Archive of SID

مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هفتم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۱، صفحات ۷۸-۶۹

اثر اسید آسکوربیک به همراه پوشش پروتئین آب پنیر بر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دمای یخچال: ارزیابی بار میکروبی و ویژگی‌های شیمیایی

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

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، مازندران
۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه فراوری محصولات شیلاتی دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، مازندران. پست الکترونیکی: rezai_ma@modares.ac.ir
۳- استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۵ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۱

چکیده

سابقه و هدف: رشد میکروبی یکی از دلایل اصلی فساد گوشت و فراورده‌های گوشتی است که تغییرات نامطلوبی در این فراورده‌ها ایجاد می‌کند و در نتیجه، باعث بروز مسمومیت‌های غذایی و مرگ و میر مصرف‌کنندگان و هم‌چنین ایجاد خسارت‌های قابل ملاحظه اقتصادی می‌شود. هدف از تحقیق حاضر، مهار باکتری‌های فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگهداری شده در دمای یخچال (۴±۲°C) با استفاده از پوشش پروتئین آب پنیر حاوی ویتامین C بود.

مواد و روش‌ها: فیله‌های ماهی قزل‌آلا در ۵ تیمار طی ۱۶ روز در دمای یخچال نگهداری شدند شامل: تیمارهای شاهد (C)، پوشش داده شده با پروتئین آب پنیر بدون افزودن ویتامین C (W)، تیمار W به همراه ۰/۵ درصد ویتامین C (W-AA1)، تیمار W به همراه ۱ درصد ویتامین C (W-AA2) و تیمار W به همراه ۱/۵ درصد ویتامین C (W-AA3). آزمایش‌های میکروبی شامل اندازه‌گیری میزان بار باکتریایی کل، میزان باکتری‌های سرمادوست، باکتری‌های اسید لاکتیک و انتروباکترها بود. همچنین مجموع بازهای نیتروژنی فرار و pH به صورت دوره‌ای هر ۴ روز اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: پوشش پروتئین آب پنیر حاوی ویتامین C تعداد بار کل باکتریایی و باکتری‌های سرمادوست را به طور معنی‌داری کاهش داد ($p<۰/۰۵$). به طور کلی، تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک و انتروباکتری‌ها در تیمارهای پوششی حاوی ویتامین C در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p>۰/۰۵$). استفاده از این پوشش به همراه ویتامین C مقادیر مجموع بازهای نیتروژنی فرار و pH را طی مدت نگهداری در مقایسه با تیمار شاهد به طور معنی‌داری کاهش داد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل نشان‌دهنده تأثیر آنتی‌باکتریایی پوشش خوراکی پروتئین آب پنیر حاوی ویتامین C بود که توانست زمان نگهداری فیله‌های پوشش داده شده را به مدت ۴ روز افزایش دهد. به طور کلی در بین تیمارهای مختلف حاوی ویتامین C اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

واژگان کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، پوشش خوراکی، اسید آسکوربیک، افزایش ماندگاری

• مقدمه

فراوانی تولید ضایعات پلاستیکیِ غیر قابل تجزیه از دیدگاه اقتصادی و اخلاقی مطلوب نیست. امروزه، فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی با منشاء طبیعی مانند پلی ساکارید، پروتئین و چربی به عنوان یکی از گزینه‌های ارزان جایگزین در بحث بسته‌بندی مواد غذایی به منظور به حداقل رساندن آلودگی‌های زیست محیطی محبوبیت فراوانی در بین محققان یافته‌اند (۱). فیلم‌های خوراکی به عنوان سدهایی در مقابل انتقال رطوبت، اکسیژن، روغن‌ها و مواد محلول عمل می‌کنند، در برابر عبور آب مقاوم هستند و مانع از دست دادن آب می‌شوند (۲)، به همین دلیل می‌توانند از اکسیداسیون چربی و در نتیجه تغییر رنگ و طعم فراورده‌های غذایی جلوگیری کنند. هم‌چنین، این پوشش‌ها می‌توانند به عنوان حامل‌های ترکیبات ضدباکتریایی به منظور حفظ غلظت‌های بالای این مواد در سطح فراورده‌های پوشش داده شده که بیشتر در معرض هجوم باکتری‌ها است استفاده شوند (۳).

قابلیت تشکیل فیلم و ویژگی‌های فیلم‌های ساخته شده از پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها و لیپیدها به وسیله تعداد زیادی

www.SID.ir

Archive of SID

از محققان بررسی شده است (۵، ۴). کاربردهای تجاری پوشش‌های خوراکی ساخته شده از واکس‌ها، لیپیدها، صمغ‌ها (۶) پوشش‌های سوسیس ساخته شده از کلاژن (۷) و پوشش‌های دارویی ساخته شده از پروتئین ذرت (۸) نیز مورد مطالعه قرار گرفته است. گزارش شده که فیلم‌های پروتئینی در مقایسه با فیلم‌هایی که از لیپیدها و پلی ساکاریدها تهیه شده‌اند، به طور مؤثرتری مانع از نفوذ گازها می‌شوند. هم‌چنین، ویژگی‌های مکانیکی پوشش‌های خوراکی پروتئینی به دلیل اتصال محکم بین ملکولی نسبت به فیلم‌های با منشاء چربی یا پلی ساکاریدی بهتر است (۱۰، ۹).

فیلم‌های خوراکی ساخته شده از پروتئین آب پنیر مقاومت مکانیکی بالایی دارند و از نفوذ ناپذیری خوبی در مقابل اکسیژن، لیپید و گازها برخوردار هستند (۱۱). آب پنیر که ضایعات صنایع ساخت کازئین و پنیر است، منبع پروتئین با ارزشی است. پروتئین‌های ایزوله شده آب پنیر می‌توانند فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی زیست تخریب‌پذیر را تشکیل دهند که از انتقال اکسیژن، دی‌اکسیدکربن، گازهای معطر، روغن و رطوبت جلوگیری می‌کنند و باعث افزایش کیفیت ظاهری و بهبود خواص مکانیکی غذاها می‌شوند. به علاوه، افزودنی‌های غذایی از جمله نگهدارنده‌های ضدباکتریایی می‌توانند در ترکیب با این فیلم‌ها بدون تأثیر منفی روی مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرند (۱۲).

عنوان شده است که آلودگی‌های باکتریایی یکی از دلایل اصلی فساد فراورده‌های گوشتی است (۱۳). پسودوموناس‌ها، انتروباکترها و باکتری‌های اسید لاکتیک باعث فساد فراورده‌های گوشتی می‌شوند. هر سال، بیش از یک چهارم تا یک سوم تولید جهانی گوشت بسته به منطقه جغرافیایی، در اثر فساد از دسترس خارج می‌شود. گوشت و فراورده‌های گوشتی ممکن است توسط باکتری‌های بیماری‌زای خطرناک از قبیل *لیستریا مونوسایتوژنز*، *سالمونلا تیفیموریوم*، *ایشریشیاکلی* و گونه‌های *یرسینیا* آلوده و باعث مسمومیت‌های غذایی و مرگ مصرف‌کنندگان شوند (۱۴).

گزارش شده است که آنتی‌اکسیدان‌های متعددی از جمله ویتامین C می‌توانند ویژگی‌های ضدباکتریایی داشته باشند (۱۶، ۱۵). *تاج کریمی* و همکاران (۱۷)، Zambuchini و همکاران (۱۸) و *Tabak* و همکاران (۱۹) تأثیرات ضدباکتریایی ویتامین C را به تنهایی و در ترکیب با برخی اسیدهای آلی بررسی کرده‌اند. با توجه به حساسیت بالای ماهی و فراورده‌های آن نسبت به فساد باکتریایی در مقایسه با سایر منابع گوشتی، کنترل تعداد و رشد باکتری‌های بیماری‌زا و عامل فساد ضروری است. هدف تحقیق حاضر، استفاده از پوشش پروتئین آب پنیر حاوی ویتامین C به منظور کنترل باکتری‌های فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگهداری شده در دمای یخچال (۴±۲ °C) بود.

• مواد و روش‌ها

آماده‌سازی ماهی: ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۵۰ ± ۳۵۰ گرم در دی ماه ۱۳۸۹ از *مزرعه پرورش ماهی کشپل* واقع در شهرستان نور خریداری شد و با جعبه‌های حاوی یخ به *آزمایشگاه فراوری دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس* منتقل شد. بعد از عملیات مربوط به تخلیه شکمی، سرزنی و استخوان‌گیری، دو فیله از هر ماهی تهیه شد.

تهیه محلول پوششی: کنسانتره پروتئین آب پنیر (۸۰٪ پروتئین) محصول *شرکت DMV* (هلند) خریداری شد و برای تهیه پوشش مورد استفاده قرار گرفت. ساخت فیلم پروتئین آب پنیر با کمی تغییر مطابق روش ارائه شده توسط *Min* و *Krochta* (۱۲) انجام شد. ابتدا محلول۸/۵ درصد (وزنی-حجمی) پروتئین آب پنیر در آب مقطر تهیه و به طور کامل حل شد. به مقدار پودر پروتئینی به کار رفته گلیسرول به عنوان پلاستی‌سایزر به مقدار مشابه به محلول اضافه شد. محلول فوق به مدت ۳۰ دقیقه در داخل حمام آب ۹۰°C حرارت داده شد و سپس به وسیله ظرف محتوی یخ، سرد شد. پس از سرد شدن محلول فوق، ویتامین C در مقادیر ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد به آرامی به محلول افزوده شد و به مدت ۱ ساعت هموژن شد. همزمان با اضافه کردن ویتامین C از محلول NaOH ۲ نرمال برای تنظیم pH در حد ۸ استفاده شد.

پوشش‌دهی فیله‌ها: به منظور ایجاد پوشش، فیله‌ها به مدت ۱ دقیقه در محلول‌های تهیه شده غوطه‌ور شدند. سپس آن‌ها را از محلول خارج کرده و پس از اتمام چکیدن قطرات محلول، از صفحات مشبک استریل آویزان شدند و در معرض جریان ملایم هوا قرار دادند. پس از خشک شدن پوشش، فیله‌ها به یخچال منتقل شده و در دمای ۴±۲ °C به مدت ۱۶ روز نگهداری شدند. در فواصل زمانی ۴ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند.

آزمون‌های میکروبی: برای آزمایش‌های میکروبی ۱۰ گرم از نمونه گوشت فیله در شرایط استریل با ۹۰ml محلول نمک طعام ۰/۸۵ درصد مخلوط و هموژن شد. سپس

www.SID.ir

Archive of SID

رقت‌های مورد نیاز تهیه شد. ۱ml از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلیت مورد استفاده قرار گرفت.

شمارش تعداد باکتری‌های کل (Total Bacterial Counts) و باکتری‌های سرمادوست (Psychrophilic Counts) در محیط Plate Count Agar به ترتیب در دماهای ۳۷ $^{\circ}C$ به مدت ۲ روز و ۷ $^{\circ}C$ به مدت ۱۰ روز با شمارش کلنی‌های موجود روی پلیت انجام گرفت. شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک و انتروباکترها در محیط بی‌هوازی و به ترتیب در محیط‌های کشت MRS- agar و VRBD-agar در دمای ۳۰$^{\circ}C$ به مدت ۲ تا ۳ روز و به روش پورپلیت انجام پذیرفت. شمارش‌ها به صورت log CFU/g گزارش شد (۲۱، ۲۰).

آزمون‌های شیمیایی

سنجش pH: پس از هموژن کردن ۵ گرم نمونه با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر، مخلوط فوق صاف شد. سپس pH نمونه‌ها در دمای اتاق با استفاده از دستگاه pH متر (مدل ۳۵۱۰، شرکت Jenway ، ساخت انگلستان) اندازه‌گیری شد (۲۲).

اندازه‌گیری بازهای نیتروژنی فرار: اندازه‌گیری بازهای نیتروژنی فرار طبق روش پروانه (۲۳) انجام پذیرفت. به این 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 متیل‌رد جمع‌آوری و در پایان توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال (A) تیتر شد. مقدار مواد ازته فرار بر اساس رابطه ۱ محاسبه شد.

$$TVB\text{-}N = A \times 14 \qquad \text{رابطه ۱}$$

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار $SPSS_{16}$ انجام شد. ابتدا بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف و سپس همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لون (Leven) انجام شد. نتایج این آزمون‌ها برای آنالیز آماری داده‌های مربوط به تیمارهای آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین اختلاف بین تیمارها از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) استفاده شد. در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی‌دار بود، برای مقایسه میانگین‌ها آزمون دانکن به کار رفت. خطای مجاز برای رد H_0، در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل ۵٪ در نظر گرفته شد.

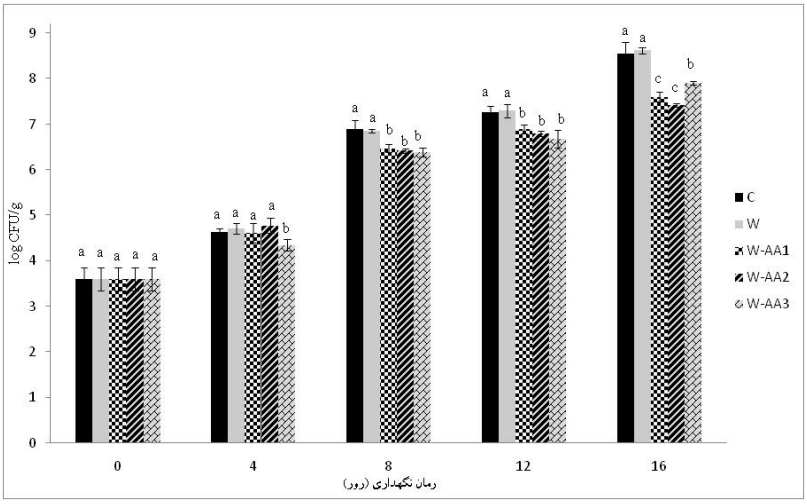
• یافته‌ها

بار باکتریایی کل: تغییرات میزان بار باکتریایی کل TVC (Total viable counts) در نمودار ۱ نشان داده شده است. میزان اولیه TVC برای فیله‌ها در روز صفر نگهداری ۳/۶ log CFU/g بود که با گذشت زمان نگهداری برای همه تیمارها افزایش یافت. به طوری که کمترین میزان بار باکتری کل در روز صفر نگهداری و بیشترین این میزان برای همه نمونه‌ها در روز ۱۶ نگهداری (پایان دوره نگهداری) مشاهده شد. میزان TVC در روز ۸ نگهداری برای همه تیمارها در محدوده قابل قبول به ماهی قزل‌آلا (۷ log CFU/g) تعلق داشت (۲۰) اگر چه در این روز، تیمارهای شاهد و پوشش داده شده بدون ویتامین C به ترتیب با ۶/۹ log CFU/g و ۶/۸۵ به مرز غیر قابل قبول نزدیک‌تر بودند. در روز ۱۲ نگهداری تیمارهای شاهد و پوشش داده شدهٔ بدون ویتامین C از دامنه قابل قبول گذشته بودند، اما تیمارهای پوشش داده شده حاوی ویتامین C هنوز در دامنه قابل قبول باقی ماندند. در روز ۱۶ نگهداری (پایان دوره نگهداری) همه تیمارها از دامنه قابل قبول گذشتند. به طور کلی TVC تیمارهای پوششی حاوی ویتامین C نسبت به دو تیمار دیگر به طور معنی‌داری کمتر بود ($p<0/05$). ولی در بین تیمارهای پوشش داده شده حاوی درصدهای مختلف ویتامین C اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$).

باکتری‌های سرمادوست: تغییر در تعداد باکتری‌های سرمادوست فیله ماهی قزل‌آلا طی نگهداری در دمای یخچال در نمودار ۲ نشان داده شده‌است. تعداد اولیه باکتری‌های سرما دوست (روز صفر) برای فیله‌ها ۳/۶۳ log CFU/g بود. در مورد این باکتری‌ها نیز همانند TVC با گذشت زمان نگهداری روند افزایشی مشاهده شد. به طوری که این تعداد در پایان دوره نگهداری (روز ۱۶) ۸/۵۹ log CFU/g و ۸/۵۵ log CFU/g به ترتیب برای تیمارهای شاهد و پوشش داده شده بدون ویتامین C رسید. این شاخص برای تیمارهای پوشش داده حاوی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد ویتامین C حدود ۷/۸۲ log CFU/g – ۷/۵۶ بود.

www.SID.ir

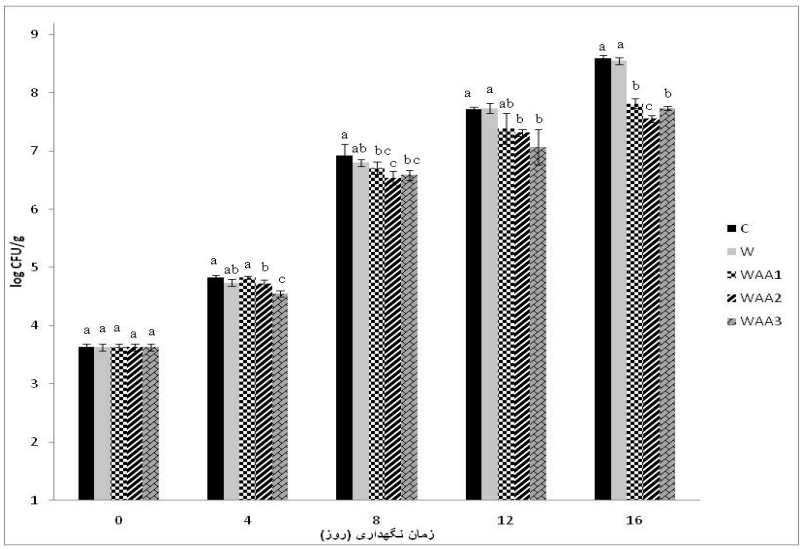
Archive of SID



Cتیمار شاهد
W پوشش پروتئین آب پنیر بدون ویتامین C
W-AA1 پوشش حاوی ۰/۵ درصد ویتامین C
W-AA2 پوشش حاوی ۱ درصد ویتامین C
W-AA3 پوشش حاوی ۱/۵ درصد ویتامین C

نمودار ۱. تغییرات TVC تیمارهای مختلف نگهداری شده در دمای یخچال

a، b و c (حروف کوچک) در هر روز، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف در سطح p<۰/۰۵ **است**



Cتیمار شاهد
W پوشش پروتئین آب پنیر بدون ویتامین C
W-AA1 پوشش حاوی ۰/۵ درصد ویتامین C
W-AA2 پوشش حاوی ۱ درصد ویتامین C
W-AA3 پوشش حاوی ۱/۵ درصد ویتامین C

نمودار ۲. تغییر تعداد باکتری‌های سرمادوست تیمارهای مختلف نگهداری شده در دمای یخچال

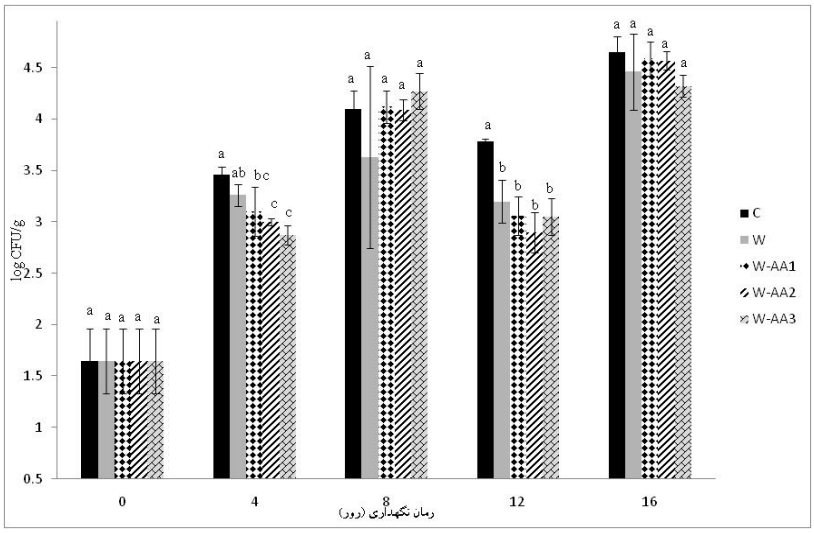
a، b و c (حروف کوچک) در هر روز، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف در سطح p<۰/۰۵ **است**

باکتری‌های اسید لاکتیک: همان‌طور که در نمودار ۳ مقادیر مربوط به تغییر باکتری‌های اسید لاکتیک فیله ماهی قزل‌آلا نشان داده شده است، تعداد اولیه باکتری‌های اسید لاکتیک ۱/۶۵ log CFU/g بود. این تعداد در تیمار شاهد به در پایان دوره نگهداری به ۴/۶۵ رسید، در حالی که تیمارهای پوشش داده شده بدون ویتامین C و تیمارهای حاوی درصدهای ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد ویتامین C کاهش معنی‌داری در میزان باکتری‌های اسید لاکتیک در این روز نشان ندادند (p>۰/۰۵). کاهش تعداد این باکتری‌ها در این تیمارها به میزان ۰/۲۳–۰/۰۶ log CFU/g بود.

انتروباکترها: میزان انتروباکترها نیز با گذشت زمان نگهداری افزایش پیدا کرد (نمودار ۴). به طور کلی، اختلاف معنی‌داری بین تیمارها درالگوی رشد این باکتری‌ها مشاهده نشد؛ اگر چه در پایان دوره نگهداری، تیمار حاوی پوشش پروتئین آب پنیر بدون ویتامین C نسبت به سایر تیمارها به طور معنی‌داری تعداد انتروباکترهای بیشتری داشت (p<۰/۰۵). بین سایر تیمارها در این روز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. هر چند در روز ۸ نگهداری تیمارهای پوشش داده شده حاوی درصدهای مختلف ویتامین C نسبت به تیمار شاهد و پوشش پروتئین آب پنیر بدون ویتامین C مقادیر انتروباکترهای کمتری داشتند (p<۰/۰۵).

www.SID.ir

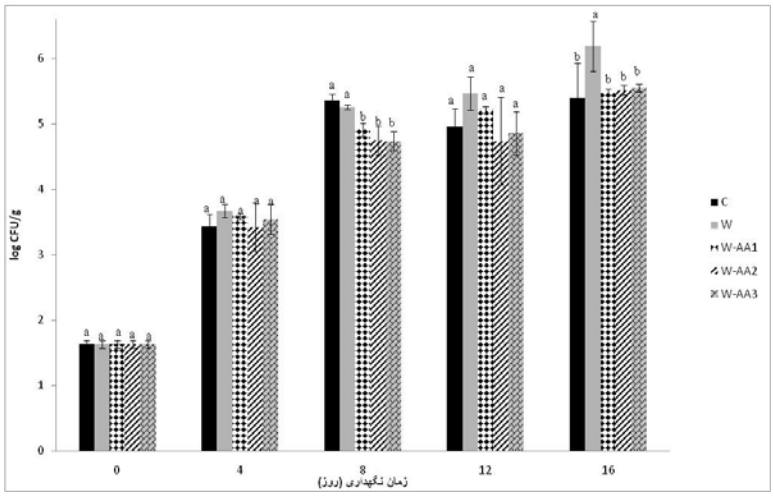
Archive of SID



Cتیمار شاهد
W پوشش پروتئین آب پنیر بدون ویتامین C
W-AA1 پوشش حاوی ۰/۵ درصد ویتامین C
W-AA2 پوشش حاوی ۱ درصد ویتامین C
W-AA3 پوشش حاوی ۱/۵ درصد ویتامین C

نمودار ۳. تغییرات باکتری‌های اسید لاکتیک تیمارهای مختلف طی نگهداری در دمای یخچال

a، b و c (حروف کوچک) در هر روز، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف در سطح $p<۰/۰۵$ **است**



Cتیمار شاهد
W پوشش پروتئین آب پنیر بدون ویتامین C
W-AA1 پوشش حاوی ۰/۵ درصد ویتامین C
W-AA2 پوشش حاوی ۱ درصد ویتامین C
W-AA3 پوشش حاوی ۱/۵ درصد ویتامین C

نمودار ۴. تغییرات انتروباکترهای تیمارهای مختلف طی نگهداری در دمای یخچال

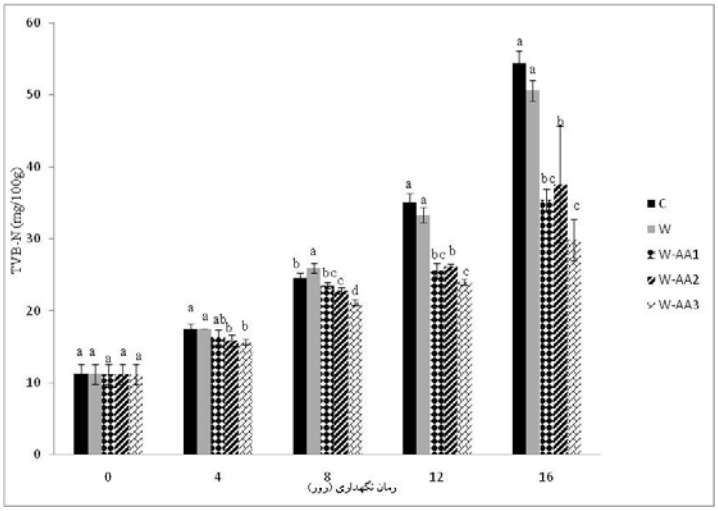
a، b و c (حروف کوچک) در هر روز، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف در سطح $p<۰/۰۵$ **است**

مقادیر مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N): مقادیر TVB-N تیمارهای مختلف طی نگهداری در یخچال در نمودار ۵ نشان داده شده است. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با گذشت زمان در همه تیمارها TVB-N افزایش یافت؛ به طوری‌که در انتهای دوره بیشترین میزان TVB-N به ترتیب برای تیمار شاهد (۵۴/۳۶) و تیمار پوشش داده شده بدون ویتامین C (۵۰/۶۳) به دست آمد. مقایسه بین تیمارها نشان داد که در طول دوره نگهداری تیمارهای شاهد و پوشش آب پنیر بدون ویتامین C نسبت به تیمارهای پوشش داده شده دارای ویتامین C میزان TVB-N بالاتری داشتند ($p<۰/۰۵$). اما در کل این دو تیمار از نظر میزان TVB-N با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p>۰/۰۵$). از بین تیمارهای پوشش داده شدهٔ حاوی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد ویتامین C ، تیمار حاوی ۱/۵ درصد ویتامین C به طور معنی‌داری میزان TVB-N کمتری داشت ($p<۰/۰۵$).

مقادیر pH: مقادیر pH در نمودار ۶ نشان داده شده‌است. در روزهای اولیه نگهداری، کاهش pH مشاهده شد، اما بعد از آن، مقدار pH در کلیه تیمارها با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. این روند در تیمار شاهد شدت بیشتری داشت و این تیمار در انتهای دوره pH بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشت ($p<۰/۰۵$). تیمارهای پوشش داده شدهٔ حاوی درصدهای مختلف ویتامین C نسبت به دو تیمار دیگر pH کمتری داشتند ($p<۰/۰۵$). تیمار پوشش داده شدهٔ حاوی ۱/۵ درصد ویتامین C نسبت به سایر تیمارها به طور معنی‌داری pH کمتری داشتند ($p<۰/۰۵$).

www.SID.ir

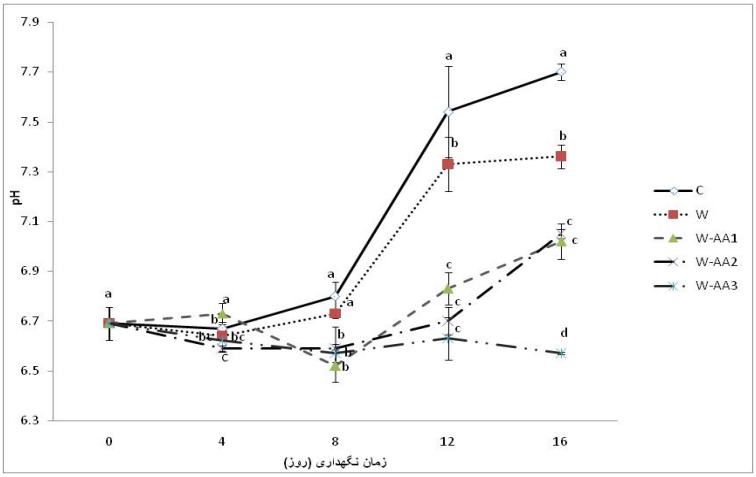
Archive of SID



Cتیمار شاهد
W پوشش پروتئین آب پنیر بدون ویتامین C
W-AA1 پوشش حاوی ۰/۵ درصد ویتامین C
W-AA2 پوشش حاوی ۱ درصد ویتامین C
W-AA3 پوشش حاوی ۱/۵ درصد ویتامین C

نمودار ۵. تغییرات مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) تیمارهای مختلف طی نگهداری در دمای یخچال

a، b و c (حروف کوچک) در هر روز، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف در سطح $p<۰/۰۵$ **است**



Cتیمار شاهد
W پوشش پروتئین آب پنیر بدون ویتامین C
W-AA1 پوشش حاوی ۰/۵ درصد ویتامین C
W-AA2 پوشش حاوی ۱ درصد ویتامین C
W-AA3 پوشش حاوی ۱/۵ درصد ویتامین C

نمودار ۶. تغییرات pH تیمارهای مختلف طی نگهداری در دمای یخچال

a، b و c (حروف کوچک) در هر روز، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف در سطح $p<۰/۰۵$ **است**

• بحث

بار باکتریایی بسته به شرایط و دمای آب متغیر است. با این حال، در مورد ماهیان آب شیرین میزان بار باکتریایی ماهی تازه حدود log CFU/g ۶-۲ گزارش شده است (۲۴). کیفیت اولیه ماهی مورد استفاده در مطالعه حاضر با توجه به بار باکتریایی اولیه پایین (log CFU/g ۳/۶) قبل از تیماربندی ماهیان، مناسب بود. گروه اصلی میکروارگانیسم‌های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده به صورت سرد، باکتری‌های سرمادوست گرم منفی هستند (۲۰). الگوی رشد این باکتری‌ها نیز تا حدودی مشابه الگوی رشد تعداد باکتری‌های کل بود. این الگوی افزایش TVC و سرمادوست در گوشت ماهی با گذشت زمان نگهداری ثابت شده است (۲۵). تأثیرات ضد باکتریایی ویتامین C در فراورده‌های غذایی مختلف مطالعه شده است. (۲۶، ۱۸) گزارش شده که ویتامین C به تنهایی یا در ترکیب با سایر اسیدهای آلی دارای خواص ضد باکتریایی دارد. *Giroux* و همکاران (۲۷) نیز ثابت کردند که افزودن ویتامین C به کلوچه های تهیه شده از گوشت گاو منجر به کاهش معنی‌دار رشد باکتری‌ها در مقایسه با گروه شاهد شد. به طوری که توانستند با استفاده از ۰/۵ درصد ویتامین C تعداد، TVC کلوچه های گوشت گاو را به میزان log CFU/g ۱ کاهش دهند. در تحقیق حاضر نیز کاهش TVC و باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌های حاوی ویتامین C در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار پوشش داده شده بدون ویتامین C با نتایج سایر محققان در زمینه استفاده از اسیدهای آلی بر علیه باکتری‌های عامل فساد و بیماری‌زا مطابقت دارد (۲۹، ۲۸).

www.SID.ir

Archive of SID

به طور کلی، تیمارهای مورد آزمایش در این تحقیق از نظر باکتری‌های اسید لاکتیک تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p>0/05$). فقط در روز ۴ نگهداری، تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارهای پوشش داده شده به طور معنی‌داری ($p<0/05$) میزان باکتری‌های اسید لاکتیک بالاتری داشت و در همین روز، کمترین میزان این باکتری‌ها برای تیمارهای پوشش داده شدهٔ حاوی ۱ و ۱/۵ درصد ویتامین C مشاهده شد. در روز ۱۲ نگهداری نیز تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها به طور معنی‌داری میزان باکتری‌های اسید لاکتیک بیشتری داشت ($p<0/05$). نظر به این که باکتری‌های اسید لاکتیک توانایی رشد در pHهای نسبتاً پایین را دارند و نسبت به اسیدهای آلی مقاوم‌تر هستند، نتایج به دست آمده در این تحقیق مورد پذیرش است. عنوان شده است که دلیل مقاوم بودن این باکتری‌ها، وجود مقادیر بالای پتاسیم درون سلولی در باکتری‌های گرم‌مثبت است که در مقابل آنیون‌های اسیدها فعالیت تقابلی دارند. باکتری‌های اسید لاکتیک و انتروباکترها از باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری هستند که در فساد ماهی نیز نقش دارند. نتایج به دست آمده برای انتروباکترها تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف نشان نداد ($p>0/05$). فقط در روز ۸ نگهداری، تیمارهای پوشش داده شده حاوی ویتامین C نسبت به دو تیمار دیگر به طور معنی‌داری ($p<0/05$) میزان انتروباکترهای کمتری داشتند و در روز ۱۶ نگهداری هم تیمار پوشش داده شده با پروتئین آب پنیر فاقد ویتامین C به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد و تیمارهای پوشش داده شده حاوی ویتامین C میزان انتروباکترهای بیشتری داشت ($p<0/05$). *Oussalah* و همکاران (۱۴) گزارش کردند که ممکن است بعضی از گونه‌های انتروباکترها از جمله ایشریشیاکلی و گونه‌های پسودوموناس فیلم‌های با منشا پروتئین‌های شیر را برای رشد مورد استفاده قرار دهند. نتایج تحقیق حاضر با نتایج *Tabak* و همکاران (۱۹) مطابقت داشت که با استفاده از غلظت‌های ۰/۲ تا ۲ درصد ویتامین C توانستند رشد چندین میکرواورگانیسم از جمله *هلیوکوباکترپیلوری*، *باسیلوس‌سرئوس* و *باسیلوس‌سابتیلیس* را مهار کنند، ولی باکتری‌های *کامپیلوباکترژژونی*، *ایشریشیاکلای*، *پروتئوس‌ولگاریس*، *کلستریدیوم‌اسپورجنس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* با نمونه‌های شاهد تفاوت چندانی نشان ندادند.

شاید بتوان ویژگی ضدباکتریایی ویتامین C را به کاهش pH بافت پوشش داده شده مربوط دانست. این کاهش pH ممکن است به افزایش نسبت ملکول‌های بدون بار منجر شده و در نتیجه، امکان تماس اسید را با دیواره سلولی باکتری آسان کند (۲۷). *تاج کریمی* و همکاران (۱۷) در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که pH عامل کلیدی اصلی و تأثیرگذار برای مهار باکتری‌ها توسط ویتامین C نیست؛ زیرا در تحقیقات خود مشاهده کردند که استفاده از ویتامین C باعث کاهش رشد، ایشریشیاکلای شد ولی این باکتری در pHهای خیلی پایین و زیر ۳/۴ نیز فعال باقی ماند. در نتیجه، باید مکانیسم دیگری نیز برای مهار رشد باکتری‌ها – علاوه بر شرایط اسیدی- دخیل باشد.

ویتامین C علاوه بر خاصیت اسیدی، به دلیل ویژگی حذف‌کنندگی و جاذب بودن، می‌تواند از طریق اتصال با ترکیبات بحرانی و تعیین‌کننده از قبیل یون‌های فلزی، گروه‌های آمینی و سولفیدریلی پروتئین‌ها باعث بروز ویژگی‌های ضدباکتریایی شود. زیرا این ترکیبات با انتقال مواد غذایی و فعالیت غشای باکتری‌ها در ارتباط هستند (۲۷). ویژگی جذب اکسیژن به وسیله ویتامین C ممکن است به عنوان یک سد ممانعتی مهم در مقابل میزان نیاز به اکسیژن برای باکتری‌ها مطرح باشد (۱۷). *Ricke* (۳۰) اعلام کرد که اسیدهای آلی چون پروتون دارند، به راحتی در دیواره سلولی باکتری قابل حل هستند و می‌توانند از طریق انتشار ساده وارد سیتوپلاسم باکتری شوند. *Tabak* و همکاران (۱۹) گزارش کردند که تحت شرایط هوازی، افزایش میزان ویتامین C از طریق محافظت از باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری یا دارای نیاز اکسیژنی اندک در مقابل اکسیژن فعال می‌تواند از شدت میزان مرگ و میر این باکتری‌ها جلوگیری کند. این موضوع به خاصیت آنتی‌اکسیدانی ویتامین C و حذف اکسیژن موجود مربوط می‌شود. ویتامین C در مورد این باکتری‌ها ۲ نقش دارد؛ هم باعث زنده‌مانی و هم باعث کاهش زنده‌مانی آن‌ها می‌شود که مکانیسم آن به خوبی مشخص نیست. گزارش شده است که لاکتات در pH=۶/۱ نتوانست از رشد هوازی یا بی‌هوازی انتروباکترها جلوگیری کند، ولی در pH=۵/۵ این اسید رشد بی هوازی این باکتری‌ها را متوقف کرد (۳۱).

میزان TVB-N به میزان باکتری و در نتیجه به تخریب باکتریایی وابسته است. تجزیه و تخریب ماهی یک فرایند پروتئولیتیکِ پیش‌رونده است که غالباً توسط فعالیت

www.SID.ir

Archive of SID

میکروارگانیسم‌ها و به میزان کمتر توسط آنزیم‌های اتولیتیک انجام می شود (۳۲). بالاترین سطح قابل قبول بازهای ازته فرار در گوشت ماهی را ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن به ازای ۱۰۰ گرم پیشنهاد کرده‌اند (۳۳). همان طور که در نمودار ۵ مشاهده می‌شود، با گذشت زمان در همه تیمارها میزان TVB-N افزایش یافته است. افزایش بار باکتریایی در طول دوره را نیز می‌توان دلیلی برای این موضوع دانست (۳۵، ۳۴).

عدم افزایش pH در روزهای اول نگهداری را می‌توان به حلالیت CO_2 در فاز آبی عضلات و در نتیجه تشکیل اسید کربنیک نسبت داد. هم‌چنین، کاهش pH در شروع دوره نگهداری می‌تواند به دلیل افزایش CO_2 اتمسفر نیز باشد (۳۴). افزایش pH بعد از این دوره در هر یک از تیمارهای شاهد و دارای پوشش پروتئینی آب پنیر را می‌توان به افزایش تولید بازهای فرار (مثل آمونیاک و تری متیل آمین) و فعالیت‌های آنزیمی باکتری‌ها و آنزیم‌های درونی نسبت داد (۳۶، ۳۴). در طول دوره نگهداری، تیمار شاهد همواره دارای مقادیر pH بالاتری نسبت به سایر تیمارهای پوششی بود ($p<۰/۰۵$) به طوریکه در پایان دوره نگهداری این مقدار برای تیمار شاهد به ۷/۰۷ و برای تیمار حاوی ۱/۵ درصد ویتامین C ۶/۵۷ بود که به طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود ($p<۰/۰۵$). کمتر بودن pH در فیله‌های دارای پوشش در کل دوره نگهداری را می توان به پتانسیل بازدارندگی فعالیت باکتری‌ها و پروتئازهای آنزیمی توسط پوشش‌ها مربوط دانست (۳۶). نتایج تحقیق حاضر با نتایج سایر محققان مطابقت داشت؛ به این ترتیب که در پژوهش‌های *Lu* و همکاران (۳۷) و *فان* و همکاران (۳۶) نیز ابتدا یک کاهش اولیه در pH و سپس افزایش آن در ادامه دوره نگهداری مشاهده شد.

تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از پوشش زیست تخریب‌پذیر پروتئین آب پنیرِ حاوی ویتامین C قادر است رشد باکتری‌های فیله ماهی قزل‌آلا را طی نگهداری در دمای یخچال به تعویق بیندازد و زمان ماندگاری نمونه‌های مورد آزمایش را به مدت ۴ روز افزایش دهد. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، می‌توان گفت پوشش پروتئین آب پنیر حاوی ویتامین C می‌تواند به عنوان یک بسته‌بندی فعال ضدباکتریایی مورد استفاده قرار گیرد. با وجود این، تحقیقات بیشتری برای درک مکانیسم فعالیت ضدباکتریایی ویتامین C و به کار گیری مشتقات آن مورد نیاز است.

سپاسگزاری

از مسئولان محترم شرکت *شیر پاستوریزه پگاه تهران* و جناب آقای *دکتر دانشی* برای کمک به تأمین کنسانتره پروتئین آب پنیر تحقیق حاضر صمیمانه تشکر می‌شود.

• References

1. Wang L, Auty MAE, Kerry JP. Physical assessment of composite biodegradable films manufactured using whey protein isolate, gelatin and sodium alginate. J Food Eng 2010; 96: 199-207.
2. Go´mez-Estaca J, Lo´pez de Lacey A, Go´mez-Guille´n MC, Lo´pez-Caballero ME, Montero P. Antimicrobial activity of composite edible films based on fish gelatin and chitosan incorporated with clove essential oil. J Aquat Food Prod Technol 2009; 18: 46-52.
3. Gennadios A, Hanna MA, Kurth LB. Application of edible coatings on meats, poultry and seafoods: a review, Lebensm.-Wiss. u.-Technol 1997; 30: 337-50.
4. Gontard N, Guilbert S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. In: Mathlouthi M, Editor. Food packaging and preservation. London: Blackie Academic & Professional; 1994; p. 159-181.
5. Kester JJ, Fennena O. Edible films and coatings: a review. Food Technol 1986; 40(12): 47-59.
6. Baldwin EA. Edible coatings for fresh fruits and vegetables: past, present, and future. In: Krochat JM, Baldwin EA, Nisperos- Carriedo M, Editors. Edible coatings and films to improve food quality. Lancaster, PA: Technomic Publishing Company, Inc; 1994; p.25-64.
7. Hood LL. Collagen in sausage casings. In: Pearson AM, Dutson TR, Bailey AJ, Editors. Advances in meat research. New York: Van Nostrand Reinhold Company; 1987; vol. 4, p. 109-29.
8. Mark HF, Bikales NM, Overberger CG, Menges G. Encyclopedia of Polymer Science and Engineering 2nd edition, New York: John Wiley & Sons, Inc; 1987; vol 7, p.488-513.
9. Bourtoom T. Edible protein films: properties enhancement. Food Res Int 2009; 16: 1-9.
10. Salgado PR, Ortiz SEM, Petruccelli S, Mauri AN. Biodegradable sunflower protein films naturally activated with antioxidant compounds. Food Hydrocoll 2010; 24: 525-33.
11. Seydim AC, Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food Res Int 2006; 39: 639-44.
12. Min S, Krochta JM. Ascorbic acid-containing whey protein film coatings for control of oxidation. Food Chem 2007; 55: 2964-9.

www.SID.ir

Archive of SID

13. Weng YM, Chen MJ, Chen W. Antimicrobial food packaging materials from Poly (ethylene-co methacrylic acid). LWT - Food Science and Technology 1999; 32: 191-5.

14. Oussalah M, Caillet S, Salmieri S, Saucier L, Lacroix M. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. J Agric Food Chem 2004; 52: 5598-605.

15. Tajkarimi MM, Ibrahim SA, Cliver DO. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control 2010; 21(9): 1199-218.

16. Ibrahim SA, Yang G, Song D, Tse TSF. Antimicrobial effect of guavaon Escherichia Coli O157:h7 and salmonella typhimurium in liquid medium. Int J Food Properties 2011; 14: 1-8.

17. Tajkarimi M, Ibrahim SA. Antimicrobial activity of ascorbic acid alone or in combination with lactic acid on *Escherichia Coli* O157:H7 in laboratory medium and carrot juice. Food Control 2011; 22: 801-4.

18. Zambuchini B, Fiorini D, Verdenelli MC, Orpianesi C, Ballini R. Inhibition of microbiological activity during sole (Solea solea L.) chilled storageby applying ellagic and ascorbic acids. LWT - Food Science and Technology 2008; 41: 1733-8.

19. Tabak M, Armon R, Rosenblot G, Stermer E, Neeman I. Diverse effect of ascorbic acid and palmitoylascorbate on Helicobacter pylori survival and growth. FEMS Microbiology Letters 2003; 224: 247-53.

20. Ibrahim Sallam K. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control 2007; 18: 566-75.

21. Hernández M.D, López M.B, Álvarez A, Ferrandini E, GarcíaGarcía B, Garrido M.D. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre [*Argyrosomus regius*] fillets during ice storage. Food Chem 2009; 114: 237-45.

22. Suvanich V, Jahncke ML, Marshall DL. Changes in selected chemical quality characteristics of channel cat fish frame mince during chill and frozen storage. J Food Sci 2000; 65(1): 24-26.

23. Parvaneh V. Quality control and the chemical analysis of food. Tehran: Tehran University. Press; 1998.p. 325 [in Persian]

24. Gelman A, Glatman L, Drabkin V, Harpaz S. Effects of storage temperature and preservative treatment on shelf life of the pond-raised freshwater fish, silver perch (Bidyanus bidyanus). J Food Protection 2001; 64: 1584-1591.

25. Fan W, Chi Y, Zhang S. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (Hypophthalmicthys molitrix) during storage in ice. Food Chem 2008; 108: 148-53.

26. Torregrosa F, Esteve M.J, Frigola A, Cortes C. Ascorbic acid stability during refrigerated storage of orangeecarrot juice treated by high pulsed electric field and comparison with pasteurized juice. J Food Eng 2006; 73: 339-45.

27. Giroux M, Ouattara B, Yefsah R, Smoragiewicz W, Saucier L, Lacroix M. Combined effect of ascorbic acid and gamma irradiation on microbial and sensorial characteristics of beef patties during refrigerated storage. J Agric Food Chem 2001; 49: 919-25.

28. Ouattara B, Simard RE, Holley RA, Piette GJP, Be´gin A. Inhibitory effect of organic acids upon meat spoilage bacteria. J Food Protection 1997; 60: 246-53.

29. Anderson ME, Huff HE, Naumann HD, Marshall RT. Counts of six types of bacteria on lamb carcasses dipped or sprayed with acetic acid at 25 °C or 55 °C and stored vacuum packaged at 0 °C. J Food Protection 1988; 51: 874-7.

30. Ricke SC. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. Poultry Sci 2003; 82: 632-9.

31. Ca'rdenas FC, Giannuzzi L, Zaritzkay NE. Mathematical modelling of microbial growth in ground beef from Argentina. Effect of lactic acid addition, temperature and packaging film. Meat Science 2008; 79: 509-20.

32. Ocaño-Higuera VM, Marquez-Ríos E, Canizales-Dávila M, Castillo-Yáñez FJ, Pacheco-Aguilar R, Lugo-Sánchez ME, et al. Postmortem changes in cazon fish muscle stored on ice. Food Chem 2009; 116: 933-8.

33. Gimenez B, Roncales P, Beltran J.A. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. J Sci Food Agric 2002 ; 84: 1154-9.

34. Kostaki M, Giatrakou V, Savvaidis IN, Kontominas MG. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. Food Microbiol 2009; 26: 475-82.

35. Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chem 2010; 120: 193-8

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

37. Lu F, Liu D, Ye X, Wei Y, Liu F. Alginate–calcium coating incorporating nisin and EDTA maintains the quality of fresh northern snakehead (Channa argus) fillets stored at 4 °C. J Sci Food Agric 2009; 89: 848-54.

www.SID.ir

Archive of SID

The effect of ascorbic acid combined with whey protein coating on the shelf-life of rainbow trout stored at refrigerator temperature: Microbial and chemical analyzes

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

1- M.Sc. Student of Seafood Science and Technology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

*2- *Corresponding author: Associate Prof, Dept. of Seafood Science and Technology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran. Email: rezai_ma@modares.ac.ir*

3- Assistant Prof, Dept. of Fisheries, Faculty of Fisheries, University of Agricultural Science and Natural Resources of Gorgan, Iran.

Received 26 Nov, 2011 **Accepted 20 Apr, 2012**

Background and Objective: Microbial growth, as a major source for meat and meat product spoilage, results in undesirable changes and thus leads to food poisoning, human mortality and also considerable economic losses. The aim of the present study was to inhibit the rainbow trout fillets bacteria during refrigeration by using whey protein coating containing Vitamin C.

Materials and Methods: Rainbow trout fillets were kept in refrigerator for 16 days, considering 5 treatments, including control (C), coated with whey protein without Vit C (W), W treatment containing 0.5% vit C (W-AA1), W treatment containing 1% Vit C (W-AA2) and W treatment containing 1.5% Vit C. Microbial analysis including total viable counts, psychrophilic bactoria counts, lactic acid bacteria and Enterobacteriaceaeas as well as total volatile basic-nitrogen (TVB-N) and pH measuring were periodically performed every four days.

Results: Findings show that whey protein coating containing Vitamin C significantly reduced the total viable counts as well as psycrotrophic bacteria counts ($P<0.05$). The number of lactic acid bacteria and enterobacteriaceas in coated treatment containing Vitamin C was lower compared to those of control treatment ($P>0.05$). The use of this coating combined with Vitamin C also led to a reduction of TVB-N and pH values during storage ($P< 0.05$).

Conclusion: The result showed an antibacterial activity of whey protein edible coating containing Vitamin C which could extend the shelf-life of fillets for 4 days. In general, no significant difference was observed among the different treatment options containing Vitamin C.

Keywords: Rainbow trout, Edible coating, Ascorbic acid, Shelf-life increasing

www.SID.ir