مقاله تحقیقی

اثر بسته‌بندی در خلاء و مواد نگهدارنده در جلوگیری از رشد باکتری در فیله ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon iaella*)

محمدرضا قمی[۱،*]، مهدی نیکو[۲]، بهزاد جوادیان[۲]، احمد باقری[۲]، زین‌العابدین بابایی[۲]، محمد قلی‌پور[۲]

۱. استادیار شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، گروه شیلات، تنکابن، ایران
۲. کارشناس ارشد آزمایشگاه مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

***مسؤول مکاتبات**: محمدرضا قمی، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، تلفن: ۰۹۱۱۳۵۲۰۶۶۹، فاکس: ۰۱۵۱۳۴۰۸۷۲۱، پست الکترونیکی: mghomi@tonekabon.iau.ac.ir
محل انجام تحقیق: تنکابن، ولی‌آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۱ تاریخ پذیرش: ۸۹/۹/۱۶

چکیده

در طی زمان نگهداری ماهی، افت کیفیت به سرعت اتفاق می‌افتد که این امر عمر مفید آن را محدود می‌کند. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی کیفیت میکروبیولوژیکی فیله گوشت کپور علفخوار بسته‌بندی شده در خلاء با استفاده از مواد نگهدارنده استات سدیم (۰، ۱و ۳٪) و نیسین (۰، ۰/۱و ۰/۲٪) در قالب آزمایش فاکتوریل در طی نگهداری در یخچال به مدت ۸ روز انجام شد. نتایج نشان داد که هر دو ماده نیسین و استات سدیم از افزایش تعداد باکتری‌های مزوفیلیک و اسید لاکتیک جلوگیری می‌نماید و تیمارهای ترکیبی مؤثرتر بوده است. در فیله‌های با بسته‌بندی در خلاء، تعداد باکتری‌ها پایین‌تر از حدی بود که فیله‌ها بدون بسته‌بندی خلاء نگهداری شدند. از سوی دیگر، غلظت بالای استات سدیم (۳٪) در جلوگیری از رشد باکتری‌ها مؤثرتر بود. در پایان دوره نگهداری، تعداد باکتری‌های مزوفیلیک و اسید لاکتیک در نمونه‌های بسته‌بندی شده در خلاء، پایین‌تر از حد آستانه لگاریتم cfu/g ۷ بود. در نتیجه، عمر مفید فیله‌ها با استفاده از بسته‌بندی در خلاء می‌تواند تا ۴ روز افزایش یابد.

واژه‌های کلیدی: بسته‌بندی در خلاء، مواد نگهدارنده، رشد باکتریایی، کپور علفخوار

مقدمه

ماهی یکی از مواد غذایی فسادپذیر است و در طی زمان نگهداری، افت کیفیت ماهی تازه به سرعت اتفاق می‌افتد که این امر عمر مفید آن را محدود می‌کند. فساد ماهی، فرآیندی پیچیده است که مجموعه عوامل فیزیکی، شیمیایی و میکروبی در آن دخیل هستند (۱،۲). واکنش‌های شیمیایی و آنزیمی، دلیل کاهش کیفیت اولیه در گوشت به شمار می‌آیند در حالی که فعالیت‌های میکروبی، عامل کاهش محسوس کیفیت در گوشت هستند (۳). آلودگی‌های میکروبی می‌تواند عمر مفید گوشت و کیفیت آن را کاهش دهد که این امر، علاوه بر به خطر انداختن مصرف‌کننده، باعث کاهش سودآوری اقتصادی نیز می‌شود.

گوشت تازه‌ای که واجد شرایط کیفی مطلوب بوده و از طول عمر ماندگاری مناسبی نیز برخوردار باشد، مصرف‌کنندگان زیادی دارد. تحقیقات فراوانی در خصوص افزایش طول عمر ماندگاری فرآورده‌های شیلاتی با استفاده از مواد نگهدارنده مثل استات

سدیم و نیسین جهت بهبود عمر ماندگاری گوشت ماهی به هنگام نگهداری در دمای پایین انجام شده است (۴). عوامل ضدمیکروبی مثل استات سدیم به نحو مؤثری در جلوگیری از رشد میکروبی و بهبود عمر مفید فرآورده گوشتی در مکان‌های نگهداری، مؤثر تشخیص داده شده‌اند (۵). نیسین همچنین از رشد باکتری‌های گرم مثبت جلوگیری می‌کند (۶).

در صنایع غذایی و به خصوص در فرآورده‌های غذایی دریایی، بسته‌بندی در خلاء به میزان وسیعی استفاده می‌شود؛ زیرا علاوه بر هزینه پایین، به نحو مؤثری در کاهش تغییرات اکسایشی محصول نقش دارد (۷). در شرایط بسته‌بندی در خلاء، حفاظت غذا در برابر فساد میکروبی به مدت ۹۰ روز در دمای ۲ $^{\circ}C$ مؤثر بوده است (۸). نتایج مشابهی همچنین توسط پانتازی و همکاران (۹) در بسته‌بندی وکیوم فیله اره ماهی مدیترانه‌ای (*Xiphias gladius*) بدست آمد که در آن، نمونه‌ها در دمای ۴ $^{\circ}C$ به مدت ۱۶ روز با نمونه‌های نگهداری شده در معرض هوا مقایسه شدند. علاوه بر این، مطالعه‌ای توسط مانجو و همکاران (۱۰) صورت گرفت که نشان داد بسته‌بندی خلاء در ترکیب با استات سدیم، در به تأخیر انداختن فساد ناشی از بیماری دانه مرواریدی (*Etroplus suratensis*) مؤثر است و عمر مفید ماهی را در دمای یخچال به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد.

بررسی حاضر، تاثیر بسته‌بندی وکیوم و همچنین تأثیر مواد نگهدارنده نیسین و استات سدیم و ترکیب این دو ماده بر کیفیت میکروبی فیله ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) به هنگام نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ روز را نشان می‌دهد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۰ قطعه ماهی کپور علفخوار پرورشی (با وزن متوسط ۱۲۰۰ گرم) از فروشگاه‌های محلی شهر تنکابن خریداری و در کنار یخ (به نسبت ۱:۱) به آزمایشگاه دانشگاه تنکابن منتقل گردید. در آزمایشگاه، محتویات شکم ماهی، تخلیه و سپس با آب مقطر شسته شد تا باقیمانده خونابه و مواد لزج از روی بدن شسته شود. سپس از ماهی، فیله‌هایی به ضخامت ۵ میلی‌متر تهیه گردید. فیله‌ها به‌صورت هوموژن درآورده شده و به ۹ گروه تقسیم گردیدند. استات سدیم در سه سطح ۱ و ۳ درصد و نیسین در سه سطح ۰/۱ و ۰/۲ درصد استفاده گردید. محلول ۴ درجه سانتی‌گراد از هر غلظت، تهیه و فیله‌ها برای مدت ۱۵ ثانیه در داخل آن‌ها قرار داده شدند. فیله-های گروه کنترل نیز در آب مقطر سرد قرار گرفتند. نسبت فیله به محلول، ۱ به ۲ بوده است. فیله‌ها به صورت زیر کدبندی شدند:

کد ۱ (۰ درصد استات سدیم + ۰ درصد نیسین= شاهد)

کد ۲ (۰ درصد استات سدیم + ۰/۱ درصد نیسین)

کد ۳ (۰ درصد استات سدیم + ۰/۲ درصد نیسین)

کد ۴ (۱ درصد استات سدیم + ۰ درصد نیسین)

کد ۵ (۱ درصد استات سدیم + ۰/۱ درصد نیسین)

کد ۶ (۱ درصد استات سدیم + ۰/۲ درصد نیسین)

کد ۷ (۳ درصد استات سدیم + ۰ درصد نیسین)

کد ۸ (۳ درصد استات سدیم + ۰/۱ درصد نیسین)

و کد ۹ (۳ درصد استات سدیم + ۰/۲ درصد نیسین).

فیله‌های نگهداری شده در داخل محلول‌های حاوی مواد نگهدارنده به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط بر روی یک صفحه مشبک استریل در زیر هود و در مجاورت دو شعله قرار داده شدند تا خشک شوند. این فیله‌ها سپس به دو گروه تقسیم گردیدند. گروه اول به صورت وکیوم، بسته‌بندی گردید و گروه دوم بدون بسته‌بندی در صفحات آلومینیوم فویل در شرایط هوازی، بسته‌بندی و همه نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۸ روز نگهداری شدند.

برای آنالیزهای میکروبی، ۱۰ گرم از هر نمونه به مدت ۱ دقیقه در ۲۳۰ دور در دقیقه در یک دستگاه مخلوط کن (Stomacher 400 Lab Blender, Seward Medical, UK) که حاوی ۹۰ میلی‌لیتر محلول نمکی ۰/۸۵ درصد کلرید سدیم استریل بود، همگن شد و برای آنالیز میکروبیولوژیکی استفاده گردید. برای شمارش میکروبی، ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه‌های اختصاص‌یافته برای رقیق‌سازی ترتیبی همگن شده، به صورت صاف در سطح یک محیط کشت با استفاده از یک میله شیشه‌ای استریل

خمیده گسترش یافت. پلیت‌ها در دمای ۳۷ $^{\circ}C$ به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند (۱۱). شمارش کل باکتریایی (باکتری‌های مزوفیلیک) و باکتری‌های اسید لاکتیک (لاکتوباسیلوس) بر اساس واحد Log cfu/g صورت گرفت. برای شمارش باکتری‌های کل، از محیط پلیت کانت آگار (Plate Count Agar= PCA) (Merck, Germany) و برای شمارش باکتری‌های لاکتوباسیلوس، از محیط MRS آگار (De Man, Rogosa, Sharpe agar) (Merck, Germany) مطابق روش‌های استاندارد استفاده شد.

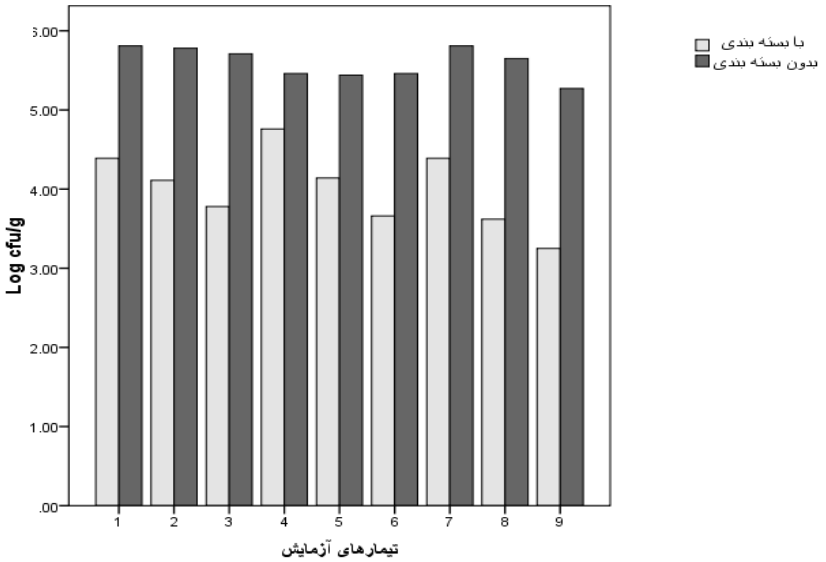
یک آزمایش ۳×۳ فاکتوریل (با سه تکرار) برای مشخص‌نمودن اختلافات اصلی و اثرات متقابل نیسین و استات سدیم روی تغییرات بار میکروبی طراحی شد. اطلاعات حاصله با استفاده از روش GLM توسط SPSS 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج و بحث

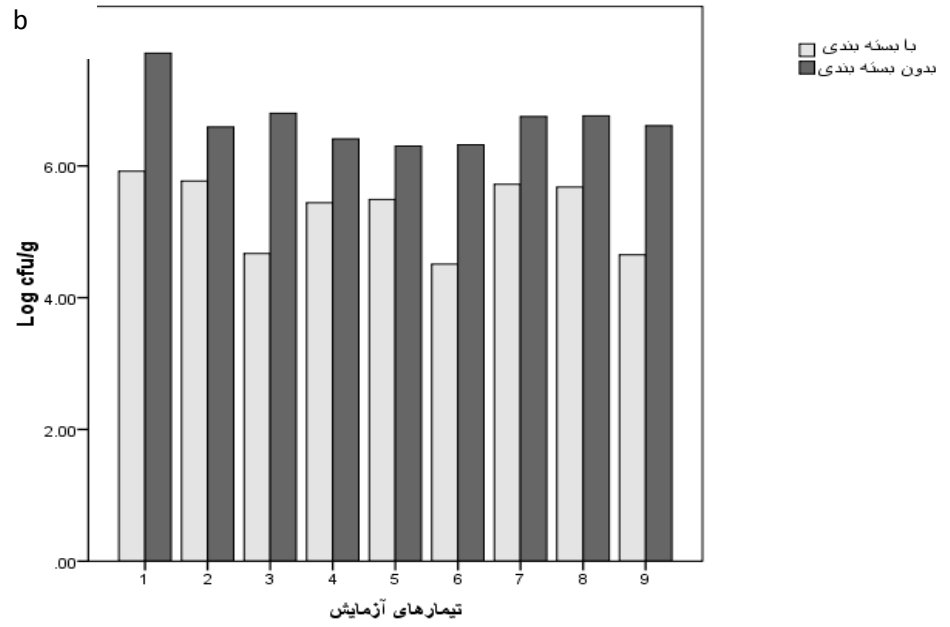
تعداد باکتری‌های مزوفیلیک اولیه نمونه‌های نگهداری شده با بسته‌بندی وکیوم و بدون بسته‌بندی وکیوم، به ترتیب ۴/۳۹ و ۵/۸۱ log cfu/g بوده است ($P > ۰/۰۵$) (نمودار ۱a). تعداد کل باکتری‌های مزوفیلیک بعد از ۴ روز نگهداری در تیمارهای مختلف مواد نگهدارنده (۵/۹۲-۴/۵۱ log cfu/g در شرایط بسته‌بندی با خلاء، ۷/۷۱-۶/۳۰ log cfu/g شرایط بسته‌بندی بدون خلاء) اختلاف معنی‌داری با هم نداشت ($P > ۰/۰۵$) (نمودار ۱b). تعداد باکتری‌های مزوفیلیک در شرایط خلاء و بدون خلاء در روز هشتم نگهداری، به ترتیب به ۷/۳۲ و ۹/۷۷ log cfu/g افزایش یافت. این نتایج، مطابق با گزارش موهان و همکاران (۱۲) است که در آن، افزایش تدریجی در تعداد کل باکتری‌های مزوفیلیک در ماهی Seer (*Scomberomorus commerson*) طی نگهداری در یخچال مشاهده شد.

مطابق نمودار ۱c، در پایان دوره نگهداری (روز ۸)، تعداد باکتری‌های مزوفیلیک در نمونه‌هایی که با سدیم استات ۳ درصد نگهداری شده بودند، تعداد باکتری‌های کمتری نسبت به گروه کنترل نشان دادند. همچنین نیسین، توانایی بالقوه‌ای را در تیمارهای ترکیبی با استات سدیم به صورت سطوح پایین‌تر از تعداد باکتری‌های مزوفیلیک از خود نشان داد (نمودار ۱).

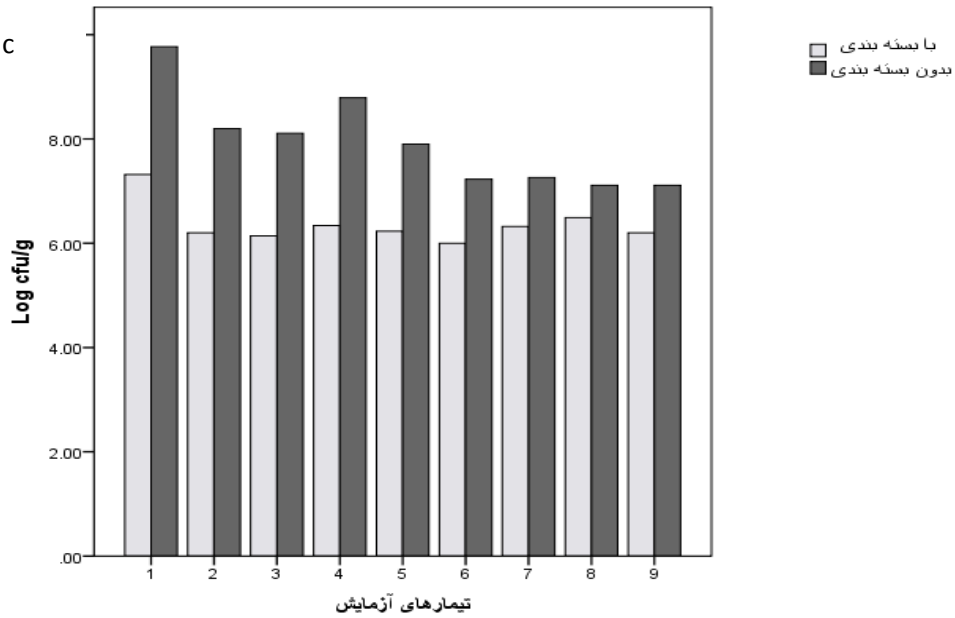
a



b

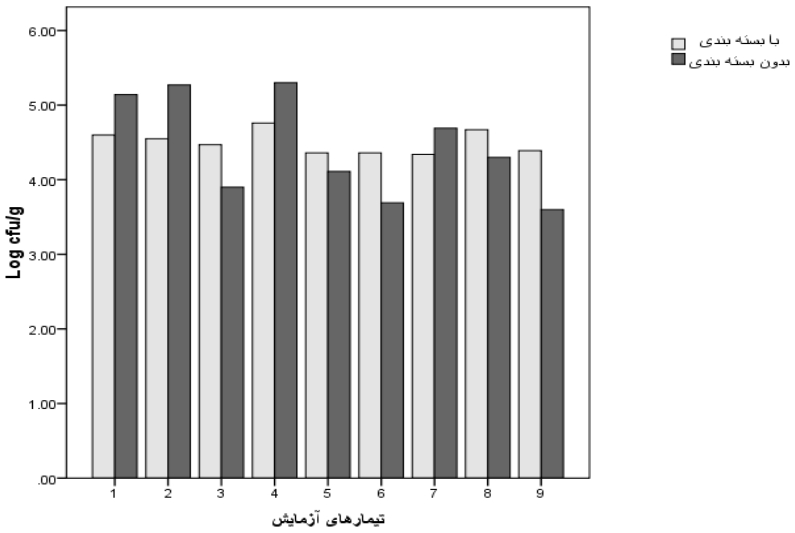


c

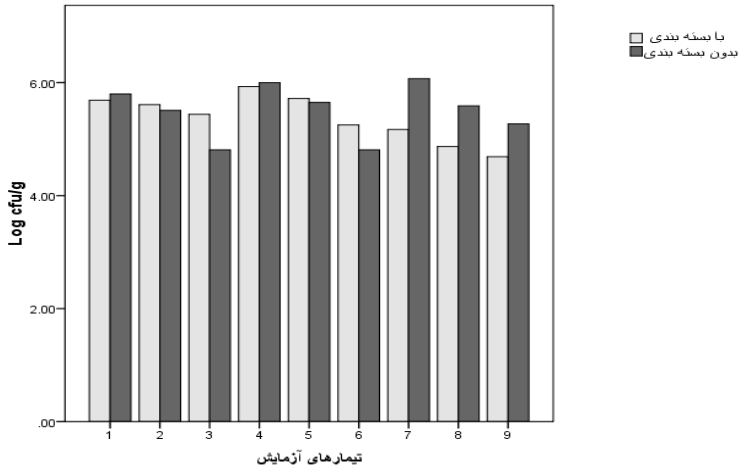


نمودار ۱- اثر سدیم استات و نیسین روی تعداد کل باکتری‌های مزوفیلیک فیله کپور علفخوار پرورشی نگهداری شده در یخچال در روز ۰ نگهداری (a)، در روز ۴ نگهداری (b)، در روز ۸ نگهداری (c). کد ۱ (٪ ۰ سدیم استات + ٪ ۰ نیسین)، کد ۲ (٪۰ سدیم استات + ٪ ۰/۱ نیسین)، کد ۳ (٪ ۰ سدیم استات + ٪ ۰/۲ نیسین)، کد ۴ (٪ ۱ سدیم استات + ٪ ۰ نیسین)، کد ۵ (٪۱ سدیم استات + ٪ ۰/۱ نیسین)، کد ۶ (٪ ۱ سدیم استات + ٪ ۰/۲ نیسین)، کد ۷ (٪ ۳ سدیم استات + ٪ ۰ نیسین)، کد ۸ (٪ ۳ سدیم استات + ٪ ۰/۱ نیسین)، کد ۹ (٪۳ سدیم استات + ٪۰/۲ نیسین).

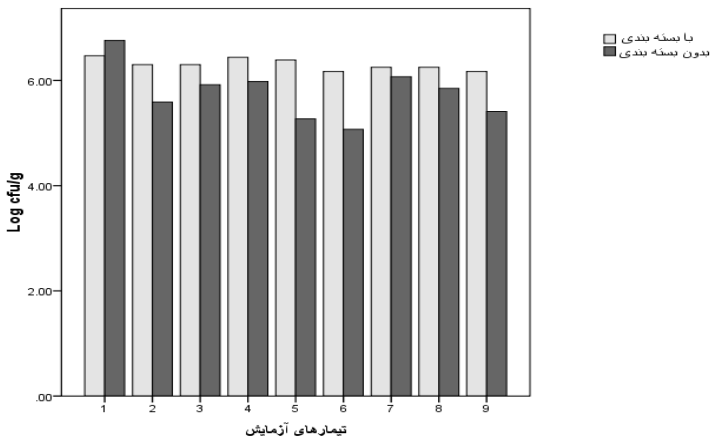
a



b



c



نمودار ۲- اثر سدیم استات و نیسین بر روی تعداد کل باکتری‌های لاکتوباسیلوس فیله کپور علفخوار پرورشی نگهداری شده در یخچال در روز ۰ نگهداری (a)، در روز ۴ نگهداری (b)، در روز ۸ نگهداری (c). کد ۱(٪ ۰ سدیم استات + ٪ ۰ نیسین)، کد ۲ (٪۰ سدیم استات + ٪ ۰/۱ نیسین)، کد ۳ (٪ ۰ سدیم استات + ٪ ۰/۲ نیسین)، کد ۴(٪ ۱ سدیم استات + ٪ ۰ نیسین)، کد ۵ (٪۱ سدیم استات + ٪ ۰/۱ نیسین)، کد ۶ (٪ ۱ سدیم استات + ٪ ۰/۲ نیسین)، کد ۷ (٪ ۳ سدیم استات + ٪ ۰ نیسین)، کد ۸ (٪ ۳ سدیم استات + ٪ ۰/۱ نیسین)، کد ۹ (٪۳ سدیم استات + ٪۰/۲ نیسین).

وقتی فیله‌ها در شرایط خلاء نگهداری شدند، تعداد باکتری‌های مزوفیلیک آن‌ها با افزایش مدت زمان نیز افزایش یافت (نمودار ۱). علاوه بر آن، تعداد باکتری‌های مزوفیلیک کمتر از حدی بود که فیله‌ها در حالت بدون خلاء نگه داری می‌شدند. تعداد لاکتوباسیلوس‌ها با افزایش زمان نگهداری، افزایش یافت و در نمونه‌های نگهداری شده با خلاء در روز هشتم، افزایش بیشتری یافت ولی تغییر معنی‌داری با نمونه‌های بدون خلاء نشان نداد (نمودار ۲c).

تفاوت معنی‌داری ($P < ۰/۰۵$) در تعداد باکتری‌های مزوفیلیک بین نمونه‌های تحت‌تاثیر مواد نگهدارنده و کنترل مشاهده شد (نمودار ۱). پس از چهار روز نگهداری، نمونه‌های عمل آوری شده با مواد ترکیبی نیسین و استات سدیم، پایین‌ترین حد افزایش تعداد باکتری‌های مزوفیلیک را نشان دادند. بعد از ۸ روز، تیمارهای ترکیبی (تیمارهای ۶، ۷، ۸ و ۹) بیشترین میزان مؤثر در تاخیر رشد باکتریایی را داشتند. نتایج مشابهی در ماهی Seer (*Scomberomorus commerson*) نگهداری شده با استات سدیم دیده شد که در آن باکتری‌های مزوفیلیک دارای تعداد کمتری در مقایسه با تیمار کنترل بودند (۱۲). برای قزل‌آلای رنگین‌کمان دودی‌شده به روش سرد، نیسین در کاهش تعداد کل باکتری‌های مزوفیلیک مؤثر بود (۱۳).

در مطالعه حاضر، کل باکتری‌های مزوفیلیک در نمونه‌های نگهداری شده بدون بسته‌بندی در خلاء، از ۷ log cfu/g تجاوز کرد که فراتر از محدوده پذیرش برای گونه‌های آب شیرین و دریایی (۱۴) در روز ۴ برای تیمار کنترل و نمونه‌های تحت‌تاثیر مواد نگهدارنده بوده است (نمودار ۱، b و c). تعداد لاکتوباسیلوس هر دو گروه با بسته‌بندی در خلاء و بدون آن، با گذشت زمان نگهداری، افزایش یافت، ولی از محدوده قابل‌قبول کمتر از ۷ log cfu/g (۱۴) تجاوز نکرد (نمودار ۲، a، b، c). تعداد باکتری‌های مزوفیلیک در نمونه‌های نگهداری شده در حالت بسته‌بندی در خلاء، کمتر از محدوده حد مجاز باکتری‌ها در حین ۸ روز نگهداری در یخچال بود. بنابراین، عمر مفید فیله‌ها با استفاده از بسته‌بندی در خلاء بر اساس شرایط تحقیق حاضر تا ۴ روز افزایش نشان می‌دهد.

تقدیر و تشکر

نگارندگان از مسئولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن برای تأمین امکانات اجرایی و مالی لازم برای انجام این تحقیق، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع مورد استفاده

1. Ashie, I. N. A., Smith, J. P., Simpson, B. K., 1996. Spoilage and shelf life extension of fresh fish/ shellfish. Critic Rev Food Sci Nutr 36: 87-122.
2. González-Fandos, E., Villario-Rodríguez, A., García-Linares, M. C., García-Arias, M. T., García-Fernández, M. C., 2005. Microbiological safety and sensory characteristics of salmon slices processed by the souse vide method. Food Control 16: 77-85.
3. Gram, L., Huss, H. H., 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. Int J Food Microbiol 33: 121-137.
4. Sallam, K. I., 2007. Chemical, sensory and shelf life evaluation of sliced salmon treated with salts of organic acids. Food Chem 101: 592-600.
5. Kim, C. R., Hearnsberger, J. O., Vickery, A. P., White, C. H., Marshall, D. L., 1995. Sodium acetate and bifidobacteria increase shelf life of refrigerated catfish fillets. J Food Sci 60: 25-27.
6. Chen, N., Shelef, L. A., 1992. Relationships between water activity, salts of lactic acid and growth of listeria monocytogenes in a meat model system. J Food Protection 55: 574-578.
7. Gopal, T. K. S., Joseph, J., Balachandran, K. K., 1999. Development of fish products employing hurdle technology. In: preservation of food by hurdle

technology. DFRL, Mysore, pp. 93–103.
8. Diaz, P., Garrido, M. D., Banon, S., 2010. The effects of packaging method (vacuum pouch vs. plastic tray) on spoilage in a cook-chill pork-based dish kept under refrigeration. Meat Science 84: 538–544.
9. Pantazi, D., Papavergou, A., Pournis, N., Kontominas, M. G., Savvaidis, I. N., 2008. Shelf-life of chilled fresh mediterranean swordfish (*Xiphias gladius*) stored under various packaging conditions: Microbiological, biochemical and sensory attributes. Food Microbiol 25: 136-143.
10. Manju, S., Jose, L., Gopal, T. K. S., Ravishankar, C. N., Lalitha, K. V., 2007. Effects of sodium acetate dip treatment and vacuum-packaging on chemical, microbiological textural and sensory changes of pearlspot (*Etroplus suratensis*) during chill storage. Food Chem 102: 27–35.
11. Townley, R. R., Lanier, T., 1981. Effect of early evisceration on the keeping quality of Atlantic croaker *(Micropogon undulatus)* and grey trout *(Cynoscion regalis)* as determined by subjective and objective methodology. J Food Sci 46: 863-867.
12. Mohan, C. O., Ravishankar, C. N., Gopal, T. K. S., Lalitha, K. V., Kumar, K. A., 2010. Effect of reduced oxygen atmosphere and sodium acetate treatment on the microbial quality changes of seer fish (*Scomberomorus Commerson*) steaks stored in ice. Food Microbiology. 15: 1-9.
13. Nykanen, A., Weckman, K., Lapvetalainen, A., 2000. Synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked rainbow trout by nisin and sodium lactate. Int J Food Microbiol 61: 63-72.
14. ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods), 1986. Sampling plants for fish and shellfish. In: ICMFS, microorganisms in foods. Sampling for microbiological analysis: Principles and scientific applications, second Ed., vol. 2. University Of Toronto Press, Canada, Pp: 181-196.