

تولید سُس از کیلکای دریای خزر به روش سنتی و صنعتی با استفاده از آنزیم‌ها و باکتری‌های پروتئولیتیک

سهراب معینی^(۱) و انوشه کوچکیان صبوری^(۲)

dr-s-moini@yahoo.com

۱ - دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، گروه علوم و صنایع غذایی، کرج

۲ - انستیتو تحقیقات بین‌المللی مامیان خاویاری، رشت صندوق پستی: ۳۴۴۴-۴۱۶۳۵

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۰ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۸۱

چکیده

در این تحقیق تولید سُس از ماهی کیلکا با استفاده از ماهی کامل، ماهی سر زده شکم خالی و ماهی کامل و پخته شده در نمونه‌های سنتی، آنزیمی، باکتریایی و آنزیمی باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت. تغییرات pH در مراحل تولید سُس به روش سنتی بین ۶/۵ تا ۷ بود اما در سُس‌های تولیدی که به کمک آنزیم و باکتریها و آنزیم‌های باکتریایی تولید گردید تغییرات pH بترتیب ۷/۵، ۸ و ۷ بود.

در سُس تولیدی در نمونه سنتی، مقدار پروتئین، درصد رطوبت و TVN بترتیب برابر با ۱۱/۵۳ درصد، ۶۲/۲ درصد و ۱۷۰/۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه بود. در نمونه آنزیمی ۱۲/۵ درصد، ۴۶ درصد و ۲۰۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه و در نمونه باکتریایی بترتیب ۱۲ درصد، ۵۲/۵ درصد و ۱۹۴/۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه و نمونه آنزیمی باکتریایی ۱۲/۵۶ درصد، ۶۱/۵ درصد و ۲۰۵/۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه بدست آمد. شمارش کلی میکروبی در تمامی نمونه‌ها دارای تعداد میکروبهای قابل قبول بوده که در سُس ماهی کامل، بالاترین بار میکروبی و در سُس ماهی پاک شده در تیمارهای مختلف کمترین بار میکروبی را داشته است.

بالاترین میانگین لگاریتم شمارش کلی میکروبی بطور متوسط بین ۲/۵ تا ۶/۱ کلنی

بود. این تحقیق نشان داد که رابطه مستقیم بین سرعت تخمیر و اضافه نمودن آنزیمهای پروتئاز و سوشهای میکروبی مفید (پدیوکوکوس) به نمونه‌ها برای تهیه فرآورده وجود دارد. باکتری کلی فرم و باکتریهای مولد اسپور^(۱) در نمونه‌ها وجود نداشتند. شمارش استافیلوکوک در همه نمونه‌ها بالا بود و استافیلوکوک و پدیوکوکوس دو باکتری دائمی موجود در سُس بودند.

نمک باعث از بین رفتن میکروبهای فاسدکننده می‌گردد و موجب مهیا کردن زمینه برای میکروبهای مفید تخمیر می‌باشد.

زمان و دمای مناسب برای هیدرولیز پروتئین از پارامترهای مهم فرآیند تولید سُس ماهی بوده است. اضافه نمودن آنزیمهای خوراکی و میکروبهای مفید خوراکی در کوتاه کردن زمان تخمیر نقش بسزایی داشتند. با توجه به اینکه نمی‌توان از TVN گزارش شده در مراجع برای تعیین کیفیت ماهی تازه و جهت تعیین کیفیت ماهی نمک سود شده برای سُس هم استفاده بعمل آورد، بنابراین مکانیزم TVN تولید شده در سُس رقم بالا بوده و بیانگر فساد در فرآورده نمی‌باشد. آزمایشات بعمل آمده روی آن بیانگر سلامت محصول و عاری از سموم بودن آن می‌باشد.

لغات کلیدی: آنزیم پروتئولیتیک، باکتری، سُس، ماهی کیلکا، دریای خزر

مقدمه

تولید مواد غذایی در حال افزایش است اما بواسطه نرخ رشد جمعیت، راندمان تولید مواد غذایی در حال کاهش است. در بیشتر کشورهای در حال توسعه، کمبود پروتئین وجود دارد پس نیاز مبرمی به ایجاد روشهایی جهت افزایش تولید مواد غذایی پروتئینی احساس می‌گردد. ماهی در اکثر کشورها خصوصاً کشورهای آسیای جنوب شرقی بعنوان بهترین منبع تأمین پروتئین حیوانی به حساب می‌آید (Amanoc, 1962). محصولات تخمیری با توجه به قیمت ارزان، آماده سازی کم خرج و قابلیت هضم و جذب بالا می‌توانند راه حل خوبی برای جبران پروتئین مورد نیاز باشند. بعنوان مثال در کامبوج حدود ۷/۵ درصد از مجموع پروتئین خوراکی مردم از سُس ماهی مشتق شده است (Amanoc, 1962) که میزان قابل توجهی می‌باشد. با توجه به اینکه فرآیند تخمیر یک فرآیند بیوشیمیایی است، بررسی‌های وسیعی صورت پذیرفته تا بر سرعت، کمیت،

کیفیت و بازده عمل تخمیر بیافزایند و در این راه موفقیت‌هایی نیز حاصل شده است. از طرف دیگر معلوم شده است که میکروارگانیسم‌ها نیز در بهبود طعم و عطر محصول تخمیری نقش دارند و امروزه محققین بدنبال میکروارگانیسم‌های تازه می‌گردند. در تولید ماست و پنیرهای مرغوب، میکروارگانیسم‌های مفید شناسایی و بکار گرفته شده‌اند. از مهمترین پروتئینهای حیوانی تخمیر شده می‌توان به شیر و ماهی تخمیر شده اشاره نمود (شایگان، ۱۳۷۵).

سُس ماهی یک منبع پروتئین برای مردم کشورهای آسیای جنوب شرقی است که بطور سنتی از اضافه کردن ۱۵ تا ۳۰ درصد و متوسط ۲۰ درصد نمک به انواع ماهی یا با اضافه نمودن به اندامهای اضافی آنان تهیه می‌گردد. این فرآورده دارای اسامی متفاوتی در کشورهای مختلف است، مانند باکاسانگ^(۱)، نام پالا در تایلند^(۲)، نوک مام در ویتنام^(۳)، پاتیس در فیلیپین^(۴) و شیوکارا در ژاپن^(۵) (Hull, 1992).

در سال ۱۹۹۲ Hull گزارش داد که سُس ماهی بصورت مایع در بطری بفروش می‌رسد و دارای آمینواسیدهای فراوان ناشی از هیدرولیز بافت ماهی است که به سهولت هضم می‌شود. امکان مصرف آن در ایران پس از فرموله کردن آن با موادی مانند گوجه، فلفل قرمز، پودر سیر و پیاز و نزدیک کردن به ذائقه ایرانی وجود دارد (Amanoc, 1962). در مناطق مرطوب و بارانی که امکان خشک کردن ماهی وجود ندارد این فرآورده تهیه می‌شود (Janbae et al., 1996) و به جهت صید زیاد کیلکا و عدم امکان تبدیل همه ماهی صید شده به سایر فرآورده‌ها، امکان تهیه سُس ماهی از آن در شهرهای بندری وجود دارد. در این مقاله به مسائلی مانند پایین آوردن زمان تولید و هیدرولیز هر چه بیشتر پروتئین بافت برای استحصال سُس بیشتر و بکارگیری حداقل درصد نمک برای جلوگیری از شوری محصول و بررسی مسائل بهداشتی و آزمایشات کنترل کیفی پرداخته شده است. در ایران انبوه صید وزنی ماهی در دریای خزر را کیلکا تشکیل می‌دهد و با توجه به تبدیل این ماهی ارزشمند به پودر ماهی، استفاده غذایی از آن حداکثر ۵ تا ۱۰ درصد وزن صید آن را تشکیل می‌دهد (معینی و سبحانی‌پور، ۱۳۷۸).

ماهی کیلکا بدلیل ظریف بودن و کوتاه بودن مدت ماندگاری آن در صورت بهره‌برداری صحیح می‌تواند یکی از منابع تأمین‌کننده بخشی از پروتئین مورد نیاز در کشور باشد. با توجه به بکارگیری مقدار زیادی از کیلکا همراه با نمک برای تخمیر، آینده خوبی برای تهیه سُس از این ماهی وجود دارد. اثر فرآیند حرارتی، درصد نمک مصرفی، مدت زمان تخمیر و استفاده از آنزیمها و میکروبهای خوراکی می‌تواند در مدت زمان تهیه، طعم، مزه، رنگ و تسریع در تخمیر سهم بسزایی داشته باشد (میکی و هاردی، ۱۳۷۱).

این محصول اثر درمانی روی بعضی عفونت‌های روده‌ای داشته و برای افراد مریضی که نمی‌توانند غذا را خوب جذب کنند مفید است زیرا مولکولهای پروتئینی آن کوچکتر از مولکولهای مشابه در ماهی تازه می‌باشد. هدف از این تحقیق مشخص کردن نحوه تولید، مدت نگهداری و بررسی فاکتورهای تغذیه‌ای و کنترل کیفی آن جهت مصرف انسانی می‌باشد.

مواد و روشها

ماهی بعنوان مواد خام در این پروژه به سه روش مورد استفاده قرار گرفت: ماهی کامل، ماهی کامل پخته شده و ماهی پاک کرده (سرزده شکم خالی). مقدار ۲۰ کیلوگرم از هر یک از اشکال ماهی در چهار نمونه تیمار مشترک به قرار زیر عمل‌آوری گردید:

۱- ماهی و نمک (سنتی)، ۲- ماهی، نمک و آنزیم (آنزیمی)، ۳- ماهی، نمک و سوش میکروبی (میکروبی) و ۴- ماهی، نمک و آنزیم و میکروب (آنزیمی - میکروبی).

۲۰ درصد وزن ماهی نمک استفاده شد و ۱۲۰ شیشه (شیشه شیر) به ظرفیت ۴۰۰ گرم ماهی استفاده گردید که در نمودار (۱) مراحل تهیه سُس نشان داده شده است. تمام نمونه‌های تهیه شده (۱۲۰ شیشه) در ۵ انکوباتور با دمای ثابت ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و پس از گذشت یک هفته انجام آزمایشات میکروبی - شیمیایی روی آنها آغاز گردید و بطور ماهانه میزان درجه هیدرولیز نمونه‌ها با مشاهدات فیزیکی یادداشت شد و پس از گذشت یک ماه اولین استحصال سُس از نمونه‌ها با موفقیت انجام گردید.

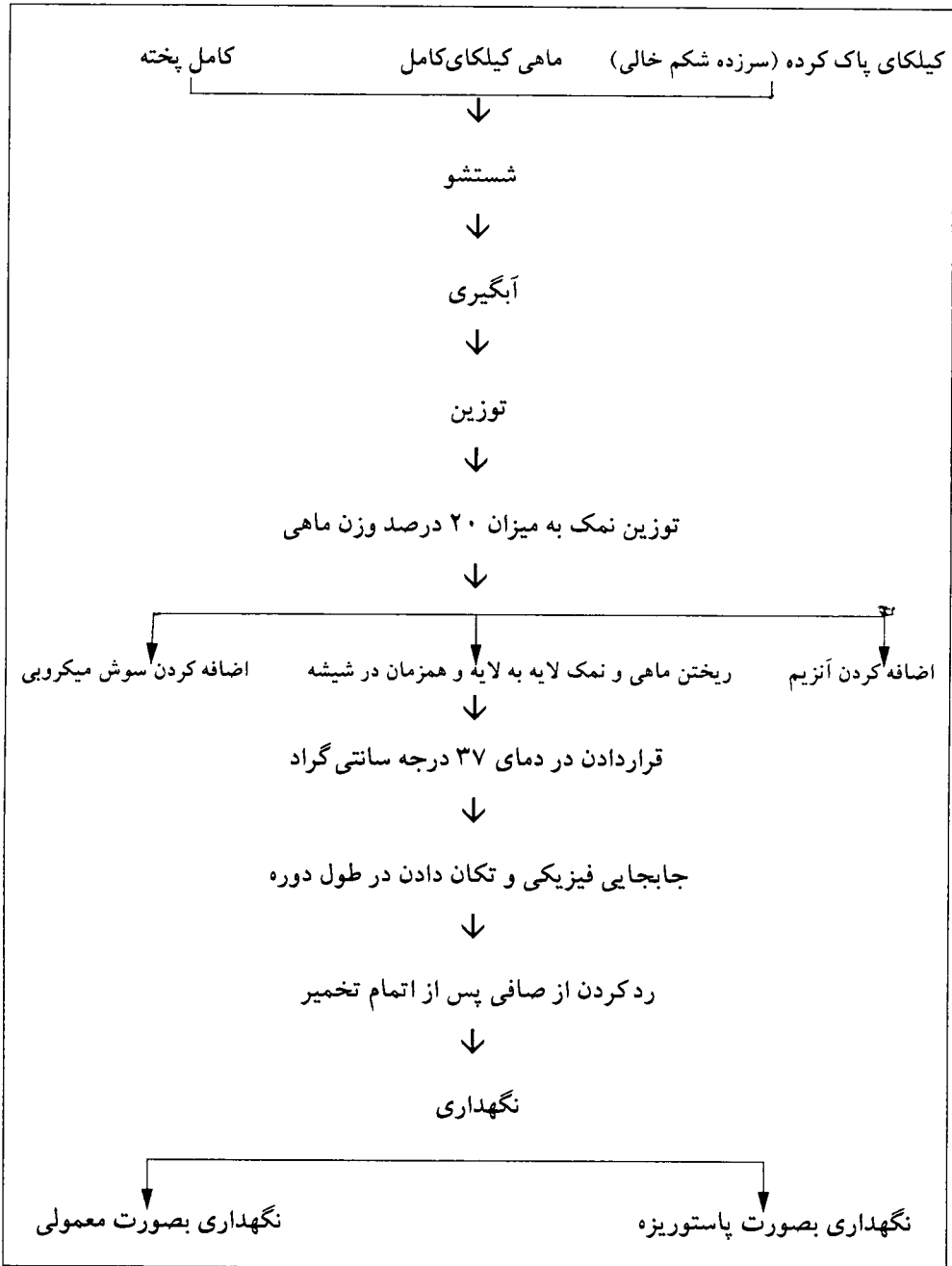
شیشه‌های حاوی سُس پس از گذراندن از صافی، در درجه حرارت ۸۰ درجه سانتیگراد به

مدت ۳۰ دقیقه پاستوریزه گردیدند.

آنزیم پروتامکس در پاکت آلومینیومی درب بسته به صورت پودر خشک سفید خریداری گردید. طبق مقدار پیشنهادی کارخانه سازنده، ۱ گرم آنزیم برای یک کیلوگرم ماهی استفاده شد. لذا برای ۴۰۰ گرم ماهی ۰/۴ گرم آنزیم مصرف شد که این مقدار قبلاً توسط ترازوی دقیق وزن شده و در تکه کاغذهای کوچک بسته بندی گردید.

مخلوط آنزیم‌های پروتامکس (پ) و فلی‌ورزیم (ف) به شیشه‌های حاوی نمونه بطور نصف از هر کدام (پ + ۰/۲ گرم + ف ۰/۴ گرم) افزوده شد. آنزیم فلی‌ورزیم ۲ گرم آنزیم برای ۱ کیلوگرم ماهی بوده است. سوسپانسیون پدیوکوکوس در یک ارلن و سوسپانسیون میکروب لاکتوباسیلوس در یک ارلن دیگر از قبل تهیه شده و پس از انکوباسیون به آزمایشگاه منتقل گردید و لذا با توجه به آماده بودن نمونه‌ها و باز بودن درب شیشه‌های حاوی نمونه بوسیله پیپت ۵cc ریخته شد. از هر یک از محیط کشت‌های حاوی لاکتوباسیلوس و پدیوکوکوس در داخل هر شیشه مجموعاً ۱۰cc ریخته شد و سپس با تکان دادن شیشه و هم زدن محتویات نمونه سعی در پخش نمونه‌ها به همه قسمت‌ها گردید. مخلوط کردن میکروب در نمونه‌ها همه در یک روز انجام گردید. با توجه به مشاوره‌ای که قبلاً با سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی شده بود و با توجه به تجربیات قبلی، سوسپانسیون باکتری حاوی تعداد لازم باکتری برای تأثیرگذاری در تخمیر بر روی ماهی می‌باشد. برای کشت و شمارش و نگهداری این باکتری از محیط‌های اختصاصی آگار آنها استفاده گردید که در مورد پدیوکوکوس آگار سدیم استات مدیوم و برای لاکتوباسیلوس MRS بود.

در این پژوهش می‌بایست ۱۲ تیمار مورد بررسی قرار گیرد. بدلیل آزمایشات میکروبی - شیمیایی و فیزیکی که لازم بود روی نمونه‌ها انجام گیرد، می‌بایست برای هر تیمار نمونه کافی محاسبه گردد تا بتوان به راحتی این آزمایشات را متوالیاً انجام داد لذا برای هر نمونه یا تیمار ۱۰ تکرار در نظر گرفته شد.



نمودار ۱: مراحل تهیه شس از ماهی کیلکا به روش سنتی، آنزیمی - میکروبی

درب شیشه‌های حاوی نمونه پس از آماده‌سازی توسط پنبه استریل و کاغذ استریل پوشانده شد و با نخ به شیشه گره زده شد و سپس کاغذ آلومینیوم به صورت آزاد بر روی آن قرار گرفت. شرایط شیشه حاوی نمونه در هر حال هوازی بود.

زمان رسیدگی از زمانی آشکار می‌گردد که محتویات شیشه کاملاً دو فاز شده است. پس از عمل فیلتراسیون تفاله‌ای خمیری شکل برجای می‌ماند که به آن Fish Paste گفته می‌شود که این نیز مانند سُس، جداگانه بسته‌بندی و به مصرف انسانی می‌رسد.

اندازه‌گیری pH، وزن مخصوص، درصد نمک، عصاره خشک، پروتئین کل، TN و TVN با استفاده از روش پیرسون در سال ۱۹۹۸ انجام شد. آزمایش‌های میکروبی بر اساس روش Adams & Moss در سال ۱۹۹۷ صورت گرفت و آزمایش‌های ارگانولپتیکی با استفاده از روش Chayonvan, 1993 بر روی نمونه‌ها انجام گرفت.

نتایج

نتایج آزمایش‌های ارگانولپتیکی روی سُس تهیه شده از ماهی کیلکا بر روی نمونه‌های سُس تهیه شده به روش میکروبی، آنزیمی و میکروبی و سنتی انجام پذیرفت که در جدول ۱ آورده شده است.

طبق بررسی‌های انجام گرفته راندمان تولید سُس از ماهی کیلکا ۴۰ تا ۵۰ درصد وزن ماهی و خمیر بدست آمده برابر ۳۰ تا ۳۵ درصد وزن ماهی بوده است. زمان تهیه سُس از ماهی کیلکا ۶ ماه بود.

این تحقیق نشان داد که مرحله رسیدگی ماهی کیلکا اثر مستقیمی در مقدار سس تولید شده از آن دارد، بطوریکه در زمان رسیدگی کامل ماهی، میزان سس بدست آمده ۶۰ درصد از کل وزن ماهی می‌باشد.

در جدول ۲ نتایج آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی که بر روی تیمارهای مختلف انجام گردید نشان داده شده است.

جدول ۱: نتایج آزمایش‌های ارگانولپتیکی بر روی نمونه‌های سس ماهی کیلکا

شوری	بو	طعم	رنگ	امتیاز
۵ ۴ ۳ ۲ ۱ ۰	۵ ۴ ۳ ۲ ۱ ۰	۵ ۴ ۳ ۲ ۱ ۰	۵ ۴ ۳ ۲ ۱ ۰	نمونه
				ماه اول
- ۳ ۱ - ۲ -	- ۵ ۵ - - -	- ۵ - - -	* ۱ ۴ - - -	نمونه میکروبی
- ۴ ۱ - ۱ -	- ۵ ۵ - - -	- ۵ - - -	۵ - - -	نمونه آنزیمی
- - - - -	- ۵ - - -	- ۵ - - -	۵ - - -	نمونه آنزیمی میکروبی
- - - - -	- ۵ - - -	- ۵ - - -	- ۲ ۳ - - -	نمونه سنتی
				ماه دوم
- ۲ ۱ ۲ - -	- ۵ - - -	- ۵ - - -	۱ ۱ ۳ - - -	نمونه میکروبی
- ۲ ۱ ۲ - -	- ۵ - - -	- ۵ - - -	۵ - - -	نمونه آنزیمی
- ۱ ۳ ۱ - -	- ۵ - - -	۵ - - -	۵ - - -	نمونه آنزیمی میکروبی
- ۱ ۳ ۱ - -	- ۵ - - -	۵ - - -	۱ ۱ ۳ - - -	نمونه سنتی
				ماه ششم
- ۱ ۳ ۱ - -	- ۵ - - -	۵ - - -	- ۵ - - -	نمونه میکروبی
- ۱ ۳ ۱ - -	- ۵ - - -	۵ - - -	۵ - - -	نمونه آنزیمی
- ۱ ۳ ۱ - -	- ۵ - - -	۵ - - -	۵ - - -	نمونه آنزیمی میکروبی
- ۱ ۳ ۱ - -	- ۵ - - -	۵ - - -	۵ - - -	نمونه سنتی

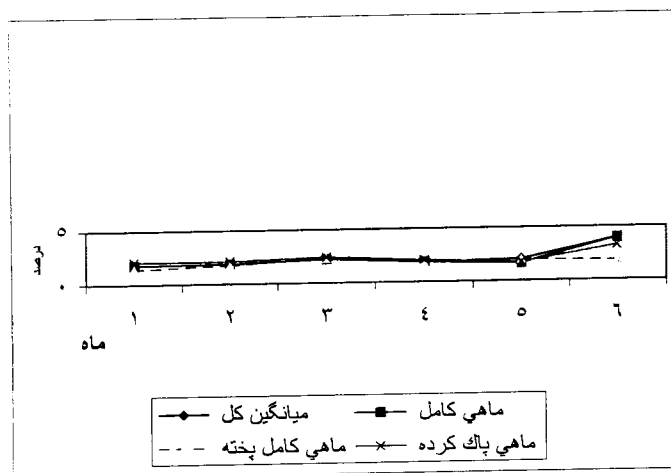
*: غیر قابل قبول ۱: رضایتبخش نیست ۲: نسبتاً رضایتبخش ۳: رضایتبخش ۴: خوب
۵: خیلی خوب

جدول ۲: شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی سس ماهی کیلکا در تیمارهای مختلف

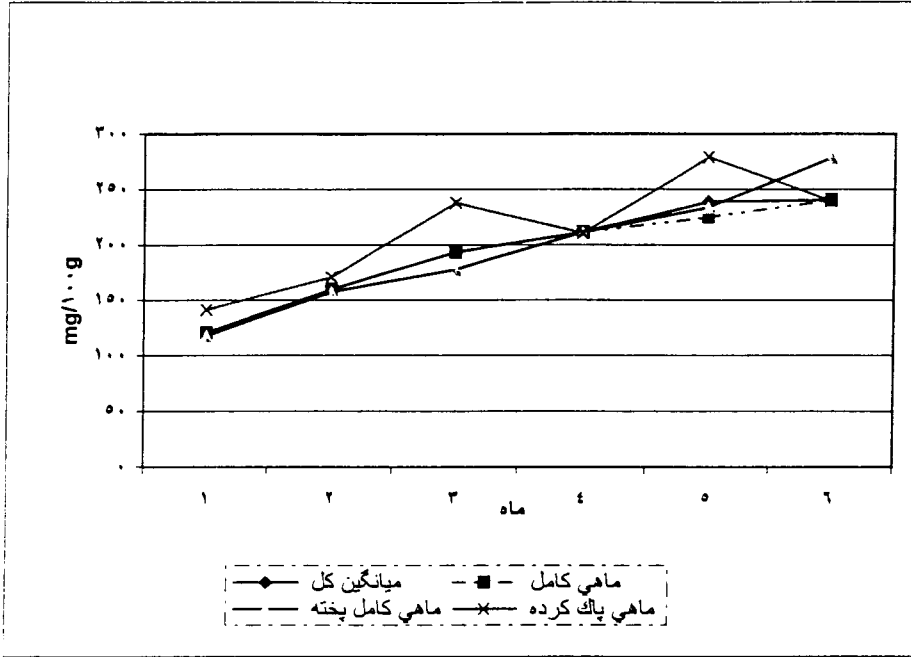
نمونه‌ها	pH	وزن	درصد	عصاره	TVN	TN	پروتئین	درصد
		مخصوص	نمک	خشک			کل	رطوبت
سنتی	۷/۴	۱/۱	۱۹/۴	۲۵/۶	۱۷۰/۳	۱/۹۶	۱۱/۵۳	۶۲/۲
آنزیمی	۷/۲	۱/۲	۱۷	۲۶/۳	۲۰۶	۱/۹۵	۱۲/۵	۵۶/۴۶
باکتریایی	۷/۵	۱/۲	۱۸/۴	۲۵	۱۹۴/۷	۱/۸	۱۲	۵۲/۵
آنزیمی باکتریایی	۷/۱	۱/۱	۱۸/۷	۲۶/۹	۲۰۵/۴	۳/۳	۱۲/۵۶	۶۱/۵

در آزمایش‌های شیمیایی همانطور که در نمودار ۲ مشاهده می‌گردد در طول فرآیند تخمیر، میزان ازت کل (TN) ابتدا کم بوده و بتدریج افزایش نشان می‌دهد و در انتهای فرآیند ثابت می‌ماند.

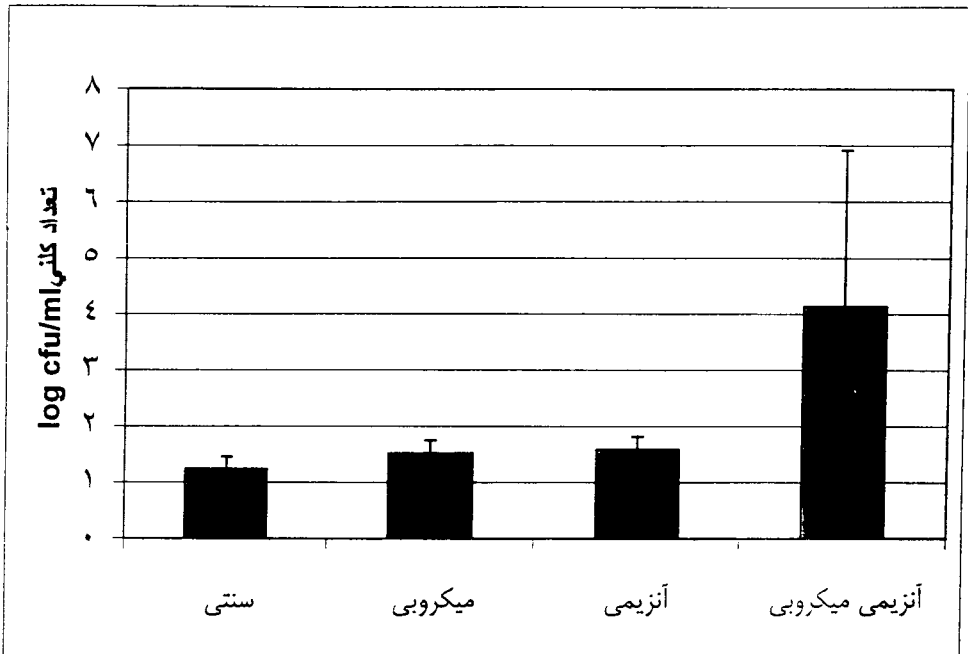
مطالعه نمودار ۳ که تغییرات TVN را در طول فرآیند نشان می‌دهد، بیانگر این نکته است که در ابتدا بعلت کمی فعالیت‌های بیوشیمیایی و باکتریها هیدرولیز مواد ازت دار آهسته بوده و در نتیجه مقدار تولید TVN در ابتدا کم بوده و با پیشرفت زمان و افزایش فعالیت‌های شیمیایی و بیوشیمیایی افزایش می‌یابد و در نهایت ثابت می‌گردد. نتایج آزمایش‌های میکروبی انجام شده بر روی ۴ تیمار، تولید سُس از ماهی کیلکا در نمودارهای ۴ و ۵ آورده شده است. همانطوریکه از نمودارها مشاهده می‌گردد در ابتدای تولید سُس، تعداد میکروارگانسیم‌ها بطور طبیعی بالا می‌باشد. اما پس از گذشت زمان و جذب تدریجی نمک، تعداد باکتریها بشدت افت می‌کند. غلظت بالای نمک در محیط، شرایط مناسب برای رشد باکتریهای نمک دوست را مهیا نموده که باعث افزایش مجدد تعداد باکتریها می‌گردد. با جذب بیشتر نمک توسط پروتئین و در نتیجه غیرقابل مصرف شدن آن توسط باکتریهای نمک دوست، تعداد این باکتریها کم می‌شود. علت کاهش باکتریها در طول عمل تخمیر و زمان نگهداری سُس تهیه شده را می‌توان به مقدار بالای نمک (۱۷ تا ۱۹/۴ درصد نمک) (جدول ۲) در سُس تولید شده از کیلکا نسبت داد.



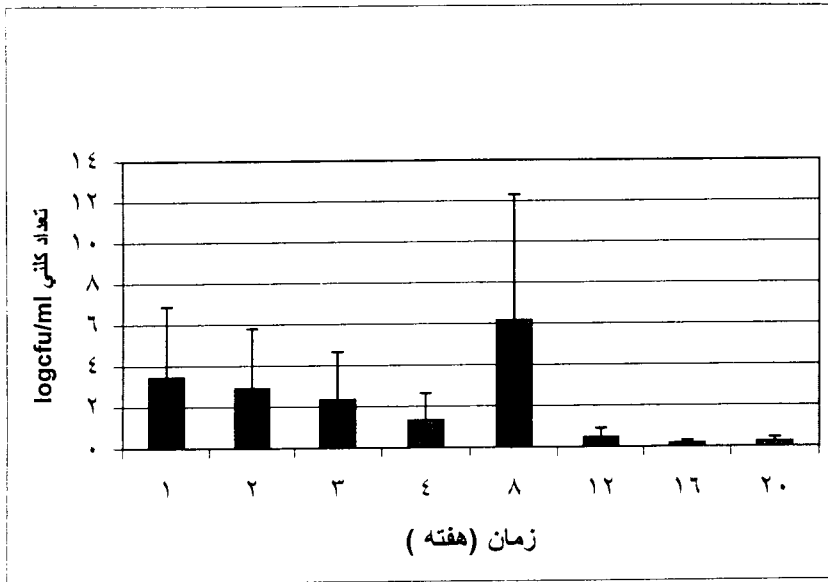
نمودار ۲: میانگین ازت کل در نمونه‌های مورد بررسی برحسب ماه



نمودار ۳: میانگین TVN در نمونه‌های مورد بررسی بر حسب ماه



نمودار ۴: میانگین شمارش کلی میکروبی در سس ماهی کیلکا بر حسب نوع



نمودار ۵: میانگین شمارش کلی میکروبی در سُس ماهی کیلکا در طول زمان

بحث

نتایج این تحقیق برای تولید سُس از ماهی کیلکا نشان داد که بازده تولید سُس در هر چهار فرآوری بستگی به پیشرفت عمل تخمیر و هیدرولیز ماهی دارد. از طرف دیگر سرعت هیدرولیز ماهی تابعی از عواملی مانند: چگونگی آماده سازی نمونه‌ها، مقدار نمک اضافه شده، باکتری و آنزیم می‌باشد. لذا بکارگیری استارترهایی مانند آنزیم پروتامکس و فلی‌ورزیم و سوش میکروبی در تسریع عمل تخمیر اثر چشمگیری داشتند. مثلاً سُس تهیه شده توسط اضافه کردن آنزیم و مخلوط آنزیم و میکروب به ماهی کیلکای کامل و ماهی کیلکای پاک شده باعث گردید که پس از یک ماه سُس تولید شود و قابل بهره‌برداری باشد. در این دو نمونه از ۴۰۰ گرم ماهی بطور متوسط ۱۷۵ سانتی‌مترمکعب سُس و ۱۵۰ گرم تفاله ماهی بدست آمد. در صورتیکه برای تهیه سُس از ماهی کامل و پخته شده که به آن آنزیم اضافه گردیده بود، برای انجام عمل تخمیر می‌بایست چهار ماه صبر نمود و پس از آن امکان فیلتر کردن نمونه و بدست آوردن سُس وجود داشت. Soo Kyo و همکاران در سال ۱۹۸۹ با بکار بردن سُس سویا و آنزیم برای تهیه سُس از ماهیان ریز

به نتایجی نزدیک به نتایج بدست آمده در این بررسی دست یافتند.

Janbae و همکاران در سال ۱۹۹۶ با هدف سرعت بخشیدن به عمل تخمیر ماهیان ریز و تولید سُس در زمان کوتاهتر، با بکار بردن انواع روش‌های نمونه‌سازی، اضافه نمودن آنزیم‌های پروتئولیتیک و باکتریهای نمک دوست و بکار بردن مقادیر مختلف نمک، قادر به تولید سُس از ماهیان ریز پلاژیک مثل ساردین و آنچوی در مدت سه ماه گردیدند. بررسی به روش مقدار پروتئین موجود در سُس‌های بدست آمده از ماهی کیلکا نشان داد که سُس تولید شده در مدت یک ماه، از نظر پروتئین نسبتاً فقیر بوده و مقدار آن ۸ درصد می‌باشد. ولی سُس تولید شده توسط Janbae و همکاران در سال ۱۹۹۶ دارای ۱۰ تا ۱۱ درصد پروتئین بود. اما اگر زمان لازم برای کامل شدن عمل تخمیر حداقل شش ماه در نظر گرفته شود، مقدار پروتئین سُس بدست آمده از کیلکا بین ۱۱/۵۳ تا ۱۲/۵۶ درصد خواهد بود.

تحقیقات Howgate در سال ۱۹۸۲ نشان داد که طول زمان تخمیر، در هیدرولیز پروتئین و در تولید مقدار آمینواسید در سُس تولید شده از ماهیان آنچوی اثر مهمی دارد بطوریکه مقدار آمینواسیدها در ماه اول از ۲۹۳۷ به ۱۲۴۶۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر از سُس پس از ۱۲ ماه افزایش یافت. مقدار TVN در ماهیان تازه مورد استفاده برای تولید سُس ۱۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بود. پس از یک ماه که از عمل تخمیر گذشت مقدار آن به ۵۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم رسید. افزایش مقدار TVN در سُس ماهی با گذشت زمان رو به افزایش گذاشت بطوریکه پس از ۹ ماه مقدار آن به ۲۵۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم رسید و سپس مقدار آن ثابت ماند. مقدار TVN برای سُس تهیه شده به روش سنتی، آنزیمی، باکتری و آنزیمی - باکتری بترتیب ۱۷۰/۳، ۲۰۶، ۱۹۴/۷ و ۲۰۵/۴ میلی‌گرم در صد گرم از نمونه می‌باشد. مقایسه نتایج این دو تحقیق با همدیگر نشان می‌دهد که تولید مقدار نسبتاً بالای TVN در سُس ماهی نمی‌تواند باعث فساد آن تلقی شود. محققین دیگری مانند Proctor & Lahiry, 1955, Mustafa, 1966, Sheikh & Shah, 1974, Shewan, 1965، معینی و سبحانی‌پور، ۱۳۷۸ که بر روی ماهی نمک سود تحقیق نموده‌اند از بالا رفتن مقدار TVN در این فرآورده گزارش داده‌اند. آنان معتقدند که عامل اصلی بالا رفتن TVN در این فرآورده، شکسته شدن پروتئین در اثر حرارت به مولکولهای کوچک آمینو اسید و نیز وجود ازتهای غیرپروتئینی می‌باشد. در تولید سُس هم بعلت عمل تخمیر، Howgate نیز در سال

۱۹۸۲ همین عوامل را در زمان تقطیر عامل افزایش TVN در سس ماهی اعلام نموده است. بنابراین براساس نتایج این تحقیقات نمی‌توان از TVN برای تعیین کیفیت سس ماهی همانطور که برای ماهی تازه استفاده می‌شود، از آن بهره جست.

نتایج این بررسی روی فلور میکروبی سس تهیه شده از ماهی کیلکا نشان می‌دهد که باکتریهای پدیوکوکوس، لاکتوباسیلوس و استافیلوکوک در ابتدای شروع تخمیر در محیط وجود داشته و در سرعت بخشیدن به عمل تخمیر مؤثرند. اما بعد از یک هفته باکتری لاکتوباسیلوس از تعداد زیادی از نمونه ناپدید گردید. احتمالاً علت آنرا می‌توان هالوفیل نبودن این باکتری دانست. باکتری پدیوکوکوس و استافیلوکوک عملاً دو باکتری دائمی در محیط سس بودند. نتایج شمارش میکروبی نشان داد که تعداد باکتری استافیلوکوک در تمام نمونه‌ها از شمارش بیشتری نسبت به باکتری پدیوکوکوس برخوردار بود. بالاترین شمارش میکروبی، در هفته هشتم مشاهده شد. پس از آن تعداد باکتریها بتدریج کم گردیده و بالاخره در هفته دوازدهم به بعد، تعداد آنها ثابت و نزدیک به $10^1 \times 1/5$ در میلی‌لیتر رسید. Hamm & Clague در سال ۱۹۵۰ تحقیقاتی روی فلور میکروبی سس ماهی در مراحل مختلف تخمیر ماهی در فیلیپین انجام دادند. نتایج بدست آمده نشان داد که تعداد باکتریها در هر گرم در ماهی تازه $10^6 \times 6/5$ بود و بلافاصله بعد از اضافه نمودن ۱۸ تا ۲۰ درصد نمک، تعداد باکتریها به $10^6 \times 2/9$ و پس از یک هفته به بیشترین تعداد $10^4 \times 4/6$ ، پس از سه هفته تعداد باکتریها ثابت و به $10^2 \times 3/2$ تعداد در گرم رسید. آنها نتیجه گرفتند که بیشتر باکتریهای فاسد کننده در ماهی بعلت درصد بالای نمک در محیط سس از بین رفته و فقط باکتریهای نمک‌دوست در محیط باقی ماند. در بررسی دیگر که توسط Amonrntiparat در سال ۱۹۷۹ بر روی فلور میکروبی سس ماهی انجام شد، نتایج آن بیانگر این نکات هستند که تعداد باکتریها از روز سوم تخمیر شروع به ازدیاد نمودند و در سیزدهمین روز تعداد آنها به بیشترین رقم $10^5 \times 9/7$ باکتری در گرم رسید. باکتریهای شناسایی شده در این مرحله عبارت بودند از پدیوکوکوس (*Pediococcus halophilus*) و استافیلوکوک (*Staphylococcus Spp*). در این سس تعداد باکتری پدیوکوکوس فلور غالب میکروبی گزارش شده است. مقایسه نتایج بدست آمده در مورد فلور میکروبی سس تهیه شده از ماهی کیلکا با سس تهیه شده توسط Hamm & Clague 1950، و Armonrntiparat, 1979 بیانگر این موضوع است که مقدار ۱۸ تا ۲۰ درصد نمک موجود در

محیط تخمیر ماهی از فعالیت‌های باکتریهای فاسد کننده و مضر جلوگیری نموده و در نهایت باعث از بین رفتن آنها می‌گردد و در نتیجه باکتریهای نمک‌دوست در محیط رشد نموده و پس از رسیدن تعدادشان به حداکثر و تعادل در این سه نمونه از سس ماهی متفاوت بوده، مثلاً در سس تهیه شده توسط Hamm & Clague, 1950 و Armonrntiparat, 1979 بترتیب پس از یک هفته و سیزده روز و سه هفته و سه ماه می‌باشد. اما در سس تهیه شده از ماهی کیلکا بیشترین شمارش میکروبی در هفته هشتم مشاهده گردید و مرحله تعادل از هفته دوازدهم شروع گردید. علت این اختلافات را می‌توان در گونه ماهی، مقدار نمک، درجه حرارت مورد استفاده برای عمل تخمیر و همچنین pH محیط دانست، اما بصورت کلی در هر سه فرآیند فرآوری مراحل سه‌گانه گزارش شده مشابه می‌باشند.

جهت اطمینان بیشتر ۱۲ عدد نمونه از سس تهیه شده از ماهی کیلکا به آزمایشگاه کنترل مواد غذایی و دارویی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی جهت بررسی سم انتقال یافت. پس از انجام آزمایش‌ها اعلام گردید که مصرف انسانی سس ماهی کیلکا بلامانع است. نتایج آزمایش‌های ارگانولپتیکی نشان داد که تمام سس‌ها از نظر رنگ، دارای رنگ زرد روشن تا زرد متمایل به قهوه‌ای بودند و تفاوت معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد. از نظر طعم و مزه، همه نمونه‌ها شور و بدون طعم ماهی بودند.

فقط می‌توان گفت که طعم سس حاصل از فرآوری با تیمار میکروبی، دارای طعم ملایم‌تر از سایر سس‌ها بود. طبق بررسی Saisithi, 1967 رنگ زرد سس ماهی بعلت واکنش غیرآنزیمی بین آمینواسیدها و ریبوز و طعم خاص بعلت تغییراتی است که عمل تخمیر در آمینواسیدها بوجود می‌آورد. در مجموع چنین می‌توان نتیجه گرفت که سس تهیه شده از ماهی کیلکا از نظر رنگ، طعم و مزه با دیگر سس‌های تهیه شده در کشورهای مثل ویتنام، تایلند، اندونزی، ژاپن، مالزی و فیلیپین فرقی ندارد. سس ماهی در بطری‌های دربدار، بسته‌بندی و بمدت ۹ تا ۱۲ ماه قابل مصرف است. سس ماهی بصورت چاشنی همراه با غذا مصرف می‌شود و طبق بررسی Amanoc در سال ۱۹۶۲ مقدار ۷/۵ درصد از پروتئین روزانه مردم کشورهای مذکور را تأمین می‌کند.

منابع

شایگان، و.، ۱۳۷۵. بررسی اثر تخمیر بر ارزش تغذیه‌ای غذاهای سنتی استان فارس با تأکید بر

- شناسائی میکروارگانیسم غالب. پایان نامه کارشناسی ارشد صنایع غذایی، انستیتو تغذیه ایران، صفحات ۴۶ تا ۶۴.
- معینی، س. و سبحانی پور، ن. ف.، ۱۳۷۸. اثر فرآیند حرارتی و مدت انبارداری روی تغییرات TVN و پراکسید در کیلکای آنچوی نمک سود شده. مجله علوم کشاورزی ایران. دانشگاه تهران. جلد ۳۰، شماره ۴، صفحات ۷۷۱ تا ۷۸۱.
- میکی، ام و هاردی، آر، ۱۳۷۱. فرآورده تخمیر شده ماهی. ترجمه: مارینا هوشگر. انتشارات جهاد سازندگی، شماره ۵، صفحات ۱۵ تا ۲۰.
- Adams, M.R. and Moss, M.O. , 1997.** Food microbiology, Royal Society of Chemistry, The Science Park. Cambridge, England. 230 P.
- Amanoc, K. , 1962.** The influence of fermentation on the nutritive value of fish with special reference to fermented fish products of south east Asia. *In:* FAO International Symposium on Fish in Nutrition Fishing News Books Ltd, London, UK. pp.180-200.
- Amonrntiparat, M. , 1979.** A microbiological study on the Thai traditional fermented food products: BUDO. MSc Thesis, Kasetsart University Bangkok, Thailand. 135 P.
- Chayonvan, S. , 1993.** Characterization and sensory evaluation of a dietary sodium - potassium fish sauce. *Journal of AGRI. FOOD CHEM.* Vol. 31, No.4. pp.420-430.
- Hamm, W.S. and Clague, J.A. , 1950.** Temperature and salt purity effects on the manufacture of fish paste and sauce. Fish & Wildlife Service, US DPT. Interior. RES. REP. Vol. 24, 110 P.
- Howgate, P.F. , 1982.** Quality assessment and quality control in fish handlind and processing (2nd ed.) Her Majesty's Stationary, Edinburgh. 210 P.
- Hull, G.M. , 1992.** Fish processing technology. Blackie Academic and Professional.

- London, Glasgow, Weinheim, New York. Tokyo. Melbourne. Madras. pp.193-208.
- Janbae, C. ; Vasanth, A.S. and Fime.Gold, M. , 1996.** Conditions for rapid processing of modified fish sauce using enzymatic hydrolysis and improvement of product quality. J. of Agri., Food, Chem., Vol. 31. pp.82-86.
- Mustafa, E.M. , 1966.** Contribution to the determination of quality caused by drying temperature. PhD thesis, University of Glessen.
- Pearson, D. , 1998.** Laboratory Tech. in food analysis. Butter Worth Pub. London. UK. pp.108-120.
- Proctor, B.E. and Lahiry, N.L. , 1955.** Evaluation of amino acids in fish processed by various methods. Food. RES. Vol. 21, pp.91-92.
- Saisithi, P. , 1967.** Studies on the origins and development of the typical flavor and aroma of Thai fish sauce. PhD thesis, University of Washington, Seattle, USA.
- Sheikh, A.S. and Shah, F.H. , 1974.** Effects of heat on the in vitro digestibility of fish protein. Pakistan J. Sci. Ind. Res. Vol. 17, pp.136-138.
- Shewan, J.M. , 1965.** The browning of salt-cured white fish. Food Manuf. Vol. 30, pp.200-203.
- Soo kyo, Chae ; Cook, R.D. and Rattagool, P. , 1989.** Effects of soy sauce Kojii and commercial proteolytic enzyme on acceleration of fish sauce production. Korean, J. of Food Sci. Tech. Vol. 2, pp.114-121.

Production of Fish Sauce from Caspian Sea Kilka, with Use of Traditional, Microbial and Enzymatic Methods

Moini S.⁽¹⁾ and Koochekian A.⁽²⁾

1- Food Technology Dept., Agriculture Faculty, Tehran University, Karaj

2-I.F.R.O., International Struggeon Research Institute, P.O.Box: 41635-3464

Rasht, Iran

Received : October 2001

Accepted : October 2002

Key words : Kilka fish sauce, Fermentation, Proteolytic, Enzyme, Microbial, Caspian Sea, Iran

ABSTRACT

Fish sauce is a popular fermented product used in south Asian countries which is made from different species of small fishes. In this research it was attempted to produce fish sauce from kilka fishes of the Caspian Sea. The kilka sauce was made from three different preparations of kilka, such as whole kilka, cooked whole kilka and dressed kilka. Each of these preparations was fermented in four different ways, such as traditional, enzymatic, microbial and mixture of enzyme and microorganisms. The results of this study showed that times of fermentation for traditional, enzymatic, microbial and mixture of enzyme and microbe method were 6, 1, 3 and 1 months, respectively. The least and the most rate of fermentation were recognized for dressed kilka and cooked whole kilka, respectively. Microbial, biochemical and organoleptic properties of kilka fish sauce were investigated. The total bacterial count was 2.1 to 6.15 log cfu/ml, total volatile nitrogen (TVN) in samples was 250 mg/100g and protein content of kilka sauce was between 10-13 percent. The score of the taste panel for flavour, odour and colour was between 3 to 5, which means this product can be acceptable to the consumer.