Archive of SID

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume 8, Issue 3, Summer 2019
Pages: 145-154
Type: Original Research

Evaluation of the Effects of Edible Coating of Sodium Alginate and Whey Protein Containing Lactic acid Bacteria of *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus plantarum* Separately on Quality and Microbial Indices of Rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss)* Fillet

Alizadeh S.[1] *MSc*, Jafarpour S.A.[*1] *PhD*, Yeganeh S.[1] *PhD*, Safari R.[2] *PhD*

[1] Fisheries Department, Animal Science & Fisheries Faculty, Sari Agricultural Sciences & Natural Resources University, Sari, Iran
[2] Caspian Sea Ecology Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education & Extension Organization, Sari, Iran

Abstract

In the present study, the effect of edible coating of sodium alginate and whey protein in combination with inoclulated cultivation of *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus plantarum* bacteria on Rainbow trout fillets was studied. Accordingly, chemical indicators such as pH, TVB-N, TBA and microbial load (TVC and LAB) at 0, 7, 14, and 21 days were investigated. Results showed that in all samples pH, TVB-N, and TBA increased over time. In terms of microbial parameters, probiotic coating could reduce the number of TVC in coated fillets on day 21 compared to control treatment ($P<0.05$). The control treatment showed the highest amount of TVC (9.68±0.12). However, the TVC level in all treatments at the end of the storage period was higher than the allowable range for human consumption. The number of LAB also increased during the storage period. The lowest amount was observed in control treatment (6.45±0.15) and the coated treatments were significantly more than control ($p<0.05$). According to the study, the highest chemical and microbial changes were observed in control treatment and the lowest changes were related the coated treatments. Overall, using higher percentages of sodium alginate containing probiotic bacteria (treatments 3 and 4) can be recommended for better preservation of the fillet during the refrigerated storage.

Keywords

Edible Coating [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=Edible+Coating];
Probiotic Bacteria [Not in MeSH];
Rainbow trout [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68017686];
Fillet Quality [Not in MeSH]

[*]Corresponding Author
Tel: +98 (11) 33687574
Fax: -
Post Address: Fisheries Department, Animal Science & Fisheries Faculty, Sari Agricultural Sciences & Natural Resources University, Sari, Iran. Postal code: 481816984
a.jafarpour@sanru.ac.ir

Received: January 21, 2019 Accepted: January 30, 2020 ePublished: September 21, 2019

www.SID.ir

Archive of SID

ارزیابی تاثیرات پوشش‌های خوراکی آلژینات‌سدیم و پروتئین آب پنیر حاوی باکتری‌های لاکتیکی *Pediococcus acidilactici* و *Lactobacillus plantarum* به‌صورت مجزا، بر ویژگی‌های کیفی و میکروبی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

سحرناز علیزاده MSc
گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
سیدعلی جعفرپور * PhD
گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
سکینه یگانه PhD
گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
رضا صفری PhD
پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، مازندران، ایران

چکیده
در مطالعه حاضر اثر پوشش خوراکی آلژینات‌سدیم و پروتئین آب پنیر در ترکیب با کشت تلقیحی باکتری‌های *Pediococcus acidilactici* و *Lactobacillus plantarum* بر کیفیت فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد و اثرات آن بر شاخص‌های شیمیایی و میکروبی مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه شاخص‌های شیمیایی (pH، TVB-N و TBA) و شاخص‌های میکروبی (TVC و LAB) در دوره زمانی صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز مورد بررسی قرار گرفتند. طبق نتایج در تمامی نمونه‌ها مقادیر pH، TVB-N و TBA با گذشت زمان افزایش یافت. در رابطه با پارامترهای میکروبی، پوشش پروبیوتیکی توانست تعداد TVC را در فیله‌های دارای پوشش در روز ۲۱ نسبت به تیمار شاهد کاهش دهد ($p<0/05$). تیمار شاهد بیشترین میزان TVC را نشان داد (۰/۱۲±۹/۶۸)، هر چند میزان TVC در تمامی تیمارها در پایان دوره از حد مجاز برای مصرف انسان بیشتر بود. تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک (LAB) نیز در طول دوره نگهداری افزایش یافت. کمترین مقدار آن در تیمار شاهد مشاهده شد (۰/۱۵±۶/۴۵) و تیمارهای دارای پوشش به‌طور معنی‌داری از شاهد بیشتر بودند ($p<0/05$). با توجه به مطالعه انجام‌شده، بیشترین میزان تغییرات شیمیایی و میکروبی مربوط به تیمار شاهد و کمترین میزان تغییرات مربوط به تیمارهای حاوی پوشش پروبیوتیکی بود. به‌طور کلی، استفاده از درصدهای بالاتر آلژینات‌سدیم حاوی باکتری‌های پروبیوتیکی (تیمارهای ۳ و ۴) می‌تواند برای نگهداری بهتر فیله‌ها در طول ذخیره‌سازی در یخچال توصیه شود.

کلیدواژه‌ها: پوشش خوراکی، باکتری‌های پروبیوتیکی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، کیفیت فیله

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۰
*نویسنده مسئول: a.jafarpour@sanru.ac.ir

مقدمه

ماهی طی نگهداری در یخچال به‌علت رشد سریع میکروارگانیزم‌هایی که به‌صورت طبیعی یا در اثر آلودگی در آن به وجود می‌آیند، خیلی زود فاسد می‌شود که می‌تواند گاهی اوقات منجر به مشکلات اقتصادی یا بهداشتی شود[1]. در این میان بعضی از میکروارگانیزم‌های عامل فساد مانند *شیوانلا پوترفاسیینس* و *فوتوباکتریوم فسفریوم* در ماهی باعث تولید ترکیبات نامطلوب مانند تری‌متیل‌آمین از تری‌متیل‌آمین‌اکسید می‌شوند[2]. به همین دلیل برخی از استراتژی‌های اخیر با هدف مهار میکروارگانیزم‌های عامل فساد و بیماری‌زا توسعه یافته‌اند که یکی از این استراتژی‌ها استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی فعال است[1]. فیلم یا پوشش خوراکی، لایه‌ای یکپارچه و نازک از مواد خوراکی است که روی مواد غذایی یا میان آن قرار داده می‌شود و عملکرد آن، ایجاد یک سد در مقابل انتقال مواد (آب، گاز و چربی‌ها)، حفظ و انتقال اجزای مواد غذایی و افزودنی‌ها (رنگ‌ها، طعم‌دهنده‌ها و نظایر آن)، جلوگیری از رشد ریزسازواره‌ها در سطح مواد غذایی و نیز حفاظت مکانیکی آنها و معمولاً از جنس لیپید، پلی‌ساکارید و پروتئین است[3]. در فرآورده‌های گوشتی، کاربرد یک پوشش یا فیلم نه‌تنها به‌عنوان یک حامل ضدمیکروب مفید است، بلکه در جلوگیری از افت رطوبت در طول نگهداری گوشت‌های تازه و منجمد، نگهداری شیره (عصاره) گوشت تازه بسته‌بندی‌شده در سینی‌های پلاستیکی، کاهش نرخ فساد، ایجاد محدودیت در ازدست‌رفتن طعم فرار و جذب بوهای خارجی نیز نقش دارد[4]. شروع واکنش‌های شیمیایی و آنزیمی در طول دوره نگهداری، موجب آغاز افت در تازگی غذاهای دریایی و کاهش کیفیت آنها می‌شود. در حالی که فساد میکروبی منجر به پایان دوره ماندگاری می‌شود. از این رو هدف اصلی استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی در غذاهای دریایی، جلوگیری از آلودگی یا فلور فساد است[5]. در بسیاری از موارد، هدف بازداری *لیستریا مونوسیتوژنز* است که خطر اصلی رشد را در سالمون دودی سرد تازه ایجاد می‌کند. هدف مهم دیگر، جلوگیری از فساد اکسیداتیو در مورد نمونه‌های چرب از طریق استفاده از عوامل آنتی‌اکسیدان و همچنین جلوگیری از هدررفتن رطوبت است[6]. شرایط فرآوری غذا نظیر حرارت، استرس‌های مکانیکی و اسمزی می‌تواند منجر به کاهش قابل توجه زندمانی زیست‌یارها در مواد غذایی شود. اخیراً، افزودن سویه‌های پروبیوتیکی یا زیست‌یارها به فیلم‌های خوراکی به‌عنوان یک فناوری نوظهور برای حمل سلول‌های زیست‌یار مطرح شده‌اند[7]. باکتری‌های اسیدلاکتیک گروه هتروژنی از باکتری‌های گرم مثبت هستند که در تولید ترکیبات طعم‌دار و توسعه طعم نقش اساسی دارند و با تولید مواد ضدمیکروبی، باعث افزایش زمان ماندگاری و به تاخیرانداختن فساد می‌شوند. تولید فرآورده‌های پروبیوتیک بدون شک یکی از مهم‌ترین کاربردهای باکتری‌های اسیدلاکتیک است[8]. باکتری‌های پروبیوتیک از طریق

www.SID.ir

Archive of SID

رشد و فعالیت خود مانع رشد و تکثیر باکتری‌های مضر روده می‌شوند و علاوه بر آن با سنتز برخی مواد ضروری برای بدن مانند ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه و غیره نقش مهمی در حفظ سلامتی فرد ایفا می‌کنند[9]. آلژینات‌سدیم صمغی است که از دیواره سلولی نوعی جلبک قهوه‌ای به نام فائوفیسه به دست می‌آید[10]. پوشش‌های آلژیناتی می‌توانند ترکیبات غذایی را از فسادهای اکسیداتیو و تندشدن محافظت کنند. همچنین قابلیت تشکیل ژل، افزایش استحکام بافت‌ها، پایدارکنندگی و قابلیت تشکیل فیلم و خاصیت‌های ضدباکتریایی و ضدآنتی‌اکسیدانی از ویژگی‌های کاربردی آلژینات هستند[11]. پروتئین سرمی یا محلول آب‌پنیر، ۲۵% کل شیر را تشکیل می‌دهد. این پروتئین با رسوب‌دادن کازئین در pH برابر ۴/۶ محلول باقی می‌ماند[12]. فیلم و پوشش پروتئین‌های آب پنیر به‌عنوان کاهش‌دهنده چسبندگی سطحی (برای مثال در کشمش)، حامل آنتی‌اکسیدان‌ها (برای مثال در ماهی منجمد)، مانع خوب برای اکسیژن و عامل جلوگیری‌کننده از اکسایش لیپیدها به کار برده شده‌اند[13].

امروزه با توجه به آگاهی و تمایل روزافزون مصرف‌کنندگان به خرید محصولات سالم‌تر و مفیدتر، توسعه فرآورده‌های پروبیوتیکی در صنعت از اهمیت زیادی برخوردار است. با مطالعات بیشتر در خصوص شناسایی سویه‌های بومی پروبیوتیک‌ها، پتانسیل‌های آنها و ایجاد بستری مناسب در زمینه تولید فرآورده‌های مختلف تخمیری و غیرتخمیری، می‌توان از آنها به‌عنوان یک عامل موثر در حل چالش‌های پیش روی صنعت غذا با چشم‌انداز امنیت غذایی استفاده کرد و گام‌های بلندتری را در جهت تولید محصولات فراسودمند جدیدتر برداشت. در مطالعه *عبدالله‌زاده* و همکاران[7] اثرات سلول‌های پروبیوتیکی بر خصوصیات مکانیکی و ضدباکتریایی فیلم سدیم‌کازئینات بررسی شد. آنها تنها ویژگی‌های فیزیکی فیلم را مورد بررسی قرار دادند. بنابراین نیاز به انجام مطالعه دیگری بود تا کاربرد عملی پوشش را بررسی کند. هدف از مطالعه حاضر، ترکیب پوشش با باکتری‌های پروبیوتیکی و بررسی اثر آنها بر فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌عنوان یک منبع غذایی مفید و بهبود ایمنی غذا، تحققی در راستای همین امر یعنی تولید محصولات فراسودمند جدیدتر است.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی فیله ماهی

ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۳۵۰گرم به‌صورت کاملاً تازه از مزرعه پرورشی در شهرستان آمل خریداری و با استفاده از جعبه‌های حاوی یخ در حداقل زمان ممکن به پایلوت فرآوری گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل شدند. در ادامه ماهیان با آب سرد شست‌وشو داده شدند و سر و دم‌زنی و تخلیه امعا و احشا انجام گرفت و به فیله‌های ۵±۵۰گرمی تبدیل شدند.

تهیه محلول باکتری

باکتری‌های *پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به‌صورت پودر لیوفیلیزه از مرکز پژوهش‌های علمی صنعتی (کلکسیون باکتری و قارچ) تهیه شدند و مقداری از پودر در شرایط استریل به محیط کشت مایع اضافه شد و در انکوباتور شیکردار قرار گرفت تا طی ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۵°C به رشد لگاریتمی برسند. سپس نمونه‌ها در دور ۵۰۰۰g در ۴°C و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و سه مرتبه با محلول رینگر شست‌وشو و سپس مجدداً سانتریفیوژ شدند. همچنین نمونه‌ها به مدت ۲ تا ۳ دقیقه در ورتکس قرار گرفتند. تعداد اولیه باکتری‌ها با استفاده از روش کدورت‌سنجی میزان جذب نور (OD) در طول موج ۶۰۰نانومتر توسط دستگاه بیوفتومتر اندازه‌گیری شد[14]. پس از تهیه سوسپانسیون و احتساب مقدار ماهی مورد استفاده، مقدار مورد نظر تلقیح که 10^5 CFU/g log بود، تعیین شد.

تهیه محلول پوششی

برای تهیه محلول پوششی از آلژینات‌سدیم تجاری Sigma A 2033 (سیگما؛ آلمان) و پودر آب پنیر (DMV؛ هلند) استفاده شد. براساس جدول ۱، برای تیمار یک و دو، ۱گرم آلژینات و ۴گرم پودر آب پنیر و برای تیمار سه و چهار، ۲گرم آلژینات و ۴گرم پودر آب پنیر به‌طور دقیق روی ترازوی دیجیتالی وزن و هر کدام جداگانه در ۲۰۰میلی‌لیتر آب مقطر حل شدند و به‌منظور انحلال کامل به مدت ۵ دقیقه روی هیتر با دمای ۵۰°C قرار گرفتند. بعد از خنک‌شدن محلول آلژینات و آب پنیر، محلول باکتری به‌آرامی به آنها اضافه شد و به‌منظور اختلاط کامل کمی هم زده شدند[15].

جدول ۱) تیمارهای مورد استفاده

تیمار	آلژینات (درصد)	آب پنیر (درصد)	نوع باکتری
شاهد	-	-	-
۱	۰/۵	۲	*Pediococcus acidilactici*
۲	۰/۵	۲	*Lactobacillus plantarum*
۳	۱	۲	*Pediococcus acidilactici*
۴	۱	۲	*Lactobacillus plantarum*

پوشش‌دهی فیله‌ها

به‌منظور ایجاد پوشش، فیله‌ها به مدت یک دقیقه در محلول‌های تهیه‌شده غوطه‌ور و سپس از محلول خارج شدند. همچنین پس از اتمام آب چک شدند و برای خشک‌کردن پوشش روی سطح فیله‌ها از سشوار با درجه حرارت مناسب (۳۰°C) و با رعایت فاصله از سطح فیله‌ها استفاده شد. این کار تا سه بار انجام شد. در ادامه نمونه‌ها در زیپ پک بسته‌بندی و در یخچال در دمای ۴±۱°C به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند و در روزهای صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ مورد آنالیز شیمیایی و میکروبی قرار گرفتند[16].

آنالیزهای شیمیایی

اندازه‌گیری pH

هموژن‌کردن ۵گرم نمونه ماهی در ۴۵میلی‌لیتر آب مقطر با دستگاه

www.SID.ir

Archive of SID

هموژن‌کننده (Model T25 Digital Ultra- Turrax, IKA) در ۳۰۰۰دور بر دقیقه به مدت ۳۰ ثانیه انجام و سپس pH به وسیله pHمتر دیجیتال اندازه‌گیری شد[17].

سنجش مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

مقدار مشخصی از نمونه هموژن‌شده در داخل بالن ویژه کجلدال قرار داده، مقدار ۲گرم پودر اکسیدمنیزم و ۳۰۰سانتی‌متر مکعب آب مقطر و یک عدد پرل شیشه‌ای به آن اضافه و سپس منضمات دستگاه تقطیر به بالن متصل و شیر آب سرد باز شد. در ظرف گیرنده مقدار ۵ تا ۱۰سانتی‌متر مکعب اسیدبوریک ۲% همراه با چند قطره معرف ریخته و زیر مبرد قرار داده شد، به‌طوری که انتهای مبرد در محلول قرار گیرد. به بالن حرارت داده شد و از هنگام جوشیدن و شروع تقطیر به مدت ۲۵ دقیقه تقطیر ادامه یافت، به‌نحوی که حجم تقطیر تقریباً به ۱۵۰سانتی‌متر مکعب رسید. حاصل تقطیر توسط محلول اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال تا ایجاد رنگ قرمز تیتر شد. برای محاسبه مواد ازته فرار (TVB-N) بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰گرم گوشت ماهی از معادله زیر استفاده شد[18]:

$$\text{TVB-N}=\frac{\text{مقدار مصرفی اسید}\times\text{نرمالیته اسید}\times 14}{\text{وزن نمونه}}$$

سنجش تیوباربیتوریک‌اسید (TBA)

۱۰گرم نمونه توزین و با ۵۰میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. مخلوط حاصل با ۴۷/۵میلی‌لیتر آب مقطر به ارلن‌های تقطیر انتقال داده شد. ۲/۵میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۴ نرمال به همراه مواد ضدکف و ضدجوش به مخلوط اضافه و ارلن مایر به دستگاه تقطیر وصل شد. مخلوط حرارت داده و ۵۰میلی‌لیتر ماده تقطیرشده پس از زمان جوش از آن جمع‌آوری شد. ۵میلی‌لیتر ماده تقطیرشده و ۵میلی‌لیتر معرف TBA به لوله‌های دردار منتقل و پس از تکان‌دادن کامل به مدت ۳۵ دقیقه در آب جوش قرار داده شدند. همزمان تمامی این مراحل برای شاهد نیز تکرار شد. بعد از اینکه نمونه‌ها ۳۵ دقیقه در حرارت جوش قرار داشتند به مدت ۱۰ دقیقه سرد شدند و جذب آنها در مقابل دستگاه بیوفتومتر در مقابل شاهد در طول موج ۵۳۸نانومتر خوانده شد[19].

سنجش TBA از طریق معادله زیر انجام می‌شود:

TBA= (میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در کیلوگرم) ۷/۸×دانسیته نوری

آنالیزهای میکروبی

اندازه‌گیری باکتری‌های کل (TVC) و باکتری‌های اسیدلاکتیک (LAB)

۵گرم از نمونه هموژن‌شده فیله ماهی در محلول رینگر رقیق و سپس یک‌دهم از محلول با رقت‌های مختلف روی محیط کشت مخصوص به‌صورت سطحی کشت داده شد و به شرح زیر تحت انکوباسیون قرار گرفت:

باکتری‌های هوازی کل روی محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA) در دمای ۳۵°C به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند و باکتری‌های اسیدلاکتیک روی محیط کشت MRS آگار (de-Man Rogosa Sharpe Agar) به‌طور غیرهوازی در دمای ۳۰°C به مدت ۴۸ ساعت تحت انکوباسیون قرار گرفتند. برای شمارش کلی باکتری‌های رشدکرده در محیط کشت، تعداد کلنی‌های موجود در پلیت مورد شمارش قرار گرفت و عدد به‌دست‌آمده در عکس رقت ضرب شد و داده‌ها براساس لگاریتم طبیعی تعداد کلنی‌های شمارش‌شده (log CFU/g) بیان شدند[20].

آنالیز آماری

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 24 انجام شد. طرح آماری مورد استفاده طرحی کاملاً تصادفی در قالب آزمایش فاکتوریل با سه فاکتور نوع باکتری، نوع پوشش و زمان نگهداری در سطوح مختلف بود. ابتدا نرمال‌بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف- اسمیرنوف بررسی شد و در ادامه آزمون آماری آنالیز واریانس دوطرفه برای بررسی تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها و آزمون دانکن در سطح اعتماد ۵% به‌منظور وجود و یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها مورد استفاده قرار گرفت. تمام آنالیزها با سه تکرار انجام شدند.

یافته‌ها

pH

تغییرات مقادیر pH در تیمارها در مدت نگهداری در یخچال، در جدول ۲ آورده شده است. براساس نتایج مشاهده شد که در تمام تیمارها در زمان نگهداری pH افزایش یافت ($p<0/05$). در اولین روز نگهداری (روز صفر)، بیشترین میزان pH مربوط به تیمار شاهد (۶/۵۲±۰/۰۲) بود و سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری از شاهد کمتر بودند ($p<0/05$). در هفتمین روز نگهداری، تیمار شاهد مقدار بیشتری (۶/۳۴±۰/۰۱) را نسبت به تیمارهای ۱، ۲ و ۳ نشان داد ($p<0/05$)، در حالی که با تیمار ۴ تقریباً در یک سطح (۶/۳۰±۰/۰۱) قرار داشت ($p>0/05$). در روز ۱۴، شاهد pH بالاتری نسبت به تیمارهای دارای پوشش پروبیوتیکی داشت ($p<0/05$). تیمار ۳ نیز نسبت به تیمار ۱ دارای pH پایین‌تری بود ($p<0/05$)، در حالی که با تیمارهای ۲ و ۴ تقریباً در یک سطح حضور داشت ($p>0/05$). در انتهای دوره نگهداری (روز ۲۱)، بیشترین میزان pH مربوط به تیمار شاهد (۶/۹۳±۰/۰۲) و کمترین مقدار متعلق به تیمارهای ۳ و ۴ بود ($p<0/05$) که به ترتیب ۶/۷۸±۰/۰۱ و ۶/۷۹±۰/۰۲ اندازه‌گیری شدند. علاوه بر آن بین تیمارهای ۱ و ۲ و همچنین بین این تیمارها با تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌دار مشاهده شد (جدول ۲؛ $p<0/05$).

مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

تغییرات مقادیر مجموع بازهای نیتروژنی فرار (میلی‌گرم نیتروژن در هر ۱۰۰گرم گوشت ماهی) در مدت زمان نگهداری در یخچال، در جدول ۳ نشان داده شده است. با توجه به جدول، مقدار TVB-N با گذشت زمان در تمامی تیمارها افزایش یافت ($p<0/05$). در روز صفر، تیمار شاهد بالاترین مقدار TVB-N (۱۱/۲۲±۰/۶۵) را نسبت به

www.SID.ir

Archive of SID

تیمارهای ۳ (۱۰/۵±۰/۰۲) و ۴ (۱۰/۵±۰/۰۶) داشت (p<۰/۰۵)، در حالی که با تیمارهای ۱ و ۲ تقریباً هم‌سطح بود (p>۰/۰۵). در روز ۲۱، شاهد بیشترین میزان مجموع بازهای نیتروژنی فرار (۸۲/۰۳±۰/۳۸) را در مقایسه با تیمارهای دیگر نشان داد (p<۰/۰۵)، در حالی که تیمارهای ۳ و ۴ کمترین مقدار را داشتند (p<۰/۰۵) که به ترتیب ۶۴/۷۶±۳/۷۴ و ۶۴/۴۳±۱/۴۸ اندازه‌گیری شدند. بین تیمار ۱ و ۲ در پایان دوره تفاوتی وجود نداشت (p>۰/۰۵). هفتمین روز نگهداری هم دقیقاً مشابه روز ۲۱ بوده است. در روز چهاردهم بین تیمارهای مختلف حاوی پوشش پروبیوتیکی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (p>۰/۰۵)، در حالی که با تیمار شاهد دارای اختلاف بودند (p<۰/۰۵) و تیمار شاهد مقدار TVB-N بیشتری نسبت به تیمارهای دیگر داشت. اگرچه با افزایش دوره نگهداری، مقدار TVB-N در همه نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p<۰/۰۵)، اما نمونه شاهد بیشترین میزان افزایش و تیمار ۳ و ۴ کمترین میزان را طی ۲۱ روز نگهداری داشت.

تیوباربیتوریک‌اسید (TBA)

تغییرات مقادیر TBA در تیمارها در مدت نگهداری در یخچال در جدول ۴ نشان داده شده است. براساس نتایج مشاهده شده است که مقدار TBA طی ۲۱ روز نگهداری، به‌طور معنی‌داری در همه تیمارها افزایش یافت (p<۰/۰۵). در روز بیست‌ویکم مقدار TBA در تیمار شاهد به بالاترین میزان (۶/۳۸±۰/۰۹) و در تیمار ۳ به پایین‌ترین میزان (۴/۵۸±۰/۰۴) در میان نمونه‌ها رسید (p<۰/۰۵). در روز صفر، بین تیمارهای مختلف حاوی پوشش پروبیوتیکی تفاوتی مشاهده نشد (p>۰/۰۵)، اما به‌طور معنی‌داری از تیمار شاهد کمتر بودند (p<۰/۰۵). در روز هفتم، تیمارهای ۳ و ۴ TBA کمتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشتند (p<۰/۰۵)، در حالی که شاهد مقدار بالاتری را نسبت به تیمارهای دیگر (به جز تیمار ۱) نشان داد (p<۰/۰۵). در روز چهاردهم، بالاترین سطح TBA مربوط به تیمار شاهد (۴/۸۹±۰/۰۲) و پایین‌ترین سطح مربوط به تیمار ۳ (۳/۷۲±۰/۰۴) بوده است (p<۰/۰۵). تیمار ۴ بعد از تیمار ۳ در سطح پایین‌تری (۳/۷۹ ± ۰/۰۲) نسبت به نمونه‌های دیگر قرار داشت (p<۰/۰۵). همچنین بین تیمار ۱ و ۲ تفاوتی مشاهده نشد (p>۰/۰۵). در روز بیست‌ویکم، بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار وجود داشت.

شمارش کلی باکتری‌های قابل رویت (TVC)

تغییرات تعداد کل باکتری‌های قابل رویت در تیمارها در مدت نگهداری در یخچال در جدول ۵ آورده شده است. براساس یافته‌ها در طول دوره نگهداری میزان TVC در تمامی تیمارها روندی افزایشی داشته (p<۰/۰۵) که میزان این افزایش برای تیمار شاهد نسبت به تیمارهای دیگر مشهودتر بوده است (p<۰/۰۵). ابتدای دوره نگهداری، بیشترین میزان TVC مربوط به تیمار ۲ (۴/۲۵±۰/۰۶) بوده است و تیمارهای دیگر به‌صورت معنی‌داری از تیمار ۲ کمتر بودند (p<۰/۰۵). میزان این شاخص در شاهد نیز نسبت به سایر تیمارها متفاوت بود (p<۰/۰۵). در روز هفتم، تیمار ۲ و ۴، TVC کمتری نسبت به شاهد و تیمار ۱ داشتند (p<۰/۰۵)، در حالی که با تیمار ۳ تقریباً در یک سطح بوده‌اند (p>۰/۰۵). تیمار شاهد نیز بالاترین سطح باکتری‌های کل قابل رویت (۶/۸۸ ± ۰/۴۸) را داشت (p<۰/۰۵). در روز ۱۴، کمترین سطح TVC متعلق به تیمارهای ۲ و ۴ بوده است که به ترتیب ۶/۲±۰/۰۴ و ۶/۲±۰/۰۲ اندازه‌گیری شدند و دارای مقداری یکسان بوده‌اند و بیشترین مقدار (۸/۶۹±۰/۰۴) در تیمار شاهد مشاهده شد (p<۰/۰۵). در روز ۲۱، تیمار ۲ کمترین میزان باکتری‌های کل قابل رویت را نسبت به تیمارهای دیگر (به جز تیمار ۴ که با هم فاقد تفاوت معنی‌دار بودند) داشت (p<۰/۰۵) که ۷/۱۳±۰/۰۳ اندازه‌گیری شد و بالاترین سطح هم مربوط به تیمار شاهد و برابر ۹/۶۸±۰/۱۲ بود (p<۰/۰۵).

باکتری‌های اسیدلاکتیک (LAB)

تغییرات تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در تیمارها در مدت نگهداری در یخچال در جدول ۶ نشان داده شده است. ابتدای دوره نگهداری کمترین میزان LAB مربوط به تیمار شاهد بود که ۲/۱۶±۰/۰۷ اندازه‌گیری شد (p<۰/۰۵) و سایر نمونه‌ها به‌صورت معنی‌داری از شاهد بیشتر بودند. میزان LAB در طول دوره نگهداری در تمامی تیمارها روندی افزایشی داشته است (p<۰/۰۵) و در تمامی زمان‌های نگهداری، تیمار شاهد با سایر تیمارها تفاوت داشت و کمترین میزان را نشان داد (p<۰/۰۵). در زمان صفر و بیست‌ویکم، بین تیمارهای دارای پوشش پروبیوتیکی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵). در روز هفتم، بیشترین میزان LAB مربوط به تیمارهای ۲ و ۴ بود که به ترتیب ۶/۲۸±۰/۰۹ و ۶/۳۶±۰/۰۴ اندازه‌گیری شدند و با تیمارهای دیگر دارای اختلاف بودند (p<۰/۰۵). در روز چهاردهم، بین تمامی تیمارها تفاوت معنی‌دار مشاهده شد (p<۰/۰۵) و تیمار ۴ بالاترین سطح LAB (۶/۷۹±۰/۰۲) و شاهد پایین‌ترین سطح (۵/۲۲±۰/۰۷) را داشت. در روز ۲۱ میزان LAB در تیمار شاهد ۶/۴۵±۰/۱۵ اندازه‌گیری شد و تیمارهای دیگر دارای سطح بیشتری نسبت به شاهد بودند (p<۰/۰۵).

جدول ۲) میانگین آماری اثر زمان و تیمارهای مختلف بر pH فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان حاوی پوشش پروبیوتیکی نگهداری‌شده در دمای یخچال (۴±۱°C)

زمان نگهداری (روز)	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
صفر	۶/۵۲±۰/۰۲^{Ac*}	۵/۹۹±۰/۱۸^{Bd}	۵/۸۵±۰/۱۶^{BCd}	۵/۷۴±۰/۰۷^{Cd}	۵/۸۵±۰/۰۲^{BCd}
۷	۶/۳۴±۰/۰۱^{Ad}	۶/۲۹±۰/۰۲^{Bc}	۶/۲۹±۰/۰۶^{Bc}	۶/۲۷±۰/۰۱^{Bc}	۶/۳±۰/۰۱^{ABc}
۱۴	۶/۶۳±۰/۰۳^{Ab}	۶/۵±۰/۰۳^{Bb}	۶/۴۷ ±۰/۰۴^{BCb}	۶/۴۴±۰/۰۲^{Cb}	۶/۴۷±۰/۰۳^{BCb}
۲۱	۶/۹۳±۰/۰۲^{Aa}	۶/۸۷±۰/۰۲^{Ba}	۶/۸۳±۰/۰۲^{Ca}	۶/۷۸±۰/۰۱^{Da}	۶/۷۹±۰/۰۲^{Da}

* حروف بزرگ و کوچک متفاوت به ترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در هر ردیف و ستون هستند (n=۳؛ p<۰/۰۵)؛ لازمه تیمارهای مختلف، نوع باکتری و درصد آلژینات‌سدیم است که متغیر است، در حالی که درصد پروتئین آب پنیر در تمامی تیمارها ثابت و ۲% در نظر گرفته شد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳) میانگین آماری اثر زمان و تیمارهای مختلف بر TVB-N (میلی‌گرم در ۱۰۰گرم گوشت ماهی) فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان حاوی پوشش پروبیوتیکی نگهداری‌شده در دمای یخچال (۴±۱°C)

زمان نگهداری (روز)	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
صفر	۱۱/۲۲±۰/۶۵^{Ad*}	۱۱/۰۱±۰/۴۹^{ABd}	۱۰/۸۲±۰/۴۴^{ABd}	۱۰/۵±۰/۰۲^{Bd}	۱۰/۵±۰/۰۶^{Bd}
۷	۳۱/۹۴±۰/۵۵^{Ac}	۲۶/۷۴±۱/۲۲^{Bc}	۲۷/۱۸±۰/۴۱^{Bc}	۲۴/۱۷±۰/۹۶^{Cc}	۲۴/۲۴±۱/۲۵^{Cc}
۱۴	۵۸/۵۴±۲/۵۲^{Ab}	۴۵/۷۸±۰/۱۳^{Bb}	۴۵/۷±۳/۵^{Bb}	۴۲/۹۸±۰/۸۳^{Bb}	۴۳/۲±۱/۳۸^{Bb}
۲۱	۸۲/۰۳±۰/۳۸^{Aa}	۷۳/۹۱±۲/۰۸^{Ba}	۷۴/۲۲±۱/۴۹^{Ba}	۶۴/۷۶±۳/۷۴^{Ca}	۶۴/۴۳±۱/۴۸^{Ca}

* حروف بزرگ و کوچک متفاوت به ترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در هر ردیف و ستون هستند (n=۳؛ p<۰/۰۵)؛ لازمه تیمارهای مختلف، نوع باکتری و درصد آلژینات‌سدیم است که در تیمارهای مختلف متغیر است، در حالی که درصد پروتئین آب پنیر در تمامی تیمارها ثابت و ۲% در نظر گرفته شد.

جدول ۴) میانگین آماری اثر زمان و تیمارهای مختلف بر TBA (میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در هر کیلوگرم گوشت ماهی) فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان حاوی پوشش پروبیوتیکی نگهداری‌شده در دمای یخچال (۴±۱°C)

زمان نگهداری (روز)	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
صفر	۰/۵۸±۰/۰۳^{Ad*}	۰/۵۳±۰/۰۴^{Bd}	۰/۵۱±۰/۰۲^{Bd}	۰/۵۲±۰/۰۵^{Bd}	۰/۵۲±۰/۰۱^{Bd}
۷	۲/۵۱±۰/۰۵^{Ac}	۲/۳۸±۰/۰۹^{ABc}	۲/۳۱±۰/۰۷^{Bc}	۲±۰/۱۵^{Cc}	۲/۰۳±۰/۱۱^{Cc}
۱۴	۴/۸۹±۰/۰۲^{Ab}	۴/۲۸±۰/۰۴^{Bb}	۴/۳۱±۰/۰۷^{Bb}	۳/۷۲±۰/۰۴^{Db}	۳/۷۹±۰/۰۲^{Cb}
۲۱	۶/۳۸±۰/۰۹^{Aa}	۵/۳۷±۰/۰۴^{Ca}	۵/۵۲±۰/۰۲^{Ba}	۴/۵۸±۰/۰۴^{Ea}	۴/۷۱±۰/۰۲^{Da}

* حروف بزرگ و کوچک متفاوت به ترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در هر ردیف و ستون هستند (n=۳؛ p<۰/۰۵).

جدول ۵) میانگین آماری اثر زمان و تیمارهای مختلف بر شمارش کلی باکتری‌های قابل رویت (log CFU/g) فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان حاوی پوشش پروبیوتیکی نگهداری‌شده در دمای یخچال (۴±۱°C)

زمان نگهداری (روز)	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
صفر	۴/۲±۰/۰۴^{Bd*}	۴/۰۸±۰/۰۳^{Dd}	۴/۲۵±۰/۰۶^{Ad}	۴/۱۴±۰/۰۰۷^{Cd}	۴/۱۳±۰/۰۲^{CDd}
۷	۶/۸۸±۰/۴۸^{Ac}	۵/۵۸±۰/۰۹^{Bc}	۵/۲۲±۰/۰۷^{Cc}	۵/۴۲±۰/۰۸^{BCc}	۵/۲۷±۰/۰۸^{Cc}
۱۴	۸/۶۹±۰/۰۴^{Ab}	۶/۴۲±۰/۱۲^{Bb}	۶/۲±۰/۰۴^{Cb}	۶/۳۹±۰/۰۵^{Bb}	۶/۲±۰/۰۲^{Cb}
۲۱	۹/۶۸±۰/۱۲^{Aa}	۷/۲۹±۰/۰۸^{Ba}	۷/۱۳±۰/۰۳^{Ca}	۷/۲۵±۰/۰۶^{Ba}	۷/۲±۰/۰۷^{BCa}

* حروف بزرگ و کوچک متفاوت به ترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در هر ردیف و ستون هستند (n=۳؛ p<۰/۰۵).

جدول ۶) میانگین آماری اثر زمان و تیمارهای مختلف بر تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک (log Cfu/g) فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان حاوی پوشش پروبیوتیکی نگهداری شده در دمای یخچال (۴±۱°C)

زمان نگهداری (روز)	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
صفر	۲/۱۶±۰/۰۷^{Bd*}	۵/۲۴±۰/۱^{Ad}	۵/۲۶±۰/۰۴^{Ac}	۵/۱۷±۰/۰۴ ^{Ac}	۵/۱۸±۰/۰۹ ^{Ac}
۷	۳/۴۸±۰/۰۹^{Cc}	۵/۸۹±۰/۳۱^{Bc}	۶/۲۸±۰/۰۹^{Ab}	۵/۷۹±۰/۱^{Bb}	۶/۳۶±۰/۰۴^{Ab}
۱۴	۵/۲۲±۰/۰۷^{Eb}	۶/۴۸±۰/۰۲^{Db}	۶/۷۱±۰/۰۴^{Ba}	۶/۵۷±۰/۰۹^{Ca}	۶/۷۹±۰/۰۲^{Aa}
۲۱	۶/۴۵±۰/۱۵^{Ba}	۶/۷۶±۰/۱۵^{Aa}	۶/۷۹±۰/۰۸^{Aa}	۶/۶۷±۰/۰۹^{Aa}	۶/۷۸±۰/۰۴^{Aa}

* حروف بزرگ و کوچک متفاوت به ترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در هر ردیف و ستون هستند (n=۳؛ p<۰/۰۵).

بحث

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داده است که در همه نمونه‌ها مقادیر شاخص‌های شیمیایی و میکروبی در حال افزایش هستند و این افزایش در تیمار شاهد مشهودتر است. ترکیب پوشش خوراکی آلژینات‌سدیم و آب پنیر با باکتری‌های پروبیوتیکی *Pediococcus acidilactici* و *Lactobacillus plantarum* توانستند pH فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگهداری‌شده در دمای یخچال را به مدت ۲۱ روز در حد مجاز استاندارد برای مصرف انسان حفظ کنند. حد مجاز استاندارد pH در ماهی و فرآورده‌های شیلاتی ۷/۵-۶/۵ است و به عوامل مختلفی مانند فصل صید، نوع گونه و غیره بستگی دارد[21]. افزایش pH اثر قابل ملاحظه‌ای بر کیفیت محصول خصوصاً بر ویژگی‌های حسی نظیر طعم، بو، رنگ و بافت طی دوره نگهداری دارد و می‌تواند مقبولیت محصول را کاهش دهد[22]. مطالعه حاضر با نتایج *لوپز دلیسی* و همکاران در ارتباط با افزایش شاخص pH با گذشت زمان در تیمارهای حاوی پوشش پروبیوتیکی مطابقت دارد، ولی در مطالعه حاضر pH در انتهای دوره نگهداری با وجود افزایش‌یافتن، از حد مجاز استاندارد خارج نشد، در حالی که در مطالعه *لوپز دلیسی* و همکاران از حد مجاز خارج شد[5, 23]. به‌طور کلی افزایش pH در فرآورده‌ها ممکن است به‌علت فساد سریع فرآورده و تشکیل ترکیبات نیتروژنی نظیر تری‌متیل‌آمین و آمونیاک توسط آنزیم‌های درونی و میکروبی باشد. اگرچه نمونه‌های پوشش‌داده‌شده می‌توانند سبب افزایش مهار میکروب‌ها و گسترش آنها و افزایش زمان ماندگاری عضله در طی دوره پس از مرگ شوند[22]. در این مطالعه pH در تمامی روزها در تیمارهای حاوی

www.SID.ir

Archive of SID

پوشش پروبیوتیکی نسبت به تیمار شاهد میزان کمتری داشته است ($p<0/05$) که علت آن را می‌توان به اثرات پوشش‌های خوراکی و عملکرد باکتری‌ها در ارتباط با کاهش شدت رشد میکروبی و یا کاهش فعالیت پروتئازهای درونی نسبت داد. میزان کل بازهای نیتروژنی فرار یکی از شاخص‌های تشخیص تازگی ماهی است و دامنه وسیعی از ترکیبات نیتروژنی فرار شامل تری‌متیل‌آمین، دی‌متیل‌آمین، آمونیاک و سایر ترکیبات مشابه هستند[24] که در اثر فعالیت آنزیم‌های درونی و فساد باکتریایی تولید می‌شود[25]. در رابطه با فساد پروتئین و شاخص TVB-N تمامی تیمارها فقط به مدت یک هفته توانستند این پارامتر را کمتر از حد مجاز برای مصرف انسان نگه دارند. میزان TVB-N، در تیمار شاهد در روز ۷ از حد مجاز عبور کرد، در حالی که تیمارهای دارای پوشش پروبیوتیکی مقداری کمتر از حد مجاز استاندارد داشتند، ولی بعد از آن قابلیت مصرف فیله از بین رفت و زمان ماندگاری کاهش یافت. بالاترین سطح قابل قبول TVB-N برای ماهی و فرآورده‌های شیلاتی ۳۰میلی‌گرم در ۱۰۰گرم گوشت ماهی است[25]. نتایج این مطالعه با نتایج *لوپز دلیسی* و همکاران[23] در ارتباط با افزایش میزان TVB-N در طول دوره نگهداری و تجاوز از حد مجاز در انتهای دوره نگهداری در تمامی تیمارها، مطابقت دارد اما با نتایج *لوپز دلیسی* و همکاران[5] در مطالعه‌ای دیگر که بر روی اثر پوشش خوراکی ژلاتین تلفیق‌شده با باکتری‌های پروبیوتیکی بر ماندگاری فیله ماهی هیک انجام شد همخوانی ندارد، چون در آن مطالعه با وجود افزایش میزان TVB-N در طول دوره نگهداری، در پایان دوره در تیمارهایی که حاوی پوشش پروبیوتیکی بودند مقدار این شاخص از حد مجاز تجاوز نکرد، در حالی که تیمارهایی که دارای پوشش خوراکی بودند، مقداری بیشتری از حد مجاز داشتند. ولی در مطالعه حاضر مقدار TVB-N از روز ۱۴ در تمامی تیمارها از حد مجاز خارج شد و پوشش پروبیوتیکی نتوانست تاخیری در روند رو به افزایشی این شاخص داشته باشد. در مطالعه *سیف‌زاده* و *مطلبی*[21] میزان TVB-N در پایان دوره نگهداری (ماه ششم)، در تمامی تیمارها از جمله شاهد مقداری کمتر از حد مجاز را نشان داد که نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه حاضر که در آن از روز چهاردهم دوره نگهداری، میزان TVB-N بیشتر از حد استاندارد مشاهده شد، مطابقت ندارد. از آنجایی که پوشش خوراکی می‌تواند مانع انتقال موادی مانند آب، گاز و چربی در سطح فرآورده شود و همچنین از رشد ریزسازواره‌ها در سطح مواد غذایی جلوگیری کند و باکتری‌های اسیدلاکتیک هم قابلیت رقابت با باکتری‌های عامل فساد را دارند، ممکن است بتوانند از فساد پروتئینی و افزایش شاخص TVB-N جلوگیری کنند و این شاخص را در حد مجاز استاندارد برای مصرف انسان حفظ کنند. در حالی که در مطالعه حاضر پوشش پروبیوتیکی تنها به مدت یک هفته توانسته است مجموع بازهای نیتروژنی فرار را در حد مجاز استاندارد برای مصرف انسان حفظ کند، ولی در روز ۱۴ از حد مجاز استاندارد خارج شد و در روز ۲۱ در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای دارای پوشش پروبیوتیکی بالاترین میزان بود. تیوباربیتوریک‌اسید (TBA) سطح ترکیباتی که مسئول ایجاد طعم و بوی نامطلوب در مواد غذایی هستند را اندازه‌گیری می‌کند و خصوصاً برای اندازه‌گیری سطوح ثانویه اکسیداسیون لیپید بسیار مهم است. TBA شاخصی است که به‌طور گسترده‌ای برای اندازه‌گیری اکسیداسیون لیپید به وسیله اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (MDA) استفاده می‌شود[22, 26]. غلظت TBA در ماهی معمولاً بین ۳ و ۵میلی‌گرم MDA در هر کیلوگرم گوشت است و معمولاً به‌عنوان حد مجاز برای ماهی ذخیره‌شده در یخ در نظر گرفته می‌شود[27]. در رابطه با اکسیداسیون لیپید و شاخص TBA تمامی تیمارها به مدت دو هفته توانستند میزان این فاکتور را کمتر از حد مجاز استاندارد برای مصرف انسان حفظ کنند. در مطالعه *سیف‌زاده* و *مطلبی*[21] در پایان دوره نگهداری (ماه ششم)، میزان TBA در تمامی تیمارها حتی تیمار شاهد هم کمتر از حد مجاز استاندارد بود، در حالی که در این مطالعه تنها تیمارهای ۳ و ۴ نسبت به سایر تیمارها و تیمار شاهد تغییرات کمتری در پایان دوره نگهداری داشتند و تا روز ۲۱ توانستند اکسیداسیون لیپید را به تعویق بیندازد، اما سایر تیمارها در این زمان مقداری بیشتر از حد مجاز استاندارد داشتند که از این جهت با مطالعه *سیف‌زاده* و *مطلبی*[21] مطابقت ندارد. علت اینکه تیمارهای ۳ و ۴ توانستند میزان این شاخص را در پایان روز ۲۱ کمتر از حد استاندارد حفظ کنند را می‌توان به درصد بالاتر آلژینات‌سدیم و تاثیر این پوشش در ممانعت از اکسیداسیون چربی در گوشت ماهی قزل‌آلا و عملکرد باکتری‌های پروبیوتیکی در این پوشش نسبت داد که باعث به‌تعویق‌افتادن فساد در این تیمارها شد. همچنین این یافته‌ها با نتایج مطالعه *زرگر* و همکاران[28] که در آن میزان TBA در انتهای دوره نگهداری (روز بیستم)، در تمامی تیمارها مقداری کمتر از حد مجاز داشت، سازگار نبود. علاوه بر این، طی دوره نگهداری در تمامی زمان‌ها، اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمار دارای پوشش خوراکی کازئینات مشاهده نشد، به جز در روز ۱۶ که تیمار شاهد میزان بیشتری را نسبت به تیمار دارای پوشش نشان داد که از این جهت هم با یافته‌های مطالعه حاضر که در آن در تمامی زمان‌ها تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار با شاهد بودند، همخوانی نداشت، ولی با یافته‌های *حمزه* و *رضایی*[29] مبنی بر افزایش TBA طی دوره نگهداری و بالاتربودن این شاخص در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای دارای پوشش در انتهای دوره، همخوانی دارد با این تفاوت که تیمارهای دارای پوشش در انتهای دوره دارای حد مجاز استاندارد بودند که در مطالعه حاضر تنها تیمار ۳ و ۴ توانستند حد مجاز را حفظ کنند.

حضور باکتری یکی از دلایل مهم فساد و کاهش کیفیت فیله ماهی در طول دوره نگهداری است، زیرا گوشت ماهی حاوی ترکیبات مناسبی برای رشد میکروب‌ها است. از این رو معمولاً برآورد میزان بار باکتریایی کل (TVC) به‌عنوان شاخص پذیرش در استانداردها و معیارها استفاده می‌شود[27]. کمیته بین‌المللی تعیین ویژگی‌های میکروب‌شناسی مواد غذایی حد مجاز $7 \log CFU/g$ را برای بار باکتریایی کل در ماهی خام تعیین کرده است[30]. به‌طور کلی میزان

www.SID.ir

Archive of SID

فساد میکروبی ماهی و فرآورده‌های آن به فلور میکروبی، دمای محیط، وضعیت آب و شرایط نگهداری مانند دما و دسترسی به اکسیژن بستگی دارد و این خود با توجه به نوع بسته‌بندی متفاوت خواهد بود[31]. تعداد TVC در انتهای دوره ذخیره‌سازی در تمامی نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری نسبت به تعداد اولیه افزایش یافت ($p<0/05$). افزایش بار باکتریایی با گذشت زمان نگهداری ماهی در دمای یخچال به اثبات رسیده است[32]. پوشش پروبیوتیکی تا روز ۱۴ توانسته باکتری‌های قابل رویت را در حد مجاز مصرف انسان حفظ کند، در حالی که در تیمار شاهد این شاخص در روز ۱۴ از حد مجاز عبور کرد ($p<0/05$). در پایان روز ۲۱ در تمامی تیمارها میزان TVC بیشتر از حد مجاز استاندارد بود. نتایج این مطالعات با مطالعه *لوپز دلیسی* و همکاران[23] مبنی بر افزایش میزان TVC در طول دوره نگهداری و تجاوز از حد مجاز استاندارد در انتهای دوره نگهداری در تمامی تیمارها و بالاتربودن این شاخص در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای دیگر، مطابقت دارد با این تفاوت که در مطالعه آنها بین تیمار شاهد و تیمارهای دارای پوشش خوراکی و پوشش پروبیوتیکی در تمامی مدت زمان نگهداری، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$) و در طی ۱۵ روز نگهداری، تیمارهای نام‌برده در روز دهم از حد مجاز استاندارد خارج شدند، در حالی که در مطالعه حاضر در تمامی روزها اختلاف معنی‌دار بین تیمار شاهد و سایر تیمارها مشاهده و با وجود اینکه تیمار شاهد در روز ۱۴ از حد مجاز استاندارد خارج شد، تیمارهای دارای پوشش پروبیوتیکی دارای مقداری کمتر از این حد بودند و در روز ۲۱ کمی بالاتر از حد مجاز قرار داشتند. علت نتایج بهتر این مطالعه نسبت به مطالعه *لوپز دلیسی* و همکاران[23] را می‌توان نوع پوشش خوراکی، گونه ماهی و نوع سویه‌ها پروبیوتیکی به‌کارگرفته‌شده و استفاده از دو پوشش خوراکی به‌صورت همزمان دانست. همچنین نتایج این مطالعه با مطالعه *لوپز دلیسی* و همکاران[5] مبنی بر افزایش TVC در طول مدت زمان نگهداری و بالاتربودن این مقدار در تیمار شاهد در پایان دوره همخوان است. باکتری‌های اسیدلاکتیک نقش مهمی در فساد گوشت ماهی و فرآورده‌های شیلاتی در مرحله نگهداری دارند. این باکتری‌ها از طریق قابلیت‌هایی مانند تولید اسیدهای آلی شامل اسیدلاکتیک، اسیدپروپیونیک، اسیداستیک و اسیدفرمیک یا اسیدهای چرب آزاد، آمونیاک، بنزوات، پراکسیدهیدروژن، دی‌استیل و سنتز باکتریوسین‌ها می‌توانند از رشد باکتری‌های ناخواسته جلوگیری کنند که برخی از این مواد بازدارنده اثر آنتاگونیستی در مقابل طیف وسیعی از میکروارگانیزم‌های عامل فساد و بیماری‌زا دارند و بنابراین می‌توانند کمک فراوانی به نگهداری مواد غذایی کنند[33]. تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در طول دوره نگهداری در تمامی تیمارها روندی رو به افزایش داشت که این افزایش در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای دیگر، روند کندتری داشت و دارای اختلاف معنی‌دار در تمامی زمان‌ها، با سایر تیمارها بود ($p<0/05$). این یافته‌ها با نتایج *لوپز دلیسی* و همکاران[5] که در آن در انتهای دوره نگهداری، تیمار شاهد و تیمار دارای پوشش خوراکی میزان LAB بیشتری نسبت به تیمار دارای پوشش پروبیوتیکی داشتند، سازگار نیست. همچنین میزان باکتری‌های اسیدلاکتیک در تیمار دارای پوشش پروبیوتیکی در روز سوم نگهداری، نسبت به روز اول کاهش یافت و تا پایان دوره (روز دهم)، ثابت باقی ماند، در حالی که در تیمار دارای پوشش خوراکی روندی رو به افزایش مشاهده شد. شاهد نیز بعد از کاهش در روز سوم رو به افزایش رفت که این نتایج با نتایج مطالعه حاضر که در آن روند رو به افزایشی در تمامی تیمارها مشاهده شد و تیمار شاهد کمترین مقدار را داشت، سازگار نیست. مطالعه حاضر با مطالعه *لوپز دلیسی* و همکاران[23] از جهت افزایش میزان LAB در تیمار دارای پوشش پروبیوتیکی در طول مدت زمان نگهداری، مطابقت دارد، اما برخلاف مطالعه حاضر در آن تیمار شاهد تا روز دهم روند رو به کاهشی داشت و سپس افزایشی جزیی مشاهده شد، اما در پایان دوره نسبت به روز صفر مقدار کمتری را نشان داد که از این جهت دو مطالعه با هم همخوان نیستند. باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌عنوان میکروارگانیزم‌های خوراکی که برای مصرف و سلامت انسان مفید هستند، در نظر گرفته می‌شوند و از آنها در حفاظت زیستی مواد غذایی به‌علت خواص ضدمیکروبی خاص آنها استفاده می‌شود. در طول فرآیند و ذخیره‌سازی مواد غذایی تخمیری، باکتری‌های اسیدلاکتیک از طریق اثر نگهدارندگی خود و ایجاد شرایط اسیدی در نتیجه تبدیل کربوهیدرات‌ها به اسیدهای آلی و در نهایت کاهش pH ماده غذایی، می‌توانند زمان نگهداری و ایمنی محصول نهایی را افزایش دهند[14].

نتیجه‌گیری

براساس مطالعات پیشین انتظار افزایش زمان ماندگاری با کنترل شاخص‌های شیمیایی و میکروبی در تیمارهای حاوی پوشش به همراه باکتری‌های پروبیوتیکی انتظار می‌رفت که متاسفانه در مطالعه حاضر این روند مشاهده نشد. با توجه به شاخص‌های شیمیایی در همان شروع مطالعه می‌توان دریافت که بار میکروبی قابل رویت فیله‌ها بالا بوده و حتی با حضور باکتری‌های پروبیوتیکی *Pediococcus acidilactici* و *Lactobacillus plantarum* این شاخص روند کاهشی را از خود نشان نداده که بیانگر عدم عملکرد صحیح این پوشش پروبیوتیکی است و در ادامه نیز سایر شاخص‌های شیمیایی تحت تاثیر این امر قرار گرفتند و بالاتر از حد مجاز اندازه‌گیری شدند. اما در کل پوشش خوراکی آلژینات‌سدیم و آب پنیر حاوی باکتری‌های پروبیوتیکی می‌تواند برای بهبود و کنترل برخی از شاخص‌های فساد مفید واقع شود. با این پوشش پروبیوتیکی می‌توان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در یخچال را به مدت حداقل یک هفته افزایش داد. امید است در سال‌های آتی بتوان از پوشش‌های پروبیوتیکی به‌منظور بهبود افزایش سلامت غذا و دادن ارزش افزوده در زمینه تولید فرآورده‌های شیلاتی دیگر به‌صورت گسترده استفاده کرد.

www.SID.ir

Archive of SID

تشکر و قدردانی: نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری که شرایط مالی انجام مطالعه حاضر در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد را فراهم کردند سپاسگزاری کنند.

تاییدیه‌اخلاقی: نویسندگان تایید می‌کنند که این مطالعه مورد تایید همه نویسندگان است و در مراحل انجام آن موارد مغایر با اخلاق حرفه‌ای انجام پایان‌نامه صورت نگرفته است.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: سحرناز علیزاده (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (٤٠%)؛ سیدعلی جعفرپور (نویسنده دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (٢٥%)؛ سکینه یگانه (نویسنده سوم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (٢٥%)؛ رضا صفری (نویسنده چهارم)، روش‌شناس/پژوهشگر کمکی/نگارنده بحث (١٠%)

منابع مالی: مطالعه حاضر توسط معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری حمایت مالی شده است.

منابع

1- Gómez-Estaca J, De Lacey AL, López-Caballero ME, Gómez-Guillén MC, Montero P. Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. Food Microbiol. 2010;27(7):889-96.

2- López-Caballero M, Torres MÁ, Sánchez-Fernández J, Moral A. Photobacterium phosphoreum isolated as a luminescent colony from spoiled fish, cultured in model system under controlled atmospheres. Eur Food Res Technol. 2002;215(5):390-5.

3- Cuq B, Aymard C, CUQ JL, Guilbert S. Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: formulation and functional properties. J Food Sci. 1995;60(6):1369-74.

4- Varela P, Fiszman SM. Hydrocolloids in fried foods. A review. Food Hydrocoll. 2011;25(8):1801-12.

5- López De Lacey AM, López-Caballero ME, Gómez-Estaca J, Gómez-Guillén MC, Montero P. Functionality of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum incorporated to edible coatings and films. Innov Food Sci Emerg Technol. 2012;16:277-82.

6- Jamshidi A, Shabanpour B, Rahmanifarahkaveh K, Peighambari SY, Rostamzad H, Azaribeh M, et al. Effects of xanthan, alginate, CMC and thawing properties on Finger fish quality. J Res Innov Food Sci Technol. 2012;4(1):295-306. [Persian]

7- Abdollahzadeh E, Ojagh SM, Fooladi AA, Shabanpour B, Gharahei M. Effects of probiotic cells on the mechanical and antibacterial properties of sodium-caseinate films. Appl Food Biotechnol. 2018;5(3):155-62.

8- Vejdani R, Zali MR. Probiotics and their mechanism of action in the prevention and treatment of human diseases. J Fac Med Shaheed Beheshti Univ Med Sci. 2004;27(4):319-30.

9- Terpou A, Papadaki A, Lappa IK, Kachrimanidou V, Bosnea LA, Kopsahelis N. Probiotics in food systems: significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. Nutrients. 2019;11(7):1591.

10- Mongeau R, Brooks S, Cho S, Dreher M. Chemistry and analysis of lignin. In: Cho SS, Dreher ML, editors. Handbook of dietary fiber. 1st Edition. Boca Raton: CRC Press; 2019. pp. 321-73.

11- Kester JJ, Fennema OR. Edible films and coatings: A review. Food Technol. 1986;40(12):47-59.

12- Hernandez-Izquierdo VM, Krochta JM. Thermoplastic processing of proteins for film formation-a review. J Food Sci. 2008;73(2):R30-9.

13- Mortazavian AM, Azizi MH, Sohrabvandi S. Applicatinal edible films in food. Iran J Food Sci Technol. 2010;7(1):111-31. [Persian]

14- Alinejad A, Jafarpour SA, Yeganeh S, Safari R. Microbial and biochemical characteristics of fermented fish sausage from common carp (Cyprinus carpio) mince by application of Pediococcus pentasaceus at different incubation temperatures. Iran Sci Fish J. 2013;22(2):35-46. [Persian]

15- Soukoulis Ch, Yonekura L, Gan HH, Behboudi-Jobbehdar S, Parmenter Ch, Fisk I. Probiotic edible films as a new strategy for developing functional bakery products: The case of pan bread. Food Hydrocoll. 2014;39:231-42.

16- Khezri Ahmadabad M, Rezaei M, Ojagh SM. The effect of Whey protein edible coating on microbial quality of Rainbow trout fillet during cold storage. J Food Sci Technol. 2016;12(49):11-20. [Persian]

17- Abdollahi M, Rezaei M, Farzi G. Influence of chitosan/clay functional bionanocomposite activated with rosemary essential oil on the shelf life of fresh silver carp. Int J Food Sci Technol. 2014;49(3):811-8.

18- Pearson D. Laboratory technic in food analysis. J Chromatogr Sci. 1975;13(4):18A.

19- Egan H, Kirk RS, Sawyer R. Pearson´s chemical analysis of foods. 8th Edition. London: Churchill Livingtone; 1981.

20- Adams MR, Cooke RD, Twiddy DR. Fermentation parameters involved in the production of lactic acid preserved fish-glucose substrates. Int J Food Sci Technol. 1987;22(2):105-14.

21- Seifzadeh M, Matlabi A. Effects of using of mixing cover of Whey protein and sodium alginate on Kilka fish (Clupeonella delicatula) quality changing in cooling storage. J Aquat Anim Fish. 2012;2(8):39-88. [Persian]

22- Souza BW, Cerqueira MA, Ruiz HA, Martins JT, Casariego A, Teixeira JA, et al. Effect of chitosan-based coatings on the shelf life of salmon (Salmo salar). J Agric Food Chem. 2010;58(21):11456-62.

23- López de Lacey AM, López-Caballero ME, Montero P. Agar films containing green tea extract and probiotic bacteria for extending fish shelf-life. LWT-Food Sci Technol. 2014;55(2):559-64.

24- Huss HH, editor. Quality and quality changes in fresh fish. Rome: FAO; 1995.

25- European Commision. Total volatile basic nitrogen TVB-N limit values for ceratin categories of fishery products and specifying the analysis methods to be used. Off J Eur Communities. 1995;(L 097):84-87.

26- Srikar LN, Hiremath GG. Fish preservation. I. Studies on changes during frozen storage of oil sardine. J Food Sci Technol. 1972;9(4):191-3.

27- Ozogul Y, Ayas D, Yazgan H, Ozogul F, Boga EK, Ozyurt G. The capability of rosemary extract in preventing oxidation of fish lipid. Int J Food Sci Technol. 2010;45(8):1717-23.

28- Zargar M, Yeganeh S, Razavi SH, Ojagh SM. Effects of sodium caseinate edible coating on quality of Rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) during storage in

www.SID.ir

Archive of SID

refrigerator temperature. J Food Sci Technol. 2014;11(44):71-81. [Persian]
29- Hamzeh A, Rezaei M. Antioxidant and antibacterial effects of sodium alginate coating enriched with thyme essential oil on rainbow trout fillets during refrigerated storage. Iran J Nutr Sci Food Technol. 2011;6(3):11-20. [Persian]
30- International Commission on Microbiological Specification for Food. Microorganisms in foods 2: Sampling for microbiological analysis: Principles and scientific applications. 2nd Edition. Buffalo: University of Toronto Press; 1986.
31- Guillerm-Regost Ch, Haugen T, Nortvedt R, Carlehöug M, Lunestad BT, Kiessling A, et al. Quality characterization of farmed Atlantic halibut during ice storage. J Food Sci. 2006;71(2):S83-90.
32- Mexis SF, Chouliara E, Kontominas MG. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4°C. Food Microbiol. 2009;26(6):598-605.
33- Yazdanparast F. Evaluation of biochemical and biophysical characteristics of fermented Common carp sausage inoculated with mixed starter cultures of Lactobacillus plantarum and Pediococcus pentosaceus [Dissertation]. Sari: Sari Agriculture Siences and Natural Resources University; 2013. [Persian]

www.SID.ir