بررسی اثر نایسین و عصاره گیاه رزماری بر شاخص‌های حسی و فساد میکروبی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Onchorynchus mykis*) در شرایط نگهداری سرد

مهران مسلمی[1*]، رقیه صالحانی[2]، شهریار مهدی آبادی[3]

۱- گروه کشاورزی، واحد جویبار، دانشگاه آزاد اسلامی، جویبار، ایران

۲- موسسه غیرانتفاعی تجن، قایم شهر، ایران

۳- دفتر مرکزی جهاد دانشگاهی، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: m_moslemi1000@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/٦/۱٤

چکیده

جهت بررسی اثر پوشش نایسین و عصاره گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) بر روی شاخص‌های حسی و فساد میکروبی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در شرایط نگهداری سرد از چهار گروه تیمار شامل: تیمار شاهد (فیله‌های بدون پوشش)، فیله پوشش داده شده با نایسین ۰/۱ درصد، فیله پوشش داده شده با نایسین ۰/۵ درصد و ۱ درصد عصاره گیاه رزماری و فیله پوشش داده شده با نایسین ۰/۱ درصد و ۲ درصد عصاره گیاه رزماری استفاده شد. آزمون‌های کنترل کیفی شامل آزمون‌های میکروبی؛ شمارش تعداد شمارش کلی باکتری‌ها، شمارش باکتری‌های سرماگرا و شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک و ارزیابی-های حسی؛ رنگ، بو و بافت هر ٤ روز یک بار به مدت ۱۲ روز انجام شدند. نتایج نشان دادند با افزایش زمان نگهدای تعداد کلی باکتری‌ها، باکتری‌های سرماگرا و باکتری‌های اسید لاکتیک و شاخص‌های رنگ، بو و بافت در تیمارهای شاهد افزایش معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). اثر پوشش با نایسین ۰/۵ درصد – ۱ و ۲ درصد عصاره گیاه رزماری بر تعداد کلی باکتری‌ها، باکتری‌های سرماگرا و باکتری‌های اسید لاکتیک و شاخص‌های رنگ، بو و بافت در طی دوره نگهداری معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$)، تیمارهای پوشش داده شده با نایسین ۰/۱، نسبت به دو تیمار فوق اثر قابل توجهی در کنترل فساد نمونه‌ها نداشت. بر اساس نتایج این پژوهش استفاده دوزهای بالاتر عصاره گیاه رزماری در افزایش زمان ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در شرایط نگهداری سرد موثر است.

کلمات کلیدی: نایسین، ماندگاری، رزماری، قزل‌آلای رنگین کمان.

مقدمه

افزایش جمعیت و کمبود مواد غذایی به ویژه منابع پروتئینی با کیفیت بالا سبب گردیده است تا در چند دهه اخیر توجه خاصی به منابع خوراکی دریایی مبذول گردیده و پژوهش‌های بیشتری در زمینه انواع آبزیان و استفاده از آن‌ها صورت پذیرد. غذاهای دریایی منبع پروتئینی با ارزشی برای انسان‌ها هستند و در یک رژیم غذایی سالم نقش مهمی را ایفا می‌کنند (۱۹). ماهیان حاوی مقدار زیادی از ترکیبات مهم هم-چون ترکیبات مغذی، ویتأمین‌های محلول در چربی، املاح معدنی و اسیدهای چرب چندغیراشباع هستند. این امر سبب شده است که استفاده انسانی از اغلب منابع شیلاتی توسعه یابد (۲٦). استفاده از ماهی و

سایر گونه‌های دریایی برای تولید فرآورده‌هایی با اهمیت اقتصادی زیاد در بسیاری از کشورها رواج یافته است (۳). چربی ماهیان منبع مهمی از اسیدهای چرب چند غیر اشباع بلند زنجیره به ویژه از خانواده امگا- ۳ است. اسیدهای چرب خانواده امگا- ۳ برای رشد عصبی کودک و در مرحله جنینی و در طی سال-های نخست پس از تولد ضروری هستند و اثرات مفیدی بر کاهش التهاب، افسردگی، فشار خون بالا (١٤) جلوگیری و درمان بیماری‌های قلبی و عروقی (۱۹) داشته و پیشرفت سرطان را کند نموده و به بهبود اختلالات خود ایمنی، تقویت حافظه و بینایی کمک می‌کند (٣٤). همان گونه که روش نگه‌داری برای تمامی مواد غذایی اهمیت دارد، برای ماهی هم با توجه به فسادپذیری بیش‌تر آن نسبت به سایر مواد غذایی ضروری است. نگه‌داری در یخچال از روش-هایی است که در مراکز عرضه ماهی و یا جهت انتقال ماهی از مراکز پرورش تا مراکز فروش استفاده می-گردد. نگه‌داری ماهی در یخچال سبب کاهش سرعت فعالیت‌های آنزیمی و شیمیایی و فعالیت موجودات ذره بینی خواهد شد اما به‌دلیل عدم توانایی دمای یخچال (٤ درجه سانتی‌گراد) برای کاهش دمای ماهی به مقدار لازم، تغییرات نامطلوبی ازجمله اکسیداسیون و هیدرولیز چربی و پروتئین‌ها به آرامی صورت گرفته و سبب کاهش کیفیت فرآورده‌های غذایی می‌گردد. بنابراین استفاده از موادی مناسب با فعالیت آنتی-باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی به منظور بهبود کیفیت، افزایش عمر ماندگاری گوشت و در عین حال جلوگیری از ضررهای اقتصادی، ضروری و مفید به نظر می‌رسد (۱۷).

از این رو استفاده از نگه‌دارنده‌های ضدمیکروبی در بسیاری از فرآورده‌های غذایی به‌منظور جلوگیری از آلودگی ماده غذایی پس از تولید بسیار رایج است و سبب افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت غذا می-شود. مواد نگه‌دارنده به دو گروه شیمیایی و بیولوژیک تقسیم‌بندی می‌شوند. نگه‌دارنده‌های بیولوژیک به گروه‌های مختلفی تقسیم‌بندی می‌شوند که شامل باکتری‌های لاکتیک (لاکتوباسیلوس‌ها، کارنوباکتریوم‌ها و لاکتوکوکوس‌ها)، متابولیت‌های تولید شده از باکتری‌های لاکتیک (باکتریوسین‌ها)، آنزیم‌ها (لیزوزیم و گلوکز اکسیدازها)، پروتئین‌های کاتیونیک (پروتامین‌ها و دیفنزین‌ها) است (۲۱).

باکتری‌های لاکتیک به لحاظ تولید متابولیت‌های مختلف از جمله اسیدهای آلی، باکتریوسین‌ها، پراکسید هیدروژن و متابولیت‌هایی با وزن مولکولی پائین مانند دی استیل و روترین دارای اثر مهار کننده بر انواع میکروب‌های گرم مثبت و منفی مسبب فساد مانند میکروکوکوس‌ها، سودوموناس‌ها، موراگزلا، اسینتوباکترها، شونلا و همچنین باکتری‌های مولد مسمویت غذایی و بیماری مثل استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا، مونوسیتوژنز، کلستریدیوم بوتولینوم و غیره هستند (۲۱).

نایسین تنها باکتریوسینی است که اجازه استفاده بی-خطر آن در مواد غذایی داده شده و یک ماده نگه-دارنده بی‌خطر (GRAS) است زیرا باکتری تولیدکننده آن (*Lactococcus lactis*) به‌طور طبیعی در شیر وجود دارد و صدها سال است که برای تولید فرآورده‌های تخمیری مانند پنیر توسط انسان مورد استفاده قرار می‌گیرد، بدون اینکه هیچ بیماری شناخته شده‌ای را نشان دهد (۱۰).

نایسین یک پپتید با وزن مولکولی پایین است که به-طور تجاری توسط باکتری (*Lactococcus lactis*) که از فرآورده‌های لبنی جدا سازی می‌شود، بدست می-آید. نایسین ٣٤ اسید آمینه دارد و وزن مولکولی آن ۳۵۱۰ دالتون است (۱۳). این ماده یک باکتریوسین (ضد باکتری) کلاس I و دارای اسیدآمینه تیوتر است. نایسین (5A) پیوند داخلی دی سولفید دارد و نایسین

Z گونه طبیعی دیگر نایسین A است که هیستیدین آن در جایگاه ۲۷ با آسپارژین جایگزین شده است (۲۳).
پوشش‌دهی فیله قزل‌آلای رنگین کمان با اسانس مرزنجوش موجب افزایش خواص ضدمیکروبی و ضد اکسیداسیونی آن می‌شود و به طور معنی‌داری کیفیت شاخص‌های رنگ و بافت فیله این ماهی را بهبود می‌بخشد.
گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) اکلیل کوهی یا گل سرخ دریایی متعلق به خانواده Labiatae (نعنائیان)، گیاهی بوته‌ای، چند ساله، پایا و آروماتیک، دارای ۲۰ تا ۹۰ سانتی‌متر ارتفاع و برگ‌های متقابل، کوچک (۲ تا ٤ سانتی‌متر) نوک تیز، بدون دمبرگ، روی برگ بدون کرک و سبز ولی در بعضی ارقام پشت آن پوشیده از کرک سفید و پنبه‌ای است. گل‌ها به صورت خوشه‌هایی که در طول محور آرایش یافته اند، به رنگ سفید مایل به بنفش که در اواخر بهار ظاهر می‌شوند. میوه چهار فندقه به رنگ قهوه‌ای، سفت، گرد و تخم آن کوچک در داخل میوه است. تمام برگ، شکوفه و اعضای گیاه، معطر و خوشبو است. روغن‌های ضروری، از تقطیر یا فشرده کردن برگ‌ها، ریشه‌ها، میوه‌ها، دانه‌ها یا گل‌های گیاه به دست می‌آیند. اساساً، روغن‌های ضروری حاوی اسانس، ماده شیمیایی پیچیده‌ای که ایجاد کننده بو و سایر ویژگی‌های گیاه از جمله خواصی که آن را از نظر دارویی مفید می‌سازند، هستند (۳۱).
عمده‌ترین ترکیبات موجود در روغن فرار گیاه رزماری را ۱و ۸- سینئول، بورنئول، کامفر، بورنیل استات، آلفا- پینن و بتا- پینن تشکیل می‌دهند که بسته به شرایط جغرافیایی محل کشت گیاه، مقدار و درصد هر یک از این مواد متغیر هستند. سایر ترکیبات طبیعی موجود در برگ و سرشاخه‌های گل‌دار رزماری شامل این دسته‌ها می‌شود: فلانوئیدها مانند جنکوانین، لوتئولین، اسیدهای فنولی مانند اسید رزمارینیک، دی و تری ترپن‌ها، تانن‌ها، مواد تلخ، رزین، ساپونین، پروتئین، چربی، کربوهیدرات، فیبر، برخی املاح و ویتأمین‌ها (۲۸).
مکانیسم اثر اسانس‌ها علیه میکروارگانیسم‌ها پیچیده است و هنوز کاملاً مشخص نیست. اسانس‌ها به سبب تعداد زیاد ترکیبات سازنده احتمالاً بیش از یک محل اثر دارند. اسانس‌ها می‌توانند به چربی‌ها و پروتئین‌ها خسارت وارد کنند (٤).
ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از خانواده آزادماهیان (*Salmonidae*) است، این ماهی جزء ماهیان پر چرب بوده و بین ۲۳-۲۱ درصد پروتئین، ٤-۲ درصد چربی و ٦٧-٦٦ درصد رطوبت دارد (۲٤).
بر اساس آمار، مقدار تولید این ماهی در سال ۱۳۸۹ به میزان ۹۱۵۱۹ تن در کشور بوده که سهم استان‌های شمالی، ۱٤۱۹۲ تن بوده است (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۸۹). آمار موجود تولید ماهیان سردابی در سال ۱۳۸۹ به میزان ۹۱۵۱۹ تن بوده است اما بر اساس سالنامه شیلات در سال ۱۳۹٦ میزان تولید برابر ۱۷۲٦۱۵ تن برآورد شده است. ماهی قزل‌آلا در اکثر استان‌های کشور عرضه می‌گردد بررسی وضعیت حمل و نقل نشان می‌دهد که هم اکنون در حمل و نقل این ماهی، رعایت زنجیره سرما از صید تا عرضه به صورت ناقص اعمال می‌شود. به همین سبب ماهی سریع‌تر به مرحله فساد رسیده و از زمان ماندگاری آن کاسته می‌شود. این وضعیت (شرایط حمل و عرضه) تولید کننده را مجبور می‌نماید تا در بازار رقابت و تجارت در مدت زمان کوتاهی، ماهی را عرضه نماید زیرا در صورت طولانی شدن مدت عرضه، ماهی به مرحله فساد رسیده و سبب ضرر اقتصادی خواهد شد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی نمونه ماهی: جهت انجام این پژوهش ماهیان قزل‌آلای تازه صید شده با میانگین وزنی ٦٠٠ تا ٧٠٠ گرم از مزرعه پرورشی در شهرستان نوشهر خریداری شده و به سرعت همراه با یخ به آزمایشگاه موسسه تجن محل انجام پژوهش منتقل و مورد شست و شو قرار گرفتند و سپس سر و دم زنی و تخلیه امعاء و احشاء صورت گرفت و ماهیان به فیله تبدیل شده و مجددا آبکشی شدند.

آماده سازی محلول نایسین: جهت آماده‌سازی این محلول، نایسین در اسید کلریدریک (مرک، آلمان) ٠/٠٢ نرمال حل شد و در ظرف استریل توسط فیلتر ٠/٤٥ میکرومتر، استریل گردید و سپس مقدار مورد نظر آن را برداشته و به ظروف حاوی آب مقطر استریل افزوده و پس از مخلوط شدن با غلظت‌های مشخص برای هر تیمار بر روی آن‌ها اسپری شدند. بر اساس منابع مختلف دوز مورد استفاده نایسین در آبزیان تقریبا در دامنه ٠/١٥ تا ٠/١ گرم بر کیلوگرم و روش مورد استفاده هم به صورت اسپری کردن است (٣٠).

آماده‌سازی محلول رزماری: با توجه به نا محلول بودن اسانس‌ها از جمله اسانس رزماری، از دی متیل سولفواکساید به عنوان حلال استفاده شد. این امولسی‌فایر قابلیت حل کنندگی اسانس بدون اثرات ضدمیکروبی را دارا است. در این پژوهش با استفاده از لوله‌های استریل شده و به صورت جداگانه مقدار ٢٥ میلی‌لیتر اسانس و ٩٧٥ میلی‌لیتر حلال دی متیل سولفواکساید اضافه کرده و توسط شیکر به هم زده شد تا رنگ محلول به طور کامل شفاف شود. هم‌چنین بر اساس تیمارهای ترکیبی، عصاره گیاه رزماری به محلول نایسین اضافه گردید و سپس توسط هموژنایزر با حدود ١٣٠٠٠ هزار دور rpm همگن شدند (٢).

پوشش‌دهی: در آزمایشگاه، پس از تهیه فیله‌ها، آن‌ها توسط محلول آماده شده مربوط به هر تیمار غوطه ور یا مورد اسپری قرار گرفتند تا پوشش مناسب بر روی آن‌ها ایجاد شود. پس از حدود ٢٠ دقیقه، برای اطمینان از ایجاد پوشش مناسب بر روی فیله‌ها این کار دوباره تکرار گردید و پس از ١ ساعت خشک شدن در دمای محیط، فیله‌های مرتبط با هر تیمار همراه با کیسه‌های پلاستیکی بسته بندی و در یخچال در دمای ١ ± ٤ °C قرار گرفتند.

به منظور شمارش کلی باکتری‌ها (TPC) در تیمارهای مختلف از روش استاندارد ملی ایران (شماره١-٨٩٢٣) استفاده شد. برای شمارش تعداد باکتری‌های سرمادوست (PTC) کشت به صورت سطحی بر روی محیط کشت پلیت کانت آگار انجام شد و بعد از نگه-داری پلیت‌ها در دمای ١٠ درجه سانتی‌گراد به مدت ٧ روز تعداد کلنی‌های موجود بر روی پلیت شمارش شد (استاندارد ملی ایران شماره ٢٦٢٩، ١٣٧٨). به منظور شمارش باکتری‌های گروه لاکتیک (LAB)، از محیط کشت MRS آگار و بر اساس فرمول زیر محاسبه شد:

عکس درجه رقت × تعداد پرگنه‌های شمارش شده =
Total count of bacteria(CFU)

جهت انجام ارزیابی حسی فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در طول دوره نگه‌داری از روش Goulas و Kontominas (٢٠٠٧) استفاده شد (١٢). بدین منظور از یک گروه پنل ٧ نفره نیمه آموزش دیده استفاده گردید. جهت امتیاز دهی از یک مقیاس، صفر تا ١٠ استفاده شد به نحوی که امتیاز ٧ تا ١٠ امتیاز عالی تا کیفیت خوب، ٦-٥ خوب تا قابل پذیرش و امتیازهای صفر تا ٤ غیر قابل پذیرش تا بسیار بد را داشتند.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های به دست آمده با نرم-افزار SPSS١٧ آنالیز شد. به‌منظور تجزیه و تحلیل

مقادیر کمی به دست آمده از آزمون‌های میکروبی پس از کنترل نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف – اسمیرنوف از تجزیه واریانس دو طرفه در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی استفاده گردید. همچنین برای تعیین تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف از آزمون (LSD) و برای بررسی تفاوت‌های بین اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در گروه-های آزمایشی، از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده گردید. همچنین آزمون غیرپارامتریک کروسکال – والیس جهت تعیین معنی‌داری شاخص-های حسی مورد استفاده قرار گرفت. جداول و نمودارها هم به وسیله نرم افزار $Excel^{MST}2007$ ترسیم شدند.

نتایج

طبق نمودار ۱ میانگین تعداد باکتری‌های TVC در روز اول نگه‌داری در نمونه‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در تمام تیمارها برابر با ۳/۲٤ بود. اثر تیمارهای مختلف بر تعداد باکتری‌ها در روز چهارم نگه‌داری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). در روز چهارم تعداد باکتری-های شمارش شده نسبت به روز صفر، افزایش و اثر همه تیمارها معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). در روز هشتم نگه‌داری بین تیمارهای شاهد و فیله‌های پوشش داده شده با نایسین یک درصد، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد اما در تیمارهای دیگر اثر پوشش‌ها بر تعداد باکتری‌ها معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). هم چنین این روند در روز دوازدهم هم تکرار گردید ($p<۰/۰۵$).

بر اساس نمودار ۲ میانگین تعداد باکتری‌های سرمادوست شمارش شده در روز اول نگه‌داری در نمونه‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در تمام تیمارها برابر با ۳/۲۱ بود. اثر تیمارهای مختلف بر تعداد باکتری‌های سرمادوست شمارش شده در روز چهارم نگه‌داری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). این روند در روز هشتم نگه‌داری هم تکرار گردید ($p<۰/۰۵$). هم‌چنین در روز دوازدهم نگه‌داری بین تیمارهای شاهد و فیله-های پوشش‌داده شده با نایسین یک درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($p<۰/۰۵$).

هم‌چنین بر اساس نمودار ۳ میانگین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک شمارش شده در روز اول نگه‌داری در نمونه‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در تمام تیمارها برابر با ۱/۳۷ بود. اثر تیمارهای مختلف بر تعداد باکتری‌های سرمادوست شمارش شده در روز چهارم نگه‌داری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). در این روز بین تیمار نایسین نیم درصد–رزماری یک درصد و تیمار نایسین نیم درصد–رزماری دو درصد اختلاف معنی-داری مشاهده نشد. این روند در روز هشتم نگه‌داری هم تکرار گردید ($p<۰/۰۵$). در روز دوازدهم نگه-داری بین تیمارهای شاهد و فیله‌های پوشش‌داده شده با نایسین یک درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اما طی این روز سایر تیمارها دارای اختلاف معنی-داری بودند ($p<۰/۰۵$).

بر اساس نمودار ٤ در طی ارزیابی شاخص حسی رنگ در نمونه‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در تیمارهای مختلف در زمان نگه‌داری در دمای یخچال، مشخص گردید؛ برای شاخص مذکور در روز اول نگه‌داری تفاوت چندانی بین تیمارهای مختلف مشاهده نگردید. بر این اساس در روز چهارم بین تیمارهای شاهد و فیله‌های پوشش داده شده با نایسین یک درصد و همچنین بین تیمارهای نایسین نیم درصد و رزماری یک و دو درصد هم از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. طبق جدول و در روز هشتم نگه‌داری بین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) مشاهده شد اما در این روز بین تیمارهای نایسین نیم درصد و رزماری یک و دو درصد، اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. این روند

برای روز دوازدهم نگه‌داری به همین ترتیب تکرار گردید ($p<۰/۰۵$).

هم‌چنین بر اساس نمودار ۵ در طی ارزیابی شاخص حسی بو در نمونه‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در تیمارهای مختلف در زمان نگه‌داری در دمای یخچال، مشخص گردید؛ در روز اول نگه‌داری تفاوت چندانی بین تیمارهای مختلف مشاهده نگردید.

در روز چهارم بین تیمارهای اعمال شده تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$) اما بین تیمارهای نایسین نیم درصد و رزماری یک و دو درصد از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید.

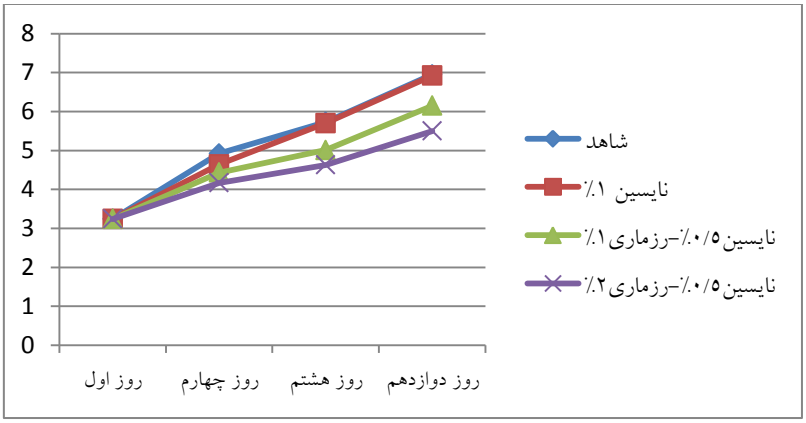
در روز هشتم نگه‌داری بین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) مشاهده شد اما در این روز بین تیمارهای نایسین یک درصد و فیله‌های پوشش داده شده با نایسین نیم درصد و رزماری یک درصد، اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید.

این روند برای روز دوازدهم نگه‌داری به ترتیب روز چهارم تکرار گردید ($P<۰/۰۵$). در طی ارزیابی شاخص حسی بافت در نمونه‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در تیمارهای مختلف در زمان نگه‌داری در دمای یخچال، در روز اول نگه‌داری تفاوت چندانی بین تیمارهای مختلف مشاهده نگردید.

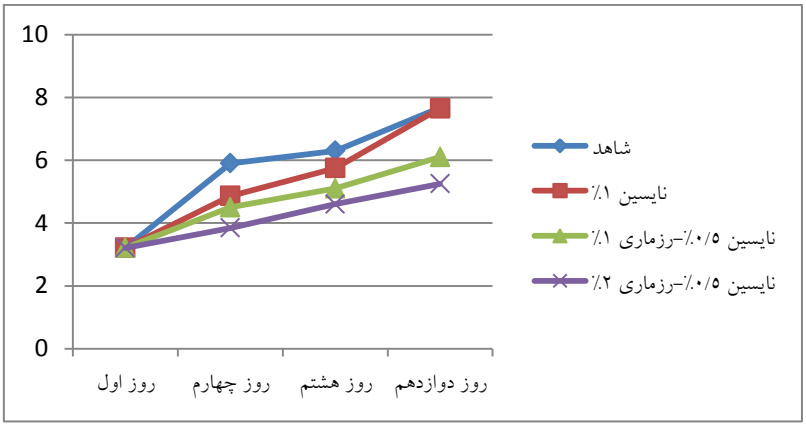
در روز چهارم بین تیمارهای اعمال شده با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$).

در روز هشتم نگه‌داری هم بین تیمارهای مختلف با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) مشاهده شد.

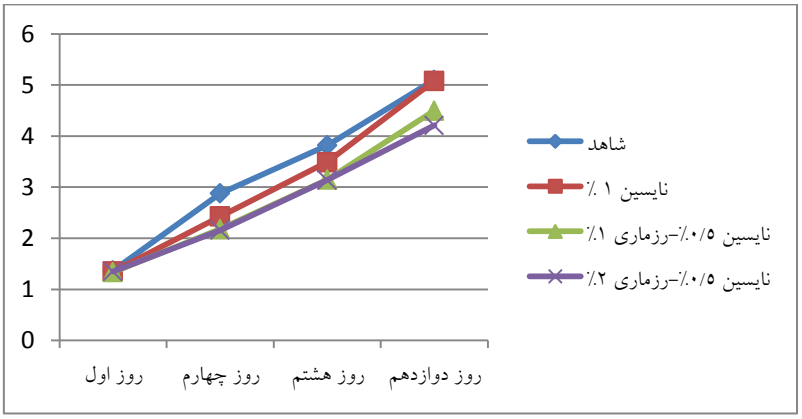
برای روز دوازدهم نگه‌داری بین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$) اما بین تیمارهای شاهد و نایسین یک درصد از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. این روند برای تیمار نایسین نیم درصد و رزماری یک و دو درصد نیز مشابه بود. ارزیابی شاخص بافت در نمودار ٦ قابل مشاهده است.



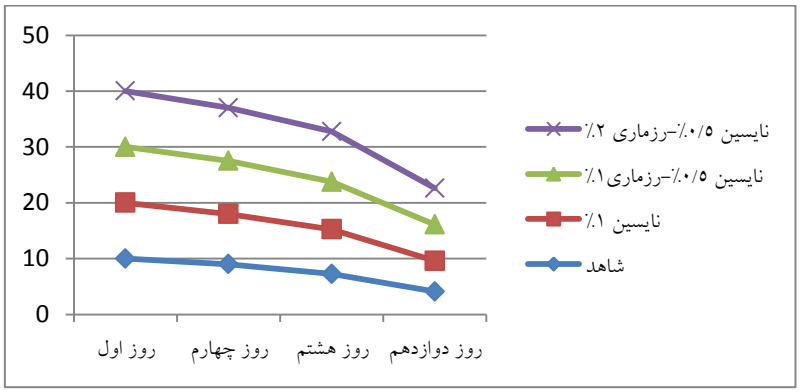
نمودار۱- رشد باکتری‌های TVC (تعداد کلنی تشکیل شده در گرم)در غلظت‌های مختلف نایسین و عصاره گیاه رزماری در مقایسه با هم



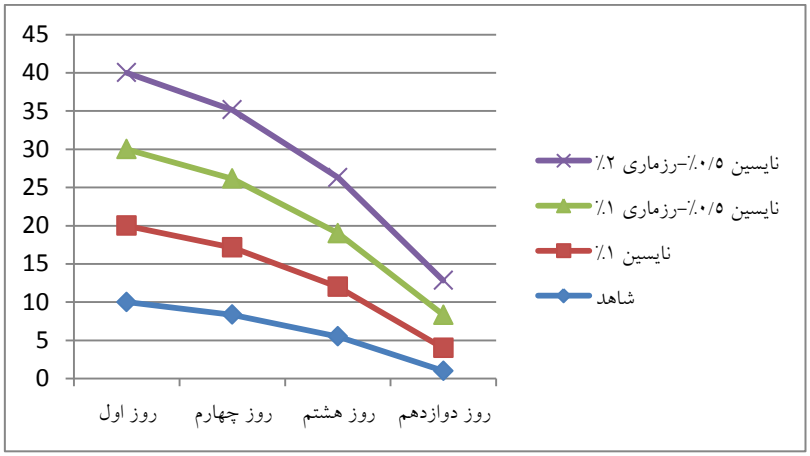
نمودار۲- رشد باکتری‌های PTC (تعداد کلنی تشکیل شده در گرم) در غلظت‌های مختلف نایسین و عصاره گیاه رزماری در مقایسه با هم



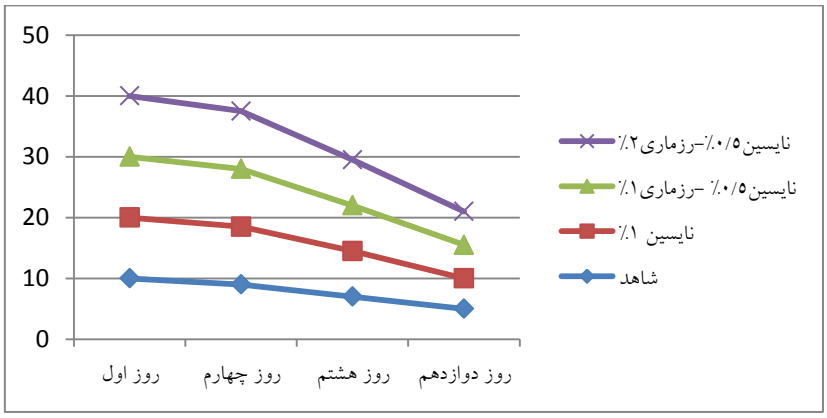
نمودار۳- رشد باکتری‌های LAB (تعداد کلنی تشکیل شده در گرم) در غلظت‌های مختلف نایسین و عصاره گیاه رزماری در مقایسه با هم



نمودار ٤- مقادیر میانگین شاخص رنگ در فیله های ماهی قزل آلای رنگین کمان طی زمان‌های مختلف نگه‌داری برای هر تیمار



نمودار ۵- مقادیر میانگین شاخص بو در فیله های ماهی قزل آلای رنگین کمان طی زمان‌های مختلف نگه‌داری برای هر تیمار



نمودار ٦- مقادیر میانگین شاخص بافت در فیله های ماهی قزل آلای رنگین کمان طی زمان‌های مختلف نگه‌داری برای هر تیمار

بحث

پژوهش‌گران تعداد TVC ابتدایی ۲ تا ٦ (log CFU/g) را برای گونه‌های مختلف آب شیرین (تیلاپیا، باس راه‌راه، قزل‌آلای رنگین کمان، سوف نقره‌ای) پیشنهاد داده‌اند (۱)، بنابراین تعداد باکترهای ابتدایی در این پژوهش نشان دهنده کیفیت بالای ماهی تهیه شده بود. هم‌چنین حداکثر تعداد قابل قبول شمارش کلی باکتری‌های هوازی مزوفیل، برای ماهیان آب شیرین توسط کمیته بین المللی ویژگی‌های میکروبی غذاها (۷ log CFU/g) پیشنهاد شده است (۱۵).

پتانسیل آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی رزماری در افزایش ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بسته بندی شده در خلاء بررسی و گزارش شد که عصاره رزماری به طور معنی‌داری اکسیداسیون لیپید و رشد باکتریایی را در ماهیان تیمار شده به تعویق انداخته است به‌طوری‌که عصاره رزماری توانست ماندگاری نمونه‌ها را نسبت به نمونه شاهد ٤ روز افزایش دهد که همگی مؤید ویژگی آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی بسیار مؤثر عصاره رزماری هستند (۸) و با پژوهش حاضر مطابقت دارند. برخی از محققین ترکیبات فنولی قطبی موجود در عصاره رزماری را عامل اصلی ویژگی آنتی‌باکتریایی آن می‌دانند (٦، ١٦). نایسین فعالیت دیواره سلولی باکتری‌ها را از راه تشکیل حفرات و اثر بر روی اجزاء زنجیره انتقال الکترونی مختل می‌کند.

در تأثیر نایسین بر گوشت اختلاف نظر وجود دارد برخی عنوان کرده‌اند که فسفولیپید موجود در گوشت فعالیت نایسین را مختل می‌کند و بهترین فعالیت نایسین در محیط مایع و هموژن خواهد بود و توسط آنزیم‌های پروتدولیتیک در غذاها مانند گوشت تازه، این باکتریوسین‌ها غیر فعال می‌شوند (۵). بنابراین تعداد میانگین بالاتر باکتری‌های شمارش شده در تیمارهای حاوی نایسین یک درصد به تنهایی را می‌توان با این نظر استنباط کرد.

باکتری‌های سرمادوست گرم منفی (PTC)، گروه اصلی میکروارگانیسم‌های مسئول فساد ماهی تازه نگه‌داری شده در دمای آرام هستند (۲۹).

این باکتری‌ها به‌ویژه گونه‌های سودوموناس آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز تولید می‌کنند که سبب افزایش اسیدهای چرب آزاد می‌گردند (۲۰). به‌طور کلی فنول‌ها و ترپن‌ها، عوامل اصلی اثرات ضدباکتریایی اسانس‌های گیاهی مانند رزماری هستند که با فعالیت‌های خود ممکن است سبب زیان وارد شدن به ساختمان و تغییر مکانیسم نفوذپذیری میکروارگانیسم، لیزوزوم‌ها و دیوار سلول سبب ویژگی ضدمیکروبی شوند. نتایج این پژوهش با نتایج بر روی ماهی Bluefish تیمار شده با اسانس آویشن و برگ بو بر روی فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تیمار شده با کیتوزان و اسانس دارچین مطابقت دارد (۷). هم‌چنین نایسین به تنهایی کم‌ترین اثر را بر روی باکتری‌های سرمادوست گرم منفی داشته است (۳۲). کاهش نسبی فعالیت ضد باکتریایی نایسین در طول زمان احتمالاً به سبب ترکیب نایسین با پروتئین و چربی غذا و یا به‌خاطر فعالیت آنزیم‌های موجود در گوشت است.

در پژوهش قبلی حد غیرمجاز باکتری‌های تولیدکننده‌ی اسید لاکتیک (LAB) را در فرآورده‌های شیلاتی ۱۴ تا ۱۵ (تعداد کلنی تشکیل شده در گرم) گزارش کرده‌اند ولی در پایان پژوهش حاضر به طور قابل توجهی کم‌تر از حد غیر مجاز بود (۲۷). در بین ترکیبات گیاهی، اسانس‌های روغنی گیاهان دارویی، ادویه جات و سبزیجات ویژگی ضدباکتریایی دارند (۲۵) و به عنوان نگهدارنده طبیعی جهت کنترل رشد باکتری‌های بیماری‌زا و یا باکتری‌های عامل فساد در مواد غذایی به فراوانی استفاده می‌شوند (۳۳). عمده‌ترین ترکیبات موجود در روغن فرار گیاه رزماری را ۱و ۸- سینئول، بورنئول، کامفر، بورنیل استات، آلفا- پینن و بتا- پینن تشکیل می‌دهند و شامل فلانوئیدها مانند جنکوانین، و لوتئولین، اسیدهای فنولی مانند اسید رزمارینیک، دی و تری ترپن‌ها، تانن‌ها، مواد تلخ، رزین، ساپونین، پروتئین، چربی، کربوهیدرات، فیبر، برخی املاح و ویتأمین‌ها (۲۸) هستند. اسانس‌ها به سبب تعداد زیاد ترکیبات سازنده احتمالاً بیش از یک محل اثر دارند. اجزای اصلی اسانس گیاهی ترکیبات فنلی هستند. به‌طور کلی فنول‌ها و ترپن‌ها، عوامل اصلی اثرات ضدباکتریایی اسانس‌های گیاهی هستند. فعالیت ضدمیکربی فنل‌ها ممکن است در نتیجه زیان وارد شدن به ساختمان و تغییر مکانیسم نفوذ پذیری میکروارگانیسم، لیزوزوم‌ها و دیواره سلول باشد. تیمارهای حاوی عصاره رزماری نسبت به تیمار شاهد و تیمار فاقد عصاره تعداد کم‌تری از باکتری‌های اسید لاکتیک شمارش شده را ازخود نشان دادند و این موضوع با افزایش غلظت عصاره بیشتر قابل رویت بود. همچنین نایسین با تأثیر بر غشای سیتوپلاسمی میکروارگانیسم‌ها و ایجاد حفره در این غشاء سبب اختلال در تبادل مواد مورد نیاز سلول مانند ATP و ADP می‌شود. تشکیل حفرات در غشای سلولی روی نیروی محرکه بار مثبت سلول اثر نموده و سبب مرگ میکروارگانیسم می‌شود (۵).

مقدار تأثیر نایسین بر رشد میکروبی در ماهی فرآورده‌های آن احتمالاً به فاکتورهای متعددی مثل

غلظت نایسین مورد استفاده، روش استفاده از نایسین، گونه ماهی، نوع محصول، درجه آلودگی میکروبی و وضعیت نگه‌داری بستگی دارد (۳۲).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که قرار گرفتن نمونه-های فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در معرض نایسین و عصاره به‌صورت جداگانه و هم‌چنین در حالت ترکیبی، سبب ممانعت بیشتر رشد باکتری‌های عامل فساد نسبت به تیمار شاهد گردید. که مشابه نتایج Lee و همکاران (۲۲) بود. زمانی که امتیاز حسی بالای ٤ باشد، نمونه ماهی جهت مصرف انسانی مناسب است (۹).

کاربرد اسانس آویشن در دوزهای بالا منجر به افزایش بیشتر ماندگاری گوشت شمشیر ماهی شود، اما ممکن بود این مقادیر از اسانس سبب ایجاد اثرات حسی نامطلوبی (طعم و بوی تند)، در کیفیت فیله‌های شمشیر ماهی شود (۲۰).

در پژوهش حاضر، ارزیاب‌ها به فاکتور حسی رنگ و بافت در مقایسه با بو در پایان دوره نگه‌داری امتیاز بالاتری دادند. از طرفی مهم‌ترین عامل محدود کننده ویژگی حسی، فاکتور بو بود به طوری‌که ارزیاب‌ها نمونه شاهد و ماهی قزل‌آلای با پوشش‌های اعمال شده را در روز دوازدهم مطلوب ندانستند.

کاهش کیفیت تیمار شاهد بیشتر به شاخص‌های بو و رنگ ماهی مربوط بود. همه نمونه‌های پوشش داده شده در شاخص‌های رنگ و بافت و همچنین نمونه-های پوشش داده شده با نایسین نیم درصد و رزماری یک و دو درصد تا روز دوازدهم نگه‌داری برای مصرف کننده، قابل مصرف تشخیص داده شد. روند تغییر وضعیت ویژگی‌های حسی در تیمارها طی مدت نگه‌داری هماهنگ و هم‌سو با تغییرات میزان آنالیزهای میکروبی در تیمارهای مورد آزمایش بود. همچنین این موضوع را می‌توان به اکسیداسیون چربی نسبت داد که سبب تخریب و افت کیفیت حسی و کاهش مقدار مواد مغذی از جمله اسیدهای چرب چند غیراشباع ضروری PUFA و تولید محصولات سمی اکسیداسیون می‌شود (۱۸).

از طرفی افزایش هیدرولیز چربی و تجمع اسیدهای چرب آزاد (FFA) منجر به کاهش برخی شاخص‌های مقبولیت فرآورده می‌شود زیرا ثابت شده FFA روی ثبات پروتئین‌ها تأثیر دارد و موجب تخریب بافت از راه واکنش دادن با پروتئین‌ها می‌گردد که اکسید شدن پروتئین‌ها در این وضعیت به سبب افزایش دسترسی پروتئین به اکسیژن و چربی‌های با وزن مولکولی بالا (مثل تری‌گلیسریدها و فسفولیپیدها) اتفاق می‌افتد (۱۱).

اثر نایسین و رزماری را می‌توان به سبب کاهش جمعیت باکتری‌ها به دلیل فعالیت ضدباکتریایی این دو (۳۲) و در نتیجه عدم تخریب و افت کیفیت حسی نسبت داد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این پژوهش استفاده از دوزهای بالاتر عصاره گیاه رزماری در افزایش زمان ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در شرایط نگهداری سرد موثرتر است.

منابع

1. Arashisar S., Hisar O., Kaya M., Yanik T., 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorynchus mykiss*) fillets. *International Journal of Food Microbiology*, 97: 209-214.

2. Atarés L., Bonilla J., Chiralt A., 2010. Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering*, 100: 678-687.

3. Aubourg S.P., Perez-Alonso F., Gallardo J.M., 2004. Studies on rancidity

atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 100: 287-296.

13. Gross, E., Morell, J.L., 1971. Structure of nisin. *Journal of the American Chemical Society*, 93(18): 4634-4635.

14. Haliloglu H.I., Bayir A., Sirkecioglu A.N., Aras N.M., Atamana L.P.M., 2004. Comparison of fatty acid composition in some tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) living in seawater and freshwater. *Food Chemistry*, 86: 55-59.

15. ICMSF ‘‘International Commission on Microbiological Specification for Foods’’ (1986). Microorganisms In foods. 2. Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications (2nd ed.). Buffalo, NY: University of Toronto Press.

16. Karamanoli K., Vokou D., Menkissoglu U., Constantinidou H.I., 2000. Bacterial colonization of phyllosphere of Mediterranean aromatic plants. *Journal of Chemical Ecology*, 26: 2035-2048.

17. Kashiri H., Haghparast S., Shabanpour B., 2011. Effects of sodium salt solutions (sodium acetate, lactate and citrate) on physico-chemical and sensory characteristics of Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) fillets under refrigerated storage. *Journal of Agricultural Technology*, 13: 89-98.

18. Kolakowska A., Zienkowicz L., Domiszewski Z., Bienkiewicz G., 2006. Lipid changes and quality of whole of whole- and gutted Rainbow Trout during storage in ice. *Acta Ichthyo Pisca*, 36(1): 39-47.

19. Kose S., Karacam H., Kutlu S., Boran M., 2001. Investigating the shelflife of the anchovy dish called Hamsikusu in frozen storage at -18±1 °C. *Turkish Journal of Veterinary* and *Animal Sciences*, 25: 651-656.

inhibition in frozen horse mackerel (*Trachurus trachurus*) by citric acid and ascorbic acids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106: 232-240.

4. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils– a review. Food and Chemical Toxicology, 46: 446-475.

5. De Arauza L.J., Jozalaa A.F., Mazzola P.G., Vessoni Penna T.C., 2009. Nisin biotechnological production and application: a review. *Trends of Food Science and Technology*, 20(3-4): 146-154.

6. Del Campo J., Amiot M.J., Nguyen-The C., 2000. Antimicrobial effect of rosemary extracts. *Journal of Food Protection*, 63: 1359-1368.

7. Erkan N., Ozden O., 2007. Quality assessment of whole and gutted sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(9):1549-1559.

8. Etemadi H., Rezaei M., Abedian Kenary A.M., 2008. Antibacterial and antioxidant potential of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) on shelf life extension of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fish Science and Technology*, 5: 67-77.

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

10. FDA., 1988. Nisin preparation: Affirmation of GRAS status as a direct human food ingredient. In 21 CFR Part 184, FDA, Ed; pp: 11247-11251.

11. Garcia P., Rodriguez L., Rodriguez A., Martinez B., 2010. Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins. *Trends of Food Science and Technology*, 8: 373-382.

12. Goulas, A.E., Kontominas M.G., 2007. Combined effect of light salting, modified

20. Kykkidou S., Giatrakou V., Papavergou A., Kontominas M.G., Savvaidis I.N., 2009. Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4˚C. *Food Chemistry*, 115: 169-175.

21. Lauzon H.L., 2002. Development of biological control for *Listeria* spp. in the manufacture of cold–smoked fish. Project Report. Icelandic Fisheries Laboratories.

22. Lee Y.L., Cesario T., Owens J., Shanbrom E., Thrupp L.D. 2002. Antibacterial activity of citrate and acetate. *Nutrition*, 18: 665-666.

23. Mulders J.W.M., Boerrigter I.J., Rollema H.S., Siezen R.J., Devos W.M., 1991. Identification and characterization of the lantibiotic nisin-Z, a natural nisin variant. *European Journal of Biochemistry*, 201(3): 581-584.

24. Ojagh S.M., Rezaei M., Razavi S.H., 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.

25. Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M., 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E.coli O157:H7, Salmonella *typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18: 414-420.

26. Perez-Alonso F., Arias C., Aubourg S.P., 2003. Lipid deterioration during chilled storage of Atlantic pomfret (*Brama brama*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105: 661-667.

27. Razavi-Shirazi H., 2001. Seafood processing and technology. Naghsh-e Mehr Publishing Co., 292 pp.

28. Saei-Dehkordi S.S., Tajik H., Moradi M., Khalighi-Sigaroodi F., 2010. Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss from different parts of Iran and their antioxidant and antimicrobial efficacy. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 1562-7.

29. Sallam KhI, Ahmed AM, Elgazzar MM, Eldaly EA. 2007. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4°C. *Journal of Food and Chemistry*, 102: 1061-70.

30. Samelis, J., Bedie, G.K., Sofos, J.N., Belk. K. E., Scanga, J.A., Smith, G.C. 2005. Combinations of nisin with organic acids or salts to control *Listeria monocytogenes* on sliced pork bologna stored at 4oC in vacuum packages. *Swiss Society of Food Science and Technology*, 38: 21-28.

31. Shafiee A., Zarei Mahmoudabadi A., Dabbagh M.A., Fouladi F., 2007. In Vitro Anti-Candida Activity of Zataria multiflora Boiss. *Advance Access Publication*, 4(3): 351-353.

32. Shirazinejad A., Noryati R., Rosma A., Darah I., 2010. Inhbitory effect of lactic acid and nisin on bacterial and spoilage of chilled shrimp. *World Academy of Science Engineering and Technology*, 65: 163-167.

33. Soltani M., Kakoolaki S.H., Kisami M., 2001. Isolation and identification of heleh station. *Bushehr Journal of Veterinary*, 55: 29-32.

34. Stodolnik L., Stawicka A., Szczepanik G., Aubourg S.P., 2005. Rancidity inhibition study in frozen whole mackerel (*Scomber scombrus*) following flaxseed (*Linum usitatissimum*) extract treatment. *Grasasy Aceites*, 56(3): 198-204.