

اثر آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی نایسین بر فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بسته‌بندی شده با روش اتمسفر اصلاح شده (MAP)

مهشید شاملوفر^۱، *سیدابراهیم حسینی^۲، ابوالقاسم کمالی^۲، عباسعلی مطلبی^۳، رضا پورغلام^۴ و رضا صفری^۴

^۱دانش‌آموخته دکتری گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، عضو هیأت علمی گروه علوم و صنایع غذایی،

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ^۲مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ^۳پژوهشکده اکولوژی خزر

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۵؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۱۳

چکیده

در این مطالعه اثر آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی نایسین در ۳ سطح ۰، ۰/۱۵ و ۰/۲۵ گرم در کیلوگرم در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بسته‌بندی شده با اتمسفر اصلاح شده (۵۰ درصد نیتروژن، ۴۵ درصد دی‌اکسیدکربن و ۵ درصد اکسیژن) و بسته‌بندی در خلاء (تیمار شاهد) در مدت ۲۰ روز نگهداری در دمای یخچال (±۱ درجه سانتی‌گراد) مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش، شاخص‌های شیمیایی فساد (عدد پراکسید، میزان تیوباریتوریک اسید، مقدار بازهای ازته فرار و pH)، پارامترهای میکروبی (شمارش کلی باکتری‌ها، شمارش باکتری‌های سرماگرا و باکتری‌های اسید لاکتیک) و همچنین ویژگی‌های حسی فیله‌ها شامل فاکتورهای بو، رنگ، بافت و قابلیت پذیرش کلی در روزهای ۰، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ دوره نگهداری مورد سنجش قرار گرفت. تیمار نایسین ۰/۲۵ گرم در کیلوگرم با میزان شاخص عدد پراکسید، میزان تیوباریتوریک اسید، مقدار بازهای ازته فرار و pH به ترتیب برابر ۹/۹۵ (میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم گوشت ماهی)، ۱/۱۹ (میلی‌گرم مالون‌آلدهید بر کیلوگرم گوشت ماهی)، ۳۰/۴ (میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی) و ۶/۷۳ و از نظر پارامترهای میکروبی (شمارش کلی باکتری‌ها، شمارش باکتری‌های سرماگرا و باکتری‌های اسید لاکتیک) به ترتیب برابر ۶/۶۴، ۶/۹۱ و ۵/۸۱ logcfu/g به‌طور معنی‌داری کم‌ترین تیمار از نظر شاخص‌های ذکر شده نسبت به سایر تیمارها بود. همچنین از نظر ویژگی‌های حسی فیله‌ها شامل فاکتورهای بو، رنگ، بافت و قابلیت پذیرش کلی به ترتیب با امتیاز (۵، ۵/۴، ۵/۳) بیش‌ترین تیمار از نظر ویژگی‌های حسی بود. براساس حداکثر سطح توصیه شده برای این پارامترها، حداکثر زمان ماندگاری برای این فیله‌ها، ۱۶ روز بود. بنابر نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، استفاده از نایسین و بسته‌بندی فیله‌ها با اتمسفر اصلاح شده بر بهبود کیفیت فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در زمان نگهداری در یخچال اثر مثبت داشت.

واژه‌های کلیدی: نایسین، زمان ماندگاری، ماهی قزل‌آلا (*Oncorhynchus mykiss*)، بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده (MAP)

مقدمه

(FDA/CFSAN^۱، ۲۰۰۸). در ایران نیز آلودگی غذایی سالانه حدوداً جان ۳۵ هزار نفر از جمعیت ۷۰ میلیونی کشور را می‌گیرد (رضوی‌لر، ۱۳۸۹). نگاه‌داری در یخچال از روش‌هایی است که در مراکز

سالانه ۲۰ درصد کل جمعیت جهان دچار بیماری‌های ناشی از مصرف غذا می‌شوند که از این میزان، نیم درصد آن‌ها دچار مرگ و میر می‌شوند

1- Food and Drug Administration

* مسئول مکاتبه: ebhoseini@srbiau.ac.ir

می‌شود (Huss, 1995). یکی از عوامل افزایش زمان ماندگاری، استفاده از روش‌های بسته‌بندی مناسب می‌باشد. از مهم‌ترین برتری‌های بسته‌بندی می‌توان به افزایش کیفیت ماهی، جلوگیری از اکسیداسیون چربی، حفظ تازگی، سهولت در انبارداری و حمل و نقل و در نهایت فروش راحت‌تر محصول اشاره نمود. یکی از روش‌های بسته‌بندی ماهی، استفاده از اتمسفر اصلاح شده می‌باشد. در این روش که (MAP)^۳ نامیده می‌شود، اتمسفر اصلاح شده با ترکیب گازی معین (دی‌اکسیدکربن، ازت و اکسیژن)، جایگزین هوا در بسته شده و سپس عمل بسته‌بندی انجام می‌گیرد. مطالعات نشان داده که درصد افزایش ماندگاری در سیستم MAP در مقایسه با نگهداری در معرض هوا از صفر (بدون افزایش) تا ۲۸۰ درصد متغیر می‌باشد (Sivertsvik و همکاران، ۲۰۰۲؛ Lyhs و همکاران، ۲۰۰۷) گونه ماهی انتخابی در این پژوهش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با نام علمی *Oncorhynchus mykiss* از خانواده آزادماهیان است، این ماهی جزو ماهیان پرچرب بوده و کاهش کیفیت در ماهیان چرب در مرحله اول به‌خاطر فعالیت میکروارگانیسم‌ها و اکسیداسیون چربی‌ها می‌باشد (Rezaei و Hosseini, ۲۰۰۸). بنابراین در نگهداری کوتاه‌مدت گوشت ماهی، انجاماد نه تنها هزینه بالایی را تحمیل خواهد کرد، بلکه بازارپسندی آن را نیز کاهش می‌دهد. از راه‌های مؤثر در کاهش اکسیداسیون چربی‌های ماهی استفاده از اتمسفر تغییر یافته می‌باشد. براساس آمار، میزان تولید این ماهی در سال ۱۳۸۹ به‌میزان ۹۱۵۱۹ تن در کشور بوده که سهم استان‌های شمالی، ۱۴۱۹۲ تن بوده است. هدف از انجام این پژوهش، افزودن نایسین به فیله ماهی قزل‌آلا و بسته‌بندی آن با استفاده از اتمسفر اصلاح شده برای افزایش مدت زمان ماندگاری آن در دمای یخچال می‌باشد.

عرضه ماهی و یا برای انتقال ماهی از مراکز پرورش تا مراکز فروش استفاده می‌گردد. نگهداری ماهی در یخچال سبب کاهش سرعت فعالیت‌های آنزیمی، شیمیایی و فعالیت موجودات ذره‌بینی خواهد شد اما به‌دلیل توانایی نداشتن دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) برای کاهش دمای ماهی به مقدار لازم، تغییرات نامطلوبی از جمله اکسیداسیون و هیدرولیز چربی به آرامی صورت گرفته، باعث کاهش کیفیت محصولات می‌گردد. بنابراین استفاده از موادی مناسب با فعالیت آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی به‌منظور بهبود کیفیت، افزایش عمر ماندگاری گوشت و در عین حال جلوگیری از ضررهای اقتصادی، ضروری و مفید به‌نظر می‌رسد (Kashiri و همکاران، ۲۰۱۱) از این‌رو استفاده از نگهدارنده‌های ضد میکروبی در بسیاری از محصولات غذایی به‌منظور جلوگیری از آلودگی ماده غذایی پس از تولید بسیار رایج است و باعث افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت غذا می‌شود (Ojagh و همکاران، ۲۰۱۰). از جمله این مواد ضد میکروبی می‌توان به انواع بیولوژیک اشاره نمود که باکتری‌های لاکتیک و انواع متابولیت‌های میکروبی که از این گروه و یا گروه‌های وابسته تولید می‌شوند، جزو این دسته هستند. باکتری‌های لاکتیک طیف وسیعی از باکتریوسین‌ها را ترشح می‌کنند که می‌توان به نایسین، پدیوسین، لاکتاسین، دایورجین، دیپلوسین، لاکتواستریپتوسین و... اشاره نمود. نایسین تنها باکتریوسینی است که اجازه استفاده بی‌خطر آن در مواد غذایی داده شده و یک ماده نگهدارنده بی‌خطر (GRAS)^۱؛ عنوانی که سازمان غذا و داروی آمریکا به مواد افزودنی غذایی بی‌خطر و سالم داده است) می‌باشد (FDA, ۱۹۸۸). زمان ماندگاری^۲ ماهی با ارزیابی شدت واکنش‌های آنزیمی، درجه حرارت و تعداد و نوع میکروارگانیسم‌های مولد فساد تعیین

1- Generally Recognized As Safe

2- Shelf Life

3- Modified Atmosphere Packaging

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی: ماهیان قزل‌آلای مورد استفاده در این پروژه از یک استخر پرورشی واقع در شهرستان ساری در زمان کم‌تر از ۳۰ دقیقه در کنار یخ به پژوهشکده اکلوزی آبزیان دریای خزر حمل شدند. ماهی‌ها در آزمایشگاه بلافاصله تخلیه شکمی و سر و دم‌زنی شدند و به فیله‌های با میانگین وزنی بین ۵۰-۵۵ گرم تبدیل شده و دوباره آب‌کشی شدند.

آماده‌سازی نایسین: در این پژوهش، نایسین ۲/۵ درصد (Serva، آمریکا) در اسید کلریدریک (Merck، آلمان) ۰/۰۲ نرمال حل شد و در ظرف استریل توسط فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر، استریل شده و مقدار موردنظر آن را برداشته و به ظروف شامل آب مقطر استریل افزوده و پس از مخلوط شدن با دو غلظت ۰/۱۵ و ۰/۲۵ گرم بر کیلوگرم بر روی فیله‌های ماهی اسپری شد.

بسته‌بندی نمونه‌ها با اتمسفر اصلاح شده: پس از آغشته ساختن نمونه‌ها به نایسین، فیله‌ها به کمک دستگاه بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح‌شده بسته‌بندی شدند. براساس مطالعات انجام شده، ترکیب گازی شامل ۴۵ درصد دی‌اکسیدکربن، ۵۰ درصد نیتروژن و ۵ درصد اکسیژن به‌عنوان بهترین فرمول، زمان نگهداری ماهی را افزایش می‌دهد (Masniyom، ۲۰۱۰)، از این‌رو این ترکیب گازی برای بسته‌بندی نمونه‌ها در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت. بسته‌بندی در کیسه‌های نایلونی سه‌لایه با ابعاد ۴۰×۲۰ سانتی‌متر که لایه میانی از جنس پلی‌وینیلیدن کلراید (PVDC) و دو لایه خارجی از جنس پلی‌اتیلن (PE) است، انجام شد. در این روش، با دستگاه بسته‌بندی (A300/16, Multivac، آلمان)، ابتدا هوای داخل بسته تخلیه شده و سپس با تزریق مخلوطی از گازها به داخل بسته، سر کیسه‌ها به‌طور اتوماتیک توسط دستگاه دوخته شد (تیمارهای M، بدون نایسین)،

M₁ (۰/۱۵ گرم بر کیلوگرم نایسین) و M₂ (۰/۲۵ گرم بر کیلوگرم نایسین). برای بسته‌بندی فیله‌ها در خلاء، ابتدا فشار داخلی بسته به صفر میلی‌متر جیوه رسید، سپس عمل دوخت به سرعت به‌طور اتوماتیک انجام شد (تیمار V). سپس نمونه‌ها داخل یخچال در دمای ۱±۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ روز نگهداری شده و هر ۴ روز یکبار یعنی در روزهای ۰، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ نمونه‌هایی به‌صورت تصادفی برای انجام همه آزمایش‌های شیمیایی، میکروبی و حسی انتخاب شدند.

آزمایش‌های میکروبی

شمارش کلی باکتری‌ها (TPC): تعیین بار میکروبی بر طبق روش (Siskos و همکاران، ۲۰۰۷) صورت پذیرفت. به این منظور، ۵ گرم نمونه با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر به کیسه استریل استومیگر منتقل گردید و توسط دستگاه استومیگر (استومیگر ۴۰۰ ساخت شرکت Seward انگلیس) به‌صورت هموژن درآمد. سپس نمونه تا رقت ۱۰۵ میلی‌لیتر رقیق گردید. ۱ میلی‌لیتر از هر رقت در پلیت قرار داده شد و محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA) به آن افزوده شد. هر پلیت به‌منظور توزیع همگن نمونه به دقت تکان داده شد. بعد از چند دقیقه همه پلیت‌ها وارونه شده و در انکوباتور به مدت ۴۸ ساعت با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از ۴۸ ساعت همه کلونی‌ها شمارش شدند.

شمارش باکتری‌های سرماگرا (PTC): برای شمارش تعداد باکترهای سرمادوست، کشت به‌صورت سطحی بر روی محیط کشت پلیت کانت آگار انجام شد و بعد از نگهداری پلیت‌ها در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز تعداد کلنی‌های موجود بر روی پلیت شمارش شد (استاندارد ملی ایران، ۱۳۷۸).

1- Total Plate Count

2- Psychrotrophic Count

محلول به دست آمده از تقطیر، صورت پذیرفت. نتایج براساس میلی‌گرم مالونالدئید در کیلوگرم نمونه بیان گردید.

تعیین میزان پراکسید (PV): ۱۰ گرم از نمونه هموژن شده فیله ماهی درون یک ارلن‌مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته و به آن ۲ گرم شن و ۲۰ گرم سولفات سدیم افزوده و کاملاً مخلوط گردید. بعد از تبخیر رطوبت، به همراه ۲۰ سانتی‌مترمکعب از حلال اتروپترول شده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفت. روز بعد، محلول را صاف کرده و محلول صاف شده را داخل بالن سوکسله که قبلاً توزین شده بود، ریخته و در دستگاه روتاری (Buchi EL) 141 قرار داده شد. در نتیجه حلال‌ها جدا شده و چربی باقی‌مانده به همراه بالن دوباره توزین شد و از تفاوت وزن بالن خالی و بالن همراه با نمونه چربی، مقدار چربی به دست آمد. سپس ۵ گرم چربی استخراج شده در یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری درب‌دار به‌طور دقیق توزین و مقدار ۳۰ میلی‌لیتر اسیداستیک و کلروفرم که قبلاً مخلوط شده بودند، به آن افزوده و به مقدار ۰/۵ سانتی‌مترمکعب محلول نشاسته ۱ درصد به آن اضافه شد و توسط تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال تا بی‌رنگ شدن کامل تیترا گردید. مقدار پراکسید چربی بر حسب میلی‌اکی‌والان پراکسید در ۱۰۰۰ گرم چربی از رابطه زیر به دست آمد (Pearson, ۱۹۹۴).

ارزیابی حسی: برای انجام ارزیابی حسی فیله‌های ماهی قزل‌آلا در طول دوره نگهداری از روش (Kontominas و Goulas, ۲۰۰۷) استفاده گردید. به این منظور از یک گروه پنل ۷ نفره استفاده شد. ارزیابی حسی در مورد بو، رنگ و بافت انجام گرفت. نمونه فیله تازه ماهی قزل‌آلا در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره گردید و در زمان انجام ارزیابی

شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB):^۱ به منظور شمارش باکتری‌های گروه لاکتیک، از محیط کشت MRS (deMan, Rogosa and Sharpe) آگار (Merck, آلمان) استفاده شد. ۱ میلی‌لیتر نمونه با میکروسمپلر به پتری‌دیش خالی منتقل شد و سپس یک لایه محیط کشت مایع آماده شده به نمونه اضافه شده و پتری‌دیش را به‌طور سینوسی تکان داده تا نمونه با محیط کشت مخلوط شود و پس از سرد شدن، لایه باریک دیگری به لایه اولیه اضافه شد. برای ایجاد یک محیط بی‌هوازی پلیت‌های کشت داده شده در جای بی‌هوازی شامل ۲ گازپک C قرار داده شدند و در انکوباتور ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲-۳ روز نگهداری و سپس شمارش شدند (Jones و همکاران، ۲۰۰۸).

آزمایش‌های شیمیایی

سنجش مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N): تعیین میزان TVB-N به روش (Pearson, ۱۹۹۷) انجام شد. ۱۰ گرم نمونه چرخ‌شده ماهی در بالن شامل ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و سنگ جوش قرار داده شد. بخارهای تقطیر شده وارد محلول ۲ درصد اسید بوریک شامل چند قطره معرف متیل رد و بروموکرزول سبز شده و در پایان توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال (A) تیترا شد. مقدار مواد از ته فرار توسط رابطه محاسبه گردید ($TVB-N=A \times 14$).

سنجش تیوباربتوریک اسید (TBA): برای اندازه‌گیری شاخص تیوباربتوریک اسید، از روش (Egan و همکاران، ۱۹۹۷) استفاده شد. این روش براساس مقادیر اسپکتروفتومتری (HACH, DR/2000, USA) کمپلکس صورتی به دست آمده از واکنش یک مولکول مالون آلدئید (MDA) به دست آمده از تقطیر، با دو مولکول تیوباربتوریک اسید (TBA) اضافه شده به

1- Lactic Acid Bacteria

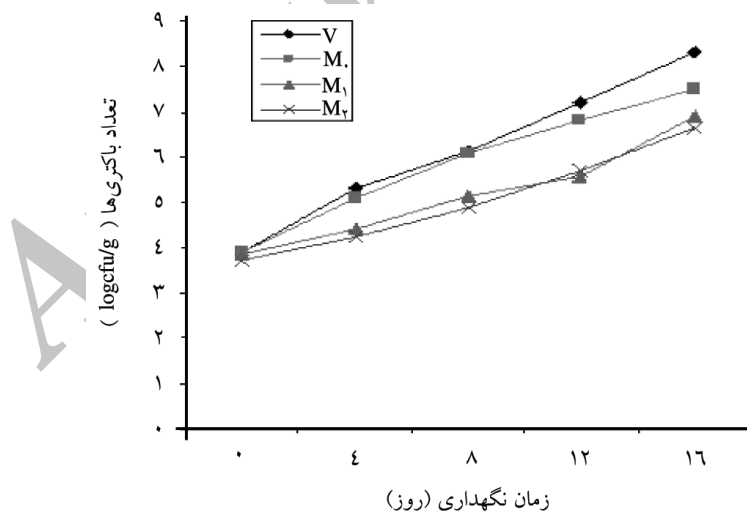
۱۹۹۹). آزمون غیرپارامتریک کروسکال-والیس مقایسه شاخص‌های حسی مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

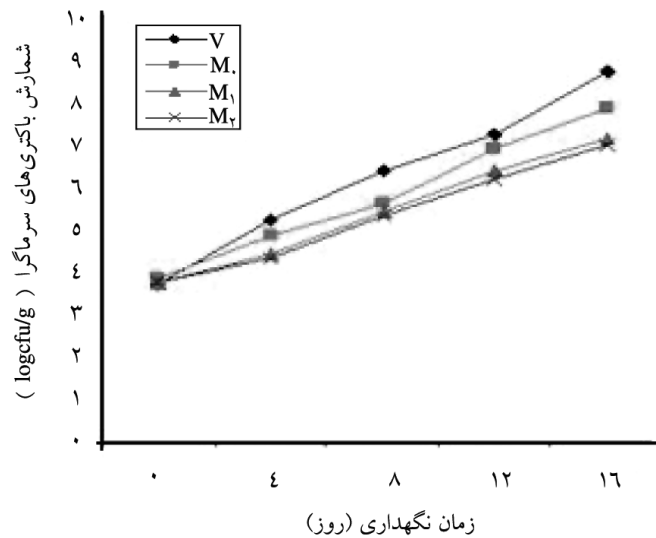
آنالیز میکروبی: مقدار TPC در تمامی تیمارهای این آزمایش در روز ۱۶، بیش‌ترین میزان و در روز صفر کم‌ترین میزان بود و بین زمان‌های مختلف آزمایش در همه تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. بین تیمارهای آزمایشی در زمان صفر، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در روز ۱۶، تیمار شاهد و کیوم با میزان TPC برابر (۸/۳۲) بیش‌ترین و تیمار (نایسین ۰/۲۵) با TPC برابر (۶/۶۴) کم‌ترین تیمار بودند و تیمار شاهد MAP با TPC برابر (۷/۴۹) دومین میزان TPC را بعد از شاهد و کیوم دارا بود. تیمار نایسین ۰/۱۵ با میزان TPC برابر (۶/۹۰۵) با تیمار نایسین ۰/۲۵ اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۱).

حسی به‌عنوان معیار بالاترین امتیاز در نظر گرفته شد. ارزیابی حسی تحت شرایط مشابه نور و دمایی انجام گرفت. برای امتیازدهی از یک مقیاس ۰ تا ۱۰ استفاده شد، به‌نحوی که ۱۰ بیش‌ترین امتیاز و ۰ کم‌ترین امتیاز را داشت. محصول با امتیاز کم‌تر از ۶ به‌عنوان محصول غیرقابل پذیرش تعریف گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده با نرم‌افزار SPSS 18 انجام پذیرفت. به‌منظور تجزیه و تحلیل مقادیر کمی به‌دست آمده از آزمایش‌های شیمیایی و آزمایش‌های میکروبی پس از کنترل نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolomogorav-Smirnov کولموگراف-اسمیرنوف از تجزیه واریانس دوطرفه در قالب طرح آماری فاکتوریل کاملاً تصادفی استفاده گردید. همچنین برای تعیین تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف از آزمون LSD و مقایسه در زمان‌های مختلف از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد استفاده گردید (Zar



شکل ۱- تغییرات بار میکروبی کل طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد. تیمار V (شاهد بسته‌بندی در خلاء)، M (شاهد بسته‌بندی با MAP)، M₁ (نایسین ۰/۱۵ بسته‌بندی با MAP) و M₂ (نایسین ۰/۲۵ بسته‌بندی با MAP).



شکل ۲- تغییرات شمارش باکتری‌های سرم‌گرا طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد. تیمار V (شاهد بسته‌بندی در خلاء)، M₁ (شاهد بسته‌بندی با MAP)، M₂ (نایسین ۰/۱۵ بسته‌بندی با MAP) و M₃ (نایسین ۰/۲۵ بسته‌بندی با MAP).

وکیوم دارا بود. تیمار نایسین ۰/۱۵ با میزان TPC برابر (۵/۷۴) به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار نایسین ۰/۲۵ و کم‌تر از شاهد MAP بود (شکل ۳).

آنالیز شیمیایی

شاخص پراکسید (PV): میزان PV در تمامی تیمارها در طول زمان روند افزایشی داشت. تیمار V از نظر شاخص پراکسید به‌طور معنی‌داری بیش‌ترین تیمار و تیمار M₁ بعد از آن به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از دو تیمار M₂ و M₃ بود که شامل نایسین بودند اما میان دو تیمار M₂ و M₃ از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۴).

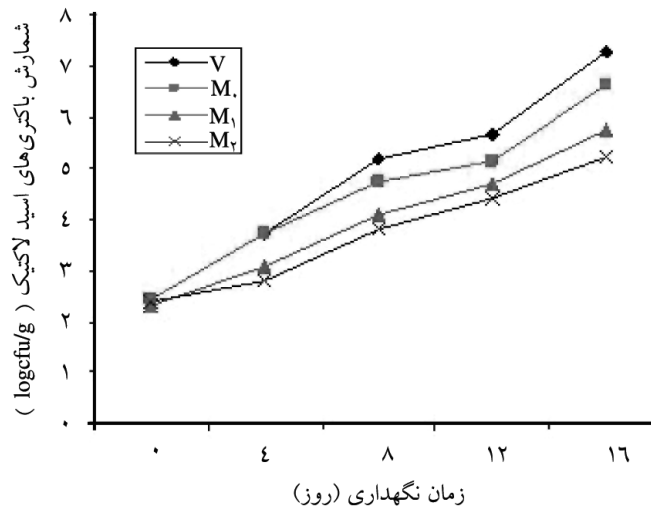
شاخص تیوباریتوریک اسید (TBA): تغییرات مقادیر TBA بین تیمارها در زمان صفر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. طبق نتایج، در روز ۱۶، تیمارهای شاهد و کیوم، شاهد MAP، نایسین ۰/۱۵ و نایسین ۰/۲۵ با مقدار TBA به‌ترتیب برابر ۲/۲۵، ۱/۷۴، ۱/۴۲ و ۱/۱۹ mg MA/kg بیش‌ترین تا کم‌ترین تیمارها بودند اما بین تمامی این تیمارها اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده شد (شکل ۵).

در بررسی میزان شمارش ابتدایی PTC، بین تیمارهای آزمایشی در زمان صفر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. مقدار PTC در تمامی تیمارهای این آزمایش در روز ۱۶ بیش‌ترین میزان و در روز صفر کم‌ترین میزان بود و بین زمان‌های مختلف آزمایش در همه تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. در روز ۱۶، تیمارهای شاهد و کیوم، شاهد MAP، نایسین ۰/۱۵ و نایسین ۰/۲۵ با میزان TPC به‌ترتیب برابر ۶/۹۱ و ۷/۱۱، ۷/۸۳، ۸/۶۸ بیش‌ترین تا کم‌ترین تیمار بودند اما بین تیمارهای نایسین ۰/۱۵ و نایسین ۰/۲۵ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲).

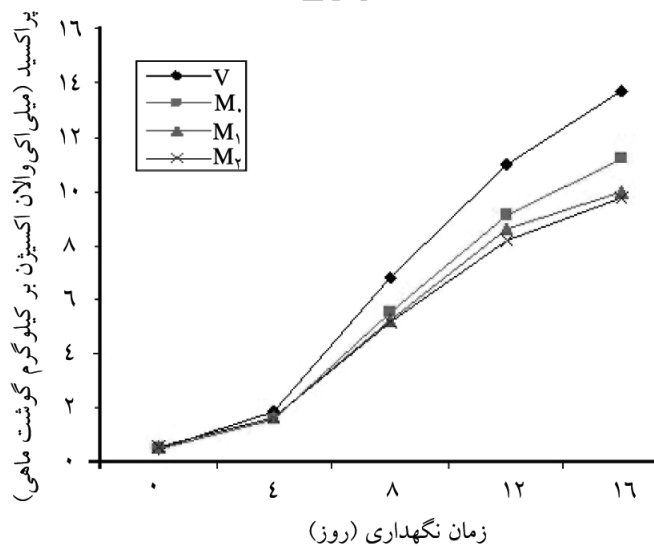
مقدار LAB (شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک) به‌طور معنی‌داری در تمامی روزهای آزمایش افزایش یافت. میزان ابتدایی LAB، بین تیمارهای آزمایشی در زمان صفر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در روز ۱۶، تیمار شاهد و کیوم با میزان LAB برابر (۷/۲۸) بیش‌ترین و تیمار (نایسین ۰/۲۵) با LAB برابر (۵/۲۳) کم‌ترین تیمار بودند و تیمار شاهد MAP با TPC برابر (۶/۶۱) دومین میزان TPC را بعد از شاهد

تیمارهای شاهد (V و M) کاهش معنی داری از نظر آماری نشان دادند (شکل ۶).

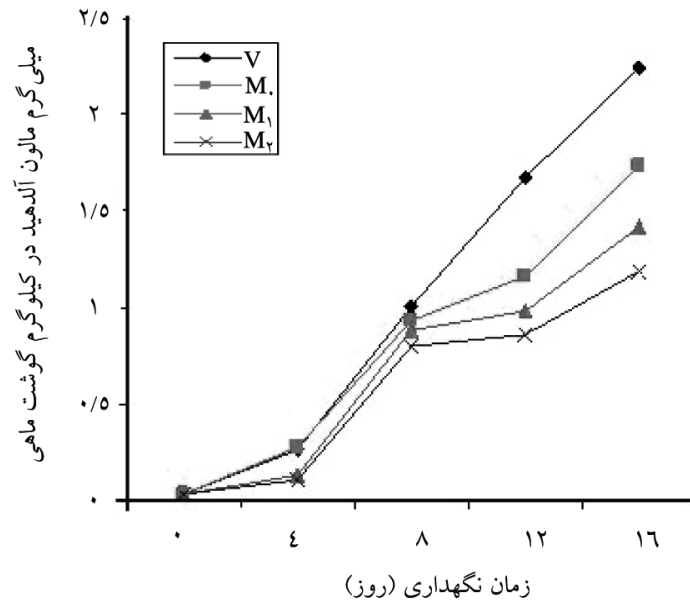
در بررسی مقدار کل بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)، بین دو تیمار نایسین از نظر آماری تفاوت معنی دار وجود نداشت اما هر دو این تیمار نسبت به



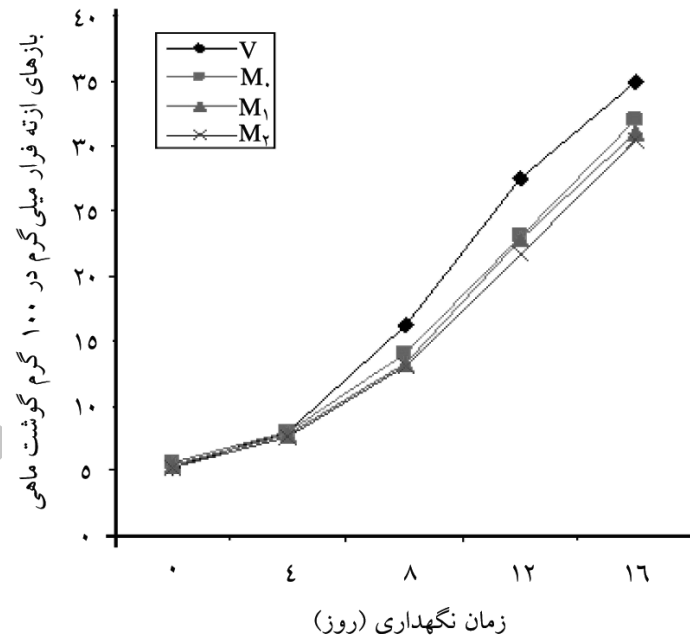
شکل ۳- تغییرات میزان LAB طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد. تیمار V (شاهد بسته بندی در خلاء)، M (شاهد بسته بندی با MAP)، M₁ (نایسین ۰/۱۵ بسته بندی با MAP) و M₂ (نایسین ۰/۲۵ بسته بندی با MAP).



شکل ۴- مقادیر شاخص پراکسید طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد. تیمار V (شاهد بسته بندی در خلاء)، M (شاهد بسته بندی با MAP)، M₁ (نایسین ۰/۱۵ بسته بندی با MAP) و M₂ (نایسین ۰/۲۵ بسته بندی با MAP).



شکل ۵- تغییرات مقدار TBA طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تیمار V (شاهد بسته‌بندی در خلاء)، M (شاهد بسته‌بندی با MAP)، M₁ (نایسین ۰/۱۵ بسته‌بندی با MAP) و M₂ (نایسین ۰/۲۵ بسته‌بندی با MAP).



شکل ۶- مقادیر شاخص TVB-N طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد. تیمار V (شاهد بسته‌بندی در خلاء)، M (شاهد بسته‌بندی با MAP)، M₁ (نایسین ۰/۱۵ بسته‌بندی با MAP) و M₂ (نایسین ۰/۲۵ بسته‌بندی با MAP).

نتایج ارزیابی حسی: بر طبق نتایج به دست آمده در هر سه شاخص بو، رنگ و بافت در تمامی تیمارهای این آزمایش در روز ۱۶ کمترین میزان و در روز صفر بیشترین میزان بود و بین زمانهای مختلف آزمایش در همه تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی دار مشاهده شد. در روز ۱۶ در هر سه شاخص بو، رنگ و بافت تیمار M_2 به طور معنی داری بیشترین امتیاز را کسب کرد و تیمار M_1 کاهش معنی داری نسبت به تیمار M_2 و M_1 از نظر هر سه شاخص نشان داد اما میان تیمارهای M_2 و M_1 از نظر هیچ یک از شاخصها در پایان آزمایشها اختلاف معنی داری مشاهده نشد. همچنین در روز صفر تیمار V به طور معنی داری کمترین تیمار از نظر هر سه شاخص بود.

بحث

میزان TPC اولیه گوشت فیله های ماهی قزل آلی رنگین کمان در این پژوهش در تمامی تیمارها تقریباً برابر $3/83 \pm 0/03$ بود که می تواند نشانه تازگی ماهی

باشد. از روز ۴ تا ۱۶ آزمایشها، همواره تیمار شاهد و کیوم (V) به طور معنی داری بیشترین میزان TPC را در مقایسه با سایر تیمارها و تیمار شاهد MAP داشت که علت این امر را می توان تفاوت در نوع بسته بندی این تیمارها دانست. در بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده، گاز CO_2 سبب کندشدن فعالیت میکروارگانیسمها و در نتیجه سبب کندشدن سرعت رشد و نمو آن می شود (Oguzhan و Angis، ۲۰۱۲؛ Sivertsvik و همکاران، ۲۰۰۲). در پژوهش Hudecová و همکاران (۲۰۱۰) کاهش معنی داری در میزان رشد میکروبی در تیمار MAP با ترکیب گازی (۳۰ درصد CO_2 و ۷۰ درصد N_2) در مقایسه با بسته بندی در شرایط خلاء مشاهده شد ($P < 0/05$). کاهش میزان TPC در تیمارهای در معرض نایسین نشان دهنده اثرات بازدارندگی معنی دار نایسین بر کل باکتری های فیله ماهی می باشد ($P < 0/05$).

جدول ۱- تغییرات امتیاز بو، رنگ و بافت فیله ماهیان قزل آلی طی ۱۶ روز نگهداری در دمای یخچال.

صفات کیفی	زمان نگهداری (روز)	۰	۴	۸	۱۲	۱۶
بو	V	10 ± 0^a	$8/2 \pm 0/83^b$	$5/8 \pm 0/83^c$	$4/8 \pm 0/54^c$	$3/84 \pm 0/54^c$
	M ₁	10 ± 0^a	$8/82 \pm 0/44^ab$	$7/6 \pm 0/54^a$	$6/44 \pm 0/54^ab$	$5 \pm 0/54^ab$
	M ₂	$9/8 \pm 0/44^a$	$9 \pm 0/53^a$	$7/89 \pm 0/32^a$	$6/91 \pm 0/24^a$	$5/34 \pm 0/36^a$
رنگ	V	$9/93 \pm 0/48^a$	$8/2 \pm 0/83^b$	$6/28 \pm 0/54^b$	$5/21 \pm 0/37^b$	$3/6 \pm 0/70^c$
	M ₁	10 ± 0^a	$8/6 \pm 0/54^ab$	$7/6 \pm 0/40^a$	$6/2 \pm 0/13^a$	$5 \pm 0/11^b$
	M ₂	10 ± 0^a	$8/86 \pm 0/13^ab$	$7/48 \pm 0/54^a$	$6/34 \pm 0/43^a$	$5/37 \pm 0/70^ab$
بافت	V	10 ± 0^a	$8/94 \pm 0/24^a$	$7/82 \pm 0/37^a$	$6/78 \pm 0/21^a$	$5/62 \pm 0/40^a$
	M ₁	10 ± 0^a	$8/14 \pm 0/27^a$	$6/48 \pm 0/54^c$	$5 \pm 0/37^c$	$3/93 \pm 0/70^c$
	M ₂	10 ± 0^a	$8/2 \pm 0/83^a$	$7/0 \pm 0/40^b$	$6/21 \pm 0/80^b$	$4/8 \pm 0/26^b$

تذکر: حروف کوچک متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در یک روز بین تیمارهای مختلف می باشد.

۹/۴ در روز ۱۰ رسید. در حالی که در تیمار MAP رشد باکتری‌های سرماگرا کم‌تر و در روز ۱۰ برابر $6.7 \log \text{CFU/g}$ بود. در روز پایانی آزمایش‌ها، تیمار نایسین ۰/۱۵ و ۰/۲۵ به‌طور معنی‌داری PTC کم‌تری از تیمارهای شاهد داشتند. بنابر نظر Shirazinejad و همکاران (۲۰۱۰)، میزان تأثیر نایسین بر رشد میکروبی در محصولات فرآوری شده ماهی احتمالاً به فاکتورهای متعددی مثل غلظت نایسین مورد استفاده، روش استفاده از نایسین، گونه ماهی، نوع محصول، درجه آلودگی میکروبی و وضعیت نگهداری بستگی دارد. در روز ۱۲ آزمایش‌ها، میزان PTC در تیمار شاهد و کیوم از حد $7 \log \text{CFU/g}$ (بیش‌ترین حد پیشنهاد شده برای PTC توسط ICMSF، ۱۹۸۶؛ Rezaee و Hosseini، ۲۰۰۸) گذشت. براساس این شاخص، عمر ماندگاری فیله‌ها در تیمارهای V، M_۱، M_۲ و M_۳ به ترتیب ۱۱، ۱۳، ۱۵ و ۱۶ روز محاسبه شد.

میزان LAB اولیه گوشت فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در این پژوهش کم‌تر از میزان باکتری کل و باکتری‌های سرماگرا بود. صفری و سعیدی‌اصل (۱۳۹۰) تأثیر نایسین A و بنزوات سدیم را بر رفتار لیستریامونوستیوژنز و برخی از پارامترهای میکروبی و شیمیایی در فیله ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) نگهداری شده در دمای ۴ درجه سلسیوس بررسی کردند و گزارش کردند که روند رشد LAB در تیمارهای شاهد و تیمار دارای بنزوات سدیم به‌صورت منفرد سریع‌تر از تیمارهای دارای مواد نگهدارنده ترکیبی و تیمار نایسین به تنهایی بود. مشابه همین نتایج نیز در این پژوهش به‌دست آمد و تیمارهای شامل نایسین به‌طور معنی‌داری میزان LAB کم‌تری از تیمار شاهد داشتند. Castellano و همکاران (۲۰۰۸)، علت این امر را تأثیر باکتریوسایدی^۱ (باکتری‌کش) نایسین بر روی بیش‌تر باکتری‌های گروه

بیش‌ترین حد پیشنهاد شده برای TPC در فیله ماهیان $7 \log \text{CFU/g}$ است (ICMSF، ۱۹۸۶؛ Sallam، ۲۰۰۷). همچنین Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه‌ای که بر روی فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در زمان نگهداری یخچال داشتند، مشاهده کردند که تیمار کنترل در روز ۱۲ به‌میزان TPC برابر $7.88 \log \text{CFU/g}$ رسید و عمر نگهداری تیمار کنترل را در دمای 4 ± 1 درجه سانتی‌گراد، ۹-۱۰ روز تخمین زدند. در روز ۱۲ آزمایش‌ها، میزان TPC در تیمار شاهد و کیوم از حد $7 \log \text{CFU/g}$ گذشت. این نشان می‌دهد که عمر ماندگاری فیله‌ها در تیمار شاهد و کیوم در دمای یخچال از نظر شاخص TPC برابر ۱۲ روز می‌باشد. در روز ۱۶ میزان TPC تیمار شاهد MAP به 7.49 رسید که نشان می‌دهد عمر ماندگاری فیله‌ها در این دو تیمار کم‌تر از ۱۶ روز و بین ۱۵-۱۴ روز می‌باشد. عمر ماندگاری تیمارهای M_۱ و M_۲ براساس میزان TPC به ترتیب ۱۶ و ۱۷ روز محاسبه شد.

باکتری‌های سرمادوست گرم منفی، گروه اصلی میکروارگانیزم‌های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده در دمای یخچال هستند (Gram و Huss، ۱۹۹۶). میزان PTC اولیه گوشت فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در این پژوهش در تمامی تیمارها تقریباً برابر 3.77 ± 0.06 بود که می‌تواند نشانه تازگی ماهی باشد و با نتایج Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) در میزان PTC اولیه فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان همخوانی دارد. از روز ۴ تا ۲۰ آزمایش‌ها همواره تیمار V به‌طور معنی‌داری بیش‌ترین میزان PTC را در مقایسه با سایر تیمارها و تیمار M داشت که علت این امر را می‌توان تفاوت در نوع بسته‌بندی این تیمارها دانست. در پژوهش Hudecová و همکاران (۲۰۱۰)، میزان PTC از $3.6 \log \text{CFU/g}$ (اولیه) در تیمار بسته‌بندی در خلاء به

1- Bactericide

Jassour و همکاران، ۲۰۱۱). از این رو می‌توان عمر ماندگاری فیله‌ها در تیمارهای V، M_۱، M_۲ و M_۳ نظر شاخص PV به ترتیب ۱۱، ۱۳، ۱۶ و ۱۷ روز محاسبه نمود.

به منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون چربی در ماهیان، از شاخص TBA نیز استفاده می‌شود که میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به‌ویژه آلدهیدها (مالون آلدهید) را نشان می‌دهد (Nishimoto و همکاران، ۱۹۸۵). میزان TBA اولیه گوشت فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در این پژوهش در تمامی تیمارها تقریباً برابر 0.037 ± 0.002 بود که با نتایج سایر پژوهش‌گران بر روی میزان TBA اولیه گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تقریباً برابر می‌باشد (Jasour و همکاران، ۲۰۱۱؛ Chytiri و همکاران، ۲۰۰۴؛ ذوالفقاری و همکاران، ۱۳۹۰؛ Ojagh و همکاران، ۲۰۱۰) مانند سایر شاخص‌های میکروبی و شیمیایی اندازه‌گیری شده دیگر در این پژوهش از روز ۴ تا ۱۶ آزمایش‌ها همواره تیمار شاهد و کیوم به‌طور معنی‌داری بیش‌ترین میزان TBA را در مقایسه با سایر تیمارها و تیمار شاهد MAP داشت که علت این امر را می‌توان وجود گاز CO_۲ (۴۵ درصد در این پژوهش) در بسته‌بندی و خواص مهارکننده آن در رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها دانست. گاز دی‌اکسیدکربن به‌علت حلالیت در آب و چربی می‌تواند به درون بسته اصلی میکروارگانیسم‌ها نفوذ کرده و باعث کاهش pH درون بسته گشته و سبب کندشدن فعالیت میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه سبب کندشدن سرعت رشد و نمو آن‌ها گردد، در نتیجه تا حدودی می‌تواند روی میزان تولید پراکسید ناشی از آنزیم‌های باکتریایی تأثیر گذاشته و آن را کاهش دهد (Cakli، ۲۰۰۶). همچنین در این پژوهش، میزان PV در روز ۱۶ در تیمارهای شامل نایسین به‌طور معنی‌داری کم‌تر از تیمارهای شاهد بود علت این امر را می‌توان تأثیر نایسین در کاهش فعالیت باکتری‌های لیپولیتیک که ترشح‌کننده آنزیم لیپاز و مولد فساد و اکسیداسیون چربی می‌باشند، دانست (Faghani و همکاران، ۲۰۱۱). حد قابل قبول پیشنهادی برای میزان پراکسید ۱۰ میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم چربی ماهی می‌باشد (Huss، ۱۹۹۵a؛

لاکتیک دانستند. همچنین تیمار V در روز ۱۶ بیش‌ترین میزان LAB را نسبت به سایر تیمارها داشت و ماندگاری این تیمار در مقایسه با حد قابل قبول LAB ($7 \log \text{CFU/g}$ ، ICMSF، ۱۹۸۶؛ Faghani و همکاران، ۲۰۱۱)، ۱۵ روز محاسبه شد در حالی‌که سایر تیمارها تا روز ۱۶ هیچ‌یک به‌حد غیرقابل مصرف نرسیدند.

اکسیداسیون چربی توسط واکنش‌های متنوع غیرآنزیمی و آنزیمی (آنزیم‌های باکتریایی، بین‌سلولی، هضم‌کننده) کنترل می‌شود که این واکنش‌ها به‌طور اساسی به گونه ماهی و دمای نگهداری بستگی دارد (Huss، ۱۹۹۵a). از روز ۴ تا ۱۶ آزمایش‌ها همواره تیمار شاهد و کیوم به‌طور معنی‌داری بیش‌ترین میزان PV را در مقایسه با سایر تیمارها و تیمار شاهد MAP داشت که علت این امر را می‌توان وجود گاز CO_۲ (۴۵ درصد در این پژوهش) در بسته‌بندی و خواص مهارکننده آن در رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها دانست. گاز دی‌اکسیدکربن به‌علت حلالیت در آب و چربی می‌تواند به درون بسته اصلی میکروارگانیسم‌ها نفوذ کرده و باعث کاهش pH درون بسته گشته و سبب کندشدن فعالیت میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه سبب کندشدن سرعت رشد و نمو آن‌ها گردد، در نتیجه تا حدودی می‌تواند روی میزان تولید پراکسید ناشی از آنزیم‌های باکتریایی تأثیر گذاشته و آن را کاهش دهد (Cakli، ۲۰۰۶). همچنین در این پژوهش، میزان PV در روز ۱۶ در تیمارهای شامل نایسین به‌طور معنی‌داری کم‌تر از تیمارهای شاهد بود علت این امر را می‌توان تأثیر نایسین در کاهش فعالیت باکتری‌های لیپولیتیک که ترشح‌کننده آنزیم لیپاز و مولد فساد و اکسیداسیون چربی می‌باشند، دانست (Faghani و همکاران، ۲۰۱۱). حد قابل قبول پیشنهادی برای میزان پراکسید ۱۰ میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم چربی ماهی می‌باشد (Huss، ۱۹۹۵a؛

به دلیل خاصیت ضدباکتریایی خود بر روی این گروه از باکتری‌ها تأثیر گذاشته و باعث کاهش ظرفیت باکتری‌ها برای دی‌آمینیشن اکسیداتیو ترکیبات نیتروژن غیرپروتئینی (NPN) می‌شود (Ojagh و همکاران، ۲۰۱۰؛ Ruiz-Capillas و Moral، ۲۰۰۵). در مطالعه کنونی، پایین‌تر بودن میزان TVB-N در تیمارهای آغشته به باکتریوسین نسبت به تیمارهای شاهد، این مطلب را تأیید می‌کند. بررسی‌های پروانه (۱۳۷۷) با استفاده از روش پیرسون روی کیفیت ماهی و مقدار تولید TVB-N در دمای زیر صفر نشان داد که اگر مقدار TVB-N کم‌تر از ۱۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه باشد می‌توان آن را تازه دانست و در صورتی که بیش‌تر از ۳۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بود ماهی غیرقابل مصرف خواهد بود (Ojagh و همکاران، ۲۰۱۰). براساس این محدوده زمان ماندگاری تیمارهای V، M₁، M₂ از نظر شاخص TVB-N به ترتیب ۱۳، ۱۴، ۱۵ تا ۱۶ و ۱۶ روز محاسبه شد.

نوعی رابطه نزدیک بین افزایش میزان TVB-N و بوهای تعفن ناشی از فساد وجود دارد. از روز ۴ تا ۱۶ آزمایش‌ها، همواره تیمار شاهد و کیوم به‌طور معنی‌داری کم‌ترین میزان شاخص‌های بو، رنگ و بافت را در مقایسه با سایر تیمارها داشت که علت این امر را می‌توان تفاوت در نوع بسته‌بندی این تیمار با سایر تیمارها دانست. همچنین Manju و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده و تیمار ۲ درصد استات سدیم موجب بهبود شاخص‌های حسی فیله‌های ماهی دانه مرواریدی (*Etroplus suratensis*) افزایش ماندگاری فیله‌ها تا ۱۵ روز در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد شد. همان‌طور که در نتایج تمامی آزمایش‌های شیمیایی و میکروبی این پژوهش مشاهده شد، تیمار V بیش‌ترین میزان رشد میکروبی، فساد اکسیداتیو و TVB-N را نسبت به سایر تیمارها داشته که نتیجه آن افت کیفی فیله‌ها از نظر

در تمامی تیمارها تقریباً برابر $5/30 \pm 0/13$ بود که با چند امتیاز اختلاف به نتایج سایر پژوهش‌گران بر روی میزان TVB-N اولیه گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تقریباً نزدیک می‌باشد (Jasour و همکاران، ۲۰۱۱؛ Chytiri و همکاران، ۲۰۰۴؛ Rezaee و Hosseini، ۲۰۰۷؛ Ojagh و همکاران، ۲۰۱۰). از آن‌جا که TVB-N به‌طور عمده در اثر تجزیه باکتریایی گوشت ماهی ایجاد می‌شود، افزایش بار باکتریایی در طول دوره دلیلی بر افزایش TVB-N خواهد بود. علاوه بر این، افزایش این شاخص هنگام نگهداری در دمای یخچال احتمالاً در نتیجه دامیلاسیون اسیدهای آمینه نیز می‌تواند باشد (Pacheco-Aquilar و همکاران، ۲۰۰۰). مانند نتایج سایر شاخص‌های شیمیایی و میکروبی در این مطالعه، میزان TVB-N تیمار شاهد و کیوم به‌طور معنی‌داری از تیمارهای بسته‌بندی شده با MAP بیش‌تر بود. بنابر نظر Samelis و همکاران (۲۰۰۵) اثر ضد میکروبی CO₂ در بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده به دلیل کاهش pH به کم‌تر از محدوده رشد بسیاری از میکروارگانیسم‌ها است که منجر به توقف رشد بسیاری از آن‌ها می‌شود. اسید ضعیف تولید شده این توانایی را دارد که از غشاء سلولی میکروارگانیسم‌ها عبور کند و فضای داخلی سلول را اسیدی کند. برتری مهم دیگری که استفاده از روش بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده دارد این است که در صورتی که برای افزایش ماندگاری ماده غذایی داخل بسته از مقدار کمی نایسین استفاده شود، CO₂ با نایسین همکاری مثبت داشته و کارایی نایسین را افزایش خواهد داد (Samelis و همکاران، ۲۰۰۵). Shirazinejad و همکاران (۲۰۱۰)، بیان کردند که نایسین فعالیت دیواره سلولی باکتری‌ها را از طریق تشکیل حفرات و اثر بر روی اجزاء زنجیره انتقال الکترونی مختل می‌کند. باکتری‌های پروتئولیتیک سبب افزایش تولید ترکیبات فرار بازی می‌شوند. نایسین

نمودند و این امر نشان‌دهنده تأیید ارزیابی حسی بر نتایج اندازه‌گیری فاکتورهای شیمیایی و میکروبی می‌باشد زیرا در تمامی شاخص‌های شیمیایی و میکروبی تیمارهای شامل نایسین کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند.

شاخص‌های بو، رنگ و بافت در این تیمار نسبت به تیمارهای بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده بوده و در نتیجه کم‌ترین امتیاز را نیز توسط ارزیابان کسب نمودند. همچنین در روز پایانی فیله‌های تیمارهای در معرض نایسین بیش‌ترین امتیاز را در مقایسه با تیمارهای شاهد از نظر شاخص‌های حسی کسب

منابع

- ۱- استاندارد ۲۶۲۹، ۱۳۷۸. روش شمارش میکروارگانیسم‌های سرماگرا و سرمادوست. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
- ۲- پروانه، و.، ۱۳۷۷. کنترل کیفی و آزمایش‌های شیمیایی مواد غذایی، انتشارات تهران، ۳۲۵ ص.
- ۳- ذوالفقاری، م.، شعبانپور، ب.، و فلاح‌زاده، س.، ۱۳۹۰. بررسی روند تغییرات شیمیایی، میکروبی و حسی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان برای تعیین مدت زمان ماندگاری آن در دمای یخچال. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۶۴: ۲. ۱۰۷-۱۱۹.
- ۴- رضوی‌لر، و.، ۱۳۸۹. باکتری‌های بیماری‌زا در غذا. چاپ سوم. انتشارات دانشگاه تهران.
5. Cakli, S., Kilinc, B., Dincer, T., and Tolasa, S., 2006. Comparison of the shelf lives of map and vacuum packaged hot smoked rainbow trout (*Onchoryncus mykiss*). J. Eur Food Res. Technol. 224, 19-26.
6. Castellano, P., Belfiore, C., and Fadda, S., 2008. A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. Meat Science, 79, 483-499.
7. Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaidis, I.N., and Kontominas, M.G., 2004. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. J. Food Microbiol. 21, 157-165.
8. Egan, H., Krik, R.S., and Sawyer, R., 1997. Pearsons Chemical Analysis of Foods. 9, 609-634.
9. Faghani Langroudi, H., Soltani, M., Kamali, K., Ghomi, M.R., Hoseini, S.E., Benjakul, S., and Heshmatipour, Z., 2011. Effect of *Listeria monocytogenes* inoculation, sodium acetate and nisin on microbiological and chemical quality of grass carp *Ctenopharyngodon idella* during refrigeration storage. Afr. J. Biotechnol. 10 (42), 8484-8490.
10. FDA, 1988. Nisin preparation: Affirmation of GRAS status as a direct human food ingredient. In 21 CFR Parts 184, FDA, Ed, pp. 11247-11251.
11. FDA/CFSAN, 2008. Food-borne pathogens: Microorganisms and natural toxins. USA: International Medical Publication.
12. Goulas, A.E., and Kontominas, M.G., 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. Food Chemistry, 100, 287-296.
13. Gram, L., and Huss, H.H., 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. J. Food Microb. 33: 121-137.
14. Hudecová, K., Buchtová, H., and Steinhauserová, I., 2010. The effects of modified atmosphere packaging on the microbiological properties of fresh Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). Acta Vet. BRNO. 79, 93-100.
15. Huss, H.H., 1995. Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper No. 348, Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Rome, Italy.
16. ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods), 1986. Microorganisms in foods. Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications. Buffalo, NY: University of Toronto Press.

17. Jasour, M.S., Rahimabadi, E.Z., Ehsani, A., Rahnama, M., and Arshadi, A., 2011. Effects of refrigerated storage on fillet lipid quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) supplemented by α -Tocopheryl Acetate through diet and direct addition after slaughtering. J. Food Proc. Technol. 2, 124.
18. Jones, R., Hussein, H.M., and Zagorec, M., 2008. Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat Food microbiology, 25, 228-234.
19. Kashiri, H., Haghparast, S., and Shabanpour, B., 2011. Effects of sodium salt solutions (Sodium Acetate, Lactate and Citrate) on physico-chemical and sensory characteristics of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) fillets under refrigerated storage. J. Agric. Technol. 13, 89-98.
20. Lakshmanan, P.T., 2000. Fish spoilage and quality assessment. In: T.S.G. Iyer, M.K. Kandoran, M. Thomas, and P.T. Mathew (Eds.). Quality assurance in seafood processing. P 26-40. Cochin: Society Fisher Techno (India).
21. Lyhs, U., Lahtinen, J., and Schelvis-Smit, R., 2007. Microbiological quality of matjes herring stored in air and under modified atmosphere at 4 and 10 °C. Food Microbiol. 24, 508-516.
22. Manju, S., Srinivasa Gopal, T.K., Ravishankar, C.N., and Jose, L., 2007. Effect of sodium acetate dip treatment and vacuum-packaging on chemical, microbiological, texture and sensory changes of Pearspot (*Etroplus suratensis*) during chill storage. Food Chem. 102 (1), 27-32.
23. Masniyom, P., 2010. Deterioration and shelf-life extension of fish and fishery products by modified atmosphere packaging. J. Sci. Technol. 33 (2), 181-192.
24. Nishimoto, J., Suwetja, I.K., and Miki, H. 1985. Estimation of keeping freshness period and practical storage life of mackerel muscle during storage at low temperatures. Memoirs of the Faculty of Fisheries Kagoshima University, 34 (1), 89-96.
25. Oguzhan, P., and Angis, S., 2012. Effect of salting and packaging treatments on fresh rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during storage at refrigerator temperatures. J. Vet. Fak. Derg. 28, 54-63.
26. Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., and Hosseini, S.M.H., 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry, 120, 193-198.
27. Pacheco-Aquilar, R., Lugo-Sanchez, M.E., and Robles-Burgueno, M.R., 2000. Post mortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0 °C. J. Food Sci. 65 (1), 40-47.
28. Pearson, D., 1997. Laboratory technic in food analysis. Butter Worth. London, UK. pp. 256-270.
29. Rezaei, M., and Hosseini, S.F., 2008. Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. J. Food Sci. 73, 93-96.
30. Ruiz-Capillas, C., and Moral, A., 2005. Sensory and biochemical aspects of quality of whole bigeye tuna (*Thunnus obesus*) during bulk storage in controlled atmospheres. Food Chemistry, 89 (3), 347-354.
31. Sallam, Kh.I., 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of Sodium Acetate, Sodium Lactate and Sodium Citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control, 18 (5), 566-575.
32. Samelis, J., Bedie, G.K., Sofos, J.N., Belk, K.E., Scanga, J.A., and Smith, G.C., 2005. Combinations of Nisin with organic acids or salts to control *Listeria monocytogenes* on sliced Pork Bologna stored at 4 °C in vacuum packages. LWT Food Sci. Technol. 38, 21-28.
33. Shirazinejad, A., Noryati, R., Rosma, A., and Darah, I., 2010. Inhibitory effect of lactic acid and Nisin on bacterial and spoilage of chilled shrimp. World academy of science engineering and technology, 65, 163-167.
34. Siskos, L., Zotos, A., Melidou, S., and Tsikritzi, R., 2007. The effect of liquid smoking of fillets of trout (*Salmo gairdnerii*) on sensory, microbiological and chemical changes during chilled storage. J. Food Chem. 101, 458-464.
35. Sivertsvik, M., Jeksrud, W.K., and Rosnes, J.T., 2002. A review of atmosphere packaging of fish and fishery products: significance of microbial growth, activities and safety. Inter. J. Food Sci. Technol. 37, 107-127.
36. Zar, J.H., 1999. Biostatistical Analysis. Prentice Hall International, Inc. 660p.