بررسی روند تغییرات شیمیایی، میکروبی و حسی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) جهت تعیین مدت زمان ماندگاری آن طی نگهداری در دمای یخچال (+۴ °C)

مهدی ذوالفقاری*[1]، بهاره شعبانپور[2] و ساناز فلاح‌زاده[3]

[1] دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

[2] دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

[3] دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۸/۳۰، تاریخ تصویب: ۱۳۸۹/۳/۱۷)

چکیده

امروزه اهمیت نگهداری و عرضه ماهی تازه با توجه به علاقه مصرف کنندگان به ماهی تازه نسبت به منجمد روز به روز بیشتر می‌شود. در این میان تعیین مدت زمان ماندگاری ماهی، جهت تعیین زمان مصرف آن، به دلیل فساد پذیری بالای ماهی اهمیت می‌یابد. این پژوهش به منظور بررسی روند تغییرات فسادی و تعیین زمان ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در دمای یخچال (۴°C) صورت پذیرفت. بدین منظور فیله‌های ماهی قزل‌آلا به مدت ۱۸ روز در یخچال نگهداری و تغییرات شاخص‌های اسیدهای چرب آزاد (Free Fatty Acids (FFA، شاخص تیوباربیتوریک اسید (Thiobarbituric acid (TBA ، مجموع بازهای نیتروژنی فرار (Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N، بار میکروبی کل Total Viable Count (TVC) و ارزیابی‌های حسی صورت پذیرفت. نتایج به دست آمده نشان داد مقادیر شاخص‌های شیمیایی طی نگهداری بطور معنی‌داری افزایش یافت. با توجه به استانداردهای TBA، TVB-N و TVC و همچنین ارزیابی حسی نمونه‌ها در روز ۵ از حدود استاندارد تعیین شده خارج شدند. بررسی همبستگی‌های بین شاخص‌های شیمیایی و میکروبی با قابلیت پذیرش کلی نشان داد که دقیق‌ترین شاخص‌ها جهت تعیین ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلا TVC (۶ log cfu/g) و TVB-N (حدود ۲۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم فیله) می‌باشد. طبق نتایج فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تا حدود روز ۵ در دمای یخچال قابل نگهداری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، تعیین زمان ماندگاری، ارزیابی‌های میکروبی، ارزیابی‌های شیمیایی، ارزیابی حسی، دمای یخچال

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۱۲۲- ۶۲۵۳۱۰۱ فاکس: ۰۱۲۲-۶۲۵۳۴۹۹ E-mail: zolfaghari.mz@gmail.com

مقدمه

ماهی یکی از مهمترین منابع تأمین پروتئین‌های حیوانی مورد نیاز انسان را در تمام جهان تشکیل می‌دهد. با توجه به رشد روز افزون جمعیت، توجه انسان جهت تأمین پروتئین حاصل از آبزیان، به آبزیان پرورشی معطوف شده است (FAO, 2009). یکی از مهم‌ترین و مطلوب‌ترین آبزیان پرورشی در ایران ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) می‌باشد. میزان تولید این ماهی در ایران در سال ۱۳۸۶، ۵۸۷۶۱ تن بوده که سهم استان گلستان از این تولید ۲۶۳ تن بود (Statistical Yearbook of Fisheries Organization of Iran, 2008). این ماهی علاوه بر بازارپسندی بالا با توجه به قابلیت پرورش تقریباً در اکثر نقاط ایران، جایگاه ویژه‌ای نسبت به دیگر آبزیان در سبد غذایی خانوارهای ایرانی پیدا کرده است. امروزه آن‌چه که در مورد غذاهای آبزی، مخصوصاً ماهیان پرورشی، اهمیت پیدا کرده، عرضه آنها به صورت تازه و غیر منجمد می‌باشد (Barat *et al.*, 2006). اما یکی از مهم‌ترین خصوصیات ماهی، مخصوصاً ماهی قزل‌آلا، مدت زمان ماندگاری کوتاه آن می‌باشد، به طوری که مدت زمان ماندگاری آن، طی نگهداری در یخ ۹ تا ۱۱ روز گزارش شده است (Rezaei and Hosseini, 2008). ماهی شدیداً مستعد فساد است که می‌تواند در اثر واکنش‌های شیمیایی و یا رشد میکروبی در گوشت آن باشد (Gram and Dalgard, 2002). به طوری که تقریباً سالانه ٪۲۵ تولیدات اولیه آبزیان، بیشتر به خاطر تخریب شیمیایی و فساد میکروبی از دست می‌رود (Mahmoud *et al.*, 2006). ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به طور طبیعی دارای میزان زیادی اسیدهای چرب غیراشباع (HUFA[1]) همچون ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA[2]) و دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA[3]) می‌باشد که این اسیدهای چرب فواید زیادی برای سلامتی انسان دارند (Steffen, 1997). با این حال، وجود مقدار زیادی از این اسیدهای چرب، ماهی قزل‌آلا را مخصوصاً برای فساد اکسیداتیو مستعد ساخته است (Yildiz *et al.*, 2004). از دیگر تغییرات بیوشیمیایی که سبب از دست رفتن ارزش تغذیه‌ای چربی ماهی و همچنین ایجاد طعم نامطلوب در ماهی در حال فساد می‌گردد، افزایش اسیدهای چرب آزاد است که در اثر فساد هیدرولیتیک ماهی به وجود می‌آیند. این امر نتیجه هیدرولیز آنزیمی چربی‌های استریفیه شده است که با توجه به منبع تولید اسیدهای چرب آزاد می‌تواند به طور مستقیم در ایجاد طعم نامناسب، تخریب برخی ویتامین‌ها و آمینواسیدها، تغییر در بافت و تغییر در ظرفیت نگهداری آب گوشت نقش داشته باشد (Bremner, 2002). اما از مهم‌ترین دلایل فساد ماهی طی نگهداری، رشد میکروارگانیسم‌ها است، به طوری که گاهی ممکن است بار میکروبی گوشت ماهی طی نگهداری به شکل خطرناکی افزایش یابد (Arashisar *et al.*, 2004). مدت زمان پس از صید و دمای نگهداری ماهی تا زمان مصرف از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر کیفیت ماهی پس از صید آن می‌باشند (Rezaei *et al.*, 2008). از آنجا که نگهداری و انتقال ماهی قزل‌آلا تا زمان مصرف به صورت غیر منجمد و در دمای پایین می‌باشد، تعیین چگونگی تغییر کیفیت این ماهی طی نگهداری آن، جهت تعیین مدت زمان بهینه نگهداری آن با توجه به استانداردهای موجود، حائز اهمیت است. بنابراین هدف از انجام این پژوهش بررسی روند تغییرات فساد شیمیایی و میکروبی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جهت تعیین مدت زمان ماندگاری بهینه آن طی نگهداری در دمای یخچال می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- تهیه ماهی و عمل‌آوری آن

ماهی قزل‌آلای مورد نیاز از مزارع پرورش ماهیان سردابی استان گلستان در اسفندماه سال ۱۳۸۶ تهیه شده و طی مدت ۴۵ دقیقه همراه یخ به محل آزمایشگاه فرآوری شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردید. پس از وزن کردن ماهی سر و باله‌ها

1- High unsaturated fatty acids
2- Eicosapentenoic acid
3- Decosahexanoic acid

جدا و شکم ماهی خالی گردید و با آب معمولی شسته شده و به شکل پروانه‌ای فیله شدند. وزن ماهی های استفاده شده در این آزمایش به طور متوسط ۳۰۰ گرم بود و در یخچال (۴±۱°C، SD ± میانگین) به مدت ۱۸ روز نگه‌داری گردید. در این آزمایش ۳۶ عدد ماهی مورد استفاده قرار گرفت. که در هر دوره نمونه‌گیری ۶ عدد ماهی در قالب ۳ تکرار مورد آزمایش قرار می‌گرفت.

- آزمایشات شیمیایی

تعیین ترکیب تقریبی فیله ماهی

جهت تعیین ترکیب تقریبی فیله ابتدا کل فیله با استفاده از دستگاه خردکن خانگی (مولینکس، مدل ۳۲۰، ۶۰-۵۰ هرتز، ۷۰۰ وات، اسپانیا) چرخ شده و کاملا همگن گردید. برای تعیین خاکستر از خاکستر کردن در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰°C (AOAC 2005; 938, 08) و به منظور تعیین رطوبت از روش خشک کردن در آون (AOAC; 950, 46) استفاده گردید. اندازه‌گیری پروتئین کل به روش کجلدال (James, 1995) با استفاده از دستگاه Kjeldtherm مدل Vap 40 ساخت شرکت Gerhardt آلمان انجام شد. میزان نیتروژن به دست آمده پس از ضرب در عدد ۶/۲۵ به عنوان پروتئین در نظر گرفته شد. سنجش چربی به روش سوکسله (James, 1995) با استفاده از حلال اتر پترولیوم با استفاده از دستگاه Soxtec مدل SE 416 ساخت شرکت Gerhardt آلمان صورت پذیرفت. این آزمایشات فقط در روز صفر و روی سه نمونه ماهی و هر کدام با سه تکرار، به منظور مشخص شدن ترکیب شیمیایی تقریبی ماهی، انجام پذیرفت. بقیه آزمایشات (شیمیایی، میکروبی و حسی) در روزهای ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ انجام پذیرفت.

سنجش هیدرولیز چربی‌ها (FFA)

جهت تعیین هیدرولیز چربی‌ها از روش Egan *et al.* (1997) استفاده شد. ابتدا ۷۵ گرم نمونه با ۱۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم به کمک همزن کاملاً مخلوط و با استفاده از کاغذ صافی فیلتر شد. محلول صاف شده از کاغذ صافی دیگری که تا نیمه از سولفات سدیم خشک پر شده بود، عبور داده شد. این محلول برای مراحل دیگر حفظ گردید. ۱۰ میلی‌لیتر از محلول بدست آمده (در ۳ تکرار)، در یک پتری دیش کاملاً خشک و وزن شده (با دقت هزارم) ریخته شده و تا تبخیر کامل کلروفرم، زیر هود قرار داده شد. پس از آن به مدت ۱ ساعت در آون با دمای ۱۰۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا خشک شود. پس از سرد و توزین پتری دیش وزن چربی بدست آمده برای محاسبه FFA مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین FFA ابتدا ۲۵ میلی‌لیتر الکل ٪۹۶ خنثی شده (با چند قطره سود ۰/۱ نرمال و افزودن چند قطره محلول فنل فتالئین ٪۱) به ۲۵ میلی‌لیتر استخراجی کلروفرم (از فیله‌ی چرخ شده) اضافه شد و با سود ۰/۱ نرمال تیتر گردید. در زمان تیتراسیون محلول به طور مداوم تکان داده می‌شد و تا ظهور نقطه‌ی ختم عمل (ظهور رنگ صورتی) تیتراسیون ادامه یافت. نتایج به صورت درصد اولئیک اسید (رابطه ۱) در چربی کل بیان گردید.

اسید اولئیک gr ۰/۰۲۸۲= NaOH (۰/۱ N) 1ml

۱) وزن نمونه چربی×۱۰۰۰/ ۱۰۰×۲۸/۲×

حجم سود مصرفی= (درصد اولئیک اسید) FFA

سنجش تیوباربیتوریک اسید (TBA)

برای اندازه‌گیری شاخص تیوباربیتوریک اسید از روش Egan *et al.* (1997) استفاده شد. این روش بر اساس مقادیر اسپکتروفتومتری (مدل HACH, DR/2000, USA) کمپلکس صورتی حاصل از واکنش یک مولکول مالون آلدهید (MDA)[1] حاصل از تقطیر، با دو ملکول تیوباربیتوریک اسید (TBA) اضافه شده به محلول حاصل از تقطیر، صورت پذیرفت. نتایج بر اساس میلی گرم مالونالدهید در کیلوگرم نمونه بیان گردید.

1- Malonaldehid

سنجش مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N[1])

تعیین TVB-N به روش ذکر شده توسط Parvaneh (1998) انجام شد. ۱۰ گرم نمونه چرخ شده گوشت ماهی در بالن حاوی ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و سنگ جوش قرار داده شد بخارات تقطیر شده وارد محلول ۲ درصد اسید بوریک حاوی چند قطره معرف (متیل رد و بروموکرزول سبز) شده و در پایان توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتر شد. مقدار مواد ازته فرار طبق رابطه ۲ محاسبه گردید.

(۲

میزان TVB-N= (میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم فیله)

وزن نمونه / ۱۰۰ × ۱/۴ × اسید سولفوریک مصرفی

- تعیین بار میکروبی کل (TVC)

تعیین بار میکروبی بر طبق روش Siskos (2007) صورت پذیرفت. بدین منظور ۱۰ گرم نمونه با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر به کیسه استریل استومیکر منتقل گردید و توسط دستگاه استومیکر (استومیکر ۴۰۰ ساخت شرکت Seward انگلیس) طی مدت ۲ دقیقه به صورت همژن درآمد. سپس نمونه تا رقت 10^{-5} گرم در میلی‌لیتر رقیق گردید. ۱ میلی‌لیتر از هر رقت در پلیت قرار داده شد و محیط کشت PCA[2] (پلیت کانت آگار) (شرکت مرک آلمان) به آن افزوده شد. هر پلیت به منظور توزیع همگن نمونه به دقت تکان داده شد بعد از چند دقیقه همه پلیت‌ها وارونه شده و در انکوباتور به مدت ۴۸ ساعت با دمای ۳۷ درجه قرار داده شدند. بعد از ۴۸ ساعت همه کلونی‌ها شمارش و به صورت cfu/gr محاسبه شدند. در همه‌ی مراحل این آزمایش وسایل مورد استفاده، قبل از به کارگیری، با استفاده از شعله و الکل ۷۰٪ استریل می‌شدند.

- ارزیابی‌های حسی

جهت انجام ارزیابی حسی فیله های ماهی قزل‌آلا در طول دوره نگهداری از روش Goulas and Kontominas (2007) استفاده گردید. بدین منظور از یک گروه پنل ۷ نفره نیمه آموزش دیده استفاده شد. ارزیابی حسی در مورد رنگ، بو، بافت و قابلیت پذیرش کلی انجام گرفت. همچنین نمونه‌های فیله تازه ماهی قزل‌آلا در ۲۰°C- ذخیره گردید و در زمان انجام ارزیابی حسی (پس از انجمادزدایی در دمای یخچال به مدت ۳ ساعت) به عنوان معیار بالاترین امتیاز در نظر گرفته شد. ارزیابی حسی تحت شرایط مشابه نور و دمایی انجام گرفت. جهت امتیازدهی از یک مقیاس ۰ تا ۱۰ استفاده شد به نحوی که ۱۰ بیشترین امتیاز و ۰ کمترین امتیاز را داشت محصول با امتیاز کمتر از ۶ به عنوان محصول غیرقابل پذیرش تعریف گردید.

- آنالیز آماری

نرمال بودن داده‌های به دست آمده ابتدا با آزمون کولموگروف- اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفته و سپس داده‌ها مورد آنالیز واریانس یک‌طرفه قرار گرفتند. جهت مقایسه میانگین‌ها در هر دوره نمونه‌گیری از آزمون دانکن استفاده گردید. نتایج ارزیابی‌های حسی با استفاده از آماره Kruskal-Wallis و آزمون Mann-Whitney U مورد بررسی آماری قرار گرفتند. اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵٪ مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی همبستگی بین شاخص‌های مورد بررسی از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 13 انجام شد.

نتایج

- ترکیب تقریبی فیله

ترکیب تقریبی فیله‌های قزل‌آلای مورد استفاده در این پژوهش در جدول ۱ ارائه شده است.

1- Total volatile basic nitrogen
2- Plate count agar

جدول ۱- تعیین ترکیب تقریبی و میزان نمک* فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

ترکیب	میانگین (درصد در وزن تر)
پروتئین	۱۹/۱±۰/۹۴
چربی	۵/۴±۰/۷۶
خاکستر	۱/۵±۰/۴۶
رطوبت	۷۱/۳±۱/۴

* مقادیر داده شده حاصل میانگین سه تکرار می‌باشد.

- اسیدهای چرب آزاد

نتایج میزان FFA نمونه‌ها که شاخص میزان هیدرولیز چربی‌های ماهی می‌باشد در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد طی نگهداری روند تغییر میزان FFA نمونه‌ها افزایشی بوده است. نمونه‌ها در همه‌ی دوره‌های نمونه‌برداری دارای مقادیر FFA متفاوتی بودند ($P<۰/۰۱$). البته میزان FFA در روز ۱۲ و ۱۵ نگهداری معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$).

- تیوباربیتوریک اسید

بررسی تغییرات میزان شاخص TBA طی نگهداری نمونه‌ها نشان داد که میزان TBA طی نگهداری تا حد مشخصی ۱۲ افزایش یافته و پس از آن کاهش یافت ($P<۰/۰۱$) و دیگر تغییری نکرد ($P>۰/۰۵$). میزان TBA در روز ۹، ۱۵ و ۱۸ در نمونه‌های فیله تفاوت معنی‌داری تفاوت معنی‌داری نداشت ($P>۰/۰۵$). نتایج تغییرات میزان TBA در شکل ۲ نشان داده شده است.

- مجموع بازهای نیتروژنی فرار

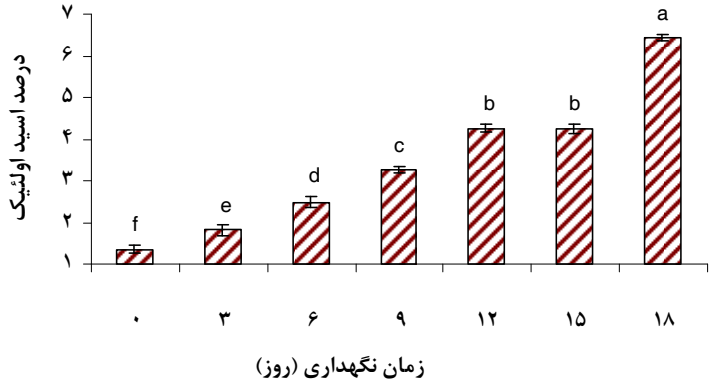
نتایج بررسی تغییرات میزان TVB-N نمونه‌ها در شکل ۳ نشان داده شده است. طبق این نتایج روند تغییرات میزان TVB-N نمونه‌ها افزایشی بود. میزان TVB-N در همه‌ی دوره‌های نمونه‌برداری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۱$). میزان افزایش TVB-N از روز ۶ به بعد شدت بیشتری داشت.

- بار میکروبی کل

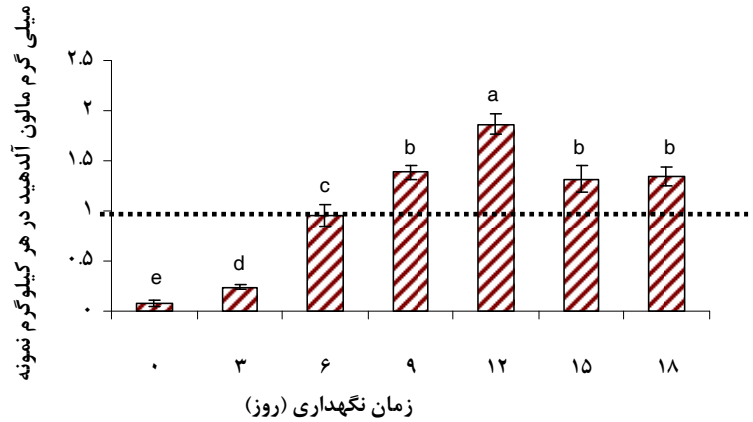
نتایج بررسی تغییرات TVC نمونه‌های مورد بررسی در شکل ۴ نشان داده شده است. طبق این نتایج تغییرات TVC در روزهای اولیه کند بود ولی از روز حدود ۴ به بعد به طور معنی‌داری افزایش یافت. اما این افزایش تا روز ۱۲ ادامه داشته و از آن به بعد تغییر معنی‌داری در میزان TVC ایجاد نشد.

- ارزیابی حسی نمونه‌ها

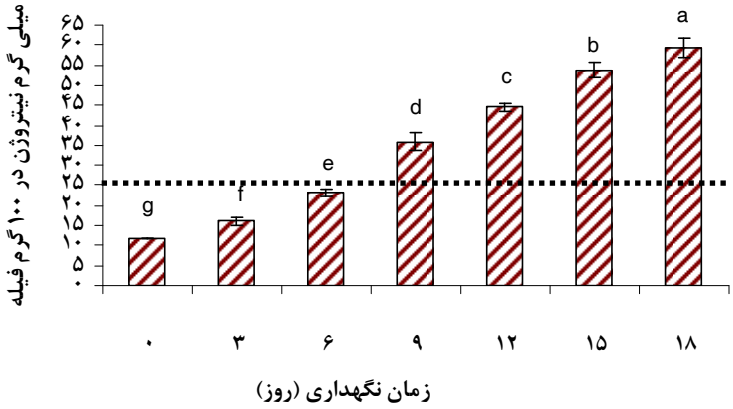
ارزیابی حسی نمونه‌ها با سه مشخصه‌ی بو، رنگ و بافت فیله‌ی ماهی قزل‌آلا صورت پذیرفت. طبق نتایج به دست آمده امتیاز بوی فیله در روز ۶ به امتیاز محدود کننده ۶ رسید. در حالی که امتیاز رنگ در روز ۸ و امتیاز بافت در حدود روز ۵ به امتیاز محدود کننده برای مصرف رسیدند. نتایج ارزیابی حسی نمونه‌ها در شکل‌های ۵، ۶، ۷ و ۸ نشان داده شده‌اند.



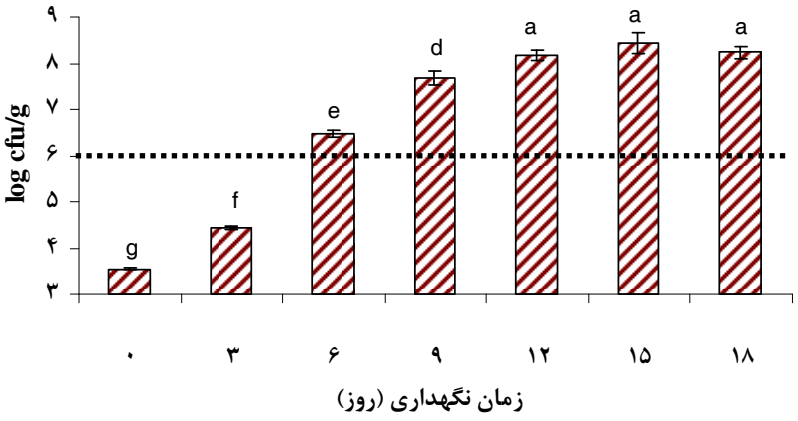
شکل ۱- تغییرات (SD ± میانگین) میزان اسیدهای چرب آزاد در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در دمای یخچال (۴ °C). حروف متفاوت بالای هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بین آنها می‌باشد.



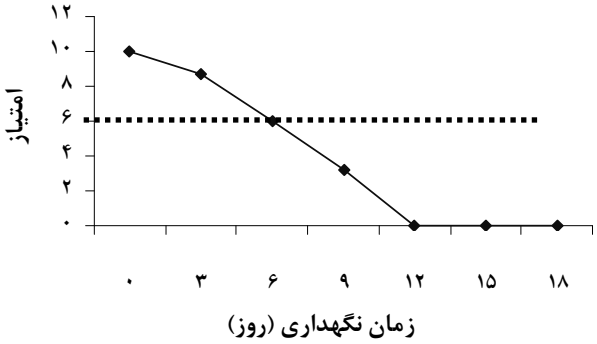
شکل ۲- تغییرات (SD ± میانگین) میزان تیوباربیتوریک اسید در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در دمای یخچال (۴ °C). حروف متفاوت بالای هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بین آنها می‌باشد. خط چین در شکل نشان‌دهنده میزان قابل پذیرش شاخص تیوباربیتوریک اسید است.



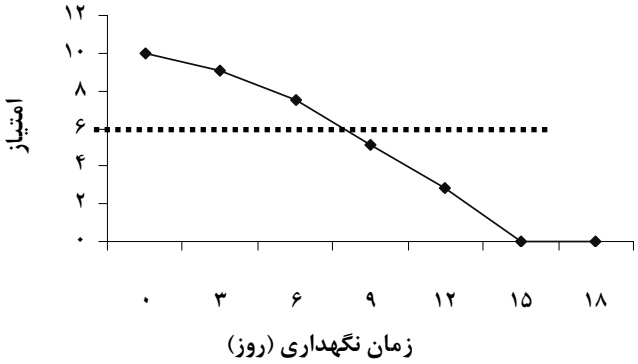
شکل ۳- تغییرات (SD ± میانگین) میزان مجموع بازهای نیتروژنی فرار در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در دمای یخچال (۴°C). حروف متفاوت بالای هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بین آنها می‌باشد. خط-چین در شکل نشان‌دهنده میزان مقدار محدود کننده این فاکتور می‌باشد.



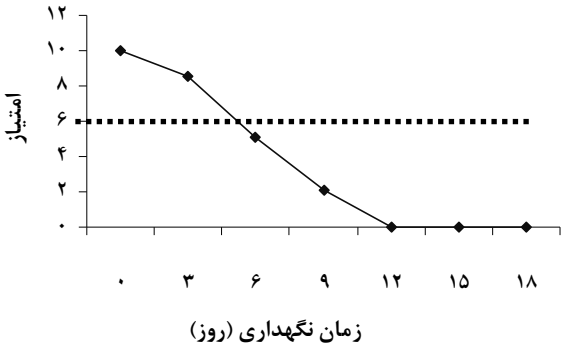
شکل ۴- تغییرات (SD ± میانگین) میزان بار میکروبی کل در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در دمای یخچال (۴°C). حروف متفاوت بالای هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بین آنها می‌باشد. خط‌چین در شکل نشان‌دهنده میزان مقدار محدود کننده این فاکتور می‌باشد.



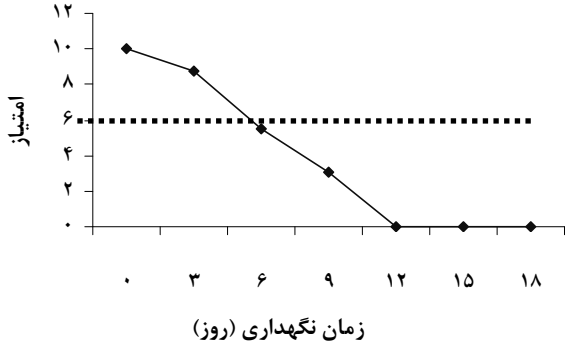
شکل ۵- نمودار روند تغییر امتیاز بوی فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در دمای یخچال (۴°C). خط‌چین در شکل نشان‌دهنده میزان مقدار محدود کننده این ویژگی می‌باشد.



شکل ۶- نمودار روند تغییر امتیاز رنگ فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در دمای یخچال (۴°C). خط‌چین در شکل نشان‌دهنده میزان مقدار محدود کننده این ویژگی می‌باشد.



شکل ۷- نمودار روند تغییر امتیاز بافت فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در دمای یخچال (۴°C). خط‌چین در شکل نشان‌دهنده میزان مقدار محدود کننده این ویژگی می‌باشد.



شکل ۸- نمودار روند تغییر قابلیت پذیرش کلی فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در دمای یخچال (۴°C). خط‌چین در شکل نشان‌دهنده میزان مقدار محدود کننده این ویژگی می‌باشد.

نتایج بررسی میزان همبستگی بین شاخص‌های شیمیایی و میکروبی با قابلیت پذیرش کلی فیله ماهی قزل‌آلا در جدول ۲ نشان داده شده است. طبق این نتایج بالاترین همبستگی مربوط به TVC و در درجه بعدی مربوط به TVB-N می‌باشد.

جدول ۲- میزان همبستگی بین شاخص‌های شیمیایی، میکروبی و قابلیت پذیرش کلی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در یخچال (۴°C)

	TVB-N	*TBA*	*FFA*	*TVC*
TVB-N				
TBA	۰/۸۱ **			
FFA	۰/۹۵ **	۰/۷۵ **		
TVC	۰/۹۱ **	۰/۹۴ **	۰/۸۴ **	
قابلیت پذیرش کلی	۰/۹۶ **	۰/۹۳ **	-۰/۸۹ **	۰/۹۸ **

** معنی‌داری این همبستگی را در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

روند تغییر میزان اسیدهای چرب آزاد در فیله ماهی قزلا آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال به صورت افزایشی بود. میزان FFA در فیله اولیه قزل‌آلای رنگین‌کمان ۱/۳۵ درصد اسید اولئیک بود که با نتایج Rezaei and Hoseeini (2008) برای ماهی قزل‌آلا هم‌خوانی داشت. طی نگهداری این ماهی در مطالعه حاضر میزان FFA افزایش یافت که روند با نتایج Rezaei *et al.* (2008) برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگهداری شده در یخ همخوانی دارد. با توجه به این نکته که ماهی قزل‌آلا جزء ماهیان با چربی متوسط تا چرب طبقه‌بندی می‌شود، مقادیر FFA در این پژوهش به طور کلی کمتر از مقادیر اعلام شده برای ماهیان کم چربی می‌باشد (Aubourg and Medina, 1999). آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز در گوشت ماهی، هیدرولیز استرهای اسید چرب گلیسرول کاتالیز می‌کنند که منتج به تشکیل اسید چرب آزاد می‌گردد (Bremner, 2002). FFA به خودی خود سبب کاهش ارزش تغذیه‌ای گوشت نمی‌شود (Lugasi *et al.*, 2007). اما FFA به طور مستقیم اثر منفی بر طعم گوشت ماهی دارد و همچنین عنوان می‌شود که FFA سبب تشدید پدیده اکسیداسیون چربی‌ها در ماهی می‌شود (Abourg, 2001). البته اگر چه رابطه‌ی بین لیپولیزیز و اکسیداسیون لیپیدها اندکی مورد مناقشه است، اما به طور کلی این امر که FFAها سریعتر از اسیدهای چرب استریفیه شده اکسیده می‌شوند مخصوصاً وقتی آنزیم‌هایی نظیر لیپوکسیژنازها در بافت‌های نپخته وجود داشته باشد. از طرفی واکنش FFAها با پروتئین‌های گوشت سبب سفتی بافت و کاهش قابلیت پذیرش آن از طرف مصرف کننده می‌گردد (Losada *et al.*, 2004).

نتایج این پژوهش نشان داد که طی زمان نگهداری فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان میزان شاخص TBA تا حدود ۲ میلی‌گرم مالون‌آلدهید در کیلوگرم نمونه افزایش یافت. اکسیداسیون چربی‌ها مربوط به اکسید شدن اسیدهای چرب چندغیراشباعی در عضلات ماهی می‌باشد که منجر به ایجاد بو و طعم نامطلوب در ماهی و در نتیجه کوتاه شدن زمان ماندگاری آن می‌گردد (Ramanathan and Das 1992). میزان محدود کننده این شاخص، با توجه به عدم روند افزایشی آن تا آخر دوره، با قطعیت بیان نشده است اما میزان ۱ تا ۲ میلی‌گرم مقدار محدودکننده این شاخص بیان شده است (Goulas and Kontominas 2007). محصولات اولیه اکسیداسیون چربی‌ها هیدروپروکسیدها هستند که ترکیباتی ناپایدارند و البته نقشی در طعم نامطلوب ماهی ندارند. هیدروپروکسیدها پس از شکست، موادی شامل آلدهیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، هیدروکربن‌ها، استرها، فورآنها و لاکتون‌ها را می‌دهند. آزمایشی که به طور گسترده جهت اندازه‌گیری مقدار فساد اکسایشی چربی‌ها به کار گرفته می‌شود، شاخص TBA است (Chouliara *et al.*, 2004). شاخص TBA مربوط به اندازه‌گیری میزان مالون‌آلدهید است که محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب چندغیراشباع است (Bremner, 2002).

سنجش این شاخص بر اساس واکنش بین تیوباربیتوریک اسید و آلدهیدها می‌باشد، که منجر به تشکیل آلکآنهای رنگی شده که جذبشان توسط اسپکتروفتومتر می‌تواند مورد سنجش قرار گیرد. البته افزایش میزان TBA تا روز ۱۲ اتفاق افتاد و از آن به بعد یک کاهش در میزان TBA مشاهده گردید. مطالعات قبلی انجام شده عنوان کرده‌اند که میزان TBA طی دوره نگهداری پس از مدتی کاهش می‌یابد (Jeevanandam *et al.*, 2001; Goulas and Kontominas 2007). این امر به خاطر واکنش بین مالون‌آلدهید و اسیدهای آمینه ماهی و تشکیل گروه‌های کربونیل، یا واکنش با پروتئین میوزین می‌باشد (Silva and Ammerman 1993). میزان محدودکننده شاخص TBA، با توجه به عدم روند افزایشی آن تا آخر دوره، با قطعیت بیان نشده است، اما مقدار این شاخص در حدود ۱-۲ میلی‌گرم مالون‌آلدهید در کیلوگرم نمونه، به عنوان حد محدودکننده قابلیت پذیرش برای مصرف کننده، به دلیل بو و طعم نامطلوب آن می‌باشد (Goulas and Kontominas, 2007) که در

این پژوهش، نمونه‌ها در حدود روز ۶ به این محدوده رسیدند. البته کاهش میزان این شاخص پس از رسیدن به نقطه‌ی بیشترین مقدار خود، قضاوت بر اساس این شاخص را مشکل می‌کند.

مجموع بازهای نیتروژنی فرار یک اصطلاح عمومی است که شامل تری متیل آمین، دی متیل آمین، آمونیاک و دیگر ترکیبات بازی نیتروژنی که با فساد غذاهای دریایی همراه است می‌گردد (Huss, 1995). تغییرات میزان TVB-N طی نگهداری فیله‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان روندی افزایشی داشت. به طوری که افزایش میزان این شاخص در روزهای ابتدایی روندی کند و از روز ۶ به بعد به طور شدیدی افزایش یافت. این نتایج یا نتایج سایر محققین در این زمینه هم‌خوانی دارد (Arashisar *et al*., 2004). این امر به خاطر عامل تولید کننده TVB-N، یعنی باکتری‌ها بود. در روزهای اولیه جمعیت باکتری‌های مختلف در فاز پایه[1] قرار دارند و با سرعت کمی افزایش می‌یابند و پس از این مرحله به سرعت افزایش می‌یابند (Gram and Huss, 1996)، بنابراین TVB-N پس از روزهای اولیه به سرعت افزایش یافت. ایجاد TVB-N در ماده غذایی سبب ایجاد بوی نامطبوع فساد می‌گردد. بنابراین افزایش آن با کاهش میزان قابلیت پذیرش آن توسط مصرف کننده و یک عامل محدود کننده‌ی ماندگاری ماهی می‌باشد. حد اکثر مقدار قابل قبول TVB-N برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تا حدود ۲۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم فیله گزارش شده است (Arashisar *et al*., 2004). بنابراین نمونه‌های ماهی در این پژوهش بر اساس استاندارد میزان TVB-N (۲۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) تا روز ۶ قابلیت مصرف داشتند، که در این روز میزان TVB-N به ۲۳/۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم فیله رسید.

رشد میکروب‌ها عامل اصلی فساد مواد غذایی می‌باشد. مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های عامل فساد در ماهی باکتری‌های گرم منفی، گونه‌های سودوموناس، می‌باشند. میزان بار میکروبی اولیه در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، در این پژوهش حدود ۳/۵۴ log cfu/g تعیین گردید و در نهایت به ۸/۲ log cfu/g رسید که در این حالت فیله ماهی کاملاً فاسد شده بود. طبق حد استاندارد TVC یعنی ۶ log cfu/g (Venugopal, 2006)، فیله‌های ماهی قزل‌آلا در این پژوهش در حدود روز ۶ به حداکثر میزان TVC مجاز رسیدند. البته از روز ۱۲ تا آخر دوره میزان TVC تغییر معنی‌داری پیدا نکرد. این الگوی رشد میکروبی مطابق با الگوی رشد دیده شده در فیله سایر ماهیان همچون فیله کپور طی نگهداری در یخچال (Mahmoud *et al*., 2006)، قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخ (Rezaei *et al*., 2008) و جمعیت‌های مختلف باکتریایی فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در دمای ۴°C (Arashisar *et al*., 2004) می‌باشد. جمعیت میکروبی گوشت ماهی به دلیل عوامل محدود کننده حاصل از رشد خودشان بیشتر از حدود ۸ log cfu/g افزایش نمی‌یابد.

بررسی نتایج حاصل از ارزیابی‌های حسی نشان داد که نمونه‌های مورد بررسی در روز حدود ۶، ۷ و ۵ از نظر بو، رنگ و بافت فیله به امتیاز محدود کننده قابلیت پذیرش فیله از نظر مصرف‌کننده رسیدند. این نمونه‌ها در روز ۵ به امتیاز محدود کننده قابلیت پذیرش کلی رسیدند. بوی فیله و میزان TVB-N در روز ۶ به حد نهایی مجاز رسیدند که نشان دهنده تأثیرگذاری بالای میزان TVB-N بر بوی فیله این ماهی می‌باشد. بین قابلیت پذیرش کلی و آنالیزهای شیمیایی و میکروبی همبستگی بالایی وجود داشت. بالاترین همبستگی در این پژوهش بین TVC و قابلیت پذیرش فیله محاسبه گردید. البته سایر فاکتورها نیز همبستگی بالا و معنی‌داری را با قابلیت پذیرش فیله داشتند که این به دلیل سرعت بالای فساد و تغییر شاخص‌های آن در فیله قزل‌آلای در شرایط یخچال می‌باشد. اما بالاترین همبستگی مربوط به TVC و سپس TVB-N بود که نشان‌دهنده دقت بالای این فاکتورها جهت تعیین ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد.

1- Lag phase

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش مدت زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در دمای یخچال (۴ °C) حدود ۶ روز تعیین شد. همچنین نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر نشان داد که یکی از شاخص‌های مناسب جهت تعیین زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بار میکروبی کل فیله می‌باشد.

منابع

- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.
- Arlington, VA: Author.Arashisar, S., O. Hisar., M. Kaya and T. Yanik, 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorynchus mykiss*) fillets. Journal of Food Microbiology, 97: 209– 214.
- Aubourg, S. 2001. Fluorescence study of the proxidant activity of free fatty acids on marine lipids. Journal of the Science of Food and Agriculture, 81: 385–390.
- Aubourg, S. and I. Medina, 1999. Influence of storage time and temperature on lipid deterioration during cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) frozen storage. Journal of the Science of Food and Agriculture, 79: 1943–1948.
- Barat, J.M., L. Gallart-Jornet., A. Andres., L. Akse., M. Carlehog and O.T. Skjerdal, 2006. Influence of cod freshness on the salting, drying and desalting stages. Journal of Food engineering, 73: 9-19.
- Bremner, H.A. 2002. Safety and quality issues in fish processing. CRC Press, 519 p.
- Chouliara, I., I.N. Savvaidisa., N. Panagiotakisb and M.G. Kontominasa, 2004. Preservation of salted, vacuum-packaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. Journal of Food Microbiology, 21: 351–359.
- Egan, H., R.S. Kirk and R. Sawyer, 1997. Pearson's chemical Analysis of Foods. 9th edition. Churchill Livingtone, Edingburgh, Scotland, UK. pp 609-643.
- Goulas, A.E., and M.G. Kontominas, 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.
- Gram, L., and P. Dalgaard, 2002. Fish spoilage bacteria problems and solutions. Current Opinion in Biotechnology, 13: 262–266.
- Gram, L. and H. Huss, 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. International Journal of Food Microbiology, 33: 121–137.
- 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.
- James, C.S. 1995. Analitical chemistry of foods. Blackie Academic and Professional Press, pp 90-92.
- Jeevanandam, K., A. Kakatkar., S.N. Doke., V. Bongiwar and V. Venugopal, 2001. Influence of salting and gamma irradiation on the shelf-life extension of threadfin bream in ice. Food Research International, 34: 739–746.
- Losada, V., J. Barrose-Velazquez., J.M. Gallardo and S.P. Aubourg, 2004. Effect of advanced chilling methods on lipid damage during sardine (*Sardina pilchardus*) storage. Journal of Food Science, 63: 40-47.
- Lugasi, A., V. Losada., J. Hovari., V. Lebovics., I. Jakoczi and S. Aubourg, 2007. Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. Food Science and Technology, 40: 930–936.
- Mahmouda, B.S.M., K. Yamazaki., K. Miyashita, I.S. Shin and T. Suzuki, 2006. A new technology for fish preservation by combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds. Journal of Food Chemistry, 99: 656–662.
- Ozogul, Y., Ozyurt, G., Ozogul, F., Kuley, E., Polat, A. 2005. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. Food Chemistry, 92:745-51.
- Parvaneh, V. 1998. Quality control and the chemical analysis of food. Tehran University Press, 325 p

- Ramanathan, L. and N.P. Das, 1992. Studies on the control of lipid oxidation in ground fish by some polyphenolic natural products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40: 17–21.
- Rezaei, M., and S.F. Hosseini, 2008. Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. Journal of Food science, 73: 93-96.
- Rezaei, M., S.F. Hosseini., H. Ershad Langrudi., R. Safari and S.V. Hosseini, 2008. Effect of delayed icing on quality changes of iced rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). Food Chemistry, 106: 1161–1165.
- Silva, J.L., and G.R. Ammerman, 1993. Composition, Lipid changes, and sensory evaluation of two sizes of channel catfish during frozen storage. Journal of Applied Aquaculture. 2(2): 39-49.
- Siskos, L., A. Zotos., S. Melidou and R. Tsikritzi, 2007. The effect of liquid smoking of fillets of trout (*Salmo gairdnerii*) on sensory, microbiological and chemical changes during chilled storage. Journal of Food chemistry, 101: 458-464.
- Statistical Yearbook of Fisheries Organization of Iran 2000- 2007, 2008. www.shilat.com
- Steffens, W. 1997. Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. Aquaculture, 151: 97-119.
- Venugopal, V. 2006. Sea food processing, adding value through quick freezing, retortable packaging cook- chilling. Taylor and Francis Group Press. NewYork, USA, 485 p.
- Yildiz, M., E, Sener and H, Gun, 2006. Effect of refrigerated storage on fillet lipid quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* w.) fed a diet containing different levels of dl α-tocopherol acetate. Turk Journal of Veterinary Animal Science. 30: 143-150.

Study of Trend of Chemical and Microbial Changes of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) to Determine the its Optimum Shelf-Life During Storage in Refrigerator Temperature (4°C)

M. Zolfaghari[*1], B. Shabanpour[2] and S. Falahzadeh[3]
[1] M.Sc Graduated, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, I.R. Iran
[2] Associate Professor of the Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, I.R. Iran
[3] a M.Sc Student, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, I.R. Iran
(Received: 21 November 2009, Accepted: 7 Jun 2010)

Abstract
Nowadays, importance of keeping and presentation of fresh fish, with regard to consumer preference for fresh fish rather than frozen fish, is increasing. So, determination of fish shelf-life, to find its consumption time, due to high perishability of fish, is important. This study was aimed to investigate the process of spoil changes and determining the shelf-life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet during storage period in refrigerator (4°C). For this purpose, rainbow trout fillets were kept in refrigerator for 18 days and the changes of free fatty acids (FFA), tiobarbitoric acid (TBA), total volatile bases nitrogen (TVB-N), total viable count (TVC) and sensory evaluations were assessed. The results showed that the quantity of chemical indices increased during storage period. With regard to the standard quantity of TBA, TVB-N and TVC and also sensory evaluation of panel group, the samples were out of the specified standard on 5 day. Considering of correlation between chemical and microbial indices with total acceptability showed that the most precise indices for shelf-life determination of rainbow trout fillet is TVC (6 log cfu/g) indicator and TVB-N (about 25 mg in 100 g fillet). Accordingly, rainbow trout fillet can be kept in refrigerator for 5 days.

Keywords: Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Shelf-life determination, Microbial analysis, Chemical analysis, Sensory assessments refrigerator temperature

*Corresponding author: Tel: +98 122 6253101 ,Fax: +98 122 6253499 , E-mail: zolfaghari.mz@gmail.com