

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه گیلان

مدیریت تحصیلات تکمیلی

دانشکده منابع طبیعی

گروه شیلات

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته شیلات

بررسی اثر باکتریوسین Z و سدیم استات بر زمان ماندگاری فیله ماهی کپور نقره ای در طول دوره نگهداری در یخچال

استاد راهنما:

دکتر ابراهیم علیزاده دوغیکلایی

استادان مشاور:

مهندس رضا صفری

مهندس علی ارشدی

تهیه و تدوین:

محسن اصغری

فروردین 1389

قدم به او که هر چه است از آن اوست

قدم به غزل مرایان قوت

پدر و مادر عزیزم

که وارثه را مانا نشان رو سر رام

و دعای نشان بدرقه رام و دهات

قدم به سر رودی

مر بام

به ای دروژی که سره ای از دیای ش راپنخ دم

عذرو سر:

ا مرافق م که نه زبان شکر و رادارم و ونه وان شکر از بندگان و، و ابا بر حسب و خدا از کله اسایدار ندم در طول سامای
بر یادماننی شاردیشان ت رسمی مام. از استادار ندم ناب آقای دکتر ابراهیم علینزاده دو کلایی برای را مان هایشان که در این
دوران ل و در ان ق وق اجاب بوده و بمزازه از ایده های خوب شان بهره مند ریده ام، خاضعانه پاسکزارم. نن
از اساید عزیز آقايان مهندس رضا سري و علی ارشدی که شورا اجاب در دوران اجام پروژه و ذکا ل سرو قدر دانی رادارم.
نن بر خود واجب می دانم از مدیران و کاران رامعی ام در پروژه ره اکولوشی دیهای نخرز و ص ص ن بخش
یکرو و ورشی که علی رم مشغله های حد با کاری بسیار خوب، صرف وقت زیاد و دقت در تکمیل این ق، ز مات زیادی
را ل شده اند سري مام.

از کله دا ویان م دوره و دبه وص آقايان، ندس امدی، وی و، نادر و ن سرو دیکر دو تان شکر م.
و در پیمان از پدر، مادر و بهر عزیزم و همسر شکی که با همای بنت خود را که مرا یزند و با مل دشواری ها، سبب شدند تا در کمال آسودی
یال و فراغت بال، شوق آسون در من زنده ماند صمیمانه پاسکزارم و این نیت جز جلوه ای از لطف و رحمت پروردگاری که از
ادای شکر بی یک ت او ناوام.

ن ا سري

بررسی اثر باکتریوسین Z و سدیم استات بر زمان ماندگاری فیله ماهی کپور نقره ای در طول دوره نگهداری در یخچال

چکیده

قابلیت فساد پذیری بالای ماهیان سبب شده تا حفظ کیفیت ماهی تازه، یکی از مسائل مهم مورد توجه صنعت ماهی و مصرف کنندگان باشد. در این مطالعه اثر استفاده از نایسین Z (2٪، گرم به ازای 1 کیلوگرم) (تیمار شماره 1) بصورت مجزا و همچنین بصورت ترکیب با سدیم استات (2g/100ml) (تیمار 2) بر روی فیله کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) در طول دوره نگهداری در یخچال بررسی شد. فیله های ماهی بسته بندی شده و در یخچال در دمای 4 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پارامترهای میکروبی (TVC، PTC و LAB) و پارامترهای شیمیایی (TBA، PV و TVB-N) و همچنین مقادیر pH (در طول دوره)، پروتئین کل، رطوبت، خاکستر کل (در ابتدای دوره) در روزهای 0، 3، 6 و 9 روز اندازه گیری شدند. مقادیر TBA و TVN در تیمار 1 و 2 بطور معنی داری در طی دوره نگهداری افزایش پیدا کرد، اما تا قبل از روز 9 به خارج از حد مجاز برای مصرف نرسید، ولی در نمونه های شاهد در روز 4 نگهداری به حد غیر قابل قبول برای مصرف رسیده بودند. میزان باکتریهای سرمادوست، لاکتیک و کل باکتری ها در نمونه های شاهد بالاتر از تیمار 1 و آن هم بالاتر از تیمار 2 بود و میزان آن بترتیب در روزهای 4، 6 و 9 از حد آستانه تعیین شده بالاتر رفت. نتایج نشان داد که استفاده همزمان از نایسین Z و سدیم استات توانست زمان ماندگاری فیله کپور نقره ای بسته بندی شده در خلأ در دمای 4 درجه سانتیگراد را 3 روز افزایش دهد که می تواند تا 6 روز ادامه یابد.

لغات کلیدی: کپور نقره ای، نایسین Z، سدیم استات، کیفیت، زمان ماندگاری، بسته بندی در خلأ

فصل اول: مقدمه

2-1-1	مقدمه	2
2-2	نگهداری شیمیای مواد غذایی	5
2-2-1	استات سدیم	5
3-3	نگهداری طبیعی مواد غذایی	7
3-3-1	باکتریوسین ها	7
2-3-1	نحوه عمل نایسین	9
3-3-1	مقاومت باکتریها در برابر نایسین	10
4-3-1	سمیت باکتریوسین	10
4-1	ضرورت انجام تحقیق	11
5-1	اهداف تحقیق	12
6-1	فرضیه های تحقیق	12

فصل دوم: مروری بر مطالعات انجام شده

1-2	کپور نقره ای	14
2-2	رده بندی کپور نقره ای	14
3-2	مشخصات ظاهری	14
4-2	نگهداری ماهی	15
5-2	مروری بر مطالعات انجام شده در دنیا	16

فصل سوم: مواد و روش ها

1-3	مواد و وسایل مورد استفاده	24
1-1-3	مواد مصرفی	24
2-1-3	وسایل غیر مصرفی	24
2-3	روش کار	25
1-2-3	تهیه و انتقال ماهی و آماده سازی نمونه ها و نحوه نگهداری از نمونه ها	25
2-2-3	آنالیز درصد ترکیبات بدن ماهی	26
1-2-2-3	رطوبت	26
2-2-2-3	خاکستر	27
3-2-2-3	پروتئین	27
4-2-2-3	چربی	28
3-2-3	pH	29
4-2-3	آزمایشات شیمیایی مولد فساد	29
1-4-2-3	(Peroxide Value) PV	29
2-4-2-3	تیوباربتوریک اسید (TBA)	30
3-4-2-3	مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)	30

- 31..... 3-2-5 آنالیزهای میکروبی
- 31..... 3-2-5-1 آماده سازی نمونه ها
- 32..... 3-2-5-2 تهیه محیط های کشت، انکوباسیون و شمارش باکتری
- 32..... 3-3 تجزیه و تحلیل آماری

فصل چهارم: نتایج

- 35..... 4-1 درصد ترکیبات بدن ماهی
- 35..... 4-2 نتایج آزمایشات شیمیایی
- 35..... 4-2-1 pH
- 36..... 4-2-2 (Peroxide Value) PV
- 36..... 4-2-3- تیو باریتوریک اسید (TBA)
- 37..... 4-2-4 مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) نمونه ماهی
- 37..... 4-3 نتایج آزمایشات میکروبی
- 38..... 4-3-1 باکتری های قابل رویت کل (TVC) نمونه ماهی
- 38..... 4-3-2 مقادیر باکتری های سرمادوست (PTC) نمونه ماهی
- 39..... 4-3-3 باکتری های اسید لاکتیک (LAB) نمونه ماهی

فصل پنجم: بحث

- 41..... 5-1 ترکیبات بدن
- 41..... 5-2 ارزیابی شیمیایی
- 41..... 5-2-1 pH
- 43..... 5-2-2 پراکسید (PV)
- 44..... 5-2-3 اسید تیو باریتوریک (TBA)
- 46..... 5-2-4 مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)
- 47..... 5-3 ارزیابی میکروبیولوژیکی
- 47..... 5-3-1 کل باکترهای قابل رویت (TVC)
- 48..... 5-3-2 باکتری های سرمادوست (PTC)
- 50..... 5-3-3 باکترهای اسید لاکتیک (LAB)
- 50..... 5-4 نتیجه گیری
- 51..... 5-5 پیشنهادات
- 51..... 5-5-1 پیشنهادهای پژوهشی
- 52..... 5-5-2 پیشنهادات اجرایی
- 53..... منابع
- 66..... ضمائم

فهرست جداول

صفحه	عنوان
33.....	جدول 4-1. درصد ترکیبات بدن ماهی فیتوفاگ مورد آزمایش.....
33.....	جدول 4-2. تفاوت آماری بین مقادیر میانگین pH در زمانها و تیمارهای مختلف.....
34.....	جدول 4-3. تفاوت آماری بین مقادیر میانگین PV در زمانها و تیمارهای مختلف.....
35.....	جدول 4-4. تفاوت آماری بین مقادیر میانگین TBA در زمانها و تیمارهای مختلف.....
35.....	جدول 4-5. تفاوت آماری بین مقادیر میانگین TVB-N در زمانها و تیمارهای مختلف.....
36.....	جدول 4-6. تفاوت آماری بین مقادیر میانگین TVC در زمانها و تیمارهای مختلف.....
37.....	جدول 4-7. تفاوت آماری بین مقادیر میانگین PTC در زمانها و تیمارهای مختلف.....
37.....	جدول 4-8. تفاوت آماری بین مقادیر میانگین LAB در زمانها و تیمارهای مختلف.....

فهرست ضمایم

صفحه	عنوان
65	تصویر الف-3: جعبه های فایبرگلاس حاوی یخ برای حمل ماهی.....
65	تصویر ب-3: فیله کردن.....
65	تصویر پ-3: اسپری کردن باکتریوسین روی فیله.....
66	تصویر ث-3: کوره الکتریکی.....
66	تصویر ج-3: دستگاه کجدال اتوماتیک.....
66	تصویر چ-3: نحوه نمونه برداری برای آنالیز میکروبی.....
66	تصویر ح-3: انکوباتور.....
67	تصویر ت-3: انکوباتور مورد استفاده برای نگهداری ماهی.....

فصل اول

مقدمه

1-1 مقدمه

امروزه ارزش پروتئین ماهی بر هیچ کس پوشیده نیست. حدود 20 درصد از مجموع پروتئین-های حیوانی مورد نیاز انسان در کره زمین از ماهی تأمین می شود و تقریباً یک سوم مردم جهان بیشترین پروتئین مصرفی خود را از ماهی بدست می آورند. مصرف سرآنه ماهی و فرآورده های دریایی در اغلب کشورهای ماهی خیز دنیا به بیش از 20 کیلوگرم در سال می رسد. در بین پروتئین های حیوانی، ماهی و سایر آبزیان ویژگی های خاصی از نظر تغذیه و پروتئین دارند. میزان اسیدهای آمینه ضروری گوشت ماهی معادل انواع دیگر گوشت می باشد. هضم و جذب گوشت ماهی آسانتر از گوشت های دیگر بوده و میزان هضم و جذب پروتئین ماهی بالاتر از 90 درصد است. بر حسب نوع ماهی، تازگی و نحوه نگهداری، میزان هضم و جذب پروتئین ماهی به 97 الی 99 درصد نیز می رسد (شکوریان و همکاران، 1377).

آبزیان بدلیل داشتن پروتئین نسبتاً بالا، ترکیبات ازتدار و چربیهای غیر اشباع فراوان در عضلات جزء فسادپذیرترین مواد غذایی محسوب می شوند. اکسیده شدن چربی های غیر اشباع تحت تاثیر نور، حرارت و اکسیژن می باشد که دلیل اصلی بو و طعم نامطلوب در طول نگهداری بوده و سبب افت کیفیت ماهی می شود (رضوی شیرازی، 1380). به هر حال وجود نیاز های تغذیه ای بخصوص در کشورهای در حال توسعه و امکان تأمین قسمتی از آن از طریق منابع دریایی ضرورت شناخت، توجه و بهره گیری بهینه از این منابع را بخوبی نشان می دهد (رضایی و همکاران، 1381).

روش نگهداری برای مواد غذایی مختلف با اهمیت بوده و برای ماهی نیز با توجه به فساد-پذیری بیشتر آن نسبت به سایر مواد غذایی ضروری است (اسماعیل زاده و سحری، 1383). نگهداری در یخچال از روشهایی است که در مراکز عرضه ماهی و یا جهت انتقال ماهی از مراکز پرورش تا مراکز فروش استفاده می شود. نگهداری ماهی در یخچال باعث کاهش سرعت فعالیت های آنزیمی و شیمیایی و فعالیت موجودات ذره بینی می شود، اما به دلیل عدم توانایی دمای یخچال (رضوی شیرازی، 1380) برای کاهش دمای ماهی به مقدار لازم، تغییرات نامطلوبی از جمله اکسیداسیون و

هیدرولیز چربی به آرامی صورت گرفته و باعث کاهش کیفیت محصولات می گردد (رضایی و همکاران، 1382). بنابراین استفاده از موادی مناسب با فعالیت آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی به منظور بهبود کیفیت، افزایش عمر ماندگاری گوشت و در عین حال جلوگیری از ضرر های اقتصادی، ضروری و مفید به نظر می رسد (Yin and Cheng, 2003).

زمان ماندگاری¹ ماهی بوسیله ارزیابی دما، شدت واکنش های آنزیمی، تعداد و نوع میکروارگانیسم های مولد فساد تعیین می شود (Huss, 1971). امروزه شیوه های متفاوتی از قبیل استفاده از نگهدارنده های غذایی و بسته بندی در خلاء را جهت افزایش ماندگاری ماهیان بکار می-برند. استفاده از هر ماده افزودنی در مواد غذایی می تواند خطراتی را به دنبال داشته باشد اما این خطرات نمی بایست بیش از مزایای کلی آنها باشد (جیمز، 1385).

از راهکارهای ارائه شده جهت نگهداری محصولات دریایی استفاده از افزودنی ها با خاصیت آنتی میکروبی مثل نمک های سدیم اسید های آلی مثل استات سدیم، لاکتات سدیم، سترات سدیم است که باعث کنترل رشد میکروبی، بهبود خصوصیات حسی و افزایش زمان ماندگاری سیستم های متنوع غذایی می شود به علاوه این نمک ها بی ضرر، اقتصادی و به طور وسیعی قابل دسترس می باشند (Sallam, 2007). از نمک سدیم، اسید های آلی با وزن ملکولی کم مثل اسید استیک، اسید لاکتیک و سیتریک به منظور افزایش زمان ماندگاری محصولات متنوع غذایی مثل تولیدات گوشتی (Sallam and Samejima, 2004; Maca *et al.*, 1997) (جوجه، اردک، شتر مرغ) و ماهی (Boskou and Debevere, 2000) استفاده شده است.

پژوهش ها نشان داده است که اثر آنتی باکتریایی نمک های اسید های آلی هنگامی که بصورت ترکیبی مورد استفاده قرار می گیرند افزایش می یابد (Wederquist *et al.*, 1994; Qvist *et al.*, 1994; Blom *et al.*, 1997; Samelis *et al.*, 2002) که نتایج این پژوهش ها منجر به استفاده از افزودنی های شیمیایی در محصولات گوشتی و

1 Shelf-life

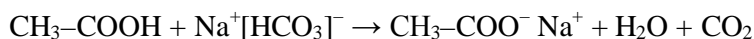
افزایش کاربردهای تجاری آن گردیده است. این پژوهش ها منجر به تصویب استفاده از افزودنی-های شیمیایی در محصولات گوشتی و همچنین افزایش تعداد کاربردهای تجاری آن شد.

1-2 نگهداری شیمیای مواد غذایی

در دهه های اخیر استفاده از مواد شیمیایی جهت نگهداری ماده غذایی بسیار گسترش یافته است. مواد شیمیایی می توانند از راههای مختلف اثر سودمندی خود را ظاهر سازند و به ایجاد و حفظ کیفیت مناسب در ماده غذایی و افزایش قابلیت نگهداری آن کمک کنند. در بسیاری از موارد، استفاده از مواد شیمیایی همراه با بکارگیری روش های دیگر حفاظت ماده غذایی انجام می-شود (فاطمی، 1385).

1-2-1 استات سدیم

استات سدیم با برچسب E262 به عنوان یک نگهدارنده در صنایع غذایی استفاده می شود. این ماده را می توان از واکنش بین اسید استیک و کربنات سدیم، بیکربنات سدیم یا هیدوکسید سدیم در آزمایشگاه تولید کرد ولی به دلیل ارزان و باصرفه بودن معمولاً از فروشگاه های عرضه کننده مواد شیمیایی تهیه می شود.



تحقیقات زیادی جهت پاسخ به این سؤال که چرا اسیدهای آلی و نمک آنها از رشد پاتوژن ها و میکروارگانیزم های مسئول فساد مواد غذایی جلوگیری می کنند، انجام شده است. بسیاری از آنها کاهش pH را عامل اصلی این ویژگی می دانند (Jensen *et al.*, 2003; Maca *et al.*, 1997).

در مطالعه ای که Ita and Hutkins در سال 1991 انجام دادند مشخص شد که لیستریا مونوسایتوزنز¹ که یکی از مهمترین باکتری های فساد در محصولات دریایی قوطی و دودی شده هستند، حتی در pH 3/5، نیز زنده می ماند این در حالی است که گزارشات زیادی مبنی بر اثر بازدارندگی اسید های آلی و نمک آنها بر لیستریا مونوسایتوزنز وجود دارد.

اگر چه اسیدهای لاکتیک و سیتریک در کاهش pH نسبت به اسیدهای استیک مؤثرتر می باشند ولی اسیدهای استیک بر بقاء سلول اثر بیشتری دارند. کاهش pH سیتوپلاسم توسط اسیدهای استیک یک اثر سمی اضافی را نیز بر روی سلول اعمال می کنند. بنابراین اثرات آنتی-باکتریایی این اسید تنها به خاطر کاهش pH بین سلولی نبوده بلکه به دلیل اثرات ویژه فرم تجزیه-شده اسید بروی فعالیت متابولیکی و فیزیولوژیکی سلول نیز می باشد (Jensen *et al.*, 2003).

به دلیل تمایل مصرف کنندگان به کاهش استفاده از افزودنیهای شیمیایی (Tome *et al.*, 2006 ; Vescovo *et al.*, 2006)، پژوهش های زیادی در زمینه استفاده از افزودنی های بیولوژیکی به عنوان ابزاری جهت کنترل طبیعی میکروارگانیزم های عامل فساد و بیماریزا (خصوصاً لیستریا) که منشا غذایی در گوشت منجمد (Budde *et al.*, 2003)، مواد گیاهی (Schillinger *et al.*, 2001)، لبنیات (Foulquié Moreno *et al.*, 2003) و غذاهای دریایی (Duffes *et al.*, 2001; Katla *et al.*, 2001; Brillet *et al.*, 2004; Vaz-Velho *et al.*, 2005; Tome *et al.*, 2006; Vescovo *et al.*, 2005; Weiss and Hammes, 2005; Lyver *et al.*, 1998) دارند انجام شده است.

برخی مطالعات نیز استفاده بالقوه از اسیدهای آلی یا نمک شان که بعنوان محلول های آنتی-میکروبی قبل از فرآوری، به تنهایی یا ترکیب با سایر ترکیبات، که بصورت اسپری کردن یا غوطه-وری روی محصول قبل از بسته بندی انجام می شد را محدود کردند (Palumbo and Williams, 1994). فعالیت های آنتی میکروبی اسیدهای آلی یا نمک شان بصورت محلول های غوطه ور شده

¹ *Listeria monocytogenes*

پیش از فرآوری هنگامی که در غلظت کمتر و ترکیب شان با افزودنی های بازدارنده، نظیر باکتریوسین یا دیگر آنتی میکروب های طبیعی استفاده شود افزایش پیدا خواهد کرد (Samelis *et al.*, 2005).

3-1 نگهداری طبیعی مواد غذایی

اصطلاح نگهدارندگی زیستی (Biopreservation) یک شیوه جدید برای افزایش زمان ماندگاری محصولات غذایی و کاهش خطرات میکروبی است. Biopreservation شامل ترکیب مواد غذایی به همراه سویه هایی از باکتریهای انتخابی هستند که قادرند از رشد باکتریهای مضر جلوگیری کنند. لاکتیک اسید باکتری ها مفید ترین و بهترین انتخاب برای این تکنیک هستند. در واقع اینها موجودات طبیعی در محصولات غذایی هستند و بوسیله تولید رنج وسیعی از متابولیت های ضد میکروبی نظیر اسید های آلی، پراکسید هیدروژن، دی استیل و باکتریوسین اغلب رقابت شدیدی ایجاد می کنند (Adams, 1999). پژوهش های کمی در رابطه با استفاده از این باکتریها در غذاهای دریایی وجود دارد. باکتریوسین ها از باکتریهای لاکتیک اسید¹ از جمله لاکتوکوکوس²، لاکتوباسیلوس³، پدیوکوکوس⁴ و ... تولید می شوند. این باکتریوسین، اولین باکتریوسینی است که جهت فعالیت آنتی لیستریال بکار می رود بنابراین بعنوان یکی از مواد کاربردی مورد استفاده قرار می گیرد (Chung *et al.*, 1989).

3-1-1 باکتریوسین ها

باکتریوسین از سال 1998 توسط سازمان دارو و غذای آمریکا بعنوان یک ماده GRAS⁵ (نگهدارنده بی خطر مواد غذایی) برای استفاده وسیع در پنیرهای پاستوریزه برای کنترل رشد و

1 Lactic Acid Bacteria

2 *Lactococcus*

3 *Lactobacillus*

4 *pediococcus*

5 general recognized as safe

تولید سم بوسیله *Clostridium botulinum* توصیه شده بود. نایسین پپتیدی است با 34 اسید آمینه از گروه A لنتی بیوتیکها¹ بوده و از باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس تولید می شود و در مقابل باکتریهای گرم مثبت مختلف از جمله لیستریا منوسیتوژنز و باکتریهای تولید کننده اسپور مانند گونه های باسیلوس و کلسترییدیوم اثر باکتری کشی² دارد (Pol and Smid, 1999). دو نوع از نایسین (نایسین A و نایسین Z) در میان سویه های تولید کننده نایسین شناخته شده است (Mulders *et al.*, 1991). این دو بوسیله جایگزینی اسیدآمینه شماره 27 که با هیستیدین تبدیل به نایسین A و با آسپاراژین تبدیل به نایسین Z می شود شناخته می شوند (Mulders *et al.*, 1991). این تغییر ساختمانی به نایسین Z حلالیت و قابلیت پخش بالا می دهد که برای استفاده-های غذایی می تواند مفید واقع شود (De Vos *et al.*, 1993).

نایسین اولین بار توسط روگرز در سال 1928 بعنوان ماده ای جهت جلوگیری از رشد لاکتوباسیلوس بولگاریکوس (*Lactococcus bulgaricus*) بیان شد (Harris and Fleming, 1992). ولی به علت طیف فعالیت ضد میکروبی کم، حلالیت کم آن در مایعات بدن، تجزیه آن توسط پروتئازهای دستگاه گوارش و عدم پایداری آن در pH فیزیولوژیک برای اهداف کلینیکی نامناسب بود (Broughton, 1990). بنابراین تا سال 1940 نایسین مورد توجه قرار نگرفت (Harris and Fleming, 1992). در سال 1951 هریس³ نشان داد که نایسین از تشکیل گاز ناشی از کلسترییدیوم جلوگیری می کند. سرانجام این ماده با نام تجاری نيزاپلین⁴ در انگلستان توسط آپلین و بارت⁵ تولید شد، و در سال 1969 سازمان غذا و کشاورزی⁶ و سازمان سلامت جهان⁷ بطور مشترک استفاده از نایسین را بعنوان ماده نگهدارنده غذایی به جای مواد شیمیایی تایید کردند

1 Lantibiotics

2 Bactericide

3 Harris

4 Nisaplin

5 Aplin and Bart

6 Food and Agriculture Organization (FAO)

7 World Health Organization (WHO)

(Broughton, 1990). بنابراین نایسین از سال 1987 بعنوان ماده افزودنی مجاز در مواد غذایی و در محصولات لبنی استفاده شده است. امروزه نایسین بعنوان یک ماده نگهدارنده در بیش از 50 کشور در سراسر دنیا در محصولات متنوع مثل پنیر، غذاهای کنسرو شده و محصولات گوشتی استفاده می شود (Morgan *et al.*, 1999; Chen. and Hoover, 2003; De Martinis *et al.*, 1997; Martirani *et al.*, 2002).

ویژگی های مطلوب نایسین بعنوان یک ماده نگهدارنده غذایی شامل:

1. غیرسمی بودن
2. طبیعی بودن
3. پایداری در برابر حرارت و قابلیت انبارداری بسیار خوب
4. قابلیت تجزیه توسط آنزیمهای هضم کننده
5. عدم تغییر طعم یا بو در غذا و محدودیت دامنه فعالیت آن است (Modern food microbiology, 1994).

حلالیت و پایداری نایسین بطور قابل ملاحظه ای در pH های بالا (pH بالاتر از 7) کاهش می یابد (Rollema *et al* 1995) و خاصیت استفاده آن در مواد غذایی که دارای اسیدیته پایین هستند می باشد. فعالیت آنتی میکروبی نایسین همچنین با گذشت زمان سرعت کاهش می یابد (Bouttefroy *et al.*, 2000).

2-3-1 نحوه عمل نایسین

نایسین سبب تخریب غشاء سیتوپلاسمی و نشت مواد ضروری مثل اسیدهای آمینه، ATP و جریان ترکیبهای کوچک سیتوپلاسمی می شود. نایسین این کار را با تشکیل منفذ درغشای سیتوپلاسمی و توقف گرادیان یونهای حیاتی و در نتیجه متوقف کردن ¹PMF¹ انجام می دهد. در

¹ Proton motive force

نهایت همه فرآیند های بیوسنتزی سلول متوقف می شود و سلول باکتری از بین می رود (Sahl and Bierbaum, 1998). اثر نایسین بر روی اسپورها شدیدتر از سلولهای رویشی است و از جوانه زنی آنها در مراحل اولیه جوانه زنی جلوگیری می کند (Harris and Fleming, 1992).

1-3-3 مقاومت باکتریها در برابر نایسین

مشابه مقاومت باکتریها به دارو که بعد از قرار گرفتن در معرض آنها رخ می دهد باکتریها می-توانند نسبت به باکتریوسین نیز مقاومت نشان دهند. اولین مقاومت باکتریها نسبت به نایسین در سال 1971 توسط Farr و Jarvis گزارش شد. آنها یک پروتئین از باسیلوس سرئوس¹ جدا کردند که قادر به غیر فعال کردن نایسین بود و آن را بعنوان یک دهیدروآلانین ردوکتاز² طبقه بندی کردند (Ming and Daeschel, 1993). باکتریهای تولید کننده نایسین نیز از خودشان در مقابل نایسین محافظت می کنند. بدین صورت که نایسین توسط پروتئین انتقال دهنده که توسط ژن nisEFG کد می شود به بیرون سلول ترشح می شود و از تجمع آن درون سلول جلوگیری میشود (Siegrs and Entian, 1995; Dodd *et al.*, 1996; Ennhar and Sashihara, 2000).

1-3-4 سمیت باکتریوسین

از زمانی که نایسین در مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفت، مطالعات متعددی بر روی تاثیر آن بر میکرو فلور بدن انسان شروع گردید. مطالعات انجام گرفته نشان می دهد که مصرف مواد غذایی حاوی نایسین برای انسان مضر نبوده و میزان قابل قبول برای مصرف روزانه انسان برابر با 2/9 میلی گرم برآورد شده است (U.S Food and Drug Administration, 1988). اگرچه در بین باکتریوسین ها، نایسین متداول تر از بقیه می باشد ولی بی خطر بودن اغلب باکتریوسین ها نیز مورد ارزیابی قرار گرفته است. بعنوان مثال تزریق پدیوسین PA-1 (ACH) به موش و خرگوش

1 Bacillus cereus

2 Dehydro alanine reductase

قادر به فعال نمودن واکنش ایمنولوژیکی بدن نبوده و از طرفی این باکتریوسین قابل تجزیه توسط کموتریپسین نیز می باشد (Bhunia *et al.*, 1990).

اختلاط مواد نگهدارنده مختلف یکی از راه هایی است که برای بهبود فعالیت مواد ضد میکروبی پیشنهاد شده است (Mulet-Powell *et al.*, 1998). استفاده از تکنولوژی ترکیبی برای نگهداری مواد غذایی، تغییرات ناخواسته در خصوصیات محصول را به حداقل می رساند، غلظت مواد افزودنی و تیمارهای حرارتی را کاهش می دهد و کیفیت محصول و سلامتی آن را حفظ می کند (Russell *et al.*, 1999)

علاوه بر استفاده از نگهدارنده ها، بسته بندی مناسب نیز از روشهایی است که می تواند با افزایش ماندگاری محصول، تا حد زیادی از تغییرات میکروبی در فرآورده های دریایی جلوگیری کند. استفاده از بسته بندی مناسب سبب کاهش مصرف نگهدارنده خواهد شد (رضوی شیرازی، 1380). یکی از روش های مهم بسته بندی ماهی، استفاده از خلاء می باشد.

1-4 ضرورت انجام تحقیق

در بین گونه های متفاوت پرورشی ماهی کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys*) *Molitrix*، بدلیل تولید بالا (حدود 53494 تن در ایران و 3662810 تن در دنیا (FAO, 2007) و قابل دسترس بودن برای مصرف کننده در میان پرورش دهندگان اهمیت زیادی دارد و اغلب به صورت ماهی کامل از مغازه های خرده فروشی، و یا به صورت فیله شده از فروشگاه های بزرگ قابل تهیه است. با توجه به اینکه این ماهی با هزینه کم تولید شده و دارای ارزش غذایی بالایی است، مطالعه و بررسی شیوه های نگهداری موقت و عرضه آن، تعیین زمان ماندگاری این ماهی در یخچال، تأثیرات بسته بندی ها و نگهدارنده های مختلف بر آن از جنبه های مهم ارزیابی کیفی و بهداشت در تغذیه انسان بشمار می رود. که این مسئله مبین ضرورت تحقیقات ویژه، در زمینه