اثرپوشش خوراکی پروتئین آب پنیر بر کیفیت میکروبی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگهداری شده در شرایط سرد

محمد خضری احمدآباد[۱]، مسعود رضائی[۲*]، سید مهدی اجاق[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، مازندران، نور

۲- دانشیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، مازندران، نور

۳- استادیار گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۲/۴/۸)

چکیده

پوشش پروتئین آب پنیر حاوی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد اسانس آویشن به منظور مهار باکتری‌های فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سرد شده مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش‌های میکروبی (بار کل باکتریایی، باکتری‌های سرمادوست، باکتری‌های اسید لاکتیک و انتروباکترها)، همچنین اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار و pH به صورت دوره ای هر چهار روز انجام گردید. نتایج نشان داد که پوشش پروتئین آب پنیر حاوی اسانس آویشن توانست از رشد باکتری‌های فیله جلوگیری نماید. همچنین مقادیر TVB-N و pH نیز در نمونه‌های پوششی در مقایسه با تیمار شاهد بطور معنی داری پایین تر بودند ($p<۰/۰۵$). از بین تیمارهای مورد استفاده در این تحقیق، تیمار پوششی حاوی ۱/۵ درصد آویشن موثرترین تیمار بر علیه باکتری‌های مورد آزمایش بود و در نتیجه توانست زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگهداری شده در دمای یخچال ($۴\pm۲^{\circ}C$) را در مقایسه با تیمار شاهد حداقل به مدت ۴ روز افزایش دهد.

کلید واژگان: پروتئین آب پنیر، اسانس آویشن، افزایش ماندگاری، فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

*مسئول مکاتبات: rezai_ma@modares.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

۱- مقدمه

گوشت و فرآورده‌های گوشتی از عوامل اصلی ایجاد مسمومیت‌های غذایی می‌باشند. این فرآورده‌ها مثل سایر منابع غذایی پروتئینی، طی نگهداری نسبت به فساد باکتریایی حساس می‌باشند [۱]. از طرفی گوشت ماهی نسبت به سایر منابع گوشتی به دلیل فعالیت آبی بالا، pH خنثی، مقادیر نسبتاً بالای اسیدهای آمینه آزاد و حضور آنزیم‌های اتولیز کننده نسبت به تجزیه باکتریایی آسیب پذیرتر می‌باشند [۲]. از روش‌های متداول برای جلوگیری از تاثیرات نامطلوب رشد میکروبی بر مواد غذایی می‌توان حرارت‌دهی، خشک کردن، انجماد، نگهداری در یخچال، پرتودهی، بسته‌بندی تحت شرایط اتمسفر اصلاح شده، افزودن عوامل ضد میکروبی و نمک را نام برد که بسیاری از این روش‌ها را نمی‌توان برای نگهداری ماهی به شکل تازه و خام که از تقاضای زیادی در بین مصرف کنندگان برخوردار است به کار برد [۳]. همچنین، بسیاری از غذاهای نگهداری شده در یخچال از جمله ماهی و فرآورده‌های آن، به دلیل رشد میکروبی به همراه تجزیه آنزیمی و بیوشیمیایی در معرض فساد قرار می‌گیرند[٤]. از این‌رو غوطه‌وری در مواد ضد باکتریایی و یا اسپری این مواد بر روی سطح فرآورده‌های غذایی می‌تواند باعث افزایش عمر ماندگاری این فرآورده‌ها شود [۵]. با افزایش آگاهی مصرف کنندگان در خصوص مضرات افزودنی‌های شیمیایی و سنتتیک در مواد غذایی، گرایش‌ها به سمت استفاده از افزودنی‌های فعال طبیعی در حال افزایش است [٦]، اما به دلیل انتشار غیر کنترل شده‌ی این مواد به داخل فرآورده‌های غذایی و همچنین غیر فعال شدن بخشی ازاین ترکیبات فعال به دلیل واکنش با مواد غذایی، کارایی این روش‌ها کاهش می‌یابد. در نتیجه استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی حاوی مواد فعال ضد باکتریایی می‌تواند مفید واقع شود زیرا این پوشش‌ها باعث رهاسازی آهسته این ترکیبات به داخل گوشت می‌شوند و همچنین می‌توانند به حفظ غلظت‌های بالای مواد ضد باکتریایی در سطح گوشت، جاییکه بیشتر در معرض هجوم باکتری‌ها می‌باشد کمک نمایند [۵]. پوشش‌های خوراکی مختلف با منشا پلی‌ساکارید، پروتئین و چربی می‌توانند عمر ماندگاری فرآورده‌های غذایی را افزایش دهند زیرا به عنوان سدهایی در مقابل انتقال رطوبت، گازها و مواد محلول عمل می‌کنند. همچنین این روکش‌ها به دلیل زیست‌تخریب پذیر بودنشان در بین مصرف کنندگان از محبوبیت بسیاری برخوردار هستند [۷]. تحقیقات زیادی در زمینه استفاده از اسانس‌های گیاهی برای محافظت از مواد غذایی در مقابل میکرواورگانیزم‌های عامل فساد وبیماری‌زا صورت گرفته است [۸ و ۹]. اسانس آویشن یکی از موثرترین اسانس‌های گیاهی می‌باشد که به خاطر دارا بودن ترکیبات فنولی، بویژه تیمول و کارواکرول دارای پتانسیل‌های بسیار خوبی برای افزودن به فرآورده‌های گوشتی به عنوان عامل ضد میکروبی می‌باشد [۱۰ و ۱۱]. ویژگیهای ضد باکتریایی برخی از پوشش‌های خوراکی غنی شده با اسانس آویشن بوسیله تعدادی از محققان ارزیابی شده است [۷ و ۱۲ و۱۳]، ولی به هرحال ویژگی برخی از اسانس‌های گیاهی ممکن است در ترکیب با پوشش‌های خوراکی تحت تاثیر قرار بگیرد [۱۳]. در این میان تحقیقات محدودی در زمینه به کارگیری اسانس‌های گیاهی و پوشش پروتئینی آب پنیر بر روی فرآورده‌های غذایی صورت گرفته است و تاکنون گزارشی از کاربرد اسانس آویشن در ترکیب با این پوشش بر روی فرآورده‌های گوشتی در دست نیست. بنابراین هدف از پژوهش حاضر تعیین کارایی پوشش خوراکی پروتئین آب پنیر حاوی اسانس آویشن بر روی ویژگیهای میکروبی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در دمای یخچال ($٤\pm ۲^{\circ}C$) می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱ آماده سازی ماهی و تهیه تیمارهای مورد نیاز

۲-۱-۱ آماده سازی ماهی: ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی۵۰ ± ۳۵۰ گرم از مزرعه پرورش ماهی کشپل واقع در شهرستان نور خریداری شد و با جعبه‌های حاوی یخ به آزمایشگاه فرآوری دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس منتقل گردید. بعد از عملیات مربوط به تخلیه شکمی، سر زنی و استخوان گیری، دو فیله از هر ماهی تهیه گردید.

۲-۱-۲ تهیه محلول پوششی: کنسانتره پروتئین آب پنیر (۸۰٪ پروتئین) محصول شرکت DMV هلند برای تهیه پوشش مورد

Archive of SID
www.SID.ir

استفاده قرار گرفت. ساخت فیلم پروتئین آب پنیر با کمی تغییر مطابق روش ارائه شده توسط مین و کروچا [۱۴] انجام شد. نخست محلول۸/۵ درصد (وزنی–حجمی) پروتئین آب پنیر در آب مقطر تهیه گردید و به طور کامل حل گردید. به مقدار مشابه با پودر پروتئینی به کار رفته گلیسرول به عنوان پلاستی‌سایزر به محلول تهیه شده اضافه گردید. محلول فوق به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد در داخل حمام آب قرار داده شد و سپس بوسیله ظرف محتوی یخ سرد شد. همچنین محلول پروتئین آب پنیر حاوی غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد اسانس آویشن تهیه شد و به مدت ۲ دقیقه هموژن گردید.

۲–۱–۳ پوشش‌دهی فیله‌ها: به منظور ایجاد پوشش، فیله‌ها به مدت ۱ دقیقه در محلول‌های تهیه شده غوطه ور گردیدند. سپس آنها را از محلول خارج نموده و پس از اتمام آب چک، جهت خشک کردن فیله‌ها آنها را از صفحات مشبک استریل آویزان نموده و تحت جریان ملایم هوا قرار داده شدند. پس از خشک شدن پوشش، فیله‌ها به یخچال منتقل شده و در دمای ۴±۲°C به مدت ۱۶ روز نگهداری گردید و در فواصل زمانی ۴ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. لازم به ذکر است که یک تیمار بدون پوشش نیز به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد.

۲–۲– آزمون‌های میکروبی

برای آزمایش‌های میکروبی، ۱۰ گرم از نمونه گوشت فیله در شرایط استریل با ۹۰ میلی لیتر محلول نمک طعام ۰/۸۵ درصد مخلوط و هموژن شده و متعاقب آن رقت‌های مورد نیاز تهیه گردید. ۱ میلی لیتر از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پور پلت مورد استفاده قرار گرفت.

شمارش تعداد باکتری‌های کل[1] و باکتری‌های سرمادوست[2] در محیط پلیت کانت آگار[3] به ترتیب در دماهای ۳۷ °C به مدت ۲ روز و۷°C به مدت ۱۰ روز با شمارش کلنی‌های موجود بر روی پلیت انجام گرفت. شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک[4] و اینترو باکترها[5] در محیط بی‌هوازی و به ترتیب در محیط کشت‌های ام آر اس–آگار[6] و وی آر بی دی–آگار[7] در دمای ۳۰ °C به مدت ۲ تا ۳ روز و به روش پور پلیت انجام پذیرفت. تمامی شمارش ها به صورتlog CFU/gگزارش گردید [۱۵، ۱۶].

۲–۳– آزمون‌های شیمیایی

۲–۳–۱ سنجش pH: پس از هموژن کردن ۵ گرم از نمونه با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر، مخلوط فوق صاف گردید، سپس pH نمونه‌ها در دمای اتاق با استفاده از دستگاه pH متر مدل ۳۵۱۰ ساخت شرکت Jenway انگلستان اندازه گیری گردید [۱۷].

۲–۳–۲ اندازه گیری بازهای نیتروژنی فرار: اندازه گیری بازهای نیتروژنی فرار طبق روش پروانه [۱۸] انجام پذیرفت. بدین صورت که ۱۰ گرم نمونه بافت ماهی چرخ شده در بالن حاوی ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حرارت داده شد. بخارات تقطیر شده داخل ارلن حاوی ۲۵ میلی‌لیتر اسید بوریک ۲٪ و چند قطره معرف متیل رد جمع آوری شده و در پایان توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال [A] تیتر شد. مقدار مواد ازته فرار بر اساس رابطه ۱ محاسبه گردید.

رابطه (۱)

$$TVB\text{-}N = A \times 14$$

۲–۴– تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. ابتدا بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده ازآزمون کولموگراف–اسمیرنوف[8] و سپس همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لون[9] انجام گردید که نتایج این آزمون‌ها جهت آنالیز آماری داده‌های مربوط به تیمارهای آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. جهت تعیین اختلاف بین تیمارها از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA)استفاده گردید. برای مقایسه میانگین‌ها در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی‌دار شناخته شد از آزمون دانکن استفاده گردید. لازم به ذکر است که در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل خطای مجاز برای رد H_0، ۵ درصد در نظر گرفته شد.

1. Total bacterial counts
2. Psychrophilic counts
3. Plate count agar
4. Lactic acid bacteria
5. Enterobacteriaceae
6. MRS-agar
7. VRBD-agar
8. Kolomogorav–Smirnov
9. Leven

Archive of SID

www.SID.ir

۳- نتایج و بحث

تاثیر پوشش‌ها روی تعداد بار باکتریایی کل طی نگهداری در دمای یخچال (٤±۲°C) در جدول۱ نشان داده شده است. مقادیر اولیه این باکتری‌ها (در روز صفر نگهداری) برای فیله‌ها حدود ۳/٦۰log CFU/g بود که نشان دهنده کیفیت خوب فیله‌های مورد استفاده در این تحقیق می‌باشد. این نتایج با نتایج بدست آمده توسط اجاق و همکاران [۷] و ذوالفقاری و همکاران [٦] برای فیله تازه ماهی قزل آلا به ترتیب به میزانlog CFU/g ۳/۸٦ و ۳/٥٤ log CFU/g همخوانی داشت.

جدول ۱ تغییرات در مجموع بار باکتریایی کل تیمارهای مختلف نگهداری شده در دمای یخچال (٤±۲ °C)

تیمار	زمان نگهداری (روز)				
	۰	٤	۸	۱۲	۱٦
C	۳/٦۰±۰/۲٤^{Ea}	٤/٦٤±۰/۰۸^{Dab}	٦/۹۰±۰/۱۹^{Ca}	۷/۲٦±۰/۱۳^{Ba}	۸/٥٥±۰/۲٤^{Aa}
W	۳/٦۰±۰/۲٤^{Ea}	٤/۷۱±۰/۱۱^{Dab}	٦/۸٥±۰/۰۳^{Ca}	۷/۳۰±۰/۱٤^{Ba}	۸/٦۲±۰/۰۷^{Aa}
W-T_1	۳/٦۰±۰/۲٤^{Da}	٤/۸۳±۰/۱۰^{Ca}	٦/۱۷±۰/۲۰^{Bb}	٦/۳۲±۰/۰۲^{Bb}	۷/۲۸±۰/۲۲^{Ab}
W-T_2	۳/٦۰±۰/۲٤^{Ea}	٤/٥۱±۰/۰۸^{Db}	٥/٥۷±۰/۰۳^{Cc}	٥/۹٦±۰/۰٥^{Bc}	۷/۰۰±۰/۰۳^{Ab}
W-T_3	۳/٦۰±۰/۲٤^{Da}	۳/۷۱±۰/۱۸^{Dc}	٤/٦۹±۰/۰۷^{Cd}	٥/٦٤±۰/۰٦^{Bd}	٦/٦٦±۰/۱٤^{Ac}

Cتیمار شاهد، W پوشش پروتئین آب پنیر بدون اسانس، W-T_1 پوشش حاوی ۰/٥ درصد آویشن، W-T_2 پوشش حاوی ۱ درصد آویشن، W-T_3 پوشش حاوی ۱/٥ درصد آویشن

داده ها به صورت میانگین ± اشتباه معیار گزارش شده اند.

a، b و c حروف کوچک در هر ستون، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰٥

A، B و Cحروف بزرگ در هر ردیف، نشان دهنده اختلاف معنی‌داردر سطح p<۰/۰٥

با گذشت زمان نگهداری میزان بار باکتریایی کل(TVC) فیله‌ها افزایش یافت بطوریکه تیمارهای شاهد و حاوی پروتئین آب پنیر در روز ۱۲ نگهداری از مقدار مجاز تعیین شده برای ماهی قزل آلا (۷ log CFU/g) [۱٥]گذشتند در حالیکه تیمارهای پوششی حاوی ۰/٥ و ۱ درصد اسانس آویشن در روز ۱٦ نگهداری از این مقدار گذشتند ولی تیمار پوششی حاوی ۱/٥ درصد اسانس آویشن تا پایان دوره نگهداری در دامنه قابل قبول باقی ماند. در طول مدت نگهداری تیمار ۱/٥ درصد اسانس آویشن بطور معنی‌داری (p<۰/۰٥) مقدار TVC کمتری در مقایسه با سایر تیمارها داشت بنابراین توانست عمر ماندگاری فیله‌ها را در مقایسه با تیمار شاهد حداقل به مدت ٤ روز افزایش دهد.

نتایج مربوط به تغییرات باکتری‌های سرمادوست فیله‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. مقدار اولیه این باکتری‌ها logCFU/g ۳/٦۳ بود، که با گذشت زمان نگهداری این مقدار افزایش یافت بطوریکه در پایان دوره نگهداری (روز ۱٦) به logCFU/g ۸/٥ برای تیمارهای شاهد و حاوی پوشش آب پنیر رسید در حالیکه این مقادیر برای تیمارهای حاوی اسانس حدود logCFU/g ۱/٦-۱ پایین‌تر از تیمار شاهد بود. همانطور که قبلاً برای بار باکتریایی کل اشاره شد، مقدار باکتری‌های سرمادوست نیز در تیمار پوششی حاوی ۱/٥ درصد اسانس آویشن به طور معنی‌داری (p<۰/۰٥) پایین‌تر از سایر تیمارها بود.

ویژگی‌های قوی ضدباکتریایی آویشن مربوط به مقادیر بالای ترکیبات فنولی آن از قبیل کارواکرول، تیمول، پی-سیمین و آلفا-ترپنین می‌باشد [۱۹]. تیمول و کارواکرول با تخریب غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی، باعث آزاد سازی لیپوپلی‌ساکاریدها و در نتیجه افزایش نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی نسبت به ATP خواهند شد [۲۰]. نتایج تحقیق حاضر با نتایج سایر محققین مطابقت داشت، محمود و همکاران [۲۱] گزارش نمودند که فیله‌های کپور غوطه‌ور شده با محلول ۱٪ تیمول-کارواکرول در روز ۱٥ نگهداری به logCFU/g ۷ رسید در حالیکه نمونه‌های شاهد در روز ٤ نگهداری در دمای ٥ درجه سانتیگراد به این تعداد رسیدند. زیناویادو و همکاران [۱۲] نیز گزارش نمودند که استفاده از پوشش پروتئینی آب پنیر حاوی ۱/٥ درصد اسانس پونه (که دارای مواد موثر مشابه با اسانس آویشن می‌باشد) توانست بطور معنی‌داری (p<۰/۰٥) رشد باکتری‌های سطحی قطعه‌های گوشت گاو را مهار نماید و زمان ماندگاری این فرآورده را طی نگهداری در یخچال افزایش دهد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲ تغییرات در مجموع بار باکتریایی سرمادوست تیمارهای مختلف نگهداری شده در دمای یخچال(°C ۲±۴)

تیمار	زمان نگهداری (روز)				
	۰	۴	۸	۱۲	۱۶
C	۳/۶۳±۰/۰۶^{Ea}	۴/۸۳±۰/۰۴^{Da}	۶/۹۳±۰/۱۸^{Ca}	۷/۷۲±۰/۰۴^{Ba}	۸/۵۹±۰/۰۵^{Aa}
W	۳/۶۳±۰/۰۶^{Ea}	۴/۷۴±۰/۰۵^{Da}	۶/۸۰±۰/۰۵^{Ca}	۷/۷۴±۰/۰۸^{Ba}	۸/۵۵±۰/۰۵^{Aa}
W-T_1	۳/۶۳±۰/۰۶^{Ea}	۴/۶۴±۰/۰۹^{Db}	۶/۵۲±۰/۱۱^{Ca}	۶/۹۲±۰/۱۴^{Bb}	۷/۵۷±۰/۱۲^{Ab}
W-T_2	۳/۶۳±۰/۰۶^{Ea}	۴/۴۷±۰/۰۳^{Dc}	۵/۹۲±۰/۰۳^{Cb}	۶/۶۷±۰/۱۱^{Bc}	۷/۳۶±۰/۰۸^{Ac}
W-T_3	۳/۶۳±۰/۰۶^{Da}	۳/۵۹±۰/۰۲^{Dd}	۴/۷۶±۰/۴۶^{Cc}	۶/۲۱±۰/۰۴^{Bd}	۶/۹۶±۰/۱۶^{Ad}

Cتیمار شاهد، W پوشش پروتئین آب پنیر بدون اسانس، W-T_1 پوشش حاوی ۰/۵ درصد آویشن، W-T_2 پوشش حاوی ۱ درصد آویشن، W-T_3 پوشش حاوی ۱/۵ درصد آویشن

داده ها به صورت میانگین ± اشتباه معیار گزارش شده اند.

a، b و c حروف کوچک در هر ستون، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵

A، B و C حروف بزرگ در هر ردیف، نشان دهنده اختلاف معنی‌داردر سطح p<۰/۰۵

تغییرات تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک تیمارهای مختلف در طول مدت نگهداری در جدول ۳ نشان داده شده‌است. تعداد اولیه باکتری‌های اسید لاکتیک ۱/۶۵ logCFU/g بود که در نمونه‌های شاهد تا ۴/۶۵ logCFU/g در پایان روز ۱۶ نگهداری رسیدند. به هرحال، بین تیمارهای پوششی تفاوت معنی داری (p>۰/۰۵) مشاهده نشد، اما تیمار پوششی حاوی۱/۵ درصد اسانس آویشن در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نشان داد(p<۰/۰۵). کستاکی و همکاران [۱۹]گزارش نمودند که باکتری‌های اسید لاکتیک از مقاوم‌ترین باکتری‌های گرم مثبت نسبت به فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی می‌باشند اما به هرحال آنها نیز توانستند با استفاده از ترکیب بسته‌بندی اصلاح شده و اسانس آویشن رشد این باکتری‌ها را به تاخیر بیندازند.

جدول ۳ تغییرات بار باکتریایی اسیدلاکتیک تیمارهای مختلف طی نگهداری دردمای یخچال(°C ۲±۴)

تیمار	زمان نگهداری (روز)				
	۰	۴	۸	۱۲	۱۶
C	۱/۶۵±۰/۳۱^{Da}	۳/۴۶±۰/۰۷^{Ca}	۴/۱۰±۰/۱۷^{Ba}	۳/۷۸±۰/۰۲^{BCa}	۴/۶۵±۰/۱۵^{Aa}
W	۱/۶۵±۰/۳۱^{Ca}	۳/۲۶±۰/۱۰^{Bb}	۳/۶۳±۰/۸۸^{ABa}	۳/۲۰±۰/۲۰^{Bb}	۴/۴۶±۰/۳۶^{Aab}
W-T_1	۱/۶۵±۰/۳۱^{Ca}	۲/۷۸±۰/۰۴^{Bc}	۴/۳۸±۰/۵۲^{Aa}	۲/۸۰±۰/۰۳^{Bc}	۴/۰۷±۰/۱۰^{Ab}
W-T_2	۱/۶۵±۰/۳۱^{Da}	۲/۵۹±۰/۰۵^{Cc}	۳/۵۱±۰/۱۹^{Ba}	۲/۸۶±۰/۰۸^{Cc}	۴/۴۰±۰/۱۱^{Aab}
W-T_3	۱/۶۵±۰/۳۱^{Da}	۲/۳۸±۰/۱۸^{Cd}	۲/۰۵±۰/۱۹^{Cb}	۳/۰۱±۰/۱۵^{Bbc}	۴/۱۲±۰/۱۵^{Ab}

Cتیمار شاهد، W پوشش پروتئین آب پنیر بدون اسانس، W-T_1 پوشش حاوی ۰/۵ درصد آویشن، W-T_2 پوشش حاوی ۱ درصد آویشن، W-T_3 پوشش حاوی ۱/۵ درصد آویشن

داده ها به صورت میانگین ± اشتباه معیار گزارش شده اند.

a، b و c حروف کوچک در هر ستون، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵

A، B و C حروف بزرگ در هر ردیف، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵

اینتروباکترها نیز گروه دیگری از باکتری‌ها بودند که در فساد فیله ماهی قزل‌آلا در طی نگهداری در یخچال دخالت داشتند(جدول ۴). تعداد اولیه این باکتری‌ها از ۱/۶۳ logCFU/g طی زمان نگهداری برای نمونه‌های شاهدتا ۵/۴ logCFU/g افزایش یافت

Archive of SID

www.SID.ir

و این تعداد برای تیمارهای پوششی بدون اسانس و پوشش‌های حاوی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد اسانس آویشن به ترتیب به ۶/۱، ۵/۶، ۴/۷ و ۴/۷ logCFU/g رسید. تسو و همکاران [۲۲] طی آزمایشات خود توانستند با استفاده از مخلوطی از روغن زیتون، لیمو و پونه مقادیر انتروباکترهای نهایی را در مقایسه با تیمار شاهد به میزان ۲/۵ logCFU/g کاهش دهند.

جدول ٤ تغییرات در تعداد انتروباکترهای تیمارهای مختلف طی نگهداری در دمای یخچال(٤±٢ °C)

تیمار	زمان نگهداری (روز)				
	۰	٤	۸	۱۲	۱٦
C	۱/٦۳±۰/۰٦^{Ca}	۳/٤۳±۰/۱۸^{Bb}	۵/۳٦±۰/۰۹^{Aa}	٤/۹٦±۰/۲۸^{Ab}	۵/٤۰±۰/۵۳^{Ab}
W	۱/٦۳±۰/۰٦^{Da}	۳/٦۷±۰/۱۰^{Ca}	۵/۲٦±۰/۰۳^{Ba}	۵/٤۷±۰/۲۵^{Ba}	٦/۱۹±۰/۳۸^{Aa}
W-T_1	۱/٦۳±۰/۰٦^{Da}	۳/۷۸±۰/۰۷^{Ca}	٤/۸۲±۰/۳٦^{Bb}	۵/۰۵±۰/۱۸^{Bb}	۵/٦۹±۰/۰۸^{Aab}
W-T_2	۱/٦۳±۰/۰٦^{Ea}	۳/۵۸±۰/۰۷^{Dab}	٤/۲۰±۰/۰۹^{Cc}	٤/۹۰±۰/۰۱^{Ab}	٤/۷٦±۰/۰۱^{Bc}
W-T_3	۱/٦۳±۰/۰٦^{Da}	۳/۱۵±۰/۱۳^{Cc}	۳/۸۳±۰/۲۰^{Bd}	٤/۷۹±۰/۰٤^{Ab}	٤/۷۱±۰/۱۲^{Ac}

Cتیمار شاهد، W پوشش پروتئین آب پنیر بدون اسانس، W-T_1 پوشش حاوی ۰/۵ درصد آویشن، W-T_2 پوشش حاوی ۱ درصد آویشن، W-T_3 پوشش حاوی ۱/۵ درصد آویشن

داده ها به صورت میانگین ± اشتباه معیار گزارش شده اند.

a، b و c حروف کوچک در هر ستون، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p<۰/۰۵$

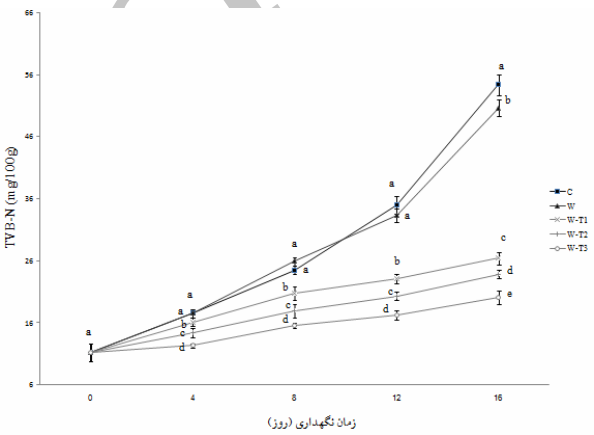
A، B و C حروف بزرگ در هر ردیف، نشان دهنده اختلاف معنی داردر سطح $p<۰/۰۵$

بطور کلی بر اساس نتایج پژوهش حاضر رشد باکتری‌ها در تیمار شاهد با تیمار پوششی بدون اسانس آویشن تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$). پس می‌توان گفت که پوشش پروتئین آب پنیر به تنهایی نمی‌تواند اثر بازدارندگی قابل توجهی بر باکتری‌های مورد مطالعه داشته باشد. اوسالا و همکاران [۲۳] گزارش نمودند که ایشریشیا کلای و گونه‌های پسودوموناس ممکن است فیلم‌های با منشا پروتئین‌های شیر را جهت رشد مورد استفاده قرار دهند. در پژوهش حاضر بدلیل فعالیت آبی بالای بافت ماهی، پوشش مورد استفاده هیدراته شده و احتمالاً نتوانسته است خواص ممانعتی خوبی نسبت به اکسیژن نشان بدهد و به همین دلیل پوشش پروتئین آب پنیر بدون اسانس آویشن در مقایسه با تیمار شاهد نتوانست تفاوتی در الگوی رشد باکتری‌های مورد مطالعه نشان دهد. همچنین ثابت شده است که منبع و غلظت ترکیبات فعال اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی و همچنین ترکیب ماتریکس فیلم دارای تاثیرات اساسی روی فعالیت بیولوژیکی اسانس‌ها در فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی خواهد شد [۱۳].

نتایج مربوط به تغییرات TVB-N نمونه‌ها طی دوره نگهداری در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است. افزایش میزانTVB-N نمونه‌ها ناشی از فعالیت باکتری‌های عامل فساد و آنزیم‌های اتولیز کننده با منشا درونی می‌باشد [۲٤]. از آنجایی که TVB-N عمدتاً در اثر تجزیه باکتریایی گوشت ماهی ایجاد می‌شود، افزایش بار باکتریایی در طول دوره را نیز می‌توان دلیلی برای این مورد دانست [۷ و ۱۹]. مقادیر بازهای ازته فرار نمونه‌های کنترل و پوششی به شکل معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت و در پایان زمان نگهداری (روز ۱٦) نمونه‌های پوششی حاوی ۱/۵ درصد اسانس آویشن به شکل معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) میزان بازهای ازته فرار کمتری در مقایسه با سایر تیمارها داشتند. بالاترین سطح قابل قبول بازهای ازته فرار در گوشت ماهی قزل‌آلا را ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن به ازای ۱۰۰ گرم پیشنهاد نموده‌اند [۲۵]. در تحقیق حاضر این مقدار در نمونه‌های پوششی حاوی ۱ و ۱/۵ درصد اسانس آویشن در کل دوره نگهداری همواره کمتر از مقدار ذکر شده بود، در حالیکه تیمار پوششی حاوی ۰/۵ درصد اسانس آویشن در روز ۱٦ نگهداری از این میزان گذشته بود و تیمارهای بدون پوشش و پوشش بدون

Archive of SID
www.SID.ir

اسانس تقریباً روز ۸ به این میزان رسیدند. استفاده از پوشش حاوی اسانس آویشن توانست عمر ماندگاری فیله‌های نگهداری شده در دمای یخچال (۴±۲°C) را افزایش دهد که این موضوع را می‌توان به کاهش جمعیت باکتری‌ها یا کاهش ظرفیت باکتری‌ها برای دآمیناسیون اکسیداسیونی ترکیبات نیتروژنی غیر پروتئینی و یا هر دو عامل نسبت داد [۲۴] که می تواند ناشی از ویژگی‌های ضدمیکروبی اسانس آویشن باشد. نتایج این تحقیق با نتایج فان و همکاران [۲۶] و اجاق و همکاران [۷] همخوانی دارد که به ترتیب توانستند به وسیله غوطه‌وری با پلی فنول‌های چای و پوشش کیتوزانی حاوی اسانس دارچین از افزایش باز های نیتروژنی فرار جلوگیری نمایند.

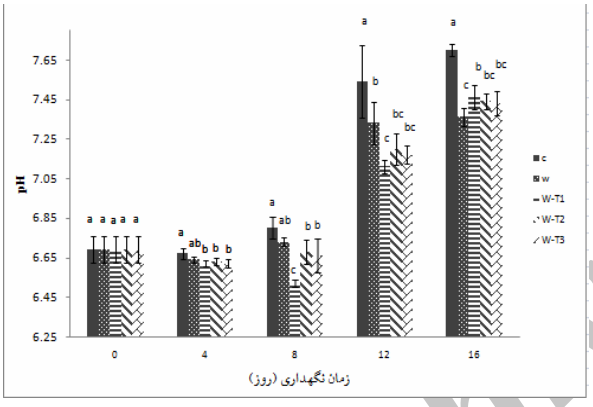


شکل ۱ تغییرات مجموع مقدار بازهای نیتروژنی فرار تیمارهای مختلف نگهداری شده در یخچال(۴±۲ °C)

Cتیمار شاهد، W پوشش پروتئین آب پنیر بدون اسانس، $W\text{-}T_1$ پوشش حاوی ۰/۵ درصد آویشن، $W\text{-}T_2$ پوشش حاوی ۱ درصد آویشن، $W\text{-}T_3$ پوشش حاوی ۱/۵ درصد آویشن

a، b و c حروف کوچک در هر روز، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمار های مختلف در سطح $p<۰/۰۵$

تغییرات میزان pH فیله‌ها طی شرایط نگهداری در دمای یخچال (۴±۲°C) در شکل شماره۲ آورده شده است. مقادیر اولیه pH نمونه‌ها ۶/۶۹ بود. مقدار pH نمونه‌های بدون پوشش و حاوی پوشش طی ٤ روز اول نگهداری یک روند کاهشی نشان داد، در حالیکه بعد از این مدت تا پایان دوره نگهداری (روز ۱۶)، روند رو به رشدی را نشان دادند (تا اینکه به مقادیر نهایی ۷/۷–۷/۳۶ رسیدند) به طوریکه این مقادیر برای نمونه‌های شاهد ۷/۷ و برای تیمارهای پوششی آب پنیر بدون اسانس، تیمار پوششی حاوی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد اسانس آویشن به ترتیب به ۷/۳۶، ۷/٤٦، ۷/٤٤ و۷/٤۳ رسید. سانگ و همکاران [۲٤] بیان کردند که کاهش اولیه مقادیر pH ممکن است با تجزیه گلیکوژن در ماهی کامل مرتبط باشد، اگرچه اکثر محققین انحلال دی اکسید کربن در فاز آبی عضلات و در نتیجه تشکیل اسید کربنیک را عامل کاهش pH دانسته اند [۲٤ و ۲۶]. همچنین کاهش pH در شروع دوره نگهداری می‌تواند به دلیل افزایش CO_2 اتمسفر نیز باشد [۱۹ و ۲۶]. عنوان شده است که افزایش میزان pH طی نگهداری در یخچال به دلیل تولید ترکیبات فرار از قبیل آمونیاک و تری متیل آمین حاصل از فعالیت باکتری‌های عامل فساد می‌باشد [۲۷].



شکل ۲ تغییرات میزان pH تیمارهای مختلف طی نگهداری در یخچال(۴±۲ °C)

C تیمار شاهد، W پوشش پروتئین آب پنیر بدون اسانس، $W\text{-}T_1$ پوشش حاوی ۰/۵ درصد آویشن، $W\text{-}T_2$ پوشش حاوی ۱ درصد آویشن، $W\text{-}T_3$ پوشش حاوی ۱/۵ درصد آویشن

a، b و c حروف کوچک در هر روز، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمار های مختلف در سطح $p<۰/۰۵$

٤- نتیجه گیری کلی

بر اساس نتایج بدست آمده می‌توان اظهار داشت که استفاده از پوشش پروتئینی آب پنیر غنی شده با اسانس آویشن می‌تواند از شدت رشد باکتری‌های سطح فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بکاهد که در نهایت می‌تواند باعث افزایش زمان ماندگاری محصول گردد و از معایب بوجود آمده ناشی از شرایط نگهداری

Archive of SID
www.SID.ir

جلوگیری نماید. برای جلوگیری از اثرات اورگانولپتیکی نامطلوب در اثر استفاده از غلظت‌های بالای اسانس‌های گیاهی، استفاده از پوشش‌های خوراکی حاوی غلظت‌های کمتر این اسانس‌ها بر روی فرآورده های غذایی نیمه فرآوری شده از قبیل نمک‌سود سبک و یا درصد های پایین شکر می‌تواند مورد بررسی قرار گیرد.

۵- تقدیر و تشکر

از شرکت شیر پاستوریزه پگاه تهران وجناب آقای دکتر دانشی برای مساعدت در تامین کنسانتره پروتئین آب پنیر مورد استفاده در تحقیق حاضر صمیمانه تشکر می‌گردد.

٦- منابع

[1] Ca'rdenas, F. C., Giannuzzi, L., and Zaritzkay, N. E. 2008. Mathematical modelling of microbial growth in ground beef from Argentina. Effect of lactic acid addition, temperature and packaging film. Meat Science, 79, 509−520.

[2] Jeyasekaran, G., Ganesan, P., Anandaraj, R., Shakila, R. J., and Sukumar, D. 2006. Quantitative and qualitative studies on the bacteriological quality of Indian white shrimp (*Penaeus indicus*) stored in dry ice. Food Microbiology, 23(6), 526–533.

[3] Kerry, J. P., O'Grady, M. N., and Hogan, S. A. 2006. Past, current and potential utilization of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. Meat Science, 74, 113–130.

[4] Devlieghere, F., Vermeiren, L., and Debevere, J. 2004. New preservation technologies: Possibilities and limitations. International Dairy Journal, 14, 273−285.

[5] Quintavalla, S., and Vicini, L. 2002. Antimicrobial food packaging in meat industry. Meat Science, 62, 373–380.

[6] Zolfaghari, M., Shabanpoor, B., and Fallahzadeh S. 2010. Comparison the effect of thyme, onion and *ziziphora clinopodiodes* extracts on shelf-life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Food Science and Technology Research Journal, Vol. 6, No. 2. p. 121-129.

[7] 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.

[8] Burt, S. A., and Reinders, R. D. 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. Letters in Applied Microbiology, 36, 162−167.

[9] Rojas-Graü, M., Avena-Bustillos, J. R., Olsen, C., Friedman, M., Henika, P. R., and Martin-Belloso, O. 2007. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. Journal of Food Engineering, 81, 634−641.

[10] Selmi, S., and Sadok, S. 2008. The effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris* Linnaeus) on flesh quality of tuna (*Thunnus thynnus* (Linnaeus)) during chilled storage. *Pan*-American Journal of Aquatic Sciences, 3(1), 36-45.

[11] Yasin, N. M. N., and Abou-Taleb, M. 2007. Antioxidant and antimicrobial effects of marjoram and thyme in coated refrigerated semi fried mullet fish fillets. World Journal of Dairy & Food Sciences, 2(1), 1-9.

[12] Zinoviadou, K. G., Koutsoumanis, K. P., and Biliaderis, C. G. 2009. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. Meat Science, 82, 338−345.

[13] Seydim, A. C., and Sarikus, G. 2006. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food Research International, 39, 639−644.

[14] Min, S., Krochta, J. M. 2007. Ascorbic acid-containing whey protein film coatings for control of oxidation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 2964–2969.

[15] Ibrahim Sallam, K. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon, Food Control, 18, 566–575.

[16] Hernández, M. D., López, M. B., Álvarez, A., Ferrandini, E., GarcíaGarcía, B., and

Archive of SID
www.SID.ir

Garrido, M. D. 2009. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre [*Argyrosomus regius*] fillets during ice storage, *Food Chemistry, 114*, 237–245.

[17] Suvanich, V., Jahncke, M. L., and Marshall, D. L. 2000. Changes in selected chemical quality characteristics of channel cat fish frame mince during chill and frozen storage. Journal of Food Science, 65(1), 24-29.

[18] Parvaneh, V. 1998. Quality control and the chemical analysis of food. Tehran university. Press. 325 p.

[19] Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I. N., and Kontominas, M. G. 2009. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. Food Microbiology, 26, 475-482.

[20] Burt, S. A. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. International Journal of Food Microbiology, 94, 223–253.

[21] Mahmoud, B. S. M., Yamazaki, K., Miyashita, K., Shin, S., and Suzuki, T. 2004. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. Food Microbiology, 21, 657–666.

[22] Tassou, C. C., Drosinos, E. H., and Nychas, G. J. E., 1995. Inhibition of resident microbial flora and pathogen inocula on cold fresh fish fillets in olive oil, oregano, and lemon juice under modified atmosphere and in air. Journal of Food Protection, 59, 31–34.

[23] Oussalah, M., Caillet, S., Salmieri, S., Saucier, L., and Lacroix, M. 2004. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 5598–5605.

[24] Song, Y., Liu, L., Shen, H., You, J., and Luo, Y. 2011. Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). Food Control, 22, 608–615.

[25] Gimenez, B., Roncales, P., and Beltran, J. A. 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84, 1154–1159.

[26] Fan, W. J., Chi, Y. L., and Zhang, S. 2008. The use of a tea polyphenols dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmicthys molitrix*) during storage in ice. Food Chemistry, 108, 148–153.

[27] Ruiz-Capillas, C., and Moral, A. 2001. Residual effect of CO_2 on hake (*Merluccius merluccius* L.) stored in modified and controlled atmospheres. European Food Research and Technology, 212, 413–420.

Archive of SID

www.SID.ir

The effect of whey protein edible coating on microbial quality of rainbow trout fillet during cold storage

Khezri Ahmadabad, M. [1], Rezaei, M. [2*], Ojagh, S. M. [3]

1. M. Sc. student, Dept. of Seafood Science and Technology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares
2. Associate. Prof., Dept. of Seafood Science and Technology, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
3. Assistant Prof., University of Agricultural Science and Natural Resources of Gorgan, Beheshti St., Gorgan, Iran.

(Received: 91/10/23 Accepted: 92/4/8)

Whey protein based edible coating containing 0.5, 1 and 1.5% (w/v) thyme essential oil was used for inhibition of bacterial growth of rainbow trout fillets during cold storage. Microbial analyzes (total viable counts, psychrophilic counts, lactic acid bacteria and Enterobacteriacea) as well as total volatile basic-nitrogen (TVB-N) and pH measuring were performed periodically every four days. Results showed that whey protein coating containing thyme essential oil was able to inhibit bacterial growth of fish fillets. Also the TVB-N and pH values in the coated samples were significantly ($p<0.05$) lower than those of non-coated treatment. Among the treatments used in this study, treatment with 1.5% thyme essential oil containing edible coating was the most effective treatment against evaluated bacteria in this study, As could extend the shelf-life of rainbow trout fillets stored at refrigerator for at least 4 days compared to control.

Keyword: Whey protein, Thyme oil, Shelf-life, Rainbow trout fillet

Archive of SID

* Corresponding Author E-Mail Address: rezai_ma@modares.ac.ir

www.SID.ir