

اثر ضد باکتریایی و ضد اکسیداسیونی عصاره موسیر بر زمان ماندگاری ماهی قزل آلا رنگین کمان در شرایط نگهداری سرد (4 ± 1 درجه سانتی گراد)

سمانه پزشک^۱، مسعود رضایی^۲، هدایت حسینی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس

۳- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی. پست الکترونیکی: hedayat@sbmu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۲۶

تاریخ پذیرش: ۸۹/۸/۹

چکیده

سابقه و هدف: عصاره‌های گیاهی، یکی از منابع خوب آنتی‌اکسیدانی و مواد ضد میکروبی هستند. نیاز به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در صنایع غذایی، آرایشی و دارویی باعث تحقیقات علمی گسترده‌ای در دهه‌های اخیر شده است. هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی عصاره گیاه موسیر بر افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل آلا رنگین کمان شکم‌خالی نگهداری شده در شرایط سرد (4 ± 1 درجه سانتی گراد) بود.

مواد و روش‌ها: ماهی‌های تهیه شده به دو بخش تقسیم شدند. تعدادی نمونه به عنوان نمونه شاهد در خلأ بسته‌بندی شد. تعدادی دیگر در عصاره موسیر غوطه‌ور، سپس در خلأ بسته‌بندی و در دمای $4 \pm 1^\circ\text{C}$ نگهداری شد. آزمایش‌های میکروبی شامل کل بار باکتریایی (TVC) و باکتری‌های سرمادوست (PTC)، آزمایش‌های شیمیایی شامل شاخص پراکساید (PV)، شاخص تیوباربیتوریک اسید (TBA)، مجموع گازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) به همراه pH و ارزیابی حسی در یک دوره ۲۰ روزه انجام شد.

یافته‌ها: بر اساس نتایج حاصل، عصاره موسیر به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) اکسیداسیون لیپید را در ماهیان تیمار شده به تعویق انداخت. تعداد باکتری‌های سرمادوست و شمارش کل باکتری‌های مزوفیل‌هوازی در طول دوره نگهداری در ماهیان تیمار شده با عصاره موسیر کمتر از حد قابل قبول پیشنهادی ($7 \log \text{cfu/g}$) باقی ماند و فساد میکروبی در این نمونه‌ها نسبت به نمونه شاهد به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) کاهش یافت. طبق بررسی‌های حسی ماهی قزل آلا رنگین کمان تیمار شده با عصاره موسیر نسبت به نمونه شاهد تا انتهای دوره نگهداری، قابل مصرف بود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل، نشان دهنده تأثیر آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی عصاره موسیر در مدت ذخیره‌سازی و افزایش مدت ماندگاری نمونه‌های غوطه‌ور شده در عصاره موسیر بود.

واژگان کلیدی: قزل آلا رنگین کمان، عصاره موسیر، بسته‌بندی در خلأ، ماندگاری

• مقدمه

همچنین افزودن آنتی‌اکسیدان اشاره نمود (۲). اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی از جمله جهش‌زایی، ایجاد مسمومیت و سرطان‌زایی و همچنین، تأثیر یکسان با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی روی بازدارندگی اکسیداسیون باعث شده است که امروزه، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی توصیه شود (۳).

ماهیان با وجود ارزش غذایی بالایی که دارند در برابر فساد اکسیداتیو بسیار حساس هستند و ویژگی‌های کیفی آن‌ها در طول نگهداری در اثر فساد باکتریایی و اکسیداتیو کاهش می‌یابد (۱). جهت جلوگیری یا به تعویق انداختن فساد ماهی و فراورده‌های آن راهکارهای متعددی ارائه شده است که از آن جمله می‌توان به کنترل درجه حرارت و کاهش آن، بسته‌بندی تحت خلأ، بسته‌بندی در اتمسفر اصلاح شده (MAP) و

وزن ۳۵۰ گرم، میانگین طول ۲۸۰ میلی‌متر از یکی از استخرهای پرورشی شهرستان نور در زمستان ۱۳۸۸ خریداری شد و درون جعبه‌های حاوی یخ طی مدت ۶۰ دقیقه به آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شد. سپس، نمونه‌های ماهی با آب قابل شرب شست و شو داده شد و تخلیه شکمی و فلس‌کنی روی ماهی انجام گرفت. سه عدد ماهی به عنوان نمونه روز نخست آزمایش (روز صفر) انتخاب شد. ماهی‌های باقی‌مانده به دو بخش تقسیم شدند: تعدادی نمونه به عنوان نمونه شاهد در خلأ بسته بندی شد. بسته‌ها از جنس پلی اتیلن با دانسیته کم $75\mu\text{m}$ ضخامت داشتند. تعدادی نمونه هم به مدت ۳۰ دقیقه در عصاره موسیر با خلوص ۲۵ درصد، تهیه شده از شرکت ماگنولیا (ساوه-ایران) غوطه‌ور ($1/5\%$ حجمی-حجمی) شد و پس از بسته‌بندی در خلأ درون جعبه‌های جداگانه قرار داده شد و در دمای $10\pm 4^\circ\text{C}$ به مدت ۲۰ روز نگهداری شد. در روزهای ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ مدت زمان نگهداری، سه ماهی از هر بخش به طور تصادفی انتخاب شد و به منظور تعیین شاخص‌های کیفی (شیمیایی، میکروبیولوژیکی و حسی) مورد آزمایش قرار گرفت.

اندازه گیری pH ۵ گرم نمونه چرخ شده از هر تیمار به ۴۵ml آب مقطر اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه در یک مخلوط-کن قرار داده شد. سپس pH نمونه‌ها با pH متر دیجیتالی (Multiline P4 Wtw) با استانداردهایی در pH های ۴ و ۷ اندازه‌گیری شد (۲۱).

آزمایش‌های شیمیایی: در ابتدا نمونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان چرخ شد و سپس مقادیر کافی از گوشت هموژن شده برای هر یک از آنالیزهای شیمیایی به کار رفت. برای اندازه‌گیری شاخص پراکساید (Peroxide value) PV و تیوباربیتوریک اسید (TBA) ($\text{Thobarbituric acid}$) از روش Egan و همکاران (۲۲) استفاده شد. در این روش به ۱۵ گرم نمونه همگن شده گوشت ماهی ۶۰cc متانول و ۶۰cc کلروفرم اضافه شد و بعد از ۲۴ ساعت به آن ۴۸cc آب مقطر افزوده و بعد از ۱ ساعت، روغن مورد نیاز از مخلوط فوق جدا شد. نمونه روغن استخراج شده ماهی به دقت در ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری وزن شد و حدود ۲۵ml از محلول اسیداستیک کلروفرم (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۳:۲) به محتویات ارلن اضافه شد. سپس ۵/۵ml محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰ml آب مقطر و ۵/۵ml محلول نشاسته ۱٪ به مجموعه افزوده شد. مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیترو

عصاره‌های گیاهی منابع عمده ضداکسیدانی و ضد میکروبی طبیعی هستند. اثر عصاره آویشن و نعنا بر ماهی باس دریایی آسیا به طور قابل توجهی موجب کند شدن روند فساد شده است (۴). عصاره رزماری به طور قابل ملاحظه‌ای عمر ماندگاری میگوی صورتی را افزایش داده است (۵). عصاره رزماری به عنوان آنتی‌اکسیدان و آنتی‌باکتریال طبیعی برای افزایش ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان استفاده شد که فساد اکسیداسیونی و باکتریایی در نمونه تیمار شده با عصاره گیاهی کند شد (۶). در مورد خواص ضدباکتریایی و ضداکسیدانی "سیر" مطالعات زیادی انجام گرفته است (۷-۱۰). اثر ضداکسیدانی و ضدباکتریایی سیر به دلیل وجود ترکیبات ارگانوسولفوری مانند دی‌آلی‌دی‌سولفید (DADS) و دی‌آلی‌سولفید (DAS) است (۱۱). همانند گیاه سیر، موسیر (*Allium ascalonicum*) نیز از خانواده Allium است. مطالعات متعددی تاکنون در مورد خواص و ویژگی‌های موسیر صورت گرفته که از جمله آن‌ها می‌توان به این موارد اشاره کرد: اثرات هیپوکلستروملی (۱۲)، جلوگیری از همولیز و تخلیه گلوکوتانیون ناشی از فشار استرس در گلبول‌های قرمز انسان (۱۳)، اثر هیپوگلیسمی (۱۴)، اثرات ضدباکتریایی (۱۵)، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی (۱۶) و اثرات هماتولوژیکی (۱۷). علاوه بر این‌ها، برخی از ترکیبات مؤثر این گیاه مثل پپتید ضد قارچ آسکالین (۱۸) و لکتین اختصاصی مانوز (۱۹) شناسایی و جداسازی شده‌اند. گیاه موسیر نیز همانند گیاه سیر دارای ترکیبات آلی گوگردی است، اما تاکنون مطالعات اندکی درباره خواص ضدباکتریایی و ضداکسیدانی این گونه گیاهی انجام شده است (۲۰).

فراوانی مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دهه اخیر، ارزش اقتصادی و غذایی آن، درصد بالای تولید، وجود مقادیر زیاد پروتئین و اسید چرب غیراشباع و شیوه‌های نگهداری موقت سبب شده است تا بررسی کیفیت و تعیین ماندگاری این ماهی با استفاده از روش‌های مختلف از جنبه‌های مهم مطالعات کیفی در بهداشت و تغذیه انسان به شمار رود. از این جهت، تحقیق حاضر برای اولین بار به منظور بررسی اثر ضدباکتریایی و ضداکسیدانی عصاره موسیر بر کیفیت و عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگهداری شده در دمای $10\pm 4^\circ\text{C}$ انجام شد.

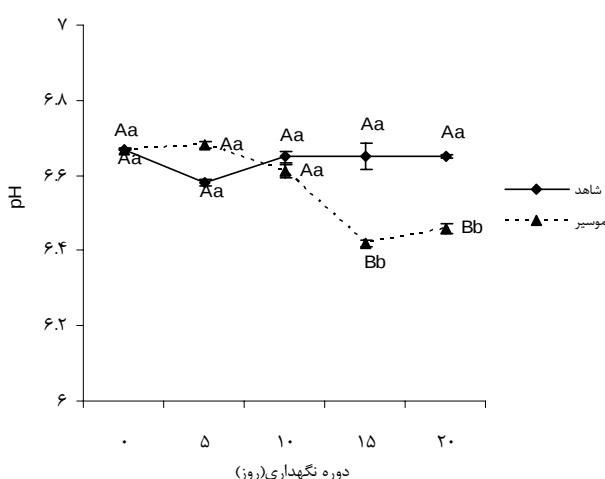
• مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و تیمار کردن نمونه‌ها: ۲۷ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین

آنالیز آماری: آنالیز آماری داده‌های حاصله با نرم افزار SPSS₁₆ انجام گرفت و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد. با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین مقادیر حاصل از هر شاخص در زمان‌های صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ روز به کار رفت. به منظور تجزیه و تحلیل مقادیر کمی شرط نرمال بودن قبل از آزمون آنالیز واریانس با آزمون کولموگوروف-سمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) و همگنی واریانس داده‌ها به وسیله آزمون لون (Levene) بررسی شد. برای تعیین دقیق وجود یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف زمان‌های مورد آزمایش با تیمار شاهد، از آزمون تفاوت حداقل معنی‌دار (LSD) و برای مقایسه میانگین‌های تیمارهای چندگانه با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. برای آنالیز آماری آزمون حسی از روش غیر پارامتری کای اسکور استفاده شد. در کلیه مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد فرض صفر ۵٪ در نظر گرفته شد.

• یافته‌ها

pH: میزان pH نمونه شاهد در زمان‌های مختلف با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشت، اما برای ماهیان تیمار شده با عصاره موسیر بیشترین میزان اسیدیته در زمان‌های صفر، ۵ و ۱۰ و کمترین آن در زمان‌های ۱۵ و ۲۰ مشاهده شد. مقایسه pH تیمار شاهد و موسیر فقط در زمان بیستم نگهداری اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) را نشان داد (شکل ۱).



شکل ۱- میزان تغییرات pH در طی دوره نگهداری (روز). حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$

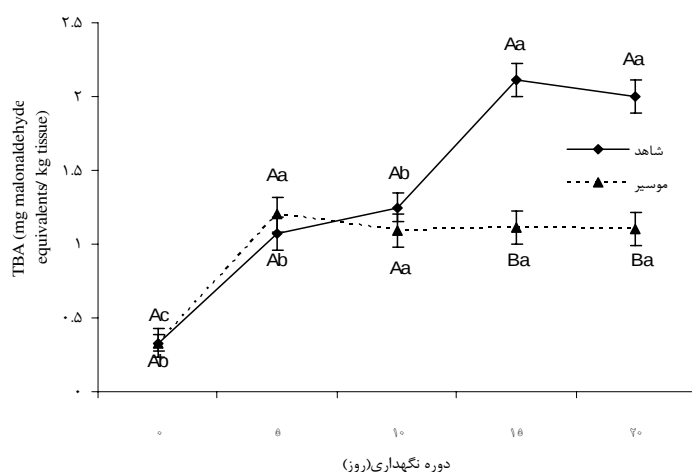
شد. برای اندازه‌گیری TBA مقدار ۲۰۰ mg از نمونه چرخ شده ماهی به یک بالن ۲۵ میلی‌لیتری انتقال داده شد و با ۱- بوتانول به حجم رسانده شد. ۵ml از این مخلوط را در لوله در-دار ریخته و ۵ml به آن معرف TBA اضافه شد. لوله‌های فوق به مدت ۲ ساعت در حمام آب ۹۵°C قرار گرفتند و سپس در دمای محیط سرد شدند و مقدار جذب آن‌ها در $\lambda = 530 \text{ nm}$ به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در مقابل آب مقطر خوانده شد.

اندازه‌گیری میزان کل بازهای نیتروژنی فرآر TVB-N (Total volatile base nitrogen) به روش Jeon و همکاران (۲۳) انجام شد. در این روش ۱۰ گرم از نمونه گوشت، ۲ گرم اکسید منیزیم (کاتالیزور)، ۲ قطره ضدکف و ۳۰۰ cc آب مقطر به بالن کدال اضافه شد. درون ارلن ۲۵ cc اسید بوریک ۲٪ و ۲ قطره متیل رد ریخته شد و در زمانی که حجم بالن به CC ۱۰۰ رسید با اسید سولفوریک ۱/۱ نرمال تیتیر شد.

آزمایش‌های میکروبی: ۲۵ سانتی‌متر مربع از پوست ناحیه قدامی پشت ماهی با اتانول ۹۶٪ ضدعفونی شد. سپس با انبرک و اسکارپل استریل، پوست قسمت ضدعفونی شده، کنده شد و ۱۰ گرم از گوشت قسمت زیرین برداشته و در ۹۰ml سرم فیزیولوژی استریل ۸۵٪ قرار داده شد و به مدت ۶۰ ثانیه در یک مخلوط‌کن آزمایشگاهی هموژن شد. سپس، رقت‌های مورد نیاز تهیه شد. به میزان ۱ml از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلت در محیط پلیت کانت آگار PCA (Plate count) agar قرار گرفت. پلیت کانت‌های کشت داده شده مربوط به کل باکتری‌ها بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷°C شمارش شدند و پلیت‌های مرتبط با باکتری‌های سرمادوست بعد از ۱۰ روز انکوباسیون در ۷°C شمارش شدند (۲۴-۲۶).

بررسی حسی: نمونه‌ها در هر دوره زمانی نمونه‌برداری به وسیله ۵ فرد آموزش دیده از نظر شاخص‌های حسی مطابق با طرح درجه‌بندی انجمن اروپا EC (European Commission) درجه‌بندی شدند. ظاهر، پوست، آبشش، چشم و لعاب سطحی، همچنین بوی ناشی از آبشش در چهار درجه کیفی ارزیابی شد. در طرح درجه‌بندی EC، به کیفیت عالی (E)، کیفیت مناسب (A)، کیفیت خوب (B)، کیفیت بد (C) به ترتیب نمرات ۴، ۳، ۲ و ۱ اختصاص داده شد. نمره ۳ به عنوان حد قابل قبول برای مصارف انسانی در نظر گرفته شد (۲۷).

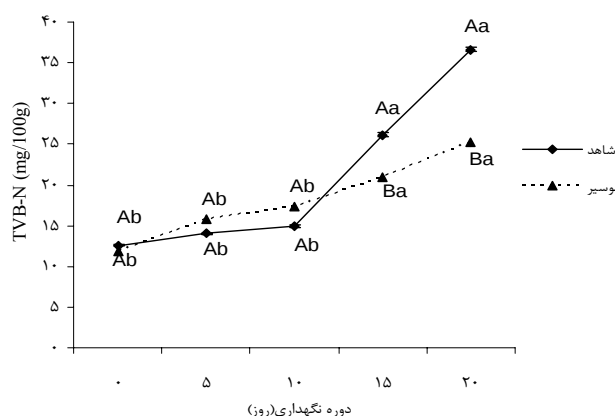
تیوباربیتوریک اسید: بیشترین میزان تیوباربیتوریک اسید TBA نمونه شاهد در زمان‌های ۱۵ و ۲۰ و کمترین آن در زمان صفر بود. همچنین، برای تیمار موسیر کمترین مقدار TBA در زمان صفر بود و سایر زمان‌ها از این نظر اختلاف معنی‌داری را با یکدیگر نشان ندادند. مقایسه نمونه شاهد و نمونه‌های تیمار شده با عصاره موسیر نشان داد که در زمان‌های صفر، ۵ و ۱۰ میزان TBA با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند، اما در زمان‌های ۱۵ و ۲۰ تیمار شاهد دارای TBA بیشتری در مقایسه با نمونه تیمار شده با موسیر بود و اختلافشان معنی‌دار ($p < 0.05$) بود (شکل ۴).



شکل ۴- میزان تغییرات تیوباربیتوریک اسید (TBA) طی دوره نگهداری (روز). حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$

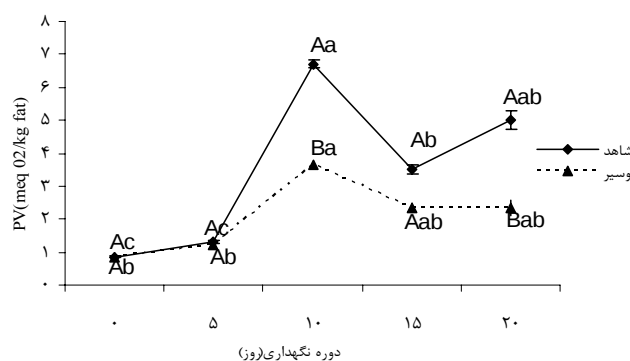
باکتری‌های مزوفیل هوازی: با افزایش طول دوره نگهداری، میزان شمارش کل باکتری‌های مزوفیل هوازی TVC (Total viable count) به طور صعودی افزایش یافت؛ به طوری که بیشترین میزان کل بار باکتری در روزهای پایانی دوره نگهداری و کمترین آن در روز صفر مشاهده شد. برای نمونه شاهد، بیشترین میزان کل بار باکتری از زمان ۱۰ به بعد و کمترین میزان آن در زمان صفر مشاهده شد. مقایسه میزان بار کل باکتری نمونه‌های شاهد و نمونه‌های تیمار شده با عصاره موسیر اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) را از زمان ۵ تا پایان دوره نشان داد (شکل ۵).

بازهای نیتروژنی فرار: میزان TVB-N در دوره‌های مختلف نگهداری برای نمونه شاهد و نمونه‌ها تیمار شده با موسیر در زمان‌های ۱۵ و ۲۰ بیشترین و در زمان‌های صفر، ۵ و ۱۰ کمترین بود. بیشترین مقدار پراکساید برای تیمار شاهد و موسیر در روز دهم نگهداری مشاهده شد. مقایسه میزان TVB-N در زمان‌های ۱۵ و ۲۰ بین نمونه‌های شاهد و نمونه تیمار شده با موسیر اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) را نشان داد (شکل ۲).



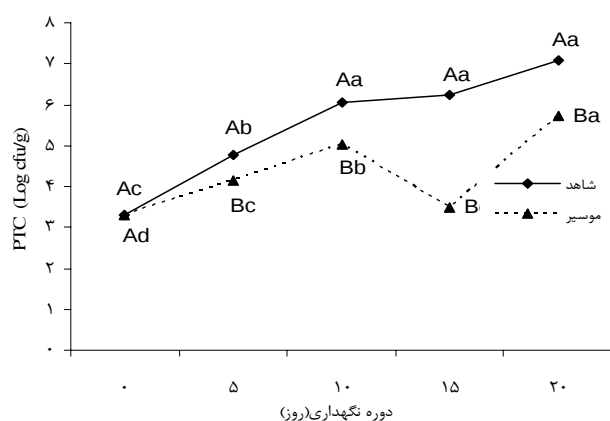
شکل ۲- میزان تغییرات در مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) در طی دوره نگهداری (روز). حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$

پراکساید: میزان PV در نمونه شاهد در زمان‌های ۱۰، ۱۵ و ۲۰ اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) را در مقایسه با نمونه تیمار شده با موسیر نشان داد، در حالی که در سایر زمان‌ها با یکدیگر اختلاف آماری مشاهده نشد (شکل ۳).



شکل ۳- تغییرات میزان پراکساید (PV) در طی دوره نگهداری (روز). حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$

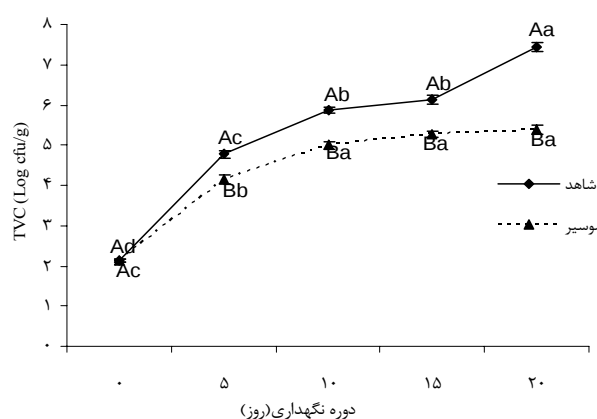
عوامل بررسی شده در آنالیز حسی امتیاز E (کیفیت عالی) داشتند. تا زمان ۱۰ نمونه‌های شاهد از کیفیت قابل قبولی جهت مصرف برخوردار بودند. در زمان ۱۵ عوامل پوست و بو نمره C (کیفیت بد) و عوامل آبشش، چشم و ظاهر نمره B (کیفیت خوب) داشتند و به طور کلی نمونه‌ها غیر قابل مصرف تشخیص داده شدند. در صورتی که نمونه‌های تیمار شده با عصاره موسیر تا پایان دوره قابل قبول بودند و در زمان ۲۰ نمره B دریافت کردند. نتایج ارزیابی حسی اثر معنی‌دار عصاره موسیر را در افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلا نشان داد.



شکل ۶- میزان تغییرات مجموع باکتری‌های سرما دوست (PTC) طی دوره نگهداری (روز). حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$

باکتری‌های سرما دوست: بیشترین میزان باکتری‌های سرما دوست PTC (Psychrotrophic count) نمونه‌های شاهد و نمونه‌های تیمار شده با عصاره موسیر در زمان ۲۰ و کمترین آن در زمان صفر مشاهده شد. مقایسه میزان باکتری‌های سرما دوست بین نمونه شاهد و نمونه تیمار شده با عصاره موسیر نشان داد که بجز زمان صفر در همه زمان‌های تحت مطالعه، نمونه شاهد، باکتری‌های سرما دوست بیشتری داشت که از نظر آماری، معنی‌دار ($p < 0.05$) بود (شکل ۶).

آنالیز حسی: درصد امتیازات نهایی ویژگی‌های حسی در روزهای نمونه‌برداری در تیمارهای مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. در زمان صفر، نمونه‌های تهیه شده از نظر



شکل ۵- میزان تغییرات مجموع بار میکروبی (TVC) طی دوره نگهداری (روز). حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$

جدول ۱- نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های شاهد و تیمار شده با عصاره موسیر طی دوره نگهداری (روز)

تیمار	نمونه‌های شاهد					نمونه‌های بسته‌بندی شده در خلأ با تیمار موسیر				
روزهای نگهداری	۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰
پوست	E	A	A	C	C	E	E	E	A	B
آبشش	E	A	B	B	C	E	A	A	B	B
چشم	E	A	A	B	C	E	E	A	B	B
بو	E	A	B	C	C	E	E	A	B	B
ظاهر	E	A	B	B	C	E	E	A	A	B

E: عالی، A: خوب، B: مناسب، C: بد

• بحث

طبق آنالیزهای آماری، تفاوت معنی‌داری در عامل pH تا زمان ۱۵ دوره نگهداری بین نمونه شاهد و نمونه‌های تیمار شده با عصاره موسیر مشاهده نشد. شاخص pH در روز ۲۰ دوره نگهداری اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) را بین شاهد و نمونه تیمار شده با عصاره موسیر نشان داد. Yilmaz و همکاران دلیل کاهش جزئی pH در ابتدای دوره را نتیجه تأثیر تجزیه اسید کربنیک و وجود ترکیبات آمونیومی دانست که در اثر فساد باکتریایی تولید می‌شود (۲۸). کمتر بودن pH در نمونه تیمار شده با عصاره موسیر را می‌توان به خاصیت آنتی‌باکتریایی عصاره موسیر ربط داد (۲۹).

مجموع بازهای فرار نیتروژنی TVB-N از آمونیاک و آمین‌های فرار تشکیل شده است که به عنوان یکی از نشانگرهای اصلی تخریب و تجزیه گوشت محسوب می‌شود (۲۸). طبق گزارشات موجود میزان $25 \text{ mgTVB-N}/100\text{g}$ بالاترین سطح مورد قبول برای TVB-N است (۳۱، ۳۰). مطابق شکل ۲ میزان TVB-N در نمونه‌های تیمار شده با عصاره موسیر از این مقدار تجاوز نکرد، در صورتی که میزان آن در نمونه‌های شاهد از حد مجاز بالاتر رفت؛ به طوری که در زمان ۱۵ و ۲۰ اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) بین نمونه شاهد و نمونه‌های تیمار شده با عصاره موسیر مشاهده شد. افزایش میزان TVB-N در طول دوره نگهداری را می‌توان با فعالیت‌های باکتری‌های مولد فساد و آنزیم‌های درونی مرتبط دانست (۲۸). از آنجا که TVB-N به طور عمده در اثر تجزیه باکتریایی گوشت ماهی ایجاد می‌شود، افزایش بار باکتریایی در طول دوره را نیز می‌توان دلیلی برای این مورد دانست (۲۶).

میزان PV نمونه شاهد و نمونه تیمار شده با موسیر در مطالعه حاضر تا ۱۰ روز نگهداری، در تیمارهای مختلف روند افزایشی داشت بعد از این مدت، یک کاهش ناگهانی در هر دو تیمار دیده شد که ممکن است به دلیل واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون و تولید کربونیل‌ها و ترکیبات فرار باشد. واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون از جمله واکنش با پروتئین‌های قابل حل در نمک و تولید ترکیبات کربونیلی مانند استالدئید، پروپیونالدئید، استن و اسیدهای چرب فرار مثل اسید کاپروئیک و اسید پروپیونیک و نیز گازهای فرار نیز می‌تواند دلایل چنین کاهشی باشند (۳۲). میزان پراکسید در همه نمونه‌ها کمتر از حد قابل قبول پیشنهادی (۱۰ تا ۲۰

میلی‌اکی والان گرم پراکسید در کیلوگرم چربی) توسط Huss بود (۳۳). در دوره نگهداری از زمان ۱۰ تا پایان دوره، نمونه‌های تیمار شده با عصاره موسیر در مقایسه با نمونه‌های شاهد اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) داشتند که می‌تواند به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین اثر آنتی‌میکروبی واکنش‌های آنزیمی باکتریایی مرتبط با اکسیداسیون چربی در ماهی باشد (۲۹).

شاخص TBA، میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به ویژه آلدئیدها را نشان می‌دهد. روند افزایشی این شاخص در طول مدت نگهداری ممکن است به دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در ماهیچه باشد. همچنین، آلدئیدها به عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون از تجزیه هیدروپراکسیدها ایجاد می‌شوند. روند افزایشی هیدروپراکسیدها می‌تواند دلیلی بر این موضوع باشد. کاهش میزان TBA در بعضی از روزهای نگهداری ممکن است به دلیل کاهش هیدروپراکسیدها و واکنش بین مالون‌آلدئید با پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه و گلیکوزن باشد که باعث کاهش مقادیر مالون‌آلدئید می‌شود (۳۴). مقایسه میزان تیوباریتوریک اسید (TBA) نمونه شاهد و نمونه تیمار شده با عصاره موسیر در زمان‌های ۱۵ و ۲۰ اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) را نشان داد که می‌توان آن را به داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره موسیر نسبت داد (۱۱).

شمارش کل باکتری‌های مزوفیل هوازی اولیه برای گونه‌های مختلف آب شیرین $2-6 \text{ cfu/g log}$ پیشنهاد شده است (۳۱، ۳۰). گروه اصلی میکروارگانیسم‌های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده به صورت سرد، باکتری‌های سرمادوست گرم منفی هستند (۳۵، ۲۵) که بیشترین حد پیشنهاد شده برای باکتری‌های سرمادوست در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان 7 log cfu/g است (۲۵). با افزایش طول دوره نگهداری، میزان TVC و میزان PTC در نمونه‌های شاهد بیشتر از حد قابل قبول بودند، در صورتی که TVC و PTC در نمونه‌های تیمار شده با عصاره موسیر در پایان دوره نگهداری به ترتیب به $5/38 \text{ log cfu/g}$ و $5/75 \text{ log cfu/g}$ رسید. مقایسه TVC و PTC در نمونه تیمار شده با عصاره موسیر با نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) را از زمان ۵ تا پایان دوره نگهداری نشان داد که اثرات بازدارندگی عصاره موسیر بر کل باکتری‌های قابل رؤیت

(Polyunsaturated Fatty Acids) و تولید محصولات سمی اکسیداسیون می‌شود (۳۶). و از طرفی افزایش هیدرولیز چربی و تجمع FFA منجر به کاهش برخی شاخص‌های مقبولیت محصول می‌شود زیرا ثابت شده FFA روی ثبات پروتئین‌ها تأثیر دارد و موجب تخریب بافت از طریق واکنش دادن با پروتئین‌ها می‌گردد که اکسید شدن پروتئین‌ها در این وضعیت به علت افزایش دسترسی پروتئین به اکسیژن و چربی‌های با وزن مولکولی بالا (مثل تری گلیسریدها و فسفولیپیدها) اتفاق می‌افتد (۳۷).

سپاسگزاری: از آقایان مهندس حامد یوسف‌زاده، قاسم تقی‌زاده و دیگر دوستان گرامی به سبب همکاری در انجام مراحل تحقیق قدردانی می‌شود.

و باکتری‌های سرمادوست را تأیید می‌کند. این نتایج با تحقیقات Sallam و همکاران که تأثیر عصاره گیاهی را روی گوشت بررسی کردند، مطابقت دارد (۲۱).

مطابق بررسی‌های حسی عمر ماندگاری نمونه شاهد و نمونه تیمار شده با عصاره موسیر به ترتیب ۱۵ و ۲۰ روز تعیین شد. کاهش کیفیت تیمار شاهد بیشتر به شاخص‌های بو و پوست ماهی مربوط بود. نمونه تیمار شده با عصاره موسیر تا انتهای دوره نگهداری برای مصرف‌کننده، قابل مصرف تشخیص داده شد. روند تغییر وضعیت ویژگی‌های حسی در تیمارها طی مدت نگهداری هماهنگ و همسو با تغییرات اکسیداسیون در تیمارهای مورد آزمایش بود. این موضوع را می‌توان به اکسیداسیون چربی نسبت داد که باعث تخریب و افت کیفیت حسی و کاهش مقدار مواد مغذی از جمله اسیدهای چرب چند غیراشباع ضروری PUFA

References

1. Mexis SF, Chouliara E, Kontominas MG. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf-life extension of rainbow trout fillets stored at 4°C. *Food Microbiol.* 2009; 26: 598-605.
2. Lin CC, Lin CS. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea. *Food Chem* 2004; 16(2): 169-75.
3. Sakanaka S, Tachibana Y, Okada Y. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (Kakinoha-cha). *Food Chem* 2005; 89(4): 569-75.
4. Harpaz S, Glatman L, Drabkin V, Gelman A. Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater reared Asian sea bass fish (*Lates calcarifer*). *J Food Prot.* 2003; 66: 410-7.
5. Cadun A, Duygu Kıs_ıla, S_u_kran, C akl. Marination of deep-water pink shrimp with rosemary extract and the determination of its shelf-life. *Food Chem* 2008; 109: 81-87.
6. Etemadi H, Rezaei M, Abedian A. Antibacterial and antioxidant potential of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) on shelf life extension of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Food science and technology* 2008; 5 : 67-77.
7. Avato P, Tursil E, Vitali C. Allylsulfide constituents of garlic volatile oil as antimicrobial agents. *Phytomedicine* 2000; 7: 239-43.
8. Borek C. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *J Nutr* 2001; 131: 1010-15.
9. Harris JC, Cottrell SL, Plummer S. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Appl Microbiol Biotechnol* 2001; 57: 282-6.
10. Moriguchi T, Takasugi N, Itakura Y. The effects of aged garlic extract on lipid peroxidation and the deformability of erythrocytes. *J Nutr* 2001; 131: 1016-19.
11. Tsao SM, Yin MC. In-vitro antimicrobial activity of four diallyl sulphides occurring naturally in garlic and Chinese leek oils. *J Med Microbiol* 2001; 50: 646-9.
12. Nishimura H, Higuchi O, Tateshita K. Antioxidative activity of sulfur-containing compounds in *Allium* species for human LDL oxidation in vitro. *Biofactors* 2004; 21: 277-80.
13. Leelarungrayub N, Chanarat N, Rattanapanone V. Potential activity of Thai shallot (*Allium Ascalonicum* L.) extract on the prevention of hemolysis and glutathione depletion in human erythrocyte from oxidative stress. *CMU J* 2004; 3: 225- 234.
14. Jalal R, Bagheri SM, Moghimi A, Rasuli MB.. Hypoglycemic effect of aqueous shallot and garlic extracts in rats with fructose-induced insulin resistance. *J Clin Biochem Nutr* 2007; 41(3): 218-23.
15. Adeniyi BA, Anyiam FM. In vitro anti-*Helicobacter pylori* potential of methanol extract of *Allium ascaloni-cum* Linn. (Liliaceae) leaf: susceptibility and effect on urease activity. *J Phytother Res* 2002; 18(5): 358-61.
16. Leelarungrayub N, Rattanapanone V, Chanarat N, Gebicki J. Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. *Nutrition* 2006; 22(3): 266-74.
17. Owoyele BV, Alabi OT, Adebayo JO, Soladoyea AO, Abioyeb AIR, Jimohb SA. Haematological evaluation

- of ethanolic extract of *Allium ascalonicum* in male albino rats. *J Fitoterapia* 2004; 75: 322-6.
18. Wang HX, Ng TB, Ascalin a new anti-fungal peptide with human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase-inhibiting activity from shallot bulbs. *J Peptides* 2002; 23: 1025-29.
 19. Mo HQ, Vandamme EJM, Peumans WJ, Goldstein IJ. Purification and characterization of a mannose-specific lectin from shallot (*Allium ascalonicum*) Bulbs. *J Arch Biochem Biophys* 1993; 306(2): 431-8.
 20. Yin MC, Faustman C, Riesen, JW. α -Tocopherol and ascorbate delay oxymyoglobin and phospholipid oxidation in vitro. *J Food Sci* 1993; 58: 1273-86.
 21. Sallam KI, Ishioroshi M, Samejima K. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. *LWT.Food Sci Technol* 2004; 37: 849-55.
 22. Egan H, Kirk RS, Sawyer R. In: Pearson's chemical analysis of food. (9th ed). Longman Scientific and Technical 1997; 609-34.
 23. Jeon YJ, Kamil JY, Shahidi F. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and atlantic cod. *J Agric Food Chem.* 2002; 50: 5167-78.
 24. Ben-Gigirey B, Vieites Baptista de Sousa JM, Villa TG, Barros-Velazquez J. Changes in iogenic amines and microbiological analysis in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage. *J Food Prot* 1998; 61: 608-15.
 25. Sallam KI. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *J Food Control* 2007;18: 566-575.
 26. Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chem* 2010; 120: 193-8.
 27. Howgate P, Johnston A, Whittle KJ. Multilingual guide to EC freshness grades for Wshery products. Aberdeen: Marine Laboratory, Scottish OYce of Agriculture, Environment and Fisheries Department;1992.
 28. Yilmaz M, Ceylan ZG, Kocaman M, Kaya M, Yilmaz H. The effect of vacuum and modified atmosphere packaging on growth of *Listeria* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *J Muscle Foods* 2009; 20: 465-77.
 29. Fan W, Sun J, Chen Y, Qiu J, Zhang Y, Chi Y. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chem* 2009; 115: 66-70.
 30. Gimenez B, Roncales P, Beltran JA. Modified atmosphere packaging of filleted rainbowtrout. *J Sci Food Agric* 2002; 84: 1154-59.
 31. Arashisara S, Hisara O, Kayab M, Yanik T. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorynchus mykiss*) fillets. *Int J Food Microbiol* 2004; 97: 209-14.
 32. Vidya SRG, Srikar LN. Effect of preprocess ice storage on the lipid chenges of japanese hreadfin bream (*Nemipterus japonicus*) mince during frozen. *Asian Fisher Sci* 1996; 9: 109-114.
 33. Huss HH. Quality and quality changes in freshfish. Rome: FAO; 1995. (FAO Fisheries Technical Paper No. 348).
 34. Gomes HA, Silva EN, Nascimento MRL, Fukuma HT. Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chem* 2003; 80: 433-7.
 35. Gram L, Huss HH. Microbiologica lspoilage of fish and fishproducts. *J Food Microb*1996; 33: 121-37.
 36. Kolakowska A, Zienkowicz L, Domiszewski Z, Bienkiewicz G. Lipid changes and quality of whole of whole- and gutted Rainbow trout during storage in ice. *Acta Ichthyologicaet Piscatoria* 2006; 36 (1): 39-47.
 37. Rodriguez A, Carriles N, Cruz M, Aubourg JP. Changes in the of farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with previous storage in slurry ice (-1.5 °C). *LWT-Food Science and Technology* 2008; 41: 1726-32.

Antibacterial and antioxidant activities of shallot extract (*Allium ascalonicum*) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) storage

Pezeshk S¹, Rezaei M², Hosseini H^{*3}

1- M.Sc. Student, Dept. of Fisheries, Faculty of Marin Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

2- Associate. Prof., Dept. of Fisheries, Faculty of Marin Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

3- *Corresponding author: Associate prof, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: hedayat@sbmu.ac.ir

Received 17 Jul, 2010

Accepted 31 Oct, 2010

Background and Objective: Plant extracts are rich sources of natural antioxidant and antibacterial compounds. In recent decades, the need for using natural antioxidants in foods, pharmaceuticals and cosmetics has prompted extensive scientific research. The purpose of this investigation was to determine the antioxidant and antibacterial activities of shallot extract on shelf-life of vacuum-packaged gutted rainbow trout stored at $4 \pm 1^\circ\text{C}$.

Materials and Methods: Prepared fish were divided into two batches. One batch was treated by dipping in an aqueous solution of shallot extract, vacuum-packaged, and kept at $4 \pm 1^\circ\text{C}$, serving as the treatment sample, and one batch was vacuum-packaged and served as control. Chemical (TVN, TBA, PV) and microbial (total viable count, psychrotrophic) tests were performed, pH measured, and sensory analysis done on all the samples kept for 20 days.

Results: Shallot extract delayed significantly ($p < 0.05$) lipid oxidation in the treated sample, in which the psychrotrophic bacteria and total viable counts also remained lower than the proposed acceptable limit (7 log cfu/g). Furthermore, microbial spoilage decreased significantly ($p < 0.05$) in the treated, in comparison with the control, sample. According to sensory analysis results, treated samples were acceptable even at the end of the 20-day storage.

Conclusion: The findings indicate that shallot extract exerts antioxidant and antibacterial effects on vacuum-packaged rainbow trout during storage and increases its shelf life.

Keywords: Rainbow trout, Shallot extract, Vacuum packaging, Shelf life

