تغــذیه و بیــوشیمی آبزیــان
سال اول، شماره سوم،
زمستان ۱۳۹۳

تغییرات شیمیایی، میکروبی و حسی فیله ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) طی نگهداری در یخچال

هانیه رستم زاد[۱*]، سید مهدی موسوی[۲]
۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان
۲- گروه علوم دامی و دامپزشکی، پردیس شیلات، دانشگاه جامع علمی کاربردی گیلان، رشت، گیلان

تاریخ دریافت: ۹۳/۷/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۲۰

چکیده
حفظ تازگی و کیفیت محصولات دریایی به دلیل دارا بودن اسیدهای چرب غیراشباع همواره از دغدغه‌های محققان بوده است. علاوه بر این، امروزه تمایل مصرف‌کنندگان به خریداری محصولاتی که تازگی و کیفیت خود را حفظ می‌کنند افزایش یافته است. از این رو، تعیین مدت زمان نگهداری ماهیان مختلف در یخچال، به منظور مشخص کردن زمان مناسب مصرف از اهمیت بالایی برخوردار است و مطالعه حاضر برای تعیین زمان نگهداری فیله ماهی فیتوفاگ در یخچال انجام شده است. فیله‌های تازه ماهی فیتوفاگ به مدت ۱۶ روز در دمای یخچال نگهداری شدند و در فواصل زمانی ۲ روز مورد آنالیز قرار گرفتند. برای تعیین کیفیت فیله‌ها از شاخص‌هایی مانند میزان پراکساید و تیوباربیتوریک اسید، بازهای ازته فرار، بار میکروبی فیله‌ها و برخی شاخص‌های دیگر استفاده شد. بر طبق نتایج مطالعه انجام شده، فیله ماهی فیتوفاگ تا روز ششم قابلیت نگهداری در یخچال را دارد و پس از روز ششم نگهداری از حدود استانداردهای تعیین شده خارج می‌شود.

کلمات کلیدی: فیله ماهی، نگهداری، فیتوفاگ، بار میکروبی

* **نویسنده مسئول:** honiyeh_rostamzad@yahoo.com

مقدمه

غذاهای دریایی منبع پروتئینی با ارزش به حساب می‌آیند و نقش مهمی در رژیم غذایی انسان دارند (Kose et al. 2001). ماهی از جمله فرآورده‌هایی است که در بازار به صورت تازه مصرف می‌شود و نگهداری در دمای سرد و یخچال از روش‌هایی است که در مراکز عرضه و فروش و یا انتقال ماهی زیاد استفاده می‌شود. از سویی گوشت ماهی نسبت به دیگر منابع گوشتی به دلیل فعالیت آبی بالا، مقادیر نسبتاً بالای اسیدهای آمینه آزاد و حضور آنزیم‌های اتولیزکننده نسبت به تجزیه باکتریایی آسیب‌پذیرتر است. نگهداری ماهی در یخچال موجب کاهش سرعت فعالیت‌های آنزیمی و میکروبی می‌شود، اما آنها را به‌طور کامل متوقف نمی‌کند و تغییرات نامطلوبی از جمله اکسیداسیون چربی و فساد میکروبی به آرامی صورت گرفته و موجب فساد ماهی پس از طی چند روز می‌شوند (Perez-Alonso et al. 2003). ماهیان حاوی مقادیر زیادی از ترکیبات مهم مانند ترکیبات مغذی، ویتامین‌های محلول در چربی، عناصر کمیاب و اسیدهای چرب چندغیراشباع، به‌طور عمده دکوزاهگزانوئیک اسید[1] و ایکوزاپنتانوئیک اسید[2] هستند (Perez-Alonso et al. 2004).

نقش اسیدهای چرب غیراشباع در توسعه سلول‌های مغزی در طول دوره بارداری، شبکیه چشم و در جلوگیری از ایجاد بیماری‌های قلبی به اثبات رسیده است. اسیدهای چرب امگا ۳ برای رشد عصبی کودک در مرحله جنینی ضروری هستند و اثرات مفیدی بر کاهش التهاب، افسردگی و کنترل فشار خون بالا دارند (Navarro-Garcia et al. 2004). از این‌رو، فساد چربی در ماهیان از دلایل مهم کاهش کیفیت آنان بیان می‌شود و از آنجا که تولید محصولات اولیه اکسیداسیون به شکل دقیق توسط آزمون حسی قابل اندازه گیری نیست و برای سلامت انسان نیز مضرند، انجام آزمایش‌های مربوط برای تعیین میزان اکسیداسیون حائز اهمیت است. در صورت گسترش فساد چربی در ماهیان، ضمن ایجاد بوی نامطبوع، تغییرات نامطلوب در رنگ، طعم، بافت، ویژگی‌های ظاهری و ارزش غذایی به وجود می‌آید.

علاوه بر اکسیداسیون چربی، یکی دیگر از دلایل مهم فساد غذا، رشد و سوخت‌وساز میکروبی است که منجر به تشکیل ترکیباتی با بوی نامطلوب و ناخوشایند می‌شود. بیماری‌های ناشی از مصرف غذاهای آلوده با باکتری‌های بیماری‌زا موجب نگرانی در سلامت عمومی شده است.

کپور نقره‌ای مهم‌ترین گونه پرورشی در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی است، به‌طوری‌که حدود ۷۰-۶۰٪ از تراکم ماهیان در استخرهای پرورشی را شامل می‌شود. نظر به ارزش اقتصادی و غذایی ماهی فیتوفاگ و با توجه به اینکه گرایش مصرف‌کنندگان به استفاده از فیله‌های آماده و تازه ماهیان رو به افزایش است، تعیین مدت ماندگاری این فیله ها در دمای یخچال از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از این‌رو، در مطالعه حاضر به بررسی روند تغییرات شاخص‌های شیمیایی، میکروبی و حسی فیله‌های ماهی فیتوفاگ نگهداری شده در یخچال پرداخته شد تا علاوه‌بر حصول اطلاعات پایه ای و ارزشمند، اطمینان و اعتماد لازم از نظر مصرف و جلوگیری از آثار سوء ناشی از شرایط نامناسب نگهداری فراهم شده و مدت دقیق ماندگاری آنها مشخص شود.

مواد و روش ها

آماده سازی ماهی

۱۰ کیلوگرم ماهی فیتوفاگ با میانگین وزنی ۱۰۰ ± ۱۰۰۰ گرم از استخر پرورش ماهی تهیه و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شد. پس از شستشو، تخلیه شکمی و سرزنی، فیله‌های ماهی تهیه شدند و پس از شستشوی مجدد در پوشش‌های پلی‌اتیلن قرار گرفته و به مدت ۱۶ روز در یخچال نگهداری شدند (Song et al. 2012). در طی این مدت (فواصل زمانی ۲ روز) پارامترهای سنجش کیفیت فیله‌ها بر حفظ کیفیت آنها بر طبق روش‌های زیر مورد بررسی قرار گرفتند.

---

[1] Decosa Hexsaenoic Acid (DHA)
[2] Eicosa Pantaenoic Acid (EPA)

آنالیز شیمیایی

اندازه گیری pH نمونه‌ها

به این منظور، ۵ گرم از نمونه به مدت ۱ دقیقه با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر همگن شده و میزان pH آن با دستگاه pH متر اندازه‌گیری شد (Suanich et al. 2000).

اندازه‌گیری میزان پراکساید (PV)[3]

۱۵۰ گرم نمونه به کمک همزن مکانیکی با ۲۵۰ میلی‌لیتر کلروفرم کاملاً مخلوط شد (۱۰ دقیقه). سپس توسط یک صافی فیلتر شد و محلول صاف شده از صافی دیگری که تا نیمه از سولفات سدیم خشک پر شده بود، عبور داده شد. این محلول برای مراحل دیگر حفظ شد. ۱۰ میلی‌لیتر از این محلول در یک پتری‌دیش کاملاً خشک و توزین شده (با دقت هزارم) ریخته شد و زیر هود قرار داده شد تا کلروفرم آن تبخیر شود و پس از آن، به مدت یک ساعت در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا خشک شود. سپس نمونه‌ها در دسیکاتور گذاشته شدند تا سرد و سپس توزین شوند. وزن چربی حاصل برای محاسبه پراکساید استفاده شد. ۲۵ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده برداشته شد و ۳۷ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم اشباع اضافه شد و دقیقاً بعد از یک دقیقه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و کمی معرف چسب نشاسته به آن اضافه شد و در ادامه، ید آزادشده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تا ظهور رنگ شیری تیتر شد و مقدار پراکساید بر حسب میلی اکی والان گرم اکسیژن در کیلوگرم ماده چرب طبق رابطه زیر محاسبه شد (Egan et al. 1997):

PV=(حجم تیوسولفات مصرفی × نرمالیته × ۱۰۰۰) / (وزن نمونه روغن)

اندازه گیری میزان تیوباربیتوریک اسید[4] (TBA)

اندازه‌گیری TBA به روش رنگ‌سنجی انجام شد. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه چرخ شده ماهی به یک بالن ۲۵ میلی‌لیتری انتقال یافت و سپس با ۱-بوتانل به حجم رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر از این مخلوط به لوله های خشک درب‌دار وارد شده و به آن ۵ میلی‌لیتر از معرف TBA افزوده شد (معرف TBA با حل‌شدن ۲۰۰ میلی‌گرم معرف در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال ۱-بوتانل پس از فیلترشدن به‌دست می‌آید). لوله‌های درب دار در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفته و پس از آن در دمای محیط سرد شدند. سپس مقدار جذب (As) در ۵۳۲ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده شد. مقدار TBA (میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در کیلوگرم بافت ماهی) بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (Kirk and Sawyer, 1991):

TBA = (مقدار جذب نمونه-مقدار جذب شاهد)×۵۰/۲۰۰

اندازه‌گیری میزان بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

۱۰ گرم از نمونه گوشت چرخ شده ماهی را همراه با ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل بالن کلدال ریخته، سپس بالن را به دستگاه وصل کرده و از زیر به آن حرارت داده شد. در انتهای دستگاه یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محلول اسید بوریک ۲٪ (۲ گرم اسید بوریک در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به حجم رسانده می‌شود) به همراه چند قطره معرف متیل رد (۰/۱ گرم متیل رد در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول به حجم رسانده می‌شود) قرار داده شد. متیل رد در محیط اسیدی قرمز رنگ و در محیط بازی زردرنگ می‌شود. عمل تقطیر تا گذشت ۴۵ دقیقه از زمان جوشش مواد درون بالن، با جمع شدن حدود ۵ ± ۱۰۰ میلی‌لیتر مایع در ارلن مایر ادامه یافت. محلول اسید بوریک به‌محض قلیایی شدن توسط بازهای ازته فرار تقطیرشده زرد رنگ می شود. عمل تیتراسیون توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تا جایی ادامه یافت که محلول دوباره قرمز رنگ شود. مقدار TVB-N به‌صورت میلی‌گرم در صد گرم گوشت ماهی با توجه به رابطه زیر به‌دست می‌آید (Goulas and Kontaminas, 2005):

TVB-N = حجم سود مصرفی ×۱۴

---

[3] Peroxide value
[4] Thiobarbituric acid

آنالیز میکروبی

به‌منظور انجام آزمایش‌های میکروبی، ۵ گرم از نمونه گوشت ماهی (که از بخش استریل زیرین بافت برداشته شده بود) با ۴۵ میلی‌لیتر از محلول سرم فیزیولوژی مخلوط و همگن شده و متعاقب آن، رقت‌های مورد نیاز تهیه شد. ۱ میلی‌لیتر از هر رقت برای کشت باکتری‌ها در محیط پلیت کانت آگار (PCA[5]) قرار گرفت. نمونه‌های کشت داده شده در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت برای شناسایی بار کل باکتریایی[6] و در انکوباتور ۷ درجه‌ی سانتی‌گراد (به دلیل تشکیل پرگنه‌های قابل شمارش در این دما) به مدت ۱۰ روز برای شناسایی باکتری‌های سرمادوست قرار گرفتند و پس از طی مدت انکوباسیون، پرگنه‌ها شمارش شدند (Song et al. 2012).

ارزیابی خواص حسی نمونه‌ها

ارزیابی نمونه‌ها توسط ۶ فرد که قبل از آزمون نمونه‌ها آموزش دیده بودند (افراد نیمه‌آموزش‌دیده) و با ارزیابی ۵ امتیازی انجام شد. امتیاز هر یک از نمونه‌ها به‌صورت زیر انجام شد: بافت (۵، بافت محکم و سفت؛ ۱، بافت خیلی نرم)، رنگ (۵، بدون تغییر رنگ؛ ۱، کاملاً بی‌رنگ)، بو (۵، کاملاً مطبوع؛ ۱، بوی فساد)، مقبولیت کلی (۵، کاملاً مقبول، ۱، کاملاً نامقبول). نقطه بحرانی مقبولیت هر یک از ویژگی‌ها ۳ در نظر گرفته شد و پایین‌تر از آن به معنای رد خصوصیات حسی مورد نظر بود (Yingyuad et al. 2006; Fan et al. 2008).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SPSS (۲۰۰۷) انجام شد و تمام آزمایش‌ها با حداقل ۳ تکرار صورت گرفتند. سپس داده ها مورد آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) قرار گرفتند. به‌منظور مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح اطمینان ۵٪ استفاده شد.

[5] Plate count agar
[6] Total count

نتایج

مقادیر pH بافت ماهی

در شکل ۱ تغییرات میزان pH نمونه‌ها در طی مدت نگهداری در یخچال (دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد) مشاهده می‌شود. بر اساس این شکل، میزان pH در طی زمان نگهداری در نمونه‌ها تغییر کرده است. به‌طوری که از ۶/۳۴ در روز صفر به ۷/۶۵ در روز شانزدهم نگهداری رسیده است.

مقادیر پراکساید بافت ماهی

همان‌طور که در شکل ۲ مشخص است، میزان پراکساید در نمونه های مورد آزمایش طی دوره نگهداری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$) و در روز هشتم نگهداری به بیشترین حد خود (حدود ۱۱/۵ میلی‌اکی‌والان‌گرم اکسیژن بر کیلوگرم چربی) رسید ($P<۰/۰۵$) و پس از آن روندی کاهشی داشت.

مقادیر تیوباربیتوریک اسید بافت ماهی

همان‌طور که در شکل ۳ دیده می‌شود، میزان تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های فیله ماهی در زمان صفر بسیار پایین و در حدود ۰/۰۱۵ میلی‌گرم مالون‌آلدئید بر کیلوگرم گوشت بود. در طی دوره نگهداری در یخچال، میزان تیوباربیتوریک اسید نمونه‌ها افزایش یافت ($P<۰/۰۵$).

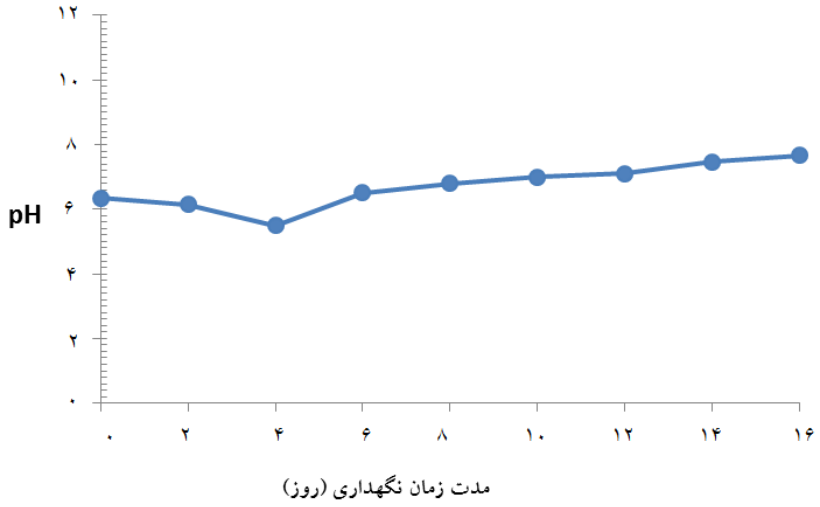
مقادیر بازهای ازته فرار بافت ماهی

یکی دیگر از آزمایش‌هایی که بر روی فیله‌های نگهداری شده در یخچال انجام شد، اندازه‌گیری میزان بازهای ازته فرار نمونه‌ها بود. همان‌طور که در شکل ۴ مشخص است، در ابتدای دوره نگهداری، میزان بازهای ازته فرار فیله‌ها بسیار کم و در حدود ۶/۵ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم گوشت بود، اما با گذشت زمان در نمونه‌ها افزایش یافت ($P<۰/۰۵$)، به‌طوری که در روز شانزدهم به حدود ۶۴ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم گوشت رسید.

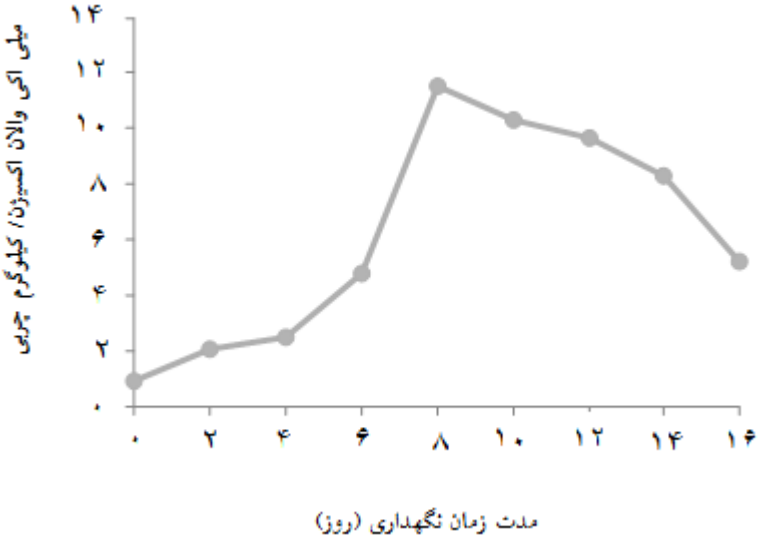
تعداد باکتری‌های کل فیله ماهی

مقادیر شمارش شده کل باکتری فیله‌های نگهداری شده در یخچال در شکل ۵ آورده شده است. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در طول دوره نگهداری، میزان بار

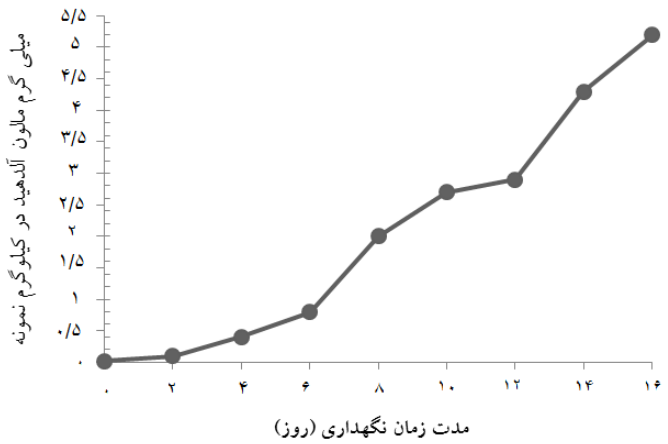
باکتریایی نمونه‌ها افزایش معنی‌داری داشته است ($P<۰/۰۵$)، به‌طوری که از ۳/۵ log_{10} CFU/g در روز صفر به ۸/۵ log_{10} CFU/g در روز شانزدهم رسید.



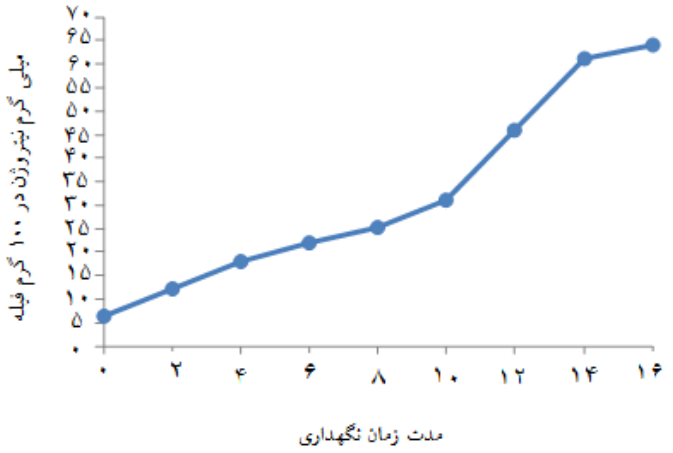
شکل ۱- تغییرات میزان pH فیله ماهی فیتوفاگ در طی مدت نگهداری در یخچال.



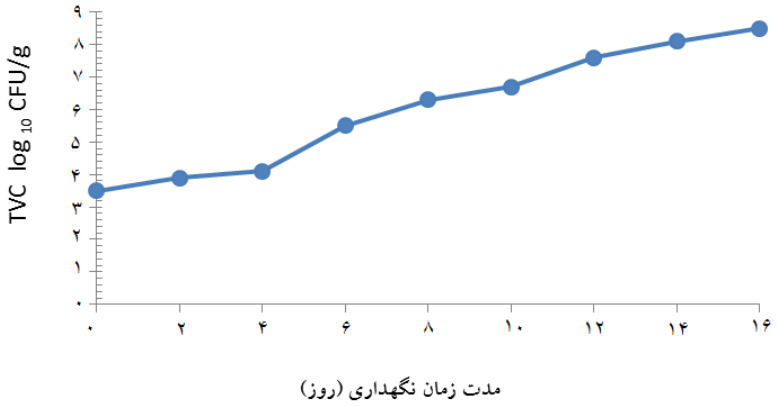
شکل ۲- تغییرات میزان پراکساید فیله ماهی فیتوفاگ در طی مدت نگهداری در یخچال.



شکل ۳- تغییرات میزان تیوباربیتوریک فیله ماهی فیتوفاگ در طی مدت نگهداری در یخچال.



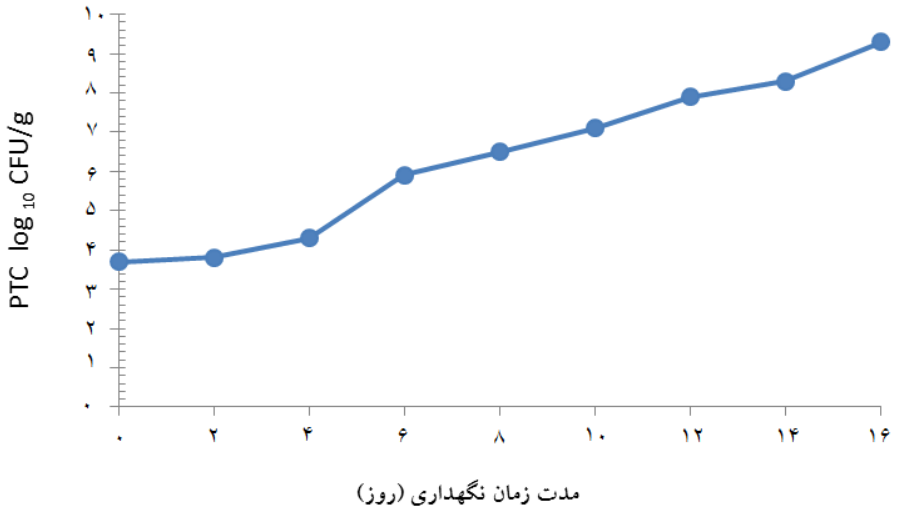
شکل ۴- تغییرات میزان بازهای ازته فرار فیله ماهی فیتوفاگ در طی مدت نگهداری در یخچال.



شکل ۵- تغییرات میزان بار باکتریایی فیله ماهی فیتوفاگ در طی مدت نگهداری در یخچال.

تعداد باکتری‌های سرما دوست بافت فیله ماهی

تغییرات تعداد باکتری‌های سرما دوست فیله‌های نگهداری شده در یخچال در شکل ۶ آورده شده است. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های به‌دست آمده نشان داد که با گذشت زمان نگهداری، میزان باکتری‌های سرمادوست نمونه‌ها افزایش معنی‌داری داشته است (P<۰/۰۵)؛ به‌طوری که از ۳/۷ log_{10} CFU/g در روز صفر به log_{10} CFU/g ۹/۳ در روز شانزدهم نگهداری رسید (P<۰/۰۵).



شکل ۶- تغییرات میزان بار باکتریایی سرما دوست فیله ماهی فیتوفاگ در طی مدت نگهداری در یخچال.

ارزیابی حسی

نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های ماهی نگهداری شده در یخچال در جدول ۱ آمده است. همان‌طور که در جدول مشخص است، در ابتدای دوره نگهداری، همه نمونه‌ها از رنگ، بو و بافت خوب و قابل قبولی برخوردار بودند. در طول دوره نگهداری، از میزان مقبولیت نمونه‌ها از نظر مصرف کننده کاسته شد (P<۰/۰۵).

جدول ۱- ارزیابی حسی فیله های نگهداری شده در یخچال.

روز شاخص	۰	۲	۴	۶	۸	۱۰	۱۲	۱۴	۱۶
بافت	۵ ± ۰/۰۰^{a}	۵ ± ۰/۰۰^{a}	۴/۶ ± ۰/۴۶^{a}	۴/۳ ± ۱/۰۱^{a}	۳ ± ۰/۶۵^{b}	۲/۳ ± ۰/۳۷^{c}	۲ ± ۰/۴۸^{c}	۱/۳ ± ۰/۴۶^{d}	۱ ± ۰/۰۰^{d}
بو	۵ ± ۰/۰۰^{a}	۴/۷ ± ۰/۳۱^{a}	۴/۵ ± ۰/۵۳^{a}	۴/۲ ± ۰/۷^{b}	۲/۹ ± ۰/۷۸^{c}	۱/۹ ± ۰/۵۶^{c}	۱ ± ۰/۹۱^{d}	۱ ± ۰/۵۱^{d}	۱ ± ۰/۰۰^{d}
رنگ	۵ ± ۰/۰۰^{a}	۵ ± ۰/۰۰^{a}	۴/۷ ± ۰/۳۵^{a}	۴/۳ ± ۰/۵۱^{b}	۲/۹ ± ۰/۸۴^{c}	۲/۳ ± ۰/۸۴^{c}	۱/۸ ± ۰/۱۶^{d}	۱ ± ۰/۳۳^{d}	۱ ± ۰/۰۰^{d}
پذیرش کلی	۵ ± ۰/۰۰^{a}	۴/۹ ± ۱/۲^{a}	۴/۱ ± ۰/۷۲^{a}	۴ ± ۰/۱۵^{b}	۲/۹ ± ۰/۷۵^{c}	۲/۱ ± ۰/۴۳^{c}	۱/۷ ± ۰/۵۵^{d}	۱/۷ ± ۰/۲۵^{e}	۱ ± ۰/۰۰^{e}

حروف کوچک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در سطح P<۰/۰۵ است.

بحث

در تحقیق حاضر، میزان pH روندی افزایشی داشت. افزایش pH اثر قابل ملاحظه‌ای بر کیفیت محصول خصوصاً بر ویژگی‌های حسی نظیر طعم، بو، رنگ و بافت طی دوره نگهداری دارد و می تواند مقبولیت محصول را کاهش دهد (Souza et al. 2010). میزان pH در ابتدای دوره (روز صفر نگهداری تیمارها) ۶/۳۴ بود، اما در روز چهارم نگهداری یک کاهش جزئی در میزان pH نمونه ها دیده شد. این کاهش توسط محققان مختلف (Alasalvar et al. 2001; Manju et al. 2007; Fan et al. 2008; Dekkerz et al. 2011) طی نگهداری ماهی دریخچال مشاهده شده است که می تواند نتیجه انحلال CO_2 حاصل از تجزیه گلیکوژن در بافت و ایجاد اسید کربنیک باشد (Fan et al. 2008). افزایش میزان pH می‌تواند در نتیجه تولید بازهای فرار مانند آمونیاک و تری‌متیل‌آمین باشد که به دلیل فعالیت‌های آنزیمی باکتری‌ها و آنزیم‌های درونی ایجاد می شوند (Kostaki et al. 2009).

اکسیداسیون چربی یکی از مهم‌ترین دلایل فساد گوشت و کاهش کیفیت آن است که سبب کاهش ارزش غذایی و تولید ترکیبات سمی می‌شود (Sahoo et al. 2004). در اثر اکسیداسیون چربی، هیدروپراکسیدها تولید می‌شوند که در اثر واکنش با دیگر مولکول‌ها، سبب از بین رفتن رنگ و ایجاد بوی نامطلوب می‌شوند. Karakam و Boran (۱۹۹۶) گزارش کردند که میزان پراکسید در ماهی بسیار تازه باید کمتر از ۲ میلی‌اکی‌والان‌گرم اکسیژن بر کیلوگرم چربی باشد و در ماهی تازه نباید ۵ میلی‌اکی‌والان‌گرم اکسیژن بر کیلوگرم چربی تجاوز کند. از این‌رو، با اندازه‌گیری میزان پراکسید تولیدی، می‌توان به تازگی و قابل مصرف بودن یا نبودن گوشت پی برد (Lin and Lin, 2005). از آنجا که پراکسیدها ترکیباتی بدون طعم و بو هستند، مصرف‌کنندگان نمی‌توانند آنها را تشخیص دهند. این ترکیبات باعث به‌وجودآمدن ترکیبات ثانویه مثل آلدئیدها و کتون‌ها می‌شوند. ترکیبات اخیر به تشخیص تندشدن اکسیداسیونی کمک می‌کنند (Ozyurt et al. 2007). همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، میزان اولیه پراکسید حدود ۰/۹ میلی‌اکی‌والان‌گرم اکسیژن بر کیلوگرم چربی بود که در طی دوره نگهداری افزایش یافت، به‌طوری که بیشترین مقدار آن در روز هشتم نگهداری، ۱۱/۵۵ میلی اکی‌والان‌گرم اکسیژن بر کیلوگرم چربی بود که بالاتر از حد قابل قبول برای گوشت ماهی است. در روز دهم نگهداری، میزان پراکساید فیله‌ها کاهش یافت ($P<0/05$). این امر می‌تواند گویای این مطلب باشد که پراکسیدهای تولیدشده، شکسته شده و به ترکیبات ثانویه تبدیل شده‌اند.

پراکساید تولیدی در طی فرایند اکسیداسیون ناپایدار است و به ترکیبات دیگر از جمله آلدئیدها، الکل‌ها و کتون‌ها تبدیل می‌شود. به همین دلیل، اندازه‌گیری پراکساید به تنهایی برای ارزیابی فساد کافی نیست و استفاده از دیگر روش‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد. مرحله دوم اکسیداسیون، با ظهور ترکیبات کربنیل آغاز می‌شود که با شاخص TBA می‌توان یکی از انواع آلدئیدهای تولیدی به نام مانول آلدئید را اندازه گیری کرد. آزمایش TBA به شکل گسترده‌ای برای ارزیابی گوشت مورد استفاده قرار می‌گیرد.

همان‌طور که در شکل ۳ مشخص است، در ابتدای دوره نگهداری، میزان تیوباربیتوریک اسید فیله‌های ماهی بسیار پایین بود که نشان از تازگی ماهی مورد استفاده دارد. در طی دوره نگهداری، میزان تیوباربیتوریک اسید نمونه‌ها روند افزایشی داشت که این امر به دلیل تشکیل ترکیبات آلدئیدی حاصل از شکست پراکسیدها است. به‌طور کلی حدود ۲-۱ میلی‌گرم مالون‌آلدئید بر کیلوگرم نمونه به عنوان حد محدود کننده قابل پذیرش برای مصرف کننده بیان شده است (Goulas and Kontominas, 2007). در مطالعه حاضر، میزان TBA نمونه‌ها تا روز ششم حدود ۱ میلی‌گرم مالون‌آلدئید بود و در روز هشتم به حدود ۸ میلی‌گرم رسید.

یکی از شاخص‌های تشخیص تازگی ماهی، اندازه‌گیری کل بازهای نیتروژنی فرار است که دامنه وسیعی از ترکیبات فرار نظیر آمونیاک، متیل‌آمین، دی‌متیل‌آمین، تری‌متیل‌آمین و غیره را شامل می‌شود که در اثر فعالیت‌های میکروبی تولید می‌شوند (Rodriguez et al. 2008). در حالت کلی، میزان TVB-N تحت تاثیر گونه، جنس، محل صید، فصل و سن ماهی تغییر می‌کند (Kilinc and Cakli, 2005). همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده است، در ابتدای دوره نگهداری (روز صفر) میزان بازهای ازته فرار تیمارهای

مختلف ۶/۳ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم گوشت بوده است که نشان از تازگی ماهی مورد استفاد دارد. در مطالعه حاضر، تغییرات میزان بازهای نیتروژنی فرار در طی دوره نگهداری فیله‌های ماهی فیتوفاگ در یخچال روندی افزایشی داشته است و میزان آن در روز هشتم نگهداری به ۲۵/۲ میلی‌گرم TVB-N در ۱۰۰ گرم فیله رسید که بالاتر از حد استاندارد است. این مقدار در پایان دوره نگهداری (روز شانزدهم) به ۶۵ میلی گرم در ۱۰۰ گرم گوشت رسید. عامل اصلی تولیدکننده بازهای نیتروژنی فرار، باکتری‌ها هستند و در طی مدت نگهداری، با تولید تدریجی آن، سبب ایجاد بوی نامطبوع در فیله ماهی و عدم مقبولیت آن توسط مصرف کننده می‌شوند.

به‌طور کلی می‌توان افزایش میزان TVB-N در نمونه های مورد بررسی طی دوره نگهداری را به فعالیت‌های باکتری‌های مولد فساد مرتبط دانست. وقتی فعالیت باکتریایی بالا باشد، ترکیباتی مانند تری‌متیل‌آمین‌اکساید، پپتیدها و آمینواسیدها به بازهای فرار شکسته می شوند (López-Caballero et al. 2005). زمانی‌که میزان TVB-N در بافت ماهی به بالاتر از ۳۰-۲۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بافت برسد، از نظر مصرف‌کننده فاسد است (Alcicek, 2011).

حضور باکتری‌ها یکی از دلایل مهم فساد و کاهش کیفیت فیله ماهی در طول دوره نگهداری است، زیرا گوشت ماهی حاوی ترکیبات مناسبی برای رشد میکروب‌ها است. از این‌رو، معمولاً برآورد میزان بار باکتریایی کل (TVC) به‌عنوان شاخص پذیرش در استانداردها و معیارها استفاده می‌شود (Olafsdottir et al. 1997). کمیته بین‌المللی تعیین ویژگی‌های میکروب شناسی مواد غذایی (ICMSF, 1986) حد مجاز $\log_{10}$ CFU/g ۷ را برای بار باکتریایی کل در ماهی خام تعیین کرده است. به‌طور کلی، میزان فساد میکروبی ماهی و فرآورده‌های آن، به فلور میکروبی، دمای محیط، وضعیت آب و شرایط نگهداری مانند دما و دسترسی به اکسیژن بستگی دارد و این خود، با توجه به نوع بسته بندی، متفاوت خواهد بود (Guillerm-Regost et al. 2006). عوامل متعددی مانند دستکاری در هنگام تهیه فیله، آلودگی وسایل و بهداشت افراد درگیر در کار، تعیین کننده میزان اولیه بار باکتریایی فیله هستند. در مطالعه حاضر، میزان بار باکتریایی فیله‌های مورد استفاده در روز صفر (ابتدای دوره) ۳/۵ $\log_{10}$ CFU/g بود که نشان‌دهنده کیفیت مناسب ماهیان به‌کار رفته و رعایت نکات بهداشتی در هنگام تهیه فیله‌ها و بسته‌بندی است (کمتر از $\log_{10}$ CFU/g ۴). همان‌طور که در شکل ۵ مشخص است، میزان بار باکتریایی کل تمام تیمارها در طی دوره نگهداری افزایش یافت. افزایش میزان بار باکتریایی فیله‌های تیمار شاهد از دیگر تیمارها بیشتر بود، به‌طوری که در روز دهم نگهداری به حدود ۷ رسید که نهایت حد مجاز برای مصرف انسان است.

میزان بار باکتریایی سرما دوست در ابتدای دوره $\log_{10}$ CFU/g ۳/۷ بود و در طول دوره نگهداری با سرعت بیشتری نسبت به بار باکتریایی کل افزایش یافت؛ به‌طوری که در روز دهم نگهداری از حد مجاز مصرف (۷) بالاتر رفت ($\log_{10}$ ۷/۱ CFU/g). این پدیده نشان می‌دهد که فلور باکتریایی غالب نمونه‌ها را باکتری‌های سرمادوست تشکیل می‌دهند. نتایج این تحقیق با یافته‌های دیگر محققان (Duan et al. 2010; Mohan et al. 2012) پیرامون بار باکتریایی سرمادوست در گونه‌های دیگر طی نگهداری در سرما همخوانی داشت.

نتایج ارزیابی حسی فیله‌های نگهداری شده در یخچال نشان داد که تمامی نمونه ها در ابتدای دوره از رنگ، بو و بافت قابل قبولی برخوردار بودند. در طی دوره نگهداری (شانزده روز) از میزان مقبولیت فیله‌های ماهی کاسته شد و تا روز ششم قابلیت پذیرش از جانب مصرف کننده داشتند، اما پس از آن از امتیازات بسیار پایینی برخوردار شدند. این نتیجه با نتایج آزمون‌های شیمیایی و میکروبی همخوانی داشت.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج آزمایش‌های انجام شده در مطالعه حاضر بهترین زمان مصرف ماهی فیتوفاگ نگهداری شده در یخچال ۶ روز تعیین شده است. همچنین نتایج این مطالعه مشخص کرد که اندازه‌گیری میزان تیوباربیتوریک اسید و بار میکروبی نمونه‌ها می‌تواند روشی مناسب و کارآمد برای

بررسی روند فساد اکسیداتیو و میکروبی فیله ماهی و تعیین زمان ماندگاری آنها باشد.

منابع

Alasalvar, C., Taylor, K., Öksüz, A., Garthwaite, T., Alexis, M., Grigorakis, K. 2001. Freshness assessment of cultured sea bream (*Sparus aurata*) by chemical, physical and sensory methods. Food Chemistry 72: 33-40.

Dekkers, E., Raghavan, S., Kristinsson, H.G., Marshall, M.R. 2011. Oxidative stability of mahi mahi red muscle dipped in tilapia protein hydrolysates. Food Chemistry 124: 640-645.

Egan, H., Krik, R.S., Sawyer, R. 1997. Pearson´s chemical Analysis of food. 9th. pp: 609-634.

Fan, W., Chi, Y., Zhang, S. 2008. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmicthys molitrix*) during storage in ice. Food Chemistry 108: 148-153.

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.

Gram, L., Huss, H. 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. International Journal of Food Microbiology 33: 121-137.

Gram, L., Dalgaard, P. 2002. Fish spoilage bacteria problems and solutions. Current Opinion in Biotechnology 13: 262-266.

Guillerm-Regost, C., Haugen, T., Nortvedt, R., Carlehöug, M., Lunestad, B.T., Kiessling, A. 2006. Quality characterization of farmed Atlantic halibut during ice storage. Journal of Food Science 71: S83-S90.

Goulas, A.E., Kontominas, M.G. 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. Food Chemistry 100: 287-296.

Huss, H.H. 1995. Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper No. 348, Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Rome, Italy.

Karakam, H., Boran, M. 1996. Quality changes in frozen whole and gutted anchovies during storage at -18°C. International Journal of Food Science and Technology 31: 527-531.

Kirk, R., Sawyer, R. 1991. Pearson's Composition and Analysis of Foods. 9th edn. Singapore: Longman Scientific and Technical. pp. 642-643.

Losada, V., Barros-Velazquez, J., Gallardo, J.M., Aubourg, S.P. 2004. Effect of advanced chilling methods on lipid damage during sardine (*Sardina pilchardus*) storage. European Journal of Lipid Science and Technology 106: 844-850.

Manju, S., Jose, L., Srinivasa Gopal, T., Ravishankar, C., Lalitha, K. 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 Chemistry 102: 27-35.

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

Sahoo, J., Kawasra, R.K., Hooda, S. 2004. Studies on α-tocopherol acetate as an antioxidant in chicken mince on its quality during refrigerated storage.

Journal of Food Science and Technology 41: 140-243.

Ozyurt, G., Polat, A., Tokur, B. 2007 Chemical and sensory changes in frozen (-18ºC) wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) captured at different fishing seasons. Journal of Food Science and Technology 42: 887-93.

Olafsdottir, G., Martinsdottir, E., Oehlenschlager, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Undeland, I. 1997. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. Trends in Food Science and Technology 8: 258-265.

Song, H., Shin, Y., Song, K. 2012. Preparation of a barley bran protein–gelatin composite film containing grapefruit seed extract and its application in salmon packaging. Journal of Food Engineering 113: 541-547.

Suvanich, V., Jahncke, M.L., Marshall, D.L. 2000. Changes selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill and frozen storage. Journal of Food Science 65: 24-29.

Yingyuad, S., Ruamsin, S., Reekprkhon, D., Douglas, S., Pongamphai, S., Siripatrawan, U. 2006. Effect of chitosan coating and vacuum packaging on the quality of refrigerated grilled pork. Packaging Technology and Science 19: 149-157.

Chemical and microbial changes in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillet during storage in refrigerator

Haniyeh Rostamzad[1*], Sayed Mehdi Mousavi[2]
1- Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran
2- Department of Veterinary and Animal Science, University of Applied Science and Technology, Fisheries Paradise, Guilan, Rasht, Iran

Received 6 October 2014; accepted 11 December 2014

Abstract
Nowadays, importance of storage and marketing of fresh fish, with regard to consumer prefer for fresh fish rather than frozen fish is increasing. So, determination of fish shelf-life, to find its storage time, due to high perishability of fish, is important. This study was aimed to investigate the process of spoiling changes and determining the shelf-life of silver carp fillet during storage period in refrigerator (at 4ºC). For this purpose, silver carp fillets were kept in refrigerator for 16 days and the changes of peroxide value, tiobarbitoric acid (TBA), total volatile bases nitrogen (TVB-N), total plate count (TVC), Psychrophilic bacteria (PTC) and sensory evaluations were assessed. The results showed that the quantity of chemical indices increased during storage period. According to these results, Silver carp fillet can be kept in refrigerator for 6 days.

Keyword: Fish fillet, Storage, Silver carp, Bacteria, Quality

*Corresponding author: honiyeh_rostamzad@yahoo.com