مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال بیست و یکم، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۵، صفحات ۸۳-۶۵

ارزیابی خصوصیات عملکردی سوپرناتانت پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و استفاده از آن در بهبود ماندگاری فیله سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*)

فروغ جعفرزاده حریسی[۱]، لاله رومیانی[۱]، مژده چله مال دزفول نژاد[۱]، مهران جواهری بابلی[۱]، ابوالفضل عسکری ساری[۱]

۱-گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

نویسنده مسئول: پست الکترونیکی: Laleh.roomiani@iau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۴/۳۰

چکیده

سابقه و هدف: هدف از انجام این تحقیق استخراج سوپرناتانت پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ارزیابی خصوصیات عملکردی آن در آزمایشگاه و سپس کاربرد آن در فیله سی‌باس آسیایی، جهت تأثیر آن بر ماندگاری طی نگهداری در یخچال بود.

مواد و روش‌ها: ترکیب شیمیایی، فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی پست‌بیوتیک اندازه‌گیری گردید. نمونه‌های فیله ماهی بدون پوشش و پوشش‌دار (۰/۴، ۰/۸، ۱/۲ و ۱/۶ درصد پست‌بیوتیک) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد از نظر تغییرات میکروبی، شیمیایی، آمین‌های بیوژنیک، کیفیت بافت، خصوصیات رنگ و ویژگی‌های حسی ارزیابی شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد اسیدهای آلی، به ویژه اسیدلاکتیک (۰/۳۳ ± ۱۸/۰۴ میلی‌گرم بر گرم) به عنوان اجزای کلیدی در پست‌بیوتیک شناسایی شدند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی پست‌بیوتیک با افزایش دوز بیشتر شد و فعالیت ضدمیکروبی آن وابسته به زمان انکوباسیون بود. نمونه‌های تیمارشده با پوشش ۱/۲ و ۱/۶ درصد پست‌بیوتیک، بالاترین سطح حفاظت فیزیکوشیمیایی و حداکثر میزان مهار میکروبی ($p<0/05$) را در مقایسه با نمونه‌های کنترل در طول دوره نگهداری نشان دادند.

نتیجه‌گیری: پست‌بیوتیک بدست‌آمده از پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به‌عنوان یک افزودنی ایمن در فیله ماهی مناسب بود، با این حال، آزمایش‌های تکمیلی در مورد ایمنی کلی پست‌بیوتیک جهت افزودن در غذاهای فرآسودمند، مورد نیاز است. تیمار ۱/۶ درصد پست‌بیوتیک توانست شش روز بیشتر از تیمار کنترل ماندگاری فیله ماهیان را افزایش دهد.

واژگان کلیدی: پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، خصوصیات‌عملکردی، ماندگاری، سی‌باس آسیایی

پیام‌های اصلی

- خصوصیات عملکردی پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* وابسته به دوز بود.
- بر اساس نتایج میکروبی، شیمیایی و حسی، ماندگاری فیله‌های سی‌باس آسیایی تحت‌تاثیر تیمار ۱/۶ پست‌بیوتیک شش روز افزایش نشان داد.
- یافته‌ها نشان می‌دهد که پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می‌تواند یک کاندیدای امیدوارکننده جهت استفاده در غذاهای فرآسودمند است.

• مقدمه

واژه «نگهداری‌زیستی» به استفاده از عوامل بیولوژیکی مانند میکروارگانیسم‌ها و متابولیت‌های آنها، فاژها، آنزیم‌ها یا مواد ضدمیکروبی طبیعی برای محافظت و افزایش ماندگاری مواد غذایی فاسدشدنی مانند گوشت و غذاهای دریایی اشاره دارد (۱). غلظت و زیست‌پذیری پروبیوتیک‌ها از عوامل حیاتی در تضمین اثرات مفید آنها بر سلامت مصرف‌کننده از طریق تعدیل

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

میکروبیوتای روده است و دوزهای مؤثر آنها معمولاً CFU/mL ۱۰۸-۱۰۱۱ گزارش شده است (۲). با این حال، دستیابی به این غلظت‌ها به ویژه در غذاهای فرآوری‌شده، که در آنها زیست‌پذیری میکروبی به خطر می‌افتد، چالش برانگیز است (۳). برای غلبه بر این محدودیت، تحقیقات اخیر بر پست‌بیوتیک‌ها متمرکز شده است که به عنوان میکروارگانیسم‌های بی‌جان و یا اجزای آنها تعریف می‌شوند که ممکن است بدون تأثیر بر زیست‌پذیری سلول، فواید سلامتی داشته باشند (۴). پست‌بیوتیک‌ها شامل متابولیت‌های زیست‌فعال مانند ویتامین‌ها، اسیدهای‌آلی و اسیدهای‌چرب با زنجیره‌کوتاه (SCFAs) هستند (۵). پست‌بیوتیک‌ها فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدمیکروبی و ضدتکثیری را هم در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) و هم در شرایط درون‌تنی (in vivo) نشان داده‌اند که نسبت به پروبیوتیک‌ها مزایایی از جمله افزایش پایداری و کاهش نگرانی‌های ایمنی را دارند (۶-۸). استفاده از پست‌بیوتیک‌ها در تهیه غذاهایی با خواص عملکردی بالقوه بررسی شده است، زیرا ممکن است بتوانند سیستم ایمنی میزبان را تعدیل کنند. پست‌بیوتیک‌ها در محصولات مختلفی مانند آبمیوه، شیک، اسنک‌ها، ماست و شیر گنجانده شده‌اند که با بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و بهبود ویژگی‌های حسی مرتبط هستند (۹). شیرهای غنی‌شده حاوی پست‌بیوتیک‌های *بیفیدوباکتریوم‌بروی* و *استرپتوکوکوس‌ترموفیلوس* به دلیل پتانسیل آنها در کاهش عدم تحمل غذایی و کاهش بروز واکنش‌های آلرژیک تنفسی در کودکان خردسال مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۱۰). با این حال، در محصولات گوشتی، استفاده از پست‌بیوتیک‌ها عمدتاً به نقش آنها به عنوان عوامل ضدمیکروبی یا نگهدارنده محدود شده است (۱۱). تحقیقات در مورد چگونگی افزایش خواص تغذیه‌ای یا تکنولوژیکی محصولات گوشتی، بخصوص آبزیان، توسط پست‌بیوتیک‌ها همچنان کمیاب است. در این زمینه، ترکیب پست‌بیوتیک‌ها یک استراتژی امیدوارکننده برای نوآوری است. اگرچه مطالعات قبلی مزایای بالقوه سلامتی را گزارش کرده‌اند، اما این یافته‌ها هنوز نیاز به اعتبارسنجی درون‌تنی دارند. در صنعت آبزی‌پروری و شیلات استفاده از پست‌بیوتیک‌ها مطالعه شده است و در جیره غذایی ماهیان و میگو بکار گرفته شده است که نتایج مطالعات بر رشد، بقا، عملکرد مصرف غذا، پاسخ‌های متابولیکی، فیزیولوژی گوارش، میکروبیوتای روده و بیان ژن آبزیان مثبت بوده است (۱۲-۱۴). اما مطالعات بسیار محدودی در استفاده از پست‌بیوتیک‌ها برای بهبود کیفیت و ماندگاری فیله آبزیان انجام شده است. بررسی اثرات موسیلاژ ریحان (*Ocimum basilicum* L.) و فیلم‌های خوراکی بر پایه نانوفیبرسلولز به همراه پست‌بیوتیک بر ماندگاری فیله ماهی سی‌باس دهان‌بزرگ (*Micropterus salmoides*) مطالعه گردید. تیمار حاوی فیلم موسیلاژ دانه‌ریحان، نانوفیبرسلولز و ۱/۵ درصد پست‌بیوتیک *لیموسی‌لاکتوباسیلوس‌فرمنتوم* عملکرد استثنایی در حفظ کیفیت مطلوب فیله‌های ماهی در طول دوره نگهداری نشان داد (۱۵). ارزیابی اثربخشی سوپرناتانت اسیدلاکتیک در افزایش ماندگاری میگوی وانامی در یخچال ارزیابی گردید. سوپرناتانت *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* اثربخشی بیشتری در کاهش باکتری‌های سرمادوست، سودوموناس، بازهای نیتروژن فرارکل، تری‌متیل‌آمین و اسیدباربیتوریک در مقایسه با سوپرناتانت *لاکتوباسیلوس‌رامنوسوس* نشان داد (۱۶).

مطالعه Torres-Ochoa و همکاران نشان داد که پست‌بیوتیک‌های تولید شده از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در سوسیس‌های پخته شده توانستند خواص فیزیکوشیمیایی و حسی سوسیس‌های پخته شده را بهبود بخشند (۱۱). ایجاد یک پوشش خوراکی آلژینات‌سدیم همراه با پست‌بیوتیک در جهت بهبود کیفیت فیزیکوشیمیایی و میکروبیولوژیکی فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان توسط Hua و همکاران بررسی شد و نتایج نشان داد که این پوشش به طور قابل‌توجهی از تکثیر باکتری‌های سرمادوست، سودوموناس، انتروباکتریاسه و همچنین *لیستریامونوسیتوژنز* در فیله‌های ماهی در مدت نگهداری در یخچال به مدت ۹ روز، جلوگیری کرد (۱۷). در مطالعه دیگر پوشش موسیلاژ بذرکتان غنی‌شده با پست‌بیوتیک توانست راه حلی برای بهبود کیفیت، افزایش میزان فنل، فلاوونوئید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، آنتوسیانین کل و ماندگاری توت‌فرنگی باشد (۱۸). بهبود فعالیت‌های زیستی و پتانسیل تعدیل سیستم ایمنی پست‌بیوتیک‌های مشتق‌شده از *باسیلوس‌سابتیلیس* و *باسیلوس‌آمیلولیکفاسینس* در آبزی‌پروری در مطالعه Kumar و همکاران و Jafarzadeh و همکاران مطالعه شد (۱۹،۲۰). در راستای مطالب ذکرشده، هدف از انجام این تحقیق، ارزیابی خصوصیات عملکردی پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* در آزمایشگاه و سپس تعمیم آن به یک مدل غذایی جهت بهبود پوشش خوراکی حاوی پست‌بیوتیک برای فیله‌های تازه سی‌باس‌آسیایی و ارزیابی تأثیر پوشش بر کیفیت شیمیایی، میکروبیولوژیکی و حسی فیله‌های ماهی طی ۱۵ روز مطالعه در دمای یخچال بود.

• مواد و روش‌ها

تهیه سویه باکتری و تولید سوپرناتانت پست‌بیوتیک

لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس (PTCC 1643) از کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی سازمان پژوهش‌های علمی و

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

صنعتی ایران تهیه گردید. کشت باکتری (۱ درصد حجم/ حجم) در محیط MRS انجام شد و سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۷ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. برای حفظ و احیای کشت باکتریایی، یک کشت ذخیره در محیط کشت MRS حاوی ۱۵ درصد گلیسرول ایجاد شد که امکان نگهداری طولانی‌مدت در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد را فراهم کند. برای تهیه تلقیح باکتریایی، کشت‌های فعال با محلول استریل ۸۵ درصد کلریدسدیم (وزن/ حجم) شسته شده و به غلظت 1×10^8 cfu/mL رسید. سپس محیط کشت MRS (حاوی ۲۰ درصد ساکارز) با ۱۰ درصد (حجم/ حجم) از سلول‌های باکتریایی فعال‌شده تلقیح و به مدت ۱۰ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از انکوباسیون، کشت به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و محلول رویی جمع‌آوری شد. محلول رویی از طریق غشای متخلخل (ساخته‌شده از پلی‌تترافلوئوراتیلن) ۰/۲۲ میکرومتر فیلتر شد تا غلظت‌های مختلف پست‌بیوتیک به دست آید (۳).

ترکیب شیمیایی پست‌بیوتیک

ترکیب شیمیایی پست‌بیوتیک با استفاده از کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) تعیین شد. به طور خاص، از دستگاه کروماتوگرافی گازی Agilent 7890A که با طیف‌سنج جرمی 5975A جفت شده بود، استفاده شد. کروماتوگرافی گازی با استفاده از یک ستون مویین HP-5 MS (قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، طول ۳۰ متر و ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر) انجام شد. برنامه دمایی شامل ۳ دقیقه اولیه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد و سپس به ازای هر دقیقه ۸ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت تا به دمای نهایی ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد رسید و در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه در این دما نگه داشته شد. شناسایی اسیدهای آلی بر اساس زمان‌های بازداری و آنالیز طیف جرمی انجام و با استفاده از کتابخانه NIST 08 MS تأیید شد. آنالیز کمی بر اساس یک منحنی کالیبراسیون هشت نقطه‌ای انجام شد که خطی بودن را در محدوده ۲ تا ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نشان می‌داد ($r = 0.997$) (۲۱).

خصوصیات عملکردی پست‌بیوتیک در *invitro*

سینتیک رشد آنتاگونیستی

ارزیابی پتانسیل آنتاگونیستی پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* علیه سویه بیماری‌زای *ویبریوآلجینولایتیکوس* (MW916322.1 -تهیه‌شده از پژوهشکده آبزی‌پروری آب‌های جنوب کشور) به کار گرفته شد. کشت شبانه باکتری (۱۰ میکرولیتر؛ OD_{600} برابر با ۰/۲۵) به ۱ میلی‌لیتر محیط کشت مغذی استریل، به همراه ۲۰۰ میکرولیتر از پست‌بیوتیک، به نسبت ۱:۲۰ باکتری به پست‌بیوتیک، اضافه شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه‌گذاری گردید. یک گروه کنترل با کشت باکتری در محیط کشت استریل بدون پست‌بیوتیک ایجاد شد. OD_{600} هر ۱۲ ساعت در طول دوره انکوباسیون ۴۸ ساعته با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید (۲۲).

فعالیت ضدمیکروبی پست‌بیوتیک

فعالیت ضدمیکروبی پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* علیه پاتوژن‌های موادغذایی مانند *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC1113)، *اشرشیاکلی* (PTCC1399)، *لیستریامونوسایتوژنز* (RTCC1298)، *سالمونلاتایفی‌موریوم* (RTCC1730)، *باسیلوس‌سرئوس* (ATCC11778)، *ویبریوپاراهمولایتیکوس* (ATCC17802) و *کاندیدا آلبیکانس* (ATCC76615) انجام شد. پس از کشت مجدد و انکوباسیون میکروارگانیسم‌های موردنظر، در محیط کشت براث (مرک، آلمان) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ساعت، سوسپانسیون‌های باکتریایی به چگالی نوری تقریباً ۰/۱ در طول موج ۶۰۰ نانومتر (10^8 log cfu/ mL) تنظیم شدند. تعداد باکتری‌ها با کشت روی محیط کشت مولر-هینتون آگار تأیید شد. به همین منظور یک پلیت میکروتیتر۹۶ خانه‌ای که هر چاهک (۸ میلی‌متر) آن با ۱۰۰ میکرولیتر کشت رقیق‌شده پاتوژن موردنظر و ۱۰۰ میکرولیتر محلول رقیق‌شده پست‌بیوتیک مورد مطالعه پر شد (غلظت‌ها از ۰/۳۹، ۰/۷۸، ۱/۵۶، ۳/۱۲، ۶/۲۵، ۱۲/۵۰، ۲۵، ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بودند). گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت زمان یک شبانه‌روز انجام شد. سپس دوباره به مدت زمان ۲۰ دقیقه در همان دما، پس از اینکه ۳ میکرولیتر محلول تترازولیوم ۰/۵ درصد به هر چاهک اضافه گردید، گرمخانه‌گذاری تکرار شد. کمترین غلظت پست‌بیوتیک که بتواند مانع رشد قابل مشاهده پاتوژن شود MIC است. پس از تعیین MIC، ۲۰ میکرولیتر از مایع چاهک‌های بدون رشد قابل توجه به پلیت‌های آگار منتقل شد. کمترین غلظت پست‌بیوتیک بدون رشد قابل مشاهده باکتری روی پلیت‌ها، MBC را نشان داد. تغییر کدورت پاتوژن‌ها با پست‌بیوتیک در MIC پس از ۸ ساعت کشت مشترک تعیین شد. هاله‌های عدم رشد با استفاده از روش انتشار دیسک آگار ارزیابی شدند. سویه‌های باکتریایی تا 10^7 CFU/mL رقیق شده و روی آگار کشت داده شدند. ۱۵۰ میکرولیتر از محلول پست‌بیوتیک با MIC مختلف به هر پلیت استریل اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

سانتی‌گراد انکوبه‌گذاری شد. قطر هاله‌های عدم رشد با استفاده از کولیس‌ورنیه اندازه‌گیری گردید (۲۳).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی پست‌بیوتیک

ظرفیت مهار رادیکال DPPH

فعالیت آنتی‌اکسیدانی پست‌بیوتیک با استفاده از روش ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل‌هیدرازیل (DPPH) تعیین شد. ظرفیت مهار رادیکال DPPH مربوط به پست‌بیوتیک در سطوح مختلف (۱/۴ MIC، ۱/۲ MIC، MIC و MIC × ۲) طبق روش Niak و همکاران ارزیابی شد (۲۴). به طور خلاصه، محلول DPPH با حل‌کردن ۲/۵ میلی‌گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول تهیه شد. پس از لیوفیلیزه‌کردن نمونه‌های پست‌بیوتیک، ۱۰ ppm محلول پست‌بیوتیک با حل‌کردن مواد لیوفیلیزه‌شده در آب مقطر تهیه شدند. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول پست‌بیوتیک (۱۰ ppm) با ۳/۹ میلی‌لیتر از محلول DPPH مخلوط شد. پس از انکوباسیون به مدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق، جذب در طول موج ۵۱۵ نانومتر (Shimadzu UV-1800، ساخت کشور ژاپن) اندازه‌گیری شد. نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل میلی‌گرم ترولوکس (TEAC) بیان شد. متانول به عنوان گروه کنترل بود.

فعالیت مهار رادیکال هیدروکسیل

از روش Sun و همکاران برای تعیین فعالیت مهار رادیکال هیدروکسیل (RSA) استفاده شد (۲۵). محلول واکنش با ترکیب اجزای زیر در یک لوله آزمایش تهیه شد: ۱ میلی‌لیتر محلول نمکی بافر فسفات (pH=7.4)، ۰/۵ میلی‌لیتر سولفات‌آهن، ۰/۵ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول اتانول ۱۰،۱-فنانترولین و ۰/۵میلی‌لیتر پست‌بیوتیک در غلظت‌های مختلف (۱/۴ MIC، ۱/۲ MIC، MIC و MIC × ۲) مخلوط و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه‌گذاری گردید و سپس در طول موج ۵۳۶ نانومتر ارزیابی شد. داده‌ها به عنوان مقدار خالی ثبت شدند. غلظت ۰/۵ میلی‌لیتر پراکسیدهیدروژن با ۰/۵ میلی‌لیتر آب خالص جایگزین و داده‌های حاصل به عنوان گروه کنترل استفاده شدند. فعالیت مهار رادیکال هیدروکسیل به صورت زیر محاسبه شد:

فعالیت مهار رادیکال هیدروکسیل (درصد) = $\frac{A_{sample}-A_{blank}}{A_{control}-A_{blank}}$ ×۱۰۰

سنجش مهار رادیکال $ABTS^+$

برای تعیین فعالیت مهار رادیکال $ABTS^+$، محلول استوک با ۲/۴۵ میلی‌لیتر پرسولفات‌آمونیوم و ۷ میلی‌لیتر محلول $ABTS^+$ تهیه و به مدت ۱۶ ساعت در دمای اتاق در تاریکی نگهداری شد. سپس، محلول ذخیره با اتانول رقیق شد تا مقدار جذب ۰/۰۲± ۰/۰۷ در طول موج ۷۳۴ نانومتر به دست آید و ۰/۳ میلی‌لیتر نمونه و ۳ میلی‌لیتر محلول مخلوط شدند. مخلوط به مدت ۶ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگهداری شد و جذب در طول موج ۷۳۴ نانومتر اندازه‌گیری شد. اتانول به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد (۲۴).

فعالیت مهارکنندگی پراکسیداسیون اسیدلینولئیک

اثر مهار پراکسیداسیون اسیدلینولئیک توسط پست‌بیوتیک با استفاده از روش Gu و همکاران ارزیابی شد (۲۶). محلول شامل ۱ میلی‌لیتر اسیدلینولئیک (۰/۲ میلی‌لیتر توئین ۲۰، ۰/۱ میلی‌لیتر اسیدلینولئیک و ۱۹/۷ میلی‌لیتر آب دیونیزه) و مخلوط حاوی ۰/۲ میلی‌لیتر H_2O_2، ۰/۲ میلی‌لیتر $FeSO_4$، ۰/۵ میلی‌لیتر بافرفسفات و ۰/۵ میلی‌لیتر بافرفسفات در غلظت‌های مختلف ترکیب و به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه‌های کنترل حاوی براث بود. در مجموع ۲ میلی‌لیتر از محلول واکنش با ۰/۲ میلی‌لیتر BHT، ۲ میلی‌لیتر اسیدتیوباربیتوریک و ۰/۲ میلی‌لیتر اسیدتری‌کلرواستیک ترکیب شد. سپس مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه‌گذاری شد و پس از آن ۲ میلی‌لیتر کلروفرم اضافه شد. عصاره‌ها با اندازه‌گیری مقدار جذب آنها در طول موج ۵۳۲ نانومتر تجزیه و تحلیل شدند.

فعالیت مهارکنندگی پراکسیداسیون اسیدلینولئیک (درصد) = (1-A sample/A Blank)×۱۰۰

استفاده از پست‌بیوتیک در فیله ماهی

ماهیان سی‌باس‌آسیایی تهیه‌شده از مرکز تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام‌خمینی(ره) در ظروف پلی‌اتیلن حاوی یخ به آزمایشگاه ارسال شدند. پس از چندین بار شستشو، پس از جداکردن سر و بیرون آوردن امعاءواحشاء، فیله‌های ۲۵ گرمی (۴×۳×۱سانتی‌متر) آماده شدند. پس از شستشو با آب‌مقطر و خشک‌کردن در شرایط استریل (تمام عملیات آزمایشگاهی در زیر هود بیولوژیکی انجام گردید)، فیله‌ها پس از تیمارشدن در کیسه‌های استریل قرار داده شدند. تیمارها شامل: تیمار کنترل بدون پست‌بیوتیک، تیمار حاوی ۰/۴ درصد پست‌بیوتیک، تیمار ۰/۸ درصد پست‌بیوتیک، تیمار ۱/۲ درصد پست‌بیوتیک، تیمار ۱/۶ درصد پست‌بیوتیک. فیله‌های ماهی با نسبت وزن فیله به حجم محلول (m/v) ۱:۴ در محلول‌های حاوی پست‌بیوتیک غوطه‌ور شدند. پس از ۵ دقیقه پوشش، فیله‌ها به یک سبد تخلیه در هود با جریان آرام منتقل شدند تا به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق خشک شوند. نمونه‌های مربوط به هر تیمار متعاقباً کدگذاری و تاریخ‌گذاری شدند. آن‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و در طول یک دوره نگهداری ۱۵ روزه (در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵) از نظر تغییرات شیمیایی، میکروبی، بافت، رنگ و آنالیز حسی مورد آزمایش قرار گرفتند.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

تغییرات شیمیایی فیله

سنجش آمین‌های بیوژنیک

۵ گرم نمونه فیله ماهی مربوط به هر تیمار با ۱۵ میلی‌لیتر اسیدپرکلریک ۰/۶ مولار توسط هموژنایزر IKA ساخت کشور آلمان، همگن شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت g × ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. باقیمانده مواد جامد به طور مکرر طبق روش فوق استخراج شد و حجم نهایی محلول رویی با اسیدپرکلریک ۰/۶ مولار ترکیب و به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. متعاقباً، یک میلی‌لیتر محلول استاندارد آمین‌های بیوژن با ۲۰۰ میکرولیتر سود ۲مولار و ۳۰۰ میکرولیتر $NaHCO_3$ اشباع مخلوط شد و به دنبال آن با ۱ میلی‌لیتر دنسیل‌کلرید (سیگما، آلمان) ۱ درصد (w/v) واکنش داده شد. سپس واکنش‌دهنده به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی انکوبه‌گذاری گردید و دنسیل‌کلرید باقیمانده با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر آمونیاک و انکوباسیون بیشتر به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق حذف شد. سپس حجم با استونیتریل به ۵ میلی‌لیتر تنظیم شد. مخلوط رقیق‌شده به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت g × ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد و محلول رویی از طریق فیلتر غشایی ۰/۲۲ میکرومتر فیلتر شد. تعیین مقدار آمین‌های بیوژن با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مجهز به ستون C18 (۲۵ سانتی‌متر × ۴/۵ میلی‌متر، ۵ میکرومتر) و آشکارساز فوتودیود انجام شد. دمای ستون ۳۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت جریان ۰/۸۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. حلال‌های شستشو به ترتیب استات‌آمونیوم ۰/۱ مول در لیتر و استونیتریل بودند. فرآیند به شرح زیر بود: حلال شوینده در مدت زمان ۰ تا ۳۵ دقیقه از ۵۰ به ۹۰ درصد افزایش یافت و سپس در مدت زمان ۳۵ تا ۴۵ دقیقه از ۹۰ به ۵۰ درصد کاهش یافت. نمونه‌ها و ترکیبات استاندارد آمین‌های بیوژن در طول موج ۲۵۴ نانومتر در شرایط کروماتوگرافی یکسان اندازه‌گیری شدند. شناسایی و تعیین مقدار آنها به صورت جداگانه با تطبیق زمان بازداری و مساحت پیک با استانداردهای آمین‌های بیوژن انجام شد (۲۷).

سنجش pH، TVB-N و TBA

۵ گرم نمونه فیله مربوط به هر تیمار در یک استومیکر با ۰/۱ درصد (w/v) آب پپتون همگن شد و سپس pH آن با یک pH متر اتوماتیک اندازه‌گیری گردید. برای تعیین بازهای‌نیتروژنی‌فرارکل TVB-N، از فرآیند بخار استفاده شد. تقطیر با بخار با استفاده از دستگاه تقطیر اتوماتیک کجلدال (Vapodest 20، آلمان) انجام شد. تمام تقطیر در یک فلاسک حاوی ۱۰ میلی‌لیتر اسیدبوریک ۲ درصد (w/v) و ۰/۰۴ میلی‌لیتر محلول شناساگر (متیل رد/برموکرزول‌گرین ۱:۵) جمع‌آوری شد. پس از تقطیر، محلول با استفاده از اسیدهیدروکلریک ۰/۰۱ مول بر لیتر تا زمانی که محلول به رنگ آبی-بنفش درآید، تیتر شد. مقدار TVB-N به صورت میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بیان شد. برای تعیین TBA، ۳۵ میلی‌لیتر محلول حاوی اسیدتری‌کلرواستیک ۵ درصد و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر BHT به ۸ گرم نمونه فیله اضافه و همگن شد. سپس، ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به همگن حاصل اضافه و تقطیر شد و بعد با کاغذ صافی، واتمن شماره ۱ فیلتر شد. از یک حمام آب برای گرم‌کردن (۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲۰دقیقه) مخلوطی از ۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۵ میلی‌لیتر محلول TBA استفاده شد. پس از خنک‌شدن کامل، جذب نوری در طول موج ۵۳۲ نانومتر در مقابل محلول شاهد که حاوی ۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۵ میلی‌لیتر محلول TBA بود، اندازه‌گیری شد. مقدار TBA بر حسب میلی‌گرم مالون‌آلدهید بر کیلوگرم نمونه بیان شد (۲۸).

تغییرات میکروبی فیله

تعداد کل باکتری‌های مزوفیل هوازی (TVC)، تعداد باکتری‌های سرمادوست و سودوموناس‌ها شمارش و به صورت لگاریتم CFU/g گزارش شدند. بطور خلاصه، ۱۰ گرم فیله در هر بسته با آب مقطر شسته و با ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک توسط استومیکر همگن شدند. رقت‌های اعشاری سریالی از نمونه‌های همگن تهیه شد. از محیط کشت شمارش پلیت آگار برای رشد TVC و سرمادوست استفاده شد. پلیت‌های کشت داده شده به ترتیب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و ۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز انکوبه‌گذاری شدند. برای شمارش سودوموناس از محیط کشت ستریمیدآگار (ایبرسکو، ایران) پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

اندازه‌گیری بافت و رنگ نمونه‌ها

آنالیز رنگ روی مقاطع عرضی فیله ماهیان از طریق یک رنگ‌سنج مدل CM-2500d با دیافراگم ۱۱ میلی‌متر برای روشنایی و دیافراگم ۸ میلی‌متر برای اندازه‌گیری (دوربین کونیکا ساخت کشور ژاپن) انجام شد. پارامترهای رنگ شامل روشنایی (L^*)، قرمزی (a^* قرمز-سبز) و زردی (b^* زرد-آبی) اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری‌ها برای هر نمونه پنج بار انجام شد. آنالیز پروفایل بافت از طریق دستگاه آنالیز بافت Texture Pro (ساخت کشور امریکا) انجام شد. نمونه‌ها به مقطع ۲/۵ سانتی‌متری برش داده شدند، به صورت عمودی قرار داده شدند و تحت آزمایش فشار دوسیکل با تغییر شکل ۵۰ درصد قرار

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

گرفتند. یک پروب استوانه‌ای از جنس فولاد ضدزنگ P/75 با سرعت ۱ میلی‌متر بر ثانیه تحت شرایط کنترل‌شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. در این آنالیز، مقادیر سختی (g)، فنری بودن (mm) و قابلیت جویدن ثبت شد. برای هر آنالیز ۴ بار تکرار انجام شد.

ارزیابی حسی

برای ارزیابی حسی فیله‌های ماهی سی‌باس‌آسیایی، ویژگی‌هایی مانند رنگ، بافت، مزه و پذیرش‌کلی توسط یک هیئت ۸ نفره (۴ زن و ۴ مرد، ۲۶ تا ۳۶ ساله) از اعضای آموزش‌دیده ارزیابی شد. برای ارزیابی از مقیاس هدونیک ۹ امتیازی استفاده شد و نتایج بر این اساس ثبت شد. نمونه‌هایی که امتیاز ۹ دریافت کردند، کاملاً مطلوب تلقی شدند، در حالی که امتیاز ۱ کاملاً نامطلوب در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری

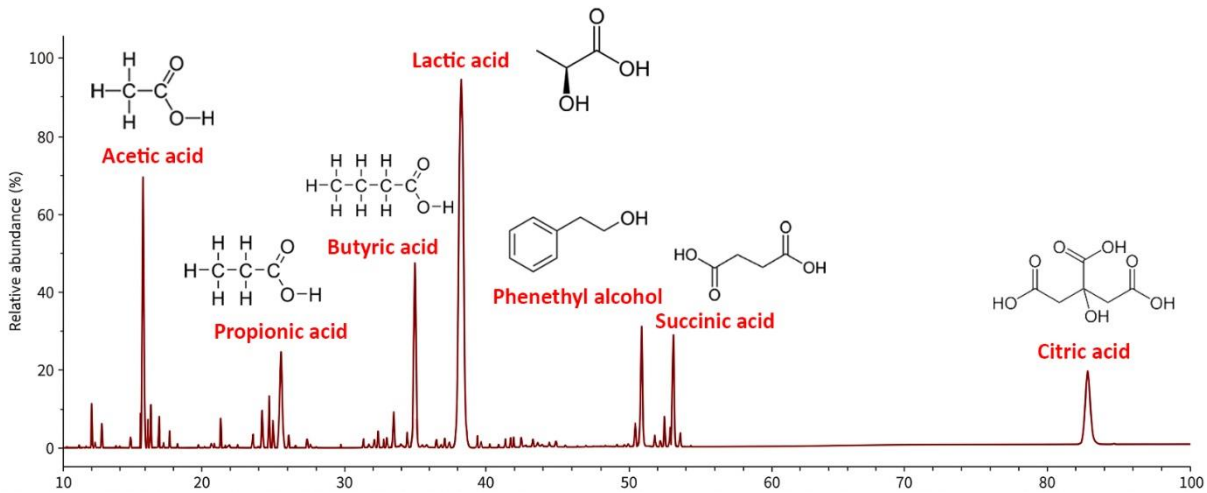
نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۶) تحت آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) قرار گرفتند. از آزمون دانکن برای ارزیابی وجود تفاوت‌های معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P< 0.05$) استفاده شد. همه آزمایش‌ها به صورت سه‌تایی انجام شد. ضرایب همبستگی با استفاده از روش پیرسون و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism 10.2.2.397 محاسبه شدند.

• یافته‌ها

ترکیب تقریبی شیمیایی پست‌بیوتیک در جدول ۱ نشان داده شده است. داده‌های GC-MS نشان داد که اسیدلاکتیک بیشترین اسید شناخته‌شده در ترکیبات پست‌بیوتیک بود. پروفایل کروماتوگرافی سوپرناتانت پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در شکل ۱ ارائه شده است. ترکیبات غالب شناسایی‌شده در نمونه شامل اسیدلاکتیک، اسیداستیک و اسیدبوتیریک بودند که نقش اصلی را در ویژگی‌های شیمیایی و عملکردی پست‌بیوتیک ایفا می‌کنند. در میان ترکیبات شناسایی‌شده، اسیدلاکتیک بیشترین سهم را به خود اختصاص داد و پس از آن اسیداستیک (میزان ۱۲/۸۹ درصد) و اسیدبوتیریک به‌عنوان ترکیبات عمده شناسایی شدند. حضور سایر ترکیبات از جمله اسیدساکسینیک، اسیدپروپیونیک، فنیل‌اتیل‌الکل و اسیدسیتریک نیز نشان‌دهنده تنوع ترکیبات زیست‌فعال موجود در سوپرناتانت پست‌بیوتیک بود. اسیدلاکتیک در رتبه اول به میزان ۱۸/۰۴ درصد سنجش شد.

جدول۱. ترکیب شیمیایی پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

ترکیبات	درصد
اسیداستیک	۱۲/۸۹ ± ۰/۰۴
اسیدلاکتیک	۱۸/۰۴ ± ۰/۳۳
اسیدبوتیریک	۸/۹۸ ± ۰/۰۶
اسیدساکسینیک	۴/۴۸ ± ۱/۱۰
اسیدپروپیونیک	۴/۰۴ ± ۰/۱۰
فنیل‌اتیل‌الکل	۵/۰۸ ± ۱/۱۳
اسیدسیتریک	۴/۳۵ ± ۰/۱۷

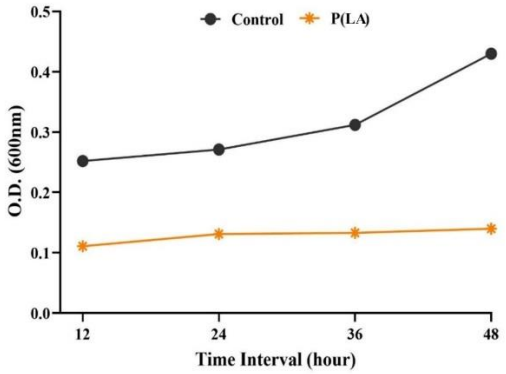


شکل ۱. پروفایل کروماتوگرافی GC–MS ترکیبات شناسایی‌شده در سوپرناتانت پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

باکتری بیماری‌زای *ویبریوآلجینولایتیکوس* که با پست‌بیوتیک کشت داده شد، توانست سبب کاهش معنی‌دار (p<۰/۰۵) رشد باکتری طی دوره انکوباسیون ۴۸ ساعته شود (شکل ۲). در مقایسه با تیمار کنترل (سویه حدت‌زای *ویبریوآلجینولایتیکوس*)، توانایی پست‌بیوتیک به طور قابل‌توجهی (p< ۰/۰۵) در به تأخیرانداختن تکثیر *ویبریو آلجینولایتیکوس* نشان داده شد.

جدول ۲ نشان داد که اثر مهاری پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* علیه پاتوژن‌های مطالعه به گونه پاتوژن و زمان انکوباسیون وابسته است. بعد از ۲۴ ساعت قطر ناحیه بازدارندگی کاهش یافت. هاله‌های مهاری نسبتاً بزرگ (۱۰ تا ۱۵ میلی‌متر) روی آگار، عملکرد ضدباکتریایی پست‌بیوتیک مشتق‌شده از *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* علیه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا را تأیید کرد. پست‌بیوتیک توانست فعالیت ضدباکتری در مقابل پاتوژن‌های غذازاد نشان دهد (جدول ۲). پست‌بیوتیک موردمطالعه نتوانست از رشد گونه کاندیدا آلبیکانس جلوگیری کند و تاثیری بر رشد آن نداشت. نتایج MIC و MBC نشان داد که پست‌بیوتیک‌ها فعالیت ضدمیکروبی را در برابر تمام سویه‌های باکتریایی آزمایش‌شده نشان دادند و این اثر به غلظت مورد استفاده بستگی داشت.



شکل ۲. سینتیک رشد آنتاگونیستی پست‌بیوتیک علیه باکتری بیماری‌زای *ویبریوآلجینولایتیکوس*

جدول ۲. فعالیت ضدمیکروبی پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس*

باکتری	قطر ناحیه بازدارندگی (میلی‌متر) ۱۶ ساعت پس از انکوباسیون	قطر ناحیه بازدارندگی (میلی‌متر) ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون	کنترل مثبت	MIC (mg/ mL)	MBC (mg/ mL)
*استافیلوکوکوس‌اورئوس**	۱۵	۱۲	۱۸	۱۵	۲۳
*لیستریامونوسایتوژنز**	۱۲	۱۱	۱۷	۱۸/۲۵	۳۱/۲۵
*سالمونلاتایفی‌موریوم***	۷	۶	۱۲	۱۸/۷۵	۳۷/۵
*باسیلوس‌سرئوس**	۱۰	۹	۱۲	۱۵	۲۵
*ویبریوپاراهمولایتیکوس***	۵	۴/۵	۱۱	۲۵	۴۳/۷۵
*اشرشیاکلی***	۶	۵/۲	۱۱	۲۵	۴۳/۷۵
کاندیدا آلبیکانس	–	–	–	–	–

داده‌ها به صورت میانگین (±انحراف معیار) با سه تکرار ارائه شده‌اند.*همبستگی در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار است (p< ۰/۰۵). **همبستگی در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار است (p< ۰/۰۱). کنترل مثبت: ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسپرتومایسین

شکل ۳ میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی پست‌بیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در غلظت‌های مختلف را نشان می‌دهد. با افزایش غلظت پست‌بیوتیک میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت (p< ۰/۰۰۱). بیشترین میزان مهار رادیکال‌های هیدروکسیل در غلظت ۳۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ۷۹/۳۰ درصد بدست آمد. تفاوت معنی‌دار آماری بین میزان مهار پراکسیداسیون اسیدلینولئیک توسط غلظت‌های مختلف پست‌بیوتیک نشان داده شد (p< ۰/۰۰۱).

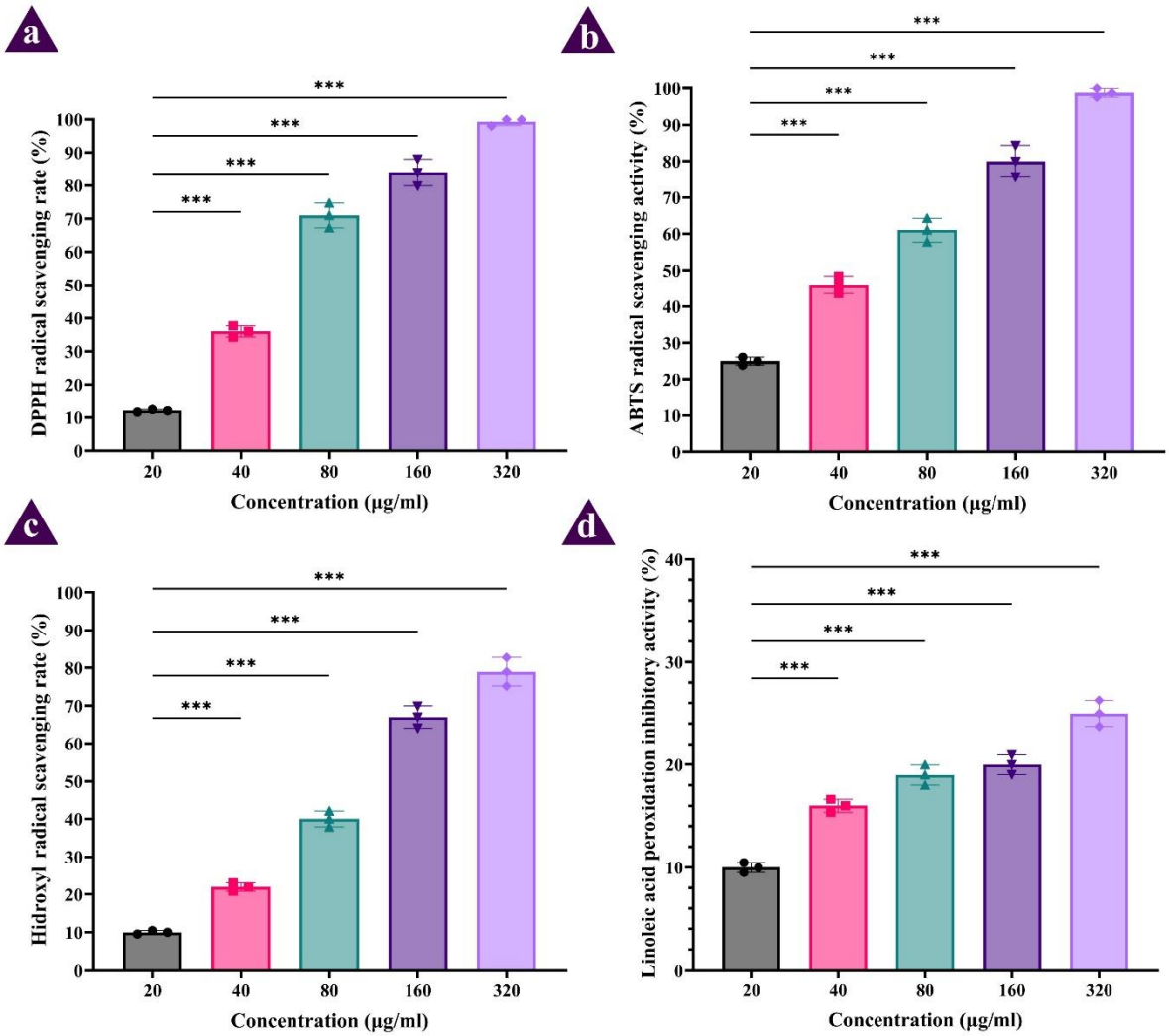
نتایج کاربرد پست‌بیوتیک در مدل غذایی (فیله ماهی سی‌باس آسیایی)

فیله‌های ماهیان سی‌باس‌آسیایی پوشش‌داده‌شده با پست‌بیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس طی ۱۵ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا تغییرات پارامترهای شیمیایی، میکروبی، بافت و رنگ آنها مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد. میزان آمین‌های بیوژنیک در فیله تحت‌تاثیر غلظت‌های مختلف پست‌بیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در شکل ۴ آورده شده است. غلظت ۱/۶ درصد پست‌بیوتیک توانست با اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) نسبت به سایر تیمارها سبب کاهش میزان آمین‌های بیوژنیک هیستامین، پوترسین، کاداورین و

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

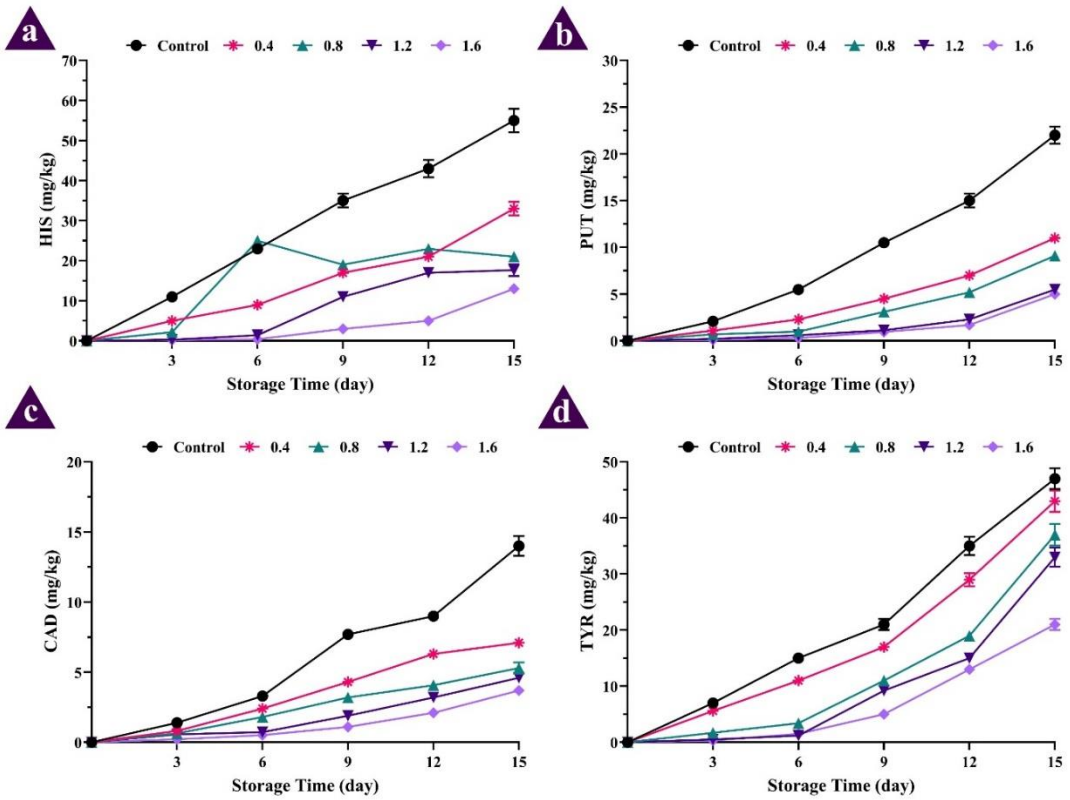
تیرامین شد. نتایج نشان داد کاهش آمین‌های بیوژنیک وابسته به دوز پست‌بیوتیک بود. بواسطه تاثیر ضدباکتریایی قابل‌توجه پوشش پست‌بیوتیک، هر چهار آمین بیوژنیک تا روز ششم در طول نگهداری در یخچال، سطوح غیرقابل تشخیص یا بسیارپایینی را در فیله‌ها نشان دادند (شکل ۴). تا روز پانزدهم دوره آزمایش، سطوح آمین‌های بیوژنیک همچنان به طور قابل‌توجهی کمتر از گروه‌های کنترل بدون پوشش بود ($p<۰/۰۵$). این نتیجه تطابق بالایی با اندازه‌گیری باکتری‌های عامل فساد دارد که نتایج آن در شکل ۵ آورده شده است.

همانطور که نتایج تغییرات میکروبی نشان داده‌اند، جایی که تعداد باکتری‌های سرمادوست و سودوموناس در سطوح پایین‌تر از حد مجاز روی فیله‌های ماهی پوشش‌داده‌شده با پست‌بیوتیک طی ۶ روز اول نگهداری ماند (شکل ۵)، تشکیل آمین‌های بیوژنیک نیز کاهش یافت که به دلیل متابولیسم باکتری‌ها بود. اگرچه تیمار کنترل و تیمارهای با میزان غلظت‌های پایین پست‌بیوتیک، سطوح قابل مقایسه‌ای از باکتری‌های سرمادوست را نشان دادند، اما سطوح آمین‌های بیوژنیک اندازه‌گیری شده در این تیمارها متفاوت بود ($p<۰/۰۵$) (شکل ۵).

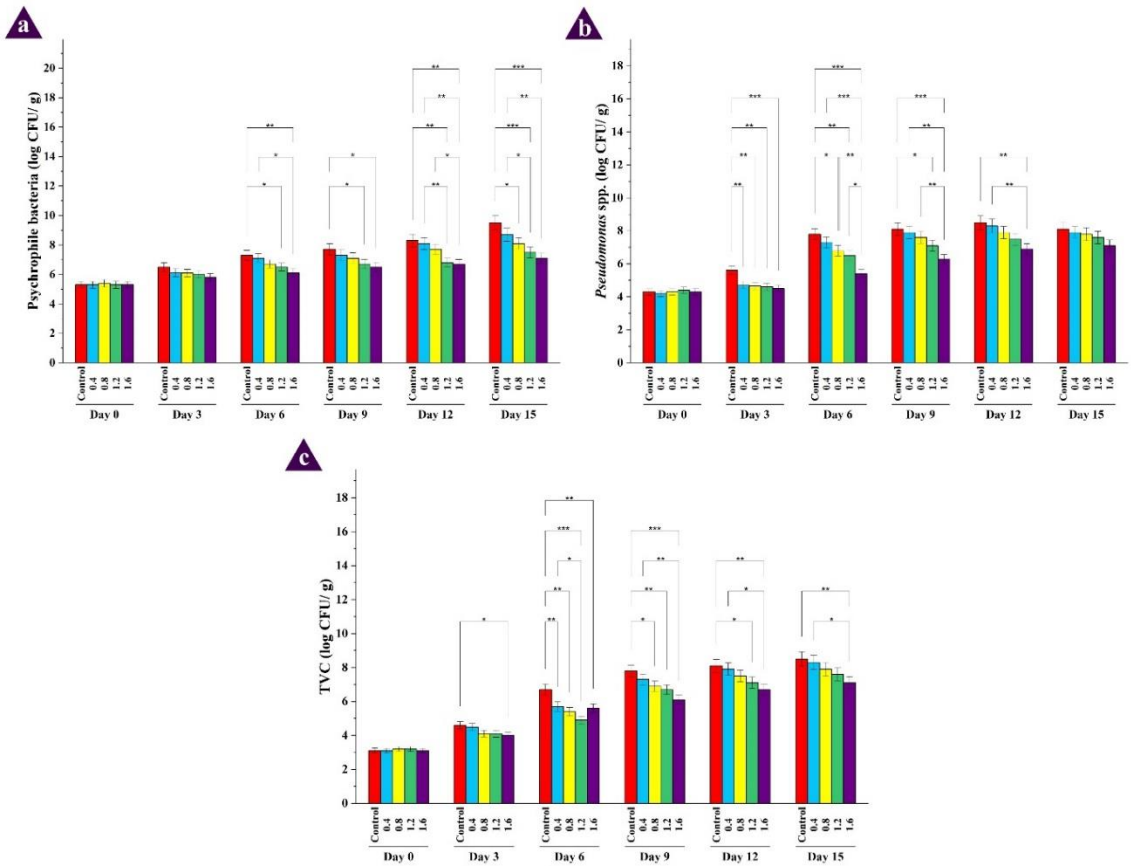


شکل ۳. فعالیت آنتی‌اکسیدانی پست‌بیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس. مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار ($n = 3$) ارائه شده‌اند. تفاوت‌های معنی‌دار ($p< ۰/۰۰۱$) با علائم متفاوت در مقایسه با گروه کنترل نشان داده شده‌اند.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]



شکل ۴. تغییرات آمین‌های بیوژنیک فیله سی‌باس‌آسیایی پوشش‌داده‌شده با غلظت‌های متفاوت پست‌بیوتیک نگهداری‌شده در یخچال در طول دوره نگهداری ۱۵ روزه.



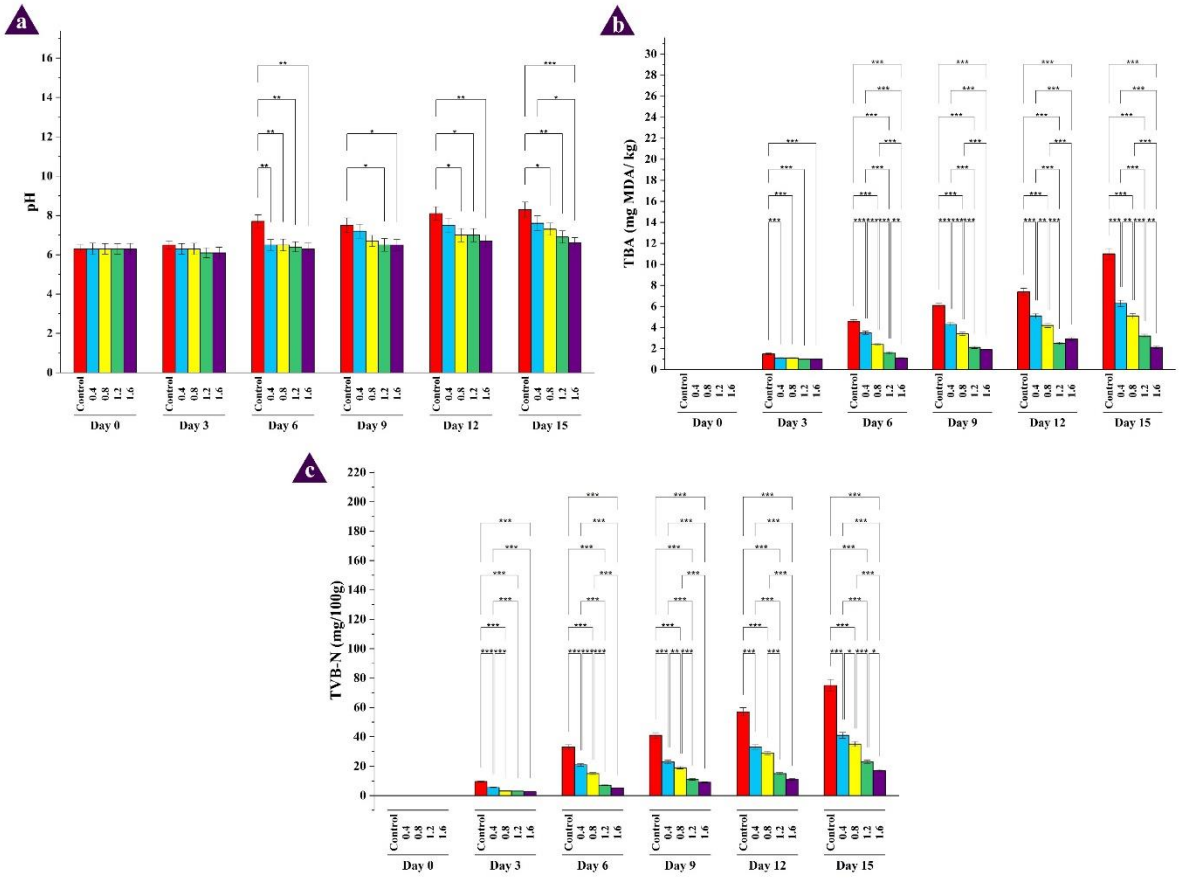
شکل ۵. تغییرات میکروبی فیله سی‌باس‌آسیایی پوشش‌داده‌شده با غلظت‌های متفاوت پست‌بیوتیک نگهداری‌شده در یخچال در طول دوره نگهداری ۱۵ روزه.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

با توجه به خواص ضدمیکروبی پست‌بیوتیک، تعداد گونه‌های سرمادوست و گونه‌های سودوموناس در فیله‌های ماهی پوشش‌داده‌شده با بیشترین غلظت پست‌بیوتیک (۱/۶ درصد) به طور قابل‌توجهی کمتر از فیله‌های با غلظت‌های پایین‌تر پست‌بیوتیک و همچنین گروه کنترل بدون‌پوشش بود ($p<۰/۰۵$). در طول نگهداری، پست‌بیوتیک موجود در پوشش، اثر باکتریواستاتیک برجسته‌ای را نشان دادند. در مطالعه حاضر، تعداد باکتری‌های سرمادوست در روز نهم برای تیمار ۱/۶ درصد پست‌بیوتیک به بیش از حد قابل‌قبول افزایش یافت، در حالی که سایر فرمولاسیون‌ها همگی در روز ششم از حد مجاز فراتر رفتند، که نشان می‌دهد فرمولاسیون غنی‌شده با پست‌بیوتیک، ماندگاری فیله‌های سی‌باس‌آسیایی را حدود ۳ روز بیشتر از سایر تیمارها افزایش داده است. نتایج نشان دادند در روز دوازدهم در تیمار ۱/۶ درصد پست‌بیوتیک، میزان TVC به ۶/۷ log CFU/g رسید ($p<۰/۰۱$) و در روز نهم کمتر از ۶ log CFU/g بود ($p<۰/۰۰۱$).

تا روز سوم فیله‌های ماهیان هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار آماری در میزان pH نشان ندادند ($p>۰/۰۵$) (شکل a-۶). در روزهای مطالعه، تفاوت معنی‌دار آماری در مقدار pH در تیمارهای حاوی مقادیر بالاتر پست‌بیوتیک نسبت به تیمار کنترل مشاهده شد ($p<۰/۰۱$). همانطور که در شکل c-۶ نشان داده شده است، غلظت TVB-N با افزایش مدت زمان نگهداری در همه گروه‌ها به طور قابل‌توجهی افزایش یافت ($p< ۰/۰۵$). تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای حاوی پست‌بیوتیک با تیمار کنترل در سه روز اول مشاهده شد ($p<۰/۰۰۱$). در روز ششم، تجمع TVB-N در گروه کنترل (۳۳/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به طور قابل‌توجهی بیشتر از تیمارهای دیگر بود ($p<۰/۰۰۱$).

از آنجایی که تولید TVB-N عمدتاً به دلیل تجزیه باکتریایی ترکیبات نیتروژنی پروتئینی و غیرپروتئینی است، تشکیل کمتر TVB-N در نمونه‌های پوشش‌داده‌شده حاوی پست‌بیوتیک ممکن است به دلیل مهار میکروبی، به ویژه باکتری‌های سرمادوست باشد. در تمام روزهای نگهداری، اکسیداسیون ثانویه فیله‌های ماهی با وجود پوشش پست‌بیوتیک در تیمارهای حاوی آن کمتر از تیمار کنترل بود ($p<۰/۰۰۱$) (شکل b-۶).

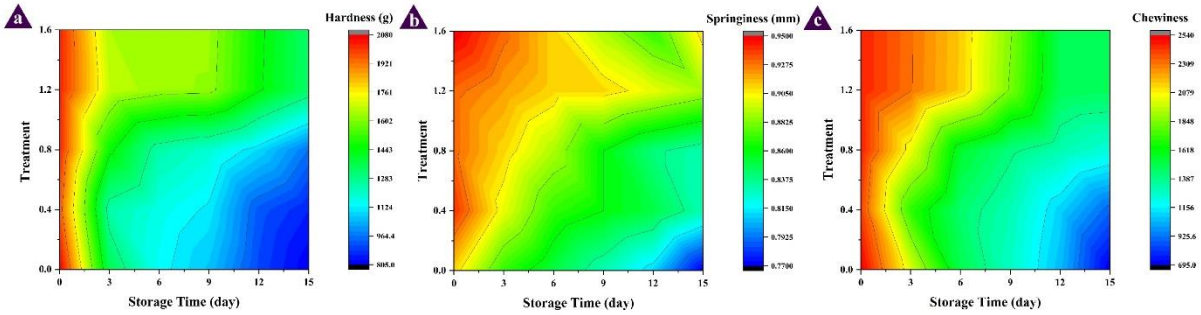


شکل ۶. تغییرات شیمیایی pH، TVB-N و TBA فیله سی‌باس‌آسیایی پوشش‌داده‌شده با غلظت‌های متفاوت پست‌بیوتیک نگهداری‌شده در یخچال در طول دوره نگهداری ۱۵ روزه.

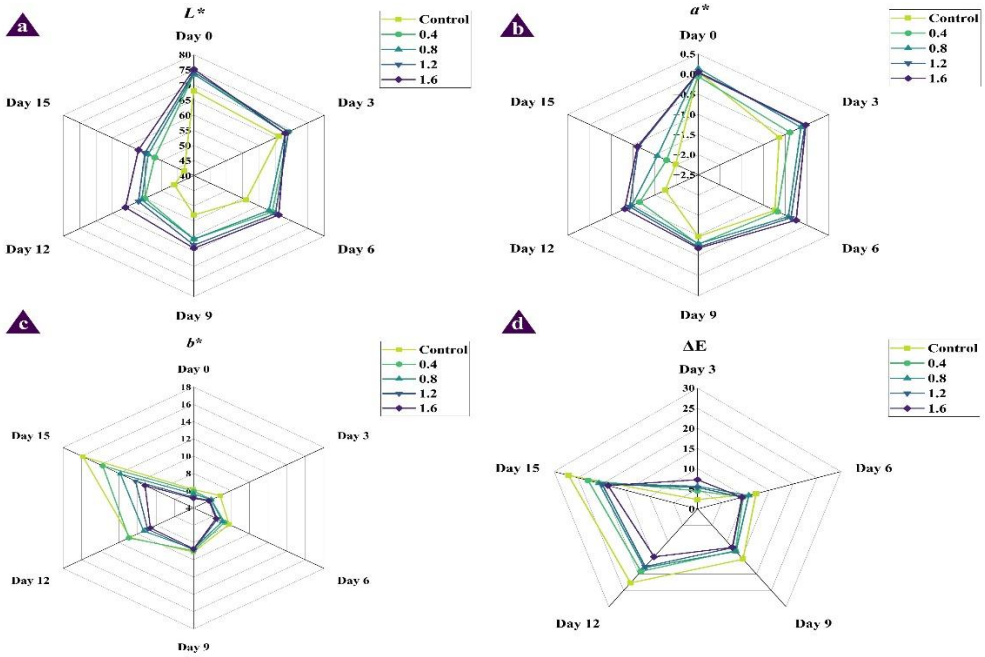
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

شکل ۷ نتایج برخی خصوصیات بافت فیله ماهیان سی‌باس‌آسیایی تحت‌تاثیر پست‌بیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را نشان می‌دهد که با افزایش زمان میزان سختی، جویدنی و ارتجاع بافت فیله‌ها کاهش یافت. در روزهای اولیه نگهداری، خصوصیات بافت قوی‌تر و بیشتر بودند که با رنگ قرمز نشان داده شده است و در روزهای انتهایی نگهداری رنگ آبی واضح‌تر است و نشان از کاهش ویژگی‌های بافت ماهیان در تیمارهای مختلف دارد.

همانطور که شکل نشان ۸ می‌دهد با افزایش زمان نگهداری پارامتر L^* یا روشنی فیله‌های ماهی کاهش یافت، که در تیمار کنترل با شدت بیشتری همراه بود ($p< ۰/۰۵$). پارامتر a^* و b^* طی نگهداری زیاد شدند و بافت فیله رنگ تیره‌تری پیدا کرد. تازگی فیله‌های سی‌باس آسیایی در طول نگهداری از نظر حسی با طعم، بو و پذیرش کلی ارزیابی شد. در ابتدای دوره نگهداری، همه گروه‌های فیله با بوی ماهی تازه تشخیص داده شدند، اما طی نگهداری، خواص حسی نمونه‌ها رو به زوال گذاشت، اما سرعت آن در نمونه‌های فیله بدون‌پوشش (کنترل) در مقایسه با نمونه‌های پوشش‌داده‌شده به طور قابل‌توجهی سریع‌تر بود ($p<۰/۰۵$) (شکل ۹).

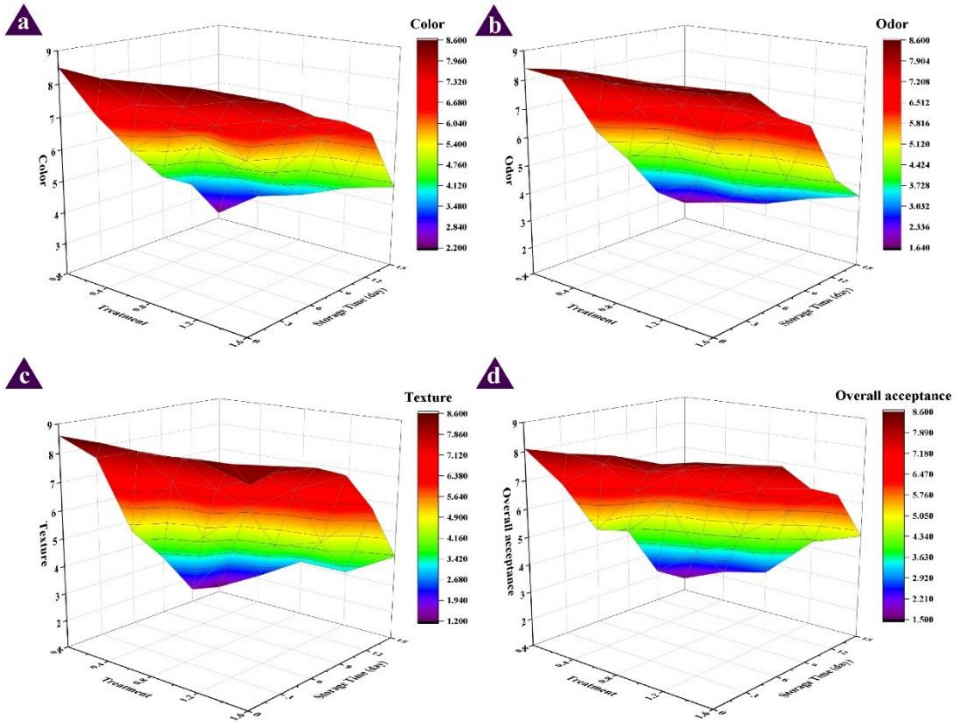


شکل ۷. تغییرات بافت فیله سی‌باس‌آسیایی پوشش‌داده‌شده با غلظت‌های متفاوت پست‌بیوتیک نگهداری‌شده در یخچال در طول دوره نگهداری ۱۵ روزه.



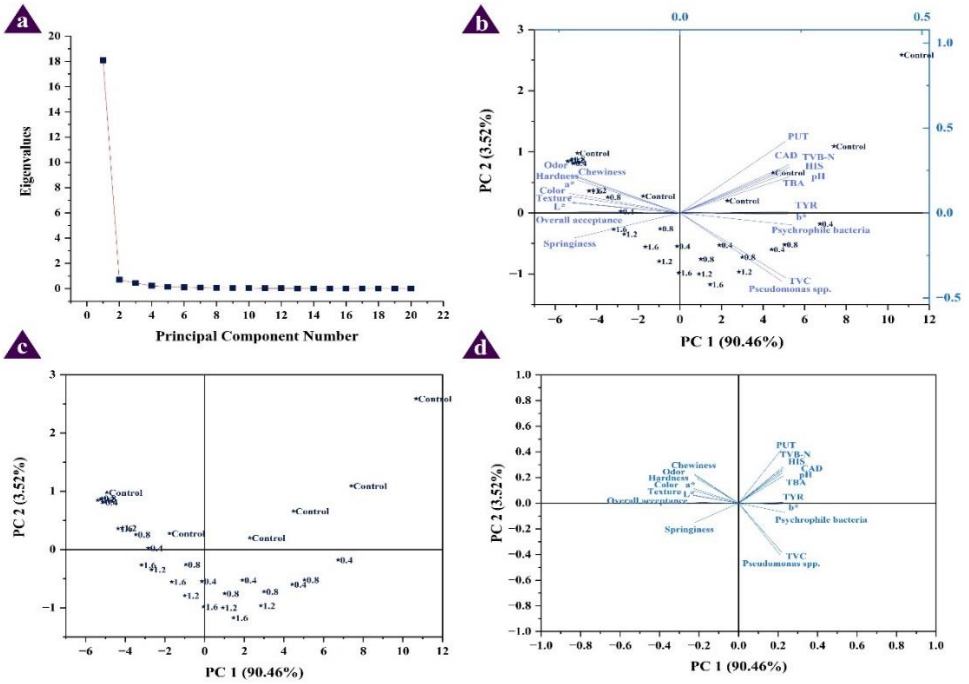
شکل ۸. تغییرات رنگ فیله سی‌باس‌آسیایی پوشش‌داده‌شده با غلظت‌های متفاوت پست‌بیوتیک نگهداری‌شده در یخچال در طول دوره نگهداری ۱۵ روزه.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]



شکل ۹. نمودار سطح پاسخ فیله‌های پوشش‌شده با غلظت‌های متفاوت پست‌بیوتیک بر (a) رنگ، (b) بو، بافت و (c) پذیرش کلی (d) در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ روز.

نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر از اعضای هیئت داوران در مورد پذیرش‌کلی تمام نمونه‌های فیله مورد بررسی نشان داد که: (الف) نمونه‌های فیله بدون‌پوشش (کنترل) ماندگاری کمتر از ۹ روز داشتند؛ (ب) تیمار با ۰/۴ درصد پوشش ۱۱ روز ماندگاری داشت؛ (ج) تیمار ۰/۸ درصد به مدت ۱۲ روز ماندگاری داشت؛ (د) تیمار با ۱/۲ و ۱/۶ درصد پست بیوتیک ۱۵روز ماندگاری داشت. تجزیه‌وتحلیل مؤلفه‌های‌اصلی (PCA) به عنوان ابزاری ارزشمند برای شناسایی همبستگی بین متغیرهای مختلف کاربردی در سیستم‌های غذایی عمل می‌کند (شکل۱۰-a).



شکل ۱۰. تحلیل مؤلفه‌های اصلی متغیرهای مورد بررسی در تیمارهای مختلف پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* در فیله. نمودار اسکری (a)، نمودار نمرات PC (b)، نمودار بارگذاری (c) و بای‌پلات (d).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

نمودار Scree plot، نمودار امتیاز PC، نمودار دوبعدی و میزان سهم در تغییرپذیری فیله را نشان می‌دهد. نمودار اسکری به تعیین بهترین تعداد مؤلفه‌هایی که می‌توان از داده‌ها استخراج کرد، کمک می‌کند. ارزیابی نمودار اسکری نشان می‌دهد که استخراج دو مؤلفه، مؤثرترین استراتژی است. تنوع کلی توسط دو مؤلفه اصلی توضیح داده شد، که در آن مؤلفه اصلی ۹۰/۴۶ درصد (PC1) و مؤلفه اصلی ۳/۵۲ درصد (PC2) را تشکیل دادند. در مجموع، این دو عنصر ۹۳/۹۸ درصد از تنوع کلی را تشکیل دادند. دوزهای مختلف پست‌بیوتیک در ربع دوم و چهارم قرار گرفتند (شکل c-۱۰) که نشان‌دهنده اثرات مهارکنندگی و بازدارندگی پست‌بیوتیک روی متغیرهای مورد بررسی است. شکل c-۱۰ نشان می‌دهد که تیمارهای حاوی پست‌بیوتیک بدون تیمار کنترل در یک سمت نمودار قرار گرفته‌اند و همبستگی نزدیک آنها با هم و عدم همبستگی آنها با تیمار کنترل را نشان می‌دهد که صحتی بر نتایج مطالعه دارد. شکل d-۱۰ نشان از آن دارد که در فیله ماهی پارامترهای میکروبی در یک سمت و ارتباط نزدیک آنها با هم را به تصویر می‌کشد که در طرف موافق وجود آمین‌های بیوژنیک و متغیرهای شیمیایی TVB-N، TBA و pH است که منطبق با نتایج مطالعه حاضر است.

• بحث

استفاده از میکروارگانیسم‌های خاص و متابولیت‌های ضدمیکروبی آنها یکی از روش‌های نوظهوری است که برای افزایش ماندگاری و جلوگیری از فساد میکروبی موادغذایی به کار می‌رود و به عنوان نگهداری‌زیستی شناخته می‌شود (۱). نکته قابل‌توجه در ترکیب شیمیایی پست‌بیوتیک این است که تولید اسیدلاکتیک بیشتر از تولید اسیداستیک بود، که با سایر مطالعات انجام‌شده با گونه‌های *لاکتوباسیلوس* مطابقت دارد (۲۹). میزان اسیدلاکتیک و اسیداستیک در مطالعه حاضر نسبت به مطالعه Nasri و همکاران (۳۰) کمتر و از مطالعه Torres-Ochoa و همکاران (۱۱) بیشتر بود. عملکرد ضدمیکروبی باکتری‌های اسیدلاکتیک عمدتاً به اسیدهای آلی، باکتریوسین‌ها، الکل‌ها، آنزیم‌ها و ترکیبات با جرم‌مولکولی کم نسبت داده می‌شود. ترکیب تغذیه‌ای و عوامل محیطی ذاتی هر محیط نقش مهمی در شکل‌دهی مسیرهای متابولیک باکتری‌های اسیدلاکتیک ایفا می‌کنند و در نتیجه بر نوع و مقدار اسیدهای آلی تولیدشده تأثیر می‌گذارند (۳۰). محیط‌کشت رشد باکتری تاثیر زیادی در نوع و میزان ترکیب شیمیایی پست‌بیوتیک دارد (۳۱). تحقیقات قبلی اثرات ضدباکتریایی پست‌بیوتیک‌های حاصل از باکتری‌ها، از جمله آنهایی که از گونه‌های باسیلوس مشتق شده‌اند، را در برابر چندین باکتری بیماری‌زا مانند *آئروموناس‌هیدروفیلا*، *آئروموناس‌سالمونیسیدا*، *آئروموناس‌ورونی*، *سودوموناس‌آئروجینوزا*، *سودوموناس فلورسنس* و *سودوموناس‌پوتیدا* گزارش کرده‌اند (۳۲-۳۵). خواص ضدباکتریایی پست‌بیوتیک‌ها ممکن است به دلیل متابولیت‌هایی از جمله لیپوپپتیدها، اسیدهای آلی، اسیدهای تیکوئیک، سورفکتین‌ها، پلی‌ساکاریدها، مهارکننده‌های شبه‌باکتریوسین، باکتریوسین‌ها، آنزیم‌ها و موروپپتیدهای مشتق از پپتیدوگلیکاندری ترشح‌شده توسط باکتری‌ها باشد (۳۷،۳۶). تحقیقات قبلی در مورد پست‌بیوتیک‌های جنس باسیلوس نشان داده است که پست‌بیوتیک قادر است تولید آنزیم‌های لیپاز، پروتئاز و آمیلاز را در سایر پاتوژن‌ها مهار کند. این آنزیم‌ها به پاتوژن کمک می‌کنند تا موادمغذی را به دست آورد و از طریق تخریب بافت میزبان، توسعه بیماری را تسهیل کند (۳۵). در مطالعه Jalali و همکاران نشان داده شد که در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مخلوط پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس‌رامنوسوس* و *لاکتوباسیلوس‌روتری* بزرگترین هاله عدم‌رشد برای *اشرشیا کلی* با اندازه ۲۳/۱۲ میلی‌متر مشاهده شد. پس از آن *لاکتوباسیلوس‌رامنوسوس* با ۲۱/۱۸ میلی‌متر و *لاکتوباسیلوس‌روتری* با ۲۰/۲۴ میلی‌متر قرار داشتند (۳۶). Khani و همکاران اثر ضدمیکروبی سوپرناتانت گونه‌های *لاکتوباسیلوس* علیه *استافیلوکوکوس‌اورئوس* را بررسی کردند. فعالیت ضد *استافیلوکوکوس* و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پست‌بیوتیک‌های حاصل از سویه‌های مختلف *لاکتوباسیلوس*، نشان‌دهنده مناسب‌بودن آنها به عنوان افزودنی‌های ایمن و چندمنظوره در صنعت غذا است (۳۷). فعالیت ضدمیکروبی پست‌بیوتیک‌ها ممکن است به تولید باکتریوسین‌ها و اسیدهای آلی نسبت داده شود که می‌توانند رشد باکتری را مهار کنند (۳۶). با این حال، Mirnejad و همکاران (۳۸) گزارش دادند که پست‌بیوتیک‌های *L. casei* در مقایسه با سایر پست‌بیوتیک‌ها، فعالیت ضدمیکروبی قوی علیه گونه‌های شیگلا نشان نداد که نشان‌دهنده نقش محدود باکتریوسین‌ها در اثرات ضدمیکروبی آنهاست که با نتایج Abbasi و همکاران (۳۹) و مطالعه حاضر همخوانی داشت. فعالیت ضدباکتریایی پست‌بیوتیک‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس‌کازئی*، *لاکتوباسیلوس‌سالیواریوس* علیه *لیستریامونوسایتوژنز* انجام شد که میزان ناحیه بازدارندگی ۲۵-۲۰ میلی‌متر بود (۲۹). مشابه نتایج ارائه شده، de Barros و همکاران (۴۰) وجود هاله‌های مهاری (۲۳/۷۱-۱۶/۱۰ میلی‌متر)، فعالیت ضدباکتریایی همه پست‌بیوتیک‌های آزمایش‌شده را روی باکتری‌های بیماری‌زا تأیید کردند. Abedi و همکاران (۴۱) نشان دادند که فعالیت

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

ضدمیکروبی *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* با تولید باکتریوسین‌ها همبستگی ندارد، به تولید اسیدهای آلی وابسته است و تنها کشت همزمان *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* با سویه‌های حساس می‌تواند تولید باکتریوسین را القا کند، در حالی‌که *لاکتوباسیلوس‌سالیواریوس* باکتریوسین‌ها، اسیدهای آلی و مواد شبه باکتریوسین تولید می‌کند که مسئول فعالیت ضدمیکروبی قوی آن هستند (۴۲). در بین سوپرناتانت‌های مختلف موردبررسی، سوپرناتانت *لاکتوباسیلوس‌کازئی* کمترین فعالیت ضدلیستریال را نشان داد که نشان‌دهنده فعالیت ضدباکتریایی ضعیفی است که با حضور اسیدهای‌آلی در سوپرناتانت مرتبط است و باکتریوسین‌ها در آن دخیل نیستند (۳۸) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. اثربخشی بازدارندگی پست‌بیوتیک‌های باکتری‌های اسیدلاکتیک مطالعه شد. پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* با ۲۵ میلی‌متر بیشترین ناحیه بازدارندگی علیه *اشرشیاکلی* نشان داد. تفاوت اثر مهارکنندگی احتمالاً ناشی از ترکیبات مختل‌کننده غشای‌سلولی مانند اسیدهای‌آلی (مثلاً اسیدلاکتیک و اسیداستیک) و باکتریوسین‌ها است (۴). همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، حداقل غلظت مهاری (MIC) پست‌بیوتیک علیه باکتری‌ها بین ۲۵-۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) پست‌بیوتیک بین ۴۳/۷۵-۲۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. پست‌بیوتیک‌ها فعالیت ضدباکتریایی قابل‌توجهی در برابر پاتوژن‌های منتقله از غذا دارند که نشان‌دهنده کاربرد بالقوه آنها در صنعت غذا به عنوان نگهدارنده، بهبوددهنده کیفیت و مکمل‌های عملکردی است (۴۳). پست‌بیوتیک‌های *لاکتوباسیلوس‌کفیری* و *استرپتوکوکوس‌فاسیوم* فعالیت ضدمیکروبی و ضدبیوفیلم در برابر پاتوژن‌های *استافیلوکوکوس‌اورئوس* و *اشرشیاکلی* برای تأمین محصولات لبنی ایمن برای انسان نشان دادند (۴۴). اثرات ضدمیکروبی پست‌بیوتیک‌ها در درجه اول به مخلوط پیچیده‌ای از میکروارگانیسم‌های غیرزنده یا لیزات سلولی باکتریایی و یا متابولیت‌های ترشح‌شده توسط پروبیوتیک‌ها در مایع رویی بدون‌سلول نسبت داده می‌شود که فعالیت ضدمیکروبی در برابر میکروارگانیسم‌های گرم مثبت و گرم منفی را نشان داده‌اند. عوامل متعددی بر قطر هاله عدم‌رشد و غلظت موردنیاز پست‌بیوتیک‌ها تأثیر می‌گذارند، از جمله ترکیب پست‌بیوتیک، سویه باکتریایی و شرایط آزمایش. انواع خاص پست‌بیوتیک‌های تولیدشده در طول تخمیر، مانند باکتریوسین‌ها، اسیدهای‌آلی و پراکسیدهیدروژن، اثربخشی ضدباکتریایی آنها را در برابر باکتری‌های مختلف تعیین می‌کنند. سویه‌های مختلف باکتریایی به دلیل تفاوت در ساختار دیواره‌سلولی، پمپ‌های خروج و سایر عوامل، حساسیت‌های متفاوتی نسبت به پست‌بیوتیک‌ها نشان می‌دهند (۴۳).

گونه‌های فعال اکسیژن شامل رادیکال‌های هیدروکسیل هستند که بسیار واکنش‌پذیر بوده و نشان داده شده است که باعث جهش DNA و پراکسیداسیون لیپید می‌شوند (۴۵). در مطالعه حاضر بیشترین میزان مهارکنندگی پراکسیداسیون اسیدلینولئیک ۲۵/۱۸ درصد بدست آمد. مطالعات نشان داده‌اند که اشکال آلی اسیدلینولئیک ممکن است پراکسیداسیون لیپید را مهار کنند. پست‌بیوتیک *باسیلوس‌سابتیلیس* فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد بالاتری نسبت به پست‌بیوتیک *باسیلوس‌آمیلولیکوئیفاسینس* نشان دادند (۱۹). مطالعات متعددی خواص آنتی‌اکسیدانی پست‌بیوتیک‌ها را برجسته کرده‌اند که می‌توانند به محافظت در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن به دلیل ترکیبات لیپیدی یا پروتئینی یا پلی‌ساکاریدی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوتاتیون‌پراکسیداز، کاتالاز، پراکسیددیسموتاز و توانایی آنها در اتصال یون‌های آهن کمک کنند (۲۱).

پوترسین، کاداورین، هیستامین و تیرامین رایج‌ترین آمین‌های بیوژنیک یافت‌شده در ماهیان نگهداری‌شده در یخچال هستند (۴۶) و به‌عنوان شاخص تازگی ماهی در نظر گرفته شده‌اند (۴۷). آمین‌های بیوژنیک می‌توانند توسط طیف وسیعی از باکتری‌ها در سطوح مختلف تولید شوند. آمین‌های بیوژنیک نه تنها شاخص‌های خوبی برای فساد ماهی هستند، بلکه وقتی میزان مصرف به اندازه کافی بالا باشد، می‌توانند به دلیل اثرات فیزیولوژیکی و سم‌شناسی خود، نگرانی‌های قابل‌توجهی در مورد سلامت انسان ایجاد کنند. هیستامین شایع‌ترین مسمومیت غذایی گزارش شده است و به عنوان یک ترکیب آلرژی‌زا شناخته می‌شود که منجر به علائم مختلف روده‌ای و خارج روده‌ای از جمله کهیر، حالت تهوع، استفراغ، اسهال، گرگرفتگی و سردرد همراه با خارش پوست می‌شود. از این منظر، پوشش با پست‌بیوتیک همچنین می‌تواند با به تأخیر انداختن تولید ترکیبات مضر آمین‌های بیوژنیک در محصولات ماهی، ایمنی موادغذایی را افزایش دهد (۴۸). سطوح هیستامین در فیله‌های ماهی با پوشش پست‌بیوتیک در ۱۵ روز نگهداری، هنوز پایین‌تر از حد قابل‌قبول ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین‌شده توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده (۴۹) بود، در حالیکه تیمار کنترل از این حد تجاوز کرد. نتایج مشابهی در مورد استفاده از پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* در ماهی سالمون دیده شد (۱۲). از آنجایی که فیله‌های ماهی در دمای یخچال نگهداری شدند، شمارش کل میکروبی به مدت ۱۵ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد تا باکتری‌های

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

سرمادوست که انتظار می‌رود گروه‌های غالب میکروارگانیسم‌های عامل فساد فیله‌های ماهی در طول نگهداری در یخچال باشند، شمارش شوند. گونه‌های *سودوموناس* اندازه‌گیری شدند، زیرا به عنوان ارگانیسم‌های بسیار مهم ایجادکننده فساد ماهی در طول نگهداری در یخچال شناسایی شدند (۵۰). گزارش شده است که رشد گونه‌های *سودوموناس* می‌تواند به تجمع متابولیت‌های بدبو و مضر در محصولات ماهی کمک کند (۵۱). در واقع، در این مطالعه، تعداد گونه‌های *سودوموناس* از نظر کمی نزدیک به گونه‌های سرمادوست بود (شکل b-۵)، که با نتایج گزارش‌شده در نگهداری فیله کپورعلفخوار مطابقت دارد (۵۲). کمیسیون بین‌المللی استانداردهای میکروبیولوژیکی موادغذایی، حد مجاز تعداد باکتری‌های سرمادوست (۶<log CFU/g) را تعیین کرده است (۵۳). ماندگاری غذاهای سرد، همبستگی بالایی با میزان باکتری‌های سرمادوست دارد. میزان کل باکتری‌های مزوفیل هوازی (TVC) به عنوان بخش مهمی از فلور میکروبی طبیعی در فیله‌های ماهی اندازه‌گیری شدند و می‌توانند به عنوان میکروارگانیسم‌های عامل فساد نیز در نظر گرفته شوند. مهم‌تر از آن، آنها به طور خاص اندازه‌گیری شدند، زیرا بسیاری از میکروب‌های متعلق به این گروه به عنوان پاتوژن‌های فرصت‌طلب شناخته شده‌اند (۵۴). تغییرات مشاهده‌شده در pH فیله ماهیان سی‌باس‌آسیایی را می‌توان به تولید بازهای فرار مانند آمونیاک و سایر متابولیت‌های باکتریایی و همچنین عملکرد آنزیم‌های میکروبی داخلی نسبت داد. این عوامل در مجموع منجر به تغییرات قابل‌توجه در بو، رنگ و بافت در طول نگهداری می‌شوند (۴۵). این یافته‌ها با نتایج Roshanzamir و همکاران که pH فیله میگو پوشش‌داده‌شده با سوپرناتانت باکتری‌های اسیدلاکتیک را بررسی کردند همسو بود (۱۶). TVB-N یکی از شاخص‌های مهم تازگی محصولات ماهی است که مسئول میزان تجمع محصولات تجزیه حاوی نیتروژن است. تری‌متیل‌آمین، دی‌متیل‌آمین و آمونیاک ترکیبات اصلی TVB-N بودند و بیشتر از تجزیه ترکیبات نیتروژنی با فعالیت‌های میکروبی در گوشت حاصل می‌شوند (۵۴). در بین تیمارهای آزمایشی، فیله‌های ماهی پوشش داده‌شده با ۱/۲ و ۱/۶ درصد پست‌بیوتیک توانستند سطح TVB-N را در کل دوره نگهداری (۱۵ روز) زیر ۲۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم حفظ کنند، که حداکثر سطح قابل قبول در گوشت ماهی است (۵۵). اثبات خواص آنتی‌اکسیدانی پست‌بیوتیک در این مطالعه و سایر مطالعات نشان داد که آنها می‌توانند در برابر گونه‌های فعال اکسیژن مانند رادیکال‌های پراکسید، آنیون‌های سوپراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل مقاومت کنند (۱۶،۲). حد قابل‌قبول برای مقدار TBA در یک نمونه ماهی در محدوده ۱ تا ۲ میلی‌گرم MDA در کیلوگرم است (۴۹) و اگر مقدار از این حد فراتر رود، بوی نامطبوع ماهی شروع می شود. تمام نمونه‌های آزمایش شده در تیمار ۱/۲ و ۱/۶ درصد پست‌بیوتیک تا روز نهم و در سایر تیمارها تا روز سوم در محدوده قابل‌قبول بود. فعالیت‌های میکروبی و آنزیمی ممکن است در از بین‌رفتن سختی فیله نقش داشته باشند و در نتیجه باعث تخریب بافت گوشت ماهی شوند (۴۵). اثرات پست‌بیوتیک *لاکتوباسیلوس‌کورواتوس* و *انتروکوکوس‌فاسیوم* بر فیله هیک اروپایی (*Merluccius merluccius*) نتایج مشابهی داشت (۵۶). استفاده از پست‌بیوتیک و اجزاء آن به عنوان پوشش، آن را برای مصرف‌کنندگان موادغذایی ایمن می‌کند (۵۷). امتیاز حسی مجاز باید بالاتر از ۴ باشد تا نمونه‌های فیله ماهی برای مصرف مناسب باشند (۵۸). بوی گندیدگی پس از ۱۵روز نگهداری به تدریج در گروه کنترل افزایش یافت و شروع آن از روز ششم بود. تکثیر میکروبی و تجمع تری‌متیل‌آمین و آمین‌های‌بیوژنیک، علت بوهای نامطبوع هستند (۵۷).

نتیجه‌گیری

نتایج آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی پست‌بیوتیک *L. acidophilus* در آزمایشگاه نشان داد که با تایید نتایج خصوصیات عملکردی پست‌بیوتیک و مهار تغییرات شیمیایی و میکروبیولوژیکی فیله‌های سی باس آسیایی، توانست ماندگاری ماهیان در دمای یخچال طی ۱۵ روز نگهداری را افزایش دهد. غلظت پست‌بیوتیک به میزان ۱/۶ درصد، مؤثرترین تیمار در حفظ کیفیت فیله در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بود و می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی برای محصولات شیلاتی توصیه شود.

References

1. Lücke FK. Overview of biopreservation. In Reference Module in Food Science. Amsterdam. 2023. Elsevier. http://doi.org.10.1016/B978-0-12-822521-9.00075-7.

2. Oelschlaeger TA. Mechanisms of probiotic actions – A review. International Journal of Medical Microbiology. 2010; 300: 57-62. http://doi.org/10.1016/j.ijmm.2009.08.005

3. Monika M, Tyagi JS, Sonale N, Biswas A, Murali D, Sky A, Tiwari K, Rokade JJ. Evaluating the efficacy of Lactobacillus acidophilus derived postbiotics on growth metrics, Health, and Gut Integrity in broiler chickens.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

Scientific Reports. 2024; 14:24768. https://doi.org/10.1038/s41598-024-74078-0

4. Tong T, Abbas Z, Zhang J, Wang J, Zhou Y, Si, D, Wei X, Zhang R. Antimicrobial activity and mechanism of novel postbiotics against foodborne pathogens. LWT - Food Science and Technology. 2025; 217: 117464.

5. Rahman MM, Sazili, AQ, Ahmad SA, Khalil KA, Ismail-Fitry MR, Sarke SK. Inhibitory efficacy, production dynamics, and characterization of postbiotics of lactic acid bacteria. BMC Microbiology. 2025; 25:485. https://doi.org/10.1186/s12866-025-04123-z

6. Jooyandeh Kar M, Alizadeh Behbahani B, Vasiee A, Jooyandeh H, Taki M. Postbiotic Lactiplantibacillus pentosus SM1-infused bioactive packaging: production, characterization, application, and AI modeling of beef slice preservation. Journal of Food Measurement and Characterization. 2025. https://doi.org/10.1007/s11694-025-03762-0

7. Sharafi H. Divsalar E, Rezaei Z, Liu SQ, Moradi M. The potential of postbiotics as a novel approach in food packaging and biopreservation: A systematic review of the latest developments. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2024; 64: 12524-12554.

8. Zhao Y, Yang B, Xing G, Wu Z, Chen Z, Li T, Wu J. Antibacterial and antibiofilm activities of postbiotics produced by Lactobacillus Rhamnosus KC3 isolated from camel milk against CR-APEC and MRSA, and their synergistic effects with β-Lactam antibiotics. Probiotics and Antimicrobial Proteins. 2025. https://doi.org/10.1007/s12602-025-10826-6

9. Li Wei L, Wang B, Bai J, Zhang Y, Liu C, Suo H, Wang C. Postbiotics are a candidate for new functional foods. Food Chemistry. 2024; 14: 101650.

10. Khani N, Shirkhan F, Ashkezary MR, Sarabi Aghdam V, Soleimani RA, Shokouhian SMJ, Hosseinzadeh N, Homayouni-Rad A. Functional foods based on postbiotics as a food allergy treatment. Foods. 2025; 14: 3584. https://doi.org/ 10.3390/foods14203584

11. Rafique N, Jan SY, Dar AH, Dash KK, Sarkar A, Shams R, Hussain SZ. Promising bioactivities of postbiotics: A comprehensive review. Journal of Agriculture and Food Research. 2023; 14: 100708.

11. Torres-Ochoa AL, Ruiz-Cabrera MA, Aguirre-Ba˜nuelos P, Franco-Vega A, Gonz´alez-García R, Abud-Archila M, Grajales-Lagunes A. Technological evaluation of cooked sausages enriched with postbiotics derived from Lactobacillus acidophilus. Food and Humanity. 2025; 5: 100835.

12. Cheng G, Jiang Z, Li S, Lin R, Wang X, Shi Y, Chen X, Xu Z, Kong W. Bacillus velezensis-fermented postbiotics as feed additives for viral infection control in largemouth bass (Micropterus salmoides). Fish & Shellfish Immunology. 2026; 174: 111381. http://doi.org/10.1016/j.fsi.2026.111381

13. Azizian A, Roomiani L, Shamsaie Mehrgan, M, Hosseini Shekarabi SP. Advancing fish health: systematic and bibliometric insights into functional feed additives for common carp and rainbow trout. Probiotics Antimicrobial Proteins. 2026; 41824189. http://doi.org.10.1007/s12602-026-10946-7.

14. García Márquez J, Cerezo I, Santos R, Magalhães R, Carvalho AP, Arijo S, Oliva Teles A, Serra C, Moriñigo MA. Vibrio proteolyticus DCF12.2 postbiotic modulates intestinal metabolic and immune pathways in zebrafish. Applied Microbiology and Biotechnology. 2026; 110: 74. https://doi.org/10.1007/s00253-026-13825-x

15. Mokhtaran L, Sabahi S, Noshad M, Noori SMA. Investigating the effects of basil (Ocimum basilicum L.) mucilage and cellulose nanofiber-based edible films with post-probiotics on fish fillet shelf life. Applied Food Research. 2025; 5: 100704. https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.100704

16. Roshanzamir T, Basiri S, Shekarforoush SS, Gholamhosseini A. Bio preservation Strategies: Evaluating the efficacy of Lactic acid cell-free supernatants in extending the refrigerated shelf life of shrimp. Applied Food Research. 2025; 5: 101047. https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.101047

17. Hua Q, Wong CH, Li D. Postbiotics enhance the functionality of a probiotic edible coating for salmon fillets and the probiotic stability during simulated digestion. Food Packaging and Shelf Life. 2022; 34: 100954

18. Sharafi H, Alirezalu A, Liu SQ, Karami A, Moradi M. Postbiotics-enriched flaxseed mucilage coating: A solution to improving postharvest quality and shelf life of strawberry. International Journal of Biological Macromolecules. 2024; 131398. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131398

19. Kumar M, Devi WM, Choudhury TG, Kamilya D, Monsang SJ. Irungbam S, Saha RK. Unraveling the Bioactivities and Immunomodulatory Potential of Postbiotics Derived from Bacillus subtilis and B. amyloliquefaciens for Aquaculture. Probiotics and Antimicrobial Proteins. https://doi.org/10.1007/s12602-025-10528-z

20. Jafarzadeh F, Roomiani L, Chelemal Dezfoulnejad M, Javaheri Baboli M, Askary Sary A. Harnessing paraprobiotics and postbiotics for enhanced immune function in Asian seabass (Lates calcarifer): Insights into pattern recognition receptor signaling. Fish and Shellfish Immunology. 2024; 151: 109725.

21. Chang HM, Foo HL, Loh TC, Lim ETC, Abdul Mutalib NE. Comparative studies of inhibitory and antioxidant activities, and organic acids compositions of postbiotics produced by probiotic Lactiplantibacillus plantarum strains isolated from Malaysian foods. Frontiers in Veterinary Science. 2021; 7: 602280.

22. Bravo M, Combes T, Martinez FO, Risco D, Goncalves P, Garcia-Jimenez WL, Cerrato R, Fernandez-Llario P, Gutierrez-Merino J. Wildlife symbiotic bacteria are indicators of the health status of the host and its ecosystem. Applied Environmental Microbiology. 2022; 88(1): e0138521. https:// doi. org/ 10. 1128/ AEM. 01385- 21

23. Chen CC, Lai CC, Huang HL, Huang WY, Toh HS, Weng TC, Chuang YC, Lu YC, Tang HJ. Antimicrobial activity of Lactobacillus species against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. Front Microbiology. 2019; 10:789. https:// doi. org/ 10. 3389/ fmicb.2019. 00789

24. Norouzi A, Shamsaie Mehrgan M, Roomiani L, Rajabi Islami H, Raissy M. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from brown alga (Sargassum angustifolium): structural characterization, antioxidant, and antitumor activities. Food Measurement and Characterization. 2023; 17: 6330-6340. https://doi.org/10.1007/s11694-023-02113-1

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

25. Sun Z, Zhao Z, Fang B, Hung W, Gao H, Zhao W, Lan H, Liu M, Zhao L, Zhang M. Effect of thermal inactivation on antioxidant, anti-inflammatory activities and chemical profile of postbiotics. Foods. 2023; 12: 3579. https://doi.org/10.3390/foods12193579

26. Gu C, Wang H, Wang L, Zhang K, Tian Y, Wang X, Xu G, Guo Z, Ahmad S, Egide 1, Jiahui Liu H, Li J, Savelkoul HFJ, Zhang J, Wang X. The antioxidant activity and metabolomic analysis of the supernatant of Streptococcus alactolyticus strain FGM. Scientific Reports. 2024; 10;14(1):8413. doi: 10.1038/s41598-024-58933-8.

27. Malle P, Vallé M, Bouquelet S. Assay of biogenic amines involved in fish decomposition. Journal of AOAC International. 1996; 79: 1: 43–49, https://doi.org/10.1093/jaoac/79.1.43

28. AOAC. Official methods of analysis of AOAC international. In W. Horwitz (Ed.), Association of Official Analytical Chemistry, 19th. 2012; (pp. 121–130). Washington DC: AOAC International

29. Moradi M, Mardani K, Tajik H. Characterization and application of postbiotics of Lactobacillus spp. on Listeria monocytogenes in vitro and in food models. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie. 2019; 111: 457–464. https://doi.org/ 10.1016/j.lwt.2019.05.072

30. Nasri F, Alizadeh A, İncili GK, Hayaloğlu AA, Moradi M. Investigating chemical composition and functionality of Lactobacillus acidophilus LA‑5 postbiotics prepared in classic and cheese whey media. Probiotics and Antimicrobial Proteins. 2025. 17: 4826–4840 https://doi.org/10.1007/s12602-024-10435-9

31. Miranda MH, Nader-Macias MEF. Low-cost culture media designed for biomass production of beneficial lactic acid bacteria for their inclusion in a formula to treat bovine reproductive infections. FEMS Microbiology Letters. 2023; 370: fnad033. https://doi. org/ 10. 1093/ femsle/ fnad0 33

32. Das BK, Samal SK, Samantaray BR. Antagonistic activity of cellular components of Pseudomonas species against Aeromonas hydrophila. Aquaculture. 2006; 253(1–4):17–24. https:// doi. org/10. 1016/j. aquaculture. 2005. 01. 028

33. Mukherjee A, Ghosh K. Antagonism against fish pathogens by cellular components and verification of probiotic properties in autochthonous bacteria isolated from the gut of an Indian major carp, Catla catla (Hamilton). Aquatic Research. 2016; 47(7): 2243–2255. https://doi. org/ 10. 1111/ are. 12676

34. Foo H, Loh T, Abdul Mutalib N, Rahim R. The myth and therapeutic potentials of postbiotics. Microbiome and metabolome in diagnosis, therapy, and other strategic applications. Academic Press, London. 2019; pp: 201–208

35. El-Mokhtar MA, Hassanein KM, Ahmed AS, Gad GF, Amin MM, Hassanein OF. Antagonistic activities of cell-free supernatants of lactobacilli against extended-spectrum β-lactamase producing Klebsiella pneumoniae and Pseudomonas aeruginosa. Infection and Drug Resistance. 2020; 13:543–552. https:// doi. org/ 10. 2147/ IDR.S2356 03

36. Jalali S, Mojgani N, Sanjabi MR, Saremnezhad S, Haghighat S. Functional properties and safety traits of L. rhamnosus and L. reuteri postbiotic extracts. AMB Express. 2024; 14(1): 114. https://doi.org/10.1186/s13568-024- 01768-3

37. Khani N, Shkouhian SMJ, Kafil HS, Gilani N, Abbasi A, Rad AH. Assessing the growth-inhibitory activity of postbiotics of Lactobacillus spp. against Staphylococcus aureus under in vitro circumstances and food model. Letters in Applied Microbiology. 2023; 76(2). https://doi.org/10.1093/lambio/ovac056. ovac056.

38. Mirnejad R, Vahdati AR, Rashidiani J, Erfani M, Piranfar V. The antimicrobial effect of Lactobacillus casei culture supernatant against multiple drug resistant clinical isolates of Shigella sonnei and Shigella flexneriin vitro. Iranian Red Crescent Medical Journal. 2013; 15: 122e126.

39. Abbasi E, Basiri S, Shekarforoush SS, Gholamhosseini A. The efficacy of tragacanth gel incorporated with cell-free supernatants of Lactobacillus sakei and Lactobacillus curvatus for preserving Pacific white shrimp. Food Control. 2023; 109781. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109781

40. de Barros JC, da Conceicao ML, Neto NJ. da Costa ACV, de Souza E L. Combination of Origanum vulgare L. essential oil and lactic acid to inhibit Staphylococcus aureus in meat broth and meat model. Brazilian Journal of Microbiology. 2012; 43(3), 1120–1127.

41. Abedi D, Feizizadeh S, Akbari V, Jafarian-Dehkordi A. In vitro anti-bacterial and anti-adherence effects of Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus on Escherichia coli. Research in Pharmaceutical Sciences. 2013; 8(4): 260–268

42. Messaoudi S, Manai M, Kergourlay G, Prévost H, Connil N, Chobert JM. Lactobacillus salivarius: Bacteriocin and probiotic activity. Food Microbiology. 2013; 36(2): 296–304

43. Islam F, Azmat F, Imran A, Zippi M, Hong W, Tariq F. Role of postbiotics in food and health: A comprehensive review. CyTA - Journal of Food. 2024; 22 (1): 2386412. https://doi.org/10.1080/19476337.2024.2386412

44. Kim HJ, Youn HY, Moon JS, Kim H, Seo KH. Comparative anti- microbial and anti-biofilm activities of postbiotics derived from kefir and normal raw milk lactic acid bacteria against bovine mastitis pathogens. Lebensmittel- Wissenschaft & Technologie. 2024; 191: 115699. https://doi.org/10.1016/j. lwt.2023.115699

45. Jalali S, Mojgani N, Haghighat S, Sanjabi MR, Sarem-Nezhad S. Investigation of antimicrobial and antioxidant properties of postbiotics produced by Lactobacillus rhamnosus and Limosilactobacillus reuteri and their potential application in surface decontamination of red meat. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie. 2024; 209: 116758. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116758

46. Prester L. Biogenic amines in fish, fish products and shellfish: A review. Food Additives & Contaminants: Part A Chemistry Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment. 2011; 28(11): 1547–1560. https://doi.org/10.1080/19440049.2011.600728

47. Chmiel M, Roszko M, Hac-Szymanczuk E, Cegielka A, Adamczak L, Florowski T. Pietrzak D, Bryla M, Swider O. Changes in the microbiological quality and content of biogenic amines in chicken fillets packed using various techniques and stored under different conditions. Food Microbiology. 2022; 102: 103920. https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103920

48. Oktariani AF, Ramona Y, Sudaryatma PE, Dewi I, Shetty K. Role of marine bacterial contaminants in histamine formation in seafood products: A review. Microorganisms.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

2022; 10(6). https://doi.org/10.3390/microorganisms10061197

49. FDA. Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance, 4th ed.; Chapter 7—Scombrotoxin (Histamine) Formatio; FDA: Silver Spring, MD, USA. 2020; pp: 113–152.

50. Gram L, Dalgaard P. Fish spoilage bacteria – problems and solutions. Current Opinion in Biotechnology. 2020; 13(3): 262–266. https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02) 00309-9

51. Mansur AR, Song EJ, Cho YS, Nam YD, Choi YS, Kim DO, Seo DH, Nam TG. Comparative evaluation of spoilage-related bacterial diversity and metabolite profiles in chilled beef stored under air and vacuum packaging. Food Microbiology. 2019; 77: 166–172. https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.09.006

52. Yu D, Jiang Q, Xu Y, Xia W. The shelf-life extension of refrigerated grass carp (Ctenopharyngodon idellus) fillets by chitosan coating combined with glycerol monolaurate. International Journal of Biological Macromolecules. 2017; 101: 448–454. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.038

53. ICMSF. Microorganisms in foods 2: sampling for microbiological analysis: principles and specific applications (2nd ed.). Toronto: University of Toronto Press. 1986. Retrieved from https://seafood.oregonstate.edu/sites/agscid7/files/snic/sampling-f or-microbiological-analysis-principles-and-specific-applications-icmsf.pdf.

54. Mozaffarzogh M, Misaghi A, Shahbazi Y, Kamkar A. Evaluation of probiotic carboxymethyl cellulose-sodium caseinate films and their application in extending shelf-life quality of fresh trout fillets. LWT – Food Science and Technology. 2020; 126: 109305. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109305

55. Durmus M. The effects of nanoemulsions based on citrus essential oils (orange, mandarin, grapefruit, and lemon) on the shelf life of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fillets at 4 ± 2◦. Journal of Food Safety. 2019; 40. DOI:10.1111/jfs.12718

56. Beatriz Gómez-Sala B, Carmen Herranz C, Díaz-Freitas B, Hernández PE, Sala A, Cintas LM. Strategies to increase the hygienic and economic value of fresh fish: Biopreservation using lactic acid bacteria of marine origin. International Journal of Food Microbiology. 2016; 223: 41-49

57. Taherpour M, Roomiani L, Rajabi Islami H, Shamsaie Mehrgan M. Application of Bacillus licheniformis probiotic vesicles as a natural antibacterial to improve the quality and safety of rainbow trout fillets. Journal of Fisheries. 2023; 76: 409-421

58. Bazargani-Gilani B, Pajohi-Alamoti M. The effects of incorporated resveratrol in edible coating based on sodium alginate on the refrigerated trout (Oncorhynchus mykiss L.) fillets' sensorial and physicochemical features. Food Science Biotechnology. 2020; 29: 207–216.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

Evaluation of the Functional Properties of Postbiotic Supernatant of *Lactobacillus acidophilus* and its Use in Improving the Shelf Life of Asian Seabass Fillets (*Lates calcarifer*)

Jafarzadeh Harisi F[1], Roomiani L[1], Chelemal Dezfulnezhad M[1], Javaheri Baboli M[1], Askary Sary A[1]*

1-Department of Fisheries, Ahv. C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

**Corresponding author: Email: Laleh.roomiani@iau.ac.ir*

Received 15 Dec, 2025 **Accepted 22 Jul, 2026**

Background and Objective: The aim of this study was to extract the postbiotic supernatant of *Lactobacillus acidophilus* and evaluate its functional properties in the laboratory and then apply it to Asian seabass fillets to determine its effect on shelf life during refrigerated storage.

Materials and Methods: The chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the postbiotic were measured. Uncoated and coated fish fillet samples (0.4, 0.8, 1.2 and 1.6% postbiotic) were evaluated at 4°C for microbial, chemical changes, biogenic amines, texture quality, color characteristics and sensory properties.

Results: The results showed that organic acids, especially lactic acid (18.04 ± 0.33 mg/g) were identified as key components in the postbiotic. The antioxidant activity of the postbiotic increased with increasing dose and its antimicrobial activity was dependent on the incubation time. The samples treated with 1.2 and 1.6% postbiotic coating showed the highest level of physicochemical protection and maximum microbial inhibition ($p<0.05$) compared to the control samples during the storage period.

Conclusion: The postbiotic obtained from the probiotic *Lactobacillus acidophilus* was suitable as a safe additive in fish fillets, however, additional tests are needed on the overall safety of the postbiotic for addition to functional foods. The 1.6% postbiotic treatment was able to increase the shelf life of fish fillets by six days more than the control treatment.

Keywords: *Lactobacillus acidophilus* postbiotic, Functional properties, Shelf life, Asian sea bass

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]