مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال نوزدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۳، صفحات ۱۲۳-۱۰۹

مطالعه‌ی اثر فیلم ژلاتینی حاوی پروبیوتیک‌های *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر بقای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و خصوصیات فیزیکوشیمیایی فیله ماهی کپور در دمای یخچال

مائده وجدانی[۱]، حمیدرضا کاظمینی[۲]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

۲- نویسنده مسئول: استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران
پست الکترونیکی: h.kazemeini@ausmt.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۴/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۸/۳

چکیده

سابقه و هدف: افزایش مدت زمان نگهداری و ایمن نگهداشتن مواد غذایی همواره از مهم‌ترین دغدغه‌های محققان صنعت مواد غذایی بوده و مطالعه حاضر با هدف تهیه فیلم ژلاتین حاوی پروبیوتیک‌های *لاکتوباسیلوس رامنسوس*(*Lactobacillus rhamnus*) و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*(*Lactobacillus acidophilus*) و بررسی اثر آن در فیله ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) با بهبود فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آن طی نگهداری در دمای یخچال به مدت ۹ روز انجام شد.

مواد و روش‌ها: تیمارها شامل نمونه‌های کنترل، فیلم، فیلم حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس*، فیلم حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و فیلم حاوی ترکیب دو باکتری پروبیوتیک تهیه شده سپس نمونه‌ها در کیسه‌های استریل پلی اتیلنی در شرایط آزمایشگاه بسته بندی و به مدت ۹ روز در دمای یخچال نگهداری و هر ۳ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. در روزهای ارزیابی، زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها و شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و همچنین فاکتورهای pH، میزان بازهای ازته فرار (TVB-N)، اندیس پراکسید (PV) و تیوباربیتوریک اسید (TBARS) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نشان داد در تیمار فیلم ژلاتین و تیمار فیلم ژلاتین حاوی دو باکتری پروبیوتیک در روز آخر به ترتیب ۷/۸۸ log cfu/g و ۶/۷۱ log cfu/g و زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنسوس* نیز در تیمارهای ذکر شده به ترتیب ۷/۰۳ log cfu/g و ۶/۰۱ log cfu/g کاهش یافت. فیلم‌های حاوی پروبیوتیک نسبت به گروه کنترل و گروه فیلم بدون پروبیوتیک رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در فیله‌های ماهی کپور را به خوبی کنترل کردند. طبق نتایج، آزمون‌های شیمیایی نیز روند افزایشی داشتند و تغییرات آنها در فیله‌های ماهی کپور تیمار شده فیلم‌های حاوی پروبیوتیک به صورت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و گروه فیلم بدون پروبیوتیک کمتر بود ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد، فیلم ژلاتین حاوی پروبیوتیک خاصیت ضدمیکروبی مناسبی علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* داشته و می‌توانند در کنترل رشد پاتوژن‌ها و حفظ خواص حسی ماهی و محصولات غذایی موثر باشند.

واژگان کلیدی: فیلم ژلاتینی، پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس ، *استافیلوکوکوس اورئوس*، فیله کپور

• مقدمه

گوشت ماهی منبعی سرشار از پروتئین‌های قابل هضم با تمامی اسیدهای آمینه ضروری و اسیدهای چرب غیر اشباع باخواص درمانی مهم مانند ایکوزاپنتانوئیک اسید است. ماهی و انواع غذاهای دریایی منابعی سرشار از مواد معدنی، ویتامین‌ها و سایر ریزمغذی‌ها می‌باشند که به همین دلیل در سلامتی انسان بسیار مفید و مؤثر واقع شده‌اند (۱).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-12]

بنابر آنچه گفته شد گوشت ماهی به دلیل بالاتر بودن میزان اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه و بالابودن میزان رطوبت، pH و پروتئین‌های با ارزش زیستی بالا، به اکسیداسیون و فساد بسیار حساس بوده و زمان ماندگاری کمی دارد. نگهداری این نوع گوشت در دمای یخچال برای جلوگیری از رشد باکتری‌های بیماریزا و عوامل فساد ضروری است، اما نقشی در نگهداری طولانی مدت آن ندارد (۲).

یکی از گونه‌های مهم و پرکاربرد در سراسر جهان، ماهی کپور ماهیان می‌باشد. ماهی کپور ساده یکی از گونه های پرورشی کپورماهیان در آب شیرین است که پرکاربرد بودن آن به دلیل سرعت رشد بالا و ارزش غذایی بالا می‌باشد. گوشت ماهی کپور دارای ۸۰-۶۸ درصد آب، ۲۰-۱۶ درصد پروتئین، ۱۲-۳ درصد چربی و ۱/۳-۱/۱ درصد خاکستر می‌باشد و اکثر اسیدهای آمینه معمول در ماهیان و مواد غذایی مغذی ضروری برای انسان را دارد. میزان اسیدهای چرب غیراشباع آن حدود ۸۰ درصد می‌باشد که بیشتر شامل اسیدلینولئیک، اسید لینولنیک و اسید آراشیدونیک است (۳). در تحقیقات مختلف مشخص شده است که الگوی مصرف مواد غذایی در سراسر جهان تغییر پیدا کرده و مصرف‌کنندگان تمایل بسیار زیادی به استفاده از محصولات تازه، با کیفیت بالا، بدون مواد نگهدارنده مصنوعی و مدت زمان ماندگاری بالا دارند در حالی که گوشت ماهی بنا بر دلایلی که پیش تر ذکر شد بسیار فسادپذیر بوده و می‌تواند منبع مهمی در بیماریزایی مصرف‌کنندگان باشد. تاکنون روش‌های مختلفی جهت افزایش زمان نگهداری ماهی به کار گرفته شده است اما امروزه استفاده از فیلم‌های خوراکی فعال بسیار گسترده شده است (۵، ۴).

پوشش های خوراکی می توانند با کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها، کاهش اکسیداسیون لیپیدها و از دست رفتن رطوبت و عملکرد به عنوان حامل افزودنی‌های غذایی و عوامل ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی کیفیت محصولات تازه و منجمد را بهبود ببخشند. پوشش‌های خوراکی زیست تخریب پذیر دارای مزایای متفاوتی نسبت به پوشش‌های مصنوعی مانند خوراکی بودن و به طورکلی سازگاری با محیط زیست می‌باشند (۶).

پلیمرهای زیست تخریب پذیر، بیشتر از منابع حیوانی و گیاهی شامل پروتئین‌ها(ژلاتین، کلاژن، آب پنیر، سویا، ذرت و...) و کربوهیدرات‌ها (آگار، پکتین، کیتین، کیتوزان و....) می‌باشد. ژلاتین پروتئینی محلول در آب، مشتق شده از کلاژن، بدون طعم و رنگ و یکی از پلیمرهای زیستی و پرکاربرد در بسته بندی مواد غذایی و سایر صنایع است. ساختار پروتئین ژلاتین سبب توانایی تشکیل ژل و جذب اشعه ماوراء بنفش است که در ممانعت از اکسیداسیون محصولات غذایی مؤثر است. خواص عملکردی ژلاتین از جمله آبدوستی، توانایی تولید فیلم و کف، و قابلیت امولسیون‌کنندگی آن است که مناسب بودن آن را برای بسته بندی مواد غذایی اثبات می‌کند (۷).

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده و غیربیماری‌زا می‌باشند که جهت بهبود تعادل میکروبی به ویژه در دستگاه گوارش تجویز می‌شوند، آنها از مخمر *ساکارومایسس بولاردی* (*Saccharomyces bullardi*) و باکتری‌های اسیدلاکتیک می‌باشند، مانند گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم‌ها، پروبیوتیک‌ها اثرات مفید خود را از طریق مکانیسم‌های مختلف از جمله کاهش pH روده، کاهش کلونیزاسیون و تهاجم ارگانیسم‌های بیماریزا و اصلاح پاسخ ایمنی میزبان اعمال می‌کنند. فواید آنها مرتبط با یک گونه یا سویه برای سایر گونه‌ها صادق نیست (۸).

لاکتوباسیلوس رامنسوس (*Lactobacillus rhamensus*) از دهه ۱۹۸۰ به عنوان گونه پروبیوتیکی که بیشترین تحقیق در مورد آن صورت گرفته ظاهر شده است. طبق مطالعات صورت گرفته این باکتری دارای بزرگترین ژنوم گروه لاکتوباسیلوس‌ها بوده که در انتقال و متابولیسم کربوهیدرات‌ها و تولید مورامیداز جهت بهبود و ترمیم لایه‌های اپیتلیالی و تولید باکتریوسین نقش دارد (۹). *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (*Lactobacillus acidophilus*) به عنوان یک نگهدارنده توانایی افزایش ماندگاری موادغذایی را دارد، این باکتری به عنوان یک پروبیوتیک عمل می‌کند، علاوه بر این به دلیل تولید مواد ضدمیکروبی خاص مانند اسیدها، پراکسیدهیدروژن، اسیدهای چرب، دی پپتیدها، باکتریوسین‌ها و... می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده زیستی مورد استفاده قرار بگیرد (۷).

استافیلوکوکوس اورئوس یک باکتری بدون حرکت و به صورت زنجیر کوتاه یا خوشه‌های انگور می‌باشد، این باکتری هوازی بی هوازی اختیاری بوده و گرم مثبت و کاتالاز مثبت می‌باشد (۱۰). در همه جا یافت می‌شود و یک بیماریزای معمول انسانی می‌باشد و به عنوان فلور مشترک هم در نظر گرفته می‌شود، یک باکتری فرصت طلب که به دلیل مقاومت وسیع آنتی بیوتیکی منجر به مشکلات جدی سلامتی می‌شود، مصرف انتروتوکسین‌های تولید شده از آن در غذا منجر به مسمومیت غذایی با استاف به عنوان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های منتقله از طریق غذا می‌باشد (۱۱). آلودگی استافیلوکوکی آبزیان معمولا به صورت ثانویه و در شرایط بهداشتی ضعیف مرحله تولید و فرآوری محصولات رخ می‌دهد، خطر آلودگی در محصولات پخته به دلیل حذف فلور طبیعی بیشتر می‌باشد (۱۲).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-12]

هدف از این مطالعه، بررسی اثر فیلم ژلاتینی حاوی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر بقای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و خصوصیات فیزیکوشیمیایی فیله ماهی کپور نگهداری شده در دمای یخچال به مدت ۹ روز می‌باشد.

• مواد و روش‌ها

تهیه باکتری‌های موردمطالعه

باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 29213)، *لاکتوباسیلوس رامنسوس* (PTCC 1637) و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (PTCC 1643) از آزمایشگاه گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه و طبق پروتکل شهبازی و همکاران فعال سازی شد (۱۳). بدین صورت که ابتدا باکتری به محیط کشت MRS براث (مرک، آلمان) استریل اضافه شدند و در دمای۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. پس از آن یک کشت مجدد ۴۸ ساعته به منظور دستیابی به حداکثر تعداد پروبیوتیک‌های فعال، داده شد.

باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نیز در لوله‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط BHI براث(مرک، آلمان) در دمای ۳۵ درجه به مدت ۱۸ساعت کشت داده شد.

تهیه میزان تلقیح باکتری مورد مطالعه

برای تهیه‌ی میزان تلقیح باکتری‌های پروبیوتیک، از کشت MRS براث که بعد از ۲۴ ساعت یک کشت مجدد از آن تهیه و به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد، استفاده گردید رسوب باکتریایی با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار (سیگما، آلمان)، در دمای ۴ درجه سلسیوس، با دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۴ دقیقه جداسازی شد. پس از ته‌نشین شدن کامل رسوب باکتریایی، مایع رویی تخلیه شده و ۲ میلی‌لیتر محلول سرم فیزیولوژی استریل ۰/۹ درصد به لوله‌ها اضافه شد. سپس لوله‌ها ورتکس شدند تا رسوب باکتریایی در سرم فیزیولوژی به صورت یکنواخت پخش گردد. عمل سانتریفیوژ کردن و شستشوی باکتری با سرم فیزیولوژی استریل دو بار تکرار گردید و در نهایت با تخلیه مایع رویی، ۲ میلی‌لیتر دیگر سرم فیزیولوژی استریل به لوله‌ها اضافه شد و در نهایت لوله‌ها ورتکس شدند. برای تهیه دز تلقیح باکتری، دستگاه اسپکتروفوتومتر (Jenay, England) روی طول موج ۶۰۰ نانومتر تنظیم و با کووت حاوی سرم فیزیولوژی استریل، صفر گردید. از سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده، مقدار مناسبی به داخل کووت منتقل شد و جذب نوری باکتری روی عدد ۰/۱ تنظیم گردید. سپس از سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده، ۱ میلی‌لیتر برداشته و با انتقال آن به لوله حاوی ۹ میلی‌لیتر آب پپتونه استریل ۰/۱ درصد، رقت‌های متوالی تا ۶- تهیه شد. از رقت‌های ۵- و ۶- در پلیت‌های حاوی محیط‌های کشت اختصاصی به صورت سطحی و سه تکرار کشت داده شد و پس از ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه با استفاده از جار بی‌هوازی (مرک، آلمان) و گاز پک نوعA (مرک، آلمان)، پرگنه‌ها شمارش گردید. تعداد باکتری‌ها بر حسب cfu/mL محاسبه گردید (۱۴).

تهیه فیلم ژلاتینی

ژلاتین پوست ماهیان سردآبی (Gelatin from cold water fish skin) (مرک، آلمان) تهیه شده از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان خریداری شد. محلول‌های ژلاتین (۳/۵ گرم) با حل کردن هر یک در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با همزن مغناطیسی در دمای اتاق بهم زده شدند سپس، گلیسرول (مرک، آلمان) و ۰/۰۲ گرم توئین ۸۰ به عنوان امولسیفایر در ۳۰٪ (وزنی/ وزنی) هیدروکلوئیدها به مدت ۱۵ دقیقه مخلوط گردید. پس از آن، محلول‌ها در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند و قبل از افزودن پروبیوتیک اجازه دادند تا در دمای اتاق خنک شوند. پنج میلی‌لیتر(تعداد 10^9 cfu/mL) از هر پروبیوتیک جداگانه اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه با دستگاه اولتراتوراکس (ultra turrax) (IKA T18 digital) با دور ۱۰۰۰۰ هم زده شد. برای تهیه فیلم‌ها، ۲۰ میلی‌لیتر از محلول‌ها روی ظروف پلاستیکی استریل پتری(قطر داخلی ۹ سانتی متر) ریخته و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۲ ساعت خشک شدند تا ضخامت یکنواختی به دست آید(۱۵). فیلم‌های پر شده با پروبیوتیک در کیسه‌های پلاستیکی ذخیره و در دمای ۴ یا ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

بررسی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در فیلم ژلاتین

شمارش باکتری‌های پروبیوتیک بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۳۲۵ انجام گردید. به منظور بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک مورد مطالعه در فیلم ژلاتین، ۱ گرم از فیلم‌های تهیه شده با ۹ میلی‌لیتر آب پپتونه (Phosphate buffered saline) ۰/۱ درصد در داخل لوله آزمایش مخلوط و به مدت ده دقیقه ورتکس شد و در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۱ ساعت قرار گرفت. پس از ورتکس کردن آن، سری رقت‌ها با افزایش ۱ میلی‌لیتر به ۹ میلی‌لیتر آب پپتونه استریل ۰/۱ درصد اضافه گردید. پس از ورتکس لوله، به همین ترتیب رقت‌های متوالی تا ۷- تهیه گردیده و سپس از هر رقت، ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و برای شمارش تعداد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به مدت ۹ روز (صفر، ۳، ۶، ۹) در پلیت‌های حاوی محیط MRS آگار و در سه تکرار

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-12]

با میله ی L شکل به صورت سطحی کشت داده شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و در شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری و سپس پرگنه باکتری‌ها شمارش گردید. نتایج شمارش برحسب cfu/g گزارش شد (۱۴).

آماده سازی نمونه‌های ماهی کپور

ماهی کپور ساده از یکی از مراکز معتبر پرورش ماهی خریداری و در شرایط کاملاً استریل و در ظروف مخصوصی به همراه یخ به آزمایشگاه منتقل گردید و پس از اقدامات لازم جهت فیله گیری، از هر ماهی ۲ فیله ۱۰۰ گرمی تهیه شد.

پس از شستشوی فیله‌ها و خشک شدن بلافاصله فیله آن توسط قیچی و اسکالپل استریل جدا و سپس قطعات ۱۰ گرمی از گوشت ماهی به عنوان نمونه تهیه شد و به طریق غوطه وری در الکل ۷۰ درصد استریل گردید. همچنین، اطمینان از عدم آلودگی نمونه‌ها به *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام گردید که بدین منظور ۵ گرم فیله ماهی در ۴۵ میلی‌لیتر آب پپتونه ۰/۱ درصد حل شده و پس از تهیه سریال رقت کشت میکروبی نمونه‌ها در محیط کشت برد پارکر آگار(مرک، آلمان) انجام شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرمخانه-گذاری صورت گرفت.

آماده سازی *استافیلوکوکوس اورئوس*

باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* از گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد.

محیط کشت عمومی مناسب برای این باکتری BHI آگار (مرک، آلمان) است که دو مرتبه متوالی باکتری را داخل این محیط، کشت داده سپس در دمای ۳۷ درجه به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شد. سپس به وسیله ی یک لوپ استریل ۴ تا ۵ کلنی برداشته و به کووت‌های حاوی ۵-۱۰ میلی‌لیتر محیط BHI براث انتقال داده شد و به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۳۵ درجه گرمخانه‌گذاری شدند. سپس میزان جذب نوری در ۰/۱-۰/۰۸ و طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین گردید. جذب بین ۰/۱-۰/۰۸ معادل میزان $۱/۵\times۱۰^{۸}$ cfu/mL می‌باشد و سپس غلظت $۱۰^{۶}$ cfu/mL تهیه گردید (۱۶).

تلقیح *استافیلوکوکوس اورئوس*

به منظور تلقیح باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، از هر تیمار (تیمارها شامل: نمونه‌های کنترل، فیلم، فیلم حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس*، فیلم حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و فیلم حاوی ترکیب هر دو باکتری پروبیوتیک تهیه شده) نمونه‌های ماهی مورد نظر به مدت ۵ دقیقه در داخل سوسپانسیون باکتریایی حاوی $۱۰^{۶}$ log cfu/mL قرار داده شد. به منظور خشک‌شدن سطح نمونه‌ها، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد و سپس تا انجام سایر مراحل آزمایش در دمای یخچال نگهداری گردید (۱۷).

بررسی های میکروبی

شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس*

طی روزهای نگهداری (صفر، ۱، ۳، ۶ و ۹) به منظور شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت، ۱۰ گرم از گوشت فیله با ۹۰ میلی‌لیتر پپتون بافر استریل در یک کیسه استریل قرار داده شد و توسط استومیکر به مدت ۲ دقیقه همگن گردید، علاوه بر این رقت‌های سریالی با پپتون بافر تهیه و هر رقت در محیط کشت برد پارکر آگار به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به صورت سطحی کشت داده شد. پس از شمارش تعداد به صورت Log واحدهای تشکیل دهنده کلنی در هر گرم بیان گردید و برای تست تأییدی نیزازتست کوآگولاز در لوله استفاده شد (۱۷).

آزمون‌های شیمیایی

اندازه‌گیری pH نمونه

pH نمونه‌ها طی روزهای نگهداری براساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۵۲ اندازه‌گیری گردید. مقدار ۱۰ گرم از نمونه فیله ماهی کپور خرد شده به یک کیسه استریل منتقل شده و با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و با کمک دستگاه اولتراتوراکس به مدت ۲ دقیقه کاملا مخلوط و هموژن گردید (سوسپانسیون) و با استفاده از دستگاه pH متر (Metrohm, Switzerland) دیجیتال میزان pH آن ارزیابی شد(۱۸).

تعیین عدد پراکسید (PV)

سه گرم از نمونه را در بن ماری به مدت ۳ دقیقه در ۶۰ درجه سلسیوس قرار داده تا چربی موجود در آن ذوب شود. سپس ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک-کلروفرم به نسبت ۶۰ به ۴۰ حجمی و ۰/۵ میلی‌لیتر یدید پتاسیم اشباع به آن افزوده و یک دقیقه در تاریکی هم زده شد. محلول به وسیله تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال تا بی رنگ شدن محلول تیتر شد و با استفاده از فرمول زیر(فرمول شماره ۱) میزان پراکسید بر حسب میلی اکی والان پراکسید در ۱۰۰۰ گرم چربی، محاسبه گردید (۱۹).

$$POV(meq/kg)= V.N.1000/W$$

وزن چربی بر حسب گرم(W)

نرمالیه تیوسولفات(N)

میلی لیتر تیوسولفات جهت تیتراسیون(V)

سنجش میزان مواد ازته فرار (TVB-N)

اندازه‌گیری بازهای ازته فرار به روش ماکروکلدال انجام گرفت. ۱۰ گرم نمونه کاملاً هموژن شده درون بالن ریخته شد و میزان ۲ گرم اکسید منیزیوم و ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر و

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-12]

چند عدد پرل شیشه‌ای به آن افزوده و به سایر قسمت‌های دستگاه کلدال در ارلن گیرنده که در زیر مبرد قرار دارد(به نحوی که انتهای مبرد داخل محلول باشد) متصل شد. محلول اسید بوریک ۲درصد تهیه و برای انحلال بهتر حرارت داده شد. مقدار ۲۵ میلی‌لیتر اسید بوریک ۲ درصد و چند قطره معرف متیل اورانژ ۰/۱ درصد الکلی ریخته شد که در این حالت رنگ آن تغییر یافت. آنگاه بالن هضم را حرارت داده به نحوی که محتویات آن ظرف ۱۰ دقیقه به جوش آید، از زمان جوش ۲۵ دقیقه عمل تقطیر را ادامه داده که در این حالت آنچه بازهای فرار در فیله موجود باشد تقطیر و جذب محتویات ارلن گیرنده شده، رنگ محلول را به رنگ آبی درآورد، سپس حرارت را قطع کرده و محلول تقطیرشده را به وسیله اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تا ظهور رنگ قرمز تیتر شد (۱۹).

اندازه‌گیری اندیس تیوباربیتیوریک اسید (TBARS)

این شاخص با افزودن ۹۷/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۴ نرمال به ۱۰ گرم از نمونه هموژن شده اندازه‌گیری شد. ۵ میلی‌لیتر از مایع حاصل از تقطیر این مخلوط به ۵ میلی‌لیتر معرف تیوباربیتیوریک اسید (مرک، آلمان) افزوده و به مدت ۳۵ دقیقه در بن ماری و دمای جوش قرار داده شد. پس از سرد شدن میزان جذب نوری محلول صورتی رنگ در ۵۳۸ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenay, England) اندازه‌گیری شد. اندیس تیوباربیتیوریک اسید (TBARS) طبق فرمول زیر بر حسب میلی گرم مالون الدهید در هر کیلوگرم نمونه ارزیابی گردید (۲۰).

ارزیابی خواص ارگانولپتیک (حسی)

ابتدا فیله‌های ماهی کپور از مراکز عرضه ی معتبر تهیه و پس از استریل شدن به نمونه‌های ۱۰ گرمی تقسیم شدند. تیمارها تهیه شدند. هرکدام از تیمارها در ۳ تکرار انجام گردید. قطعات نمونه‌ی ۱۰ گرمی ماهی درون کیسه‌های پلی اتیلنی استریل قرار داده شد و به مدت ۹ روز با فاصله زمانی ۳ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه‌ها در هر مرحله ارزیابی به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه توسط دستگاه بخارپز خانگی پخته شدند و به صورت گرم درون ظرف کدگذاری شده به گروه ارزیابی حسی ارائه شدند. ویژگی های رنگ، بو و مقبولیت کلی نمونه‌های ماهی توسط ۹ ارزیاب آموزش دیده(تست پانل ۹ نفره از دانشجویان و فارغ التحصیلان رشته بهداشت و کنترل کیفیت مواد غذایی) تحت شرایط مکان، نور و ظروف یکسان انجام شد. داوری‌ها بدون دانستن نوع تیمار آزمایشی و فقط با مشخص کردن کدهای ۳رقمی که به صورت تصادفی نوشته شده بود انجام پذیرفت. در این روش از پرسش نامه ای حاوی امتیاز به ویژگی های حسی مورد مطالعه، استفاده شد و امتیاز دهی نیز از عدد ۹-۱ بود (۲۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمون‌های آماری با استفاده از برنامه نرم افزاری Spss نسخه‌ی ۲۱ انجام شد، آنالیز واریانس یک‌طرفه و دوطرفه (ANOVA) انجام گردید و تفاوت میان جفت میانگین‌ها بر اساس فواصل اطمینان با استفاده از آزمون Tukey-b انجام گرفت و سطح اطمینان معنی‌داری P<۰/۰۵ لحاظ شد. به منظور آنالیز نتایج حسی از تست کروسکال والیس استفاده شد.

• یافته‌ها

بقاء باکتری‌های پروبیوتیک در فیلم‌های ژلاتین

زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در فیلم ژلاتین در طول ۹ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس در نمودار ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، در روز صفر بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود ندارند (p>۰/۰۵). در طول مطالعه، زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در تیمارهای حاوی باکتری پروبیوتیک دارای روند کاهشی بوده است. در تیمارهای ۳ و ۴ زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به ترتیب از ۹/۰۵ log cfu /g و ۹/۰۲ log cfu /g در روز صفر مطالعه به ۷/۰۳ log cfu /g و ۷/۸۸ در روز ۹ که آخرین روز مطالعه بود، رسید و مشخص شد بیشترین میزان بقاء باکتری‌های پروبیوتیک مربوط به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می‌باشد.

در تیمار ۵ نیز زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنسوس* از ۸/۹۸ log cfu/g در روز صفر به ۶/۰۱ log cfu/g در روز آخر(روز ۹) و زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نیز از ۸/۹۹ log cfu/g به ۶/۷۱ log cfu/g در روز ۹ رسید که مشخص کننده زنده‌مانی بیشتر باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در فیلم ژلاتین به همراه دو باکتری پروبیوتیک می‌باشد.

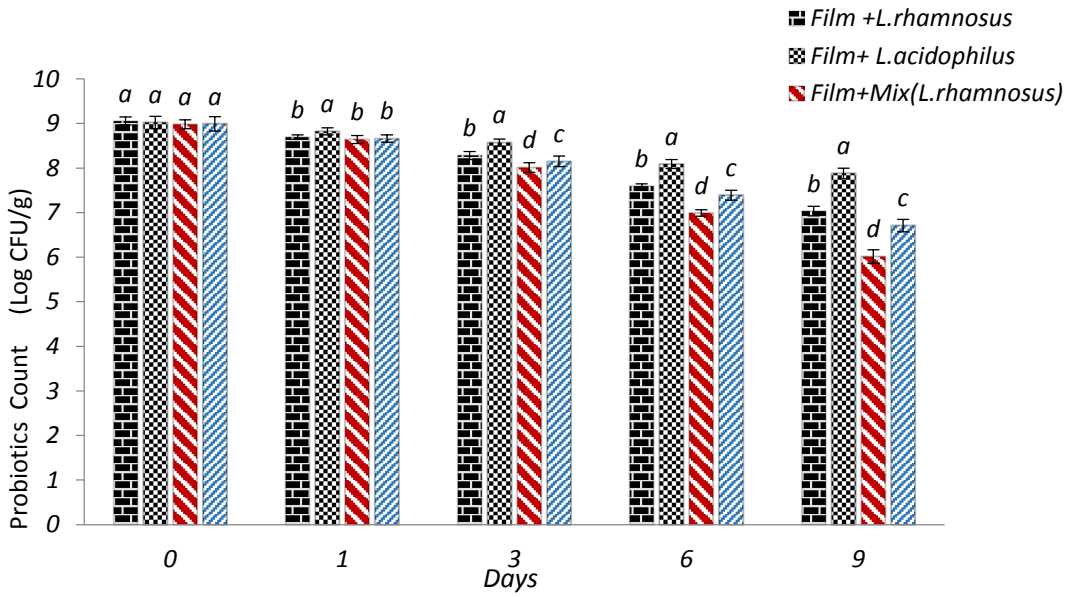
نتایج شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*

نتایج شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در تیمارهای فیله ماهی کپور بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طی نگهداری در دمای یخچال به مدت ۹ روز، همراه با گروه کنترل در نمودار ۲ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، در روز صفر بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود ندارند (p>۰/۰۵). رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در همه ی گروه‌های مورد مطالعه در طی ۹ روز نگهداری دارای روندی افزایشی بوده

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-12]

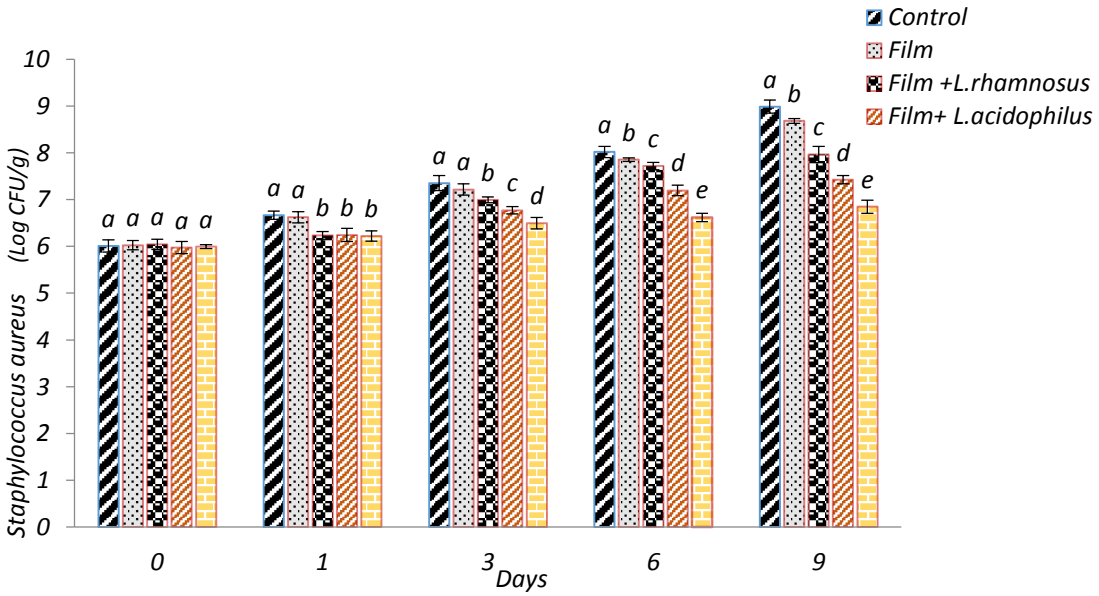
است. شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* در تیمار کنترل در ابتدای مطالعه ۶/۰۱ log cfu/g بوده و به ۸/۹۸ log cfu/g در روز ۹ مطالعه رسید. شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* در تیمار ۲ از ۶/۰۲ log cfu/g به ۸/۶۸ log cfu/g در روز ۹ رسید. در تیمار ۳ و ۴ در روز ۹ به ترتیب به ۷/۹۶ log cfu/g و ۷/۴۲ log cfu/g رسید. از روز صفر تا پایان مطالعه، شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* در تیمار ۵ نسبت به کنترل به طوری معنی‌داری کاهش یافت ($P<۰/۰۵$) به طوری که در این تیمار شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* در روز صفر از log cfu/g ۵/۹۹ به log cfu/g ۶/۸۴ در روز ۹ رسید که کمترین در بین تمامی گروه‌ها در روز آخر بود و نشان دهنده ی کارایی موفق تر این تیمار نسبت به دیگر گروه‌ها بود.

تیمار ۲ تا روز سوم مطالعه اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نداشت اما تیمارهای ۳،۴ و ۵ از روز اول مطالعه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشتند($P<۰/۰۵$) که خواص ضدمیکروبی ضعیف فیلم ژلاتین خالص را به اثبات می رساند.



نمودار ۱. زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس رامنسوس* در فیلم ژلاتین در طی نگهداری در دمای یخچال به مدت ۹ روز بر حسب log g/cfu (میانگین±انحراف معیار)

حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) و حروف کوچک مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است ($p>۰/۰۵$)



نمودار ۱. نتایج شمارش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در تیمارهای فیله ماهی کپور بسته بندی شده با پوشش ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طی نگهداری در دمای یخچال بر حسب log cfu/g (میانگین±انحراف معیار)

حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) و حروف کوچک مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است ($p>۰/۰۵$)

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-12]

نتایج ارزیابی میزان pH

نتایج ارزیابی اثر فیلم ژلاتینی حاوی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طول ۹ روز مطالعه در دمای یخچال بر میزان pH نمونه‌های ماهی کپور، در جدول ۱ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود،

روند pH در تمامی تیمارها به صورت افزایشی بوده است و در روز صفر بین آنها اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود ($P>۰/۰۵$) در حالی که در روز ۹، pH تیمارکنترل تفاوت معنی‌داری ($P <۰/۰۵$) با دیگر تیمارها داشت. بر اساس نتایج به دست آمده، pH گروه کنترل از ۶/۲۳ در روز صفر، به ۷/۲۲ در روز ۹ رسید. در روز ۹ فیله ماهی کپور بسته بندی شده با فیلم ژلاتین خالص برابر با ۶/۹۷ در نمونه‌های تیمار ۳ برابر با ۶/۶۱ و در نمونه‌های فیله ماهی کپور بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* برابر با ۶/۵۱ و در نمونه‌های تیمار ۵ برابر با ۶/۴۳ بود.

در میزان pH نمونه‌های ماهی کپور بسته‌بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نسبت به نمونه‌های تیمار کنترل در طول مطالعه به استثنای روز صفر، تفاوت معنی‌داری ($P <۰/۰۵$) مشاهده شد و همچنین کمترین و بیشترین (کمترین مقدار pH) اختلاف میزان pH با تیمار کنترل به ترتیب مربوط به تیمار ۲ و نمونه‌های تیمار ۵ بود.

نتایج ارزیابی میزان اندیس پراکسید(PV)

نتایج اندازه‌گیری میزان پراکسید در تیمارهای فیله ماهی کپور بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طی نگهداری در دمای یخچالی به مدت ۹ روز، همراه با تیمار کنترل در جدول ۲ ارائه شده است. بر اساس نتایج به دست آمده در عدد پراکسید، تیمار شاهد نسبت به تمامی تیمارهای دیگر از روز ۳ تا روز ۹ تفاوت معنی‌داری ($P <۰/۰۵$) مشاهده شد اما روند کلی در تمامی تیمارها به صورت صعودی بود.

عدد پراکسید تیمار کنترل در روز صفر ۰/۸۲ meq/kg بود و در روز ۹ به ۳/۹۵ meq/kg رسید. در تیمار ۲ در روز آخر به ۳/۱۲ meq/kg، در تیمار ۳ در روز آخر به ۲/۲۳ meq/kg و در تیمار ۴ به ۲/۰۵ meq/kg و در تیمار ۵ برابر با ۱/۸۸ meq/kg که کمترین میزان را داشت، رسید. عدد پراکسید در تیمارهای حاوی پروبیوتیک به جز روز صفر در دیگر روزهای مطالعه به صورت معنی‌داری ($P <۰/۰۵$) کمتر از عدد پراکسید در تیمار کنترل بود.

جدول ۱. میانگین تغییرات pH در تیمارهای مختلف ماهی کپور نگهداری شده در دمای یخچال (میانگین±انحراف معیار)

تیمار	روز				
	صفر	۱	۳	۶	۹
Con (T1)	۶/۲۳ ± ۰/۰۴^{a}	۶/۶۲ ± ۰/۰۱^{a}	۶/۷۷ ± ۰/۰۲^{a}	۶/۹۲ ± ۰/۰۱^{a}	۷/۲۲ ± ۰/۰۰^{a}
Film (T2)	۶/۲۳ ± ۰/۰۴^{a}	۶/۵۹ ± ۰/۰۰^{a}	۶/۷۵ ± ۰/۰۲^{a}	۶/۸۲ ± ۰/۰۲^{b}	۶/۹۷± ۰/۰۱^{b}
L.R (T3)	۶/۲۳ ± ۰/۰۴^{a}	۶/۳۷ ± ۰/۰۱^{b}	۶/۴۷ ± ۰/۰۱^{b}	۶/۵۸ ± ۰/۰۱^{c}	۶/۶۱ ± ۰/۰۱^{c}
L.A (T4)	۶/۲۳ ± ۰/۰۴^{a}	۶/۳۸ ± ۰/۰۲^{b}	۶/۴۶ ± ۰/۰۳^{b}	۶/۵۲ ± ۰/۰۱^{d}	۶/۵۱ ± ۰/۰۱^{d}
L.R + L.A (T5)	۶/۲۳ ± ۰/۰۴^{a}	۶/۲۷ ± ۰/۰۱^{c}	۶/۳۲ ± ۰/۰۰^{c}	۶/۳۶ ± ۰/۰۳^{e}	۶/۴۳ ± ۰/۰۲^{e}

حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) و حروف کوچک مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است ($p>۰/۰۵$)

جدول ۲. میانگین تغییرات PV در تیمارهای مختلف فیله ماهی کپور نگهداری شده در دمای یخچال (میانگین±انحراف معیار) بر حسب meq/kg (میلی اکی والان پراکسید در ۱ کیلوگرم چربی)

تیمار	روز				
	صفر	۱	۳	۶	۹
Con (T1)	۰/۸۲ ± ۰/۰۲^{a}	۱/۳۷ ± ۰/۰۲^{a}	۲/۲۸ ± ۰/۰۱^{a}	۳/۰۱ ± ۰/۰۳^{a}	۳/۹۵ ± ۰/۰۲^{a}
Film (T2)	۰/۸۲ ± ۰/۰۲^{a}	۱/۳۵ ± ۰/۰۲^{a}	۲/۰۹ ± ۰/۰۲^{b}	۲/۵۴ ± ۰/۰۱^{b}	۳/۱۲ ± ۰/۰۱^{b}
L.R (T3)	۰/۸۲ ± ۰/۰۲^{a}	۱/۱۸ ± ۰/۰۱^{b}	۱/۴۷ ± ۰/۰۳^{c}	۱/۹۷ ± ۰/۰۲^{c}	۲/۲۳ ± ۰/۰۰^{c}
L.A (T4)	۰/۸۲ ± ۰/۰۲^{a}	۱/۱۱ ± ۰/۰۱^{c}	۱/۲۳ ± ۰/۰۱^{d}	۱/۸۷ ± ۰/۰۱^{d}	۲/۰۵ ± ۰/۰۱^{d}
L.R + L.A (T5)	۰/۸۲ ± ۰/۰۲^{a}	۱/۱۲ ± ۰/۰۲^{c}	۱/۲۰ ±۰/۰۲^{d}	۱/۴۶ ±۰/۰۲^{d}	۱/۸۸ ± ۰/۰۲^{e}

حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) و حروف کوچک مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است ($p>۰/۰۵$)

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-12]

نتایج ارزیابی میزان TVB-N

نتایج ارزیابی مواد ازته فرار در تیمارهای فیله ماهی کپور بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طی نگهداری در دمای یخچالی به مدت ۹ روز، همراه با تیمار کنترل در جدول ۳ گزارش شده است. روند کلی مواد ازته فرار در نمونه‌ها در طول مطالعه به صورت صعودی بود.

میزان مواد ازته فرار در نمونه‌های فیله ماهی کپور در روز صفر ۹/۸۸ mg/100g بود که در روز ۹ به ۳۹/۸۶ mg/100g رسید. در روز ۹ این عدد برای تیمار فیله ماهی کپور بسته بندی شده با فیلم ژلاتین برابر با ۲۸/۳۴ mg/100g، برای تیمار ۳ برابر ۱۹/۴۴ mg/100g، برای تیمار ۴ ۱۸/۸۰ mg/100g، برای تیمار ۵ نیز ۱۴/۹۸ mg/100g بود، تمامی تیمارهای فیله ماهی کپور بسته بندی شده با فیلم ضدمیکروبی مورد استفاده در روز ۹، تفاوت معنی‌داری در میزان مواد ازته فرار نسبت به تیمار کنترل نشان دادند ($P <$۰/۰۵) .کمترین میزان مواد ازته فرار در تمامی مطالعه مربوط به تیمار ۵ بود.

نتایج ارزیابی میزان اندیس تیوباربیتوریک اسید (TBARS)

نتایج ارزیابی TBARS در تیمارهای فیله ماهی کپور بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طی نگهداری در دمای یخچالی به مدت ۹ روز، همراه با تیمار کنترل در جدول ۴ گزارش شده است. روند کلی در نمونه‌ها در طول مطالعه به صورت افزایشی بود. میزان TBARS در نمونه‌های فیله ماهی کپور در روز صفر ۰/۳۸ mg mda/kg بود که در روز ۹ به ۳/۰۸ mg mda/kg رسید. در روز ۹ (پایان مطالعه) این مقدار برای تیمارهای ۲، ۳ و ۴ به ترتیب برابر ۲/۹۴ mg mda/kg، ۱/۸۴ mg mda/kg و ۱/۶۱ mg mda/kg گزارش شد. همچنین نتیجه این آزمون برای تیمار ۵ ۱/۳۹ mg mda/kg بود که کمترین میزان را در بین تمامی گروه‌ها در پایان مطالعه دارا بود.

جدول ۳. میانگین تغییرات TVB-N در تیمارهای مختلف فیله ماهی کپور نگهداری شده در دمای یخچال (میانگین±انحراف معیار) بر حسب mg/100g (میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه فیله ماهی کپور)

تیمار	روز				
	صفر	۱	۳	۶	۹
Con (T1)	۹/۸۸ ± ۰/۰۱^{a}	۱۰/۹۶ ± ۰/۰۳^{a}	۱۹/۰۲ ± ۰/۰۱^{a}	۲۵/۲۴ ± ۰/۰۱^{a}	۳۹/۸۶ ± ۰/۰۱^{a}
Film (T2)	۹/۸۸ ± ۰/۰۱^{a}	۱۰/۹۸ ±۰/۰۱^{a}	۱۶/۱۸ ± ۰/۰۱^{b}	۱۹/۹۹ ± ۰/۰۳^{b}	۲۸/۳۴ ± ۰/۰۱^{b}
L.R (T3)	۹/۸۸ ± ۰/۰۱^{a}	۱۰/۶۸ ± ۰/۰۲^{b}	۱۳/۰۱ ±۰/۰۰^{c}	۱۵/۱۰ ± ۰/۰۳^{c}	۱۹/۴۴ ± ۰/۰۱^{c}
L.A (T4)	۹/۸۸ ± ۰/۰۱^{a}	۱۰/۵۵ ± ۰/۰۲^{c}	۱۲/۸۶ ± ۰/۰۲^{d}	۱۴/۱۲ ± ۰/۰۱^{d}	۱۸/۸۰ ± ۰/۰۲^{d}
L.R + L.A (T5)	۹/۸۸ ± ۰/۰۱^{a}	۱۰/۵۴ ± ۰/۰۱^{c}	۱۱/۲۶ ± ۰/۰۰^{e}	۱۲/۲۳ ± ۰/۰۲^{e}	۱۴/۹۸ ± ۰/۰۱^{e}

حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) و حروف کوچک مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است (p>۰/۰۵)

جدول ۴. میانگین تغییرات TBARS در تیمارهای مختلف فیله ماهی کپور نگهداری شده در دمای یخچال (میانگین±انحراف معیار) بر حسب mg mda/kg (میلی گرم مالون الدهید در هر کیلوگرم نمونه)

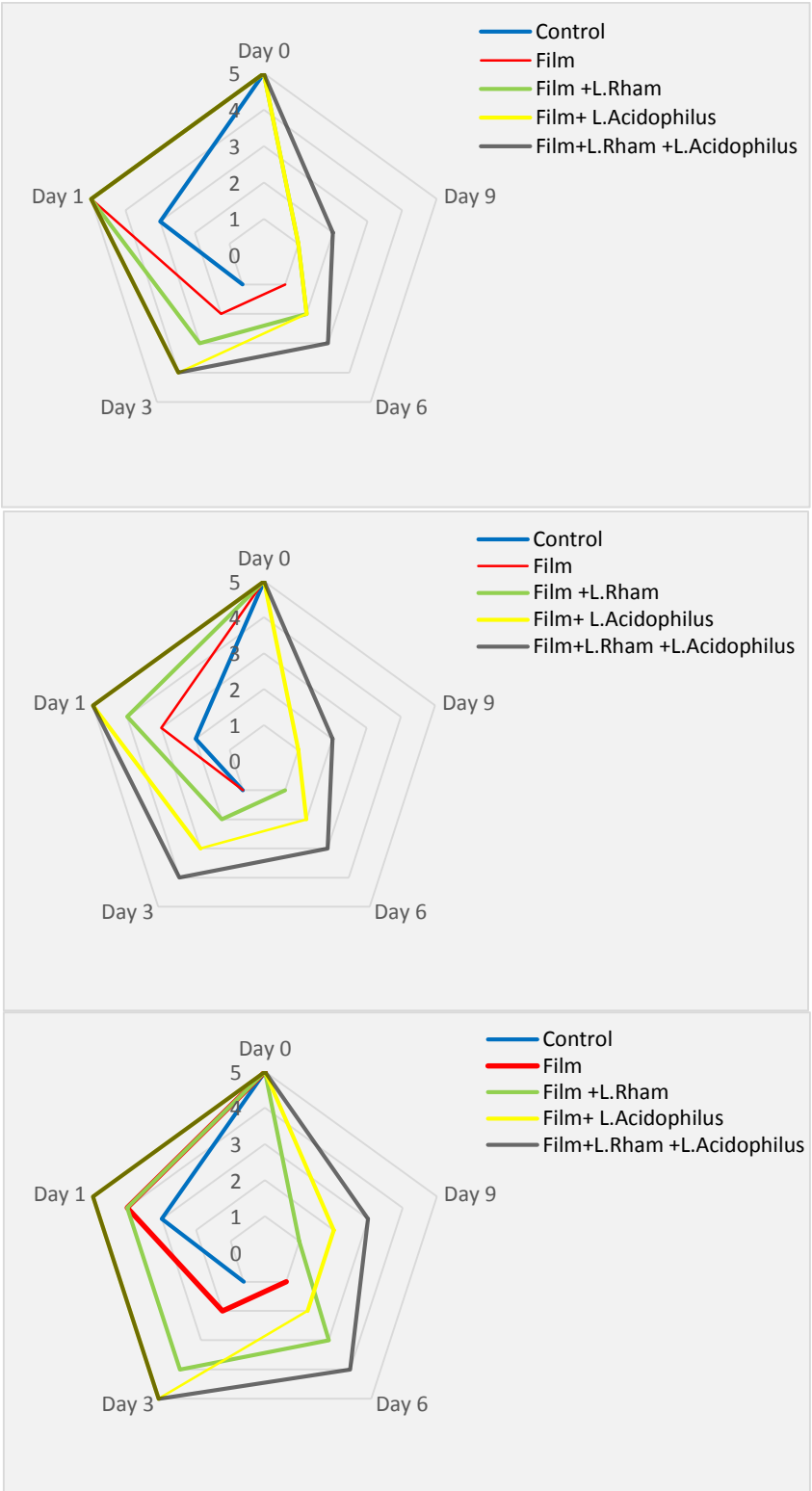
تیمار	روز				
	صفر	۱	۳	۶	۹
Con (T1)	۰/۳۸ ± ۰/۰۱^{a}	۱/۰۶ ± ۰/۰۱^{a}	۱/۷۸ ± ۰/۰۳^{a}	۲/۳۱ ± ۰/۰۴^{a}	۳/۰۸ ± ۰/۰۲^{a}
Film (T2)	۰/۳۸ ± ۰/۰۱^{a}	۱/۰۳ ± ۰/۰۱^{a}	۱/۵۹ ± ۰/۰۱^{b}	۲/۱۵ ± ۰/۰۳^{b}	۲/۹۴ ± ۰/۰۴^{b}
L.R (T3)	۰/۳۸ ± ۰/۰۱^{a}	۰/۷۹ ± ۰/۰۲^{b}	۱/۳۵ ± ۰/۰۲^{c}	۱/۶۴ ± ۰/۰۲^{c}	۱/۸۴ ± ۰/۰۲^{c}
L.A (T4)	۰/۳۸ ± ۰/۰۱^{a}	۰/۶۸ ± ۰/۰۱^{c}	۱/۲۹ ± ۰/۰۲^{d}	۱/۴۴ ± ۰/۰۱^{d}	۱/۶۱ ± ۰/۰۳^{d}
L.R + L.A (T5)	۰/۳۸ ± ۰/۰۱^{a}	۰/۶۹ ± ۰/۰۲^{c}	۱/۱۲ ±۰/۰۱^{e}	۱/۲۶ ±۰/۰۳^{e}	۱/۳۹ ± ۰/۰۱^{e}

حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) و حروف کوچک مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است (p>۰/۰۵)

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-12]

نتایج ارزیابی حسی

نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های فیله ی ماهی کپور نگهداری شده در دمای یخچال تا روز ۹، در نمودار ۳ گزارش شده است. بر طبق نتایج، تفاوت معنی‌داری در خواص حسی نمونه‌های نگهداری شده در روز صفر مطالعه مشاهده نگردید ($P>۰/۰۵$). ویژگی‌های مورد مطالعه در تمامی گروه‌ها در طول مطالعه به طور معنی‌داری دارای روندی کاهشی بود ($P>۰/۰۵$). بسته بندی نمونه‌ها با فیلم ژلاتین حاوی باکتری پروبیوتیک اثر نامطلوبی بر خواص حسی آنها نداشت. در مجموع در تمامی ویژگی های مورد بررسی، بالاترین امتیاز مربوط به تیمار ۵ گزارش گردید و مشخص شد این پوشش سبب حفظ بیشتر خواص ارگانولپتیکی محصول گردیده است.



نمودار ۲. تغییرات خصوصیات حسی شامل رنگ(a)، بو(b)، پذیرش کلی(c) در فیله های ماهی کپور نگهداری شده در دمای یخچال

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-12]

• بحث

ارزیابی میکروبی

بر طبق نتایج، فیلم ژلاتین خالص تا حدی سبب رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در فیله‌های ماهی کپور شده است اما تیمارهای ۳،۴ و۵ خواص ضدمیکروبی بالاتری را نشان دادند که با نتایج مطالعه Han و همکاران (۲۰۱۷) که اثر ضد باکتریایی فیلم‌های آلژینات سدیم-کربوکسی متیل سلولز حاوی اسید پیروگالیک را بررسی کردند، مطابقت دارد. نتایج آنها نشان داد فیلم‌های آلژینات سدیم-کربوکسی متیل سلولز نسبت به گروه شاهد در برابر اشریشیا کلی و *استافیلوکوکوس اورئوس* مؤثرتر عمل کرده و رشد آنها را کنترل کردند (۲۳).

خواص ضدمیکروبی ضعیف ژلاتین به صورت خالص نیز در تحقیقاتی همانند مطالعه‌ای توسط رضایی و تقی زاده اندواری (۲۰۱۱) به اثبات رسیده است. در این مطالعه اثر پوشش ژلاتین ۴ درصد بر کیفیت فیله نوعی ماهی در طی ۲۰ روز مطالعه در دمای یخچال بررسی گردید که مشخص شد پوشش ژلاتین به تنهایی تأثیر زیادی بر کنترل رشد باکتری‌ها ندارد و در واقع دارای اثر ضدمیکروبی نمی‌باشد که این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد (۲۴).

همچنین در مطالعه‌ای اثر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و نوعی باکتری پروبیوتیک دیگر در پوشش و فیلم‌های خوراکی مورد بررسی قرار گرفت بر طبق نتایج، میزان باکتری‌های مورد مطالعه در ابتدا ثابت و در طول مدت نگهداری میزان کمی کاهش داشت. مشخص شد استفاده از فیلم ژلاتین حاوی باکتری‌های پروبیوتیک توأم با روشی دیگر که در کاهش بار میکروبی مؤثر می‌باشد (اعمال فشار هیدواستاتیک بالا) سبب افزایش معنی‌دار مدت زمان ماندگاری فیله ماهی مورد مطالعه گردید (۲۵).

همچنین در پژوهشی توسط فضل آرا و همکاران (۲۰۱۷) مشخص شد پوشش ژلاتین به تنهایی فاقد توانایی لازم بهبود زمان ماندگاری فیله‌های شترمرغ است، اما به عنوان یک پوششی برای انتقال ترکیبات مختلف به خصوص ترکیبات نگهدارنده و دارای فعالیت ضدمیکروبی می تواند استفاده شود و در افزایش مدت زمان ماندگاری تأثیرگذار باشد که این نتایج با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد (۲۶).

طبق نتایج این مطالعه، فیلم ژلاتین سبب افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک شده است که در ارتباط با این زمینه مطالعه‌ای با هدف بررسی مدت زمان بقاء باکتری *لاکتوباسیلوس رامنسوس* در فیلم‌های پروبیوتیک حاصل از ژلاتین و دیگر ترکیبات انجام شد که طبق یافته‌ها، در فیلم‌های بر پایه پروتئین تعداد باکتری روند صعودی داشته است که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد (۲۵).

فیلم‌های ژلاتین حاوی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* موجب کاهش معنی‌دار در تعداد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در فیله ماهی کپور نگهداری شده در دمای یخچال شدند ($P<۰/۰۵$) که با برخی مطالعات در این زمینه مطابقت دارند. به عنوان مثال در مطالعه‌ای فیلم حاوی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* موجب کاهش معنی‌دار شاخص‌های فساد میکروبی در نوعی ماهی نگهداری شده در دمای یخچال به مدت ۱۵ روز شده است(۵).

همچنین در مطالعه اثر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *ساکارومایسس سرویزیه* (*Saccharomyces cerevisiae*) بر بهبود زمان ماندگاری نوعی ماهی(تیلاپیا) بررسی شد و مشخص گردید این پروبیوتیک‌ها در فیلم آگار از فعالیت ضدمیکروبی در برابر سودوموناس های تولید کننده H_2S برخوردارند (۲۷).

در مطالعه‌ای اثر ضدمیکروبی فیلم‌های پروبیوتیک کربوکسی متیل سلولز کازئینات و کاربرد آن در افزایش ماندگاری فیله های نوعی ماهی ارزیابی گردید که طبق یافته‌ها مشخص شد افزودن پروبیوتیک‌ها در فیلم سبب تعویق در رشد میکروبی فیله‌ها و فساد آنها می‌شود (۲۸).

در پژوهشی اثر باکتریوسین (GP_1) *لاکتوباسیلوس رامنسوس* بر نوعی ماهی بررسی شد که اثبات گردید استفاده از این باکتریوسین در کنترل رشد کلی فرم‌ها (Coliform)، آئروموناس‌ها (Aeromonas)، لاکتوباسیلوس‌ها و ویبریو (Vibrio) مؤثر می‌باشد (۲۹).

در مطالعه فضل آرا و همکاران (۲۰۱۷) نیز تاثیر پوشش ژلاتین با غلظتی مشخص حاوی نوعی ترکیب ضدمیکروبی گیاهی بر ویژگی‌های میکروبی فیله‌ی شتر مرغ در دمای یخچال به مدت ۱۵ روز بررسی کردند. بر طبق یافته‌ها، این پوشش اثر معنی‌داری بر کاهش روند افزایشی تعداد باکتری های مولد فساد داشته است که این نتایج با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد(۲۶).

ارزیابی شیمیایی

روند کلی در تمامی گروه‌ها به صورت افزایشی بوده است به طوری که در روز ۹ (پایان مطالعه)، بیشترین pH مربوط به گروه کنترل(۷/۲۲) و کمترین pH مربوط به گروه فیلم ژلاتین+*لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (۶/۴۳) بود. افزایش pH در طول مطالعه می‌تواند به دلیل تولید ترکیبات قلیایی همچون آمونیاک و آمین‌ها حاصل از تجزیه پروتئین‌ها است اما در گروه کنترل به دلیل آلودگی باکتریایی

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-12]

بیشتر، ترکیبات نیتروژنی بیشتری نیز تولید شده است که با نتایج مطالعاتی توسط Latou و همکاران (۲۰۱۴) و Fan و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد (۳۰،۳۱).

کاهش pH به ویژه در گروه فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به علت وجود لاکتیک اسید در آن است که به نمونه نیز منتقل شده است و با مطالعه López و همکاران در سال ۲۰۱۲ و Fan و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد (۳۰، ۲۵).

میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک با تخمیر لاکتوز و تولید اسیدلاکتیک و اسید بوتیریک، pH محیط را کاهش میدهند و در کنترل رشد عوامل بیماری زایی که به این شرایط مقاوم نباشند، مؤثرند. در مطالعه‌ای Talwalkar و همکاران در سال ۲۰۰۴ اظهار کردند که بیفیدوباکتر قادر است لاکتوز را تخمیر و اسید استیک تولید نماید که خود به افت pH کمک می‌کند (۳۲).

در مطالعه‌ای اثر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *ساکارومایسس سرویزیه* (*Saccharomyces cerevisiae*) بر بهبود زمان ماندگاری ماهی تیلاپیا بررسی شد. نتایج این مطالعه که نشان دهنده اثر کاهشی pH توسط پروبیوتیک ها بوده، با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (۲۷).

Dave و همکاران (۱۹۹۷) نیز در مطالعه‌ای کاهش تدریجی pH به دلیل تخمیر را در ماست حاوی پروبیوتیک مشاهده کردند که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد (۳۳).

در مطالعه‌ای نیز که اثر حفاظتی باکتریوسین (GP_1) *لاکتوباسیلوس رامنسوس* بر ویژگی‌های شیمیایی فیله نوعی ماهی بررسی گردید مشخص شد pH فیله‌ها در طول مطالعه دارای روند کاهشی می‌باشند (۲۹).

ازت کل فرار (TVB-N)که به طور عمده از آمونیاک و آمین‌ها تشکیل شده اند و به عنوان شاخص فساد شدن در گوشت ماهی استفاده می‌شوند. با افزایش فعالیت باکتری‌ها و آنزیم‌ها، این شاخص نیز افزایش می یابد و موجب طعم نامطلوبی در ماهی می‌شود. به عنوان استاندارد میزان ۴۰-۳۵ میلی گرم TVB-N در ۱۰۰ گرم گوشت فاسد ماهی گزارش شده است. نتایج ارزیابی مواد ازته فرار در تیمارهای فیله ماهی کپور بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طی نگهداری در دمای یخچالی به مدت ۹ روز، همراه با تیمار کنترل در جدول ۳ گزارش شده است. روند کلی مواد ازته فرار در نمونه‌ها در طول مطالعه به صورت افزایشی بود و همان‌طور که ذکر شد دلیل آن می‌تواند ناشی از دهیدروژنه شدن جزئی بافت ماهی، اکسیداسیون لیپید و تولید متابولیت‌های فرار در حضور اکسیژن باشد (۳۴).

میزان مواد ازته فرار در روز ۹ (پایان مطالعه) در نمونه‌های شاهد ۳۹/۸۶ mg/100g (بیشترین مقدار و تقریبا خارج از حد مجاز) و در تیمار فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، ۱۴/۹۸ mg/100g گزارش شده در این مقدار، کمترین میزان بود. دلیل بیشترین میزان در گروه کنترل بار میکروبی بیشتر می‌باشد.

در پژوهشی فضل آرا و همکاران (۲۰۱۷) تأثیر پوشش ژلاتین حاوی ترکیب نگهدارنده ی گیاهی برخصوصیات شیمیایی فیله‌ی شتر مرغ در دمای ۴ درجه ی سلسیوس و در یک دوره ی ۱۵ روزه بررسی کردند. بر طبق یافته‌ها، از نظر فاکتورهای شیمیایی، تیمار ژلاتین حاوی ترکیب نگهدارنده ی گیاهی نسبت به سه گروه دیگر میزان ازت کل فرار کمتری را در مدت زمان نگهداری نشان داد که این نتایج با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد (۲۶).

همچنین در مطالعه‌ای اثر حفاظتی باکتریوسین (GP_1) *لاکتوباسیلوس رامنسوس* بر ویژگی های شیمیایی فیله نوعی ماهی بررسی شد، بر طبق یافته‌ها مشاهده شد محتوای TVB-N در طول دوره نگهداری در حد مجاز باقی ماند که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد (۲۹).

اکسیداسیون چربی‌ها یک مشکل اساسی در محصولات دریایی محسوب می‌شود. عدد پراکسید (PV) محصول اکسیداسیون اولیه چربی‌ها است و هر چقدر چربی غیراشباع بیشتر باشد، امکان اکسیداسیون نیز بیشتر است(۳۵).

طبق یافته‌ها، روند کلی در تمامی تیمارها به صورت افزایشی بود که بیشترین میزان در روز ۹ گروه کنترل مشاهده شد (۳/۹۵ meq/kg) که به دلیل فعالیت باکتری‌های سرمادوست به ویژه گونه‌های سودوموناس بوده و در واقع، باکتری‌های سرمادوست می توانند در حین نگهداری ماده غذایی در شرایط یخچال آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز تولید کنند و متعاقباً میزان اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه را افزایش دهند که این نوع از اسیدهای چرب نسبت به اکسیداسیون حساس بوده و در نهایت هیدروپراکسید در ماده غذایی تولید می‌شود (۳۰).

تیمار فیله ماهی کپور بسته بندی شده با فیلم ژلاتین در روز آخر به ۳/۱۲ meq/kg، تیمار فیله ماهی کپور بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به ترتیب در روز آخر به ۲/۲۳ meq/kg و ۲/۰۵ meq/kg رسید. در تیمار فیله ماهی کپور بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* برابر با ۱/۸۸ meq/kg (کمترین

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-12]

میزان) رسید. تمامی نمونه‌های فیله ماهی کپور دارای فیلم به خصوص حاوی باکتری‌های پروبیوتیک، میزان پراکسید کمتری نسبت به شاهد داشتند، که نشان دهنده ی این است که این فیلم و محتویات آن درکاهش اکسیداسیون چربی فیله‌های ماهی کپور مؤثر بوده اند.

در پژوهشی Saki و همکاران (۲۰۱۷) تأثیر فیلم خوراکی کیتوزان-ژلاتین را بر ویژگی های نوعی ماهی نگهداری شده در یخچال بررسی کردند. بر طبق یافته‌ها، آزمون‌های شاخص اکسیداسیون چربی (اسید چرب آزاد) حاکی از کمتر بودن میزان اکسیداسیون در نمونه‌های دارای فیلم و پوشش کیتوزان ـ ژلاتین نسبت به نمونهٔ کنترل بود که این نتیجه با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد (۳۶).

مواد اولیه اکسیداسیون (هیدروپراکسیدها) ناپایدار و مستعد تجزیه می‌باشند. محصولات ثانویه اکسیداسیون شامل آلدهیدها، کتون ها، الکل ها، هیدروکربن‌ها، اسیدهای آلی و ترکیبات اپوکسی می‌باشد. مالون آلدهید یک ترکیب جزئی از اسیدهای چرب با سه پیوند دو گانه و یا بیشتر از آن است که در اثر تجزیه اسیدهای چرب غیر اشباع طی اکسیداسیون چربی تشکیل می‌شود (۳۷).

نتایج ارزیابی TBARS در تیمارهای فیله ماهی کپور بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طی نگهداری در دمای یخچالی به مدت ۹ روز نیز، همراه با تیمار کنترل در جدول ۴ گزارش شده است. روند کلی در طول مطالعه به صورت افزایشی بود. میزان TBARS در نمونه‌های فیله ماهی در روز صفر mg mda/kg ۰/۳۸ بود که در روز ۹ به mg mda/kg ۳/۰۸ رسید که بیشترین میزان بود و برای تیمار بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* mg mda/kg ۱/۳۹ یعنی کمترین میزان بود.

پیشنهاد شده که حداکثر میزان قابل قبول تیوباربیتیوریک اسید برای کیفیت مطلوب ماهی ۵ میلی گرم مالون آلدهید اکی والان بر کیلوگرم نمونه است در حالی که تا ۸ میلی گرم مالون آلدهید اکیوالان بر کیلوگرم در نمونه هم قابل مصرف است (۳۸) که میزان آن در این مطالعه در روز ۹ و در تمامی گروه و تیمارها حدود مجاز بود.

تاکنون مطالعات بسیاری در زمینه تأثیر فیلم‌های پروبیوتیک بر فساد شیمیایی مواد غذایی تازه انجام نشده است. در مطالعه‌ای توسط کایا و آکسو، ۲۰۰۵، اثر افزودن مستقیم باکتری‌های پروبیوتیک بر فساد شیمیایی گوشت های عمل آوری شده و نوعی فرآورده گوشتی تخمیری بررسی شده است که طبق یافته‌ها، گزارش کرده اند باکتری‌های پروبیوتیک می توانند سبب افزایش میزان PV و TVb-N در مقایسه با گروه کنترل باشند (۴۰، ۳۹).

در مطالعه‌ای اثر فیلم‌های پروبیوتیک کربوکسی متیل سلولز کازئینات بر خواص شیمیایی فیله‌های ماهی قزل‌آلا مورد بررسی قرار گرفت، طبق نتایج مشخص شد تغییرات شیمیایی در تمامی فیله‌ها به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود (۲۸).

ارزیابی حسی

همانطور که نتایج ارزیابی حسی نشان داد، ویژگی‌های مورد بررسی که شامل رنگ، بو و مقبولیت کلی نمونه‌ها بود در تمامی تیمارها با گذشت زمان کاسته شدند. بسته بندی فیلم ژلاتین حاوی دو باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نسبت به دیگر تیمارها در حفظ رنگ و بو نمونه‌های ماهی موفق تر عمل کرده است و در حفظ بیشتر این خواص امتیاز بیشتری را کسب کردند. در نمونه‌های حاوی باکتری به دلیل خاصیت ضدمیکروبی آنها، واکنش‌های افت کیفیت به تعویق افتاد و ویژگی های نمونه‌ها به میزان بیشتری حفظ گردید که با مطالعه Gómez-Estaca و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت دارد. در این مطالعه اثر فیلم‌های خوراکی ژلاتین-کیتوزان حاوی اسانس‌های میخک، رزماری، اسطوخودوس و آویشن را بر خواص حسی ماهی کاد بررسی کردند. بر طبق یافته‌ها، مشخص شد که این پوشش سبب حفظ بیشتر خواص حسی ماهی شده است(۲).

در مطالعه‌ای Saki و همکاران (۲۰۱۷) اثر فیلم کیتوزان-ژلاتین را بر ویژگی‌های حسی فیله ی ماهی شوریده ی بلانگ نگهداری شده در دمای یخچال به مدت ۱۶ روز بررسی کردند. بر طبق یافته‌های این مطالعه مشاهده شد که فیلم‌ها و پوشش‌های به کاررفته سبب افزایش ۴ روز ماندگاری فیله‌های نگهداری شده در یخچال گردید و این فیلم برای افزایش عمر ماندگاری، بهبود و حفظ خواص حسی گوشت ماهی مناسب شناخته شد که این نتیجه با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد (۳۶).

ژلاتین به تنهایی در حفظ خواص حسی نمونه‌های فیله ماهی کپور نسبت به نمونه‌های تیمار شده با ژلاتین همراه با باکتری‌های پروبیوتیک، ضعیف تر عمل کرده است که با نتایج مطالعه فضل آرا و همکاران (۲۰۱۷) مطابقت دارد. در این مطالعه تأثیر پوشش ژلاتین حاوی نوعی اسانس (ترکیب ضدمیکروبی) بر ویژگی‌های حسی فیله‌ی شتر مرغ در دمای یخچال به مدت ۱۵ روزه بررسی کردند. بر طبق یافته‌ها مشخص شد پوشش ژلاتین به تنهایی فاقد خواص ضدمیکروبی کافی می‌باشد و به تنهایی نمی‌تواند در بهبود و حفظ خواص

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-12]

ارگانولپتیکی نمونه‌های فیله ماهی کپور اثرگذار باشد که این نتایج با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد (۲۶).

همچنین در مطالعه‌ای اثر حفاظتی باکتریوسین (GP_1) *لاکتوباسیلوس رامنسوس* بر ویژگی‌های حسی فیله نوعی ماهی بررسی شد، بر طبق نتایج مشخص شد ویژگی‌های حسی فیله تیمار شده و شاهد به طور قابل توجهی متفاوت می‌باشند که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد (۲۹).

در مطالعه‌ای در همین خصوص نیز مشخص شد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *ساکارومایسس سرویزیه* سبب ثابت ماندن رنگ فیله ماهی تیلاپیا شدند که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد (۲۷).

نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج تحقیق مشخص شد که فیلم‌های ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* توانستند در کنترل رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در فیله‌های ماهی کپور موثر عمل کند. با توجه به یافته‌ها، فیلم ژلاتین به تنهایی کمترین اثر و فیلم‌های حاوی پروبیوتیک به خصوص فیلم‌های ژلاتین حاوی دو باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بیشترین اثر ضدمیکروبی، ممانعت از تغییرات شیمیایی و حفظ خواص حسی فیله ماهی کپور را داشته‌اند. بنابراین جهت استفاده در صنعت غذا به عنوان بسته بندی فعال محصولات غذایی به خصوص گوشت ماهی می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

References

1. Raeisi M, Tajik H, Aliakbarlu J, Valipour S. Effect of carboxymethyl cellulose edible coating containing Zataria multiflora essential oil and grape seed extract on chemical attributes of rainbow trout meat. In: Veterinary research forum: an international quarterly journal. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran; 2014. p. 89.
2. Gómez-Estaca J, De Lacey AL, López-Caballero ME, Gómez-Guillén MC, Montero P. Biodegradable gelatin–chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. Food Microbiol. 2010;27(7):889–96.
3. Arbab M, Alizadeh E, Shahriari Moghadam M. Effect of aqueous and ethanolic extracts of Trigonella foenum-graecum seed on the quality of Cyprinus carpio fillet inoculated with Staphylococcus aureus. J Food Res. 2020;29(4):29–43.
4. Gao M, Feng L, Jiang T, Zhu J, Fu L, Yuan D, et al. The use of rosemary extract in combination with nisin to extend the shelf life of pompano (Trachinotus ovatus) fillet during chilled storage. Food Control. 2014;37:1–8.
5. De Lacey AML, López-Caballero ME, Montero P. Agar films containing green tea extract and probiotic bacteria for extending fish shelf-life. LWT-Food Sci Technol. 2014;55(2):559–64.
6. Dehghani S, Hosseini SV, Regenstein JM. Edible films and coatings in seafood preservation: A review. Food Chem. 2018;240:505–13.
7. Luo Q, Hossen MA, Zeng Y, Dai J, Li S, Qin W, et al. Gelatin-based composite films and their application in food packaging: A review. J Food Eng. 2022;313:110762.
8. Williams NT. Probiotics. Am J Heal Pharm. 2010;67(6):449–58.
9. Westerik N, Kort R, Sybesma W, Reid G. Lactobacillus rhamnosus probiotic food as a tool for empowerment across the value chain in Africa. Front Microbiol. 2018;9:1501.
10. Hennekinne J-A, De Buyser M-L, Dragacci S. Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. FEMS Microbiol Rev. 2012;36(4):815–36.
11. Naas HT, Edarhoby RA, Garbaj AM, Azwai SM, Abolghait SK, Gammoudi FT, et al. Occurrence, characterization, and antibiogram of Staphylococcus aureus in meat, meat products, and some seafood from Libyan retail markets. Vet World. 2019;12(6):925.
12. Shekarforoush SS, Razavi Rohani SM, Karim G, Kiaie SMM, Rokni N, Abbasvali M. Study on the overview on food borne bacteria in food with animal origin in Iran; Part three: seafood. Food Hyg. 2013;2(4 (8)):15–32.
13. Shahbazi Y, Ahmadi F, Karami N. Screening, determination and confirmation of tetracycline residues in chicken tissues using four-plate test, ELISA and HPLC-UV methods: comparison between correlation results. Food Agric Immunol. 2015;26(6):821–34.
14. Soukoulis C, Behboudi-Jobbehdar S, Yonekura L, Parmenter C, Fisk ID. Stability of Lactobacillus rhamnosus GG in prebiotic edible films. Food Chem. 2014;159:302–8.
15. Wikström F, Williams H, Trischler J, Rowe Z. The importance of packaging functions for food waste of different products in households. Sustainability. 2019;11(9):2641.
16. Choobkar N, Soltani M, Ebrahimzadeh Mousavi HA, Akhonzadeh Basti A, Matinfar A. Effect of Zataria multiflora Boiss essential oil on the growth of Staphylococcus aureus in the light salted fillets of silver carp (Hypophthalmichthys molitrix). 2010;
17. Shahbazi Y. Characterization of nanocomposite films based on chitosan and carboxymethylcellulose containing Ziziphora clinopodioides essential oil and methanolic Ficus carica extract. J Food Process Preserv. 2018;42(2):e13444.
18. Korkmaz F, Kocaman EM, Gonca A. Using of quinoa based film to extend the shelf life of rainbow trout fillets under cold storage (4±1 C) condition. Mar Sci Technol Bull. 2019;8(2):76–84.
19. Abdel-Tawwab M, El-Araby DA. Immune and antioxidative effects of dietary licorice (Glycyrrhiza glabra L.) on performance of Nile tilapia, Oreochromis niloticus (L.) and its susceptibility to Aeromonas hydrophila infection. Aquaculture. 2021;530:735828.
20. KURADE SA, BARANOWSKI JD. Prediction of shelf-

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-12]

life of frozen minced fish in terms of oxidative rancidity as measured by TBARS number. J Food Sci. 1987;52(2):300–2.

21. Abdeen EE, Mousa WS, Salam SYA, Al-Maary KS, Mubarak AS, Moussa IM, et al. Antibiogram and phylogenetic diversity of enterotoxigenic Staphylococcus aureus strains from milk products and public health implications. Saudi J Biol Sci. 2020;27(8):1968–74.
22. Saba MK, Sogvar OB. Combination of carboxymethyl cellulose-based coatings with calcium and ascorbic acid impacts in browning and quality of fresh-cut apples. LWT-Food Sci Technol. 2016;66:165–71.
23. Han Y, Wang L. Sodium alginate/carboxymethyl cellulose films containing pyrogallic acid: Physical and antibacterial properties. J Sci Food Agric. 2017;97(4):1295–301.
24. Andevari GT, Rezaei M. Effect of gelatin coating incorporated with cinnamon oil on the quality of fresh rainbow trout in cold storage. Int J food Sci Technol. 2011;46(11):2305–11.
25. De Lacey AML, López-Caballero ME, Gómez-Estaca J, Gómez-Guillén MC, Montero P. Functionality of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum incorporated to edible coatings and films. Innov Food Sci Emerg Technol. 2012;16:277–82.
26. Fazlara A, Pourmadi M, Molaei F. The effect of gelatin-Avishan Shirazi (Zataria multiflora Bioss) coating on microbial, chemical and sensorial characteristics of ostrich fillets in refrigerated condition. J food Sci Technol. 2017;6(67).
27. Yasin R, Samiullah K, Fazal RM, Hussain S, Mahboob S, Al-Ghanim KA, et al. Combined effect of probiotics on prolonging the shelf life of GIFT tilapia fillets. Aquac Res. 2020;51(12):5151–62.
28. Mozaffarzogh M, Misaghi A, Shahbazi Y, Kamkar A. Evaluation of probiotic carboxymethyl cellulose-sodium caseinate films and their application in extending shelf life quality of fresh trout fillets. Lwt. 2020;126:109305.
29. Sarika AR, Lipton AP, Aishwarya MS. Biopreservative efficacy of bacteriocin GP1 of Lactobacillus rhamnosus GP1 on stored fish filets. Front Nutr. 2019;6:29.
30. Fan W, Sun J, Chen Y, Qiu J, Zhang Y, Chi Y. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. Food Chem. 2009;115(1):66–70.
31. Latou E, Mexis SF, Badeka A V, Kontakos S, Kontominas MG. Combined effect of chitosan and modified atmosphere packaging for shelf life extension of chicken breast fillets. LWT-Food Sci Technol. 2014;55(1):263–8.
32. Talwalkar A, Miller CW, Kailasapathy K, Nguyen MH. Effect of packaging materials and dissolved oxygen on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. Int J food Sci Technol. 2004;39(6):605–11.
33. Dave RI, Shah NP. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. J Dairy Sci. 1998;81(11):2804–16.
34. Nowzari F, Shábanpour B, Ojagh SM. Comparison of chitosan–gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chem. 2013;141(3):1667–72.
35. Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. Modern food microbiology. Springer Science & Business Media; 2008.
36. Saki J, Khodanazary A, Hosseini SM. The effect of chitosan-gelatin composition and bi-layer coating and film on physicochemical, microbial and sensory properties of Johnius belangerii stored at refrigerator. J Res Innov Food Sci Technol. 2017;6(1):71–86.
37. Dehghani P, Hosseini SMH, Golmakani M-T, Majdinasab M, Esteghlal S. Shelf-life extension of refrigerated rainbow trout fillets using total Farsi gum-based coatings containing clove and thyme essential oils emulsions. Food Hydrocoll. 2018;77:677–88.
38. No HK, Meyers SP, Prinyawiwatkul W, Xu Z. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: a review. J Food Sci. 2007;72(5):R87–100.
39. Libera J, Karwowska M, Stasiak DM, Dolatowski ZJ. Microbiological and physicochemical properties of dry-cured neck inoculated with probiotic of Bifidobacterium animalis ssp. lactis BB-12. Int J Food Sci Technol. 2015;50(7):1560–6.
40. Kaya M, Aksu MI. Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on some quality characteristics of sliced ‘sucuk’produced using probiotics culture. J Sci Food Agric. 2005;85(13):2281–8.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-12]

Study on the Effects of Gelatin Films Containing *Lactobacillus hamnosus* and *Lactobacillus acidophilus* Probiotics on the Survival of *Staphylococcus aureus* and Physicochemical Characteristics of the Carp Fillets at Refrigerator Temperature

Vojdani M[1], Kazemeini H.R[2]*

1- MSc in Food Hygiene and Quality Control, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran.

*2- *Corresponding author: Assistant professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran. Email: h.kazemeini@ausmt.ac.ir*

Received 8 Jul, 2023 **Accepted 25 Oct, 2023**

Background and Objectives: Increasing the storage time and food safety has always been one of the most important concerns of food industry studyers. The aim of the present study was to prepare a gelatin film containing *Lactobacillus rhamnus* and *Lactobacillus acidophilus* probiotics and investigate its effects on *Cyprinus carpio* fillets by improving its physicochemical factors during storage at refrigerator temperature for nine days.

Materials & Methods: Treatments included control samples, film, film containing *Lactobacillus rhamnosus*, film containing *Lactobacillus acidophilus* and film containing a combination of two probiotic bacteria. Then, samples were packed in sterile polyethylene bags under laboratory conditions and stored at refrigerator temperature for nine days and every three days were assessed. On the assessment days, viability of the probiotics, count of *Staphylococcus aureus*, pH, quantities of volatile nitrogen bases (TVB-N), peroxide value (PV) and thiobarbituric acid (TBARS) were assessed.

Results: Results showed that the survival rates of *Lactobacillus acidophilus* bacteria in gelatin film treatment and gelatin film treatment containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus ramensus* on the last day were 7.88 and 6.71 log cfu/g, respectively. Viability of *Lactobacillus rhamnosus* decreased in the treatments by 7.03 and 6.01 log cfu/g, respectively. Films containing probiotics better controlled the growth of *Staphylococcus aureus* in carp fillets, compared to the control group and the film group without probiotics. Based on the results, chemical assays included increasing trends and their changes in carp fillets treated with films containing probiotics were significantly lower than those in the control group and the film group without probiotics ($p < 0.05$).

Conclusion: Results of this study showed that the gelatin film containing probiotics included good antimicrobial characteristics against *Staphylococcus aureus* and could be effective in controlling the growth of pathogens and maintaining the sensory characteristics of fish and food products.

Keywords: Gelatin film، Probiotic، Lactobacillus، *Staphylococcus aureus*، Carp fillet

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-12]