بخش‌هایی از الگوی سلسله ساختاری[2] DNA ضروری نیست. این روش باعث شناسائی پروفیل مخصوصی از باندها می‌شود. در روش دوم، نیاز به دانستن حداقل دو جزء کوتاه از الگوی سلسله ساختاری موردنظر دارد، بزرگ نمائی شکل DNA دارای این معنی خاص می‌باشد که جزء مشخصی از DNA شناسائی خواهد شد. طرح بزرگ نمائی شده از DNA سپس مورد تجزیه و تحلیل و مقایسه با نتایج بدست آمده از روش‌های دیگر واقع خواهد شد.

۱-۶-۲۳- بزرگ نمائی تصادفی DNA چند شکلی[3] (RAPD)

این روش شامل استفاده از پرایمرهای منفرد و یا اختیاری کوتاه (۹ تا ۱۰ مر) می‌باشد که به صورت تصادفی در چندین منطقه هدف DNA ژنومی قرار می‌گیرند (Dinesh *et al.*,1993). پرایمرها برای بزرگ نمائی جزء خاص طراحی نمی‌شوند. برعکس، آنها به آرامی در سرتاسر ژنوم پراکنده می‌شوند (Grosberg *et al.*,1996). به این علت است که چرا داشتن اطلاعات قبلی از سلسله ساختار DNA از قبل برای تشخیص و تشریح و هدایت مطالعه در یک گروه خاص ماهی ضرورتی وجود ندارد. این روش خیلی ساده است و طرح‌های ویژه‌ای بعد از بزرگ‌نمائی ایجاد می‌شود، جداسازی به وسیله الکتروفورز (آگارز، پلی اکریلامید)[4] و شناسایی (رنگ آمیزی بوسیله نقره و یا اتیدیوم برمید)[5] انجام می‌شود. این طرح‌هامی‌توانند برای شناسایی گونه‌ها یا جمعیت‌ها مورد استفاده واقع شوند. اما بهرصورت دارای معایبی نیز می‌باشند مانند حساسیت بالای آن به تغییرهای کیفی و یا کمی DNA، سیکل تنظیم‌کنندهٔ حرارت استفاده شده برای بزرگ‌نمائی، شرایط کاری، اثر پلی‌مراز، شرایط جداسازی و شناسایی تغییرهای تنوع درون گونه‌ای دارند. همه این فاکتورها نیاز به استانداردشدن به منظور دستیابی به الگوی قابل تکرار دارند

---

[1] -Non- specific primer
[2] -Template sequence
[3] -Random Amplification of Polymorphic
[4] -Agarose و Polyacrylamide
[5] - Ethidium bromide

(Martinez & Danielsdottir,2000 ;Grosberg *et al.*,1996) علیرغم این مشکل‌ها بعضی از نویسندگان روش‌های RAPD را توصیف کرده‌اند که نتایج مشابه قابل تکرار بودند[1] (*et* Dinesh *al.*,1995) و یا برای شناسایی گونه‌های گوشتی یا غذاهای دریایی فرآوری شده، استفاده واقع شده‌اند (Martinez,1997). فرآیند شناسایی که از این روش استفاده می‌کند شامل تعیین شباهت ژنتیکی نیز می‌باشد. این شاخص شباهت براساس تعداد باندهای مشترک تقسیم بندی شده بین گونه مرجع و گونه نامعلوم که پایه ریزی می‌گردد ، می باشد (Martinez & Malmheden Yman,1998) و ممکن است برای ساختن دندوگرام (dendograms) که ممکن است به شناسایی گونه‌ها کمک کند مورد استفاده واقع شود (Crossland *et al.*,1993).

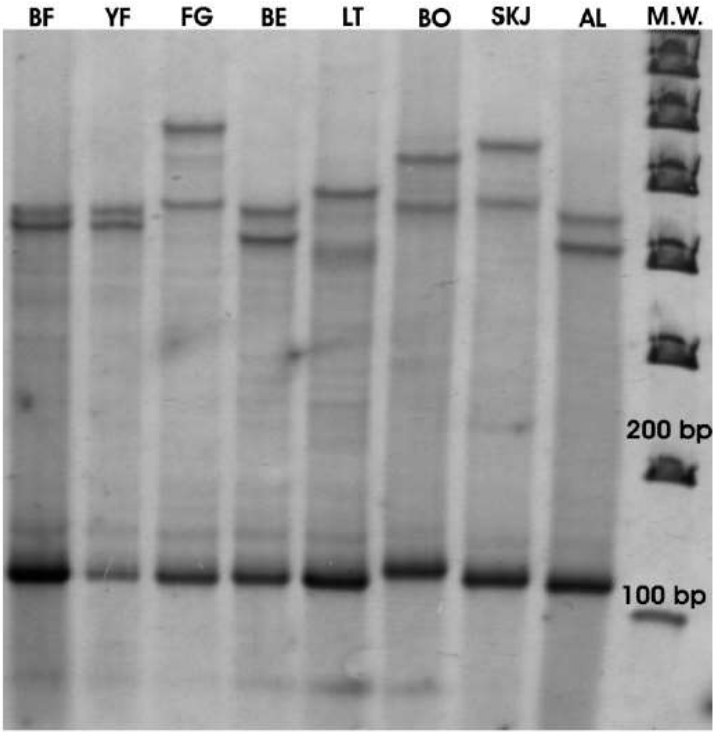
۲-۶-۲۳- تک رشته‌ای تأیید کننده پلی مرفیسم[2] (SSCP)

SSCPs روشی الکتروفورزی است که باعث شناسایی سریع جهش‌ها (Mutations) در یک بخش مخصوص از DNA می‌شود. هرچه این بخش DNA کوتاهتر باشد، در یک محدوده خاص، دارای قدرت بالاتری برای بدست آوردن نتیجه بهتر با این روش می‌باشد. معمولاًاندازه‌های مناسب (Optimom) در محدودهٔ ۱۰۰pb– ۲۰۰ می‌باشند. این روش براساس این واقعیت پایه ریزی گردیده که در DNA رشته‌ای اجزاء (Fragments) درهم پیچیده (Folding) تایید کننده تشکیل داده و ان جزء از میان بستر الکتروفورزی تحت شرایط غیر دناتوره شدن به روش خاص مربوطه به سلسله ساختاری حرکت می‌کند (Law *et al.*,1996) شکل (۱-۲۳).

در بالاترین قدت جداسازی نمودن فرق دریک نوکلوئید فقط از طریق اختلاف در سرعت حرکت اول آن درمیدان الکتروفوز با دیگر نوکلوئیدها نشان داده می شود. (Hayashi,1991). اگر DNA دناتوره شده مورد آزمایش قرار گیرد، جزء (Fragments) PCR باید قبل از آزمایش الکتروفورز نیز دناتوره گردد، اگرچه شرایط الکتروفورزی غیر دناتوره نمودن می‌باشد، تا باعث گردد تا واکنش‌های درون سلولی صورت بگیرند. اختلاف در قابلیت حرکت یک تک رشته از جزءهای خاص (Certain Fragments) ویژه گونه‌ای بوده و چندین مقاله کارآیی این روش را برای شناسائی گونه‌ها بصورت روزانه (Routine) اثبات نموده‌اند (Rehbein *et al.*,1999b , Rehbein *et al.*,1998 و 1997).

---

[1] -Reproducible
[2] - Single Strand Conformation Polymorphisms



شکل ۱-۲۳ : الگوهای *SSCP* ۵- ۳/۵۹ – ۵۹ برای هشت گونه تن ماهیان.

BF **(تن باله آبی *Thunnus* و *Bluefin tuna*) ، *YF* (تن زرد باله *Yellowfin Tuna, T.Albacares*)**

FG **(تن بزرگ *Frieate Tuna, Auxis Rochei*) ، *BE* (تن چشم درشت *Bigeye Tuna, T.obesus*)**

LT **(تن کوچک *Little Tuna, Eu Thynnus Aletertus*) ، *BO* (تن بنیتو *Bonito Sarda, Sarda, Sarda*)**

SKJ **(هوور مسقطی *Skipjack Tona, Katsuwonus pelamis*)) ، *AL* (تن البکرو *Albacore, T. alalonga*)**

۳-۶-۲۳- شناسائی جزء طولی چند شکلی DNA از طریق بزرگ نمایی [1] (AFLPs)

این روش نوع پیشرفته‌تری از روش بزرگنمایی تصادفی می‌باشد و هم چنین دارای قابلیت تکرار در بازسازی (Reproducible) بیشتری نیز می‌باشد. اگرچه این روش دارای همان محدودیت‌های کیفی DNA که برای RAPD وجود دارند را نیز دارا می‌باشد. در این روش ژنوم DNA به وسیله یک یا دو آنزیم اختصاصی هضم گردیده، این باعث ایجاد جزئی از DNA هضم شده با یک یا دو سلسله ساختاری آویزان شده از آن می‌شود. سپس پس از نشاندار کردن نمونه بوسیله شاخص ها و با استفاده از روش بزرگ نمائی تفکیک کننده Selective Amplification و دادن حرارت، فرآورده‌های تولیدی بوسیله استفاده از ژل پلی اکریلامید دناتوره شده از هم جدا گردیده و سپس بوسیله رنگ‌آمیزی با رنگ نقره ای و یا فلورسنس مشاهده و شناسائی می‌گردند (Bossier,1999). این روش برای شناسائی و تفکیک گونه‌های خاویاری و هم چنین شناسائی هیبریدها مورد استفاده قرار گرفته (Congiu *et al.*,2001).

۷-۲۳- روش هایی که از اطلاعات سلسله ساختاری استفاده می‌کنند

شناسائی گونه ای می‌تواند با استفاده از اطلاعات سلسله ساختاری یک قسمت خاص DNA صورت گیرد. توسعه این روش در مقایسه با روش داده شده در بالا بیشتر زمان بر می‌باشد، زیرا مقدار زیادی از زمان باید صرف شناسائی سلسله ساختاری DNA در چندگونه گردد، اما در درازمدت باعث بوجود آمدن تعدادی روش شناسائی می‌گردند که کاملاً قابل اتکاء می‌باشند.

۱-۷-۲۳- سلسله ساختاری واندازه‌گیری فاصله ژنتیکی [2]

استفاده از سلسله ساختاری DNA یکی از مستقیم ترین روش شناسایی گونه ای در آبزیان می‌باشد اگر از سلسله ساختاری DNA به درستی استفاده شود، و در صورت امکان سلسله ساختاری ناشناخته با اطلاعات موجود در مورد سلسله ساختاری برای آبزیان شناخته شده بنام (Forensically Informative Nucleotide Sequencing) یا (FINS) مقایسه گردد (Bartlett & Davidson, 1992). گروه‌های ماهی تجاری شامل چندین گونه می‌باشند که می‌توانند از نظر ژنتیکی نزدیک بهم باشند، و هوشمندانه است که در صورت امکان هرچه بیشتر از سلسله ساختار DNA ماهی هایی که دارای اهمیت تجاری می‌ابشند مورد بررسی و شناسائی قرار گیرند. تعداد زیادی از

[1] -Amplification Fragments Length Polymorphisms
[2] -Sequencing and gegetic distance measurement

بررسی ها برای شناسائی گروه‌های مختلف ماهی و گونه‌ها از طریق شناسائی سلسله ساختاری DNA بعمل آمده، هم چنین تعدادی از پروژه تحقیقاتی برای توسعه چنین روشهایی، بخصوص پروژه‌هایی که در جمع آوری نمونه ماهیان از سراسر دنیا در دست اجراء می‌باشند. بهرصورت، یک کمبود وسیعی در تلاش برای جمع آوری تمام اطلاعات مربوط به سلسله ساختاری DNA و ارائه دادن آنها به روشی مناسب برای حل مشکل شناسائی گونه‌ها باشد هنوز وجود دارد.

یکی از بخش‌های مهم در توسعه روش شناسایی پایه‌ریزی شده براساس سلسله ساختار DNA، انتخاب سلسله ساختار مناسب است که باید حاوی اطلاعات کافی برای تمایز گونه ای بین تمام گونه‌های تجاری تحت مطالعه باشد (مثل روغن ماهیان Gadoids)، این موضوع به معنای تنوع زیاد بین گونه ای است، اما بهرحال این روش مورد استفاده، باید دارای تمایز حداقل قابلیت تنوع درون گونه ای باشد (Quinteiro *et al.*,1998). از طرفی طول بخش سلسله ساختار DNA، نقش مهمی‌در شناسائی گونه را بازی می‌کند. هم چنین طول واندازه بخش (Fragments) DNA تعیین کننده کاربرد این روش برای فرآورده‌های تازه، منجمد، به صورت کمی‌و یا زیادی تیمار حرارتی دیده شده و تعیین می‌کند. در فرآورده‌های کنسرو شده برای شناسائی گونه مورد استفاده در فرآورده باید از طول واندازه جزء ها DNA با طول نه کمتر از ۲۰۰pb استفاده شود (Quinteiro *et al.*,1998).

استفاده از روش سلسله ساختاریاب DNA برای شناسائی گونه در فرآورده‌های دریایی در مقایسه با روش‌های دیگر دارای چندین مزیت می‌باشد، روش سلسله ساختاری DNA باعث شناسائی طبقه بندی نمونه شناخته نشده، در گروه گونه هایی می‌شود که به آن گونه تعلق دارد (Stotelo *et al.*,2001; Bartell & Davidson,1992). از همه مهمتر و جالبتر این موضوع می‌باشد، که کاربرد این روش نشان می‌دهد که آیا یک گونه جدید وارد بازار شده، و یا حتی نشان خواهد داد که گونه‌های غیرمعمول، تحت نام گونه دیگر و در فرآورده‌های با برند خاص به بازار وارد گردیده و در حال فروش می‌باشند یا خیر (Cipriano & Plaumbi,1999). با بکارگیری این روش این گونه ها به سادگی قابل شناسایی می‌باشند. همچنین ممکن است با بکارگیری این روش مشکل مربوط به وجود قابلیت تنوع درون گونه ای را در صورتی که تمام سلسله ساختار DNA برای شناسایی گونه ای مورد استفاده قرار گیرد را حل نمود.

زمانی که یک سلسله ساختاری DNA ناشناخته بدست آمد، روش معمل برای محاسبه نمودن شناسایی گونه ناشناس محاسبه نمودن فاصله ژنتیکی بین نمونه ناشناخته و مقایسه آن با سلسله ساختار DNA در مرجع می‌باشد. محاسبه فواصل ژنتیکی می‌تواند برای ساختن یک ماتریکس جفتی برای سلسله ساختار DNA مورد

استفاده قرار گیرد و آن سلسله ساختاری که کمترین فاصله را با گروه فیلوژنتیکی را نشان می‌دهد متعلق به آن گروه می‌باشد (Quinteiro *et al.*,1998).

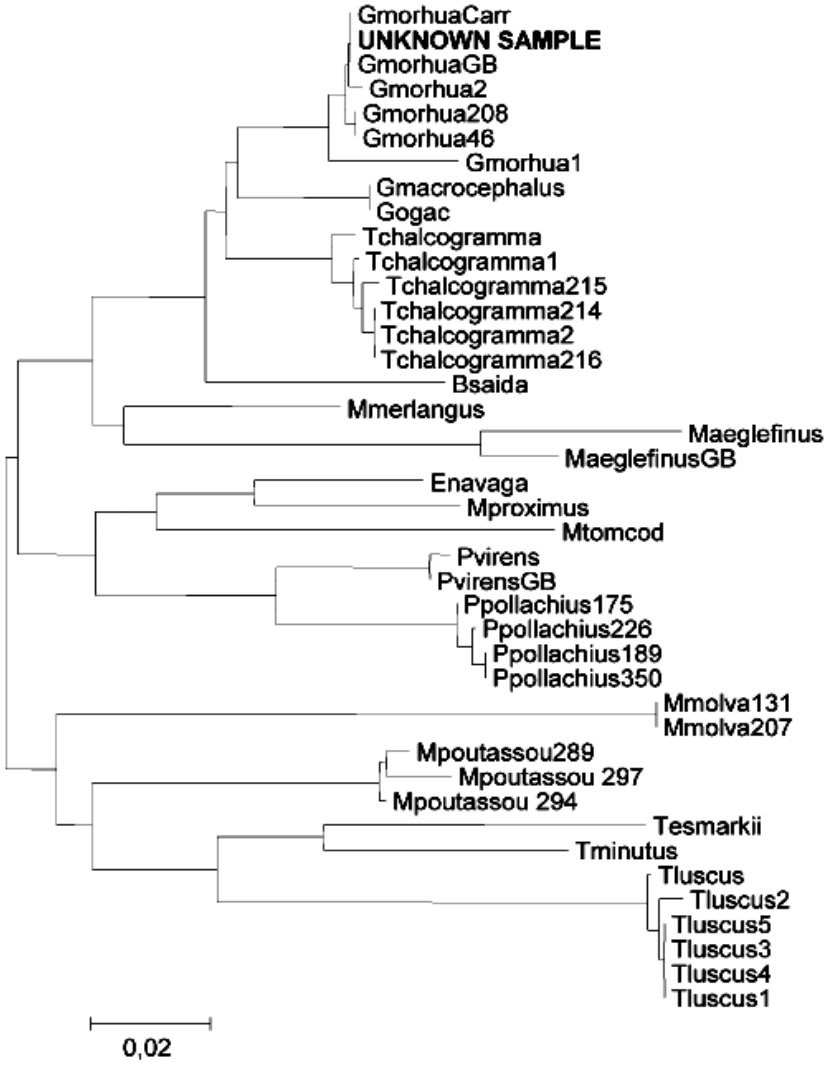
سلسله ساختاریابی بصورت خودکار (Automatic sequencing) باعث انقلابی در روش سلسله ساختاریابی DNA بوجود آورده است. در این روش جدید، نشان دار کردن با ایزوتوپ رادیواکتیو دیگر لزومی ندارد. نشاندارکردن رشته‌های DNA بوسیله فلوروکروم (Fluorochromes)صورت می‌گیرد، سپس به وسیله الکتروفورز احزاء سلسله ساختار از هم جدا گردیده یا بوسیله استفاده از صفحه‌های ژل (Gel Format) و یا لوله‌های موئی (Capillary). سلسله ساختاریابی DNA بوسیله خودکار باعث ایجاد سرعت در تعیین سلسله ساختار DNA و ارائه خدمات در این زمینه شرکت‌های تجاری در بسیاری از کشورها گردیده است. شکل ۲-۲۳ نشان دهنده یک شناسائی گونه ای با استفاده از این روش می‌باشد.

۲-۷-۲۳- محدودیت دراندازه‌گیری طول چند شکلی با استفاده از اجزاء PCR [1] (PCR-RFLP)

این روش اطلاعات موجود که در قسمتی از سلسله ساختار DNA (Partial Sequence) وجود دارد و در بخش بخصوص در PCR واقع شده است را مورد استفاده قرار می‌دهد. این سلسله ساختار بوسیله آنزیم‌های اختصاصی که قادر به تشخیص سلسله ساختارهای کوتاه در داخل قسمت جدا شده (Fragment) از DNA می‌باشند ارزیابی می‌گردند. معمولاً آنزیم‌های اختصاصی مورد استفاده شامل چهار یا شش آنزیم برش دهنده نوکلئوتیدی می‌باشند، این بدین معنا است که آنها قادر به شناسائی چهار و یا شش سلسله ساختار نوکلوتیدی بوده و باعث برش در چند نقطه قبل و بعد از شناسائی سلسله ساختاری می‌گردند (شکل ۳-۲۳). این روش خیلی ساده و نسبتاً ارزان می‌باشد (بسته به آنزیم اختصاصی مورد نیاز)، و نیاز به بزرگنمائی بخش خاصی از DNA جدا شد و هضم آن بوسیله یک یا چند آنزیم اختصاصی دارد، قسمت جدا شده از DNA بوسیله الکتروفورز از هم جدا و شناسائی می‌گردند. این روش در چند فرآورده دریابی عمل آوری شده مورد استفاده واقع شده است (Chow *et al.*, 1993; Borgo *et al.*, 1996; Ram *et al.*, 1996, Quinteiro *et al.*, 1998; C'espedes *et al.*, 1998; Carrer *et al.*, 1999; cocolin *et al.*, 2000; Russel *et al.*, 2000; Hold *et al.*, 2001a, 2001b; Stotelo *et al.*, 2001; Quinteiro *et al;* 2001).

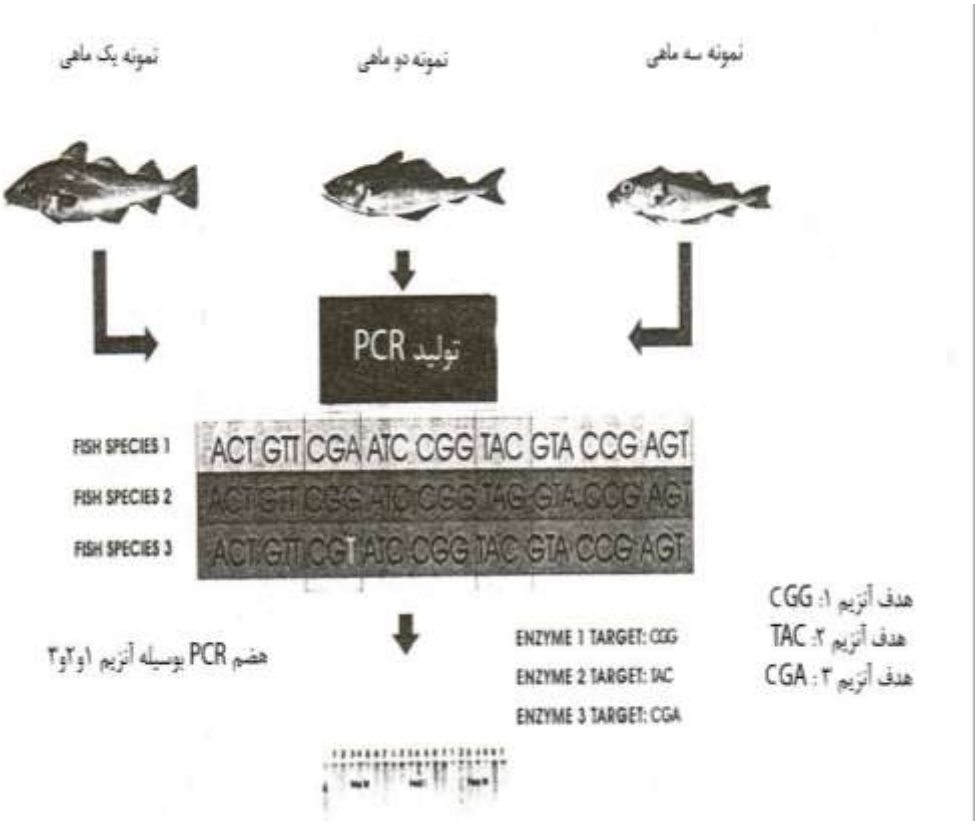
[1] - Restriction Fargment Length Polymorphism of PCR Fragments

بهرحال مثل تمام روش‌های داده شده در اینجا، بعلت اینکه در زمان توسعه این روش اگر تعداد کمی‌نمونه مورد آزمایش واقع شده‌اند، لذا کارآئی این روش قابل تردید و سؤال برانگیز خواهد بود (Cespedes. *et al.*,2000) مشکل اصلی این است که ضمانت کاملی وجود ندارد که گونه هایی که قبلاً مورد بررسی قرار نگرفته‌اند، تولید الگوی RFLP مخصوص خود خواهند نمود، این به این معنای است که ممکن است اینگونه، درست الگوی RFLP تولید خواهند نمود که دیگر گونه‌های شناسائی شده قبلی تولید نموده‌اند. بصورت ایده آل، محدوده انتخاب شده برای شناسائی سلسله ساختاری DNA بوسیله آنزیم‌های اختصاصی باید بنحوی انتخاب گردد که در برگیرنده گونه‌های بالقوه ای را که ممکن است در یک فرآورده خاص مورد استفاده قرار گیرند را پوشش دهد. متاسفانه، در بیشتر مواقع در بازار شرایط بنحوی است که اقدام به جایگزینی گونه‌های پرارزش‌تر یا گونه‌های کم ارزش تر (از همان ؟؟؟؟ و یا گونه) که دارای قیمت کمتری می‌باشد می‌کنند. کارشناس مربوطه باید به این



شکل۲-۲۳: آنالیز *FINS* گونه‌های روغن ماهی. بخش توالی سیتوکروم *b* نمونه ناشناخته به وسیله روش‌اندازه گیری فاصله ژنتیکی با مجموعهٔ کامل توالی‌های مرجعی (مثل بخش سیتوکروم *b*) به دست آمده از گونه‌های روغن ماهی مقایسه می‌شود. فواصل برای ایجاد درخت فیلوژنتیکی استفاده شدند و خوشه‌های توالی ناشناخته با توالی‌های ماهی کاد معمولی نشان دهنده این است که این گونه در نمونه ناشناخته وجود دارد.

سوال جواب دهد که چه گونه ای در این فرآورده بکار رفته است؟ اگر روش مورد استفاده برای تفکیک دوگونه طراحی شده باشد، بعنوان مثال برای *Solea Solea* و *Microchirus azevia*، یک جواب این است که این نمونه از ماهی Sole تهیه نشده است، اگر جواب بدست آمده برای گونه ناشناس نشان دهد که RFLP هبلوتایپ (Haplotype)متفاوت است با ماهی Sole. اما اگر الگوی بدست آمده مشابه ماهی Sole باشد، جواب صادقانه این است که «این فرآورده ممکن است از ماهی Sole تهیه شده باشد» اما هیچ گونه ضمانتی در این مورد وجود ندارد که این از ماهی Sole باشد.



شکل ۳-۲۳: اساسی برای شناسایی گونه ماهی به وسیله *PCR - RLPs*

۳-۷-۲۳- PCR اختصاصی برای گونه[1]

شناسائی گونه‌ای قابل تأیید ممکن است با استفاده از PCR اصلی که برای یک سلسله ساختاری مخصوص در DNA که در گونه موردنظر بصورت اختصاصی وجود دارد و در دیگر گونه‌ها وجود ندارد بکار گرفته شود. وجود PRC در فرآورده بعنوان اثبات دلیل هویت می‌باشد. این روش برای تعیین هویت و شناسائی گونه‌ای در ماهیان خاویاری مورد استفاده قرار گرفته است (Desalle & Birstein,1996).

۴-۷-۲۳- ارزیابی اتصال نوکلئوتیدها[2]

در روش Oligonumcleotide Lighation Assay یا (OLA) اساس ارزیابی بر بکارگیری آنزیم لیگاز (Ligase) می‌باشد که قادر به متصل نمودن دو DNA ردیاب به یک رشته DNA می‌باشد. یکی از DNA ردیاب بوسیله رنگ فلورسنس نشان دار می‌گردد. دو DNA ردیاب بنحوی طراحی شده‌اند که بتوانند با DNA مشابه متصل و تولید یک سلسله ساختاری DNA مثل یک رشته از فرآورده‌های PCR که شامل یک محل تشخیص و یا سلسله ساختاری قابل ردیابی خواهد بود. اگر ردیاب‌ها مشابه DNA در نمونه نباشند، لذا با هم متصل نشده و در نتیجه سلسله ساختاری قابل شناسائی نخواهد بود. اما اگر محل و یا سلسله ساختاری DNA شناسائی گردید، در نتیجه DNA ردیاب ایجاد اتصال با DNA ناشناس نموده و بدین ترتیب گونه موجود در فرآورده شناسائی می‌گردد. از این روش برای شناسائی گونه‌های نهنگ (Whale) در غذاهای دریائی استفاده بعمل آمده است (Cipriano & Palumbi,1999). این پژوهشگران موفق شدند که با استفاده از این روش ۱۱۳ گونه از ۱۳۰ گونه ای از نهنگ هایی را که در فرآورده‌های دریائی تازه، منجمد و کنسرو شده مورد استفاده قرار گرفته اند را شناسائی نمایند (۸۶/۹ درصد). در این پژوهش فقط دو نمونه از ۱۳۰ نمونه بصورت اشتباهی تشخیص داده شدند. اگرچه این روش دارای مزایایی مثل سرعت، دقت، و ارزان بودن را دارا می‌باشد، اما نیاز به تجهیزات مناسب برای شناسائی واندازه گیری فرآورده‌های نشانه گذاری و رنگ آمیزی شده بوسیله فلوروسنت را دارد که معمولاً گران می‌باشند.

---

[1] -Spacies specific PCR
[2] -Oligonucleotide Ligation Assay

۵-۷-۲۳- ردیاب‌های DNA

هیبریدسازی یک رشته از DNA (ssDNA) از یک گونه مشخص با ssDNA از گونه شناسی نشده، اساس و توسعه برای چندین روش شناسایی گونه ای می‌باشد. در این روش از تمام ژنوم DNA برای ارزیابی و شناسائی نمودن بوسیله روش ردشدن و یا نشدن از یک حلقه (Slot/Blot) استفاده بعمل آمده است (; Wintero *et al.*,1990 Chikuni *et al.*,1990). بهرصورت این روش برای شناسائی گونه‌های مشابه بعلت شباهت سلسله ساختاری (Due to sequence homology produting cross-reactivity) DNA مناسب نمی‌باشد. از روش ردیاب‌های DNA بنام Species Specific Satellite DNA Oligonucleotide برای شناسائی پنج گونه جانوری در تعداد زیادی از فرآورده‌های تجاری استفاده بعمل آمده است (Hunt *et al.*,1997)، علاوه بر آن این روش امکان‌اندازه‌گیری گونه‌ای را بصورت نیمه کمی (Semiquantitation) با ضریب اطمینان ۲/۵ درصد امکان پذیر می‌سازد. استفاده از ردیاب DNA برای شناسائی گونه ای در ماهی‌های تجارتی مهم تاکنون صورت نگرفته است، اما به هر صورت به نظر می‌رسد که اطلاعات مربوط به این ردیاب به زودی در نشریه‌ها و یا حتی خود دستگاه در بازار پدیدار شوند.

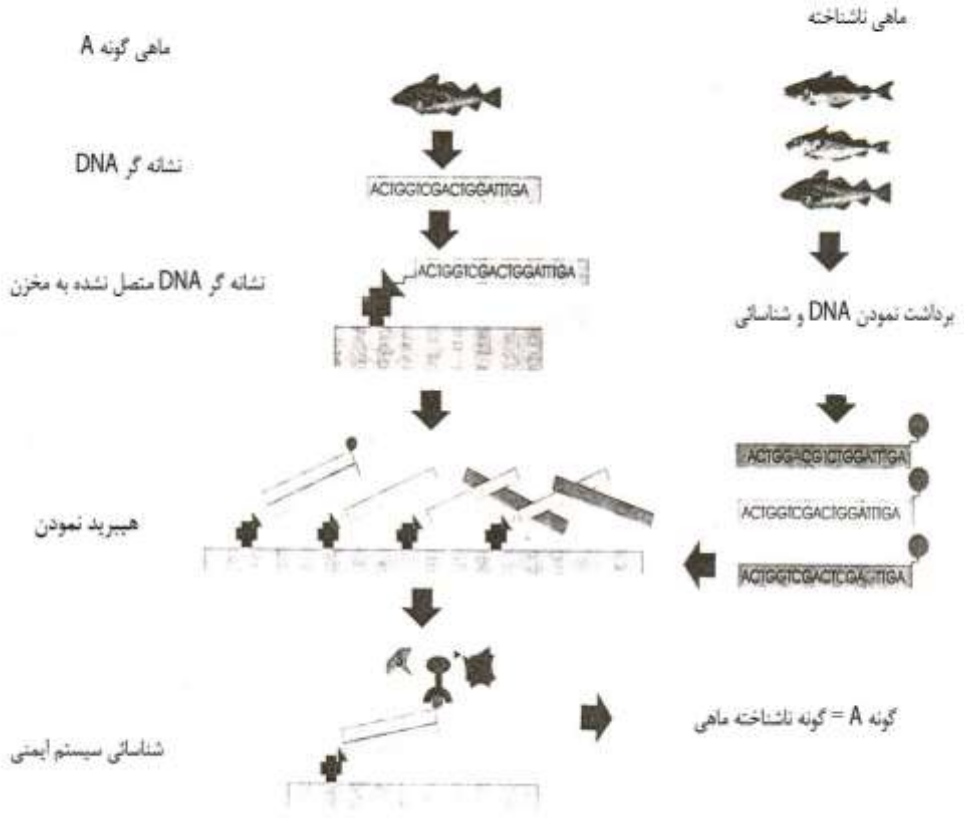
۸-۲۳- پیش بینی برای آینده: روش‌های سریع

هدف از توسعه روش های شناسائی گونه، مجهز کردن آزمایشگاه‌های کنترل، صنایع، مدیریت و حتی مصرف کنندگان به روش‌های سریع و ساده ای می‌باشد که به آسانی قابل استفاده برای شناسائی گونه ای در آزمایشگاه هایشان باشند. بنابرسعی شده که این روش‌ها هرچه که ممکن است ساده تر باشند، اگر مسیری را که برای شناسائی گونه در گوشت دام طی شده، در مورد ماهی بکار گرفته شود، به زودی کیت‌های (Kits) شناسائی گونه ای برای ماهی مثل گوشت در بازار در اختیار علاقمندان قرار خواهد گرفت. بعضی از کیت‌های شناسائی گونه ای برای گوشت در فرآورده، براساس آنتی بادی و آنتی ژن (Antibody / antigens) می‌باشند که باعث شناسائی Antigen خاص می‌گردند. نمونه ای از این کیت ها برای گوشت دام "Biokits for Animal Speciation Testing" می‌باشد که توسط شرکت Tepnel Biosystems Limited در (UK)، هم چنین کیت "Cooked Meat Species Identification Kit" توسط شرکت Cortecs Diagnostics و کیت ساخته شده توسط شرکت Elisa بنام "Dtek™Immunostick" در آمریکا می‌باشد. این روش‌ها به سادگی برای شناسائی گونه ای در

گوشت(۱) قابل استفاده بوده و نیازی به تجهیزات مخصوص ندارند. هیچ گونه روشی بصورت تجاری برای شناسائی گونه‌های ماهی در فرآورده‌های آن فعلاً وجود ندارد، علت آن این است که توسعه چنین روشی بعلت وجود تعداد زیاد گونه‌های ماهی تجارتی بسیار مشکل است. از طرف دیگر تمایز گونه ای در بین ماهی‌ها بعلت شباهت زیاد ژنتیکی آنها بهم در مقایسه با گوشت دام‌ها بسیار زیادتر می‌باشد. معمولاً مشکل اصلی شناسائی گونه ای بین یک جنس و یا در بهترین حالت در بین یک فامیلی از ماهی‌ها می‌باشد.

استفاده از روش‌های سریع که براساس DNA (Rapid kits). برای شناسایی گونه‌ها در ماهی می‌باشند ممکن است باعث تسهیل در تولید این گونه کیت‌های (Kits) تجارتی برای شناسائی گونه ای در ماهی‌ها گردد، در حال حاضر کیت‌های شناسائی براین اساس برای جانوران در بازار موجود است، بعنوان مثال "DNA nimal BOS Ident" ساخت شرکت Genescan (Scil Technology holding GmbH) و "SureFood ID-Animal" ساخت شرکت (Congen Biotechnologie GmbH) در آلمان را می‌توان نام برد. اساس کار این کیت‌ها برپایه استفاده از شاخص تراشه خاص هیبرید شده (Specific DNA Probe Hybridisat ion) DNA و شناسائی آن بوسیله شاخص هیبرید شده با ELISA (شکل ۴-۲۳) می‌باشد. دو مرتبه، هیچ گونه کیت برای شناسائی گونه ای ماهی براساس این روش بصورت تجارتی به بازار عرضه نشده است. راهکار دیگر استفاده از روش سلسله ساختاری DNA که معروف به تراشه‌های DNA است می‌باشد. توسعه روزانه این روش نشان دهنده قابلیت استفاده آن برای شناسائی گونه‌ای در ماهی بوسیله کیت می‌باشد. اساس کار آن برپایه استفاده از نوکلئوتیدهای با دانسیته بالا (High-Density Oligonucleotied Probe Assys) که بنام تراشه DNA(DNA chips) معروف است می‌باشد. با استفاده از تعداد زیادی از DNA، و شاخص‌های نوکلئوتیدی (Oligonucleotide Probes)، می‌توان نسبت به شناسائی سلسله ساختاری نوکلوتید مورد نظر اقدام نمود (Chee *et al.*,1996). مثلاً می‌توان برای شناسائی گونه ای سلسله ساختاری ۱۶۰۰۰pb می‌توان از شاخص ردیاب‌های ۶۶۰۰۰ استفاده نمود (Chee *et al.*,1996). روش کار به این ترتیب است که شاخص و یا ردیاب بصورت شیمیائی به یک سوبسترا جامد متصل می‌گردد و سپس سلسله ساختاری گونه ناشناس بوسیله یک نمایانگر فلورسنتی نشانه گذاری و همراه با ردیاب انکوباسیون می‌شود. اگر نمونه ناشناس دارای سلسله ساختاری مکمل ردیاب در تراشه DNA باشد تولید هیبرید خواهد نمود. پایداری این هیبرید بستگی به مقدار تطابق بین ردیاب و سلسله ساختاری DNA گونه ناشناس دارد. سپس بوسیله یک سیستم برای‌اندازه‌گیری فلورسنس از تعداد تراشه‌های DNA بکار برده شده عکس‌برداری بعمل می‌آید و بدین

ترتیب مشخص می‌شود که عمل هیبرید در کدام قسمت از سلسله ساختاری در DNA گونـه ناشـناس صـورت گرفته. با استفاده از یک نرم افزار عکس‌های بدست آمده پردازش و محل هم مانند بودن شاخص ردیاب با محل هم مانند در DNA گونه ناشناس مشخص گردیده و بدین ترتیب گونه هدف، شناسائی مـی‌گـردد (Lipshutz *et al.*,1995).



شکل۴-۲۳: اساس شناسایی گونه ماهی با استفاده از ردیاب‌های *DNA* که همراه با سیستم شناسایی آنتی بادی مورد استفاده قرار می‌گیرد

۹-۲۳- منابع برای دستیابی به اطلاعات و راهنمایی بیشتر

۱-۹-۲۳- منابع (Websites) در رابطه با مشکل شناسائی گونه ای

وب سایت‌های مهم در رابطه با شناسائی گونه ای و دیگر اطلاعات مربنط به ماهی عبارتند از:

۱. Fishbase http://www.fishbase.org/search.cfm می‌باشد. این وب سایت در اینترنت یکی از بزرگترین منبع‌ها برای اطلاعات مربوط به بیولوژی ماهی از قبیل: فامیلی، واژه‌های مربوط به اجزاء ماهی (Key Featore)، اهمیت گونه در شیلات، عکس ها، اطلاعات مربوط به مورفولوژی (Morphological Dat a)، روش‌های صید و غیره می‌باشد. دسترسی به این اطلاعات از یک موتور تحقیق کننده (Searchengine) با دو ورودی مشخص: یکی با اسفتاده از نام عمومیو دیگری نام علمی‌امکان پذیر است. هم چنین این امکان را می‌دهد که نام فامیلی ماهی‌ها و تعدادی از اطلاعات مرتبط با بسیاری از گونه‌ها را مثل تعداد کروموزوم، تعداد تکرار کروموزوم‌ها (Level of Ploidy)، ارتباط با بانک ژنتیکی، مناطق صید و غیره را بدست آورد.

۲. Regulatory Fish Encyclopaedia به نشانی http://Vm.cfsan.fda.gov/~frf/rfeo.htmI می‌باشد. این وب سایت یکی از اصلی ترین منبع دسترسی به اطلاعات مربوط به شناسائی گونه ای در فرآورده‌های دریایی می‌باشد. از طرف دیگر Regulatory Fish Encyclopaedia اطلاعات مربوط به IEF در مورد بسیاری از گونه‌های ماهی را، همراه با عکس گونه، بازار فروش در آمریکا، مشخصات IEF مربوط به گونه، اسم عمومی، اسم علمی، اسم بازاری گونه، شرکت‌های فعال و غیره را در اختیار علاقمندان قرار می‌دهد.

۳. http://www.fisheries.vims.edu/fishgenetics/ این وب سایت اطلاعات مربوط به شناسائی گونه ماهی از طریق مولکولی (Molecular identification) و تعدادی از نشریه‌های فعال در این زمینه را معرفی می‌نماید. از دیگر اطلاعات قابل دسترسی از طریق این وب سایت، اطلاعات آماری و قراردادهای مربوطه و استفاده از روش DNA-BASED برای شناسائی گونه ای را می‌توان دریافت نمود.

۴. http://www.amonline.net.au/fishes/ از طریق این وب سایت می‌توان اطلاعات مربوط به مورفولوژی گونه‌های مختلف ماهی را از طریق online برای شناسائی گونه ای را دریافت نمود.

۱۰-۲۳- منابع فصل بیست و سوم

AN H., KLEIN P.A., KAO K.-J., MARSHALL M.R., OTWELL W.S., WEI C. 1990. Development of monoclonal antibody for rock shrimp identification using enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Agric. Food Chem.* 38: 2094–100.

ANDREWS C.D., BERGER R.G., MAGEAU R.P., SCHWAB B., JOHNSTON R.W. 1992. Detection of beef, sheep, deer, and horse in cooked meat products by enzyme-linked immunosorbent assay. *J. AOAC Inst.* 75(3): 572–6.

AOAC 1990. Official methods of analysis. 15th edn., p. 883–9. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.

ARMSTRONG S.G., LEACH D.N., WYLLIE S.G. 1992. The use of HPLC protein profiles in fish species identification. *Food Chem*. 44: 147–55.

ASHOOR S.H., KNOX M.J. 1985. Identification of fish species by high-performance liquid chromatograpHy. *J. Chromat.* 324: 199–202.

AYALA F.J. 1983. Enzymes as taxonomic characters. Systematics Association Special Volume No. 24, *Protein polymorpHism: Adaptive and Taxonomic significance*, edited by G.S. Oxford and D. Rollinson, 1983, Academic Press, London and New York.

BAKER C.S., PALUMBI S.R. 1994. Which whales are hunted? A molecular genetic approach to monitoring whaling. *Science* 265: 1538–9.

BARTLETT S.E., DAVIDSON W.S. 1992. FINS (Forensically Informative Nucleotide Sequencing): a procedure for identifying the animal origin of biological specimens. *Biotechniques* 12(3): 408–11.

BEJ A.K., MAHBUBANI M.H., ATLAS R.M. 1991. Amplification of nucleic acids by polymerase chain reaction (PCR) and other methods and their aplications. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol*. 26(3/4): 301–34.

BORGO R., SOUTY-GROSSET C., BOUCHON D., GOMOT L. 1996. PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA for identification of snail meat species. *J. Food Sci*61(1): 1–4.

BOSSIER P. 1999. Authentication of seafood products by DNA patterns. *J. Foo Sci.* 64(2): 189–93.

CARRERA E., GARCI´A T., CE´SPEDES A., GONZA´ LEZ I., SANZ B., HERNA´ NDEZ P.E., MARTI´N R. 1997. Immunostick colorimetric ELISA assay for the identification of smoked salmon, trout and bream. *J. Sci. Food Agric.* 74: 547–50.

CARRERA E., MARTI´N R., GARCI´A T., GONZA´ LEZ I., SANZ B., HERNA´ NDEZ P.E. 1996. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for thedentification of smoked salmon (*Salmo salar*), trout (*Oncorhynchu mykiss*) and bream (*Brama raii*). *J. Food Protect.* 59: 521–4.

CARRERA E., GARCI´A T., CE´SPEDES A., GONZA´ LEZ I., FERNA´ NDEZ A., HERNA´ NDEZ P.E., MARTI´N R. 1999. Salmon and Trout analysis by PCR-RFLP for identity authentication. *J. Food Sci.* 64(3): 410–13.
CERDA H., KOPPEN G. 1998. DNA degradation in chilled fresh chicken studied with the neutral comet assay. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* A 207:22–25.
CE´SPEDES A., GARCI´A T., CARRERA E., GONZA´ LEZ I., SANZ B., HERNA´ NDEZ P.E., MARTE´N R. 1998. Identification of flatfish species using polymerase chain reaction (PCR) amplification and restriction analysis of the cytochrome b gene. *J. Food Sci.* 63: 206–9.
CE´SPEDES A., GARCI´A T., CARRERA E., GONZA´ LEZ I., FERNA´ NDEZ A., ASENSIO L., HERNA´ NDEZ P.E., MARTI´N R. 2000. Genetic differentiation between sole (*Solea solea*) and Greenland halibut (*Reinhardtius hippoglossoides*) by PCR-RFLP analysis of a 12S rRNA gene fragment. *J. Sci. Food Agric.* 80: 29–32.
CHEE M., YANG R., HUBBELL E., BERNO A., HUANG X.C., STERN D., WINKLER J., LOCKHART D.J., MORRIS M.S., FODOR S.P.A. 1996. Accessing genetic information with high-density DNA arrays. *Science* 274:610–4.
CHEN F.-CH., PEGGY-HSIEH Y.-H., BRIDGMAN R.C. 1998. Monoclonal antibodies to porcine thermal stable muscle protein for detection of pork in raw and cooked meats. *J. Food Sci.* 63(2): 201–5.
CHIKUNI K., OZUTSUMI K., KOISHIKAWA T., KATO S. 1990. Species identification of cooked meats by DNA hybridization assay. *Meat Sci*. 27: 119–28.
CHOW S., CLARKE M.E., WALSH P.J. 1993. PCR-RFLP analysis of thirteen western Atlantic snappers (subfamily Lutjaninae): A simple method for species and stock identification. *Fish Bull*. 91: 619–27.
CIPRIANO F., PALUMBI S. R. 1999. Rapid genotyping techniques for identification of species and stock identity in fresh, frozen, cooked and canned whale products. Report to the Scientific Committee, International Whaling Commission SC/51/09.
COCOLIN L., D'AGARO E., MANZANO M., LANARI D., COMI G. 2000. Rapid PCRRFLP method for the identification of marine fish fillets (Seabass, Seabream, Umbrine, Dentex). *J. Food Sci.* 65(8): 1315–7.
CONGIU L., DUPANLOUP I., PATARNELLO T., FONTANA F., ROSSI R., ARLATI G., ZANE L. 2001. Identification of interspecific hybrids by AFLP: the case of sturgeons. *Mol. Ecol*. 10(9): 2355–9.
COWIE W. 1968. Identification of fish species by thin slab polyacrylamide gel electropHoresis. *J. Sci. Food Agric*. 19: 226–9.
CROSSLAND S., COATES D., GRAHAME J., MILL P.J. 1993. Use of random amplified polymorpHic DNAs (RAPDs) in separating two sibling species of Littorina. *Mar. Ecol. Progress. Ser*. 96: 301–5.
DENNIS M.J., ASHURST P.R. 1996. An introduction to food authentication. In *Foo Authentication*, Ashurst P.R., Dennis M.J. (eds), Blackie Academic and Professional, London (UK).
DESALLE R., BIRSTEIN V.J. 1996. PCR identification of black caviar. *Nature* 381: 197–8.

DINESH K.R., CHAN W.K., LIM T.M., PHANG V.P.E. 1995. RAPD markers in fish: an evaluation of resolution and reproducibility. *As. Pac. J. Mol. Biol. Biotechnol.* 3: 112–18.
DINESH K.R., LIM T.M., CHUA K.L., CHAN W.K., PHANG V.P.E. 1993. RAPD analysis: an efficient method of DNA fingerprinting of fishes. *Zool. Sci.* 10: 849–54.
DOMINGUEZ E., PE´REZ D., PUYOL P., CALVO M. 1997. Use of immunological techniques for detecting species substitution in raw and smoked fish. *Z Lebensm. Unters. Forsch.* 204: 279-281.
DOTSON R.C. 1976. In *PHysiological ecology of tunas*. Sharp D., Dizon A.E. (eds), Academic Press, New York (USA). EBBEHØJ, K.F., THOMSON P.D. 1991. Species differentiation of treated meat products by DNA hybridization. *Meat Sci*. 30: 221–34. FAO. 2000. *The state of world fisheries and aquaculture*.
GALLARDO J.M., SOTELO C.G., PIN˜ EIRO C., PE´REZ-MARTI´N R.I. 1995. Use of capillary zone electropHoresis for fish species identification. Differentiation of flatfish species. *J. Agric. Food Chem.* 43: 1238–44.
GOSLING E.M. 1994. Speciation and wide-scale genetic differentiation. In *Genetics and evolution of Aquatic Organisms*. Beaumont A.R. (ed). Chapman & Hall. London (UK).
GROSBERG R.K., LEVITAN D.R., CAMERON B.B. 1996. Characterization of genetic structure and genealogies using RAPD-PCR markers: a random primer for the novice and nervous. In *Molecular Zoology*. *Advances, strategies and protocols*'. Ferraris J.D., Palumbi S.R. (eds), Wiley-Liss, Inc.
HAYASHI H. 1991. PCR-SSCP: a simple and sensitive method for detection of mutations in the genomic DNA. *PCR Meth. Applic.* 1: 34–8.
HOLD G.L., RUSSELL V.J., PRYDE S.E., REHBEIN H., QUINTEIRO J., REY-ME´NDEZ M., SOTELO C.G., PE´REZ-MARTI´N R.I., SANTOS A.T., ROSA C. 2001a. Validation of a PCR-RFLP based method for the identification of salmon species in food products. *Eur. J. Food Res. Tech.* 212: 385–9.
HOLD G.L., RUSSELL V.J., PRYDE S.E., REHBEIN H., QUINTEIRO J., VIDAL R., REYMENDEZ M., SOTELO C.G., PE´REZ-MARTI´N R.I., SANTOS A.T., ROSA C. 2000b. The development of a DNA based method aimed at identifying the fish species present in food products. *J. Agric. Food Chem.* 49(3): 1175–9.
HSIEH Y.H.-P., JOHNSON M.A., WETZSTEIN C.J., GREEN N.R. 1996. Detection of species adulteration in pork products using agar-gel immunodiffusion and enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Food Qual*. 19: 1–13.
HUANG T., MARSHALL M.R., KAO K., OTWELL W.S., WEI C. 1995. Development of monoclonal antibodies for red snapper (*Lutjanus campechanus*) identification using enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Agric. Food Chem*. 43: 2301–7.
HUNT D.J., PARKES H.C., LUMLEY I.D. 1997. Identification of the species of origin meat products using oligonucleotide probes. *Foo* of raw and cooked *Chem*. 60(3): 437–42.

KANG'ETHE E., LINDQVIST K.J. 1987. Thermostable muscle antigens suitable for use in enzyme immunoassays for identification of meat from various species. *J. Sci. Food Agric.* 39: 179–84.
LAW J.C., FACHER E.A., DEKA A. 1996. Nonradioactive single-strand conformation polymorpHism analysis with application for mutation detection in a mixed population of cells. *Anal. Biochem*. 236: 373–5.
LEBLANC E.L., SINGH S., LEBLANC R.J. 1994. Capillary zone electropHoresis of fish muscle sarcoplasmic proteins. *J. Food Sci.* 59(6): 1267–70.
LIPSHUTZ R.J., MORRIS D., CHEE M., HUBBELL E., KOZAL M.J., SHAH N., SHEN N., YANG R., FODOR S.P.A. 1995. Using oligonucleotide probe arrays to access genetic diversity. *Biotechniques* 19(3): 442–7.
MACKIE I.M. 1969. Identification of fish species by a modified polyacrylamide disc electropHoresis technique. *J. Assoc. Publ. Anal*. 83–7.
MACKIE I.M. 1980. A review of some recent applications of electropHoresis and iso-electricfocusing in the identification of species of fish in fish and fish products. In: *Advances in fish science and technology*. Connell J.J. (ed) Fishing New Books, Farnham (UK).
MACKIE I.M. 1996. Authenticity of fish. In *Food Authentication*. Ashurst P.R., Dennis M.J. (eds), Blackie Academic & Professional, London (UK).
MACKIE I.M., CHALMERS M., REECE P., SCOBBIE A.E., RITCHIE A.H. 1992. The application of electropHoretic techniques to the identification of species of canned tuna and bonito. In *Pelagic fish. The resource and its exploitation.* Burt J.R., Hardy R., Whittle K.J. (eds). Fishing News Books, Oxford (UK). MACKIE I.M., CRAIG A., ETIENNE M., JEROME M., FLEURENCE J. , JESSEN F., SMELT A., KRUIJT A., MALMHEDEN YAMN I., FERM M., MARTI´NEZ I., PE´REZ- MARTI´N R.I., PIN˜ EIRO C., REHBEIN H., KU¨ NDIGER R. 2000. Species identification of smoked and gravad fish products by sodium dodecylsulpHate polyacrylamide gel electropHoresis, urea isoelectric focusing and native isoelectric focusing: a collaborative study. *Food Chem.* 71: 1–7.
MARTI´NEZ I. 1997. DNA typing of fish products for species identification. In *Seafood from producer to consumer, integrated approach to quality*. Luten J.B., Børrensen T. and Oehlenshla¨ger J. (eds), pp. 497–506. Developments in Food Science 38, Elsevier, Amsterdam.
MARTI´NEZ I., DANI´ELSDO´ TTIR A.K. 2000. Identification of marine mammal species in food products. *J. Sci. Food Agric.* 80: 527–33.
MARTI´NEZ I., MALMHEDEN YMAN I. 1998. Species identification in meat products by RAPD analysis. *Food Res. Int*. 31(6-7): 459–66.
MARTI´NEZ, I., JAKOBSEN T., CARECHE, M. 1997 Post-mortem degradation in the Northern shrimp *Pandalus borealis.* 27th WEFTA Meeting. October 19–22, 1997. Madrid, Spain
MAYR E. 1970. *Populations, species and evolution*. Harvard University Press, Cambridge, Ma (USA).

MCELHINNEY J., DOWNEY G., O'DONNELL. 1999. Quantitation of lamb content in mixtures with raw minced beef using visible, near and mid-infrared spectroscopy. *J. Food Sci.* 64(4): 587–91.
MEDINA I., AUBOURG S.P., PE´REZ-MARTI´N R.I. 1997. Species differentiation by multivariate analysis of pHospHolipids from canned Atlantic tuna. *J. Agric Food Chem.* 45: 2495–9..
MULLIS K.B. 1990. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scient Am.* 262: 56–65.
MULLIS K.B., FALOONA F.A. 1987. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase catalysed chain reaction. *Meth. Enzymol.* 155: 335–50.
PARK L.K., MORAN P. 1994. Developments in molecular genetic techniques in fisheries. *Rev. Fish Biol. Fish*. 4: 272–99.
PIN˜ EIRO C., BARROS-VELA´ ZQUEZ J., PE´REZ-MARTI´N R.I., MARTI´NEZ I., JACOBSEN T., REHBEIN H., KU¨ NDIGER R., MENDES R., ETIENNE M., JEROME M., CRAIG A.,
MACKIE I.M., JESSEN F. 1999. Development of a sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electropHoresis reference method for the analysis and identification of fish species in raw and heat-processed samples: a collaborative study. *ElectropHoresis* 20: 1425–32.
PIN˜ EIRO C., BARROS-VELA´ ZQUEZ J., SOTELO C.G., GALLARDO J.M. 1999. The use of two-dimensional electropHoresis for the identification of commercial flat fish species. *Z. Lebens. Unters. Forsch.* A 208: 342–8.
PIN˜ EIRO C., SOTELO C.G., MEDINA I., GALLARDO J.M., PE´REZ-MARTI´N R.I. 1997. Reversed-pHase HPLC as a method for the identification of gadoid fish species. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* A 204: 411–16.
PIN˜ EIRO C., VA´ ZQUEZ J., MARINA A.I., BARROS-VELA´ ZQUEZ B., GALLARDO J.M. 2001. Characterization and partial sequencing of species-specific sarcoplasmic polypeptides from commercial hake species by mass spectrometry following two-dimensional electropHoresis. *ElectropHoresis* 22: 1545-52.
PIN˜ EIRO C., VELA´ ZQUEZ J.B., SOTELO C.G., PE´REZ-MARTI´N R.I. AND GALLARDO J.M. 1998. Two-Dimensional electropHoretic study of the water-soluble protein fraction in white muscle of Gadoid fish species. *J. Agr. Food Chem*. 46: 3991–7.
QUINTEIRO J., SOTELO C.G., REHBEIN H., PRYDE S.E., MEDINA I., PE´REZ-MARTI´N R.I.,
REY-ME´NDEZ M., MACKIE I.M. 1998. Use of mtDNA direct polymerase chain reaction (PCR) sequencing and PCR-restriction fragment length polymorpHism methodologies in species identification of canned tuna. *J. Agric. Food Chem.* 46: 1662–9.
QUINTEIRO J., VIDAL R., IZQUIERDO M., SOTELO C.G., CHAPELA M.J., PE´REZ-MARTI´N R.I., REHBEIN H., HOLD G., RUSSELL V.J., PRYDE S.E., ROSA C., SANTOS A.T.,
REY-ME´NDEZ M. 2001. Identification of hake species (*Merluccius genus*) using sequencing and PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA control region sequences. J. Agr. *Food Chem*. 49: 5108–14.

RAM J.L., RAM M.L., BAIDOUN F.F. 1996. Authentication of canned tuna and bonito by sequence and restriction site analysis of polymerase chain reaction products of mitochondrial DNA. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2460–7.

REHBEIN H. 1990. ElectropHoretic techniques for species identification of fishery products. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 191: 1–10.

REHBEIN H., ETIENNE M., JEROME M., HATTULA T., KNUDSEN L.B., JESSEN F., LUTEN J., BOUQUET W., MACKIE I.M., RICHIE A.H., MARTIN R., MENDES R. 1995. Influence of variation in technology on the reliability of the isoelectric focusing method of fish species identification. *Food Chem*. 52: 193–7.

REHBEIN H., KU¨ NDIGER R. 1984. Comparison of the isoelectric focusing patterns of the sarcoplasmic proteins from red and white muscle of various fish species. *Arch. Fisch. Wiss.* 35: 7–16.

REHBEIN H., KU¨ NDIGER R., MALMHEDEN YMAN I., FERM M., ETIENNE M., JEROME M., CRAIG A., MACKIE I.M., JESSEN F., MARTI´NEZ I., MENDES R., SMELT A., LUTEN J., PIN˜ EIRO C., PE´REZ-MARTI´N R.I. 1999a. Species identification of cooked fish by urea isoelectric focusing and sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electropHoresis: a collaborative study. *Food Chem*. 67: 333–9.

REHBEIN H., MACKIE I.M., PRYDE S., GONZA´ LEZ-SOTELO C., MEDINA I., PE´REZMARTI´N R.I., QUINTEIRO J., REY-ME´ NDEZ M. 1999b. Fish species identification in canned tuna by PCR-SSCP: validation by a collaborative study and investigation of intra-species variability of the DNA patterns. *Food Chem*. 64: 263–8.

REHBEIN H., MACKIE I.M., PRYDE S., GONZA´ LEZ-SOTELO C., PE´REZ-MARTI´N R.I., QUINTEIRO J., REY-ME´NDEZ M. 1998. Comparison of different methods to produce single-strand DNA for identification of canned tuna by single strand conformation polymorpHism analysis. *ElectropHoresis* 19: 1381–4.

RUSSELL V.J., HOLD G.L., PRYDE S.E., REHBEIN H., QUINTEIRO J., REY-ME´NDEZ M., C.G., PE´REZ-MARTI´N R.I., SANTOS A.T., ROSA C. 2000. Use of SOTELO restriction fragment length polymorpHism to distinguish between Salmon species. *J. Agric. Food Chem.* 48: 2184–8.

SAIKI R.K., GELFAND D.H., STOFFEL S., SCHARF S.J., HIGUCHI R., HORN G.T., MULLIS K.B., ERLICH H.A. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487–90.

SCOBBIE A.E., MACKIE I.M. 1988. The use of Sodium Dodecyl SulpHate polyacrylamide gel electropHoresis in fish species identification – a procedure suitable for cooked and raw fish. *J. Sci. Food Agric.* 44: 343–351.

SOTELO C.G., PIN˜ EIRO, C. GALLARDO J.M. AND PE´ REZ-MARTI´N R.I. 1992. Identification of fish species in smoked fish products by electropHoresis and isoelectric focusing. *Z. Lebens. Unters. Forsch.* 195: 224–7.

SOTELO C.G., CALO-MATA P., CHAPELA M.J., Pe´REZ-MARTı´N R.I., REHBEIN H., HOLD G.L., RUSSELL V., PRYDE S., QUINTEIRO J., IZQUIERDO M., REY-Me´NDEZ M., ROSA C. SANTOS A.T. 2001. Identification of flatfish species using DNA based techniques. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4562–9.

TAYLOR W.J., PATEL N.P., JONES J.L. 1994. Antibody-based methods for assesing seafood authenticity. *Food Agric. Immunol*. 6: 305–14.

UNSELD M., BEYERMANN B., BRANDT P., HIESEL R. 1995. Identification of the species of origin of highly processed meat products by mitochondrial DNA sequences. *PCR Meth. Applic.* 4: 241–3.

VERREZ-BAGNIS V. 1993. The performance of ELISA and Dot-blot methods for the detection of crab flesh in heated and sterilized surimi-based products. *J. Sci. Food Agric.* 63: 445–9

WHITAKER R.G., SPENCER T.L., COPLAND J.W. 1983. An enzyme-linked immunosorbent assay for species identification of raw meat. *J. Sci. Food Agric*. 34: 1143–8.

WINTERO A.K., THOMSEN P.D., DAVIES W. 1990. A comparison of DNAhybridization, immunodiffusion, countercurrent immunoelectropHoresis and isoelectricfocusing for detecting the admixture of pork to beef. *Meat Sci*. 27: 75–85.

WOLF C., BURGENER M., HU¨ BNER P., LU¨ THY J. 2000. PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA: differentiation of fish species. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 33: 144–50.

WOLF C., HU¨ BNER P., LU¨ THY J. 1999. Differentiation of sturgeon species by PCRRFLP. *Food Res. Int*. 32: 699–705.

«**فصل بیست و چهارم**»

روش‌های طیف سنجی چند متغیری برای تعیین ویژگیهای کیفی[1]

۱-۲۴- مقدمه‌ای بر روش‌های اسپکتروسکوپی چند متغیری

اسپکتروسکوپی روشی است که دارای مزایای فراوانی برای آنالیز مواد غذایی مثل تعیین ترکیب آن و دیگر ویژگیهای مرتبط با کیفیت مواد غذائی می‌باشد.اندازه گیریهای اسپکتروسکوپی اغلب سریع در مقایسه با روش های دیگر مثل روش‌های مرطوب شیمیائی می‌باشد (Wet chemical methods) ، که به این دلیل امکان نمونه برداری زیاد و آزمایش آن‌ها در فواصل زمانی کوتاه را میسر می‌سازد. علاوه بر آن، چند روش اسپکتروسکوپی وجود دارند که می‌توان بصورت مستقیم نمونه را بوسیله آنها مورد آزمایش قرار داد، و نیازی به آماده سازی نمونه برای آزمایش وجود ندارد، و یا فقط نیاز به آماده سازی جرئی مثل چرخ نمودن نمونه دارند. بنابراین، این روش ها، قابلیت استفاده در خط تولید (*at-line*) و یا حتی بصورت *On-line* برای‌اندازه‌گیری ویژگی‌های مواد غذائی را دارا می‌باشند.

بخش وسیعی از طیف الکترومغناطیسی برای اسپکتروسکوپی از میکروویوهای با انرژی کم، طول موج بالا، اشعه مادون قرمز، از طریق اشعه متوسط مادون قرمز، نزدیک به مادون قرمز، اشعه‌های قابل دید، اشعه UV تا اشعه X با انرژی بالا و اشعه گاما و دیگر انواع اشعه‌ها مثل اشعه ماوراء صوتی به صورت موفقیت آمیزی در صنایع غذائی به کار گرفته شده‌اند. از آنجائیکه آنها با مولکولهای مختلف و پیوندهای مولکولی به صورت

---

[1] - Multivariate Spectrometric Methods for Determining Quality Attributes

زیادی واکنش می‌دهند،بنابراین آنها قادرند که تعداد وسیعی از کاربردهای متفاوت را بصورت جداگانه و یا با هم دیگر پوشش دهند، مثلاً در مشخص کردن ویژگیهای از تعدادی از نمونه‌های مواد غذایی.

معمولاً روش‌های اسپکتروسکوپی می‌توانند نتیجه چند بعدی را ایجاد کنند مثل مجموعه‌ای از نتایج، یا منحنی، که معمولاً به جای یک عدد برای هر نمونه مورد استفاده واقع می‌شوند. این ویژگی بسیار مفید است چون این روش شناسایی اغلب باعث شناسائی و تصحیح فاکتورهای دخالت کننده را میسر می‌سازد. مشکل این ویژگی در آن است که نیاز به بعضی از روش‌های ریاضی کم و بیش، پیشرفته برای به دست آوردن نتیجه نهایی را ضروری می‌سازد که بعنوان مثال می‌توان یک ویژگی کیفی از مواد غذائی باشد. بنابراین اسپکتروسکوپی به یک روش طیف سنجی تبدیل شده است. سه روش طیف‌سنجی که برای ارزیابی ویژگیهای مرتبط با کیفیت غذا خیلی مفید می‌باشند مورد بحث واقع خواهند شد. نوع اطلاعات داده شده و روش‌های ریاضی استفاده شده برای استخراج فاکتورهای مورد نظر از اطلاعات بدست آمده با همدیگر متفاوت هستند و آنها به کمک هم تصویرکاملی از کاربرد طیف سنجی در مواد غذائی را ارائه می‌دهند.

۲-۲۴- طیف سنجی بوسیله اشعه نزدیک به مادون قرمز

محدوده طول موج NIR[1] از ۷۸۰ تا ۲۵۰۰ نانومتر برای تحقیقات در زمینه مواد غذایی ثابت شد که بسیار مناسب می‌باشد. چگونگی تعیین طیف سنجی از مولکول‌های بزرگ در آب، پروتئین، چربی و کربوهیدرات تقریباً برای همه انواع مواد غذایی که شامل ماهی و فرآورده‌های آن می‌باشد انتشار یافته است. جذب نور در محدودهٔ مرئی و UV تقریباً به خاطر انتقال‌های الکترونی، جذب اشعه مادون قرمز باعث انتقال بین حالت‌های نوسانی می شود. فرکانس‌های معروف به گروه در اشعه مادون قرمز– متوسط عمدتاً با انتقال‌در بین حالت نوسانی زمینه‌ای و نزدیکترین همسایه مجاور آن (تن‌های زمینه ای) (ground-tones) انطباق می‌یابند که شامل یک پیوند در هر زمان می‌باشد، در حالیکه در محدوده اشعه نزدیک مادون قرمز حاوی انتقال‌هایی است که شامل چندین پیوند (Combination tones) یا انتقال‌ها به حالت قرار گرفته در سطوح بالاتر (Overtones) می‌شوند. این انتقال ها فقط برای نوسانات نامنظم قابل استفاده می‌باشند و شدت‌های آن خیلی کمتر از تن‌های زمینه‌ای است. در عمل، فقط پیوندهایی که شامل اتم هیدروژن سبک هستند به صورت قابل توجهی به انتقال‌های تحریک شده به

[1] - Near-Infrared

وسیله نور نزدیک به مادون قرمز کمک می‌کنند. این چنین پیوندها که در مواد غذائی فراوان هستند، شامل: C-H(چربی و پروتئین)، O-H (آب و کربو هیدرات) و N-H (پروتئین) می‌باشد.

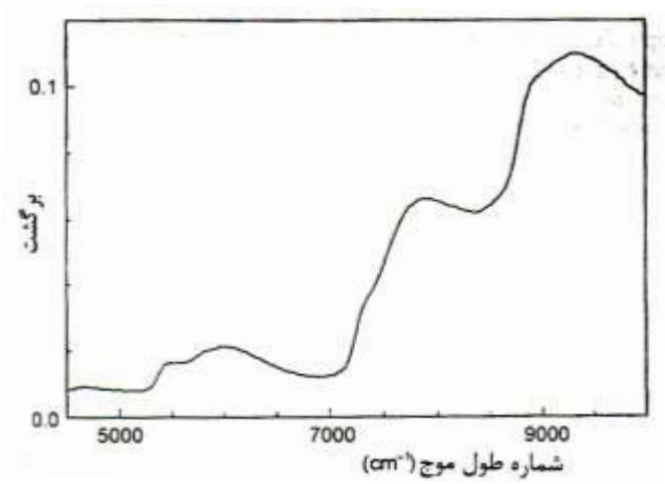
دو فاکتور دیگر قابلیت انعطاف پذیری طیف سنجی را افزایش می‌دهد. اول حساسیت پائین به علت شدت انتقال کم و دوم اختلاف بسیار دقیق انرژی که بین حالت‌های نوسانی وجود دارد. یا به عبارت دیگر طول موجی که نور را جذب می‌کند، نسبت به محیط‌های اطراف پیوندهای شیمیایی مورد نظر خیلی حساس است. این حساسیت پائین دراندازه گیری‌های ویژگی‌های نمونه خیلی مفید است، چون امکان‌اندازه‌گیری از فاکتور موردنظر را به صورت مستقیم روی سطح ماده بیولوژیکی را بدون نیاز به زمان جهت آماده کردن نمونه را فراهم می‌کند. این وضعیت باعث ایجاد امکان‌اندازه‌گیری‌های غیر مخرب مواد غذائی در خط تولید و یا بصورت On-line را فراهم می‌کند. در نتیجه انعطاف پذیری انرژی انتقالی که موجب به هم زدن وضعیت مدار الکترونی شرایطی را فراهم می‌آورد که طیف‌های نزدیک به NIR دارای اطلاعاتی بیشتر، علاوه بر اطلاعات مربوط به غلظت مواد جذب کننده نور خواهند شد. یک ماده مثل نمک (Nacl) طعام، که بعلت نداشتن پیوند کووالانسی نور را جذب نمی‌کند، در بعضی شرایط به خاطر واکنش نمک با آب باعث تغییری در ظرفیت طیفی O-H صورت می‌گیرد. شاید از این مهمتر این باشد که واکنش هایی که بین پیوندهای جذب کننده نور در ترکیب‌های بین خودشان و در بین پیوندها و محلول‌ها باعث ایجاد تغییر در طیف‌های رنگی که دارای اطلاعات مرتبط با کیفیت می‌باشد می‌گردد، بعنوان مثال در رابطه با ساختار بافت ماده غذائی.

مشکلی که در کاربرد طیف NIR در مواد پیچیده ای مثل فرآورده‌های غذائی وجود دارد، تعداد زیاد پیوندهایی می‌باشند که دارای جذب نوری بوده و تعداد زیادی از این طیف‌های نوری هم پوشانی دارند، بطوری که جذب نوری یک پیوند به تنهایی قابل تشخیص نمی‌باشد. این پدیده در شکل ۱-۲۴ که طیف جذب نوری در ماهی کاد یخ زدائی شده را نشان می‌دهد به خوبی قابل مشاهده است. دو تا از غالب ترین طیف‌های ایجاد شده از جذب نوری نشأت گرفته از مولکول آب می‌باشند. این دو طیف یکی در طول موج ۱۴۵۰ و دومی‌در طول موج ۱۹۱۰ دیده می‌شوند، اما حتی این دو طیف نتیجه هم پوشانی چند طیف دیگر می‌باشند. از طیف دیگر ساختارهای طیفی دیگر دیده می‌شوند که احتمالاً به وسیله جذب نوری بوسیله پیوندهای C-H و N-H مربوط به پروتئین در عضله ماهی ایجاد گردیده و به سادگی قابل تحلیل نمی‌باشند. بنابراین‌اندازه‌گیری در یک طول موج، برای تعیین کمی‌مولکول‌های بزرگ و نه برای تعیین ساختار و ویژگی‌های مرتبط با کیفیت نمی‌تواند قابل استفاده باشد. به این علت است که از روزهای اول که طیف سنجی بوسیله NIR برای مواد غذائی بکار برده شده از

روش طیف سنجی چند متغیری در محدوده طول موج بکار برده شده استفاده بعمل آمد. در این روش مدل ارزیابی (Calibration Model) براساس رابطه زیر پایه ریزی گردید.

فرمول ۱-۲۴ $Y = f(\bar{x})$

که در رابطه (۲۴-۱): y ویژگی مورد بررسی می‌باشد، مثل غلظت، ساختار تشکیل دهنده ماده غذائی، یا درجه کیفیت ... و $\bar{x}$ برآیندانداز گیری‌های انجام شده در طول موج هایم مختلف، مثل طیف‌های بدست آمده می‌باشد.



شکل ۱-۲۴: اشعه نزدیک به مادون قرمز طیف انعکاسی عضله ماهی کاد (فیله) را نشان می‌دهد. این طیف در فاصله‌ای از ۴۵۰۰ تا ۱۰۰۰۰ بر سانتی متر (۲۲۲۲ تا ۱۰۰۰ نانومتر) گرفته شد. اطلاعات بیشتر در مرجع ۱ و ۴۳ موجود است.

توسعه مدل کالیبره کردن شامل پیدا کردن فاکتورهایی است که باعث ارائه مناسبترین حالت برای حداقل مجموع مربعات یا (Least Squres) می‌شوند. برای انجام آن، باید این موضوع مورد آزمایش و بررسی قرار گیرد، که چگونه اختلاف در مقدارهای X در بین اعضای یک مجموعه از نمونه‌ها، می‌تواند اثرگذار بر روی اختلاف‌ها در مقدارهای y در همان مجموعه از نمونه گردد. این بدان معنا است، که در زمان کالیبره کردن باید ارزش برای مقدارهای y را به وسیله روش دیگر تعیین نمود، بعنوان مثال، از روش‌های کلاسیک شیمیائی باید استفاده بعمل آید. بطور مسلم، از آنجائی که می‌توان از انعطاف پذیری طیف‌های NIR در مقابل انرژی انتقالی که باعث بهم زدن وضعیت مدار الکترونی می گردد نتیجه گیری شود، بخش وسیعی از اختلاف در مقدارهای طیفی (مقدارهای X) ممکن است در y مشابهتی نداشته باشند. لحظه ای تأمل در این مورد، خواننده را متقاعد

خواهد ساخت که اگر در اینجا از روش‌های تک متغیری مثلاًاندازه گیری در یک طول موج معین برای تعیین مقدارهای y استفاده بعمل آید، چنین تناقضی باعث بروز اشتباه در محاسبه خواهد شد. اما به خاطر تعداد زیاداندازه گیری‌ها در نقاط مختلف و یا طول موج‌های مختلف، اگر اختلاف‌های غیر مرتبط که ممکن است دخالت نمایند در زمان مدل سازی در نظر گرفته شوند ممکن است به وسیله خود مدل کالیبرسیون تصحیح شوند. در بعضی از موارد حتی خود مدل کالیبرسیون اقدام به تصحیح اختلافات می‌نماید، بعضی مواقع مفید است ، یا حتی واجب می‌باشد که اقدام به ایجاد فرآیندی مقدماتی بیش از پردازش متغیرها برای x صورت گیرد. این اقدام زمانی دارای کاربرد است که تغییر شکل متغرهای x باعث ایجاد مجموعه جدیدی از متغیرها می‌شود که اختلاف بین آنها بیشتر مرتبط با متغیرهای y باشد:

$$\bar{z} = g(\bar{x}) ; \quad y = f(\bar{z})$$ معادله ۲-۲۴

در فرمول (۲-۲۴)، $\bar{z}$ حاوی مقدارهای‌اندازه‌گیری شده بعد از فرآیند مقدماتی با نماد $\bar{z}$ با عمل عامل g می‌باشد.

قبل از بحث درباره این موضوع به صورت مفصل تر، مناسب که ابتداء یک جمع بندی از مدل روش‌های مورد استفاده در NIR اسپکتروسکپی بعمل آوریم. یکی از روش‌های‌اندازه‌گیری مقدار انتقال نور می‌باشد، که به خوبی برای افرادی که با طیف سنجی UV/VIS با اسپکتومتر کار نموده‌اند آشنا می‌باشد. نور در ابتداء از میان نمونه عبور داده می‌شود، و نور عبور داده شده T(Trasmittance)، به عنوان نسبت بین شدت نور عبور کرده به شدت نور تابیده شده تعریف گردیده. برای محلول‌های رقیق و شفاف، قانون مشهور Lamber Beer Law مورد استفاده قرار می‌گیرد، بنابراین مقدار نور جذب شده که با نماد A نشان داده می‌شود، در لگاریتم پایه ۱۰ برابر $\frac{1}{T}$ بوده و برابر با غلظت مواد جذب کننده (S) در مایع می‌باشد. این قانون هم چنین برای نور نزدیک به طول موج مادون قرمز نیز صدق می‌کند، در این حالت رفتار نمونه ممکن است به نحوی باشد که گویی مایع شفاف است، اگرچه با توجه به نور قابل رویت چنین نمی‌باشد و علت این رفتار بعلت حساسیت کم NIR اسپکتروسپکی بعلت ضریب کم جذب نور می‌باشد. بنابراین می‌توان با استفاده از فرمول ۱-۲۴ و یا ۲-۲۴ براساس عملکرد خطی f برای جذب نور می‌توان یک منحنی کالیبره شده رسم نمود.

یکی دیگر از روش های مورد استفاده مورد علاقه در NIR اسپکتروسکپی، بازتابش یا Difuse Reflectance و یا R می‌باشد. مقدار R نسبت شدت نور بازتابش شده از یک نمونه به نور منعکس شده از یک شاهد، مثلاً یک صفحه سفید سرامیک می‌باشد. در این روش باید فقط نورهایی که مولکول‌های

نمونه ترکیب شده و باعث تغییر در طیف ایجاد شده می‌شوند بایداندازه گیری شوند، نه نورهای تابشی آئینه مانند. با این روش حتی نمونه‌های غلیظ قابل‌اندازه گیری می‌باشند، اما باید در نظر گرفت که آن ها تا عمق خاصی در نمونه نفوذ نموده و قابل‌اندازه گیری می‌باشند(۱). در اکثریت موارد این روش بازتابی، طیف‌ها روش مناسبی را برای اندازه گیری در خط تولید فراهم می‌آورد، مثلاً در مورداندازه گیری ویژگی کیفی در ماهی کاد منجمد شده (۱) و می‌توان از آن در روی خط تولید برای‌اندازه گیری‌های مورد نظر استفاده نمود.

نظریه داده شده درباره بازتاب انتشار (Diffuse Reflectance) خیلی پیچیده تر از تئوری داده شده برای بازتابش فرکانس نور می‌باشد و هنوز بدرستی مورد شناسایی قرار نگرفته و همین مورد درباره فرستادن امواج نیز صدق می‌کند. با فرض داشتن نمونه‌های با ضخامت بی نهایت، مثلاً بیشتر از قدرت نفوذ فرکانس‌های مورد استفاده، فرمول Kubelak-Munck (۲و۵) دارای اعتبار نسبتاً قابل قبولی می‌باشد استفاده نمود. هم چنین معلوم شده که لگاریتم $\left(\frac{۱}{R}\right)$ مشابه جذب که در بیشتر موارد به اسم جذب بین طیفی در میان NIR اسپکتروسکوپیست ها بکار می‌رود، یا بصورت مستقیم و یا پس از پردازش‌های لازم (فرمول ۲-۲۴) دارای رابطه مستقیم خطی مناسب بین مواد جذب کننده و غلظت مواد می‌باشد را بکار ببرد(۵). اما در موارد دیگر، مثلاً در زمانی که ساختار ساختمانی دارای اثر بیشتری می‌باشد، استفاده مستقیم از (R) کالیبرسیون بهتری را ایجاد خواهد نمود.

بازتاب انتشار یافته (Diffuse reflectance) همچنین بستگی به‌اندازه ذرات جذب کننده در نمونه نیز دارد. نمونه‌های تشکیل شده از ذرات مختلف (Heterogeneous) مثل عضله ماهی که هر دو ساختمان عضله و ذرات جذب کننده امواج و واکنش‌های بین آنها از ترکیب‌های مختلف تشکیل شده‌اند، باعث تولید طیف‌های اسپکتومتری پیچیده ای می‌نمایند. در بعضی موارد، طیف ها دارای یک خط پایه ای مخصوص بخودشان می‌باشند که بنظر می‌رسند بوسیله یک طول موج وابسته به فاکتورهای دیگر، برای‌اندازه گیری، این خط پایه ای چندتائی بنظر می‌رسد. در مورد اول، ممکن است پردازش اولیه طیف را با استفاده از جداسازی بوسیله مشتق گیری انجام داد. یک عیب اینکار این است که واکنش‌های اولیه مورداندازه یگری قرار می‌گیرند و واکنش‌های ثاویه طیف حذف می گردند و احتمال خطا افزایش می‌یابد، اگرچه با استفاده از الگوریتم که خطا به علت تفاوتها را با ایجاد یک خط مستقیم بسیار کم می‌کند. از طرف دیگر مشتق گیری باعث باریک شدن و تمایز بین طیف ها در مقایسه با طیف‌های پهن (WIDE) می‌گرد(۶)، که این باعث دوباره سنجیده شدن دوباره اطلاعات بدست آمده می‌گردد.

روش‌پردازش‌اولیه، که در ابتداء بنام روش‌تصحیح پراکنش‌چندتایی (Multiplicative Scatter Correction) ، (۸- γ) نامیده می‌شد از تغییرهای (Versatility) سریع شان تا تولید طیف تولید شده توسط پودر کـه ذرات مـاده اولیـه موثر در بازتابش در آن می‌باشند را می‌توان، بوسیله دومین معادله بـرای بهـم ریختـی (Distortion) اسـتفاده نمود. بعلت کاربرد عام این روش، امـروزه بنـام تصـحیح چنـدتایی پـردازش یـا (Multiplicative Signal Correction)، نامیده می‌شود، بوسیله این روش، هر طیف به صورت خطی در روی طیف میانگین بدست آمـده از کالیبراسیون نمونه ها ارزیابی و باقیمانده طیف ها بعنوان اطلاعات بدست آمده در فرمول ۲۴-۳ مورد اسـتفاده قرار می‌گیرند.

معادله ۳-۲۴ $$g = \tilde{z}_i = \tilde{x}_i - \left(a_i \bar{x}_{ave} + b_i\right)$$

که در این فرمول $\left(a_i\right)$ و $\left(b_i\right)$ فاکتورهای همبستگی برای نمونه $\left(i\right)$با فرض اینکه زمانی که میانگین طیف ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، این میانگین طیف ها شکل غالب برای نمونه مورد بررسی می‌باشد. لذا این نکتـه حائز اهمیت است که تمام میانگین طیف ها برای نمونه ناشناس با انـواع واکـنش‌هـای ممکـن جهـت تحلیـل و شناسائی برای آینده تعیین گردد.

روش‌های دیگر پردازش اولیه ممکن است مورد استفاده قرار گیرند، اما اغلب هیچگونه فرضیه برای اینکـه کـدام یک از روش ها باید انتخاب شوند وجود ندارد. اغلب در این موارد از روش، آزمایش و خطا استفاده بعمل می‌آیـد. هدف از بکاربردن «آزماش و خطا» در این است که تا آنجائی کـه ممکـن اسـت کـه فاکتورهـای غیرمـرتبط بـا فاکتورهایی که باعث تغییر در نمونه می‌شوند را حذف نمود، مثلاً فاکتورهایی که در ار تباط با متغیر دهنـده‌هـای مقدار (y) که بایستی تعیین گردند نمی‌باشند. یـک تعـداد از روش‌هـای جدیـد طراحـی شـده‌انـد کـه بـا حـذف فاکتورهای غیر مرتبط بصورت مستقیم به این هدف می رسند. اساس این روش ها استفاده از حذف مـوادی کـه (Ortogonal) که اثری روی فاکتور y ندارند می‌باشد (۱۲و۹). این روش ها خیلی امیدوار کننده می‌باشـند، امـا مشکل در نبود الگوریتم‌های مورد احتیاج می‌باشد(۱۲). در آینده نزدیک، احتمالاً ایـن روش هـا پـردازش کمـک بزرگی برای طیف سنجی بوسیله NIR خواهند بود.

همچنانکه تابحال بحث گردیده است، استفاده از روش طیف سنجی NIR در پژوهش‌های غذایی وابسته به مدل ارزیابی می‌باشد. مدل ارزیابی می‌تواند براساس روش‌های خطی مثل همبستگی حداقل مجموع مربعات Partial Least Squares (PLS)، یـا بوسـیله روش ارزیـابی غیـر خطـی بنـام شـبکه عصـبی Neutral Networks(NN) پایه ریزی شود. همبستگی حداقل مجموع مربعات از امتیاز نزدیک بهم بودن طول مـوج در

بین نقاط مجاور استفاده می‌کند. این خاصیت موجب نشان دادن ویژگی‌های فاکتورهای پنهان، مثل ساختارهای طیفی که در همه نمونه ها وجود دارد، و تاثیر آنها در تولید ساختار طیفی که مرتبط با مقداری که باید در طیف نمونه‌اندازه گیری گردد، می‌شود. اگر فقط یکی از فاکتورها در نمونه وجود داشته باشد، شکل آن باید در طیف موادی که مورد شناسائی واندازه‌گیری می‌باشند باید مشخص شود. بهرصورت، چندین فاکتور غالباً برای جلویگری از اختلال در بررسی مورد احتیاج‌اند. عدم وجود رابطه خطی بین علائم طیفی و متغیر y تا حدودی کهقابل مدل سازی، بوسیله چند فاکتور اضافی باشد.

در روش‌های خطی، مقدار f را می‌توان از روی معادله (۴-۲۴) بشکل زیر محاسبه نمود

$$y_i = b_0 + b_1 x_{i_1} + b_2 x_{i_2} + \ldots + b_n x_{i_n}$$ معادله ۴-۲۴

که در این فرمول $(x_{i1}, x_{i2,\ldots,}x_{in})$ نشان دهنده برآیند مجموع طول موج‌های‌اندازه‌گیری شده در نقاط مختلف نمونه i، $(b_1, b_2, \ldots b_n)$ برآیند مجموع ضریب همبستگی برای تمام نمونه‌ها می‌باشد. زمانی که پردازش اولیه بر روی نمونه انجام می‌گیرد، z، جانشین x در فرمول (۴-۲۴) می‌گردد. مقدار ضریب همبستگی b بوسیله روش رگراسیون PLS فقط برای فاکتورهایی که بخوبی با (y) مرتبط می‌شوند مورد بررسی و محاسبه واقع می‌شوند، که در نتیجه باعث کم شدن صدا و ایجاد یک مدل کالیبره با قابلیت تطبیق بیشتر می‌گردد. در بسیاری از موارد، فقط قسمتی از طیف NIR دارای اطلاعات مفید می‌باشد و حذف قسمت‌های دیگر باعث بهینه شدن مدل ارزیابی می‌گردند، شناسائی قسمت هایی که باید نگهداری شوند را می‌توان با محاسبه نمودن اینکه کدام یک از ضریب‌های همبستگی b در معادله (۴-۲۴) تاثیر گذار می‌باشند و ارزش آنها از صفر بیشتر است. برای این منظور یک جدول بسیار دقیق منتشر شده است (۱۴و۱۳). فرض گردیده که ضریب همبستگی b ، برابر t می‌باشند و واریانس آنها از اختلاف در ضرایب همبستگی b در زمان برآورد درجه اطمینان بوسیله رگراسیون مدل PLS محاسبه شده‌اند.

اگر عملکرد (f) در معادله (۱-۲۴) خیلی دور از خطی بودن باشد و هیچگونه پردازش الولیه قادر به فائق آمدن بر این مشکل نباشد، ممکن است از مدل پیش بینی براساس شبکیه عصبی (NN) استفاده شود. این روش دارای تعداد زیادی متغیر می‌باشد و از طرف دیگر بسیار انعطاف پذیر است، اما همیشه زمان که مدل مورد ارزیابی قرا رمی‌گیرد بصورت جعبه سیاه (Black Box) عمل می‌کند، لذا هیچگونه رابطه ای بین اجزاء تشکیل دهنده مدل بدست نمی‌دهد. تعداد نمونه ها و زمان مورد نیاز برای تشکیل مدل کالیبرسیون شبکیه عصبی (NN) بصورت تابعی از تعداد متغیرها افزایش پیدا می‌کند، بنابراین کاهش در تعداد این متغیرها ممکن است دارای مزیتی باشد.

یکی از راهکارهای جالبی که با موفقیت در بعضی از پژوهش ها بر روی مواد گوشتی مورد آزمایش واقع شده است استفاده از ضریب همبستگی PLS بعنوان یک پردازش اولیه می‌باشد(۱۵). در این روش چند فاکتور از اطلاعات بدست آمده استخراج و تاثیرگذاری آنها بر روی مجموع نتایج بدست آمده تعیین می‌گردد، سپس از امتیاز داده شده به این تاثیرگذاری بعنوان ورودی برای تشکیل الگوریتم شبکیه عصبی (NN) استفاده می‌شود. این روش باعث کاهش تعداد زیادی از متغیرها بدون از دست دادن اطلاعات مربوط به فاکتورهایی که بخوبی با (y) مرتبط‌اند، بدین ترتیب حفظ می‌گردند.

استفاده از روش طیف سنجی NIR در پژوهش هایی که بر روی ماهی صورت می‌گیرد در مقایسه با سایر شاخه‌های مواد غذایی بسیار کم می‌باشد. این روش بیشتر برای تعیین ترکیب‌های اجزاء تشکیل دهنده مولکول‌های بزرگ استفاده شده است. بهرصورت،اندازه گیری هایی در رابطه با ویژگی‌های فیزیکی بافت و قدرت نگهداری آب با استفاده از این روش گزارش شده است. لسیتی از این مثال ها در جدول (۱-۲۴) آورده شده است.

جدول ۱-۲۴- مثال های جدید از چگونگی استفاده از طیف سنجی *NIR* در مطالعه های انجام شده برای تعیین ویژه گی های کیفی در آبزیان

کاربرد	نویسنده‌ها	شماره مرجع
کنترل فرآیند حرارتی برای ماهی، سخت پوستان ویژه گی های کیفیت میگو	Uddin etal.,	۴۴
ویژه گی های کیفیت میگو	Brodersen and bremner	۴۵
تازگی ماهی کاد و آزاد	Nilsen	۴۶
ویژه گی های حسی برای ماهی کاد، سیت، قزل آلا، شک ماهی و فلاتور	Warm etal.,	۴۷
ویژه گی های حسی برای ماهی هیک قرمز منجمد و یخ زدائی شده	Pink etal.,	۴۸
ویژه گی های کیفی برای ماهی کاد منجمد نگهداری شده در سردخانه	Bechmann and jorgensen	۴۳
چربی و آب موجود در ماهی آزاد	Wold and isaksson	۴۹

۳-۲۴- طیف سنجی فلورسنس

حساسیت کم و اختصاصی عمل کردن جز ویژگیهای طیف سنجی NIR می‌باشد و بر عکس این ویژگی‌ها حساسیت بالا و عدم عمل اختصاصی عمل کردن به‌عنوان ویژگیهای روش طیف سنجی فلورسنسی می‌باشد.

ترکیب‌های بسیار محدودی در مواد غذایی، نور فلورسنسی را ساطع می‌کنند اما وقتی که همین ترکیب‌های کم این عمل را انجام می‌دهند شدت نور آن بقدری بالاست که مقدار کمی‌از این ماده در نمونه غذا برای فراهم کردن نور کافی جهت‌اندازه گیری مورد نیاز کافی است. همچنین ممکن است در بعضی از موارد ترکیب‌های فلورسنسی به نمونه غذا اضافه کنیم تا اینکه با مواد دیگر واکنش دهد و باعث ساطع شدن نور گردد در غیر اینصورت نور فلورسنس از نمونه ساده غذا ساطع نخواهد شد. در این روش با افزودن مواد فلورسنسی به نمونه موردنظر، ازاندازه‌گیری غیر مستقیم استفاده نمود. نور فلورسنس زمانی ساطع می‌شود که در نمونه یک ماده وجود داشته باشد و این ماده نور را جذب کند، و این جذب نور توسط ماده مذکور باعث بروز حالت برانگیختگی (Excitation) در میدان الکترونی در مولکول می‌شود، در نتیجه باعث عبور نور از یک میدان الکترونی به میدان دیگر می گردد، و در نتیجه در این حالت در بیشتر مواقع مولکول دارای انرژی کمتری گردیده، اما بیشتر از انرژی که در حالت اولیه داشته می گردد. بنابراین، نور ساطع شده دارای انرژی کمتر و دارای طول موج بلندتر از نور تولید شده بوسیله فلورسنس می‌باشد. ازاندازه‌گیری‌های یک متغیری (Univariate Measurement) چندین سال است که در این شرایط مورد استفاده‌اند، در این روش نور منوکرومیک ابتداً جذب می‌گردد، سپس یک طول موج مشخص ساطع شده بوسیله دستگاه منوکروماتور (Monochromator) و یا یک فیلتراندازه‌گیری می‌شود. طول موجی که نور ایجاد شده جذب و باعث ساطع شدن نور گردیده، شناسه مولکول در نمونه می‌باشد. ترکیب‌های فلورسنسی مورد استفاده در مواد غذائی گوشتی، از ترکیب‌های حلقوی آمینواسیدی مثل تریپتوفان، تیروزین و کوآنزیم ها، تغییر یافته (Reduce Form) از نیکوتین آمید ادنین دی نوکلئوتید (NADH) می‌باشند. اما بهرصورت، ممکن نیست که از همپوشانی و یا محدوده طول موج جذب شده جلویگری بعمل آورد، بنابراین مقداری دخالت توسط پارامترهای بالا حتی برای تعداد کم موادی که کمک به ساطع شدن نور فلورسنسی می‌کنند وجود خواهد داشت.

استفاده از روش چند متغیری طیف سنجی فلورسنسی، از طرف دیگر می‌تواند روش بسیار مناسب و دقیقی برای تجزیه و تحلیل پروفیل‌های طیفی بدست آمده از طیف سنجی باشد، بعنوان نمونه، بکارگیری فرمول‌های ریاضی برای جداسازی طیف‌های بدست آمده از مواد مختلف. در این روش استفاده از شناسائی و جداسازی (Scanning) برای هر دو، هم نور جذب شده و ساطع شده بعمل می‌آید. طیف‌های ساطع شده از تعدادی از طول موج ها تولید شده انتخاب می‌گردند، و نتیجه بنام «منظره فلورسنسی» (Fluorescence Landscape) مثل نمونه نشان داده شده در شکل ۲-۲۴ نامیده می‌شود. برای غلظت‌های

پائین، داده ها بعلت اینکه نور ساطع شده متناسب با مقدار فلوروفـور بکـار بـرده شـده (Fluorophore) و هـم چنین شدت نور تولید شده می‌باشد، بنابراین داده‌های بدست آمده معمولاً سه خطی (TRI-Linear) می‌باشـند، و می‌توان از فرمول (۵-۲۴) برای محاسبه آنها استفاده نمود.

معادله ۵-۲۴ $$I_i(\lambda_e,\lambda_a)\alpha\sum_{j=1}^{N}C_{ij}\varphi_j(\lambda_e)E_j(\lambda_a)$$

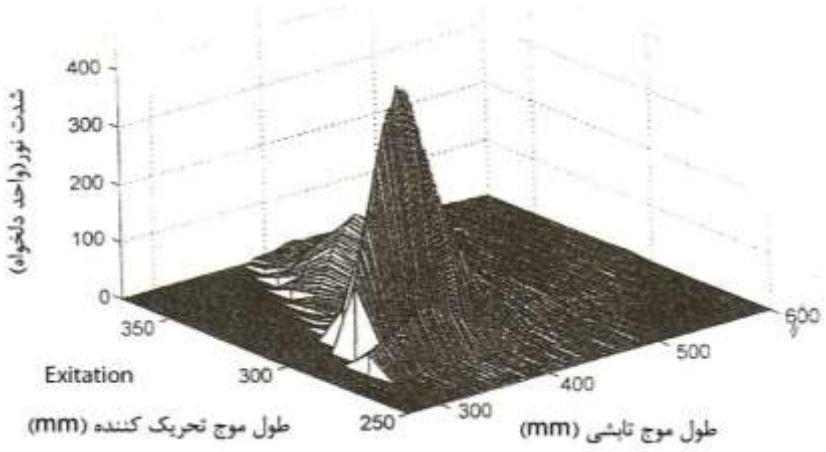
که $I_i(\lambda_e,\lambda_a)$ شدت نور ساطع شده در طول موج‌اندازه‌گیری شد λ_e بعد از برانگیختگی در طول مـوج λ_a می‌باشد، c_{ij} غلظت فلوئورفور، (ساطع کنندهٔنور فلورسنس) در نمونه i می‌باشد، ($\varphi_j(\lambda_e)$)پروفیل ساطع شـدن نور، ($\in_j(\lambda_a)$) پروفیل برانگیختگی و زیگما N مواد فلورسنس موجود در نمونه می‌باشد.

در سیستم‌های متراکم تر ممکن است روابط خیلی قوی غیرخطی به دلیل جذب نور ساطع شده به وسیله مواد دیگر (تاثیر فیلتر درونی) وجود داشته باشد. این شرایط می‌تواند موجب مغشوش شدن نتایج شود، امـا اغلـب این چنین پدیده ای خودش حاوی اطلاعاتی، مثلاً درباره مقدار ترکیب جذب کننده می‌باشد. علاوه بر آن، شـدت نور فلورسنس ممکن است در چنین وضعیتی کاهش یابد، بعبارت دیگر عبور نور که باعث فلورسنس شدن بعضی از مواد نمونه می‌گردد ممکن است بوسیله مواد موجود دیگر در نمونه از عبور نور جلوگیری و باعث کم شدن نـور فلورسنس در نمونه گردند، در چنین حالتی، نور دیده شده بعنوان شاخص تعداد مولکـول کـاهش دهنـده فعالیـت فلورسنسی شناخته می‌شوند.

برای سیستم‌های سه خطی (TR1-Linear) براساس معاد (۵-۲۴)، یک رابطه الگوریتم قوی چند متغیری بنام آنالیز فاکتورهای مـوازی (Parafac) Parallel Factor Analysis وجـود دارد(۱۹-۱۶). داده‌هـای بـه ایـن الگوریتم دارای در سه بعد بوده که هـر بعـد دارای اطلاعـات مربـوط بـه منظـره فلورسنسـی (Fluoresence Landscape) می‌باشد. استفاده از روش Paraface الگوریتم زمانی که فرضیه‌های زیربنـای آن رعایـت شـود، باعـث تولیـد پروفیـل‌هـای واقعـی مـی‌گـردد، در ایـن مـورد طیـف‌هـای جـذبی و سـاطعی (Emission & Excitation)[1] می‌گردد. این برخلاف روش‌های تجزیه دو خطی (B1-Linear) الگـوریتم مثـل آنـالیز مولفـه اصلی (PCA) و رگرسیون حداقل مجموع مربعات (PLS) می‌باشد که فقط باعث ایجاد رابطه مستقیم از شکل واقعی طیف ها می‌گردد. بنابراین زمانی که Parafac به درستی بکار رود، یـک نـوع «رنـگ شناسـی ریاضـی» (Matimatical Chromatography) بدسـت خواهـد آمـد (۲۱و۲۰). بایـد خاطرنشـان نمـود کـه یکـی از

[1] - The excitation Spectrom Resembles the Absorbance Spectrum with the exception that is flat at wavelengths where absorbed light does not induce fluorescence.

پارامترهایی که در معادله (۵-۲۴) بوسیله نماد I ، نشان داده شده، شامل اجزاء تشکیل دهنده نمونه می‌باشد. این اجزاء نماینده ویژگی نمونه می‌باشند، اگرچه مقدار هریک از این اجزاء تشکیل دهنده نمونه ممکن است در مقدار باهم متفاوت باشند. زمانی که این نیاز اولیه همراه با تناسب تقریبی بین ماده و نور ساطع شده برآورده می‌شود، روش Parafac خیلی کارآمد در فراهم کردن طیف هایی که بخوبی قابل تفسیراند خواهد بود. زمانی که فاکتورهای کاهش دهنده هر نور ساطع شده ،تاثیر گذارند، مثل فیلترهای داخلی در نمونه، برای جلوگیری از اثر منفی آنها استفاده از یک عامل جلوگیری کننده از اثر این فاکتورهای کاهش دهنده در روش Parafac برای پایدارنمودن الگوریتم پروفیل‌های بدست آمده سودمند خواهد بود.



شکل ۲-۲۴: منظره فلورسنسی به دست آمده از عصاره ماهیچه ماهی کاد.

محدوده طول موج‌های قابل استفاده، نور جذب شده و ساطع شده اغلب با هم همپوشانی دارند. مقدار زیادی از نور تولید شده پراکنده می‌شود (طول موج تغییر نمی‌کند) و مقداری از آن دیده خواهد شد که باعث ایجاد زاویه‌های موج مانندی در منظره فلورسنسی (شکل ۲-۲۴) می‌شوند. از آنجائی که علامت ها (Signal) داده شده ارتباطی به فلورسنس ندارند، بخشی از اطلاعات در اطراف زاویه هایی موج مانند، با استفاده از تنظیم ماتریکس ایجاد شده «اطلاعات گم شده» (Missing Value) از محاسبه ها حذف می‌گردند. یک قسمت از اطلاعات در این ماتریکس برابر طول موج کوتاه تر ساطع شده بوده و هم چنین نور تحریک شده

(Excitation) شامل اطلاعات گم شده می‌باشد. بنابراین زمانی که روش Parafac برای طیف سنجی بکار برده می‌شود، خیلی مهم می‌باشد که الگوریتم را بنحوی مورد استفاده قرار دهیم که «اطلاعات گم شده» باعث اختلالات ناخواسته در پروفیل‌های بدست آمده نگردند.

یکی از پیچیدگی‌های جزئی موجود در روش Parafac استفاده از مقیاس اختیاری می‌باشد. بطوری که در معادله (۵-۲۴) دیده می‌شود نمادهای C ، ϕ و E می‌توانند تا زمانی که جنس فرآورده یکی است در مقدار اختیاری ثابتی ضرب شوند. این مقدار ثابت نیازی ندارد که برای همه اجزاء تشکیل دهنده نمونه یکی باشد، مثلاً j=1 تا N می‌تواند اختیار شود. مدل Parafac باعث ایجاد سه بعد (Vectors) می نماید. اولی بنام «امتیازها» (Scores) نامیده شده که شامل نماد Sj با اجزای متناسب با غلظت با نماد Cj می‌باشد. دوتایی دیگر بنام «وزنه ها» (Loads) نامیده شده‌اند، که شامل نماد I1j و I2j که به ترتیب متناسب با طیف‌های نور ساطع (Emission) و تحریک شده (Excitation) که با نمادهای $\phi_j(\lambda_e)$ و $E_J(\lambda_a)$ نشان داده شده‌اند بع ترتیب می‌باشند. مقیاس واقعی وابسته به الگوریتم می‌باشد، و معمولاًاندازه عامل وزنه به‌اندازه طول یک واحد انتخاب می‌گردد. زمانی که شکل طیف نه مقدار آن مورد نظر است – آنها صرفاً برای راهنمائی در شناسائی ترکیب‌های سازنده نمونه مورد استفاده قرار می‌گیرند. اگر کسی علاقمند به استخراج اطلاعات مربوط به کمیت مواد از امتیازهای بدست آمده باشد. با مقایسه نسبی بین امتیازهای بدست آمده از یک نمونه با غلظت معلوم با امتیازهای نمونه مجهول می‌تواند به آسانی به اطلاعات مورد نیاز در مورد غلظت مواد در نمونه مجهول دسترسی پیدا نماید. از آنجائی که درجه بندی (Scaling Factor) در بین تمام نمونه ها معمول می‌باشد، بنابراین درجه بندی را می‌توان با اضافه نمودن استاندارد در نمونه ها مشخص نمود. یک تعدادی از نمونه ها با اضافه کردن مقدارهای مختلف از استاندارد به داخل آنها بعلت اختلاف در ساختار نمونه ها که قبلاً شرح داده شده اند ترجیح داده می‌شود به استفاده از محلول استاندارد به تنهایی. البته استفاده از استاندارد زمانی ممکن است که فلوروفور شناسائی شده باشد، اما با استفاده از تجربه و زدن حدس همراه با استاندارد داخلی می‌تواند در رد و یا قبول استاندارد مورد استفاده مفید باشد. انتخاب یک استاندارد صحیح باعث اضافه شدن به امتیازها می‌گردد در صورتی که استفاده از یک استاندارد غلط باعث تولید اجزاء جدید می‌گردد (و بعنوان مثال باعث اضافه شدن تعداد N در نمونه با یک می‌گردد).

در تحقیقات صورت گرفته در روی گونه‌های ماهی، فلورسنس با استفاده از آنالیز کلاسیک اطلاعات بدست آمده قبلی برای شناسائی استخوان ها در فیله مورد استفاده واقع شده. زیرا که نور ساطع شده به سادگی قابل تمیز

دادن در مقایسه با فیله ماهی می‌باشد(۲۲). تعدادی گزارش در رابطه با تعیین کیفیت با استفاده از این روش منتشر شده جدول (۲-۲۴). نمونه هایی از چگونگی استفاده از تجزیه سه خطی (Parafac) درباره مواد غذائی دیگر گزارش گردیده (۲۰)، هم چنین استفاده از این روش و مدل در روی گونه‌های ماهی در مرحله تکمیل شدن می‌باشد.

جدول ۲-۲۴ مثال های جدید از چگونگی استفاده از طیف سنجی فلورسنسی در مطالعه های انجام شده بر روی ماهی‌ها

کاربرد	نویسنده	شماره مرجع
اثر چربی و پروتئین در ماهی قباد	Saeed *et al.*,	۳۹
تغییرهای کیفیت ماهی ساردین منجمد شده در زمان نگهداری در سردخانه	Aubourg *et al.*,	۵۰
سنجش کیفیت کنسرو ساردین	Aubourg and Medina.	۵۱
ثبات تریپسین در ماهی کاد و گاو گوساله	Amin Amiza and owusu Apenten	۵۲

۲۴-۴- طیف سنجی انعکاس مغناطیسی هسته‌ای[1] (NMR)

کاربرد روش‌های طیف سنجی انعکاسی مغناطیسی هسته ای (NMR) برای پژوهش روی مواد غذائی برحسب نوع دستگاه‌های مورد استفاده، به دو گروه اصلی تقسیم می‌شوند. در گروه اول از دستگاه‌های پیشرفته و گران قیمت که دارای قدرت بزرگ نمایی واندازه گیری دقیق می‌باشند و بوسیله افراد کارشناس مورد استفاده قرار می‌گیرند. با اینگونه دستگاه ها، هسته عناصری مثل کربن، فسفر و سدیم قابل ردیابی می‌باشند، هم چنین می‌توان هیدروژن هایی که در موقعیت‌های مختلف ایجاد پیوند با مولکول ها نموده‌اند قابل تشخیص می‌باشند. در گروه دوم از دستگاه‌های کوچک (Bench-Top) با نیروی مغناطیسی که فقط مناسب برای‌اندازه‌گیری هیدروژن (پروتون) و بدون قدرت بزرگ نمایی واندازه گیری دقیقی که در دستگاه‌های بزرگ وجود دارد می‌باشد. کاربرد گروه دوم بیشتر در فرآیندهای وابسته به زمان و مرتبط با پروتون در آب و یا در چربی ها و

[1] - Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

برای‌اندازه‌گیری زمان استراحت (Relaxation) چرخ هسته پروتون در میدان مغناطیسی بعد از در معرض قرار گرفتن ضربان‌های مغناطیسی می‌باشد.

امروزه، تقریباً تمام دستگاه‌های NMR براساس زمان و وابسته به آن عمل می‌کنند، بعنوان مثال آنها یک علائم (Signal) یا یک سلسله از علائم ها را که وابسته به زمان می‌باشند تولید و نمونه را در تحت تاثیر آن قرار می‌دهند. علائم اولیه که در یک زمان مشخص ایجاد می‌شود، دارای دو جزء می‌باشد، که ممکن است بعنوان جزء اصلی Real (RE) و جزء تصوری Imaginary(Im) در نظر گرفته شوند. برای تجزیه و تحلیل داده هایی در NMR وابسته به زمان، یا از شدت لرزش (Amplitude)، که برابر $\sqrt{(\mathrm{Re}\,z+\mathrm{Im}\,۲)}$، یا حتی بهتر، از گردش فاز و علائم آنها (Im≈O) Phase Rotated Signal استفاده می‌گردند، تا اطمینان حاصل شود که صداهای ضعیف، دارای انتشار همه‌اندازه و دارای Normal Distribution نزدیک به صفر باشند(۲۳و۲۴). در غیر این صورت، این نوع صداها بعلت مجموع مربعات (توان دو) به صورت مثبت در محاسبه ها وارد و باعث تغییر خط پایه (Base Line) و ایجاد خطای آماری در نتایج می‌شوند. برای ارزیابی اطلاعات بدست آمده از فرکانس ها ، این اطلاعات وابسته به زمان با استفاده از فرمول Fourier تبدیل به پیک ها می‌گردند. در این صورت طیف‌های NMR که دارای بزرگ نمائی می‌باشند بعلت اختلاف کم در ترکیب‌های شیمیائی (Chemical Shift) دارای تعداد زیادی از پیک‌ها می‌باشند. در رابطه با اطلاعات بدست آمده با قدرت کم بزرگ نمائی (Low-Resolotion) فقط یک پیک بزرگ تولید می‌گردد، که باعث محدودشدن استفاده از طیف بدست آمده می‌گردد. این داده‌های بدست آمده که وابسته به زمان هستند (Time-Domain)، بهرصورت، دارای اطلاعات مفیدی درباره چگونگی حرکت مولکول ها در محیط‌های مختلف مواد غذائی می‌باشند.

در این بخش توجه بر روی روش‌های با بزرگ نمائی کم (Low-Field) که در دسترس بیشتر آزمایشگاه‌های تحقیقاتی می‌باشد و از طرف دیگر امکان استفاده از این روش در کارخانه‌های صنایع شیلاتی امکان پذیر است صورت گرفته است. استفاده از بعضی از روش‌های‌اندازه گیری بوسیله High-Field NMR نیز در جدول ۳-۲۴ برای تکمیل شدن موضوع نیز داده شده است.

۱-۴-۲۴- روش‌های طیف سنجی با قدرت تفکیک بالا[1]

طیف‌های بدست آمده بوسیله روش NMR با قدرت شناسایی زیاد (براساس تکرار مکرر داده ها) هسته هایی مثل H^{1}،C^{13}، P^{31} (۱، ۱۳و۳۱) برای‌اندازه گیری ترکیب‌های مواد غذائی و مواد مختلف دیگر مورد استفاده قرار گرفته‌اند. با استفاده از ترکیب H^{1} ، C^{13} طیف NMR اطلاعات دقیقی درباره ترکیب چربی در ماهی و فرآورده های آن بدست آمده است(۲۵و۲۸). در میان اطلاعات بدست آمده، مقدار فسفولیپید، توزیع آن، تعداد، موقعیت و شکل فضائی Stereo Chemistry اسیدهای چرب غیراشباع، تعداد پیوند، موقعیت زنجیره اسیدهای چرب مختلف در مولکول تری گلیسیرید و فسفولیپیدها می‌باشد. این اطلاعات از طیف NMR به وسیله روش کلاسیک، مثل استفاده از اختلاف‌های جزئی در جابجایی شیمیایی Chemical Shift بعلت تغییر محل برای شناسائی و Peak Integral برای‌اندازه گیری کمی‌بدست آمده‌اند. بهرصورت تردیدی وجود ندارد که استفاده از ضریب هم بستگی (Correlation) بعضی از انواع رابطه‌های چند متغیری طیف ها و با ویژگی‌های کیفی امکان پذیر است، در ابتداء، بدون نیاز به شناسائی اینکه چه تغییرات شیمیائی صورت گرفته امکان پذیر می‌باشد. وجود یک طرح الگوریتم برای شناسائی، اجزاء تشکیل دهنده ماده غذایی یک راه حل مناسب دیگر برای این منظور می‌باشد، زیرا تغییرات در امتداد محور x ها (Chemical Shift) یک فاکتور مهم برای این منظور خواهد بود.

طیف P^{31} NMR تولید پیکی جدا شده از یک، دو و یا سه فسفورنوکلئوتید می‌باشند که حاوی ترکیب‌های آدنین، AMP، ADP و ATP، و هم چنین IMP بیشترین فرآورده حاصل از تجزیه این ترکیب ها می‌باشد. علاوه بر آن، فسفات کراتنین و فسفات معدنی با این روش قابل شناسائی واندازه گیری بصورت کمی‌خواهند بود. از آنجائیکه این ترکیب ها بصورت نسبی در طول زمان نگهداری ماهی تغییر می‌کنند، لذا تغییر در طیف آنها مرتبط با تغییر ویژگی‌های کیفی، بخصوص مثل فاکتورهای مربوط به جمود نعشی، مثل پارامترهای مربوط به بافت ماهی نیز می‌باشد. تغییرهای شیمیائی در فسفات‌های نوکلئوتیدی و وابسته به pH می‌باشند، بنابراین طیف NMR نشان دهنده اطلاعاتی درباره تغییر pH در ماهی تیز می‌باشد. همانطور که درباره استفاده از طیف NMR (High-Resolution)برای H^{1} و C^{13}NMR صدق می‌کند، امکان استفاده از پتانسیل روش چند متغیری (Moltivariate) طیف P^{31}NMR هنوز بصورت کامل مورد بررسی واقع نشده است.

---

[1] - High-Resolution Methods

بررسی‌های کمی‌برای بکاربردن منحنی طیف $Na^{23}NMR$ در زمان استراحت (Time-Domain Data) برای انتشار نمک در فرآورده‌های نمک زده شده ماهی صورت گرفته است، که کاربرد آن روشن می‌باشد. تجزیه و تحلیل این اطلاعات نشان داد که نتایج مشابه نتایج بدست آمده از کاربرد روش (Low-Resolution) می‌باشد که در بخش بعد توضیح داده می‌شود می‌باشند. تا این زمان روش‌های دیگر مثل Exponential Fit (مدل سازی سخت)، و عکس تغییر شکل رابطه لاپلاس[1] نیز بکار برده شده‌اند. اما ظاهراً از روش Slicing Technique استفاده بعمل نیامده است.

جدول ۳-۲۴- مثال های جدید از چگونگی استفاده از طیف سنجی *NMR* اسپکتروسکپی برای انجام تحقیق بر روی ماهی

کاربرد	نویسنده	شماره مرجع
طبقه بندی ماهی آزاد وحشی و پرورشی	Aursand *et al.*,	۵۳
انتخاب شرایط فرآیند حرارتی برای کنسرو ماهی تن	Medina *et al.*,	۵۴
اکسیده شدن چربی در زمان فرآوری حرارتی ماهی آزاد	Medina *et al.*,	۵۵
تعمیرات جمود نعشی در عضله‌های ماهی کپور	Yokoyama *et al.*,	۵۶
تغییرات جمود نعشی در صدف	Yokoyama *et al.*,	۵۷

۲۴-۴-۲- روش‌های طیف سنجی با قدرت تفکیک پائین

قدرت تفکیک پائین دستگاه‌های با که برمبنای زمان قدرت پائین داده ها را تفکیک می‌کنند برای بدست آوردن اطلاعات در مورد موقعیت پروتون در مولکول‌های بزرگ مثل پروتئین کافی نمی‌باشد. در واقع بعلت زمان سریع استراحت پروتون ها در رابطه با مقیاس زمانی دستگاه که دارای قدرت پائینی می‌باشد معمولاً امکان ثبت این اطلاعات به سادگی امکان پذیر نمی باشد. ترکیب غالبی که باعث تولید زمان استراحت مغناطیسی (Magnetic Relaxation) در بافت‌های پروتئنی می‌گردد، مولکول آب است، چون

[1] - Inverse Laplace Transform Approach

هم مقدار آن در بافت زیاد است و هم دارای زمان استراحت مناسب می‌باشد. در ترکیب‌های با مقدار زیاد چربی، زمان استراحت پروتون چربی ممکن است قابل‌اندازه گیری باشد. زمان استراحت پروتون چربی در مقایسه با پروتون آب خیلی کمتر می‌باشد، یک راه حل مستقیم،اندازه گیری نسبت زمان استراحت پروتون چربی به زمان استراحت پروتون آب روی شدت اولین علامت (Initial Signal Intensity) و شدت علامت پس از زمان استراحت کامل (Full Relaxation Time) پروتون آب می‌باشد.

حدود ۸۰ درصد عضله ماهی بدون چربی از آب تشکیل شده است، بنابراین بدون هیچگونه شبهه، وضعیت مولکول آب، حرکت آن، توزیع آن در سیستم‌های مواد غذائی با ترکیب‌های مختلف و پیوند آن با پروتئین موجود در ماده غذایی مثل ماهی می‌تواند بر روی خواص حسی آن تاثیر مهمی‌داشته باشد. مولکول آب هم چنین، بر روی واکنش‌های شیمیائی که در عضله ها صورت می‌گیرد مثل جمود نعشی تاثیرگذار می‌باشد، بنابراین روی تغییرات کیفی دیگر اثرگذار است. در سیستم ناهمگنی (Heterogeneous) مثل عضله، تعداد زیادی واکنش‌های شیمیائی بین آب و دیگر اجزاء عضله صورت می‌گیرد، هم چنین حرکت آب در داخل عضله، ممکن است بوسیله موانع فیزیکی مثل سلول‌های داخلی و دیواره‌های سلولی ممکن است محدود شود. بهرصورت، اینطور بنظر می‌رسد، که تبادل سریع آب در عضله صورت می‌گیرد و باعث بوجود آمدن چند نوع آب می‌گردد. این نوع آب ها بنام منبع‌های آبی (Pools) نامیده شده‌اند. بعنوان نمونه آب خارج سلولی (Extracellular Water)، منبع آب سیتوپلاسمی(Bulk cytoplasmic Water)، و آب متصل شده به رشته‌های عضلانی (Bound Water).

NMR ابزار مناسبی برای اندازه گیری منبع‌های مختلف آبی با حرکت متفاوت در مواد غذایی می‌باشد. دلیل این امر آن است که سرعت استراحت مغناطیسی بعد از بکارگیری ضربان الکترومغناطیسی مناسب که دارای رابطه مستقیم با سرعت ثابت که تابع حرکت آب می‌باشد و همچنین قدرت علامت (Signal) انتخاب شده که متناسب با تعداد هسته‌های در حال استراحت (Nuclel Relxing) می‌باشند، نشان دهنده اندازه و مقدار کمی‌منبع آبی می‌باشد. عکس سرعت ثابت بنام زمان استراحت (Relaxation Time) نامیده شده است. این زمان استراحت دارای دو منبع مختلف می‌باشد. منبع اول: زمان استراحت چرخش در یک چهارچوب مشخص (Spin-Lattice Relaxation Time) که با نماد T_1 نشان داده می‌شود و منبع دوم چرخش – چرخش (Spin-spin) و یا Transverse, Relation Time می‌باشد که با نماد T_2 مشخص شده است. زمان آرامش T_2 آسانتر قابل اندازه گیری می‌باشد، و T_2 وابسته به

شدت سرعت می‌باشد. برای اندازه گیری آن از معادله (۶-۲۴) بنام توالی ضربان الکترومغناطیسی که بنام Carr-Purcell-Meiboom-Gill(CPMG) استفاده بعمل می‌آید (۲۹-۳۰). این توالی ضربان بعلت اینکه منحنی استراحت (Relaxation Curve) فقط در طی یک آزمایش بدست می‌آید و از ناهمگنی میدان مغناطیسی نیز جلوگیری بعمل می‌آید، ترجیح داده می‌شود.

علائم اسپکتروسکپی رزنانس مغناطیسی حاصل از منحنی استراحت Transverse نمونه I ، $R_i(t)$ که تحت شرایط برابر از نظر قدرت فرکانس پس از آزمایش CPMG نمونه برداری شده و تشکیل شده است از مجموعه ای از متغیرها تک صدای (Mono) به اضافه صداهایی که برای دستگاه‌های جدید قابل اغماض می‌باشند، بوسیله معادله (۶-۲۴) محاسبه می‌گردد.

$$R_i(t) = \sum_{j=1}^{n} a_{ij} e^{-k_{jt}}$$ معادله ۶-۲۴

aij در این فرمول دامنه حرکت پروتون را نشان می‌دهد، Kj مقدار ثابت برای زمان استراحت می‌باشد که مقدار آن برابر است با $T_2 = \frac{1}{k}$ ، N نشان دهنده تعداد اجزاء قابل تفکیک در نمونه و t زمان می‌باشد. چندین روش برای پردازش معادله ۶-۲۴ وجود دارد. همانطور که مشخص است این معادله را می‌توان معادله تغییر شکل داده شده لاپلاس فرض نموده که دارای مقدار $a_i(k)$ می‌باشد که در مجموع مقدار Dirac delta که با نماد $\delta(K-K_j)$ نشان داده شده ضرب گردیده است. اگر مقدار عکس تغییر یافته معادله لاپلاس (Inverse Laplace transform) یا بعبارت دیگر R_i را بتوان محاسبه نمود، در نتیجه می‌توان به سادگی مقدار پراکنش $a_i(k) \times \delta(k-k_j)$ بدست آورد. این مشکل، بهرصورت، بوسیله استفاده از مقدارهای عدد بدست آمده حل شدنی نمی‌باشد، مگر اینکه یک ضریب مناسب برای بدست آوردن روابط منحنی دار بین نتایج بدست آمده بکار گرفته شود. در این صورت می‌توان با رسم منحنی با پیک (Peaks)های با طول و عرض مشخص نسبت به حل مشکل اقدام نمود. اما بهرصورت حتی در چنین وضعیتی رسیدن به نتیجه نهائی چندان آسان نمی‌باشد. برای حل این مشکل امروزه یک دستورالعمل مناسب همراه با استفاده از یک برنامه نرم‌افزاری کامپیوتری داده شده. امروزه چندین مقاله با استفاده از این راه حل در نشریه ها منتشر شده است (۳۳-۳۱).

راه حل دوم که یک روش کلاسیک می‌باشد و در آن از مجموع مربعات (Least Squares) برای بهینه سازی پارامترها بصورت مستقیم در معادله (۲-۲۴) استفاده بعمل آید. بطوری که فوراً مشخص است، تعداد پارامترها برای نمونه (i) برابر (۲N +۱)، که شامل Na_{ij} ، Nk_j و خود N می‌باشد. کاربرد این روش بعلت ارتباط خیلی نزدیک پارامترها (Correlation) با همدیگر خیلی ساده نمی‌باشد. زیرا این ارتباط های خیلی نزدیک

پارامترها باعث بوجود آمدن چندین نقطه می‌نیمم در مجموع مربعات می‌گردد. با اضافه نمودن تعداد N، نتیجه بهتری (Better Fit) در بیشتر مواقع بدست خواهد آمد، اما از طرف دیگر، خطر نتیجه‌گیری اشتباه بعلت تصحیح بیشتر از اندازه نتایج (Over Fit) حتی برای نمونه‌های با تعداد کم (N) در میان می‌باشد. تعیین نمودن مقدار واقعی (N) مشکل می‌باشد و در بسیاری از مقاله‌های منتشر شده یک مقدار برای (N) بدون وجود داشتن پایه علمی‌قوی براساس نتایج بدست آمده از آزمایش ها در نظر گرفته شده است. اما برای سیستم هایی که مقدار (N) در آن ها تعیین شده است، تخمین خوبی برای مجموعه $\left(K_j\right)$ می‌توان زد و در نتیجه، می‌توان با استفاده از هم سان سازی مستقیم (Direct Fit) به نتیجه معنی داری دسترسی پیدا نمود.

سومین راهکار ممکن، استفاده از مدل سازی نرم افزاری به وسیله روش‌های چند متغیری (Multivariate) می‌باشد. برخلاف دو روش قبلی که می‌توان آنها را برای هر نمونه بصورت مستقل بکار برد، روش‌های چند متغیری وابسته به مجموعه ای از نمونه ها دارد که NMR آنها دارای زمان استراحت (بازگشت) برابر باشند. همانطوری که در معادله (۷-۲۴) نشان داده شده، فرکانس اندازه گیری R دارای یک رابطه دوبعدی (Bl-Linear) با دیگر اجزاء معادله می‌باشد.

$$R_i(t) = \sum_{j=1}^{n} s_{ij} I_j(t)$$ معادله ۷-۲۴

در این معادله Sj برآیند امتیاز j^{th} بوسیله I و I_j برآیند امتیاز بازداده شده برای j^{th} مرتبه بوسیله t می‌باشد. این راهکار باعث پیداشدن راهی برای تجزیه و تحلیل موثر داده‌های بدست آمده بوسیله روش بخوبی شناخته شده (Generic) کیمومتریک (chemometric methods) به وسیله رگرسیون PCA و PLS را فراهم کرده است. به منظور پیش‌بینی، مثلاً پارامترهای مربوط به کیفیت بوسیله مدل رگرسیون PLS روش دو بعدی کاملاً کافی می‌باشد، اما از آنجائی که این روش براساس متغیرهای تأخیری (Latent Variable) عمل می‌کند، لذا پارامترهای مربوط به منحنی زمان استراحت (برگشت) اندازه‌گیری نمی‌شوند، هم چنین پارامترها، مثل نرخ ثابت Kj و تعداد و اندازه پارامترهای موجود در نمونه (Water Poll Sizes) aij که برای مشخص نمودن ویژگی های نمونه بسیار مهم هستند .

خوشبختانه، این امکان وجود دارد که معادله دو بعدی را به یک معادله سه بعدی تبدیل نمود. زمانی که این تبدیل صورت گرفت، می‌توان از روش خیلی قوی PARAFAC که در رابطه با مبحث فلورسنس مورد بحث قرار گرفت نیز استفاده نمود و در نتیجه باعث بدست آوردن اطلاعات دقیق و خالص "Pore" Mono-Exponential درباره اجزاء سازنده منحنی بدست آورد. از این طریق می‌توان اطلاعات دقیق نسبت به تعداد اجزاء نمونه و پراکندگی و حرکت آنها

در نمونه بدست آورد. ابتکار اصلی در این است که بتـوان از ویژگـی‌هـای خـاص معادلـه (۸-۲۴) بـرای گـرفتن اطلاعات مورد نیاز بهره برداری نمود.

معادله ۸-۲۴ $Exp(x+u)=Exp(x).Exp(u)$

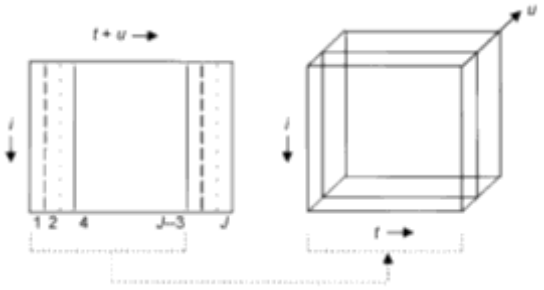
برای رسیدن به این هدف باید ماتریکس داده ها را طبق شکل (۳-۲۴) برش داده شود، که متغیر u باعث ایجـاد بعد سوم و اطلاعات دارای سه بعد می‌گردد که در آن $X_{iut}=R_i(t+u)$ بعد سوم را تشکیل خواهد داد. طبق اجزاء نشان داده شده در معادله (۸-۲۴) مقدار X بشکل یک معادله سه بعدی طبق معادله (۹-۲۴) تحقق پیدا می‌کند.

معادله ۹-۲۴ $$R_i(t+u)=\sum_{j=1}^{n} a_{ij} e^{-k_j t} e^{-kju}$$

از این معادله می‌توان یک مدل PARAFAC را محاسبه نمود، کـه در نتیجـه باعـث ایجـاد یـک مجموعـه از امتیازات و دو مجموعه از امتیازات وارد شده طبق معادله (۱۰-۲۴) می‌گردد. بـا توجـه بـه یگانـه بـودن راه حـل Parafac بنابراین، این پارامترها در معادله (۱۰-۲۴)همان پارامترهای مورد نظر می‌باشند که از این معادله قابـل تحاسبه خواهند بود.

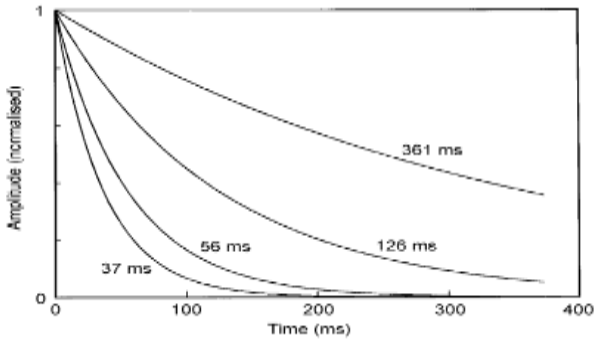
معادله (۱۰-۲۴) $$R_i(t+u)=\sum_{j=1}^{n} s_{ij} L1_j(t) 1 2_j(u)$$

امتیازهای S_{ij} متناسب با مقدار عرض A_{ij} ، بار (Loading) داده شده $1I_j(t)$ بـوده و هـم چنـین مقـدار $L2_j(u)$ متناسب با منحنی 'Pure' Mono-Exponential Relaxation Curve در زمان و LAG Direction می‌باشـد. ضریب‌های ثابت به آسانی با استفاده از شیب منحنی بدسـت آمـده از 1lj(t) Weigthed Mono-Logarithmic بـر علیه زمان (t) قابل محاسبه می‌باشند.



شکل ۳-۲۴: شماتیک روش تقسیم کردن (تجزیه کردن) برای پروفیل‌های آرامش *NMR*

داده های سازنده ماتریکس از ستون *J* می‌باشند، که این ستون به سه قطعه بریده شده است. ستون اول، دوم و سوم به ترتیب از ۳-*J*، ۲-*J* و *J* می‌باشند. این قطعه ها به ترتیب برابر *U-Values* صفر، ۱و۳ به ترتیب می‌باشند.



شکل ۴-۲۴: منحنی‌های آرامش مغناطیسی(*NMR*) این منحنی‌ها تا دامنه یک پردازش شده‌اند. زمانهای آرامش T_2 در این مثال‌ها ۳۷، ۵۶، ۱۲۶ و *ms* ۳۶۱ می‌باشند.

$$\text{In}\{1l_j(t)\} = -k_j + \text{Ln}(q_j)$$ معادله ۲۴-۱۱

در معادله (۲۴-۱۱)، مقدار q_j ثابت نسبی است و مقدار آن بستگی به الگوریتم PARAFAC مورد استفاده دارد.

پس از تعیین ارزش مقدار Kj از معادله (۲۴-۱۱)، می توان منحنی های Exponential Relaxation را با استفاده از فرمول (۴-۲۴) ترسیم و مقدار فراوانی و بزرگی پارامترهای موجود در نمونه را با استفاده از روش همبستگی ساده چند خطی (Simple Multi-Linear Regrssion) با استفاده از فرمول (۶-۲۴) محاسبه نمود. از آنجائیکه مقدار مطلق فراوانی و بزرگی (Amplitudes) پارامترهای موجود در نمونه، متناسب با تعداد هسته های در حال استراحت (پروتون‌ها) و مستقل از اندازه نمونه می باشند، شاید ترجیح داده شود که از روش عادی شده برای اندازه‌گیری بزرگی (Normalised Amplitodes)، A_{ij} که طبق معادله (۲۴-۱۲) تعریف شده است استفاده بعمل آید.

$$A_{ij} = A_{ij} / \sum_{j=1}^{N} a_{ij}$$ معادله ۲۴-۱۲

که از این طریق می توان بصورت مستقیم اندازه نسبی پارامترها را (Relative Pool Size) را محاسبه نمود.

برای استفاده از روش PARAFAC نیاز به انتخاب تعداد صحیح اجزاء می باشد. برای رسیدن به این هدف چندین راه وجود دارد. یک روش ساده این است که بتدریج تعداد (N) را افزایش داد تا اینکه $1l_N$ دیگر افزایشی (Exponential) نباشد. هم چنین اگر در داده ها بکار برده شده، تعدادی از داده ها تکراری (Duplicate) می

باشند، در این صورت باید داده ها (Data) به دو قسمت برابر تجزیه برای داده هایی که تولید صدا می کنند تقسیم نمود(۳۵). در این روش (lI) بدست آمده از PARAFAC برای هر دو نمونه باید برابر باشد تا زمانی که اجزاء تولید کننده صدا (Noise-Components) که باعث اشتباه در نتایج می شوند دخالتی نداشته باشند.
روش سه خطی (Tri-Linearising Technique) برای استفاده در این زمینه خیلی امیدوار کننده بنظر می رسد، اما گزارش در مورد کاربرد آن اخیراً بتدریج در مجله های علمی منتشر گردیده است. در جدول (۴-۲۴) تعدادی از مرجع ها در ارتباط با موضوع آورده شده است.

جدول ۴-۲۴- مثال های جدید از چگونگی کاربرد *NMR* با فرکانس پائین برای انجام تحقیق بر روی ماهی‌ها

کاربرد	نویسنده	شماره مرجع
مقدار آب و حرکت آن در ماهی کاد منجمد و سرد شده در سردخانه	Jensen et al.	۵۸
روغن و آب در ماهی آزاد و قدرت نگهداری آب در ماهی کاد	Jensen et al.	۵۹
تغییر بافت در گوشت چرخ و منجمد شده ماهی کاد	Steen and Lambelet	۶۰
دناتوره شدن پروتئین در زمان فرآوری ماهی کاد	Lambelet et al.	۶۱

۵-۲۴- پیش‌بینی برای آینده و منابع برای دستیابی به اطلاعات و راهنمائی بیشتر

روش‌های بحث شده در این فصل فقط تعداد کمی‌از روش‌های چند منظوره سریع جهت ارزیابی کیفی فرآورده های غذائی می باشند. روش های دیگر مثل Raman Spectorscopy (۳۸-۳۶) و Electron Spin Resonance (ESR) اسپکتروسکپی(۳۹)، به صورت موفقیت آمیزی در این زمینه مورد استفاده قرار گرفته اند، روش های موجود برای ارزشیابی کیفی مواد غذائی، فقط به روش هایی که برپایه امواج الکترومغناطیسی کار می کنند محدود نمی شوند، مثلاً روش هایی که در آنها از امواج صدا (Sound Waves) استفاده بعمل می آید، اطلاعات قابل توجهی را در اختیار می گذارند(۴۰). تمام روشهایی که اطلاعات بدست آمده از نمونه را بشکل کمیت ها (Vectors) و یا بصورت ماتریکس (Matrix) در اختیار قرار می دهند. باید برای

تجزیه و تحلیل این داده ها (Data) از روش های چند متغیری (Multivariate Data Analysis) استفاده بعمل آید. بدون شک در آینده نزدیک انتشار تعداد مقاله ها که در آن ها از چنین ابزاری برای تعیین کیفی مواد غذائی استفاده بعمل آمده افزایش خواهند یافت. از سوی دیگر، روش های نوین، براساس میکروسنسورها و حتی کوچکتر مثل نانوتکنولوژی اهمیت بیشتری در زمینه کنترل کیفیت مواد غذائی پیدا میکنند. اما هنوز روش‌های اسپکتروسکپی دارای جایگاه ویژه ای در این زمینه می باشند. بهرصورت برای اینکه روش اسپکتروسکپی بتواند در رقابت با روش های جدید موقعیت خود را حفظ نماید، باید از نتایج بدست آمده بوسیله این روش حداکثر استفاده بعمل آید. امروزه، برای رسیدن به این هدف تجزیه و تحلیل نمودن داده ها (Data) بوسیله روش های چند متغیری، یکی از بهترین راه حل ها می باشد.

برای کسب اطلاعات بیشتر در مورد، مطالب آورده شده در این فصل جستجو در اینترنت پیشنهاد می شود. برای کسانی که کسب اطلاعات از طریق کتاب را ترجیح می دهد، منوگراف در روش های چند متغیری (Monographson Multivariate Methods) بوسیله Malinowski(۴۱)، Martens & Nxs(۸) و Martens & Martens(۱۴) مفید خواهند بود. همچنین در تز دکترای BRO روش های Algorithms, Multi-way به خوبی توصیف شده اند(۳۵). چگونگی تجزیه و تحلیل نتایج بدست آمده بوسیله روش NIR Spectoscopy توسط Osborne etal., مورد بررسی قرار گرفته است(۵). کتاب جدیدی درباره دیگر روش های Spectorscopic مثل 2D Image Analysis و NMR Imaging که بوسیله Gunasekaran ویراستاری گردیده نیز منتشر شده است که برای علاقمندان خواندن آن مفید می باشد(۴۲).

۶-۲۴- منابع فصل بیست و چهارم

1 JØRGENSEN B M and JENSEN H S, 'Can near-infrared spectrometry be used to measure quality attributes in frozen cod?', in Luten J B, Børresen T and Oehlenschla¨ger J, 'Seafood from producer to consumer, Integrated approach to quality', *Dev Food Sci*, 1997 38, Amsterdam, Elsevier, 491–6.
2 KUBELKA P, 'New contributions to the optics of intensely light-scattering materials, Part 1', *J Opt Soc Am*, 1948 38 448–57.
3 KUBELKA P and MUNK F, 'Ein Beitrag zur Optik der Farbanstriche', *Z Tec PHys*, 1931 12 593–604.
4 BULL C R, 'A model of the reflectance of near-infrared radiation', *J Mod Opt*, 1990 37 1955–64.
5 OSBORNE B G, FEARN T and HINDLE P H, *Practical NIR spectroscopy wit applications in food and beverage analysis*, 2 ed, Harlow, Longman, 1993.
6 JØRGENSEN B M, 'Quantification of overlapping VIS-absorption bands by Fourier domain fitting of a generalized band shape function' *Appl Spectrosc*, 1990 44 313–17.
7 MARTENS H, JENSEN, S A and GELADI P, 'Multivariate linearity transformations for near-infrared reflectance spectroscopy', *Proc Nordic Symp Appl Stat*, Stavanger, Stokkland Forlag, 1983.
8 MARTENS H and NÆS T, *Multivariate calibration*, Chichester, Wiley & Sons, 1989.
9 WOLD S, ANTTI H, LINDGREN F and O¨ HMAN J, 'Orthogonal signal correction of near-infrared spectra', *Chemom Intell Lab Syst*, 1998 44 175–85.
10 ANDERSSON C, 'Direct orthogonalization', *Chemom Intell Lab Syst*, 199947 51–63.
11 FEARN T, 'On orthogonal signal correction' *Chemom Intell Lab Syst*, 200050 47–52.
12 WESTERHUIS J A, DE JONG S and SMILDE A K, 'Direct orthogonal signal correction' *Chemom Intell Lab Syst*, 2001 56 13–25.
13 MARTENS H and MARTENSM, 'Modified Jack-knife estimation of parameter uncertainty in bilinear modelling by partial least squares regression (PLSR)', *Food Qual Prefer*, 11 5–16.
14 MARTENS H and MARTENS M, *Multivariate Analysis of Quality. An Introduction*, Chichester, Wiley & Sons, 2001.
15 BORGGAARD C (1995), 'Modelling non-linear data using neural networks regression in connection with PLS or PCA' in Andrews D L and Davies A M C, *Frontiers in analytical spectroscopy*, Cambridge, The Royal Society of Chemistry, 209–17.
16 HARSHMAN R A, 'Foundations of the PARAFAC procedure: model and conditions for an explanatory multi-mode factor analysis', *UCLA Working Papers in pHonetics*, 1970 16 1–84.
17 CARROLL J D and CHANG J, 'Analysis of individual differences in multidimensional scaling via an N-way generalization of Eckart-Young decomposition', *Psychometrika*, 1970 35 283–319.
18 HARSHMAN R A and LUNDY M E, 'PARAFAC: Parallel factor analysis', *Comput Stat Data Anal*, 1994 18 39–72.
19 BRO R, 'PARAFAC. Tutorial and applications', *Chemom Intell Lab Syst*, 1997 38 149–71.

20 MUNCK L, NØRGAARD L, ENGELSEN S B, BRO R and ANDERSSON C A Chemometrics in food science – a demonstration of the feasibility of a highly exploratory, inductive evaluation strategy of fundamental scientific significance', *Chemom Intell Lab Syst*, 1998 44 31–60.
21 BAUNSGAARD D, ANDERSSON C A, ARNDAL A and MUNCK L, 'Multi-way chemometrics for mathematical separation of fluorescent colorants and colour precursors from spectrofluorimetry of beet sugar and beet sugar thick juice as validated by HPLC analysis', *Food Chem*, 2000 70 113–21.
22 HUSS H H, SIGSGAARD P and JENSEN S AA, 'Fluorescence of fish bones', *Food Prot*, 1985 48 393–6.
23 VAN DER WEERD L, VERGELDT F J, DE JAGER P A and VAN AS H, 'Evaluation of algorithms for analysis of NMR relaxation decay curves', *Mag Reso Imag*, 2000 18 1151–7.
24 PEDERSEN H T, *Low-field nuclear magnetic resonance and chemometric applied in food science*, Dissertation, The Royal Veterinary and Agricultural University, Frederiksberg, Denmark, 2001.
25 AURSAND M, RAINUZZO J R and GRASDALEN H 'Quantitative high resolution13C and 1H nuclear magnetic resonance of omega-3 fatty acids from white muscle of Atlantic salmon *(Salmo salar)*', *J Am Oil Chem Soc*, 1994 71 971–81.
26 AURSAND M, JØRGENSEN L and GRASDALEN H, 'Positional distribution of !- 3 fatty acids in marine lipid triacylglycerols by high-resolution 13C nuclear magnetic resonance spectroscopy', *J Am Oil Chem Soc*, 1995 72 293–7.
27 SACCHI R, MEDINA I, AUBOURG S P, ADDEO F and PAOLILLO L, 'Proton nuclear magnetic resonance rapid and structure-specific determination of !-3 polyunsaturated fatty acids in fish lipids', *J Am Oil Chem Soc*, 1993, 70 225–28.
28 MEDINA I and SACCHI R, 'Acyl stereospecific analysis of tuna pHospHolipids via high resolution 13C-NMR spectroscopy', *Chem PHys Lipids*, 1994 70 53–61.
29 CARR H Y and PURCELL E M, 'Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments', *Am J PHysiol*, 1954 94 630–8.
30 MEIBOOM S and GILL D, 'Modified spin-echo method for measuring nuclear times', *Rev Sci Instr*, 1958 29 688–91.
31 PROVENCHER SW, 'A Fourier method for the analysis of exponential decay curves', *BiopHys J*, 1976 16 27–41.
32 PROVENCHER SW, 'An eigenfunction expansion method for the analysis of exponential decay curves', *J Chem PHys*, 1976 64 2772–7.
33 PROVENCHER S W, 'A constrained regularisation method for inverting data represented by linear algebraic or integral equations' *Comp Phys Commun*, 1982 27 213–27.
34 RUAN R R and CHEN P L, *Water in foods and biological materials. A nuclea magnetic resonance approach*, Lancaster, Technomic Pub. Co., 1998.
35 BRO R, *Multi-way analysis in the food industry. Models algorithms and applications*, Dissertation, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands, 1998.
36 CARECHE M and LI-CHAN E C Y, 'Structural changes in cod myosin after modification with formaldehyde or frozen storage', *J Food Sci*, 1997 62 717–23.
37 CARECHE M, HERRERO A M, RODRIGUEZ-CASADO A, MAZO M L and DEL CARMONA P, 'Structural changes of hake (*Merluccius merluccius* L.) fillets: effects of freezing and frozen storage', *J Agric Food Chem*, 1999

47 952–9.
38 OGAWA M, NAKAMURA S, HORIMOTO Y, HAEJUNG AN TSUCHIYA T and NAKAI S, 'Raman spectroscopic study of changes in fish actomyosin during setting', *J Agric Food Chem*, 1999 47 3309–18.
39 SAEED S, FAWTHROP S A and HOWELL N K, 'Electron spin resonance (ESR) study on free radical transfer in fish lipid-protein interaction', *J Sci Food Agric*, 1999 79 1809–16.
40 COUPLAND J and MCCLEMENTS D J (2001) 'Ultrasonics' in Ref. 42, 217–41.
41 MALINOWSKI E, *Factor analysis in chemistry*, New York, Wiley & Sons, 2nd ed, 1991.
42 GUNASEKARAN S, *Nondestructive food evaluation. Techniques to analyz properties and quality*, New York, Marcel Dekker, 2001.
43 BECHMANN I E and JØRGENSEN B M, 'Rapid assessment of quality parameters for frozen cod using near-infrared spectroscopy', *J Food Sci Technol* 1998 31 648–52.
44 UDDIN M, ISHIZAKI S, OKAZAKI E and TANAKA M, 'Near-infrared reflectance spectroscopy for determining end-point temperature of heated fish and shellfish meats', *J Sci Food Agric*, 2002 82 286–92.
45 BRODERSEN K and BREMNER H A, 'Exploration of the use of NIR reflectance spectroscopy to distinguish and measure attributes of conditioned and cooked shrimp (*Pandalus borealis*)', *Food Sci Technol*, 2001 34 533–41.
46 NILSEN H A, 'Freshness measured by near-infrared technology', *Food Technol Int*, 2001 107–9.
47 WARM K, MARTENS H and NIELSEN J, 'Sensory quality criteria for five fish species predicted from near-infrared (NIR) reflectance measurement', *J Food Qual*, 2001 24 389–404.
48 PINK J, NACZK M and PINK D, 'Evaluation of the quality of frozen minced red hake: use of Fourier transform near-infrared spectroscopy', *J Agric Food Chem*, 1999 47 4280–84.
49 WOLD J P and ISAKSSON T, 'Non-destructive determination of fat and moisture in whole Atlantic salmon by near-infrared diffuse spectrometry', *J Food Sci*, 1997 62 734–6.
50 AUBOURG S P, SOTELO C G and PEREZ-MARTIN R, 'Assessment of quality changes in frozen sardine (*Sardina pilchardus*) by fluorescence detection', *J Am Oil Chem Soc*, 1998 75 575–80.
51 AUBOURG S and MEDINA I, 'Quality differences assessment in canned sardine (*Sardina pilchardus*) by fluorescence detection', *J Agric Food Chem*, 1997 45 3617–21.
52 AMIN AMIZAM and OWUSU APENTEN R K, 'Urea and heat unfolding of coldadapted Atlantic cod (*Gadus morhua*) trypsin and bovine trypsin', *J Sci Food Agric*, 1996 70 1–10.
53 AURSAND M, MABON F and MARTIN G, 'Characterization of farmed and wild salmon *(Salmo salar)* by a combined use of compositional and isotopic analyses', *J Am Oil Chem Soc*, 2000 77 659–66.
54 MEDINA I, SACCHI R and AUBOURG S, 'Application of 13C NMR to the selection of the thermal processing conditions of canned fatty fish', *Eur Food Res Technol*, 2000 210 176–8.

55 MEDINA I, SACCHI R, GIUDICIANNI I and AUBOURG S, 'Oxidation in fish lipids during thermal stress as studied by 13C nuclear magnetic resonance spectroscopy', *J Am Oil Chem Soc*, 1998 75 147–54.
56 YOKOYAMA Y, AZUMA Y, SAKAGUCHI M, KAWAI F and KANAMORI M, '31P NMR study of bioenergetic changes in carp muscle with cold-CO2 anesthesia and non-destructive evaluation of freshness', *Fisheries Sci*, 1996 62 267–71.
57 YOKOYAMA Y, AZUMA Y, SAKAGUCHI M, KAWAI F and KANAMORI M, 'Nondestructive pHospHorus-31 nuclear magnetic resonance study of postmortem changes in oyster tissues', *Fisheries Sci*, 1996 62 416–20.
58 JENSEN K N, GULDAGER H S and JØRGENSEN B M, 'Three-way modelling of NMR relaxation profiles from thawed cod muscle', *J Aquat Food Pro Technol*, 2002, in press.
59 JEPSEN S M, PEDERSEN H T and ENGELSEN S B, 'Application of chemometrics to low-field 1H NMR relaxation data of intact fish flesh', *J Sci Food Agric*, 1999 79 1793–802.
60 STEEN C and LAMBELET P, 'Texture changes in frozen cod mince measured by low-field nuclear magnetic resonance spectroscopy', *J Sci Food Agric*, 1997 75 268–72.
61 LAMBELET P, RENEVEY F, KAABI C and RAEMY A, 'Low-field nuclear magnetic resonance relaxation study of stored or processed cod', *J Agric Food Chem*, 1995 43 1462–6.