



ORIGINAL RESEARCH PAPER (Marin Sciences)

Evaluation of Bacterial Spoilage (Counting, Isolation and Identification of Bacteria) Whole and Guttred Greenback Grey Mullet (*Chelonsubviridis*) in Abadan Central Fish Market during Storage at Crushed ice (0°C) and Refrigerator (4°C) Chilling

Fatemeh Ghani Kuvei¹, Aynaz Khodanazary^{2,*}, Ishagh Zamani³

¹Mr.c Student, Fisheries, Marine Natural Resources, Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

²Associate Professor, Fisheries, Marine Natural Resources, Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

³Associate Professor, Marine Biology, Marine Science, Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2019/11/19

Revised: 2021/04/17

Accepted: 2021/12/1

Keywords:

Greenback grey mullet

Chelonsubviridis

Spoilage bacteria

Crushed ice

Refrigerator

*Corresponding author:

✉ khodanazary@yahoo.com

☎ +986153534725

ABSTRACT

Background and Objectives: Fish and sea food are important economic products at many countries. Despite the high nutritional value of seafood products, there is higher perishable against environmental factors and microbial factors and it causes the process of spoilage in the fish to begin immediately after death. Therefore, the aim of this study was to isolate and identify the bacteria in green back gray mullet with abdominal contents under cold storage conditions, in order to reduce and prevent the spoilage process.

Methods: In this study, 86 pieces of In this study, 86 pieces of green back gray mullet fish with contents inside the abdomen and type of abdominal emptying were freshly prepared from the fish market of Abadan city. Fish and ice samples in a ratio of 1 to 2 (w / w) with ionolite boxes were immediately transferred to a processing laboratory located at Khorramshahr University of Marine Sciences and Technology. For bacterial counting and identification, ice (0%) and refrigeration (4%) were stored for 16 days.

Findings: The results showed that the number of mesophilic, psychrotrophic, *Staphylococcus* and H₂S producing bacteria counts significantly increased during storage.

Conclusion: The results of bacterial identification showed that Gram-positive bacteria of greenback grey mullet (*Chelonsubviridis*) stored at chilling were *Micrococcus* spp., *Staphylococcus*, *Listeria* spp., *Corynebacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Bacillus*, *Staphylococcus* spp. and Gram-negative bacteria of greenback grey mullet (*Chelonsubviridis*) stored at chilling were *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Vibrio* spp., *Enterobacter*, *Aeromonas*, *Shigella*, *Serratia*.



NUMBER OF TABLES

7



NUMBER OF FIGURES

0



NUMBER OF REFERENCES

24

مقاله پژوهشی (علوم دریایی)

ارزیابی باکتریایی (شمارش، جداسازی و شناسایی باکتری) ماهی کفال پشت سبز (*Chelonsubviridis*) موجود در بازار ماهی‌فروشان مرکزی آبادان با محتویات داخل شکم و نوع تخلیه شکمی طی دوره نگهداری دریخ خرد شده (۰°C) و یخچال (۴°C)

فاطمه غنی کوئی*^۱، آی ناز خدانظری^۲، اسحاق زمانی^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، شیلات، منابع طبیعی دریا، علوم و فنون دریایی، خرمشهر، ایران

^۲ عضو هیئت علمی، شیلات، منابع طبیعی دریا، علوم و فنون دریایی، خرمشهر، ایران

^۳ عضو هیئت علمی، زیست دریا، علوم دریایی، علوم و فنون دریایی، خرمشهر، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۸/۲۸ تاریخ بازبینی: ۱۴۰۰/۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۱۰</p>	<p>پیشینه و اهداف: ماهی و محصولات دریایی از تولیدات اقتصادی مهم بسیار برای کشورهای می‌باشند. فرآورده‌های شیلاتیعی رگمداشتنارزش غذایی بالا، فسادپذیری زیاد، مقابله‌محیطی و عوامل میکروبی دارند و موجب می‌شود تا فرآیند فساد در ماهی‌ها به سرعت پیشرفت کند. بنابراین هدف از این بررسی، جدا سازی و شناسایی باکتری‌های موجود در ماهی کفال پشت سبز با محتویات شکمی تحت شرایط نگهداری در سرما، به منظور کاهش و جلوگیری از فرایند فساد بود.</p>
<p>واژگان کلیدی: ماهی کفال پشت سبز <i>Chelonsubviridis</i> ارزیابی باکتریایی یخ خرد شده یخچال</p>	<p>روش‌ها: در این مطالعه ۸۶ قطعه ماهی کفال پشت سبز با محتویات داخل شکم و نوع تخلیه شکمی به صورت تازه از بازارچه ماهی‌فروشان شهرستان آبادان تهیه گردید. نمونه‌های ماهی و یخ به نسبت ۱ به ۲ (وزنی/وزنی) با جعبه‌های یونولیتی فوراً به آزمایشگاه فرآوری واقع در دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل گردیدند. جهت شمارش و شناسایی باکتریایی به مدت ۱۶ روز در دو شرایط دمایی یخ (۰°C) و یخچال (۴°C) نگهداری شدند.</p>
<p>*نویسنده مسئول khodanazary@yahoo.com</p>	<p>یافته‌ها: روش کارنتایج نشان داد که چه تعداد باکتری‌های مزوفیل، سرمادوست و استافیلوکوکوس و باکتری‌های تولیدکننده H₂S طی زمان نگهداری به طور معنی داری افزایش یافتند.</p>
	<p>نتیجه‌گیری: نتایج شناسایی باکتری‌های جداسازی شده نشان داد که در ماهی کفال پشت سبز نگهداری شده در سرما باکتری‌های گرم مثبت شامل: <i>Corynebacterium</i>، <i>Listeria</i> spp.، <i>Staphylococcus</i>، <i>Micrococcus</i> spp. و باکتری‌های گرم منفی شامل: <i>Klebsiella</i>، <i>Pseudomonas</i> spp.، <i>Staphylococcus</i>، <i>Bacillus</i>، <i>Lactobacillus</i> spp.، <i>Vibrio</i> spp.، <i>Enterobacter</i>، <i>Shigella</i>، <i>Aeromonas</i>، <i>Serratia</i> بودند.</p>

مقدمه

نگهداری در سرما از مهمترین روش‌های معمول برای حفظ فسادناپذیری غذاهایی دریایی در کشتی و ساحل تا یک دوره کوتاه می‌باشد. نگهداری در یخ برای طولانی نمودن مدت زمان ماندگاری آبزیان، به طور گسترده پس از صید تا رسیدن به بازار ماهی استفاده می‌شود. یخ دارای ظرفیت تبادل حرارتی بالایی است و ماهی به سرعت سرد می‌شود [۶]. بنابراین روشی ساده برای نگهداری ماهی صید شده، استفاده از یخ است [۷]. انواع مختلف یخ مانند پودری (powdered)، تکه تکه (sliced)، صفحه‌ای (plated)، فلسی (flaked) و خرد شده (crushed) تولید می‌شود که یخ خرد شده بهترین نوع یخ برای نگهداری ماهیبا محتویات شکمی (کامل) می‌باشد [۸]. از طرف دیگر، ماهی و محصولات ماهی در یخچال نگهداری می‌شوند [۹]. هر چند، طول مدت ماندگاری آبزیان بستگی به فاکتورهای بسیاری از جمله گونه، فصل، سایز ماهی، موقعیت فیزیولوژیکی گونه‌ها، تغذیه، روش صید، محل صید، محدوده دمایی و دستکاری و فرآوری دارد [۸]. عرضه محصولات غذایی با کیفیت و مطمئن یکی از اهداف کارخانجات صنایع غذایی می‌باشد [۱۰] که به این منظور سنجش منظم و همیشگی میزان بار میکروبی فرآورده‌ها و شناسایی آنها، از اصول اولیه کنترل کیفیت در صنایع غذایی است. هر چند، طول مدت ماندگاری آبزیان بستگی به فاکتورهای بسیاری از جمله گونه، فصل، سایز ماهی، موقعیت فیزیولوژیکی گونه‌ها، تغذیه، روش صید، محل صید، محدوده دمایی و دستکاری و فرآوری بستگی دارد [۸].

با این حال همه میکروارگانیسم‌ها در تغییرات کیفی غذاهای دریایی به یک اندازه مهم نیستند. عادت غذایی ماهی، موقعیت جغرافیایی، فصل، درجه حرارت دریا، نوع ماهی، محل نگهداری ماهی و شرایط ذخیره سازی از جمله دما و ترکیب هوای بسته بندی، دامنه فساد میکروارگانیسم‌های عامل فساد را تعیین می‌کنند [۱۱]. از آنجایی که ماهی کفال پشت سبزی یکی از ماهی‌های بازارپسند در جنوب کشور می‌باشد. بنابراین هدف از این بررسی، جدا سازی و شناسایی باکتری‌های موجود در ماهی کفال پشت سبزی با محتویات شکمی تحت شرایط نگهداری در یخ و یخچال، به منظور کاهش و جلوگیری از فرایند فساد بود.

روش پژوهش

۱. دریافت و توزین ماهی

پس از خریداری ماهی کفال توسط یخ با نسبت یک به یک توسط ماشین‌یخچال دار به محل دانشگاه حمل و پس از توزین تا شروع عملیات تولید در دمای پائین (کمتر از ۴°C) نگهداری خواهند گردید.

کفال پشت سبزی (*Chelonsubviridis*) از خانواده ماهیان Mugilidae است که در گذشته به نام *Liza subviridis* شناخته می‌شد. ماهی کفال پشت سبزی دارای ارزش غذایی بالا، جزء ماهیان تجاری و دارای ظرفیت تحمل نوسانات درجه حرارت و شوری است [۱، ۲]. ماهی کفال پشت سبزی جزو ماهیان بومی خلیج فارس می‌باشد؛ که به صورت کامل یا پاک کرده در بازارهای شهری عرضه می‌گردد. و به دلیل فعالیت‌های میکروبیولوژیکی، اکسیداسیون شیمیایی لیپیدها و اتولیز در مقایسه با دیگر غذاهای گوشتی بسیار فساد پذیر است؛ که حدود ۱۰٪ صید جهانی غذاهای دریایی سالانه فاسد می‌شود [۳]. ماهی در معرض میکروارگانیسم‌های خارجی و فساد توسط آنها می‌باشد. بنابراین، فلور میکروبی طبیعی ماهی با توجه به محیط زندگی تعیین می‌شود. رشد میکروبی در غذاهای دریایی بستگی به ترکیبات مغذی مختلف، pH مطلوب (۶-۷) و آب فعال (aw)، حدود ۰/۹۹ دارد. چنان چه ماهی بلافاصله پس از صید در دمای پایین قرار گیرد، فساد میکروبی می‌تواند تأخیر داشته باشد. رشد میکروبی و متابولیسم، عامل اصلی فساد محصولات دریایی است. ماندگاری آبزیان تازه بستگی به چندین فاکتور دارد: (۱) شرایط نگهداری، (۲) شرایط فیزیولوژیکی آبزیان و (۳) نوع و تعداد باکتری‌ها، که در ارتباط با محیط زیست دریایی و دستکاری زود هنگام و دستورالعمل آماده سازی است [۴]. آبزیان تازه صید شده به طور طبیعی آلوده به انواع متنوع و مختلفی از باکتری‌های گرم منفی سرمادوست مانند جنس‌های *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Shewanella*, *Acinetobacter* یا خانواده *Vibrionaceae* هستند (Liston, 1980). جمعیت این میکروارگانیسم‌ها در نگهداری آبزیان ممکن است تغییر کند. باکتری‌های مانند *Pseudomonas* spp., *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas* spp. می‌توانند از ماهیان آلوده به مصرف کننده انتقال یابند و سبب ایجاد عفونت در انسان شوند (Novotny et al., 2004). بنابراین ماهی تازه را در شرایط سرما ذخیره می‌کنند. سرعت واکنش‌های شیمیایی و بیوشیمیایی به طور لگاریتمی با درجه حرارت تغییر می‌کند، کاهش دمای محصول باعث کاهش فعالیت آنزیم‌ها، به ویژه در محصولات تازه می‌شود [۵]. به خوبی مشخص است که درجه حرارت به علت تأثیر گذاری بر میزان رشد میکروبی، یکی از عوامل کنترل کننده کیفیت غذا و ایمنی مواد غذایی می‌باشد. در واقع، رشد باکتری‌ها (میکروارگانیسم فاسد کننده و بیماری زا) در نتیجه نگهداری غذا، عمدتاً به دما و زمان نگهداری بستگی دارد. بنابراین عملکرد زنجیره سرد در کیفیت و ایمنی محصولات غذایی بسیار مهم می‌باشد.

۲. ارزیابی باکتریایی

براساس رنگ آمیزی (گرم منفی مثبت بودن)، شکل (کوکسی، باسیل، کوکوباسیل، ویبریو، اسپریل و اسپیروکت)، متابولیسم (بی هوازی، هوازی، بیهوازی اختیاری) و ... تقسیم بندی می‌شوند.

جهت شمارش و تعیین بار باکتریها مقدار ۱ گرم از هر نمونه هموزن شده در شرایط استریل به ۹ میلی لیتر کلرور سدیم ۰/۹ درصد اضافه شد و پس از مخلوط کردن، از آن برای تهیه رقت‌های متوالی استفاده گردید. از این رقت‌ها برای کشت باکتریها در محیط‌های کشت موردنظر به شرح زیر استفاده شد. از محیط کشت ¹PCA برای شمارش بار باکتریایی کل نمونه‌ها به کار گرفته شد. برای شمارش انتروباکتریاسه محیط کشت VRBG²ager مورد استفاده قرار گرفت، محیط کشت agerIron برای شمارش و جداسازی باکتریهای تولید کننده SH₂ محیط کشت Baird parker برای شمارش و جداسازی باکتریهای استافیلوکوکوس و محیط کشت MRSA³ager برای جداسازی و شناسایی باکتریهای لاکتیک اسید استفاده گردید. برای این منظور مقدار یک میلی لیتر از هر رقت با روش پورپلیت بر روی محیط‌های کشت اشاره شده کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد انکوبه شدند و پس از طی مدت انکوباسیون کلنی‌ها شمارش گردیدند.

برای شمارش باکتری‌ها سرمادوست به روش بالا عمل گردید سپس پلیت‌های کشت داده شده به مدت ۷ روز در دمای ۱۵ درجه سانتیگراد انکوبه شدند و پس از طی شدن مدت انکوباسیون شمارش کلنی‌ها انجام شد. شمارش کلنی‌ها بر مبنای $\log_{10}(\text{CFU})/\text{g}$ بیان گردید [۱۲].

به منظور جداسازی باکتری‌ها و در جهت‌شناسایی آن‌ها، مقدار ۰/۱ میلی لیتر از رقت‌های مختلف با روش پخش کردن در سطح پلیت بر روی محیط‌های کشت مذکور کشت داده شدند.

پس از انکوباسیون و رشد باکتری‌ها، کلونی‌های آنها بر روی محیط‌های کشت بررسی و با توجه به ویژگی‌ها و تفاوت‌های ظاهری کلونی‌ها از هر نوع کلونی حداقل یکی به عنوان یک جدایه منحصر به فرد در نظر گرفته شد و برای خالص‌سازی بر روی محیط کشت نوترینت آگار منتقل گردید؛ و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون برخی نمونه‌ها تا اطمینان از خالص بودن چند مرتبه به صورت متوالی مجدداً کشت داده شدند.

- سر زنی و تخلیه احشا: در این مرحله بعد از سرزنی، احشای ماهی تخلیه می‌گردد.

۱-۱ شستشو

در این مرحله ماهیان فیله شده با آب تمیز شستشو شده، لیزابه، خون و بقایای احشاء ماهی بوسیله برس زدن حذف می‌شوند. دستگاه گوارش ماهی، کلیه‌ها و کبد حاوی آنزیمهای پروتئولیتیک هستند. لذا چنانچه این اندامها بطور کامل حذف نشوند کیفیت ماهی دستخوش تغییرات نامطلوب می‌گردد.

فاز اول (پیش مطالعه - pre study):

تیمار شاهد:

تیمار ۱: ماهی کفال پشت سبز کامل (بدون اعمال هیچ گونه دستکاری) نگهداری شده در یخ (۰°C).

تیمار ۲: ماهی کفال پشت سبز از نوع تخلیه شکمی نگهداری شده در یخ (۰°C).

تیمار ۳: ماهی کفال پشت سبز کامل (بدون اعمال هیچ گونه دستکاری) نگهداری شده در یخچال (۴°C).

تیمار ۴: ماهی کفال پشت سبز از نوع تخلیه شکمی نگهداری شده در یخچال (۴°C).

۱-۲ نمونه برداری

در این تحقیق، ۸۶ قطعه‌ماهی کفال پشت سبز به صورت تازه از بازارچه ماهی فروشان شهرستان آبادان تهیه گردید. نمونه‌های ماهی و یخ به نسبت ۱ به ۲ (وزنی/وزنی) با جعبه‌های یونولیتی فوراً به آزمایشگاه فرآوری واقع در دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل گردیدند. سپس بصورت تصادفی میانگین وزنی ۴۵/۸ گرم و میانگین طول کل ۱۵/۷۵ سانتی متر اندازه گیری شدند و سپس با آب شهری شستشوی اولیه صورت گرفت و مجدداً با آب مقطر نمونه‌ها شستشو شدند. سپس ۴۳ قطعه از ماهی‌ها تخلیه شکمی شدند. برای هر نمونه تیمار ماهی، هر کدام جداگانه به میزان ۲۰۰ گرم درون هر زیپ پک، که در مجموع ۴ کیلوگرم وزن و بسته بندی شدند. ماهی‌ها در دو شرایط دمایی شامل یخ خرد شده (۰°C) و یخچال (۴°C) نگهداری شدند. شمارش، جداسازی و شناسایی باکتریایی با نمونه برداری از قسمت پشتی ماهی کفال پشت سبز، تحت شرایط نگهداری در سرما در فواصل زمانی چهار روزه تا روز ۱۶ انجام شد.

¹Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus

²Plate Count Agar

³Violet Red Bile Glucose

برای تعیین توانایی باکتری‌ها در استفاده از گلوکز به عنوان اکسیداسیون یا کاهش از دیسک‌های تجاری اکسیداسیون در دسترس برای فروش تجاری استفاده شد. بخشی از کلنی توسط سوآپ استریل برداشته شد و در تماس با دیسک اکسیداز قرار گرفت. پس از ۱۰-۵ ثانیه، تغییر رنگ بررسی شد. رنگ بنفش تیره به عنوان نتیجه مثبت و عدم تغییر رنگ به عنوان نتیجه منفی تفسیر شد.

۲-۵ تست MRVP

برای تشخیص توانایی باکتری‌ها برای تولید اسید در مسیر تخمیر گلوکز، محیط کشت MRVP مطابق دستورالعمل‌های شرکت تولید کننده (Biolife) تهیه شد. پس از ۴۸ ساعت کشت و انکوباسیون، با استفاده از واکنش متیل رد، واکنش دهنده آلفانفتول و هیدروکسید پتاسیم، تغییر رنگ حاصله مطالعه و تفسیر شد.

۲-۶ تست SIM

به جهت تعیین توانایی باکتری‌ها برای تجزیه تروپاتوین آمینو اسید و تولید ایندول، آزمون حرکت و توانایی تولید گاز H₂S مورد استفاده قرار گرفت. محیط کشت SIM بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده (Biolife) تهیه شد. در نهایت، پس از کشت و انکوباسیون، تغییرات بررسی و تفسیر شد.

۲-۷ تست لایزین دکربوکسیلاز

محیط کشت لایزین مطابق دستورالعمل شرکت تولید کننده (Biolife) تهیه شد. سطح محیط کشت با روغن معدنی پوشانده شد. در ابتدا رنگ محیط بنفش بود؛ سپس رنگ از بنفش به زرد تغییر یافت، و مجدداً به رنگ بنفش در آمد، در نتیجه به عنوان نتیجه مثبت در نظر گرفته شد. در غیر این صورت منفی تفسیر شد.

۲-۸ هیدرولیز اوره

برای تعیین وجود یا عدم وجود آنزیم اوره در باکتری استفاده می‌شود. محیط کشت اوره به صورت مایع تهیه شد. پس از انتقال ایزوله‌های باکتریایی تازه به محیط کشت و انکوباسیون به مدت ۴۸ ساعت، به دنبال مشاهده تغییر رنگ صورتی، نتیجه مثبت تفسیر گردید.

۲-۹ تست کاتالاز

در اولین مرحله برای شناسایی، باکتری‌های خالص سازی شده به روش گرم رنگ آمیزی شدند و بررسی نمونه‌های رنگ شده با استفاده از میکروسکوپ نوری انجام شد.

برای شناسایی باکتری‌ها از آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد تعریف شده در کتاب سیستماتیک باکتریولوژی Bergeys استفاده شد (Brown, 1939). بر اساس مورفولوژی باکتری، آزمایش‌های بیوشیمیایی مانند تخمیر گلوکز، تخمیر لاکتوز، اکسیداز، MRVP^۱، SIM^۲، لایزین دکربوکسیلاز، هیدرولیز اوره، کاتالاز، همولیز بر روی Blood Agar و تخمیر مانیتول مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۱۰ رنگ آمیزی گرم

برای این منظور، لکه‌ای از سلول‌های باکتریایی که بر روی اسلاید شیشه‌ای تمیز با حرارت ملایم شعله تثبیت شده بود، تهیه شد. رنگ آمیزی با یک محلول Crystal Violet به مدت ۱ دقیقه پوشانده شد. پس از شستشو با آب مقطر، یک دقیقه با محلولید کاملاً پوشانده شد. سپس جهت رنگ بری با الکل ۹۵٪ به مدت ۳۰ ثانیه آغشته شد و مجدداً شستشو با آب مقطر انجام شد. در آخر به مدت ۱ دقیقه با محلول سافرانین آغشته و با آب مقطر شستشو داده شد. سپس سلول‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی شدند.

۲-۲ تخمیر گلوکز

برای تعیین توانایی باکتری‌ها در تخمیر گلوکز یا عدم تخمیر آن، محیطی حاوی پپتون، فنول رد، کلرید سدیم، گلوکز و آب مقطر تهیه شد و سپس حرارت و اتوکلاو داده شد. pH محیط کشت ۷/۲ بود. نتایج این آزمایش در عرض ۲۴ ساعت پس از تلقیح و انکوباسیون بررسی و تفسیر گردید. تغییر رنگ محیط کشت به زرد به عنوان نتیجه مثبت و بدون تغییر رنگ منفی تفسیر شد.

۲-۳ تخمیر لاکتوز

به منظور تعیین توانایی باکتری در تخمیر لاکتوز و یا عدم توانایی تخمیر، محلول حاوی لاکتوز، فنول رد و آب مقطر تهیه شد. سپس حرارت داده و اتوکلاو شد. نتایج این آزمایش در عرض ۲۴ ساعت پس از تلقیح و انکوباسیون بررسی و تفسیر گردید. تغییر رنگ محیط کشت به زرد به عنوان نتیجه مثبت و بدون تغییر رنگ منفی تفسیر شد.

۲-۴ تست اکسیداز

^۱Sulfide Indol Motility

^۲ethyl-red VOGES-PROSKAUER

Listeria spp.، *Corynebacterium spp.* و کوکسی گرم مثبت شامل *Staphylococcus spp.* و *Micrococcus spp.* شناسایی شدند.

همچنین مطابق با جدول ۵ تغییرات بار باکتری‌های مزوفیل از $3/94 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $7/18 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت، سرمادوست از $3/97 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $6/91 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت، استافیلوکوکوس از $3/89 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $3/47 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت، انتروباکتریاسه از $2/99 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $4/79 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت بطوریکه نتایج فوق در ماهی کفال پشت سبز بدون محتویات حفره شکمی نگهداری شده در یخ (جدول مشاهده گردید. همچنین در، باکتری‌های مزوفیل با زمان نگهداری ($r=0/941$)، باکتری‌های سرمادوست با زمان نگهداری ($r=0/955$)، باکتری‌های انتروباکتریاسه با زمان نگهداری ($r=0/921$) و باکتری‌های تولید کننده H_2S با زمان نگهداری ($r=0/921$) همبستگی معنی دار ($p < 0/05$) وجود داشت.

۲. نتایج ماهی بدون محتویات حفره شکمی در یخ خرد شده

بر طبق نتایج به دست آمده در جداول ۱، ۲ و ۳ در عضله ماهیان کفال پشت سبز بدون محتویات حفره شکمی نگهداری شده در یخ، باکتری‌های باسیل گرم منفی شامل *Pseudomonas spp.*، *Enterobacter aerogenes* و *Aeromonas spp.* و باسیل گرم مثبت شامل *Corynebacterium spp.* و کوکسی گرم مثبت شامل *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus spp.* و *Micrococcus spp.* شناسایی شدند. همچنین مطابق با جدول ۷ تغییرات بار باکتری‌های مزوفیل از $3/94 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $7/60 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت، سرمادوست از $3/97 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $6/01 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت، استافیلوکوکوس از $3/89 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $4/68 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت، انتروباکتریاسه از $2/99 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $3/96 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت و باکتری‌های تولید کننده H_2S از $2/34 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $4/47 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت. همچنین در باکتری‌های مزوفیل با زمان نگهداری ($r=0/983$)، باکتری‌های سرمادوست با زمان نگهداری ($r=0/992$)، باکتری‌های انتروباکتریاسه با زمان نگهداری ($r=0/943$)، استافیلوکوکوس با زمان نگهداری ($r=0/952$) و باکتری‌های

به منظور تعیین وجود یا عدم وجود آنزیم کاتالاز در باکتری، کلونی باکتری در اسلایدهای استریل قرار داده شد و سپس یک قطره پراکسید هیدروژن ۳٪ اضافه و به خوبی مخلوط شد. در مدت ۱ دقیقه حباب مشاهده گردید. تشکیل حباب نشان دهنده کاتالاز مثبت و بدون حباب آن، منفی بودن کاتالاز تفسیر شد.

۱۰-۲ تست همولیز Blood Agar

محیط کشت پایه Blood Agar مطابق با دستورالعمل شرکت تولید کننده (Biolife) تهیه شد. این یک محیط پایه است که پس از حرارت و اتوکلاو شدن، خون گوسفند یا خرگوش اضافه شد و در نهایت بر اساس همولیز (آلفا، بتا و گاما) تفسیر شد.

۱۱-۲ تست تخمیر مانیتول

برای تعیین توانایی باکتری در تخمیر یا عدم تخمیر مانیتول، محیط کشت Mannitol Salt Agar بر اساس دستورالعمل شرکت تولید کننده (Biolife) تهیه شد. پس از کشت و انکوباسیون، تغییر رنگ محیط به زرد به عنوان مثبت بودن آزمون تفسیر شد.

۳. تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های مربوط به شمارش باکتریایی به صورت انحراف معیار \pm میانگین بیان شدند. نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگراف-اسمیرنوف ۱ و همگنی واریانس‌ها با آزمون Leven بررسی گردید. برای تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین مقادیر حاصل از هر شاخص در زمان‌های مختلف نگهداری، از آنالیز واریانس یک طرفه ۲ استفاده شد. در مواردی که تفاوت معنی‌داری مشاهده شد به منظور مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده گردید. تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام گردید و سطح معنی‌داری قابل قبول در کلیه آزمون‌های آماری مورد استفاده به صورت ($P < 0/05$) در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

۱. نتایج ماهی با محتویات کامل حفره شکمی در یخ خرد شده

بر طبق نتایج به دست آمده در جداول ۱، ۲ و ۳ در عضله ماهیان کفال پشت سبز با محتویات کامل حفره شکمی نگهداری شده در یخ‌خردشده، باکتری‌های باسیل گرم منفی شامل *Serratia liquefaciens* و *Shigella spp.*، باسیل گرم مثبت شامل

[†] One-Way ANOVA

¹ - Kolmogorov-smirnov

۳- نتایج ماهی بدون محتویات حفره شکمی در یخچال

بر طبق نتایج به دست آمده در جداول ۱، ۲ و ۳ در عضله ماهیان کفال پشت سبز بدون محتویات حفره شکمی نگهداری شده در یخچال، باکتری‌های باسیل گرم منفی شامل *Serratia liquefaciens*، *Klebsiella pneumoniae*، *Vibriospp*، *Pseudomonas spp.*، *Aeromonas spp.* باسیل گرم مثبت شامل *Bacillus spp.*، *Corynebacterium spp.* و *Micrococcus Staphylococcus spp.*، *Staphylococcus aureus* و *Micrococcus spp.* شناسایی شدند. همچنین مطابق با جدول ۶ تغییرات بار باکتری‌های مزوفیل از $4/94 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $7/24 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت، سرمادوست از $3/97 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $7/55 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت، انتروباکتریاسه از $2/99 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $4/68 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت و باکتری‌های تولید کننده H₂S از $2/34 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $5/71 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت؛ بطوریکه نتایج فوق در ماهی کفال پشت سبز بدون محتویات حفره شکمی نگهداری شده در یخ (جدول ۷)، مشاهده گردید. همچنین در باکتری‌های مزوفیل با زمان نگهداری $(r=0/971)$ ، باکتری‌های سرمادوست با زمان نگهداری $(r=0/985)$ ، باکتری‌های انتروباکتریاسه با زمان نگهداری $(r=0/990)$ ، و باکتری‌های تولید کننده H₂S با زمان نگهداری $(r=0/959)$ همبستگی معنی دار $(p<0/05)$ وجود داشت.

تولید کننده H₂S با زمان نگهداری $(r=0/871)$ همبستگی معنی دار $(p<0/05)$ وجود داشت.

۳. نتایج ماهی با محتویات کامل حفره شکمی در یخچال

بر طبق نتایج به دست آمده در جداول ۱، ۲ و ۳ در عضله ماهیان کفال پشت سبز با محتویات کامل حفره شکمی نگهداری شده در یخچال، باکتری‌های باسیل گرم منفی شامل *Serratia liquefaciens*، *Enterobacter intermedium*، *Pseudomonas spp.*، *Enterobacter arerogenes* باسیل گرم مثبت شامل *Enterobacter arerogenes*، *Bacillus spp.*، *Listeria spp.*، *Corynebacterium spp.* و *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus spp.* مثبت شامل *Streptococcus spp.* شناسایی شدند. همچنین مطابق با جدول ۴ تغییرات بار باکتری‌های مزوفیل از $3/94 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $7/46 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت، باکتری‌های سرمادوست از $3/97 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $6/25 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت، استافیلوکوکوس از $3/72 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $5/58 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت، انتروباکتریاسه از $2/99 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $4/94 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت و باکتری‌های تولید کننده H₂S از $3/34 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $5/10 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز ۱۶ افزایش یافت؛ بطوریکه نتایج فوق در ماهی کفال پشت سبز بدون محتویات حفره شکمی نگهداری شده در یخ مشاهده گردید. همچنین در باکتری‌های مزوفیل با زمان نگهداری $(r=0/922)$ ، باکتری‌های سرمادوست با زمان نگهداری $(r=0/976)$ ، باکتری‌های انتروباکتریاسه با زمان نگهداری $(r=0/996)$ ، استافیلوکوکوس با زمان نگهداری $(r=0/862)$ و باکتری‌های تولید کننده H₂S با زمان نگهداری $(r=0/945)$ همبستگی معنی دار $(p<0/05)$ وجود داشت.

جدول ۱: مشخصات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گونه‌های مختلف باکتری‌های باسیل گرم منفی موجود در کفال پشت سبز با محتویات کامل حفره شکمی و نوع تخلیه شکمی طی دوره نگهداری در سرما

Table 3: Physiological and biochemical characteristics of different species of Gram-negative bacilli bacteria present in whole and gutted greenback grey mullet (*Chelon subviridis*) during cold storage

جدول ۲: مشخصات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گونه‌های مختلف باکتری‌های باسیل گرم مثبت، موجود در کفال پشت سبز با محتویات کامل حفره شکمی و نوع تخلیه شکمی طی دوره نگهداری در سرما

Table 3: Physiological and biochemical characteristics of different species of Gram-positive bacilli bacteria present in whol and gutted greenback grey mullet (*Chelon subviridis*) during cold storage

تیمار	شناخته شده به عنوان (مطابق دفترچه راهنمای برجی)	شکل	اکتای پوری	تشکیل اسپور	ایندول	تولید H ₂ S	تحرک	کاتالاز	موتیلوژی	رنگ آمیزی گرم	ویژگی‌ها
کامل- یخچال	□□□□□□□□ □□□□	تعریف نشده	-	+	-	-	-	+	میله ای	+	□.۱
کامل- یخچال	□□□□□□□□ □□□□	تعریف نشده	تعریف نشده	-	-	-	+	+	میله ای	+	۲۳
کامل- یخچال	□□□□□□□□ □□□□	-	تعریف نشده	-	-	-	-	+	میله ای	+	۴۱
کامل- یخ	□□□□□□□□ □□□□	تعریف نشده	تعریف نشده	-	-	-	+	+	میله ای	+	۱۸
کامل- یخ	□□□□□□□□ □□□□	-	تعریف نشده	-	-	-	-	+	میله ای	+	۲۲
کامل- یخ	□□□□□□□□ □□□□	تعریف نشده	تعریف نشده	-	-	-	+	+	میله ای	+	۲۶
شکم خالی- یخچال	□□□□□□□□ □□□□	تعریف نشده	-	+	-	-	+	+	میله ای	+	۸
شکم خالی- یخچال	□□□□□□□□ □□□□	-	تعریف نشده	-	-	-	-	+	میله ای	+	□.۱۴
شکم خالی- یخچال	□□□□□□□□ □□□□	-	تعریف نشده	-	-	-	-	+	میله ای	+	(۲)۴۷
شکم خالی- یخچال	□□□□□□□□ □□□□	-	تعریف نشده	-	-	-	-	+	میله ای	+	۵۳
شکم خالی- یخ	□□□□□□□□ □□□□	-	تعریف نشده	-	-	-	-	+	میله ای	+	۲
شکم خالی- یخ	□□□□□□□□ □□□□	-	تعریف نشده	-	-	-	-	+	میله ای	+	□.۵۴
شکم خالی- یخ	□□□□□□□□ □□□□	-	تعریف نشده	-	-	-	-	+	میله ای	+	۵۷
شکم خالی- یخ	□□□□□□□□ □□□□	-	تعریف نشده	-	-	-	-	+	میله ای	+	□.۶۴
شکم خالی- یخ	□□□□□□□□ □□□□	-	تعریف نشده	-	-	-	-	+	میله ای	+	۶۵
شکم خالی- یخ	□□□□□□□□ □□□□	-	تعریف نشده	-	-	-	-	+	میله ای	+	۶۶

جدول ۳: مشخصات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گونه‌های مختلف باکتری‌های کوکسی گرم مثبت موجود در کفال پشت سبز با محتویات کامل حفره شکمی و نوع تخلیه شکمی طی دوره نگهداری در سرما

Table 3: Physiological and biochemical characteristics of different species of gram-positive cocci bacteria present in whol and gutted greenback grey mullet (*Chelon subviridis*) during cold storage

نمونه ها	شناخته شده به عنوان (مطابق دفترچه راهنمای بزرگی)	نمک برای رشد لازم است	رنگ آمیزی	تغییر سبزی	معمول زرد	کاتالاز	مورفولوژی	رنگ آمیزی گرم	ویژگی
									انزیم
کامل - بیخجل	<i>Staphylococcus spp</i>	تعریف نشده	-	-	تعریف نشده	+	کروی	+	۳۳
کامل - بیخجل	<i>Streptococcus spp</i>	تعریف نشده	تعریف نشده	-		-	کروی	+	۳۴
کامل - بیخجل	<i>Staphylococcus aureus</i>	تعریف نشده	تعریف نشده	+	تعریف نشده	+	کروی	+	n.۳۵
کامل - بیخ	<i>Streptococcus spp</i>	-	تعریف نشده	-		-	کروی	+	۳
کامل - بیخ	<i>Micrococcus spp</i>	تعریف نشده	+	-	تعریف نشده	+	کروی	+	۱۹
کامل - بیخ	<i>Micrococcus spp</i>	تعریف نشده	+	-	تعریف نشده	+	کروی	+	s.۲۹
کامل - بیخ	<i>Micrococcus spp</i>	تعریف نشده	+	-	تعریف نشده	+	کروی	+	۳۰
شکم خالی - بیخجل	<i>Staphylococcus aureus</i>	تعریف نشده	تعریف نشده	+	تعریف نشده	+	کروی	+	۴
شکم خالی - بیخجل	<i>Micrococcus spp</i>	تعریف نشده	+	-	تعریف نشده	+	کروی	+	۷
شکم خالی - بیخجل	<i>Micrococcus spp</i>	تعریف نشده	+	-	تعریف نشده	+	کروی	+	s.۱۴
شکم خالی - بیخجل	<i>Staphylococcus spp</i>	تعریف نشده	-	-	تعریف نشده	+	کروی	+	b.۴۰
شکم خالی - بیخجل	<i>Staphylococcus aureus</i>	تعریف نشده	تعریف نشده	+	تعریف نشده	+	کروی	+	۴۳
شکم خالی - بیخجل	<i>Staphylococcus aureus</i>	تعریف نشده	تعریف نشده	+	تعریف نشده	+	کروی	+	۴۵
شکم خالی - بیخ	<i>Staphylococcus aureus</i>	تعریف نشده	تعریف نشده	+	تعریف نشده	+	کروی	+	۴۴
شکم خالی - بیخ	<i>Staphylococcus aureus</i>	تعریف نشده	تعریف نشده	+	تعریف نشده	+	کروی	+	۴۸
شکم خالی - بیخ	<i>Micrococcus spp</i>	تعریف نشده	+	-	تعریف نشده	+	کروی	+	b.۵۶
شکم خالی - بیخ	<i>Staphylococcus aureus</i>	تعریف نشده	تعریف نشده	+	تعریف نشده	+	کروی	+	۵۹
شکم خالی - بیخ	<i>Staphylococcus spp</i>	تعریف نشده	-	-	تعریف نشده	+	کروی	+	c.۶۰
شکم خالی - بیخ	<i>Micrococcus spp</i>	تعریف نشده	+	-	تعریف نشده	+	کروی	+	s.۶۴

جدول ۴: ارزیابی بار میکروبی ماهی کفال پشت سبز کامل نگهداری شده در بیخجل

Table 4: Microbiological evaluation of whol greenback grey mullet (*Chelon subviridis*) during refrigerated storage (log CFU/g).

زمان نگهداری نمونه باکتری	۰	۴	۸	۱۲	۱۶	۲
باکتری های مزوفیل	۴/۹۴ ^c ± ۰/۰	۳/۸۰ ^c ± ۰/۳۳	۴/۸۷ ^b ± ۰/۳۱	۷/۱۳ ^a ± ۰/۰۶	۷/۴۶ ^a ± ۰/۱۰	۰/۹۲۲ ^a
باکتری های سرمادوست	۳/۹۷ ^e ± ۰/۰	۴/۸۰ ^d ± ۰/۰	۵/۳۲ ^c ± ۰/۰۱	۶/۱۹ ^b ± ۰/۰۱	۶/۲۵ ^a ± ۰/۰۱	۰/۹۷۶ ^a
انتروباکتریاسه	۲/۹۹ ^e ± ۰/۰۲	۳/۶۰ ^d ± ۰/۰	۳/۹۹ ^c ± ۰/۰۲	۴/۶۰ ^b ± ۰/۰	۴/۹۴ ^a ± ۰/۰	۰/۹۹۶ ^a
استافیلوکوکوس	۳/۷۲ ^d ± ۰/۰	۳/۸۹ ^d ± ۰/۰	۳/۹۹ ^c ± ۰/۰۲	۴/۲۵ ^b ± ۰/۰۱	۵/۵۸ ^a ± ۰/۰	۰/۸۶۳ ^a
باکتری های تولید کننده H ₂ S	۲/۳۴ ^e ± ۰/۰۱	۳/۸۷ ^d ± ۰/۰	۴/۲۰ ^c ± ۰/۰۱	۴/۹۴ ^b ± ۰/۰	۵/۱۰ ^a ± ۰/۰۲	۰/۹۴۵ ^a

حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار طی دوره نگهداری می باشد (p < ۰/۰۵).

* نشان دهنده تفاوت معنی دار

جدول ۵: ارزیابی بار میکروبی ماهی کفال پشت سبز کامل نگهداری شده در یخ

Table 5: Microbiological evaluation of whole greenback grey mullet (*Chelon subviridis*) during ice storage (log CFU/g).

زمان نگهداری نمونه باکتری	*	۴	۸	۱۲	۱۶	r
باکتری های مزوفیل	۴/۹۴ ^d ± ۰/۰	۴/۶۸ ^c ± ۰/۰	۵/۷۷ ^b ± ۰/۰	۷/۳۳ ^a ± ۰/۳۲	۷/۱۸ ^a ± ۰/۳۳	۰/۹۴۱*
باکتری های سرمادوست	۳/۹۷ ^e ± ۰/۰	۴/۷۶ ^d ± ۰/۰	۶/۲۲ ^c ± ۰/۰۱	۶/۱۱ ^a ± ۰/۰۲	۶/۹۱ ^a ± ۰/۰	۰/۹۵۵*
انتروباکتریاسه	۲/۹۹ ^e ± ۰/۰۲	۳/۴۷ ^d ± ۰/۰	۴/۱۴ ^c ± ۰/۰۱	۴/۴۴ ^b ± ۰/۰	۴/۷۹ ^a ± ۰/۰	۰/۹۸۹*
استافیلوکوکوس	۳/۸۹ ^d ± ۰/۰	۴/۰۳ ^d ± ۰/۰۲	۴/۲۹ ^b ± ۰/۰۱	۴/۹۳ ^a ± ۰/۰	۳/۴۷ ^e ± ۰/۰	۰/۱۷
باکتری های تولید کننده H ₂ S	۲/۳۴ ^e ± ۰/۰۱	۳/۵۴ ^d ± ۰/۰	۳/۹۴ ^c ± ۰/۰	۴/۶۰ ^a ± ۰/۰	۴/۴۴ ^b ± ۰/۰	۰/۹۲۱*

حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار طی دوره نگهداری می باشد (p < ۰/۰۵).

* نشان دهنده تفاوت معنی دار

جدول ۶: ارزیابی بار میکروبی ماهی کفال پشت سبز شکم خالی نگهداری شده در یخچال

Table 6: Microbiological evaluation of gutted greenback grey mullet (*Chelon subviridis*) during refrigerated storage (log CFU/g).

زمان نگهداری نمونه باکتری	*	۴	۸	۱۲	۱۶	r
باکتری های مزوفیلگر مادوست	۴/۹۴ ^d ± ۰/۰	۴/۸۹ ^c ± ۰/۰	۵/۸۳ ^b ± ۰/۰	۷/۰۶ ^a ± ۰/۰۲	۷/۲۴ ^a ± ۰/۳۲	۰/۹۷۱*
باکتری های سایکروفیلر مادوست	۳/۹۷ ^e ± ۰/۰	۴/۸۳ ^d ± ۰/۰۳	۵/۸۳ ^c ± ۰/۰	۶/۸۷ ^b ± ۰/۰	۷/۵۵ ^a ± ۰/۳۳	۰/۹۸۵*
خانواده انتروباکتریاسه	۲/۹۹ ^e ± ۰/۰۲	۳/۴۷ ^d ± ۰/۰	۳/۸۹ ^c ± ۰/۰	۴/۵۰ ^b ± ۰/۰	۴/۶۸ ^a ± ۰/۰	۰/۹۹۰*
خانواده استافیلوکوکوس	۳/۸۹ ^d ± ۰/۰	۵/۲۳ ^d ± ۰/۰۱	۵/۰۸ ^b ± ۰/۰۲	۳/۹۹ ^c ± ۰/۰۴	۳/۸۹ ^d ± ۰/۰	-۰/۲۸۷
رسته باکتری های تولید کننده H ₂ S	۲/۳۴ ^d ± ۰/۰۱	۴/۰۷ ^c ± ۰/۰۲	۴/۱۰ ^c ± ۰/۰۲	۵/۱۴ ^b ± ۰/۰۱	۵/۷۱ ^a ± ۰/۰۱	۰/۹۵۹*

حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار طی دوره نگهداری می باشد (p < ۰/۰۵).

* نشان دهنده تفاوت معنی دار

جدول ۷: ارزیابی بار میکروبی ماهی کفال پشت سبز شکم خالی نگهداری شده در یخ

Table 7: Microbiological evaluation of gutted greenback grey mullet (*Chelon subviridis*) during ice storage (log CFU/g).

زمان نگهداری نمونه باکتری	*	۴	۸	۱۲	۱۶	r
باکتری های مزوفیل	d94/3۰ ± ۰/۰	c43/4۰ ± ۰/۰	b59/5۰ ± ۰/۰	a47/7۰ ± ۰/۰	a60/7۰ ± ۰/۳۴	۰/۹۶۰*
باکتری های سرمادوست	e97/3۰ ± ۰/۰	d22/4۰ ± ۰/۰۱	c92/4۰ ± ۰/۰	b37/5۰ ± ۰/۰	a01/6۰ ± ۰/۰۲	۰/۹۹۲*
انتروباکتریاسه	c99/2۰ ± ۰/۰۲	c10/3۰ ± ۰/۰۲	b68/3۰ ± ۰/۰۴	ab83/3۰ ± ۰/۰۳	a96/3۰ ± ۰/۰۹	۰/۹۴۳*
استافیلوکوکوس	d89/3۰ ± ۰/۰	d94/3۰ ± ۰/۰	c08/4۰ ± ۰/۰۲	b36/4۰ ± ۰/۰۱	a68/4۰ ± ۰/۰۴	۰/۹۶۶*
باکتری های تولید کننده H ₂ S (کلونی سیاه)	e34/2۰ ± ۰/۰۱	d86/3۰ ± ۰/۰	c99/3۰ ± ۰/۰۲	b26/4۰ ± ۰/۰۱	a47/4۰ ± ۰/۰	۰/۸۷۱*

حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار طی دوره نگهداری می باشد (p < ۰/۰۵).

* نشان دهنده تفاوت معنی دار

فلور طبیعی در ماهی صید شده در آبهای معتدل عمدتاً شامل باکتری های
 هوازی و یا بی هوازی اختیاری، گرم منفی و سرمادوست شامل سودوموناس^۱،

¹Pseudomonas

یخچال باکتری‌های جنس سودوموناس وجود داشتند. در تحقیقی مشخص گردید که در کارخانجات فرآوری ماهی، سودوموناس دومین گروه غالب بعد از *انتروباکتریاسه* بود [۱۷]. باکتری‌های جنس سودوموناس می‌تواند باعث رشد و فعالیت باکتری‌های فاسد کننده در سالمون خام تحت شرایط هوازای باشند [۱۸]. در فلور طبیعی فرآورده‌های دریایی گرمسیری و نیمه گرمسیری نیز سودوموناس بخش مهمی از باکتری‌های موجود را تشکیل می‌دهند. به دلایل ذیل سودوموناس باعث فساد مواد غذایی دریایی می‌شود: (۱) زمان تکثیر کوتاه‌تر در مقایسه با سایر میکروارگانیسم‌ها (۲) توانایی استفاده از مولکول‌های بزرگ پروتئین (۳) فعالیت بیوشیمیایی سودوموناس [۱۵]. باکتری‌های جنس *آئروموناس* جزو ماهیان گرم منفی است. باکتری‌های جنس *آئروموناس* به طور گسترده در محیط‌های آبی دیده می‌شود. باکتری‌های جنس *آئروموناس* جزء آلودگی معمول ماهی و غذاهای دریایی هستند [۱۹]. باکتری‌های جنس *آئروموناس* در ماهی کفال پشت سبز شکم خالی نگهداری شده در یخ و یخچال مشاهده می‌شود. باکتری‌های جنس *آئروموناس* ممکن است باعث فساد ماهی شود [۲۰] و برای انسان و ماهی بیماری‌زا می‌باشد [۲۱]. باکتری جنس *آئروموناس* در یخچال‌های صنعتی و خانگی قادر به رشد می‌باشند (Lund et al., 2000).

باکتری‌های جنس *ویبریو* و *کلبسیلا پنومونیا*^{۱۸} که جزء باکتری‌های گرم منفی هستند، در ماهی کفال پشت سبز بدون محتویات شکمی نگهداری شده در یخچال، مشاهده گردید. باکتری‌های جنس *ویبریو* در آب‌های مناطق گرمسیری به فراوانی دیده می‌شود.

باکتری‌های جنس *استافیلوکوکوس*^{۱۹} جزء باکتری‌های کوکسی گرم مثبت می‌باشد. این میکروارگانیسم به ندرت از فرآورده‌های دریایی که تازه صید می‌گردند، جدا شده است ولی در فرآورده‌هایی که تهیه آنها مستلزم دستکاری زیاد انسان است ایجاد مشکل می‌کند. *استافیلوکوکوس* اغلب پس از صید و در حین فرآوری ارزیابی می‌شود. وجود باکتری‌های جنس *استافیلوکوکوس* نشان دهنده شرایط نامطلوب بهداشتی عرشه کشتی و کارکنان است. در پژوهش حاضر، باکتری‌های جنس *استافیلوکوکوس* مانند *استافیلوکوکوس اورئوس*^{۲۰} در فیله همه نمونه تیمارهای ماهی کفال پشت سبز نگهداری شده در یخ پودر شده و یخچال به جز نمونه ماهی کفال پشت سبز با محتویات کامل حفره شکمی نگهداری شده در یخ مشاهده شد.

موراکسلا^۱، فلاوو باکتریوم^۲، *ویبریو*^۳، *آئروموناس*^۴، *آسینوباکتر*^۵، *آئروموناس* و *شوانلا*^۶ است. ماهیان نواحی گرمسیری شامل باکتری‌های گرم مثبت مانند *باسیلوس*^۸، *میکروکوکوس*^۹ و *کورینه فرمز*^{۱۰} است. در حالی که برخی مطالعات نشان داده است که باکتری‌های مذکور در ماهیان نواحی گرمسیری فلور غالب نیستند [۱۳].

فساد با *انتروباکتریاسه*^{۱۱} به ویژه در آب آلوده یا تأخیر در سرد سازی ماهی پس از صید بررسی می‌شود [۱۲]؛ که در باکتری‌های سرمادوست گرم منفی مهمترین گروه میکروارگانیسم‌ها برای فساد ماهیان نگهداری شده در شرایط سرد است [۱۳]. *انتروباکتریاسه* می‌تواند به عنوان شاخص خوب بهداشت بررسی شوند. *انتروباکتریاسه* خانواده باکتری‌های گرم منفی از جمله بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا مانند جنس *شیگلا*^{۱۲}، جنس *سراشیا*^{۱۳} و جنس *انتروباکتر*^{۱۴} هستند. در تحقیق حاضر باکتری‌های خانواده *انتروباکتریاسه* به خصوص *شیگلا* و *انتروباکتر* در همه نمونه‌ها به جز ماهی کفال پشت سبز بدون محتویات شکمی نگهداری شده در یخچال مشاهده شد. ماهی کفال پشت سبز با محتویات کامل شکمی نگهداری شده در یخچال و ماهی کفال پشت سبز بدون محتویات شکمی نگهداری شده در یخ حاوی گونه‌هایی از خانواده *انتروباکتریاسه* شامل *انتروباکتر اینترمدیوس*^{۱۵} و *انتروباکتر ایروژنز*^{۱۶} بودند. ماهی کفال پشت سبز با محتویات کامل شکمی نگهداری شده در یخ حاوی جنس‌هایی از خانواده *انتروباکتریاسه* مثل *شیگلا* بود. باکتری‌های *سراشیا لیکوفینس*^{۱۷} در همه نمونه‌های به جز ماهی کفال پشت سبز بدون محتویات شکمی نگهداری شده در یخ وجود داشت. *Chytiri* و همکاران (۲۰۰۴) یافتند که *انتروباکتریاسه* به عنوان میکروفلور فساد ماهی بدون محتویات شکمی و فیله ماهی سالمون نگهداری شده در یخ شناخته شد [۱۴].

باکتری‌های تولید کننده H_2S مانند *سودوموناس* [۱۲] در واقع به عنوان بخشی از فلور یا زمینه طبیعی میکروبی مطرح است. اکثر میکروارگانیسم‌های عامل فساد در غذاهای دریایی را باکتری جنس *سودوموناس* تشکیل می‌دهند، به دلیل اینکه این میکروارگانیسم‌ها سرمادوست بوده و به آسانی در سرما رشد می‌کنند. همچنین قادر به هجوم به بافت‌های ماهی و باعث تولید ترکیباتی با طعم و بوی نامطبوع می‌شوند [۱۵]. باکتری‌های جنس *سودوموناس* باکتری‌های غالب غذاهای پروتئینی نگهداری شده در شرایط هوازای در دمای سرد بود [۱۶]. بر مبنای پژوهش حاضر در ماهی کفال پشت سبز با محتویات کامل شکمی و نوع تخلیه شکمی نگهداری شده در یخ و

^۱Shigella^۲Serratia^۳Enterobacter^۴Enterobacter intermedius^۵Enterobacter aerogenes^۶Serratia liquefaciens^۷Klebsiella pneumonia^۸Staphylococcus^۹Staphylococcus aureus^۱Moraxella^۲Flavobacterium^۳Vibrio^۴Alteromonas^۵Acinetobacter^۶Aeromonas^۷Shewanella^۸Bacillus^۹Micrococcus^{۱۰}Coryneforms^{۱۱}Enterobacteriaceae

[۱۲-۱۴]. با این حال باکتری‌هایی که باعث فساد ماهی کفال پشت سبز می‌شوند مشخص نیست. باکتری‌های تولید کننده HS2 به علت تولید سولفیدهای کمپلکس بر روی محیط کشت کلنی‌های خاکستری یا سیاه رنگ ایجاد می‌کنند. این باکتری‌ها از عوامل رایج فساد در مواد غذایی متنوع مانند ماهی سرد شده هستند [۱۶] به همین دلیل در این مطالعه سعی شد میزان بار باکتریایی تولید کننده HS2 اندازه‌گیری شود، که در تمام نمونه تیمار ماهی افزایش یافته است.

نتیجه‌گیری

میکروفلور باکتریایی غالب جدا شده در ماهیان کفال پشت سبز ساکن در آب‌های گرم باکتری‌های گرم منفی سرمادوست گروهی شکل متعلق به جنس *Pseudomonas* بود که نتایج آزمایش مشابه مطالعه صورت گرفته توسط محققان دیگر بود. همچنین میکروفلور باکتریایی غالب جدا شده در ماهیان کفال پشت سبز ساکن در آب‌های گرم باکتری‌های گرم مثبت شکل متعلق به جنس *Corynebacterium* بود. همچنین ما ند گاری میکروبیولوژیکی ماهی کفال پشت سبز بسته به شرایط نگهداری در سرما بین ۱۰ تا ۱۲ روز تخمین زده شد. [۲۳، ۲۴]

مشارکت نویسندگان

در نگارش این مقاله نویسندگان سهم یکسانی داشتند.

تعارض منافع

«هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.»

References

- Islam MS, Begum N, Rahman SL. Culture potentials of green back mullet, *Chelonus viridis* (Parse) under different stocking densities in south-western region of Bangladesh. 2017;533-537.
- Yasmin R, Islam MS, Rahman SL. Efficacy of different fertilizers on maximization of green back mullet (*Chelonus viridis*) fry production in nursery ponds. *Int J Fishery Aquatic stud.* 2016;351-356.
- Alfaro B, Hernandez I. Evolution of the indigenous microbiota in modified atmosphere packaged Atlantic horse mackerel (*Trachurus trachurus*) identified by conventional and molecular methods. *Int J Food Microbiol.* 2013;167(2):117-123. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.08.017 PMID: 24135667
- Jay JM. Modern Food Microbiology, third ed. Van Nostrand Reinhold Company, New York. 1986.
- Novotny L, Dvorska L, Lorencova A, Beran V, Pavlik I. Fish: a potential source of bacterial pathogens for human

Ayulo و همکاران (۱۹۹۴) [۲۲] باکتریاستافیلوکوکوس اورئوس را در ۲۰٪ از ۱۷۵ نمونه ماهی مورد مطالعه جداسازی و شناسایی کردند. باکتریاستافیلوکوکوس اورئوس طی عمل آوری و دستکاری به ماهی انتقال می‌یابد (Novotny et al., 2004) [۵]. در مطالعه حاضر، باکتری‌های جنس استرپتوکوکوس اجزاء باکتری‌های کوکسی گرم مثبت در ماهیکفال پشت سبز با محتویات کامل حفره شکمی نگهداری شده در یخ و یخچال بود. در ادامه نیز باکتری‌های جنس میکروکوکوس اجزاء باکتری‌های کوکسی گرم مثبت در همه نمونه‌های به جز ماهی کفال پشت سبز با محتویات کامل حفره شکمی نگهداری شده در یخچال بودند. باسیلوس نیز جزو باکتری‌های میله‌ای شکل، هوازی و گرم مثبت در ماهی کفال پشت سبز با محتویات کامل حفره شکمی و نوع تخلیه شکمی نگهداری شده در یخچال بود، که در نتایج این مطالعه مشاهده گردید. لیستریا اجزاء ماهیان گرم مثبت است که قابل انتقال از طریق آلودگی ثانویه در آبزیان می‌باشد. و این جنس نیز در ماهی کفال پشت سبز با محتویات کامل حفره شکمی نگهداری شده در یخ و یخچال مشاهده گردید. باکتری جنس لیستریا در یخچال‌های صنعتی و خانگی قادر به رشد می‌باشند (Lund et al., 2000). باکتری‌های جنس کورینه باکتریوم اجزاء باکتری‌های گرم مثبت بوده و در تمام ماهی‌های کفال پشت سبز با محتویات کامل حفره شکمی و نوع تخلیه شکمی نگهداری شده در یخ و یخچال مشاهده گردید.

میزان باکتری‌های مزوفیل در ماهی کفال پشت سبز کامل و شکم خالی طی نگهداری در یخ و یخچال در روز ۱۲ بالاتر از حد مجاز اعلام شده برای آبزیان خام ($Y \log_{10} cfu/g$) است.

باکتری‌های سرمادوست گرم منفی مثل سودوموناس‌ها، آلتروموناس‌ها، شوانلاها و فلاوو باکترها بیشترین گروه میکروارگانیزم‌های عامل فساد ماهی و فرآورده‌های دریایی در شرایط نگهداری هوازی در دماهای سرد می‌باشند

- beings. A review. *Veterinarni Medicina-UZPI (Czech Republic)*. 2004;343-358. doi: 10.17221/5715-VETMED
- Arvanitoyannis IS, Tsitsika EV, Panagiotaki P. Implementation of quality control methods (physico-chemical, microbiological and sensory) in conjunction with multivariate analysis towards fish authenticity. *Int J Food Sci Technol.* 2005;40(3):237-263. doi: 10.1111/j.1365-2621.2004.00917.x
- Sharifian S, Zakipour E, Mortazavi MS, Arshadi A. Quality assessment of tiger tooth croaker (*Otolithes ruber*) during ice storage. *Int J Food Properties.* 2011;14:309-318. doi: 10.1080/10942910903177822
- Balachandran KK. Post-harvest technology of fish and fish products. Daya Books. 2001.
- Cakli S, Kilinc B, Cadun A, Dincer T, Tolasa S. Quality differences of whole ungutted sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) while stored in ice.

³*Corynebacterium*

¹*Streptococcus*

²*Listeria*

- Food Control.* 2007;**18**:391-397. doi: 10.1016/j.foodcont.2005.11.005
10. Starliper CE. General and specialized media routinely employed for primary isolation of bacterial pathogens of fishes. *J Wildl Dis.* 2008;**44**(1):121-132. doi: 10.7589/0090-3558-44.1.121 pmid: 18263827
11. Tryfinopoulou P, Tsakalidou E, Nychas GJ. Characterization of *Pseudomonas* spp. associated with spoilage of gilt-head sea bream stored under various conditions. *Appl Environ Microbiol.* 2002;**68**(1):65-72. doi: 10.1128/AEM.68.1.65-72.2002 pmid: 11772610
12. Sallam KI. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control.* 2007;**18**(5):566-575. doi: 10.1016/j.foodcont.2006.02.002 pmid: 17471315
13. Gram L, Huss H. Microbiological spoilage of fish and fish products. *Food Microbiol.* 1996;**33**:121-137. doi: 10.1016/0168-1605(96)01134-8
14. Chytiri S, Chouliara I, Savvaidis IN and Kontominas MG. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Food Microbiol.* 2004;**21**:157-165. doi: 10.1016/S0740-0020(03)00059-5
15. Karim G. Microbial food tests. University of Tehran Press.2008. 517 p.
16. Gram L, Trolle G, Huss HH. Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0 C) and high (20 C) temperatures. *Int J Food Microbiol.* 1987;**4**(1):65-72. doi: 10.1016/0168-1605(87)90060-2
17. Guðbjornsdottir B, Einarsson H, Thorkelsson G. Microbial adhesion to processing lines for fish fillets and cooked shrimp: Influence of stainless steel surface finish and presence of gram-negative bacteria on the attachment of *Listeria monocytogenes*. *Food Technol Biotechnol.* 2005;**43**:55-61.
18. Mace S, Cornet J, Chevalier F, Cardinal M, Pilet MF, Dousset X, et al. Characterisation of the spoilage microbiota in raw salmon (*Salmo salar*) steaks stored under vacuum or modified atmosphere packaging combining conventional methods and PCR-TTGE. *Food Microbiol.* 2012;**30**(1):164-172. doi: 10.1016/j.fm.2011.10.013 pmid: 22265297
19. Hänninen ML, Oivanen P, Hirvelä -Koski V. *Aeromonas* species in fish, fish eggs, shrimp and freshwater. *Int J Food Microbiol.* 1997;**34**:17-26. doi: 10.1016/S0168-1605(96)01163-4
20. Joffraud JJ, Leroi F, Roy C, Berdaguá JL. Characterisation of volatile compounds produced by bacteria isolated from the spoilage flora of cold-smoked salmon. *Int J Food Microbiol.* 2001;**66**:175-184. doi: 10.1016/S0168-1605(00)00532-8
21. Beaz-Hidalgo R, Figueras MJ. *Aeromonas* spp. whole genomes and virulence factors implicated in fish disease. *J Fish Dis.* 2013;**36**(4):371-388. doi: 10.1111/jfd.12025 pmid: 23305319
22. Ayulo AMR, Machado RA, Scussel VM. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and seafood from the southern region of Brazil. *Int J Food Microbiol.* 1994;**24**(1-2):171-178. doi: 10.1016/0168-1605(94)90116-3
23. Andrade SCS, Mársico ET, Franco RM, Mano SB, Conte jr CA, Freitas MQ, et al. Effect of storage temperature at the quality index methods scheme and shelf life study of mullet (*Mugil platanus*). *J Food Qualit.* 2015;**38**:60-70. doi: 10.1111/jfq.12123
24. Liston J, Microbiology in fishery science. In, Connell JJ. *Advances in Fish Science and Technology.* Fishing News Book Ltd, Farnham, Surrey, England 1980. 138-157 p.

AUTHOR(S) BIOSKETCHES

Ghani Kuvei, F. Mr.c Student, Fisheries, Marine Natural Resources, Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran
 ✉ faghkov@gmail.com  0000-0002-7877-6752

Khodanazary, A., Associate Professor, Fisheries, Marine Natural Resources, Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran
 (khodanazary@yahoo.com)  0000-0001-8960-7324

Zamani, I., Associate Professor, Marine Biology, Marine Science, Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.
 (Isaac.zfr@gmail.com)  0000-0001-8969-9150



HOW TO CITE THIS ARTICLE

Citation (Vancouver) Ghani Kuvei, F, Khodanazary, A, Zamani, I. Evaluation of Bacterial Spoilage (Counting, Isolation and Identification of Bacteria) Whole and Guttred GreenbaBck Grey Mullet (*Chelonsubviridis*) in Abadan Central Fish Market during Storage at Crushed ice (0°C) and Refrigerator (4°C) Chilling. *J Oceanography*, 2022, 13(49): 108-122

 <http://doi.org/10.52547/joc.13.49.108>

 <http://joc.inio.ac.ir/article-1-1462-fa.html>

 <https://orcid.org/0000-0002-7877-6752>



COPYRIGHTS

©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.