بررسی اثر اسید لاکتیک بر شاخص‌های میکروبی و شیمیایی فیله‌ی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نگه‌داری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

سید محمد علی نوری [۱و۲]، سعید خانزادی [۳*]، علی فضل‌آرا [۴]، حسین نجفزاده ورزی [۵]، محمد عزیززاده [۶]

۱. گروه کنترل غذا و دارو، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران.

۲. دانش‌آموخته دکتری بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۳. گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۴. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران.

۵. گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران.

۶. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

[*]نویسنده مسئول: *khanzadi@um.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۱۲/۲٦ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۹/۰۳

چکیده

در این مطالعه مدت زمان نگهداری و خصوصیات میکروبی و شیمیایی فیله‌های ماهی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت. فیله‌ها با اسید لاکتیک ۱/۵ درصد تیمار و به مدت ۱۸ روز در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شدند. آزمون‌های شمارش باکتری‌های مزوفیل و سایکروفیل، نیتروژن فرار تام (Total Volatile Nitrogen)، pH ، تیوباربیتوریک اسید (Thiobarbituric Acid) و رطوبت قابل بیان (Expressible Moisture)در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ انجام شدند. آزمون‌های میکروبی و شیمیایی نشان داد که شمارش مزوفیل و سایکروفیل، TVN و pH به طور معناداری در گروه اسید لاکتیک کمتر است ($P<0.001$). هرچند که TBA و EM در این گروه، بیشتر از گروه کنترل ثبت شد ($P<0.001$). در خصوص شمارش مزوفیل، مدت زمان نگهداری از ۶ روز در گروه کنترل، به ۱۲ روز در گروه اسید لاکتیک افزایش یافته است. مدت زمان نگهداری بر اساس شمارش سایکروفیل، از ۳ روز در گروه کنترل، به ۶ روز در گروه اسید لاکتیک، افزایش یافت. حد مجاز جهت پذیرش نیتروژن فرار تام ، ۳۰ mg/100g پیشنهاد شد که بر این اساس فیله‌های گروه کنترل در روز ۹ و گروه اسید لاکتیک در روز ۱۵ فاسد شدند. حد مجاز pH، ۶/۸ تا ۷ در نظر گرفته شد و pH گروه کنترل در روز ۱۵ به ۷/۰۲ رسید در حالی که این مورد در گروه اسید لاکتیک در کل دوره کمتر از ۶/۸ ثبت شد. درنتیجه اسید لاکتیک می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده‌ی سالم، جهت نگهداری فیله‌ی ماهی کپور معمولی در شرایط نگهداری در یخچال، مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: ماهی، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، اسید لاکتیک، زمان ماندگاری، نگهداری در یخچال.

مقدمه

ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) از ماهیان مهم و اقتصادی به شمار می‌رود که در آسیا، اروپا، استرالیا، امریکای جنوبی (Irwan et al., 2010) و در نقاط مختلف ایران از جمله خوزستان پرورش داده می‌شود. تولید این ماهی به دلیل رشد سریع، پرورش آسان و ضریب تبدیل غذایی بالا؛ مورد توجه بوده (Irwan et al., 2010) و دومین محصول آبزی‌پروری دنیا به شمار می‌رود (Geri et al., 1995).

مدت زمان نگهداری غذاهای دریایی تازه، کوتاه می‌باشد که منجر به ایجاد مشکلات اساسی در توزیع آن می‌شود. افزایش مدت زمان نگهداری ماهی، سبب کاهش از دست رفتن محصول به دلیل فساد می‌شود و این امکان را فراهم می‌کند که محصول قابلیت ارسال به نقاط دورتر و عرضه در بازارهای دیگر را داشته باشد (Rhodehamel, 1992). همچنین بیماری‌های با منشا غذایی هنوز به عنوان خطری بزرگ، حتی در کشورهای توسعه یافته، مطرح می‌باشند (Laurence and meed, 1999).

با توجه به این که اسیدهای ارگانیک طبیعی از نظر قیمت، به صرفه هستند و اجازه‌ی مصرف در محدوده‌ی غلظت بالا را دارند، به عنوان یکی از راه‌های حفاظت از مواد غذایی در نظر گرفته می‌شوند (Booth 1985). از میان اسیدهای ارگانیک، اسید لاکتیک در کنترل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و مولد فساد بسیار مهم است. اسید لاکتیک در فرم تفکیک نشده، در لیپید محلول بوده و می‌تواند از غشای میکروبی عبور کرده و به سیتوپلاسم راه یابد. در سیتوپلاسم، اسیدها تمایل دارند به فرم تفکیک شده تبدیل شوند و هیدروژن آزاد کنند (Booth et al., 1985؛ Booth and Kroll, 1989).

گزارش‌های متعددی وجود دارند مبنی بر این که اسید لاکتیک سبب افزایش مدت زمان نگهداری فیله‌ی ماهی شده است (Kim et al., 1995؛ Metin et al., 2001). اسید لاکتیک سبب مهار رشد باکتری‌های گرم منفی می‌شود که عامل فساد ماهی هستند (Alakomi et al., 2000). استفاده بیش از حد اسید لاکتیک سبب هضم ماهی توسط اسید شده و منجر به ایجاد خصوصیات حسی و فیزیکی نامطلوب می‌شود (Kim et al., 1995؛Metin et al., 2001). همچنین استفاده از اسید لاکتیک در غذا، سبب بروز مسمویت حاد و مزمن نمی‌شود (Goncalves et al., 2005).

از جمله راه‌هایی که برای افزایش مدت نگهداری ماهی استفاده می‌شود، قرار دادن آن تحت شرایط سرد و یخچال است. نگهداری ماهی در یخچال سبب کاهش سرعت فعالیت‌های شیمیایی و آنزیمی خواهد شد البته فساد ماهی متوقف نشده و تغییرات نامطلوب، مانند اکسیداسیون و هیدرولیز چربی به آرامی رخ می‌دهد که سرانجام سبب از دست رفتن کیفیت ماهی خواهد شد (Ashie et al., 1996؛ Berkel et al., 2004؛ Pérez-Alonso، 2003).

فاکتورهای گوناگونی به عنوان شاخص‌های فساد در ماهی در نظر گرفته شده است (Goulas and Kontominas, 2005؛ Kirk and Sawyer, 1991؛ Rey et al., 2012). Latifa و همکاران در سال ۲۰۱۴ از pH، TVN و اسیدهای چرب آزاد؛ Fan و همکاران در سال 2009 از pH، TVN، TBA و شمارش کلی باکتریایی به عنوان شاخص فساد استفاده کردند.

هدف از انجام این مطالعه بررسی استفاده از اسید لاکتیک به عنوان راهی جهت حفظ کیفیت و نیز افزایش مدت زمان نگهداری (shelf life) ماهی کپور معمولی تحت شرایط نگهداری در یخچال (۴ درجه‌ی سانتی‌گراد) می‌باشد.

مواد و روش کار

شش ماهی کپور با وزن تقریبی ۱ کیلوگرم، در فصل زمستان به صورت زنده از مجتمع پرورش ماهی در حومه‌ی اهواز تهیه شد. هر ماهی پس از سرزنی، تخلیه‌ی امعاء و احشا و جدا کردن فلس‌ها، به چهار قطعه تقسیم و به صورت فیله (با وزن تقریبی ۱۲۰ گرم برای هر قطعه)، آماده شد. پس از شستشوی اولیه در محل، فیله‌ها در یونولیت همراه با یخ، به آزمایشگاه انتقال داده شدند. در آزمایشگاه فیله‌ها مجدداً شستشوداده شده و در سبدهای تمیز قرار گرفتند تا آب آن‌ها گرفته شود. فیله‌های گروه کنترل مستقیماً به ظروف پلی‌اتیلنی یک‌بار مصرف که قبل از استفاده، در معرض اشعه‌ی UV قرار گرفته بودند، منتقل شدند. فیله‌های گروه اسید لاکتیک به مدت ۳۰ دقیقه در محلول ۱/۵ درصد اسید لاکتیک (مرک، آلمان) قرار گرفتند. سپس فیله‌ها به ظروف یک‌بار مصرف اشعه‌دیده انتقال یافتند. ظروف گروه کنترل و اسید لاکتیک به یخچال با دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل شد و در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ سه نمونه از یخچال خارج و مورد آزمون قرار گرفتند (اعتمادی و همکاران، ۱۳۸۷؛ غلامزاده و همکاران، ۱۳۹۲؛ Sallam, 2007).

آزمون‌های میکروبی

ظرف حاوی نمونه‌ی ماهی از یخچال خارج و در شرایط استریل و زیر هود میکروبی با استفاده از پنس و قیچی استریل، ۱۰ گرم عضله‌ی ماهی جدا و با ترازو وزن شد. پس از توزین، عضله به درون کیسه‌ی سلفونی استریل منتقل شد و به آن ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه و با استفاده از دستگاه استوماکر (اینترساینس، فرانسه)، هموژن و از آن رقت‌های متوالی تهیه شد. با استفاده از روش کشت سطحی بر روی محیط کشت Plate count agar (مرک، آلمان) ارزیابی بار میکروبی مزوفیل و سایکروفیل انجام شد. برای شمارش میکروارگانیسم‌های مزوفیل، پلیت‌های کشت داده شده به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه

سانتی‌گراد و برای شمارش سایکروفیل‌ها، پلیت‌ها در انکوباتور با دمای ۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز گرمخانه‌گذاری شدند و سپس تعداد پرگنه‌ها شمارش شد (Sallam, 2007؛ سازمان ملی استاندارد، ۱۳۷۱، سازمان ملی استاندارد، ۱۳۸۲).

آزمون‌های شیمیایی

مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVN)

ده گرم عضله‌ی هموژن شده‌ی ماهی و ۱ گرم اکسید منیزیم (Merk, Germany) در بالن کلدال ریخته و به دستگاه کلدال اتوماتیک (بخشی، ایران) متصل شد. در قسمت خروجی دستگاه یک ارلن مایر با حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر حاوی ۱۰ قطره معرف توشیرو قرمز قرار داده شد. دستگاه ۴۰ میلی‌لیتر محلول اسید بوریک ۲ درصد (Merk, Germany) در ارلن مایر تخلیه می‌کند و حرارت از طریق بخار به بالن کلدال حاوی نمونه منتقل می‌شود. بخار حاصل به همراه نیتروژن فرار، از بالن کلدال خارج و در دستگاه تقطیر وارد و پس از میعان به ارلن مایر منتقل می‌شد. کل فرآیند طی ۱۸ دقیقه انجام می‌شد. در ابتدا معرف توشیرو، دارای رنگ قرمز است و پس از ورود نیتروژن فرار به ارلن مایر و قلیایی شدن محلول، به رنگ سبز شفاف، تغییر رنگ می‌دهد. تیتراسیون با استفاده از تیتراتور اتوماتیک حاوی اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تا قرمز شدن محلول موجود در ارلن مایر، ادامه می‌یافت. مقدار TVN به صورت میلی‌گرم در صد گرم گوشت ماهی با توجه به رابطه‌ی زیر به دست آمد (Goulas and Kontaminas, 2005).

$$TVN\ (mg / 100\ g) = V \times 1.4 \times 100 / 10$$

V = حجم اسید سولفوریک مصرفی به میلی‌لیتر

TVN = Total Volatile Nitrogen

مقادیر مواد واکنش‌دهنده با تیوباربیتوریک اسید (TBARS)

با استفاده از هموژنایزر، ۵ گرم عضله‌ی هموژن شده‌ی ماهی همراه با ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول ۱۰ درصد تری‌کلرواستیک اسید در بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری، هموژن می‌شد. محلول هموژن شده، از کاغذ صافی عبور داده شد و با استفاده از تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد، مجدداً به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. ۳ میلی‌لیتر از محلول صاف شده همراه با ۳ میلی‌لیتر محلول تیوباربیتوریک اسید ۰/۰۲ مولار، در یک لوله‌ی آزمایش درپیچ‌دار با هم مخلوط شدند. سپس به مدت یک ساعت در آون با دمای ۹۰ تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از خنک شدن، میزان جذب نوری نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Cecil, England) در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد (Ojagh et al., 2010؛ Worlstad et al., 2005).

جهت تهیه‌ی نمونه‌ی شاهد، مقدار ۳ میلی‌لیتر از محلول تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد با ۳ میلی‌لیتر از تیوباربیتوریک اسید ۰/۰۲ مولار مخلوط و با استفاده از فرمول زیر، میزان میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید (Malondialdehyde) در هر کیلوگرم از گوشت اندازه‌گیری شد (Ojagh et al., 2010):

$$TBA\ (mg\ MDA / kg\ of\ tissue) = 50\ (As - Ab) / 200$$

As = میزان جذب نوری نمونه‌ها

Ab = میزان جذب نوری محلول استاندارد تیوباربیتوریک اسید

MDA = Malondialdehyde

اندازه‌گیری pH

pH فیله‌های ماهی پس از هموژن کردن و رقیق‌سازی با آب مقطر با نسبت ۱ به ۱۰، توسط pH متر (Sartorius, USA) اندازه‌گیری شد (Fan et al., 2009).

رطوبت قابل بیان

برای انجام این آزمایش، ابتدا وزن دو قطعه کاغذ صافی اندازه‌گیری شد و سپس ۰/۳ گرم از عضله‌ی ماهی پس از توزین در میان دو قطعه کاغذ صافی قرار گرفت و به مدت ۲ دقیقه وزنه‌ی ۱ کیلوگرمی بر روی آن قرار داده شد. سپس عضله‌ی ماهی برداشته و مجدداً دو قطعه کاغذ صافی توزین شدند. میزان آب خارج شده از عضله‌ی ماهی محاسبه و به عنوان درصدی از وزن عضله‌ی اولیه، بیان شد (Chaijan et al., 2010؛ Ng 1987؛ Omana, 2010).

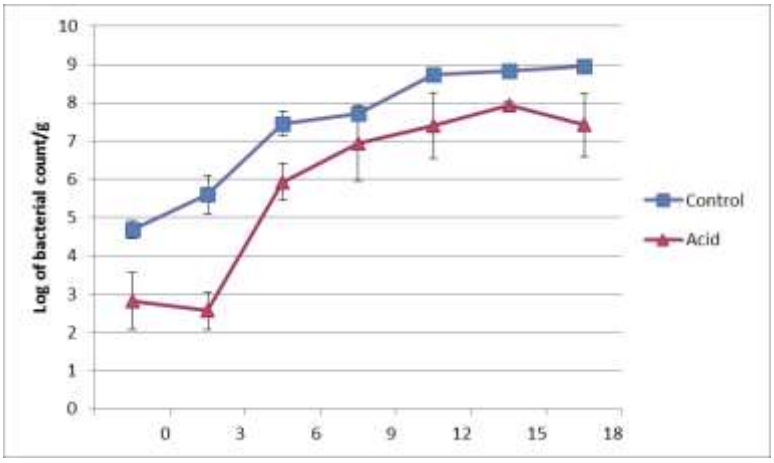
تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۲۱ انجام شد. میانگین داده‌های حاصل از سه تکرار در هر یک از گروه‌ها در هر کدام از روزهای مورد مطالعه محاسبه گردید. برای مقایسه‌ی داده‌ها بین گروه کنترل و اسید لاکتیک، از آزمون Repeated Measure ANOVA استفاده شد.

نتایج

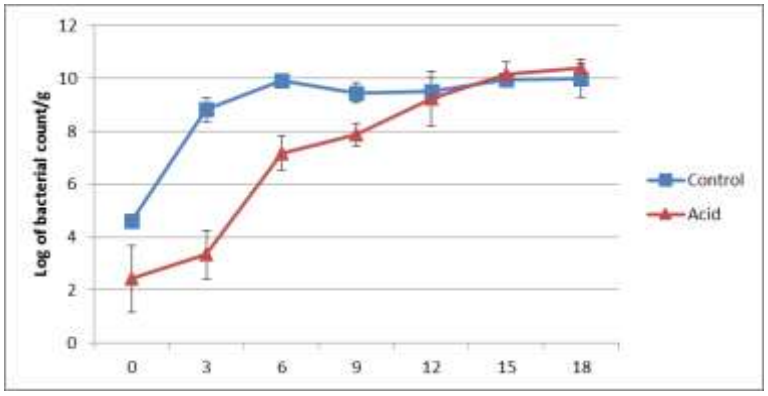
آنالیز میکروبی

روند تغییرات لگاریتم تعداد باکتری‌های مزوفیل در گروه‌های کنترل و اسید لاکتیک در دوره‌ی ۱۸ روزه، در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است. متوسط تعداد باکتری‌های مزوفیل در طول دوره‌ی مطالعه در گروه اسید لاکتیک، به طور معناداری کمتر از گروه کنترل بود ($P<0.001$).



نمودار ۱- میزان تغییرات متوسط تعداد باکتری‌های مزوفیل در گروه‌های کنترل و اسید لاکتیک (n=3).

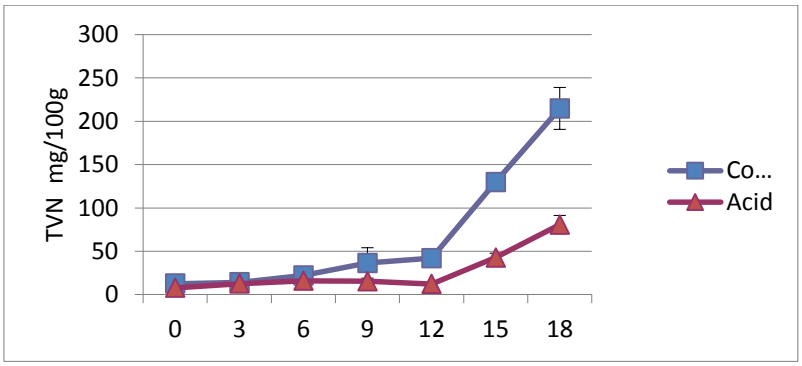
روند تغییرات لگاریتم تعداد باکتری‌های سایکروفیل در گروه‌های کنترل و اسید لاکتیک در دوره‌ی ۱۸ روزه، در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است. متوسط تعداد باکتری‌های مزوفیل در طول دوره‌ی مطالعه در گروه اسید لاکتیک، به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود ($P<0.001$).



نمودار ۲- میزان تغییرات متوسط تعداد باکتری‌های سایکروفیل در گروه‌های کنترل و اسید لاکتیک (n=3).

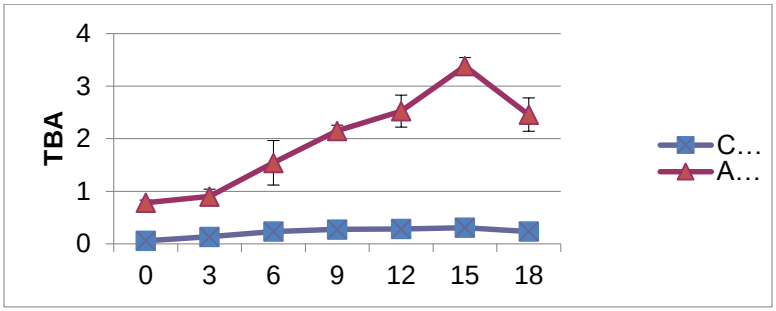
آنالیز شیمیایی

TVN: روند تغییرات متوسط TVN در گروه‌های کنترل و اسید لاکتیک در دوره‌ی ۱۸ روزه در نمودار شماره‌ی ۳ مشاهده می‌شود. متوسط TVN در هر دو گروه در طول دوره‌ی نگه‌داری، صعودی بوده و متوسط TVN در طول دوره‌ی مطالعه در گروه اسید لاکتیک به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود (P<0.001).



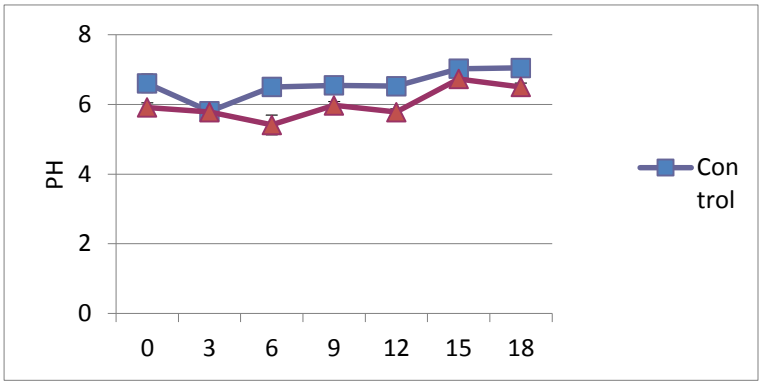
نمودار ۳- میزان تغییرات متوسط TVN در گروه‌های کنترل و اسید لاکتیک (n=3).

TBA: روند تغییرات متوسط TBA در گروه‌های کنترل و اسید لاکتیک در دوره‌ی ۱۸ روزه در نمودار شماره‌ی ۴ مشاهده می‌شود. متوسط TBA در طول دوره‌ی مطالعه در گروه اسید لاکتیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (P<0.001).



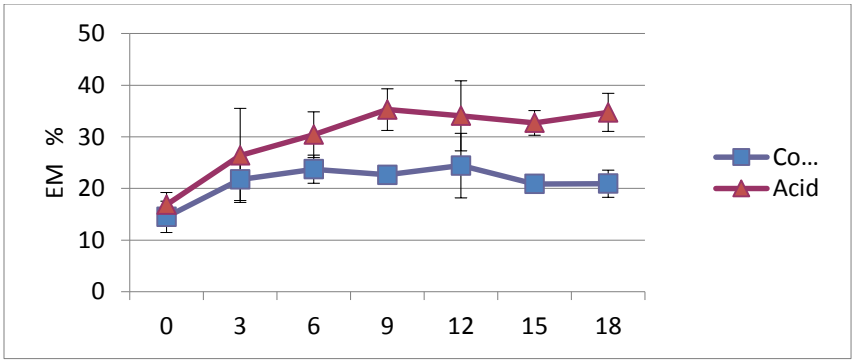
نمودار ۴- میزان تغییرات متوسط TBA در گروه‌های کنترل و اسید لاکتیک (n=3).

pH: روند تغییرات متوسط pH در گروه‌های کنترل و اسید لاکتیک در دوره‌ی ۱۸ روزه در نمودار شماره‌ی ۵ مشاهده می‌شود. متوسط pH در طول دوره‌ی مطالعه در گروه اسید لاکتیک به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود (P<0.001).



نمودار ۵- میزان تغییرات متوسط pH در گروه‌های کنترل و اسید لاکتیک (n=3).

EM : روند تغییرات متوسط EM در گروه‌های کنترل و اسید لاکتیک در دوره‌ی ۱۸ روزه در نمودار شماره‌ی ۶ مشاهده می‌شود. متوسط EM در طول دوره‌ی مطالعه در گروه اسید لاکتیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (P<0.001).



نمودار ۶-میزان تغییرات متوسط EM در گروه‌های کنترل و اسید لاکتیک (n=3).

بحث

شمارش باکتری‌های مزوفیل: متوسط تعداد باکتری‌های مزوفیل در روز صفر برای گروه کنترل $\log_{10}$ CFU/g ۴/۶ و برای گروه اسید لاکتیک $\log_{10}$ CFU/g ۲/۸ ثبت شد. در طول دوره، میزان متوسط تعداد باکتری‌های مزوفیل روند افزایشی داشت به طوری که در گروه کنترل در انتهای دوره به $\log_{10}$ CFU/g ۸/۹ و در گروه اسید لاکتیک به $\log_{10}$ CFU/g ۷/۴ رسید. روند افزایشی تعداد باکتری‌های مزوفیل، با یافته‌های Etemadi و همکاران (2013) در ماهی قزل‌آلا و در شرایط نگه‌داری در یخچال، سازگار بود. به طور کلی میزان متوسط باکتری‌های مزوفیل در گروه اسید لاکتیک به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود (P<0.001). متین و همکاران (2001) نیز گزارش دادند که استفاده از اسید لاکتیک سبب کاهش متوسط تعداد باکتری‌های مزوفیل در ماهی *Scomber japonicus* می‌شود.

حد مجاز تعداد باکتری‌های مزوفیل در ماهی $\log_{10}$ CFU/g 10^7 است (Olafsdottir et al., 1997 ؛ Yesudhason et al., 2014). در این مطالعه تعداد باکتری‌های مزوفیل در گروه کنترل در روز ششم به $\log_{10}$ CFU/g ۷/۴ و در گروه اسید لاکتیک در روز دوازدهم به $\log_{10}$ CFU/g ۷/۳ رسید.

شمارش باکتری‌های سایکروفیل: باکتری‌های گرم منفی سرمادوست، عامل اصلی فساد ماهی نگهداری شده در دمای پایین هستند (Gram & Huss, 1997). در این مطالعه، متوسط تعداد باکتری‌های سایکروفیل در روز صفر در گروه

کنترل $\log_{10}$ CFU/g ۴/۵ و در گروه اسید لاکتیک $\log_{10}$ CFU/g ۴/۲ ثبت شد. میزان متوسط تعداد باکتری‌ها در گروه کنترل در انتهای دوره به $\log_{10}$ CFU/g ۹/۹ و در گروه اسید لاکتیک به $\log_{10}$ CFU/g ۱۰/۴ رسید. Etemadi و همکاران (2013) گزارش نمودند که تعداد باکتری‌های سایکروفیل، در طول دوره‌ی نگهداری ماهی قزل‌آلا در یخچال، افزایش می‌یابد. به طور کلی میزان متوسط باکتری‌های سایکروفیل در گروه اسید لاکتیک به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود (P<0.001). Naveena و همکاران (2006) نشان دادند که استفاده از اسید لاکتیک سبب کاهش تعداد متوسط باکتری‌های سایکروفیل در طول دوره‌ی نگهداری ۱۲ روزه‌ی گوشت گاومیش در دمای ۴ درجه‌ی‌سانتی‌گراد می‌شود.

Duan و همکاران (2010) بیان کردند که افزایش $\log_{10}$ ۱CFU/g در شمارش باکتری‌های سایکروفیل نسبت به مزوفیل، نشان‌دهنده‌ی این است که فلور باکتریایی ماهی نگهداری شده در دمای یخچالی، عمدتاً شامل باکتری‌های سرمادوست می‌باشد.

حد مجاز تعداد باکتری‌های سایکروفیل برای عدم پذیرش ماهی $\log_{10}$ CFU/g $۱۰^{۷}$ می‌باشد (ICMSF, 1986؛ Yesudhason et al, 2014). در این مطالعه تعداد باکتری-های سایکروفیل در گروه کنترل در روز سوم به $\log_{10}$ CFU/g ۸/۸ و گروه اسید لاکتیک در روز ششم به $\log_{10}$ CFU/g ۷/۱ رسیدند.

TVN: کاربردی‌ترین شاخص برای سنجش فساد در ماهی به شمار می‌رود (Dalgaard, 2000). در این مطالعه میزان اولیه‌ی TVN در فیله‌های گروه کنترل mg/100g ۱۲/۶۰ و در گروه اسید لاکتیک mg/100g ۷/۶۵ اندازه‌گیری شد. در طول دوره‌ی مطالعه، میزان TVN افزایش یافت. Liu و همکاران (2014) در خصوص ماهی کپور معمولی نگه‌داری شده در دمای منهای یک درجه‌ی‌سانتی‌گراد و Barakat و همکاران (2014) در ماهی کپور معمولی نگه‌داری شده در دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، روندی افزایشی را در میزان TVN مشاهده کردند. در انتهای دوره میزان این شاخص در گروه کنترل به mg/100g ۸۶/۲۱۴ و در گروه اسید لاکتیک به mg/100g ۸۰/۷ رسید.

برخی محققان از جمله Scherer و همکاران (2006) بیان داشتند که در کپور علفخوار، TVN با زمان نگهداری و باکتری‌های سرمادوست، ارتباط ضعیفی نشان می‌دهد و در نتیجه این شاخص برای تعیین مدت زمان نگهداری ماهی، مناسب نمی‌باشد. حد مجاز TVN پیشنهاد شده برای مصرف انسان، معادل mg/100g ۳۰ می‌باشد (El-Marrakchi et al., 1990؛ Harpaz et al., 2003). بر این اساس فیله‌های ماهی در گروه کنترل در روز نهم و در گروه اسید لاکتیک در روز پانزدهم غیرقابل مصرف شدند. تیمار فیله‌های ماهی با اسید لاکتیک، مدت زمان نگه‌داری آن‌ها را نسبت به گروه کنترل، ۶ روز افزایش داد.

به طور کلی در مطالعه‌ی حاضر، میزان متوسط TVN در گروه اسید لاکتیک به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود (P<0.001). Sallam (2007) نشان داد که با استفاده از نمک اسید لاکتیک (NaL) می‌توان روند افزایشی TVN در طول دوره‌ی نگه‌داری ماهی سالمون را، کاهش داد.

TBA: در این مطالعه میزان اولیه‌ی TBA در گروه کنترل و اسید لاکتیک به ترتیب mg malonaldehyde/kg ۰/۴۲ و ۰/۷۸ اندازه‌گیری شد و به‌تدریج در طول دوره، میزان آن افزایش یافت به طوری که در انتهای دوره‌ی ۱۸ روزه در گروه کنترل و اسید لاکتیک به ترتیب به mg malonaldehyde/kg ۰/۲۳ و ۲/۴۵ رسید.

بر اساس اظهارات Connell (1990) میزان mg malonaldehyde/kg ۱ تا ۲ در ماهی تازه، به عنوان حد مجاز برای TBA در نظر گرفته می‌شود که در مطالعه‌ی حاضر گروه کنترل در طول دوره مطالعه به حد مجاز نرسید و در گروه اسید لاکتیک در روز نهم از حد مجاز فراتر رفت.

به طور کلی متوسط TBA در گروه اسید لاکتیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (P<0.001). pH یکی از عوامل تاثیرگذار بر اکسیداسیون چربی‌ها است (Erkan et al., 2006). افزایش اکسیداسون چربی‌ها در گروه اسید

لاکتیک را می‌توان به اسیدی بودن pH در این گروه نسبت داد. Naveena و همکاران (2006) بیان کردند که استفاده از اسید لاکتیک در طول دوره‌ی ۱۲ روزه‌ی نگه‌داری گوشت گاومیش در دمای ۴ درجه‌ی‌سانتی‌گراد، باعث کاهش میزان متوسط TBA می‌شود که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مغایرت نشان می‌دهد.

pH: میزان این شاخص در روز صفر در گروه کنترل و اسید لاکتیک به ترتیب ۶/۶ و ۵/۹ بود و در انتهای دوره به بیشترین میزان خود رسید. افزایش pH در طول دوره‌ی نگهداری ماهی کپور نقره‌ای در دمای ۳- درجه‌ی‌سانتی‌گراد توسط Fan و همکاران (2009) گزارش شد. در مطالعه‌ی انجام شده توسط این محققان، طی دوره‌ی نگهداری ۳۰ روزه، میزان pH از ۶ به ۷ افزایش یافت.

در این مطالعه، میزان pH در طول دوره‌ی نگهداری، در گروه کنترل بیشتر از گروه تیمار بود. این امر می‌تواند به دلیل فساد سریع‌تر و تشکیل ترکیبات قلیایی حاصل از اتولیز و متابولیت‌های باکتریایی در بافت عضله‌ی ماهی باشد (Atrea et al., 2009). بالاترین میزان pH پیشنهاد شده برای پذیرش ماهی، ۶/۸-۷/۰ می‌باشد (Ludorff and meyer, 1973؛ Latifa et al., 2014). بر اساس این معیار، pH در گروه کنترل در روز ۱۵ به ۷/۰۲ رسید در حالی که گروه اسید لاکتیک در کل دوره‌ی نگهداری به ۶/۸ نرسید.

Metin و همکاران (2001) نشان دادند که میزان متوسط pH، در ماهی ماکرل (*Scomber japonicus*) تیمار شده با غلظت‌های ۲ و ۴ درصد اسید لاکتیک طی ۱۲ روز نگه‌داری در دمای ۴ درجه، کمتر از گروه کنترل بود که با یافته‌های حاصل از این مطالعه مطابقت دارد.

رطوبت قابل بیان: در روز صفر، میزان EM در گروه کنترل و اسید لاکتیک به ترتیب ۱۴/۵۰ درصد و ۱۶/۸۴ درصد اندازه‌گیری شد و این شاخص در طول دوره‌ی نگهداری افزایش یافت تا در نهایت میزان آن در گروه‌های کنترل و اسید لاکتیک به ترتیب به ۲۰/۹۳ درصد و ۳۴/۷۳ درصد رسید. متوسط EM در گروه اسید لاکتیک به طور معنی‌داری از گروه کنترل بیشتر بود ($P<0.001$). در مطالعه‌ای مشابه که توسط Taheri و همکاران (2013) انجام شد، نشان دادند که در ماهی Cobia در دوره‌ی نگه‌داری ۶ ماهه در دمای ۱۸- درجه، EM روند افزایشی داشت که با نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر، همخوانی دارد. حال آن که Hernández و همکاران (2009) در خصوص نگهداری ماهی *Argyrosomus regius* در یخ به مدت ۱۸ روز، عنوان داشتند که تغییر معنی‌داری در میزان EM مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری

به طور کلی بر اساس نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر، اسید لاکتیک سبب افزایش مدت زمان نگهداری فیله‌های ماهی کپور معمولی شد. این افزایش بر اساس آزمون‌های شمارش باکتری‌های مزوفیل و TVN، ۶ روز و برای آزمون‌های شمارش باکتری‌های سایکروفیل و pH، معادل ۳ روز بود. به طور کلی می‌توان این طور نتیجه‌گیری نمود که اسید لاکتیک حداقل سبب افزیش ۳ روزه در طول عمر ماهی کپور معمولی نگهداری شده در دمای یخچال می‌شود. بنابراین می‌توان از این اسید ارگانیک جهت افزایش مدت زمان نگه‌داری فیله‌ی ماهی کپور معمولی استفاده کرد.

قدردانی و تشکر

بدین‌وسیله تشکر و قدردانی از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد و دانشگاه شهید چمران اهواز، به عمل می‌آید. همچنین از کارشناس آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی شهید چمران اهواز سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

۱. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۷۱). آماده کردن نمونه‌های مواد غذایی و شمارش میکروارگانیسم‌های مختلف. شماره‌ی ۳۵۶.
۲. سازمان ملی استاندارد ایران، (۱۳۸۲). شمارش میکروارگانیسم‌های سرماگرا. شماره‌ی ۲۶۲۹.
۳. اعتمادی، ح.؛ رضایی، م. و عابدیان کناری، ع.، (۱۳۸۷). پتانسیل آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی عصاره رزماری (*Rosmarinus officinalis*) در افزایش عمر ماندگاری ماهی

قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه علوم و صنایع غذایی، دوره ۵، شماره ۴، صفحه ۶۷.

۴. غلامزاده، م.؛ حسینی ا.؛ اسکندری س. و حسینی ه.، (۱۳۹۲). تعیین زمان ماندگاری فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) تیمار شده با عصاره‌ی سیاه‌دانه (*Nigella sativa L.*) در طول دوره‌ی نگه‌داری در یخچال. مجله‌ی علمی شیلات ایران، دوره ۲۲، شماره ۱، صفحه‌ی ۷۱ تا ۸۴.

5. Alakomi, H. L., Skytta, E., Saarela, M., Mattilda-Sandholm, T., Latva-Kala, K., & Helander, I. M. 2000. Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. Appl Environ Microb, 66, 2001-2005.
6. Ashie, I.N.A., J.P. Smith, B.K. Simpson and Haard, N.F. 1996. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. Critical Rev. Food Sci Nut, 36: 87-121.
7. Atrea, I., Papavergou, A., Amvrosiadis, I. and Savvaidis, I. N. 2009. Combined Effect of Vacuum-Packaging and Oregano Essential Oil on the Shelf-life of Mediterranean Octopus (*Octopus vulgaris*) from the Aegean Sea Stored at 4°C. Food Microbiol, 26: 166-172.
8. Berkel, B.M., B.V. Boogaard and C. Heijnen, 2004. Preservation of Fish and Meat. Agromisa Foundation, Wageningen, The Netherlands, ISBN: 90-72746-01-9 pp: 78-80.
9. Booth, I. R. 1985. Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. Microbiol R, 49, 359-378.
10. Booth, I. R. 1985. Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. Microbiol R, 49, 359-378.
11. Booth, I. R., & Kroll, R. G. 1989. The preservation of foods by low pH. In G. W. Gould (Ed.), Mechanism of action of food preservation procedures (pp. 119-160). London: Elsevier Applied Science.
12. Bracket M. S., Yamazaki, K., Miyashita, K., Il-Shik, S., Dong-Suk, C., & Suzuki, T. 2004. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. Food Microbiol, *21*(6), 657-666.
13. Chaijan, M., Panpipat, W., Benjakul, S., 2010. Physicochemical properties and gel-forming ability of surimi from three species of mackerel caught in Southern Thailand. Food Chem 121, 85-92.
14. Connell, J. J., 1990. Methods of assessing and selecting for quality. In In control of fish quality (3rd ed.). Berlin: Springer.
15. Dalgaard, P., 2000. Fresh and lightly preserved seafood. In C. M. D. Man & A. A. Jones (Eds.), Shelf-life evaluation of foods (second ed., pp. 110–139). Gaithersburg, MD, USA: Aspen Publishing Inc.
16. Duan, J., Cherian, G., & Zhao, Y., 2010. Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan coatings. Food Chem, *119*(2), 524-532.
17. El-Marrakchi, A., Bennour, B., Bouchriti, N., Hamama, A., Tagafait, H., 1990. Sensory, chemical, and microbiological assessments of moroccan sardines (Sardina pilchardus) stored in ice. J Food Protect. 53, 600–605.
18. Erkan, N., Özden, Ö., Alakavuk, D. Ü., Yildirim, Ş. Y., & İnuğur, M. 2006. Spoilage and shelf life of sardines (Sardina pilchardus) packed in modified atmosphere. Eur Food Res Technol, 222(5-6), 667-673.
19. Etemadi, H., Rezaei, M., Abedian Kenari, A., & Hosseini, S. F., 2013. Combined Effect of Vacuum Packaging and Sodium Acetate Dip Treatment on Shelf Life Extension of Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss) during Refrigerated Storage. J Agr Sci Tech-IRAN, 15(5), 929-939.
20. 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 Chem. 115, 66-70.
21. Geri,G., B.M.Poli, M. Gualtieri, P. Lupi and G. parisi., 1995. Body traits and chemical composition of muscle in common carp (Cyprinus carpio) as influence by age and rearing environment. Aquaculture 129: 329-333.
22. Goncalves, A. C., Almeida, R. C. C., Alves, M. A. O., & Almeida, P. F. 2005. Quantitative investigation on the effects of chemical treatments in reducing L. monocytogenes populations on chicken breast meat. Food Control, 16, 617–622.
23. Goulas A. E., Kontominas M. G. 2005. Effect of salting and smoking-method on the keeping

(Cyprinus carpio) surimi: Microbial growth, oxidation, and physiochemical properties. LWT-Food Sci Tech, 57(1), 165-171.
34. Ludorff A, Meyer U. 1973. Fische und Fisherzeugnisse. Paul Parey Verlag. Berlin Hamburg.
35. Meed, P.S., Laurence, S., 1999. Food related illness and death in the United States. Emerg. Infect. Dis. 5, 607–625.
36. Metin, S., Erkan, N., Varlik, C., & Aran, N. 2001. Extension of shelf life of chub mackerel (Scomber japonicus Houttuyn 1780) treated with lactic acid. Eur Food Res Tech, 213, 174-177.
37. Metin, S., Erkan, N., Varlik, C., & Aran, N. (2001). Extension of shelf-life of chub mackerel (Scomber japonicus Houttuyn 1780) treated with lactic acid. Eur Food Res Tech, 213(3), 174-177.
38. Naveena, B. M., Muthukumar, M., Sen, A. R., Babji, Y., & Murthy, T. R. K. 2006. Improvement of shelf-life of buffalo meat using lactic acid, clove oil and vitamin C during retail display. Meat sci, 74(2), 409-415.
39. Ng, C. S. 1987. Measurement of free and expressible drips. In H. Hasegawa (Ed.), Manual on analytical methods and procedure for fish and fish products laboratory. Singapore: Southeast Asian Fisheries Development Center.
40. 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 Chem, 120(1), 193-198.
41. Olafsdottir G, Martinsdottir E, Oehlenschlager J, Dalgaard P, Jensen B, Undeland I, Mackiex IM, Henehan G, Nielsen J, Nielsen H. 1997. Trends Food Sci Tech 81:258–265.
42. Gram, L., & Huss, H. H. 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. Int j food microbiol, 33(1), 121-137.
43. Omana, D. A., Moayedi, V., Xu, Y., & Betti, M. 2010. Alkali-aided protein extraction from chicken dark meat: textural properties and color characteristics of recovered proteins. Poultry sci, 89(5), 1056-1064.
44. Pérez-Alonso, F., Arias, C., & Aubourg, S. P., 2003. Lipid deterioration during chilled storage of Atlantic pomfret (Brama brama). Eur J Lipid Sci tech, 105(11), 661-667.
45. Rey M. S., Garcia-Soto B., Fuertes-Gamundi J. R., Aubourg S., Baros-Velazquez J. 2012. Effect quality of chub mackerel (Scomber japonicus): biochemical and sensory attributes. Food Chem, 93, 511–520.
24. Goulas, A. E., & Kontominas, M. G., 2005. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (Scomber japonicus): Biochemical and sensory attributes. Food Chem, 93, 511–520.
25. Harpaz, S., Glatman, L., Drabkin, V., Gelman, A. 2003. Effects of herbal essential oils used to extend the shelf-life of freshwater- reared Asian sea bass fish (Lates calcarifer). Journal Food Protect. 66, 410–417.
26. Hernández, M. D., López, M. B., Alvarez, A., Ferrandini, E., García, B. G., & Garrido, M. D. 2009. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (Argyrosomus regius) fillets during ice storage. Food Chem, 114(1), 237-245.
27. Ibrahim Sallam, K. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control, 18, 566-575.
28. ICMSF ‘‘International Commission on Microbiological Specification for Foods’’ 1986. Microorganisms in foods. 2. Sampling for microbiological analysis: principle sand specific applications (2nded.).Buffalo, NY: University of Toronto Press.
29. Irawan, H., Vuthiphandchai, V., & Nimrat, S. 2010. The effect of extenders, cryoprotectants and cryopreservation methods on common carp (*Cyprinus carpio*) sperm. Anim Reprod Sci, 122, 236-243.
30. Kim, C., Hearnsberger, J., & Eun, J., 1995. Gram-negative bacteria in refrigerated catfish fillets treated with lactic culture and lactic acid. J Food Protect, 58, 639-643.
31. Kirk, R. S., & Sawyer, R. 1991. Pearson’s composition and analysis of foods (9th Ed.). London: Longman Scientific and Technical.
32. Latifa, G. A., Chakraborty, S. C., Begum, M., Nahid, M. N., & Farid, F. B. 2014. Nutritional Quality Analysis of Bangladeshi Fish Species, M. Tengra (Hamilton-Buchanan, 1822) Preserved with Different Salt Curing Methods in Laboratory Condition. Am J Food Nut, 2(6), 100-107.
33. Liu, Q., Kong, B., Han, J., Chen, Q., & He, X., 2014. Effects of superchilling and cryoprotectants on the quality of common carp

of a natural organic acid-icing system on the microbiological quality of commercially relevant chilled fish species. Food Sci Tech. 46, 217-223.

46. Rhodehamel, E.J. 1992. Fda's concerns with sous vide processing. Food Technology. 46, 73–76.
47. Sallam, K. I., 2007. Chemical, sensory and shelf life evaluation of sliced salmon treated with salts of organic acids. Food Chem, 101(2), 592-600.
48. Scherer, R., Augusti, P. R., Bochi, V. C., Steffens, C., Fries, L. L. M., Daniel, A. P., ... & Emanuelli, T 2006. Chemical and microbiological quality of grass carp (Ctenopharyngodon idella) slaughtered by different methods. Food Chem, 99(1), 136-142.
49. Taheri, S., Motallebi, A., Fazlara, A., & Aghababyan, A. 2013. Effect of Zataria multiflora Boiss (Avishan shirazi) essential oil on oxidative progress in frozen cobia fish fillets during storage. J Aquat Food Prod T, 22(3), 310-321.
50. Yesudhason, P., Lalitha, K. V., Gopal, T. K., & Ravishankar, C. N. 2014. Retention of shelf life and microbial quality of seer fish stored in modified atmosphere packaging and sodium acetate pretreatment. Food Pack Shelf Life, 1(2), 123-130.

Effect of Lactic acid on microbiological and chemical indices of common carp fillets during storage at 4 0C

Ali Noori S. M .[1, 2], Khanzadi S[3*], Fazlara A[4], Najafzadeh Varzi H[5], Azizzadeh M[6]

1. Department of Food and Drug Control, Pharmacy School, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

2. Graduated student, Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

3. Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

4. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.

5. Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.

6. Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

*** Corresponding author**: *khanzadi@um.ac.ir*

Accepted: 16 March 2016 Received: 23 November 2016

Abstract

This study was carried out to evaluate shelf life, microbiological and chemical attributes of common carp (*Cyprinus carpio*) fillets treated by dipping in 1.5% lactic acid solution during refrigerated storage at 4 °C for 18 days. Mesophilic and psychrophilic counts, TVN (Total Volatile Nitrogen), pH, TBA and Expressible Moisture (EM) were carried out at 0, 3, 6, 9, 12, 15 and 18 days of storage. The microbiological and chemical analyses demonstrated significant reduction in mesophilic and psychrophilic counts, TVN and pH in treatment group ($p<0.001$). However, TBA (Thiobarbituric Acid) and EM was significantly higher than control group ($p<0.001$). Shelf life of lactic acid group increased to 12 days instead of 6 days in control group for mesophilic count. For psychrophilic count, it improved from 3 days to 6 days in lactic acid group. TVN acceptability set at 30 mg N/100 g and shelf life of control and lactic acid group were 9 days and 15 days respectively. Acceptability of pH value considered at 6.8-7.0. Control group reached to 7.02 at 15 days of storage and lactic acid group did not reach to 6.8 until the final day. Lactic acid can therefore be used as safe preservative for common carp under refrigerated storage.

Keywords: Fish, Common carp (*Cyprinus carpio*), Lactic acid, Shelf-life, Cold storage