



تأثیر یخ ازن‌دار بر کیفیت شیمیایی و میکروبی عضله ماهی طلال (*Rastrelligerkanagurta*) طی دوره کوتاه مدت نگهداری

روزیتا میان^۱، مسعود رضائی^{۲*}، محمد صدیق مرتضوی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۲- استاد، گروه فرآوری آبزیان، محصودانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۳- استاد، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، بندر عباس، ایران

دریافت: ۱۳۹۳/۰۶/۳۱ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۹/۲۸

*نویسنده مسوول مقاله: rezai_ma@modares.ac.ir

چکیده:

اثر یخ ازن‌دار بر ماندگاری عضله ماهی طلال، *Rastrelliger kanagurta* طی ۱۶ روز نگهداری با ارزیابی‌های شیمیایی و بار میکروبی بررسی شد. آزمایش‌های شیمیایی (اندازه‌گیری مقادیر pH، مجموع بازهای نیتروژنی فرار، پراکساید، تری‌متیل آمین) و میکروبی (شمارش بار باکتریایی کل و باکتری‌های سرمادوست) به صورت دوره‌ای هر چهار روز انجام گردید. کمترین میزان pH، بازهای نیتروژنی فرار و تری‌متیل آمین در تیمار یخ ازن‌دار مشاهده شد، در حالیکه میزان پراکساید بالاتری را نسبت به گروه شاهد نشان داد. تیمار یخ ازن‌دار به طور مؤثری باعث کاهش بار باکتریایی کل (TVC) و سرماگرا (PTC) گردید که میزان این کاهش در روز ۱۲ به ترتیب برای TVC و PTC، $2.22 \log_{10} \text{CFU}$ و 2.07 cm^{-2} نسبت به نمونه شاهد بود. بنابر این، یخ حاوی ازن تا پایان دوره نگهداری توانست کیفیت ماهی طلال را نسبت به تیمار شاهد بهتر حفظ کند.

کلید واژگان: ازن، یخ، ماهی طلال، ماندگاری، نگهداری

مقدمه

محصولات دریایی نسبت به اکثر محصولات غذایی، ترکیبات ارزشمندی مانند مواد مغذی، پروتئین‌های قابل هضم، ویتامین‌های محلول در چربی (A، D و...)، عناصر کم‌مصرف اما بااهمیت مثل فلوئور، ید، کلسیم، مس، روی، آهن، سلنیم و اسیدهای چرب امگا ۳ را برای رژیم غذایی انسان ارائه می‌دهند (1997 Simopoulos). با این وجود مواد غذایی دریایی بسیار فسادپذیر هستند که تازگی و کیفیت آنها پس از مرگ به سرعت کاهش می‌یابد (Pigott and Tucker., 1990). کیفیت عضله ماهی خام در نتیجه فعالیت آنزیم‌های داخلی پروتئولیتیک و باکتریولوژیک کاهش می‌یابد و در نهایت فاسد می‌شود (Hultmann and Rustad., 2007). فناوری‌های مختلف به منظور کاهش فساد ماهی و افزایش ماندگاری کوتاه مدت برای ماهی تازه استفاده می‌شود. یکی از روش‌های دستیابی به این هدف استفاده از ازن است. ازن (O_3) از اکسیژن فعال (O_2) به وسیله پرتو فرابنفش (UV) یا تخلیه الکتریکی با ولتاژ بالا تولید می‌شود و به عنوان یک عامل ضد میکروبی قوی در برابر باکتری‌های گرم منفی و مثبت، مخمرها، انگل‌ها و طیف وسیعی از ویروس‌ها شامل هپاتیت A و آنسفالیت و آنفولانزای A مانند باکتریوفاژها مؤثر است (Moore et al., 2000). از سال ۱۹۲۰ دانشمندان تلاش کرده‌اند تا از ویژگی ضد عفونی‌کننده قوی ازن برای کاهش سرعت فساد و بهبود ایمنی محصولات شیلاتی استفاده کنند. کاربرد ازن در صنایع غذایی بیشتر مربوط به ضد عفونی سطح محصولات غذایی و تصفیه آب است (Kim et al., 1999). ازن برای غیرفعال کردن فلور آلاینده در گوشت، مرغ و ماهی با موفقیت استفاده شده است (Kim et al.,

2003) همچنین استفاده از یخ حاوی ازن ضمن کاهش بار میکروبی باعث طولانی‌تر شدن زمان نگهداری ماهی/میگو می‌شود (Gonçalves, 2009). سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا^۱ (USFDA, 2005, FDA)، در سال ۱۹۸۲ کاربرد ازن را در آب بطری شده به عنوان یک ماده به طور کلی ایمن (^۲GRAS) تضمین کرد. در مقابل اثرهای مثبت، اثر پراکسدانی ازن بر روی ترکیبات ماهی مورد مطالعه گسترده قرار نگرفته است؛ هر چند گزارش‌های قبلی اثر منفی بالقوه بر روی فسفولیپیدها، اسیدهای چرب دارای حلقه‌های اشباع نشده (PUFA) و پروتئین‌های غشا نشان داده‌اند (Carmen et al., 2005). هدف از این مطالعه، ارزیابی تأثیر یخ ازن‌دار بر کیفیت شیمیایی و میکروبی ماهی طلال (*Rastrelliger kanagurta*) طی دوره نگهداری است.

مواد و روش کار

تهیه یخ

پیش از انتخاب نمونه‌های ماهیان طلال، یخ حاوی ازن در آزمایشگاه تهیه شد. ازن با دستگاه ازن ژنراتور (مدل LFY-1-5F-W) (ساخت آمریکا) به آب تزریق گردید. گفتنی است غلظت ازن در آب با استفاده از کیت اندازه‌گیری ازن و روش یدومتری اصلاح‌شده^۳ به طور مداوم سنجیده شد. یخ مورد نیاز برای هدف شامل یخ دارای ازن با غلظت اولیه ۰/۸ ppm (Manousaridis et al., 2005) و یخ معمولی بود. یخ‌های تهیه شده در زمان استفاده به صورت پودر شده درآمد.

1. United States Food and Drug Administration
2. Generally Recognized As Safe
3. modified iodometric

تهیه ماهی

برای این منظور حدود ۳۶۰ قطعه ماهی طلال (*Rastrelliger kanagurta*) کاملاً تازه با وزن متوسط ۱۷۰ گرم از اسکله صیادی شهید حقانی بندرعباس انتخاب شد. نمونه‌های ماهی طلال (بدون تخلیه شکمی) در دو تیمار شاهد و تیمار یخ ازن‌دار توزیع گردید و برای هر تیمار نیز سه تکرار در نظر گرفته شد. نمونه‌های ماهی نگهداری و سرد شده در زمان‌های ۰، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ روز از طریق آزمون‌های شیمیایی و میکروبی ارزیابی شدند.

آنالیز تقریبی

سنجش درصد پروتئین، رطوبت، چربی کل به روش Hassegawa (۲۰۰۱) و سنجش درصد خاکستر به روش AOAC (۲۰۰۵) انجام شد.

آنالیزهای شیمیایی

سنجش مقدار ازن به روش یدومتریک اصلاح شده ۱۰ میلی‌لیتر از آب ازن‌دار به ۹۰ میلی‌لیتر از محلول پتاسیم یدید (KI) (۲۰ g/l) اضافه شد، سپس مقدار pH را با استفاده از محلول ۰/۵ مولار H_2SO_4 به زیر ۲ رسانده و ۱ میلی‌لیتر از معرف نشاسته به این محلول اضافه گردید. این محلول با محلول ۰/۰۵ مولار تیوسولفات تیترو شده و در نهایت غلظت ازن محاسبه شده به صورت گرم در لیتر ثبت گردید (Rong et al., 2010).

اندازه‌گیری pH

مقدار ۵ گرم از گوشت چرخ و همگن شده ماهی طلال با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر جوشانده و سرد شده (بدون CO_2) مخلوط و سپس میزان pH نمونه با دستگاه pH متر (مدل Sartorius, PB-11) (ساخت ژاپن) با استانداردهایی در pH ۴ و ۷ اندازه‌گیری شد (Hassegawa, 2001). سنجش مجموع مقادیر بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار به روش کلدال و با قرار دادن ۱۰ گرم نمونه به علاوه ۲ گرم اکسید منیزیم و افزودن ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر داخل بالن صورت گرفت. این امر با جمع‌آوری بازهای ازته فرار در داخل محلول شامل اسید بوریک ۲ درصد و متیل رد به عنوان شاخص و سپس تیترو محلول تغییر رنگ داده حاصل با اسید سولفوریک تا حاصل شدن رنگ ارغوانی انجام شد و به صورت میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه ماهی بیان شد. میزان بازهای نیتروژنی فرار از رابطه ۱ محاسبه گردید (Hassegawa, 2001).

(۱) $TVB-N = \text{حجم اسید سولفوریک مصرفی}$

سنجش مقادیر عدد پراکساید (PV)

ابتدا ۸۰ تا ۱۰۰ گرم از گوشت چرخ شده ماهی با ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال کلروفرم به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط گردید. سپس مخلوط به دست آمده با گذراندن از کاغذ صافی، صاف و بلافاصله ۲۵ میلی‌لیتر از آن در یک بشر ۱۵۰ میلی‌لیتری که از قبل وزن شده بود، منتقل شد. کلروفرم موجود در بشر اول (۱۵۰ میلی‌لیتری) در حمام آب با جریان ازن تغییر کرد و چند دقیقه در گرمخانه با دمای $1 \pm 101^\circ C$ (تا حصول وزن ثابت) گذاشته شد و اقدام به خشک کردن گردید (وزن روغن به دست آمده به عنوان روغن موجود در آزمون). ۲۵ میلی‌لیتر دیگر از محلول فوق در یک ارلن مایر ۱۲۵ میلی‌لیتری منتقل گردید و ۳۷ میلی‌لیتر اسید استیک و یک میلی‌لیتر محلول اشباع شده یدور پتاسیم و همچنین پس از یک دقیقه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر جوشانده و سرد شده (بدون CO_2) به آن اضافه گردید و با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال در حضور نشاسته تیتراسیون انجام گرفت. با توجه به مقدار تیوسولفات مصرفی و وزن روغن استخراج شده در آزمون میزان پراکساید از رابطه ۲ محاسبه گردید (Egan et al., 1997).

(۲) $100 \times (\text{وزن نمونه روغن} / \text{نرمالیتسه} \times \text{حجم مصرفی تیوسولفات}) = PV$

سنجش مقادیر تری متیل آمین (TMA)

۱- ابتدا ۵۰ گرم نمونه ماهی میکس شده بلافاصله با ۱۰۰ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) ۷/۵ درصد مخلوط (در دمای ۴ °C) و سپس با کاغذ صافی شماره ۴ یا پشم شیشه صاف گردید. این مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه) شد و در نهایت مایع بالایی از صافی عبور داده شد.

۲- الف: ۴-۰/۱ میلی لیتر از عصاره استخراج شده از نمونه به لوله های درب پیچ دار منتقل شد.

ب: ۱، ۱/۵، ۲/۵، ۳ میلی لیتر از محلول استاندارد کار (استاندارد TMA) به لوله های درب پیچ دار منتقل شد (آماده سازی استاندارد).

ج: برای شاهد فقط ۴ میلی لیتر آب مقطر در لوله درب دار در نظر گرفته شد.

۳- به لوله های الف و ب بند ۲ آب مقطر اضافه شد تا حجم آنها به ۴ میلی لیتر برسد.

۴- به هر کدام از لوله های بند ۲، ۱ میلی لیتر فرمالدئید ۱۰ درصد، ۱۰ میلی لیتر تولوئن بدون آب و ۳ میلی لیتر KOH ۲۵ درصد اضافه و در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. درب لوله ها را بسته و مدت ۱۵ دقیقه عمل هم زدن انجام گرفت.

۵- با پیت پاستور ۷ میلی لیتر از لایه بالایی لوله های بند ۴ به یک لوله خشک حاوی ۰/۴-۰/۳ گرم سولفات سدیم خشک منتقل و به آرامی تکان داده شد تا محلول شفاف گردد.

۶- ۵ میلی لیتر از محلول لوله بند ۵ به یک لوله حاوی ۵ میلی لیتر اسید پیکریک کاری اضافه گردید و با چرخاندن (به آرامی) مخلوط شد.

۷- در نهایت محلول بند ۶ با اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۰ نانومتر خوانده شد.

در نهایت با استفاده از میزان جذب نور در نمونه مجهول و از روی منحنی استاندارد تهیه شده میزان TMA در عضله ماهی از رابطه ۳ محاسبه گردید (Hassegawa, 2001).

(۳) $TMA = [T \times (V_1 + (0.01 \times M \times W))] / (V_2 \times W \times 10)$
TMA: T برحسب میلی گرم محاسبه شده از منحنی استاندارد

M: رطوبت ماهی بر حسب درصد

V_1 : حجم (به میلی لیتر) TCA افزوده شده به نسبت ۱:۲ برای استخراج

V_2 : حجم (به میلی لیتر) عصاره افزوده شده به لوله آزمایشگاهی

W: وزن ماهی (به گرم) استفاده شده به نسبت ۱:۲ برای استخراج

سنجش بار میکروبی

برای این آزمایش از قسمت پستی ماهی، ۱ سانتی متر مربع از پوست ماهی به همراه مقداری از گوشت برداشته شد و داخل ظروف استریل حاوی ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی منتقل و به خوبی تکان داده شد تا مخلوط کاملاً همگن شود (سوسپانسیون اولیه با رقت ۰/۱). سپس چند دقیقه بی حرکت قرار داده شد تا ذرات ته نشین شوند. بعد با یک پیت استریل، ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه به لوله های حاوی ۹ میلی لیتر رقیق کننده (سرم فیزیولوژی) استریل انتقال داده شدند و بدین ترتیب رقت های متوالی ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۱ تهیه شدند. برای شمارش باکتری های کل و باکتری های سرمادوست در نمونه های تهیه شده از محیط کشت پلیت کانت آگار^۱ استفاده گردید. پس از تهیه نمونه

1. Plate count agar

و رقت‌های اعشاری، رقت‌های مورد نیاز بر روی محیط پلیت کانت آگار به صورت پورپلیت کشت داده شد و برای شمارش، پلیت کانت‌های کشت داده شده مربوط به باکتری‌های مزوفیل پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷°C شمارش شد و پلیت‌های مربوط به باکتری‌های سرمادوست پس از ۱۰ روز انکوباسیون در ۷°C شمارش گردید (Hassegawa, 2001).

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده با نرم افزار SPSS ۱۶ انجام شد. برای مقایسه میانگین شاخص‌ها در تیمارهای مختلف از آزمون t مستقل استفاده گردید و برای مقایسه میانگین‌های شاخص‌های مورد نظر در زمان‌های

مختلف هر تیمار از آنالیز واریانس یک طرفه در قالب دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار (میانگین $\pm$ انحراف معیار) نشان داده شدند.

نتایج

آنالیز تقریبی

نتایج حاصل از آنالیز تقریبی گوشت ماهی طلال شامل رطوبت، خاکستر، پروتئین کل، چربی کل برحسب درصد از کل در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱ نتایج آنالیز تقریبی بافت ماهی طلال (درصد)

آنالیز تقریبی	پروتئین	چربی کل	رطوبت	خاکستر
۲۰/۸۶ $\pm$ ۰/۲۵	۳/۵۶ $\pm$ ۰/۱۵	۷۴/۲ $\pm$ ۰/۱۴	۰/۱۳ $\pm$ ۰/۰۰	

داده‌های جدول شامل میانگین $\pm$ انحراف معیار است.

آنالیزهای شیمیایی

pH مقادیر

آن در روز صفر نگهداری در نمونه شاهد از ۵/۸۰ تا ۶/۳۹ در روز ۱۶ نگهداری افزایش یافت. روند تغییرات در تیمار شاهد شدت بیشتری داشت و این تیمار در انتهای دوره نگهداری دارای pH بالاتری نسبت به تیمار ازن بود.

در جدول ۲ تغییرات میزان pH دو تیمار طی زمان نگهداری زیر یخ نشان داده شده است. میزان pH در طی زمان نگهداری در هر دو تیمار تغییر کرد، به طوری که میزان

جدول ۲ تغییرات مقادیر pH ماهیان تیمار شده با یخ ازن‌دار و یخ معمولی طی دوره نگهداری

زمان نگهداری (روز)					
تیمار	0	4	8	12	16
pH شاهد	۵/۸۰ $\pm$ ۰/۰۱d	۶/۱۲ $\pm$ ۰/۰۴c	۶/۱۹ $\pm$ ۰/۰۵c	۶/۲۷ $\pm$ ۰/۰۱b	۶/۳۹ $\pm$ ۰/۰۱a
pH ازن	۵/۸۰ $\pm$ ۰/۰۱d	۶/۰۴ $\pm$ ۰/۰۱*c	۶/۰۹ $\pm$ ۰/۰۰*c	۶/۱۵ $\pm$ ۰/۰۴*b	۶/۲۱ $\pm$ ۰/۰۱*a

داده‌های جدول شامل میانگین $\pm$ انحراف معیار است. *اختلاف معنادار بین میانگین تیمارها در یک ستون ذروف a-c مشترک در هر سطر نشان از عدم تفاوت معنادار و حروف مختلف وجود تفاوت در زمان‌های مختلف است ($p < 0.05$).

مقادیر مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

فرار اختلاف معناداری با تیمار ازن داشت ($p < 0.05$)، به طوری که تیمار ازن همواره کمترین میزان بازهای نیتروژنی فرار را نشان داد.

تغییرات میزان بازهای نیتروژنی فرار دو تیمار طی زمان نگهداری زیر یخ در جدول ۳ نشان داده شده است. طی دوره نگهداری تیمار شاهد از نظر میزان بازهای نیتروژنی

جدول ۳ تغییرات مقادیر بازهای نیتروژنی فرار (میلی گرم در صد گرم عضله) ماهیان تیمار شده با یخ ازن دار و یخ معمولی طی دوره نگهداری

زمان نگهداری (روز)					
16	12	8	4	0	تیمار
34/40±0/28a	29/57±0/24b	27/24±0/51 c	24/95±0/35 d	22/25±1/77 e	شاهد
29/6±0/28*a	27/15±1/06*a	23/53±0/38 *b	22/61±0/37 *b	22/25±1/77 b	ازن

داده‌های جدول شامل میانگین $\pm$ انحراف معیار است. *اختلاف معنادار بین میانگین تیمارها در یک ستون حروف a-c مشترک در هر سطر نشان از عدم تفاوت معنادار و حروف مختلف وجود تفاوت در زمان‌های مختلف است ($p < 0.05$).

مقادیر پراکساید (PV)

افزایش یافت که این افزایش در تیمار ازن با شدت بیشتری صورت گرفت، به طوری که از ۱/۹۸ در روز صفر نگهداری به ۸/۶۲ میلی اکسیژن در کیلوگرم چربی در روز ۱۶ نگهداری افزایش یافت.

در جدول ۴ تغییرات میزان پراکساید دو تیمار طی زمان نگهداری زیر یخ نشان داده شده است. با گذشت زمان مقادیر پراکساید در هر دو تیمار طی مدت نگهداری

جدول ۴ تغییرات مقادیر پراکساید (میلی اکسیژن در واحد کیلوگرم چربی) ماهیان تیمار شده با یخ ازن دار و یخ معمولی طی دوره نگهداری

زمان نگهداری (روز)					
16	12	8	4	0	تیمار
7/52±0/16a	5/37±0/59b	5/56±0/56b	4/89±1/22b	1/98±0/11c	شاهد
8/62±0/71a	7/45±0/04*b	6/08±0/03c	5/63±0/16c	1/98±0/11d	ازن

داده‌های جدول شامل میانگین $\pm$ انحراف معیار است. *اختلاف معنادار بین میانگین تیمارها در یک ستون حروف a-c مشترک در هر سطر نشان از عدم تفاوت معنادار و حروف مختلف وجود تفاوت در زمان‌های مختلف است ($p < 0.05$).

مقادیر تری متیل آمین (TMA)

نگهداری تیمار شاهد از نظر میزان تری متیل آمین افزایش معناداری نسبت به تیمار ازن نشان داد ($p < 0.05$).

تغییرات میزان تری متیل آمین دو تیمار طی زمان نگهداری زیر یخ در جدول ۵ نشان داده شده است. میزان تری متیل آمین در هر دو تیمار با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. از روز صفر تا روز ۴ نگهداری اختلاف معناداری بین تیمارها مشاهده نشد، ولی از روز ۸ تا پایان دوره

جدول ۵ تغییرات مقادیر تری‌متیل آمین (میلی گرم در صد گرم عضله) ماهیان تیمار شده با یخ ازن‌دار و یخ معمولی طی دوره نگهداری

زمان نگهداری (روز)					
تیمار	0	4	8	12	16
شاهد	0/196±0/10d	2/55±0/40c	3/40±0/28bc	4/58±0/64b	6/69±1/42a
ازن	0/196±0/10d	1/56±0/45c	2/42±0/۰۱*b	2/68±0/18*ab	3/06±0/19*a

داده‌های جدول شامل میانگین $\pm$ انحراف معیار است. *اختلاف معنادار بین میانگین تیمارها در یک ستون حروف a-e مشترک در هر سطر نشان از عدم تفاوت معنادار و حروف مختلف وجود تفاوت در زمان‌های مختلف است ($p<0/05$).

سنجش بار میکروبی

تغییرات بار باکتریایی کل (TVC) و تعداد باکتری‌های سرمادوست (PTC)

۳/۳ تا $6/۷4 \text{ CFU cm}^{-2}$ $\log_{10}$ در روز ۱۶ نگهداری افزایش یافت. در تیمار ازن این تعداد تا $5/۴5 \text{ CFU cm}^{-2}$ در روز ۱۶ نگهداری افزایش یافت. تیمار شاهد طی دوره نگهداری افزایش معناداری در میزان بار باکتریایی کل در مقایسه با تیمار ازن نشان داد ($p<0/05$).

مقادیر شمارش باکتریایی کل در جدول ۶ نشان داده شده است. در نمونه شاهد شمارش کل باکتری در روز صفر از

جدول ۶ تغییرات تعداد باکتریایی کل ($\log_{10} \text{ CFU cm}^{-2}$) ماهیان تیمار شده با یخ ازن‌دار و یخ معمولی طی دوره نگهداری

زمان نگهداری (روز)					
تیمار	0	4	8	12	16
شاهد	3/30± 0/00e	4/12±0/07d	4/75±0/16c	6/61±0/10b	6/74±0/03a
ازن	3/30± 0/00c	3/57±0/04c	3/96±0/05*bc	4/39±0/13*b	5/45±0/56*a

داده‌های جدول شامل میانگین $\pm$ انحراف معیار است. *اختلاف معنادار بین میانگین تیمارها در یک ستون حروف a-e مشترک در هر سطر نشان از عدم تفاوت معنادار و حروف مختلف وجود تفاوت در زمان‌های مختلف است ($p<0/05$).

تغییرات تعداد باکتری‌های سرمادوست (PTC) طی زمان نگهداری زیر یخ در جدول ۷ نشان داده شده است. در نمونه شاهد تعداد باکتری‌های سرمادوست در روز صفر نگهداری از $3/۴۴$ تا $۹/۰۰ \text{ CFU cm}^{-2}$ $\log_{10}$ در روز ۱۶ نگهداری افزایش یافت. در تیمارهای ازن این تعداد تا $۷/۲۶ \text{ CFU cm}^{-2}$ $\log_{10}$ در روز ۱۶ نگهداری افزایش یافت. تیمار شاهد طی دوره نگهداری اختلاف معناداری از نظر

تعداد باکتری‌های سرمادوست با تیمار ازن نشان داد ($p<0/05$).

جدول ۷ تغییرات تعداد باکتری‌های سرمادوست ($\log_{10} \text{CFU cm}^{-2}$) ماهیان تیمار شده با یخ ازن‌دار و یخ معمولی طی دوره نگهداری

زمان نگهداری (روز)					
تیمار	0	4	8	12	16
PTC شاهد	3/44±0/20d	4/61±0/01c	6/73±0/15b	8/65±0/17a	9/00±0/11a
ازن	3/44±0/20e	3/75±0/13*d	5/27±0/14*c	6/58±0/10*b	7/26±0/02*a

داده‌های جدول شامل میانگین $\pm$ انحراف معیار است. * اختلاف معنادار بین میانگین تیمارها در یک ستون حروف a-e مشترک در هر سطر نشان از عدم تفاوت معنادار و حروف مختلف وجود تفاوت در زمان‌های مختلف است ($p < 0.05$).

بحث

شاخص pH در عضله ماهی زنده نزدیک به عدد ۷ است، اما پس از مرگ براساس گونه، فصل و عوامل دیگر، pH به‌طور قابل ملاحظه‌ای تغییر می‌کند (Cakli et al., 2006). در این مطالعه pH تیمار شاهد از روز ۸ تا پایان دوره نگهداری (روز ۱۶)، به‌طور معناداری بالاتر از تیمار ازن بود ($p < 0.05$) که این عمل را می‌توان با رشد قابل توجه باکتری‌های قلیایی‌کننده در این تیمار که منجر به تجمع ترکیبات آمونیاک شده، مرتبط دانست. کاهش pH در تیمار ازن احتمالاً به دلیل اثر ضد میکروبی ازن (Seydim et al., 2004) و کاهش باکتری‌های قلیایی‌کننده است. این نتیجه با نتایج Carmen و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت دارد. کل بازهای نیتروژنی فرار به‌عنوان یکی از شاخص‌های تشخیص تازگی ماهی، دامنه وسیعی از ترکیبات نظیر آمونیاک، دی‌متیل آمین، تری‌متیل آمین و دیگر ترکیبات مشابه را شامل می‌شود که در اثر فعالیت‌های میکروبی تولید می‌شوند (Rodríguez et al., 2008). میزان قابل قبول TVB-N ۲۵-۳۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم عضله است (Feng et al., 2012). میزان بازهای نیتروژنی فرار در هر دو تیمار با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. افزایش مقدار TVB-N در مطالعه حاضر در تمامی نمونه‌ها طی دوره نگهداری را می‌توان با فعالیت باکتری‌های مولد فساد

مرتبط دانست. میزان بالای فعالیت باکتری‌ها، ترکیباتی نظیر تری‌متیل آمین اکساید و پپتیدها و آمینواسیدها را به بازهای فرار می‌شکند (Lopez-Caballero et al., 2005). در نمونه‌های حاوی ازن همواره میزان TVB-N کمتر از میزان آن در نمونه‌های شاهد بود. این میزان پایین‌تر را می‌توان به مهار عمل میکروارگانیسم‌ها و کاهش سرعت تجزیه پروتئین توسط ازن نسبت داد. نتایج مشابهی پیرامون اثر کاهش ازن بر مقدار TVB-N از سوی سایر محققان گزارش شده است. برای مثال طبق مطالعات Carmen و همکاران (۲۰۰۵) تیمار ماهی ساردین (*Sardina pilchardus*) در یخ فالوده‌ای ازن‌دار به مدت ۲۲ روز، بازهای نیتروژنی فرار را در عضله ماهی کاهش می‌دهد. Rong و همکاران (۲۰۱۰) کاهش میزان بازهای نیتروژنی فرار را در صدف اویستر (*Crassostrea gigas*) توسط ازن و کیتوزان گزارش کردند. همچنین Bugueño و همکاران (۲۰۰۳) همبستگی مثبتی را بین میزان pH، رشد باکتریایی و TVB-N گزارش نمودند. پراکساید در مرحله اولیه اکسیداسیون و در نتیجه اتصال اکسیژن به باندهای دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع به وجود می‌آید. اندازه‌گیری پراکساید به‌منظور تعیین محصولات اولیه اکسیداسیون چربی (هیدروپراکسیدها) به کار می‌رود و تولید آن تغییری در ویژگی‌های حسی ماهی ایجاد نمی‌کند، اما ممکن است

پوشش پلی فنول چای مشاهده کردند. همچنین آنها همبستگی مثبتی را بین میزان تری‌متیل آمین و باکتری‌های سرمادوست مشاهده نمودند. گوشت ماهی حاوی ترکیبات مناسبی برای رشد میکروب‌ها است بنابراین حضور باکتری‌ها یکی از دلایل کاهش کیفیت گوشت ماهی در طول دوره نگهداری را رقم می‌زند. در مطالعه حاضر تیمار ازن طی دوره نگهداری کاهش معناداری در میزان بار باکتریایی کل و تعداد باکتری‌های سرمادوست در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد ($p < 0.05$). این امر می‌تواند به علت ویژگی ضد میکروبی ازن باشد. نتایج مشابهی از سوی Rong و همکاران (۲۰۱۰)، Cárdenas و همکاران (۲۰۱۱) و Bono و Badalucco (۲۰۱۲) درباره اثر کاهشی ازن بر باکتری‌های کل و باکتری‌های سرمادوست گزارش شده است.

نتیجه‌گیری

استفاده از ازن یک فناوری امیدوارکننده در ضدعفونی محصولات دریایی و پتانسیل قابل توجهی در افزایش زمان ماندگاری و تولید با کیفیت یخ دارد که باید به‌عنوان بخشی از پروتکل بهداشت فراوری غذاهای دریایی در نظر گرفته شود و یک فرصت جدید برای تضمین کیفیت و عمر ماندگاری محصولات دریایی است. در تحقیق حاضر تأثیر یخ ازن‌دار بر کیفیت شیمیایی و میکروبی ماهی طلال طی دوره نگهداری ۱۶ روز بررسی شد. با توجه به نتایج این پژوهش تیمار ازن طی دوره نگهداری از طریق کاهش میزان مجموع بازهای نیتروژنی فرار، تری‌متیل آمین، pH، بار باکتریایی کل و سرمادوست در مقایسه با تیمار شاهد منجر به حفظ بهتر کیفیت نمونه‌های ماهی گردید.

منجر به ایجاد خطرهایی برای مصرف‌کننده شود (Hosseini et al., 2003). هر چند پراکساید ترکیبی بدون طعم و بو است که مصرف‌کنندگان قادر به تشخیص آن نیستند، ولی موجب تولید ترکیبات ثانویه نظیر آلدئیدها و کتون‌ها می‌شود که ایجاد تندی اکسیداتیو در محصول را به‌دنبال دارد. میزان قابل قبول پراکساید در گوشت ماهی ۱۰-۲۰ میلی‌اکی والان اکسیژن در کیلوگرم چربی است (Huss, 1995). مقایسه دو تیمار با یکدیگر نشان می‌دهد که تیمار ازن طی دوره نگهداری همواره دارای مقادیر پراکساید بیشتری نسبت به تیمار شاهد است. این مسئله را می‌توان به ویژگی پراکسیدانی ازن نسبت داد. تحقیقات مشابهی هم از سوی Feng و همکاران (۲۰۱۲)، Carmen و همکاران (۲۰۰۶) و Álvarez و همکاران (۲۰۰۹) درباره اثر افزایش ازن در میزان پراکساید گزارش شده است. البته گفتنی است که میزان پراکساید در هر دو تیمار تا پایان دوره نگهداری از حد قابل قبول پیشنهادی پایین‌تر بود. اندازه‌گیری تری‌متیل آمین اغلب به‌عنوان یک شاخص مفید برای سنجش کیفیت محصولات ماهی نگهداری شده به‌صورت سرد استفاده می‌شود (Pastoriza et al., 2004). میزان قابل قبول تری‌متیل آمین ۵-۱۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم عضله است (Feng et al., 2012). طی دوره نگهداری تیمار ازن باعث کاهش معناداری در میزان تری‌متیل آمین نسبت به تیمار شاهد شد. این امر را می‌توان به کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌های سرمادوست توسط ازن نسبت داد. نتایج مشاهدات Bono و Badalucco (۲۰۱۲)، Manousaridis و همکاران (۲۰۰۵)، Carmen و همکاران (۲۰۰۵) نیز با اثر ازن روی کاهش تری‌متیل آمین طی دوره نگهداری منطبق است. Feng و همکاران (۲۰۱۲) کاهش میزان تری‌متیل آمین را در انتهای دوره نگهداری (روز ۱۵) در ماهی *Sparus macrocephalus* تحت تیمار با ازن و

منابع

service subchapter b, food for human consumption, continued- title 21", Food and drugs chapter i, title 21, Vol 3, April 1.

Feng, L., Jiang, T., Wang, Y., Li, J., 2012. "Effects of tea polyphenol coating combined with ozone water washing on the storage quality of black sea bream (*Sparus macrocephalus*)", *Food chemistry*, 135(4), 2915-2921.

Gonçalves, A.A., 2009. "Ozone: an emerging technology for the seafood industry", *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52(6), 1527-1539.

Guzel-Seydim, Z., Bever Jr, P.I., Greene, A.K., 2004. "Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components", *Food microbiology*, 21(4): 475-479.

Hassegawa, H., 2001. Laboratory manual on analytical methods and procedures for fish and fish products, Marine fisheries research department, SEAFDEC, Singapore (1).

Hultmann, L., Rustad, T., 2007. "Effects of temperature abuse on textural properties and proteolytic activities during post mortem iced storage of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*)", *Food Chemistry*, 104(4): 1687-1697.

Huss, H.H., (Ed.) 1995. Quality and quality changes in freshfish, FAO Fisheries Technical Paper No 348, Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Rome, Italy, (2): 348.

Kim, J-G., Yousef, A.E., Dave, S., 1999. "Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review", *Journal of Food Protection®*, 62(9): 1071-1087.

Kim, J-G., Yousef, A.E., Khadre, M.A., 2003. "Ozone and its current and future application in the food industry", *Advances in food and nutrition research*, 45: 167-218.

Lopez-Caballero, M.E., Gómez-Guillén, M.C., Pérez-Mateos, M., Montero, P., 2005. "A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties", *Food Hydrocolloids*, 19(2), 303-311.

Manousaridis, G., Nerantzaki, A., Paleologos, E.K., Tsiotsias, A., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G., 2005. "Effect of ozone on microbial, chemical and sensory attributes of shucked mussels", *Food microbiology*, 22(1), 1-9.

Hosseini, V, Rezaei, M., Sahary, M., Hosseini H., 1382. "Effect of storage time on ice on fat quality and sensory evaluation of golden gray mullet (*Iiza aurata*)". *Journal of Marine Science Iran*, 1, pp 31-40.

Alvarez, V., Feás, X., Barros-Velázquez, J., Aubourg, S.P., 2009. "Quality changes of farmed blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*) subjected to slaughtering and storage under flow ice and ozonised flow ice". *International Journal of Food Science & Technology*, 44(8), 1561-1571.

AOAC., 2005. Official Method of Analysis (17th ed). Washington, DC: Association of Official Analytical chemists.

Bugueno, G., Escriche, I., Martínez-Navarrete, N., del Mar Camacho, M., Chiralt, A., 2003. "Influence of storage conditions on some physical and chemical properties of smoked salmon (*Salmo salar*) processed by vacuum impregnation techniques", *Food Chemistry*, 81(1), 85-90.

Bono, G., Badalucco, C., 2012. "Combining ozone and modified atmosphere packaging (MAP) to maximize shelf-life and quality of striped red mullet (*Mullus surmuletus*)", *LWT-Food Science and Technology*, 47(2): 500-504.

Cakli, S., Kilinc, B., Cadun, A., Dincer, T., Tolasa, S., 2006. "Effects of gutting and ungutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice". *Journal of Food Science and Nutrition*, 46, 519-527.

Carmen, C.A., Rodríguez, Ó., Losada, V., Aubourg, S.P., Barros-Velázquez, J., 2005. "Effects of storage in ozonised slurry ice on the sensory and microbial quality of sardine (*Sardina pilchardus*)". *International journal of food microbiology*, 103(2), 121-130.

Carmen, C.A., Losada, V., Rodríguez, Ó., Aubourg, S.P., Barros-Velázquez, J., 2006. "Evaluation of an ozone-slurry ice combined refrigeration system for the storage of farmed turbot (*Psetta maxima*)". *Food chemistry*, 97(2), 223-230.

Egan, H., Krik, R.S., Sawyer, R., 1997. *Pearsons Chemical Analysis of Foods*, 9(edn), pp.609-634.

FDA. 2005. Ozone, final, rule, food and drug administration department of health and human

salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with previous storage in slurry ice (-1.5°C). *LWT-Food Science and Technology*, 41(9), 1726-1732.

Rong, C., Qi, L., Bang-zhong, Y., Lan-lan, Z., 2010. "Combined effect of ozonated water and chitosan on the shelf-life of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)", *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1): 108-112.

Simopoulos, A., 1997. "Nutritional aspects of fish, In: Seafood from Producer to Consumer, Integrated Approach to Quality (edited by J.Luten, T. Bo rrensen & J. Oehlenschla" ger)", *London: Elsevier Science*, (1): 589-607.

Moore, G., Griffith, C., Peters, A., 2000. "Bactericidal properties of ozone and its potential application as a terminal disinfectant", *Journal of Food Protection®*, 63(8): 1100-1106.

Pastoriza, L., Bernárdez, M., Sampedro, G., Cabo, M.L., Herrera, J.J., 2004. "Elevated concentrations of oxygen on the stability of live mussel stored refrigerated", *European Food Research and Technology*, 218(5): 415-419.

Pigott, G., Tucker, B., 1990. "Science opens new horizons for marine lipids in human nutrition", *Food Reviews International*, 3, 105-138.

Rodriguez, A., Carriles, N., Cruz, J.M., Aubourg, S.P., 2008. "Changes in the flesh of cooked farmed



Effects ozonized ice on the chemical and microbial quality of Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) muscle during short term storage

Rozita Mian¹, Masoud Rezaei^{2*}, Mohammad Seddiq Mortazavi³

1- M.Sc. Student, Department of Seafood Science and Technology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

2- Professor, Department of Seafood Science and Technology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

3- Professor, Persian Gulf and Oman Sea Ecological Research, Bandr Abbas, Iran

Received : 22.09.2015 Accepted : 19.12.2015

*Corresponding author: rezaei_ma@modares.ac.ir

Abstract

The effect of ozonized ice on shelf-life of Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) muscle was studied during 16 days storage period, based on chemical and microbial assessments. Chemical analysis (pH, total volatile nitrogen bases, peroxide, trimethylamine) and microbial analysis (total bacterial load and psychophilic bacteria) was done every four days. The lowest pH, TVB-N and TMA values were observed in the ozonized ice treatment, while its PV value was higher. The ozonized ice effectively reduced the total viable count (TVC) and psychophilic bacterial count (PTC) by 2.22 and 2.07 log₁₀ CFU cm⁻², respectively, at 12 days period. Thus, the ozonized ice protected fish quality better than the control treatment until the end of storage.

Keywords: Ozone, Ice, Indian mackerel, Shelf-life, Storage