

بررسی تغییرات شیمیایی و میکروبی ماهی کفال پشت سبز (*Liza subviridis*)

نگهداری شده در یخ (۰-۴°C)

امیر هوشنگ بحری^(۱)*

amirbahri52@yahoo.com

۱- استادیار و عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بندر عباس، صندوق پستی ۱۳۱۱-۷۹۱۵۹

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۳

چکیده

قابلیت فسادپذیری بالای ماهیان سبب شده تا حفظ کیفیت ماهی تازه، یکی از مهمترین مسائل مورد توجه صنعت ماهی و مصرف کنندگان آن باشد. امروزه اهمیت نگهداری و عرضه ماهی تازه با توجه به علاقه مصرف کنندگان به ماهی تازه نسبت به منجمد روز به روز بیشتر می شود. در این میان تعیین مدت زمان ماندگاری، جهت تعیین زمان مصرف آن، به دلیل فسادپذیری بالای ماهی اهمیت می یابد. این پژوهش به منظور بررسی روند تغییرات شیمیایی و میکروبی و تعیین زمان ماندگاری ماهی گاریز (*Liza subviridis*) طی نگهداری در یخ (۰-۴°C) صورت پذیرفت. بدین منظور ماهیان به مدت ۲۲ روز در یخ نگهداری و تغییرات پارامترهای میکروبی (باکتریهای مزوفیل و سرمادوست) و پارامترهای شیمیایی (TVB-N) به روش کلدال و pH، در فواصل زمانی ۰، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶، ۱۸، ۲۰ و ۲۲ روز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد، مقادیر شاخص های شیمیایی طی نگهداری، بطور معنی داری افزایش یافت و میزان بازهای نیتروژنی فرار برای ماهی گاریز در روز ۸، $18/67 \pm 0/30$ میلی گرم در ۱۰۰ گرم و مقدار pH، $6/31 \pm 0/01$ محاسبه شد. با توجه به استاندارد های (TVB-N)، نمونه ها در روز ۱۴ از حدود استاندارد تعیین شده خارج شدند. میزان بازهای نیتروژنی فرار در ۸ روز مورد مطالعه برای ماهیان گاریز اختلاف معنی داری نداشت ($p > 0/05$) اما با این حال نمی توان به طور قطعی اظهار داشت که این گونه فساد پذیر نبوده است. نتایج نشان داد که رشد باکتری های سرمادوست بالاتر از باکتری های مزوفیل بود و شاخص های میکروبی در نمونه ها به طور قابل توجهی در آغاز دوره کاهش داشته و از آن پس نیز با سرعت رشد کمتر نسبت به پارامترهای شیمیایی افزایش داشته است. بررسی همبستگی های بین شاخص های شیمیایی و میکروبی با قابلیت پذیرش کلی نشان داد که دقیق ترین شاخص ها، جهت تعیین ماندگاری ماهی گاریز، مقدار TVC حدود $4 \log \text{cfu/g}$ و TVB-N (حدود ۲۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم فیله) می باشد.

کلمات کلیدی: تغییرات شیمیایی، تغییرات میکروبی، یخ، کفال پشت سبز (*Liza subviridis*).

۱. مقدمه

مصرف ماهی به عنوان منبعی غنی از پروتئین با قابلیت هضم آسان و ارزش تغذیه ای بالا که قادر است ویتامین‌ها، مواد معدنی و اسیدهای چرب مفید را در دسترس انسان قرار دهد، از جایگاه خاصی برخوردار است. با این حال این ماده غذایی به شدت فسادپذیر است و تغییرات باکتریایی و آنزیمی در آن بلافاصله پس از صید آغاز می‌شود. اگرچه کیفیت اولیه و بار میکروبی ماهی تازه عمدتاً تحت تأثیر گونه و روش صید آن قرار می‌گیرد ولی نحوه‌ی دستکاری و رفتار پس از صید در کیفیت نهایی و مدت ماندگاری آن بسیار اهمیت دارد (۲۰ و ۱۹). هرگونه دستکاری نادرست یا تأخیر در کاهش درجه حرارت ماهی اثر آشکاری روی مدت زمان نگهداری آن خواهد گذاشت. تمیز کردن در کیفیت نهایی ماهی نقش مهمی داشته و منابع مختلف، آن را مشتمل بر خونگیری، تخلیه امعاء و احشاء و جدا کردن آبشش‌ها ذکر می‌کنند (۳، ۳۴ و ۳۷). در آب‌های خلیج فارس و دریای عمان ماهیان متنوع زیادی وجود دارد که یکی از گونه‌های خوراکی این ماهیان که در بازار جنوب ایران عرضه و مورد تقاضای بسیاری از مردم این منطقه است، ماهی گاریز یا کفال پشت سبز نام دارد. این گونه ماهی جایگاه ویژه‌ای بین ماهیان در جنوب کشور دارد (۸، ۱۰). گاریز با نام علمی (*Liza subviridis*) از خانواده (Mugilidae) می‌باشد (۱، ۹). اندازه گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) یا (Total volatile bases) روشی است که در پاره‌ای موارد جایگزین تست تری متیل آمین (TMA) مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷). معمولاً سنجش مجموع بازهای نیتروژنی فرار در ماهیان آب شیرین و تری متیل آمین در ماهیان دریایی کاربرد دارند. در این روش با تقطیر و جمع‌آوری بازهای فرار که در هنگام فساد ماهی شکل می‌گیرند و خنثی‌سازی آنها به وسیله اسید

می‌توان از مقدار آنها و پیشرفت فساد اطلاع حاصل نمود (۱۷). تعیین غلظت بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) اولین بار در آلمان به عنوان روشی برای ارزیابی کیفیت شیمیایی فساد محصولات شیلاتی مطرح گردید (۳۲). تحقیقات نشان داد مقادیر بازهای نیتروژنی فرار به گونه ماهی و دمای نگهداری آن بستگی دارد (۷، ۴۵). Connell (۱۹۹۰) حد قابل قبول بازهای نیتروژنی فرار برای ماهی تن و نیزه ماهی منجمد را کمتر از ۳۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم، برای ماهی خشک و نمک‌سود شده کمتر از ۲۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم و برای مواد خام محصولات کنسروی کمتر از ۲۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم تعیین نموده است (۱۷). نگهداری ماهی و دیگر فرآورده‌های دریایی در حالت منجمد سبب بروز مجموعه تغییراتی در بافت آنها می‌گردد که تأثیر زیادی بر کیفیت نهایی محصول دارد (۱۵) و دلیل اصلی، تغییراتی است که در پروتئین‌های عضله بخصوص پروتئین‌های میوفیبریل ایجاد می‌گردد و در اصطلاح تغییر شکل پروتئین بر اثر انجماد (Freez denaturation) موسوم است (۷). ایجاد یک لایه پیوسته از یخ در سطوح محصول منجمد و پوشش دادن به آن روشی است که می‌تواند محصول را در طول نگهداری از کاهش رطوبت و خشکی و همچنین اکسیداسیون و دیگر تغییرات احتمالی حفظ نماید (۱۶). البته باید توجه داشت نگهداری ماهی در یخ روش موقتی است که در طولانی مدت تغییرات کیفیت به ویژه در ماهیان چرب مشاهده می‌گردد (۳۹). استفاده از یخ آسان‌ترین و ارزان‌ترین روش موقت در نگهداری و حمل و نقل موقت آن می‌باشد (۲۹). طی نگهداری ماهی در یخ رشد ارگانیزم‌های فاسدکننده ماهی و همچنین سرعت فساد آنزیمی و شیمیایی کاهش می‌یابد (۱۷).

در زمینه سنجش بازهای نیتروژنی فرار در ماهیان مطالعات متعددی انجام شده است که می‌توان به تحقیقات

یخ گزارش کردند که شمارش کلی باکتریایی و انتروباکتریاسه در ماهیان فیله شده به ترتیب ۱/۷-۲/۳ و ۱/۲-۱ log CFU/g بیشتر از ماهیان کامل بود (۱۸). Paleologos و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی بر روی ماهی خاردار دریایی پرورشی به سه صورت کامل، تخلیه شکمی و فیله در طی ۱۶ روز نگهداری در کنار یخ مشاهده کردند که شمارش کلی باکتریایی و انتروباکتریاسه در گروه فیله به طور معنی داری بیشتر از دو گروه کامل و تخلیه شکمی بود ($P < 0.05$) (۴۳). بنابراین دوره زمانی صید تا مصرف ماهی در تعیین کیفیت نهایی و مدت ماندگاری آن بسیار حائز اهمیت است. از آنجا که نگهداری و انتقال ماهی گاریز تا زمان مصرف به صورت غیر منجمد و در دمای پایین می باشد تعیین چگونگی تغییر کیفیت این ماهی طی نگهداری آن با توجه به استاندارد های موجود، حائز اهمیت است. در بازار های ماهی فروشی، این ماهیان پس از صید معمولاً بصورت بدبینانه در دمای محیط هستند که برای رشد باکتری های مزوفیل طبیعی ماهی به خصوص در نواحی گرمسیری ایده آل است. با توجه به اینکه مطالعات کمی در ارتباط با تأثیرات مربوطه بر روی کیفیت ماهی بویژه در مناطق گرمسیری و در ماهیان خلیج فارس وجود دارد، هدف این تحقیق بررسی شاخص های فساد میکروبی و شیمیایی در گونه ماهی کفال پشت سبز در طی نگهداری در کنار یخ، بوده است.

۲. مواد و روش ها

ماهیان کفال پشت سبز، توسط ماهیگیران محلی بوسیله تور گوشگیر از سواحل بندر عباس صید شدند. انتخاب ماهی ها از بین ماهی های سالم و هم اندازه بصورت تصادفی و به تعداد ۹۰ عدد با میانگین وزن $165 \pm 8/12$ گرم و طول $16 \pm 2/25$ انتخاب و پس از شستشو در جعبه های یونولیت حاوی یخ معمولی خورد شده در اندازه های

بر روی ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) (۱۳)، ماهی فیتوفاگک (*Hypophthalmichthys molitrix*) (۵)، ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) (۲،۶)، ماهی کفال طلایی (۱۱)، ماهی هرینگ (*Clupea harengus*) (۴۰)، ماهی ساردین (*Sardina plichardus*) (۴۱)، ماهی تون (*Scomberomorus commersonii*) (۵۱)، ماهی باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) (۴۲)، ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Onchorynchus mykiss*) (۴،۳۱) اشاره نمود.

اما از مهم ترین دلایل فساد ماهی طی نگهداری، رشد میکروارگانیسم ها است، به طوری که گاهی ممکن است بار میکروبی گوشت ماهی طی زمان نگهداری به شکل خطرناکی افزایش یابد. مدت زمان پس از صید و دمای نگهداری ماهی تا زمان مصرف از مهم ترین عوامل تاثیر گذار بر کیفیت ماهی پس از صید آن می باشد. در مطالعه ی Papadopoulos و همکاران (۲۰۰۳) شمارش کلی باکتریایی در ماهیان سی باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) پرورشی نگهداری شده در کنار یخ (به صورت درسته و تخلیه شکمی) در روز ۹ به ترتیب به $5/3$ و $7/5$ log CFU/g بالغ شد و در طی ۷ روز بعدی نگهداری شمارش باکتریایی در ماهیان تخلیه شکمی $1-2$ log CFU/g بیشتر از ماهیان کامل بود ($P < 0.05$) شمارش انتروباکتریاسه در روز ۱۶ در ماهیان کامل $3/8$ و در ماهیان تخلیه شکمی $5/6$ log CFU/g بود (۴۴). Chytiri و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعه بر روی ماهیان قزل آلائی رنگین کمان^۱ (*Onchorynchus mykiss*) به صورت کامل و فیله شده (تخلیه شکمی و سرزده) در طی ۱۸ روز نگهداری در کنار

1- Sea bass
2- Rainbow trout

گیری چربی از روش سوکسله با استفاده از حلال استفاده شد (۱۴). جهت اندازه گیری پروتئین موجود در نمونه های ماهی از روش کجداال استفاده شد. در این روش در حضور اسید سولفوریک و کاتالیزور نمونه ماهی هضم سپس اتم نیتروژن به وسیله یک واسطه قلیایی ترکیبات آلی نیتروژن دار به سولفات آمونیم تبدیل و سپس در اسید کلریدریک یا اسید بوریک جذب شده و به وسیله تیتراسیون با یک اسید مقدار آن تعیین گردید. بنابراین تعیین مقدار پروتئین در سه مرحله هضم، تقطیر و تیتراسیون انجام شد و میزان پروتئین با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۱۴):

$$\text{درصد ازت} = \frac{\text{نرمالیه اسید} \times \text{میزان اسید مصرفی برای تیتراسیون} \times 100 \times 0.014}{\text{وزن نمونه (گرم)}}$$

$$\text{درصد ازت} \times 6.25 = \text{درصد پروتئین}$$

جهت تعیین میزان خاکستر، روش کار بر مبنای از بین بردن مواد آلی و باقیمانده مواد معدنی تا حصول روشن شدن در دمای ۵۵۰-۵۰۰ درجه سانتیگراد انجام شد (۱۴):

$$\text{درصد خاکستر} = \frac{(A-B) \times 100}{W}$$

$W =$ وزن نمونه تر، $B =$ وزن بوته و خاکستر، $A =$ وزن بوته

تعیین درصد رطوبت، بر اساس خشک نمودن ماده غذایی در اثر حرارت 2 ± 103 درجه سانتیگراد آون و به روش غیرمستقیم می باشد. با استفاده از وزن نمونه خشک شده، مقدار رطوبت نمونه، مطابق فرمول زیر محاسبه گردید (۱۹):

$$\text{درصد رطوبت} = \frac{(A-B) \times 100}{W}$$

کوچک قرار داده شد (با نسبت ماهی و یخ ۱:۱) (۷). فاصله زمانی صید وانتقال آن به آزمایشگاه حدود ۳ ساعت بود. کنترل دمای داخل جعبه از طریق اندازه گیری مداوم دما به کمک دماسنج جیوه ای انجام شد. روزانه مقداری یخ جهت جبران یخ های ذوب شده و تثبیت دمای داخل جعبه افزوده گردید. در کف جعبه نیز جهت خروج آب حاصل از ذوب یخ سوراخی تعبیه گردید تا به رفع آلودگی های ثانویه ناشی از رشد و فعالیت باکتری های سرمادوست کمک نماید. سپس نمونه ها برای انجام آزمایش بطور تصادفی در روزهای ۰، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶، ۱۸، ۲۰، ۲۲ با ۳ تکرار از صندوق یونولیتی حاوی یخ خارج هر دو روز در میان مورد ارزیابی میکروبی و شیمیایی قرار گرفتند. برای تعیین بازهای نیتروژنی فرار پس از خارج نمودن ماهیان از صندوق یونولیتی حاوی یخ (۴-۰ درجه سانتیگراد) و پس از یخ زدایی امعاء و احشاء تخلیه شده و پس از قطع سر و دم به طور کامل چرخ شده و سپس آنالیز در عضله پستی ماهیان انجام شد. بدین ترتیب که عضله پستی ماهیان به وسیله تیغه استیل استریلیزه جدا گردید. در این تحقیق برای تعیین بازهای نیتروژنی فرار از روش کلدال (Kjeldahl) استفاده شد (۱۴). و اندازه گیری مقدار بازهای نیتروژنی فرار به کمک فرمول زیر به دست آمد (۴۶):

$$\text{TVB-N} = \frac{\text{اسید سولفوریک مصرفی } 0.1 \times 100 \times 1/4}{\text{وزن نمونه}}$$

اندازه گیری چربی به روش بلای و دایر (۱۹۵۹)، رطوبت به روش AOAC (۱۹۹۵)، پروتئین خام و مجموعه باز های فرار به روش ماکروکجداال (AOAC, ۱۹۸۴) و خاکستر به روش AOAC (۱۹۹۰) و pH با استفاده از pH متر (HM-205, Japan) اندازه گیری شد (۷). برای اندازه

A = وزن بوته و نمونه خشک، B = وزن بوته و نمونه تر،
W = وزن نمونه تر

جهت شمارش کل باکتری ها (TVC) باکتری های مزوفیل و باکتری های سرمادوست (PTC) در نمونه های تهیه شده، از محیط تریپتیک سویا آگار (Tryptic Soy Agar) به روش کشت سطحی، استفاده شد (۲۵ و ۲۷ و ۲۸). در صورت نیاز (بالا بودن تعداد باکتری ها در یک پلیت) رقیق سازی نمونه ها در محلول سرم فیزیولوژی انجام گردید. در ابتدای زمان نگهداری فیله ها با توجه به پائین بودن بار میکروبی، نیاز به رقت های بالا نبوده و با کشت ۰/۱ میلی لیتر از نمونه اولیه (۵ گرم به ۴۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی) کشت انجام گرفت. پلیت های کشت داده شده مربوط به کل باکتری ها بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد (۲۸ و ۲۹) و پلیت های مربوط به باکتری های مزوفیل و سرما دوست بعد از ۱۰ روز انکوباسیون به ترتیب در دمای ۲۵ و ۴ درجه سانتی گراد شمارش شدند (۲۸ و ۲۹). در نهایت برای ارزیابی میکروبی نیز از شمارش کلی باکتری ها استفاده شد. در این بررسی تجزیه و تحلیل داده ها به کمک نرم افزار SPSS16 انجام شد و میانگین داده ها به کمک آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) با یکدیگر مقایسه شدند که وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P=0/05$) تعیین گردید. همچنین در رسم نمودارها و جداول از نرم افزار Excel استفاده گردید.

گردیدند.

۳. نتایج

نتایج حاصل از آزمایش ازت کل فرار (T.V.N) بر اساس جدول ۱ نشان داد که میزان آن در هشت روز ابتدایی نگهداری ماهی در زیر یخ یک روند افزایشی کند بدنبال

داشته است. از نظر آماری نیز بین روزهای دوم و چهارم تا هشتم اختلاف معنی داری مشاهده نمی شود ($p > 0/5$) اما این روند از روز هشتم به بعد تا روز بیست و دوم یک روند افزایشی تند را طی نموده است. از نظر آماری نیز بین روز دوم و چهاردهم با روز بیست و دوم اختلاف معنی داری را نشان داده است ($p < 0/5$). نتایج بدست آمده بر اساس جدول ۲ در ارتباط با باکتری های مزوفیل نشان داد بدلیل شرایط مناسب ماهی در طول نگهداری در آب یخ، این باکتری قادر به تخریب و فعالیت در طی هشت روز اول نبوده اند و از روز هشتم به بعد به ویژه در روز چهاردهم با یک رشد لگاریتمی دامنه فعالیت این باکتریها افزایش یافته است. از نظر آماری نیز در روز هشتم، چهاردهم، بیستم و بیست و دوم دارای اختلاف آماری معنی داری بوده است ($p < 0/05$). این در حالی است که باکتری های سرما دوست از روز چهاردهم با نفوذ به بافت عضلانی ماهی دامنه فعالیت خود را آغاز نموده اند. آنالیز آماری این باکتری ها نشان داد که بین روز چهاردهم با روز هجدهم و بیست و دوم اختلاف معنی داری موجود است ($p < 0/05$). پس از انجام آزمایش تعیین pH در نمونه ماهی گاریز، در مدت بیست و دو روز، pH ماهی گاریز، بر اساس جدول ۱ محاسبه گردید. نتایج نشان داد که، افزایش pH با افزایش و فعالیت باکتریها و در نهایت افزایش کل ازت فرار (TVN) نسبت مستقیم داشته و یک منحنی خطی را بوجود آورده است و آنالیز آماری نشان داد که pH روز دوم ماهی با pH روز بیست و دوم دارای اختلاف معنی دار آماری است ($p < 0/5$) و این افزایش بیانگر افزایش بازهای فرار بر اثر فعالیت آنزیمهای موجود در امعاء و احشاء و بافت عضلانی ماهی و همچنین شروع فعالیت باکتریها می باشد.

جدول ۱: تفاوت‌های شیمیایی میانگین تغییرات ازت کل فرار (T.V.N) و pH در ماهی کفال پشت سبز طی زمانهای مختلف (روز) نگهداری در کنار یخ

تغییرات pH	ازت کل فرار	زمان نگهداری (روز)
6/01 ± 0/02 ^a	16/25 ± 0/57 ^a	0
6/03 ± 0/04 ^a	17/72 ± 0/23 ^a	2
6/10 ± 0/07 ^a	18/20 ± 0/47 ^a	4
6/22 ± 0/02 ^a	18/30 ± 0/44 ^a	6
6/31 ± 0/01 ^a	18/67 ± 0/30 ^a	8
6/44 ± 0/03 ^a	19/51 ± 0/14 ^{ab}	10
6/47 ± 0/05 ^{ab}	19/75 ± 0/45 ^{ab}	12
6/50 ± 0/02 ^{ab}	20/30 ± 0/25 ^b	14
6/63 ± 0/04 ^{ab}	23/33 ± 0/45 ^{bc}	16
6/69 ± 0/01 ^{ab}	24/67 ± 0/12 ^{bc}	18
6/79 ± 0/03 ^{ab}	23/80 ± 0/32 ^{bc}	20
6/99 ± 0/02 ^b	30/80 ± 1/07 ^c	22

حروف غیرهمنام اختلاف معنی دار را نشان می دهد ($P < 0/05$)

جدول ۲: تفاوت‌های میکروبی میانگین باکتری های مزوفیل و سرمادوست ماهی کفال پشت سبز در زمان های مختلف نگهداری (روز) در کنار یخ (لگاریتم ۱۰ شمارش کلی باکتریهای مزوفیل و سرمادوست)

باکتری های سرمادوست	باکتری های مزوفیل	زمان نگهداری (روز)
3/45 ± 0/03 ^a	2/65 ± 0/02 ^a	0
3/65 ± 0/12 ^a	2/89 ± 0/16 ^a	2
3/95 ± 0/05 ^a	3/25 ± 0/12 ^{ab}	4
4/10 ± 0/29 ^a	3/40 ± 0/23 ^b	6
4/25 ± 0/25 ^a	3/65 ± 0/25 ^b	8
4/75 ± 0/07 ^b	3/92 ± 0/15 ^b	10

۴/۹۵±۰/۱۰ ^{bc}	۴/۰۵±۰/۰۵ ^{bc}	۱۲
۵/۰۵±۰/۱۲ ^c	۴/۳۵±۰/۰۳ ^c	۱۴
۵/۹۶±۰/۰۶ ^{cd}	۴/۵۸±۰/۲۶ ^c	۱۶
۶/۱۶±۰/۱۵ ^d	۴/۷۵±۰/۳۵ ^c	۱۸
۶/۵۹±۰/۲۳ ^e	۵/۵۹±۰/۰۵ ^d	۲۰
۶/۶۰±۰/۰۸ ^e	۶/۵۸±۰/۰۳ ^e	۲۲

حروف غیرهمنام اختلاف معنی دار را نشان می دهد ($P < 0.05$)

گردید (برحسب درصد).

در ابتدای دوره، پس از انجام آزمایشات، ترکیبات شیمیایی بدن ماهی گاریزر بر اساس جدول ۳ به شرح زیر محاسبه

جدول ۳- مقادیر میانگین درصد ترکیبات شیمیایی بدن ماهی کفال پشت سبز در ابتدای دوره آزمایش

زمان نگهداری (روز)	پروتئین	چربی	رطوبت	خاکستر
(ابتدای دوره) روز	۱۹/۱۲ ± ۰/۲۸	۱۴/۵ ± ۰/۱۷	۶۵/۸ ± ۲/۲۱	۰/۵۸ ± ۰/۳

۴. بحث

گرم در ۱۰۰ گرم به دست آمد. محدوده قابل قبول بازهای نیتروژنی فرار در ماهی ۳۰-۲۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم می باشد (۴۵)، در حالی که برخی محققین عقیده دارند که ۴۰-۳۰ میلی گرم از بازهای نیتروژنی فرار در ۱۰۰ گرم عضله ماهی بالاتر از حد مجاز است (۳۱). در مطالعه ای، محققین میزان بازهای نیتروژنی فرار فیش برگر ماهی مید را مطالعه نمودند که در زمان های صفر، ۴۵ و ۹۰ روز به ترتیب ۹/۹، ۱۳/۷ و ۱۶/۵ میلی گرم در ۱۰۰ گرم بود (۱۲). مطالعات دیگری بر روی ماهی باس دریایی در دو دوره ۲۱ و ۲۸ روزه نشان داد در دوره اول میزان بازهای نیتروژنی فرار در

بازهای نیتروژنی فرار یکی از شاخص های کیفی فرآورده های شیلاتی، به همراه فساد باکتریایی ماهیان و فعالیت های آنزیمی برای ارزیابی کیفی این محصولات بکار می روند (۳۰، ۳۶). در اثر فعالیت میکروبی و آنزیمهای طبیعی گوشت و یا آنزیمهای تراوش شده از پیکره باکتریها تغییرات مختلفی در گوشت و ترکیبات آن بوجود می آید. اثر آنزیمهای پروتئولیتیک سبب تجزیه و شکسته شده ساختمان پروتئین گوشت می شود که در نتیجه آن مواد ازته فرار بوجود می آید (۱۷) در این تحقیق محدوده میزان بازهای نیتروژنی فرار در گونه مورد مطالعه ۳۰/۸۰-۱۶/۲۵ میلی

به دست آمده در این تحقیق و سایر تحقیقات، می توان بیان نمود شاخص بازهای نیتروژنی فرار به تازگی ماهی بستگی ندارد، یعنی نمی تواند به عنوان شاخص تازگی در نظر گرفته شود. اما در مورد قابلیت مصرف ماهی حساس است و می تواند یک شاخص فساد خوب باشد (۲۳). همچنین در این تحقیق ماهی گاریز، میزان بالاتری از بازهای نیتروژنی فرار را به نسبت سایر تحقیقات نشان داشت. اما با این حال نمی توان به طور قطعی اظهار داشت که این گونه فساد پذیرتر از سایر گونه ها، می باشد. برای اظهار نظر در این رابطه باید در کنار بازهای نیتروژنی فرار شاخص های دیگری چون فساد میکروبی نیز سنجش گردد. در تحقیقات دیگر محققان، نیز بیان شده است که میزان مجموع بازهای فرار نیتروژنی یک شاخص ضعیف برای تعیین تازگی ماهی است (۴۴، ۳۳). همچنین مطالعات بر روی ماهی کاد و هادداک نیز با نتایج تحقیق حاضر هماهنگی دارد. میزان بازهای نیتروژنی فرار در ماهی آنچوی طی ۱۱ ماه نگهداری در دمای ۲ درجه سانتیگراد تحت خلاء روند افزایشی داشت بطوری که پس از این مدت نگهداری ۲۳/۰۱ میلی گرم در ۱۰۰ گرم بود (۲۲). میزان بازهای نیتروژنی فرار در ماهی اوزون برون در روز صفر ۹/۲۴ میلی گرم در ۱۰۰ گرم و در روز پانزدهم ۱۲/۴ میلی گرم در ۱۰۰ گرم بود (۱۳). در ماهی کفال طلایی میزان بازهای نیتروژنی فرار در روز صفر ۵/۰۹ میلی گرم در ۱۰۰ گرم بود که پس از ۹۰ روز نگهداری ۳۰/۸ میلی گرم در ۱۰۰ گرم افزایش یافت (۱۱). در ماهیان دریایی میزان ۱۵-۲۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم بازهای نیتروژنی فرار نشان دهنده کیفیت مطلوب می باشد و میزان ۵۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم نشان دهنده کیفیت پایین می باشد (۱۷). البته بسیاری از محققین حد مجاز بازهای نیتروژنی فرار در فرآورده های شیلاتی را برای مصارف انسانی ۳۰-۳۵ میلی گرم در ۱۰۰ گرم اعلام نموده اند

طول زمان، مشابه بوده و افزایش ناگهانی نشان نداده اند. اما نتایج مطالعه دوره دوم یک افزایش آرام و منظم را از بازهای نیتروژنی فرار از روز ۲۱ تا ۲۸ نشان داد (۱۵). مطالعات بر روی ۵ گونه ماهی دودی شده (*Labeo Heterotis Parachanna obscura, coubie Clarias, Oreochromis niloticus niloticus gariepinus*) که به مدت ۵۶ روز در دمای ۳۲-۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شده بودند نشان داد که میزان بازهای نیتروژنی فرار در گونه های دودی شده پس از اندازه گیری در محدوده قابل قبول بوده و بیشترین میزان بازهای نیتروژنی فرار ۲۱/۰۳ میلی گرم در ۱۰۰ گرم در ماهی *Heterotis niloticus* در مدت ۸ هفته گزارش گردید (۲۱). افزایش بازهای نیتروژنی فرار تولید شده در ماهی دودی *Oreochromis niloticus* از ۴/۲ میلی گرم در ۱۰۰ گرم به ۱۱ میلی گرم در ۱۰۰ گرم در کمتر از ۱۵ ساعت تایید شده است (۵۲). بهر حال روند مشاهدات نشان داد که در روزهای ۱۴ به بعد شکم ماهیان ترکیده بود و بوی نامطبوع و تندی از آنها به مشام می رسید بطوری که ظاهراً ماهیان مربوطه، قابلیت مصرف خود را از دست داده بودند. ماهی دارای باکتری های زیادی در دستگاه گوارش خود می باشد و آنزیم های گوارشی قوی که در طول دوره تغذیه تولید می شوند می توانند باعث خود هضمی (Autolysis) سریع طی مراحل نهایی نگهداری شوند (۳۹). این مسئله می تواند باعث ایجاد بوی نامطبوع شدیدی شود که مربوط به شکسته شدن پروتئین و تولید ترکیبات فرار نیتروژنی خصوصاً در ناحیه شکمی می باشد و حتی می تواند منجر به ترکیدن شکم ماهی (belly-burst) شود (۴۰، ۲۴). بنابراین می توان بیان نمود که زمان ماندگاری ماهی گاریز در زیر یخ حداکثر دو هفته، می باشد، زیرا بعد از این زمان کیفیت ظاهری و حسی این گونه پایین آمد. بنابراین با توجه به نتایج

(۵۰، ۳۶). در خصوص روند توسعه باکتری های مزوفیل و سرما دوست در این تحقیق ، بدلیل شرایط مناسب از نظر دمای نگهداری زیر یخ (حدود $+2\text{ C}$) باکتریهای سرما دوست نسبت به باکتریهای مزوفیل از نظر تعداد فعالیت بیشتری از خود نشان داده و قادر بوده اند که زودتر از باکتریهای مزوفیل بافت عضلانی ماهی را مورد تهاجم قرار دهند. هنگامیکه از فساد آبیان و فراورده های دریایی صحبت می شود باید توجه داشت که عوامل فساد این محصولات عمدتاً باکتریهای سرما دوست *Psychrophilic bacteria* می باشند. این باکتریها قادرند در صفر درجه سلسیوس یا بیشتر فعالیت نموده و تکثیر پیدا نمایند. به این منظور این باکتریها پس از گذراندن مرحله سکون با فاز تاخیری *Lag Phasa* و عادت به محیط، به سرعت وارد فاز لگاریتمی شده و در شرایط بی هوازی تکثیر پیدا می نمایند. بطوریکه تعداد آنها به سرعت تا $10^9 - 10^8$ در هر گرم عضله یا هر سانتیمتر مربع پوست می رسد. افزایش تعداد باکتریهای ماهی در سرم معمولاً با تغییرات کیفی همراه است. در این حال عمده تغییرات به وجود آمده در نتیجه فعالیت دو جنس غالب سودو مونس و آلترومونس بوده که دلیل آن کوتاهتر بودن زمان تکثیر آنها در درجه حرارت پایین نسبت به سایر گونه ها می باشد (۷). به نظر میرسد که از ابتدای نگهداری ماهی تا روز چهاردهم بدلیل کاهش رطوبت ناشی از فشار یخ موجود بر روی ماهی و در نتیجه بالا رفتن غلظت آمین های فرار در بافت ماهیچه ای و احتمالاً فعالیت بخشی از آنزیمهای موجود در امعاء و احشاء و نفوذ به بافت، مقدار ازت کل فرار به طور محدودی افزایش یافته است. از روز چهاردهم به بعد با افزایش و فعالیت ماهی دامنه باکتریهای سرما دوست و آنزیمهای مترشحه از آنها باعث تجزیه پروتئینی و در نهایت تولید آمین های فرار نموده است و سبب بالا رفتن میزان کل ازت

فرار با شیب تندتری در بافت عضلانی ماهی شده است. ازت کل فرار در گوشت ماهی ترکیبی از آمونیاک، تری متیل آمین (TMA) و دی متیل آمین (DMA) می باشد (۸). در مورد فساد میکروبی نیز ، باکتری های گرم منفی سرمادوست، میکروارگانیزم های اصلی مسئول فساد ماهیان تازه نگهداری شده به صورت سرد هستند (۴۹ و ۴۸). نتایج آنالیزهای میکروبی نیز کندتر شدن روند رشد باکتری های سرماگرا و مزوفیل در تیمار مربوطه را نشان داد. نتیجه گیری کلی آنکه استفاده از یخ، زمان ماندگاری ماهی گاریز نگه داری شده در $4-0$ درجه را از حیث تغییرات میکروبی و شیمیایی (تا ۱۴ روز) افزایش میدهد. نتایج مشابه در مطالعاتی که بر روی فیله گربه ماهی (۵۰)، فیله *L. Lentjan* (۵۳) ماهی لکه مروریدی (*E. suratensis*) (۵۳) و ماهی آزاد اقیانوس آرام (*O. nerka*) انجام شد نیز بدست آمد (۴۷). برای بررسی ارتباط بین تغییرات تری متیل آمین با تغییرات بار باکتری هادر ماهیان نگهداری شده در یخ، از آزمون رگرسیون خطی استفاده شد و معادله رگرسیونی آن بدست آمد. نتایج نشان داد که مقدار تری متیل آمین بیشترین همبستگی را با باکتری های سرمادوست داشته است. همچنین سنجش مداوم pH نشان داد که افزایش آن با افزایش فعالیت باکتری ها و روند رو به توسعه مجموع باز های فرار نیتروژنی ارتباط مستقیم و همبستگی معنی داری داشته است ($R^2=0.92$). (Hasegawa, 1978) بیان می دارد که گوشت ماهی تقریباً از نظر pH خنثی بوده و اسیدیته آن نزدیک به ۷ است که پس از مرگ ماهی با تجزیه گلیکوژن و تبدیل آن به اسید لاکتیک pH آن کاهش یافته و بر طبق نوع و گونه ماهی سریعاً بعد از جمود نعشی ، به $6/4$ تا $6/8$ و گاهی تا $5/4$ کاهش می یابد و بعد از رشد باکتریها بر روی ماهی pH مجدداً افزایش می یابد (۷). نتایج نشان داد که میزان چربی ماهی کفال پشت سبز

۴- تقی زاده اندواری، ق. رضایی، م.، ۱۳۹۱. اثر پوشش ژلاتینی بر ویژگی های شیمیایی، میکروبی و حسی فیله ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در دمای یخچال. فصلنامه علوم و صنایع غذایی. ۹ (۳۷): ۶۷-۶۶.

۵- جلالیان، م. شعبان پور، ب. شعبانی، ع. گرگین، س. خمیری، م.، ۱۳۹۰. ارزیابی کیفیت ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) منجمد شده قبل و بعد از جمود نعشی، طی نگهداری در یخچال ($4 \pm 1^{\circ}\text{C}$). فصلنامه علوم و صنایع غذایی. ۸ (۱): ۱۱۱-۱۰۱.

۶- خرمگاه، م. رضایی، م.، ۱۳۹۱. تغییرات شیمیایی و حسی ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) طی نگهداری به حالت انجماد (-18°C). فصلنامه علوم و صنایع غذایی. ۹ (۳۷): ۱۰۷-۱۰۱.

۷- رضوی شیرازی، ح.، ۱۳۸۶. تکنولوژی فرآورده های دریایی علم فرآوری (۱). انتشارات نقش مهر. چاپ دوم. ۳۲۵ صفحه.

۸- سازمان شیلات ایران. ۱۳۸۹. سالنامه آماری شیلات ایران ۱۳۸۸-۱۳۷۹. دفتر برنامه ریزی - گروه آمار و مطالعات توسعه شیلاتی، انتشارات سازمان شیلات ایران. چاپ اول. تهران. ایران. ۶۰ صفحه.

۹- صادقی، س.ن.، ۱۳۸۰. ویژگیهای زیستی و ریخت شناسی ماهیان جنوب ایران. انتشارات نقش مهر. چاپ اول. ۴۳۸ صفحه.

۱۰- عسکری ساری، ا. ولایت زاده، م. حیدری، ز.، ۱۳۹۰. بررسی میزان آبچک و پروتئین آبچک ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) نمک زده در دمای یخچال. مجله فرآوری و تولید مواد غذایی. ۱ (۱): ۴۵-۵۰.

۱۱- علی، م. هدایتی فرد، م. پور غلام، ر.، ۱۳۹۰. تعیین زمان ماندگاری ماهی کفال طلایی (*Liza aurata*) شور

نسبتا بالا است. سطح پروتئین هم در حد متوسط است. (میزان پروتئین ماهیان را بین ۱۴ تا ۲۳ درصد از وزن بدنشان تعیین کرده اند). تفاوت در ترکیب شیمیایی، ارتباط نزدیکی با میزان غذای خورده شده، شنای مهاجرتی و تغییرات جنسی مرتبط با تخم ریزی دارد. (۲۴) به هر حال مدت ماندگاری ماهی کفال پشت سبز طی نگهداری در زیر یخ با استفاده از ارزیابی شیمیایی و میکروبی حدود ۱۴ روز می باشد. به عبارت دیگر می تواند تا ۱۴ روز دارای کیفیت نسبی بوده و مورد مصرف قرار گیرد. در تحقیق حاضر در تمامی ماهیان مورد مطالعه و کلیه گروهها تعداد کلی باکتریها و کلیفرمها در ماهیان حمل شده در کنار یخ نسبت به ماهیان حمل شده در دمای محیط به طور معناداری پائین تر بود و این مورد بر اهمیت سرد کردن سریع ماهی بلافاصله پس از صید تأکید می کند.

منابع

۱- اسدی، ه. دهقانی پشترودی، ر.، ۱۳۷۵. اطلس ماهیان خلیج فارس و دریای عمان. انتشارات وزارت جهاد کشاورزی. چاپ اول. تهران. ۲۲۶ صفحه.

۲- اعتمادیان، ی. شعبان پور، ب. صادقی ماهونک، ع. شعبانی، ع. یحیایی، م. دوردیئی، خ.، ۱۳۹۰. اثر بسته بندی تحت خلاء بر ویژگی های شیمیایی، میکروبی و حسی فیله های ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) نگهداری شده در یخ. نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران. ۷ (۲): ۳۰۴-۲۹۸.

۳- باقرپور، ع. قراگوزلو، س. معینی، س.، ۱۳۸۹. مطالعه تغییرات شیمیایی و کیفی خمیر ماهی تهیه شده از ماهی فیتوفاگ در طی نگهداری در سردخانه ۱۸- درجه سانتیگراد. اولین همایش ملی علوم آبزیان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بوشهر، ۱۰ صفحه.

- Adeparusi, E.O., 2007. Changes in physico-chemical and sensory characteristics of smoked-dried fish species stored at ambient temperature. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*. 7(6), 1-16.
- 22-Gunsen, U. Ozcan, A. & Aydin, A., 2011. Determination of Some Quality Criteria of Cold Stored Marinated Anchovy under Vacuum and Modified Atmosphere Conditions. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 11, 233-242.
- 23-Horner, W.F.A., 1997. Preservation of fish by curing (drying, salting and smoking). In: *Fish Processing Technology*. 2nd ed. Hall, G. M. (Ed.). London: Blackie Academic & Professional (Chapman & Hall). pp 32-72.
- 24-Huss, H.H., 1995. Quality and Quality changes in fresh fish. *FAO Fisheries Technical Paper 348*. 195 pages. FAO. Rome. Italy.
- 25-Hulin H. O. 1994. Oxidation of lipid, in *Seafood Chemistry Processing technology and Quality*. F. Shahidi and J. R Botta(Ed), pp. 49-74.
- 26-Hassegawa, H. 1987. *Laboratory manual on analytical methods and procedure for fish and fish products*, Marine fisheries research department , SEAFDEC, Singapore.
- 27-Ibrahim, S.M., Salha, G. 2009. Effect of Antimicrobial Metabolites Produced by Lactic Acid Bacteria (Lab) on Quality Aspects of Frozen Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fillets. *World Journal of Fish and Marine Sciences* 1 (1): 40-45
- 28-ICMS " International Commission on Microbiological Specification for food ". 1986. *Microorganism in foods*. 2. Sampling for microbiological analysis: principle sand specific applications(2nded). Buffalo, NY: Visessanguan, W., 2005. Combination و بسته بندی شده در خلاء در دمای ۴ درجه سانتیگراد. مجله پژوهش های علوم و فنون دریایی. ۶ (۲): ۷۰-۶۱.
- ۱۲- غیاثوند، ز. چنگیزی، ر. معینی، س. متین فر، ع.، ۱۳۸۸. تولید کوفته ماهی از مید و تاثیر مواد نگهدارنده در زمان نگهداری آن در سردخانه ۱۸- سانتیگراد. مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر. ۳ (۱): ۵۴-۴۷.
- ۱۳- هدایتی فرد، م. اروجعلیان، ع.، ۱۳۸۹. افزایش زمان نگهداری فیله ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) تازه در شرایط بسته بندی تحت اتمسفر اصلاح شده (MAP) و خلاء. مجله شیلات ایران. ۱۹ (۳): ۱۴۰-۱۲۷.
- 14-AOAC, 1995. Official methods of analysis. Association of official analytical chemists. INC., Arlington, Virginia, USA.
- 15-Castro, P. Padron, J.C.P. Cansino, M.J.C. Velazquez, E.S. & De Larriva, R.M., 2006. Total volatile base nitrogen and its use to assess freshness in European sea bass stored in ice. *Food Control*. 17, 245-248.
- 16-Connell, J.J., 1975. *Control of Fish Quality*. Fishing News (Book) Ltd., Farnham, Surrey, UK.
- 17-Connell, J.J., 1990. *Control of Fish Quality*. Published by Fishing News Book. 3rd edition, 122-150.
- 18- Chytiri, S., I. Chouliara, I.N. Savvaidis and M.G. Kontominas. 2004. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Food Microbiology*. 21: 157-165.
- 19- Couzin, J. 2007. Nutrition. Dietary guidelines spark flap over fish consumption. *Science*. 318 (5850): 550-551.
- 20- Calder, P.C. 2006. Use of fish oil in parenteral nutrition: Rationale and reality. *Proc. Nutr. Soc.* 65(3): 264-77.
- 21- Daramola, J.A. Fasakin, E.A. &

- 29-Ivanova, I., Kabadjova, P., Pantev, A., Danova, S. and Dousset, X. 2000. Detection, purification and partial characterization of a novel bacteriocin substance from Boza- Bulgarian Cereal beverage. *Biocatalysis: Fundamentals and Application*, 41: 47-53.ish products, Marine fisheries research department , SEAFDEC,Singapore.
- 30-Kilinc, B. Cakil, S. Csdun, A. & Sen, B., 2009. Effect of phosphate dip treatments on chemical, microbiological, color, textural, and sensory changes of rainbow trout (*Onchoryncus mykiss*) fillets during refrigerated storage. *Journal of Food Product Technology*. 18, 108-119.
- 31-Kirk, R.S. & Sawyer, R., 1991. Nitrogen Determination. *Pearson's Composition and Analysis of Fooda*. Longman Scientific Publisher, London, 29-36.
- 32-Konig, L., 1910. Untersuchung von Nahrungs-und Genußmitteln and Gebrauchsgegenständen. Vol. 3 of his chemische zu sammensetzun. In 3 parts. *Bibl footnotes*.
- 33-Kyran, V.R. & Lougovois, V.P., 2002. Sensory, chemical and microbiological assessment of farm- raised European sea bass (*Dicentrarchus abrax*) stored in melting ice. *International Journal of Food Science and Technology*. 37, 319-328.
- 34- Loreal, H. and A. Lahsen. 2006. Quality of fish from catch to consumer: Labelling, monitoring and traceability. *Livestock Science*. 104 (2): 220-221.
- 35-Lakshmanan, P.T., 2000. Fish spoilage and quality assessment. In *quality Assurance in Seafood Processing* (T.S.G. Iyer, M.K.. Kandoran, M. Thomas and P.T. Mathew, eds.), 26-40, Society of Fisheries Technologists, Cochin, India.
- 36-Masniyom, P. Soottawat, B. & effect of phosphate and modified atmosphere on quality and shelf-life extension of refrigerated sea bass slices. *Journal of Food Science and Technology*. 38,745-756.
- 37- Odriscoll, R.L. and G.J. Macaulay. 2005. Using fish-processing time to carry out acoustic surveys from commercial vessels. *ICES Journal of Marine Science*. 62(2):295-305.
- 38-Oehlenschlager, J., 1992. Evaluation of some well established and some underrated indices for the determination of freshness and/or spoilage of ice stored wet fish . In *Quality Assurance in the Fish Industry*, Huss, H.H, (editor). Elsevier Science publishers B.V. Netherland. 339-351
- 39-Ozogul, F. & Ozogul, Y., 2000. Comparison of Methods Used for Determination of Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N) in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Zoology*. 24, 113-120.
- 40-Ozogul, F., Taylor, K.D.A., Quantick, T.P. & Ozogul, Y., 2000. Chemical, microbiological and sensory evaluation of Atlantic herring (*Clupea harengus*) stored in ice, modified atmosphere and vacuum pack. *Food Chemistry*. 71, 267-273.
- 41-Ozogul, F., Polat, A. & Ozogul, Y., 2004. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry*. 85, 49-57.
- 42-Ozyurt, G., Polat, A. & Tokur, B., 2007. Chemical and sensory changes in frozen (-18°C) wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) captured at different fishing seasons. *Internatinal journal of food science and Technology*. 42,887-893.
- university of Toronto press.

- 43- Paleologos, E.K., I.N. Savvaidis and M.G. Kontominas. 2004. Biogenic amines formation and its relation to microbiological and sensory attributes in ice-stored whole, gutted and filleted Mediterranean Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Food Microbiology*. 21: 549-557.
- 44-Papadopoulou, V. Chouliara, I. Badeeka, A. Savvaidis, I.N. & Kontominas, M.G., 2003. Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) Stored in ice. *Food Microbiology*. 20(4), 411-420.
- 45-Park, Y.H. Chai, S.A. & Ahn, C.W., 1981. Changes in contents of amines in the dark fleshed fish meat during processing and storage 2; Formation of DMA and TMA in salted and dried mackerel. *Fisheries Society*. 14, 7-14.
- 46-Pearson, D., 1986. *The Chemical Analysis of Food*. Churchill Livingstone, Edinburgh, London and New York.
- 47-Samelis, J., Sofos, J. N., Kain, M. L., Scanga, J. A., Belk, K. E., & Smith, G. C. 2001. Organic acids and their salts as dipping solutions to control *Listeria monocytogenes* inoculated following processing of sliced pork bologna stored at 4°C in vacuum packages. *Journal of Food Protection*, 64, 1722-1729.
- 48-Schillinger, U., R. Geisen, W.H. Holzapfel, 1996. Potential antagonistic micro-organisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. *Trends of Food Science and Technology*, 7: 158-208.
- 49-Siddaih D., Vdya G., Raju C. V., Chandracekhar T. C. 2000. "Changes in lipids, protein and kamaboko forming ability of Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) mince during frozen storage"; *Journal of Food Research International*; 34: 47-53.
- 50-Soomro, A. H., Masud, T. and Anwaar, K. 2002. Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1: 20-24.
- 51-Shakila, R. Jeyasekaran, G. & Vijayalakshmi, S., 2005. Effect of vacuum packaging on the quality characteristics of seer fish (*Scomberomorus commersonii*) chunks during refrigerated storage. *Journal of Food Science and Technology*. 42, 438-443.
- 52-Trinidad, L.M. & Estrada, M.H., 1982. Effect of Raw Material Freshness on the Quality of Smoked Tilapia (*Oreochromis niloticus*). In: Maclean JL, Dixon L B and Hosilus L V (Eds). *The first Asian Fisheries forum*. Manilla, Philippines, 471-472.
- 53 -Yin, M. C , & Cheng, W. S. 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic derived organosulfur compounds in ground beef. *Meat sci*, 63. 23-28.