مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی اثر فیلم ژلاتینی حاوی پروبیوتیک‌های *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و *لاکتوباسیلوس رامنسوس* بر بقاء باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و خصوصیات فیزیکوشیمیایی فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان

آناهیتا سیفی پاشا[۱]- حمیدرضا کاظمینی*[۲]

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

۲- استادیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی موادغذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۴

کلمات کلیدی:

فیلم، ژلاتین،

پروبیوتیک،

قزل آلای رنگین کمان.

DOI: **10.22034/FSCT.21.148.62.**

مسئول مکاتبات: *

h.kazemeini@ausmt.ac.ir

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی اثر فیلم ژلاتینی حاوی باکتری‌های *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و *لاکتوباسیلوس رامنسوس* بر بقا باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تلقیح شده به گوشت ماهی قزل آلای رنگین کمان و همچنین خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن به مدت ۱۲ روز در طی نگهداری در دمای یخچال بوده است. *استافیلوکوکوس اورئوس* با غلظت 10^6 log cfu/ml به نمونه های ماهی تلقیح، سپس تیمارها(گروه کنترل، نمونه‌های ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته‌بندی شده با فیلم ژلاتین، فیلم ژلاتین حاوی هر باکتری پروبیوتیک با غلظت 10^9 log cfu/ml به طور جدا و فیلم ژلاتین حاوی هردو باکتری تهیه شدند. نمونه‌ها در کیسه‌های پلی‌اتیلنی بسته‌بندی ودر دمای یخچال نگهداری شدند. زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک و شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، pH ، TVB-N، PV و TBARS مورد ارزیابی قرار گرفت. بر طبق نتایج، زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در طول مطالعه روندی کاهشی را نشان داد و مشخص شد که زنده‌مانی باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در تیمار فیلم ژلاتین و تیمار فیلم ژلاتین حاوی هر دو باکتری پروبیوتیک در روز آخر به ترتیب log ۶/۸۱ cfu/g و ۵/۳۷ log cfu/g و زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنسوس* نیز در تیمارهای ذکر شده به ترتیب ۷/۴۳ log cfu/g و ۶/۳۱ log cfu/g کاهش یافت. فیلم‌های پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد رشد میکروبی فیله‌های ماهی را به خوبی کنترل کردند در حالی‌که تیمار فیلم ژلاتین حاوی هر *دو پروبیوتیک* کمترین میزان را دارا بود. آزمون‌های شیمیایی نیز دارای روندی افزایشی بوده و تغییرات آن‌ها در تمامی فیله‌های ماهی تیمارشده به صورت معنی‌داری نسبت به گروه تیمار نشده کمتر بود ($P<0/05$). مشخص گردید فیلم‌های ژلاتین حاوی پروبیوتیک به خصوص فیلم‌های ژلاتین حاوی هر دو پروبیوتیک که موفق‌تر عمل کرده بودند، اثر ضدمیکروبی مؤثری علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* داشته و این پوشش می‌تواند در افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و این دسته از محصولات، موثر باشد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

۱-مقدمه

امروزه ماهی قزل آلای رنگین کمان به عنوان یکی از پرمصرف ترین گونه‌های ماهی در ایران و بیشتر نقاط جهان شناخته شده است. که روز به روز به محبوبیت آن افزوده می‌شود و در ایران در سبد غذایی افراد نقش مهمی را داراست و این گونه یکی از اصلی ترین ماهیان صادراتی ایران است[۱، ۲]. کیفیت ماهی تازه یک نگرانی عمده برای صنعت پرورش ماهی و افراد متقاضی آن‌ها می‌باشد[۲، ۳]. مهم‌ترین علت تغییر عطر، طعم و سایر ویژگی‌های ارگانولپتیک و همچنین کاهش مدت زمان ماندگاری گوشت ماهی اکسیداسیون چربی‌ها و رشد باکتری‌ها در سطح آن می‌باشد که می‌تواند آن دسته از باکتری‌هایی باشد که به طور طبیعی در ماهی وجود دارند. ترکیب میکروبی ماهی بر فساد آن‌ها مؤثر است آن‌ها تاثیر میگیرد زیرا قابلیت فساد و خواص متابولیسمی این میکروارگانیسم‌ها بسیار متفاوت است و فعل و انفعالات میکروبی در آن‌ها مؤثر است. به جز این، منابع دیگری برای عوامل فساد در ماهی وجود دارند که شامل زیستگاه‌های آبی، پوست ماهی، ابزارها و ابزارهای پردازش و دیگر می‌باشند. در سراسر جهان بیماری‌های باکتریایی ماهی باعث خسارات زیادی در صنعت پرورش آبزیان می‌شود و استفاده گسترده از آنتی بیوتیک‌ها برای کنترل این مشکل ممکن است منجر به اشکالاتی از قبیل آلودگی محیط زیست، هزینه زیاد و مقاومت آنتی بیوتیکی شود که دغدغه‌ی جوامع امروز است[٤].

استافیلوکوکوس اورئوس[1] یک باکتری گرم مثبت و به عنوان سومین پاتوژن مسئول مسمومیت غذایی در انسان طبقه بندی می‌شود و به دلیل انتروتوکسین‌های پایدار در برابر حرارت یک عامل مهم در شیوع مسمومیت غذایی است، علاوه بر این می‌تواند در حیوانات باعث بیماری‌هایی مثل ورم پستان شود. بیماری زایی *استافیلوکوکوس اورئوس* از طریق چندین حدت ایجاد می‌شود که شامل انتروتوکسین *استافیلوکوکوس اورئوس* (SE[2])، همولیزین‌ها، پروتئین‌های متصل به فیبرونکتین و.. می‌باشند. این عوامل نقش مهمی در بیماری زایی *استافیلوکوکوس اورئوس* دارند. علائم مسمومیت غذایی با *استافیلوکوکوس اورئوس* شامل استفراغ، درد شکمی، گرفتگی معده، اسهال که بسیار رایج هستند و کمی بعد از مصرف غذای آلوده ظاهر می‌شوند. گاهی ممکن است علائم به اندازه‌ای شدید باشد که فرد بستری شود به خصوص در سالمندان، خانم‌های باردار، کودکان و افرادی که ضعف سیستم ایمنی دارند[۵].

روش‌های مختلفی برای ممانعت از فساد در ماهی و افت کیفیت در آن‌ها کاربرد دارند اما امروزه استفاده از فیلم‌های خوراکی به عنوان ترکیباتی جایگزین برای بسته بندی محصولات غذایی مختلف رواج پیدا کرده است. در مطالعه ای با بررسی فیلم‌های خوراکی با خواص مناسب برای بسته بندی فعال گوشت، ماهی و غذاهای دریایی محصولاتی بسیار فسادپذیر می‌باشند. فیلم‌های خوراکی رویکرد جالبی را برای حفظ و بسته بندی این مواد غذایی ارائه می‌دهند. فیلم‌های خوراکی پلیمرهای زیستی تولید شده از مواد زائد صنایع غذایی یا منابع کم مصرف پروتئین، لیپیدها یا پلی ساکاریدها تشکیل شده اند که زیست تخریب پذیر و خوراکی هستند و می‌توانند به عنوان حامل عمل کنند[٦].

به لایه‌های نازک با ضخامت کمتر از ۰/۰۱ اینچ که از موادی می‌باشند که به طور مستقیم برای قسمت خارجی محصولاتی که بهبود خواص یا حفاظت آن‌ها مدنظر است کاربرد دارند، فیلم و پوشش خوراکی گفته میشود. ترکیباتی می‌باشند که برای محصولات غذایی از لحاظ قوانین استاندارد قابل مصرف و برای انسان ایمن اند که همراه با ماده ی غذایی مصرف می‌شوند و قابلیت بسیاری در ممانعت از ورود رطوبت و اکسیژن، حفظ آرومای محصول دارند و به همین جهت هم در محصولات غذایی و دارویی کاربرد دارند و منجر به افزایش زمان ماندگاری محصول می‌شوند. فیلم‌های خوراکی دارای خواص آنتی اکسیدانی و فعالیت بیولوژیکی

1- *Staphylococcus aureus*

2 -*Staphylococcus enterotoxin*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

میباشند و این امکان وجود دارد که با افزودن ترکیبات مختلف به آن‌ها، این خواص را افزایش داد. اجزای پوشش‌های خوراکی شامل پروتئین‌ها، پلی ساکاریدها، لیپیدها یا صمغ‌ها می‌باشند که در بین این زیست پلیمرها، ژلاتین توانایی تشکیل فیلم خوبی دارد، اما فعالیت ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی ضعیفی دارد[۷].

ژلاتین که از هیدرولیز نسبی کلاژن به دست می‌آید، به دلیل هزینه کم، غیرسمی بودن و زیست تخریب‌پذیری آن برای مصارف غذایی مناسب است و به دلیل بهبود کیفیت غذا و ماندگاری غذای محافظت شده با این ترکیبات و به دلیل خواص مکانیکی مناسب و ممانعت بسیار در مقابل گازها مثل اکسیژن و انواع آروما در رطوبت نسبی متوسط و کم توجه‌های بیشتری را جلب کرده اند و شناخته شده تر می‌باشند[۸]. یکی از ترکیباتی که امروزه برای تولید فیلم‌های خوراکی کاربرد دارد، استفاده از فیلم ژلاتین همراه با باکتریهای پروبیوتیک است. طبق یافته‌های مطالعه ای توسط مظفر و همکاران (۲۰۲۰) مشخص شد افزودن پروبیوتیک‌ها به فیلم کربوکسی متیل سلولز- کازئینات سدیم سبب کنترل رشد باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در نوعی ماهی شده است[۹]. در مطالعه ای تحت عنوان عملکرد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در پوشش ها و فیلم های خوراکی مورد بررسی قرار گرفت بر اساس این مطالعه غلظت اولیه هر دو لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم به مدت ٦ روز نسبتاً ثابت باقی مانده لند و در پایان دوره مورد مطالعه تعداد باکتری های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس برای همه دسته ها در یک محدوده مشابه بود و بقای بیفیدوباکتریوم در طول ذخیره سازی در مقایسه با غلظت اولیه کمی کاهش می یابد. در بسیاری از موارد، باکتری های اسید لاکتیک باعث سلامتی در هنگام مصرف می شوند، اما آن ها همچنین از طریق رقابت با عوامل بیماری زا برای تولید مواد مغذی، تولید متابولیت هایی مانند اسیدهای آلی و باکتریوسین ها و غیره، در برابر میکروارگانیسم های بیماریزا در محصول اثر محافظتی دارند[۱۰]. مطابق آنچه گفته شد، هدف از مطالعه ی حاضر بررسی اثر فیلم ژلاتینی حاوی پروبیوتیک‌های *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و *لاکتوباسیلوس رامنسوس* بر بقاء باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و خصوصیات فیزیکوشیمیایی فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان می‌باشد.

۲-روش کار

۲-۱-تهیه باکتری‌های پروبیوتیک موردمطالعه

لاکتوباسیلوس رامنسوس[3] (PTCC 1637) و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*[4] (PTCC 1644) از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران خریداری و طبق پروتکل شهبازی و همکاران(۲۰۱۵) ابراهیمی و همکاران(۲۰۱۸) فعال سازی شدند[۱۰، ۱۱]. بدین صورت که ابتدا باکتری‌های به محیط کشت MRS براث[5] استریل اضافه شدند و در دمای۳۷ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ ساعت گرمخانه گذاری شدند. در ادامه یک کشت مجدد ٤٨ ساعته به منظور دستیابی به حداکثر تعداد پروبیوتیک‌های فعال، داده شدند[۱۱، ۱۲].

۲-۲-تهیه ی میزان تلقیح باکتری مورد مطالعه

برای تهیه‌ی میزان تلقیح باکتری، از کشت MRS براث که بعد از ٢٤ ساعت یک کشت مجدد از آن تهیه و به مدت ٤٨ ساعت گرمخانه‌گذاری شد، استفاده گردید. رسوب باکتریایی با استفاده از سانتریفوژ یخچال‌دار(سیگما، آلمان)، در دمای ٤ درجه سلسیوس، با دور rpm ٤٠٠٠ به مدت ١٥ دقیقه جداسازی شد. پس از ته‌نشین شدن کامل رسوب باکتریایی، مایع رویی تخلیه شده و ٢ میلی لیتر محلول سرم فیزیولوژی استریل ٠/٩ درصد به لوله‌ها اضافه شد. سپس لوله‌ها ورتکس شدند تا رسوب باکتریایی در سرم فیزیولوژی به صورت یکنواخت پخش گردد. عمل سانتریفوژ کردن و شستشوی

3 -*Lactobacillus rhamnosus*
4-*Bifidobacterium bifidum*
5-MRS Broth

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

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، به روش جذب نوری، مطابق زیر عمل گردید: دستگاه اسپکتروفوتومتر(کادکس، کانادا) روی طول موج ٦۰۰ 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 ۱ تنظیم گردید. سپس سوسپانسیون باکتریایی با غلظت ۱۰ برابر جذب نوری ۱ تهیه شد[۱۳]. 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 ٦- تهیه شد. از رقت‌های ٥- و ٦- در پلیت‌های حاوی محیط‌های کشت اختصاصی به صورت سطحی و سه تکرار کشت داده شد و پس از ٤۸ ساعت گرمخانه‌گذاری با استفاده از جار بی‌هوازی(مرک، آلمان) و گاز پک نوعA (مرک، آلمان)، پرگنه‌ها شمارش گردید. تعداد باکتری‌ها cfu/ml ۱×۱۰^{۹} محاسبه گردید[۱۳].

۳-۲-تهیه فیلم ژلاتینی

ژلاتین پوست ماهیان سردآبی[٦] (مرک، آلمان) خریداری شد. محلول‌های ژلاتین (۳/٥ گرم) با حل کردن هر یک در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر با همزن مغناطیسی در دمای اتاق بهم زده شدند. سپس، گلیسرول ۳۰٪ (وزنی/ وزنی) (مرک، آلمان) و ۰/۰۲ گرم توئین ۸۰ به عنوان امولسیفایر در هیدروکلوئیدها به مدت ۱٥ دقیقه مخلوط گردید. پس از آن، محلول‌ها در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱٥ دقیقه استریل شدند و قبل از افزودن پروبیوتیک اجازه دادند تا در دمای اتاق خنک شوند. پس از تهیه محلول پایه ژلاتین تعداد cfu/ml $۱۰^{۹}$ از هر کدام از باکتری‌های *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* با توجه به حالت‌های مختلف به محلول اضافه شد. به مدت ۱٥ دقیقه با دستگاه اولتراتوراکس (IKA T18 digital) با دور ۱۰۰۰۰ هم زده شد. برای تهیه فیلم‌ها، ۲۰ میلی لیتر از محلول‌ها روی ظروف استریل پتری (قطر داخلی ۸ سانتی متر) ریخته و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۲ ساعت خشک شدند تا ضخامت یکنواختی به دست آید. فیلم‌های پر شده با پروبیوتیک در کیسه‌های پلاستیکی ذخیره و در دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری شدند[۱۲، ۱٤].

٤-۲-بررسی زنده مانی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در فیلم ژلاتین

شمارش باکتری‌های پروبیوتیک بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۳۲٥ انجام گردید. به منظور بررسی زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک مورد مطالعه در فیلم ژلاتین، ۱ گرم از فیلم‌های تهیه شده با ۹ میلی‌لیتر آب پپتونه ۰/۱ درصد در داخل لوله آزمایش مخلوط و به مدت ده دقیقه ورتکس شد. پس از ورتکس کردن آن، سری رقت‌ها با افزودن ۱ میلی لیتر به ۹ میلی لیتر 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 *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به مدت دوازده روز (صفر، ۳، ٦، ۹، ۱۲) به ترتیب در پلیت‌های حاوی محیط‌های MRS آگار و MRS به همراه سیستئین ۰/۰٥ درصد در سه تکرار با میله ی L شکل به صورت سطحی کشت داده شد و به مدت ۷۲- ٤۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری شد و پس از آن پرگنه باکتری‌ها در محیط‌های اختصاصی ذکر شده شمارش گردید. نتایج شمارش برحسب cfu/g گزارش شد[۱۰].

٥-۲-آماده سازی نمونه‌های ماهی قزل آلا رنگین کمان

ماهی قزل آلا رنگین کمان از یکی از مراکز معتبر پرورش ماهی خریداری شد و در شرایط کاملاً استریل و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. بلافاصله فیله آن توسط قیچی و

6-Gelatin from cold water fish skin

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

اسکالپل استریل جدا گردید و به عنوان نمونه قطعات ۱۰ گرمی از گوشت ماهی تهیه شد و به روش غوطه وری در الکل ۷۰ درصد استریل گردید. پس از آن در کیسه مخصوص استومیکر استریل نگهداری شدند. همچنین، اطمینان از عدم آلودگی نمونه‌ها به *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام گردید که بدین منظور ۵ گرم فیله ماهی در ٤٥ 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 ٤٨ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری صورت گرفت[۱۵].

۲-٦-آماده سازی *استافیلوکوکوس اورئوس*

باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*(ATCC 35218) از گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد. محیط کشت عمومی مناسب برای این باکتری BHI[7] 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 ٤ تا ۵ کلنی برداشته و به لوله‌های حاوی ۵-۱۰ میلی لیتر محیط BHI براث انتقال داده شد و به مدت ٢٤-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرمخانه گذاری شدند. سپس میزان جذب نوری در ۱-۰/۰۸ و طول موج ٦۰۰ نانومتر تعیین گردید. جذب بین ۱-۰/۰۸ معادل میزان $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ cfu/mL می‌باشد و سپس غلظت $۱۰^{٦}$ cfu/mL تهیه گردید[۱۰]. به منظور تلقیح باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، نمونه‌های ماهی مورد نظر به مدت ۵ دقیقه در داخل سوسپانسیون باکتریایی حاوی $۱۰^{٦}$ 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[١٦].

۲-۷-شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس*

به منظور شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت روی پلیت‌های حاوی محیط برد پارکر آگار به صورت سطحی کشت داده و ٤٨±۲ ساعت در ۲± ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. برای تست تاییدی از تست کوآگولاز در لوله استفاده شد[۱۱].

۲-۸-اندازه گیری pH نمونه

براساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۵۲ pH نمونه‌ها اندازه گیری گردید. مقدار ۱۰ گرم از نمونه فیله ماهی قزل آلا رنگین کمان را در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر کاملا مخلوط و هموژن کرده و با استفاده از دستگاه pH متر(Metrohm, Switzerland) دیجیتال میزان pH آن ارزیابی شد[١٦].

۲-۹-تعیین عدد پراکسید (PV)

سه گرم از نمونه فیله ماهی قزل آلا رنگین کمان را در بن ماری به مدت ۳ دقیقه در ٦۰ درجه سلسیوس قرار داده تا چربی موجود در آن ذوب شود. سپس ۳۰ میلی لیتر اسید استیک-کلروفرم به نسبت ٦۰ به ٤۰ حجمی و ۰/۵ میلی لیتر 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[١٦].

$$POV= V.N.1000/W$$

۲-۱۰-سنجش میزان مواد ازته فرار(TVB-N)

مواد ازته فرار نمونه‌ها با روش ماکروکلدال اندازه‌گیری و مقدار بازهای فرار بر حسب میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه ماهی بیان شد[۱۲].

$$\%\ mg\ TVB\text{-}N=۱۰۰\times ۱/٤ \times ۰/۱$$

۲-۱۱-اندازه گیری اندیس تیوباربیتوریک اسید(TBARS)

7- Brain Heart Infusion

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

این شاخص با افزودن ۹۷/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۲/۵ میلی لیتر اسید کلریدریک ٤ نرمال به ۱۰ گرم از نمونه ی هموژن شده اندازه گیری شد. ۵ میلی لیتر از مایع حاصل از تقطیر این مخلوط به ۵ میلی لیتر معرف تیوباربیتوریک 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 اندازه گیری شد. اندیس تیوباربیتوریک اسید(TBARS) طبق فرمول زیر بر حسب میلی گرم مالون الدهید در هر کیلوگرم نمونه ارزیابی گردید[۱۲].

TBARS value = (میزان جذب نوری در ۵۳۸ نانومتر) 7.8

۲-۱۲-تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای آنالیز آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه ۲٦ استفاده شد و سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ لحاظ گردید. نتایج به دست آمده با روش ONE WAY ANOVA آنالیز شدند. میانگین و انحراف معیار حاصل از نتایج تکرار سه گانه می‌باشد. جهت مقایسه بین میانگین‌ها از تست تکمیلی Duncan استفاده شد.

۳-بحث و نتایج

۱-۳-بقاء باکتری‌های پروبیوتیک در فیلم‌های ژلاتین

زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و *لاکتوباسیلوس رامنسوس* در فیلم ژلاتین در طول ۱۲ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سلسیوس در نمودار۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، در روز صفر بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود ندارند($p>۰/۰۵$). با گذشت زمان زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در تیمارها کاهش یافته است. در تیمارهای فیلم به همراه هر کدام از باکتری‌های پروبیوتیک به تنهایی(فیلم ژلاتین+ *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و فیلم ژلاتین+ *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*) زنده مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به ترتیب از ۸/۹۸ log cfu/g و ۹/۰۱ log cfu/g در روز صفر مطالعه به ترتیب به ۷/٤۳ log cfu/g و ٦/۸۱ در پایان مطالعه (روز ۱۲) رسید که مشخص شد بیشترین میزان بقاء باکتری‌های پروبیوتیک مربوط به *لاکتوباسیلوس رامنسوس* می‌باشد. در تیمارهای مخلوط(فیلم ژلاتین+ باکتری *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*) نیز زنده مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنسوس از* ۸/۹۹ log cfu/g در روز صفر به ٦/۳۱ log cfu/g در روز ۱۲ و زنده مانی باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* نیز از ۹/۰۲ log cfu/g به ۵/۳۷ log cfu/g در روز ۱۲ رسید که مشخص کننده ی زنده مانی بیشتر باکتری *لاکتوباسیلوس رامنسوس می‌باشد*.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

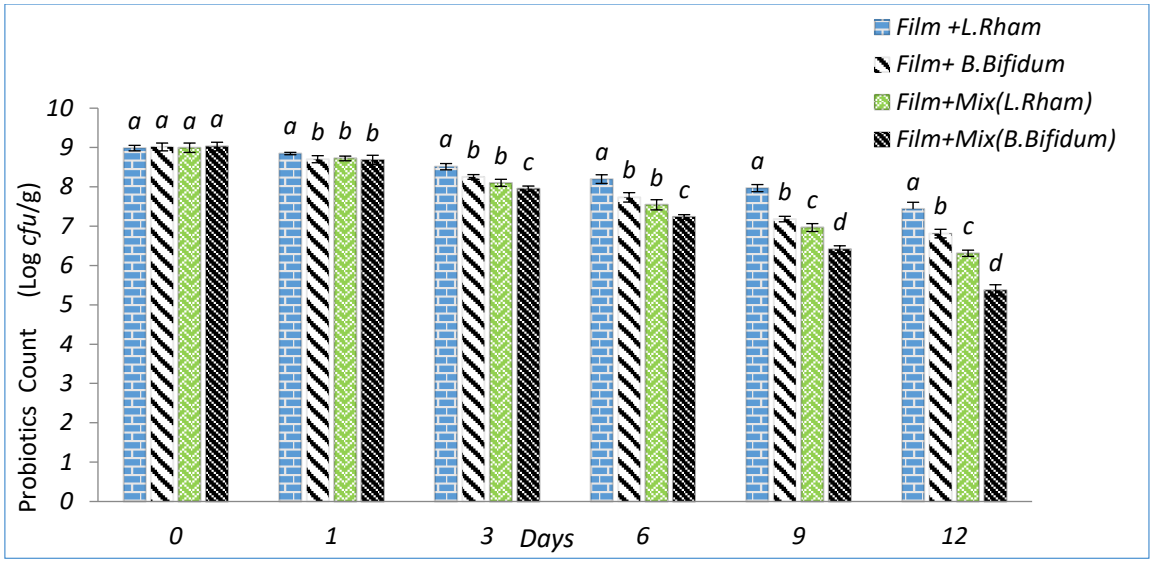

Figure 1. Survival of probiotic bacteria *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus rhamnus* in gelatin film during storage at refrigerator temperature for 12 days (mean ± SD). Small and similar English letters in the diagram show no significant difference between the groups (P> 0.05).

۲-۳-نتایج شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تلقیح شده به فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان

نتایج شمارش *باکتری استافیلوکوکوس اورئوس* در تیمارهای فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در طی نگهداری در دمای یخچال به مدت ۱۲ روز، همراه با تیمار شاهد در نمودار ۲ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، در روز صفر بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود ندارند(p>۰/۰۵). رشد *استافیلوکوکوس اورئوس*ها در تمامی تیمارها در طول مطالعه دارای روند افزایشی بوده است. شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس*ها در تیمار کنترل در ابتدای مطالعه ۵/۹۸ log cfu/g بوده و به ۸/۹۳ log cfu/g در روز پایانی مطالعه افزایش یافت. شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس*ها در تیمارهای بسته بندی شده با فیلم ژلاتین از ٦/٠٣ log cfu/g به ٦/١٣ log cfu/g در روز ۱۲ رسید. در تیمار فیلم ژلاتین به همراه باکتری *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و در تیمار فیلم ژلاتین به همراه باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در روز ۱۲ به ترتیب به log ٦/٠٩ cfu/g و ٦/٦٩ log cfu/g افزایش یافت. از روز صفر تا پایان مطالعه شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس*ها در تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *باکتری‌های لاکتوباسیلوس رامنسوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* نسبت به کنترل به طوری معنی داری کاهش یافت (P<۰/۰۵) به طوری که در این تیمار شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس*ها در روز صفر از ٦/٠٢ log cfu/g به ٥/٢٤ log cfu/g در روز ۱۲ رسید که کمترین میزان را در بین تمامی گروه‌ها در روز آخر بود و نشان دهنده ی عملکرد بهتر این تیمار نسبت به دیگر گروه‌ها است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

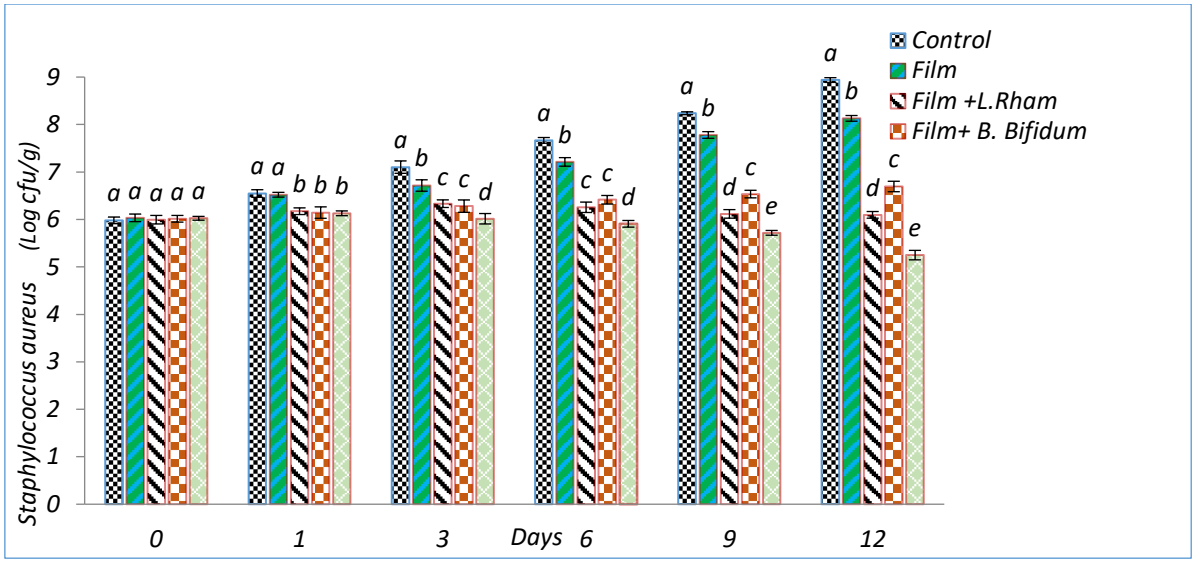

Figure 2. Survival of *Staphylococcus aureus* inoculated in treatments of rainbow rainbow trout fillets packaged with gelatin films containing *Lactobacillus rhamnus* and *Bifidobacterium bifidum* during storage at refrigerator temperature for 12 days (mean ± SD). Small and similar English letters in the diagram show no significant difference between the groups (P> 0.05).

زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و *لاکتوباسیلوس رامنسوس* در فیلم ژلاتین و نتایج ارزیابی اثر فیلم ژلاتینی حاوی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در طول ۱۲ روز مطالعه در دمای یخچال بر بقا باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان در نمودار ۱ و ۲ گزارش شده است. بر طبق نتایج این مطالعه، فیلم ژلاتین به تنهایی اثر ضد میکروبی مطلوبی در مقایسه با فیلم‌های ژلاتین حاوی باکتری‌های پروبیوتیک نداشت و فقط فیلم‌های پروبیوتیک از خواص ضد میکروبی برخوردار بودند که این نتایج با مطالعات صبا و همکاران، ۲۰۱۶؛ هان و همکاران، ۲۰۱۷؛ رضایی و شهبازی، ۲۰۱۸ مطابقت دارد[۱۸، ۱۹، ۲۰]. در مطالعه و پژوهشی که رضایی و تقی زاده اندواری(۲۰۱۱) در خصوص اثر پوشش ژلاتین ٤ درصد بر کیفیت فیله ی ماهی قزل آلای رنگین کمان در طی یک دوره ی ۲۰ روزه در دمای یخچال انجام داده شد، مشخص گردید پوشش ژلاتین به تنهایی تأثیر زیادی بر کنترل رشد باکتری‌ها ندارد و در واقع دارای فعالیت بیولوژیکی و ضد باکتریایی نمی‌باشد که این نتایج با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت دارد[۲۱]. در پژوهشی فضل آرا و همکاران(۲۰۱۷) مشخص شد پوشش ژلاتین به تنهایی فاقد توانایی لازم بهبود زمان ماندگاری فیله‌های شترمرغ است، اما به عنوان یک پوشش و حامل برای ترکیبات دارای اثر ضدمیکروبی میتواند در افزایش مدت زمان ماندگاری موثر عمل کند که این نتایج با یافته‌های مطالعه ی حاضر مطابقت دارد [۲۲].

طبق نتایج این مطالعه، فیلم ژلاتین سبب افزایش زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک شده است. در همین خصوص در مطالعه ای با هدف زنده ماندن پروبیوتیک‌های مختلف *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*[۸] و *لاکتوباسیلوس کازئی*[۹] در دوره‌های ذخیره سازی در فیلم‌های ژلاتینی و پکتین کم متوکسیل نتایج نشان داد که تعداد سلولهای پروبیوتیک زنده در مرحله خشک شدن محلول‌های تشکیل فیلم کاهش یافته است. دمای ذخیره سازی عامل موثری در زنده ماندن پروبیوتیک‌ها بود[۱٦]. همچنین در مطالعه ای مدت زمان بقاء باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* را بر روی فیلم‌های پروبیوتیک حاصل از نشاسته ذرت، ژلاتین، کازئینات سدیم و کنسانتره پروتئین سویا بررسی و گزارش کردند در فیلم-های بر پایه پروتئین تعداد باکتری روند صعودی داشته است که با نتایج مطالعه ی حاضر مطابقت دارد. در حالی که در

8-Lactobacillus plantarum

9- Lactobacillus casei

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

مطالعه ای اثر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[10] و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در پوشش‌ها 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 *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و اعمال فشار هیدواستاتیک بالا (۲۰۰ مگاپاسکال/۱۰ دقیقه/دمای ۲۰ درجه سلسیوس) به طور همزمان موجب افزایش معنی‌دار مدت زمان ماندگاری فیله ماهی مورد مطالعه گردید[۲۳]. همانطور که توضیح داده شد، فیلم‌های ژلاتین حاوی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* موجب کاهش معنی دار در تعداد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان نگهداری شده در دمای یخچال شدند(P < ۰/۰۵) که با برخی مطالعات در این زمینه مطابقت دارند. در مطالعه ای توسط آلتیری و همکاران (۲۰۰۵)، افزودن *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به نوعی ماهی موجب مهار رشد باکتری‌های مولد فساد شامل *شوانلا پوتریفاینس*، گونه‌های سودوموناس و *فوتوباکتریوم فسفریوم* شده است[۲٤]. در مطالعه ای فیلم حاوی *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[۱٤].

در پژوهشی فضل آرا و همکاران(۲۰۱۷) تاثیر پوشش ژلاتین با غلظتی مشخص حاوی نوعی ترکیب ضدمیکروبی گیاهی بر ویژگی‌های میکروبی فیله ی شتر مرغ در دمای یخچال به مدت ۱۵ روز بررسی کردند. بر طبق یافته‌ها، این پوشش اثر معناداری بر کاهش روند افزایشی تعداد باکتری‌های مولد فساد داشته است که این نتایج با یافته‌های مطالعه ی حاضر مطابقت دارد[۲۲]. در مطالعه ای صالحی (۲۰۱۳) اثر لاکتوباسیلوس‌های جداشده از مواد غذایی بومی را در کنترل رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به اثبات رساند[۲۵]. نتایج این مطالعه نشان داد، بیشترین میزان بقاء باکتری‌های پروبیوتیک مربوط به *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و در نهایت *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* میباشد. کمتر بودن میزان بقاء *بیفیدوباکتریوم بفیدوم* را می‌توان به حساسیت بیشتر آن به کاهش مواد مغذی، فعالیت آبی، میزان اکسیژن و دمای نگهداری نسبت داد که با نتایج مطالعه ای توسط همایونی و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت دارد. در مطالعه ی ذکر شده، میزان بقاء لاکتوباسیل‌ها به صورت معنی داری بیشتر از بیفیدوباکترها در حین نگهداری طولانی مدت بستنی سین بیوتیک می‌باشد[۲۷].

٤-۳-نتایج ارزیابی میزان pH

نتایج ارزیابی اثر فیلم ژلاتینی حاوی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در طول ۱۲ روز مطالعه در دمای یخچال بر میزان pH نمونه‌های ماهی قزل آلای رنگین کمان، در جدول ۱ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، روند در تمامی گروه‌ها به صورت افزایشی بوده است و در روز صفر بین تیمارها اختلاف معناداری مشاهده نمی‌شود(P>۰/۰۵). بر اساس نتایج به دست آمده، pH گروه کنترل از ٦/۱۷ در روز صفر، به ۷/۲۹ به روز پایانی مطالعه رسید. در حالی که در روز ۱۲، تفاوت معنی دار یبین گروه کنترل و دیگر تیمارها وجود داشت(P <۰/۰۵). در روز ۱۲ فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین برابر با ۷/۰۱ در نمونه‌های فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* برابر با ٦/٤۹ و در نمونه‌های فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* برابر با ٦/۵۰ و در نمونه‌های فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* برابر با ٦/۳۰ بود. در میزان pH نمونه‌های ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با پوشش ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* نسبت به نمونه‌های تیمار شاهد در

10 -*Lactobacillus acidophilus*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

تمامی روزهای آزمون به استثنای روز صفر، تفاوت معنی داری (P <۰/۰۵) مشاهده شد. در طی مطالعه انجام شده کمترین تفاوت میزان pH با تیمار شاهد مربوط به تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین به تنهایی بوده و تفاوت بیشتر میزان pH مربوط به نمونه‌های تیمارهای ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و تیمار ژلاتین حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بود. و بیشترین تفاوت (کمترین مقدار pH) مربوط به نمونه‌های ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بود.

Table 1. Average pH changes in different treatments of rainbow trout kept at refrigerator temperature (mean ± SD). Small and similar English letters in the diagram show no significant difference between the groups (P> 0.05).

تیمار	روز					
	صفر	۱	۳	٦	۹	۱۲
Control	٦/۱۷ ± ۰/۰۳^{a}	٦/۵۱ ± ۰/۰۳^{a}	٦/۸۱ ± ۰/۰۱^{a}	٦/۸۹ ± ۰/۰۱^{a}	۷/۱۵ ± ۰/۰۳^{a}	۷/۲۹ ± ۰/۰٤^{a}
Film	٦/۱۷ ± ۰/۰۳^{a}	٦/٤۸ ± ۰/۰٤^{a}	٦/٦۳ ± ۰/۰۱^{b}	٦/۷۱ ± ۰/۰۲^{b}	٦/۸۸± ۰/۰۲^{b}	۷/۰۱± ۰/۰۲^{b}
B.b	٦/۱۷ ± ۰/۰۳^{a}	٦/۳۵ ± ۰/۰۲^{b}	٦/۳۹ ± ۰/۰۲^{c}	٦/۳۵ ± ۰/۰۲^{c}	٦/٤۷ ± ۰/۰۱^{c}	٦/۵۰ ± ۰/۰۱^{c}
L.r	٦/۱۷ ± ۰/۰۳^{a}	٦/۳۰ ± ۰/۰۱^{c}	٦/۳٤ ± ۰/۰۱^{d}	٦/۳۱ ± ۰/۰۱^{d}	٦/٤۰ ± ۰/۰۲^{d}	٦/٤۹ ± ۰/۰۱^{c}
B.b+L.r	٦/۱۷ ± ۰/۰۳^{a}	٦/۱۸ ± ۰/۰۲^{d}	٦/۲۲ ± ۰/۰۱^{e}	٦/۲۵ ± ۰/۰۲^{e}	٦/۲٦ ± ۰/۰۱^{e}	٦/۳۰ ± ۰/۰۳^{d}

روند کلی در تمامی گروه‌ها به صورت افزایشی بوده است. افزایش pH به طور کلی به دلیل تولید ترکیبات قلیایی مانند آمونیاک و آمین‌ها و از طریق تجزیه پروتئین‌ها است اما در گروه کنترل به دلیل آلودگی باکتریایی بیشتر، ترکیبات نیتروژنی بیشتری نیز تولید شده است که با نتایج مطالعات لوتو و همکاران (۲۰۱٤) و فن و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد[۲۸، ۲۹]. در روز ۱۲ pH فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین برابر با ۷/۰۱، در نمونه‌های فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* برابر با ٦/٤۹، فیلم ژلاتین حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* برابر با ٦/۵۰ و فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* برابر با ٦/۳۰ بود که کمترین مقدار pH نیز مربوط به همین تیمار بود. کاهش pH به ویژه در گروه ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به علت وجود لاکتیک اسید در آن است و به نمونه نیز انتقال شده است که با مطالعه لوپز و همکاران در سال ۲۰۱۲ و فن و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد[۱٤، ۲۸]. 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 مطالعه ای تالوالکر و همکاران در سال ۲۰۰٤ اظهار کردند که بیفیدوباکتر قادر است لاکتوز را تخمیر و اسید استیک تولید نماید که خود به افت pH کمک می‌کند[۳۰]. دیوشه و همکاران در سال ۱۹۹۷ کاهش تدریجی pH را در ماست حاوی پروبیوتیک مشاهده کردند که علت آن را به تخمیر نسبت دادند و با نتایج این مطالعه مطابقت دارد[۳۱]. همچنین در پژوهشی که فضل آرا و همکاران(۲۰۱۷) انجام دادند، تاثیر پوشش ژلاتین(٤درصد) حاوی آویشن شیرازی(۱/۵ درصد) برخصوصیات شیمیایی فیله ی شتر مرغ در دمای ٤ درجه ی سلسیوس و در یک دوره ی ۱۵ روزه مورد بررسی قرار گرفت. طبق یافته‌ها، تیمار ژلاتین–آویشن شیرازی نسبت به سه گروه دیگر میزان pH کمتری را در مدت زمان نگهداری نشان داد که این نتایج با یافته‌های مطالعه ی حاضر مطابقت دارد[۲۲].

۵-۳-نتایج ارزیابی میزان اندیس پراکسید(PV)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

نتایج اندازه گیری میزان پراکسید در تیمارهای فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در طی نگهداری در دمای یخچالی به مدت ۱۲ روز، همراه با تیمار شاهد در جدول ۲ ارائه شده است. بر اساس نتایج به دست آمده در عدد پراکسید تیمار شاهد نسبت به تمامی تیمارهای دیگر از روز سوم تا روز دوازدهم تفاوت معنی داری (۰/۰۵> P) مشاهده شد. اما روند کلی در تمامی تیمارها به صورت افزایشی بود. عدد پراکسید تیمار کنترل در روز صفر ۰/۹۶ meq/kg بود و در روز آخر به ٤/۲۵ meq/kg رسید. نتایج به دست آمده در مقایسه بین تیمار کنترل و تیمار بسته بندی شده با ژلاتین با تیمارهای بسته بندی شده با ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* دارای تفاوت معنی داری است(۰/۰۵> P). در تیمار ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین در روز آخر به ۳/۹۲ meq/kg، در تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* در روز آخر به ۳/۰٦ meq/kg و در تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به ۳/۲۳ meq/kg و در تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* برابر با ۲/۵۸ meq/kg(کمترین میزان) افزایش یافت. عدد پر اکسید در تیمارهای بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* از روز صفر تا پایان مطالعه به صورت معنی داری (۰/۰۵> P) کمتر از عدد پراکسید در تیمار کنترل بود.

Table 2. Average PV changes in different treatments of rainbow trout kept at refrigerator temperature (mean ± SD). Small and similar English letters in the diagram show no significant difference between the groups (P> 0.05).

تیمار	روز					
	صفر	۱	۳	٦	۹	۱۲
Control	۰/۹٦ ± ۰/۰۳^{a}	۱/٦٦ ± ۰/۰۵^{a}	۲/۸٤ ± ۰/۰۵^{a}	۳/۰۳ ± ۰/۰۱^{a}	۳/۹٦ ± ۰/۰۱^{a}	٤/۲۵ ± ۰/۰۰^{a}
Film	۰/۹٦ ± ۰/۰۳^{a}	۱/٦۳ ± ۰/۰٦^{a}	۲/۵۵ ± ۰/۰۱^{b}	۲/٦٦ ± ۰/۰۳^{b}	۳/۱۸ ± ۰/۰۲^{b}	۳/۹۲ ± ۰/۰۳^{b}
B.b	۰/۹٦ ± ۰/۰۳^{a}	۱/۳٤ ± ۰/۰٦^{b}	۱/٦۹ ± ۰/۰۲^{c}	۲/۲۱ ± ۰/۰۳^{c}	۲/۷۷ ± ۰/۰۳^{c}	۳/۲۳ ± ۰/۰۱^{c}
L.r	۰/۹٦ ± ۰/۰۳^{a}	۱/۳۱ ± ۰/۰٤^{b}	۱/٦۷ ± ۰/۰٤^{c}	۲/۰۲ ± ۰/۰۲^{d}	۲/۵٤ ± ۰/۰۲^{d}	۳/۰٦ ± ۰/۰۲^{d}
B.b+L.r	۰/۹٦ ± ۰/۰۳^{a}	۱/۲۹ ± ۰/۰۵^{b}	۱/٦۳ ±۰/۰۱^{c}	۱/۹۰ ±۰/۰۱^{e}	۲/۰۸ ± ۰/۰۱^{e}	۲/۵۸ ± ۰/۰۲^{e}

اکسیداسیون چربی‌ها یک مشکل اساسی در ماهی تازه و سایر فرآورده‌های دریایی محسوب میشود. عدد پراکسید (PV) محصول اکسیداسیون اولیه چربی‌ها است و هر چقدر درجه غیراشباع چربی‌ها بیشتر باشد، آن ماده آمادگی بیشتری برای اکسیداسیون دارد[۳۲]. پیشنهاد شده که حداکثر میزان قابل قبول پراکسید برای کیفیت مطلوب ماهی ۷–۸ meq/kg می‌باشد [۳۳] که در این مطالعه، گروه کنترل و نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم ژلاتین در روز آخر به این حدود نزدیک بوده است. روند کلی در تمامی تیمارها به صورت افزایشی بود که بیشترین میزان در روز ۱۲ گروه کنترل مشاهده شد و از ۰/۹٦ meq/kg به ٤/۲۵ meq/kg رسید که به دلیل فعالیت باکتری‌های سرمادوست به ویژه گونه‌های سودوموناس می‌باشد در واقع، باکتری‌های سرمادوست می‌توانند در حین نگهداری ماده غذایی در شرایط یخچال آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز تولید کنند و متعاقبا میزان اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه را افزایش دهند. این نوع از اسیدهای چرب نسبت به اکسیداسیون حساس بوده و در نهایت هیدروپراکسید در ماده غذایی تولید می‌شود[۳٤]. تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین در روز آخر به ۳/۹۲ meq/kg، تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

ترتیب در روز آخر به ۳/۰٦ meq/kg و ۳/۲۳ meq/kg رسید. در تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* برابر باmeq/kg ۲/۵۸(کمترین میزان) افزایش یافت. تمامی نمونه‌های فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان 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 قزل آلای رنگین کمان مؤثر بوده است. ساکی[11] و همکاران، (۲۰۱۷) در پژوهشی، اثر فیلم خوراکی کیتوزان-ژلاتین را بر ویژگی‌های نوعی ماهی نگهداری شده در یخچال بررسی کردند. بر طبق این پژوهش، نمونه‌های دارای فیلم و پوشش کیتوزان ـ ژلاتین نسبت به نمونهٔ کنترل، در آزمون‌های شاخص اکسیداسیون چربی(اسید چرب آزاد)، از میزان اکسیداسیون کمتری برخوردار بودند که این نتیجه با یافته‌های مطالعه ی حاضر مطابقت دارد [۳۵]. کمتر بودن میزان PV و TVB-N در گروه فیلم خالص با سایر مطالعات در مورد فیله ماهی قزل آلا (دهقانی و همکاران، ۲۰۱۸) مطابقت دارد[۳٦]. مواد اولیه اکسیداسیون(هیدروپراکسیدها) ناپایدار و مستعد تجزیه می‌باشند. محصولات ثانویه اکسیداسیون شامل کتون‌ها، آلدهیدها، هیدروکربن‌ها، الکل‌ها، ترکیبات اپوکسی و اسیدهای آلی می‌باشد. یک ترکیب جزئی از اسیدهای چرب با سه پیوند دو گانه و یا بیشتر از آن، مالون آلدهید است که در اثر تجزیه اسیدهای چرب غیر اشباع طی اکسیداسیون چربی تشکیل می‌شود[۳۷].

٦-۳-نتایج ارزیابی میزان TVB-N

نتایج ارزیابی مواد ازته فرار در تیمارهای فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در طی نگهداری در دمای یخچالی به مدت ۱۲ 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. میزان اولیه مواد ازته فرار در نمونه‌های فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان در روز صفر ۹/۱۹ mg/100g بود که در روز ۱۲ به ٤۸/۲۲ mg/100g رسید. در روز ۱۲ این عدد برای تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین برابر با ٤۱/۱٦ mg/100g، برای تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* ۲۳/۱۷ mg/100g، برای تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* ۲٦/۲۳ mg/100g، برای تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* ۱۹/۰۵ mg/100g بود، تمامی تیمارهای فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ضد میکروبی مورد استفاده، تفاوت معنی داری در میزان مواد ازته فرار نسبت به تیمار شاهد نشان دادند (P <۰/۰۵). کمترین میزان مواد ازته فرار در تمامی مطالعه مربوط به تیمار بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بود.

Table 3. Average TVB-N changes in different treatments of rainbow trout kept at refrigerator temperature (mean ± SD). Small and similar English letters in the diagram show no significant difference between the groups (P> 0.05).

تیمار	روز					
	صفر	۱	۳	٦	۹	۱۲
Control	۹/۱۹ ± ۰/۰۲^{a}	۱۲/۵۸ ± ۰/۰٦^{a}	۲۵/۱۸ ± ۰/۰۵^{a}	۲۸/٦٤ ± ۰/۰۳^{a}	٤۲/۰۱ ± ۰/۰۲^{a}	٤۸/۲۲ ± ۰/۰۳^{a}
Film	۹/۱۹ ± ۰/۰۲^{a}	۱۲/۵۵ ±۰/۰۵^{a}	۲۱/۱٤ ± ۰/۰۱^{b}	۲۷/۰۳ ± ۰/۰٤^{b}	۳۳/۳٤ ± ۰/۰۱^{b}	٤۱/۱٦ ± ۰/۰٤^{b}
B.b	۹/۱۹ ± ۰/۰۲^{a}	۱۱/۱۰ ± ۰/۰٤^{b}	۱۳/۲۲ ±۰/۰۳^{c}	۱٦/۱۷ ± ۰/۰۲^{c}	۲۰/۱۸ ± ۰/۰٦^{c}	۲٦/۲۳ ± ۰/۰۲^{c}
L.r	۹/۱۹ ± ۰/۰۲^{a}	۱۱/۰۸ ± ۰/۰۵^{b}	۱۳/۱۹ ± ۰/۰٦^{c}	۱۵/۱٤ ± ۰/۰۲^{d}	۱۹/٤۵ ± ۰/۰٤^{d}	۲۳/۱۷ ± ۰/۰۳^{d}

11 -Saki

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

B.b+L.r	۹/۱۹ ± ۰/۰۲^{a}	۱۰/۹۹ ± ۰/۰۷^{c}	۱۱/۷۹ ± ۰/۰۲^{d}	۱۲/۰۱ ± ۰/۰٤^{e}	۱۵/۳۲ ± ۰/۰۵^{e}	۱۹/۰۵ ± ۰/۰۱^{e}

ازت کل فرار (TVB-N) که به طور عمده از آمونیاک و آمین‌ها تشکیل شده اند و به عنوان شاخص خراب شدن در گوشت ماهی استفاده می‌شوند. با افزایش فعالیت باکتری‌ها و آنزیم‌ها، این شاخص نیز افزایش می‌یابد و موجب طعم نامطلوبی در ماهی می‌شود. حداکثر میزان قابل قبول مواد ازته ی فرار، ۲۵ میلی گرم در ۱۰۰ گرم نمونه ی گوشت ماهی پیشنهاد شده است. که در این مطالعه طبق نتایج ارزیابی مواد ازته فرار در تیمارهای فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در طی نگهداری در دمای یخچالی به مدت ۱۲ روز، همراه با تیمار کنترل در جدول ۳، مشخص شد در گروه کنترل از روز سوم، از گروه فیلم ژلاتین به تنهایی از روز ششم، در گروه فیلم ژلاتینی حاوی پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در روز آخر(روز ۱۲) از این میزان عبور کرد و در دیگر گروه ها یعنی گروه فیلم ژلاتینی حاوی پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و گروه فیلم ژلاتینی حاوی پروبیوتیک های *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و *لاکتوباسیلوس رامنسوس*، تا پایان دوره‌ی مطالعه، میزان بازهای ازته فرار در حدود مجاز گزارش شد. روند کلی مواد ازته فرار در نمونه‌ها در طول مطالعه به صورت افزایشی بود و همانطور که ذکر شد افزایش میزان بازهای فرار کل در طول دوره نگهداری فیله ماهی در دمای یخچال می‌تواند ناشی از دهیدروژنه شدن جزئی بافت ماهی، و تولید متابولیت‌های فرار در حضور اکسیژن و اکسیداسیون لیپید باشد[۳۸]. میزان اولیه مواد ازته فرار در نمونه‌های فیله ماهی از ۹/۱۹ mg/100g به ٤۸/۲۲ mg/100g رسید که بیشترین میزان بود و دلیل آن نیز بار میکروبی بیشتر می‌باشد. در روز ۱۲ این عدد برای تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین برابر با ٤۱/۱٦ mg/100g، برای تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* ۲۳/۱۷ mg/100g، برای تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* ۲٦/۲۳ mg/100g، برای تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* ۱۹/۰۵ mg/100g که کمترین میزان بود. در پژوهشی که فضل آرا و همکاران(۲۰۱۷) به عمل رساندند، تاثیر پوشش ژلاتین(٤درصد) حاوی آویشن شیرازی(۱/۵ درصد) برخصوصیات شیمیایی فیله ی شتر مرغ در دمای ٤ درجه ی سلسیوس و در یک دوره ی ۱۵ روزه مورد بررسی قرار گرفت. بر طبق یافته‌ها، تیمار ژلاتین حاوی آویشن شیرازی از نظر فاکتورهای شیمیایی، نسبت به سه گروه دیگر میزان ازت کل فرار کمتری را در مدت زمان نگهداری نشان داد که این نتایج با یافته‌های مطالعه ی حاضر مطابقت دارد[۲۲].

۷-۳-نتایج ارزیابی میزان اندیس تیوباربیتوریک اسید(TBARS)

نتایج ارزیابی TBARS در تیمارهای فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در طی نگهداری در دمای یخچالی به مدت ۱۲ روز، همراه با تیمار کنترل در جدول ٤ گزارش شده است. روند کلی در نمونه‌ها در طول مطالعه به صورت افزایشی بود. میزان TBARS در نمونه‌های فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان در روز صفر ۰/٤۱ بود که در روز ۱۲ به ۳/۲۷ رسید. در روز ۱۲ این عدد برای تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین برابر با ۲/۹۹، برای تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* ۱/۸۰، برای تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* ۲/۰۳، برای تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* ۱/٤۱ بود

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

که کمترین میزان TBARS در تمامی مطالعه مربوط به تیمار فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بود.

Table 4. Average TBARS changes in different treatments of rainbow trout kept at refrigerator temperature (mean ± SD). Small and similar English letters in the diagram show no significant difference between the groups (P> 0.05).

تیمار	روز					
	صفر	۱	۳	٦	۹	۱۲
Control	۰/٤۱ ± ۰/۰۲^{a}	۱/۰۱ ± ۰/۰۲^{a}	۱/۷۰ ± ۰/۰۱^{a}	۲/۱۸ ± ۰/۰۲^{a}	۲/۹۸ ± ۰/۰۳^{a}	۳/۲۷ ± ۰/۰۲^{a}
Film	۰/٤۱ ± ۰/۰۲^{a}	۰/۹۸ ± ۰/۰۳^{a}	۱/٤۹ ± ۰/۰۲^{b}	۲/۰۲ ± ۰/۰۳^{b}	۲/۸۱ ± ۰/۰۱^{b}	۲/۹۹ ± ۰/۰۳^{b}
B.b	۰/٤۱ ± ۰/۰۲^{a}	۰/۷٤ ± ۰/۰۳^{b}	۱/۲۷ ± ۰/۰۱^{c}	۱/٤٥ ± ۰/۰۱^{c}	۱/۷۳ ± ۰/۰۳^{c}	۲/۰۳ ± ۰/۰۱^{c}
L.r	۰/٤۱ ± ۰/۰۲^{a}	۰/۷۲ ± ۰/۰۳^{b}	۱/۲٥ ± ۰/۰۱^{c}	۱/۳۲ ± ۰/۰۲^{d}	۱/٥٤ ± ۰/۰۲^{d}	۱/۸۰ ± ۰/۰۲^{d}
B.b+L.r	۰/٤۱ ± ۰/۰۲^{a}	۰/۷۳ ± ۰/۰۱^{b}	۱/۰۳ ±۰/۰۲^{d}	۱/۱۹ ±۰/۰۱^{e}	۱/۲۹ ± ۰/۰۲^{e}	۱/٤۱ ± ۰/۰۳^{e}

پیشنهاد شده که حداکثر میزان قابل قبول تیوباربیتوریک اسید برای کیفیت مطلوب ماهی ۵ میلی گرم مالون آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه است در حالی که تا ۸ میلی گرم مالون آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه هم قابل مصرف است[۳۹] که در این مطالعه، گروه کنترل و نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم ژلاتین در روز آخر به این حدود نزدیک بوده است. روند کلی در طول مطالعه به صورت افزایشی بود. میزان TBARS در نمونه‌های فیله ماهی در روز صفر ۰/٤۱ بود که در روز ۱۲ به ۳/۲۷ رسید که بیشترین میزان بود و برای تیمار بسته بندی شده با فیلم ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* ۱/٤۱ یعنی کمترین میزان بود. پیشنهاد شده که حداکثر میزان قابل قبول تیوباربیتوریک 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 اکی والان بر کیلوگرم در نمونه هم قابل مصرف است[۳۹]. تاکنون مطالعات بسیاری در زمینه تاثیر فیلم‌های پروبیوتیک بر فساد شیمیایی مواد غذایی تازه انجام نشده است. در مطالعه ای توسط کایا و آکسو، ۲۰۰۵، اثر افزودن مستقیم باکتری‌های پروبیوتیک بر فساد شیمیایی گوشت‌های عمل آوری شده[٤۰] و نوعی فرآورده گوشتی تخمیری بررسی شده است که طبق یافته‌ها گزارش کرده اند باکتری‌های پروبیوتیک می‌توانند سبب افزایش میزان PV و TVB-N را در مقایسه با گروه کنترل باشند[٤۱].

٤-نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج آزمون‌های شیمیایی به ویژه بررسی میزان بازهای ازته‌ی فرار در این مطالعه، مشخص شد فیلم‌های ژلاتین حاوی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* توانستند مدت زمان ماندگاری فیله‌های ماهی قزل آلای رنگین کمان را به میزان چشمگیری افزایش دهند. بر طبق نتایج آزمون بررسی میزان بازهای ازته‌ی فرار و حد مجاز پیشنهاد شده‌ی ۲۵ mg/100g، در نمونه‌های کنترل زمان ماندگاری از روز سوم، نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم ژلاتین از روز ششم و در نمونه‌های حاوی باکتری‌های پروبیوتیک، حداقل از روز نهم فساد شروع شده است که مشخص می‌شود حداقل ٦ روز زمان ماندگاری افزایش یافته است. همچنین 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 *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بیشترین اثر ضد میکروبی، بیشترین ممانعت از تغییرات شیمیایی فیله‌های ماهی قزل آلای رنگین کمان داشته اند. بنابراین فیلم ژلاتین همراه با باکتری‌های پروبیوتیک مورد مطالعه می‌تواند سبب افزایش مدت ماندگاری فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

شده و در صنعت غذا جهت بسته بندی فعال در محصولات غذایی به خصوص گوشت ماهی مورد استفاده قرار گیرد.

۵-سپاسگزاری

بدینوسیله از حمایت مالی دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل در انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را دارم.

٦- منابع

[1] Tabatabaei Moradi L, Sharifan A, Larijani K. Antimicrobial activity of lemon and peppermint essential oil in edible coating containing chitosan and pectin on rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fillets. J Med Microbiol Infect Dis. 2015;3(1):38–43.

[2] 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.

[3] Tafi AA, Meshkini S, Tukmechi A. Effects of Chitosan on some immune response of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) and enhance resistance against a pathogenic *Aeromonas hydrophila* fallowing experimental infection. J Anim Res (Iranian J Biol. 2014;26(4):468–77.

[4] Parthasarathy R, Ravi D. Probiotic bacteria as growth promoter and biocontrol agent against *Aeromonas hydrophila* in Catla catla(Hamilton, 1822). Indian J Fish. 2011;58(3):87–93.

[5] Fetsch A, Contzen M, Hartelt K, Kleiser A, Maassen S, Rau J. *Staphylococcus aureus* food-poisoning outbreak associated with the consumption of ice-cream. Int J Food Microbiol. 2014;187:1–6.

[6] Umaraw P, Munekata PES, Verma AK, Barba FJ, Singh VP, Kumar P, et al. Edible films/coating with tailored properties for active packaging of meat, fish and derived products. Trends Food Sci Technol. 2020;98:10–24.

[7] Baldwin EA, Hagenmaier R, Bai J. Edible coatings and films to improve food quality. CRC press; 2011.

[8] Pereda M, Ponce AG, Marcovich NE, Ruseckaite RA, Martucci JF. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. Food Hydrocoll. 2011;25(5):1372–81.

[9] 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.

[10] 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.

[11] 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.

[12] Ebrahimi B, Mohammadi R, Rouhi M, Mortazavian AM, Shojaee-Aliabadi S, Koushki MR. Survival of probiotic bacteria in carboxymethyl cellulose-based edible film and assessment of quality parameters. LWT. 2018;87:54–60.

[13] Banuree SA, Noori N, Gandomi H, Khanjari A, Karabagias IK, Faraki A, Ghadami F, Azizian A, Banuree SZ. Effect of Stevia rebaudiana aqueous extract and microencapsulation on the survivability of *Bifidobacterium bifidum* Bb12 and *Lactobacillus acidophilus* La5 in functional ice cream. International Journal of Food Science & Technology. 2022 Nov 1.

[14] 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.

[15] Kazemeini H, Azizian A, Shahavi MH. Effect of chitosan nano-gel/emulsion containing *bunium persicum* essential oil and nisin as an edible biodegradable coating on *Escherichia coli* O_{157}: H*7* in rainbow trout fillet. Journal of Water and Environmental Nanotechnology. 2019 Oct 1;4(4):343-9.

[16] Khodaei D, Hamidi-Esfahani Z, Lacroix M. Gelatin and low methoxyl pectin films containing probiotics: Film characterization and cell viability. Food Biosci. 2020;36:100660.

[17] Cook PA, Wheater P. Using statistics to understand the environment. Routledge; 2005.

[18] Saba MK, Sogvar OB. Combination of carboxymethyl cellulose-based coatings with

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

calcium and ascorbic acid impacts in browning and quality of fresh-cut apples. LWT-Food Sci Technol. 2016;66:165–71.
[19] 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.
[20] 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.
[21] 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.
[22] 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).
[23] Soukoulis C, Singh P, Macnaughtan W, Parmenter C, Fisk ID. Compositional and physicochemical factors governing the viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG embedded in starch-protein based edible films. Food Hydrocoll. 2016;52:876–87.
[24] Al-Holy MA, Al-Nabulsi A, Osaili TM, Ayyash MM, Shaker RR. Inactivation of *Listeria innocua* in brined white cheese by a combination of nisin and heat. Food Control. 2012;23(1):48–53.
[25] Salehi M. Assessment antagonistic effect of Lactobacilli isolated from Iranian traditional food. J Innov Food Sci technol. 2013;5(1):79–84.
[26] Sánchez-González L, Saavedra JIQ, Chiralt A. Physical properties and antilisterial activity of bioactive edible films containing *Lactobacillus plantarum*. Food Hydrocoll. 2013;33(1):92–8.
[27] Homayouni A, Azizi A, Ehsani MR, Yarmand MS, Razavi SH. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. Food Chem. 2008;111(1):50–5.
[28] 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.
[29] 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.
[30] 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.
[31] Dave RI, Shah NP. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. J Dairy Sci. 1998;81(11):2804–16.
[32] Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. Modern food microbiology. Springer Science & Business Media; 2008.
[33] Torian F, Rihani M, Shirvani Z. Investigation of fat oxidation parameters of precooked rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fillets treated with cumin (*Cuminum cyminum*) essential oil at -18°C. Journal of Veterinary Research. 2017;73(4):435–46.
[34] Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chem. 2010;120(1):193–8.
[35] 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.
[36] 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.
[37] Jeon Y-J, Kamil JYVA, Shahidi F. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. J Agric Food Chem. 2002;50(18):5167–78.
[38] 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.
[39] 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.
[40] 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.
[41] 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 fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigate the effect of gelatin film containing probiotics of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus rhamnosus* on the survival of *Staphylococcus aureus* and physicochemical properties of rainbow trout fillet

Anahita Seyfipasha [1]- Hamidreza Kazemeini *[2]-

1- Graduated Student, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

ARTICLE INFO

Article History:
Received:2023/6/12
Accepted: 2024/2/3

Keywords:

Film,
gelatin,
Probiotics,
rainbow trout

DOI: **10.22034/FSCT.21.148.62.**

*Corresponding Author E-Mail:
h.kazemeini@ausmt.ac.ir

ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the effect of gelatin film containing *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus rhamnosus* bacteria on the survival of *Staphylococcus aureus* bacteria inoculated into rainbow trout meat as well as its physicochemical characteristics for 12 days during storage at refrigerator. *Staphylococcus aureus* was inoculated into fish samples with a concentration of 10^6 log cfu/ml. Then the treatments (control group, rainbow trout samples packed with gelatin film, gelatin film containing each probiotic bacteria *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus rhamnus* with a concentration of 10^9 log cfu/ml separately and gelatin film containing both probiotics) were prepared. Samples were packed in polythene bags and stored in refrigerator. Probiotic bacteria viability and *Staphylococcus aureus* bacteria count, pH, TVB-N, PV and TBARS were evaluated. According to the results, the survival of probiotic bacteria showed a decreasing trend during the study, and it was found that the survival of *Bifidobacterium bifidum* bacteria in gelatin film treatment and gelatin film treatment containing both probiotics on the last day respectively 6.81 log cfu/g and 5.37 log cfu/g and the viability of *Lactobacillus rhamnosus* bacteria was also reduced by 7.43 log cfu/g and 6.31 log cfu/g respectively in the mentioned treatments. Compared to the control group, probiotic films controlled the microbial growth of fish fillets well, while the gelatin film treatment containing both probiotics had the lowest rate. Chemical tests also had an increasing trend and their changes in all treated fish fillets were significantly lower than the untreated group (P<0.05). It was found that gelatin films containing probiotics, especially gelatin films containing *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium bifidum*, which had worked more successfully, had an effective antimicrobial effect against *Staphylococcus aureus* bacteria, and this films can increase the shelf life of rainbow trout and this The category of products has a good effect.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.62]