

بررسی ویژگی‌های میکروبی سوسیس تخمیری خشک بدون کشت آغازگر

هاله دباغ نیکوخصلت^۱، آیناز علیزاده^{۲*} و سید امیر سید مسلمی^۳

تاریخ دریافت: ۹۶/۴/۹ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۱

^۱ دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

^۲ استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

^۳ دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

*مسئول مکاتبه: Email: ainaz_alizadeh@hotmail.com

چکیده

تخمیر و خشک‌کردن محصولات گوشتی یکی از قدیمی‌ترین روش‌های نگهداری شناخته شده برای انسان است. امروزه محصولات ارگانیک و سنتی طرفداران بسیاری را به خود جلب کرده است که سوسیس‌های تخمیری سنتی نیز به دلیل عدم استفاده از نگهدارنده‌ها مورد توجه قرار گرفته است. در این مطالعه برای تولید سوسیس‌ها از گوشت گاو تازه با غلظت‌های ادویه ۰.۱، ۰.۳ و ۰.۵٪ در دو شرایط نگهداری یخچال و محیط استفاده شد. مدت زمان عمل‌آوری ۹۰ روز بود که با استفاده از فلور طبیعی گوشت و ادویه جات عمل تخمیر انجام گرفت و آزمایشات شیمیایی و میکروبی در روز تولید و پایان هر ماه، انجام گرفت. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از تیمارهای مختلف، آزمون در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با استفاده از آنالیز واریانس سه طرفه داده‌ها با یک عامل درون گروهی انجام گرفت. نتایج نشان داد که اثر غلظت ادویه بر روی pH و رطوبت معنی‌دار بود ($P < 0.01$). در طول نگهداری، pH و محتوای رطوبت به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش یافتند. همچنین دمای نگهداری بر روی فاکتورهای شیمیایی نظیر pH و رطوبت موثر بود. با توجه به نتایج میکروبی بدست آمده، تعداد کپک‌ها و مخمرها، کلی‌فرم و اشرشیاکلی طی دوره رسیدن کاهش یافت. باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا* و *کلستریدیوم بوتولینوم* در هیچکدام از نمونه‌ها مشاهده نشد. بررسی نتایج آزمون‌های میکروبی نشان داد افزودن ادویه و شرایط نگهداری تاثیر معنی‌داری بر شرایط میکروبی سوسیس‌های تخمیری سنتی داشت که نمونه حاوی ۰.۵٪ ادویه نگهداری شده به مدت ۲ ماه از نظر شرایط میکروبی به عنوان نمونه بهینه انتخاب شد و آزمون حسی شامل رنگ، بافت و طعم در مورد این نمونه نیز مطلوب بود.

واژگان کلیدی: سوسیس تخمیری، سنتی، ویژگی میکروبی

مقدمه

این پوشش را از روده حیوانات تهیه می‌کردند. امروزه جنس این پوشش‌ها معمولاً از سلولز و یا پلیمرهای پلاستیکی می‌باشد (خاکسار و همکاران، ۱۳۸۶). در تهیه سوسیس و کالباس، از مواد نگهدارنده‌ای چون نیتريت و

سوسیس نوعی غذای آماده است که از گوشت چرخ‌کرده به همراه روغن نباتی، نمک و ادویه تهیه می‌شود. معمولاً سوسیس‌ها، در داخل پوشش قرار می‌گیرند که در قدیم،

می‌افتد و طی عمل‌آوری افزایش می‌یابد (Kozacinski et al, 2006).

همچنین تنوع این سوسیس‌ها بسته به ترکیب ادویه و منطقه تولید می‌باشد. از آنجا که چنین محصولی در ایران تا کنون بصورت سنتی تولید نشده و همچنین مضرات نیترات مصرفی در نگهداری سوسیس و کالباس‌های موجود بر عموم روشن شده، تولید چنین محصولی در ایران می‌تواند جایگزین مناسبی برای محصولات فرآوری شده گوشتی حاوی نیتريت باشد. لذا هدف از این تحقیق، بررسی امکان تولید سوسیس تخمیری سنتی بدون استفاده از کشت آغازگر با پوشش روده گاو می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه گوشت گوساله در فصل پاییز از قصابی‌های سطح تبریز تهیه گردید. گوشت گوساله به همراه چربی گوشت گوساله، چرخ شده و در ۳ سطح مختلف (۱، ۳ و ۵ % w/w) با ادویه که شامل فلفل شیرین جامائیکایی، سیر، زعفران، فلفل سیاه، فلفل قرمز، زیره سیاه و پودر گشنیز بود، در نسبت‌های برابر با هم مخلوط و به گوشت اضافه گردید. میزان نمک اضافه شده نیز (۱% w/w) بود. مواد مخلوط شده در داخل پوشش‌های طبیعی روده گوساله به طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۵ سانتی‌متر که از بازار تبریز تهیه شده و از قبل آماده شده بودند، مراحل آماده‌سازی روده شامل خیساندن در آب ولرم 37°C حاوی ۷/۷٪ سرکه به مدت ۱۲ ساعت و در ادامه شستشو با آب بود (Djordjevic et al, 2015) پر شدند و تحت شرایط دمایی یخچالی (4°C) و محیط ($18-20^{\circ}\text{C}$) به مدت سه ماه نگهداری شد. نمونه‌های تولیدی پس از زمان‌های ۱، ۲ و ۳ ماهه با احتساب روز تولید، طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۲۳۰۳، از نظر فاکتورهای فیزیکی‌شیمیایی، میکروبی و حسی در ۳ تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت.

نیترات استفاده می‌شود که باعث ایجاد رنگ مطلوب گوشت و جلوگیری از فساد میکروبی آنها می‌شود. در حالیکه نیترات و نیتريت به دلیل تولید نیتروزآمین، یک ماده سرطان‌زا شناخته شده است (گلکاری و همکاران، ۱۳۹۱). امروزه محصولات ارگانیک و سنتی طرفداران بسیاری را به خود جلب کرده‌اند چرا که این محصولات عاری از بقایای مواد شیمیایی بوده و حاصل تولید در مناطق طبیعی می‌باشند. از طرفی دیگر، تغییر الگوی زندگی به سمت زندگی مدرن و مصرف مواد غذایی آماده یا فست‌فود یکی از عوامل ابتلا به بیماری‌های مختلف گزارش شده است (گلکاری و همکاران، ۱۳۹۱).

امروزه سوسیس‌های تخمیر شده به طور سنتی، جز غذاهای سالم و ایمن مطرح شدند (Holck et al, 2017). گوشت را می‌توان با حضور استارترهای میکروبی و یا بدون حضور استارترها و با استفاده از عوامل نگهدارنده مختلف از قبیل نمک، شکر و سایر ادویه‌جات، بدون استفاده از نمک‌های نیترات و نیتريت به فرآورده‌های عمل آمده تخمیری که دارای طعم خاص و تنیدی می‌باشند، تبدیل نمود. در واقع تغییرات فیزیکی‌شیمیایی و ارگانولپتیک بوجود آمده موجب افزایش مدت زمان نگهداری و ایجاد رنگ، طعم و بوی مطبوعی در آن خواهد گردید (نجفیان نجف آبادی و حمیدی اصفهانی، ۱۳۹۲).

خدایی و همکاران (۱۳۹۶) به بررسی جایگزینی بخشی از نیتريت در فرمولاسیون سوسیس با استفاده از اسانس رزماری و پودر چغندر قرمز پرداختند. در این تحقیق بیشترین میزان pH و شاخص a^* رنگ مربوط به تیمار با ۳ درصد چغندر و ۰/۰۲ درصد رزماری و کمترین مقدار مربوط به نمونه شاهد بود. نتایج ارزیابی حسی عمدتاً حاکی از تفاوت غیر معنی‌دار تیمارها با یکدیگر و با نمونه شاهد بود.

تخمیر سوسیس‌های خشک سنتی بر پایه میکروفلور طبیعی محیط می‌باشد که این آلودگی طی کشتار اتفاق

بررسی فاکتورهای شیمیایی سوسیس تخمیری سنتی تولید شده

آنالیز pH

آنالیز pH توسط دستگاه pH متر (Mesulabme-210، انگلستان) طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۲۸ انجام گرفت.

درصد رطوبت

آنالیز رطوبت طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۷۴۵ انجام گرفت.

فاکتورهای میکروبی

ابتدا از نمونه‌ها رقت‌های مختلف طبق استانداردهای ملی ایران به شماره‌های ۸۹۲۳ تهیه شد. آزمون‌های میکروبی شامل شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها، کپک و مخمر، کلی‌فرم و جستجوی اشرشیاکلی، سالمونلا، استافیلوکوکوس اورئوس، کلستریدیوم پرفرجنس و کلستریدیوم بوتولینوم بودند که به ترتیب طبق استانداردهای ملی ایران به شماره‌های ۵۲۷۲، ۱۰۸۹۹-۱، ۱۲۶۳، ۲۹۴۶، ۱۸۱۰، ۱۱۹۴، ۲۱۹۷ و ۲۳۲۳ انجام گرفتند.

فاکتورهای حسی

ارزیابی حسی در مورد نمونه بهینه انتخاب شده از نظر آزمون‌های شیمیایی و میکروبی بصورت تست هدونیک پنج نقطه‌ای (خیلی خوب، خوب، متوسط، بد و خیلی بد)

انجام گرفت که شامل قابلیت برش، رنگ، عطر و طعم بوده و توسط پنج نفر ارزیاب آموزش دیده از واحد تولیدی بشارت (تبریز-ایران) انجام گرفت (HasanHussein et al, 2017).

روش تجزیه و تحلیل آماری

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از تیمارهای مختلف، از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. آزمون در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با استفاده از آنالیز واریانس سه طرفه داده‌ها با یک عامل درون گروهی انجام گرفت که زمان به عنوان عامل درون گروهی (همبسته) و غلظت ادویه و دمای نگهداری به عنوان عامل بین گروهی (مستقل) در نظر گرفته شد. در نهایت مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح احتمال ۹۵٪ انجام شد.

نتایج

خصوصیات شیمیایی

نتایج شیمیایی حاصل از گوشت خام

جدول ۱- نتایج مربوط به خصوصیات شیمیایی گوشت خام

پروتئین	چربی	رطوبت	pH
۷۱/۰±۴۷/۷۳ ^a	۵/۰±۹۱/۰۷ ^a	۶۶/۰±۷۵/۰۶ ^a	۶/۰±۷۰/۰۲ ^a

جدول ۲- نتایج مربوط به pH سوسیس‌های تخمیری سنتی با غلظت‌های مختلف ادویه نگهداری شده در شرایط دمایی

یخچالی و محیط به مدت ۳ ماه

(Mean±SD)

ماه سوم	ماه دوم	ماه اول	زمان صفر	ادویه	محل نگهداری
۵/۶±۰/۰۱۴ ^{cd}	۵/۶۸±۰/۰۰۷ ^{ab}	۵/۷۶±۰/۰۰۱۴ ^{ab}	۵/۸±۰/۰۰۱۴ ^b	۱درصد	یخچال
۵/۶۷±۰/۰۰۱۴ ^{bc}	۵/۶۸±۰/۰۰۷ ^{ab}	۵/۷±۰/۰۰۱۴ ^{ab}	۵/۷۲±۰/۰۰۱۴ ^b	۳درصد	
۵/۷±۰/۰۰۱۴ ^{bc}	۵/۷۴±۰/۰۰۷ ^b	۵/۷۹±۰/۰۰۱۴ ^a	۵/۸۶±۰/۰۰۱۴ ^{ab}	۵درصد	
۵/۴±۰/۰۰۱۴ ^d	۵/۵۱±۰/۰۰۱۴ ^{cd}	۵/۷۳±۰/۰۰۷ ^b	۵/۷۵±۰/۰۰۷ ^b	۱درصد	محیط
۵/۲۹±۰/۰۰۱۴ ^d	۵/۳±۰/۰۰۱۴ ^d	۵/۳۲±۰/۰۰۷ ^{bc}	۵/۳۶±۰/۰۰۱۶۲ ^d	۳درصد	
۵/۲۲±۰/۰۰۱۴ ^e	۵/۲۶±۰/۰۰۱۴ ^e	۵/۳۰±۰/۰۰۷ ^{cd}	۵/۳۵±۰/۰۰۷ ^d	۵درصد	

نتایج به صورت انحراف استاندارد ± میانگین می‌باشند (p<۰/۰۵) (n=۳).

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در ردیف‌ها و ستون‌ها می‌باشند.

pH

نتایج حاصل از آنالیز واریانس سه طرفه داده‌ها نشان داد که اثر مستقل و متقابل فاکتورهای غلظت ادویه، دما و زمان نگهداری بر pH معنی‌دار بود ($P < 0/01$). بالاترین pH مربوط به نمونه حاوی ۵ درصد ادویه نگهداری شده در یخچال به مدت یک‌ماه است و پایین‌ترین pH مربوط به نمونه‌های حاوی ۵ درصد غلظت ادویه نگهداری شده در محیط بمدت ۲ و ۳ ماه می‌باشد (جدول ۱). با افزایش مدت زمان نگهداری، میزان pH کاهش یافته است. همچنین در کل نمونه‌های نگهداری شده در محیط، pH پایین‌تری نسبت به نمونه‌های یخچالی داشتند (جدول ۱).

رطوبت

اثر متقابل زمان، ادویه و دمای نگهداری در سطح احتمال ۹۹ درصد معنی‌دار بود. همچنین با توجه به نتایج مقایسه میانگین ارائه شده در جدول ۲، کمترین میزان رطوبت مربوط به نمونه حاوی ۱ درصد ادویه نگهداری شده در دمای محیط به مدت ۳ ماه و بیشترین میزان رطوبت مربوط به نمونه حاوی ۳ درصد ادویه نگهداری شده در دمای یخچال در روز اول بود. در کل میزان رطوبت با گذشت زمان کاهش یافت. همچنین با توجه به شدت پایین‌تر تبخیر در دمای یخچال نسبت به محیط تفاوت قابل توجهی بین رطوبت‌های یخچالی و محیط وجود داشت. میزان رطوبت در دمای یخچال بیشتر از دمای محیط بود.

جدول ۳- نتایج مربوط به رطوبت سوسیس‌های تخمیری سنتی با غلظت‌های مختلف ادویه نگهداری شده در شرایط دمایی یخچالی و محیط به مدت ۳ ماه (Mean±SD)

ماه سوم	ماه دوم	ماه اول	زمان صفر	ادویه	محل نگهداری
۲۲/۰۳±۰/۰۴۰	۳۳/۲±۰/۰۳۰	۴۳/۰۲±۰/۰۳۰	۸۲/۲۶±۰/۰۴۲	۱درصد	یخچال
۲۳/۲±۰/۰۲۸	۳۴/۵±۰/۰۳۰	۳۹/۱۹±۰/۰۲۸	۸۲/۶۶±۰/۰۴۲	۳درصد	
۲۴/۲۲±۰/۰۴۲	۳۷/۰۴±۰/۰۴۲ ^ا	۴۵/۴±۰/۰۳۰ ^ب	۸۰/۱۵±۰/۰۲۱	۵درصد	
۲۵/۴۲±۰/۰۲۸ ^د	۲۶/۰۰±۰/۰۲۱	۳۰/۱±۰/۰۴۲ ^ه	۷۰/۵±۰/۰۱۴	۱درصد	یخ
۲۶/۴۱±۰/۰۳۰ ^و	۲۷/۱۱±۰/۰۳۰ ^ز	۳۱/۰۹±۰/۰۲۱	۷۰/۳±۰/۰۴۲	۳درصد	
۲۷/۰۹±۰/۰۳۰ ^ح	۲۸/۰۵±۰/۰۴۹ ^ط	۳۳/۶۳±۰/۰۲۸	۶۶/۵±۰/۰۴۲	۵درصد	

جدول ۴- نتایج شمارش کلی میکروبی در سوسیس‌های تخمیری تولید شده (CFU/gr)

ماه سوم	ماه دوم	ماه اول	روز صفر	غلظت ادویه (%)	محل نگهداری	پارامتر میکروبی
۱/۱×۱۰ ^۶	۱/۵×۱۰ ^۶	۲/۳×۱۰ ^۰	۸/۳×۱۰ ^۶	۱	یخچال	شمارش کلی میکروبی
۹/۸×۱۰ ^۰	۱/۳×۱۰ ^۶	۱/۷×۱۰ ^۰	۹/۳×۱۰ ^۶	۳		
۴×۱۰ ^۴	۴×۱۰ ^۴	۳×۱۰ ^۰	۱۱/۳×۱۰ ^۶	۵		
۱/۳×۱۰ ^۶	۱/۷×۱۰ ^۶	۴×۱۰ ^۴	۶/۳×۱۰ ^۶	۱	محیط	
۱×۱۰ ^۶	۱/۷×۱۰ ^۶	۵/۱×۱۰ ^۰	۸/۳×۱۰ ^۶	۳		
۸/۶×۱۰ ^۰	۲×۱۰ ^۴	۵×۱۰ ^۴	۱۰/۳×۱۰ ^۶	۵		

آنالیزهای میکروبی

نتایج مربوط به شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها نشان داد که در ابتدا بیش از حد مجاز استاندارد بود در حالی که طی دوره نگهداری کاهش مشخصی نشان ۵ درصد ادویه نگهداری شده در یخچال بعد از ۲ و ۳ ماه، به 4×10^2 CFU/gr رسید.

شمارش کپک و مخمر

نتایج مربوط به آنالیز کپک‌ها و مخمرها، نشان داد تمامی نمونه‌های تولید شده در روز تولید، آلودگی بالایی به کپک و مخمر داشتند در حالی که در مورد تمامی نمونه‌ها پس از گذشت ۱، ۲ و ۳ ماه از عمل‌آوری، تعداد کپک و مخمر کاهش یافته و به حد مجاز استاندارد (بیشینه 100 CFU/gr) رسیدند.

جدول ۵- نتایج شناسایی کپک و مخمر در سوسیس‌های تخمیری تولید شده (CFU/gr)

پارامتر میکروبی	محل نگهداری	غلظت ادویه (%)	روز صفر	ماه اول	ماه دوم	ماه سوم
کپک و مخمر	یخچال	۱	$1/2 \times 10^0$	<100	<100	<100
		۳	$8/7 \times 10^2$	<100	<100	<100
		۵	1×10^2	<100	<100	<100
کپک و مخمر	محیط	۱	$1/6 \times 10^0$	<100	<100	<100
		۳	$1/1 \times 10^0$	<100	<100	<100
		۵	$1/7 \times 10^0$	<100	<100	<100

شمارش کلی فرم

تعداد کلی فرم در تمامی نمونه‌های تولید شده در روز تولید و ماه اول بیشتر از حد مجاز استاندارد بود.

درحالی‌که در ماه دوم و سوم در مورد تمامی نمونه‌های تولید شده تعداد کلی فرم در حد مجاز استاندارد بود (حداکثر 10 CFU/gr).

جدول ۶- نتایج شناسایی کلی فرم در سوسیس‌های تخمیری تولید شده (CFU/gr)

پارامتر میکروبی	محل نگهداری	غلظت ادویه (%)	روز صفر	ماه اول	ماه دوم	ماه سوم
کلی فرم	یخچال	۱	$9/1 \times 10^2$	9×10	<10	<10
		۳	$1/8 \times 10^2$	5×10	<10	<10
		۵	$1/1 \times 10^2$	8×10	<10	<10
کلی فرم	محیط	۱	$11/1 \times 10^2$	6×10	<10	<10
		۳	$8/8 \times 10^2$	$2/3 \times 10^2$	<10	<10
		۵	$6/1 \times 10^2$	$1/5 \times 10^2$	<10	<10

جستجوی اشرشیاکلی

در تمامی نمونه‌های تولید شده در روز تولید / اشرشیاکلی مشاهده شد درحالی‌که تمامی نمونه‌های تولید شده پس از گذشت ۱، ۲ و ۳ ماه فاقد / اشرشیاکلی بودند.

جستجوی کلستریدیوم پرفرجنس

بررسی نتایج جستجوی باکتری کلستریدیوم پرفرجنس، نشان داد که در نمونه‌های تولید شده در روز اول و پس

از ۱ ماه عمل‌آوری تعداد کلستریدیوم پرفرجنس در حد مجاز استاندارد (< 50) بود. در حالی‌که بعد از گذشت ۲ و ۳ ماه در برخی نمونه‌ها به بالاتر از حد مجاز رسید. این در حالی است که در نمونه‌های تولید شده در ماه دوم با ۳ و ۵ درصد ادویه نگهداری شده در یخچال حتی نمونه حاوی ۱٪ ادویه نگهداری شده به مدت ۲ و ۳ ماه در حد مجاز بوده است.

جدول ۸- نتایج شناسایی باکتری کلستریدیوم پرفرجنس در سوسیس‌های تخمیری تولید شده (CFU/gr)

پارامتر میکروبی	محل نگهداری	غلظت ادویه (%)	روز صفر	ماه اول	ماه دوم	ماه سوم
کلستریدیوم پرفرجنس	یخچال	۱	< 50	< 50	$3/1 \times 10^2$	$3/6 \times 10^2$
		۳	< 50	< 50	< 50	$2/2 \times 10^2$
		۵	< 50	< 50	< 50	$1/9 \times 10^2$
	محیط	۱	< 50	< 50	< 50	< 50
		۳	< 50	< 50	$1/4 \times 10^2$	$1/8 \times 10^2$
		۵	< 50	< 50	$1/7 \times 10^2$	9×10

بحث

نتایج نشان داد که اثر غلظت ادویه بر روی برخی از ویژگی‌های شیمیایی سوسیس تخمیری تولید شده شامل میزان pH و درصد رطوبت معنی‌دار ($p < 0/01$) بود. در طول دوره نگهداری در تمام نمونه‌ها درصد رطوبت و pH به طور معنی‌داری ($p < 0/01$) کاهش یافته است. دلیل کاهش pH طی دوره نگهداری به فعالیت باکتری‌های لاکتیکی و تولید اسیدلاکتیک و سایر اسیدهای آلی مربوط می‌گردد (Kozacinski et al, 2006) که Ensoy (et al, 2010) و (Ahmad & Nawab, 2014) نیز به نتایج مشابهی دست یافتند. در کل، کاهش میزان pH در طی تولید و نگهداری محصول، باعث افزایش ایمنی محصول در برابر عوامل میکروبی و بهبود خواص حسی محصول (بافت، عطر و طعم) می‌گردد (Dalmish, 2007). با توجه به اینکه pH پایین از فاکتورهای مهم در تهیه و ایمنی چنین سوسیس‌هایی می‌باشد و در کشورمان استاندارد خاصی برای سوسیس‌های تخمیری وجود ندارد، لذا با مراجعه به استانداردهای بین‌المللی

جستجوی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز**مثبت، باکتری کلستریدیوم بوتولینوم و سالمونلا**

نتایج جستجوی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت، باکتری کلستریدیوم بوتولینوم و سالمونلا نشان داد، هیچکدام از نمونه‌های تولید شده آلوده به این گروه‌های باکتریایی نبودند.

آنالیز رنگ، بافت، عطر و طعم

بهترین فاکتور محدود کننده از نظر ایمنی مصرف چنین محصولاتی شرایط میکروبی آن است. از بین نمونه‌های تولید شده نمونه‌های حاوی ۳ و ۵٪ غلظت ادویه نگهداری شده در یخچال به مدت ۲ ماه از نظر شرایط میکروبی مطلوب انتخاب شده و مورد ارزیابی حسی قرار گرفتند. آزمون‌های حسی شامل بافت (قابلیت برش و براقیت)، رنگ، عطر و طعم در مورد این نمونه‌ها توسط پنج ارزیاب آموزش دیده از شرکت بشارت انجام گرفت که نتایج نشان دادند که این نمونه‌ها از نظر رنگ، عطر و طعم متوسط و از نظر بافت، بافت خوبی داشتند.

بیشتر از حد مجاز استاندارد بوده ولی در ماه‌های اول، دوم و سوم عمل‌آوری در حد مجاز بودند. مخمرها نقش بسیار مهمی بر روی ویژگی‌های حسی سوسیس تخمیری و سایر محصولات گوشتی به دلیل فعالیت‌های لیپولیتیک و پروتئولیتیک دارند (Kozacinski et al, 2006). در مطالعه‌ای که Chevallier و همکارانش در سال ۲۰۰۶ انجام دادند، پس از ۶۰ روز عمل‌آوری، در سوسیس‌های تولید شده در فصل زمستان، تعداد کپک و مخمر، کلی‌فرم و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب، $4/23 \log \text{CFU/gr}$ ، ۳ و $2/51$ بوده و در سوسیس‌هایی که در فصل بهار تولید شده بودند، $4/09 \log \text{CFU/gr}$ ، $4/39$ و $0/3$ بوده است.

در این مطالعه، تعداد کلی‌فرم‌ها در روز تولید و ماه اول بیشتر از حد مجاز بود ولی در ماه‌های دوم و سوم در حد مجاز بود. از بین رفتن کلی‌فرم‌ها می‌تواند ارتباطی با کاهش رطوبت و افت pH محصول با گذشت زمان داشته باشد. بالا بودن کلی‌فرم از حد مجاز در ماه اول نشان می‌دهد که به زمان طولانی‌تری برای رسیدن سوسیس مورد نیاز است. همچنین تفاوت مشخصی بین شرایط نگهداری در یخچال و محیط از این نظر وجود نداشته است.

در مورد نمونه‌های تولید شده، *اشرشیاکلی* نیز فقط در روز تولید مشاهده شد. از بین رفتن باکتری *اشرشیاکلی* به دلیل کاهش رطوبت و pH محصول می‌باشد. *انتروباکترها* و کلی‌فرم‌ها ساکنان طبیعی دستگاه گوارش حیوانات هستند که می‌توانند هیستامین و دی‌آمین تولید کنند که تعداد آن‌ها در آغاز فرآیند تخمیر و رسیدن بیشتر است و با گذشت زمان، از تعداد آن‌ها کاسته می‌شود (Kozacinski et al, 2006). همچنین وجود کلی‌فرم و *اشرشیاکلی* می‌تواند به دلیل عدم رعایت نکات بهداشتی باشد (Ferreira et al, 2005). یکی از راه‌های از بین بردن *اشرشیاکلی* و کلی‌فرم، پختن سوسیس می‌باشد (Riordan et al, 1998). مدت زمان نگهداری و روش تولید در کاهش کلی‌فرم‌ها موثر است. همچنین

مشخص شد محدوده pH $5/4$ الی $5/8$ را مجاز دانسته‌اند. در این مطالعه نیز محدوده pH ($5/5-22/98$) می‌باشد که در ماه سوم، pH نمونه‌ها منطبق بر استاندارد ملی ترکیه می‌باشد. این در حالی است که محدوده گزارش شده در این مطالعه با نتایج مربوط به نوعی سوسیس تخمیری ایتالیایی به نام Felino Kobasica Kraska مطابقت داشته ولی از محدوده pH سوسیس‌های سنتی اسپانیایی به نام‌های Botillo Chorizo و Androlla Cebolla کمتر بوده است (Kozacinski et al, 2008). همچنین در کل می‌توان گفت، نمونه‌های نگهداری شده در محیط، pH پایین‌تری نسبت به نمونه‌های یخچالی داشتند که به دلیل بالا بودن فعالیت باکتری‌های لاکتیکی و تخمیر در دمای بالا است.

در این تحقیق، با گذشت زمان رطوبت نمونه‌ها کاهش یافته است که نتیجه‌ای قابل پیش‌بینی بود چرا که طی دوره نگهداری رطوبت نمونه‌ها تبخیر شده است. رطوبت نمونه‌ها در نمونه‌های نگهداری شده در یخچال بالاتر از رطوبت نمونه‌های نگهداری شده در دمای محیط است چرا که سرعت تبخیر در دمای یخچالی کمتر است. در ارتباط با میزان رطوبت می‌توان گفت که در کل میزان رطوبت سوسیس‌های تخمیری سنتی بستگی به روش تولید و مدت زمان نگهداری دارد که نتایج سایر محققین نیز حاکی از آن است که طی دوره نگهداری رطوبت سوسیس‌های تخمیری کاهش می‌یابد (Coskuner, 2002). محتوای رطوبت نمونه‌ها در این تحقیق از $62/66$ تا $25/42$ متغیر بوده که در حدود نتایج مربوط به تولید نمونه Petrovska Klobasa (نوعی سوسیس اسپانیایی) بوده ولی کمی بالاتر از Kobasica Sremska که نوعی سوسیس تخمیری کانادایی است، می‌باشد (Kozacinski et al, 2008). کاهش pH و رطوبت هر دو از هردل‌های مهم در تولید سوسیس‌ها و سایر محصولات تخمیری سنتی هستند.

نتایج میکروبی بدست آمده در مورد تعداد کپک‌ها و مخمرها در تمامی نمونه‌های تولید شده در روز صفر

همچنین تعداد کلستریدیوم پرفرجنس فقط در نمونه‌های تولید شده در ماه دوم با ۳ و ۵ درصد ادویه نگهداری شده در یخچال و ۱٪ ادویه نگهداری شده در محیط به مدت ۲ و ۳ ماه در حد مجاز بوده است. پس نگهداری در دمای پایین و غلظت بالای ادویه در کنترل کلستریدیوم پرفرجنس موثر بوده است. در کل می‌توان نتیجه گرفت که نمونه‌های با غلظت بالای ادویه قابل نگهداری تا ۲ ماه در یخچال می‌باشد در این مورد نیز مشخص می‌شود که دمای نگهداری و غلظت بالای ادویه‌ها هردل‌های مهم در کاهش کلستریدیوم پرفرجنس می‌باشند. در واقع با گذشت زمان حضور کلستریدیوم پرفرجنس بیشتر شده است. در پژوهشی که Ferreira و همکارانش در سال ۲۰۰۵ روی نوعی سوسیس تخمیری پرتغالی به نام *Alheiras* انجام دادند، پس از ۶ روز عمل‌آوری در هیچکدام از نمونه‌ها *ای‌کولای* مشاهده نشده ولی سالمونلا در ۲ نمونه مشاهده گردیده است. باکتری کلستریدیوم پرفرجنس نیز در برخی نمونه‌ها مشاهده شده درحالی‌که تعداد باکتری *لیستریا مونوسایتوژنز* بیشتر از ۱۰۰ CFU/gr بوده است.

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع، با توجه به نتایج ارزیابی خواص میکروبی، سوسیس حاوی ۵٪ غلظت ادویه و نگهداری شده در یخچال به مدت ۲ ماه با خواص حسی قابل قبول، به عنوان شرایط مطلوب تولید معرفی شد. کاهش pH، رطوبت، درصد بالای ادویه و دمای پایین نگهداری (یخچالی) از فاکتورهای مهم در ایجاد شرایط ایمن در تولید چنین محصولی می‌باشد که باعث می‌شود با فرآیند تخمیر، پاتوژن‌ها بعد از ۲ ماه، کاهش یافته و در حد استاندارد سوسیس‌های غیرتخمیری حاوی نیترات و نیتريت قرار بگیرد.

کاهش pH نیز باعث از بین رفتن کلی‌فرم‌ها می‌شود (Dalmis, 2007). به این ترتیب اهمیت هردل‌های کاهش رطوبت و pH در کاهش پاتوژن‌ها مشخص می‌گردد. باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، سالمونلا و کلستریدیوم بوتولینوم در هیچکدام از نمونه‌ها مشاهده نشدند. در پژوهشی که Ljiljana و همکارانش در سال ۲۰۱۱ انجام دادند، پس از ۹۰ روز رسیدن و عمل‌آوری در هیچکدام از نمونه‌ها انتروباکترها، *ای‌کولای*، گونه‌های *استرپتوکوکوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، گونه‌های *سودوموناس*، کلستریدیوم بوتولینوم، سالمونلا، *لیستریا مونوسایتوژنز* و گونه‌های پروتئوس یافت نشد. در پژوهشی که Kozacinski و همکارانش در سال ۲۰۰۶ انجام دادند در روز تولید تعداد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *ای‌کولای* کمتر از ۱۰^۲ CFU/gr بوده است. مطالعات نشان داد *استافیلوکوکوس اورئوس*‌ها نسبت به فرآیند تخمیر حساس هستند ولی می‌تواند تحت شرایط خاصی رشد کنند (Kozacinski et al, 2006). pH پایین و افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک، باعث کاهش *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌شود. در کل کاهش pH، از دست دادن رطوبت، رقابت میکروبی و دما در تعداد *استافیلوکوکوس*‌ها موثر است (Dalmis, 2007). در پژوهشی که توسط Comi و همکارانش در سال ۲۰۰۵ انجام گرفت نیز، پس از ۲۸ روز عمل‌آوری در هیچکدام از نمونه‌ها کپک و مخمر، *استافیلوکوکوس اورئوس*، سالمونلا و *اشرشیاکلی* یافت نشد. شمارش کلی میکروبی نیز ۱۰^۹ CFU/gr گزارش شده است. بررسی نتایج آنالیز باکتری کلستریدیوم پرفرجنس، نشان داد که در نمونه‌های تولید شده در روز اول و پس از ۱ ماه عمل‌آوری تعداد کلستریدیوم پرفرجنس در حد مجاز استاندارد بود. درحالی‌که بعد از گذشت ۲ و ۳ ماه در برخی نمونه‌ها از حد مجاز افزایش یافته است.

منابع مورد استفاده

- خاکسار ر، حسینی ه، فردوسی ر، طباطبایی ح الف، احمدی ح، عباسی م، ۱۳۸۶. بررسی الگوی تغییرات باقیمانده نیتريت سدیم در چهار گروه فرآورده گوشتی (قرمز) حرارت دیده در مدت زمان نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد، مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال دوم، ۲، ۵۰-۴۵.
- خدایی س، خانی م ر. ۱۳۹۷. اثر جایگزینی بخشی از نیتريت در فرمولاسیون سوسیس با استفاده از اسانس رزماری و پودر چغندر قرمز. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۱۲۸، ۱۲۰-۱۰۵.
- رکنی ن، ۱۳۸۲، علوم و صنایع گوشت، انتشارات دانشگاه تهران، ۲۶۹-۲۲۸.
- علی‌نژاد ع، جعفرپور ع، یگانه س، صفری ر، ۱۳۹۲. ویژگی‌های میکروبی و بیوشیمیایی سوسیس تخمیری تهیه شده از گوشت ماهی کپور معمولی با تکنیک تلقیح باکتری *Pediococcus Pentosaceus* در دماهای مختلف انکوباسیون، مجله علمی شیلات ایران، سال بیست و دوم، ۲، ۱۲-۱.
- گلکاری ح، اسکندری م ه، پاک فطرت س، لشکری ح، ۱۳۹۱. بررسی همزمان میزان نیتريت و نیترات باقی مانده در فرآورده‌های گوشتی عرضه شده در شیراز با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، مجله بهداشت مواد غذایی، ۲، ۲۱-۱۴.
- نجفیان نجف آبادی ف و، حمیدی اصفهانی ز، ۱۳۹۲. بررسی امکان استفاده از فرآورده‌های گوشتی تخمیری به عنوان یک غذای پروبیوتیک، بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران- دانشگاه شیراز، ۶-۱.
- Ahmad S and Nawab Q, 2014. Quality evaluation of fermented sausages as influenced by different fat levels and temperature of fermentation. *Journal of Meat Science and Technology*. 2:51-62.
- Arsalan A, Dincoglu A, Gonulalan Z, 2001. Fermented *Cyprinus Carpio* Sausage. *Turkish Journal of Vetenary Animals* 25:667-673.
- Amato D, Di Gennaro P, Fiore C, Lanorte M T, Caruso M, Suzzi G, Laurita C, 1999. Caratterizzazione dei prodotti tipici lucani: la "salsiccia sotto sugna". *Industrie Alimentari* 38: 683-698.
- Aymerich T, Martín B, Rovira J, Garriga M, 2004. Caracterización de bacterias de interés tecnológico en productos fermentados mediante técnicas moleculares. *Eurocarne* 131: 61-72.
- Andrés A, Barat J M, Grau R, Fito P, 2007. Principles of Drying and Smoking. In: F. Toldrá (Ed). *Handbook of Fermented Meat and Poultry*. Blackwell Publishing 37-48.
- Bonomo MG, Ricciardi A, Zotta T, Parente E, Salzano G, 2008. Molecular and technological characterization of lactic acid bacteria from traditional fermented sausages of Basilicata region (Southern Italy). *Meat Science* 80:1238-1249.
- Cantoni C, Comi G, Bresciani C, 1987. Ruolo di *Streptococcus faecalis* nel rammollimento di wurstel. *Industrie alimentary* 766-770.
- Chasco J, Lizaso G, Beriain M J, 1996. Cured colour development during sausage processing. *Meat Science* 44(3) 203-211.
- Chevallier I, Ammor S, Laguét A, Labayle S, Castanet V, Dufour E, Talon R, 2006. Microbial ecology of a small-scale facility producing traditional dry sausage. *Food control* 17: 446-453.
- Comi G, Urso R, Iacumin L, Rantsiou K, Cattaneo P, Cantoni C, Cocolin L, 2005. Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. *Meat Science* 69: 381-395.
- Dalmis U, 2007. Microbiological and biochemical changes of Turkish sausage (Sucuk) during processing and storage. Ph. D. Thesis. Ankara university, Graduate School of Natural and Applied Sciences. Department of Food Engineering 1-155. [in Turkish].
- Djordjevic J, Pecanac B, Todorovic M, Dokmanovic M, Glamoclija N, Tadic V, and Baltic M.Z, 2015. Fermented sausages casing. *Procedia Food Science* 5: 69-72.

- Ferreira V, Barbosa J, Silva J, Felício M T, Mena C, Hogg, T, Gibbs P, Teixeira P, 2005. Characterisation of *Alheiras*, traditional sausages produced in the North of Portugal, with respect to their microbiological safety. *Meat Science* 22(7): 35-40.
- Hassan Hussein F, Razavi S.H, Emam-Djomeh Z. 2017. Physicochemical properties and sensory evaluation of reduced fat fermented functional beef sausage. *Applied food biotechnology* 4(2):29-38.
- Holck A, Axelsson L, Mcleod A, Mari Rode T, and Heir E, 2017. Health and safety considerations of fermented sausages. *Journal of Food Quality* 1-25.
- Kozacinski L, Zdolec N, Hadziosmanovic M, Cvrtila Z, Filipovic I, Majic T, 2006. Microbial flora of the Croatian traditionally fermented sausage. *Archiv fur lebensmittelhygiene* 57: 141-147.
- Kozacinski L, Drosinos E, CAklovica F, Cocolin L, Gasparik-Reichardt J, Veskovi S, 2008. Investigation of Microbial Association of Traditionally Fermented Sausages. *Original scientific paper* 46 (1): 93-106.
- Ljiljana P, Natalija D, Predrag I, tatjana T, Vladimir T, 2011. Quality and safety standardization of traditional fermented sausages. *Tehnologija mesa* 74: 271-285.
- Zanardi E, Dorigoni V, Badiani A, Chizzolini R, 2002. Lipid and colour stability of Milano-type sausages: effect of packing conditions. *Journal of Meat Science* 61:7-11.

Evaluation of microbial characteristics of dry fermented sausage without primer culture

H Dabbagh Nikookheslat¹, A Alizadeh^{2*} and SA Seyed Moslemi³

Received: June 30, 2017 Accepted: January 31, 2018

¹PhD Student, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University of Tabriz, Tabriz, Iran

²Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University of Tabriz, Tabriz, Iran

³PhD Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

*Corresponding author: E mail: ainaz_alizadeh@hotmail.com

Abstract

Nowadays, traditional and organic products have attracted many fans because these products are free of chemical residues. Traditional sausages that are fermented with natural micro flora can be used instead of preservative added products. In this study, fermented sausages were produced by a traditional method, using beef meat at different spice concentrations (1, 3, 5% W/W) (refrigerator and room). Curing period was 90 days at ambient and refrigerator temptations, chemical and microbial experiments were conducted on the production day and monthly intervals. In order to analyze the data from different treatments, the test was conducted in a completely randomized block design with three-way ANOVA with a single intra-group agent. The statistical analysis indicated that the effect of spice concentrations on pH and moisture was significant ($P < 0.01$). During storage, pH and moisture were significantly decreased ($P < 0.01$). Also, the effect of storage temperature on chemical factors, such as pH and moisture was significant. The microbial results showed, To Nemours to count number of total count and Nemours molds, yeasts, coliforms and *Escherichia coli*, but during the curing time they were all decreased to standard criteria/limits. *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* and *Clostridium botulinum* were not observed in any samples. The samples, which were in accordance with all microbial standards, were the sample containing 5% and 3% spice, stored at the refrigerating temperature for two month. Sensory evaluation of the optimum sample was performed using a 5 point hedonic test that showed medium flavor, aroma and color but good points for texture. For the sample containing 5% spice stored at refrigerator for two month.

Key words: Fermented Sausage, Microbial analyses, Traditional