Archive of SID

تأثیر ضد اکسیدانی و باکتریایی نایسین ریزپوشانی شده با نانو لیپوزوم در فیله ماهی کپور نقره ای(*Hypophthalmichthys molitrix*) در دمای یخچال (۴±۱° C)

زهره یساری[۱]، سید روح الله جوادیان[۲]*، محمد رضا سعیدی اصل[۳]، رضا صفری[۴]

ro.javadian@gmail.com

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد مهندسی شیلات- دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر.

۲- استادیار گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر.

۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار

۴-مربی پژوهشی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، سازمان شیلات ایران.

تاریخ دریافت:اردیبهشت ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش:مرداد۱۳۹۳

چکیده

قابلیت فساد پذیری بالای ماهیان سبب شده تا حفظ کیفیت ماهی تازه، یکی از مسائل مهم در فرآوری ماهی باشد. هدف این مطالعه، ارزیابی اثر ضد باکتریایی و اکسیدانی نایسین ریزپوشانی شده با نانولیپوزوم روی فیله ماهی کپور نقره ای هنگام نگهداری در یخچال بود. فیله های ماهی، توزین گشته و نایسین ریزپوشانی شده با نانو لیپوزوم با دو واحد حجمی ۷۰۰ و ۱۰۰۰ IU به فیله ها اسپری شدند. سپس فیله ها بسته بندی شده و درون یخچال نگهداری شدند. شاخص های مورد بررسی در طول زمان نگهداری شامل شاخص های شیمیایی (عدد پراکسید، مواد واکنشگر با تیوباربیتوریک اسید (TBARS) و مجموع بازهای نیتروژنه فرار) و باکتریایی (شمارش باکتریهای کل و باکتریهای سرمادوست) در زمانهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد، تمامی شاخص ها در نمونه های شاهد، بالاتر از تیمار حاوی نایسین ریزپوشانی شده بود، یعنی اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد($p<۰/۰۵$) . شاخص های میکروبی در تیمارهای دارای نایسین ریزپوشانی شده با نانولیپوزوم در آغاز دوره دارای روند افزایشی بوده و از آن پس با سرعت رشد کمتری نسبت به نمونه های شاهد افزایش یافت. شاخص های شیمیایی نیز در تیمار های حاوی نایسین نسبت به تیمار شاهد با شیب کمتری افزایش یافت. بنابراین استفاده از نگهدارنده طبیعی مانند نایسین ریزپوشانی شده با نانولیپوزوم هنگام نگهداری فیله ماهیان در یخچال سبب افزایش ماندگاری فیله خواهد شد. بهترین فرمول پیشنهادی با مقایسه دو غلظت آزمایش شده، استفاده از نایسین انکپسوله با واحد حجمی ۱۰۰۰ IU است.

کلمات کلیدی: ریزپوشانی شده، زمان ماندگاری، فیله کپور نقره ای، نانولیپوزوم، نایسین.

*نویسنده مسئول

www.SID.ir

Archive of SID

۱.مقدمه

ماهیان پرورشی نقش به سزایی دررفع نیاز غذاهای پروتئینی حاصل ازآبزیان ایفا می‌کنند.غذاهای دریایی دارای تمام اسیدهای آمینه ضروری به مقدار و نسبت لازم می باشند(۱). از مهمترین ماهیانی که پرورش آنها در ایران متداول است و سازگاری بسیارخوبی با اقلیم‌های متنوع ایران دارد، ماهی کپور نقره‌ای (فیتوفاگ) (*Hypophthalmichthys molitrix*) می‌باشد.این ماهی‌درفصل تولید به میزان انبوه‌از مزارع پرورشی برداشت می‌شود.

آبزیانو به ویژه ماهی‌ها، به دلیل pH مناسب عضله (pH>6)، حضور مقادیر بالای نیتروژن غیر پروئتینی (NPN)، مقادیر بالای اسیدهای غیراشباع، حضور آنزیم‌های اتولیزکننده و... در مقایسه با سایر محصولات گوشتی، زمان ماندگاری کوتاهتری دارند (۸). نسبت به فساد بسیار حساس بوده و سریع‌تر از سایر غذاهای گوشتی فاسد می‌شوند (۷). معمولا بروز واکنش‌های آنزیمی و شیمیایی، سبب افت اولیه در تازگی ماهی می‌شود در حالی که فعالیت‌های میکروبی مسول فساد ثانویه و تعیین-کننده زمان ماندگاری ماهی هستند (۲۸). بنابراین، استفاده از موادی مناسب با فعالیت آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی به منظور بهبود کیفیت، افزایش عمر ماندگاری و همچنین جلوگیری از ضررهای اقتصادی، ضروری و مفید به نظر می-رسد (۳۵).

نگهدارنده‌ها ترکیباتی هستندکه برای به تأخیر انداختن ویا ممانعت ازفساد شیمیایی و یا میکروبی غذا استفاده می‌شوند. دسته‌ای از مواد نگهدارنده که امروز مورد توجه بسیاری هستند ، نگهدارنده‌های طبیعی می‌باشند که از مهم‌ترین آنها نایسین است. نایسین، پپتیدی حاوی ۳۴ آمینواسید از گروه A لنتی-بیوتیک[1] هاست، که از باکتری های لاکتوباسیلوس لاکتیس[2] تولید می‌شود و استفاده از آن به منظور افزایش مدت زمان ماندگاری و کنترل باکتری‌های نامطلوب در بسیاری از مواد غذایی رایج می‌باشد (۱۳ و ۱۶). مهمترین علت استفاده از نایسین به عنوان نگهدارنده طبیعی این است که این ماده کاملا بی ضرر است، توسط پروتئازهای دستگاه گوارش به اسیدهای آمینه تشکیل‌دهنده آن تجزیه می شود و تغییری در خواص ارگانولیپتیک مواد غذایی ایجاد نمی‌کند (۹).

عملکردنایسین‌براساس‌ارگانیسم هدفش به۳ گروه اصلی تقسیم می‌شود:

- ممانعت از فساد ماده غذایی با از بین بردن باکتری های تولیدکننده اسپور
- ممانعت از فساد میکروبی ایجاد شده توسط باکتری های اسید لاکتیک
- از بین بردن یا ممانعت از عملکرد باکتری های گرم مثبت بیماریزا مانند باسیلوس سرئوس، کلاستریدیوم بوتولینوم و لیستریا مونوسیتوژنز (۳۱).

با وجود اینکه نایسین به طور وسیعی به عنوان ماده ضد باکتری طبیعی موثر بر علیه بسیاری از میکروبهای بیماریزای غذا، مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما این امر به اثبات رسیده است که کارایی ضد میکروبی آن به مقدار زیادی به علت واکنش با محتویات ماده غذایی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، آنزیم‌ها و یون-هاکاهش می‌یابد. از این رو بسیاری از محققین روشهای انتقالی را برای مواد ضدمیکروبی معرفی کرده‌اند تا آزادسازی پایدار را برای این مواد فراهم سازد و تأثیر محتویات غذا را بر این مواد به حداقل خود کاهش دهد (۳۴).

ازطرفی‌استفاده از نایسین در فرم آزاد اقتصادی نمی‌باشد (۲۷). بنابراین انجام مطالعات تحقیقی بیشتر جهت حفظ اثر و افزایش کارایی این نگه‌دارنده بیولوژیک در مواد غذایی ضروری می-

[1]. Lantibiotics

[2]. Lactic Acid Bacteria

www.SID.ir

Archive of SID

باشد.یکی‌ازراهکارها برای غلبه‌بر این‌محدودیت‌ها ریزپوشانی[3] کردن نایسین در گویچه‌های فسفولیپیدی نظر لیپوزوم می‌باشد. ریزپوشانی کردن نایسین سبب کاهش فعالیت نایسین با مواد غذایی می‌شود و ممکن است خاصیت ضدباکتریایی آن را در مواد غذایی بهبود بخشد (۲۰ و ۳۲).

لیپوزوم‌ها، گویچه‌های کوچکی هستند که از لیپیدهای دوگانه دوست[4] تشکیل شده‌اند. وجود دو فاز لیپیدی وآبی در ساختار گویچه‌های لیپیدی آنها رابرای گیر انداختن، انتقال و رهاسازی مواد قابل حل در آب، قابل حل در چربی و مواد دو قطبی مناسب می‌کند (۱۴). به دلیل توجه روزافزون به نگهدارنده-های طبیعی، مطالعات متعددی پیرامون اثرات ضدباکتریایی نایسین‌در محیط آزمایشگاهی صورت گرفته است،اما مطالعات‌اندکی در زمینه تأثیر این ماده درفرآورده‌های گوشتی خام به ویژه گوشت ماهی انجام شده است.

در حال حاضر نایسین به عنوان یک افزودنی غذایی در بیش ۵۰ کشور مجاز شناخته شده است. مقدار استفاده از نایسین در اغلب غذاها بین ۲/۵ تا ۱۰۰ ppm است (۶). بنابراین هدف از این تحقیق، استفاده از ماده‌ی نگه‌دارنده نایسین ریزپوشانی شده با نانولیپوزوم و تأثیر ضداکسیدانی و ضدباکتریایی آن بر فیله کپور نقره‌ای بوده است.

۲.مواد و روشها

برای انجام آزمایش در خردادماه، ماهی‌های فیتوفاگ موردنیاز به تعداد ۱۴ عدد با میانگین وزنی ۵۰ ± ۹۰۰ گرم، از یکی از استخرهای منطقه واقع در ساری خریداری شده و با رعایت شرایط صحیح (قرار دادن در جعبه های عایق پر از یخ) به آزمایشگاه پژوهشکده اکولوژی دریای خزر واقع در ساری منتقل شده و پس از سرزنی، تخلیه امعا و احشاء، کندن پوست و استخوان‌گیری ماهیان به صورت دستی (در شرایط آزمایشگاه با دمای تقریبی ۲۵ درجه سانتی-گراد)، از هر ماهی ۴ فیله با وزن نسبی ۵۰ گرم، که دو فیله از قسمت دوم و دو فیله نیز از قسمت شکمی ماهی با چاقو استریل و تیز جدا گردید، برای انجام تیمارهای مختلف آماده گردید.

دو غلظت از نایسین انکپسوله شده با واحد حجمی (۷۰۰IU، ۱۰۰۰IU)به روش اسپری به فیله کپور نقره‌ای اضافه شد.

× (۳) تکرار × (۲) غلظت آن × (۱) نایسین انکپسوله

۳۶= (۶) زمان

۱۸= (۶) زمان × (۳) تکرار × (۱) شاهد

۵۴= ۳۶+۱۸

محلول ۲/۵ ٪ نایسین (شرکت serva، آمریکا) که حاوی ۱۰۰۰ IU/mg (واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم) ماده خشک (۷۵ ٪کلرید سدیم و ۲۲/۵ ٪ شیر خشک) بوده تهیه شد (۴). محلول نایسین ۲/۵ ٪ با غلظت ۶ میلی‌گرم ماده جامد در ۱ میلی‌لیتر حلال (اتانول آبدار ۵۰٪ v/v) تهیه شده و به مدت ۶ ساعت با هم‌زن بهم زده که دمای درونی آن $105\ ^{\circ}C$ و دمای بیرونی آن نیز متعاقبا $68\ ^{\circ}C$ بود (۳۴). ماده‌ای که برای ریزپوشانی کردن مورد استفاده قرار گرفته نانولیپوزوم (Merck، آلمان) بوده که به شکل تجاری تهیه و ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه با اسیدلینولئیک (Merck، آلمان) به مقدار ۰/۱۳۰ درصد (بعنوان سورفاکتانت) در دمای ۴۰ درجه به هم زده شده (pH=۴/۵) (۳۴).

پس از پایان زمان انکوباسیون، نایسین به مخلوط لیپوزوم و سورفاکتانت اضافه شده و به مدت ۲ ساعت در دمای محیط مخلوط به هم زده شد. مخلوط مذکور در دستگاه خشک‌کن پاششی(UK Ltd Yo14 OPH Lab-plant، انگلستان) با سرعت ۵/۲۶ ml/min یا ۱۰۰٪ هوادهی، در حالتی قرار گرفت که دمای ورودی ۱۰۵ درجه و دمای خروجی ۶۸ درجه خشک شد (۳۰).

[3]. Encapsulation
[4]. Amphipatic

www.SID.ir

Archive of SID

سپس فیله‌ها را، با کپسول‌های نایسین به دست آمده با این روش، با دو غلظت ۷۰۰ IU و ۱۰۰۰ IU به صورت دستی اسپری گردید (۳۴). سپس نمونه‌ها به صورت هوازی درون ظرف‌های یکبار مصرف سربسته بسته‌بندی شده و درون یخچال (۱±۴ °C) به مدت ۱۵ روز نگهداری شوند و به فاصله زمانی هر ۳ روز یک بار از نظر پارامترهای میکروبی و شیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند.

اندازه‌گیری شاخص‌های شیمیایی عددپراکسید (PV) از روش پیرسون (۲۵) و اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید به روش Hedayatifard و همکاران صورت گرفت (۱۰). مقدار بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) مطابق روش (۲) محاسبه گردید. تعدا باکتری‌های کل (۳) و باکتری‌های سرمادوست (۱۷) در محیط کشت TSA (Tryptic Soy Agar) به ترتیب در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز با شمارش کلنی-های موجود بر روی محیط کشت صورت گرفت. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از دو تیمار از آنالیز واریانس دو طرفه (ANOVA) و برای بررسی تفاوت بین میانگین‌ها در زمان‌های مختلف برای یک تیمارو انجام آنالیزهای آماری از نرم‌افزار SPSS17 استفاده شد. خطای مجاز برای رد H_0، ۵ درصد در نظر گرفته شد ($p<۰/۰۵$).

۳.نتایج

آنالیز میکروبی

شمارش کل باکتری‌ها (TVC)

نتایج آنالیز شمارش کل باکتری‌ها، در جدول ۱ نشان داده شده است. طبق نتایج حاصله، میزان کل باکتری‌های قابل روئیت در تمامی تیمارها در طول زمان روند افزایشی داشت، یعنی در روز صفر کمترین و در روز ۱۵ بیشترین مقدار را داشت. همچنین اختلاف معنی‌دار بین زمان‌های مختلف آزمایش مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). کمترین میزان شمارش باکتری‌های کل در روز ۱۵ در نمونه حاوی نایسین ریز پوشانی شده ۱۰۰۰ IU (۷/۲۵±۰/۰۲). و نیز بیشترین میزان شمارش باکتری‌های کل در روز ۱۵ در نمونه شاهد فاقد نگهدارنده مشاهده شد (۹/۴۲±۰/۰۷). در این شاخص، غلظت بین دو تیمار نایسین ریزپوشانی شده در روز ۱۲ نگهداری دارای اختلاف معناداری بود.

جدول۱- تفاوت بین مقادیر میانگین شمارش باکتری‌های کل (Log CFU/g)[1] در زمانهای مختلف نگهداری برای هر تیمار

تیمار	روز					
	۰	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد (فاقد نگهدارنده)	۳/۴±۰/۱۲ *fA	۴/۷۸±۰/۰۷eA	۶/۳۱±۰/۰۷dA	۷/۴۹±۰/۰۵cA	۸/۴۹±۰/۰۵bA	۹/۴۲±۰/۰۷aA
IU۷۰۰نایسین ریزپوشانی شده	۳/۳۰±۰/۰۵fB	۴/۲۷±۰/۰۴ eB	۵/۳±۰/۰۵ dB	۶/۲۸±۰/۰۱ cB	۶/۸±۰/۰۴bB	۷/۲۶±۰/۰۱aB
IU۱۰۰۰نایسین ریزپوشانی شده	۳/۳۱±۰/۰۷ fB	۴/۲۲±۰/۰۲eC	۵/۲۳±۰/۰۳ dB	۶/۲۲±۰/۰۳cC	۶/۶۲±۰/۰۴bB	۷/۲۵±۰/۰۲aB

* داده‌ها براساس (انحراف معیار ± میانگین) است.

حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) در روزهای مختلف برای یک تیمار مشخص و حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در یک روز برای تیمارهای مختلف می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج تغییرات باکتری‌های سرمادوست، در جدول ۲ نشان داده‌شده‌است.طبق‌نتایج‌حاصله،میزان‌باکتری‌های سرمادوست در تمامی تیمارها در طول زمان روندی افزایشی داشت، همچنین اختلاف معنی‌دار بین زمان‌های مختلف به جز روز صفر بین تیمارها آزمایش مشاهده شد (p<۰/۰۵). کمترین میزان شمارش باکتری‌های سرمادوست در روز ۱۵ دارای تفاوت معنادار بین دو غلظت به جز روزهای ۰ و ۳ و۹ نگهداری می‌باشد (p<۰/۰۵). درنمونه‌حاوی‌نایسین‌ریزپوشانی شده ۷۰۰ IU (۷/۱۷±۰/۰۳) و بیشترین میزان شمارش باکتری‌های سرمادوست در روز ۱۵ نیز در نمونه شاهد فاقد نگهدارنده مشاهده شد (۹/۲۳±۰/۰۲) . غلظت اختلاف معناداری بین تیمارهای نایسین ریزپوشانی شده نداشت.

جدول۲- تفاوت بین مقادیر میانگین شمارش باکتری‌های سرمادوست (Log CFU/g) بر فیله فیتوفاگ در یخچال

تیمار	روز					
	۰	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد (فاقد نگهدارنده)	fA* ۳/۲۳±۰/۰۱	eA۴/۴±۰/۰۵	dA۶/۱۴±۰/۰۲	cA۷/۲۳±۰/۰۳	bA۸/۲۶±۰/۰۵	aA۹/۲۳±۰/۰۲
نایسین ریزپوشانی شده ۷۰۰IU	۳/۲۷±۰/۰۵fA	eA۴/۱۴±۰/۰۳	dB۵/۱۵±۰/۰۲	cB۶/۱۳±۰/۰۱	bB۶/۳۷±۰/۰۳	aB۷/۱۷±۰/۰۳
نایسین ریزپوشانی شده ۱۰۰۰IU	۳/۲۴±۰/۰۴fA	eA۴/۱۲±۰/۰۱	dB۵/۱۲±۰/۰۲	cB۶/۱۳±۰/۰۲	bC۶/۲۶±۰/۰۵	aB۷/۲۳±۰/۰۱

* داده‌ها براساس (انحراف معیار ± میانگین) است.

حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) در روزهای مختلف برای یک تیمار مشخص و حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در یک روز برای تیمارهای مختلف می‌باشد.

آنالیز شیمیایی

مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

مقادیر بازهای نیتروژنی فراردرجدول ۳ نشان داده شده است. مطابق نتایج، درتمامی تیمارها بین زمان‌های مختلف آزمایش به جز روز صفر اختلاف معنی‌داری وجود داشت (p<۰/۰۵). کمترین مقدار مجموع بازهای نیتروژنی فرار در روز ۱۵، در نمونه حاوی نایسین ریزپوشانی شده ۷۰۰IU (۳۲/۵۰±۰/۴۲) مشاهده و بیشترین مقادیر مجموع بازهای نیتروژنی فرار در روز ۱۵ نیز در نمونه شاهد فاقد نگهدارنده مشاهده شد (۴۱±۰/۴۱). تیمارهای نایسین ریزپوشانی شده

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۳- تغییرات مجموع بازهای نیتروژنی فرار (میلیگرم در ۱۰۰ گرم بافت) در زمان‌های مختلف نگهداری بر فیله کپور نقره‌ای

تیمار	روز					
	۰	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد (فاقد نگهدارنده)	۹/۳۲±۰/۰۴ *fA	۱۶/۳۱±۰/۱۴eA	۲۳/۱۸±۰/۳۶dA	۳۰/۳۸±۰/۰۴cA	۳۴/۴۱±۰/۰۴bA	۴۱±۰/۴۱aA
نایسین ریزپوشانی شده ۷۰۰IU	۹/۳۵±۰/۰۲fA	۱۴/۴۷±۰/۰۸eA	۱۶/۲۳±۰/۲۹dA	۲۲/۹۸±۰/۴۸cB	۲۹/۱۲±۰/۶۵bB	۳۲/۵۰±۰/۴۲aB
نایسین ریزپوشانی شده ۱۰۰۰IU	۹/۳۵±۰/۰۵fA	۱۴/۴۵±۰/۰۸eB	۲۰/۴۶±۰/۹۸dB	۲۳/۴۸±۰/۶۶cB	۲۴/۷۸±۰/۵۷bC	۳۲/۵۷±۰/۰۴aC

* داده‌ها براساس (انحراف معیار ± میانگین) است.

حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) در روزهای مختلف برای یک تیمار مشخص و حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در یک روز برای تیمارهای مختلف می‌باشد.

مقادیر عدد پراکسید (PV)

روند تغییرات پراکسید، درجدول ۴ نشان داده شده است. مطابق نتایج، در تیمارها بین زمان های مختلف آزمایش به جزروزصفر اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$). طی ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال، میزان پراکسید در تمامی تیمارها روند افزایشی داشت. کمترین میزان پراکسید در روز ۱۵ درنمونه حاوی نایسین ریزپوشانی شده ۱۰۰۰ IU مشاهده (۴/۳۳±۰/۰۴) و بیشترین میزان پراکسید در روز ۱۵ نیز در نمونه شاهد فاقد نگهدارنده مشاهده شد (۹/۸۲±۰/۰۴). غلظت بین تیمارهای نایسین دارای اختلاف معناداری در روزهای ۰ و ۱۲ نگهداری نبود.

جدول۴- نتایج تغییرات عدد پراکسید (میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم روغن) تیمارهای فیله ماهی کپور نقره‌ای با نایسین ریزپوشانی شده در نانولیپوزوم

تیمار	روز					
	۰	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد (فاقد نگهدارنده)	fA* ۱/۴±۰/۰۴	eA۱/۸۴±۰/۰۳	dA۲/۵۹±۰/۰۵	cA۴/۳۲±۰/۰۶	bA۶/۴۴±۰/۰۲	aA۹/۸۲±۰/۰۴
نایسین ریزپوشانی شده ۷۰۰IU	۱/۳۲±۰/۰۲fA	eB۱/۴۸±۰/۰۳	dB۱/۶۷±۰/۰۲	cA۳/۲±۰/۰۳	bB۳/۶±۰/۰۵	aB۴/۴۹±۰/۰۴
نایسین ریزپوشانی شده ۱۰۰۰IU	۱/۳۲±۰/۰۱fA	eC۱/۴۲±۰/۰۲	dC۲/۳۴±۰/۰۳	cB۳/۳۴±۰/۰۲	bB۳/۵۸±۰/۰۳	aC۴/۳۳±۰/۰۴

* داده‌ها براساس (انحراف معیار ± میانگین) است.

حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) در روزهای مختلف برای یک تیمار مشخص و حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در یک روز برای تیمارهای مختلف می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

مقادیر تیوباربیتوریک اسید (TBA)

تغییرات تیوباربیتوریک اسیددرجدول ۵ نشان داده شده است. مطابق نتایج، در بیشتر تیمارها بین زمان های مختلف به جزروزصفرآزمایش‌اختلاف‌معنی‌داری‌وجودداشت ($p<۰/۰۵$)، ولی در نمونه شاهد بین زمان‌های ۶ و ۹ روز تفاوت معناداری دیده نشد. کمترین مقدار تیوباربیتوریک اسید در روز ۱۵ نگهداری، در نمونه نایسین ریزپوشانی شده ۱۰۰۰IU (۲/۹۲±۰/۰۳) و بیشترین مقادیر تیوباربیتوریک اسید در روز ۱۵ نیز در نمونه شاهد فاقد نگهدارنده مشاهده شد (۳/۸۵±۰/۰۲). درتیمارهای نایسین ریزپوشانی شده با نانولیپوزوم، تفاوت معنادار آماری در روزهای ۶ و ۹ و ۱۲ نگهداری بین دو غلظت ۷۰۰ و ۱۰۰۰ IU مشاهده شده است ($p<۰/۰۵$).

جدول۵- تغییرات تیوباربیتوریک اسید (میلی‌گرم مالون دی‌آلدهید در کیلوگرم بافت) تیمارهای فیله کپور نقره‌ای با نایسین ریزپوشانی شده در نانولیپوزوم

تیمار	روز					
	۰	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد (فاقد نگهدارنده)	* eA۰/۹۴±۰/۰۱	dA۱/۷۴±۰/۰۵	cA۲/۸۷±۰/۰۳	cA۲/۹۲±۰/۰۶	bA۳/۳۷±۰/۰۳	aA۳/۸۵±۰/۰۲
نایسین ریزپوشانی شده ۷۰۰IU	۰/۹۵±۰/۰۱fA	eB۱/۵۵±۰/۰۷	dB۲/۴۵±۰/۰۲	cB۲/۷۱±۰/۰۵	bB۲/۸۵±۰/۰۳	aB۳/۱۴±۰/۰۳
نایسین ریزپوشانی شده ۱۰۰۰IU	۰/۹۴±۰/۰۱fA	eB۱/۵۸±۰/۰۳	dC۲/۴±۰/۰۲	cB۲/۴۴±۰/۰۱	bC۲/۶±۰/۰۴	aB۲/۹۲±۰/۰۳

* داده‌ها براساس (انحراف معیار ± میانگین) است.

حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) در روزهای مختلف برای یک تیمار مشخص و حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در یک روز برای تیمارهای مختلف می‌باشد.

۴.بحث

بیشترین حد پیشنهاد شده برای شمارش باکتریایی کل در ماهی ۷ logCFU/g است (۲۸). در مطالعه حاضر نیز بار باکتریایی با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت اما تا روز ۹ نگهداری بار باکتریایی کل، برای همه تیمارها کمتر از ۷ بود (به جز تیمار شاهد)، اما نمونه نایسین ریزپوشانی شده در روز ۱۵ نگهداری به بالاتر از این حد رسیده است که این موضوع احتمالا ناشی از ریزپوشانی کردن نایسین و در نتیجه اثر ضدمیکروبی آن می‌باشد.

اثرات قابل توجه نایسین بر رشد میکروبی در محصولات فرآوری شده ماهی احتمالا به فاکتورهای متعددی مثل غلظت نایسین مورد استفاده، روش استفاده از نایسین، زمان غوطه‌وری، گونه ماهی، نوع محصول، درجه‌ی آلودگی میکروبی و وضعیت نگه‌داری بستگی دارد (۱۲). باتوجه به نتایج، یک دوره ماندگاری تقریبا ۱۴-۱۵ روزه را باتوجه به بار باکتریایی موجود برای ماهی مورد مطالعه می‌توان در نظر گرفت.

باکتری سرمادوست گرم‌منفی گروه اصلی میکروارگانیزم-های عامل فساد ماهی نگهداری شده در دماهای سرد هستند

www.SID.ir

Archive of SID

(۲۸).بیشترین حد پیشنهاد شده برای باکتری‌های سرمادوست در فیله ماهیان logCFU/g ۷ است (۲۶). باتوجه به نتایج، تیمار شاهد در روز ۹ از این حد عبور کرده و در روز پایانی آزمایش، نمونه‌های ریزپوشانی شده رد شده‌اند که دلیل آن تأثیر بیشتر نایسین در فرم ریزپوشانی شده بر کاهش فعالیت باکتری‌های سرمادوست و همچنین تأثیر غلظت بالاتر بر افزایش کارایی نایسین دانست.

بازهای نیتروژنی فرار شاخص مناسبی برای ارزیابی تازگی ماهی‌های گوناگون می‌باشد. این شاخص عمدتا بوسیله تجزیه باکتریایی گوشت تولید می‌شود (۲۴). باکتری‌های پروتئولیتیک سبب افزایش تولید ترکیبات فرار بازی می‌شوند. نایسین به دلیل خاصیت ضدباکتریایی خود بر روی این گروه از باکتری‌ها تاثیر گذاشته و باعث کاهش ظرفیت باکتری‌هابرای‌دی آمینه‌کردن ترکیبات نیتروژن غیر پروتئینی می‌شود (۲۳). در مطالعه کنونی، پایین‌تر بودن میزان بازهای نیتروژنی فرار در تیمارهای آغشته به نایسین ریزپوشانی شده نسبت به تیمارهای شاهد، این مطلب را تأیید می‌کند. Ojagh و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰ به عنوان حد قابل قبول برای میزان بازهای نیتروژنی فرار را، ۳۰ میلی‌گرم نیتروژن را در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی انتخاب کردند (۲۱). باتوجه به نتایج،تیمار شاهد درروز۹وتیمار نایسین ریزپوشانی شده در روز ۱۵ از حد مجاز عبور کردند. نایسین ریزپوشانی شده IU ۷۰۰ دارای کمترین میزان در روز ۱۵ می‌باشد. که این امر نشان می‌دهد که استفاده از نایسین ریزپوشانی شده منجر به بهبود در افزایش ماندگاری فیله می‌باشد زیرا نایسین با تأثیر بر روی باکتری‌های پروتئولیتیک تولید ترکیبات نیتروژنی فرار را کاهش می‌دهد.

اندازه‌گیری عدد پراکسید به منظورتعیین فساد چربی یا اکسیداسیون خود به خودی چربی (هیدروپراکسیدها) به کار می‌رود که تولید آنها تغییری در ویژگی‌های حسی ماهی ایجادنمی‌کند، اما ممکن است منجر به ایجاد خطرهایی برای مصرف‌کننده شود(۲۲). پراکسیدها ترکیبات بدون طعم و بو هستند، نمی‌توانند به وسیله مصرف‌کنندگان تشخیص داده شوند ولی این ترکیبات سبب به وجود آمدن ترکیبات ثانویه مثل آلدئیدها و کتون ها می‌شوند که سبب بد شدن بو و طعم می‌شوند (۲۴). طبق نظر Xioa در سال ۲۰۱۰، کارایی ضدمیکروبی نایسین به مقدار زیادی به علت واکنش با محتویات ماده غذایی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، آنزیم‌ها و یون‌ها کاهش می‌یابد و ریزپوشانی کردن نایسین می‌تواند موجب شود تا از تأثیر این مواد بر نایسین جلوگیری شود. افزودن ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی مثل نایسین ریزپوشانی شده با نانولیپوزوم باعث کاهش میزان پراکسید تیمارها در کل دوره نگهداری و در نهایت افزایش عمر و نگهداری مواد غذایی می‌شود. حد قابل قبول پیشنهادی برای میزان پراکسید ۱۰ میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم روغن ماهی می‌باشد (۲۱).

بنابراین با توجه به نتایج، در تیمارها هیچ یک از تیمارها تا روز ۱۵ نگهداری از حد مجاز خود عبور نکردند وعمر ماندگاری فرآورده ازنظر ارزش پراکسید حداقل ۱۵ روز بود.در روز ۹ نگهداری شیب تندتری از تغییرات مشاهده شد که‌این امرممکن است به‌دلیل واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون وتولیدترکیبات‌کربونیلی‌نظیر استالدهید، پروپیونالدهیدواستن و اسیدهای‌چرب فرارنظیر اسیدکاپروئیک، اسیدپروپیونیک و گازهای فرار باشد(۳۳).روند تغییرات‌پراکسیددر تیمارهای شاهد نسبت به تیمارهای دیگر سریع‌تر بوده است که علت آن می‌تواند ناشی از تأثیر نایسین بر کاهش جمعیت باکتری‌های لیپولیتیک که ترشح‌کننده آنزیم لیپاز است باشد.

آزمایش تیوباربیتوریک اسید شاخص مناسبی برای تعیین پیشرفت اندازه‌گیری اکسیداسیون ثانویه چربی است (۵).

www.SID.ir

Archive of SID

محصولات ثانویه اکسیداسیون سبب ایجاد طعم و بوی نامطلوب در محصول می‌شوند (۱۸).

Asghari وهمکاران‌در سال ۲۰۱۰ تأثیر نایسین Z و استات سدیم را بر زمان ماندگاری فیله کپور نقره‌ای در طی نگهداری در دمای ۴ درجه را به مدت ۹ روز بررسی کردند (۴). در این آزمایش میزان TBA در نمونه‌های حاوی نایسین و تیمار شاهد در طول دوره نگهداری افزایش پیدا کرد،در پایان دوره آزمایش این میزان برای تیمار شاهد بالاترازحداستانداردو دردو تیماردیگر کم‌تر از حد استاندارد بود. حد مجاز پیشنهادی برای میزان تیوباربیتوریک اسید ۲ میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم چربی ماهی می‌باشد (۲۱) و مقادیر بالاتر از ۴-۳ میلی‌گرم مالون‌آلدهید در هر کیلوگرم روغن ماهی، نشان‌دهنده افت کیفیت آن بیان شده است (۱۱). باتوجه به نتایج، میزان این شاخص در روز ۱۵ نگهداری بیشترین میزان بوده و تیمار نایسین ریزپوشانی شده ۱۰۰۰IUشرایط بهتری نسبت به دیگر تیمارها داشت. علت را می‌توان در تأثیر بیشتر نایسین در فرم ریزپوشانی شده بر کاهش فعالیت‌های باکتری‌های لیپولیتیک موثر در فساد دانست.

نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج به دست آمده از آنالیزهای شیمیایی و میکروبی تیمارهای شاهد و حاوی نایسین ریزپوشانی شده با ۲ واحد حجمی (۷۰۰IU و ۱۰۰۰IU) که در فاصله زمانی ۱۵ روز صورت پذیرفت، عملکرد بهتر تیمارنایسین ریزپوشانی شده را در مقایسه با استفاده از تیمار شاهد جهت افزایش زمان ماندگاری فیله کپور نقره‌ای را تأیید می‌کند. علت تأثیر حفاظتی کپسول‌های نانولیپوزومی بر نایسین و تضمین پایداری آن در طول نگهداری، و جلوگیری از واکنش با سایر ترکیبات موجود در محیط در طی زمان و در نتیجه ممانعت از کاهش فعالیت نایسین می‌شود.شاخص‌هایی شیمیایی (مقادیر پراکسید، تیوباربیتوریک اسید و مجموع بازهای ازته فرار) در نمونه‌های نایسین ریزپوشانی شده کم‌تر از نمونه‌های شاهد بود. نتایج آنالیزهای میکروبی نیز کاهش معنی‌داریباکتری‌های‌سرمادوست‌وباکتری‌های‌کل‌درتیمارهای حاوی نایسین ریزپوشانی شده را نشان داد. در پایان می‌توان گفت، استفاده از نایسین ریزپوشانی شده با نانولیپوزوم، زمان ماندگاری فیله کپور نقره‌ای نگه‌داری شده در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد را از حیث تغییرات میکروبی و شیمیایی‌افزایش می‌دهد و می‌تواند تقاضای مصرف‌کنندگان به مصرف مواد غذایی‌کاملا طبیعی، با کیفیت بالاتر و ایمن‌تر را تأمین نماید.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از کارشناس محترم بیوتکنولوژی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر که هماهنگی‌های لازم را جهت پروژه انجام دادند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. رضوی شیرازی، ح .۱۳۸۰ . تکنولوژی فرآورده های دریایی. انتشارات نقش مهر. تهران. ۲۵ صفحه.

2. A.O.A.C(Association of Official Analytical Chemists).2002.Official method of analysis. (17th edition).Washington, DC.

3.A.O.A.C(Association of Official Analytical Chemists).2005.Official methods of analysis. Arlington. Virginia. USA.

4. Asghari, M., Alizadeh doughikollaee, E., Safari, R., Arshadi, A. 2010. Effects of bacteriocine Z on the shelf-life of silver carp fillets during refrigerated storage.Journal of food Processing & Production of Iran. P: 31-38.

5. Chouliara, I., Savvaidisa, I. N., Panagiotakisb, N., Kontominasa, M.G.

www.SID.ir

Archive of SID

2004. Preservation of salted. vacuumpackaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. Journal of Food Microbiology. 21: 351–359.

6. Calo-Mata, P., Arlindo, S., Boehme, K., Miguel, T., Pascoal, A., Barros-Velazquez, J. 2008.Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their bacteriocins for the biopreservation of aquatic food products. Food Bio process Technology. 1(1):43-63.

7.Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu J., Zhang, Y., Chi, Y. 2009. Effect of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. Journal of Food Chemistry; 115: 66-70.

8. Goulas, A. E., Kontominas, M. G. 2005. Effect of salting and smoking method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicos*): Biochemical and sensory attributes: Food Chemistry. 93: 511-520.

9. Guerra, N. P., Agrasar, A. T., Macias, C. L., Bernardez, P. F., Castro, L. P. 2007. Dynamic mathematical models to describe the growth and nisin production by *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* CECT 539 in both batch and re-alkalized fed-batch cultures. Journal of Food Engineering. 2: 103-113.

10. Hedayatifard, M. 2003. Fish and Shrimp Processing Technology. 1st Ed. Persia Fisheries Industries Company.Tehran; 120p.

11. Karacam, H. and Boran, M. 1996. Quality changes in frozen whole and gutted anchovies during storage at -18 ºC. International Journal of Food Science and Technology. 31: 527-531.

12. Kim, C. R., Hearnsberger, J. O., Vickery, A. P., White, C. H., Marshal, D. L. 1995. Extended shelf life of refrigerated catfish fillets using sodium acetate and monopotassium phosphate. Journal of Food Preservation. 58: 644-647.

13. Laridi, R., Kheadr, E. E., Benech, R. O., Vuillemard, J. C., Lacroix, C. Fliss, I. 2003. Liposome encapsulated nisin Z: optimization, stability, and release during milk fermetation.International Dairy Journal. 13:325-36.

14. Lasic, D. D. 1995. Applications of liposomes. In: Lipowsky R, Sackmann E, editors. Handbook of Biological Physics. Menlo Park, CA. Elsevier Science B.Vol. P: 491-519.

15. Martin, R. E., Carter, E. P., Flick, G. J., Davis, L. M. 2000. Marine and fresh water Products Handbook. Technomic Publishing Company. P: 964.

16. Mazzotta, A. S., Crandall, A. D., Montville, T. J. 1997. Nisin resistance in Clostridium botulinum spores and vegetative cells. Applied Environmental Microbiology. 63: 2654–2659.

17. McFaddin, J. F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, 7nd Ed.

18. Mexis, S.F., Chouliara, E., Kontominas, M.G. 2009. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf-life extension of rainbow trout fillets stored at on shelf-life extension of rainbow trout fillets stored at 4°C.Journal of Food Microbiology. 26: 598-605.

19. Natseba, A., Lwalinda, I., Kakura, E., Muyanja, C. K., Muyonga, J. H. 2005. Effect of pre-freezing icing duration on quality changes in frozen Nile perch (*Lates niloticus*). Food Research International. 38: 469-474.

20. Nettles Cutter, C., Siragusa, G. R. 1994. Decontamination of beef carcass tissue with nisin using a pilot scale model carcass washer. Food Microbiology. 11: (6), 481-489.

21. 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.

22. Olafsdottir, G., Martinsdottir, E., Oehlenschlager, J., Dalgaard, P., jensen, B., and Undeland, I. 1997.Methods to evaluate fish freshness in research and industry. Trends Food Science and Technology. 8: 258-263.

www.SID.ir

Archive of SID

23. Özogul, F., Polat, A., Özogul, Y. 2004. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). Food Chemistry. 85: 267-273.
24.Ozyurt, G., Kuley, E., Ozkutuk, S., Ozogul, F. 2009. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet *(Mullus barbatus*) and gold band goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. Journal of Food Chemistry; 114: 505–10.
25. Pearson, D. 1994. Laboratory technic in food analysis. Butter Worth. London, UK. Pp. 256-270.
26. Rezaei, M., and Hosseini, S. F. 2008. Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. Journal of Food science. 73: 93-96.
27. Roberts, R., F. 1991. Development of a nisin-producing starter culture for use in Cheddar cheese manufacture to inhibit spoilage in high-moisture pasteurized process cheese spreads. Ph.D. Thesis,University of Minnesota,Minneapolis,MN.
28. 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.
29. Sallam, Kh. I., Ahmed, A. M., Elgazzar, M. M., Eldaly, E. A. 2007. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4°C. Journal of Food Chemistry; 102: 1061-70.
30. Schmidt, SH. E. 2009. Antimicrobial efficacy of liposome encapsulated nisin and nisin inhibition against Listeria monocytogenes in fluid milk at different storage temperature .Thesis for degree of Master of Science. Texas A&M University.
31. Stiles, M. E. 1994. Potential for biological control of agents of foodborn disease. Food Research International; 27:245-250.
32. Teerakarn, A., Hirt, D. E., Acton, J. C., Rieck, J. R., Dawson, P, L. 2002. Nisin diffusion in protein films: Effects of film type and temperature. Journal of Food Science. 67, (8): 3019-3025.
33. Vidya, S.R. G., Srikar, L.N. 1996. Effect of preprocess ice storage on the lipid changes of Japanese threadfin bream (*Nemipterus japonicus*) mince during frozen.
Journal of Asian Fishery Science, 9: 109-14.
34. Xiao, D. 2010. Novel Delivery Systems of Nisin to Enhance Longterm Efficacy against Foodborne Pathogen Listeria Monocytogenes. Doctoral Dissertations. University of Tennessee, Knoxville. PP: 1-3.
35. Yin, M. C. and Cheng, W. S. 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic derived organosulfur compounds in ground beef. Meat Science; 63: 23-28.

www.SID.ir