✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۵۶و۵۷، پاییز و زمستان ۱۳۸۱

بررسی تأثیر کلرید سدیم و متیل پارابن بر رشد مخمر *Torulopis glumerata* در شرایط آزمایشگاهی

● **رضا صفری**، عضو هیأت علمی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری
● **ودود رضویلر**، استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: آذر ماه ۱۳۸۰ تاریخ پذیرش: آذرماه ۱۳۸۱

چکیده:
بعضی از مخمرها به واسطه تولید متابولیتهای مضر، باعث فساد مواد غذایی می‌شوند. رشد و تکثیر مخمرها به عوامل مختلفی از جمله pH آب فعال، دما، زمان نگهداری مواد غذایی و.... بستگی دارد. مطالعه‌ای که در ارتباط با آنالیز عوامل میکروبی و شیمیایی خاویار انجام گرفته، مشخص شد که آلودگی خاویار به مخمر تورولوپسیس به کرات وجود داشته و این مخمر به واسطه توانایی رشد و تکثیر در دما و pHهای پایین مقاوم بودن به مواد نگهدارنده مورد استفاده در خاویار، از فاکتورهای مهم در نظر گرفته می‌شود. از نگهدارنده‌های مهمی که در انواع مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد می‌توان به مشتقات بنزوات مثل متیل پارابن اشاره نمود. این ماده به لحاظ مؤثر بودن در pHهای پایین و همچنین طیف ضد میکروبی گسترده، از نگهدارنده‌های مهم به‌حساب می‌آید. در این تحقیق، بر آن شدیم تا اثر ضد میکروبی متیل پارابن و نمک سدیم رابه صورت خالص و مخلوط بر رفتار مخمر تورولوپسیس در یک محیط براث مورد مطالعه قرار دهیم. بعد از تهیه سوش خالص ***Torulopsis glumerata*** شده از خاویار و تهیه رقت مناسب در محیط کشت **BHI**، به منظور مشخص نمودن تعداد سلولهای مخمری در یک میلی لیتر، از کشت سطحی نمونه اولیه در محیط پوتیتیو دکستروز آگار استفاده شده و در نهایت تعداد مشخصی از مخمر انتخاب و به تیمارهای حاوی ۱) کلرید سدیم ۵ درصد، ۲) متیل پارابن ۰/۱۵ درصد +کلرید سدیم ۵ درصد، ۳) متیل پارابن ۰/۱۵ درصد و ۴) نمونه کنترل، تلقیح و در سه دمای ۳-، ۴ و ۲۰ درجه سانتیگراد و در زمانهای صفر، پنج، هشت و یازده روز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمایشات نشان داد که اولاً متیل پارابن به همراه کلرید سدیم (به‌صورت توام) دارای بهترین اثر مهار کنندگی بوده و ضمناً تاثیر آن در دمای ۳- درجه نسبت به دو دمای ۴ و ۲۰ درجه بیشتر بود. در نمونه کنترل و کلرید سدیم ۵ درصد، رشد مخمر در دماهای بالاتر روند صعودی داشته ولی این روند در نمونه کنترل سریعتر از نمک خالص صورت گرفت. با توجه به پتانسیل رشد و ایجاد فساد خاویار توسط این مخمر در غلظت بالای نمک و حرارت پائین نگهداری، استفاده از متیل پارابن عنوان ماده ضد میکروبی کمکی ضروری به نظر می‌رسد.
کلمات کلیدی: **T. glumerata**، مواد نگهدارنده، **BHI**، خاویار

✓ **Pajouhesh & Sazandegi, No 56 and 57 PP:2-5**

Study of behaviour Torulopsis sp in BHI broth including NaCl and Methyl paraben

By: R. Safari, Ecological Academic of caspian sea, sari, Iran. Razavilar, V. Faculty of veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, Iran.

Some of yeasts produce toxin metabolities and cause spoilage in food products. Growth and proliferation of yeasts depend on different factors such as pH, water activity, temperature, storage time, ... Torulopsis is the most important microorganism that enable to growth in low pH and temperature and in food products containing different preservatives (such as caviar). Methyl paraben (p - Hydroxy benzoate) is be used in different food that has low pH. This preservative inhibit growth of bacteria but hasn´t been studies related of effect on yeasts specially Torulopsis.

After preparation of different dilution of yeast isolated from caviar, samples is inoculated to BHI including NaCl 5% , NaCl 5% + Methyl paraben 0.15%, Methyl paraben 0.15% and control treatment, the treatments were incubated in -3ć 4ć, 20ć and were examined in zero, five, eight and eleven days. The results were indicated that 1 Methyl paraben plus NaCl have been had the best inhibitory effect 2) inhibitory effectof Methyl paraben in -3ć was better than to 4ć. and 20ć. In control and Nacl 5% treatment yeast has been increased in growth. Effect of Methyl paraben is depend on pH and temperature. The best of inhibitory Methyl paraben is acidic and nutral pH and low temperature. Since optimum of growth torulopsis is in low pH and temperature, therefore is suggested that Methyl paraben is used as preservative in caviar.

Keywords: *T. glumerata*. Food preservatives. BHI. Sturgeon cariar.

مقدمه

مخمرها موجودات تک سلولی بوده و کاربرد گسترده‌ای، در علوم مختلف از جمله صنایع غذایی (نانوایی، فرآورده‌های تخمیری)، بیوتکنولوژی (تولید پروتئین تک یاخته) و غیره دارند (۸، ۹). این میکروبهابه واسطه تولید متابولیتهای مختلف، باعث تولید طعم و بوی مطبوع و خوشایند در انواع مواد غذایی شده و امروزه از این میکروارگانیسمها، به‌صورت متداول و همراه با سایر میکروبها از جمله باکتریهای لاکتیک (سینترژیسمی) به منظورتولید فرآورده‌های تخمیری استفاده می‌شود (۸، ۱۳). ولی با این وجود بعضی از جنسهای این گروه باعث فساد مواد غذایی شده که در فرآیند فوق دو عامل اصلی دخالت داشته که شامل افزایش تعداد مخمر که همراه با تشکیل لایه لزج و کدر بر روی مواد غذائی بوده و در تولید متابولیتهای مضر نقش دارند (۹، ۱۲).

رشد و تکثیر مخمرها به‌عوامل مختلفی از جمله دما و شرایط نگهداری، pH، آب فعال و... بستگی داشته وبه‌طور کلی دمای رشد مناسب مخمرها بین ۳۵-۸ درجه سانتیگراد و اپتیمم pH مناسب آنها نیز در دامنه کمی اسیدی تا خنثی قرار دارد(۹). اکثر جنسهای مخمر توانایی رشد و تکثیر در دمای یخچال را داشته و از مهمترین میکروبهای عامل فساد در فرآورده‌های لبنی و گوشتی که در چنین دمایی قرار داده می‌شوند به‌حساب می‌آیند (۵، ۱۰، ۱۴، ۲۳).

خاویار به لحاظ مصرف شدن به‌صورت خام، غنی بودن از نظر پروتئین، ویسکوزیته بالا و pH مناسب جهت رشد انواع مخمرها (۶-۵/۵)، پتانسیل فساد به انواع میکروبها را دارد(۱۶). تحقیقات گسترده‌ای که در قالب پروژه بررسی و کنترل عوامل فیزیکوشیمیایی و میکروبی خاویار با استفاده از سیستم HACCP و مدلهای ریاضی پیشگو انجام گرفته نشان می‌دهد که عمده مخمرهای آلوده کننده خاویار در مراحل مختلف عمل آوری، تورولوپسیس و گونه گلومراتا و جنس رودوتورولا می‌باشند (۲، ۳، ۴). البته بایستی خاطر نشان کرد که به‌کارگیری سیستم HACCP و GMP و مجزا نمودن مراحل عمل آوری از یکدیگر، میزان آلودگی تا حد زیادی کاهش یافته است (۶، ۷، ۱۱).

مخمر *T. glumerata*، توانایی رشد در دماهای یخچال را داشته و از آن به‌عنوان میکروب مهم در انواع فرآورده‌های شیلاتی تخمیری یاد می‌شود (۱۸، ۱۹، ۲۲). این مخمر به لحاظ تولید متابولیتهای مختلف، باعث لزج و شیره دار شدن خاویار شده و قوام آن را کاهش می‌دهد. به لحاظ اهمیت مخمر مذکور در فساد خاویار، بررسی تاثیرات مواد نگهدارنده بر رفتار آن ضروری به نظر می‌رسد. امروه از نگهدارنده‌های شیمیایی و بیولوژیک،به‌طور گسترده در انواع فرآورده‌های غذایی به منظور افزایش طعم و بو و همچنین اثرات ضد میکروبی استفاده می‌شود (۸، ۱۳، ۱۵، ۱۷، ۲۳). خاویاربه‌عنوان ماده غذایی با ارزش، از این امر مستثنی نبوده و مواد نگهدارنده مختلفی (به‌صورت تجربی) از جمله سوربات پتاسیم، بوریک، بوراکس، بنزوات، نیتریت، نایسین به‌همراه کلرید سدیم که ماده اخیر به منظور افزایش قوام خاویار استفاده می‌شود، مورد مصرف قرار می‌گیرند. متیل پارابن از مشتقات بنزوات بوده و فرمول آن $HOC_6H_4CH_3$ می‌باشد. متیل پارابن یا متیل ۴ هیدروکسی بنزوات با درصدهای مختلفی در انواع مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. دوز مورد استفاده آن از ۰/۱ تا ۰/۳ درصد بوده و بسته به نوع ماده غذایی دارد (۸) ولی تاکنون از این ماده در خاویار استفاده نشده و مطالعات انجام شده بیشتر به‌صورت آزمایشگاهی بوده و نتایج مستدلی در دسترس نمی‌باشد.

در این تحقیق، اثر مهار کننده متیل پارابن بر مخمر *T.glumerata*،به‌صورت منفرد و ترکیبی (همراه با کلرید سدیم) در محیط کشت آزمایشگاهی مدل فرآوری خاویار، مورد ارزیابی قرار گرفته است. از عمده محیطهای مورد استفاده به منظور بررسی تیمارهای مختلف، میتوان به محیط BHI، تریپتون سویا براث (Davis-Mingolis,(TSB و پپتون و اتر می‌باشند. محیط BHI، به لحاظ داشتن عصاره قلب و مغز گاو، محیط کاملاً مناسبی جهت رشد مخمربه‌حساب می‌آید. محیط مورد استفاده جهت آزمایش بایستی به نوعی انتخاب شود که به شرایط خاویار نزدیک باشد. محیط BHIبرای اکثر باکتریهای مشکل پسند نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۸). هدف از مطالعه فوق، مقایسه اثر مهار کننده متیل پارابن و نمک طعام و بهترین دمای مهارکننده می‌باشد.

روش کار

ابتدا سوسپانسیون اولیه از کلنی خالص *T.glumerata* جدا شده از خاویار در محیط کشت BHI براث، تهیه و پس از گرمخانه گذاری به‌مدت ۱۸ ساعت در دمای ۲۰ درجه و رساندن رشد مخمر به شرایط مناسب،رقتهای مختلفی از آن تهیه (10^{-5} - 10^{-1}) و با اضافه نمودن ۰/۱ میلی‌لیتر از رقتهای مذکور به محیط کشت پوتیتیو دکستروزآگار و کشت سطحی و انکوباسیون در دمای ۲۰ درجه به‌مدت ۵-۳ روز، تعداد سلولهای مخمری در هر میلی لیتر محاسبه گردید و ضریب مشخصی از آن جهت تلقیح به محیط کشت آماده گردید ($۲/۶\times10^{5}$). کلنی‌های تولید شده دارای رنگ کرم، متوسط، دارای قوام، حاشیه صاف، برآمده و کدر بودند. برای جداسازی جنس و گونه مخمری از خاصیت سریع الرشد بودن (در عرضه سه روز)، تخمیر دکستروز،تری هالوز، توانایی رشد در ۳۷ درجه در محیط سابورودکستروزآگار و عدم تخمیر مالتوز، لاکتوز، گالاکتوز، اوره، دولستیول ، رافینوز، گزیلوز، اینوزیتول، سلوبیوز استفاده گردید. سلولهای مخمری به‌صورت بیضوی و دارای جوانه انتهایی بودند (۱).

تیمارهای تهیه شده شامل : ۱) نمونه کنترل (فاقد مواد نگهدارنده)،۲) برین هارت براث حاوی ۵ درصد کلرید سدیم،۳) نمونه دارای ۰/۱۵ درصد متیل پارابن بهمراه ۵ درصد کلرید سدیم،۴) نمونه حاوی ۰/۱۵ درصد متیل پارابن بودند. برای تلقیح، یک میلی‌لیتر از رقت $۲/۶\times10^{6}$ مخمر به ۹ میلی‌لیتر از تیمار اضافه شده و تیمارها در سه دمای ۳-، ۴ و ۲۰ درجه سانتیگراد و در زمانهای صفر، پنج، هشت و یازده روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای هر نمونه، دو تکرار در نظر گرفته شد و نتایج حاصله به‌صورت میانگین سه آزمایش بیان گردید. pH محیط BHI در محدوده ۵/۷ (pH خاویار) تنظیم گردید.

برای آنالیز نتایج حاصله از نرم‌افزار SPSS و تست آنالیز واریانس یکطرفه و دو طرفه استفاده شد.

نتایج

آ: رفتار مخمر در دمای ۳ درجه سانتیگراد

بقاء مخمر در نمونه کنترل و نمونه حاوی کلرید سدیم تا ۱ لوگ ($p<$ ۰/۰۵)، در نمونه حاوی متیل پارابن و نمک خالص (ترکیبی) تا ۳ لوگ ($p<$ ۰/۰۱) و در نمونه حاوی متیل پارابن نیز تا ۳ لوگ ($p<$ ۰/۰۵) نسبت به تلقیح اولیه کاهش داشته است (جدول ۱).

ب: رفتار مخمر در دمای ۴ درجه سانتیگراد

رشد مخمر در نمونه کنترل تا ۲ لوگ ($p<$ ۰/۰۵)، در نمونه حاوی کلرید سدیم تا ۱ لوگ افزایش داشته ولی افزایش ذکر شده معنی‌دار نبوده است ($p>$ ۰/۰۵). بقاء مخمر در تیمار حاوی کلرید سدیم‌به‌همراه متیل پارابن تا ۴ لوگ ($p<$ ۰/۰۱) و در تیمار واجد متیل پارابن (به صورت منفرد) تا ۳ لوگ نسبت به تلقیح اولیه کاهش داشته است ($p<$ ۰/۰۵) (جدول ۲).

ج: رفتار مخمر در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد:

رشد مخمر در نمونه کنترل تا ۳ لوگ ($p<$ ۰/۰۱)، در نمونه حاوی کلرید سدیم تا ۲ لوگ افزایش داشته ($p<$ ۰/۰۵) ولی بقاء مخمر در نمونه‌های حاوی کلرید سدیم‌به‌همراه متیل پارابن تا ۳ لوگ ($p<$ ۰/۰۵) و در نمونه حاوی متیل پارابن بصورت منفرد تا ۲ لوگ کاهش داشته است ($p<$ ۰/۰۵) (جدول ۳).

مقایسه کلی که بین دماهای مختلف انجام گرفت نشان داد که تغییرات حاصله در دمای ۳- درجه نسبت به دو دمای دیگر معنی‌دار بوده ($p<$ ۰/۰۵)، ولی تغییرات بقاء و رشد مخمر در دو دمای ۴ و ۲۰ درجه سانتیگراد در بعضی از موارد معنی‌دار نبوده است ($p<$ ۰/۰۵). نتیجه دیگر آنکه متیل پارابن به‌همراه کلرید سدیم دارای اثر مهارکننده در هر سه دما بوده ولی بیشترین اثر آن در دمای ۳- درجه بوده و با افزایش انکوباسیون، اثر فوق بصورت کاهش شدید و به صفر رساندن مخمر خواهد بود.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج آزمایشات نشان داد که زمانی که متیل پارابن به‌صورت مخلوط و همراه با کلرید سدیم مورد استفاده قرار گیرد اثرات بهتری نسبت به کلرید سدیم خالص داشته و اثر مهار کننده آن نیز در دمای ۳- درجه بهتر از دو دمای ۴ و ۲۰ درجه می‌باشد. افزایش زمان انکوباسیون در دمای ۳-، اثرات مهار کننده بهتری بر مخمر داشته و با گذشت زمان باعث صفر رساندن مخمر می‌گردد. مطالعاتی که توسط مولف و همکارانش در ارتباط با اثر نگهدارنده‌های شیمیایی بر فلور کلی مخمرها در خاویار انجام گرفته نتایج این تحقیق را تائید می‌کند (۴). در دماهای بالاتر، اثر متیل پارابن اندکی کاهش یافته و نسبت به سایر مواد نگهدارنده (مثل بوریک و بوراکس)، اثر مهار کننده کمتری نشان داده ولی نسبت به کلرید سدیم اثر مهار

جدول ۱- رفتار مخمر *T.glumerata* در محیط کشت برین هارت حاوی متیل پارابن و کلرید سدیم در دمای ۳- درجه سانتیگراد و چهار زمان انکوباسیون

زمان / تیمار	صفر	پنج روز	هشت روز	یازده روز
کنترل	$۲/۶\times۱۰^{۵}$	$۹/۱\times۱۰^{۴}$	$۴/۲\times۱۰^{۴}$	$۱/۱\times۱۰^{۴}$
کلرید سدیم ۵ درصد	$۲/۶\times۱۰^{۵}$	$۳/۵\times۱۰^{۴}$	$۷/۶\times۱۰^{۳}$	$۲/۱\times۱۰^{۳}$
کلرید سدیم ۵درصد + متیل پارابن ۰/۱۵درصد	$۲/۶\times۱۰^{۵}$	$۳/۲\times۱۰^{۴}$	$۲/۲\times۱۰^{۲}$	$۱/۰۱\times۱۰^{۱}$
متیل پارابن ۰/۱۵ درصد	$۲/۶\times۱۰^{۵}$	$۳/۱\times۱۰^{۴}$	$۱/۴\times۱۰^{۳}$	$۸/۵\times۱۰^{۱}$

جدول ۲- رفتار مخمر *T.glumerata* در محیط کشت برین هارت براث حاوی متیل پارابن و کلرید سدیم در دمای ۴ درجه و چهار زمان انکوباسیون

زمان / تیمار	صفر	پنج روز	هشت روز	یازده روز
کنترل	$۲/۶\times۱۰^{۵}$	$۴/۵\times۱۰^{۶}$	$۸/۱\times۱۰^{۶}$	$۴/۱\times۱۰^{۷}$
نمک کلرید سدیم ۵ درصد	$۲/۶\times۱۰^{۵}$	$۲/۲\times۱۰^{۶}$	$۳/۸\times۱۰^{۶}$	$۶/۵\times۱۰^{۶}$
کلرید سدیم ۵ درصد + متیل پارابن ۰/۱۵درصد	$۲/۶\times۱۰^{۵}$	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	$۴/۱\times۱۰^{۲}$	$۹/۲\times۱۰^{۱}$
متیل پارابن ۰/۱۵درصد	$۲/۶\times۱۰^{۵}$	$۹/۵\times۱۰^{۴}$	$۱/۱\times۱۰^{۳}$	$۷/۸\times۱۰^{۲}$

جدول ۳- رفتار مخمر *T.glumerata* در محیط کشت برین هارت حاوی متیل پارابن و کلرید سدیم در دمای ۲۰ درجه و چهار زمان انکوباسیون

زمان / تیمار	صفر	پنج روز	هشت روز	یازده روز
کنترل	$۲/۶\times۱۰^{۵}$	$۸/۱\times۱۰^{۶}$	$۳/۵\times۱۰^{۷}$	$۱/۲\times۱۰^{۸}$
نمک کلرید سدیم ۵ درصد	$۲/۶\times۱۰^{۵}$	۵×۱۰^{۶}	$۱/۰۱\times۱۰^{۷}$	$۵/۵\times۱۰^{۷}$
کلرید سدیم ۵ درصد + متیل پارابن ۰/۱۵درصد	$۲/۶\times۱۰^{۵}$	$۷/۸\times۱۰^{۴}$	$۲/۱\times۱۰^{۳}$	$۱/۷\times۱۰^{۲}$
متیل پارابن ۰/۱۵درصد	$۲/۶\times۱۰^{۵}$	$۹/۵\times۱۰^{۴}$	$۱/۱\times۱۰^{۴}$	$۷/۸\times۱۰^{۳}$

کننده بهتری را نشان می‌دهد (۴). با کاهش دمای نگهداری، اثر مهار کننده متیل پارابن افزایش یافته و نسبت به سایر نگهدارنده‌ها نیز اثر بهتری را در پی دارد. تحقیقاتی که توسط مؤلف و همکارانش در ارتباط با اثر بعضی از مواد نگهدارنده از جمله کلرید سدیم با غلظتهای مختلف، بوریک و بوراکس، سوربات پتاسیم، متیل پارابن با دو غلظت ۰/۱ و ۰/۲ درصد بر شمارش کلی باکتریها، کپک و مخمر، *E.coli* و *Clostridium butulinum* تیپ E در دماهای ۳-، ۴ و ۱۵ انجام گرفته نشان می‌دهد که اثر متیل پارابن در دو غلظت فوق و در هر سه دما، اثر باکتریوسایدی داشته و رشد *E.coli* و کلستریدیوم را به صفر رسانده ولی اثر باکتریواستاتیک بر شمارش کلی باکتریها و کپک و مخمر داشته ولی در ارتباط با سایر مواد نگهدارنده، اثر مهار کننده بصورت باکتریواستاتیک بوده است (۲، ۴). با توجه به اینکه غلظت متیل پارابن مورد استفاده در این تحقیق ۰/۱۵ درصد می‌باشد پیش‌بینی می‌گردد که اگر غلظت مورد استفاده اندکی افزایش یابد رشد مخمر در دماهای بالاتر کاهش یافته و در دمای ۳- نیز به صفر خواهد رسید. (با توجه به غلظت مورد استفاده در سایر مواد غذایی). مطالعاتی که در ارتباط با تغییرات ارگانولپتیک خاویار پس از اضافه نمودن متیل پارابن انجام گرفته نشان از عدم تغییرات ارگانولپتیک در خاویار بوده است (۳، ۴).

عامل دیگری که در مکانیسم اثر ماده نگهدارنده تأثیر می‌گذارد زمان می‌باشد. با افزایش زمان ماندگاری مخمر در محیط BHI حاوی نمک و نمونه کنترل در دماهای ۴ و ۲۰ درجه سانتیگراد، رشد مخمر روند صعودی داشته ولی بقاء آن در دمای ۳- روند نزولی داشته است. رشد مخمر در نمونه حاوی متیل پارابن (به صورت منفرد و ترکیبی در هر سه دما) روند نزولی داشته است. مطالعاتی که توسط مؤلف و همکارانش در خاویار انجام گرفته نشان می‌دهد که با افزایش زمان انکوباسیون به هشت هفته، میزان کاهش بیشتر از چهار هفته بوده است (۴). میزان اثر متیل پارابن، با افزایش زمان انکوباسیون، نسبت به سایر مواد نگهدارنده بیشتر بوده است (۴). می‌توان اذعان نمود که متیل پارابن، پس از طولانی شدن نسبی زمان نگهداری، با مکانیسم افزایش فشار اسمزی و دهیدراته نمودن سلول، باعث از بین بردن مخمر شده و به مرور زمان از تعداد مخمرها کاسته می‌شود. (۸، ۲۰). در کنار متیل پارابن، اثرات تخریبی کلرید سدیم بر غشاء سیتوپلاسمی و ترکیب با مواد شیمیایی، را نباید فراموش کرد. به هنگامی که از کلرید سدیم به‌صورت منفرد استفاده شود فرآیند فوق کارآیی زیادی را نشان نداده زیرا مخمر به نمک مقاومت نسبی نشان می‌دهد و این موضوع لزوم استفاده از یک نگهدارنده را در جلوگیری از فساد خاویار را نشان می‌دهد (۸، ۲۰).

اثر ماده نگهدارنده (شیمیایی و بیولوژیک) وابستگی زیادی به pH ماده غذایی دارد. بعنوان مثال بنزوات بیشترین تأثیر خود را در pH بین ۴-۲/۵ داشته ولی اسید بنزوئیک بهترین اثر مهار کننده را در pH=۶/۵ و بالاتر از آن نشان می‌دهد (۲۰)، متیل پارابن بواسطه داشتن فرمول بنزنی (۴ متیل هیدروکسی بنزوات) و PKa بالا، مابین دو pH فوق اثر مهار کننده خود را نشان می‌دهد. نمکهای با مشتق بنزواتی (سدیم یا پتاسیم بنزوات) در دوز ۰/۱ تا ۰/۳ درصد در انواع فرآورده‌های غذایی مثل سالادها، میوه‌ها، گوشت، مارگارین و تخم ماهیان استخوانی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۸، ۱۵، ۲۱، ۲۳) ولی تاکنون از آن‌ها در تخم ماهیان خاویاری استفاده نشده است.

در تحقیقی که در قالب «بررسی و کنترل عوامل فیزیکوشیمیایی میکروبی خاویار با استفاده از سیستم HACCP و مدلهای ریاضی پیشگو» انجام گرفته اثرات اکثر مواد نگهدارنده بر شمارش کلی باکتریها، کپک و مخمر، *E.coli* و *Cl.butulinum* تیپ E، در محیط کشت آزمایشگاهی و خاویار در دماها و زمان نگهداری متفاوت انجام گرفته است. در تمام مطالعات، اثر متیل پارابن بهتر از سایر مواد نگهدارنده بوده ولی اثر آن در محیط کشت به‌صورت بساکتریوساید و در خاویار به‌صورت باکتریواستاتیک بوده است (۲، ۳، ۴). با توجه به محدودیت استفاده از اسید بوریک و بوراکس در خاویار (به لحاظ داشتن عوارض جانبی و ممنوع شدن استفاده از آن توسط اتحادیه اروپا) ضرورت استفاده از نگهدارنده جدید نظیر متیل پارابن احساس می‌گردد(۵). لازم و ضروریست که بررسی اجمالی در ارتباط با متیل پارابن و اثر مهار کننده آن بر علیه باکتریهای شاخص فساد و مسمومیت غذایی در محیط کشت و خاویار انجام گرفته و در هر مورد حداقل سه دما ۳-، ۴، ۱۵ در نظر گرفته شود. از دوزهای مختلف متیل پارابن (تا حد استاندارد) با توجه به تغییرات ارگانولپتیک در خاویار، استفاده شود تا بهترین دوز آن انتخاب و به‌عنوان استاندارد در خاویار مورد استفاده قرار گیرد. در بررسیهای انجام شده اثر مواد نگهدارنده بر فلور کامل مخمر مورد بررسی قرار گرفته و ضروریست که اثر مهار کننده به‌طور اختصاصی بر مخمرهای شاخص فساد از جمله تورولوپسیس انجام گیرد.

منابع مورد استفاده

۱- اسکندی، فریدون. ۱۳۷۰. تشخیص آزمایشگاهی قارچهای مهم پزشکی، انتشارات دانش پژوه، ۶۰-۶۱.

۲- رضویلر، ودود - صفری، رضا - پورغلام، رضا .۱۳۸۰. مطالعه پتانسیل رشد و توکسین زایی کلستریدیوم بوتولینوم تیپ E، اشریشیاکلی متأثر از فرمولاسیونهای مختلف نمک و مواد نگهدارنده مورد پیش‌بینی در فرآوری خاویار. مجله دامپزشکی شماره ۲ ص ۹-۱۳.

۳- رضویلر، ودود، صفری، رضا، سلمانی، علی .۱۳۸۰. مطالعه مخاطرات بهداشتی و فساد میکروبی خاویار دان ایران در طول فراوری، نگهداری و محیط فرآوری آن در حوزه دریای مازندران. مجله دامپزشکی شماره ۱ ص ۷۸-۸۱.

۴- صفری، رضا، رضویلر، ودود .۱۳۸۱. اثر دما، زمان نگهداری، مواد نگهدارنده بر شمارش کلی باکتریها و کپک مخمر در خاویار. مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران.

5- Agreement on Technical Barriers Trade. WTO. GATT. 1997, Standards and quality. vol-10.

6- Bryan, F.L. .1998. Application of HACCP to ready to eat chilled foods. Food Technology. 44(7) 70. 76. 74-77.

7- Bryan, F.L. .1997. HACCP Concept. Dairy, food and environmental sanitation. 10(7): 416-418.

8- Davidson, P.M .1997. Chemical preservation and natural antimicrobial compounds. Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. Washington, American Society for Microbiology Press.

9- Dziezak, J.D. .1998. Yeasts and yeast derivatives. Food Technology. 41-58.

10 - Fain, A.R .1996. Control of pathogens in ready to eat foods. Dairy, Food and Environmental Sanitation. 12(9) 550-558.

11- Garrett, E and Hackney, C.R. 1996. Use of HACCP for seafood surveillance and certification. Food Technology. 44(5) 164-165.

12- Gill, Co .1980. The control of microbial spoilage in fresh meats. Advances in Meat Research. 2.49-88.

13- Huss, H. H, Jeppensen. V.F. Johansen, C. and Gram, L. 1995. Biopreservation of fish products. Journal of Aquatic Food Product Tecnology, Vol. 4(2).

14- Hygiene - quality and safety standards for food raw material and food products. SANPI 2.3.2.560-96. PP. 56-57.

15- Kamal, Md and T. Motohiro .1990. Combined effect of salmine sulfate and sorbat on the growth of molds. Bull. Jpn. Soc. Si. Fish.53: 867-872.

16- Programme "Sturgeon - 2000" is on the way .1998. Rybolovstvo vol. 3-4, PP. 6-8.

17- Rand, A.G. and L.F. Pivarnik .1994. Enzyme preservation of fresh seafoods. Advances in Seafood Biochemistry. PP. 35-150. Inc. Lancaster, PA.

18- Roberts, T. Pitt, J .1998. Microbiology in foods. Microbiology Ecology of food commudities Blackie Academic and Professional.

19- Sanitary - microbiological control over manufacturing of product from fish and marine inverterbrates .1991. Guidelines. Leningrad, Giprorybflot, PP. 35-36.

20- Sternin, V. Dore, I .1993. Caviar, Noscow, Cultura, Pp. 1-256.

21- Suny, H.H. .1996. Critical review on the microbiological standardization of salt - fermented fish product. Journal of the Korean Society of Food and Nutrition. 22, 5, 378-405.

22- The Interstate system of standard .1995. Moscow, standards publishers.

23- Van, L.R. .1994. Spoilage and preservation of meat. Chapter 14. Champan and Hall. PP. 378-405.