تغليف الأسماك في جو محور

توفيق المهدي احمد حسان* ، ثريا احمد المبروك ابوحليقة

قسم علوم وتقنية الأغذية - كلية الزراعة- جامعة طرابلس

المستخلص

تعتبر الأسماك الطازجة من الأغذية سريعة الفساد بسبب تعرضها للتحلل الذاتي والنشاط الميكروبي والكيميائي، ولهذا يوصى دائما بسرعة مناولة الأسماك بعد الصيد والمحافظة عليها عند درجة حرارة منخفضة من أجل التقليل من معدل تلك التغيرات غير المرغوبة المسئولة على الفساد. إلا أن تبريد أو تثليج الأسماك له دور محدود في إطالة صلاحية الأسماك، ولهذا جاءت فكرة تحوير الجو الغازي المحيط بالأسماك داخل عبوة التغليف من خلال استخدام نوع واحد من الغاز أو خليط من الغازات للتقليل من التغيرات غير المرغوبة المختلفة. تعرف هذه التقنية بالتغليف في جو محور (MAP) والتي استخدمت على نطاق واسع للمنتجات السمكية خاصة الأسماك الطازجة لتثبيط نمو الأحياء الدقيقة والنشاط الإنزيمي. تشمل الغازات المستخدمة ثاني أكسيد الكربون (ك ا$_2$) و الأكسجين (ا$_2$) والنتروجين (ن$_2$). تبين من خلال الدراسات السابقة عدم وجود تركيبة غازية واحدة ملائمة لجميع أنواع الأسماك نتيجة لاختلاف التركيبة الغازية حسب نوع السمك ومادة التغليف ودرجة حرارة التخزين. يلعب استخدام تقنيةMAP دورا هاما في تثبيط نمو الأحياء الدقيقة من خلال إطالة فترة الطور التمهيدي للأحياء الدقيقة اللا هوائية واللا هوائية الاختيارية، إلا أنه هناك مخاوف من نمو الأحياء الدقيقة المرضة اللا هوائية مثل *Clostridium botulinum* مع طول فترة الصلاحية، ولتفادي ذلك من الضروري تغليف الأسماك في جو محور يحتوي على نسبة أكسجين < 2% مع درجة حرارة تخزين قريبة من 0مْ (< 3.3مْ). ينصح باستخدام تركيبة غازية خالية من الأكسجين عند تغليف الأسماك الدهنية للتقليل من التغيرات التي تحدث بسبب أكسدة الدهون، حيث وجد أن استخدام 100% ك ا$_2$ لتغليف أنواع من الأسماك الدهنية أعطى أقل قيمة لحامض الثيوباربيتيوريك (Thiobarbituric acid) مقارنة بالتركيبة الغازية المحتوية على الأكسجين. كما وجد أن معاملة الأسماك بإحدى المواد الطبيعية و/أو الكيميائية مثل الأوزون، اوريجانو، أملاح بايروفوسفات، ثلاثي عديد فوسفات الصوديوم، حمض الخليك، حمض الاسكوربيك، خلات الصوديوم، زيت الزيتون، زيت الزعتر، سوربات البوتاسيوم، عصير الليمون، فوسفات ثلاثي الصوديوم، كبريتات ثنائي الصوديوم، كلوريد الصوديوم، مستخلص أكليل الجبل، نياسين، قبل تغليفها باستخدام تقنية MAP أدى إلى إطالة صلاحية الأسماك والمنتجات السمكية. تهدف هذه الدراسة لمراجعة الدراسات المنشورة ذات العلاقة بالتأثيرات المختلفة لتقنية MAP على الأحياء الدقيقة المسببة للفساد والأحياء الدقيقة المرضة وأكسدة الدهون في الأسماك، ومدى تأثير بعض الإضافات الطبيعية و/ أو الكيميائية على

*للاتصال: توفيق المهدي احمد حسان. قسم علوم وتقنية الأغذية - كلية الزراعة - جامعة طرابلس - ليبيا.

هاتف: 218925037007 +.البريد الالكتروني: t.hassan@ uot.edu.ly

استلمت بتاريخ: 2016/1/26 أجيزت بتاريخ: 2016/7/25

إطالة صلاحية الأسماك المغلفة تحت MA. ومن تم الخروج بتوصيات حول مدى إمكانية الاستمرار في تطبيق هذه التقنية من عدمه وما هي الدراسات المطلوب إنجازها للإجابة عن بعض الاستفسارات والتساؤلات التي تستنبط من هذه المراجعة.

الكلمات الدالة: الأسماك،فساد الأسماك، تغليف في جو محور ، أكسدة الدهون، التركيبة الغازية.

المقدمة

تصنف الأسماك ضمن الأغذية سريعة التلف نتيجة نمو الأحياء الدقيقة الهوائية المسببة لفسادها وتأثير الأكسجين على العمليات الكيميائية الحيوية المختلفة، خاصة أكسدة الدهون في الأسماك الدهنية ما يؤدي إلى عدم قبولها من قبل المستهلك.

وللتقليل من تلك التغيرات جاءت فكرة تحوير أو تعديل الجو المحيط بها داخل عبوة التغليف من خلال استخدام أنواع عديدة من الغازات وبتقنيات مختلفة للتحكم في العمليات الكيموحيوية ومن تم إطالة الصلاحية وفترة عرضها بالأسواق في حالة طازجة.

كما أدى طلب المستهلك للأغذية الطازجة الخالية من المواد المضافة الكيميائية إلى نمو وانتشار تقنية تغليف الأغذية في جو محور (Modified Atmosphere Packaging (MAP (Church, 1998). يعرف MAP بأنه عملية استبدال الهواء في عبوة التغليف بنوع واحد من الغاز أو خليط من الغازات بنسبة ثابتة عند ضخه إلا أنه بمجرد ضخ الغاز وقفل العبوة لا يتم السيطرة على هذه النسبة فيما بعد نظرا لاحتمالية تغير تركيبة الغاز بسبب نفادية عبوة التغليف و / أو انتشاره داخل أنسجة المنتج وأيضا بسبب العمليات الأيضية بالمنتج ونشاط الأحياء الدقيقة (Church, 1994). يشمل تخزين الأغذية في جو محور عدة مصطلحات كما هو موضح بالجدول 1 (Gopakumar, 1993; Phillips,1996; Otwell *et al.*, 2006).

تهدف هذه الورقة لمراجعة الدراسات المنشورة ذات العلاقة بالتأثيرات المختلفة لتقنية MAP على الأحياء الدقيقة المسببة للفساد والأحياء الدقيقة الممرضة وأكسدة الدهون في الأسماك، ومدى تأثير بعض الإضافات الطبيعية و/ أو الكيميائية على إطالة صلاحية الأسماك المغلفة تحت الظروف المحورة (MA). ومن تم الخروج بتوصيات حول مدى إمكانية الاستمرار في تطبيق هذه التقنية من عدمه وما هي الدراسات المطلوب إنجازها للإجابة عن بعض الاستفسارات والتساؤلات التي تستنبط من هذه المراجعة.

1- فساد الأسماك:

يحدث الفساد في الأسماك نتيجة للتحلل الذاتي والنشاط الميكروبي والنشاط الكيميائي، والتي يمكن إيجازها فيما يلي:

1. 2- التحلل الذاتي:

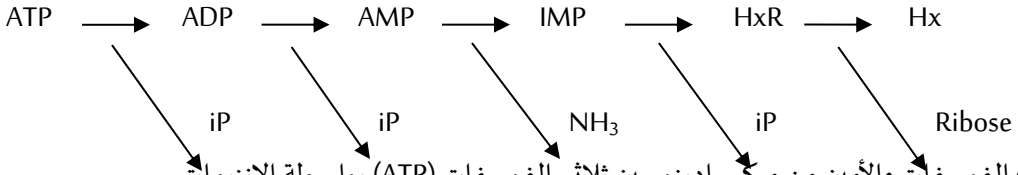
يحدث بعد موت الأسماك اختلال في الاتزان الطبيعي للإنزيمات الموجودة في عضلات الأسماك وقناتها الهضمية ويؤدي هذا الاختلال إلى سلسلة من التفاعلات تسبب تغيرات غير مرغوبة (Shahan, 1973; Mjelde and Urdahl, 1974; Siang and Tsukuda, 1989; Aubourg, *et al.*, 1995).

من هذه التفاعلات تحلل النشأ الحيواني الجليكوجين (Glycogenolysis) إلى جلوكوز ثم إلى حامض البيروفيك والذي يختزل تحت ظروف لا هوائية إلى حمض اللاكتيك ، ويصحبه انخفاض في رقم االأيون الهيدروجيني (pH) من 7.0 إلى 6.0- 6.8 حسب نوع السمك وحالته عند الصيد، ويستمر تفاعل الهدم الداخلي بعد الموت محولا ادينوسين ثلاثي الفوسفات (Adenosin triphosphate - ATP) إلى اينوسين أحادي الفوسفات (Inosine monophosphate-IMP).

ومن تم IMP المتراكم ينحل إلى اينوسين (Inosine – HxR) و هيبوكزانتين (Hypoxanthine - Hx) والذي ينتج عنه فقدان نكهة السمك الطازجة كما مبين في الشكل (1) (Iwamoto *et al.*, 1988; Davis, 1993; Banja, 2002).

جدول 1 . مصطلحات مستخدمة في تقنيات تخزين الأغذية في جو محور.

المصطلح	التعريف
1- تغليف في جو محور (Modified Atmosphere Packaging-MAP).	استبدال الهواء بغاز واحد أو خليط من الغازات داخل العبوة ولا تحكم إضافي على التركيبة الغازية الأولية.
2- التخزين في جو متحكم فيه طيلة فترة التخزين (Controlled Atmosphere Storage-CAS)	نسبة ونوع خليط الغاز تبقى ثابتة طول مدة التخزين.
3- تغليف في جو محور متوازن (Equilibrium Modified Atmosphere Packaging-EMP)	تستخدم للخضروات والفواكه الطازجة. الغاز يضخ في العبوة أو أن العبوة تقفل بدون تحوير ونفادية مادة التغليف وعملية تنفس المنتج تنتج جو محور متوازن.
4- تغليف بالتفريغ (Vacuum Packaging-VP)	المنتج يوضع في عبوة منخفضة النفادية للغاز ويقفل عليه بعد تفريغ جزئي. بسبب عمليات الأيض للمنتج وتنفس الكائنات الحية الدقيقة الموجودة طبيعيا في المنتج وكذلك نفادية العبوة خلال فترة التخزين تحدث تغيرات في الوسط المحيط بالمادة الغذائية.
5- تغليف يأخذ شكل المادة (Vacuum Skin Packaging)	يستخدم غشاء (Film) ناعم ومرن يفرد على المنتجات الحساسة فيلتصق بها طاردا الهواء ومحدثا بالتالي التفريغ.



شكل 1. نزع الفوسفات والأمين من مركب ادينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) بواسطة الإنزيمات.

الجدير بالذكر أن جر الأسماك عكس إرادتها وبذلها مجهود كبير أثناء الصيد يؤدي إلى خفض مستوى الجليكوجين وتقليل فترة ما يعرف بالتيبس الرمي (Rigor Mortis) التي تعرف على أنها التغير الطبيعي الذي يحدث للحيوانات بما فيها الأسماك نتيجة لمجموعة من التفاعلات المعقدة التي تطرأ عقب الموت وتؤدي إلى تيبس أو تصلب تدريجي للأنسجة نتيجة للانقباض التدريجي للعضلات المنفردة الى أن يصبح التصلب أو التيبس كاملا، حيث يحدث اتحاد لبروتين الاكتين (Actin) مع المايوسين (Myosin) وتنتج الاكتومايوسين (Actomyosin) وعندما تنقبض العضلات إلى أقصى حد، فإن الحيوان يستمر في حالة تصلب مدة محدودة تبدأ العضلات بعدها في الارتخاء تدريجيا ويصبح جسم الحيوان نتيجة لذلك لين أو طري ومرحلة التيبس الرمي تؤخر النشاط البكتيري عقب موت الأسماك (Connel, 1975, Graham, 1977, Hassan, 1984).

2.2- الفساد الميكروبي:

يساهم نشاط الأحياء الدقيقة في فساد الأغذية بشكل أكبر من عوامل الفساد الأخرى المتمثلة في التحلل الذاتي والنشاط الكيميائي. تتواجد البكتيريا على الجلد والخياشيم وفي القناة الهضمية للأسماك الحية والأسماك المصادة حديثا، حيث يبلغ عددها 10^2 – 10^7 وحدة تكوين مستعمرة (و.ت.م)/ سم^2 من الجلد وما بين 10^3 – 10^9

و.ت.م / جم من الخياشيم أو محتويات القناة الهضمية (Huss, 1995). رغم تواجد العديد من أنواع البكتيريا على الأسماك إلا أن أنواع محددة تسود أثناء التخزين المبرد وتكون مسئولة على الفساد وتعرف بالبكتيريا المتخصصة في فساد الأسماك (Aberoumand, 2010).

تظهر علامات الفساد على الأسماك عندما يصل عدد البكتيريا المسئولة على الفساد 10^{8} -10^{9} و.ت.م/جم من اللحم أو سم^{2} من الجلد، والوقت الذي يلزم للوصول إلى هذا العدد يختلف باختلاف الحمل الميكروبي عند بداية التخزين، وكذلك درجات الحرارة التي تتعرض لها الأسماك. أفاد (Gram and Huss, 1996,) أن عدد البكتيريا في الأسماك المصادة من المياه الباردة والمعتدلة يمكن أن يتزايد حتى عند حفظها في الثلج، بينما لا يحدث ذلك في الأسماك المصادة من المياه الاستوائية؛ لأن البكتيريا المتواجدة على هذه الأسماك تنمو ببطء عند حفظ الأسماك في الثلج، وهذا راجع لخصوصية هذه البكتيريا، حيث أنها من البكتيريا المحبة لدرجة حرارة الغرفة بينما البكتيريا المتواجدة على الأسماك المصادة من المياه الباردة والمعتدلة من النوع المتحمل للبرودة. علامات الفساد تتمثل في تغير الصفات الحسية للأسماك مثل الرائحة والطعم والنكهة والقوام مع تكون مواد مخاطية على السطح والخياشيم وإنتاج غاز في المراحل المتأخرة من الفساد ما يجعل الأسماك غير مقبولة للتداول. تقوم كل من بكتيريا *Shewanella putrefaciens* و *Proteus mirabilis* و *Pseudomonas* spp. و *Enterobacterium* بتكسير المركبات الوسطية الناتجة (IMP و Inosine) من تحلل ATP أثناء مرحلة التحلل الذاتي للأسماك إلى مركب الهيبوكزانتين والذي يكسب الأسماك مرارة الطعم (Adams and Moss, 2008).

كما يتولد وسط لا هوائي نسبي أو جزئي نتيجة تزايد أعداد البكتيريا الهوائية على سطح الأسماك المخزنة مما يوفر ظروف ملائمة لنمو البكتيريا اللا هوائية الاختيارية والبكتيريا المسئولة على اختزال أكسيد ثلاثي ميثيل الأمين (Trimethylamine oxide) المتواجد في معظم الأسماك البحرية، والذي يلعب دورا في تنظيم الاسموزية. تختزل البكتيريا السالبة لصبغة جرام مثل *Shewanella putrefaciens* و *Photobacterium phosphoreum* واجناس عائلة Vibrionaceae وبعض البكتيريا اللا هوائية الأخرى أكسيد ثلاثي ميثيل الأمين إلى ثلاثي ميثيل الأمين المسئول عن الرائحة السمكية غير المرغوبة في الأسماك التالفة (Liston and Matches, 1976; Dalgaard *et al.*1993).

تصنف بكتيريا *Shewanella putrefaciens* على أنها من أقوى البكتيريا المسببة في فساد الأسماك بالإضافة إلى أجناس عائلة Enterobacteriaceae المسئولة على تكسير الأحماض الأمينية المحتوية على الكبريت (السيستين والميثايونين) وإنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين وميثيل ميركبتان وثنائي ميثيل الكبريت ذات الرائحة المميزة للبيض الفاسد في الأسماك التالفة (Huss,1995; Gram and Huss,1996; Jay *et al.*, 2005).

بينما بكتيريا *Pseudomonas* و *Enterobacterium* اللا هوائية مسئولة على رائحة الفاكهة، التعفن، الالدهيد، الكيتون؛ والاستر (Gram and Huss,1996; Huis in't Veld,1996). تحلل اليوريا بفعل نشاط البكتيريا في الأسماك الغضروفية ينتج عنها الأمونيا والتي تكون مسئولة على الرائحة النشادرية كما أن الأحماض الدهنية المتطايرة تكون مصدر الروائح غير المرغوبة في مثل هذا النوع من الأسماك. الجدول 2 يوضح المركبات الناتجة بفعل نشاط البكتيريا المسئولة على الفساد في الأسماك المحفوظة في الثلج. أشار (Huss, 1995) إلى أن بكتيريا Fusobacterium (Bacteroidaceae) مسئولة على إنتاج الأمونيا في الأسماك المخزنة بالتبريد.

جدول 2 . المركبات الناتجة بفعل نشاط البكتيريا المسئولة على الفساد في الأسماك المحفوظة في الثلج.

المركب الذي تشتغل عليه البكتيريا	البكتيريا المسببة للفساد	المادة الناتجة
أكسيد ثلاثي ميثيل أمين (Trimethylamine-Oxide)	*Shewanella putrefaciens*	ثلاثي ميثيل أمين (Trimethylamine)
سستين (Cystine)	*Shewanella putrefaciens*	غاز كبريتيد الهيدروجين (Hydrogen Sulfide)
أينوسين (Inosine) و أينوسين مونو فوسفات (IMP)	*Shewanella putrefaciens*	هيبواكزانتين (Hypoxanthin)
ميثايونين (Methionine)	*Shewanella putrefaciens* *Pseudomonas* spp	ميثيل ميركبثان (Methylmercaptan) ثنائي ميثيل كبريت (Dimethylsulfate)
كربوهيدرات (Carbohydrates) لاكتيت (Lactate)	*Shewanella putrefaciens*	حامض (Acid)
أحماض أحادية الأمين أحادية الكربوكسيل (Monoamimo monocarboxylic acids)	*Pseudomonas fragi*	استرات الايثيل ذات رائحة الفاكهة (ethyl esters)، روائح غير مرغوبة (off – odours)
يوريا (Urea)	بكتيريا لاهوائية (Anaerobic Spoilers) و *Pseudomonas* spp	(امونيا) NH3
خلات (Acetate) ، يوريا (Urea)	بكتيريا لاهوائية (Anaerobic Spoilers)	حمض الخليك (Acetic Acid) حمض بيوتريك (Butyric Acid) حمض بروبيونيك (Propionic Acid).

المرجع (Han, 2014) بتصرف.

أوضح (Ravi Sankar *et al.*2008) أن صلاحية السمك أو منتجات الأسماك المثلجة أو المبردة محدودة بسبب نمو البكتيريا السالبة لصبغة جرام مثل *Pseudomonas* و *Aeromonas* و *Shewanella putrefaciens* تحت الظروف الهوائية وبالتالي فإن زيادة صلاحية الأسماك أو منتجاتها المثلجة أو المبردة والمخزنة تحت MAP تزداد كنتيجة لإطالة الطور التمهيدي للعديد من بكتيريا الفساد الهوائية.

3.2- **الفساد الكيميائي:**

تحتوي عضلات الأسماك على بروتين وأحماض نووية وكربوهيدرات ودهن ومركبات نتروجينية لابروتينية ومعادن وماء والتي تختلف باختلاف نوع السمك ونوع العضلة والحالة الفسيولوجية (Pereira de Abreu *et al.*, 2010). يحتوي لحم الأسماك 15- 20 % بروتين وأقل من 1% كربوهيدرات ونسبة الدهن تختلف باختلاف نوع السمك، حيث تصنف الأسماك وفقاً لاحتوائها على الدهن إلى ثلاث مجموعات، وهي: دهنية، نصف دهنية، لحمية تحتوي على الدهون ≤ 15% ،2.5 - 15%، ≥ 2.5 %، على التوالي (CAC/RCP 2003). وقد لوحظ تباين معنوي في نسبة الدهن ما بين فصول السنة في الأسماك، حيث تراوحت النسبة ما بين 3 % و 25 % في أسماك الماكريل (Mackerel) والرنجة (Herring) (Adams and Moss,2008)، وفي أسماك السردين الليبي (Sardine) 1.15 و2.91 (حسان وآخرون، 2006) وما بين 1.9- 2.5 % لنفس النوع (حسان وآخرون،2008) أما في أسماك البوقة (Boops boops) فتراوحت من 2.4 إلى 5.53% (حسان

وآخرون،2011) وفي سمك الشلبة (*Sarpa salpa*) تراوح ما بين 1.17- 4.65 (شختور وآخرون، 2008). يرجح التباين في نسبة الدهن إلى الموسم والنضج والحالة الفسيولوجية للسمك (Adams and Moss,2008). يعتبر السمك واحد من أكثر الأغذية قابلية للفساد مقارنة بالمصادر الغذائية الحيوانية الأخرى، حيث أن أنسجة عضلات الأسماك يحدث فيها الفساد بمعدل أسرع من أنسجة عضلات الحيوانات الثديية بسبب المحتوى العالي للماء والأحماض الأمينية الحرة والمحتوى الأقل للأنسجة الضامة مقارنة باللحوم الأخرى (Pereira de Abreu *et al.*, 2010).

التغيرات في دهون الأسماك والمحاريات مسئولة عن تدهور الجودة مع زيادة مدة التخزين خاصة تحت الظروف غير المناسبة، والتي تشمل تحلل وأكسدة الدهون وتفاعل نواتج هذه العمليات مع المكونات غير الدهنية مثل البروتين. تحتوي عضلات السمك على وفرة من الدهون ذات السلسلة الطويلة مع نسبة عالية من الأحماض الدهنية عديدة اللا تشبع التي تخضع لتغيرات بسبب الأكسدة أثناء التداول والتخزين (Thanonkaew *et al.*, 2006 ؛ حسان وآخرون، 2006 ؛ شختور وآخرون،2008؛ حسان وآخرون،2011). بالإضافة إلى ذلك، تؤكسج انزيمات الليبواكسيجينيز (Lipoxygenase) و انزيمات بيرواكسيديز (Peroxidase) الأحماض عديدة اللا تشبع في الأسماك وتحولها إلى هيدروبيروكسيدات (Hydroperoxides) والتي يمكن أن تستهل الأكسدة الذاتية (Auto-oxidation) للأحماض الدهنية (Masniyom, 2011). تنحل مركبات الهيدروبيروكسيدات خلال المراحل المتقدمة من أكسدة الدهون وينشأ عنها مركبات تحتوي على مجموعة الكربونيل منخفضة الوزن الجزيئي والكحول اللذان يؤديان إلى تغيرات في الجودة ويؤثران على خصائص اللون والقوام والنكهة والرائحة (Hassan,1984, Thanonkaew *et al.*, 2006). هناك عوامل أخرى تؤدي الى فساد الدهون مثل الأكسجين والضوء ودرجة الحرارة والنشاط المائي. لغرض التقليل من شدة هذه التغيرات يمكن دمج تقنية MAP مع طرق الحفظ الأخرى (Masniyom, 2011).

3- الغازات المستخدمة في تغليف الأسماك في جو محور:

يكمن المبدأ الأساسي لتغليف الأسماك الطازجة في جو محور، باستبدال الهواء المحيط بالأسماك في العبوة بنوع واحد أو خليط من غازات الهواء الجوي التي تختلف في نسبتها عن الهواء الطبيعي. يوضح جدول 3 التركيبة الغازية للهواء الجاف عند مستوى سطح البحر (Parry, 1993). تجرى عملية تغليف الأسماك في وسط محور بوضعها في عبوات أو أكياس خاصة تتميز بانخفاض نفاذيتها للغازات، حيث يتم تفريغ أغلب الهواء الموجود بداخلها قبل حقن تركيبة الغاز المرغوبة، وتكون نسبة الغاز للمنتج 1:2 حجم / الوزن (Dalgaard *et al.*, 1993; Dalgaard *et al.*, 1997; Torrieri *et al.*, 2006 Arashisar, *et al.*, 2004). توجد تقنيتان لاستبدال الهواء داخل العبوة بالغازات وهما تقنية تدفق الغاز (Gas flushing) والتي تهدف إلى إحلال الهواء داخل العبوة بالتركيبة الغازية، والتقنية الأخرى التفريغ التعويضي (Compensated vacuum) (Blakistone, 1998; Sen, 2005) وهي عبارة عن تفريغ العبوة أولا من الهواء ثم إحلال التركيبة الغازية محلها في عملية متوالية. يعتمد كثيرا اختيار التركيبة الغازية في MAP على نوعية السمك المرغوب تغليفه. تستخدم في تغليف الأسماك بتقنية MAP غازات شائعة تشمل الأكسجين ($ا_2$) والنيتروجين ($ن_2$) وثاني أكسيد الكربون ($ك ا_2$) (Choubert and Baccaunaud, 2006; Jezek and Buchtova, 2007; Masniyom, 2011). يعد $ك ا_2$ من الغازات الأكثر أهمية من حيث استخدامه في تغليف الأسماك بتقنيات MA، إذ أن هذا الغاز له خصائص في تثبيط البكتيريا (Bacteriostatic) والفطريات (Fungistatic) (Sivertsvik *et al.*, 2002). وفيما يلي توضيح للغازات المستخدمة في التقنيتين ووظائفها.

جدول3 . نسبة الغازات في الهواء الجوي عند مستوى سطح البحر.

الغاز	%
نيتروجين (Nitrogen)	78.03
أكسجين (Oxygen)	20.99
أرجون (Argon)	0.94
ثاني أكسيد الكربون (Carbon dioxide)	0.03
هيدروجين (Hydrogen)	0.01

المرجع (Parry, 1993).

1.3- الأكسجين:

يعتبر الأكسجين من أهم الغازات التي تستخدم في العمليات الأيضية لكل الأحياء الدقيقة الهوائية المسببة للفساد. كما أنه يدخل كجزء مهم في بعض التفاعلات الإنزيمية في الأغذية بما في ذلك التفاعلات الإنزيمية المؤثرة على الفيتامينات ومركبات النكهة، ولهذه الأسباب، يجب ضبط أكسجين الهواء الجوي في تقنية تغليف الأغذية في جو محور إلى اقل مستوى قدر الإمكان مع مراعاة بعض الاستثناءات كما هو الحال في الفواكه والخضروات والتي تحتاج أنسجتها إلى الأكسجين في عملية التنفس وأيضا للاحتفاظ بالمايوجلوبين المؤكسج المسئول عن اللون المرغوب في اللحوم والأسماك الزرقاء مثل التونة (Parry, 1993; Masniyom, 2011). يستخدم الأكسجين في تقنيات MAP لتثبيط نمو البكتيريا اللا هوائية ومنع إنتاج السم من قبل *Clostridium botulinum* نوع E (Pantazi *et al.*, 2008). إلا أن الأكسجين يؤدي أيضا إلى أنواع عديدة من التفاعلات التي تسبب الفساد في المنتج وخاصة تفاعلات التزنخ بالأكسدة وتفاعلات الاسمرار (Browning reactions) وتحفيز نمو البكتيريا الهوائية. أشار (Church, 1994) إلى أن مستويات الأكسجين رغم انخفاضها أثناء التخزين إلا أن وجود الغاز في بداية التغليف يدعم نمو الأحياء الدقيقة الموجودة طبيعيا (Microflora) المنافسة والتي تساعد في تثبيط نمو إي أحياء ممرضة لاهوائية موجودة. علاوة على ذلك، رغم أن بكتريا *C.botulinum* غير متوقع أن تنمو على أسطح المنتجات المعرضة للهواء، إلا انه يمكن أن تنمو تحت السطح بمليمترات قليلة لتوفر الظروف اللاهوائية. ذكر Valu *et al,* (2013) أن استخدام نسبة مرتفعة من الأكسجين في تغليف الأسماك بطريقة MA تلعب دورا في كبح عملية اختزال مركب أكسيد ثلاثي ميثيل امين، إلا أنها لا تفضل بشكل عام لأنها توفر ظروف ملائمة لنمو وزيادة نشاط البكتيريا المسببة للفساد. رغم أن Davies (1995) بين وجود أدلة تظهر أن الأكسجين يساهم في التقليل من النز (Exudation) في الأسماك المخزنة بتقنية MAP، و أوصى باستخدام الأكسجين في تركيبة الغاز للأسماك المنخفضة الدهن، إلا أن(1992) Reddy *et al.*,حذر من أن استخدام الأكسجين مع النيتروجين أو ثاني أكسيد الكربون من الممكن أن يعطي فكرة خاطئة عن تقليل مخاطر السم البوتوليني (Botulism) في السمك الطازج المغلف وبالتالي يمكن أن يؤدي إلى سلامة خادعة لمثل هذه المنتجات.

2.3- ثاني أكسيد الكربون:

ثاني أكسيد الكربون غاز قابل للذوبان في الماء والدهن، وليس له خصائص إبادة للبكتيريا والفطريات، ألا إنه يثبط نمو البكتيريا والفطريات، وذلك من خلال إطالة الطور التمهيدي للنمو وخفض معدل النمو خلال الطور اللوغرتمي، وهذا يؤكد أن فعالية MAP تعتمد أساساً على سرعة تغليف الأسماك قبل دخول البكتيريا للطور اللوغرتمي (Brody, 1989; Ohlsson,1994). قدرة غاز ك

ا$_2$ على تثبيط الأحياء الدقيقة تتأثر بعدة عوامل مثل تركيز ك ا$_2$ ، الضغط الجزئي لغاز ك ا$_2$، حجم غاز ك ا$_2$ في الفراغ القمي، نوع الأحياء الدقيقة الموجودة في الغذاء، العمر والحمل الميكروبي الأولي، طور النمو الميكروبي، وسط النمو المستخدم، درجة حرارة التخزين، الحموضة، النشاط المائي، نوع المنتج الغذائي المغلف (Farber, 1991; Church, 1994; Church and Parson, 1995; Phillips, 1996). رغم أن التأثير المثبط لغاز ك ا$_2$ على البكتيريا معروف منذ سنوات عديدة غير أن الآلية التي يؤثر بها لا تزال موضوع الدراسة والبحث، وقد اقترحت عدة نظريات (Daniels *et al.*, 1985; Dixon and Kell, 1989; Arashisar *et al.*, 2004; Jezek and Buchtova, 2007; Bingol and Ergun, 2011) لتفسير هذه الآلية والتي يمكن تلخيصها فيما يلي:

1- تغيير وظيفة غشاء الخلية متضمنة التأثير على امتصاص المغذيات.

2- تثبيط مباشر للأنزيمات وتخفيض معدل التفاعلات الأنزيمية.

3- سهولة نفاذيته عبر الأغشية البكتيرية مسببا تغيرات في pH الخلوي حيث ك ا$_2$ يذوب بسهولة في الماء وينتج حامض الكربونيك (يد$_2$ ك ا$_3$). انخفاض pH يحدث نتيجة لتراكم يد$_2$ ك ا$_3$ الذي يرفع الحموضة في المحلول. الأحماض الضعيفة في الصورة غير المتأينة (Non-dissociated) معروفة بنشاطها ضد نمو الأحياء الدقيقة وهذا يفسر لماذا حامض الكربونيك مثبط ميكروبي تحديدا عند pH المتعادل (Neutral). تطيل هذه الظاهرة الطور التمهيدي للكائنات الدقيقة وبالتالي تؤخر من دخولها إلى الطور اللوغرتمي.

4- تغيرات مباشرة في الخصائص الفيزيوكيميائية للبروتينات.

أما عن دور غاز ك ا$_2$ في تثبيط البكتيريا الممرضة اللا هوائية فقد أشار كلا من (Hotchkiss, 1988; Phillips, 1996) أن البكتيريا الممرضة واللصيقة بالغذاء والمتمثلة في *C. botulinum* و *C. perfringens* لا تتأثر بوجود ك ا$_2$ ويسمح لها بالنمو تحت الظروف اللا هوائية. ذكر (Taylor *et al.*, 1990). أن ك ا$_2$ يكون فعالا في الأغذية التي يكون فيها الفساد بسبب الأحياء الدقيقة الهوائية المتحملة للبرودة السالبة لصبغة جرام.

يمكن أن تؤدي ذوبانية غاز ك ا$_2$ في الأغذية المرتفعة الرطوبة و/أو الدهن مثل الأسماك ولحم العجل والدواجن إلى انهيار العبوة (Packaging Collapse)؛ أي: التصاق الغلاف بالمنتج نتيجة لفقد جزء من غاز ك ا$_2$ في المحتوى المائي أو الدهني للمنتج (Soccol and Oetterer, 2003) ، والذي يأخذ فيه غطاء العبوات الصلبة شكل سطح مقعر نتيجة لانخفاض الضغط داخلها (Church, 1998)، مما يستوجب أخذ هذا في الاعتبار عند تحديد نسبة الغاز إلى المنتج في العبوة خاصة غاز النيتروجين.

3.3- النيتروجين:

النيتروجين غاز خامل لا طعم له قليل الذوبان في الماء والدهن وليس له دور مباشر ضد نمو الأحياء الدقيقة. يستخدم في تغليف الأغذية في جو محور لمنع انهيار العبوة بسبب ذوبانية ك ا$_2$ في الوسط المائي أو الدهني للمنتج. علاوة على ذلك فإن غاز ن$_2$ يحل محل ا$_2$ في العبوة مما يساهم في تثبيط نمو الأحياء الدقيقة الهوائية وتأخير التزنخ بالأكسدة (Oxidative Rancidity) (Farber, 1991; Phillips, 1996; Velu *et al.*, 2013). إلا أن (Robertson, 1993) نوه إلى أن استبدال الهواء بغاز النيتروجين ينتج ظروف لا هوائية مما يزيد من احتمالية نمو بكتيريا *C. bolulinum* كما هو الحال في استخدام التغليف تحت التفريغ .

4.3 - التركيبة الغازية المستعملة :

تبين من خلال نتائج الدراسات والبحوث عدم وجود تركيبة غازية واحدة ملائمة لجميع أنواع الأسماك ومنتجاتها بل أن التركيبة الغازية يتم اختيارها بناء على نوع السمك ونوع مادة التغليف ودرجة حرارة التخزين، مع ضرورة ترك فراغ قمي كافي داخل العبوة ليستوعب كمية احتياطية من ك ا$_2$ حتى يتسنى تعويض كمية غاز ك ا$_2$ الذائبة في الوسط المائي

للمنتج وكذلك المتسربة عبر العبوة. تتألف التركيبة الغازية المستعملة في الغالب من غاز ك ا2 وغاز ن2 أو من غاز ك ا2 و ا2 و ن2، حيث أنه لا يمكن استخدام غاز ك ا2 لوحده وبنسبة 100% نظراً لما يتسبب عنه من تغيرات حسية للمنتج مثل تغير القوام واكتساب النكهة الحمضية وفقدان اللون الأحمر في حالة اللحوم والأسماك الزرقاء بجانب فقد البروتينات القدرة على مسك الماء مما يترتب عنه زيادة كمية النز في العبوة، علاوة عن ما يتسبب عنه فقدان ك ا2 من انهيار العبوة (التصاق الغلاف بالمنتج) (Robertson, 1993; Soccol and Oetterer, 2003; Masniyom, 2011).

لتفادي تلك العيوب تم إدخال كل من غاز ن2 وا2 مع غاز ك ا2 في التركيبة الغازية حيث يعمل غاز النيتروجين كوسط مالي للمحافظة على شكل العبوة وعدم انهيارها والأكسجين للمحافظة على لون المنتج خاصة في الأسماك الزرقاء واللحوم. أما عن نسبة هذه الغازات في التركيبة فهي تختلف باختلاف نوعية الأسماك من حيث احتوائها على الدهن، فقد أشار (Cann *et al.* 1983) إلى أن التركيبة الغازية النموذجية لتغليف الأسماك الدهنية في ظروف MA تتكون من 60% ن2 : 35% ك ا2 : 5% ا2. بينما ذكر (Robertson, 1993; Phillips, 1996; Soccol and Oetterer, 2003) أن التركيبة الغازية الفعالة تختلف حسب نوع السمك حيث التركيبة منخفضة الأكسجين تستخدم للأسماك الدهنية التي تكون حساسة للتزنخ بالأكسدة وبشكل عام يوصى بأن يتكون خليط الغازات المستخدم للأسماك البيضاء (منخفضة الدهن) 30% ن2 : 40 % ك ا2 : 30 % ا2 أما الأسماك المدخنة والدهنية فيوصى باستخدام 40% ك ا2 : 60% ن2 أو 60% ك ا2 : 40% ن2. يعرض الجدول 4 التركيبة الغازية المستخدمة في MAP لمنتجات سمكية متعددة وفترة الصلاحية المتحصل عليها.

4- تأثير MAP على نمو الأحياء الدقيقة:

تفسد الأسماك بفعل عوامل فيزيائية وكيميائية ونشاط الأحياء الدقيقة إلا انه من خلال الدراسات ثبت أن نشاط الأحياء الدقيقة هو المسئول أساسا على التغيرات غير المرغوبة والتي تؤدي إلى فقدان جودة الأسماك وعدم قابليتها للتداول.

تخزن الأسماك تقليديا باستخدام التبريد في الهواء وهذه الظروف تعطيها مدة صلاحية من 2 إلى 10 أيام حسب نوع السمك وموقع وموسم الصيد والحمل الميكروبي الأولي ودرجة حرارة التخزين (Masniyom, 2011).

أجريت العديد من الدراسات بهدف التقليل من نشاط الأحياء الدقيقة لأجل إطالة فترة الصلاحية ومنها الدراسات التي اهتمت بدراسة تأثير التغليف في جو محور على نشاط الكائنات الدقيقة على الأسماك المبردة وتحديد نسب التركيبة الغازية التي تطيل فترة الصلاحية.

أشار (Soccol and Oetterer(2003 أن استخدام MAP أدى إلى زيادة في فترة صلاحية المنتجات السمكية بنسبة تتراوح بين 50- 400 %.

كما بين (2013) ,.Velu *et al* أن فترة صلاحية الأسماك المغلفة في جو محور تعتمد على العدد الميكروبي المقبول وعلى المؤشرات الحسية الدالة على الجودة.

رغم أن الزيادة في صلاحية المنتجات السمكية المغلفة تحت MA متوقعة من خلال دور MAP في تثبيط نمو الأحياء الدقيقة المسببة للفساد الهوائية وزيادة الطور التمهيدي للبكتيريا اللا هوائية أو اللا هوائية اختيارية، إلا أنه توجد مخاوف حول سلامة هذه المنتجات مع إطالة فترة صلاحيتها بسبب احتمالية نمو البكتريا الممرضة في هذا النوع من أنظمة التغليف (Farber, 1991; Church and Parsons, 1995) .

1.4- الأحياء الدقيقة المسببة للفساد:

تنمو على أسماك المياه المالحة كائنات حية دقيقة تشمل السالبة لصبغة جرام مثل *Pseudomonas* و*Psychrobacter* و*Vibrio* و*Shewanella* و *Photobacterium* و الموجبة لصبغة جرام مثل *Bacillus* و *Clostridium* و *Lactobacillus* و*Micrococcus* و *B. thermosphacta*.

جدول 4 . بيان بالتركيبات الغازية المستعملة في MAP للمنتجات السمكية وفترة الصلاحية المتحصل عليها عند درجات حرارة مختلفة.

الرقم	المنتجات السمكية	درجة الحرارة (م°)	مدة التخزين(أيام) تحت التبريد	مدة التخزين(أيام) تحت MAP	التركيبة الغازية ك ا$_2$: ن$_2$: ا$_2$	المرجع
1	شرائح القد (Cod Fillets)	1±0	10	20<	0 :75:25	Villemure *et al.*, (1986)
2	شرائح البلطي (Tilapia Fillets)	4	13-9	25<	0 :25 :75	Reddy *et al.*, (1995)
3	شرائح النازلي المثلجة (Iced Hake fillets)	1±2	10.5	21	10:50:40 10:30:60 30:30:40 30:10:60	Pastoriza *et al.*, (1996a)
4	شرائح السالمون المثلجة (Iced (Salmon Fillets	1 ± 2	9	18	10:50:40 10:30:60 30:30:40 30:10:60	Pastoriza *et al.*, (1996b)
5	بلح البحر (Scallops)	4	12	22	0: 0 :100	Mausse (2000)
6	الجمبري الأسمر (Brown Shrimp)	4	4.5	14	0: 0 :100	Mausse (2000)
7	ماكريل (Mackerel)	0	3.5	6.5	0:40:60	Mausse (2000)
8	شرائح القاروص (Seabass Slices)	4	9	20	0: 20 :80 10: 10 :80 20: 0 :80 0: 0 :100	Masniyom *et al.*, (2002)
9	السردين (Sardine)	4	3	12	0:40:60	Özoğul *et al.*, (2004)
10	البوري الأحمر (Mediterranean Red Mullet)	0.5±4	6	8 10 8	10:20:70 10:50:40 10:30:60	Pournis *et al.*, (2005)
11	السردين (Sardine)	4	3	12	0:40:60	Özoğul *et al* ., (2007)
12	شرائح الفروج (grouper fillets)	2 ± 2	7	18	0 :20 :80	Siah and Ariff (2007a)
13	القد (Cod Loins)	0.9 -	17- 16	21	5:45:50	Wang *et al.*, (2009)
14	ابوسيف (Mediterranean swordfish)	4	8	13	5:45:50	Kykkidou *et al.*, (2009)
15	المبروك (Common Carp)	0.5±4	3	6 8	0:70:30 80:0:20	Hudecová *et al* ., (2010)
16	شرائح البلطي (Tilapia fillets)	4	6	15	10 :30 :60	Masniyom *et al.*, (2013)

كذلك تنمو أيضا ذات المجاميع على أسماك المياه العذبة ماعدا *Vibrio* و *Photobacterium*. تكون الأسماك اقل عرضة للفساد عندما تسود البكتريا الموجبة لصبغة جرام الفلورا الطبيعية بها، وهذا يفسر امتداد فترة الصلاحية لمنتجات سمكية معينة خاصة الأسماك الاستوائية. تسبب الأحياء الدقيقة السالبة

لصبغة جرام الفساد من خلال تحليل البروتين والأحماض الأمينية والمركبات النيتروجينية الأخرى إلى أمينات وأمونيا وكبريتات عضوية وكبريتيد الهيدروجين. يكون معدل الفساد أعلى عند نهاية فترة التخزين بسبب ارتفاع pH العضلات الذي ينتج بالتالي ظروف غير قادرة على تثبيط نمو بكتيريا الفساد خاصة البكتيريا اللا هوائية اختيارية (Velu *et al.*, 2013).

يثبط استخدام MAP للأغذية البحرية نمو البكتيريا المسببة للفساد التي تنتج الروائح والنكهات غير المرغوبة، والبكتيريا اللا هوائية تكون هي المسيطرة في الآخر، هذه البكتيريا مثل : Lactobacilli و Streptococci تكون أقل تأثرا بالتركيز العالي في نسبة غاز ك ا$_2$ وتنمو بشكل أقل من بكتيريا الفساد الهوائية اللصيقة بالأسماك. وبسبب أن الأحياء الدقيقة التي تسيطر تحت MAP تحدث تغيرات حسية كريهة قليلة وأقل ملاحظة فإن النتيجة النهائية تكون إطالة الصلاحية للمنتجات السمكية تحت MAP عند درجات حرارة التبريد (Robertson, 1993). البكتيريا السالبة لصبغة جرام بوجه عام أكثر حساسية لغاز ك ا$_2$ من البكتيريا الموجبة لصبغة جرام وفي الأغذية البروتينية المخزنة بالتبريد مثل اللحوم يحدث تثبيط للبكتيريا السالبة لصبغة جرام (*Pseudomonas* spp. و Enterobacteriacea. و spp *Acinotobacter* و *Moraxella* spp) بينما البكتيريا الموجبة لصبغة جرام (Lactic acid bacteria و *Brochothrix thermosphacta*) تصبح هي الأحياء الدقيقة المسيطرة (Church, 1994). في حين ذكر (Ordónez *et al.*, 1991) أن الأحياء الدقيقة المسئولة عن الفساد والمسيطرة هي الأحياء الدقيقة السالبة لصبغة جرام والمحتمل هي *Pseudomonas* و *Shewanella* spp بسبب وجودها المتكرر في السمك الفاسد. وهذا ما توصل له أيضا (Dalgaard *et al.*, 1993) عند دراسة فساد شرائح سمك القد (Cod) المغلف MA والمخزن عند 0°م، إذ وجدوا أن الأحياء الدقيقة السالبة لصبغة جرام والمحبة للبرودة (Coccobacilli و Pleomorphic) هي الأحياء الدقيقة المسيطرة في شرائح سمك القد (Cod) الفاسدة المخزنة في جو يحتوي على غاز ك ا$_2$ ولكن لم يجد البحاث أن *Shewanella putrefaciens* هي من الأحياء الدقيقة الرئيسة المسببة للفساد. على العكس من ذلك ذكر (Gram and Huss, 1996) أن الأسماك البحرية المخزنة تحت MAP المصطادة من المياه المعتدلة درجة الحرارة تفسد نتيجة نمو *P. Phosphoreum* المقاومة لغاز ك ا$_2$ بينما البكتيريا الموجبة لصبغة جرام محتمل أن تكون المسببة للفساد في أسماك المياه العذبة أو الاستوائية والمغلفة في جو من غاز ك ا$_2$. وجد (Gopakumar, 1993) أن البكتيريا اللصيقة السائدة عند وقت الفساد هي *Aeromonas* (63%) و *Vibrio* (3%) و Enterobacteriaceae (9%) و *Lactobacillus* (25%) وذلك عند استخدام 50% ك ا$_2$ و 50% ا$_2$ لإطالة صلاحية شرائح سمك المبروك الهندي Indian carp (Catla Catla)، بينما في حالة 80% ك ا$_2$ و 20% ا$_2$ كانت البكتيريا السائدة في السمك الفاسد *Aeromonas* (48%) و *Vibrio* (5%) و *Pseudomonas* (9%) و *Bacillus* (5%) و *Lactobacillus* (33%). سجل (López-Gálvez *et al.*, 1995) أن بكتيريا الفساد اللصيقة بالأسماك تثبط بفعالية من خلال جو غني بغاز ك ا$_2$ (≤ 20 %). تبين من نتائج دراسة Debevere and Boskou (1996) أن الخليط الغازي المتكون من 60 % ك ا$_2$: 10 % ا$_2$: 30% ن$_2$ والخليط الغازي المتكون من 60 % ك ا$_2$: 20 ا$_2$: 20 % ن$_2$ والخليط الغازي المتكون من 60 % ك ا$_2$:30 % ا$_2$: 10% ن$_2$ والخليط الغازي المتكون من 60 % ك ا$_2$: 40 % ا$_2$ ممكن اعتباره مثبط فعال ضد العدد الكلي الهوائي. تتبع Dalgaard *et al.*, (1997) نمو *P.*

phosphoreum في الأسماك تحت MAP من خلال 20 تجربة، لم يسجل وجود *P. phosphoreum* في أسماك المياه العذبة رغم اكتشاف نمو كبير (10^7 و ت م/ جم) من هذه البكتيريا في كل الأنواع البحرية. وطبقا لكل من (Dalgaard *et al.*,1993 ;1998) و(Dalgaard 1995a; 1995b)) تعتبر بكتيريا *P. phosphoreum* البكتيريا الأكثر شيوعا في شرائح سمك القد (Cod) المخزنة المغلفة تحت MA (خليط من ك $ا_2$ و $ن_2$) أو المخزنة المغلفة تحت التفريغ. وجد Ordóñez *et al.*,(2000) إن بكتيريا الفساد اللصيقة في شرائح سمك النازلي (Hake) ثبطت في جو 40 % ك $ا_2$ مقارنة بالعينات المغلفة في الهواء الجوي. توصل Masniyom *et al.*,(2002) إلى أن التأثير التثبيطي لغاز ك $ا_2$ ضد النمو البكتيري في شرائح القاروص (Seabass) المبردة عند 4 م° يزداد بزيادة تركيز غاز ك $ا_2$ في العبوة وان أعلى تثبيط كان مع استخدام 100% ك $ا_2$. ووجد أن أعداد بكتيريا حامض اللاكتيك كانت أعلى في شرائح سمك القاروص (Seabass) المغلفة في جو غني بغاز ك $ا_2$ عند 4م° من تلك المخزنة في الهواء لكن في العينات المغلفة مع 100% ك $ا_2$ كانت أقل من كل العينات المدروسة. بينما وجد Boskou and Debevere,(2000) عدم وجود اختلاف في أعداد بكتيريا حامض اللاكتيك في كل التركيبات الغازية المستخدمة. أوضح Özoğul *et al.*,(2004) أن نمو البكتيريا كان أسرع في السردين المخزن في الهواء مقارنة بالسردين المخزن تحت التفريغ وسجل أقل عدد بكتيري في عينات السردين المخزن بتقنية MAP. درس (Torrieri *et al.*, 2006) تأثير تغليف سمك القاروص (Gutted farmed bass) باستخدام التركيبة الغازية 20% $ا_2$: 70% ك $ا_2$ و 30% $ا_2$: 50% ك $ا_2$ على البكتيريا الهوائية المحبة لدرجة الحرارة المتوسطة (Aerobic Mesophilic Bacteria (AMB والبكتيريا المنتمية إلى عائلة (Enterobacteriaceae). كلاهما ثبط بعد 9 أيام من التخزين عند 3 م° حيث AMB و Enterobacteriaceae وصلت على التوالي إلى 2.5×10^6 و.ت.م / جم و 5.2×10^4 و.ت.م / جم في التركيبة الغازية الأولى و 2.2×10^7 و.ت.م / جم و 8.0×10^5 و.ت.م / جم في التركيبة الغازية الثانية. وجد Hovda *et al.*, (2007) أن عدد البكتيريا المتحملة للبرودة (Psychrotrophic) في اليوم 23 من تخزين الهاليبوت المستزرع المغلف باستخدام MA (ك $ا_2$/$ا_2$: 50/50 و ك $ا_2$/$ن_2$: 50/50) عند 4 م° كانت أقل من لوغاريتم (لو) 7 و.ت.م/جم لكلا التركيبتين الغازيتين. ذكر Siah and Ariff, 2007a) بأن دور غاز ك $ا_2$ في تأخير حدوث الفساد في الأغذية العضلية الطازجة (Muscle Food) يكون بسبب قدرته على تثبيط بكتيريا الفساد الهوائية المتحملة للبرودة السالبة لصبغة جرام. توصل Stamatis and Arkoudelos, 2007) إلى أن عدد *Pseudomonas* في شرائح الماكريل الطازج (Chub Mackerel) المغلفة باستخدام MA (ك $ا_2$/ $ن_2$: 50/50) أقل من لو 7 و.ت.م /جم بعد التخزين عند 3 م° و 6 م° لمدة 15 يوما. توصل Hudecová *et al.*, 2010) إلى أن تغليف أسماك المبروك (Common Carp) في جو محور يتألف من 70 % $ن_2$: 30 % ك $ا_2$ و 80 % $ا_2$: 20 % ك $ا_2$ يؤدي إلى تثبيط نمو الأحياء الدقيقة أثناء التخزين حيث كان العدد الكلي (Total Viable Counts) بعد 10 أيام 7.50 ± 0.20 و 7.40 ± 0.70 لو و.ت.م/ جم على التوالي في حين وصل العدد إلى 12.50±1.00 لو و.ت.م/ جم في العينات المغلفة تحت الظروف الاعتيادية. وجد Cyprian *et al* ., (2013) أن الطور التمهيدي وزمن تضاعف البكتيريا ازداد في شرائح سمك البلطي النيلي (Nile tilapia) المغلفة في 50% ك $ا_2$ و 50% $ن_2$ والعدد المسجل كان أقل من الحد المسموح به (أقل من 10^8 و.ت.م/ جم) بعد 23 يوم من التخزين عند كلتا درجتي الحرارة المستخدمة في التخزين (1 م° و -1 م°).

غياب التبريد عند أي مرحلة خلال مدة التخزين لهذا النوع من المنتجات يمكن أن يسمح بنمو الأحياء الدقيقة التي ثبطها غاز ك $ا_2$ خلال التخزين عند درجات الحرارة المنخفضة. الأحياء الدقيقة اللا هوائية اختيارية والأحياء الدقيقة الهوائية المقاومة لتأثير غاز ك $ا_2$ وغير القادرة على

النمو عند درجات الحرارة المنخفضة يمكن أيضا أن تنمو بقوة كنتيجة لتذبذب درجة حرارة التخزين (Temperature Abuses) (Wolfe, 1980). وجد (Ogrydziak and Brown 1982) أن السيطرة على درجة الحرارة في الأسماك المغلفة تحت MA ضروري ومهم نظرا لعلاقتها المباشرة بذوبانية غاز ك ا2 في الوسط المائي للأنسجة حيث أن ارتفاع درجة الحرارة يؤدي إلى خفض ذوبانية ك ا2 ويزيد من نمو الأحياء الدقيقة نسبيا مقارنة بالأسماك المغلفة تحت الظروف الاعتيادية. يتضح من الدراسات المذكورة أعلاه أن استخدام تقنية MA لتغليف الأسماك يثبط نمو الأحياء الدقيقة مقارنة بالتغليف تحت الظروف الاعتيادية رغم اختلافها في تحديد نوع الأحياء الدقيقة الأكثر حساسية فبعض الدراسات وجدت أن البكتيريا الموجبة لصبغة جرام هي المسيطرة بينما البعض الآخر وجد أن البكتيريا السالبة لصبغة جرام هي المسيطرة عند تخزين الأسماك تحت MAP نتيجة لاختلاف نوع الأسماك وبيئة الصيد.

2.4- البكتيريا الممرضة:

تأتي البكتيريا الممرضة والمنقولة عبر الأسماك من ثلاث مصادر، البيئة المائية المحيطة بالأسماك وهي بكتيريا مستوطنة في هذه البيئة وتعتبر لصيقة بالأسماك مثل *C. botulinum* غير المحللة للبروتين نوع B و E و F وبكتيريا Vibrio الممرضة (*Vibrio parahaemolyticus* و *Vibrio cholerae* و *Virio vulnificus*) وبكتيريا *Plesiomonas shigelloides* و *Aeromonas* species والبكتيريا الممرضة غير المستوطنة للبيئة المائية وعادة تتواجد على الأسماك مثل *Listeria monocytogenes* و *C.botulinum* المحللة البروتين نوع A و B و*C.perfringens* و *Bacillus* spp والبكتيريا الممرضة من المصدر الحيواني أو الآدمي مثل *Salmonella* و spp *Shiegella* و *E.coli* و *Staphylococcus aureus* و *Campylobacter jejuni* (Huss and Gram, 2002). أثيرت العديد من التساؤلات والمخاوف حول سلامة وآمان الأسماك أو منتجاتها المحفوظة بتقنية MAP من مخاطر البكتيريا الممرضة وسمومها والتي يمكن أن تتواجد على الأسماك من المصادر المختلفة حيث أن غاز ك ا2 المستعمل في تقنية MAP يساهم في تثبيط الكائنات الدقيقة المسئولة على فساد الأسماك وأن النواتج الأيضية لهذه الكائنات الدقيقة لها علاقة مباشرة بالمؤشرات الحسية الدالة على فسادها وبالتالي تنبه المستهلك لعدم تداولها وتناولها. كما أن تثبيط هذه الكائنات يساهم في إطالة العمر الخزني لهذه الأسماك مما يفتح المجال لبعض أنواع البكتيريا الممرضة من النمو والتزايد في العدد لتصل إلى الجرعات المسببة للمرض أو إنتاج السم حيث أن هذه البكتيريا لا تستطيع المنافسة في وجود البكتيريا المسئولة على فساد الأسماك.

اهتمت العديد من الدراسات بالبكتيريا الممرضة المنقولة عبر الأسماك خاصة تلك الأنواع التي تستطيع النمو عند درجات الحرارة المنخفضة مثل *L.monocytogenes* و*C.botulinum* غير المحللة للبروتين والتي يمكن أن تشكل مخاطر صحية عند تواجدها في الأسماك ومنتجاتها المغلفة في جو محور نتيجة لتحملها درجات البرودة. أثبت (Hendricks and Hotchkiss, 1997) فعالية غاز ك ا2 عند تركيز 80% في إحداث خفض معنوي في معدل نمو *L. monocytogenes* عند اختبارها في حساء مغذي منظم (buffered nutrient broth) عند 7 °م. وجد Rutherford *et al.*, (2007) أن استخدام ك ا2 بتركيز 100% يخفض *L. monocytogenes* في الجمبري (Shrimp) المغلف في جو محور والمخزن عند 3 °م، مقارنة بالجمبري المغلف تحت الظروف الاعتيادية أو المغلف تحت التفريغ. أوضح (Hendricks and Hotchkiss,1997) أن استخدام ك ا2 بمستوى 70- 100 % يسبب إطالة الطور التمهيدي وخفض معنوي في معدل النمو لبكتيريا *L. monocytogenes* عند درجة التبريد تحت ظروف MAP. أما فيما يخص المخاطر من نمو بكتيريا *C. botulinum* وإنتاج السم فإن احتمالية نموها وإنتاج السم واردة تحت ظروف التغليف في جو محور للأسماك ومنتجاتها، حيث أن تقنية MAP توفر ظروف لا هوائية اختيارية كما أن

الأسماك في حد ذاتها تصنف من الأغذية المنخفضة الحموضة (PH > 4.5) والتي توفر وسط ملائم لنمو بكتيريا *C. botulinum* نوع E غير المحللة للبروتين وإنتاج السم عند توفر درجة الحرارة الملائمة خاصة وأن الأسماك عرضة للتلوث بهذه البكتيريا من الوسط المائي المتواجدة به. وجد Cann *et al.*, (1983) أن سمك السالمون (Salmon) وسمك التروث (Trout) المحقونة بجراثيم *C.botulinum* والمحفوظ تحت MAP وتحت التفريغ فسد عند تخزينه على درجات حرارة 10، 15، 20 ° م قبل أن تتمكن بكتيريا *C.botulinum* من إنتاج السم، إلا أن Arritt *et al.*,(2007) سجل وجود سم *C.botulinum* في شرائح سمك الفلوندر (Flounder) المغلف في ظروف محورة أو تحت التفريغ قبل أن تظهر علامات الفساد الحسية. أكد Peck *et al.*, (2008) إن درجة حرارة التخزين تلعب دورا محوريا في تمديد فترة الصلاحية للأسماك وتعيين الحد الفاصل بين الفساد الحسي وبداية نمو *C.botulinum* وإنتاج السم في عبوات شرائح سمك السالمون (Salmon) المغلفة في جو محور وأن تمديد التخزين عند درجة حرارة غير مناسبة 16° م يمكن أن يشكل خطورة صحية بسبب إنتاج السم قبل ظهور العلامات الحسية للفساد. لقح (Reddy *et al.*, 1997a,b, c) شرائح سمك السالمون (Salmon) وسمك القط (Catfish) وسمك البلطي (Tilapia) ببكتيريا *C.botulinum* نوع E بمستوى 100 جرثومة / جم وخزنت هذه الشرائح في ظروف هوائية مختلفة (100% هواء، MAP 75% ك $ا_2$: 25%$ن_2$، وتحت التفريغ) عند درجات حرارة 4°م، 8 ° م،16 ° م حيث وجد أنه كلما انخفضت درجة الحرارة تحت ظروف التخزين المختلفة كلما زاد عدد الأيام قبل اكتشاف إنتاج السم، وأن أطول فترة سجلت لعدد الأيام قبل اكتشاف إنتاج السم عند درجة حرارة التخزين 4مْ كانت في الشرائح المخزنة تحت ظروف MAP وكانت على التوالي 80 و 75 و30 يوما لكل من شرائح السالمون وسمك القط والتلابيا. تؤكد نتائج هذه الدراسة فعالية درجة حرارة التخزين في تثبيط نمو بكتيريا *C.botulinum* وإنتاج السم في ظروف MAP، وأن نوع السمك يلعب دورا في تحديد المدة اللازمة لبكتيريا *C.botulinum* للوصول إلى الجرعة المناسبة (العدد المطلوب) قبل إنتاج السم مما يستوجب المزيد من الدراسات حول هذا الموضوع.

أما فيما يخص المستوى المقبول لتركيز ك $ا_2$ في MAP اللازم لتثبيط نمو *C.botulinum* في الأسماك فقد أشار Economou *et al* (2009)، بناء على نتائج معظم الدراسات أن المدى المقبول لتركيز ك $ا_2$ في MAP يقع بين 50 و 80 % مع ضرورة أن تتضمن التركيبة الغازية المستعملة نسبة قليلة من الأكسجين لغرض تثبيط فعالية النمو وإنتاج السم لبكتيريا *C.botulinum* نوع E والتي لها القدرة على الحياة والازدهار تحت الظروف اللا هوائية في حالة عدم إضافة $ا_2$ للتركيبة الغازية المستخدمة.

ملاحظة جدير التركيز عليها وهي أن معظم مجموعة البكتيريا الممرضة غير المستوطنة لا يتوقع أن تشكل خطورة صحية في الأسماك المحفوظة في جو محور عند الالتزام بشروط التخزين الجيد من حيث درجة الحرارة لأنها غير قادرة على النمو عند درجات الحرارة المنخفضة والتي يستوجب عندها تداول هذا النوع من المنتجات.

ذكر Velu *et al.*, (2013) في مقالة مراجعة أن استخدام أعلى نسبة من ك $ا_2$ في التركيبة الغازية المستعملة لحفظ الأسماك تحت ظروف MAP ستعطي أكثر فعالية في تثبيط كلا من البكتيريا المفسدة والبكتيريا الممرضة مقارنة باستخدام التغليف تحت التفريغ.

الجدير التنويه إليه أن فعالية ك $ا_2$ في تأثيره على البكتيريا الممرضة والمنتجة للسموم لها علاقة مباشرة مع ذوبانه في الوسط المائي والدهون للأسماك مع انخفاض درجة حرارة التخزين كما أن حامض الكربونيك الناتج من ذوبان ك $ا_2$ في الوسط المائي لأنسجة الأسماك يكون له تأثير مثبط على نمو البكتيريا وبالتالي فإن تغليف الأسماك في جو محور يحتوي على نسبة أكسجين > 2% مع التخزين عند درجة حرارة قريبة من 0 °م (<3.3 °م) ضرورية لمنع نمو *Salmonella* spp و *L.monocytogenes* و *C.botulinum*

وأن تأثير فعالية ك ا2 التثبيطية لها علاقة قوية *E.coli* و بحالة المادة الخام (نوع الأسماك، %الدهن، % الرطوبة) والحمل الميكروبي ودرجة حرارة التخزين والتركيبة الغازية ، ونسبة الغاز: الأسماك في العبوة، ونوعية مادة التغليف من (Phillip,1996; FDA,2001; حيث النفاذية للغازات Soccol and Oetterer, 2003; Rutherford *et al.*, 2007). مما سبق عرضه يستنتج أن احتمالية وقوع المخاطر الصحية من نمو البكتيريا الممرضة أو المنتجة للسموم في الأسماك ومنتجاتها المغلفة بتقنية MAP واردة إذا لم يهتم بتفادي العوامل ذات العلاقة بوصول البكتيريا الممرضة للأسماك والحرص على حفظ وتداول هذا النوع من المنتجات عند درجة حرارة < 3.3° م لمنع نموها وتزايدها في العدد وإتاحة الظروف الملائمة لتلك الأنواع المفرزة للسم وهذا بالطبع لا يتأتى إلا بتطبيق الممارسات الصحية الجيدة ونظام تحليل المخاطر وتحديد النقاط الحرجة حتى يتسنى عرض منتجات آمنة للمستهلك خاصة في الدول النامية والتي ظروف الطقس فيها تتميز بارتفاع درجة حرارة البيئة المحيطة على مدار السنة.

5- تأثير MAP على أكسدة الدهون:

أكسدة الدهون أحد الأسباب الرئيسة لفساد الأغذية لأنها تتسبب في نشوء روائح غير مرغوبة المسماة بالتزنخ مع تغيرات في اللون مما يجعل الأغذية غير مقبولة أو تقلل من فترة صلاحيتها. بالإضافة إلى أن تفاعلات الأكسدة ممكن أن تقلل من القيمة الغذائية وتكون مركبات سامة (Nawar,1985). نواتج أكسدة الدهون قد تسبب بعض الطفرات (Mutagens) والمحفزات (Promoters) والمواد المسببة للسرطان (Carcinogens) (Herzig and Suchý, 2006). قيمة حامض الثيوباربيتيوريك (TBA) من الاختبارات المهمة لقياس أكسدة الدهن وهو مؤشر لكمية المالونالدهيد (Malonaldehyde) أحد نواتج الأكسدة الثانوية السائدة (Badee *et al.*, 2013). وجد Masniyom (2002) *et al.*, أن استخدام جو غني بغاز ك ا2 (60% أو 80%) لتغليف شرائح القاروص (seabass) المخزنة بالتبريد عند 4 °م أظهر قيم TBA أعلى من عينة المراقبة و العينات المغلفة باستخدام 100% ك ا2 ، وعلل ذلك باحتمالية أن حمض الكربونيك المتكون يحفز دنترة بروتينات العضلة مسبباً في تحرر حديد الهيم (Free Haem Iron) وهو العامل المؤكسد الأولي في العضلة. كذلك وجد Arashisar *et al.*, (2004) أن أكسدة الدهون زادت بسرعة في شرائح التروت (Rainbow Trout) بعد 6 أيام من التخزين عند 4±1مْ تحت MAP المحتوى على 30% ا2: 30%ن2: 40% ك ا2 ، بينما سجلت أقل قيمة TBA في العينات المغلفة مع 100% ك ا2 . درس Goulas and Kontominas, (2007) تأثير التغليف باستخدام MA 1 (70% ك ا2: 30%ن 2) و MA 2 (50% ك ا2: 30% ن2: 20% ا2) مقارنة باستخدام التغليف تحت التفريغ على صلاحية شرائح سمك الماكريل (Chub Mackerel) تحت التبريد. حيث وجد أن وجود الأكسجين في تغليف السمك سواء تحت الظروف الاعتيادية أو MAP نتج عنه زيادة في قيم TBA مقارنة مع العينات المغلفة في غياب الأكسجين. درس Jezek and Buchtova (2012) تأثير تغليف سمك المبروك الفضي (Silver Carp) تحت MA 1(69 % ن2، 25% ك ا 2، 5% ا1،2% ك ا / أول أكسيد الكربون) و MA 2 (70% ن2، 30 %ك ا 2) المخزنة عند 2±2مْ لمدة 18 يوما على الأحماض الدهنية الحرة وقيمة البيروكسيد وقيمة حمض TBA. وجد أن قيمة الأحماض الدهنية الحرة وقيمة البيروكسيد لا تعتبر مؤشر مناسب لمدى طزاجة أسماك المياه العذبة لأنها تتحول إلى مركبات أخرى خلال التخزين المبرد في حين وجد أن قيمة TBA مؤشر مناسب حيث كانت القيم أعلى في التركيبة الغازية المحتوية على ا2 وخلصت الدراسة أن يتم تغليف أسماك المبروك الفضي بتركيبة غازية خالية من ا2. وجد Masniyom *et al.*, (2013) أن قيم TBA لعينات البلطي (Tilapia) المخزنة تحت التفريغ أقل من تلك المسجلة في العينات المحفوظة تحت MAP (60% ك ا2: 10% ا2: 30% ن2) خلال التخزين عند 4 °م لمدة 18 يوما بينما سجلت أعلى قيم TBA في العينات المغلفة تحت

الظروف الهوائية. تبين من خلال ما سبق عرضه من نتائج دراسات فيما يخص تأثير MA على أكسدة الدهون في الأسماك، بأن وجود الأكسجين في التركيبة الغازية قلل من فاعلية ك ا$_2$ في تثبيط أو التقليل من معدل أكسدة الدهون في الأسماك المحفوظة تحت MA بسبب دور حامض الكربونيك في تحوير حديد الهيم في العضلة والذي يعتبر عامل محفز لعملية الأكسدة. إلا أن معدل عملية الأكسدة بالتأكيد ليس ثابت في كل أنواع الأسماك وإنما يختلف من نوع إلى آخر بناء على نسبة الدهن المتواجدة وكمية الأحماض الدهنية غير المشبعة ومدى تواجد موانع الأكسدة الطبيعية من عدمه وتلك الدراسات لم تتطرق إلى هذه العوامل مما يتطلب المزيد من الدراسات حول هذا الموضوع.

6- المعاملة الأولية للأسماك قبل التغليف في جو محور:

بما أن استخدام مستويات عالية من ك ا$_2$ في تقنية MAP يؤثر سلبا على الخصائص الحسية والفيزيائية للأسماك، فقد اهتمت العديد من الدراسات بتخفيض نسبة ك ا$_2$ من خلال تعريض الأسماك لبعض المعاملات الأولية باستخدام إضافات طبيعية و/أو كيميائية والتعرف على مدى فعاليتها على زيادة فترة صلاحية الأسماك تحت ظروف MAP. سجل Sharp *et al.,* (1986) زيادة في صلاحية شرائح سمك الرنجة (Herring) إلى 14 يوما عند معاملتها بنسبة 5% سوربات البوتاسيوم (Potassium Sorbate) ومن تم تغليفها في وجود 100% ك ا$_2$ وحفظها عند 3 °م. تبل Tassou *et al.,* (1995) شرائح سمك الاوراتا Gilt-head (seabream) بخلطة من زيت الزيتون وعصير الليمون واوريجانو (Oregano) ثم لقحت ببكتيريا *S. aureus* و *S. enteritidis* وخزنت تحت جو محور يتكون من 40% ك ا$_2$: 30% ا$_2$: 30% ن$_2$ عند 0 ±1 ° م. تبين أن هذه المعاملة أدت إلى تثبيط كلا النوعين من البكتيريا. قيم (Boskou and Debevere, 2000) تأثير 10% من حمض الخليك (Acetic Acid) على شرائح القد (Cod) المغلفة تحت (50% ك ا$_2$: 45% ا$_2$: 5% ن$_2$) المخزنة لمدة 12 يوما عند 7 °م ، وسجل انخفاض في عدد الأحياء الدقيقة الهوائية وعدد البكتيريا المنتجة لكبريتيد الهيدروجين وعدد البكتيريا المعوية بالإضافة إلى تثبيط تكون مركب ثلاثي ميثيل أمين ومجموعة القواعد المتطايرة. وجد (Gimenez *et al.,* 2004)أن استخدام مضادات الأكسدة الطبيعية (مستخلص إكليل الجبل أو حمض الاسكوربيك) على سطح شرائح الاوراتا (Gilt-head sea bream) ومن تم التغليف باستخدام MA (ك ا$_2$: ن$_2$ / 1:1 حجم / حجم) والتخزين عند 1±1 ° م، وباستخدام نوعين من الإضاءة (low-UV color-balanced lamps, supermarket fluorescent tubes) أدى إلى تأخير أكسدة الدهون وتحسين الجودة الحسية. مستخلص إكليل الجبل كان أكثر فعالية من حمض الاسكوربيك في تأخير أكسدة الدهن تحت كلا النوعين من الإضاءة لشرائح السمك المغلفة تحت MA.

درس Masniyom *et al.* ,(2005) تأثير المعاملة الأولية بمركبات فوسفات مختلفة (فوسفات ثلاثي الصوديوم - Trisodium Phosphate و بايروفوسفات الصوديوم - Pyrophosphate Sodium وثلاثي عديد فوسفات الصوديوم - (sodium tripolyphosphate على شرائح القاروص (Seabass) المخزنة تحت MA عند 4 °م. أظهرت المعاملة الأولية بالفوسفات تأثير تعاوني (Synergistic) مع MAP على خفض معدل الفساد البكتيري والحسي واتضح ذلك من خلال انخفاض عدد الأحياء الدقيقة وقيمة مجموعة القواعد المتطايرة وقيمة مركب ثلاثي ميثيل امين مقارنة مع تلك المحفوظة تحت الظروف الاعتيادية أو تحت MAP فقط. كذلك توصل Masniyom *et al.,* (2006) إلى أن هناك تأثير تعاوني بين بايروفوسفات (Pyrophosphate) (نقع في 2 %) و MAP (80% ك ا$_2$: 10% ا$_2$: 10% ن$_2$) في تثبيط النمو البكتيري في شرائح القاروص (Seabass) من خلال خفض العدد الكلي البكتيري وأعداد بكتيريا حمض اللاكتيك مقارنة بتلك المحفوظة تحت الظروف الاعتيادية و MAP فقط وكذلك المعاملة ببايروفوسفات مع MAP خفضت عدد مستعمرات

بكتيريا *E.coli* O157 وأطالت الطور التمهيدي لبكتيريا *L.monocytogenes* التي تم تلقيحها بمستويين مختلفين لكلا النوعين من البكتيريا (103 و 105 و.ت.م/ جم) على شرائح القاروص وخزنت عند 4 °م. تحصل Goulas and Kontominas, (2007) على فترة صلاحية 33 يوما لشرائح سمك الاوراتا Sea bream المملحة بشكل خفيف والمعاملة بزيت الأوريجانو (Oregano) بنسبة 0.8% (حجم/ وزن) والمغلفة تحت MA (40% ك $ا_2$: 30% $ا_2$: 30% $ن_2$) والمخزنة تحت التبريد. وجد Siah and Ariff (2007b) أن غمس شرائح الفروج (Grouper) في محلول1% سوربات البوتاسيوم (Potassium Sorbate) لمدة دقيقة واحدة ومن ثم تغليفها باستخدام MA (80% ك $ا_2$: 20% $ن_2$) و تخزينها عند 2±2 °م أدى إلى إطالة مدة الصلاحية إلى 24 يوما مقارنة باستخدام 100 % هواء (7 أيام) وMAP فقط (18 يوما).

وجد *Phapinyo et al.,* (2007) أن نقع سرطان البحر (soft shell mud crab) في ماء معامل بالأزون (1.0 ppm) لمدة 20 دقيقة ومن ثم التغليف تحت MA (80% ك $ا_2$: 20% $ن_2$) وتحت التفريغ أدى إلى إطالة الصلاحية لمدة تزيد عن 11 يوما عند 4 ±0.5 °م لكلا النوعين من التغليف بينما المنقوعة والمغلفة في الهواء كانت الصلاحية فقط 3 أيام. أظهرت نتائج دراسة قام بها Lauzon *et al.* , (2009) أن معاملة سمك القد بمحلول ملحي من كلوريد الصوديوم (Sodium Chloride) (2.5% ±1) ومن تم تغليفها تحت MA (50% ك $ا_2$:5% $ا_2$: 45% $ن_2$) وحفظها عند درجة حرارة -2 °م أدى إلى خفض فترة الصلاحية إلى 13 يوما مقارنة بصلاحية غير المعاملة بالمحلول الملحي والمغلفة باستخدام MA والتي كانت 21 يوما في حين كانت صلاحية غير المعاملة بالمحلول الملحي والمغلفة في الهواء 14 إلى 15 يوما. توصل Günşen *et al.*, (2011) إلى أن أسماك الأنشوجة المتبلة (Marinated) (4% حمض الخليك و10% كلوريد الصوديوم لمدة 10 ساعات عند 4 °م) والمغلفة تحت MA (70% ك $ا_2$: 30% $ن_2$ و 50% ك $ا_2$: 50% $ن_2$) والمخزنة عند 2±2 °م ظلت قابلة للأكل حتى الشهر الحادي عشر من التخزين لكلا التركيبتين الغازيتين. أي: أن الأنشوجة المتبلة ممكن أن تزداد صلاحيتها أربعة أشهر إضافية باستخدام MAP وبالمقارنة كانت الأنشوجة المتبلة المغلفة بالتفريغ قابلة للأكل حتى الشهر السابع. وجد Angis and Oguzhan, (2013) أن صلاحية شرائح سمك التروت rainbow trout المعاملة بزيت الزعتر 0.8% (حجم/ وزن) والمغلفة باستخدام MA (50% ك $ا_2$: 50% $ن_2$) والمخزنة عند 4°م زادت إلى أكثر من 18 يوما مقارنة باستخدام MAP فقط الذي أعطى صلاحية 12 يوم. وجد (Kalleda *et al.,* 2013) أن غمر الجمبري الأبيض (White Shrimp) في محلول 1.25% كبريتات ثنائي الصوديوم (Sodium bisulfate) ثم تغليفه تحت ظروف MAP بتركيبة 60% ك $ا_2$: 22 % $ن_2$: 18% $ا_2$ أدى إلى إطالة العمر الخزني للجمبري لمدة 10 أيام مقارنة بالجمبري المحفوظ تحت الظروف العادية سواء المعامل بمحلول كبريتات ثنائي الصوديوم أو غير المعامل والتي ظهرت عليه علامات البقع السوداء بعد 6 و 2 أيام من التخزين على التوالي. كما تبين أنه رغم تخزين الجمبري تحت ظروف 36% ك $ا_2$: 64% $ن_2$ أو60 % ك $ا_2$: 18% $ا_2$: 22 % $ن_2$ ساهم في إبطا معدل النمو البكتيري إلا أن تخزين الجمبري تحت التركيبة الغازية المحتوية على نسبة عالية من ك $ا_2$ مع الأكسجين كانت أكثر تأثيرا وفعالية في منع ظهور الروائح الغريبة وتحلل مركبات نوكليوتيدات (Nucleotide)، وقد خلصوا إلى أن استخدام تركيز عالي من ك $ا_2$ مع أقل تركيز من $ا_2$ يعطي فترة صلاحية أفضل للجمبري الطازج.

قام Han, (2014) بدراسة تأثير معاملة شرائح أسماك السالمون (Salmon) بالنياسين (Nisin) بتركيز (400 وحدة دولية (IU)/ جم) مع التخزين عند درجة حرارة 2- 4 °م في ظروف محورة بتركيبة غازية (19% ك $ا_2$:70% $ن_2$: 11% $ا_2$ و 38% ك $ا_2$: 51% $ن_2$: 11% $ا_2$) وتحت ظروف اعتيادية ومقارنتها بنفس المعاملات دون استخدام النياسين. تبين من خلال النتائج أن ك $ا_2$ بغض النظر على نسبته في التركيبة

كان له دور في تثبيط نمو البكتيريا الهوائية والبكتيريا المتحملة للبرودة وبكتيريا حامض اللاكتيك. أما النياسين فكان له تأثير معنوي على تثبيط نمو البكتيريا الهوائية بينما لم يسجل اختلاف معنوي للتركيبتين على قيمة TVB وعلى التقييم الحسي فيما يخص المظهر والرائحة واللون رغم أن المقيمين استحسنوا قبول العينات المعاملة بالنياسين مقارنة بالمعاملات المراقبة.

وخلصت الدراسة على التأكيد على دور النياسين مع MAP في إبطاء فساد أسماك السالمون المخزنة تحت ظروف MAP، رغم أن(1990) Taylor *et al.,* درس التأثير التثبيطي للنياسين على إنتاج السم من قبل بكتيريا *C.botulinum* النوع E في بعض الأنواع من السمك المغلف باستخدام 100% ك ا$_2$ (سمك القد، Cod ؛ سمك الرنجة Herring؛ سمك الماكريل Mackerel) المخزن عند 10 ^{o}م و26 ^{o}م ولم يلاحظ أي زيادة في فترة الصلاحية، وإنتاج السم تنوع عند درجتي الحرارة في كل الأنواع المدروسة قبل أن تظهر أي علامات حسية تبين أنها غير صالحة للاستهلاك.

توصل Yesudhason *et al.,* (2014) إلى أن معاملة شرائح سمك الماكريل (Seer) بإضافة 1% (و/ح) خلات الصوديوم (Sodium acetate) وتغليفها في MA (70% ك ا$_2$: 30% ا$_2$) أطال الصلاحية إلى 28 يوم في حين المخزنة في 100% هواء كانت 8 أيام و 22 يوم لتلك المخزنة تحت MAP فقط.

لذلك معاملة الأسماك بإحدى المواد الطبيعية و/أو المواد الكيميائية قبل تغليفها باستخدام تقنية MA ومن تم تخزينها عند درجات حرارة منخفضة (≤ 3 ^{o}م) يعد من الوسائل الواعدة للمحافظة على جودة الأسماك وإطالة فترة عرضها بالأسواق.

إلا أن هذا المجال يحتاج إلى المزيد من الدراسة والبحث من حيث مدى تقبل استخدام المضافات الكيميائية في الأسماك الطازجة وفق التشريعات والمواصفات النافذة وكذلك مدى تأثيرها على خفض استخدام ك ا$_2$ في التركيبة الغازية لتفادي السلبيات الناجمة عن الإفراط في استخدام تركيزات عالية من ك ا$_2$.

الخلاصة

تقنية MAP لها دور فعال ومؤثر على تثبيط البكتيريا المسببة للفساد في الأسماك ومنتجاتها من خلال إطالة فترة الطور التمهيدي للبكتيريا مقارنة بالتغليف تحت الظروف الاعتيادية. إلا أنه لا توجد تركيبة غازية مثالية ملائمة لكل أنواع الأسماك، كما أن قدرة ك ا$_2$ تتباين في تأثيره على أنواع البكتيريا وفق اختلاف أنواع الأسماك والبيئة المتواجدة فيها. المخاوف من نمو البكتيريا الممرضة نتيجة لإطالة صلاحية الأسماك المغلفة بهذه التقنية يمكن تلافيها بإتباع الممارسات الصحية الجيدة أثناء سلسلة تداول هذا النوع من المنتجات خاصة وأن معظم أنواع البكتيريا الممرضة هي من النوع غير المستوطنة وبالتالي لا يتوقع أن تشكل خطورة صحية في الأسماك المحفوظة في جو محور عند الالتزام بشرط التخزين والعرض الجيد من حيث درجة الحرارة بصفتها غير قادرة على النمو عند درجات الحرارة المنخفضة. أشارت العديد من الدراسات أن المستوى المقبول لتركيز ك ا$_2$ في MAP المطلوب لتثبيط نمو *Cl.botulinum* يقع بين 50 و 80% مع ضرورة أن تتضمن التركيبة نسبة قليلة من الأكسجين لتساهم في تثبيط النمو وإنتاج السم من هذا النوع من البكتيريا. وجود الأكسجين في التركيبة الغازية قلل من فاعلية ك ا$_2$ في التثبيط أو التقليل من معدل أكسدة الدهون في الأسماك المحفوظة تحت MAP بسبب دور حامض الكربونيك في تحوير حديد الهيم في العضلة والذي يعتبر عامل محفز لعملية الأكسدة. نتائج الدراسات حول تأثير معاملة الأسماك بأحد المواد الطبيعية و/أو الكيميائية قبل تغليفها باستخدام تقنية MAP كانت واعدة في المحافظة على جودة الأسماك وإطالة فترة عرضها في الأسواق.

يوصى باستخدام هذه التقنية في الدول التي تتوفر لديها سلسلة تبريد ممتازة لتداول وعرض مثل هذا النوع من السلع. أما الدول التي تتميز بارتفاع درجة الحرارة وضعف أو عدم وجود بنية تحتية لسلسلة تبريد وتوزيع هذه المنتجات وانخفاض مستوى الوعي والمعرفة بمفهوم سلامة

الأغذية فلا يوصى باستخدامها تفاديا لمخاطر نمو البكتريا الممرضة و/أو المنتجة للسموم عند عدم السيطرة على درجة حرارة التداول والعرض.

الدراسات المطلوب إنجازها للإجابة عن بعض الاستفسارات والتساؤلات التي استنبطت من هذه المراجعة.

1- نوع السمك يلعب دورا في تحديد المدة اللازمة لبكتيريا *C.botulinum* للوصول إلى الجرعة المناسبة (العدد المطلوب) قبل إنتاج السم مما يستوجب دراسة كل نوع لوحده.

2- معدل أكسدة الدهون غير ثابت في كل أنواع الأسماك بسبب اختلاف نسبة الدهن وكمية الأحماض الدهنية غير المشبعة ومدى تواجد موانع الأكسدة الطبيعية من عدمه، الدراسات السابقة لم تتطرق إلى أى من هذه العوامل مما يتطلب المزيد من الدراسات حولها.

إجراء استطلاع للرأي حول مدى تقبل المستهلك لاستخدام المضافات الطبيعية و/أو الكيميائية في الأسماك الطازجة المحفوظة تحت الظروف المحورة مع دراسة إلى أي مدى تؤثر هذه المضافات على خفض نسبة ك $_{1}$ا$_{2}$ في التركيبة الغازية لتفادي السلبيات الناتجة عن استخدام التركيزات العالية من ك $_{1}$ا$_{2}$.

المراجع

حسان، ت. أ. ؛ شختور، ف. ج. ؛ أحمد، أ. ع. ؛ الملاح، م. ع. (2006). التغيرات الشهرية في تركيبة دهن سمك السردين (*Sardinella aurita*) المصاد من الشواطئ الليبية. *المجلة الليبية لعلوم البحار*. 11.: 5-24.

حسان، ت. أ. ؛ أبوحليقة، ث . أ. ؛ أحمد، أ. ع. ؛ خلف، م. ك. (2008). العمر الخزني لأسماك السردين الليبي المجمد. *المجلة الليبية لعلوم البحار*. 12 : 5-23.

حسان، ت. أ. ؛ شختور، ف. ج. ؛ أحمد، أ. ع. ؛ الملاح، م. ع. (2011). التغيرات الشهرية في تركيبة دهن سمك البوقة (*Boops boops*) خلال موسم الصيد. *مجلة العلوم الزراعية*. 16(1و2): 36-44.

شختور، ف. ج. ؛ حسان، ت. أ. ؛ أحمد، أ. ع. ؛ الملاح، م. ع.(2008). التغيرات الشهرية في تركيبة دهن سمك الشلبة (*Sarpa salpa*) المصاد من الشواطئ الليبية. المجلة الليبية لعلوم البحار.12 : 41-57.

Aberoumand , A. (2010). Investigation of Some Microbiological and Chemical Parameters Associated with Spoilage of Cod Fish. World Journal of Fish and Marine Sciences. 2 (3): 200-203.

Angis, S and Oguzhan, P. (2013). Effect of thyme essential oil and packaging treatments on chemical and microbiological properties of fresh rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during storage at refrigerator temperatures. African Journal of Microbiology Research,. 7(13) : 1136-1143.

Adams, M. R. and Moss, M. O. (2008). Food Microbiology. 2^{sd}. ed. 142-148 pp. RS.C. Cambridge.

Arashisar, S.; Hisar, O.; Kaya, M. and Yanik, T. (2004). Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorynchus mykiss*) fillets. International Journal of Food Microbiology. 97(2): 209-14.

Arritt, F. M.; Eifert, J. D.; Jahncke, M.L.; Pierson, M.D. & Williams, R.C. (2007). Effects of modified atmosphere packaging on toxin production by Clostridium botulinum in raw aquacultured summer flounder fillets (*Paralichthys dentatus*). *Journal of Food Protection*.70(5) : 1159-1164.

Aubourg, S.; Gallardo, J.; Medina, I. & Matrin, R. (1995). Fluorescent compound formation in sardine muscle

Cann, D. C.; Smith, G. L. & Houston, N.C. (1983). Further studies on marine fish stored under modified atmosphere packaging. Aberdeen: Ministry of Agriculture Fisheries and Food, Torry Research Station, pp: 32-42.

Choubert, G. & Baccaunaud, M. (2006). Colour changes of fillets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) fed astaxanthin or canthaxanthin during storage under controlled or modified atmosphere. LWT-Food Science and Technology. 39 (10): 1203-1213.

Church, N. (1998). Feature MAP fish and crustaceans-sensory enhancement. Food Science and Technology Today. 12 (2) : 73 - 82.

Church, N. (1994). Developments in modified-atmosphere packaging and related technologies, Trends in Food Science & Tech., 5: 345-352.

Church, I. J. & Parsons, A. (1995). Modified atmosphere packaging technology: a review. J. Sci. Food Agric. 67: 143 -152.

Connell, J. J. (1975). Control of fish quality 2sd. ed. 31-36, 59-76 pp. Fishing news (Books) Ltd. England.

Cyprian, O.;. Lauzon, H. L.; Johannsson, R.; Sveinsdottir, K.; Arason, S. & Martinsdottir, E. (2013). Shelf life of air and modified atmosphere-packaged fresh tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets stored under chilled and superchilled conditions. Food Science & Nutrition, 1(2): 130–140.

Dalgaard, P.; Gram, L. & Huss, H. H. (1993). Spoilage and shelf life of cod fillets packed in vacuum or modified atmospheres. Int. J. Food Microbiol. 19: 283-294.

Dalgaard, P. (1995a). Modelling of microbial activity and prediction of shelf life for packed fresh fish. during refrigeration and frozen storage. *Current Status and Future Trends*. 3: 579- 583.

Badee, A. Z. M.; El-Akel, A. T. & Abuhlega, T. A. (2013). Utilization of some essential oils to extend the shelf - life of coated semi fried nile perch fish fillets during cold storage. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(6): 3508-3519.

Banja, B. A. M. (2002). Shelf life trial on cod (*Gadus morhua* L.) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.) stored on ice around 0°C. UNU-Fisheries Training Programme. Final Project 2002. www.unuftp.is/static/fellows/document/bambaprf.pdf. Access Date: 27/10/2015.

Bingol, E. B. & Ergun, O. (2011). Effects of modified atmosphere (MAP) on the microbiological quality and shelf life of ostrich meat. *Meat Science*. 88 (4): 774- 785.

Blakistone, B. A. (1998). Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Foods. 1-9 pp. 2nd ed. Chapman & Hall. New York.

Boskou, G. & Debevere, J. (2000). Shelf-life extension of cod fillets with acetate buffer spray prior to packaging under modified atmospheres. Food Additives and Contaminants. 17: 17-25.

Brody, A. L. (1989). Controlled/ Modified Atmosphere/ Vacuum Packaging of Meat, Controlled/ Modified Atmosphere/ Vacuum Packaging of Foods, ed Brody A. L., Food and Nutrition Press, Trumbull, CT, USA, pp. 17-38.

CAC/RCP 52-2003 (revision 2008). Code of practice for fish and fishery products. WHO/ FAO. Rome. ISBN: 978 – 92 – 5 -105914 - 2.

Economou, T.; Pournis, N.; Ntzimani, A. & Savvaidis, I. N. (2009). Nisin–EDTA treatments and modified atmosphere packaging to increase fresh chicken meat shelf-life. Food Chemistry,114 (4) : 1470-1476.

Farber, J. M. (1991). Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology-a review. J. Food Protection, 54 (1) : 58 - 70.

FDA.2001. Fish and fishery products hazards and controls quidance,third edition.US Food and Drug Administration Center for food Safety and Applied Nutrition.Office of sea food. Rockville, Maryland, USA.

Gimenez, B.; Roncales, P. & Beltran, J. (2004). The effects of natural antioxidants and lighting conditions on the quality characteristics of gilt-head sea bream fillets (*Sparus aurata*) packaged in a modified atmosphere. J. Sci. Food Agric. 84: 1053 - 1060.

Gopakumar, K. (1993). Fish Packaging Technology (materials and methods).133, 136 pp.1st ed. Ashok Kumar Mitall. New Delhi.

Goulas, A. E. & Kontominas, M. G. (2007). Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. Food Chemistry.100 (1): 287-296.

Graham, G. (1977). Freezing in fisheries. FAO Fish. Tech. Pap., (167): 11-14, 72-73, 78-79, 99-101, 117- 120.

Gram,L. & Huss, H. H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. International Journal of Food Microbiology. 33 (1): 121 - 137.

Günşen, U , Özcan, A. & Aydın, A. (2011). Determination of some quality criteria of cold storaged marinated anchovy under vacuum and modified atmosphere International Journal of Food Microbiology, 26: 305-317.

Dalgaard, P. (1995b). The effect of anaerobic conditions and carbon dioxide. In Quality and Quality Changes in Fresh Fish ed. Huss, H. H. Technical Paper no. 348,pp. 78-83. Rome: FAO Fisheries.

Dalgaard,P.; Mejlholm, O.; Christiansen, T. J. & Huss, H. H. (1997). Importance of *Photobacterium phosphoreum* in relation to spoilage of modified atmosphere-packed fish products. Letters in Applied Microbiology. 24:373-378.

Dalgaard, P.; Munoz, L. G. & Mejiholm, O. (1998). Specific inhibition of *Photobacterium phosphoreum* extends the shelf life of modified-atmospherepacked cod fillets. Journal of Food Protection. 61:1191-1194.

Daniels, J. A.; Krishnamurthy, R. & Rizvi, S. S. H. (1985). A review of effects of CO_2 on microbial growth and food quality. *J.* Food Prot, 48: 32-537.

Davies, A. R. (1995). Advances in modified-atmosphere packaging. .304-320pp. In G. W. Gould (ed.). New Methods of Food Preservation. Blackwell Scientific Publications. London.

Davis, H. K. (1993). Modified atmosphere packing of fish. In R. T. Parry (Ed.), Principles and applications of modified atmosphere packaging of food. 189–228 pp. Blackie Academic and Professional. London.

Debevere, J. & Boskou, G. (1996). Effect of modified atmosphere packaging on the TVB/TMA-producing microflora of cod fillet. International Journal of Food Microbiology. 31: 221-229.

Dixon, N. M. & Kell, D. B. (1989). The inhibition by CO_2 of the growth and metabolism of micro-organisms. Journal of Applied Bacteriology. 67:109-136.

Huis in't Veld,J. H. J.(1996). Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. International Journal of Food Microbiology. 33(1) : 1–18.

Huss, H .H. & Gram, L. (2002). Pathogenic bacteria. In : Assessment and management of sea food safety and quality. FAO Fisheries technical paper 444. FAO. Rome.

Huss, H. H. (1995). Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical paper – 343. Fisheries & Aquaculture Dept. FAO. Rome. www.Fao.org/docrep/v71800E0.0.HTM. Access date: 15 /7/2015.

Iwamoto M.; Yamanaka, H.; Abe, H.; Ushio, H,; Watabe, S. and Hashimoto, K. (1988). ATP and creatine phosphate breakdown in spiked plaice muscle during storage and activities of some enzymes ivolved.. J. Fd. Sci. 53 (6): 1662 - 1665.

Jay, J. M.; Loessner, M. J.; and Golden, D. A. (2005). Modern Food Microbiology 7th edition. Springer Science + Business Media. New York, NY.

Jezek, F. & Buchtova, H. (2007). Physical and chemical changes in fresh chilled muscle tissue of common carp (*Cyprinus carpio* L.) packed in a modified atmosphere. Acta Veterinaria Brno. 76: S83-100.

Jezek, F. & Buchtova, H. (2012). Effect of modified atmosphere packaging on the course of physical and chemical changes in chilled muscle tissue of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*, V.). Polish Journal of Veterinary Sciences. 15(3): 439-445.

Kalleda, R. K.; Han, I. Y.; Toler, J. E.; Chen, F.; Kim, H. J. & Dawson,P. L. (2013). Shelf life extension of shrimp (white) using modified atmosphere packaging. Pol. J. conditions. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 11: 233 - 242 .

Han Dong. (2014). Combining modified atmosphere packaging and nisin to extend the shelf life of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Msc Thesis. Clemson University. http:// tiger prints. Clemson. Edullall.thesis. Access date 11/8/2015.

Hassan, T. E. (1984). Off flavor in fish. Bull. Mar. Res. Centre. 5: 117- 133. Tripoli. Libya.

Hendricks, M. T. & Hotchkiss, J. H. (1997). Effect of carbon dioxide on the growth of *Pseudonomas fluoresens* and *Listeria monocytogenes* in aerobic atmosphere. Journal of Food Protection. 60, 1548 - 1552.

Herzig, I. & Suchý, P. (2006). Harmful and toxic stuffs in fodder of animal origin (In Czech). Institute of Animal Science, Prague, http://www.vuzv.cz/vyziva/studie13.doc, Access date 4/ 2/ 2014.

Hotchkiss, J. H. (1988). Experimental approaches to determine the safety of food packaged in modified atmosphere. Food Technology. 42:55-64.

Hovda, M. B.; Sivertsvik, M. Lunestad, B. T. Lorentzen, G. & Rosnes, J. T. (2007).Characterisation of the dominant bacterial population in modified atmosphere packaged farmed halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) based on 16S rDNA-DGGE. Food Microbiology, 24(4): 362-371.

Hudecová, K.; Buchtová, H. & Steinhauserová, I. (2010). The Effects of modified atmosphere packaging on the microbiological properties of fresh common carp (*Cyprinus carpio* L.). ACTA VET. BRNO. 79: 93–100.

Masniyom,P.; Benjakul, S. & Visessanguan, W. (2006). Synergistic antimicrobial effect of pyrophosphate on Listeria monocytogenes and Escherichia coli O157 in modified atmosphere packaged and refrigerated seabass slices. *LWT*. 39: 302 – 307.

Masniyom, P. (2011). Deterioration and shelf-life extension of fish and fishery products by modified atmosphere packaging. Songklanakarin J. Sci. Technol. 33 (2): 181-192.

Masniyom, p.; Benjama, O. & Maneesri, J. (2013). Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on quality changes of refrigerated tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. International Food Research Journal, 20(3): 1401-1408 .

Mausse, E. C. J. (2000). Shelf life of red fish stored in ice and modified atmosphere (MA) and some aspects in the development of a quality index method (QIM) scheme for red fish stored in MA. UNU – Fisheries training programme. www.unuftp.is/ static/ fellows /document /estela 3. pdf. Access Date:27/10/2015.

Mjelde. A. & Urdahl, N. (1974). Latest results in technology of preserving and handling small pelagic fish for food and feed. In "Fishery Products". 74-76 pp. R. Kreuzer (ed.). Fishing news (Books) Ltd. England.

Nawar, W.W. (1985). Food Chemistry. 140 – 213 pp. ed. O. R. Fennema, Marcel Dekker, New York.

Ogrydziak, D. M. & Brown, W. D. (1982). Temperature effects in modified-atmosphere storage of seafoods. Food Technology. 36: 86 - 96.

Ohlsson, T. (1994). Minimal processing-preservation methods of the future : an overview. Trends in Food Science and Technology. 5(11) : 341 - 344.

Food Nutr. Sci. 36 (2): 87-94. http:// journal.Pan.olsztyn.pl. Access date 11/8/2015.

Kykkidou, S.; Giatrakou, V.; Papavergou, A;. Kontominas, M. G. & Savvaidis, I. N. (2009). Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4°C. Food Chemistry,115, 169-175.

Lauzon, H. L.; Magnússon, H.; Sveinsdóttir, K.; Gudjónsdóttir, M. & Martinsdóttir, E. (2009). Effect of brining, modified atmosphere packaging, and superchilling on the shelf life of Cod (*Gadus morhua*) loins. J. Food Sci. 74(6): M 258 - 67.

Liston, J. & Matches, J. R. (1976). Fish, crustaceans, and precooked seafoods. In "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods". 507-520pp. M. L. Speck (ed.) American Public Health Association (APHA), Washington, DC.

López-Gálvez, D. E.; Hoz, L. de la & Ordóñez, J. A. (1995). Effect of carbon dioxide and oxygen enriched atmospheres on microbiological and chemical changes in refrigerated tuna (*Thunnus alaluga*) steaks. Journal Agricultural and Food Chemistry. 43 : 483-490.

Masniyom, P., Benjakul, S. & Visessanguan, W. (2002). Shelf-life extension of refrigerated seabass slices under modified atmosphere packaging. Journal of the Science of Food and Agriculture. 82(8): 873 - 880.

Masniyom, P.; Benjakul, S. & Visessanguan, W. (2005). Combination effect of phosphate and modified atmosphere on quality and shelf-life extension of refrigerated seabass slices. Lwt - Food Science and Technology. 38(7) : 745 -756.

packaging of food. 1–17 pp. Blackie Academic and Professional. Glasgow.

Pastoriza, L.; Sampedro, G.; Herrera, J. J. & Cabo, L. M. (1996a). Effect of carbon dioxide atmosphere on microbial growth and quality of salmon slices. Journal of the Science of Food and Agriculture, 72: 348 - 352.

Pastoriza, L.; Sampedro, G.; Herrera, J. J. & Cabo, L. M. (1996b). Effect of modified atmosphere on shelf life of iced fresh hake slices. Journal of the Science of Food and Agriculture. 71: 541 - 547.

Peck, M. W.; Good burn, K. E.; Betts, R. P. & Stringer, S. C. R.(2008). Assessment of the potential for growth and neurotoxin formation by non-proteolytic *Clostridium botulinum* in short shelf-life commercial foods designed to be stored chilled. Trend in Food Science and Technology,19, 207 - 216.

Pereira de Abreu, D.; Paseiro-Losada, P.; Maroto, J. & Cruz, J. M. (2010). Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants from barley husks that retard lipid damage in frozen Atlantic Salmon (*Salmo salar*). Food Research International, 43: 1277-1282.

Phapinyo, N.; Chaowalit, T.; Tanpipattanakul, A. Sooknet, K.; Kumthong, A.; Worawattanamateekul, W. & Smith, J. P. (2007). Shelf-life Extension of Refrigerated Soft Shell Mud Crab (Scylla serrata Forskal) by Ozone Water and Storage under Air and Modified Atmosphere Packaging . Kasetsart J. (Nat. Sci.), 41: 539 – 547 .

Phillips, C. A. (1996). Review: Modified atmosphere packaging and its effects on the microbiological quality and safety of produce. *International Journal of Food Science and Technology.* 31, 463-468.

Ordónez, J. A.; Pablo, B.; Castro, B. F.; Asensio, M. A. & Sanz, B. (1991). Selected chemical and microbiological changes in refrigerated pork stored in carbon dioxide and oxygen enriched atmosphere. J. Agric. Food Chem., 39: 668 - 672.

Ordóñez, J. A.; López-Gálvez, D. E.; Fernández, M.; Hierro, E. & Hoz, L. D. (2000). Microbial and physicochemical modifications of hake (*Merluccius merluccius*) steaks stored under carbon dioxide enriched atmospheres. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80: 1831-1840.

Otwell, W. S.; Kristinsson, H. G. & Balaban, M. O. (2006). Modified Atmospheric Processing and Packaging of Fish. 1st ed. 144pp. Blackwell Publishing. USA.

Özoğul, F.; Polat, A. & Özoğul, Y. (2004). The effect of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). Food Chemistry. 85: 49 - 57.

Özoğul, F.; Özoğul, Y. & Kuley, E. (2007). Nucleotide degradation in sardine (*Sardina pilchardus*) stored in different storage condition at 4°C. Journal of FisheriesSciences.com.1(1):13-19. DOI: 10.3153/ jfscom. 2007002.

Pantazi, D.; Papavergou, A.; Pournis, N.; Kontominas, M. G. & Savvaidis, I. N. (2008). Shelf-life of chilled fresh Mediterranean swordfish (*Xiphias gladius*) stored under various packaging conditions: Microbiological, biochemical and sensory attributes. Food Microbiol. 25: 136 - 143.

Parry, R. T. (1993). Introduction. In R. T. Parry (Ed.), Principles and application of modified atmosphere

Reddy, N. R.; Paradis, A.; Roman, M. G.; Solomon, H. M. & Rhodehamel, E. J. (1997c). Toxin development by *Clostridium botulinum* in modified atmosphere packaged fresh Tilapia fillets during storage. J. Food Sci. 61(3) : 632 – 635.

Robertson, G. L. (1993). Food Packaging (principles and practice). 463-466pp. Marcel Dekker, Inc. New York, Basel and Hong Kong.

Rutherford, T. J.; Marshell, D. L.; Andrews, L. S.; Coggins, P. C.; Schilling, M.W. & Gerard, P. (2007). Combined effect of packaging atmosphere and storage temperature on growth of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat shrimp. Food Microbiology. 24, 703-710.

Sen, P. D. (2005). Advances in Fish Processing Technology. 203-207 pp. Allied Publishers Pvt. Ltd. New Delhi.

Shahan, K. M. (1973). Enzymic aspects of nutritional flavour and sanitary qualities of fish products. In "Microbial Safety of Fishery products" 137-141 pp. C.O. Chichester and H.D. Graham (eds.). Academic Press INC., London, United Kingdom.

Sharp Jr., W. F.; Norbach, J. P. & Stuiber, D. A. (1986). Using a new measure to define shelf life of fresh whitefish. Journal Food Science. 51, 936 - 939.

Siah, W. M. & Ariff, W.M. (2007a). Shelf life of modified atmosphere packaged fresh grouper (Epinephelus sp.) fillets. Asian Fisheries Science ,20 (3/4): 359.

Siah, W. M. & Ariff, W. M. (2007b). Effect of modified atmosphere packaging and potassium sorbate on chemical, microbiological and sensorial properties of grouper (Epinephelus sp.) fillets. J. Trop. Agric. and Fd. Sc. 35(2) : 237–243.

Pournis,N.; Paparergou, A.; Badeka, A.; Kontominas, M. G. & Sarraidis, I. N.(2005). Shelf-life extension of refrigerated Mediterranean mullet (*Mullus surmuletus*) using modified atmosphere packaging. J. Food Prot., 66(10): 2201-7.

Ravi Sankar, C.; Lalitha, K.; Jose, L.; Manju, S. & Gopal, T. (2008). Effect of packaging atmosphere on the microbial attributes of pearlspot (Etroplus suratensis Bloch) stored at 0 - 2°C. Food Microbiology, 25 (3): 518 - 528.

Reddy, N. R.; Armstrong, D. J.; Rhodehamel, E. J. & Kauter, D. A. (1992). Shelf-life extension of haddock in carbon dioxide-oxygen atmospheres with and without potassium sorbate. Journal of Food Quality, 5: 285 – 300.

Reddy, N. R.; Villanueva, M. & Kautter, D. A. (1995). Shelf life of modified-atmosphere-packaged fresh tilapia fillets stored under refrigeration and temperature-abuse conditions. Journal of Food Protection. 58: 908 - 914.

Reddy N. R.; Solomon, H. M.; Yep, H.; Roman, M. G. & Rhodehamel, E. J. (1997a). Shelf life and toxin development by *Clostridium botulinum* during storage of modified-atmosphere-packaged fresh aquacultured salmon fillets. J. Food Sci. 60(9): 1055 - 1063.

Reddy, N. R.; Roman, M. G.; Villanueva, M.; Solomon, H. M.; Kauter, D. A. & Rhodehamel, E. J. (1997b). Shelf life and *Clostridium botulinum* toxin development during storage of modified atmosphere packaged fresh catfish fillets. Journal of Food Science, 62, 878 - 884.

Torrieri, E.; Cavella, S.; Villani, F. & Masi, P. (2006). Influence of modified atmosphere packaging on the chilled shelf life of gutted farmed bass (*Dicentrarchus labrax*). Journal of Food Engineering. 77(4): 1078 - 1089.

Velu, S.; Abu Bakar, F.; Mahyudin, N. A.; Saari, N. & Zaman, M. Z. (2013). Effect of modified atmosphere packaging on microbial flora changes in fishery products. International Food Research Journal. 20 (1): 17- 26.

Villemure, G.; Simard, R. F. & Picard, G. (1986). Bulk storage of cod fillets and gutted cod (*Gadus morhua*) under carbon dioxide atmosphere. Journal of Food Science, 51, 317- 320.

Wang, T.; Sveinsdóttir, K.; Magnússon, H. & Martinsdóttir, E. (2009). Combined Application of Modified Atmosphere Packaging and Superchilled Storage to Extend the Shelf Life of Fresh Cod (*Gadus morhua*) Loins. Journal of Food Science. 73: (1) S11–S19.

Wolfe, S. K. (1980). Use of CO and CO2 enriched atmospheres for meats, fish and produce. Food Technology. 34: 55 - 58.

Yesudhason, P.; Lalitha ,K. V.; Srinivasa Gopal, T. K. & Ravishankar, C. N. (2014). Retention of shelf life and microbial quality of seer fish stored in modified atmosphere packaging and sodium acetate pretreatment. *Food Packaging and Shelf Life*. 1(2):123 –130.

Siang, N. & Tsukuda, N. (1989). Laboratory tests and equipment for quality assessment of chilled and frozen fish. INFOFISH International. 6: 24 -27.

Sivertsvik, M.; Jeksrud, W. K. & Rosnes, J. T. (2002). A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products-significance of microbial growth, activities and safety. International Journal of Food Science and Technology. 37 (2): 107-127.

Soccol, M. C. H.; & Oetterer, M. (2003). Use of modified atmosphere in seafood preservation. Braz. Arch. Biol. Technol. 46: 569 - 580.

Stamatis, N. & Arkoudelos, J. (2007). Quality assessment of *Scomber colias japonicus* under modified atmosphere and vacuum packaging. Food Control. 18(4): 292- 300.

Tassou, C. C.; Drosinos, E. H. & Nychas, G. J. E. (1995). Inhibition of resident microbial flora and pathogen inocula on cold fresh fish fillets in olive oil, oregano, and lemon juice under modified atmosphere or air. Journal of Food Protection. 59(1): 31 - 34.

Taylor, S. L.; Cann, D.D. & Welch, B. J. (1990). Antibotulinal properties of nisin in fresh fish packaged in an atmosphere of carbon dioxide. Journal of Food Protection, 53: 953 - 957.

Thanonkaew, A.; Benjakul, S. & Visessanguan, W. (2006). Chemical composition and thermal property of cuttle fish (*Sepia pharaonis*) muscle. J. Food Compos. Anal. 19 (2 - 3) : 127- 133.

THE LIBYAN JOURNAL OF AGRICULTURE
Volume (21): No. (1-2): 2016: 37-64

Review Article

Modified atmosphere packaging of Fish

Tawfik M. Hassan*, Thuraya A. Abuhlega

Food Sciences and Technology Dept., Faculty of Agriculture, University of Tripoli

Abstract

Fresh fish and fishery products are fast perishable foods. They spoil by microbial, chemical and autolytic changes. Therefore, it is recommended to handle fish quickly after catching and keep them at low temperature in order to reduce undesirable changes. Icing or refrigeration has limited effect on extending Shelf life of fresh fish. Therefore, specialist start thinking of adopting an idea of altering the atmosphere around the fish in a package by one or a mixture of gases to reduce undesirable changes in fish that leads to spoilage and shorten the shelf life. This technique is called modified atmosphere packaging (MAP). MAP was used widely for fishery products and specifically for fresh fish to retard microorganisms growth and enzymatic activities. CO_2, O_2, and N_2 are the common gases used in MAP for fish and fishery products. Results from previous studies indicated that there is no unique gas formula suitable for all fish species, but it varied depending on fish species, packaging materials and storage temperature. The results of those studies also showed that the MAP retarded growth of anaerobic and facultative anaerobic microorganisms by extending their lag phase growth; meanwhile, there is a risk when prolonging the shelf life of fish stored under MAP might provide chance for growth of pathogenic anaerobic bacteria such as *Clostridium botulinum*. To avoid such a risk, it is necessary to package fish in modified atmosphere containing >2% O_2 and keep them at temperature <3.3 C°. For fatty fish species it was found that using 100% CO_2 gives lower TBA value compared to gas mixture containing oxygen. It was reported that treating fish and fishery products before packaging in MA by one of the following natural and/or chemical substances such as Ozone, Orgeano, pyrophosphate, triphosphate, acetic acid, ascorbic acid, sodium acetate, olive oil, thyme oil, potassium sorbate, lemon juice, trisodium phosphate, disodium sulfate, sodium chloride, rosemary extract, and nisin helped in prolonging the shelf life of fish stored under MAP.

The objective of this review was to demonstrate the impact of MAP and the combination of several natural and/or chemical additives on spoilage microorganisms, pathogenic bacteria and rancidity on extending shelf life of fish and fishery products. Moreover, discussing safety and quality concerns raised about using MAP for fish and fishery products, and extracting conclusions and recommendations, whether or not, concerning the

***Corresponding Author: Tawfik M. Hassan, Food Sci. and Tech. Dept., Faculty of Agriculture, University of Tripoli.**

Phone.+218925037007 . E-mail: t.hassan@ uot.edu.ly

Received: 26/1/2016 **Accepted: 25/7/2016**

possibility of continuing adoption of MAP for fish and fishery products, and what further studies needed to answer questions come out from this review.

Key words: Fish, Fish spoilage, Modified atmosphere packaging, Fat oxidation, Gas mixture.