DOI: 10.22034/vj.2017.109171.1259
شماره ۱۱۷ زمستان ۱۳۹۶
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

تغییرات شیمیایی، میکروبی و حسی ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) کامل و شکم خالی طی نگهداری در یخ

• **آی ناز خدانظری (نویسنده مسئول)**
استادیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
• **پرستو پورعاشوری**
استادیار، گروه شیلات، دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
تاریخ دریافت:۲۹-۱۰-۱۳۹۵ تاریخ پذیرش:۲۴-۱۲-۱۳۹۵
Email: khodanazary@yahoo.com

چکیده

تاثیر تخلیه امعاء و احشا بر خواص میکروبی، شیمیایی و حسی ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) ذخیره شده در یخ مورد مطالعه قرار گرفت. میزان بار باکتریایی سرمادوست، باکتری انتروباکتریاسه، باکتری اسید لاکتیک و باکتری‌های تولیدکننده H_2S ماهی شوریده شکم خالی بیشتر از ماهی کامل طی نگهداری در یخ بود. اگر چه، میزان تیوباربیتوریک اسید، اسیدهای چرب آزاد و بازهای ازته فرار ماهی کامل بیشتر از ماهی شکم خالی بود. pH ماهی شوریده کامل و شکم خالی طی دوره نگهداری در یخ تفاوت معنی‌داری نشان نداد. میزان تری‌متیل‌آمین در ماهی شوریده کامل و شکم خالی افزایش یافت، در روز ۱۲ میزان نهایی به ترتیب ۱۶/۰۰ میلی‌گرم تری‌متیل‌آمین در ۱۰۰ گرم و ۱۹/۲۷ میلی گرم تری‌متیل‌آمین در ۱۰۰ گرم رسید. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که تخلیه امعاء و احشا کیفیت حسی ماهی را بهبود می‌دهد ($p<0/05$). آنالیزهای میکروبی نشان داد که میزان بار باکتری سرمادوست، انتروباکتریاسه، باکتری اسید لاکتیک و باکتری‌های تولیدکننده H_2S در ماهی شکم خالی بیشتر بود.

کلمات کلیدی: ماهی شوریده، ماهی کامل، ماهی شکم خالی،تغییرات شیمیایی، تغییرات میکروبی، تغییرات حسی

Veterinary Researches & Biological Products No 117 pp: 155-167

Chemical, microbiological and sensory changes in whole and gutted tigertooth croaker (*Otolithes ruber*) during ice storage

By: Khodanazary, A., (Corresponding Author), Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Fisheries, Khorramshahr. Iran. and Pourashouri, P., Assistant Professor, Department of Seafood Processing, Faculty of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Email: khodanazary@yahoo.com

Received: 2017-01-18 **Accepted: 2017-03-14**

The effect of gutting on microbiological, chemical and sensory properties of tigertooth croaker (*Otolithes ruber*) stored under ice were studied. Psychrophilic, Entrobacteriaceae, lactic acid bacteria and H_2S producing were higher in gutted fish compared to whole fish during ice storage. However, gutted fish was higher content of thiobarbituric acid, free fatty acid and total volatile nitrogen than whole fish. pH of whole and gutted tigertooth croaker did not show significant difference during ice storage period. Trimethylamin values of whole and gutted tigertooth croaker increased, reached final values of 16.00 mg TMA/ 100 g and 19.27 mg TMA/ 100 g in day 12. Results of sensory evaluation revealed that gutted has improved the sensory quality of the fish. Microbiological analysis revealed higher Psychrophilic, Entrobacteriaceae, lactic acid bacteria and H_2S producing count in gutted fish.

Key words: Tigertooth croaker, Whole fish, Gutted fish, Chemical changes, Microbiological changes, Sensory changes

مقدمه

ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) یکی از گونه‌های با ارزش تجاری خلیج فارس است (۳۰) که مورد علاقه مصرف‌کنندگان در جنوب ایران می‌باشد. برای حفظ خواص حسی و تغذیه‌ای ماهی از روش نگهداری در سرما بسیار استفاده می‌شود. نگهداری در سرما از مهم‌ترین روش‌های معمول برای حفظ فسادپذیری غذاهایی دریایی در کشتی و ساحل تا یک دوره کوتاه می‌باشد. نگهداری در یخ برای افزایش طول مدت ماندگاری ماهی کامل به طور گسترده پس از صید تا رسیدن به بازار ماهی استفاده می‌شود. انواع مختلف یخ مانند پودری (powdered)، تکه تکه (sliced)، صفحه‌ای (plated)، فلسی (flaked) و خرد شده (crushed) تولید می‌شود که یخ خردشده بهترین یخ برای نگهداری ماهی کامل می‌باشد (۳). هر چند، طول مدت ماندگاری هر گونه ماهی بستگی به فاکتورهای بسیاری از جمله گونه، فصل، سایز ماهی، موقعیت فیزیولوژیکی گونه‌ها، تغذیه، روش صید، محل صید، محدوده دمایی و دستکاری و فرآوری دارد (۳).

فاکتورهای زیادی همانند نوع گونه، اندازه، دما، شرایط فیزیکی، روش‌های صید، عمل آوری و نگهداری بر مدت زمان ماندگاری ماهی در طی نگهداری موثرند که مهم‌ترین آن‌ها، دمای نگهداری و طبیعت مواد و نوع روش عمل‌آوری بکار رفته برای آماده‌سازی ماده خام می‌باشد. استفاده از روش‌های مختلف عمل آوری قبل از نگهداری مانند تخلیه امعاء و احشاء، فیله‌سازی، چرخ کردن ماهی، استفاده از یخ پوش، استفاده از مواد افزودنی و بسته‌بندی بر مدت زمان ماندگاری ماهی اثرگذاراست (۲۷). برای آماده‌سازی اولیه ماهی، قبل از قرار دادن آن در مجاورت دمای پایین و با توجه به نوع ماهی، ضروری است مجموعه‌ای از فرایندها انجام گیرد تا از این طریق خطر فساد آنزیمی و باکتریایی تا حد زیادی کاهش یابد. در مورد ماهیانی که به صورت کامل نگهداری می‌شوند به غیر از شستشوی اولیه هیچ مرحله دیگری برای آماده‌سازی وجود ندارد. در مورد ماهی شکم‌خالی عمل تخلیه شکمی و شستشو انجام می‌شود. بی‌شک مهم‌ترین مسأله در رابطه با آماده‌سازی اولیه رعایت بهداشت در مراحل مختلف است.

بر اساس تجربه مشخص شده است که کیفیت و ماندگاری بسیاری از ماهیان در صورت عدم تخلیه امعاء و احشا کاهش می‌یابد (۷). در طی دوران تغذیه، دستگاه گوارش ماهی حاوی باکتری‌های فراوان است و آنزیم‌های هضم‌کننده قوی را تولید می‌کنند. از طرف دیگر تخلیه امعاء و احشا باعث می‌شود بخش شکمی در تماس با هوا قرار گیرد که در نتیجه منجر به تشدید فرآیند اکسیداسیون و تغییر رنگ می‌شود. دستکاری پس از صید نقش مهمی در تعیین تولیدات نهایی ماهی دارد (۳۳). اگرچه، در ماهی، بیشترین حجم خون در دستگاه قلبی وعروقی قرار دارد. بنابراین با تخلیه امعاء و احشا، خون بسیاری به همراه روده حذف می‌شود که منجر به بهبود رنگ و ظاهر گوشت ماهی می‌شود. اگرچه ماهی کامل در مقایسه با ماهی شکم خالی و فیله دارای طول مدت ماندگاری بیشتری

می‌باشند. بنابراین ماهی کامل برای مصرف کننده سالم‌تر می‌باشد (۱۷).

ماهی تازه به دلیل رطوبت زیاد، مواد مغذی و pH بالا بسیار فسادپذیر می‌باشد. کیفیت گوشت ماهی و فراورده‌های دریایی بازتابی از وضعیت میکروبی، فیزیکی و شیمیایی اولیه و همچنین شرایط آن در طول نگهداری می‌باشد (۷). منظور از فساد ماهی، فساد شیمیایی (اکسیداسیون)، فساد بیوشیمیایی (اتولیز[1]) و فساد میکروبی (آلودگی با میکروارگانیسم‌ها و رشد آن‌ها) است (۱۱). حتی در طی دوره نگهداری در سرما، یخ و یخچال، رشد میگروارگانیسم‌های فاسد کننده، فعالیت‌های شیمیایی و آنزیمی می‌تواند در طی نگهداری رخ دهد (۴). فساد ماهی یک فرآیند پیچیده‌ای است که آنزیم‌ها و واکنش‌های شیمیایی منجر به فساد اولیه می‌شود در حالی که فعالیت متابولیک میکروارگانیسم‌ها منجر به کامل شدن فساد می‌گردد (۳۷). مطالعاتی جهت تعیین مدت ماندگاری ماهی شوریده در یخ وجود دارد (۲۱ و ۳۰).

ماهی شوریده یکی از گونه‌های دریایی تجاری در ایران است. به طور سنتی، این ماهی به طور کامل بدون شکم‌خالی کردن فروخته می‌شود. اگرچه کنترل کیفیت فیله‌های ماهی به طور گسترده مطالعه شده است، هیچ مطالعه‌ای جهت مقایسه کیفیت ماهی شوریده کامل بدون تخلیه امعاء و احشا و ماهی شکم خالی ارائه نشده است. بنابراین هدف اصلی مقایسه ماندگاری و تازگی ماهی شوریده کامل و شکم خالی نگهداری شده در یخ بود.

مواد و روش کار

آماده‌سازی نمونه و شرایط نگهداری

ماهی شوریده با میانگین وزنی ۶۰۰ گرم از خلیج فارس صید شدند. نمونه‌های ماهی و یخ به نسبت ۱ به ۲ (وزنی/ وزنی) با جعبه‌های یونولیتی فورا به آزمایشگاه فرآوری واقع در دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل گردیدند. ماهیان به دو گروه شامل ماهیان کامل و ماهیان شکم خالی تقسیم شدند. تعداد ماهیان ۳۰ قطعه بودند. خالی کردن شکم ماهیان به صورت دستی با شکافتن حفره شکمی و خارج کردن امعا و احشا در آزمایشگاه انجام گردید. ماهیان در یونولیت‌هایی حاوی یخ (نسبت ماهی به یخ (۳:۱)) نگهداری شدند. برای جلوگیری از ذوب یخ، یونولیت‌ها در طول دوره آزمایش در یخچال نگهداری گردیدند. آنالیزهای فیزیکوشیمیایی، میکروبیولوژیکی و حسی ماهی شوریده نگهداری شده در سرما هر ۳ روز به مدت ۱۲ روز مورد آزمایش قرار گرفتند.

آزمون میکروبی نمونه‌ها

بار باکتریایی نمونه‌ها با هموژن کردن ۱۰ گرم نمونه در ۹۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۹ درصد کلرید سدیم در شرایط استریل آغاز شد. از این محلول جهت تهیه رقت‌های متوالی استفاده شد. کشت باکتریایی مورد نظر با ریختن میزان مشخصی از نسبت‌های بدست آمده در پلیت‌های یکبار مصرف استریل و ریختن محیط کشت آگار بر آن صورت گرفت. برای شمارش کلنی‌های باکتری‌های سرمادوست (محیط کشت نوترینت آگار) به مدت ۷ روز در ۱۰ درجه سانتی‌گراد، برای باکتری‌های تولید کننده H_2S (محیط کشت triple sugar iron agar) به مدت ۳ روز در ۲۵ درجه سانتی‌گراد، برای باکتری‌های انتروباکتریاسه (محیط کشت eosin methylene blue agar) به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و برای باکتری‌های اسید لاکتیک (محیط کشت man rogosa sharp agar) به مدت ۳ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. شمارش کلنی‌ها بر مبنای log۱۰ cfu/g بیان گردید (۱۵).

اندازه‌گیری بازهای ازته فرار[2]

اندازه‌گیری بازهای ازته فرار به روش کلدال و با تیتراسیون عصاره بدست آمده از آن انجام گرفت. بدین منظور۱۰ گرم نمونه به همراه ۲ گرم اکسید منیزیم با افزودن ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به بالن کلدال متصل شد و عصاره مورد نظر به محلول متشکل از اسید بوریک ۲ درصد و ۲-۱ قطره متیل رد به عنوان شاخص وارد شد. محلول زرد رنگ حاصله با اسید سولفوریک تا حاصل شدن رنگ ارغوانی تیتر شد و به صورت میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه ماهی بیان شد (۹). میزان بازهای ازته فرار از رابطه ۱ محاسبه گردید.

رابطه ۱ بازهای ازته فرار= حجم اسید سولفوریک مصرفی × ۱۴

اندازه‌گیری pH

بدین‌منظور ۵ گرم از نمونه به مدت ۱ دقیقه با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر همگن شده و میزان pH آن با دستگاه pH سنج (Metrohm) اندازه‌گیری شد (۳۱).

اندازه‌گیری تری متیل آمین[3]

برای اندازه‌گیری تری متیل‌آمین از روش آ.او.آ.سی در سال ۱۹۹۵ (۱) استفاده شد. جهت تهیه عصاره بافت ماهی۱۰گرم از عضله ماهی را وزن کرده و با ۳۰ میلی لیتر از ماده تری‌کلرواستیک اسید ۷/۵ درصد مخلوط کرده و سپس با دستگاه یکنواخت کن (هموژنایزر) به مدت ۲ دقیقه یکنواخت گردیده تا محلول شیری رنگ حاصل شود. در مرحله بعد بافت یکنواخت شده در سرعت۲۵۰۰ دور و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و مواد جامد ته نشین شده و محلول فوقانی که شفاف می‌باشد، به عنوان عصاره بافت عضله ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. به منظور تهیه محلول‌های استاندارد، به ترتیب۱،۲ و ۳ میلی‌لیتر از محلول استانداردTMA (working solution)، با آب مقطر به ۴ میلی‌لیتر رسانده و سپس با تعیین میزان جذب نور منحنی استاندارد رسم شد. در این آزمایش یک لوله به عنوان شاهد نیزدر نظر گرفته شد. با تعیین میزان جذب نور در نمونه مجهول و با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده میزان TMA در عضله ماهی محاسبه شد.

اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید[4]

شاخص تیوباربیتوریک اسید طبق روش سیریپاتراوان و نویفا در سال ۲۰۱۲ (۲۹) اندازه‌گیری می‌شود. بدین صورت که دستگاه تقطیر با افزودن ۱۰ گرم نمونه ماهی هموژن شده با ۹۷/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲/۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۴ نرمال بهمراه چند قطره ضد کف و سنگ جوش در ارلن راه‌اندازی شد. ۵ میلی‌لیتر از مایع حاصل از تقطیر این مخلوط را به ۴ میلی‌لیتر معرف تیوباربیتوریک اسید (برای تهیه

معرف از مخلوط معرف تیوباربیتوریک اسید با اسید استیک گلاسیال محلول یکنواختی ایجاد می‌کنند). افزوده و در حمام بن ماری ۳۵ دقیقه قرار می‌گیرد. سپس میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۳۸ نانومتر اندازه‌گیری شد. طبق رابطه۲ میزان تیوباربیتوریک اسید بدست آمد. میزان تیوباربیتوریک اسید به صورت میلی‌گرم مالون آلدهید اکی والان بر کیلوگرم نمونه بیان شد.

رابطه ۲

$$TBAvalue = ۷/۸\ Abs_{۵۳۸}$$

$Abs_{۵۳۸}$ = میزان جذب در طول موج ۵۳۸ نانومتر

اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد[۵]

میزان شاخص اسیدهای چرب آزاد با استفاده از روش ایگان و همکاران در سال ۱۹۹۷ (۱۰) اندازه‌گیری شد. در این روش از ۱۰ گرم نمونه ماهی هموژن شده با کمک کلروفرم/ متانول استخراج روغن صورت گرفت. در ادامه به محلول باقی مانده کلروفرم، متانول و ۲-پروپانول به نسبت ۲:۱:۲ به همراه معرف متاکروزول ارغوانی (پودر معرف متاکروزول، سود۰/۰۵ نرمال و آب مقطر) اضافه شد. تیتراسیون گروه‌های کربوکسیلیک آزاد موجود در آن با سود ۰/۰۵ نرمال تا تغییر رنگ از زرد به ارغوانی ادامه یافت. بدین ترتیب. طبق رابطه ۳ میزان اسیدهای چرب آزاد به صورت درصد اولئیک اسید (Oleic acid) بیان شد.

رابطه ۳

$$FFA= N\times (V2-V1)\times 2.92/W$$

N = میزان نرمالیته سود

$(V_۱ - V_۲)$ = تفاضل مقدار مصرفی سود (میلی لیتر)

W = وزن چربی (گرم)

ارزیابی حسی

ارزیابی نمونه‌ها توسط ۷ نفر گروه پانل ارزیاب آموزش دیده در گروه‌های سنی ۲۵ تا ۲۷ سال انجام پذیرفت. ۱/۵ درصد نمک به نمونه‌های ماهی اضافه گردید. نمونه‌های ماهی در داخل فویل آلومینیوم، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۸ درجه سانتی‌گراد بخارپز شدند. بافت، طعم، بو رنگ پذیرش کلی نمونه‌ها با مقیاس هدونیک (Hedonic) (با اندکی تغییر) با اصطلاحات توصیفی زیر رتبه‌بندی شدند: بافت (۵، دارای انسجام ماهی تازه، ۱، خمیری)، بو (۵، مطبوع، ۱، کاملا نامطبوع)، طعم (۵، مطلوب، ۱، کاملا نامطلوب)، پذیرش کلی (۵، خیلی خوب، ۱، خیلی بد) (۲۳).

آنالیز آماری

جهت تحقیق در قالب طرح کاملا تصادفی با آزمون واریانس یک طرفه(One-way ANOVA) بررسی گردید و نتایج به صورت میانگین ±خطای معیار بیان شدند. جهت نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیرو ویلک (Shapiro Wilk) اطمینان حاصل شد و سپس همگنی واریانس داده‌ها با آزمون لون (Leven) بررسی گردید. اختلاف میانگین فاکتورهای شیمیایی، میکروبی و حسی هر تیمار طی دوره نگهداری با آزمون دانکن در سطح معنی‌داری $p < ۰/۰۵$ با استفاده از نرم‌افزار آنالیز آماری SPSS نسخه ۱۱ مورد مقایسه قرار گرفت. جهت مقایسه میانگین فاکتورهای شیمیایی و میکروبی تیمارها از آزمون t- مستقل در سطح احتمال ۰/۰۵ استفاده گردید. هم‌چنین به منظور بررسی اثر تیمارها برخصوصیات حسی نمونه‌ها از آزمون فریدمن برای پیدا کردن اختلاف معنی‌دار در بین نتایج حاصل از آزمون‌های حسی تیمارهای مورد آزمایش استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج تغییرات بار باکتریایی سرمادوست طی نگهداری در یخچال در شکل ۱-a مشاهده می‌شود. باکتری‌های سرمادوست گرم منفی مثل سودوموناس‌ها[۷]، آلتروموناس‌ها[۸]، شوانلاها[۹] و فلاووباکترها[۱۰] بیشترین گروه میکروارگانیسم‌های عامل فساد ماهی و فراورده‌های آن در شرایط نگهداری هوازی در دماهای سرد می‌باشند(۵، ۲۸). در مطالعه حاضر شمارش اولیه این باکتری‌ها در ماهی شوریده کامل و شکم خالی به ترتیب ۲/۷۳ log cfu/g و ۲/۹۱ log cfu/g بود. افزایش بار باکتریایی سرمادوست در گوشت ماهی در طول نگهداری ثابت شده است. در این بررسی نیز الگوی رشد باکتری‌های سرمادوست مورد مطالعه در کل دوره، روند افزایشی داشت اما در روز ۶ نگهداری بار باکتریایی سرمادوست در ماهی شکم خالی ۷/۳۳ log cfu/g رسید که بالاتر از حد مجاز اعلام شده برای ماهی خام (۷ log cfu/g) است (۲۸) در حالی که برای ماهی کامل در روز ۹ به این محدوده رسید. ماهی شوریده شکم خالی دارای بیشترین بار باکتریایی اولیه بودند که می‌تواند به علت دستکاری پس از برداشت در نتیجه تخلیه امعاء و احشا باشد. نتایج مشابه نشان می‌دهد که در ماهیان مختلف مورد مطالعه میزان بار باکتریایی در ماهیان شکم خالی بیشتر بوده است (۴، ۸، ۳۳).

انتروباکتریاسه نیز گروه دیگر باکتری‌ها بودند که در فساد ماهی شوریده کامل و شکم خالی طی نگهداری در یخ دخالت داشتند (شکل ۱-b). انتروباکتریاسه شامل خانواده باکتری‌های گرم منفی از جمله بسیاری از باکتری‌های بیماری زا مثل،Salmonella spp، *E. coli*، *Staphylococcus aureus* است. این نتایج مشابه با نتایج گزارش شده در مورد گونه‌های دیگر ماهیان مانند گربه ماهی (۴۹)، ساردین (۱۳)، سی بریم و سی باس (۴) است که انتروباکتریاسه به عنوان بخش مهمی از فلور میکروبی در مراحل پایانی نگهداری محصول در یخ شناسایی شدند. میزان انتروباکتریاسه طی دوره نگهداری در ماهی شوریده کامل و شکم خالی افزایش معنی‌داری داشت. مقایسه میزان انتروباکتریاسه ماهی شوریده کامل و شکم خالی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار وجود ندارد. فساد انتروباکتریاسه ماهی در نتیجه آلودگی آب، زنجیره غذایی ماهی و یا تاخیر در سردسازی پس از صید می‌باشد. همچنین انتروباکتریاسه ممکن است بر طبق آلودگی در طی دستکاری مانند فرآیند فیله کردن اتفاق بیافتد (۱۵).

میزان اولیه باکتری اسید لاکتیک در ماهی کامل و شکم خالی در روز صفر به ترتیب ۱/۰۳ log cfu/g و ۱/۰۶ log cfu/g بود. میزان باکتری اسید لاکتیک طی دوره نگهداری به طور معنی‌داری افزایش یافت. باکتری‌های اسید لاکتیک جزء فلور طبیعی ماهی می‌باشد، اما در این مطالعه تعداد باکتری اسید لاکتیک در مقایسه با سایر باکتری‌های اندازه گیری شده

کمتر بود. نیرمال و بنجاکول در سال ۲۰۱۱ (۲۲) نشان دادند که میزان اندک باکتری اسید لاکتیک ممکن است منجر به عدم تولید مقدار کافی آنتی‌بیوتیک باشد. بنابراین، باکتری اسید لاکتیک تاثیر بازدارنده بر دیگر باکتری‌ها ندارند که میزان بالا باکتری سرمادوست، انتروباکتریاسه و باکتری‌های تولیدکننده H_2S در این تحقیق این مطلب را تایید می‌نماید. هویس در سال ۱۹۹۶ (۱۲) گزارش کردند که باکتری اسید لاکتیک در یخچال به کندی رشد می‌کنند. میزان باکتری اسید لاکتیک در ماهی شوریده شکم خالی در مقایسه با ماهی کامل بیشتر بود ولی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

میزان اولیه باکتری‌های تولید کننده H_2S ماهی کامل و شکم خالی در روز صفربه ترتیب ۲/۴۲ log cfu/g و ۲/۴۷ log cfu/g بود. میزان باکتری‌های تولیدکننده H_2S طی دوره نگهداری به طور معنی‌داری افزایش یافت. باکتری‌های تولیدکننده H_2S مانند Pseudomonas spp و *Shewanells putrefaciens* بیشترین میکروارگانیسم‌های فاسد کننده ماهی‌های نگهداری شده در سرما می‌باشند (۲۸). *S. putrefaciens* بیشترین سهم را برای تشکیل تری‌متیل‌آمین دارد و مقدار آن به عنوان شاخص‌های فساد ماهی و تولیدات ماهی سرد شده به کار برده می‌شود. میزان باکتری‌های تولیدکننده H_2S در ماهی شوریده شکم خالی در مقایسه با ماهی کامل بیشتر بود ($p<0/05$). میزان بیشتر باکتری‌های تولیدکننده H_2S درماهی شکم خالی می‌تواند یا آلودگی ماهی در طی فرآیند تخلیه امعاء و احشا و یا آلودگی میکروبی محیطی سطح گوشت ماهی در طی یخ گذاری باشد (۳۳).

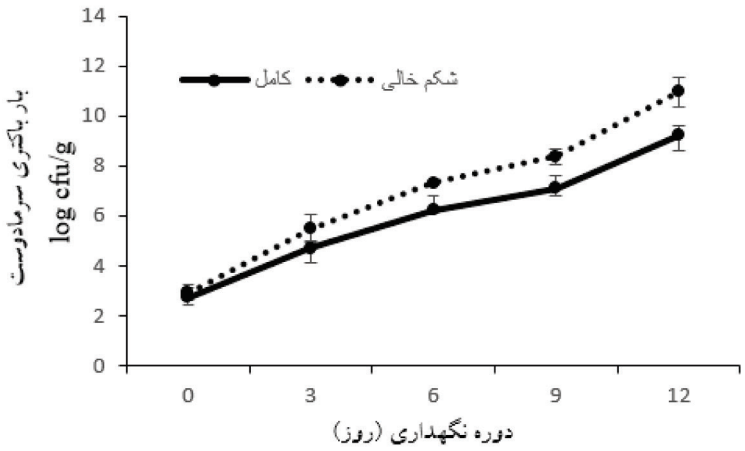
در شکل ۲ تغییرات میزان pH ماهی شوریده کامل و شکم خالی طی نگهداری در یخ مشاهده می‌شود. میزان pH ماهی شوریده کامل و شکم خالی طی نگهداری در یخ تغییر کرد به طوری که میزان آن در روز صفر نگهداری در تیمار کامل و شکم خالی به ترتیب از ۶/۳۱ و ۶/۳۶ به ۷/۰۰ و ۶/۹۹ در روز ۱۲ افزایش یافت. محدوده pH ماهی در مرحله جمود نعشی معمولا بین ۶/۸ تا ۷ است. میزان pH در ماهی شوریده کامل و شکم خالی طی دوره نگهداری در یخ در این محدوده می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که pH یک شاخص کیفی ضعیف در ماهی شوریده طی نگهداری در یخ می‌باشد. میزان pH در ماهی کامل و شکم خالی تفاوت معنی‌داری نداشت. نتایج مشابه توسط لوکوروکا و همکاران در سال ۲۰۱۲ (۱۹) و ویجی و همکاران در سال ۲۰۱۵ (۳۳) وجود دارد. به طور کلی میزان pH عضله ماهی زنده نزدیک به ۷ است. پس از مرگ بر اساس فصل، گونه و فاکتورهای دیگر از ۶ تا ۷ تغییر می‌کند. در تمام نمونه‌های ماهی مقدار این شاخص در طول دوره افزایش پیدا کرد. افزایش pH با گذشت زمان نگهداری را می‌توان به فعالیت آنزیم‌های اتولیتیک و باکتری‌های پروتئولیتیک فاسدکننده ماهی نسبت داد. در بررسی حاضر با افزایش میزان بازهای ازته فرار در طول دوره انتظار چنین روندی برای pH انتظار می‌رفت. نتایج مشابهی توسط ارکان و اوزدن در سال ۲۰۰۸ (۸) گزارش شد.

میزان بازهای ازته فرار به عنوان یکی از شاخص‌های فساد ماهی و دیگر آبزیان مورد توجه می‌باشد. همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است با افزایش مدت زمان نگهداری، میزان بازهای نیتروژنی فرار در ماهی کامل و شکم خالی به طور معنی‌داری افزایش یافت به طوری که در تیمار شکم خالی از ۱۰/۹۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم در زمان صفر به ۴۲/۲۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم در روز ۱۲ رسید و در تیمار کامل از ۱۳/۳۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم در زمان صفر به ۴۶/۶۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم در روز ۱۲ رسید. میزان بازهای ازته فرار بواسطه فعالیت باکتریایی و آنزیم‌های درونی خود ماهی افزایش می‌یابد. بر اساس مطالعات موجود، میزان مجاز بازهای ازته فرار در گوشت ماهی، ۳۰-۲۵ میلی‌گرم نیتروژن در هر ۱۰۰ گرم بافت می‌باشد. میزان بازهای ازته فرار در مطالعه حاضر در مواردی از حد مجاز فراتر است. در مقایسه بین میزان بازهای نیتروژنی فرار ماهی کامل و شکم خالی، میزان بازهای نیتروژنی فرار در ماهی کامل بیشتر از ماهی شکم خالی بود در صورتی‌که در مطالعه حاضر، بار باکتریایی سرمادوست، انتروباکتریاسه، باکتری اسید لاکتیک و باکتری‌های تولیدکننده H_2S در ماهی شکم خالی کمتر بود . کاهش میزان بازهای ازته فرار در ماهی شکم خالی ممکن است به دلیل کاهش تجزیه باکتریایی ترکیبات نیتروژنی در گوشت ماهی باشد (۳۳). میزان ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن به ازای ۱۰۰ گرم نمونه گوشت به عنوان حداکثر میزان قابل قبول بازهای ازته فرار در گوشت ماهی خام پیشنهاد شده است (۲۳). در تحقیقات دیگر میزان ۳۵-۳۰ میلی‌گرم نیتروژن به ازای ۱۰۰ گرم نمونه گوشت ماهی خام به عنوان حداکثر میزان قابل قبول بازهای ازته فرار در گوشت ماهی پیشنهاد شده است (۶).

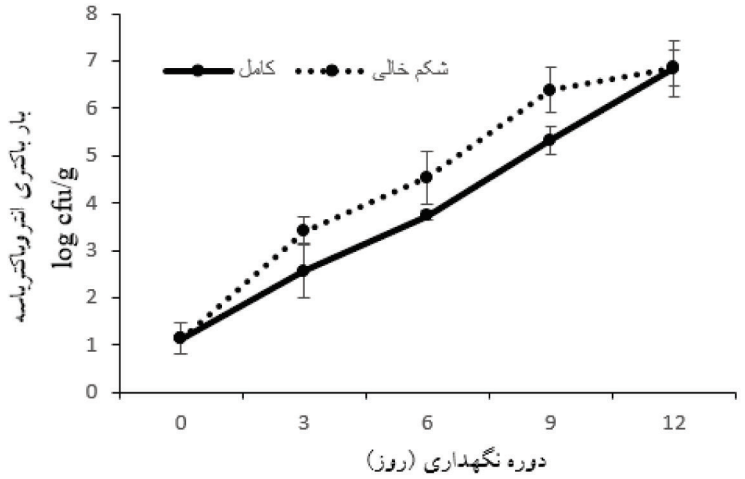
کمیت تری‌متیل‌آمین به عنوان شاخص کیفی در ماهیان دریایی می‌باشد. تری‌متیل‌آمین‌اکساید (TMAO) بخشی از ترکیبات بازی فرار است که از تجزیه تری‌متیل‌آمین‌اکساید موجود در گوشت ماهیان توسط فعالیت آنزیمی باکتریایی تولید می‌شود (۶). میزان تری متیل آمین ماهی شوریده کامل و شکم خالی طی دوره نگهداری در یخ به طور معنی‌دار افزایش یافت (شکل ۴). چیتیری و همکاران در سال ۲۰۰۴ (۵) نشان دادند که میزان تری متیل آمین ماهی قزل آلای رنگین کمان کامل و فیله طی نگهداری در یخ بر طبق افزایش میزان باکتری بیشتر شد. رگنستین در سال ۱۹۹۱ (۲۶) مقدار مجاز تری متیل آمین را ۸-۶ میلی گرم تری متیل آمین در ۱۰۰ گرم نمونه برای ماهی عنوان کردند، در حالی‌که پیفیفر و تسکردزیک در سال ۱۹۸۷ (۳۲) یافتند که مقدار ۱۰ میلی‌گرم تری متیل آمین در ۱۰۰ گرم نمونه را به عنوان حد مجاز این شاخص برای ماهی پیشنهاد کردند. در بررسی حاضر میزان تری متیل آمین برای ماهی کامل و شکم خالی از روز ۶ بالاتر از حد مجاز بود. میزان تری متیل آمین در ماهی شکم خالی بیشتر از کامل بود زیرا میزان بار باکتریایی سرمادوست، انتروباکتریاسه، باکتری اسید لاکتیک و باکتری‌های تولیدکننده H_2S در ماهی شکم خالی بیشتر از ماهی کامل بود.

همانطور که در شکل ۵ نشان داده شده است با افزایش مدت زمان نگهداری، میزان تیوباربیتوریک اسید اندازه‌گیری شده در هر دو شکل افزایش یافت به طوری که در تیمار شکم خالی از ۰/۸۸ (میلی‌گرم مالون دی آلدهید در کیلوگرم بافت ماهی) در زمان صفر به ۳/۶۶ در روز ۱۲ رسید و در تیمار کامل به ترتیب از ۰/۸۵ در زمان صفر به ۵/۲۰ در روز ۱۲ رسید. که می‌تواند به دلیل شکست و تجزیه مالون آلدهید به سایر مواد (آلدهیدها و کتون‌ها) باشد. مقدار تیوباربیتوریک اسید ماهی کامل بیشتر بود که می‌تواند به علت وجود امعاء و احشاء که

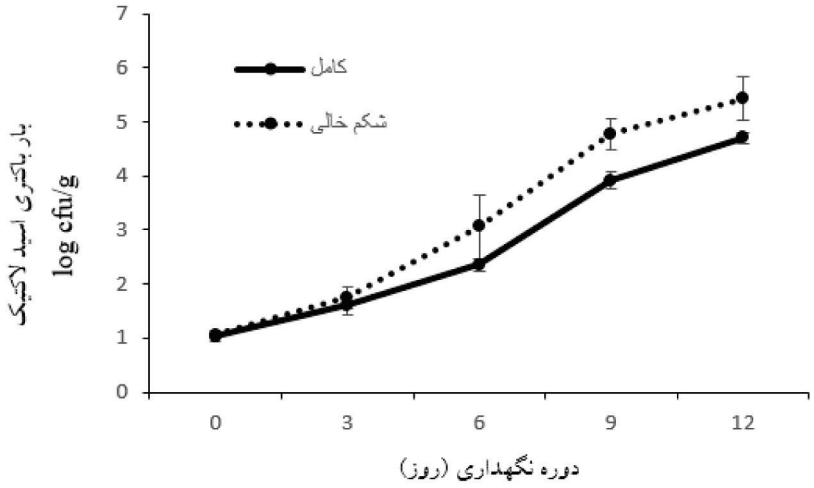
a



b

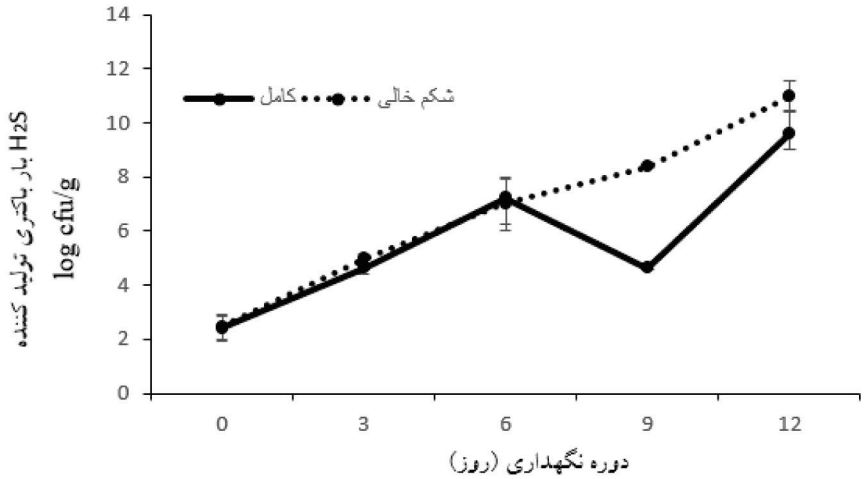


c

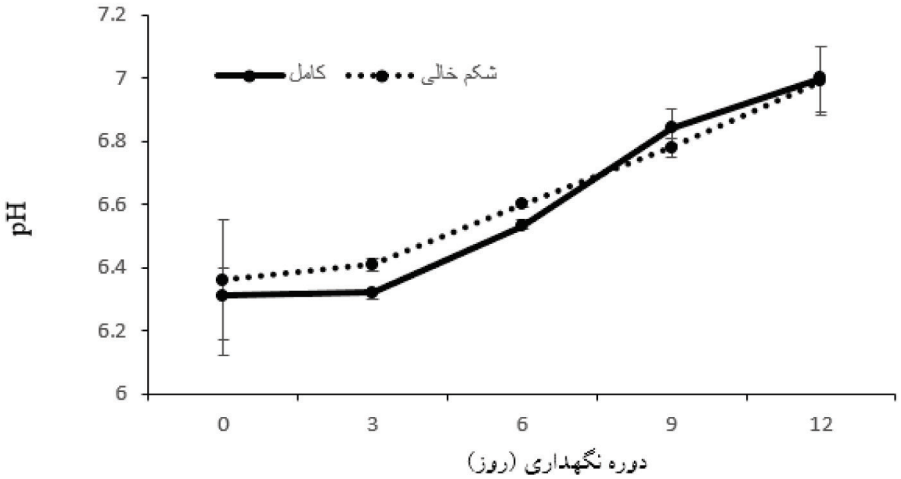


زیر نویس (شکل شماره ۱) در صفحه بعد

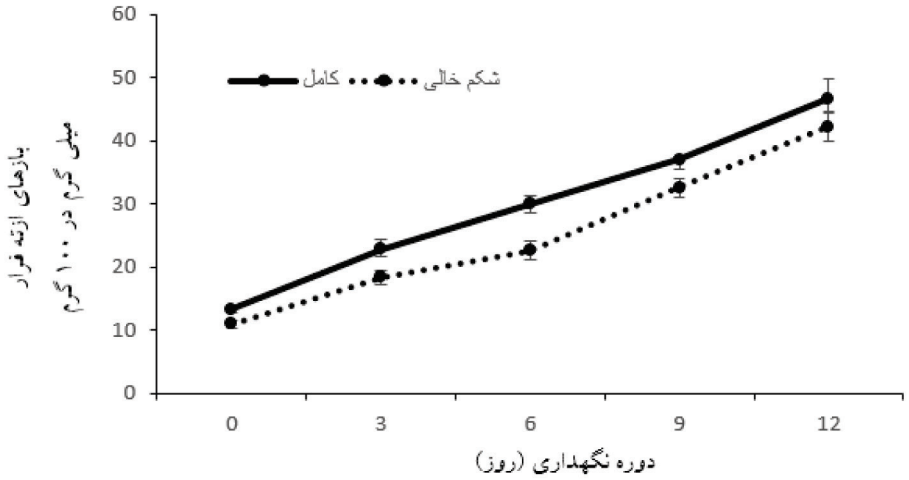
d



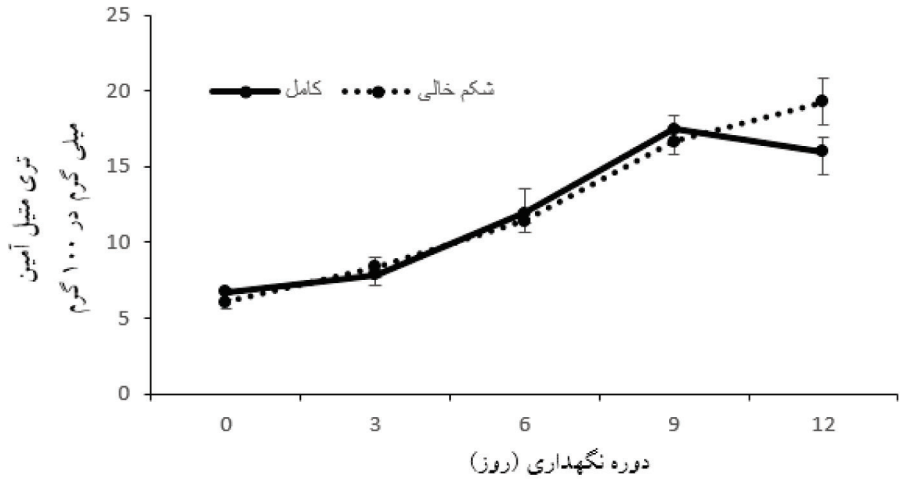
شکل ۱- تغییرات بار باکتری سرمادوست (a)، باکتری انتروباکتریاسه (b)، اسید لاکتیک باکتری‌ها (c) و باکتری‌های تولید کننده H_2S (d) ماهی شوریده کامل و شکم خالی نگهداری شدن در یخ طی ۱۲ روز



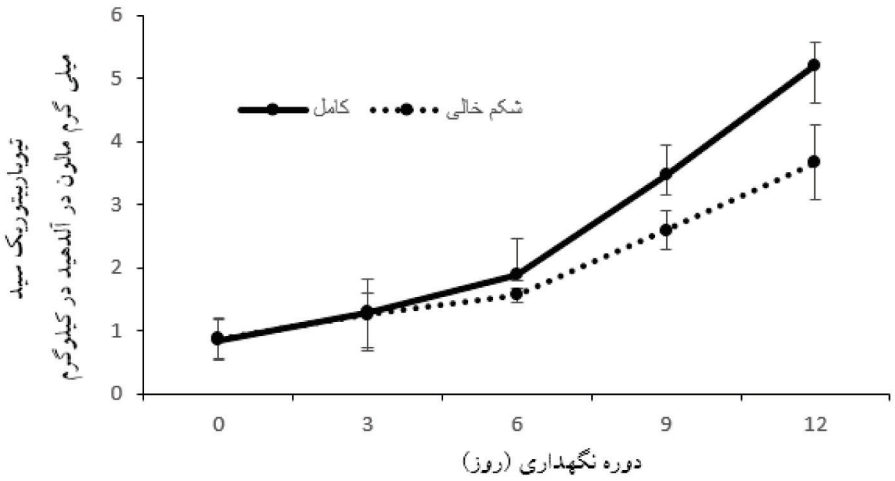
شکل ۲- تغییرات pH ماهی شوریده کامل و شکم خالی نگهداری شدن در یخ طی ۱۲ روز



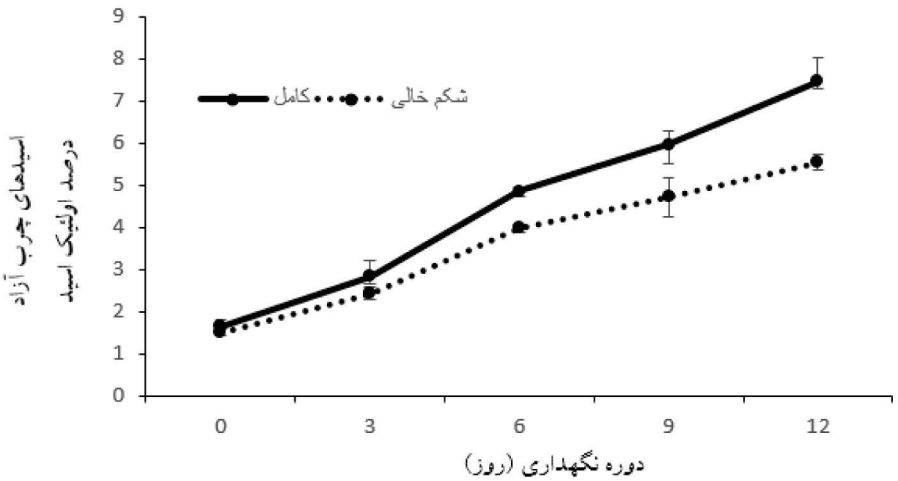
شکل ۳- تغییرات بازهای ازته فرار ماهی شوریده کامل و شکم خالی نگهداری شدن در یخ طی ۱۲ روز



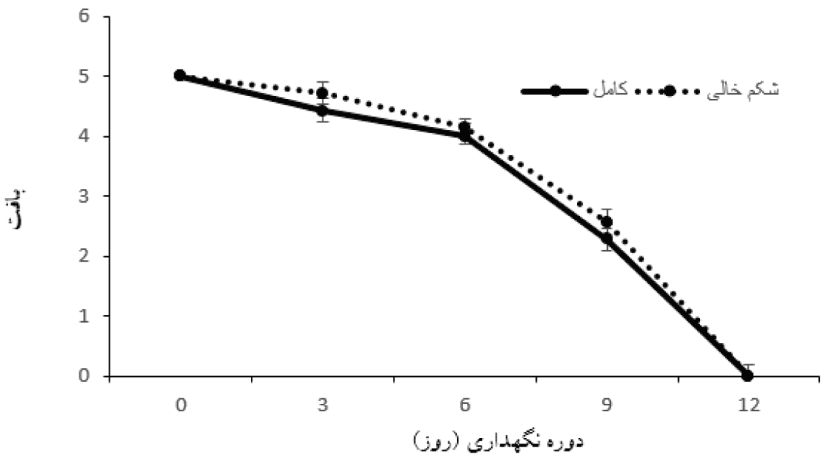
شکل ٤- تغییرات تری متیل آمین ماهی شوریده کامل و شکم خالی نگهداری شدن در یخ طی ۱۲ روز

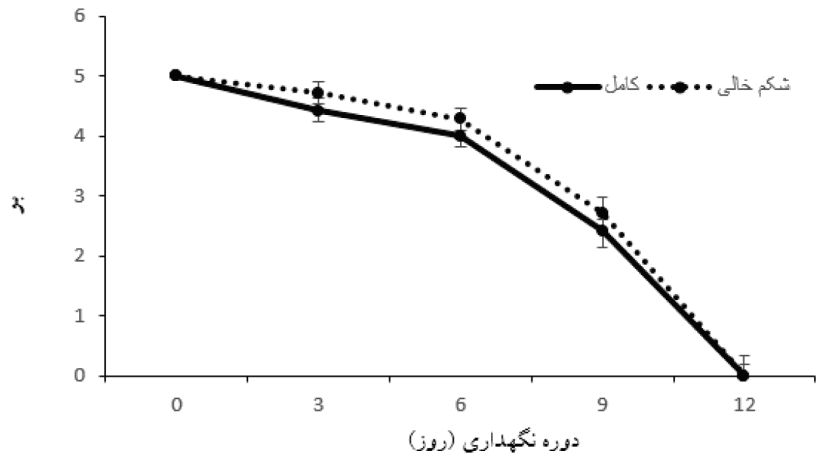


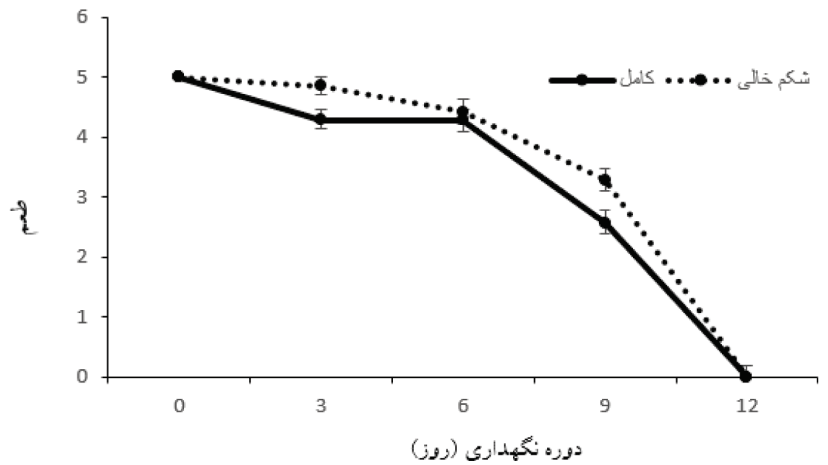
شکل ۵- تغییرات تیوباربیتوریک اسید ماهی شوریده کامل و شکم خالی نگهداری شدن در یخ طی ۱۲ روز

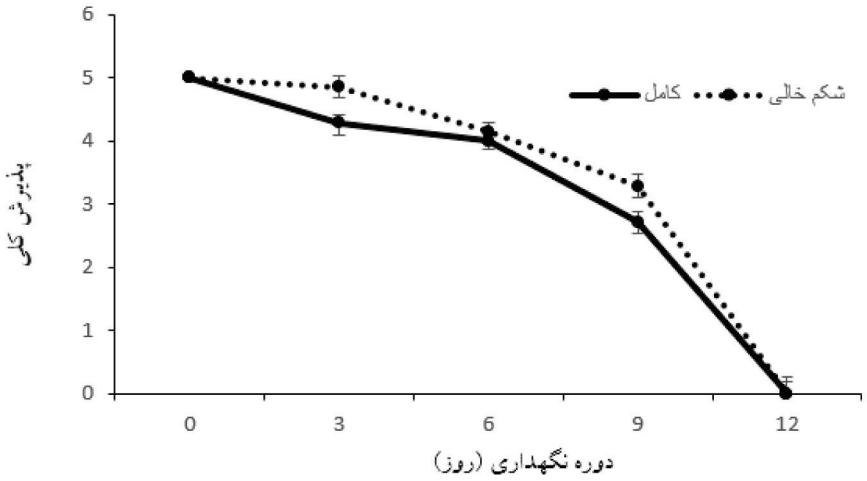


شکل ٦- تغییرات اسیدهای چرب آزاد ماهی شوریده کامل و شکم خالی نگهداری شدن در یخ طی ۱۲ روز


بافت
شکم خالی
کامل
دوره نگهداری (روز)


بو
شکم خالی
کامل
دوره نگهداری (روز)


طعم
شکم خالی
کامل
دوره نگهداری (روز)



شکل ۷- تغییرات بافت، بو، طعم و پذیرش کلی ماهی شوریده کامل و شکم خالی نگهداری شدن در یخ طی ۱۲ روز

محل تجمع باکتری‌های تولیدکننده آنزیم‌های تسریع کننده فعالیت‌های اکسیداسیونی است، باشد. همچنین میزان بالای تیوباربیتوریک اسید در ماهی کامل را می‌توان به سرعت بالای اکسیداسیون چربی دانست. نتایج مشابه توسط ویجی و همکاران در سال ۲۰۱۵ (۳۳) یافت شد. اگرچه در تحقیق چیتیری و همکاران (۲۰۰۴) (۵) روی ماهی قزل آلای رنگین کمان نگهداری شده در یخ که یک مقایسه بین دو تیمار کامل و فیله داشتند، تیمار کامل نسبت به تیمار فیله شرایط بهتری در دوره نگهداری داشته است که این مسئله همانطور که گفته شد به علت اثر فیله کردن روی میزان دسترسی اکسیژن به فیله و افزایش سرعت اکسیداسیون است.

وجود اسید چرب آزاد به واسطه اکسایش و آبکافت آنزیمی چربی‌های استری بوده و یک ترکیب نامطلوب می‌باشد چون اسیدهای چرب آزاد می‌توانند به ترکیبات فرار بدبو تبدیل شوند (۲۴). با اینکه تولید اسیدهای چرب آزاد به خودی خود منجر به افت کیفیت تغذیه‌ای نمی‌شود اما آزمون میزان آبکافت چربی به نظر مهم می‌رسد چون آبکافت چربی در شرایط سرما و انجماد نیز ادامه می‌یابد که تاثیر شدیدی بر اکسیداسیون چربی و دناتوره شدن پروتئین دارد (۲). تأثیر پرواکسیدانی اسیدهای چرب آزاد بر چربی نیز گزارش شده است بدین صورت که اسیدهای چرب آزاد بر گروه کربوکسیل اثر تحریک‌کننده داشته و تشکیل هیدروپروکسیدها و متعاقبا رادیکال‌های آزاد را تسریع می‌بخشد. علاوه بر این به دلیل کوچک بودن اندازه ملکول‌های اسید چرب آزاد نسبت به چربی‌های بزرگتر (مهم‌ترین آن‌ها تری آسیل گلیسرول‌ها و فسفولیپیدها) بیشتر در معرض اکسیداسیون توسط آنزیم‌هایی چون لیپازها و فسفولیپازها می‌باشد. این مسئله به شدت بر کیفیت حسی فراورده‌های غذایی دریایی تاثیرگذار است. با توجه به شکل ۶ نتایج بیانگر تغییرات میزان اسید چرب آزاد در ماهی شکم خالی طی مدت نگهداری در یخچال بین ۳/۵۹۳ درصد اولئیک اسید و ۶/۱۵۰ درصد اولئیک اسید بود ولی محدوده تغییرات اسید چرب آزاد در ماهی کامل بین ۴/۹۱ درصد اولئیک اسید در زمان صفر و ۸/۱۵ درصد اولئیک اسید بود. به طوری که تغییرات میزان اسید چرب آزاد ماهی کامل و شکم خالی در طی ۱۲ روز نگهداری در یخ نشان داد که با افزایش مدت زمان نگهداری، میزان اسید چرب آزاد در هر دو شکل ماهی افزایش یافت. میزان اسید چرب آزاد در شکل شکم خالی کمتر از ماهی کامل بود که می‌تواند به علت وجود امعاء و احشاء است که محل تجمع باکتری‌های تولید کننده آنزیم‌های تسریع‌کننده فعالیت‌های هیدرولیز چربی می‌باشد. نتایج فوق با نتایج ویجی و همکاران در سال ۲۰۱۵ (۳۳) روی گربه ماهی نگهداری شده در یخ مشابه است.

ارزیابی حسی بهترین روش برای تعیین تازگی و ماندگاری ماهی است (۱۶). حد نهایی مطلوبیت برای نمونه‌های ماهی جهت مصرف انسانی تا امتیاز ۴ درنظر گرفته شد (۲۳). همان طور که مشاهده می‌شود ویژگی بافت، بو، طعم، و پذیرش کلی ماهی کامل و شکم خالی با گذشت زمان کاسته شد و تقریبا همگی نمونه‌ها تا روز ۶ دارای امتیاز بالاتر از ۴ بودند و در روز ۹ به کمتر از آن رسیدند. نتایج اندازه‌گیری شاخص‌های تیوباربیتوریک اسید و اسیدهای چرب آزاد نشان داد که ماهی شکم خالی تا حدودی بهتر از ماهی کامل عمل می کند. این نتایج در ارزیابی حسی نیز با بهتر بودن معنی‌دار شاخص‌های رنگ، بو و طعم در ماهی شکم خالی مشخص شد. این نتیجه با نتایج حاصل از آزمایشات میکروبی مطابق نبود. با توجه به بار باکتریایی بالای ماهی شکم خالی در مقایسه با ماهی کامل، افزایش بار باکتریایی تاثیری بر آنالیز حسی نداشت. هاس و همکاران در سال ۱۹۷۴ (۱۳) گزارش کردند که همه گونه های باکتری‌ها جدا شده از ماهی باعث فساد نمی شوند. مقایسه خواص حسی ماهی کامل و شکم خالی گربه ماهی نگهداری شده در یخ نشان داد که خواص حسی این دو شکل

آماده سازی ماهی در ارتباط با اکسیداسیون چربی است و تعداد باکتری تاثیری بر خواص حسی نداشت (۳۳).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج مطالعه نشان داد که میزان بار باکتریایی سرمادوست، باکتری انتروباکتریاسه، باکتری اسید لاکتیک و باکتری‌های تولیدکننده H_2S در ماهی شکم خالی بیشتر از ماهی کامل بود اما تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. همچنین مقدار تیوباربیتوریک اسید و اسیدهای چرب آزاد در ماهی کامل بیشتر از ماهی شکم خالی بود. اگر چه میزان بار باکتریایی در ماهی شکم خالی بیشتر از ماهی کامل بود، ولی میزان بازهای ازته فرار در ماهی کامل بیشتر از ماهی شکم خالی بود. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که ماهی شکم خالی بهتر از ماهی کامل بود.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از نتایج طرح تحقیقاتی اجرا شده با شماره ۱۰۸ مورخ ۹۴/۱۱/۴ از محل اعتبارات ویژه پژوهشی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر می‌باشد.

پاورقی‌ها

1- Autolysis.
2- TVB- N.
3- TMA.
4- TBA.
5- FFA.
6- Friedman.
7- Pseudomonas spp.
8- Alteromonas spp.
9- Shewanella spp.
10- Flavobacterium spp.
11- Catalytic effect.

منابع مورد استفاده

1- A.O.A.C. 1995.Official methods of analysis (14th ED).Whashington, DC: Association of Official analytical chemists.

2- Aubourg, S. P., Rodríguez, A., and Gallardo, J. 2005. Rancidity development during frozen storage of mackerel (*Scomber scombrus*): Effect of catching season and commercial presentation. *European journal of lipid science and technology*. 107: 316–323.

3- Balachandran, K. K. 2001. Postharvest technology of fish and fish products. New Delhi, India: Daya Publishing House.

4- Cakli, S., Kilinc, B., Cadun, A., Dincer, T. and Tolasa, S. 2007. Quality differences of whole ungutted sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) while stored in ice. *Food Control*. 18: 391-397.

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

6- Connell, JJ. 1990. Methods of assessing and selecting for quality. In: Connell JJ (ed) Control of fish quality. Fishing News Books, Oxford, pp 122–150.

7- 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.

8- El-Deen, G. and El-Shamery, M. R. 2010. Studies on contamination and quality of fresh fish meats during storage. *Academic journal of biological science*. 2: 65-74.

9- Erkan, N. and Özden, Ö. 2008. Quality assessment of whole and gutted sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. *International Journal of Food Science and Technology*. 43: 1549-1559.

10- Goulas, A. E. and Kontominas, M. G. 2005. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*. 93: 511–520.

11- Harrigan, W.F and McCance, M.E. 1976. Laboratory methods in food and dairy microbiology. London Academic Press Inc.

12- He, Q. and Xiao, K. 2016. The effects of tangerine peel (*Citri reticulatae pericarpium*) essential oils as glazing layer on freshness preservation of bream (*Megalobrama amblycephala*) during superchilling storage. *Food Control*. 69: 339e345.

13- Huis in't Veld, J. H. 1996. Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International Journal of Food Microbiology*. 33, 1e18.

14- Huss, H.H., Dalsgaard, D., Hansen, L., Ladefoged, H. and Pedersen, Z.L. 1974. The influence of hygiene in catch handling on the storage life of iced cod and plaice. *Journal of Food Science and Technology*. 9:213–221

15- Huss, H.H. 1995. Quality and quality changes in fresh fish, FAO Fisheries Technical Paper, 348, 195pp.

16- ICMSF, 1978. Sampling for microbiological analysis (2nd ed.). In microorganisms in foods, Vol. 2 Toronto, Canada: University of Toronto Press: The International Commission on Microbiological Specifications for Foods.

17- Joseph, J. and Iyer, T. S. G. 2002. Sensory evaluation. In K. Gopakumar (Ed.), Textbook of fish processing and technology (pp. 445e467). New Delhi, India: Indian Council of Agricultural Research.

18- Junior, P.G., Assunçáo, A.W.A. , Baldin, J.C. and Amaral, L.A. 2014. Microbiological quality of whole and filletedshelf-tilapia. *Aquaculture*. 433: 196-200.

19- Lindberg, A. M., Ljungh, A., Ahrné, S., Lödfhahl, S. and Molin, G. 1998. Enterobacteriaceae found in high numbers in fish, minced meat and pasteurized milk or cream and the presence of toxin encoding genes. *Food Microbiology.* 39: 11-17.

20- Lokuruka, M.N.I., Muyela, B., Okeyo, G.O., Shitandi, A. and Otieno, M. 2012. Effect of gutting on sensory, some biochemical and microbiological properties of nile perch (*Lates niloticus*) and nile tilapia *(Oreochromis niloticus)* stored in ice. *Continental Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* 6:1–13

21- Moini, S., Tahergorabi, R., Hosseini, S. V., Rabbani, M., Tahergorabi, S., Feàs, X., et al. 2009. Effect of gamma radiation on the quality and shelf life of refrigerated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *Journal of Food Protection.* 72: 1419-1426.

22- Ninan, G. and Zynudheen. 2014. Evaluation of quality and shelf life of two commercially important fish species Viz., tiger tooth croaker (*Otolithes ruber* Bloch and Schneider) and flathead grey mullet (*Mugli cephalus* Linnaeus) in iced conditions. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: *Biological Sciences*. 84: 1035-1042.

23- Nirmal, N.P. and Benjakul, S. 2011. Use of tea extracts for inhibition of polyphenoloxidase and retardation of quality loss of Pacific white shrimp during iced storage. LWT- *Food Science and Technology.* 44: 924–932.

24- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H. and Hosseini, S. M. H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*. 120: 193-198.

25- Ozyurt, G., Kuley, E., Ozkutuk, S. and Ozogul, F. 2009. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and gold band goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. *Food Chemistry*. 114: 505–510.

26- Ramezani, Z., Zarei, M. and Raminnejad, N. 2015. Comparing the effectiveness of chitosan and nanochitosan coatings on the quality of refrigerated silver carp fillets. *Food Control.* 51: 43e48.

27- Regenstein, J.M.1991. Introduction to Fish Technology. Van Nostrand Reinhold, New York. Pp. 19-20.

28- Rehbein H, 2002. Measuring the shelf life of frozen fish. Pp. 407-424. In: safety and quality issues in fish processing. Bremmer, H.A., Woodhead Publishing Limited and CRC Press LIC.

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

30- Siripatrawan, U. and Noipha, S. 2012. Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. *Food Hydrocolloids.* 27: 102-108.

31- Sharifian, S., Zakipour, E., Mortazavi, M.S. and Arshadi, A. 2011. Quality assessment of tiger tooth croaker (*Otolithes ruber*) during ice storage. *International Journal of Food Properties*. 14: 309-318.

32- Suvanich, V., Jahncke, M. L. and Marshall, D.L. 2000. Changes selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill and frozen storage. *Food Science.* 65(1): 24-29.

33- Teskeredzic, Z and Pfeifer, K. 1987. Determining the degree of freshness of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) cultured in brackish water. *Journal of Food Science* 52: 1101–1102.

34- Viji, P., Tanuja, S., Ninan, G., Lalitha, K.V., Zynudheen, A.A., Binsi, P.K. and Srinivasagopal, T.K. 2015. Biochemical, textural, microbiological and sensory attributes of gutted and ungutted sutchi catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) stored in ice. *Journal of Food Science and Technology.* 52: 3312-3321.