بررسی تاثیر باکتریوسین Z و بنزوات سدیم بر افزایش زمان ماندگاری فیله‌ی ماهی سفید
(*Rutilus frisii kutum*)

سپیده میرشکاری[۱]، سهراب معینی[۲]، امیر هوشنگ بحری[۳]، رضا صفری[٤]، محمد رضا سعیدی اصل[٥]*

[۱] دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی مهندسی شیلات، دانشگاه آزاداسلامی- واحد بندرعباس

[۲] استاد گروه شیلات دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی کرج

[۳] استادیار گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس

[٤] مربی پژوهشی پژوهشکده‌ی اکولوژی دریای خزر

[٥] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار

تاریخ دریافت : ۱۳۸۸/۱۰/۱ تاریخ پذیرش : ۱۳۸۸/۱۲/۳

چکیده

در این مطالعه، تأثیر نایسین Z (۰/۰۲ درصد) و بنزوات سدیم (۱/۵ و ۲/۵ درصد) بر روی فیله‌ی ماهی سفید (Rutilus frisii kutum) در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. پارامترهای مورد بررسی در طول زمان نگه داری شامل فاکتورهای میکروبی (باکتری‌های مزوفیل، سرماگرا و لاکتیک) و شیمیایی (عدد پراکسید و مجموع ازت فرار) بوده که در زمان‌های صفر، ٤، ۸، ۱۲ و ۱٦ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج، نشان داد که مقادیر PV و TVN در نمونه‌ی شاهد پس از ۱۲ روز از دامنه‌ی استاندارد خارج شده در نمونه‌های دارای مواد نگه دارنده (به صورت ترکیبی) تا ۱٦ روز در محدوده‌ی قابل قبول قرار داشته است ($P<0.05$). بررسی شاخص‌های میکروبی، بیانگر آن بود که میزان باکتری‌های سرمادوست و مزوفیل در نمونه‌ی شاهد در روز ۱٦ خارج از دامنه استاندارد بوده ولی در سایر تیمارها، پس از ۱٦ روز در حد قابل قبول بوده و در ارتباط با باکتری‌های لاکتیک، تمامی تیمارها پس از ۱٦ روز در محدوده‌ی قابل قبول قرار داشتند ($P<0.05$). نتایج آنالیزهای شیمیایی و میکروبی نشان داد که استفاده‌ی همزمان از نایسین Z و سدیم بنزوات توانست زمان ماندگاری فیله‌ی ماهی سفید بسته‌بندی شده در خلاء را در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد تا ۱٦ روز افزایش دهد($P<0.05$).

واژه‌های کلیدی: ماهی سفید، نایسینZ ، بنزوات سدیم، زمان ماندگاری.

* مسوول مکاتبات: mrezasaeidi@yahoo.com

۱ـ مقدمه

صید ماهی سفید با نام علمی Rutilus frisii kutum یکی از مهم‌ترین ماهیان اقتصادی دریای خزر در سال ۱۳۸۸، ۱۲۵۰۰ تن بوده که بیش‌ترین آمار صید ماهیان استخوانی را به خود اختصاص می‌دهد(۱). این ماهی به صورت تازه و یا دودی به بازار عرضه می‌گردد. در استان مازندران، برخلاف استان گیلان، شکل تازه‌ی ماهی بیش‌تر مورد توجه می‌باشد. با توجه به فساد سریع آبزیان، استفاده از روش‌های مختلف فرآوری، حمل و نقل و نگه داری نظیر استفاده از نگه دارنده‌های بیولوژیک و شیمیایی، بسته‌بندی در شرایط خلاء، فرآوری اولیه (تهیه فیله) و نگه‌داری در دماهای پائین، لازم و ضروری به نظر می‌رسد(۲و ۳). نگه‌داری ماهی در یخچال، سبب کاهش سرعت فعالیت‌های آنزیمی و شیمیایی و فعالیت موجودات ذره‌بینی می‌گردد ولی به دلیل عدم توانایی دمای یخچال (٤ ^{o}C) برای کاهش دمای ماهی به مقدار لازم، تغییرات نامطلوبی از جمله اکسیداسیون و هیدرولیز چربی به آرامی صورت گرفته، باعث کاهش کیفیت محصولات می‌گردد(٤). بنابراین، استفاده از موادی مناسب با فعالیت آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی به منظور بهبود کیفیت، افزایش عمر ماندگاری گوشت و در عین حال جلوگیری از ضررهای اقتصادی، ضروری و مفید به نظر می‌رسد(۵). به دلیل تمایل مصرف کنندگان به کاهش استفاده از افزودنی‌های شیمیایی (٦ و۷)، پژوهش‌های زیادی در زمینه‌ی استفاده از افزودنی‌های بیولوژیکی به عنوان ابزاری جهت کنترل طبیعی میکروارگانیزم‌های عامل فساد و بیماریزا (خصوصاً لیستریا) انجام شده است. فعالیت ضد میکروبی اسیدهای آلی یا نمک شان هنگامی که در غلظت کم تر و همراه با افزودنی‌های بازدارنده، نظیر باکتریوسین یا سایر ترکیبات ضد میکروب طبیعی استفاده شوند، افزایش پیدا خواهد کرد (۸). بنزوات سدیم از جمله اسیدهای آلی است که در انواع فرآورده‌های غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. یکی از مکانیسم‌های تاثیر بنزوات سدیم بر میکروب‌های عامل فساد و بیماری، کاهش pH ماده‌ی غذایی بوده که در چنین شرایطی بار میکروبی به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد(۹ و ۱۰). فعالیت ضدمیکروبی باکتری‌های اسید لاکتیک نیز به دلیل تولید اسیدهای آلی (اسید لاکتیک، اسیدهای چرب آزاد)، پراکسید هیدروژن و تولید باکتریوسین می‌باشد که همه این موارد تحت عنوان آنتی بیوسیس تعریف می‌شود(۱۱). هدف از این تحقیق، استفاده از دو ماده‌ی نگه دارنده‌ی شیمیایی (بنزوات سدیم) و بیولوژیک (نایسین Z) به منظور ارزیابی زمان ماندگاری فیله‌ی ماهی سفید در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد بوده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده‌سازی نمونه

تعداد ٤٥ عدد ماهی سفید با میانگین وزن ٤٥٠ گرم از تعاونی‌های پره استان مازندران تهیه شده و در جعبه‌های یونولیتی به همراه یخ (دمای ٤ تا ۷ درجه) به آزمایشگاه پژوهشکده‌ی اکولوژی دریای خزر انتقال داده شدند. ماهیان مورد نظر از تعاونی پره، واقع در گهرباران تهیه شده و بدون در نظر گرفتن جنس ماهی، مورد ارزیابی قرار گرفتند. انتقال، در حداقل زمان (یک ساعت) صورت گرفت و بلافاصله اقدامات فیله کردن ماهی انجام شد (در شرایط آزمایشگاه با دمای تقریبی ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد). فیله کردن به صورت دستی انجام گرفت و وسایل مورد استفاده نیز از قبل شست وشو داده شدند. سپس فیله‌ی تعدادی از ماهیان، وزن و به نسبت وزنشان تعدادی از آن‌ها در داخل محلول سدیم بنزوات با غلظت ۱/۵ و ۲/۵ درصد قرار گرفتند و پس از مدت ۱۵ دقیقه از محلول خارج شده و نایسین Z با غلظت ۰/۱ گرم به ازای یک کیلوگرم ماهی بر روی نمونه‌ها اسپری شد (بر اساس منابع مختلف دوز مورد استفاده نایسین در آبزیان تقریباً در دامنه‌ی ۰/۱ تا ۰/۱۵ گرم به کیلوگرم و روش مورد استفاده نیز به صورت اسپری می‌باشد(۸). نمونه‌های شاهد و نمونه‌های ترکیبی نایسین و سدیم بنزوات دار به صورت جداگانه برای جلوگیری از تماس بین نمونه‌ها با هم در داخل فویل‌های آلومینیومی قرار داده شد و در کنار یخ (دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد) به مرکز بسته‌بندی با خلاء منتقل شد (کارخانه‌ی کیان ماهی خزر واقع در بابلسر) و پس از بسته‌بندی در دستگاه وکیوم (BOSS N84)، در مجاورت یخ به پژوهشکده باز گردانده شده، در دمای ٤^{o}c نگه‌داری شدند. در روزهای ۰، ٤، ۸، ۱۲ و ١٦ دوره‌ی نگه‌داری، سه ماهی از هر بخش به طور تصادفی انتخاب شده، برای تعیین پارامترهای کیفی (شیمیایی و میکروبی) مورد آزمایش قرار

گرفتند.

تیمارهای انتخاب شده به شرح ذیل بودند که هر تیمار دارای سه تکرار بود (n=۳) :

۱- تیمار شاهد بسته بندی شده در شرایط خلاء،

۲- تیمار دارای نایسین Z،

۳- تیمار حاوی بنزوات سدیم ۱/۵ درصد،

٤- تیمار حاوی بنزوات سدیم ۲/۵ درصد،

۵- تیمار حاوی نایسین Z و بنزوات سدیم ۱/۵ درصد،

٦- تیمار حاوی نایسین Z و بنزوات سدیم ۲/۵ درصد.

۲-۲- آزمون‌های شیمیایی و میکروبی

عدد پراکسید به روش Egan و همکاران(۱۲)، مقدار کل بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) به روش AOAC (۱۳) محاسبه و تعیین گردید. جهت شمارش کل باکتری‌ها(TVC) و باکتری‌های سرمادوست(PTC) در نمونه‌های تهیه شده، از محیط تریپتیک سویا آگار (Tryptic Soy Agar) به روش کشت سطحی، استفاده شد(١٤، ١٥ و ١٦). در صورت نیاز رقیق‌سازی (10^{-2} تا 10^{-6}) نمونه‌ها در محلول سرم فیزیولوژی انجام گردید. پلیت‌های کشت داده شده مربوط به کل باکتری‌ها بعد از ٤٨ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد (١٦ و ١٧) و پلیت‌های مربوط به باکتری‌های سرمادوست بعد از ۱۰ روز انکوباسیون در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد شمارش شدند(١٦ و ١٧). برای شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک از محیط کشتDeMan Rogosa and Sharpe(MRS) agar استفاده شد. نمونه‌های اخیر در جار بی‌هوازی حاوی گازپک C قرار داده شده، در انکوباتور $30\ ^{o}c$ به مدت ۳-۲ روز نگه‌داری شدند(۱۸ و ۱۹).

۲-۳- آنالیزهای آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از تیمارهای مختلف، از آنالیز واریانس یک طرفه[1] و برای بررسی تفاوت‌های بین میانگین‌ها در زمان‌های مختلف برای یک تیمار و بین تیمارهای مختلف در یک زمان، از آزمون دانکن استفاده و ارزش p در سطح ۰/۰۵ تعیین گردید.

1 - One-way ANOVA

۳- نتایج وبحث

۳-۱- عدد پراکسید (PV)

روند تغییرات پراکسید، در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که مقادیر PV برحسب میلی اکی والان گرم بر کیلوگرم در تیمار شاهد در روز ۱۲ (۱۰/۲۵)، دارای نایسین و بنزوات به صورت منفرد در روز ١٦ به ترتیب (۱۰/۳٦ و بین ۱۰/۲۱ تا ۱۰/۳۰) بوده ولی در نمونه‌های ترکیبی (نایسین و بنزوات سدیم) در روز ١٦ بین ۸/۳٦ تا ۹/۲۵ در نوسان بوده و در دامنه‌ی استاندراد قرار داشت(۸). تغییرات نایسین و بنزوات (به صورت منفرد) با نمونه‌های شاهد و تیمارهای ترکیبی، معنی دار بوده است ($p<0/05$). نتایج این تحقیق حاکی از آن است که روند تغییرات پراکسید در تیمارهای شاهد نسبت به تیمارهای دیگر سریع‌تر بوده است که دلیل این امر می‌تواند ناشی از تاثیر نایسین بر کاهش جمعیت باکتری‌های لیپولتیک که ترشح کننده‌ی آنزیم لیپاز می‌باشند (مانند برخی از گونه‌ای سودوموناس که قادر به رشد در شرایط بی‌وازی می‌باشند). همچنین می‌توان به اثر ضد میکروبی بنزوات سدیم بر واکنش‌ای آنزیمی و باکتریایی اشاره نمود(۸). مطابق جدول ۱، افزایش پراکساید در طی دوره‌ی نگه‌داری در کل تیمارها معنی دار بود که با نتایج گزارش شده توسطPacheco-Aguilar و همکارانش برروی ساردین و Özoqul و همکارانش در مارماهی اروپایی مطابقت دارد(۲۰ و ۲۱).

۳-۲- مقدار کل بازهای نیتروژنی فرار(TVN)

مقدار TVN، در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج، نشان می‌دهد که مقادیر TVN بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ گرم در تیمار شاهد در روز ۱۲ (۳۱/۲۵)، دارای نایسین و بنزوات به صورت منفرد در روز ١٦ به ترتیب (بین ۳۰/۲٦ تا ۳۱/۲۵) بوده ولی در نمونه‌های ترکیبی نایسین و بنزوات سدیم در روز ١٦ بین ۲۸/۳۵ تا ۲۹/۲۵ در نوسان بوده و در دامنه‌ی استاندراد قرار داشته است (۳۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم میلی اکی والان پراکسید بر کیلوگرم چربی) ($p<0/05$).

یکی از مکانیسم‌های تولید ترکیبات نیتروژنه، فعالیت‌های میکروبی در طول دوره‌ی نگه‌داری می‌باشد(۲۲). همچنین افزایش این شاخص، در حین نگه‌داری در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد احتمالاً در نتیجه‌ی دآمیلاسیون اسیدهای آمینه

باشد (۲۰ و ۲۱). مقدار طبیعی TVN در عضلات ماهی در گونه‌های مختلف، متفاوت بوده و در یک گونه نیز بر حسب سن، جنس، محیط و فصل تغییر می‌کند. باکتریوسین‌ها به دلیل خاصیت ضد باکتریایی بر باکتری‌های پروتئولیتیک، تولید ترکیبات آمینی فرار را کاهش می‌دهند(۲۰).

۳-۳- شمارش کلی باکتری‌ها (TVC)

نتایج آنالیز شمارش کلی باکتری‌ها، در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که شمارش کلی باکتری‌ها در نمونه‌های شاهد در روز ۱۶، لوگ ۷/۳۹ بوده است و در سایر تیمارها تا روز ۱۶ در دامنه‌ی استاندارد(۸) قرار داشته، کم‌تر از لوگ ۷ بوده‌اند. تغییرات نایسین و بنزوات سدیم با نمونه‌های شاهد در زمان‌های مختلف معنی‌دار بوده و از طرفی تغییرات نایسین و بنزوات منفرد با تیمارهای ترکیبی نیز معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). بیش‌ترین حد پیشنهاد شده (Maximal Recommended Limit=MRL) برای TVC در ماهی logCFU/g ۷ است (۲۳). Krizek and et al در سال ۲۰۰۳ در مطالعه بر روی ماهی کپور معمولی در شرایط بسته بندی شده در خلا پس از ٤ روز نگه‌داری در دمای ۳ درجه (۲٤) و Savvaidis and et al در سال ۲۰۰۲ در مطالعه بر روی قزل آلای رنگین کمان تحت خلاء پس از ۸ روز نگه‌داری در یخچال(۲۵) و Chytiri and et al در سال ۲۰۰٤ در مطالعه بر روی فیله قزل آلای رنگین کمان تحت خلاء پس از ٦ روز نگه‌داری در یخ به MRL رسیدند(۲٦).

اثرات قابل توجه باکتریوسین Z و سدیم بنزوات بر رشد میکروبی در محصولات فرآوری شده ماهی احتمالاً به فاکتورهای متعددی مثل غلظت باکتریوسین و سدیم بنزوات مورد استفاده، روش استفاده از باکتریوسین، زمان غوطه‌وری، گونه ماهی، نوع محصول، درجه‌ی آلودگی میکروبی و وضعیت نگه‌داری بستگی دارد(۲۷).

۳-٤- باکتری‌های سرماگرا (PTC)

نتایج تغییرات باکتری‌های سرماگرا، در جدول ٤ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که شمارش باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌های شاهد در روز ۱٦، لوگ ۷/٦۲ بوده است و در سایر تیمارها تا روز ۱٦ در دامنه‌ی استاندارد قرار داشته و کم‌تر از لوگ ۷ بوده‌اند. تغییرات نایسین و بنزوات سدیم با نمونه‌های شاهد در زمان‌های مختلف معنی دار بوده و از طرفی تغییرات نایسین و بنزوات منفرد با تیمارهای ترکیبی نیز معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). مطابق جدول ٤، افزایش PTC با زمان نگه‌داری در تیمارهای مختلف معنی دار بوده که با نتایج به دست آمده توسط Hozbor and et al و Sallam در مطالعه بر روی ماهی آزاد اقیانوس آرام مطابقت دارد(۲۸ و۲۹). باکتری‌های گرم منفی سرمادوست، میکروارگانیزم‌های اصلی عامل فساد ماهیان تازه نگه‌داری شده به صورت سرد هستند(۳۰ و ۳۱). نتایج مشابه در مطالعاتی که برروی فیله‌ی گربه ماهی(۳۲)، فیله‌ی *L. lentjan* (۳۳) ماهی لکه مرواریدی(*E. suratensis*) (۳٤) و ماهی آزاد اقیانوس آرام (O. nerka) انجام شد نیز به دست آمد(۲۹).

۳-۵- باکترهای اسیدلاکتیک (LAB)

نتایج تغییرات باکتری‌های لاکتیک، در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج، حاکی از آن است که شمارش باکتری‌های لاکتیک برای تیمار شاهد در روز ۱٦ خارج از دامنه‌ی استاندارد بوده ولی در سایر تیمارها تا روز ۱٦ در دامنه‌ی مورد قبول بوده است. تغییرات نایسین و بنزوات سدیم با نمونه‌های شاهد در زمان‌های مختلف معنی‌دار بوده و از طرفی تغییرات نایسین و بنزوات منفرد با تیمارهای ترکیبی نیز معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). این موضوع می‌تواند دلیل بر باکتریواستاتیک بودن نایسین بر باکتری‌های لاکتیک باشد (۳۵). همچنین کاهشLAB در تیمارهای حاوی ترکیب باکتریوسین و سدیم بنزوات علاوه بر اثر باکتریوسین ممکن است به دلیل اثرات ضدباکتریایی بنزوات سدیم در این نمونه‌ها هم‌چنین نشان دهنده‌ی اثرات بازدارندگی آن بر باکتری‌های گرم مثبت باشد(۱۱).

جدول ۱ – تأثیر استفاده از نایسینz و بنزوات سدیم بر شاخص PV (میلی اکی والان گرم بر کیلوگرم) در فیله‌ی ماهی سفید نگه‌داری شده در ٤ درجه‌ی سانتیگراد

زمان	شاهد	نایسین Z	بنزوات سدیم ٪ ۱/۵	بنزوات سدیم ٪ ۲/۵	نایسین Z + بنزوات سدیم	نایسین Z + بنزوات سدیم
صفر	۱/۲۵±۰/۳۵[a]*	۱/۵۰±۰/۱۱[a]	۱/٦۲±۰/۲۵[a]	۱/۳۲±۰/۵۵[a]	۱/۵۵±۰/۱۱[a]	۱/۲۵±۰/۲٦[a]
٤	۳/۱۱±۰/۲۵[b]	۳/۲۵±۰/۱۵[b]	٤/۱۱±۰/۱۳[b]	۳/۱۱±۰/۲۹[b]	٤/۲۹±۰/۲۱[c]	۳/۱٤±۰/۵۰[c]
۸	۷/۲٦±۰/۳۱[b]	۵/۱۱±۰/۱۷[c]	٦/۳۵±۰/۱۷[c]	۵/٤۱±۰/۲۰[c]	۵/۱۱±۰/۵[c]	٦/۲۵±۰/۱٦[c]
۱۲	۱۰/۲۵±۰/٤۵[b]	۸/۲۹±۰/۱۳[c]	۷/٤۵±۰/۱۵[d]	۸/۳۵±۰/۳۰[d]	۷/۳۵±۰/۱٦[e]	۷/۱۱±۰/۱۷[e]
۱٦	۱۰/۲۰±۰/۳۵[a]	۱۰/۳٦±۰/۱۱[a]	۱۰/۳۰±۰/۱٦[a]	۱۰/۲۱±۰/۳۵[a]	۹/۲۵±۰/۱۳[b]	۸/۳٦±۰/۸۰[b]

*حروف کوچک (**a,b,c,...**) در هر ردیف جهت مقایسه‌ی تیمارهای شاهد با تیمارهای دارای نایسین و بنزوات سدیم می باشد.

جدول۲ – تأثیر استفاده از نایسین Z و بنزوات سدیم بر شاخص TVN در فیله‌ی ماهی سفید نگه‌داری شده در ٤ درجه‌ی سانتیگراد

زمان	شاهد	نایسین Z	بنزوات سدیم ٪ ۱/۵	بنزوات سدیم ٪ ۲/۵	نایسین Z + بنزوات سدیم	نایسین Z + بنزوات سدیم
صفر	۷/۳۵±۰/٦۰[a]*	٦/۳۷±۰/٦۰[a]	٦/۵۵±۰/۷۰[a]	٦/۳۵±۰/٦۰[a]	٦/۲۵±۰/۷۰[a]	٦/۱۱±۰/٦۰[a]
٤	۱٤/۳۲±۰/۸۰[a]	۱٤/۵۱±۰/٦۰[a]	۱۳/۱۱±۰/٦۰[b]	۱۳/۲۵±۰/۱۷[b]	۱۱/۲۵±۰/٦۰[c]	۱۱/۲۲±۰/۵۰[c]
۸	۲٤/۱۱±۰/۹۰[b]	۲۵/۱۱±۱/٤۰[b]	۲۲/۳٦±۰/۵۰[c]	۲۰/۲۵±۰/۷۰[c]	۱۷/۳۵±۱/۱۲[d]	۱۸/۲۵±۰/۹۰[d]
۱۲	۳۱/۲۵±۱/۳٦[b]	۲۸/۲۵±۱/۲۰[c]	۲۵/۳۰±۱/۳۵[c]	۲٤/۲٦±۱/۲۵[c]	۲۵/۱۱±۱/۳٦[d]	۲٤/۳٦±۱/۱۲[d]
۱٦	۳٦/۱۱±۱/۱۱[b]	۳۳/۱۱±۰/۸۰[c]	۳۱/۲۵±۰/۷۰[c]	۳۰/۲٦±۱/۰۱[c]	۲۹/۲۵±۱/۱۱[d]	۲۸/۳۵±۱/۳۵[d]

*حروف کوچک (**a,b,c,...**) در هر ردیف جهت مقایسه‌ی تیمارهای شاهد با تیمارهای دارای نایسین و بنزوات سدیم می‌باشد.

جدول ۳ – تأثیر استفاده از نایسین z و بنزوات سدیم بر شاخص TVC (لگاریتم تعداد باکتری‌ها) در فیله‌ی ماهی سفید نگهداری شده در ٤ درجه‌ی سانتیگراد

زمان	شاهد	نایسین z	بنزوات سدیم ٪ ۱/۵	بنزوات سدیم ٪ ۲/۵	نایسین z + بنزوات سدیم	نایسین z + بنزوات سدیم
صفر	۳/۲۰±۰/۳۰^{a}*	۳/۱۱±۰/۱۰^{a}	۳/۱۵±۰/۲۰^{a}	۳/۱۷±۰/۲۰^{a}	۳/۱۱±۰/۱۰^{a}	۳/۲۵±۰/۲۰^{a}
٤	٤/۱۱±۰/۲۰^{a}	۳/٦٦±۰/٤۰^{b}	۳/۷۳±۰/٤۰^{b}	۳/٤۳±۰/۳۰^{b}	۳/۳٥±۰/٤۰^{c}	۳/۱۱±۰/٤۰^{c}
۸	٥/۱۳±۰/٤۰^{a}	٤/۳٦±۰/۱۰^{b}	٤/٦٥±۰/۱۱^{b}	٤/٤۱±۰/۱۲^{b}	٤/۲۳±۰/۱٤^{c}	٤/۱۲±۰/۱٥^{c}
۱۲	٦/۱٤±۰/٥۰^{b}	٥/٦۰±۰/٤۰^{c}	٥/۸٦±۰/۱٤^{c}	٥/٦٦±۰/٥۰^{c}	٥/٤٥±۰/۱۷^{d}	٥/۳٦±۰/٤۳^{d}
۱٦	۷/۳۹±۰/۳۰^{b}	٦/٤۹±۰/۲٦^{c}	٦/٥۰±۰/۳۰^{c}	٦/٤٦±۰/٤۰^{c}	٦/۳۹±۰/۱۳^{d}	٦/۲۰±۰/۷۰^{d}

*حروف کوچک (**a,b,c**) در هر ردیف جهت مقایسه‌ی تیمارهای شاهد با تیمارهای دارای نایسین و بنزوات سدیم می‌باشد.

جدول٤- تأثیر استفاده از نایسین z و بنزوات سدیم بر شاخص PTC در فیله‌ی ماهی سفید نگه‌داری شده در ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد

زمان	شاهد	zنایسین	بنزوات سدیم ٪ ۱/۵	بنزوات سدیم ٪ ۲/۵	+ بنزوات zنایسین سدیم	+ بنزوات zنایسین سدیم
صفر	۳/۱۲±۰/۲۰^{a}*	۳/۱۸±۰/۱۰^{a}	۳/۱۳±۰/۳۰^{a}	۳/۱٦±۰/۳۰^{a}	۳/۲٦±۰/۲۰^{a}	۳/۲۰±۰/۳۰^{a}
٤	٤/۳٦±۰/۱٥^{a}	۳/۸۰±۰/۳۰^{b}	۳/۲۹±۰/۱۳^{b}	۳/٥۹±۰/۲۰^{b}	۳/٤٥±۰/۳۰^{c}	۳/۲٦±۰/۲۰^{c}
۸	٥/۲٥±۰/۲۳^{b}	٤/٥۰±۰/۱۳^{c}	٤/٦۰±۰/۱۲^{c}	٤/٥۰±۰/۱٤^{c}	٤/۲۹±۰/۱۷^{d}	٤/۲۰±۰/۱٦^{d}
۱۲	٦/۲۹±۰/۳۰^{b}	٥/۸۲±۰/۳۰^{c}	٥/۲۹±۰/۱۷^{c}	٥/۷۰±۰/۳۰^{c}	٥/٥۲±۰/۱٤^{d}	٥/٤۳±۰/۱٥^{d}
۱٦	۷/٦۲±۰/۱۷^{b}	٦/٦۸±۰/۲٥^{c}	٦/۷۳±۰/۳۰^{c}	٦/٦٥±۰/۱۷^{c}	٦/٤٥±۰/۱۲^{d}	٦/۲۹±۰/۳۰^{d}

*حروف کوچک (**a,b,c,...**) در هر ردیف جهت مقایسه تیمارهای شاهد با تیمارهای دارای نایسین و بنزوات سدیم می‌باشد.

جدول۵ – تأثیر استفاده از نایسین z و بنزوات سدیم بر شاخص LAB در فیله‌ی ماهی سفید نگه‌داری شده در ٤ درجه‌ی سانتیگراد

زمان	شاهد	zنایسین	بنزوات سدیم ٪ ۱/۵	بنزوات سدیم ٪ ۲/۵	zنایسین+ بنزوات سدیم	zنایسین+ بنزوات سدیم
صفر	۱/۳۰±۰/۰۷[a]*	۱/۳۲±۰/۲۰[a]	۱/۳۰±۰/۱۰[a]	۱/۲٦±۰/۲۰[a]	۱/۳۲±۰/۳۰[a]	۱/۲۹±۰/۱۰[a]
٤	۳/۸۵±۰/۱۰[b]	۲/۳۵±۰/۲۰[c]	۲/۳۲±۰/۱۰[c]	۲/۳۰±۰/۱۰[c]	۲/۳۰±۰/۱۰[c]	۲/۲۰±۰/۱۰[c]
۸	٤/۲۵±۰/۳۰[b]	۳/۸۷±۰/۲۰[c]	۳/۸۵±۰/۲۰[c]	۳/٦۵±۰/٤۰[c]	۳/۲۹±۰/۳۰[c]	۳/۱۷±۰/٤۰[c]
۱۲	۵/٤٦±۰/۱۷[b]	٤/۲۵±۰/۱۰[c]	٤/۳۲±۰/٤۰[c]	٤/۱۱±۰/۳۰[c]	۳/۸۷±۰/۳۰[d]	۳/۷۲±۰/۳۰[d]
۱٦	٦/۲۵±۰/۱٤[b]	۵/٤٦±۰/۱۷[c]	۵/٤۲±۰/۱۵[c]	۵/۲٦±۰/۱۵[c]	٤/۳۵±۰/۳۰[d]	٤/۲۵±۰/۳۱[d]

*حروف کوچک (**a,b,c,...**) در هر ردیف جهت مقایسه‌ی تیمارهای شاهد با تیمارهای دارای نایسین و بنزوات سدیم می‌باشد.

٤- نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از آنالیزهای شیمیایی و میکروبی تیمارهای شاهد، باکتریوسین دار و تیمارهای حاوی ترکیب نایسین و سدیم بنزوات که در فواصل زمانی ۰، ٤، ۸ و ۱۲ و ۱٦ صورت پذیرفت، عملکرد بهتر ترکیب نایسین و سدیم بنزوات به صورت ترکیبی را در مقایسه با استفاده مجزا از نایسین و تیمارهای شاهد جهت افزایش زمان ماندگاری فیله‌ی ماهی سفید، تایید می‌کند. شاخص‌های شیمیایی کنترل کیفیت ماهی (PV، TVN) در نمونه‌های حاوی ترکیب نایسین و سدیم بنزوات کم‌تر از نمونه‌های حاوی نایسین و شاهد بود(۸/۳٦ تا ۹/۲۵ برای PV در نمونه‌های ترکیبی و ۲۸/۳۵ تا ۲۹/۲۵ برای TVN در نمونه‌های ترکیبی). نتایج، نشان داد نمونه‌های حاوی ترکیب نایسین و سدیم بنزوات و نمونه‌های حاوی ترکیب باکتریوسین در طی مدت نگه‌داری با اختلاف کمی نسبت به نمونه‌های شاهد در حال افزایش بود.

نتایج آنالیزهای میکروبی نیز کاهش معنی‌دار باکتری‌های سرما گرا، مزوفیل و باکتری‌های گروه LAB در تیمارهای حاوی ترکیب نایسین و سدیم بنزوات و هم‌چنین در تیمارهای حاوی نایسین و سدیم بنزوات به صورت منفرد (با اختلاف کم) را نشان داد. استفاده‌ی ترکیبی از نایسین Z و سدیم بنزوات باعث کاهش معنی‌دار بار باکتریایی گشت (٦/۲۰ تا ٦/۳۹ برای شمارش کلی باکتری‌ها، ٦/۲۹ تا ٦/٤۵ برای باکتری‌های سرماگرا و ٤/۲۵ تا ٤/۳۵ برای باکتری‌های لاکتیک). نتیجه‌ی کلی آن که استفاده‌ی ترکیبی از نایسین و بنزوات سدیم، زمان ماندگاری فیله‌ی ماهی سفید نگه‌داری شده در ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد را از حیث تغییرات میکروبی، شیمیایی و ارگانولپتیک تا ۱٦ روز افزایش می‌دهد.

این مطالعه، به لحاظ استفاده از نگه دارنده‌ی بیولوژیک نایسین به منظور افزایش زمان ماندگاری فیله‌ی ماهی سفید، اولین مطالعه‌ی انجام شده در ایران است که در حقیقت از یک متابولیت میکروبی در محصول وکیوم شده، استفاده شده است. اما باید در نظر داشت که نگه دارنده‌ی بیولوژیک به تنهایی قادر به کاهش فلور میکروبی عامل فساد و پارامترهای شیمیایی مولد فساد نبوده، باید از نگه دارنده‌ی شیمیایی مکمل ولی با غلظت پائین‌تر نیز استفاده نمود. زیرا در استفاده‌ی ترکیبی نایسین و نمک آلی بنزوات سدیم، نتایج بهتری حاصل شده است.

در مطالعات آینده می‌توان از سایر نگه دارنده‌های بیولوژیک به صورت ترکیبی با نگه دارنده‌های شیمیایی معمول در محصولات شیلاتی استفاده نمود تا در نهایت با مطالعات جامع‌تر به بهترین غلظت از نگه دارنده‌های بیولوژیک و شیمیایی رسید.

۵- منابع

۱- دریانبرد، ر.، فضلی، ح. ۱۳۸۸. *طرح تحقیقاتی ارزیابی ماهیان استخوانی دریای خزر*. موسسه تحقیقات شیلات ایران.

۲- رضایی، م.، سحری م.ع.، معینی، س.، صفری، م. و. غفاری، ف. ۱۳۸۲. مقایسه کیفیت چربی کیلکای آنچوی در ۲ روش حمل و نگهداری موقت سرد. *مجله علمی شیلات*، ش ۳، ص ۱۰۷-۹۷.

۳- رضوی شیرازی، ح. ۱۳۸۰. *تکنولوژی فراورده‌های دریایی اصول نگهداری و عمل آوری* (ج۲). انتشارات نقش مهر، صفحه ۲۹۲.

4- Perez- Alonso, F.C. and Auborg S.P. 2003. Lipid deterioration during child storage of Atlantic pomfret (*Brama brama*). *Journal of Lipid Science and Technology*, 105: 661-667.

5- Yin, M. C. and Cheng, W. S. 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic derived organosulfur compounds in ground beef. *Meat Sci.*, 63: 23-28.

6- Tome, E., Teixeira, P. A. and Gibbs, P. 2006. Anti-listerial inhibitory lactic acid bacteria isolated from commercial cold smoked salmon. *Food Microbiology*, 23: 399-405

7- Vescovo, M., Scolari, G. and Zacconi C. 2006. Inhibition of *listreia innocua* growth by antimicrobial – producing lactic acid culture in vacuum – packed cold smoked salmon. *Food Microbiology*, 23: 689-693.

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

9- Lopez-Malo, A., S. M. Alzamora and E. Palou.2005. Aspergillus flavus growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. *International Journal of Food of Microbiology*. 99:119 – 128.

10- Ogiehor,I. S. and M. J. Ikenebomeh.2004. Antimicrobial effects of sodium benzoate on the growth, survival and aflatoxins production of some species of Aspergillus in garri during storage. *Pakistan Journal of Nutrition*.3:300-303.

11- Chen, H. and Hoover, D. G. 2003. Bacteriocins and their food application. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*, 2: 82-100.

12- Egan H., Krik R. S. and Sawyer R. 1997. *Pearsons Chemical Analysis of Foods*, 9(edn): 609-634.

13- AOAC. 2005: *Official Method of Analysis* (17th ed). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

14- Namulema A.,Muyonga J. H. and Kaaya N. A. 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at -13 and -27°C. *Food Research International*, 32: 151-156.

15- Maca, J. V., Miller, R. K. and Acuff, G. R. 1997. Microbiological, sensory and chemical characteristics of vacuum-packaged ground beef patties treated with salts of organic acids. *J. Food Sci*., 62: 591–596.

16- Sallam, Kh. I. and Samjima, K. 2004. Microbiological and chemical quality of ground beef treated with sodium lactate and sodium chloride during refrigerated storage. *LWT- Food Sci. Tech*., 37: 865- 871.

17- McMeekin T. A., Olley J. N., Roos T. and Ratkowsky D. A. 1993. *Predictive microbiology. Theory and Application*. Research Studies Press Taunton, England chapter 6, section 6.1 Specified Spoilage level, pp. 199- 200.

18- Jones R., Hussein H. M. and Zagorec M. 2008. Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat. *Food Microbiology*, 25: 228-234.

19- Gram, L. and Huss, H.H. 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. *I. J.Food Microb.*, 33: 121-137.

20- Pacheco-Aquilar, R., Lugo-Sanchez, M. E. and Robles-Burgueno, M. R. 2000. Post mortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0˚C. *J. Food Sci*., 65(1): 40-47.

21- Özogul, Y., Ö zyurt, G., Ö zogul, F., Kuley, E. and Polat, A. 2005. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. *Food Chem*., 92: 745–751.

22- Rodriquez, A., Carriles, N., Cruz, J. and P.Auborg, S. 2008. Changes in the flesh of cooked farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with previous storage in slurry ice(-1.5 ºC). *Food Science and Technology*, 41: 1726-1732.

23- ICMSF ‘‘International Commission on Microbiological Specification for Foods’’ 1986. *Microorganisms in foods*. 2. Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications (2nded.). Buffalo, NY: University of Toronto Press.

24- Krizek, M., Vacha, F., Vorlova, l., Lokasova,J., Cupakova, S. 2004. Biogenic amines in vacuum-packed and non-vacuum-packed flesh of carp (Cyprinus carpio) stored at different temperatures. *Food Chemistry*.88: 185–191.

25- Savvaidis, I. N., Skandamis, P. N., Riganakos, K. A., Panagiotakis, N. and Kontominas, M. G. 2002. Control of natural microbial flora and Listeria monocytogenes in vacuum packaged trout at 4 and 10°C using irradiation. *J. Food Prot*.65: 515–522.

26- Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G. 2004. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aqua cultured rainbow trout. *Food Microb*., 21:157-165.

27- Kim, C. R., Hearnsberger, J. O., Vickery, A. P., White, C. H. and Marshal, D. L. 1995. Extending shelf life of refrigerated catfish fillets using sodium acetate and mono potassium phosphate. *J. Food Preserv*., 58: 644–647.

28- Hozbor, M. C., Saiz, A. I., Yeannes, M. I., & Fritz, R. 2006. Microbiological changes and its correlation with quality indices during aerobic iced storage of sea salmon (*Pseudopercis semifasciata*). *LWT Food Sci. and Tech.*, 39: 99–104.

29- Sallam, K.I. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control*, 18(5): 566-575.

30- Gram, L. and Huss, H.H. 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. *Int. J. Food Microb.*, 33: 121-137.

31- Gram, L., Trolle, G. and Huss, H. H. 1987. Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0˚C) and high (20˚C) temperatures. *Int. J. Food Microb.*, 4:65-72.

32- Zhuang, R.Y., Huang, Y.W. and Beuchat, L. R. 1996. Quality changes during refrigerated storage of packaged shrimp and catfish fillets treated with sodium acetate, sodium lactate or propyl gallate. *J. Food Sci.*, 61: 241–244.

33- Shalini, R., Indra Jasmine, G., Shanmugam, S. A. and Ramkumar, K. 2000. Sodium acetate and vacuum packaging to improve shelf life of refrigerated Lethrinus lentjan fillets. *Fishery Techn*., 37(1): 8–14.

34- Manju, S., Leema Jose., Srinivasa Gopal, T. K., Ravishankar, C. N. and Jose, L. 2007. Effect of sodium acetate dip treatment and vacuum-packaging on chemical, microbiological, texture and sensory changes of Pear spot (Etroplus suratensis) during chill storage. *Food Chem.*, 102(1): 27-32.

35- Castellano, P., Belfiore, C., Fadda, S. 2008. A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. *Meat Science*. 79 483–499.